

UNIVERSITÉ DE LILLE
FACULTÉ DE MÉDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2021

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Étude du profil génomique du mycosis fongoïde : séquençage
exomique complet portant sur une série de biopsies issue d'une
cohorte rétrospective de 54 patients suivis aux CHU de Lille.**

Présentée et soutenue publiquement le 26 octobre 2021 à 18 heures

au Pôle Formation

par **Ines ARIB**

JURY

Président :

Monsieur le Professeur Thierry FACON

Assesseurs :

Madame le Professeur Stéphanie POULAIN

Monsieur le Docteur Olivier CARPENTIER

Madame le Docteur Morgane NUDEL-ORTMANS

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur Salomon MANIER

L'ensemble de ce travail a été réalisé en collaboration avec Madame Léa Fléchon, étudiante en bio-informatique à l'IRCL (Institut pour la recherche sur le cancer de Lille).

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

LISTE DES ABREVIATIONS

- BAF** *BRG1/BRM associated factor*
- CCF** Fraction tumorale (pour *cancer cell fraction*)
- CCR4** CC chemokine receptor 4
- CDKN2A** *Cyclin Dependent Kinase Inhibitor 2A*
- CDR3** complementary determining region
- EBV** Epstein baar virus
- EORTC** *European organisation for research and treatment of cancer* ou Organisation européenne pour la recherche et le traitement du cancer
- ERAD** Endoplasmic reticulum-associated degradation
- ERK** Extracellular-signal-regulated kinase
- FMF** Mycosis fongoïde folliculotrope
- GISTIC2.0** *Genomic identification of significant targets in cancer*
- GRIN3B** *Glutamate Ionotropic Receptor NMDA Type Subunit 3B*
- HTS** *high throughput sequencing* ou séquençage haut débit
- IFN- α** Interferon alpha
- IL-2R α** Récepteur alpha de l'interleukine 2
- IL-15R α** Récepteur alpha de l'interleukine 15
- InDels** Insertions-Deletions
- ISCL** International Society for Cutaneous Lymphoma
- JUNB** JunB proto-oncogène
- MAPK1** Mitogen-Activated Protein Kinase 1 (ou p42MAPK, ou ERK2).
- MF** Mycosis fongoïde
- MTAP** *Methylthioadenosine Phosphorylase*
- NCI-VA** *National cancer institute – veterans administration*
- OxoG** Oxydation de la guanine en 8-oxoguanine
- PAI-2** *Plasminogen activator inhibitor 2*
- PCR** *Polymerase chain reaction* ou réaction de polymérase en chaîne
- PCT** Pourcentage de cellules tumorales (%)
- PRC2** *Polycomb repressive complex 2*
- PUVA thérapie** Thérapie par psoralène et UVA.
- PoN** *Panel of Normal*
- SCNVs** *Somatic copy number variations*
- SSNVs** *Somatic single nucleotide variants*
- SCT** Surface corporelle totale.
- SMARCB1** *SWI/SNF-Related Matrix-Associated Actin-Dependent Regulator Of Chromatin Subfamily B Member 1*
- SS** Syndrome de Sézary
- STAT5A** Signal Transducer and Activator of Transcription 5A
- SUZ12** *SUZ12 Polycomb Repressive Complex 2 Subunit*
- TBF** Thiotepa busulfan fludarabine

TCGA The cancer genome atlas

TCM Lymphocytes T centraux mémoires.

TEM Lymphocytes T effecteurs mémoires.

TET2 *Ten-eleven translocation 2*

TMEM259 Transmembrane Protein 259

TNFAIP3 *Tumor Necrosis Factor- α Induced Protein 3*

TP53 *Tumor Protein P53*

TSEB irradiation totale par faisceau d'électrons cutanés (ou *total skin electron beam*)

WES *Whole exome sequencing* ou séquençage exomique complet

WGS *Whole genome sequencing* ou séquençage génomique complet

ZEB1 *Zinc finger E-box-binding homeobox1*

TABLE DES MATIERES

REMERCIEMENTS	3
RESUME :	13
INTRODUCTION	14
1. Épidémiologie et définitions	14
2. Description des lésions de mycosis fongoïde	15
2.1 LE MYCOSIS FONGOÏDE CLASSIQUE	15
2.2 LA RETICULOSE PAGETOÏDE	16
2.3 LA CHALAZODERMIE GRANULOMATEUSE	17
2.4 LE MYCOSIS FONGOÏDE FOLLICULOTROPE	18
3. Caractérisation de la cellule de mycosis fongoïde	18
4. Une entité distincte : le syndrome de Sézary	20
5. Classification clinique du mycosis fongoïde	22
6. La transformation histologique	25
7. Histoire naturelle du mycosis fongoïde et prise en charge thérapeutique	26
7.1 TRAITEMENTS LOCAUX CIBLANT LA PEAU	27
7.2 TRAITEMENTS SYSTEMIQUES.....	28
7.3 TRAITEMENTS HEMATOLOGIQUES.....	30
7.4 LA MAINTENANCE.....	33
8. Facteurs pronostics d'évolution péjoration de mycosis fongoïde	34
8.1 LA TNMB SELON L' ISCL/EORTC :	34
8.2 L'HISTOLOGIE A UN RÔLE PRONOSTIC.....	38
8.3 LA SURINFECTION A STAPHYLOCOCCUS AURES EST ASSOCIEE AU DECES	39
8.4 FACTEURS DE RISQUE DE PROGRESSION DE LA MALADIE	39
9. Apport du séquençage exomique dans le lymphome :	40
9.1 GENERALITE : APPORT DU SEQUENCAGE EXOMIQUE DANS LES HEMOPATHIES, EXEMPLE DU MYELOME MULTIPLE	40
9.2 DONNEES DE SEQUANCAGE IDENTIFIEES DANS LA LITTERATURE POUR LE MYCOSIS FONGOÏDE.....	41
OBJECTIFS	43
1. Objectif principal : caractériser le profil génomique du mycosis fongoïde, à la recherche d'éléments d'orientation étiologique, de facteurs pronostiques, et de nouvelles cibles thérapeutiques.	43
2. Objectifs secondaires :.....	43
2.1 COMPARER L'IMPACT PRONOSTIC DES ANOMALIES GENETIQUES	43
2.2 COMPARER LE PROFIL MOLECULAIRE DES PATIENTS AVEC MYCOSIS FONGOÏDE DE HAUT RISQUE ET DE BAS RISQUE (TELS QUE NOUS LES DEFINIRONS)	43
METHODE	44
1. L'échantillonnage	44
2. Extraction de l'ADN et séquençage par WES	45
3. Analyse bio-informatique	45
3.1 PRETRAITEMENT	45

3.2 IDENTIFICATION DES VARIATIONS DU NOMBRE DE COPIES SOMATIQUES	46
3.3 IDENTIFICATION DES MUTATIONS SOMATIQUES	47
3.4 ESTIMATION DES FRACTIONS DE CELLULES CANCEREUSES	48
4. Patients	48
5. Choix des catégories de risque.....	49
6. La progression	50
7. Analyses statistiques	50
RESULTATS.....	51
1. Description de la population	51
1.1 CARACTERISTIQUES DES PATIENTS AU DIAGNOSTIC (TABLEAU n°1).	51
1.2 TRAITEMENTS REÇUS.....	54
2. Analyses de survie selon le groupe de risque	57
3. Anomalies identifiées grâce au séquençage exomique complet	59
3.1 DESCRIPTION DES ANOMALIES AU DIAGNOSTIC.....	59
3.2 COMPARAISON DES ANOMALIES AU DIAGNOSTIC CHEZ LES PATIENTS DE BAS RISQUE ET LES PATIENTS DE HAUT RISQUE.....	66
3.3 DESCRIPTION DE LA PROGRESSION ET DES ANOMALIES GENETIQUES RELIEES 68	
3.4 CORRELATION ENTRE LES MUTATIONS IDENTIFIEES ET LA SURVIE GLOBALE	71
DISCUSSION.....	74
1. Rappel de l'état des connaissances et de nos objectifs.	74
2. Mise en perspective de nos résultats	74
3. Conclusion	82
ANNEXES	84
BIBLIOGRAPHIE.....	88

RESUME :

Introduction : Le mycosis fongoïde est un lymphome peu fréquent, mais c'est le plus prévalent des lymphomes cutanés primitifs. Il se manifeste typiquement par des macules et des plaques érythémateuses, mais sa présentation est variable et peut mimer de nombreuses dermatoses inflammatoires. Le diagnostic est posé sur des données clinico-histologiques et de clonalité. Il est parfois rendu difficile par un manque de spécificité des lésions, notamment lorsque l'infiltrat inflammatoire réactionnel est abondant. La cellule tumorale est un lymphocyte T mémoire. La pathogénie de cette hémopathie reste incomprise. L'évolution peut être indolente, ou défavorable. Certains facteurs comme l'âge, la classification TNMB, la transformation histologique, ou la surinfection sont des facteurs bien identifiés de pronostic péjoratif impactant la survie. Les facteurs pronostiques aux stades précoces sont moins bien connus. Cette maladie reste incurable en dehors de l'allogreffe ou d'une radiothérapie sur lésion unique.

L'objectif ici est de caractériser le profil génétique du mycosis fongoïde, encore mal connu, à la recherche d'éléments d'orientation étiologique, de facteurs pronostiques, et de nouvelles cibles thérapeutiques.

Méthodes : Nous avons réalisé un séquençage exomique complet (WES) puis des analyses bio-informatiques à la recherche d'anomalies du nombre de copies (GISTIC2.0) focales ou de grande taille et de mutations ponctuelles (*MutSig2CV*).

Population : 54 patients suivis dans les services de dermatologie et d'hématologie du CHU de Lille pour lesquels nous disposons de tissu congelé pour séquençage.

Résultats : Le séquençage exomique complet a pu être réalisé pour 48 patients. Parmi les mutations somatiques, les mutations récurrentes identifiées au diagnostic sont : *JUNB*, *SMARCB1*, *SUZ12*, *SERPINB2*, *MAPK1* et *STAT5A*. Les anomalies du nombre de copies les plus fréquentes sont l'amplification 7q, l'amplification 10p15.1, la délétion 10p11.22, la délétion 9p21.3, la délétion 6q16.3, la délétion 17p13.1 ainsi que la délétion 19p13.3. Certaines de ces anomalies (telles que *JUNB*, amp7q, amp10p15.1) sont plus fréquemment retrouvées aux stades avancées de la maladie, suggérant leur rôle dans l'oncogénèse du MF.

Conclusion : Nous avons identifié des mutations somatiques participant à l'oncogène du mycosis fongoïde. Parmi les anomalies du nombre de copie, la présence des amplifications 7q et 10p15.1 et la délétion 10p11.22 est corrélée à la survie globale des patients. Par ailleurs, les patients de faible risque présentant une délétion 6q13.3 ont une probabilité de progression plus importante. Enfin, la délétion 19p13.3 est l'anomalie la plus fréquente dans notre cohorte et pourrait constituer un marqueur diagnostique de mycosis fongoïde, mais ce résultat mérite confirmation.

INTRODUCTION

1. Épidémiologie et définitions

L'atteinte cutanée représente la deuxième atteinte en termes de fréquence au sein des lymphomes non Hodgkiniens après le tractus gastro-intestinal. L'incidence des lymphomes cutanés est estimée à 0,7/100 000 habitants/an¹. Les lymphomes cutanés primitifs sont des lymphomes non Hodgkiniens se présentant dans la peau sans signe d'atteinte extra-cutanée lors du diagnostic de l'hémopathie. Ils sont principalement représentés par les lymphomes T cutanés primitifs pour 75 à 80%, et par les lymphomes B cutanés primitifs pour 20 à 25%. Les entités issues de lymphocytes NK ou de cellules dendritiques plasmocytoïdes sont beaucoup plus rares.

La classification OMS-EORTC (classification consensuelle de l'Organisation mondiale de la santé et de l'*European organisation for research and treatment of cancer*) permet de distinguer des groupes de pronostics différents (Annexes n°2 et 3) : ²

- bon pronostic lorsque la médiane de survie est de plus de 5 ans, groupe auquel le mycosis fongoïde appartient
- pronostic intermédiaire lorsque la médiane de survie est entre 2 et 5 ans
- mauvais pronostic lorsque la médiane de survie est de moins de 2 ans.

Le mycosis fongoïde est le type de lymphome T cutané primitif le plus fréquent. Il représente 60% des lymphomes T cutanés et près de 50% de tous les lymphomes cutanés primitifs³. Il a une incidence estimée autour de 5,5 à 7,5 par million d'habitants /an^{4,5}. La maladie se déclare chez des sujets âgés de 60 ans ou plus. Elle évolue lentement. Il existe une prédominance masculine avec un sexe ratio de 1,6 à 2:1.^{3,5}

2. Description des lésions de mycosis fongoïde

La description du mycosis fongoïde fut réalisée la première fois par le Docteur Jean Louis Alibert en 1806⁶. La présentation est aspécifique, voisine de celle d'une mycose et supposée en lien avec une infection.

Le mycosis fongoïde classique se présente sous divers tableaux cliniques parmi lesquels on peut citer des variants hypopigmentés, ichtyosiformes, bulleux, pustuleux, palmo-plantaires, poïkilodermiques, psoriasiforme, syringotrope, verruqueux⁷. Seulement 3 variants clinico-histologiques sont reconnus par l'OMS du fait d'une présentation et d'un pronostic distincts : la réticulose pagétoïde et la chalazodermie granulomateuse sont extrêmement rares, tandis que le variant folliculotrope représente jusqu'à 10% de tous les cas de mycosis fongoïde.^{3,8}

2.1 LE MYCOSIS FONGOÏDE CLASSIQUE

Le mycosis fongoïde a l'aspect d'une éruption maculaire et érythémateuse, ou érythémato-squameuse (les squames se renforçant avec l'infiltrât épidermique), évoluant en plaque. L'évolution se fait parfois également vers la formation de nodule et l'ulcération. Les lésions sont situées aux zones non photo-exposées. Elles sont souvent multiples.

Le mycosis fongoïde (MF) est toutefois un grand simulateur. Il constitue un diagnostic différentiel de toute dermatose inflammatoire d'étiologie indéterminée.

Les lésions ne sont pas toujours typiques, notamment après application de dermocorticoïdes, ou à la phase précoce de la maladie.

L'histologie retrouve classiquement un infiltrat composé de lymphocytes atypiques CD3+ CD4+ le long de la jonction dermo-épidermique, avec par endroits des

renforcements à type de **microabcès** de Pautrier dans l'épiderme. Le derme est également infiltré par ces lymphocytes atypiques, et par des lymphocytes CD8+ réactionnels.

L'ISCL (*International Society for Cutaneous Lymphoma*) a proposé en 2005 des critères diagnostic du MF à la phase précoce⁹. Si ces critères ne sont pas rencontrés le diagnostic de mycosis fongoïde ne doit pas être retenu.

Le diagnostic histologique peut également être rendu difficile en phase érythrodermique. Les cellules inflammatoires sont souvent prédominantes. Des biopsies multiples sont donc souvent nécessaires.

On peut retenir d'un nodule tumoral qu'il est l'évolution d'une plaque de mycosis fongoïde, alors qu'une présentation d'emblée tumorale orientera le diagnostic vers un autre lymphome T cutané primitif, ou même vers un lymphome B cutané primitif, selon la confrontation aux données complémentaires d'immunophénotypage.

Le diagnostic repose au total sur une présentation clinique compatible, une perte des antigènes T et la présence d'une clonalité T sur peau, cette dernière pouvant manquer (voir annexe n°1).

2.2 LA RETICULOSE PAGETOÏDE

La réticulose pagétoïde survient chez des sujets de tout âge. Elle est remarquable par sa présentation clinico-histologique et par son pronostic.

L'aspect est celui d'une plaque hyperkératosique, aux bords polycycliques ou annulaires, localisée souvent aux extrémités. La lésion est souvent isolée (maladie de Woringer et Kolopp). Si les lésions sont multiples elles sont en nombre limité.¹⁰

L'histologie retrouve un épiderme hyperplasique avec un infiltrat de lymphocytes de taille moyenne auréolés et à noyaux pléomorphes, de phénotype T cytotoxique

CD3+CD4-CD8+, de phénotype T helper mémoire CD3+CD4+CD8-, ou encore double négatif CD3+/CD4-/CD8-. L'expression du CD30+ est possible. L'infiltrat dermique sous-jacent est ici composé de lymphocytes réactionnels et d'histiocytes.

L'évolution est lente et bénigne, avec une bonne radiosensibilité. Des cas de régression spontanée sans récurrence sont décrits. Cependant des cas d'évolution vers un mycosis fongoïde classique sont également décrits et ce même après plusieurs années d'évolution de réticulose pagétoïdes, soulignant la nécessité d'un suivi prolongé.

2.3 LA CHALAZODERMIE GRANULOMATEUSE

La chalazodermie granulomateuse est une forme rare de lymphome cutané et survient préférentiellement chez les sujets masculins entre la trentaine et la cinquantaine. Seule l'histologie la distingue d'un mycosis fongoïde granulomateux¹¹. La clinique retrouve dans les deux cas des papules et des plaques érythémateuses, progressant vers un aspect d'amas de peau pendante prédominant aux creux axillaires et inguinaux. Les lésions sont d'aspect similaire à celui de la *Cutis laxa*. En histologie on observe la disparition du tissu élastique. Elle est corrélée à l'intensité de l'infiltrat granulomateux. L'atteinte du tissu élastique n'est pas limitée aux zones de peau pendante, et n'est pas spécifique de la chalozodermie granulomateuse. L'infiltrat lymphocytaire peut être pléiomorphe, avec noyau cérébriforme, ou sans atypies nucléaire notable. Dans certains cas les atypies nucléaires sont absentes avec prédominance d'une réaction granulomateuse. L'épidermotropisme peut être absent et le diagnostic de lymphome cutané ainsi retardé de plusieurs années. L'évolution est lente et l'extension extra-cutanée est rare.

2.4 LE MYCOSIS FONGOÏDE FOLLICULOTROPE

Le mycosis fongoïde folliculotrope survient autour de 46 à 59 ans. Une présentation pédiatrique est possible. Une prédominance masculine est là aussi observée¹².

Cliniquement le folliculotropisme se manifeste de diverses façons : à la phase précoce on peut observer des papules érythémateuses des régions pilaires et des lésions acnéiformes avec un aspect de comédons voire de kystes. L'atteinte de la **face** avec œdème peut réaliser un faciès léonin. Les plaques peuvent-être alopeciantes avec l'extension de l'infiltrat tumoral. Elles atteignent notamment les sourcils. L'évolution vers une forme érythrodermique est possible, avec persistance d'atteintes avec caractéristiques folliculotropes.

En histologie l'infiltrat est à prédominance de lymphocytes atypiques CD4+, avec tropisme pour les follicules pileux plutôt que pour l'épiderme. Une mucinose folliculaire (une réaction épidermique marquée par une accumulation de mucine par ces follicules) peut être présente.

L'évolution clinique est plus péjorative avec une résistance aux thérapies de 1^{ère} ligne.

3. Caractérisation de la cellule de mycosis fongoïde.

Monsieur Sézary présumait une origine histio-monocytaire aux cellules qui porteront son nom. En effet les cellules tumorales qu'il décrit sont mononuclées, « monstrueuses » de grande taille.

L'origine lymphoïde fut évoquée en 1971¹³: les cellules tumorales subissent des mitoses sous la stimulation de phytohémmagglutinine. Elles sont par ailleurs capables

de stimuler des lymphocytes de donneurs en présence d'un mélange de leucocytes de témoins.

La présence d'anomalies de nombre chromosomiques et la présence de chromosomes marqueurs est en faveur d'une nature néoplasique. L'identification de la cellule T dans la maladie a eu lieu en 1975 ¹⁴.

En microscopie optique les cellules de Sézary présentent un noyau irrégulier d'aspect replié. L'hétérochromatine est condensée en périphérie du noyau. En microscopie électronique ce noyau est cérébriforme et convoluté, occupant 80% du volume de la cellule et entouré d'une fine couronne de cytoplasme. Il est important de noter que cet aspect du noyau replié en cytologie peut également s'observer sur de petits lymphocytes activés normaux, comme au cours de certaines pathologies inflammatoires.¹⁵ Cette absence de spécificité participe à la complexité du diagnostic de lymphome. De plus, la taille du lymphocyte peut orienter vers la malignité de l'affection, mais manque également de spécificité. Les cellules tumorales se retrouvent dans la peau, dans les autres tissus envahis, ou dans le sang périphérique.

Le phénotype est classiquement CD26+, CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, CCR4+, CD45RO. Il existe une perte variable des antigènes CD2, CD5, CD7, et CD26. Rarement la cellule est CD8+ CD4-. Plus récemment, l'expression du CD158_{dim}/KIR3DL2/p140 (un membre de la famille des récepteurs de type immunoglobuline des cellules NK ¹⁶) a été identifiée comme marqueur de ces cellules de Sézary.

Sur biopsie de peau une expression du KIR3DL2 > 5% des lymphocytes peut s'observer pour tous les lymphomes T cutanés primitifs¹⁷. Dans le mycosis fongoïde, elle est aussi bien retrouvée aux stades précoces qu'avancés, mais augmente avec le

stade puisqu'elle s'observe dans 46 % des stades I, 67 % des stades II, 75 % des stades III et 67 % des stades IV. L'intensité de cette expression est significativement plus importante pour les patients avec mycosis fongoïde transformé qu'en l'absence de transformation.

Sur sang il peut exister de multiples clones lymphocytaires au cours du mycosis fongoïde et du syndrome de Sézary. L'expression du CD158k_{dim} est bien corrélée à la proportion de cellules de Sézary circulantes¹⁸. Les clones réactionnels ne sont pas marqués. Ainsi l'expression de KIR3DL2 est aujourd'hui considérée comme le meilleur marqueur des cellules de Sézary.

La clonalité T est actuellement évaluée en routine par le séquençage du TCR-bêta¹⁹ grâce à des réactions de polymérase en chaîne (PCR *polymerase chain reaction*). Une technique de séquençage haut débit du CDR3 (*complementary determining region 3*, portion du paratope la plus spécifique de l'antigène) du TCR-bêta permet d'identifier la présence d'un clone avec une bien meilleure sensibilité que la PCR. Cette technique de séquençage de haut débit du CDR3 (HTS *high throughput sequencing*) n'est pas disponible dans tous les centres. Son intérêt supplémentaire est d'aider au diagnostic du mycosis fongoïde précoce et au diagnostic différentiel des autres dermatoses inflammatoires lorsque la fréquence du clone est estimée en fraction des cellules mononucléées totales²⁰.

4. Une entité distincte : le syndrome de Sézary

Le mycosis fongoïde et le syndrome de Sézary étaient initialement considérés comme étant une même entité de lymphome T cutané. L'atteinte cutanée est prédominante et il existe des similitudes cytologiques et histologiques. Le syndrome de Sézary en aurait

été la forme leucémique. Ce dernier est en réalité une entité différente de lymphome T cutané primitif, plus agressive, et une infiltration médullaire n'est pas typique. Il a été décrit en 1938.²¹

Le syndrome de Sézary (SS) est caractérisé par l'association d'une :

- érythrodermie prurigineuse d'installation rapide,
- envahissement avec:
 - soit un nombre absolu de cellules de Sézary > 1 000/mm³ avec clonalité identique dans le sang et sur la peau ,
 - soit une proportion augmentée de cellules T CD4+ résultant en : ^{8,22}

un rapport CD4/CD8 ≥10,

un taux de lymphocytes CD4+/CD7- ≥ 40 % des lymphocytes totaux,

ou un taux de lymphocytes CD4+/CD26- ≥ 30 % des lymphocytes totaux.

L'érythrodermie est quasiment constante mais elle peut manquer²³.

Les nodules tumoraux et les ulcérations sont moins fréquents dans le syndrome de Sézary que dans le mycosis fongoïde.

Pour expliquer les différences observées, la cellule d'origine est recherchée.

Pour rappel, l'immunité cellulaire mémoire repose sur des lymphocytes T centraux mémoires T_{CM} et sur des lymphocytes T effecteurs mémoires T_{EM} (une analogie est possible avec l'immunité humorale mémoire qui repose sur des lymphocytes B mémoires et sur des plasmocytes effecteurs producteurs d'anticorps) :

- l'immunité cellulaire centrale mémoire se compose de T_{CM} présentant des récepteurs de nostocytose qui permettent leur migration vers les organes lymphoïdes secondaires. Ils sécrètent essentiellement de l'interleukine 2.

- l'immunité cellulaire effectrice mémoire se compose de T_{EM} présentant des récepteurs de chemoattractants qui permettent leur migration vers les tissus périphériques non hématopoïétiques inflammatoires. Ils ont une action effectrice immédiate. Les lymphocytes T CD8⁺ T_{EM} contiennent de grandes quantités de perforine et les lymphocytes T CD4⁺ et CD8⁺ T_{EM} produisent de l'interferon gamma, de l'interleukine 4 et de l'interleukine 5 en quelques heures seulement.

L'hypothèse selon laquelle le mycosis fongoïde prendrait son origine dans un lymphocyte T effecteur mémoire résidant de la peau est acceptée²⁴. En effet des études montrent que la cellule de mycosis fongoïde exprime fortement les marqueurs CCR4 et CLA. Ces marqueurs adressent les lymphocytes vers la peau. La cellule de mycosis fongoïde n'exprime pas des marqueurs CCR7 et L-selectin (CD62L) qui adressent aux ganglions. Contrairement aux lymphocyte T naïfs la cellule de mycosis fongoïde n'exprime pas non plus le marqueur de différenciation CD27 ni la molécule de co-stimulation CD28. A l'opposé, le syndrome de Sézary prendrait son origine dans un lymphocyte T central mémoire. Cependant, cette distinction n'est pas toujours confirmée. Des changements entre un phénotype T_{EM} et T_{CM} ont été observés²⁵. La cause de la présentation clinique bien distincte du syndrome de Sézary et du mycosis fongoïde est peut-être à chercher ailleurs.

5. Classification clinique du mycosis fongoïde

La classification TNM a été introduite en 1975 et revisitée en 2007 avec l'ajout de la classification sanguine. Elle est valable pour le mycosis fongoïde et le syndrome de

Sézary parmi les lymphomes T cutanés primitifs. Elle permet d'identifier des stades cliniques avec des pronostics différents.

Quelques précisions concernant cette classification TNMB (Annexe n°4) :

- La « classification T » correspond une évaluation clinique tumorale cutanée :
 - une macule est une lésion cutanée sans induration ni élévation significative : si elle est isolée elle prend le qualificatif « a » (T1a ou T2a)
 - une papule est une lésion indurée ou surélevée : elle prend le qualificatif « b » (T1b ou T2b)
 - en cas d'atteinte cutanée < 10 % de la surface corporelle totale, l'atteinte est classée T1 ; en cas d'atteinte cutanée \geq 10 % et < 80 % de la surface corporelle totale l'atteinte est classée T2 ; la surface correspondant à une paume de main approxime 0,5% de la surface corporelle.²⁶

La présence ou l'absence de squames, d'hypo- ou hyperpigmentation, de croûtes, ou d'une poïkilodermie doivent être précisées.

- un nodule est une lésion solide de \geq 1 cm avec mise en évidence d'une croissance verticale ou en profondeur : il prend le qualificatif T3 et sa présence classe en stade IIB au moins
- une érythrodermie est un érythème confluent recouvrant plus de 80% de la surface corporelle : elle prend le qualificatif T4 et sa présence classe en stade IIIA au moins.
- La « classification N » correspond une évaluation clinico-histologique des ganglions périphériques : l'histologie d'adénopathie évalue les atypies lymphocytaires dans les zones T-dépendantes para-corticales et l'architecture ganglionnaire selon la classification NCI-VA ou la classification Dutch.

L'histologie n'est réalisée qu'en présence d'une adénopathie palpable et après la réalisation d'un bilan morphologique par TEP, ou IRM ou échographie en cas de contre-indication. Les critères cliniques retenus par l'ISCL/EORTC pour réaliser une biopsie sont : un ganglion de plus grand diamètre transversal $\geq 1,5$ cm, ou induré, irrégulier, ou fixé, ou de ganglions en amas.

Les histologies LN3 ou LN4 permettent de conclure à un envahissement lymphomateux, elles classent en stade IVA2 au moins. Cependant une adénopathie classée LN3 n'est pas spécifique de mycosis fongoïde et peut s'observer au cours de pathologies bénignes. Ainsi l'histologie ganglionnaire ne permet pas de faire le diagnostic de lymphome T cutané primitif en l'absence de prélèvement cutané.

La présence d'un clone T sur les prélèvements ganglionnaires ajoute le qualificatif « b », son absence « a ».

- La « classification M » correspond à une évaluation métastatique : cliniquement peu parlante, elle correspond à la mise en évidence d'au moins une atteinte extra-cutanée, nodale, ou sanguine, qualifiée de M1. Sa présence classe en stade IVB. Il est à noter que l'atteinte métastatique survient classiquement en présence d'une atteinte ganglionnaire ou sanguine. La documentation histologique est recommandée, en dehors de l'envahissement splénique qui est défini en imagerie.
- La « classification B » correspond à une évaluation biologique de l'envahissement sanguin.

Elle évolue et les critères aujourd'hui reconnus sont : ²⁷

- pour classer B0 en microscopie des cellules de Sézary $< 5 \%$, ou en cytométrie de flux des cellules CD4+CD7- ou de cellules CD4+CD26- $< 250 /\text{mm}^3$.

- pour classer B1 l'observation de > 5% de cellules de Sézary en microscopie (à l'exclusion du critère B2), ou la présence en cytométrie de flux de cellules CD4+CD7- ou CD4+CD26- > 250 /mm³ (à l'exclusion du critère B2) ; sa présence classe en stade IIIB.
- pour classer B2 l'observation de > 1 000 cellules de Sézary /mm³, ou la présence en cytométrie de flux de cellules CD4+CD7- ou CD4+CD26- > 1 000 /mm³ avec présence d'une clone circulant ; sa présence classe en stade IVA1.
- La présence d'un clone T sur sang ajoute le qualificatif « b » et son absence le qualificatif « a » aux classes B0 et B1.

De cette classification TNMB découlent donc des stades cliniques.

Aux stades précoces, les patients présentent des lésions érythémato-papuleuses et squameuses, ou des plaques, qui peuvent-être localisées ou étendues. Les stades précoces correspondent aux stades IA, IB et IIA.

Aux stades avancés, les lésions sont tumorales, ou les patients présentent une forme érythrodermique, une atteinte ganglionnaire, ou plus rarement viscérale. Les stades avancés correspondent aux stades IIB, IIIA, IIIB, IVA1, IVA2, et IVB.

Des cas de lésion isolée de mycosis fongoïde sont décrits, correspondant possiblement à un stade très précoce de la maladie.²⁸

6. La transformation histologique

La transformation correspond à la présence de plus de 25% de lymphocytes de grandes taille (soit plus de 4 fois la taille d'un lymphocyte normal). En immunohistochimie le marquage du CD30 (Ki-1) est observé dans 50% des cas, associé à la perte des antigènes pan-T, et à des marqueurs d'activation comme le CD15 (Leu-M1),

CD25 (TAC), et l'EMA (antigène membranaire épithélial). Il existe un variant immnoblástico et un variant anaplasique.²⁹

La transformation peut se manifester de façon inaugurale, ou constituer l'évolution d'un mycosis fongoïde déjà connu. En effet elle dérive du même clone que celui du mycosis fongoïde lorsqu'il la précède, comme le montrent les analyses de clonalité du TCR-bêta au cours du suivi de patients progresseurs. Le réarrangement du TCR peut rester détectable durant les phases de rémissions cliniques.³⁰

7. Histoire naturelle du mycosis fongoïde et prise en charge thérapeutique

Un consensus a permis de définir les critères de progression et de réponse du mycosis fongoïde aux thérapeutiques, afin d'homogénéiser les pratiques et de permettre une comparaison solide entre les études.

La définition d'une maladie progressive à l'étage cutanée est une progression > 25 % de la surface corporelle, dans les ganglions une progression de > 50 % de l'envahissement, dans les viscères une progression de > 50 % de l'infiltrat³¹.

L'évolution dans le sang a fait l'objet d'une recommandation plus récente car les critères de la précédentes étaient jugés trop larges : une progression sanguine doit être définie par une augmentation de 50% des cellules circulantes avec phénotype aberrant CD4+CD7- ou CD4+CD26-.²⁷

Sur le plan thérapeutique l'EORTC a publié en 2017³² un consensus de mise à jour de quelques options disponibles. Ce consensus est fondé sur le fait que le mycosis fongoïde à un stade précoce est une maladie indolente et que les thérapies à visée cutanée sont alors les plus appropriées. A un stade avancé les patients font souvent l'expérience d'une évolution sous traitement ou vont jusqu'à développer une résistance

aux thérapeutiques disponibles, sans espoir de thérapie curative en dehors de l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques.

7.1 TRAITEMENTS LOCAUX CIBLANT LA PEAU

Chez les patients de stade IA, qui ont une espérance de vie comparable à celle de la population générale et un risque de progression de la maladie de 10% à 10 ans³³, une stratégie de surveillance simple est acceptable.

Chez les patients de stade IA ou IB la corticothérapie locale permet une réponse globale dans 94% des cas (absence d'études randomisées disponible).

La mechlorethamine topique (aussi connue sous le nom de Chlorméthine, noms commerciaux CARYOLYSINE, VALCHLOR, LEDAGA), est recommandée en 1^{ère} ligne thérapeutique pour les stades localisés (IA - IIA). La toxicité est cutanée locale.

La photothérapie peut être de 2 types : la PUVA thérapie (ultraviolet A + 8-Methoxypsoralen un agent photosensibilisant) et la thérapie par ultraviolet B (UVB) :

- Le traitement par ultraviolet B est recommandé pour les lésions sans épaissement évident classées T1a et T2a, chez les patients à peau claire.
- Le traitement par PUVA reste recommandé pour tous les stades IA et IB et les patients à peau foncée. En effet les rayons pénètrent plus profondément dans la peau.

Le risque de cancer cutané associé à la photothérapie n'est pas connu pour les patients traités pour un mycosis fongoïde. La photothérapie peut être utilisée seule, ou en cas d'efficacité insuffisante ou de rechute précoce en association à des traitements systémiques.

L'irradiation totale par faisceau d'électrons cutanés ou TSEB (*total skin electron beam*) permet une atténuation d'électron pour un traitement limité à peau, efficace pour les lésions classées T2 ou T3. La dose totale administrée peut se situer entre 30 et 36 Gy sur 8 à 10 semaines, ou être une dosée diminuée de 10 à 12 Gy sur 2 à 3 semaines mais les études comparatives n'existent pas. Un retraitement est envisageable sans majoration de la toxicité qui est locale.

La radiothérapie superficielle localisée est indiquée pour une prise en charge ciblée sur une lésion, qu'elle soit palliative (doses faibles autour de 2 à 4 Gy), ou à visée d'obtention d'une guérison pour un mycosis fongoïde uni-lésionnel ou une réticulose pagétoïde (doses de 20 à 24 Gy). Elle peut être associée à un traitement systémique.

7.2 TRAITEMENTS SYSTEMIQUES

Les rétinoïdes par voie systémique sont utilisés en traitement de 1^{ère} intention, avec une orientation préférentielle vers le Bexarotene (nom commercial TARGRETIN) qui se lie plus spécifiquement au récepteur X des rétinoïdes. Les effets indésirables comprennent la sécheresse cutanéomuqueuse, les dyslipidémies, la tératogénéicité et sous bexarotene l'hypothyroïdie centrale très fréquente. La réponse est souvent modérée et les rétinoïdes sont souvent associés à d'autres traitements systémiques. On notera que l'association rétinoïdes et PUVA thérapie n'a pas montré de supériorité en comparaison à la PUVA thérapie seule. Les rétinoïdes peuvent être utilisés en maintenance.

Les interférons et particulièrement l'interféron alpha sont efficaces par voie sous-cutanée. L'identification de la dose cible efficace et bien tolérée se fait après une

phase d'escalade de dose. Les effets indésirables comportant leucopénie, thrombopénie, syndromes pseudo-grippaux avec notamment asthénie qui peut être marquée et limiter l'emploi du médicament, cytolyse hépatique, syndrome dépressif, troubles du rythme cardiaque, et dysthyroïdies. Les études sont hétérogènes, ne permettant pas de déterminer avec précision un taux de réponse à ce traitement. L'interféron alpha peut être utilisé en combinaison, en particulier avec les rétinoïdes ou la PUVA thérapie. Le taux de réponse complète est supérieur avec l'association IFN- α et PUVA thérapie qu'avec l'association IFN- α et rétinoïdes, positionnant cette dernière en 2nde intention en cas d'inaccessibilité ou de contre-indication à l'association avec la PUVA thérapie. Cependant ici aussi la supériorité de l'association IFN- α et PUVA n'a pas été comparée à chacun de ces deux traitements en monothérapie.

Enfin, les associations de traitement systémiques avec les autres traitements locaux (corticothérapie locale, UVB, ou radiothérapie) sont acceptables en 2^{ème} intention pour la prise en charge d'un mycosis fongoïde localisé en cas d'inefficacité des traitements locaux seuls, mais là encore dans études comparatives disponibles.

Dans cette section je choisis de positionner le méthotrexate en raison des faibles doses administrées, de l'ordre 5 à 25 mg/semaine. Il s'agit d'une chimiothérapie cytotoxique par le biais d'une activité anti-folate (inhibition de la dihydrofolate réductase). Les effets indésirables sont bien connus et peuvent tout de même survenir à ces doses³⁴. On notera l'hépatotoxicité, les rares pneumopathies interstitielles diffuses, l'anémie, la leucopénie et la tératogénicité. L'insuffisance rénale et la mucite ne sont pas observées à ces posologies. Une supplémentation par acide folique est nécessaire. Le méthotrexate à faible dose est recommandé dès la 2^{ème} ligne pour les

patients avec mycosis fongoïde à un stade localisé, et en 1^{ère} ligne pour les stades étendus³⁵.

7.3 TRAITEMENTS HEMATOLOGIQUES

Une polychimiothérapie de type CHOP (cyclophosphamide, hydroxydaunorubicine, oncovin et prednisone) est utilisée chez les patients de stade avancé. L'efficacité est limitée dans le temps et l'objectif non curateur. En effet l'instauration d'un traitement de type polychimiothérapie précoce n'a pas montrée d'amélioration de la survie³⁶.

La doxorubicine liposomale en monothérapie (CAELYX) à la posologie de 20 mg/m² deux fois par semaine permet l'obtention de réponses globales dans 40,8 % des cas avec une médiane de durée de réponse de 6 mois dans une population de patients avec mycosis fongoïde à un stade avancé.

La gemcitabine peut être utilisée en monothérapie. Elle n'est pas recommandée en association avec les rétinoïdes du fait d'une toxicité majorée sans amélioration de la réponse.

Les données sont limitées sur les autres chimiothérapies cytotoxiques, notamment sur les analogues des purines et la bendamustine (alkylant).

Un traitement oral continu par chlorambucil (alkylant) à la posologie de 2 à 6 mg/jr en association à une corticothérapie à la posologie initiale de 20 mg/jr, introduit par Winkelmann³⁷, peut être bénéfique, mais une exposition prolongée expose au risque de leucémogénèse. Ce traitement n'est donc pas recommandé au long cours.

Les histones déacetylases catalysent le retrait de groupes acétyles des histones et sont ainsi des régulateurs épigénétique de la transcription. Les inhibiteurs d'histone

déacetylase sont des molécules en plein essor. Leurs effets indésirables sont communs à la classe avec essentiellement une thrombopénie, un allongement de l'intervalle QTc, des thromboses veineuses profondes, des troubles gastro-intestinaux et un risque d'hépatite. Ces molécules sont approuvées par la Food and Drug Administration, mais disponibles en Europe uniquement en ATU.

Le vorinostat par voie orale est disponible dans le traitement des lymphomes T cutanés primitifs en rechute ou réfractaires après au moins 2 lignes de traitements systémiques antérieurs.

La romidepsine par voie intra-veineuse est disponible pour les patients avec lymphome T cutané primitif après au moins 1 ligne de traitement systémique antérieure.

Parmi les traitements hématologiques je choisis également de répertorier les immunothérapies détaillées dans la revue de l'European Journal of Cancer (2017) car elles sont habituellement administrées dans ces services.

Le Brentuximab-Vedotin (ADCETRIS) est un anticorps conjugué anti-CD30 couplé à la monométhyl auristatin E, un poison du fuseau mitotique. La toxicité est essentiellement neurologique périphérique. Il est indiqué en 2^{ème} ligne pour les mycosis fongoïdes exprimant le CD30 (seuil fixé à 10%)³⁸.

La Denileukin diftitox est un anticorps couplant l'interleukine 2 au domaine catalytique de la toxine diphtérique, développé dans les lymphomes T cutanés primitifs afin de cibler le récepteur de l'interleukine 2. La réponse globale était de 30 et 44 % dans 2 études de phase 3, avec une toxicité marquée par 4% de syndromes de fuite capillaire de grade 3 ou 4. Cette molécule n'est plus disponible et n'avait pas reçu d'autorisation de mise sur le marché Européen.

L'Alemtuzumab est un anticorps anti-CD52, une glycoprotéine de surface exprimée par les lymphocytes B et T. Sa toxicité notamment infectieuse peut-être majeure. Il est disponible hors AMM dans les lymphomes T cutanés primitifs mais avec une efficacité observée pour le syndrome de Sézary ou le mycosis fongoïde érythrodermique³⁹.

Le Mogamulizumab (POTELIGEO) est un anticorps anti-CCR4 (récepteur de nostocytose exprimé par les cellules tumorales). La réponse globale est de 35 % dans une étude randomisée comparée au vorinostat avec pour critère de jugement principal la survie sans progression. Les effets indésirables notables sont une réaction à la perfusion, un rash cutané, une diarrhée et de la nausée. Le Mogamulizumab est indiqué en 2^{ème} ligne, avec une efficacité particulière sur la phase circulante puisque la médiane de réponse est de 25,5 mois sur sang, de 20,6 mois sur la peau et de 15,5 mois dans les ganglions.

La photophérèse extra-corporelle consiste à exposer le sang (il s'agit d'un traitement *ex vivo*) des patients au 8-methoxypsoralen, une drogue photosensibilisante prise par voie orale, puis y appliquer une photothérapie dont l'efficacité se fait par le biais d'une immunomodulation⁴⁰. Les effets indésirables sont faibles. Cette thérapeutique est efficace sur les patients atteints de mycosis fongoïde érythrodermique et de syndrome de Sézary. Elle peut être utilisée en combinaison. Des études comparatives sont souhaitables pour établir toute sa place dans l'arsenal thérapeutique.

L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques n'est pas recommandée dans le mycosis fongoïde du fait des nombreuses rechutes précoces, probablement à mettre sur le compte de la chimiorésistance de cette pathologie.

L'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques avec un conditionnement qu'il soit myeloablatif ou d'intensité réduite est la seule option de guérison pour les patients avec mycosis fongoïde (en dehors d'une lésion localisée pour laquelle un espoir de guérison existe avec la radiothérapie). L'effet *Graft-vs-Lymphoma* est majeur comme le montre l'obtention de seconde rémission après diminution de l'immunosuppression et réinjection de lymphocytes du donneur. Une étude multicentrique de l'*European Bone Marrow Transplant* rapporte parmi 60 patients avec mycosis fongoïde de stade avancé (36 patients) et syndrome de Sézary (24 patients) une survie globale à 7 ans de la greffe de 44 %, avec une mortalité non reliée à la rechute de 22 %. L'éligibilité requiert un bon état général, un âge jeune, ainsi qu'une maladie avancée de mauvais pronostic et une faible charge tumorale à la greffe.

7.4 LA MAINTENANCE

Un traitement de maintenance a pour objectif de maintenir une réponse, ou de prévenir la rechute et la progression pour cette maladie dont la prise en charge est essentiellement palliative avec pour effet une amélioration des symptômes et de la qualité de vie et peu d'espoirs de rémission prolongée. Les traitements ciblant la peau et les traitements systémiques ont souvent un profil d'effet indésirable et une acceptabilité compatibles avec un traitement de maintenance.

Le consensus de l'EORTC recommande un tel traitement en cas de lésion \geq T2b (stade IB) avec un risque de progression ou de rechute important, sans recommandation plus détaillée quant à la modalité de traitement à privilégier.

8. Facteurs pronostics d'évolution péjoration de mycosis fongoïde

8.1 LATNMB SELON L' ISCL/EORTC :

Sausville et al mettaient en évidence chez 152 patients atteints de mycosis fongoïde ou syndrome de Sézary⁴¹ que l'atteinte métastastatique viscérale et l'importance de l'extension cutanée étaient des facteurs pronostics indépendants de mortalité, alors que l'envahissement sanguin (alors décrit comme la présence de plus de 20% de cellules anormales circulantes) et la présence d'une adénopathie n'avaient d'impact pronostic qu'en analyse univariée.

Sur une série de 96 ganglions de patients (MF et SS)⁴², Sausville et al rapportaient un impact pronostic de l'histologie ganglionnaire indépendamment de l'atteinte cutanée, avec une médiane de survie à 5 ans de 70% pour les adénopathies classées LN2 (histologie non spécifique), de 30% pour les adénopathies LN3 et de 15% pour les adénopathies LN4.⁴³ Il n'y avait pas d'adénopathie classée N1. Cependant cet impact ne sera pas confirmé en analyse multivariée sur l'étude portant du 152 patient. On notera que 32 % des patients sans adénopathie clinique dans cette étude de 96 patients avaient une histologie ganglionnaires classée LN3 ou LN4 signant un envahissement lymphomateux, mais qu'il n'est à ce jour pas recommandé de réaliser une biopsie ganglionnaire en l'absence des critères cliniques orientant vers une malignité.

Dans une étude de Kern, Kidd, Moe et Hank (1998), la présence d'une clonalité T évaluée sur le réarrangement du TCR-bêta en Southern Blot sur prélèvements ganglionnaires était présente sur 13% des ganglions classés LN2, sur 83 % des ganglions LN3 et sur 100 % des ganglions LN4, et absente sur les ganglions classés LN0 et LN1 (population de 55 patients).⁴⁴ La présence d'un tel réarrangement était

prédictive d'une évolution péjorative tout stade confondu, avec une VPP et une VPN comparables à celles de la présence d'une adénopathie classée LN3 ou LN4. Ainsi la recherche de ce réarrangement serait d'avantage informative sur le plan pronostic en présence d'adénopathies classées LN1 ou LN2, mais elle se fait aujourd'hui par technique de PCR tandis que l'impact pronostic avec cette technique n'est démontré⁴⁵.

La stadification TNMB permettait dans la 1^{ère} étude de Sausville et al⁴¹ de 1988 de distinguer 3 groupes pronostics pour le mycosis fongoïde :

- un premier groupe sans envahissement sanguin, ganglionnaire ou viscéral, de bon pronostic, comprenant donc les stades IA, IB, IIA : survie à 5 ans de 90 % avec une médiane > 12 ans.
- un deuxième groupe, de pronostic intermédiaire, correspondant aux stades IIB (atteinte tumorale classée T3), aux stades III (érythrodermiques), aux stades IVA1 (envahissement sanguin classé B2), ou aux stades IVA2 en rapport avec une adénopathie envahie classée LN3 : médiane de survie d'environ 60 mois.
- un troisième groupe, de mauvais pronostic, comprenant les stades IVA2 en rapport avec une adénopathie envahie classée LN4, ou les stades IVB (métastatiques) : médiane de survie est de 30 mois environ.

Une étude à long terme de Kim et al sur 525 patients⁴⁶ de 2003 confirmait sur une large cohorte rétrospective l'apport pronostic de cette classification TNMB et identifiait toujours en analyse multivariée l'impact de l'extension cutanée, du stade métastatique, ainsi que de l'âge. L'envahissement sanguin était à la limite de la significativité.

Après la révision en 2007 de la classification de 2005, une étude de validation de la nouvelle classification TNMB est menée par Agar et al,³³ portant sur une cohorte

rétrospective de 1 502 patients atteints de mycosis fongoïde adressés entre 1980 et 2009 dans son établissement.

Dans cette étude, les facteurs suivants sont associés aussi bien à la survie globale qu'à la mortalité par mycosis fongoïde et au risque de progression en analyse multivariée : l'âge, la classification T cutanée, le folliculotropisme, la transformation, le taux de LDH élevé.

- au stade IA (29,2 % de la cohorte) : la survie globale est de 35,5 ans, avec une survie spécifique de 90% à 20 ans comparable à celle des patients indemnes de la maladie ; le risque de progression est de 18 % à 20 ans
- au stade IB (38,8 % de la cohorte) : la médiane de survie globale est de 21,5 ans, avec une survie spécifique de 67 % à 20 ans ; le risque de progression est de 47 %
- au stade IIA (2,7 % de la cohorte) : la médiane de survie globale est de 15,8 ans, avec une survie spécifique de 60 % à 20 ans ; le risque de progression est de 41 % à 20 ans
- au stade IIB (11,1 % de la cohorte) : la médiane de survie globale est de 4,7 ans, avec une survie spécifique de 56 % à 20 ans ; le risque de progression est de 48 % à 5 ans et de 71 % à 20 ans
- aux stades IIIA (6,7 %) et IIIB (3,7 %) : la médiane de survie globale est de 4,7 ans et 3,4 ans respectivement, avec une survie spécifique de 45% à 10 ans
- au stade IVA1 (4,5 % de la cohorte) : la médiane de survie globale est de 3,8 ans, avec une survie spécifique de 41 % à 5 ans, 20 % à 10 ans ; le risque de progression est de 62 % à 5 ans.

- au stade IVA2 (2,5 % de la cohorte) : la médiane de survie globale est de 2,1 ans avec une survie spécifique de 23 % à 5 ans, et de 20 % à 10 ans ; le risque de progression est de 77 % à 5 ans.
- au stade IVB (14 patients soit 0,9 %) : la médiane de survie est de 1,4 ans, avec une survie spécifique de 18% à 5 ans.

On observe dans cette cohorte que la survie des patients érythrodermiques sans cellule de Sézary circulante (stade IIIA) est comparable à la survie des patients au stade tumoral IIB, encourageant les cliniciens à poursuivre leur description des lésions en renseignant T4(3) en cas de présence concomitante d'une érythrodermie et de tumeur, comme évoqué dans la révision de 2007.²²

Par ailleurs la détection d'un clone circulant est identifiée par Agar et al comme étant un facteur pronostic indépendant en survie globale (en comparant les patients classés B0b et B0a).

Des suggestions de scores pronostics pour le mycosis fongoïde et le syndrome de Sézary ont découlé de ces observations. Une étude rétrospective internationale de Scarisbrick et al portant sur 1 275 cas de mycosis fongoïde de stades avancés et de syndrome de Sézary ne retrouve parmi 10 facteurs que 4 facteurs ayant un impact pronostic péjoratif qui se confirme en analyse multivariée. Les 10 facteurs comportent l'âge > 60 ans, le sexe masculin, les stades IV (par opposition aux III et IIB), le folliculotropisme, la présence d'une transformation histologique, la positivité du CD30 (seuil arbitraire de 10%), l'indice de prolifération Ki67 \geq 20%, la leucocytose, la lymphocytose, la présence d'un clone circulant identique au clone dans la peau et un taux de LDH élevé au diagnostic. Les 4 facteurs reliés au pronostic défavorable sont l'âge, le stade, le taux de LDH et la transformation. Ils feront l'objet d'une proposition

de score pronostic. Ce dernier permet de classer les malades de stades avancés en 3 groupes de risque : un groupe de faible risque (0 à 1 facteurs présents) avec une survie globale à 5 ans de 67,8 %, un groupe de risque intermédiaire (présence de 2 facteurs) avec une survie de 43,5 % et enfin un groupe de haut risque (3 ou 4 facteurs positifs) avec une survie de 27,6%.

8.2 L'HISTOLOGIE A UN RÔLE PRONOSTIC

Dans la série de Diamandiou et al⁴⁷ (1999), parmi 115 cas de mycosis fongoïde, la progression vers une transformation histologique était observée à 12 ans dans 39 % des cas, avec un délai médian de transformation de 12 mois (observée de 0 jusqu'à 10 ans). La survie médiane à la transformation était de 19.4 mois, avec les facteurs de risques suivants associés à un mauvais pronostic : une transformation rapide (délai < 2 ans), ou une transformation survenant à un stade avancé \geq IIB.

Il existe des cas de mycosis fongoïde transformé restant indolents. Une étude parue en 2012⁴⁸ identifie comme marqueurs péjoratifs supplémentaires associés à la survie liée à la maladie : l'étendue de l'atteinte cutanée, la transformation d'un site extra-cutané, le folliculotropisme, ainsi que la négativité pour le marqueur CD30.

Ce caractère péjoratif du folliculotropisme n'est pas toujours identifié comme un facteur indépendant de mauvais pronostic. Le suivi de la cohorte de Van Santer et al publiée dans le JAMA Dermatology en 2016⁴⁹ mettait en évidence un sous-groupe de mycosis fongoïde folliculotrope (FMF) en plaque avec un pronostic favorable, proche de celui du mycosis fongoïde classique, présentant en histologie un infiltrat intra ou périfolliculaire épars composé en majorité de lymphocytes de petite taille en faible nombre. La clinique ne permettait pas de les différencier d'un FMF en plaque de plus mauvais pronostic. En effet, l'aspect de plaque peut aussi bien être lié à un infiltrat

abondant de lymphocytes tumoraux, qu'à un excès de dépôt de mucine, ou à un infiltrat inflammatoire.

Pour le KIR3DL2, un marquage > 10% des lymphocytes sur biopsie cutanée ne peut pas être retenu comme facteur pronostic du mycosis fongoïde¹⁷.

8.3 LA SURINFECTION A STAPHYLOCOCCUS AURES EST ASSOCIEE AU DECES

Les patients qui décèdent de mycosis fongoïde décèdent plus souvent d'une surinfection bactérienne que de l'envahissement direct de la peau par les cellules tumorales. Une antibiothérapie par C1G anti-staphylococcique est souvent efficace contre le prurit et diminue l'extension cutanée de la maladie, en faveur d'une stimulation par l'infection de la croissance tumorale. Cette hypothèse oncogénique a été démontrée en 2016⁵⁰ : le mécanisme physiopathologique implique la toxine SEA (*Staphylococcal enterotoxin A*) du *Staphylococcus aureus* qui stimule une production d'interleukine 2 et d'autres cytokines par les cellules T non tumorales présentes dans l'infiltrat. Ceci est responsable d'une activation de la voie de signalisation STAT3 dans les cellules T tumorales.

8.4 FACTEURS DE RISQUE DE PROGRESSION DE LA MALADIE

Nous remarquons que peu d'éléments permettent de prédire l'évolution du mycosis fongoïde localisé vers des formes plus étendues.

L'expression du KIR3DL2 sur sang est proposée par Roelens et al afin de redéfinir la classification B : dans une étude prospective, la présence de lymphocytes T marqués par le CD4+ KIR3DL2+ en nombre > 200 /mm³ chez les 7 patients par ailleurs classé B1 est associée à une progression vers un envahissement B2 dans les 7 mois⁵¹.

Le mycosis fongoïde présente une hétérogénéité clonale comme décrit plus haut et la détection d'un même clone sur divers sites biopsiques pourrait être reliée au risque de progression (Vega et al, 2002, technique PCR de séquençage du TCR-gamma)⁵².

De Masson et al rapportent dans une étude monocentrique de patients atteints de mycosis fongoïde et de syndrome de Sézary que la fréquence du clone tumoral estimée par technique de séquençage haut débit (HTS) du TCR-bêta est pronostique⁵³ : une fréquence de clone > 25% est associée à une progression clinique et à une réduction de la survie globale, indépendamment de l'âge et du stade tumoral.

9. Apport du séquençage exomique dans le lymphome :

9.1 GENERALITE : APPORT DU SEQUENCAGE EXOMIQUE DANS LES HEMOPATHIES.

EXEMPLE DU MYELOME MULTIPLE

L'étude génétique des hémopathies et cancers permet d'identifier les anomalies initiatrices de l'oncogenèse. Elle peut se faire par séquençage génomique complet (WGS) ou par séquençage exomique complet (WES). Les anomalies récurrentes peuvent se rechercher de façon ciblée pour la pratique clinique. Le domaine de la transcriptomique est moins applicable en routine.

Le séquençage génomique complet appliqué à l'analyse du myélome multiple indolent permet de déterminer la temporalité d'acquisition des anomalies génétiques, et d'affiner l'analyse du risque de progression.⁵⁴

9.2 DONNEES DE SEQUANPAGE IDENTIFIEES DANS LA LITTERATURE POUR LE MYCOSIS FUNGICIDE

Les cellules de mycosis fongicid sont clonales. Cela peut être affirmé par la présence d'anomalies cytogénétique⁵⁵ et l'étude du TCR en biologie moléculaire²⁰

L'équipe de da Silva Almeida et al⁵⁶ réalisait en 2015 un séquençage exomique complet sur 42 cas de lymphome T cutanés primitifs comptant 8 cas de mycosis fongicid.

Parmi les anomalies identifiées pour les cas de mycosis fongicid, il y avait peu de variations du nombre de copies d'ADN (médiane de 1, intervalle entre 0 et 2), contrairement aux cas de lymphomes T cutanés leucémiques où étaient retrouvés des gains du chromosome 7 (20% des cas), du bras long du chromosome 8 (52%), du bras long du chromosome 17 (8%), ainsi que des délétions impliquant les gènes suppresseurs de tumeurs *TP53* (17p13.1 pour 52%), *RB1* (13q14.2 pour 16%), *PTEN* (10q23.3 pour 20%), *CDKN1B* (12p13.1 pour 20%).

De nombreuses mutations ponctuelles étaient identifiées pour les cas de mycosis fongicid avec 958 mutations somatiques sur 866 gènes. Elles comprennent des mutations pertes de fonctions dans des gènes clefs régulateurs de l'épigénétique comme les gènes *KMT2D* (MLL2) et *KMT2C* (MLL3) histone H3K4 méthyltransferase, ou encore le gène *SMARCA4*, ainsi que des mutations portant sur les voies de signalisation notamment JAK-STAT (une mutation activatrice de *JAK3* associée à une mutation inactivatrice de *SH2B3*, et une mutation activatrice de *STAT3*), et sur le gène *PREX2* impliqué dans la régulation de *PTEN*.

Un séquençage génomique complet est réalisé pour 5 patients présentant un mycosis fongoïde au stade tumoral la même année dans une autre étude parue dans *Blood*⁵⁷.

Des mutations avec une signature liée aux UV sont retrouvées : des mutations ponctuelles avec un profil fréquent de transition C-T et G-A, ou des variations de 2 nucléotides portant sur des CC. Cette étude retrouve également des mutations affectant la voie de signalisation du récepteur de l'IL-2 portant sur *JAK3* et *STAT5*. Des anomalies du nombre de copies des gènes sont observées pour *ZEB1* (un inhibiteur de la transcription de l'IL-2) chez 2 patients avec une perte d'hétérozygotie dans les échantillons tumoraux. Ainsi les anomalies multiples de la voie de l'interleukine 2 sont observées, et elle pourrait constituer une cible thérapeutique dans le mycosis fongoïde.

Des amplifications du nombre de copie pour *NOTCH2* sont retrouvées sur les échantillons à la fois sains et tumoraux pour les 5 patients, permettant d'émettre l'hypothèse que *NOTCH2* hyperexprimé serait un facteur de prédisposition génétique au mycosis fongoïde.

Au total, les analyses de génétique dans le mycosis fongoïde ne portent que sur un petit nombre de patient dans des cohortes de lymphomes T cutanés primitifs.

OBJECTIFS

1. **Objectif principal : caractériser le profil génomique du mycosis fongoïde, à la recherche d'éléments d'orientation étiologique, de facteurs pronostiques, et de nouvelles cibles thérapeutiques.**

2. **Objectifs secondaires :**

- 2.1 COMPARER L'IMPACT PRONOSTIC DES ANOMALIES GENETIQUES

Une/plusieurs anomalies génétiques est/sont-elle(s) défavorable(s) en survie ?

- 2.2 COMPARER LE PROFIL MOLECULAIRE DES PATIENTS AVEC MYCOSIS FONGOÏDE DE HAUT RISQUE ET DE BAS RISQUE (TELS QUE NOUS LES DEFINIRONS)

Peut-on proposer d'affiner grâce aux marqueurs génétiques l'estimation du risque des patients atteints de mycosis fongoïde ?

- 2.3 COMPARER AU COURS DU SUIVI LES PROFILS MOLECULAIRES DES PATIENTS PROGRESSEURS ET NON PROGRESSEURS (TELS QUE NOUS LES DEFINIRONS)

Les profils génétiques sont-ils différents ? Certaines anomalies sont-elles acquises lors de l'évolution ou sont-elles présentes au diagnostic ?

METHODE

1. L'échantillonnage

Les échantillons sont obtenus par microdissection des tumeurs. Le pourcentage de cellules tumorales (%PCT) est ensuite estimé par observation microscopique : 77 échantillons sont initialement extraits à partir des 68 biopsies correspondant à 54 patients, seulement 3 se situent en peau saine (%PCT < 5% dans l'échantillon), laissant 74 échantillons en tissus tumoral (dont 3 ganglionnaires) correspondant à 53 patients.

Le séquençage est un échec pour 7 des échantillons cutanés. Finalement, la cohorte comprend 67 échantillons tumoraux (64 échantillons cutanés et 3 ganglionnaires) provenant de 48 patients et 3 échantillons de tissus cutanés normaux, dont 1 correspondant à un 49^{ème} patient (pas de tissu tumoral disponible pour ce dernier patient).

Ajouté à nos échantillons, un supplément de 10 échantillons de sang humain a été transmis par le département Research Blood Component (Watertown, Massachusetts, États-Unis). Ces 10 échantillons de sang en complément des 3 échantillons de peau saine de notre cohorte nous serviront à construire un panel d'échantillons normaux (*Panel of Normal – PoN*), afin de filtrer les éventuelles erreurs survenues lors des étapes de préparation ou de séquençage. Ils nous permettront également dans une moindre mesure de filtrer les événements génétiques germinaux.

2. Extraction de l'ADN et séquençage par WES

Les échantillons sont envoyés pour séquençage exomique complet (*whole exome sequencing* – WES) à la plateforme génomique du Broad Institute du MIT (Cambridge, Massachusetts, États-Unis).

Au préalable la quantité d'ADN extrait a été dosée par spectrophotométrie grâce au kit « Quant-iT Picogreen dsDNA Assay » (Life technologies). Une quantité de 100 ng d'ADN génomique est utilisée pour la fragmentation de l'ADN sur le *Covaris ultrasonicator*, en ciblant un pic de pair de base d'environ 150-200 bp.

Les bibliothèques d'ADN sont préparées à l'aide du kit « Agilent SureSelect XT low input » avec capture des régions cibles par « SureSelect Human All Exon V7 » et le kit d'amorces « Dual-Index Adapter » d'Illumina. Les manipulations sont réalisées en accord avec les recommandations du fournisseur, de manière automatisée par le robot *Bravo NGS liquid handling*. La taille finale des bibliothèques a été obtenue avec le kit « Agilent High Sensitivity DNA Analysis » sur l'instrument *Bioanalyser 2100* et quantifiée par qPCR en utilisant le kit « KAPA Library Quantification ».

Les bibliothèques sont regroupées et séquencées en utilisant des lectures paired end de 2 x 100 bp sur une flowcell S4 de la plateforme Illumina *NovaSeq 6000*, afin d'atteindre une profondeur de séquençage moyenne d'environ 300X.

3. Analyse bio-informatique

3.1 PRETRAITEMENT

Les données sont analysées sur la plateforme d'informatique FireCloud (Broad Institute) qui regroupe les outils bioinformatiques pour l'analyse de données génétiques.

La qualité des sorties brutes de séquençage au format fastq est obtenue avec le logiciel *FastQC*⁵⁸ et visualisée à l'échelle de la cohorte entière avec *MultiQC*⁵⁹.

Les amorces Illumina, les lectures de très petites tailles (< 30 pb) et celles de mauvaise qualité ont été retirées avec *CutAdapt*⁶⁰.

Les séquences sont alignées avec le logiciel *BWA-MEM*⁶¹ et la qualité de l'alignement a été estimée par les outils de la suite logicielle Picard.

Le nettoyage post-alignement a consisté au retrait des lectures dupliquées avec *MarkDuplicates* (Picard, Broad Institute)⁶² au réalignement local autour des InDels (Insertions-Délétions) avec *IndelRealigner* et à la recalibration de la qualité des bases avec *BaseRecalibrator* et *ApplyBQSR* (GATK, Broad Institute)⁶³.

Lors de la préparation des échantillons en laboratoire, il existe des risques de contamination ou d'inversion. Ces risques sont estimés respectivement avec *CalculateContamination*⁶⁴ et *CrossCheckLaneFingerprints*⁶² et aucune erreur n'a été identifiée.

Enfin, de potentiels artefacts OxoG (Oxydation de la guanine en 8-oxoguanine), qui peuvent survenir lors de la préparation des bibliothèques génomiques sous l'effet combiné de la chaleur, du découpage de l'ADN et de l'introduction de contaminants métalliques, sont retirés avec *CollectOxoGMetrics*.⁶²

3.2 IDENTIFICATION DES VARIATIONS DU NOMBRE DE COPIES SOMATIQUES

Les variations du nombre de copies somatiques (*Somatic Copy Number Variations* - SCNVs) et les variations alléliques à l'échelle de l'exome sont détectées avec le logiciel *ModelSegments*⁶⁴. Pour résumer, le logiciel va utiliser le PoN de nos 13 échantillons sains pour détecter les variations de copies et du nombre d'allèle dans chaque échantillon tumoral et va modéliser les différents segments. Le logiciel est

utilisé en mode *Tumor-Only* pour l'intégralité des échantillons et lancé de nouveau en mode *Mached-Normal* pour les trois échantillons tumoraux qui ont un échantillon normal associé.

Les SCNVs larges et focaux fréquents dans la cohorte sont mis en évidence par GISTIC2.0 (*genomic identification of ignificant targets in cancer*)⁶⁵.

3.3 IDENTIFICATION DES MUTATIONS SOMATIQUES

Les mutations somatiques (*Somatic Single Nucleotide Variants* - SSNVs) et InDels sont détectées avec un pipeline bioinformatique – ou séquence de logiciels - développé par les ingénieurs du Broad Institute « *CGA WES Characterization Pipeline* » : les SSNVs sont détectés par *MuTect*⁶⁶ et les Indels par *Strelka*⁶⁷ et *Mutect2*⁶⁸.

Les résultats de ces trois logiciels sont ensuite filtrés par *MAFPoNFilter*⁶⁹. Ce dernier utilise deux PoNs afin de ségréger les variants somatiques (mutations acquises) des variants germinaux (mutations constitutionnelles) : le PoNs qui provient de notre cohorte (13 échantillons Normaux WES) et celui en accès contrôlé qui est utilisé dans les analyses de routine du Broad Institute (8 334 échantillons Normaux WES provenant de la base de données du TCGA).

Les variants somatiques (SSNVs et InDels) sont annotés pour déterminer leur effet oncogène avec *Variant Effect Predictor*⁷⁰ et *Oncotator*⁷¹.

Ils sont ensuite validés par l'outil *MutationValidator* (Broad Institute) qui va établir le nombre minimal de lectures portant le variant, afin que ce dernier soit considéré comme somatique.

Les gènes mutés de façon significative sont déterminés par *MutSig2CV*⁶⁹.

3.4 ESTIMATION DES FRACTIONS DE CELLULES CANCEREUSES

Le logiciel ABSOLUTE⁷² détermine la pureté et la ploïdie de chaque échantillon à partir des données de SSNVs établies par *MutSig2CV* et de SCNVs établies par GISTIC2.0. Il nous sert à déterminer la fraction tumorale (CCF pour *cancer cell fraction*) de chaque altération exomique. Pour les échantillons tumoraux sans échantillon normal associé, nous appliquons un filtre Tumor-Only supplémentaire comme décrit dans l'article de Chapuy et al. 2018⁷³. Pour résumer, pour chaque variant (In/del et SSNCs) on utilise sa CCF, le nombre de copie de ce variant, ainsi que la ploïdie et la pureté de l'échantillon pour calculer la probabilité que la fraction allélique de ce variant soit cohérente avec un modèle germinale ou somatique. Le filtre va ainsi établir un seuil pour chaque échantillon permettant de retirer des variants germinaux supplémentaires. Enfin, les variants portés par des gènes connus pour être des « *Fishy genes* », c'est-à-dire des gènes faux positifs et qui ne sont pas plausibles dans le développement des cancers, sont retirés manuellement selon la liste établie par Lawrence et al. 2013⁷⁴.

4. Patients

Notre cohorte comprend 54 patients diagnostiqués au CHRU de Lille en France entre 2003 et 2017, suivis dans les services de dermatologie du Professeur Mortier ou d'hématologie du Professeur Facon, pour lesquels 68 biopsies congelées (65 biopsies cutanées et 3 ganglionnaires) étaient conservées à la tumorotheque du C2RC du CHU. Pour 13 des patients, plusieurs échantillons sont prélevés à différents stades de la maladie (échantillons séquentiels disponibles).

Au préalable à l'étude nous avons reçus un avis favorable du comité de protection des personnes (CPP) Nord-Ouest IV, émis en date du 16 mars 2018, référence ECH 18/03, autorisant la requalification des échantillons et nous accordant une dérogation au recueil de la non-opposition des patients.

Le séquençage exomique complet a pu être réalisé pour 48 patients. La date du diagnostic est fixée à la date du 1^{er} échantillon séquencé pour ces 48 patients avec au moins un séquençage disponible. Elle est fixée à la date de la 1^{ère} histologie disponible pour les 6 autres patients. C'est à cette date de référence que sont décrits clinique et histologie pour les patients. Elle servira également de date de début de suivi pour les analyses de progression et de survie. Cependant, nous choisissons pour la description des traitements reçus d'inclure les traitements ultérieurs dans un souci de fidélité à la réalité clinique.

La période de suivi s'étend du diagnostic jusqu'à la date de dernière nouvelle. Le recueil des données cliniques au diagnostic et durant la période de suivi se fait de façon rétrospective.

5. Choix des catégories de risque

Les données disponibles dans la littérature nous permettent d'identifier de façon formelle la classification TNMB ainsi que l'histologie transformée comme des facteurs péjoratifs associés à une survie réduite.

Nous faisons le choix sur la base de ces informations de définir dans notre étude 2 catégories de risque de décès au diagnostic pour servir de fondement à la description de notre population. Ces 2 catégories serviront de référence pour la comparaison des événements cliniques et des profils d'anomalies génétiques.

- Patients à bas risque : présentant un mycosis fongoïde de stade localisé < IIB et sans transformation histologique.
- Patients à haut risque : présentant un mycosis fongoïde de stade avancé ≥ IIB, ou une transformation histologique.

6. La progression

Nous définissons la progression comme un critère composite. Elle concerne les patients avec mycosis fongoïde de bas risque. Elle correspond à l'évolution vers la catégorie que nous avons défini de haut risque, avec l'apparition d'une transformation histologique ou d'une extension clinique vers un stade ≥ IIB.

La progression est étudiée pour les 54 patients de la cohorte initiale. Elle sera analysée en fonction des anomalies de séquençage seulement pour les 48 patients pour lesquels un séquençage exomique complet est disponible.

7. Analyses statistiques

Notre étude est rétrospective, unicentrique. Les proportions sont analysées grâce au test de student. Les comparaisons de courbes de survie et de progressions sont réalisées par un test de LogRank sur le logiciel air.

RESULTATS

1. Description de la population

1.1 CARACTERISTIQUES DES PATIENTS AU DIAGNOSTIC (TABLEAU n°1).

Tableau n°1 : population au diagnostic	Population globale	Mycosis fongoïde localisé et non transformé	Mycosis fongoïde avancé et/ou transformé
Nombre de patient	54	31	23
Âge (année) ; médiane, rang	63 (19-94)	55,1 (19,2-89,3)	70
Groupes selon l'Âge :			
< 60 ans	23 (43 %)	17 (55 %)	6 (26 %)
≥ 60 ans	31 (57 %)	14 (45 %)	17 (74 %)
Sexe :			
Masculin	32 (59 %)	18 (58 %)	14 (61 %)
Feminin	22 (41 %)	13 (42 %)	9 (39 %)
ECOG :			
0	36/47	24/28	12/19
1	9/47	2/28	7/19
2	2/47	2/28	0/19
3 ou 4	0/47	0/28	0/19
Stade clinique :			
IA	15 (28 %)	14 (45 %)	1 (4 %)
IB	20 (37 %)	17 (55 %)	3 (13 %)
IIA	2 (4 %)	0	2 (9 %)
IIB	8 (15 %)	0	8 (35 %)
IIIA	4 (7 %)	0	4 (17 %)
IIIB	2 (4 %)	0	2 (9 %)
IVA1	2 (4 %)	0	2 (9 %)
IVA2	1 (≈ 2 %)	0	1 (4 %)
IVB	0	0	0
Histologie :			
Mycosis fongoïde classique	30 (56 %)	26 (84 %)	4 (17 %)
Réticulose Pagétoïde	0	0	0
Granulomatose chalazodermique	0	0	0
Mycosis fongoïde folliculotrope	6 (11 %)	5 (16 %)	1 (≈ 4 %)
Mycosis fongoïde transformé	18 (33 %)	0	18 (78 %)
Expression du CD30	14/20	5/8	9/12
Séquençage disponible	48 (89 %)	26 (84 %)	22 (96 %)

Notre cohorte compte 54 patients, suivi pendant une durée médiane de 4,3 ans (minimum 1 mois maximum 14 ans). Il existe une prédominance masculine attendue avec 32 hommes pour 22 femmes (ratio 1,45 :1). La médiane d'âge est de 63 ans.

Cliniquement, 37 patients (69 % de la cohorte) ont un mycosis fongoïde précoce à un stade < IIB et 17 patients (31 % de la cohorte) ont un mycosis fongoïde à un stade avancé ≥ IIB.

Plus en détails notre cohorte comprend 28% de patients avec un stade IA, 37 % de stade IB, 4 % de stade IIA, 15 % de stades IIB, 7 % de stades IIIA, 4 % de stades IIIB, 4 % de stade IVA1 et 2% de stades IVA2. On notera que ces proportions sont comparables à celles observées dans la cohorte d'Agar et al³³ de validation de la révision de la classification TNMB de 2007.

Histologiquement, 30 patients (56 % de la cohorte) ont un mycosis fongoïde classique, 6 patients (11 %) un variant folliculotrope de mycosis fongoïde et 18 patients (33 %) ont un mycosis fongoïde histologiquement transformé. Aucun des patients de notre cohorte n'a de variant chalazodermique ni de réticulose pagétoïde.

L'expression du CD30 est renseignée pour 20 patients de la cohorte (37 % de la population), elle est positive pour 14 (70 %).

L'histologie selon le stade clinique est détaillée dans le tableau 2.

<u>Tableau n°2 : histologie selon la classification TNMB</u>	IA	IB	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IVA1	IVA2
Total de patients	15 (100 %)	20 (100 %)	2 (100 %)	8 (100 %)	4 (100 %)	2 (100 %)	2 (100 %)	1
Histologie transformée	1 (7 %)	3 (15 %)	2 (100 %)	6 (75 %)	1 (25 %)	2 (100 %)	2 (100 %)	1
Mycosis fongoïde classique	11 (73 %)	15 (75 %)	0	1 (≈13 %)	3 (75 %)	0	0	0
Mycosis fongoïde folliculotrope	3 (20 %)	2 (10 %)	0	1 (≈13 %)	0	0	0	0
CD30 (expression positive / connue)	2/3	4/8	1/1	6/6	0/0	0/1	1/1	0/0
Séquençage disponible	13/15	17/20	2/2	8/8	3/4	2/2	2/2	1/1

- Parmi les 15 patients de stade IA (surface corporelle atteinte < 10 %) : 1 patient présente une transformation histologique, 3 patients ont un variant folliculotrope, les 11 autres patients ont un mycosis fongoïde classique.

L'expression du CD30 est connue pour 3 patients, elle est positive pour 2 d'entre eux. Elle n'est pas connue pour le patient avec transformation histologique.

- Parmi les 20 patients de stade IB (surface corporelle atteinte entre > 10 % et < 80 %) : 3 patients ont une transformation histologique, 2 patients un variant folliculotrope et les 15 autres patients un mycosis fongoïdes classique. L'expression du CD30 est connue pour 8 patients, elle est positive pour 4 patients dont seulement 1 avec histologie transformée.
- Parmi les patients de stade IIA (avec adénopathie clinique sans histologie spécifique) : les 2 patients ont une transformation histologique les classant en patients de haut risque alors que le stade clinique ne le permettait pas. L'expression du CD30 est connue pour 1 de ces 2 patients, elle est positive.
- Parmi les 8 patients de stade IIB (stade tumoral) : 6 patients ont une transformation histologique, 1 patient a un variant folliculotrope et 1 patient un mycosis fongoïde classique. L'expression du CD30 est connue pour 6 patients dont 5 avec histologie transformée et 1 avec mycosis fongoïde classique. Elle est positive pour tous les cas.
- Parmi les 4 patients de stade IIIA (stade érythrodermique) : 1 patient a une histologie transformée et 4 patients ont un mycosis fongoïde classique.

L'expression du CD30 n'est pas disponible.

- Parmi les stades IIIB (envahissement sanguin limité classé B1) les 2 patients ont une transformation histologique. L'expression du CD30 est connue pour 1 de ces 2 patients, elle est négative.

- Parmi les stades IVA1 (envahissement sanguin classant B2) les 2 patients ont une transformation histologique. L'expression du CD30 est connue pour 1 patient, elle est positive.
- 1 patient présente un stade IVA2 (envahissement lymphomateux ganglionnaire) l'histologie est transformée. L'expression du CD30 n'est pas disponible.
- Notre cohorte ne comprend pas de patient avec atteinte métastatique IVAB au diagnostic.

Le séquençage exomique complet est un échec pour cinq patients de faible risque et pour un patient de haut risque. L'échantillon était situé en peau saine pour un patient de bas risque. Au total le séquençage exomique complet est disponible pour 48 patients de faible risque et 22 patients de haut risque.

1.2 TRAITEMENTS REÇUS

Les 54 patients bénéficient en médiane de 2 lignes de traitements.

En 1^{ère} ligne, les thérapeutiques les plus fréquemment administrées sont la PUVA thérapie (pour dix-huit patients), puis le méthotrexate en monothérapie (pour douze patients), puis les rétinoïdes (pour sept patients) et les dermocorticoïdes en monothérapie (sept patients). Ces traitements sont reçus en association avec la PUVA-thérapie dans 1/3 des cas. L'interféron est moins utilisé (pour trois patients). La radiothérapie localisée bénéficie à deux patients avec stade localisé IA.

Les traitements hématologiques de 1^{ère} ligne concernent quatre patients. Les patients âgés ou avec comorbidités avec une maladie à un stade avancé et transformé bénéficient d'un traitement par chloraminophene en association à une corticothérapie

systemique. Un patient fit de 70 ans bénéficie de doxorubicine liposomale. Une patiente jeune avec maladie avancée et histologie transformée bénéficie d'une chimiothérapie par CHOP.

En 2^{ème} ligne les thérapeutiques les plus fréquemment administrées sont le méthotrexate (pour seize patients), puis les rétinoïdes (pour sept patients), suivi de la PUVA-thérapie (quatre patients) et des dermocorticoïdes en monothérapie (quatre patients). L'interféron (trois patients) et la radiothérapie (deux patients) sont moins utilisés. Le méthotrexate et l'interféron sont utilisés en maintenance.

Les traitements hématologiques utilisés en 2^{ème} ligne sont : la doxorubicine liposomale pour un patient, la polychimiothérapie type CHOP et le brentuximab-vedotin.

En 3^{ème} ligne les thérapeutiques les plus fréquemment administrées sont le méthotrexate (6 patients), l'interféron (cinq patients) et les rétinoïdes (trois patients). La PUVA-thérapie et la radiothérapie sont utilisés seules ou en association. Les traitements hématologiques de 3^{ème} ligne ont concerné sept patients avec maladie étendue ou histologie transformée. Trois patients étaient vierges de chimiothérapie : l'un bénéficie de doxorubicine liposomale, les deux autres sont âgés et bénéficient de chloraminophène jusqu'au décès (à l'âge de 75 ans et relié à un autre cancer pour l'une, à l'âge de 82 ans relié au mycosis fongoïde pour l'autre). Parmi les patients qui recevaient une chimiothérapie intensive préalablement les traitements utilisés sont : la bendamustine, le brentuximab-vedotin, le méthotrexate haute dose en association à de l'aracytine haute dose, l'alemtuzumab et la romidepsine.

Deux patients bénéficient d'une surveillance simple en 1^{ère} ligne : l'un ne bénéficiera pas de traitement après 4 ans de suivi, l'autre bénéficiera d'un traitement par corticothérapie topique seule au cours des 9 années de son suivi. Trois patients

avec histologie transformée, dont un stade IIB, un stade IB et un stade IA, ne bénéficient jamais de traitement hématologique et se portent bien. Sept patients, qui ont au diagnostic ou ultérieurement, une maladie à un stade étendue sans transformation histologique ne bénéficient pas de traitement hématologique et se portent bien.

La doxorubicine liposomale est reçue à l'initiation d'une chimiothérapie intensive même en 4^{ème} ligne et plus. Elle n'est jamais administrée après qu'un autre traitement intensif n'ait été initié.

Six patients reçoivent de la bendamustine pour une maladie de stade avancé avec histologie transformée.

Six patients bénéficient de brentuximab-vedotin pour une maladie de stade étendu avec histologie transformée et expression du CD30+.

Une patiente bénéficie de photophérèse extra-corporelle en maintenance pour une maladie de stade IIIB.

Quatre patients bénéficient de romidepsine. Une patiente sera en réponse partielle jugée suffisante et remplira les critères pour bénéficier d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques en 4^{ème} ligne et se porte bien à ce jour. Les autres décéderont de leur mycosis fongoïde.

Les chimiothérapies per os sont utilisés au stade palliatif. Il peut s'agir de temozolomide (pour une maladie métastatique à l'étage encéphalique), de chloraminophène, ou d'étoposide.

Trois patients jeune et en bon état général bénéficient d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétique. Les conditionnements sont à base de thiotepa, busulfan et fludarabine (TBF ou AlterTBF). Une patiente greffée en réponse partielle

après romidepsine se porte bien. Les deux autres greffés en maladie progressive décèdent à 3 et 8 mois post-allogreffe. Par ailleurs les patients qui présentent une maladie avancée et qui bénéficient d'un traitement hématologique décèdent en l'absence d'allogreffe.

On peut remarquer le cas du patient qui reçoit le plus de ligne de traitement. Il avait un mycosis fongoïde initialement de bas risque. Les 9 lignes de traitements comportent successivement : PUVA-thérapie associée aux rétinoïdes, puis imiquimod topique, puis méthotrexate à la transformation histologique, puis radiothérapie localisée sur lésion tumorale, puis interféron, suivi des traitements hématologiques comportant de la doxorubicine liposomale, puis gemcitabine, puis romidepsine et enfin alemtuzumab. Sa maladie reste réfractaire à ces nombreuses lignes et ce patient décèdera de son mycosis fongoïde.

2. Analyses de survie selon le groupe de risque

La durée médiane de suivi pour le groupe de faible risque est de 4,8 ans. Celle pour le groupe de haut risque est de 3,6 ans.

La survie globale est de 52 % sur la cohorte entière de 54 patients. Elle est significativement plus importante dans le groupe que nous avons défini de haut risque avec une médiane de survie de 3 ans et demi, contre une médiane de survie de 9 ans dans le groupe de bas risque (p -value $0,5 \times 10^{-3}$, test du log rank). Cette donnée nous sert à la confirmation de l'intérêt d'une distinction entre les deux groupes de risque établis initialement, même si elle doit être validée en analyse multivariée.

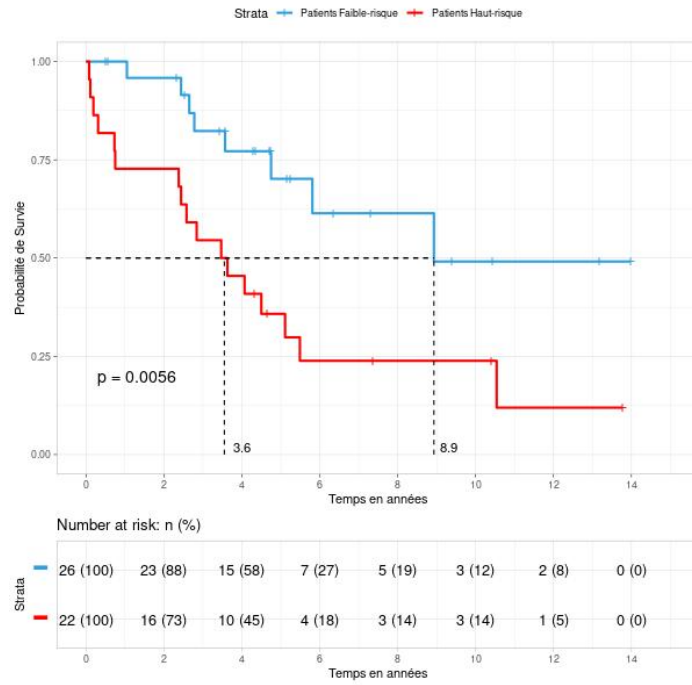


Figure n°1 : probabilité de survie selon le groupe de risque au diagnostic.

3. Anomalies identifiées grâce au séquençage exomique complet

3.1 DESCRIPTION DES ANOMALIES AU DIAGNOSTIC

Nous avons identifié les mutations somatiques et des anomalies du nombre de copies dans la population globale. Nous avons identifié 18 gènes significativement mutés (q-value < 0.1) en utilisant *MutSig2CV*. Nous avons aussi identifié 8 délétions de grande taille, 2 amplifications de grande taille, ainsi que 29 délétions focales et 1 amplification focale (q-value < 0,1) en utilisant GISTIC.

Nous allons vous présenter certaines de ces anomalies récurrentes, souvent reliées à des anomalies connues parmi les gènes pan-cancer. Les anomalies concernent la voie de différenciation du lymphocyte T, des MAPK kinases, JAK/STAT, la voie de signalisation cytokinique de l'IL-2, de régulation du cycle cellulaire et des régulateurs de l'épigénétiques.

3.1.1 Anomalies du nombre de copies (SCNV's) au diagnostic

Parmi les anomalies du nombre de copie identifiées au diagnostic, nous allons vous présenter les anomalies fréquentes, ainsi que certains gènes d'intérêts concernés par l'anomalie et dont le rôle dans l'oncogénèse est connu.

Délétions

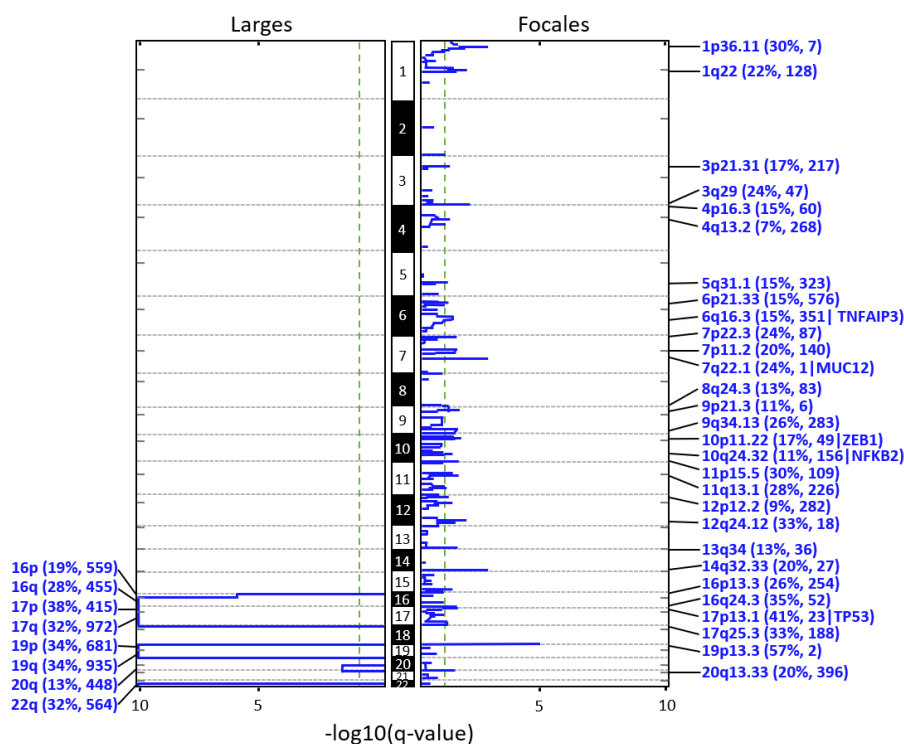


Figure n°5 : délétions larges et focales identifiées sur GISTIC2.0

Bras/Bandes chromosomiques concernées (fréquence de la délétion dans notre population, nombre total de gène porté par ce bras/cette bande [gène associé au cancer]).

Une délétion focale 19p13.3 est la plus fréquente des anomalies observées. Elle est présente dans 57 % des cas au diagnostic (q-value $1,35 \times 10^{-4}$). Elle ne code par ailleurs que pour deux gènes : *GRIN3B* et *TMEM259*. *GRIN3B* code pour une sous-unité du récepteur au N-méthyl-D-aspartate, présent dans les synapses nerveuses.⁷⁵ Son rôle est essentiel à la neurotransmission, mais il n'est pas connu pour être impliqué dans des cancers à ce jour. *TMEM259* code pour la membraline, une protéine qui participerait au contrôle qualité des protéines mal repliées et à la dégradation associée au réticulum endoplasmique (ERAD pour *endoplasmic reticulum-associated degradation*)⁷⁶.

Une délétion focale 17p13.1 est observée pour 41 % de nos patients au diagnostic, q-value 0,016582). Cette bande chromosomique porte le gène *TP53* qui

est le gène suppresseur de tumeur le plus fréquemment muté dans les cancers chez l'homme⁷⁷

Une délétion focale de la bande 10p11.22 est observée pour 17 % patients (q-value 0,01015). Ce segment de chromosome code pour 49 gènes dont *ZEB1*. Ce gène code pour une protéine en doigt de zinc. *ZEB1* exerce un contrôle négatif sur la transcription de l'interleukine 2.⁷⁸

Une délétion focale de la bande 9p21.3 est observée pour 11 % de nos patients au diagnostic (q-value 0,011964). Ce segment de chromosome code pour 6 gènes dont les gènes *MTAP* et *CDKN2A*. *CDKN2A* est un gène suppresseur de tumeur codant pour la protéine p16 ^{*INK4A*} impliquée dans l'inhibition du cycle cellulaire⁷⁹. *MTAP* code pour la methylthioadenosine phosphorylase, une enzyme clef du métabolisme des purines.⁸⁰

Une délétion focale 6q16.3 est observée pour 15 % de nos patients au diagnostic (q-value 0,038479). Ce segment de chromosome code pour 351 gènes. Il porte notamment le gène *TNFAIP3* (tumor necrosis factor- α induced protein 3) qui code pour une protéine qui inhibe le facteur nucléaire- κ B (NF κ B).⁸¹

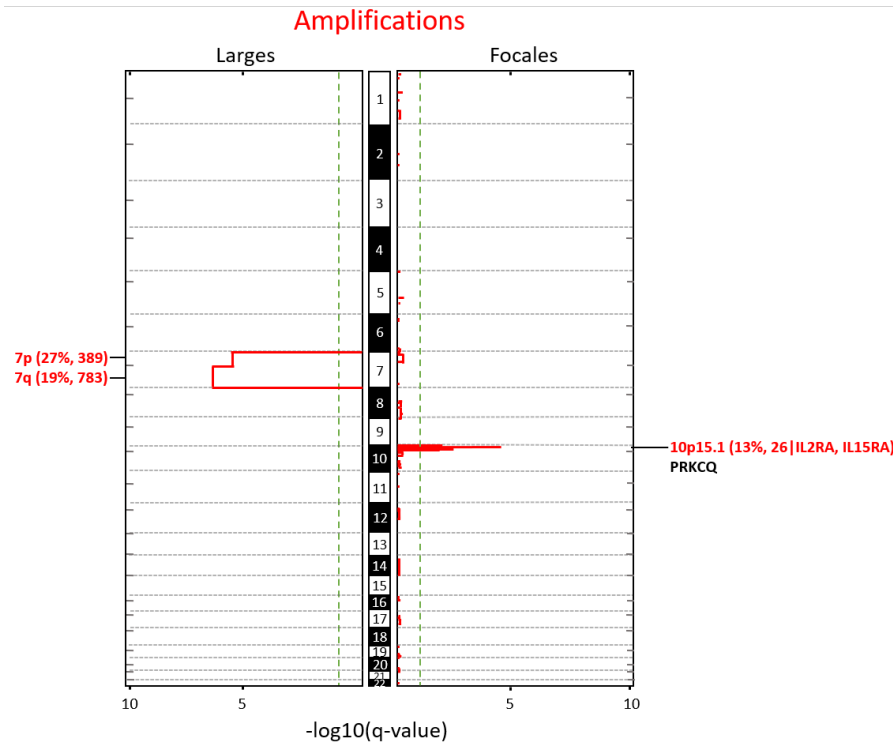


Figure n°4: amplifications larges et focales au diagnostic (GISTIC2.0)
Bras/Bandes chromosomiques concernées (fréquence de l'amplification dans notre population, nombre total de gène porté par ce bras/cette bande [gène associé au cancer]).

Les amplifications de grande taille concernent des gains de bras de chromosomes 7p (27 % de notre cohorte) et 7q (19 %).

L'unique amplification focale identifiée concerne la bande 10p15.1. Elle est observée pour 13 % de nos patients au diagnostic (q-value 3.58×10^{-5}). Cette bande chromosomique comprend 26 gènes, dont les gènes codants pour les chaînes alpha des récepteurs à l'interleukine 2 (IL2R) et interleukine 15 (IL15R). Les récepteurs de l'IL-2 et de l'IL-15 ont un rôle central dans la survie et la mort des lymphocytes T.⁸²

Ces récepteurs partagent une homologie de structure. Ils ont en commun la chaîne γ_c (CD132) et l'IL-2R β (CD122). Ils ont une chaîne qui leur est propre, l'IL-2R α (CD25) et l'IL-15R α (CD215), respectivement. Ils n'ont pas d'activité enzymatique propre. Celle-ci est médiée par les kinases cytoplasmiques JAK1/3 puis l'information transduite par STAT3/5.⁸³

3.1.2 Mutations somatiques au diagnostic

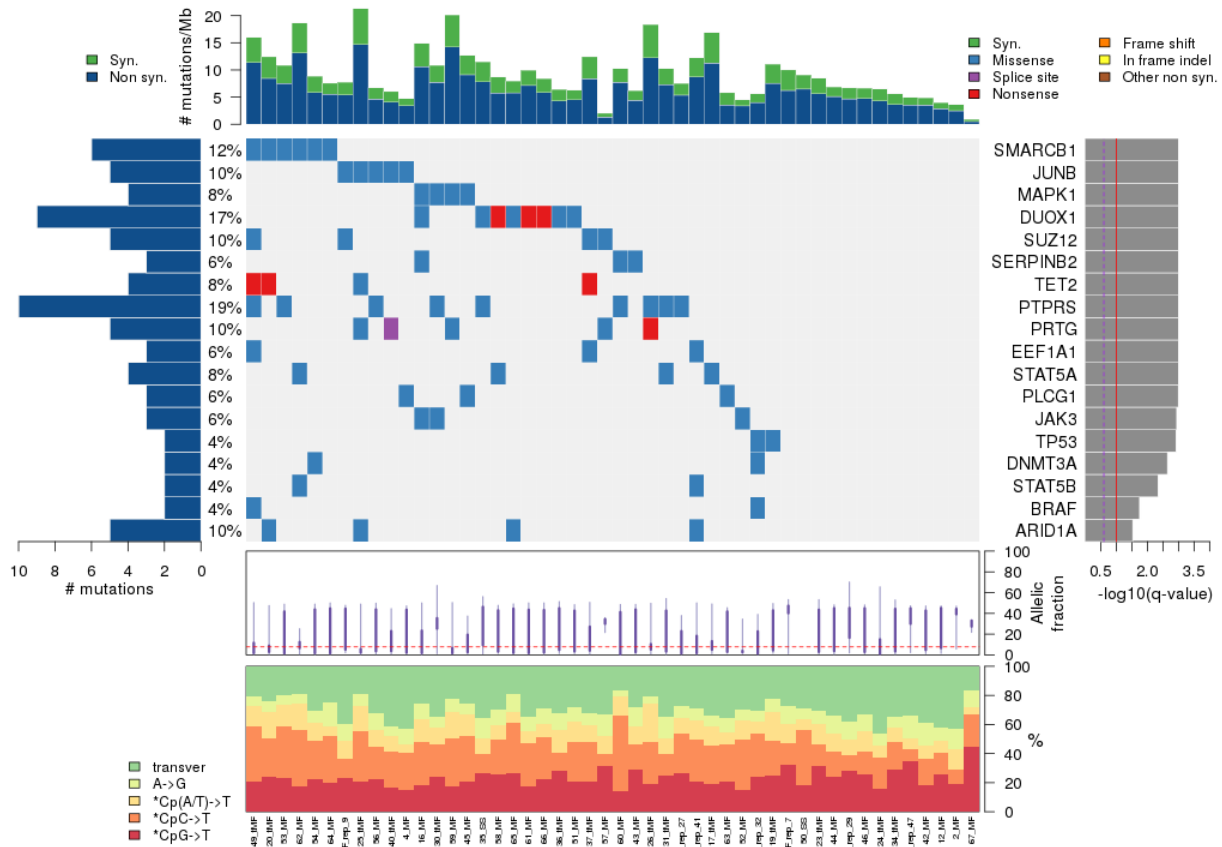


Figure n°2 : mutations somatiques au diagnostic (*MutSig2CV*)

Parmi les 18 mutations somatiques sélectionnées au diagnostic, nous allons vous présenter celles qui sont fréquentes. Le rôle dans l'oncogenèse est décrit lorsqu'il est connu.

Une mutation faux-sens du gène *JUNB* est identifiée pour 10 % de nos patients au diagnostic. Il s'agit d'une seule mutation p.A282V.

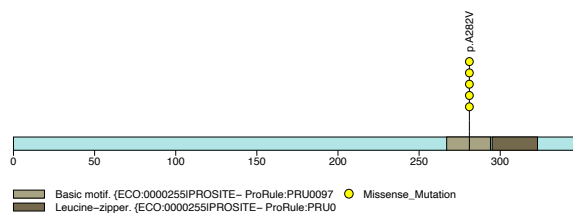


Figure n°3 : Représentation de la mutation faux-sens p.A282V du gène *JUNB*

JUNB est situé au locus 19p13.13. Il code pour protéine qui est une sous-unité d'AP-1 (*activator protein-1*). AP-1 est un facteur de transcription composé d'homou d'hétéro-dimères des protéines des familles Jun, (c-Jun, JunB, JunD), Fos (c-Fos, FosB, Fra-1, Fra-2), ATF (*activating transcription factor*) et MAF (*musculoaponeurotic fibrosarcoma*). *JUNB* est un proto-oncogène qui joue un rôle dans la prolifération lymphocytaire T par le biais d'une promotion de l'expression de l'interleukine 2.⁸⁴

Des mutations faux-sens et une mutation changeant le cadre de lecture du gène *SUZ12* sont identifiées pour 10 % de nos patients au diagnostic. *SUZ12* est un gène localisé au locus 17q11.2. Il code pour la sous-unité *SUZ12* du complexe PRC2 (*polycomb repressive complex 2*), dont les autres sous-unités sont les protéines *EZH2* (Enhancer of Zeste Homolog 1/2) et *EED* (Embryonic Ectoderm Development). Le complexe PRC2 dérégulé induit un phénotype tumoral.⁸⁵ Il a un rôle de répression génique par le biais de modifications épigénétiques des histones. Il favorise le maintien des capacités de renouvellement et de dé-différenciation cellulaire.

Des mutations faux-sens du gène *MAPK1* sont identifiées pour 8 % de nos patients au diagnostic. Ce gène code pour une protéine appartenant à la famille ERK (extracellular-signal-regulated kinase). Elle joue un rôle dans la prolifération et la différenciation cellulaire⁸⁶. Nous avons identifié 3 mutations différentes : la mutation p.D321N, p.E322K et p.E322Q.

Des mutations faux-sens du gène *STAT5A* sont identifiées pour 8 % de nos patients au diagnostic. *STAT5A* est un oncogène localisé au locus 17q21.2. Il code pour la protéine *STAT5A* participant à la voie de signalisation JAK/STAT. Les protéines de la famille *STAT* ont une homologie de structure : elles présentent un domaine N-

terminal permettant l'interaction avec d'autres protéines, un domaine de liaison à l'ADN, un domaine SH2 permettant l'homo- ou l'hétéro-dimérisation aux autres protéines de la famille STAT phosphorylées, ainsi qu'une partie C-terminale. C'est cette dernière partie de transactivation qui permet de stimuler la transcription de gènes. Nous avons identifié 4 mutations : les mutations p.E170K et p.A187V se trouvent sur le domaine de transactivation, les mutations p.P367S et se trouvent dans le domaine de liaison à l'ADN.

Des mutations-faux sens ou non-sens, entraînant un codon stop prématuré, sont identifiées sur gène *TET2* pour 8 % de nos patients au diagnostic. *TET2* est un gène localisé au locus 4q24. Il code pour une protéine de la famille TET (Ten-Eleven Translocation), une enzyme catalysant l'oxydation d'une cytosine méthylée (conversion de 5-methyl-cytosine en 5-hydroxymethyl-cytosine). Les oxydations répétées, suivies d'une étape de réparation de l'ADN, conduisent à la déméthylation passive de l'ADN en situation normale.

Une mutation faux-sens du gène *SMARCB1* (aussi appelé INI1/BAF47) est identifiée pour 12 % de nos patients au diagnostic. *SMARCB1* code pour la protéine SNF5 de BAF, un complexe de remodelage de la chromatine. *SMARCB1* est un gène suppresseur de tumeur localisé au locus 22q11.23. Il exerce une fonction d'une inhibition de l'activité transcriptionnelle de MYC.⁸⁷ On comprend facilement qu'une mutation perte de fonction du domaine de liaison de SNF5 à MYC lève cette inhibition et aboutisse à l'oncogénèse. Nous n'observons ici qu'une seule mutation p.P235S, qui concerne le domaine de liaison de la protéine à MYC.

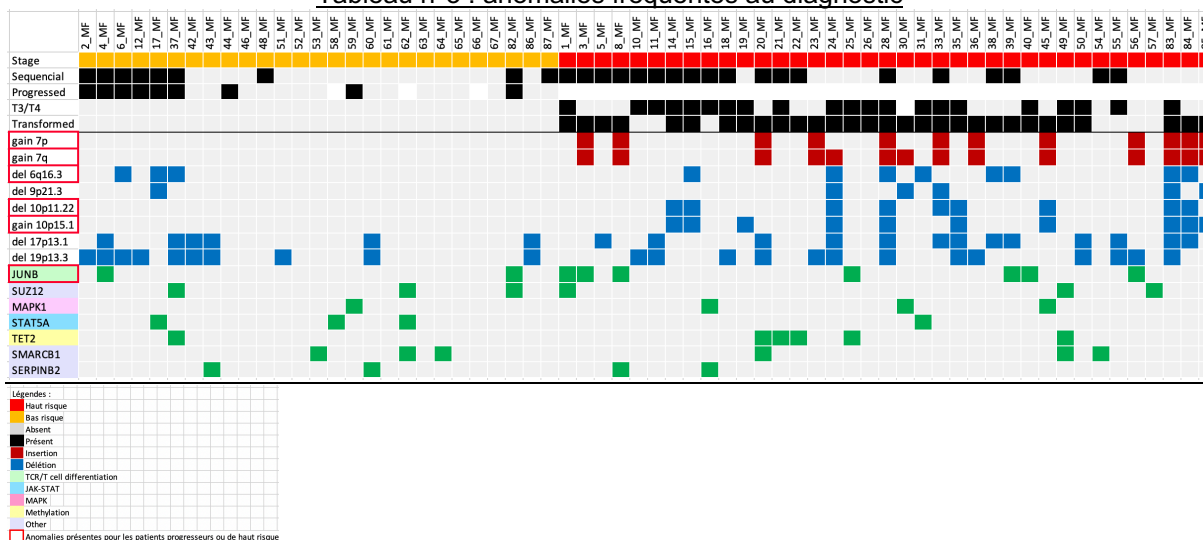
Une mutation du gène *SERPINB2* est identifiée pour 10 % de nos patients au diagnostic. Il s'agit de la mutation faux-sens p.A338T. Le gène *SERPINB2* est localisé

au locus 18q21.33-q22.1. Il code pour l'inhibiteur de l'activateur du plasminogène 2 de type urokinase (PAI-2), une protéine impliquée dans des pathologies inflammatoires et dysimmunitaires⁸⁸ plutôt que dans l'hémostase.

3.2 COMPARAISON DES ANOMALIES AU DIAGNOSTIC CHEZ LES PATIENTS DE BAS RISQUE ET LES PATIENTS DE HAUT RISQUE

Parmi les anomalies séquencées au diagnostic et impliquées dans l'oncogénèse, certaines sont d'avantage observées dans notre population de patients de haut risque que dans celle de bas risque. Nous allons vous présenter lesquelles.

Tableau n°3 : anomalies fréquentes au diagnostic



Les délétions 17p13.1 qui portent le gène *TP53* s'observent chez 24 % des patients de bas risque au diagnostic, contre 29% des patients de haut risque. Cette différence n'est pas significative (p-value 0,68).

La délétion 19p13.3, qui est la plus fréquente dans notre cohorte, ne s'observe pas non plus dans différentes proportions entre nos deux groupes de risque (présente chez 35 % des patients de bas risque et 38 % de haut risque, p-value 0,81).

Il en est de même des délétions focales moins fréquentes 6q16.3 (présente chez 11% des patients de bas risque vs 19 % des haut risque, p-value 0,49), et 9p21.3 (présente chez 3,8 % des patients de bas risque vs 19 % des patients de haut risque, p-value 0,12).

Parmi les délétions focales, une seule, la une délétion 10p11.22, qui porte le gène *ZEB1*, s'observe de façon plus importante à hauteur de 24 % chez les patients de haut risque. Elle est absente chez la population de bas risque. Cette différence est significative (p-value 0,02).

L'amplification 10p15.1, qui porte les gènes codant pour les chaînes IL-2R α et IL-15R α , n'est pas non plus observée chez les patients de faible risque au diagnostic. Elle est plus fréquente, à hauteur de 33% chez patients de haut risque (p-value 0,0049).

Les amplifications larges concernant les bras court et long du chromosomes 7 ne s'observent pas chez les patients de faible risque au diagnostic. Elles sont présentes, chez 38 et 47 % des patients de haut risque respectivement. Cette différence entre le groupe de haut risque et de bas risque est significative (p-value $3,8 \times 10^{-4}$). Une triplication est présente dans 80 % des cas (avec amplification 7q pour tous les cas d'amplification 7p).

Aucune des mutations ponctuelles précédemment décrites n'est plus fréquente dans un groupe de risque que dans l'autre. Ceci concerne donc *JUNB*, *SUZ12*, *MAPK1*, *STAT5A*, *TET2*, *SMARCB1*, et *SERPINB2*.

3.3 DESCRIPTION DE LA PROGRESSION ET DES ANOMALIES GENETIQUES RELIEES

Une des problématiques clinique majeure est d'identifier les patients de bas grade à risque de progression, puisque les patients deviennent alors réfractaires à notre arsenal thérapeutique.

La progression telle que nous l'avons définie concerne 9 des 31 patients avec mycosis fongoïde classé de bas risque. Le délai médian de progression est de 9 ans.

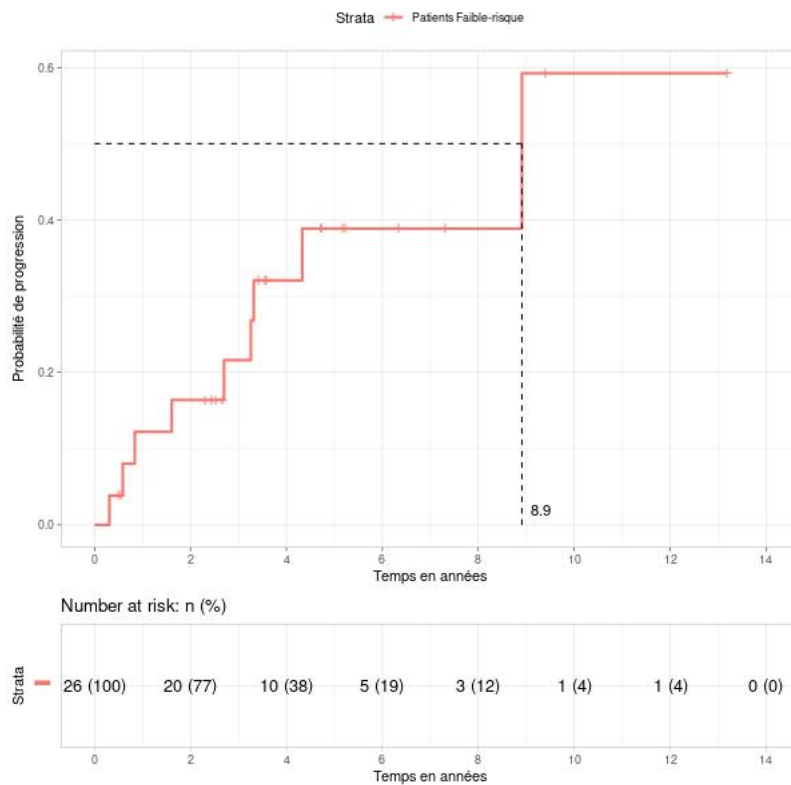


Figure n°4 : Probabilité de progression en fonction du temps chez notre population de faible risque

Parmi les anomalies séquencées au diagnostic, la délétion 6q16.3 n'est pas présente chez les patients de faible risque non progressseurs, tandis qu'elle est présente au diagnostic pour 3 des 9 patients qui progresseront. Le risque de progression chez les patients porteurs de cette délétion 6q16.3 est présenté sur la figure n°5. Il est significativement plus important pour ces patients que pour ceux qui ne la portent pas (p-value 0,04). Ainsi, la délétion 6q16.3 est plus fréquente chez les patients qui progresseront.

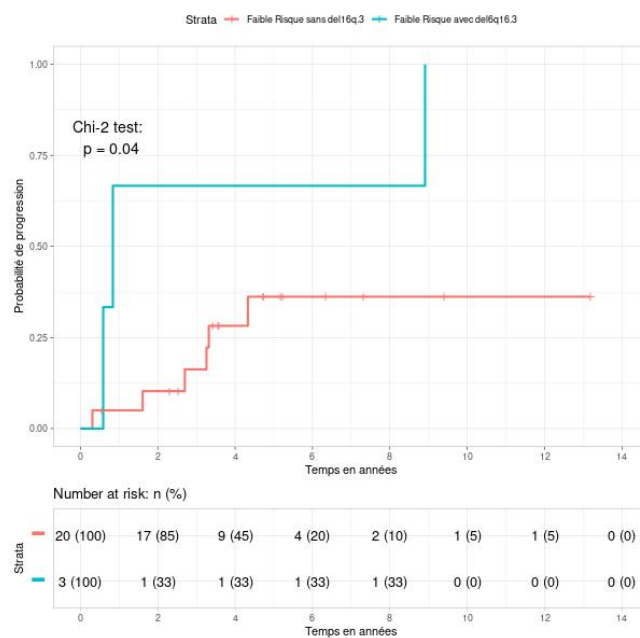


Figure n°5 : Risque de progression selon la présence d'une délétion focale 6q16.3

L'analyse de la progression est également réalisée pour la mutation somatique de *JUNB* (figure n°6). En effet, parmi les patients de faible risque, elle n'est présente que pour deux patients qui progresseront. Cependant la différence n'est pas significative (p-value 0,3).

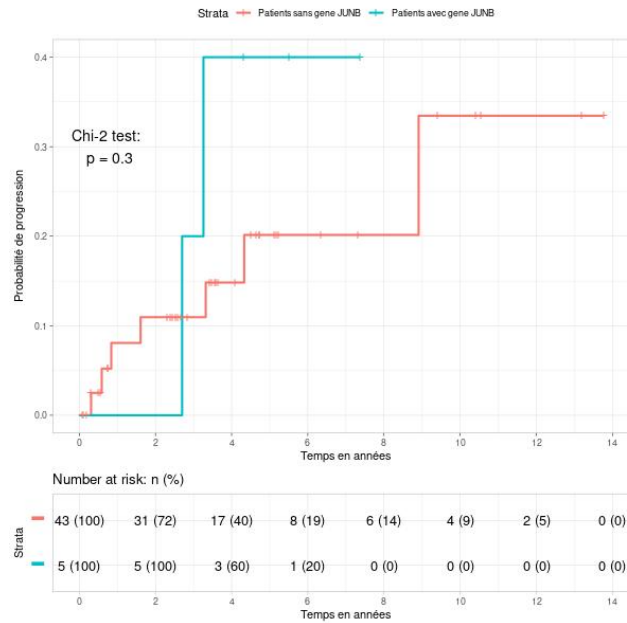


Figure n°6 : Risque de progression selon la présence d'une mutation JUNB p.A282V

Nous n'observons pas d'autres anomalies du nombre de copies, ni de mutation somatique associées à la progression dans notre analyse.

3.4 CORRELATION ENTRE LES MUTATIONS IDENTIFIEES ET LA SURVIE GLOBALE

Nous avons vu que le mycosis fongoïde est une maladie le plus souvent indolente, mais que la patients progresseurs décèdent parfois de leur maladie. Un enjeu encore rencontré est celui de prédire l'évolution de la maladie. Nous analysons l'effet de certaines anomalies à la recherche de marqueur pronostic de décès.

La médiane de 5 ans en présence de la délétion 19p13.3 est de 5 ans contre 5 ans et demi en son absence (p -value 0,31). Cette délétion très fréquence ne modifie pas la survie.

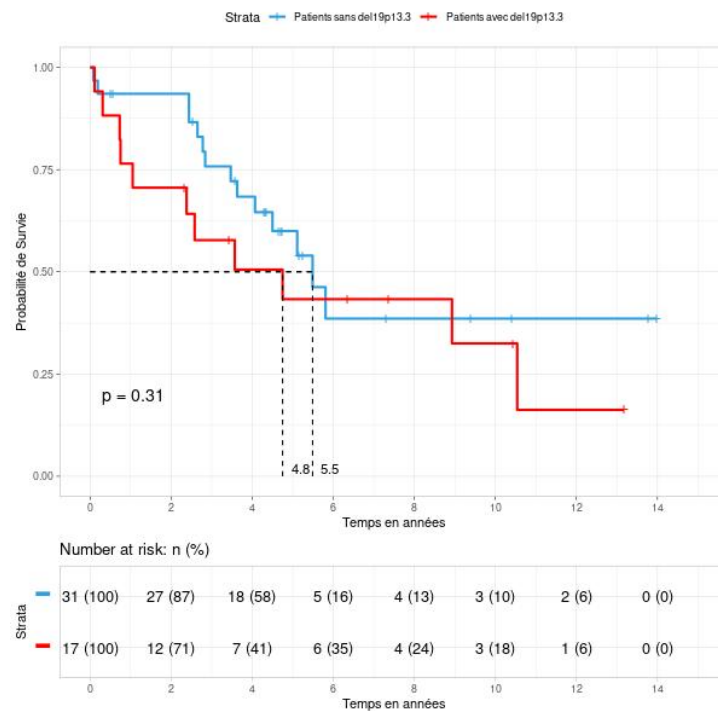


Figure n°13 : Analyse de survie globale selon la présence d'une délétion 19p13.3 au diagnostic

La médiane survie est < 1 an en présence d'une délétion focale 10p11.22 (*ZEB1*, figure n°7), significativement inférieure à la médiane de survie en l'absence de délétion qui est de 6 ans (p-value < 0,0001).

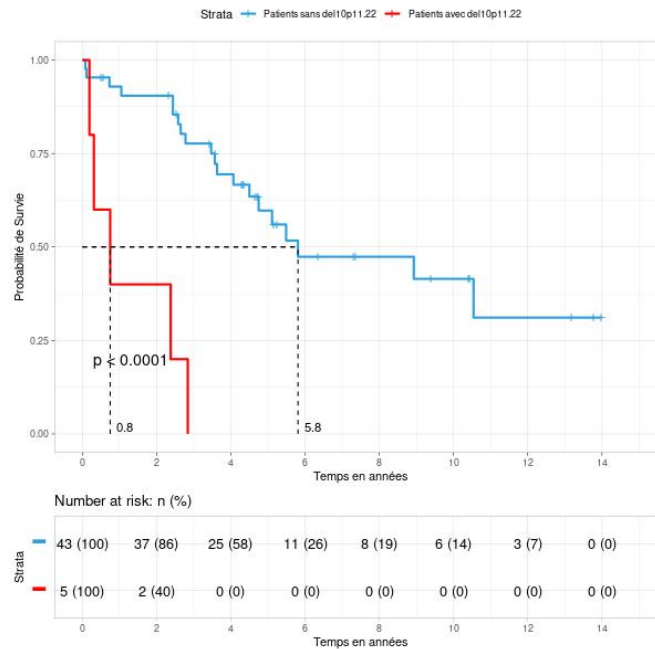


Figure n°7 : Analyse de survie globale selon la présence d'une délétion 10p11.22 au diagnostic

La survie médiane est de 2,4 ans en présence d'une amplification 10p15.1 (*IL2Rα* et *IL15Rα*, figure n°8), contre une survie médiane de 5,8 ans en l'absence de cette amplification, cette différence étant significative (p-value < 0,0001).

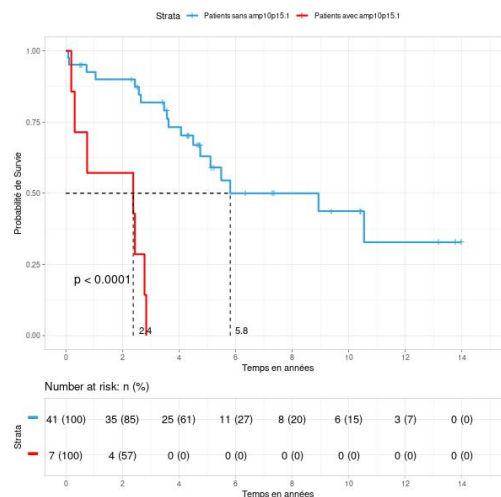


Figure n°8 : Analyse de survie globale selon la présence d'une amplification 10p15.1 au diagnostic

La survie est en médiane de 1,6 ans globale en présence d'une amplification du bras long du chromosome 7 (figure n°9). Elle est significativement inférieure à celle en l'absence d'amplification, en médiane de 5,8 ans (p -value $7,9 \times 10^{-4}$).

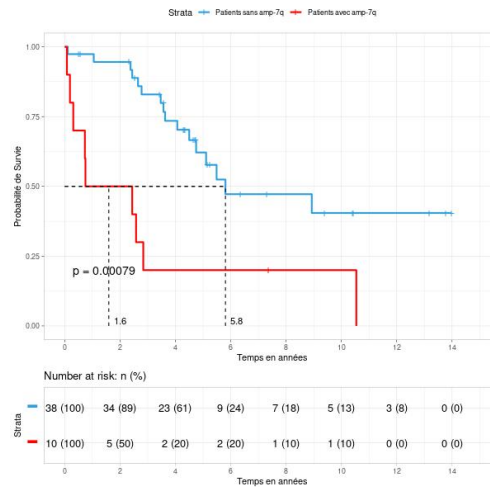


Figure n°9 : Analyse de survie globale selon la présence d'une amplification large du chromosome 7q

Pour la délétion 17p13.1 En survie globale (*TP53*, figure n°10) nous n'observons pas de différence entre les groupes présentant de délétion 17p13.1 et les groupes sans délétion. La médiane de survie est de 2,5 ans pour les patients avec délétion, contre 5,8 ans pour les patients sans délétion (p -value 0,097).

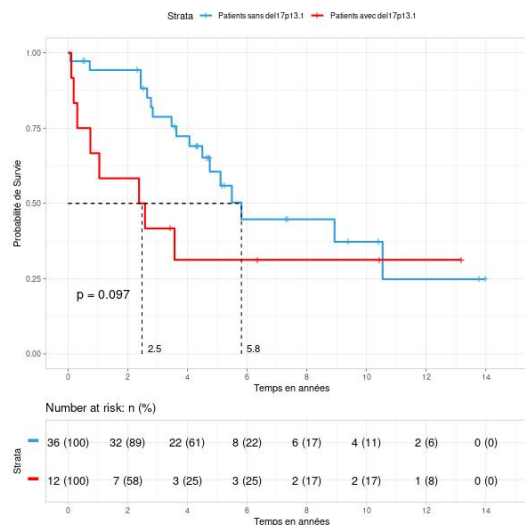


Figure n°10 : Analyse de survie globale selon la présence d'une amplification 17p13.1 au diagnostic

DISCUSSION

1. Rappel de l'état des connaissances et de nos objectifs.

Le mycosis fongoïde est le plus fréquent des lymphomes T cutanés primitifs. C'est une maladie rare, dont le diagnostic peut être difficile à la phase précoce en raison d'un manque de spécificité de la clinique et de l'histologie. L'évolution est le plus souvent indolente aux stades précoces. Cependant pour une sous-population de patients elle est péjorative avec une extension de la maladie, pour laquelle les ressources thérapeutiques sont limitées. En effet, la guérison n'est pas la règle dans cette pathologie. Les facteurs prédictifs d'évolution défavorable admis dans la littérature sont la classification clinique TNMB, l'histologie transformée, ainsi que la présence d'une surinfection bactérienne. Nous avons fait le choix, pour présenter notre cohorte et analyser les données de séquençage exomique, de classer notre population en deux groupes de risque sur la base de deux de ces facteurs : le stade clinique et la transformation histologique.

L'objectif de notre étude était de rapporter les anomalies génétiques du mycosis fongoïde sur une population plus grande et plus homogène que celles déjà décrites dans la littérature. Un second objectif était de mieux prédire le pronostic du mycosis fongoïde avec nos données de séquençage. Un autre objectif était d'identifier des cibles thérapeutiques ou des marqueurs théranostiques.

2. Mise en perspective de nos résultats

Notre étude est monocentrique, rétrospective. Nous décrivons les données de séquençage exomique pour 48 patients. La cohorte comprend 54 patients atteints de mycosis fongoïde, suivis au centre hospitalier universitaire de Lille et ayant bénéficié

d'au moins une biopsie cutanée entre de 2003 à 2017. Les stades au diagnostic comportent des stade IA jusqu'à IVA2. L'histologie peut être celle d'une mycosis fongoïde classique, folliculotrope, ou transformé. La proportion des différents stades est similaire à celle observée dans l'étude majeure de Agar et al,³³ évaluant l'impact pronostic de la révision de la classification TNMB de 2007. Notre population est ainsi similaire à celles des études disponibles pour décrire les facteurs pronostics du mycosis fongoïde. La distinction que nous faisons sur le stade clinique et l'histologie est confortée par notre analyse de survie globale univariée. La médiane de survie globale est de 3,6 ans pour les patients de haut risque, alors qu'elle n'est pas atteinte pour les patients de faible risque. Un séquençage exomique complet a pu être réalisé pour 48 de nos patients, dont 26 de haut risque et 22 de faible risque.

Notre analyse des mutations somatiques et des anomalies du nombre de copie a identifié les anomalies génétiques fréquentes dans le mycosis fongoïde : elles comprennent 2 amplifications larges, 8 délétions larges, ainsi qu'une amplification focale et 29 délétions focales. Les gènes identifiés impliqués dans l'oncogenèse du mycosis fongoïde sont nombreux.

Nous retrouvons des mutations somatiques de nombreux gènes impliqués dans des études pan-cancer :

- La mutation p.A282V de *JUNB* est présente pour 10 % des patients.

Elle est présente pour 2 patients de faible risque qui progresseront et pour 3 patients de haut risque. Nous n'observons pas de différence de répartition entre les populations de bas risque et de haut risque. Nous n'observons pas non plus d'impact sur la progression (analyse univariée). Dans la littérature, l'expression de JunB est associée à l'activation de la voie CD30-ERK1/2

dans une série de lymphomes de Hodgkin et de lymphomes anaplasiques.^{89,90} L'expression de *JUNB* s'observe également dans d'autres lymphomes cutanés à grandes cellules exprimant le CD30+, dont le mycosis fongoïde : en immuno-histochimie Mao et al⁹¹ décrivent une positivité de *JUNB* pour 3 cas de papulose lymphomatoïde sur 27, pour 4 cas de lymphome anaplasique sur 10 et pour 4 cas de mycosis fongoïde sur 8. De plus, une étude a parue dans Blood tout récemment qui observe la même mutation ponctuelle que celle que nous séquençons.⁹² Ces éléments de la littérature concordent avec un rôle de proto-oncogène de *JUNB* dans le mycosis fongoïde. Nous ne sommes pas en mesure de relier la mutation p.A282V à une maladie de haut risque. Cependant elle n'est présente que pour les patients de faible risque qui présenteront une transformation. Ainsi, si notre faible effectif est responsable d'un manque de puissance, nous ne pouvons pas exclure une tendance à la corrélation entre la mutation de *JUNB* et une maladie de haut risque. Il serait souhaitable de reproduire ces analyses sur une plus grande cohorte.

- Les mutations du gène *SUZ12* sont fréquentes à hauteur de 10%, sans différence entre nos deux groupes de risque. *SUZ12* est une sous-unité du complexe PRC2 qui est un régulateur épigénétique des histones. Dans la littérature, *SUZ12* est exprimé dans les lymphomes T/NK (série de 175 échantillons de biopsies ne comportant pas de mycosis fongoïde).⁹³ On notera que d'autres mutations portant sur la sous-unité *EZH2* du complexe PRC2 sont connues dans les cancers, avec un effet gain de fonction. Elles sont ciblables. On pourra citer l'exemple du tazemetostat dans le lymphome folliculaire.⁹⁴

- Les mutations de *MAPK1* sont un peu moins fréquentes, présentes dans 8 % des cas. Elles s'observent aussi bien dans les groupes de faible risque que de haut risque. Parmi les mutations de *MAPK1* identifiées dans notre cohorte, la mutation p.E322K a déjà été observée chez vingt patients avec une néoplasie solide (quatorze cas de cancer du col de l'utérus, six cas de carcinomes épidermoïdes de la tête et du cou).
- Les mutations de *STAT5A* sont également fréquentes à hauteur de 8%, et s'observent dans le 2 groupes de risque. Dans les données de la littérature *STAT5A* phosphorylé est en conformation active, avec une capacité de stimulation de la lymphomagenèse.⁹⁵
- Les mutations du gène *TET2* sont fréquentes à hauteur de 8 % et s'observent dans nos deux groupes de risque. *TET2* est couramment altéré par des mutations pertes de fonction dans d'autres hémopathies comme au cours des syndromes myélodysplasiques (environ 20% des cas) et des lymphomes T angio-immunoblastiques (environ 33% cas).⁹⁶
- *SMARCB1* est muté chez 12 % de la cohorte, aussi bien chez les patients de faible risque que ceux de haut risque. Dans la littérature, *SMARCB1* est inactivé dans la plupart des sarcomes rhabdoïdes de l'enfant, qui sont des cancers solides parmi les plus stables génétiquement.⁹⁷ *SMARCB1* muté pourrait bien avoir un rôle oncogénique important par le biais d'une modification épigénétique. Nous observons une seule mutation p.P235S qui n'est pas décrite dans la base de données du TCGA. L'existence de cette mutation sera validée par un re-séquençage ciblé.

- Les mutations du gène *SERPINB2* sont présentes à hauteur de 10 %, sans différence entre nos deux groupes de risque. Dans la littérature son action est mal connue. Une étude identifie que la protéine qu'il code, PAI-2 protège la protéine du rétinoblastome (Rb suppresseur de tumeur) de la dégradation⁹⁸. Toutefois, in vivo sur des souris délétées de façon homozygote pour *SERPINB2* ont une susceptibilité au cancer⁹⁹. Ainsi l'action oncogénique de *SEPRINB2* reste encore mal comprise et mérite de plus amples investigations.¹⁰⁰

Ces données sont en faveur d'une participation de certains de ces gènes à l'oncogénèse du mycosis fongoïde : JUNB, MAPK1, STAT5A et SUZ12 sont des identifiés comme des proto-oncogènes, TET2 et SMARCB1 comme des gènes suppresseurs de tumeur. Le rôle de *SERPINB2* reste mal compris.

Parmi les anomalies du nombre de copie, une triplication du chromosome 7 est fréquente pour nos patients avec mycosis fongoïde de haut risque. Le gain 7q est significativement associée à une réduction de la survie. Les caryotypes sont souvent complexes dans le mycosis fongoïde. L'impact de ce dernier sur le pronostic n'a pas réussi à être identifié par nos soins dans la littérature. Les anomalies cytogénétiques les plus fréquentes dans une étude de Mao et al étaient les délétions 1p et 17p, mais sur une population avec un effectif faible de 16 patients avec mycosis fongoïde et comprenant 18 syndromes de Sézary.¹⁰¹ L'étude du caryotype n'a pas été réalisée dans notre étude. Le rôle pronostic de ce dernier doit être investigué.

Un gain de bande chromosomique 10p15.1 est fréquent pour le mycosis fongoïde de haut risque (33 %) au diagnostic. Il est corrélé à la survie globale. Ce segment de chromosome porte les gènes codant pour le récepteur alpha de

l'interleukine 2 (IL-2R α), ainsi que celui codant pour le récepteur alpha de l'interleukine 15 (IL-15R α). L'IL-2R α n'est pas exprimé par les lymphocytes T naïfs ou mémoires. Son expression est un marqueur d'activation du lymphocyte T induite par une stimulation antigénique.¹⁰² Il est exprimé par les cellules de mycosis fongoïde de haut grade histologie. Cibler le CD25 est une stratégie efficace,¹⁰³ cependant l'anticorps conjugué denileukin-diftitox n'est pas disponible actuellement. Nos éléments de séquençage exomique, l'évolution clinique des patients avec un gain 10p15.1, ainsi que la corrélation dans la littérature entre l'expression du CD25 et une histologie de haut grade sont des données permettant de suggérer l'analyse du CD25 afin de déterminer un pronostic pour nos patients. Il reste à déterminer si un gain 10p15.1 se traduit bien par une surexpression en histologie du CD25. Cela est en cours d'analyse dans notre établissement.

Une délétion de bande chromosomique 10p11.22 est également fréquente pour le mycosis fongoïde de haut risque (24 %). Elle est associée à une réduction de la survie globale dans notre analyse univariée. Le gène *ZEB1* porté par cette bande chromosomique inhibe la transcription de l'interleukine 2.⁷⁸ C'est un gène suppresseur de tumeur déjà identifié comme muté dans le mycosis fongoïde sur une cohorte plus petite.⁵⁶ Il est également muté dans lymphome/leucémie à cellules T de l'adulte.¹⁰⁴ Ces éléments expliquent le rôle oncogénique de la délétion 10p11.2. L'implication pronostic d'une telle délétion mérite d'être confirmée en analyse multivariée.

La délétion 9p21.3 est fréquente à hauteur de 11 % dans notre population, sans différence entre nos groupes de faible risque et de haut risque. Cette bande chromosomique code pour les gènes *CDKN2A* et *MTAP*. Dans la littérature des données d'inactivation de *CDKN2A* sont déjà décrites dans le mycosis fongoïde.¹⁰⁵

Ces éléments sont en faveur de la participation d'une délétion de *CDKN2A* à l'oncogenèse dans le mycosis fongoïde. Par ailleurs, le second gène, *MTAP*, code pour la méthylthioadenosine phosphorylase. Cette enzyme déficiente dans de nombreux cancers comme celui du poumon dans lequel elle pourrait sensibiliser les cellules tumorales à l'activité des chimiothérapies anti-métaboliques.¹⁰⁶ Sur cette donnée nous pourrions envisager un essai chez les patients portant cette délétion 9q21.3 testant l'efficacité d'une chimiothérapie anti-métabolique randomisée contre traitement de référence.

Parmi les autres anomalies du nombre de copie nous nous sommes intéressés à la délétion 17p13.1 qui porte le gène *TP53*. Dans la littérature des délétions 17p13.1⁵⁶ et des mutations *TP53* sont décrites dans le mycosis fongoïde.^{56,57} Dans notre cohorte la délétion 17p13.1 est fréquente, mais sans différence entre nos groupes de faible risque et de haut risque. En analyse de survie nous ne mettons pas en évidence d'impact de cette délétion. On peut noter qu'aucun patient avec délétion 17p13.1 ne présente de mutation ponctuelle de *TP53*. Ainsi nous n'avons pas pu décrire d'effet d'une perte bi-allélique sur le tableau clinico-histologique ou sur la survie.

La délétion 6q16.3 est fréquente à hauteur de 15 % dans notre population. Cette bande chromosomique porte notamment le gène *TNFAIP3* codant pour une protéine qui inhibe le facteur nucléaire- κ B (NF κ B). Cette délétion est particulièrement intéressante car elle est associée à la progression chez les patients de faible risque. De plus, le gène *TNFAIP3* est impliqué dans la littérature comme gène suppresseur de tumeur dans le syndrome de Sézary,¹⁰⁷ qui est un lymphome T cutané de phénotypes clinique et histologique proches du mycosis fongoïde. Notre observation

ainsi que l'implication du gène TNFAIP3 dans le syndrome de Sézary suggèrent que la délétion 6q16.3 pourrait servir de marqueur de progression. Ce résultat nécessiterait une confirmation sur cohorte indépendante de plus grand effectif, avec une analyse multivariée.

La délétion 19p13.3 est l'anomalie la plus fréquente dans notre cohorte puisqu'elle s'observe dans 57 % des cas, sans différence entre les groupes de faible risque et de haut risque. Par ailleurs, la présence de cette délétion n'a pas d'impact sur la progression et ne confère par d'avantage ou désavantage en survie globale. Cette bande chromosomique porte 2 gènes seulement dont l'implication dans l'oncogène n'est pas établie dans la littérature. Parmi ces deux gènes *TMEM259* code pour la membraline qui est surexprimé dans étude de carcinome ovarien.¹⁰⁸ Aucune observation de sa perte de fonction n'est rattachée à une néoplasie jusqu'alors. Avec ces éléments, nous sommes tentés de proposer la délétion 19p13.3 comme marqueur d'aide au diagnostic du mycosis fongoïde puisque c'est une anomalie très fréquente dans les deux groupes de risque, n'impactant ni la progression ni la survie. Cependant, nos échantillons contrôles pour le séquençage exomique complet ne compaient pas d'échantillons de dermatoses inflammatoires. Il n'est donc pas encore possible de conclure à la spécificité de cette délétion 19p13.3 pour le mycosis fongoïde. Une telle analyse serait très intéressante et souhaitable.

Notre analyse de séquençage exomique complet permet d'étoffer les anomalies connues impliquées dans l'oncogenèse du mycosis fongoïde. L'exclusion des syndromes de Sézary est un point fort. La taille de notre population est plus importante que la plupart de celles décrites dans la littérature.

Cependant la plupart des anomalies sont mises en évidence pour un petit nombre d'individus ce qui limite la puissance de nos analyses. C'est le cas possiblement pour l'analyse du rôle de la mutation de *JUNB* dans la progression.

Nos analyses sont dans un premier temps menées de façon univariée. Une validation de nos résultats est nécessaire en analyse multivariée, pour les anomalies mises en causes dans la réduction de la survie et dans la progression. Cela permettra de confirmer les tendances observées en analyse de survie pour le gain 7q, le gain 10p15.1, la del10p11.3, ainsi que la tendance observée sur l'analyse du risque de progression pour la del6q16.3.

Enfin, la diversité des traitements reçus est un biais qu'il est difficile de prendre en compte dans nos analyses.

3. Conclusion

Nous avons mis en évidence dans notre étude des anomalies des voies de signalisation du lymphocyte T (*JUNB p.A282V*), de la voie des MAP kinases (*MAPK1*), de la voie JAK/STAT (*STAT5A*), de la signalisation cytokinique de l'IL-2 (*IL-2R α* , *ZEB1*), de la régulation du cycle cellulaire (*CDKN2A*), NFkappaB (*TNFAIP3*) et des régulateurs épigénétiques de la transcription de l'ADN (*SUZ12*).

L'anomalie la plus fréquente est la délétion 19p13.3 qui, sous réserve d'une comparaison à des échantillon de dermatose inflammatoire et d'une analyse sur une cohorte indépendante, pourrait être un marqueur diagnostique du mycosis fongoïde.

L'anomalie présente au diagnostic et associée à la progression est la délétion 6q16.3, qui code pour un gène impliqué dans la régulation de la voie NFkappaB. Sous

réserve d'une analyse multivariée sur une plus grande cohorte, cette délétion pourrait servir de marqueur prédictif de progression du mycosis fongoïde.

La délétion 10p11.22, le gain 10p15.1 ainsi que le gain 7q sont d'avantage présents dans notre population de haut risque. Ces trois anomalies sont également associées à une survie réduite.

Nos effectifs présentant les anomalies décrites sont petits. Une étude multicentrique permettrait d'inclure plus d'individus et d'augmenter la puissance statistique. Cette limite n'exclut pas de pouvoir réaliser d'autres analyses sur notre population. En particulier nous disposons pour 7 des 9 patients progressifs d'échantillons séquentiels obtenus après évolution. La comparaison des anomalies acquises lors de la progression à celles du diagnostic nous permettrait de questionner des éléments d'évolution clonale.

Enfin, nos résultats posent la base d'un rationnel à l'utilisation de certaines thérapies ciblées dans le mycosis fongoïdes. Une cible qui semble particulièrement intéressante au regard de nos résultats est l'immunothérapie anti-CD25, mais d'autres pistes sont ouvertes comme l'utilisation des traitements anti-STAT.

ANNEXES

Annexe n°1 : Critères diagnostics histologique de mycosis fongoïde en phase précoce.⁹

<u>Critères</u>	<u>Points attribués</u>
Clinique	
Critère principal : macule ou fine plaque persistante ou d'installation progressive. Critères additionnels : 1/ localisée sur une zone non photo-exposée 2/ modification de taille/forme 3/ poïkilodermie.	2 points : en présence du critère principal et de deux critères additionnels. 1 point : en présence du critère principal et d'un critère additionnel.
Histologie	
Critère principal : infiltrat lymphoïde superficiel. Critères additionnels : 1/ épidermotropisme sans spongiose, 2/ atypies lymphocytaires*.	2 points : en présence du critère principal et de deux critères additionnels. 1 point : en présence du critère principal et d'un critère additionnel.
Biologie moléculaire	
Réarrangement clonal du gène du TCR	1 point pour la clonalité
Phénotype aberrant	
1/ < 50 % de lymphocytes T CD2+, CD3+, et/ou CD5+ 2/ < 10 % lymphocytes T CD7+ 3/ Discordance d'expression de CD2, CD3, CD5 ou CD7 entre le derme et l'épiderme**.	1 point pour un critère ou plus.

Un total de **4 points** est requis pour le diagnostic de mycosis fongoïde (qui repose sur des critères cliniques, histologiques, moléculaires et d'immunophénotypage).

* Les atypies nucléaires sont définies par la présence de cellules à gros noyaux hyperchromatique, avec contours nucléaires irréguliers ou cérébriforme.

** Perte d'antigènes associés aux cellules T confinée à l'épiderme.

Annexe n° 2 : Les lymphomes cutanés primitifs, des entités de pronostics différents²

> Lymphomes cutanés de bon pronostic :

- Mycosis fongoïde
- Réticulose pagétoïde
- Lymphome chalazodermique (ou peau relâchée granulomateuse)
- Lymphome à grandes cellules anaplasiques CD30+ cutané primitif
- Papulose lymphomatoïde
- Lymphoprolifération à petites/moyennes cellules T CD4+ cutanée primitive (entité provisoire)
- Lymphome T acral CD8+ cutané primitif (entité provisoire)
- Lymphome T sous-cutané type panniculite
- Lymphome de la zone marginale cutané primitif
- Lymphome folliculaire cutané primitif.
- Ulcère cutanéomuqueux à EBV (entité provisoire)

> Lymphomes de pronostic intermédiaire :

- Syndrome de Sézary,
- Variant folliculotrope de mycosis fongoïde
- Lymphome cutané primitif à grandes cellules B, de type leg-type
- Lymphomes primitifs à grandes cellules B d'un autre type.
- Lymphome intravasculaire à grandes cellules B.

> Lymphomes de mauvais pronostic :

- Lymphome extraganglionnaire à cellules NK/T, de type nasal.
- Lymphome cutané primitif épidermotrope agressif CD8+ cytotoxique à cellules T (CD8+ AECTCL, une entité provisoire).
- Lymphome T cutané primitif à cellules gamma/delta.
- Lymphome T périphérique cutané primitif, SAI/NOS ????
- Lymphome T sous-cutané type panniculite avec hémophagocytose,
- Hématodermie CD4+, CD56+.

> Pas de données disponibles :

- Leucémie/lymphome à cellules T de l'adulte,
- Infection chronique active par le virus Epstein-Barr de l'enfant.

Annexe n°3 :

Classification OMS-EORTC 2018 des lymphomes cutanés primitifs.⁸

Classification OMS-EORTC 2018	Fréquence, %	Survie spécifique à 5 ans, %
Lymphomes T cutanés primitifs		
Mycosis fongoïde	39	88
Variants de mycosis fongoïde :		
- Mycosis fongoïde folliculotrope	5	75
- Réticulose pagétoïde	< 1	100
- Chalazodermie granulomateuse	< 1	100
Syndrome de Sézary	2	36
Lymphome/leucémie à cellules T de l'adulte	< 1	Pas de donnée
Lymphoproliférations cutanées CD30 +		
- Lymphome à grandes cellules anaplasiques cutané primitif	8	95
- Papulose lymphomatoïde	12	99
Lymphome T sous-cutané type panniculite	1	87
Lymphome T/NK extranodal, type nasal	< 1	16
Infection chronique active à EBV	< 1	Pas de donnée
Lymphomes T périphériques cutanés primitifs, sous-types rares		
Lymphome T cutané primitif γ/δ	< 1	11
Lymphome épidermotrope agressif à cellules T cytotoxiques CD8 + cutané primitif (*)	< 1	31
Lymphoprolifération à petits/moyens lymphocytes T CD4+ cutanée primitive (*)	6	100
Lymphome T acral CD4+ cutané primitif	< 1	100
Lymphome T périphérique cutané primitif, sans précision	2	15
Lymphomes B cutanés primitifs		
Lymphome de la zone marginale cutané primitif	9	99
Lymphome centro-folliculaire cutané primitif	12	95
Lymphome B diffus à grandes cellules cutané primitif, type jambe	4	56
Ulcère cutanéomuqueux à EBV (*)	< 1	100
Lymphome à grandes cellules B intravasculaire	< 1	72

Selon les données des registres Nééerlandais et Autrichien entre 2002 et 2017.

(*) Entités provisoires.

Annexe n°4 : Classification TNMB du mycosis fongoïde selon l'EORTC(médiane de survie selon l'étude d'Agar et al.).

Stades cliniques		T	N	M	B	Survie globale (médiane, année)
Précoces	IA	1 Macules ou papules limitées < 10 % SCT	0 Pas d'envahissement ganglionnaire	0 Pas d'envahissement viscéral	0-1 < 1000 cellules atypiques	35,5
	IB	2 Macules ou papules ≥ 10 % SCT	0 Pas d'envahissement ganglionnaire	0 Pas d'envahissement viscéral	0-1 < 1000 cellules atypiques	21,5
	IIA	1-2 Macule ou papules	1-2 Infiltrat de cellules inflammatoires	0 Pas d'envahissement viscéral	0-1 < 1000 cellules atypiques	15,8
	IIB	3 Lésion tumorale	0-2 Pas d'envahissement, ou infiltrat de cellules inflammatoires	0 Pas d'envahissement viscéral	0-1 < 1000 cellules atypiques	4,7
Avancés	IIIA	4 Erythrodermie	0-2 Pas d'envahissement, ou infiltrat de cellules inflammatoires	0 Pas d'envahissement viscéral	0 < 250 cellules atypiques	4,7
	IIIB	4 Erythrodermie	0-2 Pas d'envahissement, ou infiltrat de cellules inflammatoires	0 Pas d'envahissement viscéral	1 < 250 cellules atypiques	3,4
	IVA1	1-4 Toute atteinte cutanée	0-2 Pas d'envahissement, ou infiltrat de cellules inflammatoires	0 Pas d'envahissement viscéral	2 > 1000 cellules atypiques avec présence d'une clonalité	3,8
	IVA2	1-4 Toute atteinte cutanée	3 Envahissement ganglionnaire avec destruction partielle ou complète de l'architecture	0 Pas d'envahissement viscéral	0-2 Tout envahissement circulant	2,1
	IVB	1-4 Toute atteinte cutanée	0-3 Toute atteinte ganglionnaire	1 Envahissement viscéral	0-2 Tout envahissement circulant	1,4

BIBLIOGRAPHIE

1. Groves, F. D., Linet, M. S., Travis, L. B. & Devesa, S. S. Cancer Surveillance Series: Non-Hodgkin's Lymphoma Incidence by Histologic Subtype in the United States From 1978 Through 1995. *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **92**, 1240–1251 (2000).
2. Bagot, M. & Ortonne, N. Lymphomes cutanés : classification. *EMC - Dermatol.* **7**, 1–5 (2012).
3. Willemze, R. *et al.* WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood* **105**, 3768–3785 (2005).
4. Korgavkar, K., Xiong, M. & Weinstock, M. Changing Incidence Trends of Cutaneous T-Cell Lymphoma. *JAMA Dermatol.* **149**, 1295 (2013).
5. Imam, M. H., Shenoy, P. J., Flowers, C. R., Phillips, A. & Lechowicz, M. J. Incidence and survival patterns of cutaneous T-cell lymphomas in the United States. *Leuk. Lymphoma* **54**, 752–759 (2013).
6. Alibert, J.L. *Description des maladies de la peau: observées à l'hôpital St. Louis et exposition des meilleurs méthodes suivies pour leur traitement.* (Barois l'ainé et fils, 1806).
7. Ahn, C. S., ALSayyah, A. & Sangüeza, O. P. Mycosis Fungoides: An Updated Review of Clinicopathologic Variants. *Am. J. Dermatopathol.* **36**, 933–951 (2014).
8. Willemze, R. *et al.* The 2018 update of the WHO-EORTC classification for primary cutaneous lymphomas. *Blood* **133**, 1703–1714 (2019).
9. Pimpinelli, N. *et al.* Defining early mycosis fungoides. *J. Am. Acad. Dermatol.* **53**, 1053–1063 (2005).
10. Smith, N. P. Pagetoid Reticulosis. *Clin. Exp. Dermatol.* **7**, i–iv (1982).
11. Kempf, W. *et al.* Granulomatous Mycosis Fungoides and Granulomatous Slack Skin: A Multicenter Study of the Cutaneous Lymphoma Histopathology Task Force Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Arch. Dermatol.* **144**, (2008).
12. Mitteldorf, C., Stadler, R., Sander, C. A. & Kempf, W. Folliculotropic mycosis fungoides. *JDDG J. Dtsch. Dermatol. Ges.* **16**, 543–557 (2018).
13. Crossen, P. E. *et al.* The Sézary syndrome : cytogenetic studies and identification of the Sézary Cell as an abnormal lymphocyte. *Am. J. Med.* **50**, 24–34 (1971).
14. Lutzner, M. Cutaneous T-Cell Lymphomas: The Sézary Syndrome, Mycosis Fungoides, and Related Disorders. *Ann. Intern. Med.* **83**, 534 (1975).
15. Vonderheid, E. C. *et al.* Diagnostic and prognostic significance of Sézary cells in peripheral blood smears from patients with cutaneous T cell lymphoma. *Blood* **66**, 358–366 (1985).
16. Bagot, M. *et al.* CD4+ cutaneous T-cell lymphoma cells express the p140–killer cell immunoglobulin-like receptor. **97**, 4 (2001).
17. Battistella, M. *et al.* KIR3DL2 expression in cutaneous T-cell lymphomas: expanding the spectrum for KIR3DL2 targeting. *Blood* **130**, 2900–2902 (2017).
18. Ortonne, N. *et al.* Significance of circulating T-cell clones in Sézary syndrome. *Blood* **107**, 4030–4038 (2006).
19. Assaf, C. *et al.* High detection rate of T-cell receptor beta chain rearrangements in T-cell lymphoproliferations by family specific polymerase chain reaction in combination with the GeneScan technique and DNA sequencing. *Blood* **96**, 640–646 (2000).
20. Kirsch, I. R. *et al.* TCR sequencing facilitates diagnosis and identifies mature T cells as the cell of origin in CTCL. *Sci. Transl. Med.* **7**, 308ra158-308ra158 (2015).
21. Sézary, A. & Bouvrain, Y. Erythrodermie avec presence de cellules monstreuses dans le derme et le sang circulant. *Bull Soc Fr Dermatol Syph* 254–60 (1938).

22. Olsen, E. *et al.* Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sézary syndrome: a proposal of the International Society for Cutaneous Lymphomas (ISCL) and the cutaneous lymphoma task force of the European Organization of Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Blood* **110**, 1713–1722 (2007).
23. Thompson, A. K., Killian, J. M., Weaver, A. L., Pittelkow, M. R. & Davis, M. D. P. Sézary syndrome without erythroderma: A review of 16 cases at Mayo Clinic. *J. Am. Acad. Dermatol.* **76**, 683–688 (2017).
24. Campbell, J. J., Clark, R. A., Watanabe, R. & Kupper, T. S. Sézary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors. *Blood* **116**, 767–771 (2010).
25. Horna, P., Moscinski, L. C., Sokol, L. & Shao, H. Naïve/memory T-cell phenotypes in leukemic cutaneous T-cell lymphoma: Putative cell of origin overlaps disease classification. *Cytometry B Clin. Cytom.* **96**, 234–241 (2019).
26. Sheridan, R. L. *et al.* Planimetry study of the percent of body surface represented by the hand and palm: sizing irregular burns is more accurately done with the palm. *J. Burn Care Rehabil.* **16**, 605–606 (1995).
27. Scarisbrick, J. J. *et al.* Blood classification and blood response criteria in mycosis fungoides and Sézary syndrome using flow cytometry: recommendations from the EORTC cutaneous lymphoma task force. *Eur. J. Cancer* **93**, 47–56 (2018).
28. Ally, M. S. & Robson, A. A review of the solitary cutaneous T-cell lymphomas. *J. Cutan. Pathol.* **41**, 703–714 (2014).
29. Levy, R. *et al.* Transformation of Mycosis Fungoides: T-Cell Receptor β Gene Analysis Demonstrates a Common Clonal Origin for Plaque-Type Mycosis Fungoides and CD30+ Large-Cell Lymphoma. *J. Invest. Dermatol.* **101**, 296–300 (1993).
30. Wolfe, J. T. *et al.* Large-cell transformation following detection of minimal residual disease in cutaneous T-cell lymphoma: molecular and in situ analysis of a single neoplastic T-cell clone expressing the identical T-cell receptor. *J. Clin. Oncol.* **13**, 1751–1757 (1995).
31. Olsen, E. A. *et al.* Clinical End Points and Response Criteria in Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: A Consensus Statement of the International Society for Cutaneous Lymphomas, the United States Cutaneous Lymphoma Consortium, and the Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organisation for Research and Treatment of Cancer. *J. Clin. Oncol.* **29**, 2598–2607 (2011).
32. Trautinger, F. *et al.* European Organisation for Research and Treatment of Cancer consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome - Update 2017. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **77**, 57–74 (2017).
33. Agar, N. S. *et al.* Survival Outcomes and Prognostic Factors in Mycosis Fungoides/Sézary Syndrome: Validation of the Revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer Staging Proposal. *J. Clin. Oncol.* **28**, 4730–4739 (2010).
34. Solomon, D. H. *et al.* Adverse Effects of Low-Dose Methotrexate: A Randomized Trial. *Ann. Intern. Med.* **172**, 369 (2020).
35. Trautinger, F. *et al.* EORTC consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome. *Eur. J. Cancer* **42**, 1014–1030 (2006).
36. Bunn, P. A. Systemic Therapy of Cutaneous T-Cell Lymphomas (Mycosis Fungoides and the Sezary Syndrome). *Ann. Intern. Med.* **121**, 592 (1994).
37. Winkelmann, R. K., Diaz-Perez, J. L. & Buechner, S. A. The treatment of Sézary syndrome. *J. Am. Acad. Dermatol.* **10**, 1000–1004 (1984).
38. Prince, H. M. *et al.* Brentuximab vedotin or physician’s choice in CD30-positive

- cutaneous T-cell lymphoma (ALCANZA): an international, open-label, randomised, phase 3, multicentre trial. *The Lancet* **390**, 555–566 (2017).
39. de Masson, A. *et al.* Long-term efficacy and safety of alemtuzumab in advanced primary cutaneous T-cell lymphomas. *Br. J. Dermatol.* **170**, 720–724 (2014).
 40. Berger, C. *et al.* Rapid generation of maturationally synchronized human dendritic cells: contribution to the clinical efficacy of extracorporeal photochemotherapy. *Blood* **116**, 4838–4847 (2010).
 41. Sausville, E. A. Histopathologic Staging at Initial Diagnosis of Mycosis Fungoides and the Sézary Syndrome: Definition of Three Distinctive Prognostic Groups. *Ann. Intern. Med.* **109**, 372 (1988).
 42. Vonderheid, E. C. *et al.* Lymph node classification systems in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for the utility of the Working Formulation of Non-Hodgkin's Lymphomas for Clinical Usage. *Cancer* **73**, 207–218 (1994).
 43. Sausville, E. A. *et al.* Histologic assessment of lymph nodes in mycosis fungoides/sézary syndrome (cutaneous T-cell lymphoma): Clinical correlations and prognostic import of a new classification system. *Hum. Pathol.* **16**, 1098–1109 (1985).
 44. Kern, D. E., Kidd, P. G., Moe, R., Hanke, D. & Olerud, J. E. Analysis of T-Cell Receptor Gene Rearrangement in Lymph Nodes of Patients With Mycosis Fungoides: Prognostic Implications. *Arch. Dermatol.* **134**, 158 (1998).
 45. Juarez, T. *et al.* Analysis of T-Cell Receptor Gene Rearrangement for Predicting Clinical Outcome in Patients With Cutaneous T-Cell Lymphoma: A Comparison of Southern Blot and Polymerase Chain Reaction Methods. *Arch. Dermatol.* **141**, (2005).
 46. Kim, Y. H., Liu, H. L., Mraz-Gernhard, S., Varghese, A. & Hoppe, R. T. Long-term Outcome of 525 Patients With Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: Clinical Prognostic Factors and Risk for Disease Progression. *Arch. Dermatol.* **139**, (2003).
 47. Diamandidou, E., Colome, M., Fayad, L., Duvic, M. & Kurzrock, R. Prognostic factor analysis in mycosis fungoides/Sézary syndrome. *J. Am. Acad. Dermatol.* **40**, 914–924 (1999).
 48. Benner, M. F., Jansen, P. M., Vermeer, M. H. & Willemze, R. Prognostic factors in transformed mycosis fungoides: a retrospective analysis of 100 cases. *Blood* **119**, 1643–1649 (2012).
 49. van Santen, S. *et al.* Clinical Staging and Prognostic Factors in Folliculotropic Mycosis Fungoides. *JAMA Dermatol.* **152**, 992 (2016).
 50. Willerslev-Olsen, A. *et al.* Staphylococcal enterotoxin A (SEA) stimulates STAT3 activation and IL-17 expression in cutaneous T-cell lymphoma. *Blood* **127**, 1287–1296 (2016).
 51. Roelens, M. *et al.* Revisiting the initial diagnosis and blood staging of mycosis fungoides and Sézary syndrome with the KIR3DL2 marker. *Br. J. Dermatol.* **182**, 1415–1422 (2020).
 52. Vega, F. *et al.* Clonal heterogeneity in mycosis fungoides and its relationship to clinical course. *Blood* **100**, 3369–3373 (2002).
 53. de Masson, A. *et al.* High-throughput sequencing of the T cell receptor β gene identifies aggressive early-stage mycosis fungoides. *Sci. Transl. Med.* **10**, (2018).
 54. Bustoros, M. *et al.* Genomic Profiling of Smoldering Multiple Myeloma Identifies Patients at a High Risk of Disease Progression. *J. Clin. Oncol.* **38**, 2380–2389 (2020).
 55. Marcus Mucche, J. *et al.* Cellular Coincidence of Clonal T Cell Receptor Rearrangements and Complex Clonal Chromosomal Aberrations—A Hallmark of Malignancy in Cutaneous T Cell Lymphoma. *J. Invest. Dermatol.* **122**, 574–578 (2004).
 56. da Silva Almeida, A. C. *et al.* The mutational landscape of cutaneous T cell lymphoma

- and Sézary syndrome. *Nat. Genet.* **47**, 1465–1470 (2015).
57. McGirt, L. Y. *et al.* Whole-genome sequencing reveals oncogenic mutations in mycosis fungoides. *Blood* **126**, 508–519 (2015).
 58. Babraham Bioinformatics - FastQC A Quality Control tool for High Throughput Sequence Data. <https://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc/> (2010).
 59. Ewels, P., Magnusson, M., Lundin, S. & Källner, M. MultiQC: summarize analysis results for multiple tools and samples in a single report. *Bioinforma. Oxf. Engl.* **32**, 3047–3048 (2016).
 60. Martin, M. Cutadapt removes adapter sequences from high-throughput sequencing reads. *EMBnet.journal* **17**, 10–12 (2011).
 61. Li, H. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. *ArXiv13033997 Q-Bio* (2013).
 62. Picard Tools - By Broad Institute. <https://broadinstitute.github.io/picard/>.
 63. Van der Auwera, G. A. *et al.* From FastQ data to high confidence variant calls: the Genome Analysis Toolkit best practices pipeline. *Curr. Protoc. Bioinforma.* **43**, 11.10.1-11.10.33 (2013).
 64. Auwera, G. V. D. & O'connor, B. D. Genomics in the Cloud – Using Docker, GATK, and WDL in Terra. <https://broadinstitute.github.io/genomics-in-the-cloud/> (2020).
 65. Mermel, C. H. *et al.* GISTIC2.0 facilitates sensitive and confident localization of the targets of focal somatic copy-number alteration in human cancers. *Genome Biol.* **12**, R41 (2011).
 66. Cibulskis, K. *et al.* Sensitive detection of somatic point mutations in impure and heterogeneous cancer samples. *Nat. Biotechnol.* **31**, 213–219 (2013).
 67. Saunders, C. T. *et al.* Strelka: accurate somatic small-variant calling from sequenced tumor-normal sample pairs. *Bioinforma. Oxf. Engl.* **28**, 1811–1817 (2012).
 68. Benjamin, D. *et al.* *Calling Somatic SNVs and Indels with Mutect2*. <http://biorxiv.org/lookup/doi/10.1101/861054> (2019) doi:10.1101/861054.
 69. Lawrence, M. S. *et al.* Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumor types. *Nature* **505**, 495–501 (2014).
 70. McLaren, W. *et al.* The Ensembl Variant Effect Predictor. *Genome Biol.* **17**, 122 (2016).
 71. Ramos, A. H. *et al.* Oncotator: cancer variant annotation tool. *Hum. Mutat.* **36**, E2423–E2429 (2015).
 72. Carter, S. L. *et al.* Absolute quantification of somatic DNA alterations in human cancer. *Nat. Biotechnol.* **30**, 413–421 (2012).
 73. Chapuy, B. *et al.* Molecular subtypes of diffuse large B cell lymphoma are associated with distinct pathogenic mechanisms and outcomes. *Nat. Med.* **24**, 679–690 (2018).
 74. Lawrence, M. S. *et al.* Mutational heterogeneity in cancer and the search for new cancer genes. *Nature* **499**, 214–218 (2013).
 75. Yu, Y. *et al.* Rare loss of function mutations in N-methyl-d-aspartate glutamate receptors and their contributions to schizophrenia susceptibility. *Transl. Psychiatry* **8**, 12 (2018).
 76. van de Weijer, M. L. *et al.* Quality Control of ER Membrane Proteins by the RNF185/Membralin Ubiquitin Ligase Complex. *Mol. Cell* **79**, 768-781.e7 (2020).
 77. Aubrey, B. J., Strasser, A. & Kelly, G. L. Tumor-Suppressor Functions of the TP53 Pathway. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **6**, a026062 (2016).
 78. Williams, T. *et al.* Identification of a zinc finger protein that inhibits IL-2 gene expression. *Science* **254**, 1791–1794 (1991).

79. Serra, S. & Chetty, R. p16. *J. Clin. Pathol.* **71**, 853–858 (2018).
80. Marjon, K. *et al.* MTAP Deletions in Cancer Create Vulnerability to Targeting of the MAT2A/PRMT5/RIOK1 Axis. *Cell Rep.* **15**, 574–587 (2016).
81. Aksentijevich, I. & Zhou, Q. NF- κ B Pathway in Autoinflammatory Diseases: Dysregulation of Protein Modifications by Ubiquitin Defines a New Category of Autoinflammatory Diseases. *Front. Immunol.* **8**, 399 (2017).
82. Waldmann, T. A. The biology of interleukin-2 and interleukin-15: implications for cancer therapy and vaccine design. *Nat. Rev. Immunol.* **6**, 595–601 (2006).
83. Waldmann, T. A. The shared and contrasting roles of interleukin-2 (IL-2) and IL-15 in the life and death of normal and neoplastic lymphocytes: implications for cancer therapy. *Cancer Immunol. Res.* **3**, 219–227 (2015).
84. Chinenov, Y. & Kerppola, T. K. Close encounters of many kinds: Fos-Jun interactions that mediate transcription regulatory specificity. *Oncogene* **20**, 2438–2452 (2001).
85. Richly, H., Aloia, L. & Di Croce, L. Roles of the Polycomb group proteins in stem cells and cancer. *Cell Death Dis.* **2**, e204–e204 (2011).
86. Morrison, D. K. MAP Kinase Pathways. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **4**, a011254 (2012).
87. Weissmiller, A. M. *et al.* Inhibition of MYC by the SMARCB1 tumor suppressor. *Nat. Commun.* **10**, 2014 (2019).
88. Dougherty, K. M. *et al.* The plasminogen activator inhibitor-2 gene is not required for normal murine development or survival. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **96**, 686–691 (1999).
89. Watanabe, M. *et al.* JunB induced by constitutive CD30-extracellular signal-regulated kinase 1/2 mitogen-activated protein kinase signaling activates the CD30 promoter in anaplastic large cell lymphoma and reed-sternberg cells of Hodgkin lymphoma. *Cancer Res.* **65**, 7628–7634 (2005).
90. Watanabe, M. *et al.* Hypomethylation of CD30 CpG islands with aberrant JunB expression drives CD30 induction in Hodgkin lymphoma and anaplastic large cell lymphoma. *Lab. Investig. J. Tech. Methods Pathol.* **88**, 48–57 (2008).
91. Mao, X., Orchard, G., Russell-Jones, R. & Whittaker, S. Abnormal activator protein 1 transcription factor expression in CD30-positive cutaneous large-cell lymphomas. *Br. J. Dermatol.* **157**, 914–921 (2007).
92. Park, J. *et al.* Integrated genomic analyses of cutaneous T-cell lymphomas reveal the molecular bases for disease heterogeneity. *Blood* **138**, 1225–1236 (2021).
93. Kim, S. H., Yang, W. I., Min, Y. H., Ko, Y. H. & Yoon, S. O. The role of the polycomb repressive complex pathway in T and NK cell lymphoma: biological and prognostic implications. *Tumour Biol. J. Int. Soc. Oncodevelopmental Biol. Med.* **37**, 2037–2047 (2016).
94. Morschhauser, F. *et al.* Tazemetostat for patients with relapsed or refractory follicular lymphoma: an open-label, single-arm, multicentre, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* **21**, 1433–1442 (2020).
95. Maurer, B. *et al.* High activation of STAT5A drives peripheral T-cell lymphoma and leukemia. *Haematologica* **105**, 435–447 (2020).
96. Solary, E., Bernard, O. A., Tefferi, A., Fuks, F. & Vainchenker, W. The Ten-Eleven Translocation-2 (TET2) gene in hematopoiesis and hematopoietic diseases. *Leukemia* **28**, 485–496 (2014).
97. Wang, X. *et al.* SMARCB1-mediated SWI/SNF complex function is essential for enhancer regulation. *Nat. Genet.* **49**, 289–295 (2017).
98. Tonnetti, L. *et al.* SerpinB2 Protection of Retinoblastoma Protein from Calpain

- Enhances Tumor Cell Survival. *Cancer Res.* **68**, 5648–5657 (2008).
99. Westrick, R. J. *et al.* Deficiency of plasminogen activator inhibitor-2 results in accelerated tumor growth. *J. Thromb. Haemost. JTH* **18**, 2968–2975 (2020).
100. Medcalf, R. L. & Keragala, C. B. The Fibrinolytic System: Mysteries and Opportunities. *HemaSphere* **5**, e570 (2021).
101. Mao, X. *et al.* Molecular cytogenetic analysis of cutaneous T-cell lymphomas: identification of common genetic alterations in Sezary syndrome and mycosis fungoides. *Br. J. Dermatol.* **147**, 464–475 (2002).
102. Malek, T. R. & Castro, I. Interleukin-2 Receptor Signaling: At the Interface between Tolerance and Immunity. *Immunity* **33**, 153–165 (2010).
103. Talpur, R. *et al.* CD25 Expression Is Correlated with Histological Grade and Response to Denileukin Diftitox in Cutaneous T-Cell Lymphoma. *J. Invest. Dermatol.* **126**, 575–583 (2006).
104. Hidaka, T. *et al.* Down-regulation of TCF8 is involved in the leukemogenesis of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Blood* **112**, 383–393 (2008).
105. Karenko, L., Hahtola, S. & Ranki, A. Molecular cytogenetics in the study of cutaneous T-cell lymphomas (CTCL). *Cytogenet. Genome Res.* **118**, 353–361 (2007).
106. Jing, W. *et al.* MTAP-deficiency could predict better treatment response in advanced lung adenocarcinoma patients initially treated with pemetrexed-platinum chemotherapy and bevacizumab. *Sci. Rep.* **10**, 843 (2020).
107. Braun, F. C. M. *et al.* Tumor suppressor TNFAIP3 (A20) is frequently deleted in Sézary syndrome. *Leukemia* **25**, 1494–1501 (2011).
108. Chen, Y.-C. *et al.* Identification and characterization of membralin, a novel tumor-associated gene, in ovarian carcinoma. *Biochim. Biophys. Acta BBA - Gene Struct. Expr.* **1730**, 96–102 (2005).

AUTEUR : Nom : Arib

Prénom : Ines

Date de soutenance : 26 octobre 2021

Titre de la thèse : Étude du profil génomique du mycosis fongoïde : séquençage exomique complet portant sur une série de biopsies issues d'une cohorte retrospective de 54 patients

Thèse - Médecine - Lille 2021

Cadre de classement : Médecine

DES + spécialité : Hématologie clinique

Mots-clés : Séquençage exomique complet (WES), Mycosis fongoïde

Résumé :

Introduction : Le mycosis fongoïde est un lymphome peu fréquent, mais c'est le plus prévalent des lymphomes cutanés primitifs. Il se manifeste typiquement par des macules et des plaques érythémateuses, mais sa présentation est variable et peut mimer de nombreuses dermatoses inflammatoires. Le diagnostic est posé sur des données clinico-histologiques et de clonalité. Il est parfois rendu difficile par un manque de spécificité des lésions, notamment lorsque l'infiltrat inflammatoire réactionnel est abondant. La cellule tumorale est un lymphocyte T mémoire. La pathogénie de cette hémopathie reste incomprise. L'évolution peut être indolente, ou défavorable. Certains facteurs comme l'âge, la classification TNMB, la transformation histologique, ou la surinfection sont des facteurs bien identifiés de pronostic péjoratif impactant la survie. Les facteurs pronostiques aux stades précoces sont moins bien connus. Cette maladie reste incurable en dehors de l'allogreffe ou d'une radiothérapie sur lésion unique. L'objectif ici est de caractériser le profil génétique du mycosis fongoïde, encore mal connu, à la recherche d'éléments d'orientation étiologique, de facteurs pronostiques, et de nouvelles cibles thérapeutiques.

Méthodes : Nous avons réalisé un séquençage exomique complet (WES) puis des analyses bio-informatiques à la recherche d'anomalies du nombre de copies (GISTIC2.0) focales ou de grande taille et de mutations ponctuelles (*MutSig2CV*).

Population : 54 patients suivis dans les services de dermatologie et d'hématologie du CHU de Lille pour lesquels nous disposons de tissu congelé pour séquençage.

Résultats : Le séquençage exomique complet a pu être réalisé pour 48 patients. Parmi les mutations somatiques, les mutations récurrentes identifiées au diagnostic sont : *JUNB*, *SMARCB1*, *SUZ12*, *SERPINB2*, *MAPK1* et *STAT5A*. Les anomalies du nombre de copies les plus fréquentes sont l'amplification 7q, l'amplification 10p15.1, la délétion 10p11.22, la délétion 9p21.3, la délétion 6q16.3, la délétion 17p13.1 ainsi que la délétion 19p13.3. Certaines de ces anomalies (telles que *JUNB*, amp7q, amp10p15.1) sont plus fréquemment retrouvées aux stades avancés de la maladie, suggérant leur rôle dans l'oncogenèse du MF.

Conclusion : Nous avons identifié des mutations somatiques participant à l'oncogène du mycosis fongoïde. Parmi les anomalies du nombre de copie, la présence des amplifications 7q et 10p15.1 et la délétion 10p11.22 est corrélée à la survie globale des patients. Par ailleurs, les patients de faible risque présentant une délétion 6q13.3 ont une probabilité de progression plus importante. Enfin, la délétion 19p13.3 est l'anomalie la plus fréquente dans notre cohorte et pourrait constituer un marqueur diagnostique de mycosis fongoïde, mais ce résultat mérite confirmation.

Composition du Jury :

Président : Monsieur le Professeur Thierry FACON

Assesseurs : Madame le Professeur Stéphanie POULAIN, Monsieur le Docteur Olivier CARPENTIER, Madame le Docteur NUDEL-ORTMANS

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Salomon MANIER