

Une « nouvelle » classification des lymphomes, selon l'étiologie ?

Rôle des agents infectieux

Nicole Brousse – Hôpital Necker-Enfants Malades – Paris

Nicole.brousse@nck.aphp.fr

Avec la participation de P. Gaulard et A. de Mascarel

Les étiologies et la pathogénie des lymphomes sont encore largement méconnues. Certains ont une origine **auto-immune**, d'autres sont associés à des **agents infectieux**. La liste des agents infectieux identifiés comme associés ou comme étant la cause de lymphomes s'allonge.

Ces agents infectieux incluent :

- des virus du groupe herpès,
 - o EBV et maladie de Hodgkin
 - o EBV et lymphome de Burkitt
 - o EBV et lymphome du système nerveux central

 - o HHV8 et lymphome primitif des séreuses
 - o HHV8 et maladie de Castleman
- des virus à ARN
 - o virus de l'Hépatite C et lymphome, liés à une cryoglobulinémie mixte
- des rétrovirus
 - HTLV1
- des bactéries
 - Borrelia Burgdorferi et lymphome cutané
 - Chlamydia psittaci et lymphome des annexes oculaires
- des mycobactéries
 - mycobacterium tuberculosis et EBV dans le lymphome associé au pyothorax
- la flore gastro-intestinale
 - o *Helicobacter pylori* et lymphome gastrique
 - o *Campylobacter jejuni* et maladie immuno-proliférative de l'intestin (IPSID)

La classification de certains lymphomes, dont ceux du MALT, pourrait se situer entre inflammation et tumeur.

I – Lymphome du MALT. Lymphome et *Helicobacter pylori*

1- Le lymphome du MALT, pathologie dys-immunitaire ou pathologie infectieuse ?

Très fréquemment, on retrouve une cause **dys-immunitaire**. Elle est bien connue pour *la thyroïde* où les lymphomes surviennent souvent au cours d'une thyroïdite auto-immune d'Hashimoto, et pour les *glandes salivaires* où le syndrome de Gougerot-Sjögren provoque une sialadénite myo-épithéliale (MESA) qui peut évoluer vers un lymphome. Le tissu

lymphoïde pulmonaire existe en faible quantité à l'état normal (Bronchus Associated Lymphoid Tissue ou BALT) et devient hyperplasique au cours de divers désordres auto-immuns, incluant le syndrome de Gougerot-Sjögren ou des maladies infectieuses pulmonaires mal étiquetées ; il prend alors l'aspect histologique de “ *bronchiolite folliculaire* ”.

Un grand nombre d'agents infectieux est maintenant identifié comme associé ou comme la cause de lymphome, la pathogénie passant par l'acquisition initiale d'un MALT dans le tissu. Le lymphome gastrique est souvent associé à *Helicobacter pylori*, la maladie immuno-proliférative de l'intestin (IPSID) vient d'être décrite associée à *Campylobacter jejuni*, certains lymphomes cutanés sont associés à *Borrelia Burgdorferi*, enfin une étude récente a montré la présence de *Chlamydia psittaci* dans les lymphomes des annexes oculaires.

Les mécanismes aboutissant à un lymphome diffère selon le type d'infection : les infections à EBV et HHV8 ont un effet « transformant direct » sur les cellules lymphoïdes, alors que les infections à *Helicobacter pylori* aboutissent à un lymphome dans le contexte d'une stimulation immunitaire chronique dépendant de l'antigène.

2- Anatomie Pathologique des lymphomes du MALT de bas grade de malignité

Quelle que soit leur localisation, les lymphomes du MALT de bas grade de malignité, c'est-à-dire à petites cellules, présentent une similitude morphologique, immuno-histochimique et moléculaire et sont caractérisés cliniquement par une évolution lente et longtemps localisée, ce qui explique que le traitement est souvent seulement chirurgical.

Aspects morphologiques

L'aspect morphologique des lymphomes du MALT rappelle l'aspect des plaques de Peyer et comprend une composante tumorale et une composante réactionnelle dont l'association est caractéristique :

- des cellules lymphomateuses B de taille petite à moyenne, avec un noyau irrégulier ressemblant au centrocyte (**centrocyte-like ou CCL**), et un cytoplasme relativement abondant, souvent clair. L'aspect des CCL peut varier et se rapprocher soit des petits lymphocytes, soit des centrocytes petits ou grands, soit des cellules B monocytoïdes présentant alors un cytoplasme plus abondant et plus pâle. Il s'y associe toujours quelques cellules activées nucléolées.
- des **lésions lympho-épithéliales** définies par la présence de nids de CCL (plus de 3CCL) dans l'épithélium des glandes avec souvent une destruction épithéliale. Il existe parfois un aspect turgescent et éosinophile pseudo-oncocytaire des cellules épithéliales en bordure des lésions lympho-épithéliales.
- une **différenciation plasmocytaire** monotypique dans un tiers des cas qui est souvent masquée par une plasmocytose réactionnelle.
- une hyperplasie des **follicules lymphoïdes** avec centre germinatif et zone marginale marqués.

Aspects immunohistochimiques

L'immunohistochimie permet de mieux visualiser les lésions lympho-épithéliales avec des anticorps anti-cytokératine . Elle confirme la nature B (CD20 +, CD79a +) des CCL, qui sont de plus CD5 -, CD43 - (les lymphomes lymphocytiques et les lymphomes du manteau sont

CD5 + et CD43 +, cycline D1+, bcl-6-), CD10 - (les lymphomes folliculaires sont CD10 +, bcl-6+) IgM+ et IgD - (les lymphomes du manteau sont IgD +). L'IHC recherche également une monotypie λ ou κ , mais celle-ci sera souvent difficile à affirmer, aussi bien sur coupes en paraffine, car il y a peu d'immunoglobulines dans le cytoplasme des CCL, que sur coupes congelées du fait de la petite taille des biopsies et de la présence quasi-constante d'un bruit de fond dû aux immunoglobulines extra-cellulaires. Ces données IHC sont discutées ultérieurement et résumées dans les **tableaux 4 et 7**.

Aspects moléculaires

Des techniques complémentaires de biologie moléculaire aident à confirmer le diagnostic de lymphome surtout sur des prélèvements biopsiques. Ces techniques ne pourront être contributives que si les prélèvements ont été effectués correctement au moment de l'endoscopie, à savoir :

- des prélèvements congelés dans l'azote liquide
- des prélèvements fixés dans du formol frais tamponné à 10%

La biologie moléculaire permet de rechercher un **réarrangement des gènes des immunoglobulines** qui peut être un élément décisif du diagnostic sur des biopsies. Il y a peu de temps, seules les techniques d'hybridation par Southern blot sur fragments congelés étaient possibles : elles donnent de bons résultats, mais elles sont longues et coûteuses. Actuellement, elles sont remplacées par l'amplification génique (**PCR**) qui peut donner des réponses en deux ou trois jours avec d'excellents résultats à partir de fragments congelés ou fixés par le formol permettant dans ce cas des études rétrospectives et des échanges inter-laboratoires plus faciles.

Ces techniques d'amplification génique (PCR), en plus de l'aide au diagnostic, permettent de mieux interpréter les infiltrats lymphoïdes plus ou moins suspects visibles sur les contrôles biopsiques de surveillance. En effet, la mise en évidence d'un réarrangement de gènes et sa comparaison avec celui de la tumeur initiale permet de diagnostiquer une persistance ou une récurrence du lymphome.

L'oncogène bcl-2 n'est pas réarrangé dans les lymphomes du MALT, alors qu'il l'est dans 80% des lymphomes folliculaires ganglionnaires. Par contre, la protéine bcl-2 est exprimée par les CCL en IHC.

Une **trisomie 3** est retrouvée dans 60% des cas. Elle n'est pas spécifique des lymphomes du MALT et est retrouvée dans d'autres lymphomes.

Trois **translocations** sont impliquées dans le développement des lymphomes du MALT : t(1;14), t(11;18), t(14;18) :

- la t(1;14) juxtapose le gène bcl-10 du chromosome 1 et le gène des Ig du chromosome 14, provoquant une surexpression de bcl-10. Dans les lymphocytes normaux, la protéine bcl-10 est exprimée dans le cytoplasme où l'on pense qu'elle induit des signaux pour les récepteurs antigéniques. Dans les lymphocytes du MALT ayant une t(1;14), bcl-10 est surexprimé et est visible à la fois dans le cytoplasme et le noyau des lymphocytes. Cette t(1;14) est rare et se voit dans moins de 5% des lymphomes du MALT.

- la t(11;18) est vue dans 30% des lymphomes du MALT. Elle est associée à une fusion entre les gènes AP12 et MALT1. Ces lymphomes du MALT avec cette t(11;18) montrent également une expression nucléaire de bcl-10. Cette translocation serait spécifique du lymphome de bas grade du MALT ; elle est absente dans les lymphomes de haut grade de l'estomac.
- la t(14;18) intéresse le gène MALT1 du chromosome 18 et le gène de la chaîne lourde des Ig du chromosome 14 provoquant une expression anormale de la protéine MALT1. Cette t(14;18) a été décrite dans les autres localisations des lymphomes du MALT mais pas dans l'estomac.

La conséquence pratique de l'étude de ces translocations est de déterminer des groupes de malades à risques différents. Des études montrent que la t(11;18) est plus souvent retrouvée chez les malades qui ne répondent pas au traitement éradicateur d'*H. pylori*. Une étude multicentrique a montré que la t(11;18) et l'expression nucléaire de bcl-10 étaient associées à des lymphomes du MALT évolués de stade IIE avec envahissement au delà de la paroi gastrique. Cependant la progression vers un lymphome à grandes cellules n'est pas vue chez les malades ayant cette translocation. Une chimiothérapie pourrait être proposée plus précocement aux malades ayant une t(11;18).

Les 2 anomalies génétiques, t(11;18) et expression du bcl-10, semblent être associées à des lymphomes du MALT de bas grade, disséminés et de plus mauvais pronostic.

3- Place des lymphomes du MALT dans les classifications des lymphomes

Actuellement, on rapproche les lymphomes du MALT des lymphomes à cellules B monocytoïdes et des lymphomes de la zone marginale des ganglions du fait de leurs similitudes cliniques, morphologiques et immunohistochimiques. De plus, la classification de Kiel classait dans la même catégorie les lymphomes à cellules B monocytoïdes et les lymphomes de la zone marginale. La dernière classification de l'OMS individualise le lymphome du MALT qui correspond au lymphome à cellules B de la zone marginale extra-ganglionnaire du tissu lymphoïde associé aux muqueuses. Il est maintenant admis que les lymphomes de la zone marginale ganglionnaire et extra-ganglionnaire sont des entités anatomo-cliniques différentes des lymphomes de la zone marginale splénique.

4- Lymphome gastrique et *Helicobacter pylori* : lymphome du MALT à petites cellules (lames 1 à 6 bis)

Comment apparaît le tissu lymphoïde dans l'estomac ?

L'estomac, qui est dépourvu de tissu lymphoïde à l'état normal est le siège le plus fréquent des lymphomes extra-ganglionnaires ; toutes les études montrent le rôle de l'*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) comme facteur déclenchant.

L'infection à *H. pylori* est responsable d'une gastrite chronique active au cours de laquelle vont apparaître des **follicules lymphoïdes** à centre clair, qui sont absents dans l'estomac normal et qui déterminent une gastrite folliculaire. Leur présence semble pathognomonique de l'infection à *H. pylori* et ils sont notés dans un peu moins de la moitié des cas quand il s'agit de biopsies standards et dans 100 % des gastrites chroniques à *H. pylori* quand les prélèvements sont nombreux et de grande taille. Cette hyperplasie folliculaire gastrique due à l'*H. pylori* est également observée chez l'enfant. Ces follicules lymphoïdes apparaîtraient

après une **stimulation antigénique** exercée par l'*H. pylori* sur la muqueuse gastrique. Cette hypothèse est étayée par des études in vitro montrant que les lymphocytes T sensibilisés à l'*H. pylori* fabriquent des cytokines qui stimulent la prolifération lymphoïde B (follicules), cette stimulation étant stoppée quand on supprime les *H. pylori*. De plus, in vivo, l'éradication de *H. pylori* entraîne une régression du tissu lymphoïde. L'infection à *H. pylori* est donc responsable de l'apparition, dans l'estomac, d'un "MALT" qui va faire le lit du lymphome gastrique.

Ceci est démontré par les **études épidémiologiques** qui retrouvent une corrélation entre la fréquence de l'infection à *H. pylori* et celle des lymphomes gastriques dans certaines régions et par des **études histologiques** qui montrent dans plus de 92% des lymphomes gastriques, une gastrite à *H. pylori* associée.

Enfin, le lien entre *H. pylori* et lymphome gastrique semble encore plus évident quand une **régression du lymphome** gastrique prouvée par IHC et biologie moléculaire est rapportée après éradication de l'*H. pylori*.

Lymphome du MALT de bas grade de l'estomac

Le lymphome gastrique sera pris comme type de description des lymphomes du MALT du tube digestif, car il est le plus fréquent et a été le plus étudié.

Clinique :

Il survient un peu plus souvent chez l'homme (1,5 H / 1 F) autour de 55 ans.

La symptomatologie se résume à des troubles dyspeptiques et l'endoscopie montre généralement une gastrite non spécifique ou un ulcère peptique. Parfois, c'est une complication (perforation, hémorragie) qui est révélatrice.

Le bilan d'extension comporte une *échoendoscopie* systématique qui va préciser le degré d'infiltration de la paroi et préjuger d'une atteinte ganglionnaire, une exploration du tube digestif à la recherche d'une deuxième localisation et d'une BM. Il est classiquement négatif, la plupart des lymphomes de bas grade étant localisés à l'estomac (stade I_E), rarement ils envahissent les ganglions gastriques (stade II_{1E}).

Actuellement un **traitement** éradicateur de l'*H. pylori* est initialement proposé. En effet les dernières études rapportent des rémissions complètes cliniques et histologiques dans 80% des cas de lymphomes du MALT localisés IE avec une simple antibiothérapie. Le suivi moléculaire montre que le clone disparaît généralement 1 à 2 ans après la rémission histologique. Les patients en rémission échoendoscopique et histologique mais avec persistance d'un clone devraient être suivis régulièrement jusqu'à la disparition du clone qui pourrait signifier la guérison du malade.

Des études montrent que l'absence d'éradication de l'HP ou les rares lymphomes gastriques sans HP au diagnostic sont de plus mauvais pronostic. Si le lymphome persiste échoendoscopiquement et/ou histologiquement ou se transforme en lymphome à grandes cellules, une thérapeutique complémentaire est proposée, variable selon les protocoles.

Quoi qu'il en soit, après une chirurgie associée ou non à une radiothérapie et/ou chimiothérapie, **la survie est longue** (90 % à 5 ans et 75 % à 10 ans).

Macroscopie :

Le lymphome gastrique peut siéger dans tout l'estomac, mais il est plus fréquent dans l'antrum. Il se présente comme des lésions planes, un peu infiltrées, parfois ulcérées. Il est souvent **multicentrique**. Les grosses tumeurs sont rares.

Microscopie :

Le lymphome gastrique de bas grade illustre histologiquement le mieux les lymphomes du MALT et associe les critères caractéristiques déjà vus, à savoir les **CCL**, les lésions lympho-épithéliales (**LLE**), la plasmocytose réactionnelle qui prédomine en surface et l'hyperplasie des **follicules lymphoïdes** .

Il ne faudra pas interpréter comme une lésion lympho-épithéliale, une exocytose intra-épithéliale de lymphocytes B qui est relativement fréquente dans les gastrites chroniques florides liées à l'*H. pylori*. Ce dernier devra être systématiquement recherché à l'aide de colorations spéciales (Giemsa modifié, crésyl violet ou Warthin Starry), car sa présence conditionne la prise en charge de ces malades. Les follicules lymphoïdes hyperplasiques sont souvent colonisés par les CCL qui peuvent même quand ils sont nombreux, les détruire, ne laissant persister que les centroblastes et les cellules dendritiques qu'il ne faudra pas confondre avec des foyers de transformation lymphomateuse à grandes cellules ou avec un lymphome folliculaire ; ces diagnostics seront discutés ultérieurement.

Le caractère souvent multifocal de ces lymphomes gastriques à petites cellules peut expliquer des récurrences tardives à partir de micro-foyers restés sur les berges d'exérèse.

Immunohistochimie et biologie moléculaire :

Le résultat de ces techniques a déjà été vu précédemment. L'anticorps anti-cytokératine (K11) est surtout utile sur des petites biopsies "écrasées" pour mettre en évidence des lésions lympho-épithéliales. En routine, le **phénotype** de la prolifération sera confirmé par quelques anticorps : un pan B (CD20 ou CD79a) marquant les CCL, un pan T (CD3) qui montrera souvent la richesse en petits lymphocytes T. Il sera utile pour préciser la nature d'un infiltrat lymphoïde à contours irréguliers, s'insinuant entre les glandes: un phénotype B sera en faveur d'un lymphome du MALT alors qu'un phénotype T prédominant aura une signification réactionnelle.

Problèmes diagnostiques :

Si le diagnostic de lymphome de bas grade de malignité est relativement facile sur une pièce opératoire, il peut être très difficile sur des biopsies, surtout si elles sont peu nombreuses, de petite taille et écrasées. La recherche des critères histologiques, en particulier les lésions lympho-épithéliales, permet cependant sur de "belles" biopsies d'affirmer le diagnostic de lymphome et de ne plus porter celui de pseudo-lymphome, terme qui doit être abandonné car presque toujours il correspond à un lymphome de bas grade de malignité. Cependant, on peut discuter :

a) une hyperplasie des follicules lymphoïdes au voisinage d'un ulcère chronique qui peut poser des problèmes diagnostiques surtout sur des biopsies et même sur une pièce de gastrectomie. Au faible grossissement, l'examen montre dans l'ulcère, d'une part, une muscularis mucosae rompue et remplacée par de la fibrose, alors qu'elle est conservée dans le lymphome et, d'autre part, des follicules à centre clair sans hyperplasie de la zone marginale et sans lésion lympho-épithéliale.

b) Le diagnostic de lymphome du MALT peut être très difficile devant **une hyperplasie lymphoïde diffuse** quand les LLE ne sont pas évidentes ou quand les biopsies sont de mauvaise qualité (petite taille, écrasées, mal fixées). L'IHC ne sera pas d'un grand secours, la monotypie λ ou κ étant d'interprétation difficile, tant sur tissu fixé (peu sensible), que sur tissu congelé (peu spécifique). La recherche d'un réarrangement de gènes des Ig par PCR sur tissu congelé ou formolé sera un argument important du diagnostic.

Le diagnostic peut être également très difficile lorsqu'il y a eu un traitement préalable (pour éradiquer *Helicobacter*). Il faut donc avoir la connaissance d'un traitement préalable dans les

renseignements cliniques. Lorsqu'il existe un **doute**, sachant que le diagnostic n'est pas urgent, il faut demander de **nouvelles biopsies**.

c) un lymphome du manteau dont les cellules ont le même aspect clivé (centrocytes ou CC de Lennert) que celles du MALT (CCL) ; cependant, il ne s'y associe pas de cellules activées, ni d'hyperplasie folliculaire et généralement pas de LLE. Cependant, il a été rapporté dans de rares observations de lymphome du manteau, d'authentiques LLE. L'IHC sera d'une grande aide, les lymphocytes B du lymphome du manteau exprimant IgD, des marqueurs T (CD43 et CD5) et la cycline D1, alors que les cellules du lymphome du MALT sont classiquement négatives avec ces marqueurs. Enfin, la biologie moléculaire peut affirmer le diagnostic de lymphome du manteau quand elle met en évidence une t(11 ; 14).

d) un lymphome lymphocytaire / LLC qui peut mimer un lymphome du MALT sans LLE. Là aussi, l'IHC permet ce diagnostic, les lymphocytes B étant CD5 +, CD43 + et CD23 +. En général, les renseignements cliniques et le bilan d'extension confirmeront le diagnostic de LLC.

e) un lymphome de Burkitt. Quand le sujet est jeune, il faut remettre en question le diagnostic de lymphome du MALT de bas grade, surtout quand il a été porté sur des biopsies de mauvaise qualité (coupe épaisse, cellules étirées, mauvaise fixation). Après avoir recherché des mitoses sur de meilleures coupes, le diagnostic de lymphome de Burkitt sera fortement évoqué avec 1) l'anticorps **MiB1 - Ki67**, marqueur de prolifération, qui réagit avec plus de 95 % des cellules blastiques, 2) la **positivité du CD10 et de bcl6**, 3) la **négativité du bcl2**.

Les **tableaux 7 et 8** résument les caractéristiques IHC des lymphomes à petites cellules B.

Tableau 7 : Lymphomes B de faible grade de malignité. Diagnostic différentiel

	CD5	CD10	CD23	CD43	cycline D	IgD	CIg	anomalies chromosomiques
LLC	+	-	+	+	-	±	-/+	trisomie 12 (30%)
lympho-plasmocytaire	-	-	-	-/+	-	-	+	NA
manteau	+	-/+	-	+	+	+	-	t(11;14)
folliculaire	-	+/-	-/+	-	-	-	-	t(14;18)
zone marginale	-	-	-/+	-/+	-	-	+	trisomie 3 (60%) t(11;18) (30%)

Tableau 8 : Apport de l'IHC dans le diagnostic des lymphomes à petites cellules B " d'aspect nodulaire "

	bcl2	bcl6	CD43	CD5	CD10	IgD	Bio. Mol.
Foll. réactionnel	-	+	-	-	+	-	
L. folliculaire	+	+	-	-	+	-	t(14;18)
L. du manteau	±	-	+	+	-	+	t(11;14)
L. du MALT	+	-	-	-	-	-	t(11;18)

Surveillance histologique d'un lymphome du MALT gastrique traité par antibiothérapie

Cette surveillance peut poser plus ou moins de problèmes à l'anatomopathologiste. Elle peut être facile si les biopsies présentent un aspect normal ou des lésions de gastrite chronique banale ou à l'inverse si elles montrent la persistance d'un aspect évident de lymphome. Les problèmes d'interprétation surviennent devant un infiltrat lymphoïde dans un chorion fibreux.

En effet le traitement éradicateur de l'*H.pylori* va entraîner des **signes de régression** à savoir:

- une disparition rapide de l'activité
- une diminution de l'infiltrat lymphoïde
- une atrophie des follicules lymphoïdes qui peuvent cependant persister des mois, voire des années
- une fibrose du chorion

La connaissance d'un traitement et le type de traitement doivent être indiqués à l'anatomopathologiste.

Wotherspoon et Isaacson ont proposé un score histologique (**tableau 9**) où le grade 0 correspond à une muqueuse normale, le grade 1 à une gastrite chronique active, le grade 2 au grade 1 associé à une gastrite folliculaire, les grades 3 et 4 à une suspicion de lymphome et le grade 5 à un lymphome sûr. Cependant, ce score n'est pas satisfaisant car il ne nous semble pas reproductible et n'est pas adapté au traitement éradicateur de l' *H.pylori* qui fait disparaître l'activité et provoque une atrophie des follicules lymphoïdes.

Tableau 9 : Score histologique de Wotherspoon et al

GRADE	DESCRIPTION	ASPECTS HISTOLOGIQUES
0	Normal	Plasmocytes disséminés dans le chorion Absence de follicules lymphoïdes
1	Gastrite chronique active	Petits amas de lymphocytes dans le chorion Absence de follicules lymphoïdes. Absence de LLE
2	Gastrite chronique active avec hyperplasie folliculaire lymphoïde	Nombreux follicules lymphoïdes entourés d'une zone du manteau et de plasmocytes. Absence de LLE.
3	Infiltrat lymphoïde suspect du chorion, probablement réactionnel	Follicules lymphoïdes entourés de petits lymphocytes infiltrant le chorion de façon diffuse et occasionnellement l'épithélium.
4	Infiltrat lymphoïde suspect du chorion, probablement tumoral.	Follicules lymphoïdes entourés de CCL infiltrant le chorion et l'épithélium en petits amas.
5	Lymphome B de bas grade de type MALT	Présence d'un infiltrat dense de CCL dans le chorion avec LLE proéminentes.

LLE = Lésions lympho-épithéliales - CCL = cellules "centrocyte-like"

Dans les 2 protocoles français de relecture des lymphomes gastriques du MALT, nous avons testé un **score histologique** pour les malades traités qui comprenait 3 grades :

- grade I: REMISSION
 - IA: absence d'infiltrat lymphoïde
 - IB: infiltrat lymphoïde non suspect
- grade II: infiltrat lymphoïde DOUTEUX:
 - infiltrat lymphoïde dense, absence de LLE
- grade III: PERSISTANCE du lymphome
 - IIIA: avec signes de régression
 - IIIB: degré d'infiltration lymphoïde identique à celui du prélèvement précédent

Ceci nous a amené à proposer un nouveau système de **grading histologique des lymphomes gastriques du MALT après traitement** éradicateur de l'*H. pylori* (cf référence C. Copie, *Gut* 2003) :

- Rémission complète histologique :
 - infiltrat lymphoïde absent ou cellules lymphoïdes dispersées dans le chorion
 - absence de lésion lympho-épithéliale
 - modification du chorion : chorion normal ou peu cellulaire et/ou fibreux

- Maladie résiduelle minimale probable :
 - amas de cellules lymphoïdes ou présence de nodules lymphoïdes dans le chorion/musculaire muqueuse et/ou la sous-muqueuse
 - absence de lésion lympho-épithéliale
 - chorion peu cellulaire et/ou fibreux

- Maladie résiduelle du lymphome du MALT répondant au traitement :
 - infiltrat lymphoïde dense du chorion, diffus ou nodulaire, s'étendant autour des glandes
 - lésions lympho-épithéliales focales ou absentes
 - chorion focalement peu cellulaire et/ou fibreux

- Pas de modification :
 - infiltrat lymphoïde dense diffuse ou nodulaire
 - lésions lympho-épithéliales présentes le plus souvent
 - pas de modification du chorion

La majorité des lymphomes du MALT de l'estomac peut être guérie par l'éradication de l'*Helicobacter pylori*, même si 20 à 30% des patients sont résistants. Cette résistance est souvent associée à la présence du gène AP12-MALT 1 (t(11;18)).

5- Facteurs histopronostiques et surveillance des lymphomes du MALT du tube digestif

Les cancérologues ne se contentent plus du diagnostic de lymphome du tube digestif, ils demandent aux pathologistes des critères histopronostiques pour ajuster leur thérapeutique. Sur des *biopsies*, le pathologiste précisera :

1. le **phénotype** de la prolifération lymphoïde. Les lymphomes B sont de meilleur pronostic que les rares lymphomes T.

2. le **grade** : les lymphomes de haut grade sont de moins bon pronostic que les lymphomes de bas grade de malignité. Pour ces derniers, le pathologiste essaiera de différencier les lymphomes du MALT de bon pronostic, des lymphomes du manteau de mauvais pronostic.

Les autres facteurs histopronostiques seront recherchés sur des *pièces opératoires* :

3. L'**aspect macroscopique** de la lésion. Dans certaines séries, les formes tumorales supérieures à 5 cm sont de plus mauvais pronostic que les formes inférieures à 5 cm.
4. L'état des **ganglions** locaux et régionaux. Un envahissement ganglionnaire partiel est parfois difficile à affirmer histologiquement. Il s'agit d'un infiltrat interfolliculaire de CCL occupant la zone marginale et s'étendant progressivement pour remplacer tout le ganglion. L'étude de ces ganglions qui auront été séparés dans des pots différents par le chirurgien en fonction de leur siège, permettra l'utilisation de la classification d'Ann Arbor modifiée par Musshoff:
 - IE : atteinte d'un ou plusieurs sites du tube digestif sans atteinte ganglionnaire
 - II1E : atteinte d'un ou plusieurs sites du tube digestif et des ganglions paratumoraux
 - II2E : atteinte d'un ou plusieurs sites du tube digestif et des ganglions régionaux
 - IIIE : atteinte d'un ou plusieurs sites du tube digestif associée à une atteinte des ganglions de part et d'autre du diaphragme
 - IVE : atteinte d'un ou plusieurs organes extra-ganglionnaires avec ou sans atteinte ganglionnaire associée.
5. Les **limites d'exérèse**. Elles devront être examinées minutieusement. En effet, les lymphomes du tube digestif sont souvent multifocaux et les limites macroscopiquement saines peuvent contenir des petits foyers lymphomateux qui expliquent les récurrences fréquentes.
6. L'**indice de prolifération** (Ki67-MiB1) des cellules lymphomateuses.

6- Maladie des chaînes lourdes α ou IPSID (Immuno Proliferative Small Intestinal Disease) et *Campylobacter jejuni*

C'est une variante du lymphome du MALT qui survient surtout autour du bassin méditerranéen et au Moyen Orient, et s'accompagne d'une synthèse des chaînes lourdes α sans chaîne légère, par les cellules lymphomateuses.

La présence de *Campylobacter jejuni* a été récemment rapportée dans l'IPSID mais on ne sait pas s'il est l'agent causal ou s'il s'agit d'une association.

Clinique :

L'IPSID atteint les sujets jeunes et se présente avec un syndrome de malabsorption avec atteinte diffuse de l'intestin grêle, sans intervalle de muqueuse saine. Dans les stades débutants, une antibiothérapie peut entraîner des rémissions, ce qui la rapproche des lymphomes gastriques du MALT, suggérant un agent pathogène et en particulier une origine bactérienne.

Une étude récente a montré la présence de *Campylobacter jejuni* dans les tissus digestifs de patients atteints d'IPSID.

L'évolution se fait vers une maladie diffuse avec atteinte des ganglions abdominaux et une transformation en lymphome de haut grade de malignité.

Macroscopie :

L'aspect dépend du stade de la maladie. Généralement, la paroi jéjunale est épaissie de façon diffuse, avec parfois un aspect polypoïde. Les ganglions mésentériques sont souvent élargis.

Microscopie :

Il s'agit d'un lymphome du MALT dont les cellules tumorales présentent une **différenciation plasmocytaire** marquée. En fonction de l'étendue du lymphome, on décrit trois stades :

- **stade A** : infiltrat plasmocytaire de la muqueuse et des ganglions mésentériques
- **stade B** : infiltrat lymphoïde nodulaire de la muqueuse s'étendant à la sous-muqueuse
- **stade C** : masse tumorale et transformation en lymphome de haut grade.

Immunohistochimie et biologie moléculaire :

La chaîne lourde α est mise en évidence dans les cellules lymphoplasmocytaires et les cellules transformées blastiques en l'absence de chaîne légère. Les autres caractères IHC et de biologie moléculaire sont identiques à ceux des lymphomes du MALT.

II- Lymphomes des annexes de l'oeil (lames 59 à 61)

Siège : orbite, conjonctive, paupières, glandes lacrymales

Pathogénie : une étude récente a montré la présence d'une infection à *Chlamydia psittaci* dans les tissus tumoraux et le sang des patients atteints par un lymphome des annexes oculaires. Certains patients de l'étude ont même eu une diminution de leur lésion après traitement antibiotique seul. Cette étude suggère que ces lymphomes pourraient être des maladies secondaires à un antigène, ici de type infectieux, comme il a été démontré pour le lymphome gastrique associé à *Helicobacter pylori*.

Histologie : - lymphome B, à petites cellules, de faible grade de malignité du MALT
Autrefois dénommé "pseudo-lymphome" en raison de leur bénignité histologique et de leur faible évolutivité clinique
- parfois lymphome du manteau

Diagnostic différentiel : hyperplasies lymphoïdes "bénignes" isolées ou associées à une maladie dysimmunitaire (**syndrome de Sjögren**).

Aide au diagnostic : - morphologie: infiltrat lymphoïde dense, monomorphe
- immunohistochimie: poly ou monotypie
- biologie moléculaire: poly ou monoclonale

Référence :

Ferreri AJM, Guidoboni M, Ponzoni M, de Conciliis C, Dell'Oro S, Fleischhauer K, Caggiari L, Lettini AA, Dal Cin E, Ieri R, Freschi M, Villa E, Boiocchi M, Dolcetti R. Evidence for an association between *Chlamydia psittaci* and ocular adnexal lymphomas. *J Natl Cancer Inst* 2004;96:586-594

Lame n° 59 Lymphome du MALT de bas grade

Clinique: F, 31 ans. Lésion du cul de sac conjonctival. Biopsie.

Morphologie: infiltration lymphoïde dense, diffuse du chorion, assez monomorphe.
Cytologie: petites cellules lymphoïdes. Très rares mitoses. Absence de cellules folliculaires dendritiques

IHC: phénotype B. En congélation: CD5-, IgM+, IgD-, monotypie l

Commentaires: Lésion rare, de diagnostic difficile. Diagnostic différentiel: hyperplasie lymphoïde bénigne. La densité et le monomorphisme, et les données phénotypiques dans le cas présent permettent de retenir le diagnostic de lymphome B à petites cellules de type MALT.

Lame n° 60 Lymphome du manteau

Clinique: H, 56 ans. Infiltration nodulaire de la conjonctive. Biopsie.

Morphologie: infiltration lymphoïde dense, diffuse, respectant l'épithélium de surface.

Cytologie: très monomorphe, à petites cellules un peu irrégulières. Quelques mitoses.

IHC: CD20+, CD5+

Commentaires : lymphome B à petites cellules de la conjonctive. L'aspect cytogique, les mitoses, l'absence d'épithéliotropisme et le phénotype CD5+ orientent vers un lymphome du manteau (primitif ou secondaire?).

Lame n° 61 Lymphome folliculaire vraisemblable

Clinique: H, 69 ans. Lésion infiltrée de la conjonctive. Biopsie.

Morphologie: prolifération lymphoïde d'architecture nodulaire.

Cytologie: petites cellules clivées (d'allure centrocytique). Rares centroblastes. Quelques cellules folliculaires dendritiques

IHC: phénotype B, CD20+ (CD5-, CD10+ faible) (bcl-6 ?)

Commentaires : lymphome B à petites cellules. L'aspect cytogique et l'architecture évoquent en premier lieu un lymphome folliculaire (primitif ou secondaire). Bilan d'extension en cours.

III- Lymphomes cutanés B et pseudo-lymphomes : rôle de *Borrelia burgdorferi*

Les « **pseudo-lymphomes B** » ont des caractéristiques histologiques communes aux lymphomes B avec des plages de lymphocytes B polytypiques et/ou des plasmocytes associés à des lymphocytes réactionnels. Ce groupe comporte le **lymphocytome cutané bénin**. Ils doivent être distingués des lymphomes B en particulier des **lymphomes centro-folliculaires** et des **lymphomes de la zone marginale**.

Un âge jeune et bien sûr l'identification d'une étiologie (**borréliose**, piqûre d'insecte, site d'acupuncture, d'injection antigénique ou de tatouage) suggèrent cliniquement le diagnostic. Les arguments anatomo-pathologiques en faveur d'un pseudo-lymphome B sont le caractère architectural (nodule bien circonscrit dans le derme), le caractère polymorphe de l'infiltrat, la présence de **follicules lymphoïdes** avec centres germinatifs, de **polynucléaires éosinophiles**. La mise en évidence d'un réarrangement clonal d'une immunoglobuline est d'une aide moindre car des clones lymphocytaires B peuvent être mis en évidence dans d'authentiques pseudo-lymphomes B.

IV- HCV et lymphomes - Lymphome splénique (lames n° 70 et 71)

Une association entre sérologie anti-HCV positive et risque de lymphome est aujourd'hui démontrée. La prévalence de l'HCV chez les patients ayant un lymphome B serait de 15%, alors que la prévalence de l'HCV n'est que de 1% environ dans la population générale ou chez les patients ayant d'autres tumeurs.

Des anticorps anti-HCV sont détectés chez la majorité des patients présentant une cryoglobulinémie de type II, caractérisée par une expansion clonale de cellules B qui peut évoluer secondairement vers un lymphome B, de faible ou de haut grade.

Les principaux lymphomes décrits correspondent à des **lymphomes de la zone marginale**, incluant le **lymphome splénique à lymphocytes villos** (SLVL ou splenic lymphoma with villous lymphocytes) et le lymphome lympho-plasmocytaire. L'atteinte de la **rate** est plus fréquente chez les patients HCV+. Des lymphomes B à grandes cellules commencent à être décrits, probablement secondaires pour certains à des lymphomes de bas grade, peut-être de la zone marginale.

Une étude récente a montré que la « clearance » de l'infection HCV par un seul traitement anti-viral chez des patients atteints de SLVL avait abouti à la régression du lymphome.

Rappel de quelques généralités sur les lymphomes spléniques :

- La notion de lymphome « **primitif** de la rate » est controversée : elle est réservée aux patients ayant une présentation clinique splénique apparemment isolée, c'est-à-dire sans localisation ganglionnaire (sauf éventuellement des ganglions du hile splénique).
- Point important : les lymphomes spléniques comportent presque toujours un envahissement médullaire et/ou sanguin et/ou hépatique, d'où la très **grande valeur de la cytologie sanguine (avec si possible le phénotype, le génotype et la cytogénétique) et de la biopsie médullaire dans la stratégie diagnostique**. La grande majorité est constituée par les lymphomes B « à petites cellules ».

- Une entité anatomo-clinique fréquente et particulière à cette localisation : *le lymphome splénique à lymphocytes villeux*.
- (Pour mémoire : parmi les lymphomes T à présentation essentiellement splénique, le lymphome T $\gamma\delta$ hépato-splénique constitue également une entité anatomo-clinique à part).

Lymphomes spléniques B “ à petites cellules ” : généralités

- ils infiltrent de façon diffuse l'ensemble de la rate. La localisation préférentielle est au niveau de la **pulpe blanche**, avec une extension variable dans la pulpe rouge. Dans les formes débutantes, il faut insister sur la valeur de la présence de cet infiltrat lymphoïde B dans la pulpe rouge (interstitiel diffus ou sous forme de petits nodules).

- la rate est un site majeur d'infiltration des LLC, leucémies pro-lymphocytaires, leucémies à tricho-leucocytes et lymphomes spléniques à lymphocytes villeux. En outre, la splénomégalie est fréquente dans les lymphomes du manteau et les lymphomes folliculaires.

- sauf dans les lymphomes spléniques à cellules villeuses et les leucémies à tricho-leucocytes dans lesquelles les ganglions du hile sont absents ou peu développés, l'attention doit être portée sur l'examen des ganglions hilaires. Le diagnostic histologique est souvent plus facile au niveau ganglionnaire.

- la leucémie à tricho-leucocytes, rare, ne pose plus de problème au niveau splénique. Le diagnostic est désormais cytologique et médullaire (biopsie médullaire). Elle est la seule hémopathie lymphoïde B à réaliser une infiltration préférentielle de la pulpe rouge par des cellules monomorphes, caractéristiques, de taille moyenne.

Lymphome splénique associé à l'HCV : lymphome B de la zone marginale

Les lymphomes B de la zone marginale infiltrent préférentiellement dans les formes débutantes la zone marginale de la rate et colonisent secondairement les follicules et la pulpe rouge. Leur cytologie est variable: petites cellules plus ou moins irrégulières, parfois de taille moyenne (monocytoïde) ou lympho-plasmocytaire. Le phénotype est B CD5-, IgM+, IgD \pm . Lorsqu'une lymphocytose atypique, constituée de cellules “ villeuses ” est présente, on parle de *lymphome splénique à cellules villeuses*, qui est une variante de lymphome splénique de la zone marginale. La présentation clinique est purement splénomégalique. L'infiltration médullaire sous forme de nodules et/ou d'une infiltration interstitielle à renforcement sinusal est la règle. L'évolution est indolente. Sur le plan cytogénétique, fréquence des trisomies 3.

Références

Weng WK, Levy S. Hepatitis C virus (HCV) and lymphomagenesis. *Leuk Lymphoma* 2003 ;44 :1113-1120

Matsuo K, Kusano A, Sugumar A, Nakamura S, Tajima K, Mueller NE. Effect of hepatitis C virus infection on the risk of non-Hodgkin's lymphoma: a meta-analysis of epidemiological studies. *Cancer Sci* 2004;95:745-752

Silvain C. Virus de l'hépatite C et lymphome B non hodgkinien. *Gastroenterol Clin Biol* 2004 ;28 :510-511

Hermine O, Lefrère L, Bronowicki JP, Matiette X, Ondeau K, Eclache-Saudreau V et al. Regression of splenic lymphoma with villous lymphocytes after treatment of hepatitis C virus infection. N Engl J Med 2002 ;347 :89-94

Engels EA, Chatterjee N, Cerhan JR, Davis S, Cozen W, Severson RK, Whitby D, Colt JS, Hartge P. Hepatitis C virus infection and non-Hodgkin lymphoma: results of the NCI-SEER multi-center case-control study. Int J Cancer. 2004;111:76-80.

Negri E, Little D, Boiocchi M, La Vecchia C, Franceschi S. B-cell non-Hodgkin's lymphoma and hepatitis C virus infection: a systematic review. Int J Cancer. 2004;111:1-8.

V- EBV et lymphome

1- Mononucléose infectieuse (lames n° G 7 et 40)

La biopsie ganglionnaire n'est pas indiquée dans les cas classiques de mononucléose infectieuse : c'est plutôt un problème d'en voir une !

La présentation de la maladie peut être inhabituelle ou la lymphadénopathie peut être prolongée et le pathologiste pourra alors voir une biopsie ganglionnaire ou amygdalienne. Le diagnostic de mononucléose infectieuse pourra seulement être suggéré par le pathologiste.

L'aspect morphologique varie de l'hyperplasie lymphoïde folliculaire « non spécifique » à l'aspect prolifératif suggérant un lymphome ou une maladie de Hodgkin. Comme la plupart des pathologies associées à une infection virale, il existe une prolifération d'aspect « immunoblastique », siégeant dans les zones T paracorticales et donnant un aspect « en mosaïque » de grandes cellules immunoblastiques dispersées parmi les petits lymphocytes T dans un paracortex élargi. Les figures mitotiques peuvent être nombreuses. La présence d'un nombre variable de plasmocytes donne un aspect polymorphe à la population cellulaire. Des foyers de nécrose peuvent être présents. Les cellules endothéliales sont proéminentes et les vaisseaux sont nombreux.

L'étude immunohistochimique peut être utile en montrant sur un fond de petits lymphocytes CD3+ les grandes cellules immunoblastiques CD20+, surtout **EBV+ (LMP1+)** et **CD30+**.

Lame n° G7 mononucléose

Clinique :

Jeune fille de 16 ans, adénopathie cervicale. Biopsie.

Morphologie :

Le ganglion communiqué mesure 1 cm de diamètre. La capsule est d'épaisseur normale. L'architecture ganglionnaire est conservée. Des follicules lymphoïdes avec centres germinatifs sont facilement visibles. Surtout, il existe une hyperplasie des zones inter-folliculaires, représentée par une population cellulaire polymorphe associant des petits lymphocytes et de grandes cellules lymphoïdes nucléolées. Il existe quelques cellules en mitoses et quelques cellules en nécrose, dispersées.

IHC et PCR :

Les grandes cellules lymphoïdes des zones T sont de phénotype B, CD20+ et expriment également le CD30. Elles contiennent la protéine de latence de l'EBV (LMP1). L'hybridation in situ avec la sonde Eber montre un nombre modéré de noyaux positifs dans les zones inter-folliculaires.

Commentaires :

Ganglion d'architecture normale avec hyperplasie lymphoïde polymorphe des zones T et présence de grandes cellules lymphoïdes « hyperbasophiles » EBV+. L'aspect est compatible avec un ganglion cervical au décours d'une mononucléose infectieuse.

2- Maladie de Hodgkin (lame n° G 15)

De nombreuses études ont montré l'existence d'une association fréquente (30 à 40%) de la maladie de Hodgkin classique avec le virus d'Epstein Barr. L'EBV pourrait avoir une implication directe dans la pathogénie des maladies de Hodgkin EBV-positives.

Clinique :

Homme de 61 ans, ganglion cervical.

Morphologie :

Le ganglion a une architecture partiellement détruite, il persiste d'assez nombreux follicules contenant des centres germinatifs réguliers et de morphologie normale.

Surtout, il existe un important élargissement des zones inter-folliculaires qui contiennent une population cellulaire très polymorphe, associant des petits lymphocytes, des plasmocytes, des histiocytes, de rares polynucléaires et surtout, de grandes cellules anormales. Ces grandes cellules ont un aspect le plus souvent de cellules de Hodgkin, à noyau arrondi et nucléolé, rarement de cellules de Sternberg à noyau irrégulier, boursoufflé ou polylobé contenant plusieurs nucléoles plus ou moins volumineux. Ces cellules sont en nombre très variable selon les zones. Il existe également quelques cellules de grande taille ayant un aspect « momifié », en voie de nécrose.

IHC et PCR :

Les cellules tumorales situées dans les zones T expriment CD30; quelques unes expriment CD20. La majorité contient de l'EBV (expression forte de LMP1).

Commentaires :

Maladie de Hodgkin « classique ». Les cellules de Reed-Sternberg contiennent de l'EBV.

Référence :

P. Gaulard, Brousse N. Maladie de Hodgkin classique: biologie et formes frontalières. Ann Pathol 2004 24 :330-48

3- Lymphome de Burkitt (lame n° G 30)

Le lymphome de Burkitt constitue une entité rare en Occident (<1%), initialement décrite en Afrique, associant :

- une morphologie caractéristique : cellules monomorphes au noyau de taille moyenne, au cytoplasme basophile vacuolé (détails mieux appréciés sur lames de cytologie), avec de nombreuses mitoses, parsemées de macrophages à corps tingibles responsables d'un aspect "en ciel étoilé", aspect cohésif ;
- un phénotype B CD20+, avec un profil **CD10+**, **bcl-2-**, **MIB1/Ki67 + (100%)** de grande valeur diagnostique ; elles expriment une IgM de surface ; également **bcl-6+**
- une translocation t(8;14) ou variante t(2;8) ou t(8;22) intéressant l'oncogène c-myc dont l'expression est dérégulée ;
- un tableau clinique également caractéristique : dans la forme africaine, endémique, associée à l'EBV, la machoire est l'atteinte préférentielle tandis que dans les formes sporadiques observées en Occident, très inconstamment liées à l'EBV, l'atteinte abdominale (iléocaecale, méésentérique) est la plus fréquente. En dehors de ces 2 formes survenant préférentiellement chez l'enfant, le LNH de Burkitt peut survenir dans n'importe quelle localisation, est relativement fréquent chez les sujets infectés par le VIH. Ce lymphome est cliniquement très agressif, mais son pronostic, surtout chez l'enfant, a été considérablement transformé par les chimiothérapies modernes.

Sur le plan physiopathologique, son phénotype CD10+/bcl-6+ et son profil de mutations somatiques confortent son origine à partir d'une cellule centro-folliculaire. Le terme « *Burkitt-like* » traduit la présence d'un L de Burkitt « atypique » sur le plan cytologique (cellules plus pléomorphes, discrète différenciation plasmocytaire) et est désormais réservé aux tumeurs ayant les caractéristiques phénotypiques et cytogénétiques des lymphomes de Burkitt. Le diagnostic des tumeurs d'interprétation morphologique difficile, surtout sur des prélèvements de fixation inadéquate, entre un lymphome de Burkitt (importante activité mitotique, macrophages à corps tingibles) et un lymphome diffus à grandes cellules B (cellules de grande taille, pléomorphes) bénéficie donc de l'immunohistochimie (expression de CD10, bcl2 et de Ki67/MIB1) et de la mise en évidence de la translocation (possible par techniques de FISH).

Lame n° G 30 : Lymphome de Burkitt

Clinique :

Homme de 46 ans. Syndrome abdominal, ganglion méésentérique.

4- Lymphomes des cavités nasales et des sinus paranasaux (lame n°45)

- A côté des **lymphomes à grandes cellules B**, les deux types histologiques les plus fréquents sont : les **tumeurs plasmocytaires** (qui peuvent être immatures, d'aspect plus ou moins immunoblastiques et ne pas exprimer l'antigène CD 20 ; valeur alors de CD 79 a et de la détection d'une monotypie intracytoplasmique) et surtout les **lymphomes NK/T nasaux**.
- **Les lymphomes NK/T nasaux** correspondent à l'ancien "granulome malin centrofacial". Ils sont plus fréquents dans les séries orientales.
 - Cliniquement, outre leur point de départ le plus fréquent au niveau des fosses nasales, ils se caractérisent par la fréquence des extensions de contiguïté à l'os, au sinus, au palais,

aux gencives avec des lésions destructrices des sinus maxillaires, de la cloison nasale, voire de la voûte du palais. A distance, ils peuvent s'accompagner de disséminations cutanée, pulmonaire ou au système nerveux central. Les adénopathies sont rares. Il s'y associe parfois un syndrome d'activation macrophagique. Leur pronostic semble redoutable.

- Histologiquement, ces proliférations, autrefois décrites comme polymorphes ("réticulose polymorphe") associent:

*une population tumorale lymphoïde atypique, constituée d'une proportion variable de cellules lymphoïdes petites, moyennes et grandes

* des images d'angiocentrisme et d'angiodestruction (les cellules tumorales envahissent souvent la paroi des veinules et des artérioles), pouvant être responsables d'une nécrose ischémique

*un infiltrat réactionnel (lymphocytes, plasmocytes, histiocytes) plus ou moins abondant. **La nécessité de prélèvements profonds, au mieux sous anesthésie générale, doit être soulignée pour identifier cette population tumorale qui peut être masquée par l'ulcération.** Ces aspects ont fait regrouper ces lymphomes sous le terme de "lymphome angio-centrique", terminologie qui semble en réalité regrouper des entités différentes et n'est donc plus adaptée.

- Récemment, plusieurs études ont montré que la grande majorité de ces lymphomes sino-nasaux avaient des particularités immunologiques ou génotypiques évoquant le plus souvent une origine NK, plus rarement une origine T notamment $\gamma\delta$. En effet, ce lymphome a le plus souvent le phénotype CD2+, CD5-, CD56+, CD4-/CD8-, sans expression des récepteurs T (β F1-, δ TCR1-) des lymphocytes NK. Comme les cellules NK normales, l'expression de CD3 est souvent dissociée avec expression de certaines chaînes notamment CD3 ϵ (reconnue par les anticorps en paraffine), mais pas le complexe CD3 entier (CD3/Leu4-) et il n'existe pas de réarrangement des gènes codant pour les récepteurs T. De plus, les cellules tumorales expriment les protéines TIA-1, perforine et granzyme B, contenues dans les granulations cytoplasmiques azurophiles des cellules cytotoxiques activées. Ces lymphomes sino-nasaux présentent une association quasi-constante avec le virus Epstein-Barr indépendamment de la distribution raciale et géographique et expriment la protéine oncogénique LMP-1 de l'EBV. Ces données suggèrent un rôle important de ce virus dans la pathogénie de ces tumeurs.

- A côté de ces lymphomes NK de localisation sino-nasale, il a été récemment montré que d'autres lymphomes exprimant des marqueurs T avaient les mêmes particularités histologiques, phénotypiques et génotypiques et étaient également associés avec le virus EBV. Il s'agit de lymphomes à présentation extra-ganglionnaire non ORL (peau, testicule, intestin,...) d'évolution agressive qu'il est proposé d'appeler (classification OMS) "**lymphome NK/T extra-ganglionnaire de type nasal**".

Problèmes diagnostiques :

- L'essentiel est de penser au diagnostic de lymphome NK/T nasal :
 - éviter de conclure au caractère réactionnel de l'infiltrat sur des biopsies superficielles, ne renfermant que des lésions d'allure inflammatoire (ulcération) ;
 - devant tout infiltrat lymphoïde assez dense, même polymorphe, recourir à l'étude immunohistochimique (CD3, LMP-1 et/ou H.I.S. EBER, marqueurs cytotoxiques) à la recherche d'atypies cytologiques significatives. Ces dernières peuvent être minimales.
 - se référer aux renseignements cliniques.

- Diagnostic différentiel :

Les diagnostics différentiels essentiels sont résumés dans les lésions infectieuses souvent profondes, fongiques et la granulomatose de Wegener. Cette dernière est rare. Il s'agit d'un diagnostic d'élimination. La présence de lésions vasculaires, d'une réaction à cellules géantes, l'absence d'atypie cytologique de la population lymphoïde sont des éléments compatibles avec ce diagnostic qui est anatomo-clinique.

Références :

Kanavaros P, Gaulard P. Lymphomes T périphériques et NK. *Ann Pathol*, 1998 ; 18 : 299-314

Morel P, Brousse N. Lymphomes extra-crâniens de la tête et du cou. *In* : Lymphomes, ed. Frison-Roche, 1997 ; 407-418.

Lame n° 45 Lymphome NK / T nasal

Clinique : H, 42 ans. Lésion destructrice de la fosse nasale. Biopsie sous anesthésie générale. Bilan d'extension négatif.

Morphologie : Volumineux fragments biopsiques. Prolifération lymphoïde dense, partiellement nécrosée.

Cytologie : Population atypique, constituée de cellules de taille moyenne (cytoplasme clair) et parfois grandes, infiltration de la paroi des vaisseaux (angio-invasion).

IHC et autres techniques :

- Sur coupes en paraffine : CD3ε+, Tia1+, Granzyme B+, LMP1+, HIS EBER+.

- Sur coupes en congélation : phénotype et génotype de cellules NK (CD5-, CD56+, TCR-, absence de réarrangement des gènes des récepteurs T).

Commentaires : Cette observation illustre un lymphome nasal, d'origine NK, rentrant dans le cadre de l'entité anatomo-clinique autrefois décrite sous le terme de "granulome malin centrofacial".

Souligner la nécessité de biopsies larges pour le diagnostic.

Fréquence des lésions angio-centriques et d'angio-invasion.

Pour le diagnostic, souligner l'intérêt de la mise en évidence d'une population atypique par l'immuno-histochimie (CD3, Tia1, notamment), et de l'association avec le virus d'Epstein Barr (LMP1+/- HIS EBER++).

L'absence de clone T détectable est la règle (origine NK). Pronostic redoutable.

Lame n° 47 Inflammation (Wegener ?)

Clinique : H, 75 ans. Obstruction nasale. Lésion pseudo-tumorale du sinus.

Morphologie : Plusieurs fragments de muqueuse nasale plus ou moins ulcérée. Infiltrat d'allure inflammatoire, très riche en plasmocytes et en polynucléaires (présence de quelques

micro-abcès à polynucléaires). Absence d'atypies cytologiques au niveau de la population lymphoïde.

Quelques lésions de vascularite. Sur un fragment, réaction histiocytaire avec quelques cellules géantes.

IHC : plasmocytose polytypique. Rares cellules CD3+ sans atypies cytologiques.

Commentaires : Lésion d'allure inflammatoire sur des prélèvements biopsiques de bonne taille. Absence d'argument pour une localisation d'un lymphome NK / T. Aspect histologique compatible avec une granulomatose de Wegener, tout en sachant que le diagnostic de cette affection est anatomo-clinique (contexte de lésions rénales et pulmonaires ; ANCA+...).

5- Lymphome pulmonaire de type granulomatose lymphomatoïde : lymphome B EBV+ (lame n°53)

Il s'agit d'un aspect morphologique particulier, très rare, autrefois considéré comme un lymphome T. La lésion histologique est un infiltrat lymphoïde polymorphe avec angio-centrisme et angio-destruction entraînant une nécrose d'allure ischémique. Au sein de cet infiltrat lymphoïde polymorphe retrouvé notamment dans la paroi des vaisseaux, on distingue quelques cellules de grande taille. Les études récentes ont montré que ces rares cellules de grande taille étaient de **phénotype B** et étaient souvent infectées par le virus EBV. Dans ces études récentes, la démonstration d'un clone B permet de rattacher ces lésions rares au groupe des lymphomes B à grandes cellules (avec très importante réaction T). Un terrain particulier (dysimmunitaire voire V.I.H.) est parfois associé.

6- Lymphomes des séreuses : EBV+, VIH+/-, HHV8+

Les lymphomes des séreuses se présentent le plus souvent chez des patients VIH+ sous forme d'épanchement (pleurésie, ascite), généralement sans masse tumorale associée. Le diagnostic est donc cytologique: grandes cellules basophiles, d'allure immunoblastique ou anaplasique. Le phénotype peut paraître d'abord déroutant: CD3-, CD20-, CD79a ±, CD30+ avec expression de CD138. L'origine B est étayée par la démonstration d'une monotypie intracytoplasmique et d'une clonalité en biologie moléculaire. Ces proliférations tumorales sont associées de façon constante avec le virus du sarcome de Kaposi (**HHV8**), avec en outre une association très fréquente avec le virus Epstein Barr.

Lame n° 76 lymphome des séreuses

Clinique : H. 54 ans, VIH+ depuis 18 ans, taux très bas de CD4 - Plusieurs épisodes de pleurésie - Ponction pleurale

Morphologie : Liquide richement cellulaire ; aspect cytologique polymorphe, peu inflammatoire, mais contenant de volumineuses cellules, d'aspect hétérogène, à rapport nucléo-cytoplasmique élevé, à cytoplasme basophile.

IHC : quelques cellules expriment CD79a et CD138. Un nombre modéré de cellules exprime le CD30. Les cellules sont CD20- et CD3-.

Anticorps anti-HHV8 : il existe une positivité nucléaire de la majorité des cellules.

Commentaires : lymphome des séreuses à grandes cellules HHV8+

Le lymphome des séreuses (Primary Effusion Lymphoma) (**PEL**) est très rare, représentant moins de 5% des lymphomes. Il n'est caractérisé que depuis la découverte du virus KSHV/HHV8, habituellement présent dans les cellules lymphomateuses des épanchements.

Il représente une entité clinico-pathologique distincte, basée sur des aspects morphologiques, immuno-phénotypiques, moléculaires et viraux caractéristiques.

Les cellules ont un aspect très variable, allant de grandes cellules immunoblastiques ou plasmablastiques à des cellules très anaplasiques, pouvant ressembler à des cellules de Sternberg. Les noyaux sont volumineux, les nucléoles également. Le cytoplasme peut être abondant, basophile, contenant des vacuoles. Un halo périnucléaire évoquant une différenciation plasmocytaire est parfois visible.

Les cellules lymphomateuses expriment habituellement le CD45, mais sont négatives le plus souvent pour les marqueurs B CD19, CD20 et CD79a. Les marqueurs d'activation et les marqueurs liés aux plasmocytes, tels CD30, CD38 et CD138 sont habituellement exprimés et présents. Les noyaux des cellules tumorales sont positifs pour HHV8 (Human Herpes Virus type 8). Ce marqueur est très utile au diagnostic. Habituellement, LMP1 (EBV) est négatif.

Le lymphome des séreuses peut être associé au sarcome de Kaposi et à la maladie de Castleman multicentrique chez les patients VIH+.

7- Lymphome « plasmoblastique »

Il s'agit d'une variante rare de lymphome à grandes cellules B survenant généralement chez les patients VIH+ et plus particulièrement au niveau de la **cavité buccale**. L'aspect est celui d'un lymphome immunoblastique avec différenciation plasmocytaire. Le diagnostic peut être difficile en raison d'un phénotype généralement CD45 – et CD20 -. Les cellules tumorales par contre expriment les marqueurs plasmocytaires comme le **CD138**. Elles sont souvent infectées par l'EBV (supérieur à 50 % des cas). Des lymphomes plasmoblastiques ont également été rapportés dans d'autres localisations que la cavité buccale et peuvent compliquer des maladies de Castleman multicentriques associées au virus HHV 8.

VI- Pathologie VIH (lame n° G 6)

Différentes séquences histologiques précèdent le développement d'un SIDA : une hyperplasie lymphoïde folliculaire est souvent observée dans la phase du « syndrome lymphadénopathique » au cours de l'infection VIH. L'hyperplasie lymphoïde folliculaire comporte des centres germinatifs mal limités, volumineux et constitués d'une prédominance de grandes cellules. La zone du manteau est souvent amincie, voire souvent inidentifiable de la zone inter-folliculaire. Le réseau de cellules folliculaires dendritiques est le plus souvent désorganisé.

Le stade d'hyperplasie folliculaire peut être suivi d'un stade d'hyperplasie lymphoïde diffuse, simulant l'aspect histologique d'une lymphadénopathie angio-immunoblastique, puis d'un stade d'atrophie lymphoïde avec fibrose, parfois d'aspect pseudo-Castleman.

Lame n° G 6 Lymphadénite, syndrome de poly-adénopathie

Clinique :

Homme de 51 ans – HIV+, ganglion axillaire (3 cm) non inflammatoire, apparu il y a 4 mois.

Morphologie :

Le ganglion a une architecture conservée. La lésion principale est représentée par l'existence d'une hyperplasie lymphoïde folliculaire majeure, faite de follicules lymphoïdes volumineux, avec une zone du manteau bien individualisée et surtout l'existence d'un centre germinatif de très grande taille, de cytologie polymorphe et normale. Les zones inter-folliculaires sont abondantes, contiennent une hyperplasie vasculaire et une population lymphoïde polymorphe allant du petit lymphocyte à l'immunoblaste et jusqu'au plasmocyte.

IHC et PCR :

L'immunohistochimie n'apporte pas d'élément discriminant pour le diagnostic. Par contre, l'anamnèse clinique et éventuellement les données sérologiques permettent d'aboutir à un diagnostic précis.

Commentaires :

Devant une telle hyperplasie lymphoïde folliculaire, il faut rechercher soit un déficit immunitaire (par exemple, hypogamma ou agammaglobulinémie, pathologie du VIH), soit une maladie auto-immune...

Les **lymphomes liés au VIH** sont à la fois des lymphomes non hodgkiniens et hodgkiniens. Ils sont caractérisés par la complexité de leurs mécanismes physiopathologiques reflétant les multiples étapes de la lymphomagenèse : dysfonctionnement immunitaire, rôle des virus EBV et HHV8, modifications oncogéniques. L'EBV est présent dans la majorité des lymphomes. Ils ont une incidence accrue lors de l'infection par le VIH. Ils appartiennent essentiellement au groupe des lymphomes B de haut grade de malignité.

VII- Pathologies HHV8+

1- Lymphome des séreuses (cf + haut)

2- Maladie de Castleman plasmocytaire et HHV8

Lame n° G 48 : Maladie de Castleman de forme mixte (hyaline vasculaire et plasmocytaire) et Sarcome de Kaposi à rattacher à l'infection VIH

La maladie de Castleman correspond à une entité anatomo-clinique rare, aujourd'hui divisée en 2 types histologiques: la forme hyaline vasculaire la plus fréquente et la forme plasmocytaire, celle associée à l'infection à HHV8.

Clinique : Homme, 40 ans – HIV+. Anémie hémolytique. Adénopathies périphériques et profondes médiastinales et lombo-aortiques. Ganglion cervical droit.

Morphologie :

Au faible grossissement, il existe 2 types de lésions :

1. prolifération vasculaire sous forme de fentes atteignant la capsule et la médullaire, et de cellules fusiformes dans un stroma fibreux. Les cellules endothéliales proliférant contiennent des globules PAS positifs. Dans ces plages, il existe quelques plasmocytes et du pigment hémossidérinique mieux vu avec le Perls
2. une zone ganglionnaire globalement conservée avec des follicules lymphoïdes de petite taille dont les lymphocytes se mettent en couronnes concentriques, autour d'un centre hyalinisé, avec parfois présence d'un vaisseau central
3. les zones interfolliculaires montrent une hyperplasie vasculaire et contiennent de nombreux **plasmocytes**, quelques histiocytes et quelques cellules activées

IHC :

La prolifération vasculaire et fusiforme est positive avec les marqueurs vasculaires CD31 et CD34, ainsi qu'avec l'anticorps anti-HHV8.

Les zones ganglionnaires mieux conservées montrent une bonne répartition architecturale des lymphocytes B et T et une hyperplasie des cellules dendritiques. Les plasmocytes sont polytypiques.

Commentaires :

Chez les sujets HIV, le stade d'hyperplasie lymphoïde touchant surtout les follicules est suivi d'une déplétion lymphoïde qui prend parfois un aspect de maladie de Castleman, soit de forme « hyaline vasculaire », soit mixte, associée à des zones plasmocytaires comme c'est le cas ici.

3- Sarcome de Kaposi et HHV8

Le sarcome de Kaposi est une complication tumorale classique qui touche 30% des sujets VIH. La localisation ganglionnaire est plus rare qu'au niveau de la peau ou du tube digestif. Il faut la rechercher et ne pas hésiter à demander les marqueurs vasculaires et l'anticorps anti-HHV8 devant des zones fibreuses, vascularisées avec des cellules fusiformes.

VIII - Conclusion :

Les syndromes lymphoprolifératifs associés aux agents pathogènes constituent un concept physio-pathologique récent, reconnu par la description de l'entité du lymphome du MALT associé à *Helicobacter Pylori*. D'autres entités commencent à être reconnues et supportent l'idée que les classifications futures doivent inclure les lymphomes associés aux infections. Cette reconnaissance passe par une prévention éventuelle des sujets chroniquement infectés et par un traitement antimicrobien adapté qui peut aboutir à la régression du lymphome.

Articles

Maladie immunoproliférative de l'intestin associée à *Campylobacter jejuni*

Immunoproliferative Small Intestinal Disease Associated with *Campylobacter jejuni*

M Lecuit, E Abachin, A Martin, C Poyart, P Pochart, F Suarez, D Bengoufa, J Feuillard, A Lavergne, JJ Gordon, P Berche, L Guillevin, O Lortholary

N Engl J Med 2004 ; 350 : 239-48

Justificatifs et objectifs

La maladie immunoproliférative de l'intestin, aussi connue comme maladie des chaînes alpha, est une forme de lymphome qui survient dans l'intestin grêle et est associée avec l'expression d'une chaîne lourde monotypique d'immunoglobulines alpha, tronquée, sans chaîne légère associée. A un stade précoce, la maladie répond aux antibiotiques, suggérant une origine bactérienne. Les aspects morphologiques de l'IPSID peuvent être comparés avec le lymphome du MALT de l'estomac associé à *Helicobacter pylori* et suggèrent ainsi l'existence d'un agent pathogène.

L'objectif de ce travail a été d'identifier un agent causal, par une stratégie moléculaire identique à celle utilisée pour la recherche d'autres agents pathogènes.

Méthodes

Un patient index a été à l'origine de l'étude : il s'agissait d'une femme de 45 ans, camerounaise, présentant une diarrhée chronique et une altération de l'état général. Les biopsies duodénales et jéjunales ont montré une infiltration massive du chorion par une population plasmocytaire associée à des éléments lymphoïdes centrocyte-like infiltrant les cryptes et responsables de lésions lympho-épithéliales. L'étude immunohistochimique a montré une expression cytoplasmique d'IgA à la fois dans les cellules plasmocytaires et lymphoïdes, sans détection de chaîne légère. La recherche d'*Helicobacter pylori* était négative. Les cultures de tissu et de selles étaient négatives pour *Salmonella*, *Yersinia*, *Shigella* et *Campylobacter*. ELISA et Western blot étaient positifs sur le sérum pour *Campylobacter Jejuni*. Une trithérapie anti-microbienne était entreprise.

Un an après le diagnostic, les résultats cliniques et biologiques étaient normaux.

Les auteurs ont effectué des études par PCR, ont séquencé l'ADN et ont fait des études par FISH et immunohistochimie sur des biopsies intestinales d'une série de patients présentant un IPSID.

Etude de 6 patients supplémentaires :

Les prélèvements des biopsies jéjunales fixées et incluses en paraffine de 6 patients diagnostiqués comme un IPSID, 8 à 27 ans auparavant, ont pu être étudiés.

Résultats

L'analyse de biopsies intestinales congelées obtenues chez un patient « index » avec IPSID qui a répondu aux antibiotiques, a montré la présence de *Campylobacter jejuni*. L'ADN a été extrait de biopsies congelées jéjunales et gastriques : les études ont montré des amplicons de *Campylobacter jejuni* 16 S. Huit jours après traitement antibiotique, les PCR étaient négatives. De plus, des études par FISH et immunohistochimie ont montré *Campylobacter jejuni* dans les biopsies intestinales. Enfin, l'éradication de *Campylobacter jejuni* avec le traitement antimicrobien était associée à une rémission rapide de l'IPSID.

Une analyse rétrospective de biopsies intestinales archivées de 6 patients supplémentaires avec un IPSID a montré la présence de *Campylobacter jejuni* chez 4 d'entre eux.

Analyse

Si *Campylobacter jejuni* est un agent bactérien associé à l'IPSID, cette étude ne permet pas de prouver que c'est le seul agent bactérien associé. Il peut cependant être ajouté à la liste des agents pathogènes responsables chez l'homme d'une infection chronique également impliqués dans les syndromes immunoprolifératifs liés à l'antigène. *Campylobacter jejuni* serait responsable d'une réponse muqueuse IgA. La stimulation persistante par *Campylobacter jejuni* aboutirait à l'expansion de clones sécrétant de l'IgA et à la sélection d'un clone sécrétant les chaînes lourdes alpha dont la prolifération deviendrait indépendante de l'antigène.

Cette étude a montré que *Campylobacter jejuni* et maladie intestinale immunoproliférative (IPSID) sont associées et que le *Campylobacter jejuni* fait partie des agents infectieux qui chez l'homme peut être ajouté à la liste des agents pathogènes responsables de maladies immunoprolifératives.

Démonstration d'une association entre *Chlamydia psittaci* et les lymphomes des annexes oculaires

AJM Ferreri, M Guidoboni, M Ponzoni, et al.

Evidence for an association between *Chlamydia psittaci* and ocular adnexal lymphomas

J Natl Cancer Inst 2004 ;96 :586-94

JUSTIFICATIFS ET OBJECTIFS

Une infection chronique et la stimulation antigénique qui l'accompagne est une cause reconnue de lymphome du MALT dans différents organes et, en particulier, l'estomac. Les Chlamydiae sont responsables de diverses infections aiguës et chroniques et notamment de conjonctivites chroniques. Une étude antérieure avait observé une incidence plus élevée de sérologies positives pour les chlamydiae chez les patients atteints de lymphome par rapport à une population indemne (1). Les auteurs ont donc recherché un lien éventuel entre Chlamydiae et les lymphomes (des annexes) oculaires.

METHODES

Etude de 40 patients atteints de LNH des annexes oculaires (glandes lacrymales, conjonctive, tissus mous périorbitaires) traités à Milan entre 1988 et 2002, de 20 pts atteints de lésions bénignes, de 26 patients atteints d'adénite inflammatoire. Les cellules mononucléées du sang ont été étudiées parallèlement chez 21 des 40 patients LNH et de 38 sujets indemnes.

Après déparaffinage des coupes, l'ADN est extrait. La présence d'ADN de *C. trachomatis*, *C. psittaci* et *C. pneumoniae* est recherchée à l'aide de sondes ARN spécifiques par PCR. La procédure est répétée à deux reprises.

La recherche est complétée par une recherche immunohistochimique avec un anticorps monoclonal spécifique de chlamydia.

Sept pts ayant des signes d'infection à Chlamydia ont été traités par doxycycline 100mg x2/ jour pendant 3 semaines. Quatre de ces pts avaient des lésions lymphomateuses évaluables avant traitement.

RESULTATS

De l'ADN de *Chlamydia psittaci* (mais pas des autres variantes de chlamydiae) a été retrouvé dans le tissu tumoral chez 32/40 pts (80%) avec une discrète hétérogénéité des séquences témoignant de l'absence de contamination accidentelle, 0/20 lésions bénignes et 3/26 adénites.

L'ADN a été également mis en évidence dans les cellules mononucléées du sang chez 9/21 patients positifs testés, 0/38 sujets sains ($p < 0.001$). Chez les pts positifs sur les deux types de prélèvements, les séquences d'ADN étaient identiques.

En immunohistochimie, 4/7 pts testés avaient de grandes cellules d'aspect macrophagique positives non lymphomateuses avec l'anticorps monoclonal.

Chez les 7 pts traités, l'ADN de *Chlamydia psittaci* avait disparu des cellules mononucléées du sang 1 mois après la fin du traitement. Sur 4 pts avec des lésions lymphomateuses évaluables pour la réponse à l'antibiothérapie : 1 progression, 1 stable, 1 Réponse à 45% persistant 20 mois+, 1 RC 18 mois+.

ANALYSE

Cette étude apporte donc des arguments forts pour un rôle de *Chlamydia psittaci* dans la genèse des LNH des annexes oculaires. Ce germe se rajoute à la liste de plus en plus longue des micro-organismes responsables de LNH. Le *Chlamydia psittaci* est un germe responsable de pneumopathies chez les éleveurs d'oiseaux mais aussi de conjonctivites chroniques (retrouvées chez 38% des pts de cette série). En pratique, le rôle de *Chlamydia psittaci* est difficile à mettre en évidence, en particulier parce que les sérologies ne distinguent pas entre les différents Chlamydiae et même d'autres microorganismes. Pour l'instant, la seule méthode diagnostique fiable est la technique PCR.

Cette étude est trop limitée pour conclure sur l'efficacité d'un traitement éradicateur. Affaire à suivre.....

(1) TI Antilla et al. Br J Haematol 1998 ;103 :150-6