

Mots clés :
lymphome,
classification,
IHC, HIS, biologie
moléculaire,
cytogénétique.

Keywords :
lymphoma,
classification, IHC,
ISH, molecular
biology, cytogenetic.

Lymphomes B, classification 2008, formes frontières, nouvelles entités et difficultés diagnostiques

Résumé

Les lymphomes malins non hodgkiniens (LMNH) de type B et T sont des tumeurs en augmentation constante (3 à 4 % par an), arrivant au 6^e rang des cancers. Ils se développent au sein du système lymphoïde (ganglions, rate, thymus), et peuvent aussi toucher d'autres organes (digestif, poumon, peau, thyroïde, SNC...). Plusieurs facteurs sont impliqués dans leur genèse : infectieux, auto-immuns, toxique, alkylants... Plusieurs classifications ont été proposées depuis Rappaport (1966). Les LMNH sont de type B et T, cet article fait le point sur la dernière classification OMS 2008⁽¹⁾ des lymphomes B (LB) représentant 85 % des LMNH. Il définit de nouvelles entités, des formes intermédiaires difficiles à classer, et, des pièges diagnostiques.

Introduction

Les LMNH sont des maladies d'agressivité variable (indolents ou agressifs), nécessitant un typage précis pour prédire le pronostic et guider le traitement. Le pathologiste assure le management des prélèvements lymphoïdes en réalisant des échantillons pour, d'une part, l'étude morphologique et phénotypique (apposition, examen histologique, immunohistochimique [IHC] et hybridation *in situ* [HIS]), et, d'autre part, pour les études de cytogénétique et de biologie moléculaire (BM). Les études morphologiques et phénotypiques sont à la base du diagnostic et souvent suffisantes, et, dans les cas difficiles permettent de guider la prescription d'examen complémentaires de BM et cytogénétique pour étayer le diagnostic et assurer une prise en charge optimale des patients.

La nouvelle classification OMS 2008 isole 11 types différents de lymphomes B (figure 1), sous-types, formes frontières et nouvelles entités.

Le lymphome B folliculaire (LF)

Il représente 30 % des LB et se développe à partir des lymphocytes des centres germinatifs (centrocytes « CC » et centroblastes « CB »). Son architecture est nodulaire (figure 1) ou rarement diffuse. Il fait partie des lymphomes dits « indolents », à croissance lente, se manifestant par des adénopathies multiples. On les classe en faible et haut grade selon le pourcentage de CB :

Abstract

Non-Hodgkin lymphomas (NHL) B and T are tumors steadily increasing (3-4% per year), reaching the sixth most common cancer. They develop within the lymphoid system (lymph nodes, spleen, thymus), and can also affect other organs (digestive, lung, skin, thyroid, CNS...). Several factors are involved in their genesis: infectious, autoimmune, toxic, alkylating... Several classifications have been proposed since Rappaport (1966). The NHL are B and T, this article focuses on the latest WHO 2008 classification (1) B-cell lymphoma, representing 85% of DLBCL. It defined new entities, difficult to classify intermediate forms, and diagnostic pitfalls.

- faible grade (G1-G2) comportant moins de 15 % de CB par grand champ (HPF) ;
 - haut grade (G3) comportant plus de 15 % de CB (HPF), divisé en 2 sous-types : G3A s'il persiste des centrocytes, G3B sans centrocytes (figure 2).
- Les LF avec des aires diffuses de plus de 15 CB cohésifs sont considérés comme des lymphomes diffus à grandes cellules (DLBCL) associés à un LF ; dans cette entité on

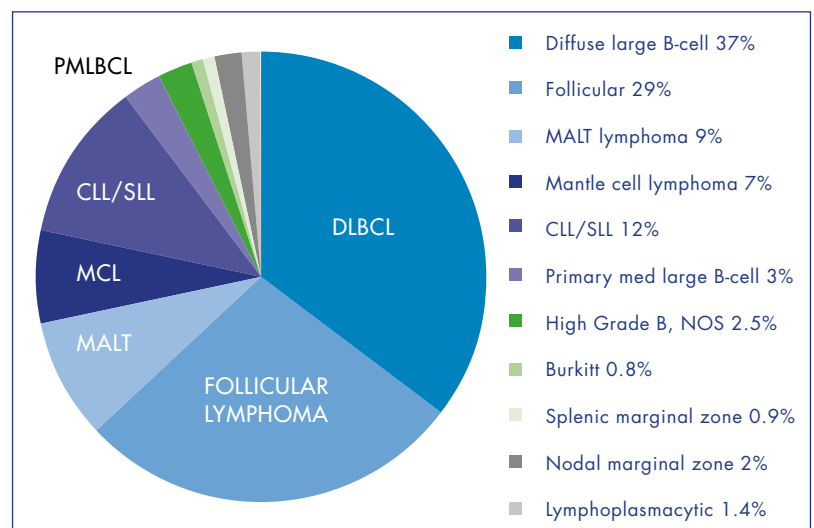


Figure 1 : Répartition des types de LB.

Auteurs



Joël CUCHEROUSET

Anatomopathologiste,
chef de service au GH
le Raincy-Montfermeil.
jcucherousset@
ch-montfermeil.fr

Coécrit avec :



Nahla CUCHEROUSET

Anatomopathologiste,
CHU Paul Brousse
Villejuif.
nahla.cucherousset@bct.
aphp.fr

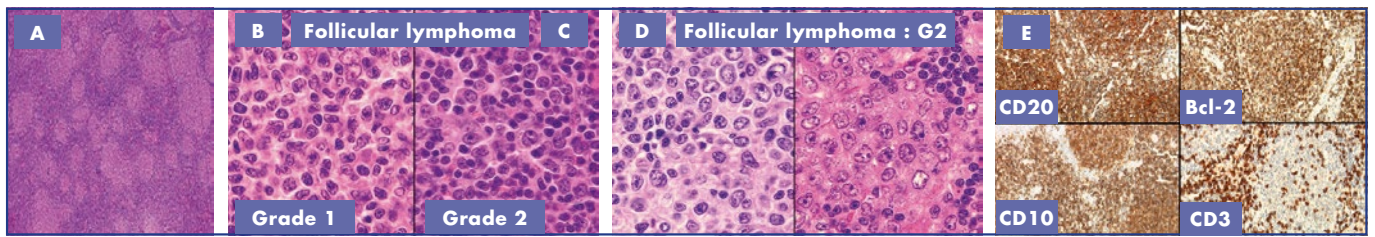


Figure 2 : Lymphome folliculaire : A Architecture folliculaire (FG), B G1, C G2, D G3A : 1A fort, E IHC.

doit évaluer le pourcentage de chacune des 2 composantes. L'hétérogénéité tumorale pose des difficultés diagnostiques pour les biopsies réalisées à l'aiguille fine (FNA).

Ils expriment le CD20+, bcl-6+, CD10+, bcl-2+. Le CD10 est parfois négatif dans les G3. Le bcl2 est positif dans 85-90 % des LF G1-G2 et 50 % des LF-G3. Le réseau de cellules folliculaire dendritiques (CFD) marqué par le CD21 et le CD23 est refoulé en périphérie des nodules. Les LF sont CD5 et cycline D1 négatif (figure 2). De nouvelles entités sont décrites :

- LF diffus ;
- LF partiels (variant pédiatrique de haut grade bcl2- et (14; 18) et variant intestinal (duodénal) souvent *in situ* ;
- LF primitif cutané.

Les lymphomes B diffus à grandes cellules (DLBCL)

Ils sont les plus fréquents (37 %) regroupant des variantes très hétérogènes (cliniques, biologiques et pronostiques). Ils font l'objet de nombreuses études afin de les caractériser et d'isoler des sous-groupes pour optimiser leur traitement. La classification OMS 2008 tient compte de dernières avancées qui définissent des sous-types.

- Les variants morphologiques : centroblastiques, immunoblastiques, anaplasiques

• Les sous-types : DLBCL :

- riche en T (Tcell rich),
- primitif de SNC lié à l'EBV (Primary of the CNS),
- primitif cutané de type jambe (Primary cutaneous leg type), du sujet âgé lié à l'EBV (EBV of the elderly).

• Les sous-groupes moléculaires

Germinal centre B-cell like et Activated B-cell like (ABC)

Il a été démontré qu'il existe deux profils génomiques de pronostic différent, indépendant du score IPI, parmi les patients traité par R-CHOP^[3,4] suivant la signature génétique de la cellule d'origine (étude génomique)^[4] (figure 3).

• Les sous-groupes immunophénotypiques

Les sous-types GC/NGC

(Germinal Centre B-cell like / NGC B-cell like)

Les DLBCL de type GC sont de meilleur pronostic que ceux de types NGC^[2]. Pour les identifier 3 AC sont indispensables : CD10, BCL6 et MUM1. Tous les DLBCL GCB sont CD10+. Les cas CD10- et BCL6- sont NGC. Les cas CD10- BCL6+ et MUM1+ sont NGC. Les Cas CD10- BCL6- et MUM- sont GC^[2] (figure 4).

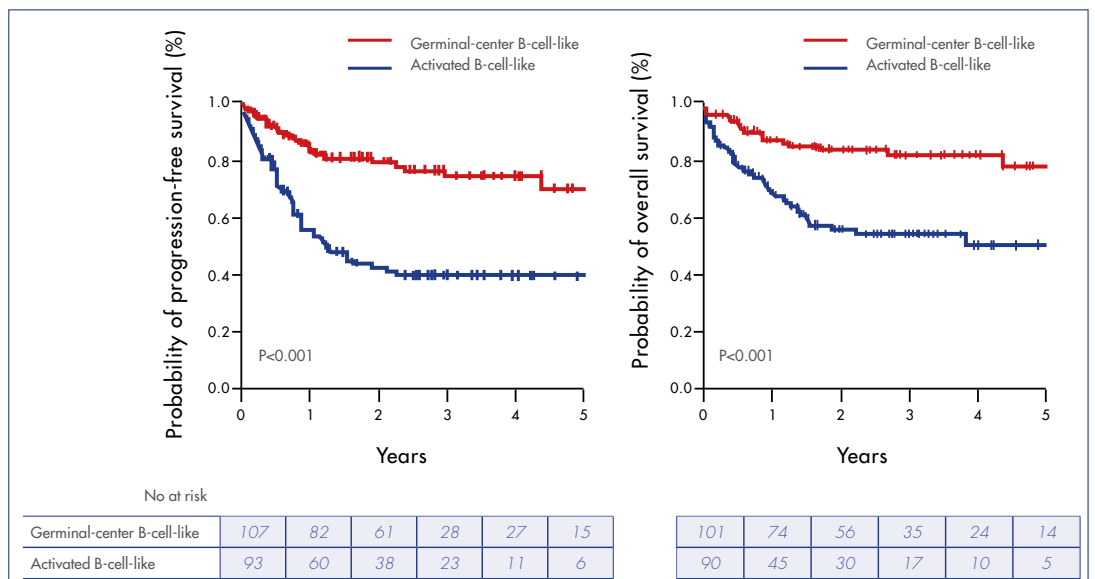


Figure 3 : DLBCL : Sous-types GC.

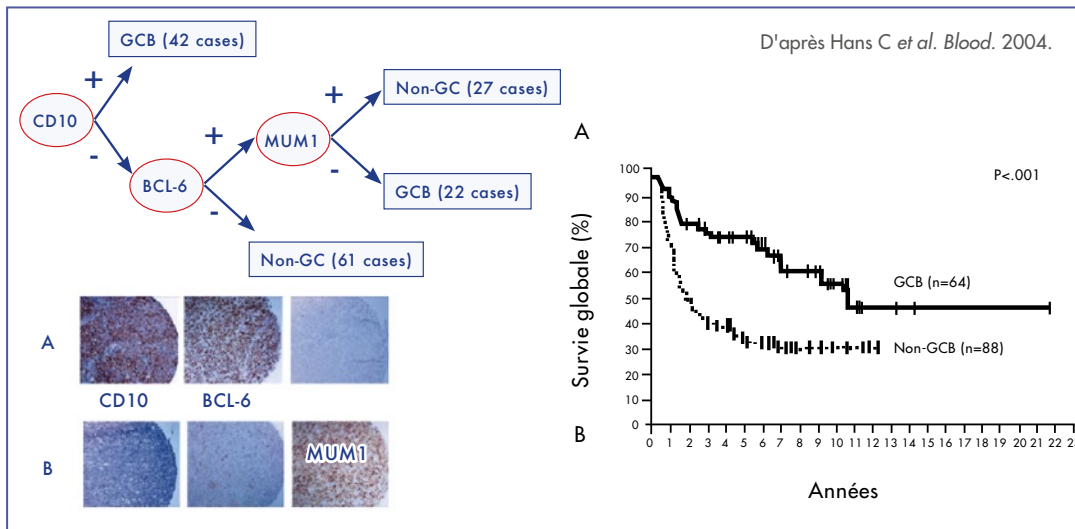


Figure 4 : Sous-types GC- NGC.

Les DLBCL CD5+

Le CD5 doit faire partie du panel d'AC des DLBCL : sa positivité associée à celle de la cycline D1 (confirmé par FISH) fait redresser le diagnostic de DLBCL en LB à cellules du manteau pléomorphe agressif. On doit préciser s'il s'agit d'un DLBCL *de novo* ou dérivant d'un autre type de lymphome : LB de type LLC (Syndrome de Richter), folliculaire, zone marginale, Hodgkin nodulaire. Dans ces cas, la taille du prélèvement pose des difficultés diagnostiques en cas de FNA.

- Les nouvelles entités : les formes « *borderline* »

Les lymphomes B inclassables avec aspects intermédiaires entre le DLBCL et le lymphome de Burkitt⁽⁵⁾

Certains DLBCL ont des aspects proches du L. de Burkitt (index prolifératif K167~100 %, bcl2+). L'absence de réarrangement c-myc (ou Myc en IHC) permet de les différencier d'un Burkitt. *A fortiori* la présence d'un « double hit » (bcl2/myc, bcl6/myc, bcl2/bcl6/myc) est un argument pour les classer dans cette catégorie. Le « double hit » myc/bcl2 est un signe de mauvais pronostic. Cette forme intermédiaire de DLBCL est agressive et sa thérapie n'est pas encore codifiée. Ils s'associent fréquemment à une atteinte médullaire et du SNC.

Les lymphomes B inclassables avec aspects intermédiaires entre un DLBCL et un lymphome de Hodgkin classique (CHL) (notamment en localisation médiastinale)

Il peut s'agir de formes composites (2 entités présentes chez le même patient) ou séquentielles (synchrone d'un Hodgkin non spécifique (NSHL) et lymphome B primitif du médiastin (PMBCL) ou de formes intermédiaires. Ils sont souvent CD30, CD15 mais l'expression de CD45, CD20, CD79a permet de les différencier. Ces formes *borderline*, entités provisoires, font l'objet de nombreux travaux de BM.

Lymphome du manteau

Il représente 7 % des LB. Les cellules tumorales, de petite taille, sont issues des centrocytes de la zone du manteau (zone périfolliculaire), de phénotype CD20, CD5, cycline D1 [t(11;14) (q13;q32)]. De nouvelles entités du lymphome du manteau (MCL) sont décrites :

- deux types de variantes :
 - agressive : cellules blastoïdes, pléomorphes,
 - autres : petites cellules, cellules *marginal-zone like*,
 - lymphomes du manteau cycline D1-.
- Il existe également des variabilités phénotypiques :
- MCL : CD5- (12 %), CD23+ (21 %), CD10+ (8 %)⁽⁶⁾.
 - 17 MCL CD10+ (5 CD5-, 5 bcl6+) -30 % blastoïde/pléomorphe⁽⁷⁾.

Lymphome lymphocytaire B / LLC-B

Ils concernent 12 % des LB. L'architecture est diffuse, faite d'un fond de cellules sombres constitué de petits lymphocytes monomorphes, parsemé de zones claires appelées centres de prolifération. Ces centres sont constitués de prolymphocytes et para-immunoblastes. Leur phénotype est CD20, CD5, CD23. Il existe une variante avec différenciation plasmocytaire (cytoplasme plus abondant et basophile au Giemsa). Ils peuvent se transformer en DLBCL (Richter) et en LH EBV+ de mauvais pronostic (0,5 %).

Nouvelles entités dans la classification OMS 2008 (formes provisoires)

- Lymphome/Leucémie B splénique non classable :
 - LLCB à petites cellules : atteinte de la pulpe rouge splénique avec lymphocytes sanguins vilieux,
 - leucémie à tricholeucocytes variant.
- Lymphome de la zone marginale ganglionnaire :
 - lymphome de la zone marginale ganglionnaire pédiatrique (associé à une TPCG).

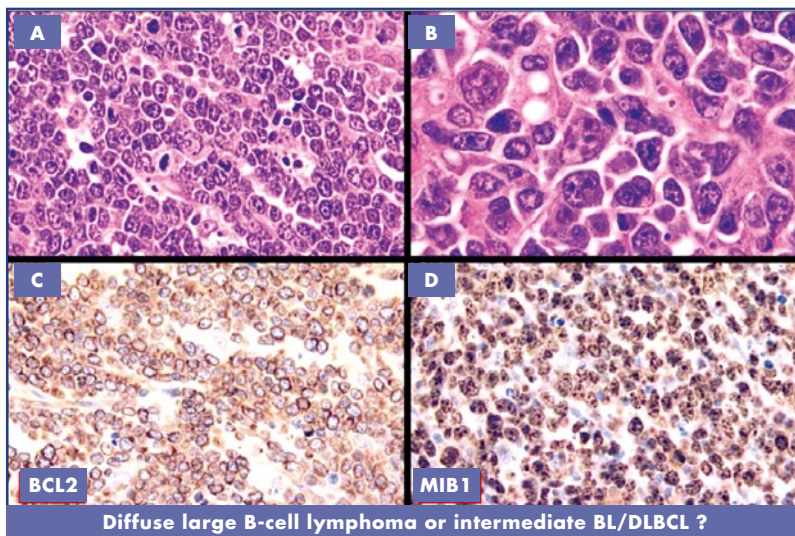


Figure 5 : A et B HES. C bcl2+, D Mib1+ (Ki67 élevé) → DLBCL ou forme intermédiaire BL/DLBCL ?

- ne pas affirmer un diagnostic de lymphome s'il manque certains critères diagnostiques ou phénotypiques ;
- ne pas hésiter à demander une biopsie plus large en cas de doute (mais parfois seule approche possible), ne pas oublier la confrontation anatomo-clinique et biologique.

La gestion optimale du prélèvement (FNA) est primordiale.

Il est préconisé :

- de mettre une seule carotte par bloc (1 ruban/lame) ;
- de ne pas entamer les blocs ;
- la congélation, les appositions, la cytométrie si prélèvements multiples.

La BM est utile (tissu congelé, tissu fixé), et notamment la PCR, pour 2 raisons :

- les diagnostics difficiles ;
- détecter une maladie résiduelle (avoir la tumeur initiale).

L'interprétation des données de la BM dépend de l'ensemble des données clinico-morphologiques : la monoclonalité n'est pas synonyme de malignité (ex. dans PTI, on peut observer un réarrangement de bcl-2, faux négatif de la PCR [fixateur, faible cellularité]).

NB sur la biologie moléculaire

La PCR (Programme Biomed 2) est la plus utilisée actuellement, elle permet :

- de mettre en évidence des réarrangement des gènes IgH, Kappa, lambda des LB et du TCR β , α , γ , δ des LT sont issus de la même famille de gène (Segments V et J). L'unicité définit la clonalité B et T. Il existe des faux négatifs de la PCR ;
- la PCR peut détecter des translocations (réarrangement bcl2/IgH, bcl-1/IgH) ;
- la cytogénétique est importante pour la recherche d'une translocation.

Ne pas oublier de tenir compte de la morphologie et du tableau clinique dans l'interprétation.

Conclusion

L'examen morphologique associé à l'étude phénotypique restent des éléments de base essentiels dans l'approche diagnostique des lymphomes B de la nouvelle classification OMS 2008 (ex. des cas atypiques : LF bcl2, manteau cycline D1- et CD5+, zone marginale CD5+). Cette classification souligne l'importance de sous-typé les DLBCL en utilisant un panel d'AC (CD10, bcl6, MuM1, CD5, cycline D1 et c-myc) et de définir des formes GC/NGC, formes intermédiaire DLBCL NOS/Burkitt, LH et médiastinal et DLBCL, les Lymphomes du manteau de forme blastoïde. Le recours à la BM est nécessaire dans les cas difficiles ; est indiquée dans les formes frontières [double hit et la recherche t(11;18) pour les lymphomes du manteau de mauvais pronostic] et les maladies résiduelles.

Remerciements : Ce thème faisait partie du programme de la 3^e JPHG, du 22 mars 2013 à Paris, CHU Hôtel Dieu. Nous remercions chaleureusement le Pr Molina qui a abordé ce sujet.

Lymphome à cellules B de la zone marginale ganglionnaire (2 %)

Ils représentent 2 à 6 % des LB. Ils sont issus des lymphocytes de la zone marginale (ZM) d'aspect monocytoides. Leur phénotype est CD20+, bcl2+, CD79a+, CD5-, cycline D1-. Les formes avec t(11;18) sont de pronostic plus grave.

On distingue 2 aspects histologiques selon :

- les aspects architecturaux :
 - soit nodulaire (infiltration périfolliculaire),
 - soit dans le centre des nodules (CG hyperplasique, CG régressif (Castlemann-like), reste de réseau de CFD par colonisation des centres germinatifs,
 - soit vaguement nodulaire ou diffus ;
- les types de cellules :
 - cellules de type centrocyte-like, cellules B monocytoides, lymphocytes plasmocytoides et plasmocytes, grandes cellules B dispersées.

Lymphomes lymphoplasmocytiques

Ils sont très rares (1,4 % des LB), d'architecture diffuse. Les cellules tumorales sont des lymphocytes plasmocytoides avec vacuoles intra-nucléaires PAS+. Il faut les différencier des lymphomes de la zone marginale, LLC-B et lymphomes folliculaires.

Éléments importants pour le diagnostic

Les biopsies (FNA) à l'aiguille posent des problèmes diagnostiques en ce qui concerne leur représentativité dans les cas de lymphomes complexes ou pléomorphes.

L'interprétation doit respecter 3 principes :

1. WHO classification, 4th 2008.
 2. Hans et al. *Blood* 2004.
 3. Lenz et coll. *New Engl J Med*, 2008, 359, 2313-23.
 4. Alizadeh et coll. *I*, 2000.
 5. Hummel. *B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between DLBCL and Burkitt lymphoma*. *NEJM*, 2006.
 6. Gao J et al. *Am J Clin Pathol*, 2009.
 7. Zanetto U et coll. *Histopathol*, 2008.