

Lymphome de Hodgkin

Anomalies cytogénétiques

L'analyse cytogénétique dans le cadre du lymphome de Hodgkin est difficile en raison des caractéristiques histo-pathologiques. Différentes anomalies récurrentes ont été mises en évidence, dans la majorité des cas associées à un caryotype complexe, mais aucune anomalie spécifique à valeur pronostique claire n'a encore été détectée. L'identification et l'utilisation clinique de telles anomalies devraient être facilitées par de nouvelles techniques comme le séquençage à haut débit (NGS) qui a permis la mise en évidence d'anomalies récurrentes dans l'ADN circulant de patients souffrant d'un lymphome de Hodgkin.



Die zytogenetische Analyse beim Hodgkin-Lymphom ist wegen der histopathologischen Merkmale schwierig. Verschiedene wiederkehrende Anomalien wurden in den meisten Fällen einem komplexen Karyotypen zugeordnet, aber es wurde noch keine spezifische Anomalie mit klarem Prognosewert festgestellt. Die Identifizierung und die klinische Anwendung solcher Anomalien sollten durch neue Technologien wie Hochdurchsatz-Sequenzierung (NGS), die die Erkennung von Anomalien in der zirkulierenden DNA bei Patienten mit Lymphomen erlaubt, erleichtert werden.

Alors que beaucoup de lymphomes non-hodgkiniens sont caractérisés par des anomalies génétiques spécifiques qui ont un rôle diagnostique et/ou pronostique essentiel, aucune anomalie spécifique n'a encore été mise en évidence dans le lymphome de Hodgkin (LH). Cette situation peut être attribuée à la plus grande rareté des données à disposition résultant principalement de la difficulté de l'analyse liée aux caractéristiques histo-pathologiques, les cellules tumorales étant noyées dans un infiltrat inflammatoire chronique dans lequel elles ne représentent que 0.1 à 10 % de la cellularité.

En raison de ces caractéristiques et du faible index mitotique des cellules tumorales, les premières analyses par cytogénétique conventionnelle (CC) ont souvent montré un caryotype normal et de nombreux résultats ont été obtenus grâce à l'analyse de lignées établies, ce qui peut représenter un biais par rapport aux tumeurs primaires. Ultérieurement, l'identification ou l'isolation des cellules tumorales a permis leur analyse ciblée. Les cellules CD30+ identifiées par immunofluorescence peuvent être spécifiquement analysées par hybridation in situ fluorescente (FISH). Le principal désavantage de cette méthode est d'être limité à certains loci sélectionnés. Les cellules tumorales peuvent également être isolées par microdissection laser ou cytométrie de flux pour permettre leur analyse au moyen de techniques moléculaires telles que le séquençage ou l'hybridation génomique comparative par puce ADN (array-CGH avec SNP), cette dernière technique permettant la mise en évidence d'aneuploïdies (variations dans le nombre de copies) dans l'ensemble du génome. Les données à disposition restent cependant limitées, tant du point de vue du nombre d'études que de patients analysés.



Pr Jacqueline Schoumans
Lausanne



Dr Dominique Mühlematter
Lausanne

LHC et LHNPL

La majorité des cas de LH, présentent un caryotype complexe hyperdiploïde avec de nombreuses anomalies numériques et structurales, des polyplôidies (principalement tri-et tétraploïdes) et de grandes variations entre métaphases. Toutes ces anomalies témoignent d'une importante instabilité génétique. Différentes anomalies cytogénétiques récurrentes ont été mises en évidence. Celles-ci diffèrent entre les deux principaux types, le LH classique (LHC), qui représente environ 95 % des cas, et le LH nodulaire à prédominance lymphocytaire (LHNPL). Dans le LHC, les analyses par CC ont permis la mise en évidence, en plus d'anomalies numériques, de réarrangements impliquant les régions 1p, 6q, 7q, 11q, 12q et 14q. A la différence de beaucoup d'autres LNH de type B, la surexpression de gènes résultant de translocations avec l'un des loci des immunoglobulines est plus rare dans le LHC et ne représente que 20 %. Les partenaires de ces translocations sont variés et comprennent les gènes *REL*, *CCND1*, *BCL2*, *BCL3*, *BCL6*, *CIITA*, *ELMSAN1* et *MYC*. Les aneuploïdies récurrentes détectées dans le LHC peuvent différer entre les différentes études et les méthodes utilisées. Celles retenues dans la classification OMS comprennent un gain impliquant les régions 2p, 9p et 12q et une amplification impliquant les régions 4p16, 4q23-24 et 9p23-2. Le LHNPL présente également des anomalies numériques, principalement dans les régions 1q, 3p, 5q et Xq, mais il est caractérisé dans près de la moitié des cas par des réarrangements du gène *BCL6* localisé en 3q27, qui est plus particulièrement impliqué dans des translocations avec l'un des loci des immunoglobulines. Il est intéressant de noter que des anomalies clonales ont également été mises en évidence dans les cellules composant l'infiltrat inflammatoire et il ne peut être exclu que ces anomalies participent à la pathogenèse du LH.

Conjointement avec les conséquences de l'interaction des cellules tumorales avec l'infiltrat inflammatoire et de celles de l'infection par EBV (observée dans 40 % des cas de LHC), les anomalies génétiques observées dans le LH, contribuent à induire une instabilité chromosomique, une perte du phénotype B, une altération de la réponse

TAB. 1 Gènes et types d'anomalies génétiques impliqués dans la dérégulation de NF-κB dans le LHC			
Localisations	Gènes (protéines)	Rôles	Types d'anomalies
2p16 4q24 10q24 11q13 19q13	<i>REL</i> (c-REL) <i>NFKB1</i> (p105) <i>NFKB2</i> (p100) <i>RELA</i> (p65) <i>RELB</i>	sous-unités	gains amplifications translocations
8p11 9q34 17q21 19q13 20q13	<i>IKBKB</i> <i>TRAF2</i> <i>CARD9</i> <i>NOTCH1</i> <i>MAP3K14</i> (NIK) <i>BCL3</i> (<i>IκB</i>) <i>CD40</i>	activateurs	
1p36 2q37 6p21 6q23 14q13 16q12	<i>TNFRSF14</i> <i>TRAF3</i> <i>NFKBIB</i> (<i>IκBα</i>) <i>TNFAIP3</i> (A20) <i>NFKBIA</i> (<i>IκBα</i>) <i>CYLD</i>	inhibiteurs	délétions mutations LOH*

* LOH : perte d'hétérozygotie sans variations dans le nombre de copies

immunitaire, une stimulation de la prolifération et une inhibition de l'apoptose. Les anomalies génétiques peuvent être acquises ou constitutionnelles, le LH étant la tumeur avec la prédisposition héréditaire la plus élevée.

Mécanismes d'instabilité

Les mécanismes responsables de l'instabilité génétique ne sont pas encore totalement élucidés mais semblent impliquer principalement un dysfonctionnement des télomères et des centrosomes. Dans le LHC, cette instabilité est déjà présente dans les cellules de Hodgkin (mononucléées) et augmente au cours de leur transition vers les cellules de Reed-Sternberg (RS, bi- et polynucléées). Certaines anomalies constitutionnelles pourraient également participer à l'instauration de cette instabilité. Par exemple, l'expression du gène *KLHDC8* est inhibée par mutations ou translocations aussi bien dans les LHC sporadiques que familiaux. Une haploinsuffisance de

ce gène, qui joue un rôle dans le contrôle de la cytokinèse, pourrait être impliquée dans la formation d'aneuploïdies et de polyploïdies, en particulier dans la formation des cellules RS. Une prédisposition à l'instabilité génétique dans le LH est également démontrée, dans les cellules normales de patients non-traités, par des proportions d'anomalies chromosomiques supérieures à celles observées dans tous les autres types de tumeurs. L'infection par EBV peut également contribuer à cette instabilité génétique, les protéines virales ayant la capacité d'induire des cassures dans l'ADN, de favoriser la formation d'anomalies chromosomiques et d'inhiber les mécanismes de réparation de l'ADN. Les anomalies impliquant le gène *TP53* sont rares dans le LH. Cependant, ce gène peut être inactivé par des gains fréquemment observés dans le LHC, l'un en 12q15 impliquant le gène *MDM2*, l'autre en 19q13 impliquant le gène *BCL3*. Le produit du gène *MDM2* bloque la transactivation de *TP53* et celui du gène *BCL3*, en plus de moduler l'activité de NF-κB, peut induire l'expression de *MDM2*.

Anomalies génétique et activation des voies de transduction

Dans le LH, les anomalies génétiques récurrentes participent à la dérégulation de nombreuses voies de transduction de signaux, en particulier les voies NF-κB et JAK/STAT qui sont caractérisées par une activation constitutive.

Dans le LHC, une contribution des anomalies génétiques à l'activation de NF-κB peut résulter du gain ou de l'amplification de gènes codant pour une sous-unité, principalement *REL* localisé en 2p16, pour un activateur comme *MAP3K14*, ou de délétions de gènes codant pour un inhibiteur comme *TNFAIP3* (voir tableau). La proportion beaucoup plus faible d'anomalies impliquant le gène *TNFAIP3* dans les cas de LHC EBV+ démontre que la transformation virale peut se substituer aux conséquences de certaines anomalies. Le LHNPL est également caractérisé par une activation constitutive de NF-κB comparable à celle observée dans le LHC, cependant les mécanismes impliqués sont moins bien caractérisés. L'amplification du gène *REL* et les mutations des gènes *NFKBIA* et *TNFAIP3* étant rares dans le LHNPL.

Dans le LHC, la contribution des anomalies génétiques à l'activation constitutive de la voie JAK/STAT résulte principalement de l'amplification de gènes codant pour l'une des sous-unité comme

Messages à retenir

- ◆ L'analyse cytogénétique dans le lymphome de Hodgkin est difficile en particulier en raison des caractéristiques histo-pathologiques.
- ◆ Aucune anomalie spécifique à valeur pronostique n'a encore été mise en évidence dans le lymphome de Hodgkin
- ◆ Le lymphome de Hodgkin est caractérisé par un caryotype complexe reflétant un degré élevé d'instabilité génétique.
- ◆ Dans le lymphome de Hodgkin, les anomalies génétiques participent à l'activation constitutive des voies de transduction de signaux NF-κB et JAK/STAT.
- ◆ La possibilité de détecter des anomalies cytogénétiques dans l'ADN circulant de patients avec un lymphome de Hodgkin ouvre de nouvelles perspectives pour la mise en évidence d'anomalies génétiques spécifiques à valeur pronostique.

Take-Home Message

- ◆ Die zytogenetische Analyse beim Hodgkin-Lymphom ist schwierig, vor allem wegen der histopathologischen Merkmale
- ◆ Beim Hodgkin-Lymphom wurde keine spezifische Abnormalität mit prognostischem Wert nachgewiesen
- ◆ Das Hodgkin-Lymphom ist durch einen komplexen Karyotyp, der einen hohen Grad an genetischer Instabilität reflektiert, charakterisiert
- ◆ Beim Hodgkin-Lymphom, sind genetische Anomalien in der konstitutiven Aktivierung der Signaltransduktionswege NF-κB / JAK / STAT beteiligt
- ◆ Die Fähigkeit, zytogenetische Anomalien in der zirkulierenden DNA von Patienten mit Hodgkin-Lymphom zu erkennen, eröffnet neue Perspektiven für den Nachweis von spezifischen genetischen Anomalien mit prognostischer Wertigkeit

JAK2 (9p24), un activateur comme *STAT6* (12q13) ou de délétions de gènes codant pour des inhibiteurs comme *SOCS1* (16p12) ou *PTPN1* (20q13). Dans le LHNPL, la contribution à l'activation constitutive de la voie JAK/STAT semble résulter principalement de l'inactivation par délétions ou mutations du gène *SOCS1* qui est observée dans près de la moitié des cas.

La valeur pronostique des anomalies récurrentes mises en évidence dans le LH n'est pas encore clairement définie. Certaines anomalies semblent associées à une mauvaise réponse au traitement, comme les délétions impliquant les régions 4q27 (gènes *IL2* et *IL21*), 5p15, 11p14 (gène *SLC17A*) et 17p12, ou les gains impliquant les régions 13q31, 19q13 (*BCL3*) et 16p13, cette dernière anomalie entraînant la surexpression du gène *ABCC1*, qui code pour une protéine de multirésistance au traitement (MDR). D'autres anomalies comme un gain de la région 16q13 ou plus généralement un petit nombre d'anomalies semblent associées à une bonne réponse au traitement et à un score IPS favorable.

Les caractéristiques histo-pathologiques du LH rendent difficile une utilisation en routine des analyses génétiques. De plus, l'absence d'anomalie spécifique avec une valeur pronostique clairement définie limite l'intérêt de telles analyses. L'identification de telles anomalies serait cependant importante, en particulier pour les patients (environ 15 %) qui, en dépit des progrès dans les traitements, souffrent de rechutes fréquentes et/ou ne répondent pas au traitement. De nouvelles perspectives sont cependant ouvertes par la possibilité de détecter par séquençage à haut débit des anomalies dans l'ADN circulant, comme cela a été démontré pour des anomalies récurrentes chez des patients souffrant d'un LHC. Les résultats

de telles analyses devraient permettre une meilleure prise en charge des patients par la mise en évidence d'anomalies spécifiques détectables dans des analyses de routine.

Pr Jacqueline Schoumans, PhD

Spécialiste en analyses de génétique médicale avec équivalence FAMH

Dr Dominique Mühlematter, PhD

Spécialiste FAMH en analyses de génétique médicale

Unité de génétique du cancer, Service d'hématologie

Centre hospitalier universitaire vaudois, 1011 Lausanne

Dominique.Muhlematter@chuv.ch

✚ Conflit d'intérêts: Les auteurs n'ont déclaré aucun conflit d'intérêts en relation avec cet article.

Références:

1. Küppers R. The biology of Hodgkin's lymphoma. *Nat Rev Cancer*. 2009; 9(1) : 15-27
2. Mathas S, Hartmann S, Küppers R. Hodgkin lymphoma: Pathology and biology. *Semin Hematol*. 2016; 53(3): 139-47.
3. Slovak ML, Bedell V, Hsu YH, Estrine DB, Nowak NJ, Delioukina ML, Weiss LM, Smith DD, Forman SJ. Molecular karyotypes of Hodgkin and Reed-Sternberg cells at disease onset reveal distinct copy number alterations in chemosensitive versus refractory Hodgkin lymphoma. *Clin Cancer Res*. 2011; 17(10): 3443-54
4. Vandenberghe P, Wlodarska I, Tousseyn T, Dehaspe L, Dierickx D, Verheecke M, Uytendaele A, Bechter O, Delforge M, Vandecaveye V, Brison N, Verhoef GE, Legius E, Amant F, Vermeesch JR. Non-invasive detection of genomic imbalances in Hodgkin/Reed-Sternberg cells in early and advanced stage Hodgkin's lymphoma by sequencing of circulating cell-free DNA: a technical proof-of-principle study. *Lancet Haematol*. 2015; 2(2): e55-65
5. Weniger MA, Küppers R. NF- κ B deregulation in Hodgkin lymphoma. *Semin Cancer Biol*. 2016; 39: 32-9