

CytHem-SEZARY

Les **lymphomes cutanés primitifs à cellules T (CTCL)** sont des lymphomes non hodgkiniens rares à point de départ cutané (incidence annuelle 1/100 000). Le **mycosis fongoïde (MF)** est le CTCL le plus répandu et se présente généralement sous forme de plaques ou de patches. Le **syndrome de Sézary** est rare (3% des CTCL) et correspond à une forme agressive et leucémique caractérisée par une érythrodermie, une lymphadénopathie et un nombre élevé de lymphocytes atypiques (cellules de Sézary, CS) dans le sang et la peau.

Les autres symptômes dermatologiques peuvent comprendre :

- une kératodermie palmo-plantaire (épaississement de la couche cornée de la peau des paumes et des plantes).
- dystrophie unguéale, alopecie, ectropion en rapport avec l'œdème facial qui accompagne souvent l'érythrodermie.



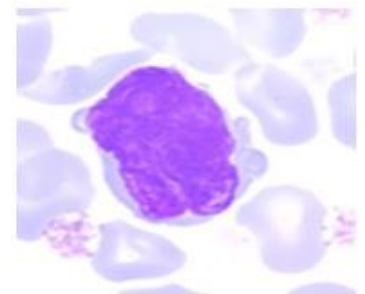
Les patients atteints de Mycosis Fongoïde (MF) peuvent également présenter des cellules de Sézary sanguines. Le diagnostic du MF et du SS est souvent complexe, source d'errances diagnostique et thérapeutique. La présentation clinique pose le problème du diagnostic différentiel des autres dermatoses inflammatoires érythrodermiques, d'autant plus qu'un clone T peut y être également détecté.

Le pronostic du syndrome de Sézary est sombre, avec 25% de survie à 5 ans, la mortalité étant liée en grande majorité à des complications infectieuses. La prise en charge actuelle du MF et du syndrome de Sézary implique une longue liste de traitements comprenant la photophorèse extracorporelle et les médicaments systémiques et nécessite souvent une approche multidisciplinaire.

L'ajout en 2007 d'une **classification sanguine** (B pour Blood) à la classification TNM (Tumor-Node-Metastasis) a permis de mieux rendre compte du spectre des différentes formes du MF, érythrodermique ou non, du pré-SS et du SS. De plus, la catégorisation en stades B0, B1 et B2 représente une valeur ajoutée pronostique, indépendante des stades T et N.

Historiquement, la charge tumorale sanguine s'évalue à partir du dénombrement des CS sur frottis sanguin. Cette méthode, basée sur les caractéristiques morphologiques des cellules tumorales, n'a jamais atteint de consensus international car peu sensible et sujette à une variabilité d'interprétation entre cytologistes.

L'utilisation de la **cytométrie en flux** s'est considérablement développée afin de déterminer les stades sanguins B0 à B2 des patients. Au cours de la dernière décennie, de nombreux marqueurs membranaires (à efficacité variable pour le diagnostic MF/SS) ont été publiés. Cependant la détection des cellules de Sézary reste principalement basée sur l'absence de marqueurs pan-T comme CD7^{et/ou} CD26, qui n'est pas constante et peut également être observée dans certaines dermatoses bénignes.



Les recommandations EORTC/ISCL de 2007, 2011 et 2018 ont émis des valeurs seuils relatives (pourcentages) et absolues en CMF, basées sur la perte de CD26 et CD7 à la surface des lymphocytes T CD4+, permettant de distinguer les stades B0-B1-B2.

Critères B2 en CMF :

(Lymphocytes TCD4+CD26- $\geq 1000/\mu\text{L}$, ou CD4+CD7- $\geq 1000/\mu\text{L}$) OU (Expansion des lymphocytes TCD4+, avec soit TCD4+CD26-/lymphocytes totaux $\geq 30\%$, ou CD4+CD7-/lymphocytes totaux $\geq 40\%$, ou ratio CD4/CD8 ≥ 10).

Critères B1 en CMF :

Lymphocytes TCD4+CD26- ou TCD4+CD7- $\geq 250/\mu\text{L}$ ET $< 1000/\mu\text{L}$.

Critères B0 en CMF :

Lymphocytes TCD4+CD26- ou TCD4+CD7- $< 250/\mu\text{L}$



CytHem-SEZARY

Associée aux critères cliniques et de recherche de clonalité sanguine et cutanée, la CMF contribue au diagnostic de :

Syndrome de Sézary: stade T4 (érythrodermie > 80% de la surface corporelle totale) et B2

Pré-Sézary: stade T4 et B1.

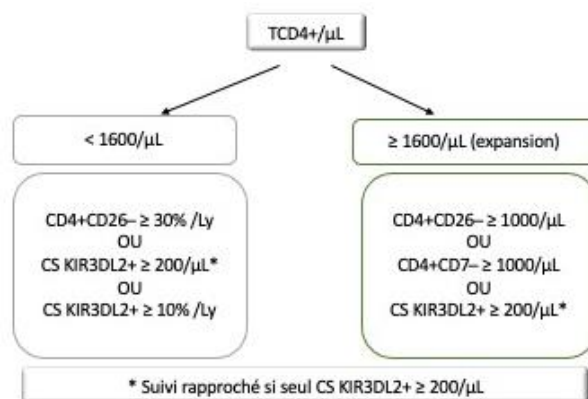
MF érythrodermique: stade T4 et B0.

MF: stade T1, 2 ou 3 (un MF peut être B2).

KIR3DL2/CD158k est un récepteur appartenant à la famille des « Killer-cell Immunoglobulin-like Receptors » (KIRs). Il a été rapporté pour la première fois par Bagot *et al* comme étant un marqueur positif "générique" des cellules de Sézary. Sa fiabilité a été démontrée dans le sang et la peau. Cette molécule est par ailleurs une cible thérapeutique en cours d'évaluation. Chez les individus sains, KIR3DL2 est exprimé par une sous-population mineure de NK et par de rares TCD8+. Une stratégie de fenêtrage en CMF excluant les cellules NK (CD3-CD(16/56)+) et les TCD8+ permet d'identifier les CS KIR3DL2+.

Les résultats d'une étude portant sur 254 patients érythrodermiques adressés à l'hôpital Saint-Louis pour suspicion de CTCL montrent que les seuils de 200/ μ L et/ou de 10% de CS KIR3DL2+ permettent d'établir un diagnostic initial de syndrome de Sézary (stade B2 préalablement défini par les critères ISCL/EORTC) avec une sensibilité de 89% et une spécificité de 96%, alors que la sensibilité des CD4+CD7- n'est que de 69%. De plus, ces seuils sont particulièrement informatifs lorsque la numération des TCD4+ est inférieure à 1600/ μ L, et permettrait un diagnostic plus précoce. Nos résultats indiquent par ailleurs que chez plus de la moitié des patients, une fraction \geq 30% des TCD4+ bénins (non Sézary) n'exprime pas CD26. Ceci est problématique lors du suivi de ces patients, la numération des TCD4+CD26- pouvant sous-estimer la réponse sanguine aux traitements.

Nous proposons la conduite à tenir suivante pour un diagnostic initial de syndrome de Sézary devant stade T4:



Le diagnostic devant être finalisé par la détection d'une clone T identique dans le sang et la peau.



Références bibliographiques

1. Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, Willemze R, Kim Y, Knobler R, Zackheim H, Duvic M, Estrach T, Lamberg S, Wood G, Dummer R, Ranki A, Burg G, Heald P, Pittelkow M, Bernengo MG, Sterry W, Laroche L, Trautinger F, Whittaker S, Iscl/Eortc. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sezary 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*. 2007;110(6):1713-1722.
2. Olsen EA, Whittaker S, Kim YH, Duvic M, Prince HM, Lessin SR, Wood GS, Willemze R, Demierre MF, Pimpinelli N, Bernengo MG, Ortiz-Romero PL, Bagot M, Estrach T, Guitart J, Knobler R, Sanches JA, Iwatsuki K, Sugaya M, Dummer R, Pittelkow M, Hoppe R, Parker S, Geskin L, Pinter-Brown L, Girardi M, Burg G, Ranki A, Vermeer M, Horwitz S, Heald P, Rosen S, Cerroni L, Dreno B, Vonderheid EC, International Society for Cutaneous L, United States Cutaneous Lymphoma C, Cutaneous Lymphoma Task Force of the European Organisation for R, Treatment of C. Clinical end points and response criteria in mycosis fungoides and Sezary 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*. 2011;29(18):2598-2607.
3. Scarisbrick JJ, Hodak E, Bagot M, Stranzenbach R, Stadler R, Ortiz-Romero PL, Papadavid E, Evison F, Knobler R, Quaglino P, Vermeer MH. Blood classification and blood response criteria in mycosis fungoides and Sezary syndrome using flow cytometry: recommendations from the EORTC cutaneous lymphoma task force. *Eur J Cancer*. 2018;93:47-56.
4. Bagot M, Moretta A, Sivori S, Biassoni R, Cantoni C, Bottino C, Boumsell L, Bensussan A. CD4(+) cutaneous T-cell lymphoma cells express the p140-killer cell immunoglobulin-like receptor. *Blood*. 2001;97(5):1388-1391.
5. Ortonne N, Le Gouvello S, Tabak R, Marie-Cardine A, Setiao J, Berrehar F, Nghe-Tang A, Martin N, Bagot M, Bensussan A. CD158k/KIR3DL2 and NKp46 are frequently expressed in transformed mycosis fungoides. *Experimental Dermatology*. 2012;21(6):461-463.
6. Poszepczynska-Guigne E, Schiavon V, D'Incan M, Echchakir H, Musette P, Ortonne N, Boumsell L, Moretta A, Bensussan A, Bagot M. CD158k/KIR3DL2 is a new phenotypic marker of Sezary cells: relevance for the diagnosis and follow-up of Sezary syndrome. *J Invest Dermatol*. 2004;122(3):820-823.
7. Battistella M, Leboeuf C, Ram-Wolff C, Hurabielle C, Bonnafe C, Sicard H, Bensussan A, Bagot M, Janin A. KIR3DL2 expression in cutaneous T-cell lymphomas: expanding the spectrum for KIR3DL2 targeting. *Blood*. 2017;130(26):2900-2902.
8. Moins-Teisserenc H, Daubord M, Clave E, Douay C, Félix J, Marie-Cardine A, Ram-Wolff C, Maki G, Beldjord K, Homyrd L, Michel L, Bensussan A, Toubert A, Bagot M. CD158k Is a Reliable Marker for Diagnosis of Sézary Syndrome and Reveals an Unprecedented Heterogeneity of Circulating Malignant Cells. *Journal of Investigative Dermatology*. 2015;135(1):247-257.
9. Roelens M, de Masson A, Ram-Wolff C, Maki G, Cayuela JM, Marie-Cardine A, Bensussan A, Toubert A, Bagot M, Moins-Teisserenc H. Revisiting the initial diagnosis and blood staging of mycosis fungoides and Sezary syndrome with the KIR3DL2 marker. *Br J Dermatol*. 2019.



CytHem-SEZARY

Plateformes d'analyse

Afin de satisfaire aux spécifications propres à chaque plateforme, tout en gardant comme objectif une harmonisation des paramètres pris en compte dans les recommandations EORTC, ainsi que du marqueur CD158k, une réflexion prenant en compte les pratiques de laboratoires antérieurement en contact dans le cadre d'un projet de PHRC, a abouti à la proposition des panels suivants, dont la mise en œuvre sera détaillée dans chacun des protocoles techniques :

Navios	FITC	PE	ECD	PC5.5	PC7	APC	APC-700	APC-750	PB	KO
Anticorps	CD26	CD158k	CD7	CD56	CD33	CD4	CD8	CD3	CD16	CD45
Clone	L272	MOG1-M-K32-13E4	Clone 8H8-1	N901	D3HL60.251	13B8.2	B9.11	UCHT1V	3G8	J33
Fournisseur	BD	Innate Pharma	Beckman	Beckman	Beckman	Beckman	Beckman	Beckman	Beckman	Beckman
Référence	340426	MTA	A70202	B49189	B92408	IM2468	B49181	A94680	B36292	B36294

Cantoll	FITC	PE		PercP Cy5.5	PECy7	APC		APC-H7	V450	V500
Anticorps	CD26	CD158k		CD8	CD16 et CD56	CD7		CD45	CD3	CD4
Clone	L272	MOG1-M-K32-13E4		SK1	3G8+B159	8H8.1		2D1	UCHT1	RPA-T4
Fournisseur	BD	Innate Pharma		BD	BD	Beckman		BD	BD	BD
Référence	340426	MTA		345774	557744+557747	A97050		641417	560365	560768

Lytic	FITC	PE		PercP Cy5.5	PECy7	APC	APC-R700	APC-H7	V450	BV510	BV605	BV711	BV786
Anticorps	CD26	CD158k		CD33	CD16 et CD56	CD3		CD8	CD4	TCR CB1	CD279 (PD-1)	CD7	CD45
Clone	L272	MOG1-M-K32-13E4		P67.6	3G8 & NCAM16.2	SK7		SK1	RPA-T4	JOVI.1	EH12.1	MT-701	HI30
Fournisseur	BD	Innate Pharma		BD	BD	BD		BD	BD	BD	BD	BD	BD
Référence	340426	MTA		333146	335826 & 557744	345767		560179	560345	747980	563245	564018	563716

DX-Flex... en cours

