

Actualité dans la biologie des lymphomes folliculaires

Bertrand Nadel, Centre d'immunologie de Marseille Luminy (CIML), Marseille, France

Tirés à part : B. Nadel
nadel@ciml.univ-mrs.fr

Liens d'intérêt : Les auteurs déclarent n'avoir aucun lien d'intérêt en rapport avec cet article.

Follicular lymphoma: Biology update

Cellules fondatrices, évolution sous-clonale, chaos épigénétique, microenvironnement tumoral, biomarqueur de patients à haut risque, rechutes liées aux cellules fondatrices
Founding cells, subclonal evolution, epigenetic chaos, tumor microenvironment, biomarker of high-risk patients, founder cell-related relapses

Résumé

La pathogenèse du lymphome folliculaire est un processus à plusieurs étapes, complexe, qui se développe au cours de « déraillements » successifs des mécanismes moléculaires et cellulaires rythmant l'ontogénie des lymphocytes B. Cette perturbation progressive des mécanismes de diversification des anticorps, de l'homéostasie des cellules B et de leur dialogue bidirectionnel avec les cellules du microenvironnement, se produit au cours d'une longue phase de croissance asymptomatique préclinique, dans laquelle des clones pré-curseurs tumoraux se disséminent et établissent des niches pré-tumorales dans les organes lymphoïdes secondaires. Chez le patient, cette évolution sous-clonale « darwinienne » indolente continue à se développer, sous la pression thérapeutique, sur des cycles de plusieurs années, rythmés par des rechutes de plus en plus fréquentes et réfractaires, ou aboutissant à une transformation en lymphome agressif de mauvais pronostic. Les développements technologiques actuels, permettant le décryptage fonctionnel des cellules tumorales et du microenvironnement, devraient donner rapidement de nouvelles clés pour répondre aux grands enjeux thérapeutiques du lymphome folliculaire : identifier les patients à haut risque dès le diagnostic, comprendre les mécanismes spécifiques de leur pathogenèse et les bases cellulaires et moléculaires des cellules fondatrices menant à la rechute.

Abstract

The pathogenesis of follicular lymphoma is a complex, multi-stage process that develops during successive "derailments" of molecular and cellular mechanisms punctuating the ontogeny of B lymphocytes. This progressive disruption of the mechanisms of antibody diversification, Homeostasis of B cells and their bidirectional dialogue with microenvironmental cells occurs during a long preclinical asymptomatic growth phase, in which tumor precursor clones disseminate and establish pretrial niches in secondary lymphoid organs. In the patient, this indolent "darwinian" subclonal evolution continues to develop, under therapeutic pressure, over cycles of several years, punctuated by relapses becoming more frequent and refractory, or resulting in a transformation into aggressive lymphoma poor prognosis. Current technological developments, allowing the functional deciphering of tumor cells and the microenvironment, should quickly give new keys to answer the major therapeutic issues of follicular lymphoma: identify high-risk patients from diagnosis, understand the specific mechanisms of their pathogenesis and the cellular and molecular bases of the founder cells leading to relapse.



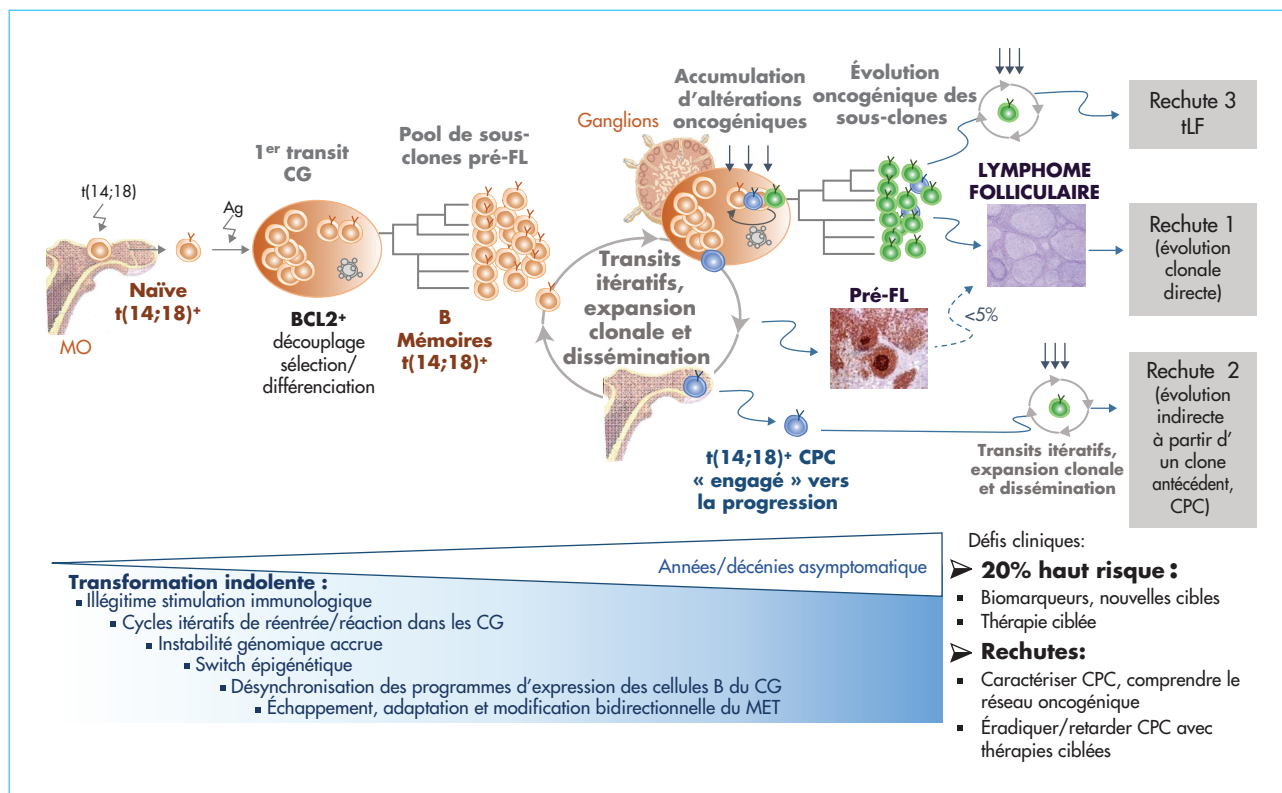
Le lymphome folliculaire (LF) est le deuxième lymphome le plus fréquent de l'adulte. Avec une incidence d'environ 4/100 000/an, il représente environ un quart des nouveaux diagnostics de lymphomes non hodgkiniens (LNH). La course clinique est typiquement indolente. L'introduction de l'immunochimiothérapie (rituximab-chimiothérapie), dans les années 2000, a permis de grandes avancées dans la prise en charge du patient, et le taux de survie globale est aujourd'hui de 80 % à dix ans [1]. Malgré ce bilan relativement favorable, deux grands problèmes persistent. D'abord, une fraction importante des patients (environ 20 %) développera une progression précoce et/ou une transformation en lymphome agressif (tLF). Le pronostic de ces patients dits à « haut risque » est défavorable. Pour les 80 % restants, le développement clinique est rythmé par des rechutes récurrentes, de plus en plus courtes et plus chimiorésistantes à chaque épisode. Nous savons aujourd'hui que l'évolution de la maladie est un long processus, initié des années, sinon des décennies avant le diagnostic [2]. En effet, le LF est précédé d'une phase insidieuse de croissance asymptomatique, émergeant vraisemblablement de clones précurseurs pré-tumoraux largement disséminés, évoluant au fil du temps et contribuant à la dynamique clonale menant aux rechutes. Sur ce tableau d'évolution clinique largement asymptomatique, la plupart des patients sont diagnostiqués à un stade avancé (envahissement médullaire dans environ 50 % cas, et jusqu'à 70 % avec des techniques moléculaires sensibles de détection), et le LF est malheureusement toujours considéré comme incurable avec les traitements disponibles. Les deux principaux défis cliniques actuels sont :

- identifier les patients à haut risque et caractériser leurs particularités biologiques afin d'optimiser le traitement au diagnostic,
- comprendre les bases cellulaires et moléculaires de l'échappement des clones menant aux rechutes et à l'acquisition de leur résistance aux traitements.

Histoire naturelle du lymphome folliculaire (figure 1)

Du point de vue biologique, le LF, tel qu'il apparaît au diagnostic, est un lymphome B du centre germinatif (CG) [3]. Il est l'équivalent tumoral des centrocytes et des centroblastes, lymphocytes B peuplant la zone claire et la zone sombre du CG, qui constituent deux étapes clés de la différenciation en cellules B mémoires et plasmocytes. Le LF combine une forte dépendance au microenvironnement, une reprogrammation épigénétique et de multiples mutations somatiques en des oncogènes et des gènes suppresseurs de tumeur. Toutefois, les premières étapes de la lymphomagenèse ne sont pas initiées dans le CG mais dans la moelle osseuse (MO), par la translocation t(14;18) *BCL2/IGH*, présente dans environ 85 % des cas de LF. La translocation engendre un échange réciproque entre les chromosomes 14 et 18, qui résulte en l'adjonction du gène antiapoptotique *BCL2* (chromosome 18) au locus des gènes de chaîne lourde d'immunoglobuline (*IGH*) (chromosome 14) [4]. Le contrôle de *BCL2* par l'*enhancer* des *IGH* conduit à une production anormale (constitutive) de l'oncogène *BCL2*, qui est une protéine antiapoptotique essentielle, conférant une survie accrue aux cellules B du CG (le seul moment de la vie d'une cellule B où l'expression de *BCL2* est régulée négativement). Il est aujourd'hui acquis que la t(14;18), et donc l'expression illégitime de *BCL2*, si elle est nécessaire à la transformation maligne, n'y est pas suffisante, comme le montre sa présence à faible fréquence (moins d'une cellule par million de cellules B) dans le sang périphérique de plus de 70 % des adultes de la population générale, dont la vaste majorité ne développera pourtant jamais la maladie. Il est clair que le développement du LF est un processus impliquant d'autres altérations moléculaires et cellulaires accumulant les nouvelles lésions au décours des divers stades de différenciation des cellules B. Toutes les altérations oncogéniques ne se

FIGURE 1



Histoire naturelle de la lymphomagenèse du lymphome folliculaire.

produisant pas au même moment du développement de ces cellules B illégitimes t(14;18)⁺, et ce développement s'avérant être relativement lent (des années, voire des décennies), la notion s'impose de « clones précurseurs du LF », progressant chez des « porteurs asymptomatiques », très graduellement, du statut d'individu sain à celui de patient.

Que savons-nous de l'évolution des clones t(14;18) chez les individus sains ? Les études de suivi épidémiologique ont montré que la fréquence de ces clones dans le sang tend à augmenter avec le temps, l'âge et diverses expositions environnementales. Cette fréquence est en outre l'objet d'une grande variabilité interindividuelle dans la population générale, 1 % des sujets qui la composent présentant des taux de t(14;18) jusqu'à 100 fois plus élevés que la moyenne. Ces fréquences élevées ne sont pas dues à l'accumulation de clones t(14;18)⁺ indépendants, mais bien à la prolifération d'un clone cellulaire majeur. De plus, les clones pré-tumoraux se sont avérés être liés à la future maladie chez les individus asymptomatiques progressant vers le LF. En effet, dans tous les cas analysés d'individus sains prélevés en amont du diagnostic (cohortes épidémiologiques, cas cliniques isolés), les analyses clonales (basées sur les séquences des points de cassure clonotypiques et uniques de la translocation) ont montré que le clone tumoral observé dans la biopsie du LF était le même que celui détecté dans le sang jusqu'à quinze ans avant le diagnostic [5-9]. Enfin, l'analyse quantitative de la t(14;18) a révélé que les individus ayant développé un LF (jusqu'à vingt ans plus tard) présentaient une prévalence et une fréquence de clones pré-tumoraux nettement plus élevées que les contrôles (individus issus de la même population de départ n'ayant pas développé la maladie). Certains d'entre eux présentaient des

fréquences qui n'avaient jamais été observées auparavant chez des individus sains (de 1/1 000 à $> 1/100$). Sur la base de cette étude, il a été évalué que les individus portant des fréquences de t(14;18) circulants $> 10^{-4}$ avaient un risque 23 fois plus important de progression vers le développement d'un lymphome clinique [8]. L'augmentation de la fréquence n'étant cependant pas corrélée à la proximité du diagnostic, ces données impliquent que ces précurseurs tumoraux peuvent être « engagés » dans le processus de transformation maligne très longtemps avant la manifestation clinique. Inversement, nombre d'individus développant un lymphome dans les années qui ont suivi le prélèvement prédiagnostique circulant ne présentaient pas de fréquences particulièrement élevées, en accord avec la notion de niches pré-tumorales.

Quelles sont ces niches pré-tumorales ? Où se situent-elles et quelle est la nature des cellules les constituant ? Les études réalisées à partir de donneurs d'organes (sains sur le plan hématologique), ont montré que la prévalence et la fréquence dans les tissus lymphoïdes (rate, ganglions lymphatiques et même la MO) sont généralement plus élevées que dans le sang [2, 10, 11]. La caractérisation des clones t(14;18) dans les tissus a montré que ces cellules sont des clones B matures, de type B mémoire (ou B du CG), s'étant différenciés suite à leur rencontre avec un antigène et leur réponse à celui-là, mais possédant déjà certaines caractéristiques particulières des LF, dont, notamment, les premières marques d'instabilité génomique. Fait intéressant, les clones médullaires présentent également ces caractéristiques pré-tumorales et peuvent être positionnés dans la généalogie clonale des variants d'autres tissus, suggérant que les clones pré-tumoraux se disséminent, du ganglion à la MO, et vice versa. Les cellules B mémoire ne sont, par ailleurs, normalement pas présentes dans la MO ; cela suggère que cette dernière pourrait constituer une niche précoce des clones pré-tumoraux. Ce modèle est tout à fait similaire à la dynamique clonale observée pour le LF au diagnostic [12], suggérant que la MO pourrait constituer une niche propice pour les cellules fondatrices du LF (CPC, pour *cancer precursor cell*), migrant de l'expansion initiale dans le site primaire. L'ensemble de ces données indique que la dissémination des clones t(14;18) et le *homing* dans la MO se produit très tôt, avant même la transformation maligne, et suggère la présence de niches précoces ainsi que l'occurrence d'expansions clonales. Les CPC nichées dans la MO ou dans d'autres sites (*e.g.*, ganglions) pourraient ainsi présenter une plus grande résistance aux traitements et contribuer aux rechutes.

L'une des plus remarquables illustrations de l'existence de ces précurseurs tumoraux et de leur engagement dans un long processus de transformation maligne et d'émergence tumorale précédant la manifestation symptomatique au diagnostic, provient de plusieurs cas de développement synchrone de LF chez des donneurs et leurs receveurs d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, plusieurs années après la transplantation (plus de neuf ans, dans un cas) [5, 7]. Dans les deux cas rapportés, les tumeurs des paires de donneurs/receveurs, ainsi que le sang prédiagnostique du donneur au moment de la transplantation ont révélé une même identité clonale, démontrant la présence d'un transfert de clones pré-tumoraux du donneur au receveur. L'analyse moléculaire en profondeur des tumeurs et du sang par séquençage haut débit (NGS, pour *next generation sequencing*) a montré la présence à la fois de mutations partagées et de mutations privées (spécifiques au donneur ou au receveur). Ces dernières démontrent qu'au moment de la greffe, les clones t(14;18) étaient suffisamment engagés pour un développement tumoral inéluctable (à la fois chez le donneur et le receveur, et ce malgré des microenvironnements très différents des hôtes), mais constituaient néanmoins des clones pré-tumoraux, nécessitant l'acquisition d'événements complémentaires (dont des mutations) pendant plusieurs années pour émerger en tumeur maligne. Les mutations partagées (dont certaines mutations récurrentes du LF) démontrent que ces précurseurs engagés peuvent avoir acquis des altérations secondaires bien avant la maladie cliniquement manifeste. Ces

cas fournissent la preuve directe qu'une CPC engagée dans le développement tumoral peut être présente dans la MO plusieurs années avant le diagnostic.

Ce concept de CPC est conforme aux études moléculaires d'échantillons appariés de diagnostic/rechute dans lesquels les reconstitutions clonales en arbres phylogéniques montrent que les rechutes se produisent fréquemment à partir de clones antécédents à ceux formant la masse tumorale au diagnostic [13, 14]. L'idée que la CPC puisse être ramifiée à différents stades de développement du LF (y compris des stades précoces, non transformés) et être à l'origine des rechutes, est un changement de paradigme dans le modèle de la genèse du LF, avec un impact clinique majeur. En effet, l'apparition, chez la grande majorité des patients, de rechutes récurrentes après une rémission complète (RC) à l'immunochimiothérapie indique que ces schémas thérapeutiques n'éliminent pas ces sous-clones constituant la CPC. La question de la rechute est donc intimement liée à l'éradication de la CPC, qui, par définition, ne pourra pas être obtenue avec des thérapies ciblant les événements mutationnels tardifs du clone au diagnostic. Caractériser et cartographier le paysage génétique mutationnel de la CPC est un nouveau défi majeur, et un challenge technologique (au vu de leur faible fréquence et de l'absence de critères objectifs de purification/enrichissement), auxquels s'attellent actuellement plusieurs laboratoires de recherche internationaux.

Paysage oncogénique

La dérégulation précoce de BCL2 est nécessaire, mais pas suffisante, pour conduire à la transformation maligne : toute une gamme d'altérations oncogéniques supplémentaires, acquises progressivement au cours de la maturation des clones t(14;18)⁺, sont requises pour compléter la dérégulation oncogénique provoquée par BCL2 et mener à l'ensemble des présentations diverses observées chez les patients au diagnostic [15]. En tant que cellules B mémoires t(14;18)⁺, les CPC sont susceptibles de produire des réponses antigéniques récurrentes dans les ganglions lymphatiques. Un certain nombre d'altérations secondaires, incluant des événements clés de transformation maligne, se produiront lors de ces visites itératives dans les CG, en raison d'un microenvironnement propice, combinant une instabilité génomique et une survie médiée par BCL2 [2]. Comprendre ces altérations secondaires, leur hiérarchie et l'impact fonctionnel de leurs combinaisons est essentiel pour traduire la biologie du LF en programmes thérapeutiques. Le séquençage complet de l'exome, réalisé sur de grandes cohortes d'échantillons de patients, a permis de mieux saisir la complexité du paysage oncogénique du LF, et a fourni une liste des candidats oncogènes/suppresseurs de tumeur les plus fréquents [13, 14, 16-20]. Ces analyses montrent que chaque tumeur porte un spectre de dix à 100 mutations codantes, et possiblement dix fois plus dans les régions intergéniques, qui commencent seulement à être explorées au niveau fonctionnel. Parmi les mutations exoniques, il est frappant que les *hits* les plus fréquents et récurrents affectent l'épigénome, y compris la dérégulation des gènes modificateurs d'histones tels qu'*EZH2*, *KMT2D*, *CREBBP* ou *EP300*¹. La combinaison de ces altérations entraîne une perturbation du circuit de régulation transcriptionnelle à l'échelle du génome entier, en imprimant une identité LF-spécifique, distincte du programme normal de cellules B de CG [21-23]. La validation fonctionnelle des (onco)gènes candidats dans des modèles murins de LF a validé leur rôle physiopathologique dans le développement de tumeurs mimant un LF. Les cibles identifiées ont permis l'élaboration de nouveaux agents thérapeutiques, y compris une éventuelle classe d'épimédicaments, tels que les inhibiteurs d'EZH2 ou de BCL6 [24-30]. Des mutations récurrentes sont également trouvées dans les voies de signalisation clés, telles que mTORC1, et représentent une autre classe de candidats pour le ciblage thérapeutique [18].



Bien que le LF soit généralement une maladie indolente, la transformation histologique en une tumeur maligne agressive, le plus souvent de type lymphome B diffus à grandes cellules (LBDGC), peut survenir avec une incidence de 2 à 3 % par an, et est associée à un pronostic péjoratif. Les approches génomiques intégrées ont montré que la cellule du LF transformé (tLF) est également issue, dans la majorité des cas, d'une évolution non linéaire, divergente à partir d'une CPC ancestrale [13, 14]. Les mutations épigénétiques et celles des gènes anti-apoptotiques (*BCL2*, *FAS*) sont généralement partagés par le LF au diagnostic et le tLF confirmant leur statut de mutations « *drivers* précoces » du LF. En revanche, les altérations qui dérégulent la réponse aux dommages de l'ADN ou la régulation du cycle cellulaire (*CDKN2A/B*, *MYC*, *TP53*), les facteurs de transcription (*EBF1*) ou la signalisation NF- κ B (pour *nuclear factor kappa B*) (*MYD88*, *TNFAIP3*) semblent être enrichies dans les tLF et seraient responsables de l'acquisition de l'agressivité. En outre, des hypermutations somatiques aberrantes, affectant d'autres gènes que ceux des immunoglobulines, tels que *PIM1*, *PAX5*, *MYC*, *BCL7A*, *CIITA* et *SOC3*², sont détectées, principalement dans les tLF [14, 31]. La majorité des tLF (80 %) sont caractérisées comme ayant un phénotype proche des cellules B du CG (GCB) par analyse d'expression génique [31] ; l'analyse génomique montre également que la tLF est plus reliée à un sous-type GCB du LBDGC, avec des translocations impliquant *BCL2* et des mutations dans *TNFRSF14* (pour *tumor necrosis factor superfamily member 14*), *GNA13* et *EZH2*³. Cependant, la tLF présente une combinaison unique de gènes et de voies altérés, qui est distincte des sous-classes du LBDGC *de novo* (GCB ou à lymphocytes B activés [ABC]).

Microenvironnement tumoral

Le microenvironnement tumoral (MET) est un élément central de l'histoire naturelle du LF depuis les étapes les plus précoces de la lymphomagenèse jusqu'aux étapes les plus tardives de transformation et de rechute [32]. La niche tumorale est composée de cellules immunitaires et stromales produisant un ensemble complexe de facteurs régulant l'architecture, la migration, la survie, la prolifération et, *in fine*, l'évasion immune. Nombre de mécanismes d'évasion permettent l'échappement du LF, qui comprennent des facteurs intrinsèques (*e.g.*, via des mutations dans le LF) et extrinsèques (*e.g.*, via un remodelage du MET) menant à la réduction de l'immunogénicité tumorale, l'inhibition des effecteurs immuns et l'infiltration de cellules immunosuppressives. Parmi les processus majeurs mis en jeu, les cellules LF diminuent l'expression de leurs molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) (*e.g.*, CMH de classe I via l'inactivation de *B2M*, le gène la β 2-microglobuline), afin d'éviter la reconnaissance par les lymphocytes T [16, 33, 34]. Les fréquentes mutations « perte de fonction » de *CREBBP* (environ 60 %) sont probablement l'un des mécanismes majeurs de régulation négative des molécules du CMH de classe II et, par conséquent, de diminution de l'activation et de l'infiltration des cellules T [16]. La diminution de l'activité antitumorale des lymphocytes T/NK est un autre mécanisme impliqué dans l'échappement immun. L'infiltration des T cytotoxiques s'accompagne d'une régulation positive des récepteurs inhibiteurs et d'une diminution de la capacité à former des synapses immunologiques fonctionnelles avec les cellules tumorales [35, 36]. Dans le LF, l'expression de *LAG3* (pour *lymphocyte-activation gene 3*), celle de TIM-3 (pour *T-cell immunoglobulin and mucin containing protein-3*) et de TIGIT (pour *T cell immunoreceptor with Ig and immunoreceptor tyrosine-based inhibition motif domains*) semblent être de bons marqueurs de l'épuisement des lymphocytes T, et il est intéressant de noter que leurs ligands ne sont pas nécessairement exprimés directement par la tumeur, mais peuvent l'être par les cellules myéloïdes, les cellules dendritiques folliculaires (FDC) ou endothéliales de la niche. Le microenvironnement du LF est également caractérisé par une

expansion des cellules immunosuppressives, dont les cellules T régulatrices et folliculaires régulatrices (Treg/Tfr) et les cellules myéloïdes suppressives (MDSC). La présence des Treg/Tfr est fortement densifiée dans le LF, mais leur impact est ambigu, dans la mesure où ils peuvent à la fois générer des activités anti- et protumorales, en inhibant les cellules T folliculaires auxiliaires (TFH) et T cytotoxiques [37-40]. L'orientation de la réponse T est notamment instruite par le LF lui-même, via la production de chimiokines [41, 42].

Le MET joue également un rôle majeur dans la lymphomagenèse, via l'activation du récepteur des cellules B (BCR). Malgré le processus intrinsèquement actif dans le LF de la commutation de classe, la tumeur subit une forte pression sélective pour la rétention d'un BCR de la classe des immunoglobulines M. Considérant le temps moyen du développement du LF (des années, voire des décennies), et la dérive clonale par hypermutation somatique (due au découplage de la différenciation et de la sélection généré par la survie via l'expression constitutive de BCL2), la possibilité de persistance d'une stimulation chronique par l'antigène de départ est peu probable, et a suggéré le concept de *switch* antigénique, dans lequel le BCR du LF évolue vers la reconnaissance d'un autoantigène ou d'un antigène commun du microenvironnement. La découverte de l'introduction par hypermutation somatique de sites de N-glycosylation dans > 80 % des régions variables de gènes d'IG des LF, a permis de conforter cette hypothèse [43]. Ces sites de N-glycosylation sont occupés par des glycanes inhabituels, permettant une interaction avec des récepteurs de lectine de type DC-SIGN (pour *dendritic cell-specific ICAM-grabbing non-integrin*) présents à la surface des cellules dendritiques et des macrophages, menant à une activation durable du BCR [44, 45]. Le maintien d'une faible signalisation BCR permet probablement la stimulation et la survie chronique en l'absence d'antigène spécifique. Ainsi, des altérations génétiques récurrentes seraient associées à une capacité accrue des cellules tumorales d'interagir avec le MET. Réciproquement, certaines mutations pourraient également moduler la niche tumorale. En particulier, les mutations « perte de fonction » de *TNFRSF14* (HVEM, pour *herpesvirus entry mediator*), présentes dans environ 50 % des patients atteints de LF, atténuent le signal inhibiteur des lymphocytes T via le récepteur BTLA (pour *B- and T-lymphocyte attenuator*). Cela induirait non seulement l'activation directe du LF, mais aussi l'activation extrinsèque du MET, y compris des cellules TFH et stromales [46].

L'identification des signaux pro- et antitumoraux délivrés par l'interaction tumeur/MET a ouvert la voie à l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques. Via la stimulation de cellules effectrices immunes par des immunomodulateurs pléiotropes (tels que le lénalidomide), des inhibiteurs des points de contrôle immunitaires (tels que les anti-PD-1 [pour *programmed cell death 1*]/PD-L1 [pour *PD ligand 1*], LAG-3 [pour *lymphocyte-activation gene 3*]), ou la modulation des effecteurs de l'immunité innée (tels que les anti-CD47/SIRP-A [pour *signal regulatory protein A*] permettant de moduler la phagocytose) [47].

Outre l'identification de cibles thérapeutiques, le déchiffrement du paysage génétique du LF permet de proposer des modèles de risque clinicogénétique, afin notamment de stratifier les patients à haut risque (cf. Jardin F, « Prédire le pronostic des lymphomes folliculaires », dans ce supplément).

Conclusion

La compréhension des mécanismes biologiques sous-jacents au développement des LF a fait de grands progrès au cours des dix dernières années. Elle n'a cependant pas permis, à ce jour, de relever les deux grands défis cliniques que pose cette maladie : identifier les 20 % de patients à haut risque et cibler le schéma de rechutes récurrentes et aggravantes chez ceux répondant au traitement au-delà de deux ans. Néanmoins, la complexité de l'histoire naturelle de ce lymphome

indolent, sournois dans son évolution à long terme sans symptôme clinique apparent, se dévoile peu à peu, avec trois composantes biologiques majeures qui dessinent les efforts de la recherche fondamentale et translationnelle à venir:

- mieux appréhender le rôle du microenvironnement (immun et mésenchymateux), et l'interdépendance créée entre celui-ci et les cellules pré-tumorales puis tumorales, au cours des différentes étapes de développement et de progression ; puis identifier les talons d'Achille que cette addiction oncogénique représente en termes de cibles thérapeutiques, tant au niveau de l'immunomodulation que des nouvelles approches de thérapie cellulaire,
- identifier la – ou probablement les – CPC, clones précoces encore mal caractérisés, et qui constituent potentiellement la clé de la dynamique des rechutes, avec un fort potentiel de ciblage thérapeutique associé,
- comprendre les relations fonctionnelles du réseau d'aberrations génétiques récurrentes du LF, et en particulier du chaos épigénétique qui s'ensuit.

Dans les trois cas, les approches de biologie fonctionnelle sont l'élément central, et les développements technologiques actuels, notamment via les approches de séquençage haut-débit des cellules individuelles (*single-cell RNA-seq*) composant la tumeur et le MET devraient permettre d'identifier, de comprendre, de caractériser et de cibler les populations et sous-populations cellulaires (potentiellement infimes, diluées dans la masse tumorale) et les médiateurs (cellulaires ou solubles) impliqués dans la résistance aux traitements et à l'occurrence des rechutes.

Références

- [1] Dreyling M, Ghielmini M, Marcus R, Salles G, Vitolo U, Group EGW. Newly diagnosed and relapsed follicular lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2011 ; 22 (Suppl 6) : vi59-63.
- [2] Roulland S, Faroudi M, Mamessier E, Sungalee S, Salles G, Nadei B. Early steps of follicular lymphoma pathogenesis. *Adv Immunol* 2011 ; 111 : 1-46.
- [3] Huet S, Sujobert P, Salles G. From genetics to the clinic: a translational perspective on follicular lymphoma. *Nat Rev Cancer* 2018 ; 18 (4) : 224-39.
- [4] Marculescu R, Vanura K, Montpellier B, et al. Recombinase, chromosomal translocations and lymphoid neoplasia: targeting mistakes and repair failures. *DNA Repair (Amst)* 2006 ; 5 (9-10) : 1246-58.
- [5] Carlotti E, Wrench D, Matthews J, Iqbal S, Davies A, Norton A, et al. Transformation of follicular lymphoma to diffuse large B-cell lymphoma may occur by divergent evolution from a common progenitor cell or by direct evolution from the follicular lymphoma clone. *Blood* 2009 ; 113 (15) : 3553-7.
- [6] Bretherick KL, Bu R, Gascoyne RD, Connors JM, Spinelli JJ, Brooks-Wilson AR. Elevated circulating t (14;18) translocation levels prior to diagnosis of follicular lymphoma. *Blood* 2010 ; 116 (26) : 6146-7.
- [7] Weigert O, Kopp N, Lane AA, et al. Molecular ontogeny of donor-derived follicular lymphomas occurring after hematopoietic cell transplantation. *Cancer Discov* 2012 ; 2 (1) : 47-55.
- [8] Roulland S, Kelly RS, Morgado E, et al. t (14;18) translocation: a predictive blood biomarker for follicular lymphoma. *J Clin Oncol* 2014 ; 32 (13) : 1347-55.
- [9] Hirt C, Camargo MC, Yu KJ, Hewitt SM, Dolken G, Rabkin CS. Risk of follicular lymphoma associated with BCL2 translocations in peripheral blood. *Leuk Lymphoma* 2015 ; 56 (9) : 2625-9.
- [10] Sungalee S, Mamessier E, Morgado E, et al. Germinal center reentries of BCL2-overexpressing B cells drive follicular lymphoma progression. *J Clin Invest* 2014 ; 124 (12) : 5337-51.
- [11] Tellier J, Menard C, Roulland S, et al. Human t (14;18) positive germinal center B cells: a new step in follicular lymphoma pathogenesis? *Blood* 2014 ; 123 (22) : 3462-5.
- [12] Kluin PM. Origin and migration of follicular lymphoma cells. *Haematologica* 2013 ; 98 (9) : 1331-3.
- [13] Okosun J, Bodor C, Wang J, et al. Integrated genomic analysis identifies recurrent mutations and evolution patterns driving the initiation and progression of follicular lymphoma. *Nat Genet* 2014 ; 46 (2) : 176-81.
- [14] Pasqualucci L, Khiabanian H, Fangazio M, et al. Genetics of follicular lymphoma transformation. *Cell Rep* 2014 ; 6 (1) : 130-40.
- [15] Kridel R, Sehn LH, Gascoyne RD. Pathogenesis of follicular lymphoma. *J Clin Invest* 2012 ; 122 (10) : 3424-31.
- [16] Green MR, Kihira S, Liu CL, et al. Mutations in early follicular lymphoma progenitors are associated with suppressed antigen presentation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015 ; 112 (10) : E1116-25.
- [17] Green MR, Gentles AJ, Nair RV, et al. Hierarchy in somatic mutations arising during genomic evolution and progression of follicular lymphoma. *Blood* 2013 ; 121 (9) : 1604-11.
- [18] Okosun J, Wolfson RL, Wang J, et al. Recurrent mTORC1-activating RAGC mutations in follicular lymphoma. *Nat Genet* 2016 ; 48 (2) : 183-8.
- [19] Morin RD, Mendez-Lago M, Mungall AJ, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma. *Nature* 2011 ; 476 (7360) : 298-303.
- [20] Pasqualucci L, Dominguez-Sola D, Chiarenza A, et al. Inactivating mutations of acetyltransferase genes in B-cell lymphoma. *Nature* 2011 ; 471 (7337) : 189-95.
- [21] Jiang Y, Dominguez PM, Melnick AM. The many layers of epigenetic dysfunction in B-cell lymphomas. *Curr Opin Hematol* 2016 ; 23 (4) : 377-84.
- [22] Koues OI, Kowalewski RA, Chang LW, et al. Enhancer sequence variants and transcription-factor deregulation synergize to construct pathogenic regulatory circuits

- in B-cell lymphoma. *Immunity* 2015 ; 42 (1) : 186-98.
- [23] Milpied P, Cervera-Marzal I, Mollicella ML, et al. Human germinal center transcriptional programs are de-synchronized in B cell lymphoma. *Nat Immunol* 2018 ; 19 (9) : 1013-24.
- [24] Beguelin W, Popovic R, Teater M, et al. EZH2 is required for germinal center formation and somatic EZH2 mutations promote lymphoid transformation. *Cancer Cell* 2013 ; 23 (5) : 677-92.
- [25] Cardenas MG, Yu W, Beguelin W, et al. Rationally designed BCL6 inhibitors target activated B cell diffuse large B cell lymphoma. *J Clin Invest* 2016 ; 126 (9) : 3351-62.
- [26] Jiang Y, Ortega-Molina A, Geng H, et al. CREBBP inactivation promotes the development of HDAC3-dependent lymphomas. *Cancer Discov* 2017 ; 7 (1) : 38-53.
- [27] Ortega-Molina A, Boss IW, Canela A, et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development. *Nat Med* 2015 ; 21 (10) : 1199-208.
- [28] Ying CY, Dominguez-Sola D, Fabi M, et al. MEF2B mutations lead to deregulated expression of the oncogene BCL6 in diffuse large B cell lymphoma. *Nat Immunol* 2013 ; 14 (10) : 1084-92.
- [29] Zhang J, Dominguez-Sola D, Hussein S, et al. Disruption of KMT2D perturbs germinal center B cell development and promotes lymphomagenesis. *Nat Med* 2015 ; 21 (10) : 1190-8.
- [30] McCabe MT, Ott HM, Ganji G, et al. EZH2 inhibition as a therapeutic strategy for lymphoma with EZH2-activating mutations. *Nature* 2012 ; 492 (7427) : 108-12.
- [31] Kridel R, Mottok A, Farinha P, et al. Cell of origin of transformed follicular lymphoma. *Blood* 2015 ; 126 (18) : 2118-27.
- [32] Verdiere L, Mourcin F, Tarte K. Micro-environment signaling driving lymphomagenesis. *Curr Opin Hematol* 2018 ; 25 (4) : 335-45.
- [33] Challa-Malladi M, Lieu YK, Califano O, et al. Combined genetic inactivation of beta2-Microglobulin and CD58 reveals frequent escape from immune recognition in diffuse large B cell lymphoma. *Cancer Cell* 2011 ; 20 (6) : 728-40.
- [34] Rimsza LM, Roberts RA, Miller TP, et al. Loss of MHC class II gene and protein expression in diffuse large B-cell lymphoma is related to decreased tumor immunosurveillance and poor patient survival regardless of other prognostic factors: a follow-up study from the Leukemia and Lymphoma Molecular Profiling Project. *Blood* 2004 ; 103 (11) : 4251-8.
- [35] Yang ZZ, Kim HJ, Villasboas JC, et al. Expression of LAG-3 defines exhaustion of intratumoral PD-1 (+) T cells and correlates with poor outcome in follicular lymphoma. *Oncotarget* 2017 ; 8 (37) : 61425-39.
- [36] Josefsson SE, Huse K, Kolstad A, et al. T cells expressing checkpoint receptor TIGIT are enriched in follicular lymphoma tumors and characterized by reversible suppression of T-cell receptor signaling. *Clin Cancer Res* 2018 ; 24 (4) : 870-81.
- [37] Ame-Thomas P, Le Priol J, Yssel H, et al. Characterization of intratumoral follicular helper T cells in follicular lymphoma: role in the survival of malignant B cells. *Leukemia* 2012 ; 26 (5) : 1053-63.
- [38] Le KS, Thibault ML, Just-Landi S, et al. Follicular B lymphomas generate regulatory T cells via the ICOS/ICOSL pathway and are susceptible to treatment by anti-ICOS/ICOSL therapy. *Cancer Res* 2016 ; 76 (16) : 4648-60.
- [39] Laurent C, Muller S, Do C, et al. Distribution, function and prognostic value of cytotoxic T lymphocytes in follicular lymphoma: a 3-D tissue-imaging study. *Blood* 2011 ; 118 (20) : 5371-9.
- [40] Yang ZZ, Novak AJ, Ziesmer SC, Witzig TE, Ansell SM. Attenuation of CD8 (+) T-cell function by CD4 (+)CD25 (+) regulatory T cells in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2006 ; 66 (20) : 10145-52.
- [41] Rawal S, Chu F, Zhang M, et al. Cross talk between follicular Th cells and tumor cells in human follicular lymphoma promotes immune evasion in the tumor micro-environment. *J Immunol* 2013 ; 190 (12) : 6681-93.
- [42] Yang ZZ, Novak AJ, Ziesmer SC, Witzig TE, Ansell SM. Malignant B cells skew the balance of regulatory T cells and TH17 cells in B-cell non-Hodgkin's lymphoma. *Cancer Res* 2009 ; 69 (13) : 5522-30.
- [43] Coelho V, Krysov S, Ghaemmaghami AM, et al. Glycosylation of surface Ig creates a functional bridge between human follicular lymphoma and microenvironmental lectins. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010 ; 107 (43) : 18587-92.
- [44] Linley A, Krysov S, Ponzone M, Johnson PW, Packham G, Stevenson FK. Lectin binding to surface Ig variable regions provides a universal persistent activating signal for follicular lymphoma cells. *Blood* 2015 ; 126 (16) : 1902-10.
- [45] Amin R, Mourcin F, Uhel F, et al. DC-SIGN-expressing macrophages trigger activation of mannose-6-phosphate receptor in follicular lymphoma. *Blood* 2015 ; 126 (16) : 1911-20.
- [46] Boice M, Salloom D, Mourcin F, et al. Loss of the HVEM tumor suppressor in lymphoma and restoration by modified CAR-T cells. *Cell* 2016 ; 167 (2) : 405-18 e13.
- [47] Ring NG, Herndler-Brandstetter D, Weiskopf K, et al. Anti-SIRPalpha antibody immunotherapy enhances neutrophil and macrophage antitumor activity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017 ; 114 (49) : E10578-85.

¹ EZH2 pour enhancer of zeste homolog 2, KMT2D pour histone-lysine N-methyltransferase 2D, CREBBP pour cAMP response element-binding protein binding protein, EP300 pour histone acetyltransferase p300.
² PAX5 pour paired box 5, MYC, BCL7A pour BAF chromatin remodeling complex subunit, CIITA pour class II major histocompatibility complex transactivator et SOCS1 pour suppressor of cytokine signaling 1
³ GNA13 pour guanine nucleotide-binding protein subunit alpha-13