

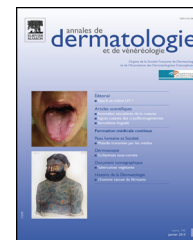


Disponible en ligne sur

ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

EM|consulte
www.em-consulte.com



FICHE THÉMATIQUE / MARQUEURS MEMBRANAIRES DE SURFACE UTILISÉS EN DERMATOPATHOLOGIE

Les marqueurs membranaires de surface (clusters de différenciation) utilisés en dermatopathologie (1): les marqueurs lymphocytaires



Surface membrane markers (clusters of differentiation) used in dermatopathology (1): The lymphocyte markers

S. Ingen-Housz-Oro^{a,*}, N. Ortonne^b

^a Service de dermatologie, hôpital Henri-Mondor, AP-HP, 51, avenue du Maréchal-de Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil, France

^b Département de pathologie, hôpital Henri-Mondor, AP-HP, 51, avenue du Maréchal-de-Lattre-de-Tassigny, 94010 Créteil, France

Reçu le 14 février 2015 ; accepté le 24 avril 2015

Disponible sur Internet le 11 juillet 2015

Introduction

Les marqueurs membranaires de surface, ou clusters de différenciation (CD), sont des molécules exprimées à la membrane des cellules. Leur caractérisation a suivi le développement des anticorps monoclonaux utilisés en cytométrie de flux sur cellules circulantes, raison pour laquelle ils ont plus particulièrement été étudiés dans les cellules hématopoïétiques, et qu'ils ont trouvé leurs premières applications dans le phénotypage des hémopathies. Les principaux marqueurs de surface utiles pour le diagnostic des lymphomes cutanés sont listés dans le [Tableau 1](#). Cette nomenclature est actuellement largement utilisée pour le phénotypage

des cellules tumorales, quelles que soient les techniques utilisées, incluant l'immuno-histochimie faite dans les laboratoires de pathologie. En effet, si les lymphocytes, les plasmocytes, les macrophages, les monocytes et les polynucléaires sont bien reconnaissables en histologie standard par leur seul aspect morphologique, l'identification de marqueurs phénotypiques est nécessaire à la caractérisation des sous-populations lymphocytaires normales et pathologiques. Comme dans tous les domaines de la cancérologie, la classification des lymphomes se fait en fonction de la « ressemblance » des cellules constituant le clone néoplasique avec une sous-population lymphocytaire normale, constituant l'approche « histogénétique » de la classification des cancers. Le recours aux marqueurs est d'autant plus important que dans la majorité de cas, les infiltrats lymphomateux sont constitués d'un mélange de cellules néoplasiques et de lymphocytes réactionnels anti-tumoraux.

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : saskia.oro@hmn.aphp.fr (S. Ingen-Housz-Oro).

Si les lymphocytes réactionnels (*tumor infiltrating lymphocytes* [TIL]) sont faciles à distinguer des cellules cancéreuses dans les tumeurs épithéliales ou mésenchymateuses par la simple morphologie, ce n'est pas toujours le cas dans les hémopathies, puisque les cellules tumorales sont elles-mêmes des lymphocytes plus ou moins transformés. L'immuno-histochimie aidera en particulier à identifier le phénotype des cellules malignes en comparant l'expression qualitative ou quantitative de leurs marqueurs de surface par rapport aux cellules normales (expression aberrante, pertes antigéniques ou «trous phénotypiques»). L'analyse phénotypique inclut des marqueurs de surface mais également d'autres protéines intracellulaires ou nucléaires, voire des transcrits comme pour le virus EBV.

Nous présenterons dans ce chapitre les marqueurs membranaires exprimés par les lymphocytes et utilisés en pratique histologique courante, que ce soit sur coupes en paraffine ou sur prélèvement congelé, en illustrant la démarche investigatrice par deux cas cliniques.

Cas cliniques

Cas 1

Un homme de 77 ans consultait pour un prurit invalidant depuis 5 mois. Il avait pour antécédents un cancer de prostate opéré, une insuffisance respiratoire chronique avec syndrome d'apnée du sommeil et un glaucome chronique. Pour son prurit, il était traité depuis 3 semaines par prednisolone à 20 puis 10 mg/j. À l'examen, il avait un érythème assez discret et peu infiltré du haut du tronc (Fig. 1A). Les aires ganglionnaires étaient libres, l'état général conservé.

L'examen histologique d'une biopsie cutanée montrait, sous un épiderme peu modifié sans remaniements eczématiformes, un infiltrat lymphocytaire dermique monotone, à prédominance périvasculaire et se localisant volontiers le long de la membrane basale avec épidermotropisme minime, fait de lymphocytes de taille petite à moyenne, d'allure parfois cérébriiforme. Ils étaient de phénotype T CD2+, CD3+, CD4+, CD5+, avec une perte d'expression du CD7. S'y associaient quelques lymphocytes T CD8+ et quelques lymphocytes B CD20+. Environ 30% des lymphocytes T exprimaient le CD30, la moitié exprimait le CXCL13 et la majorité des lymphocytes tumoraux exprimait PD1, faisant discuter un lymphome T angio-immunoblastique, malgré l'absence d'adénopathies, et un syndrome de Sézary. Le marquage de CD158k (KIR3DL2), fortement positif, était en faveur d'un syndrome de Sézary (Fig. 2).

L'étude de la clonalité en biologie moléculaire (étude du réarrangement du TCR-gamma en PCR DGGE) identifiait un clone T majoritaire identique dans la peau et le sang. Le frottis sanguin ne montrait pas de cellules de Sézary circulantes. Le phénotypage lymphocytaire montrait des lymphocytes CD4+ à 1097/mm³, un rapport CD4/C8 normal à 2 (un rapport supérieur à 10 est un des critères diagnostiques du syndrome de Sézary), des lymphocytes CD4+ CD7- à 24% (N < 30%), CD4+ CD26- à 24% aussi (N < 40%), mais représentant globalement une population circulante lymphocytaire T anormale d'environ 500 cellules/mm³. Le marquage de KIR3DL2 dans le sang révélait que 40% des



Figure 1. A. Patient 1 : érythème peu infiltré limité au haut du dos. B. Patient 2 : multiples nodules sous-cutanés de la jambe droite (flèches).

lymphocytes CD4+ circulants exprimaient le marqueur d'intérêt (normale < 5%).

Il n'y avait pas d'adénopathies profondes au scanner thoraco-abdomino-pelvien.

Le diagnostic de syndrome de Sézary « décapité » par la corticothérapie générale (signes cutanés modérés, absence initiale de cellules de Sézary circulantes, apparues secondairement à l'arrêt de la corticothérapie), était posé. Un traitement par méthotrexate était introduit.

Cas 2

Une patiente de 91 ans consultait pour des nodules de la jambe droite. Elle avait pour antécédent une cardiopathie rythmique, une lombosciatique et des infections urinaires à répétition.

Elle avait eu 2 ans auparavant un nodule poplité qui avait été opéré en ville, et dont l'histologie retrouvait un aspect similaire aux lésions actuelles. La négativité du bilan d'extension par scanner corps entier et l'absence d'autre lésion active avait conduit à une surveillance simple. Elle consultait à nouveau pour l'apparition de plusieurs nodules de la jambe droite survenus en l'espace de 1 mois, supracentimétriques érythémateux, sous-cutanés, sensibles, de la face antéro-interne de la jambe droite (Fig. 1B). Il n'y avait pas de lésion controlatérale, la cicatrice de l'exérèse du

Tableau 1 Principaux marqueurs de surface utiles au diagnostic des lymphomes cutanés.

Marqueur	Type de cellules reconnues	Remarques
CD2 CD3	Lymphocytes T et NK Cellules T matures	Seul un anticorps polyclonal permet d'identifier l'expression isolée de la chaîne epsilon dans les lymphomes T/NK de type nasal
CD4	Lymphocytes T auxiliaires Monocytes macrophages et cellules de Langerhans	Environ 60–70 % des lymphocytes circulants
CD5	Lymphocytes T	Peut être exprimé dans certains lymphomes B
CD7	Lymphocytes T	Volontiers perdu dans les lymphomes cutanés contrairement aux infiltrats inflammatoires
CD8	Lymphocytes T effecteurs potentiellement cytotoxiques	25–30 % des lymphocytes T circulants
CD10	Cellules pré-B Cellules B des centres germinatifs	Parfois exprimé par les cellules T des lymphomes de différenciation TFH
CD16 CD19 CD20	Lymphocytes NK, monocytes activés Lymphocytes B Lymphocytes B	Parfois expression aberrante dans le mycosis fongoïde transformé
CD21, CD23 CD25 (IL2-récepteur) CD26	Cellules folliculaires dendritiques Cellules T activées, lymphocytes T-reg Lymphocytes T circulants	Perte d'expression dans les cellules de Sézary circulantes
CD30	Lymphocytes T et parfois B activés	Caractérise certains lymphomes à grandes cellules mais exprimé dans des infiltrats réactionnels surtout infectieux
CD33 CD45 (<i>leukocyte common antigen</i> [LCA])	Cellules myéloïdes et monocytaires Marqueur pan-leucocytaire	2 isoformes : CD45RA (lymphocytes T naïfs) et CD45RO (lymphocytes T mémoire)
CD56 CD79a	Cellules NK Lymphocytes B et plasmocytes	Présent sur les lymphocytes B quel que soit le stade de maturation et les plasmocytes. Composant du récepteur B (B-cell receptor) avec les Ig de surface
CD123 (IL3 récepteur) CD138	Cellules dendritiques plasmacytoïdes Plasmocytes	Utile pour l'identification des plasmocytes ou l'identification d'une différenciation plasmocytaire
KIR3DL2/CD158k	Lymphocytes NK (sous-populations rares), cellules de Sézary	Diagnostic de Sézary en cas d'érythrodermie
PD1/CD279	Lymphocytes T CD4 auxiliaires TFH Cellules T ou B activées	
CD303	Cellules dendritiques plasmacytoïdes	

nodule initial dans le creux poplité gauche était souple. Il n'y avait pas d'adénopathie périphérique et l'état général était conservé.

L'examen histologique d'une biopsie cutanée montrait, sous un épiderme normal et un derme superficiel et moyen peu infiltré, un infiltrat lymphocytaire dense dans le derme profond, fait de lymphocytes irréguliers de grande taille mêlés à une fibrose et à des petits lymphocytes réguliers. L'analyse immuno-histochimique montrait que l'infiltrat était fait de lymphocytes B (CD20+, CD3–, CD5–) avec

une expression diffuse et intense de BCL2 et du facteur de transcription MUM1. Le marquage de Ki-67 fortement positif indiquait un index de prolifération élevé. Il existait par ailleurs un contingent réactionnel fait de petits lymphocytes T dispersés (CD3+, CD5+) (Fig. 3). Le diagnostic était donc celui d'une récidue de lymphome B diffus à grandes cellules de « type jambe », diagnostic qui avait déjà été porté sur la lésion du creux poplité gauche deux ans plus tôt.

La recherche de clonalité B était positive dans la peau et négative dans le sang.

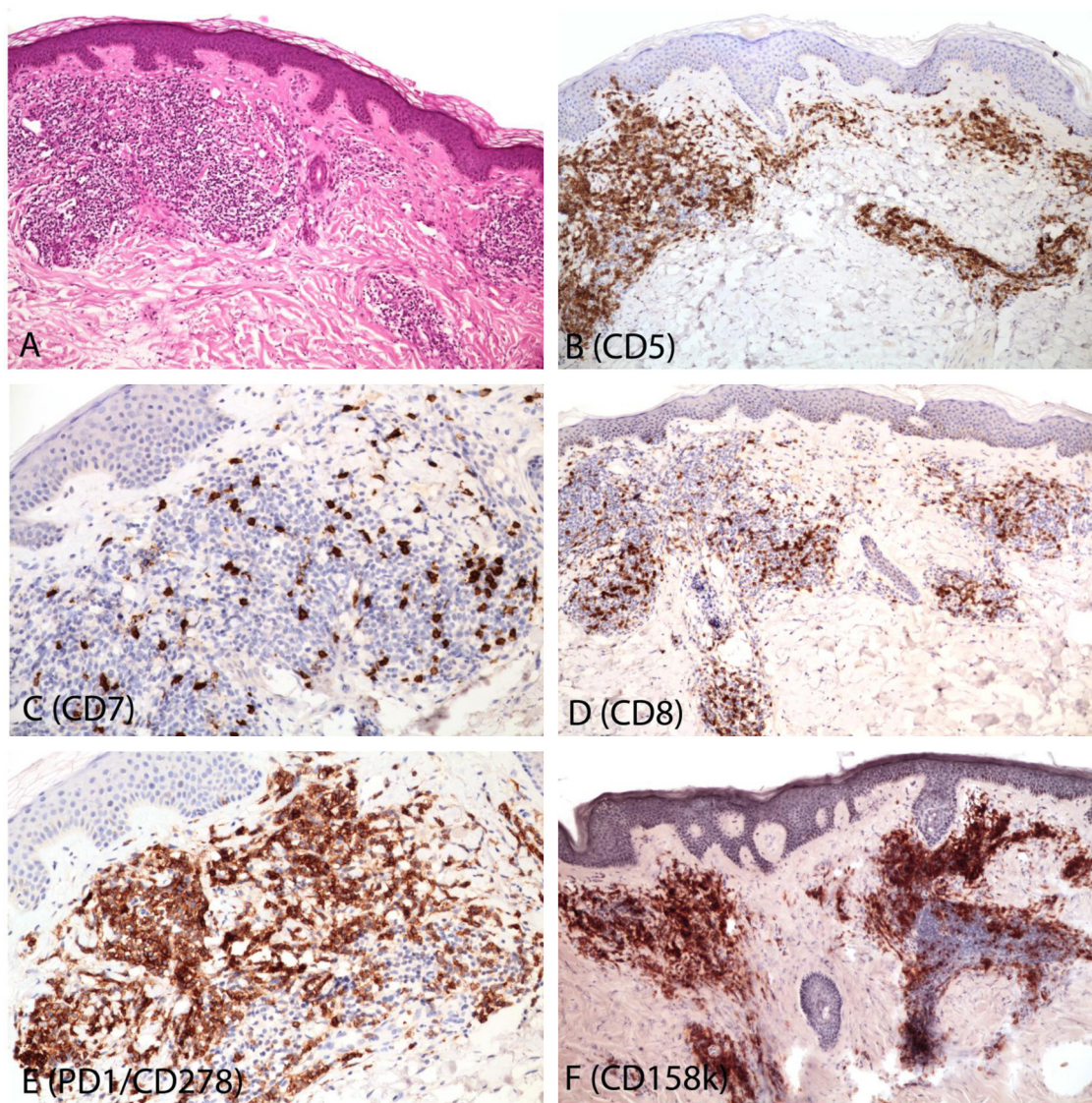


Figure 2. Histologie du patient n° 1. Syndrome de Sézary. A. On voit sous un épiderme normal un infiltrat lymphocytaire dense formant des nappes périvasculaires (HES, $\times 100$). B. L'infiltrat est majoritairement de phénotype T avec expression diffuse de CD5. C. On voit une perte antigénique portant sur le CD7 avec seulement quelques cellules T CD7+ dispersées. D. Le marquage de CD8 est superposable à celui du CD7, identifiant des lymphocytes T réactionnels non néoplasiques. E. On note une expression membranaire intense de PD1. F. L'infiltrat T exprime de façon diffuse le marqueur KIR3DL2/CD158k étudié ici sur une coupe de peau congelée. (immuno-histochimies révélée par la DAB, B, D et F, $\times 100$, C et E, $\times 200$).

Le bilan d'extension par scanner cérébral, thoracique et abdomino-pelvien ne révélait aucune adénopathie profonde, les LDH étaient normales. La patiente était traitée par rituximab et polychimiothérapie (R-miniCHOP).

Démarche diagnostique devant un infiltrat lymphocytaire cutané suspect de lymphome

Ces deux observations, marquées par une présentation clinique un peu atypique de la maladie dans les deux cas (érythème peu marqué et limité au dos dans le cas n° 1, petits nodules sous-cutanés dans le cas n° 2), illustrent

l'importance d'une démarche anatomo-clinique complète pour poser un diagnostic définitif.

L'analyse histopathologique d'un infiltrat lymphocytaire cutané suspect de lymphome vise :

- à distinguer un authentique lymphome d'un infiltrat inflammatoire dense réactionnel, certains étant qualifiés même de « pseudo-lymphomes », surtout lorsqu'aucune étiologie n'est retrouvée au terme de l'enquête diagnostique ;
- à étudier les caractéristiques morphologiques et phénotypiques des cellules lymphomateuses, afin de classer la lésion dans une entité de la classification OMS en vigueur [1].

Cette enquête diagnostique repose d'abord sur l'analyse morphologique puis sur une étude phénotypique rigoureuse,

Tableau 2 Caractéristiques phénotypiques des principaux lymphomes cutanés.

Lymphome cutané	Marqueurs de différenciation	Différenciation supposée des cellules néoplasiques	Aberrations phénotypiques
Mycosis fongoïde Sézary	CD3+, CD4+, CD8—, autres marqueurs T, PD1+	Lymphocyte T auxiliaire (T helper)	Trous phénotypiques T possibles (CD2, CD7 surtout) Expression de KIR3DL2
Lymphoproliférations T CD30+	CD3+, CD4+, CD8—, autres marqueurs T, CD30+ CD3+, CD4—, CD8+, autres marqueurs T, CD30+ (plus rare)	Lymphocyte T auxiliaire (T helper) possiblement cytotoxique	Trous phénotypiques T fréquents Cytotoxicité possible p80/Alk1+ si translocation (rares)
Leucémie/lymphome T de l'adulte (HTLV1)	CD3+, CD4+, autres marqueurs T CD25+, FoxP3+	Lymphocyte T régulateur T-reg	Trous phénotypiques T possibles Co-expression de CD4 et CD8 possible Perte du CD5 possible
Lymphome T sous-cutané à type de panniculite	CD3+, CD4—, CD8+, autres marqueurs T Cytotoxicité : TiA1+, granzyme B+ TCR bêta+, TCR delta—	Lymphocyte T effecteur cytotoxique	
Lymphome T gamma-delta	CD3+, CD4—, CD8—, CD5—, CD7+ Cytotoxicité : TiA1+, granzyme B+ TCR bêta—, TCR delta+	Lymphocyte T cytotoxique gamma-delta	
Lymphome T CD4+ pléomorphe à petites et moyennes cellules	CD3+, CD4+, CD8—, autres marqueurs T, CXCL13+, PD1+, ICOS+	Lymphocyte T auxiliaire (T helper)	Trous phénotypiques T possibles
Lymphome T/NK de type nasal	CD3epsilon+ CD56+ TiA1+, granzyme B+ Ki-67/Mib1+	Lymphocytes NK ou T/NK	Association à l'EBV constante : LMP-1+, EBER+
Lymphome T CD8+ épidermotrope agressif	CD3+, CD4—, CD8+, autres marqueurs T Cytotoxicité : TiA1+, granzyme B+	Lymphocyte T effecteur cytotoxique	Trous phénotypiques T fréquents Expression possible de KIR3DL2
Lymphome T angio-immunoblastique	CD3+, CD4+, CD8—, autres marqueurs T CD10+ / —, CXCL13+, PD1+, BCL6+ / —	Lymphocyte TFH	Trous phénotypiques T possibles Lymphocytes B EBV+
Lymphome B centrofolliculaire primitivement cutané	CD20+, CD79a+, CD10— / +, BCL6+, BCL2— / + Réseau de cellules folliculaires dendritiques CD23+ CD21+, CNA-42+	Lymphocyte B centro-germinatif	
Lymphome B cutanée de la zone marginale	CD20+, CD79a+, BCL2+, BCL6—, MUM1+ Réseau éclaté de cellules folliculaires dendritiques CD23+ CD21+, CNA-42+	Lymphocyte B post-germinatif	
Lymphome B à grandes cellules de type jambe	Monotypie kappa ou lambda CD20+, CD79a+, CD10—, BCL2+, BCL6+ / —, MUM1+, IgM+	Lymphocyte B post-germinatif / activé	
Lymphome B intravasculaire	CD20+, CD5+, BCL2+	?	

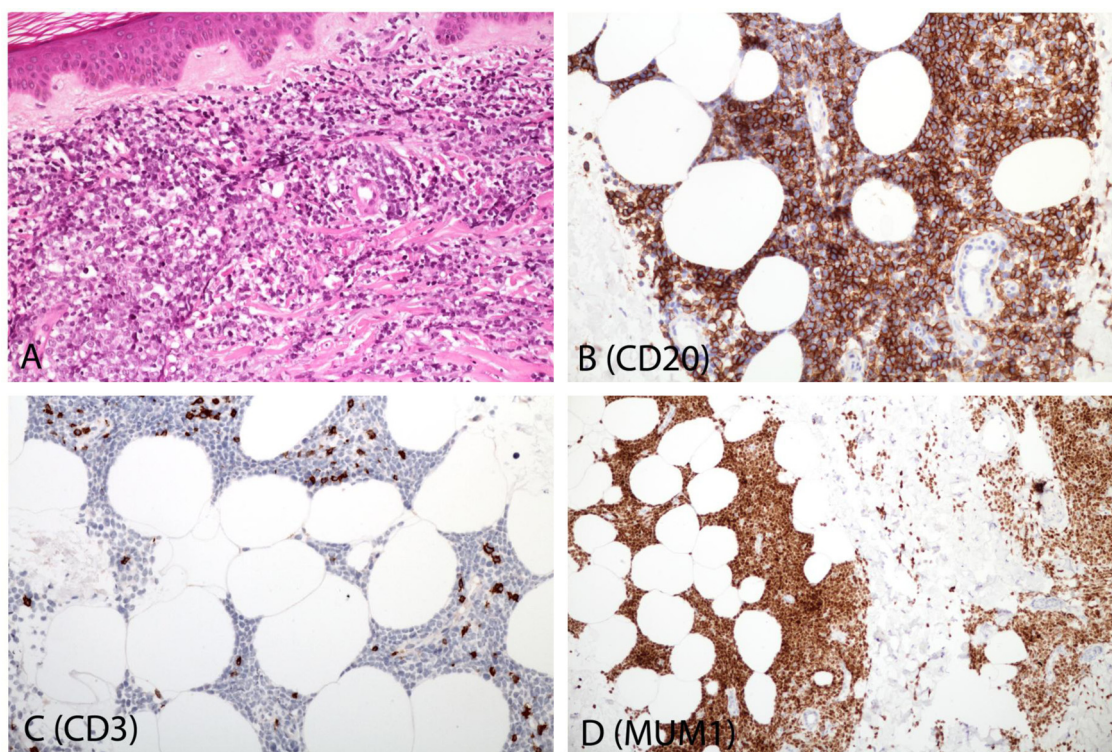


Figure 3. Histologie du patient n° 2. Lymphome B diffus à grandes cellules de type jambe. A. Sous un épiderme normal on voit un infiltrat lymphocytaire atypique dense occupant le derme fait de grandes cellules rondes nucléolées, volontiers de type « immunoblastique » (HES, $\times 200$). B. Les cellules sont de phénotype B avec expression membranaire intense et diffuse de CD20. C. Quelques cellules T réactionnelles CD3+ sont présentes. D. L'infiltrat néoplasique exprime de façon diffuse le facteur de transcription MUM1, avec un marquage nucléaire bien identifiable. (immuno-histochimies révélées par la DAB, B et C, $\times 200$, et D, $\times 100$).

impliquant l'étude de marqueurs dont un grand nombre sont membranaires (CD). Des algorithmes ont récemment été publiés par les experts du réseau INCa « Lymphopath » et du Groupe français d'étude des lymphomes cutanés (GFELC), soulignant l'importance du phénotypage lymphocytaire pour le diagnostic [2]. Cependant, il ne pourra pas être toujours possible de caractériser une entité bien définie. De fait, un certain nombre de lymphomes ne sont pas classables et rejoignent le groupe des lymphomes cutanés non spécifiés, identifiés dans la classification OMS comme *not otherwise specified* (NOS). Le **Tableau 2** résume les caractéristiques phénotypiques des principaux types de lymphomes cutanés.

Déterminer s'il s'agit d'un infiltrat de lymphocytes T, B

La première étape consiste à effectuer des marqueurs de différenciation B et T, dans la mesure où la grande majorité des lymphomes cutanés sont de phénotype T ou B, les premiers étant, contrairement à ce qui se passe dans les ganglions, plus fréquents, en grande partie du fait de la forte incidence du mycosis fongoïde :

- le marquage de CD3 (molécule fortement liée au récepteur T, TCR) est celui qui est en règle effectué pour identifier les lymphocytes T matures, normaux et néoplasiques. Cependant, l'utilisation d'un anticorps monoclonal anti-CD3 peut donner un résultat négatif dans 2 situations : sur un lymphome NK/T de type nasal, car

ce dernier n'exprime que la chaîne epsilon du CD3, reconnue seulement si l'on utilise un anticorps polyclonal ; et dans certains lymphomes T perdant partiellement ou complètement l'expression de CD3. C'est le cas par exemple de certaines lymphoproliférations T CD30+ (papulose lymphomatoïde ou lymphome T anaplasique cutané primitif). On se trouvera alors dans la situation d'un infiltrat CD3– CD20– (voir plus bas) ;

- les marqueurs CD20 et CD79a permettent d'identifier les lymphocytes B matures, normaux et néoplasiques. L'absence d'expression de CD20 ne doit pas forcément éliminer un lymphome B, puisque certains lymphomes B n'expriment pas cet antigène, même si cette situation est rare (lymphome lymphoblastique B). Inversement, certains lymphomes T peuvent présenter une expression aberrante de CD20, comme au cours du mycosis fongoïde transformé [3]. En cas de doute, la réalisation d'autres marqueurs B, localisés à la membrane (CD19, CD79a) ou correspondant à des facteurs de transcriptions, comme BOB1 et PAX5, et T, aidera à mieux caractériser la nature des cellules.

Les démarches suivantes tendent à l'établissement d'un diagnostic le plus précis possible, sachant que certaines situations peuvent être sources d'hésitations diagnostiques, notamment la distinction entre lymphome T cutané et dermatose inflammatoire, hyperplasie lymphoïde réactionnelle et lymphome B indolent à petites cellules, lymphome cutané primitif ou secondaire.

S'il s'agit d'un infiltrat lymphocytaire T

Cette situation caractérise les infiltrats lymphomateux qui apparaissent de prime abord CD3+ (anticorps monoclonal), CD20—.

Il faut alors déterminer de quelle catégorie de lymphocytes T il s'agit, notamment de sous-populations T CD4+ ou CD8+, puis plus précisément de lymphocytes T auxiliaires (helper) classiques ou folliculaires (TFH), T effecteurs cytotoxiques, T-régulateurs (T-reg), T/NK. S'il s'agit d'infiltrats lymphomateux faits de grandes cellules, il faut impérativement rechercher une expression de CD30. Selon le contexte clinique, la présentation histologique et les résultats obtenus par les premières analyses immuno-histochimiques, d'autres marqueurs particuliers seront alors étudiés.

On utilise en première intention les anticorps anti-CD4 et CD8, sachant que l'antigène CD4 dans la peau est souvent d'interprétation difficile. En effet, contrairement au CD8, le CD4 n'est pas un marqueur purement lymphocytaire, puisqu'il est exprimé par les monocytes/macrophages et par les cellules dendritiques, ces dernières étant volontiers nombreuses dans l'environnement des cellules lymphomateuses, dans l'épiderme et le derme respectivement. En pratique, la proportion de lymphocytes T CD4+ peut être évaluée de façon plus facile et plus fiable par « soustraction » entre la population CD3+ et la population CD8+ [4] :

- le marqueur CD4 caractérise les lymphocytes T auxiliaires (helper). La caractérisation de sous-populations particulières de lymphocytes T CD4+ auxiliaires peut avoir son importance dans certains cas. Si l'expression de CD25 (récepteur à l'interleukine 2) et du facteur de transcription FoxP3 est classique dans les lymphomes T associés à l'HTLV1, ces marqueurs sont en pratique de peu d'intérêt par leur manque de spécificité : en effet, les infiltrats réactionnels et d'autres lymphomes T peuvent comporter de nombreux lymphocytes activés CD25+ ou de phénotype régulateur CD25+ FoxP3+. Il est beaucoup plus intéressant de rechercher l'expression de marqueurs de différenciation TFH, comme CXCL13 et PD1 dont la positivité aidera au diagnostic de certains lymphomes T comme les localisations secondaires de lymphomes T angio-immunoblastiques ou les lymphomes T cutanés primitifs CD4+ pléomorphes à petites et moyennes cellules ;
- le marqueur CD8+ caractérise plutôt des lymphocytes T effecteurs potentiellement cytotoxiques. L'expression de CD8 est majoritaire dans les infiltrats inflammatoires où prédominent les effecteurs cytotoxiques, en particulier dans les toxiérmies. Il existe cependant des sous-types de lymphomes T cutanés de phénotype CD8+. C'est le cas de certains mycosis fongicoïdes (5 à 10 %), de certaines formes de papulose lymphomatoïde [5], des lymphomes T sous-cutanés à type de panniculite [6] et des exceptionnels lymphomes T épidermotropes agressifs [7]. Devant un lymphome T CD8+, il convient de rechercher une expression de protéines de cytotoxicité (TiA1 et granzyme B) ;
- un mélange des deux types cellulaires est classiquement évocateur d'infiltrat réactionnel « pseudo-lymphomateux » (piqûres d'insecte, etc.), mais peut se voir dans des lymphomes T CD4+ avec infiltrat réactionnel abondant. Par ailleurs, les lymphomes B de bas grade sont volontiers associés à un important contingent de lymphocytes T réactionnels.

Le diagnostic de lymphome T peut parfois être difficile, y compris après réalisation de ces marqueurs T, nécessitant de répéter les prélèvements et de pratiquer une bonne confrontation anatomo-clinique et la recherche d'un clone T cutané. Cela est particulièrement vrai dans les formes débutantes de mycosis fongicoïde. L'analyse systématique des marqueurs « pan-T », c'est-à-dire des marqueurs censés être exprimés par tous les lymphocytes T (CD2, CD5, CD7), peut alors être utile. En effet, la démonstration d'une perte d'un ou plusieurs de ces antigènes est une caractéristique des lymphocytes transformés et élimine un infiltrat réactionnel. La proportion de lymphomes T cutanés présentant une perte antigénique significative reste cependant hautement variable, beaucoup plus importante dans les infiltrats des lymphoproliférations T cutanées CD30+ ou les mycosis fongicoïdes transformés que dans les mycosis fongicoïdes débutants [8]. Il est également possible en immuno-histochimie d'identifier si la population lymphomateuse exprime plutôt un TCR de phénotype $\alpha\beta$ (le plus souvent) ou $\gamma\delta$ (rarement). Ceci peut être important dans l'exploration de certains lymphomes T comme les panniculites lymphomateuses dont la présentation histologique peut être très similaire mais dont le pronostic est très différent [6].

Le marquage de CD30 est une étape importante dans la caractérisation des infiltrats suspects de lymphome renfermant des grandes cellules. Il reste que l'expression de CD30 n'est pas une caractéristique de cellules T lymphomateuses [9], puisque cet antigène est volontiers exprimé par les lymphocytes activés, y compris dans des infiltrats réactionnels, en particulier d'origine infectieuse (gale, piqûre d'insecte...). L'expression du CD30 caractérise les lymphoproliférations T CD30+, certains mycosis fongicoïdes transformés, dont la distinction avec les lymphoproliférations T CD30+ nécessite une bonne confrontation anatomo-clinique [10]. Il peut également être exprimé dans d'autres situations, incluant le syndrome de Sézary, et bien d'autres lymphomes, incluant bien sûr les localisations cutanées secondaires de lymphomes T anaplasiques ganglionnaires. L'appréciation de l'expression de CD30 revêt également un intérêt thérapeutique. En effet, il existe actuellement un intérêt grandissant pour le traitement de certains lymphomes T cutanés agressifs par anticorps anti-CD30 (brentuximab vedotin) [11].

Un nouveau groupe de lymphomes émerge parmi les lymphomes T, que ce soit dans la peau ou les ganglions. Il s'agit des lymphomes exprimant des marqueurs de différenciation TFH (caractérisant les lymphocytes T helper folliculaires). L'expression d'un panel de marqueurs dont certains sont des marqueurs de surface, comme PD1/CD279 et ICOS/CD278 et d'autres pas (CXCL13, CXCR5, BCL6...), caractérise les lymphocytes TFH, dont les exemples néoplasiques dans la peau sont les localisations de lymphomes T angio-immunoblastiques et les lymphomes T cutanés primitifs CD4+ pléomorphes à petites et moyennes cellules [12]. De façon intéressante, les cellules de Sézary peuvent également exprimer certains de ces marqueurs, notamment PD1 [13] et à un moindre degré CXCL13.

Dans certaines situations, il pourra être nécessaire de chercher l'expression de certains marqueurs « aberrants ». Le récepteur CD158k/KIR3DL2, exprimé habituellement par certaines cellules NK, est exprimé de façon très fréquente par les cellules néoplasiques T du syndrome de Sézary. Son

étude peut être faite aujourd'hui sur tissu congelé, même si peu de laboratoires disposent de cette technique en routine [14]. Dans le cas particulier du syndrome de Sézary, il convient de rappeler que l'analyse phénotypique doit également être effectuée sur les cellules circulantes du sang, permettant classiquement l'identification d'une population T CD4+ CD26- majoritaire exprimant de façon aberrante KIR3DL2 [15]. Un autre exemple de marqueur aberrant est celui de l'oncogène p80/ALK1, qui caractérise certains lymphomes T anaplasiques porteurs d'un réarrangement chromosomique (le plus souvent une translocation t(2;5) réalisant un gène de fusion *NPM-ALK*) [16]. Ces lymphomes sont dans la très grande majorité des cas systémiques, avec envahissement cutané secondaire possible, bien que des formes cutanées primitives aient été décrites.

S'il s'agit d'un infiltrat lymphocytaire B

Cette situation caractérise les infiltrats lymphomateux qui apparaissent de prime abord CD20+ (anticorps monoclonal), CD3-.

Comme pour les lymphomes T, la démarche intrique de façon très importante l'analyse morphologique et phénotypique, avec schématiquement deux situations différentes. D'un côté celle où l'on voit un infiltrat fait majoritairement de petites et moyennes cellules, éventuellement associées à des follicules lymphoïdes à centres germinatifs et à une maturation plasmocytaire, et de l'autre les infiltrats constitués majoritairement de grandes cellules B. Dans tous les cas, l'analyse phénotypique s'attachera à étudier, en dehors des centres germinatifs, le profil phénotypique de l'infiltrat B, qui sera soit de type centro-germinatif (CD10+/-, BCL6+, BCL2-, MUM1-) soit post-germinatif (CD10-, BCL6-, BCL2+, MUM1+):

- les infiltrats constitués plutôt de petites cellules sont soit des lymphomes B cutanés primitifs (lymphome B centrofolliculaire à prédominance de petites cellules, lymphomes B cutanés de la zone marginale ou lymphomes B cutanés secondaires), soit des infiltrats lymphocytaires réactionnels pseudo-lymphomateux, comme les pseudo-lymphomes borréliens. Par définition, les lymphomes centrofolliculaires cutanés primitifs présentent un phénotype centro-germinatif. L'expression de BCL2 permettra éventuellement de suspecter une localisation secondaire de lymphome folliculaire, où la protéine est anormalement surexprimée du fait d'une translocation t(14;18), avec gène de fusion *BCL2-IGH* dans la majorité des cas. Les lymphomes B de la zone marginale et infiltrats réactionnels montreront plutôt un profil post-germinatif. La seule façon de proposer le diagnostic de lymphome B cutané de la zone marginale sera de démontrer indirectement le caractère clonal de la population B par l'existence d'une expression préférentielle d'une chaîne légère d'immunoglobuline dans les plasmocytes, lorsqu'ils sont en nombre suffisant (monotypie kappa ou lambda). S'il est rare de pouvoir trouver cliniquement ou histologiquement la cause des pseudo-lymphomes B (lymphocytomes cutanés bénins), il peut être utile dans certains cas de rechercher une expression prédominante d'IgG4 par les plasmocytes (ratio plasmocytes IgG4/plasmocytes IgG totales > 40%), pouvant alors témoigner d'une lésion du

spectre de la maladie sclérosante à IgG4, dont il existe des formes cutanées pures [17];

- devant un lymphome constitué majoritairement de grandes cellules, il est important de distinguer une forme à prédominance de grandes cellules de lymphome B centrofolliculaire cutané primitif (CD10+/-, BCL6+, BCL2- et MUM1-), d'un lymphome B diffus à grandes cellules de « type jambe », dont le phénotype est plutôt post-germinatif (CD10-, BCL6+/-, BCL2+ et MUM1+), avec volontiers expression d'une IgM de membrane. Dans les cas douteux, la recherche d'une mutation de *MYD88* sera d'intérêt puisqu'elle caractérise environ 60% des lymphomes B de type jambe [18] et n'est jamais présente dans les lymphomes centrofolliculaires. Ce diagnostic différentiel est très important puisque le pronostic et le traitement de ces deux lymphomes diffèrent grandement.

Si les marqueurs B et T de première intention ne sont pas exprimés

Cette situation plus rare caractérise les infiltrats d'allure lymphoïdes CD3-(monoclonal) et CD20-.

Dans cette situation, il faut évoquer soit un lymphome T ou B ayant une perte antigénique, soit un lymphome NK/T de type nasal. Ce dernier, pouvant se présenter primitivement dans la peau, montre un profil phénotypique proche des cellules NK avec expression de CD16 et CD56. Les cellules NK expriment également le CD2, mais pas CD3, CD5, CD7, CD4 et rarement CD8, au contraire des lymphocytes NKT qui expriment à la fois le CD3 et le CD56. Outre l'expression de protéines de cytotoxicité, ces lymphomes seront in fine reconnus par leur association constante au virus EBV, dont la détection sera assurée de la façon la plus sensible par technique d'hybridation in situ (transcrits EBER) [19].

Dans cette situation, il convient également d'envisager une localisation cutanée d'hémopathie myéloïde, avec comme principaux pourvoyeurs les leucémies myélomonocytaires chroniques, le sarcome granulocytaire ou la néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques. Bien qu'il ne s'agisse pas d'hémopathie lymphocytaire, l'aspect des cellules peut être très proche de lymphocytes néoplasiques. Par ailleurs, la néoplasie à cellules dendritiques plasmacytoïdes blastiques a longtemps été considérée comme une forme de lymphome, du fait de l'expression classique de CD4 et CD56. Le diagnostic sera assuré par la démonstration de marqueurs de cellules dendritiques plasmacytoïdes (au moins deux parmi CD123, CD303 et TCL1) et l'absence d'expression de CD33 et de la myéloperoxydase [20]. La possible expression de marqueurs de différenciation lymphocytaire (CD2, CD7) souligne plus que jamais l'importance de la réalisation de panel de marqueurs pour ne pas produire un diagnostic erroné.

Conclusion

L'expertise anatomopathologique nécessite des prélèvements biopsiques de qualité et multiples (fixés et congelés) et utilise, outre l'analyse morphologique, tout un panel d'anticorps reconnaissant diverses molécules exprimées par les lymphocytes, dont beaucoup identifient des marqueurs de surface. Ils permettent d'établir un diagnostic le plus

précis possible. La confrontation des données cliniques, biologiques et pathologiques reste indispensable, parfois pour établir un diagnostic de certitude, et souvent pour établir le stade d'invasion de la maladie, certains lymphomes cutanés primitifs ayant les mêmes caractéristiques morphologiques et phénotypiques que des équivalents ganglionnaires et systémiques, avec d'importantes implications pronostiques et thérapeutiques. La réalisation de panels de marqueurs guidés par l'analyse morphologique et la présentation clinique est indispensable, justifiant, d'une part, l'envoi des cas difficile à des pathologistes experts, et d'autre part, l'existence en France de réseaux d'expertise clinique et pathologique labellisés (GFELC et Lymphopath).

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Campo E, Swerdlow SH, Harris NL, Pileri S, Stein H, Jaffe ES. The 2008 WHO classification of lymphoid neoplasms and beyond: evolving concepts and practical applications. *Blood* 2011;117:5019–32.
- [2] Laban É, Beylot-Barry M, Ortonne N, Battistella M, Carlotti A, de Muret A, et al. [Cutaneous lymphoproliferations: proposal for the use of diagnostic algorithms based on 2760 cases of cutaneous lymphoproliferations taken from the INCa networks (LYMPHOPATH and GFELC) over a two-year period]. *Ann Pathol* 2015;35:131–47, <http://dx.doi.org/10.1016/j.annpat.2015.02.001>.
- [3] Jullié M-L, Carlotti M, Vivot A, Beylot-Barry M, Ortonne N, Frouin E, et al. CD20 antigen may be expressed by reactive or lymphomatous cells of transformed mycosis fungoides: diagnostic and prognostic impact. *Am J Surg Pathol* 2013;37:1845–54.
- [4] Ortonne N, Buyukbabani N, Delfau-Larue M-H, Bagot M, Wechsler J. Value of the CD8-CD3 ratio for the diagnosis of mycosis fungoides. *Mod Pathol* 2003;16:857–62.
- [5] Saggini A, Gulia A, Argenyi Z, Fink-Puches R, Lissia A, Magaña M, et al. A variant of lymphomatoid papulosis simulating primary cutaneous aggressive epidermotropic CD8+ cytotoxic T-cell lymphoma. Description of 9 cases. *Am J Surg Pathol* 2010;34:1168–75.
- [6] Willemze R, Jansen PM, Cerroni L, Berti E, Santucci M, Assaf C, et al. Subcutaneous panniculitis-like T-cell lymphoma: definition, classification, and prognostic factors: an EORTC Cutaneous Lymphoma Group Study of 83 cases. *Blood* 2008;111:838–45.
- [7] Robson A, Assaf C, Bagot M, Burg G, Calonje J, Castillo C, et al. Aggressive epidermotropic cutaneous CD8+ lymphoma: a cutaneous lymphoma with distinct clinical and pathological features. Report of an EORTC Cutaneous Lymphoma Task Force Workshop. *Histopathology* 2014, <http://dx.doi.org/10.1111/his.12371>.
- [8] Bekel L, Chaby G, Lok C, Dadban A, Chatelain D, Ingen-Housz-Oro S, et al. Primary cutaneous T-Cell lymphoma presenting as mycosis fungoides with a T-/null-cell phenotype: report of two cases. *Br J Dermatol* 2014, <http://dx.doi.org/10.1111/bjd.13563>.
- [9] Cepeda LT, Pieretti M, Chapman SF, Horenstein MG. CD30-positive atypical lymphoid cells in common non-neoplastic cutaneous infiltrates rich in neutrophils and eosinophils. *Am J Surg Pathol* 2003;27:912–8.
- [10] Fauconneau A, Pham-Ledard A, Cappellen D, Frison E, Prochazkova-Carlotti M, Parrens M, et al. Assessment of diagnostic criteria between primary cutaneous anaplastic large cell lymphoma and CD30-rich transformed mycosis fungoides. A study of 66 cases. *Br J Dermatol* 2015, <http://dx.doi.org/10.1111/bjd.13690>.
- [11] Mehra T, Ikenberg K, Moos RM, Benz R, Nair G, Schanz U, et al. Brentuximab as a treatment for CD30+ mycosis fungoides and Sézary syndrome. *JAMA Dermatol* 2015;151:73–7.
- [12] Battistella M, Beylot-Barry M, Bachelez H, Rivet J, Vergier B, Bagot M. Primary cutaneous follicular helper T-cell lymphoma: a new subtype of cutaneous T-cell lymphoma reported in a series of 5 cases. *Arch Dermatol* 2012;148:832–9.
- [13] Cetinözman F, Jansen PM, Vermeer MH, Willemze R. Differential expression of Programmed Death-1 (PD-1) in Sézary syndrome and mycosis fungoides. *Arch Dermatol* 2012;148:1379–85.
- [14] Ortonne N, Le Gouvello S, Mansour H, Poillet C, Martin N, Delfau-Larue M-H, et al. CD158k/KIR3DL2 transcript detection in lesional skin of patients with erythroderma is a tool for the diagnosis of Sézary syndrome. *J Invest Dermatol* 2008;128:465–72.
- [15] Poszepczynska-Guigné E, Schiavon V, D'Incan M, Echchakir H, Musette P, Ortonne N, et al. CD158k/KIR3DL2 is a new phenotypic marker of Sezary cells: relevance for the diagnosis and follow-up of Sezary syndrome. *J Invest Dermatol* 2004;122:820–3.
- [16] Oschlies I, Lisfeld J, Lamant L, Nakazawa A, d'Amore ESG, Hansson U, et al. ALK-positive anaplastic large cell lymphoma limited to the skin: clinical, histopathological and molecular analysis of 6 pediatric cases. A report from the ALCL99 study. *Haematologica* 2013;98:50–6.
- [17] Ingen-Housz-Oro S, Ortonne N, Elhai M, Allanore Y, Aucouturier P, Chosidow O. IgG4-related skin disease successfully treated by thalidomide: a report of 2 cases with emphasis on pathological aspects. *JAMA Dermatol* 2013;149:742–7.
- [18] Pham-Ledard A, Beylot-Barry M, Barbe C, Leduc M, Petrella T, Vergier B, et al. High frequency and clinical prognostic value of MYD88 L265P mutation in primary cutaneous diffuse large B-cell lymphoma, leg-type. *JAMA Dermatol* 2014;150:1173–9.
- [19] Takata K, Hong M-E, Sitthinamsuwan P, Loong F, Tan S-Y, Liao J-Y, et al. Primary cutaneous NK/T-cell lymphoma, nasal type and CD56-positive peripheral T-cell lymphoma: a cellular lineage and clinicopathologic study of 60 patients from Asia. *Am J Surg Pathol* 2015;39:1–12.
- [20] Julia F, Dalle S, Duru G, Balme B, Vergier B, Ortonne N, et al. Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasms: clinico-immunohistochemical correlations in a series of 91 patients. *Am J Surg Pathol* 2014;38:673–80.