

Caractérisation de l'hétérogénéité tumorale et du compartiment lymphocytaire T bénin dans les lymphomes T cutanés, de type Mycosis Fongoïde et syndrome de Sézary

Marie Roelens

► To cite this version:

Marie Roelens. Caractérisation de l'hétérogénéité tumorale et du compartiment lymphocytaire T bénin dans les lymphomes T cutanés, de type Mycosis Fongoïde et syndrome de Sézary. Hématologie. Université Paris Cité, 2020. Français. NNT: 2020UNIP7140. tel-03272422

HAL Id: tel-03272422 https://theses.hal.science/tel-03272422

Submitted on 28 Jun 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers. L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.







Université de Paris

Ecole doctorale 561 « Hématologie, Oncogenèse, et Biothérapies » Laboratoire INSERM UMRS 1160 EMiLy « Ecotaxie, Microenvironnement et développement lymphocytaire »

Caractérisation de l'hétérogénéité tumorale et du compartiment lymphocytaire T bénin dans les lymphomes T cutanés, de type Mycosis Fongoïde et syndrome de Sézary

Par Marie ROELENS

Thèse de doctorat d'Hématologie

Dirigée par Hélène MOINS-TEISSERENC

Présentée et soutenue publiquement le 9 octobre 2020

Devant un jury composé de :

 (\mathbf{S})

Pr Guislaine Carcelain, PU-PH Dr Victor Appay, DR Pr Philippe Musette, PU-PH Pr Martine Bagot, PU-PH Pr Florent Grange, PU-PH Dr Hélène Moins-Teisserenc, MCU-PH

Présidente Rapporteur Rapporteur Examinatrice Examinateur Directrice de thèse

Except where otherwise noted, this is work licensed under https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/3.0/fr/

Résumé

Titre :

Caractérisation de l'hétérogénéité tumorale et du compartiment lymphocytaire T bénin dans les lymphomes T cutanés, de type Mycosis Fongoïde et syndrome de Sézary

Résumé :

Les lymphomes T cutanés primitifs (CTCL) sont un groupe de néoplasies cutanées dérivant de cellules T à tropisme cutané. Le mycosis fongoïde (MF) est le CTCL le plus fréquent, d'évolution généralement indolente, alors que le syndrome de Sézary est une forme proche mais rare, leucémisée et agressive, qui se caractérise par une érythrodermie prurigineuse généralisée, une lymphadénopathie, et la présence de nombreux lymphocytes atypiques circulants au noyau cérébriforme, dénommés cellules de Sézary.

Le diagnostic des formes leucémisées selon les critères internationaux reste encore complexe, du fait de l'absence de marqueur positif universel de cellule de Sézary. Néanmoins, le récepteur KIR3DL2/CD158k a été identifié en 2001 à leur surface, et validé comme marqueur pour le diagnostic et le suivi des patients Sézary à l'hôpital Saint-Louis de Paris depuis 2014. Le premier objectif de ce travail était de comparer et faire connaître les performances du KIR3DL2 par rapport aux critères diagnostiques actuellement admis, depuis son utilisation sur notre site.

Par ailleurs, la pathogenèse de ces lymphomes n'est pas entièrement élucidée, en particulier l'origine cellulaire du clone malin, ainsi que les relations entre les compartiments cutanés et sanguins au cours de la maladie. Nous avons pu caractériser les cellules de Sézary grâce au KIR3DL2, et mettre en évidence une hétérogénéité phénotypique et moléculaire inattendue des clones naïfs/mémoires circulants et cutanés dans le syndrome de Sézary. Ces phénotypes peuvent évoluer *in vitro* après stimulation, et *in vivo* au cours du temps et des lignes de traitement chez les patients, suggérant un potentiel plastique de ces cellules tumorales.

Enfin sur le plan thérapeutique, les traitements actuels ne sont pas curatifs, mais de nouvelles molécules sont en cours de développement. Le pronostic du syndrome de Sézary est grevé d'une forte mortalité infectieuse, les patients présentant des signes d'immunodépression. Les enjeux de demain seront donc de sélectionner les patients pour la thérapie la plus adaptée, tout en préservant leur immunité anti-tumorale et anti-infectieuse. Dans la dernière partie de ce travail, nous avons exploité nos résultats pour apprécier rétrospectivement l'impact de l'hétérogénéité tumorale, et de l'évolution

des profils immunitaires T bénins, sur la réponse et la survenue de toxicités au cours de l'immunothérapie anti-CCR4 par mogamulizumab, des patients MF et Sézary.

Nos résultats sont en faveur d'une utilisation plus systématique du KIR3DL2 pour l'identification des cellules malignes de Sézary, en pratique de soins comme en recherche. Une hétérogénéité inter- et intra-individuelle de la population clonale a été mise en évidence concernant les phénotypes naïfs/mémoires, l'expression de récepteurs de chimiokines et cytokines ainsi que des molécules « immune checkpoints ». Elle n'est pas figée dans le temps, mais peut évoluer sous traitement et être responsable de phénomènes de résistance thérapeutique, ce qui sous-tend l'importance d'une caractérisation tumorale fine avant mise sous immunothérapie ou thérapie ciblée. D'autre part, la contrepartie T bénigne est altérée chez ces patients immunodéprimés, et est remaniée sous immunothérapie anti-CCR4, ce qui suggère l'intérêt de nouvelles combinaisons thérapeutiques avec des agents immunomodulateurs et immunothérapies spécifiques.

Mots clefs :

Sézary, lymphomes T cutanés, Mycosis Fongoïde, KIR3DL2, hétérogénéité tumorale, mogamulizumab

Abstract

Title:

Characterization of the tumoral heterogeneity and the benign T-cell compartment in Mycosis Fungoides and Sézary syndrome

Abstract:

Primary Cutaneous T-cell Lymphomas (CTCL) are rare non-Hodgkin lymphomas of skin-tropic T-cells. Mycosis fungoides (MF) is the most prevalent CTCL, with usually an indolent clinical course, whereas Sézary syndrome (SS) is a rare disease corresponding to an aggressive and leukemic form of CTCL, characterized by erythroderma, lymphadenopathy and high numbers of atypical lymphocytes with cerebriform-like nuclear contours (Sézary cells), in peripheral blood and skin.

In most laboratories, the diagnosis of leukemic forms is still hampered by the absence of a specific surface marker of Sézary cell. The KIR3DL2/CD158k receptor was identified in 2001 on malignant cells, and since then, validated as a marker for the diagnosis and follow-up of Sézary patients at Hospital Saint-Louis (Paris). The first aim of this work was to assess the performance of the KIR3DL2 biomarker, used in our hospital laboratory, as compared to the currently accepted criteria for CTCL diagnosis.

Furthermore, despite tremendous efforts, the exact chain of events in MF/SS pathogenesis is not yet fully elucidated. The cell origin of the malignant clone remains unknown and very few data are available concerning factors controlling skin homing and relationships between blood and skin, during the course of the disease. Using the KIR3DL2 marker, we reported an unexpected phenotypic and molecular heterogeneity of naive/memory circulating and skin-derived clones in Sézary syndrome. These phenotypes may evolve *in vitro* after stimulation, and *in vivo* over time and during the sequential lines of therapy, suggesting a plasticity potential for these tumor cells.

The current treatments are not curative, but many new molecules are under development. Moreover, the prognosis of Sézary syndrome is poor, mainly due to a high mortality by infections, patients displaying many signs of immunodepression. Novel issues will be to select patients for the more suitable therapy, while preserving their anti-tumoral and anti-infectious immunities. In the last part of this work, we focused on a cohort of SS and MF patients treated with the anti-CCR4 therapy named mogamulizumab. We addressed critical questions about the impact of the tumor heterogeneity, and the evolution of the benign T immune profiles, according to clinical response and occurrence of toxicities during this immunotherapy.

Our results prompt the scientific community to introduce the KIR2DL2 marker among the criteria for CTCL diagnosis, as well as to use it to identify malignant Sézary cells in the research field. A great heterogeneity of the clonal population, both across patients and across blood and skin in the same patient, was observed concerning the naive/memory phenotypes, the expression of chemokines and cytokines receptors, and also regarding the immune checkpoint molecules. This heterogeneity can evolve over time and under treatment, and may be responsible for drug resistance, underlying the importance of a detailed tumor characterization, before the initiation of an immunotherapy or a targeted therapy. Moreover, the benign T-cell counterpart, altered in these immunocompromised patients, is reshaped during anti-CCR4 immunotherapy, suggesting that some new combinations of therapeutics, including immunomodulatory agents and specific immunotherapies, would be of particular interest for the future.

Keywords:

Sézary, cutaneous T-cell lymphoma, Mycosis Fungoides, KIR3DL2, tumor heterogeneity, mogamulizumab

Remerciements

Je tiens à remercier tous ceux qui m'ont aidée et supportée à réaliser ce travail de longue haleine, sans qui je n'aurais pu concrétiser mon souhait de participer à un projet de recherche en Immunologie, et de réaliser une thèse de science. Cette expérience m'aura beaucoup apporté sur le plan personnel, et j'espère qu'elle contribuera à une meilleure compréhension et prise en charge des lymphomes T cutanés.

Aux membres du jury,

À la Professeure Guislaine Carcelain, vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse et de juger mon travail. Je tiens aussi à vous remercier chaleureusement pour votre soutien tout au long de cette thèse, et pour l'engagement dont vous avez fait part pour m'aider à tracer mon avenir professionnel à l'issue de cette étape universitaire.

Au Docteur Victor Appay, vous avez accepté d'être rapporteur de ce travail de thèse, et m'avez apporté de précieux conseils au cours de ces trois années.

Au Professeur Philippe Musette, je vous remercie pour votre intérêt et votre enthousiasme en tant que rapporteur de cette thèse.

À la Professeure Martine Bagot, vous avez accepté d'être membre du jury aujourd'hui, mais aussi lors de ma thèse d'exercice en Pharmacie. Vous avez surtout permis la réalisation de ce projet, en collaboration étroite avec le service de Dermatologie de l'hôpital Saint-Louis, et très régulièrement encouragé la diffusion de nos résultats. Je vous en suis infiniment reconnaissante.

Au Professeur Florent Grange, pour avoir accepté d'être examinateur de cette thèse.

Au Docteur Hélène Moins-Teisserenc, ma directrice de thèse. Hélène, je te remercie infiniment pour ta confiance renouvelée depuis plus de cinq ans, ta disponibilité exceptionnelle malgré tes multiples activités, ton intérêt constant et si bouillonnant. Le moindre résultat était toujours source d'enthousiasme et de réflexion, preuve de ta passion et de ton implication pour la recherche. Tu as grandement contribué au développement pas à pas de ma propre démarche scientifique. J'ai pu en effet à la fois compter sur toi pour m'orienter et me pousser au maximum dans l'analyse de mes résultats, mais aussi prendre une part d'indépendance dans ce que je souhaitais réaliser. Je te remercie également pour les liens amicaux que nous avons pu tisser au cours de cette expérience, parfois même aux quatre coins du globe. J'espère vivement pouvoir te croiser à nouveau lors de ma future carrière.

Au Professeur Antoine Toubert, directeur de l'unité INSERM UMRS 1160. Je ne vous remercierai jamais assez pour avoir répondu positivement à ma toute première sollicitation pour intégrer votre laboratoire, ainsi qu'à l'honneur que vous m'avez accordé en me décernant un *Trainee Award* pour votre laboratoire, à l'occasion du FOCIS de San Francisco. Merci chaleureusement pour votre accueil, votre gentillesse et votre confiance.

À toute l'équipe du laboratoire INSERM, pour son accueil, son amitié et ses conseils, je vous suis reconnaissants à tous.

Joana Félix, Laurence Homyrda, pour m'avoir enseigné les techniques à mes débuts.

Emmanuel Clave, Corinne Douay pour m'avoir assisté dans mes techniques de biologie moléculaire et répondu à mes nombreuses questions. Merci de votre aide, de vos conseils non avares, ainsi que des moments de convivialité partagés ensemble ces cinq dernières années. Corinne, je te souhaite une belle retraite bien méritée.

Nicolas Dulphy, Lionel Le Bourhis, Karl Balabanian, Marion Espéli, Anne Caignard, Adrienne Anginot pour leur écoute et conseils.

Alain, Isabelle et Guylaine pour leur aide technique.

À tous les étudiants que j'ai pu croiser, en particulier :

Maxime, pour ta complicité, ta bonne humeur, et tous nos échanges sur les techniques que nous avions en commun.

Itaua, pour avoir partagé mon bureau avec gentillesse, discrétion, et ton accent brésilien.

Marjolaine, Valéria, Louise, Alexandra, Debora, Vincent, Rim, Lin-Pierre, Hugo, Julie, Nassim, pour leur bonne humeur, et leur assistance à la moindre sollicitation.

Aux étudiants en licence ou master, que j'ai pu guider avec plaisir dans leur travail, en particulier **Claire, Maria, Quentin, Ruben**.

Aux secrétaires, pour leur assistance et sympathie, Marie-Christine, Farida, Salima, Patricia, Myriam, Muriel, ainsi qu'à Zohra.

Aux cliniciens du service de Dermatologie, en particulier au **Docteur Adèle De Masson** et au **Docteur Caroline Ram-Wolff**, grâce à qui le recrutement des patients pour ce projet a pu être réalisé avec soins. Un grand merci pour votre dévouement et l'attention que vous avez porté à mon travail. Adèle, je t'adresse en particulier toute ma reconnaissance pour avoir suivi ce projet et participé pas à pas à nos réflexions avec tant d'implication. J'espère que mon travail n'est que le début d'une collaboration exceptionnelle entre nos deux équipes. Au Professeur Maxime Battistella, Professeur Armand Bensussan, Docteur Samia Mourah, Docteur Anne Marie-Cardine pour leur contribution.

Au Docteur Guitta Maki et aux techniciennes des laboratoires d'Immunologie et d'Hématologie, pour leur gentillesse.

À l'équipe de la plateforme technologique, Niclas Setterblad, Sophie Duchez, Christelle Doliger, Antonio Alberdi, pour leurs conseils avisés, écoute, disponibilité, et en particulier pour leur souci quotidien de transmission de leur expertise.

A Marc Delord et Lucie Biard pour leur assistance indispensable en bio-informatique et statistiques.

A l'Université de Paris et à la fondation ARC pour la recherche sur le cancer, qui m'ont permis d'engager ce projet de recherche.

À mes amis d'études et de loisirs, Jean-Meidi, Rathana, les deux Anne-Sophie, Jean et Nathalie, Patricia, Clément, Maud, vous qui m'avez apporté ce rayon de soleil et de danse pendant ces dernières années.

À Léonard, ma moitié tendre, qui m'a encouragé avec tant de cœur et de patience, quelles que soient mes humeurs du moment. Une pensée particulière à ces deux mois de confinement passés dans notre petit studio parisien sans anicroche, moi écrivant cette thèse sur un bureau ensoleillé, toi en télétravail sur ton bureau-canapé.

À mes parents, pour m'avoir encouragée à réaliser mes rêves jusqu'au bout. Mille mercis pour avoir rendu mon enfance heureuse, puis avoir toujours cru en moi. Je ne vous en serai jamais assez reconnaissante.

En mémoire de ma grand-mère Héloïse, qui a contribué à devenir ce que je suis. Je souhaiterais avoir hérité de ta patience, ta rigueur et ton sang-froid inébranlable face aux situations difficiles. À toi qui étais tellement fière de me présenter comme ta « petite-fille qui fait de la recherche ». Merci de votre amour.

Liste des abréviations

AcM	Anticorps monoclonal								
ADCC	Cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps								
AICD	Activation-induced cell death (mort cellulaire induite par activation)								
ALCL	Lymphome anaplasique à grandes cellules								
ATLL	Lymphome / Leucémie à cellules T de l'adulte								
CDC	Cytotoxicité dépendante du complément								
Cdk	Kinase cycline-dépendante								
CMF	Cytométrie en flux								
СМН	Complexe majeur d'histocompatibilité								
CMV	Cytomégalovirus								
CNV	Copy number variation (variabilité du nombre de copies d'un gène)								
СРА	Cellule présentatrice d'antigène								
CS	Cellule de Sézary								
CTCL	Lymphome T cutané								
CTL	Cellule T CD8+ cytotoxique								
DC	Cellule dendritique								
DS	Donneur sain								
EID	Érythrodermie inflammatoire bénigne								
EORTC	European Organization for Research and Treatment of Cancer								
HEV	High endothelial venule (veinule à endothélium épais)								
IFN	Interferon								
lg	Immunoglobuline								
ISCL	International Society for Cutaneous Lymphoma								
KIR	Killer immunoglobulin-like receptor								
LCT	Large cell transformation (transformation en lymphome à grandes cellules)								
LT	Lymphocyte T								
MF	Mycosis fongoïde								
MFE	Mycosis fongoïde érythrodermique								
miR	Micro-ARN								
ODN	Oligodeoxynucléotides (ADN bactérien)								
OLS	Organe lymphoïde secondaire								
PBMCs	Peripheral blood mononuclear cells (cellules mononucléées du sang périphérique)								

рСМН	Complexe peptide antigénique - CMH
PROCLIPI	PROspective International Cutaneous Lymphoma Prognostic Index
PTCL	Lymphome primitif T cutané périphérique
SNV	Single nucleotide variant (variant nucléotidique)
TAM	Macrophage associé aux tumeurs
TCM	T central mémoire
Tconv	T conventionnelle (par opposition aux Treg)
TCR	Récepteur T à l'antigène
TEM	T effecteur mémoire
TEMRA	T effecteur mémoire terminal
TIL	Lymphocyte infiltrant la tumeur
TME	Micro-environnement tumoral
TMM	T migratoire mémoire
TN	T naïf
TNF	Tumor Necrosis Factor
Treg	T régulateur
Treg(eff)	T régulateur effecteur
TRM	T résident mémoire
TSCM	« T Stem Cell Memory », souche T mémoire
SS	Syndrome de Sézary
	1

Sommaire

Résumé	3
Abstract	5
Remerciements	7
Liste des abréviations	. 11
Sommaire	. 13
Liste des figures	. 16
Liste des tableaux	. 17

Introduction	19
--------------	----

1. Les lymphomes T cutanés (CTCL) et le Syndrome de Sézary (SS)	19
1.1. Classification des CTCL	19
1.1.1. Historique	19
1.1.2. Clinique et épidémiologie des CTCL	20
1.2. Critères diagnostiques actuels et stratification pronostique des CTCL de type MF/SS	22
1.2.1. Stades cliniques	22
1.2.2. Examen histologique	25
1.2.3. Etude de la clonalité	26
1.2.4. Cytologie sanguine	27
1.2.5. Cytométrie en flux	27

2. Biologie de la cellule de Sézary (CS)	
2.1. Origine de la cellule tumorale, un clone lymphocytaire T	30
2.1.1. Différenciation des lymphocytes T conventionnels en physiologie humaine	30
2.1.2. Constats et hypothèses sur l'origine du clone tumoral	43
2.2. Caractéristiques tumorales et immunologiques de la CS	48
2.2.1. A la recherche de biomarqueurs de surface positifs de CS	48
2.2.2. Altérations génétiques, épigénétiques et transcriptomiques de la CS, sig maladie	natures de la 55

2.2.3.	Capacités	prolifératives	et c	le	survie,	rôle	de	l'environnement	cytokinique	dans	le
dévelo	oppement o	des CS								(53

3. Compartiment immunitaire bénin des patients MF/SS71
3.1. Généralités sur l'immunité en contexte tumoral71
3.2. Présence d'une réponse immunitaire T anti-tumorale et développement d'un micro- environnement Th2-dominant au cours des CTCL
3.3. Développement d'un environnement inflammatoire par interactions des cellules tumorales avec l'immunité innée et le stroma74
3.4. Action immunosuppressive des cellules malignes sur les cellules de l'immunité anti-tumorale 77
3.5. Hypothèses sur le rôle des agents infectieux dans la progression de la maladie

4. Stratégies thérapeutiques des CTCL de type MF/SS : une place pour les immunothérap	ies 82
4.1. Traitements topiques cutanés	82
4.2. Traitements systémiques	
4.2.1. Traitements systémiques conventionnels de premières et deuxièmes lignes	
4.2.2. Nouvelles options thérapeutiques, et essor des immunothérapies	
4.2.3. Molécules thérapeutiques en développement	

Objectifs9

Résultats102

Partie A – Apport du KIR3DL2 dans la classification sanguine des CTCL	97
Article I	
Article II	

 Partie B – De l'hétérogénéité tumorale du syndrome de Sézary.
 Article III
 Etude annexe à l'article III

Partie C – Caractérisation immunologique des compartiments T malins et bénins dans les CTCL de				
type MF/SS : Application à l'immunothérapie par anti-CCR4	143			
Article IV	144			
Article V				

Discussion	
Conclusion et Perspectives	

Bibliographie	192
Annexe (figures sous droits de reproduction)	242

Liste des figures

Figure 1 – Aspects cliniques dermatologiques du MF/SS Annexe
Figure 2 – Histologie d'une lésion cutanée de SS Annexe
Figure 3 – Frottis sanguins montrant deux cellules de Sézary Annexe
Figure 4 – Etapes de maturation des cellules T dans le thymus
Figure 5 – Principales voies de signalisation du TCR
Figure 6 – Hétérogénéité de différenciation et fonctions des lymphocytes T CD4+ helpers
conventionnels et des Treg
Figure 7 – Représentation schématique des modèles de maturation périphérique lymphocytaire T
Annexe
Figure 8 – Variations du nombre et des proportions des sous-populations lymphocytaires T CD4+ et T
CD8+ au cours des trois tranches d'âge immunologique de la vie
Figure 9 – Structure de la peau et types de cellules immunitaires présents Annexe
Figure 10 – Modèles de réponses immunitaires primaire et secondaire suite à l'effraction de la barrière
cutanée par un pathogène Annexe
Figure 11 – Mécanismes du trafic lymphocytaire en trois étapes Annexe
Figure 12 – Modèle selon lequel les TCM à tropisme cutané, TMM et TRM malignes donneraient
naissance à des lésions inflammatoires distinctes Annexe
Figure 13 – Structure homodimérique de KIR3DL2/CD158k, et modèle connu de transduction du signal
par les lymphocytes NK Annexe
Figure 14 – Exemples de marquages avec l'anticorps anti-KIR3DL2 en cytométrie en flux sur PBMCs, et
en histologie sur coupe de tissu cutané congelé Annexe
Figure 15 – Altérations génétiques dans les voies de signalisation ou processus mutés de façon
récurrente dans les CTCL Annexe
Figure 16 – Signalisation de mort cellulaire par AICD dans la cellule T normale et les CTCL Annexe
Figure 17 – Modifications touchant la signalisation Jak/Stat dans les CTCL Annexe
Figure 18 – Les trois « E » du « cancer immunoediting » : élimination, équilibre et échappement
Annexe
Figure 19 – Hypothèses actuelles sur la participation de l'environnement et du système immunitaire,
au contrôle anti-tumoral / à l'échappement tumoral81
Figure 20 – Illustration de la procédure de photophérèse extra-corporelle
Figure 21 – Principaux mécanismes d'action des AcM utilisés en thérapeutique Annexe

Liste des tableaux

Tableau 1 – Classification OMS-EORTC des CTCL, fréquence relative et survie 20
Tableau 2 – Stadification clinique et pronostique des lymphomes T cutanés de type MF/SS 24
Tableau 3 – Définition et classification des CTCL selon le critère B d'atteinte sanguine, critères
EORTC/ISCL
Tableau 4 – Récepteurs de chimiokines, sélectines et leurs ligands, impliqués dans les CTCL
Tableau 5 – Panels de transcrits proposés dans le sang et la peau pour le diagnostic / pronostic des
CTCL
Tableau 6 – Principaux récepteurs lymphocytaires T de co-stimulation et co-inhibition et leurs ligands

Introduction

1. Les lymphomes T cutanés (CTCL) et le Syndrome de Sézary (SS)

1.1. Classification des CTCL

Les lymphomes T cutanés représentent un groupe hétérogène de néoplasies causées par l'accumulation de lymphocytes T à tropisme cutané, associées à des caractéristiques cliniques, histologiques, biologiques et pronostiques variées. Les deux principaux CTCL, qui seront le sujet de cette thèse, sont le mycosis fongoïde (MF) et le syndrome de Sézary (SS).

1.1.1. Historique

La première description de MF remonte à 1806, par le français Jean-Louis Alibert, fondateur de l'Ecole de Dermatologie de l'hôpital Saint-Louis, médecin des rois Louis XVIII et Charles X. Le terme « fongoïde » se rapporte à l'aspect des lésions, spongieuses comparables à des champignons. En 1870, Pierre-Antoine-Ernest Bazin rapporta la progression naturelle de la maladie, de la macule à la plaque érythémateuse, puis à la tumeur. La forme érythémateuse du MF fut décrite en 1892 par Besnier and Halopeau (Willemze et Meijer 2006). Ces caractérisations cliniques des CTCL les plus fréquents précédèrent la première description d'érythrodermie généralisée prurigineuse, et l'observation de « cellules monstrueuses » dans la peau et le sang, typiques du SS, par les dermatologues Albert Sézary et Yves Bouvrain en 1938 (Halioua et Revuz 2011). Ils exerçaient également à l'hôpital Saint-Louis.

L'acronyme « CTCL » fut introduit en 1975 pour regrouper ces maladies dermatologiques, ayant pour point commun la présence de cellules néoplasiques de phénotype lymphocytaire T, au noyau d'allure cérébriforme en cytologie. Presque 200 ans après la première observation de MF, l'EORTC (*European Organization for Research and Treatment of Cancer*) et l'OMS (*Organisation Mondiale de la Santé*) publièrent la première classification OMS-EORTC des CTCL (Willemze *et al.* 1997).

1.1.2. Clinique et épidémiologie des CTCL

Les CTCL sont des lymphomes non-Hodgkiniens T, touchant la peau de façon primitive, avec une incidence annuelle de 1/100 000. Leur classification est détaillée dans le Tableau 1. Ils sont à distinguer des lymphomes systémiques, pouvant impliquer la peau secondairement, qui sont de comportements cliniques et de pronostics très différents (Willemze *et al.* 1997, 2005).

 Tableau 1 - Classification OMS-EORTC des CTCL, fréquence relative et survie (Willemze et al., 2005), basée sur une cohorte de 1905 patients enregistrés entre 1986 et 2002 (Pays-Bas et Autriche)

⁽NA : non atteint ; ATLL non inclus dans cette cohorte)

Lymphomos T indolonts	Fráquence	Survie à 5		
Lymphomes 1 muolents	Frequence	ans		
Mycosis fongoïde (MF)	57%	88%		
Variants de MF :				
• MF folliculotrope,	5%	80%		
• Lymphome pagétoïde,	<1%	100%		
• MF granulomateux	<1%	100%		
Lymphoproliférations T cutanées primitives CD30+ (LPD) :				
• Lymphome anaplasique à grandes cellules CD30+ (ALCL)	10%	95%		
Papulose lymphomatoïde	16%	100%		
Lymphome sous-cutané à type de panniculite	1%	82%		
Lymphome T pléomorphe à petites et moyennes cellules	3%	75%		
Lymphomes T agressifs				
Syndrome de Sézary (SS)	4%	24%		
Lymphome T/NK de type nasal (NNKTL)	<1%	NA		
Lymphome primitif T cutané périphérique (PTCL), non				
spécifié (NOS) :	<1%	18%		
• Lymphome primitif cutané T CD8+	<1%	NA		
 Lymphome primitif cutané Τγδ 	3%	16%		
• Autres				
Lymphome / Leucémie à cellules T de l'adulte (ATLL)	/	/		

Le MF représente environ la moitié des CTCL. Il affecte classiquement l'adulte de plus de 50 ans (âge médian au diagnostic = 55-60 ans, sex ratio 1,6-2/1 en défaveur des hommes), mais peut se manifester chez le jeune. L'évolution clinique est généralement indolente, avec la progression sur plusieurs

années de la macule à la plaque plus infiltrée (Figure A), préférentiellement sur zones non exposées au soleil, puis parfois vers la tumeur (Figure B). A ce dernier stade, les ganglions et autres organes peuvent être impliqués. Il existe plusieurs variants de MF (bulleux, hyper- ou hypo-pigmentés, de comportements cliniques similaires au MF classique ; autres variants recensés dans le Tableau 1).

La maladie de Sézary est une forme rare, disséminée et agressive de CTCL. Cette maladie orpheline touche exclusivement l'adulte, en affectant plus souvent les hommes (Sex-ratio 2/1), au cours de la cinquième décennie de vie (données Orphanet). Le pronostic est beaucoup plus sombre que le MF, avec des survies médianes de 2 à 4 ans, la mortalité étant fréquemment liée à des infections opportunistes expliquées par une immunodépression sous-jacente (Blaizot *et al.* 2018). La présentation clinique regroupe typiquement la triade suivante : une érythrodermie exfoliante généralisée sur plus de 80% de la surface corporelle (Figure C), un prurit intense et des adénopathies périphériques disséminées. Elle peut s'associer à une alopécie, un ectropion (éversion du bord libre de la paupière), une kératodermie palmoplantaire, et une onychodystrophie (atteinte unguéale) (Figure D) (Jawed *et al.* 2014). De plus le SS est une forme leucémique de CTCL, caractérisée par la présence de lymphocytes atypiques clonaux appelés cellules de Sézary (CS), circulants dans le sang et également présents au niveau des lésions cutanées. Le MF érythrodermique (EMF) se distingue du SS par une quantité nulle ou limitée de CS circulantes.

Le consortium InterLymph réalisa une étude étiologique de 324 cas de MF/SS en Europe, Amérique du Nord et Australie, et dégagea certains facteurs de risque comme l'obésité ou un tabagisme chronique (Odds Ratio =1,6), un eczéma (OR=2,4), une histoire familiale de myélome multiple (OR=8,5), et une association avec certaines activités professionnelles comme l'agriculture (OR=2,4), la peinture (OR=3,7), la charpenterie-menuiserie (OR=4), alors que l'activité physique est un facteur protecteur (OR=0,5) (Aschebrook-Kilfoy *et al.* 2014). Des différences ethniques ont été constatées, la population afro-américaine étant significativement plus touchée, à des âges plus précoces, et avec une maladie souvent de moins bon pronostic que chez le Caucasien (Ghazawi *et al.* 2019). Des facteurs environnementaux pourraient intervenir, comme la proximité avec les régions industrielles et portuaires, qui expliqueraient des regroupements géographiques de cas pour ces maladies rares (Ghazawi *et al.* 2018, 2019). Des facteurs biologiques sont suspectés, comme certains allèles HLA de l'individu, ou l'exposition à certains agents microbiologiques, mais les études restent contradictoires à ce jour (Phan *et al.* 2016). Enfin, plusieurs médicaments ont été impliqués, comme l'hydrochlorothiazide ou les anti-TNF α , mais l'aggravation d'une maladie pré-existante non détectée ne peut être exclue (Jahan-Tigh *et al.* 2013 ; Martinez-Escala *et al.* 2018). Les lymphoproliférations T cutanées primitives CD30+ (LPDs) sont le deuxième groupe de CTCL les plus fréquents, incluant les lymphomes anaplasiques à grandes cellules (ALCL) et la papulose lymphomatoïde (LyP). La majorité des patients présente un ou plusieurs nodule(s), papule(s) ou tumeur(s), souvent ulcérés. Le pronostic est généralement favorable. Les cellules néoplasiques sont des lymphocytes T CD4+ activés, dont la majorité exprime CD30 (TNFRSF8 pour *Tumor Necrosis Factor Receptor Superfamily Member 8*) et des protéines cytotoxiques (granzyme B, perforine).

Le lymphome / leucémie à cellules T de l'adulte (ATLL) est étiologiquement associé au virus HTLV-1 (*Human T-cell Leukemia Virus 1*), endémique de certaines parties du globe (Japon, Caraïbes, Amérique du Sud, Afrique du Sud). Les cellules néoplasiques sont de phénotype CD3+CD4+CD25^{high}. Les formes aiguës, les plus fréquentes, se caractérisent par une leucémie (cellules lymphocytaires évocatrices avec un noyau en forme de trèfle, dites *flower cells*), une lymphadénopathie, organomégalie, une hypercalcémie et dans 50% des cas, des lésions cutanées à type de nodules, papules, tumeurs ou plaques. Le pronostic est très sombre, avec une médiane de survie de l'ordre de 6 mois. La forme lymphomateuse est également associée à un pronostic très péjoratif. Les formes subaiguës (*smoldering*) et chroniques sont fréquemment associées à des lésions cutanées d'aspect proche du MF, et des taux de survie bien meilleurs.

Ce mémoire sera consacré par la suite uniquement aux CTCL de type MF/SS.

1.2. Critères diagnostiques actuels et stratification pronostique des CTCL de type MF/SS

1.2.1. Stades cliniques

Le Mycosis Fungoides Cooperative Group (MFCG) introduisit la première classification et stadification clinique TNM (*Tumor-Node-Metastasis*) en 1975, modifiée par l'EORTC et l'ISCL (*International Society for Cutaneous Lymphoma*) en 2007 puis 2011, comme présenté dans le Tableau 2. Une classification sanguine B (*Blood*) fut introduite en 2007 (Olsen *et al.* 2007a, 2011).

Les stades T reposent sur le type de lésion et le pourcentage de surface corporelle affectée. Les ganglions anormaux périphériques et centraux doivent être recherchés à la palpation et en tomodensitométrie. La biopsie ganglionnaire n'est pas systématique (classe Nx), et l'histologie ganglionnaire est complexe. L'implication viscérale est rare (stade IVB), et doit être argumentée autant que possible par un examen anatomo-pathologique, ou par imagerie le cas échéant, afin de vérifier

qu'elle ne provient pas d'un autre cancer ou d'un désordre infectieux. La rate et le foie sont les organes le plus souvent impliqués. Dans les études pronostiques, il n'est pas clair si l'implication de la moelle osseuse doit être considérée comme atteinte viscérale (M) ou sanguine (B) (Olsen *et al.* 2011). Les classes B reposent sur la présence ou pas d'un clone T dans le sang, et la quantification des CS circulantes, encore problématique, qui sera détaillée dans les paragraphes 1.2.4 et 1.2.5.

Les stades cliniques sont reliés à des pronostics très différents, et orientent les choix de traitement. La classification TNMB stratifie les patients entre d'une part les stades précoces (IA-IIA), avec des survies dépassant fréquemment une dizaine d'années, et d'autre part un tiers de patients de stade avancé (IIB-IVB) avec une atteinte cutanée importante (T3-4). Dans ce groupe, les stades IIB à IIIB présentent des médianes de survie de 35-56 mois, tandis que les patients avec atteinte(s) ganglionnaire, sanguine B2 ou rarement viscérale (IVA-IVB), sont grevés de médianes de survie de 13-25 mois (Scarisbrick *et al.* 2014).

En se rapportant à cette classification, le SS correspond ainsi au stade IV T4B2, le MF érythrodermique (MFE) aux stades IIIA/B T4B0-1, et le MF aux stades I-II (T1-3). L'atteinte sanguine a un impact pronostic mal connu aux stades T1 à T3 (MF), où elle est rarement présente, en revanche elle permet de stratifier les patients érythrodermiques (SS, MFE).

Stades TNMB	Classification révisée ISCL / EORTC ¹
	T : atteinte cutanée (<i>Tumor</i>)
T1	Macules érythémateuses (<i>patches</i>), papules ou plaques $< 10\%$ de la surface corporelle (T1a : macules seules ; T1b : plaques \pm macules)
Τ2	Macules, papules ou plaques ≥ 10% de la surface corporelle (T2a : macules seules ; T2b : plaques ± macules)
Т3	Une ou plusieurs tumeurs (taille ≥ 1 cm)
T4	Érythrodermie confluent sur ≥ 80% de la surface corporelle
	N : statut ganglionnaire (<i>Node</i>)
NO	Absence de ganglions lymphatiques cliniquement anormaux
N1	Ganglions cliniquement anormaux (diamètre >1,5 cm), histologie anormale mais pas ou peu de lymphocytes anormaux (Dutch grade 1 ou NCI LN0-2) (N1a : pas de clone ; N1b : clone +)
N2	Ganglions cliniquement anormaux, histologie montrant des agrégats de CS avec persistance de l'architecture normale (Dutch grade 2 ou NCI LN3) (N2a : pas de clone ; N2b : clone +)
N3	Ganglions cliniquement anormaux, histologie montrant la perte partielle ou totale de l'architecture ganglionnaire avec infiltration diffuse par des CS (Dutch grade 3-4 ou NCI LN4), clone \pm
Nx	Ganglions cliniquement anormaux, pas d'histologie de confirmation
	M : statut viscéral (<i>Metastasis</i>)
M0	Pas d'atteinte viscérale
M1	Atteinte viscérale (à documenter histologiquement)
	B : atteinte sanguine (Blood)
B0	≤ 5% de CS circulantes (B0a : pas de clone ; B0b : clone +)
B1	> 5% de CS circulantes mais sans critère B2 (B1a : pas de clone ; B1b : clone +)
B2	$Charge \ tumorale \ sanguine \ importante : CS > 1G/L \ avec \ clone \ T \ majoritaire \ identique \ dans \ le \ sangue \ tage \ avec \ dans \ le \ sangue \ dans \ le \ sangue \ dans \ le \ sangue \ dans \ dans$

Tableau 2 - Stadification clinique et pr	onostique des lymphomes	T cutanés de type MF/SS
1. (Olsen et al. 2007a) ; 2. (Agar et al.	2010) ; 3. (Scarisbrick et al.	2015) ; *voir Tableau 3

Soit la s	tadification ¹ :	Т	Ν	М	В	Survie globale à 5 ans ^{2,3}
IA	Plaques infiltrées ou non < 10 % surface corporelle	1	0	0	0-1	94%
IB	Plaques infiltrées ou non ≥ 10 % surface corporelle	2	0	0	0-1	84%
IIA	Plaques infiltrées ou non avec adénopathie, histologiquement non spécifique	1-2	1-2, X	0	0-1	78%
IIB	Tumeurs	3	0-2, X	0	0-1	57%
IIIA	Érythrodermie sans envahissement sanguin	4	0-2, X	0	0	60%
IIIB	Érythrodermie avec envahissement sanguin limité	4	0-2, X	0	1	56%
IVA1	Envahissement sanguin important sans adénopathie spécifique	1-4	0-2, X	0	2	48%
IVA2	Adénopathie spécifique	1-4	3	0	0-2	33%
IVB	Atteinte viscérale	1-4	0-3, X	1	0-2	39%

En 2010, la classification ISCL/EORTC a été validée sur une cohorte monocentrique britannique de 1500 patients (Agar *et al.* 2010). Un index pronostique est actuellement en cours de développement à l'échelle internationale. Dans ce cadre, une première étude rétrospective du CLIC (*Cutaneous Lymphoma International Consortium*), a permis de dégager quatre marqueurs pronostiques péjoratifs indépendants en analyse multivariée : le stade IV, un âge > 60 ans, une transformation histologique en lymphome T à grandes cellules (LCT pour *large cell transformation*), et des LDH augmentées (Scarisbrick *et al.* 2015). En 2015, le projet PROCLIPI (*PROspective International Cutaneous Lymphoma Prognostic Index*) a été lancé à l'échelle internationale, pour recueillir des données prospectives clinico-pathologiques, génotypiques, ainsi que les réponses aux traitements et la qualité de vie des patients.

Ces efforts pour le diagnostic et la détermination du pronostic de chaque patient font appel à une expertise pluridisciplinaire : clinique, radiologique, anatomo-pathologique et biologique.

1.2.2. Examen histologique

L'examen histologique des lésions cutanées au diagnostic permet de confirmer leur nature, et est indispensable au diagnostic différentiel, entre les différents types de CTCL, mais aussi les érythrodermies inflammatoires bénignes (EID). Ces dernières peuvent être d'étiologies variées : médicamenteuse, infectieuse, dermatologique (psoriasis, eczéma, dermatite atopique, pityriasis rubra pilaire), ou bien idiopathique.

Dans la peau lésée, l'infiltrat néoplasique lymphoïde est épidermotrope, sans spongiose, composé principalement de cellules monomorphes de taille petite à intermédiaire, contenant de gros noyaux hyperchromatiques, cérébriformes, et un cytoplasme clair (à la coloration hématoxyline-éosine). Ils colonisent classiquement la couche basale de l'épiderme (à la jonction dermo-épidermique). Cet infiltrat se caractérise par une perte d'expression d'antigènes T tels CD2, CD3, CD5, CD7, avec un ratio CD4/CD8 augmenté, excepté dans les cas de MF CD8+ (20% des MF précoces). L'épidermotropisme, mis en évidence par la présence de lymphocytes atypiques intraépidermiques ou micro-abcès de Pautrier, souvent associés à des cellules de Langerhans, est très évocateur mais peut être absent (Klemke *et al.* 2015; Song *et al.* 2013).

Certaines particularités histologiques pourraient avoir une signification pronostique, mais ne sont pas inclues dans la classification, à savoir un folliculotropisme, ou une transformation en lymphome à grandes cellules synonyme de progression (LCT). Cette dernière se caractérise par >25% de grandes

cellules CD30+/- parmi l'infiltrat lymphoïde, incluant des cellules blastiques aux nucléoles proéminents et des cellules larges anaplasiques (Olsen *et al.* 2007a).

Les MF précoces (stade macules-papules) sont difficiles à distinguer des dermatoses bénignes, les cellules atypiques étant peu nombreuses et l'épidermotropisme peu fréquent (~20%) (Song *et al.* 2013). L'histologie des MF au stade plaque bien constituée, est plus évocatrice, avec un infiltrat plus important de lymphocytes alignés « en collier de perles », un épidermotropisme fréquent et des abcès de Pautrier dans un tiers des cas. Dans les MF tumoraux, l'épidermotropisme devient en revanche moins fréquent, et l'infiltrat se fait plus massif et diffus, avec possibilité de transformation péjorative en LCT (Kallinich *et al.* 2003 ; Willemze *et al.* 2005). Le SS est très délicat à distinguer de l'EMF et même des EID, comme le montre l'évaluation d'un groupe de travail de l'EORTC, où le diagnostic de SS en histopathologie seule n'était correct que dans 51% des cas (Klemke *et al.* 2015). L'expression de PD-1 est plus fréquente dans le SS que le MF, et l'infiltrat est plus volontiers monomorphe et périvasculaire, avec un épidermotropisme moins intense que dans le MF (Klemke *et al.* 2015 ; Willemze *et al.* 2005 ; Yamashita *et al.* 2012). Une LCT peut également s'observer lors de l'évolution du SS.

L'examen histologique reste donc à confronter attentivement à l'analyse de clonalité sur biopsie cutanée et prélèvement sanguin.

1.2.3. Etude de la clonalité

La mise en évidence de la clonalité des CS est basée sur l'étude du TCR (*T Cell Receptor*) avec analyse du répertoire T, par PCR (*Polymerase Chain Reaction*). L'analyse des réarrangements de la chaîne γ à l'échelle génomique est la plus usitée, avec séparation des produits PCR (PCR-DGGE- γ pour *denaturing gradient gel electrophoresis*) (Wood *et al.* 1994b). Il existe d'autres méthodes, comme la PCR-PAGE- γ (*polyacrylamide gel electrophoresis*), la PCR-SSCP- γ (*single-strand conformation polymorphism*) ou l'Immunoscope (analyse des profils de distribution des longueurs de CDR3 par famille TCR V β). En cas de prolifération clonale, toutes les cellules issues d'un clone T porteront le même TCR, donc le même réarrangement génique entre les segments V, D, et J. Cependant, les choix de méthode et de seuil utilisé pour distinguer un clone tumoral d'un clone réactionnel, ne sont pas précisés dans les recommandations EORTC/ISCL (Ortonne *et al.* 2006).

Le séquençage haut débit en NGS de l'ADN du gène du TCRß (*TCRB*), développé récemment, permet une analyse plus fine et quantitative du répertoire, dès les stades précoces de MF (de Masson *et al.* 2018). De plus, la fréquence du clone tumoral déterminée par NGS serait un facteur pronostique

indépendant. Cette technique présente les inconvénients d'être coûteuse et de nécessiter une forte expertise.

L'existence d'un clone T majoritaire dans la peau (MF), ou d'un clone T important identique dans la peau et le sang (SS) est un argument fort pour le diagnostic, et requis pour la qualification en stade B2. La classification sanguine se heurte cependant à la difficulté d'identifier et donc de quantifier les CS.

1.2.4. Cytologie sanguine

Les CS sont des lymphocytes de taille variable, avec un noyau caractéristique, irrégulier et incisé en coup d'ongle, d'aspect cérébriforme, décrits en 1961 par Taswell et Winkelmann. La chromatine est assez dense, et le rapport nucléo-cytoplasmique élevé. L'analyse du frottis sanguin reste cependant dépendante de l'expertise de son examinateur, et la quantification cytologique des CS n'a jamais été validée par une étude prospective internationale multicentrique. La sensibilité reste limitée, et la spécificité l'est également, de petites cellules mononucléées cérébriformes de nature réactionnelle ayant été rapportées dans le MF, les EID et même le donneur sain (Meyer *et al.* 1977 ; Scarisbrick *et al.* 2001). Or le pronostic est différent entre les stades B0 et B2, dont l'évaluation repose sur un chiffre relativement précis de CS circulantes ($\geq 1000/\mu$ L au stade B2).

1.2.5. Cytométrie en flux

La cytométrie en flux (CMF) s'est récemment développée comme un moyen plus objectif de quantifier la charge tumorale dans le sang.

Les CS sont décrites comme des lymphocytes T (LT) matures CD2+CD3+CD5+, habituellement CD4+CD8-, portant un TCR de type $\alpha\beta$. Chez les patients atteints, une augmentation de la population CD4+ est souvent constatée, avec un rapport CD4/CD8 supérieur à 10 (Bernengo *et al.* 2001).

Ces cellules malignes se caractérisent également par certaines aberrations phénotypiques, sans que leur signification biologique soit clairement connue, avec en particulier la perte d'expression de marqueurs pan-lymphocytaires :

- Perte d'expression du CD7 :

Cette anomalie est communément rapportée (Bogen *et al.* 1996 ; Harmon *et al.* 1996 ; Rappl *et al.* 2001 ; Wood *et al.* 1990a). CD7 et une protéine membre de la famille des immunoglobulines, et joue notamment un rôle de costimulation du TCR. Toutefois, dans plusieurs études, des cellules tumorales

ont été identifiées aussi bien dans les T CD4+CD7+ que les T CD4+CD7- (Dummer *et al.* 1999 ; Jones *et al.* 2001 ; Steinhoff *et al.* 2009), ce qui suggère que cette population n'est pas le reflet du clone circulant. De plus, cette molécule peut être perdue au cours du vieillissement et parmi certaines T CD4+ mémoires saines (Kukel *et al.* 1994 ; Reinhold et Abken 1997).

- Perte d'expression du CD26 :

CD26 est une protéase membranaire (dipeptidyl-peptidase IV), clivant de nombreux substrats (chimiokines, neuropeptides, peptides pancréatiques...), impliquée dans l'activation cellulaire et exprimée par les T mémoires et helpers (Lambeir *et al.* 2003). L'association du phénotype CD4+CD26avec la population clonale T dominante semble être beaucoup plus forte que la perte d'expression de CD7 (Bernengo *et al.* 2001 ; Steinhoff *et al.* 2009 ; Vonderheid et Hou 2018). Cependant en physiologie, une fraction non négligeable de LT CD4+ n'exprime pas CD26, dont les cellules naïves, ce qui ne permet pas d'assimiler les cellules CD4+CD26- à des CS. La perte d'expression de CD26 sur les T CD4+ a été également rapportée chez les patients VIH, dans d'autres hémopathies T (LAL-T, LLC-T), mais aussi dans des dermatoses bénignes inflammatoires (Vonderheid et Hou 2018), ce qui peut compliquer le diagnostic de CTCL.

- Perte d'expression d'autres marqueurs pan-lymphocytaires :

Les CS peuvent présenter une perte d'expression des molécules CD2, CD3, CD4 et/ou CD5, partielle ou totale, ou plus rarement être de phénotype CD8+CD4- ou CD8+CD4+ (Jones *et al.* 2001).

- Critères couramment admis par l'EORTC (Tableau 3) :

Les recommandations EORTC/ISCL de 2007 et 2011 ont émis des valeurs seuils relatives (pourcentages) en CMF, basées sur la perte de CD26 et CD7 à la surface des LT CD4+, permettant de distinguer les stades B0 et B2. L'EORTC a ensuite proposé en 2018 une stratification B0-B1-B2 sur des valeurs absolues en CMF plutôt qu'une quantification sur frottis sanguin, même si les pronostics n'ont pas encore pu être corrélés dans des études internationales (Scarisbrick *et al.* 2018a). Les précédentes valeurs seuils exprimées en pourcentage sont jugées pertinentes chez les sujets lymphopéniques (Scarisbrick *et al.* 2018b). On peut parler de « pré-Sézary » pour les patients MFE avec un envahissement sanguin limité (B1), certains d'entre eux étant susceptibles d'évoluer en véritable SS, mais la signification pronostique du stade B1 n'a pas encore été validée.

SS	T4B2	-	Clone T identique dans le sang et la peau ET
	(IV)	-	CS ${\geq}1000/{\mu}L$ au frottis sanguin, ou CD4+CD26- ${\geq}1000/{\mu}L,$ ou
			CD4+CD7- \geq 1000/µL, OU
		-	Expansion des LT CD4+, avec soit CD4+CD26- ≥30%, ou
			CD4+CD7- \geq 40%, ou CD4/CD8 \geq 10
MFE	T4B1	-	CS >5% au frottis sanguin OU
« Pré-SS »	(IIIB)	-	CD4+CD26- \geq 250/µL, ou CD4+CD7- \geq 250/µL
		-	ET sans aucun critère B2
MFE	T4B0	-	CS ≤5% au frottis sanguin ET
	(IIIA)	-	CD4+CD26- <250/µL, et CD4+CD7- <250/µL
MF	T1,2,3		
	B0,1,2		

 Tableau 3 – Définition et classification des CTCL selon le critère B EORTC/ISCL d'atteinte sanguine

 (Olsen et al., 2011 ; Scarisbrick et al., 2018)

2. Biologie de la cellule de Sézary (CS)

2.1. Origine de la cellule tumorale, un clone lymphocytaire T

Malgré de nombreux travaux impliquant l'étude de facteurs génétiques, épigénétiques, environnementaux et de signalisations cellulaires, la physiopathologie des CTCL est mal connue, en particulier son origine sanguine ou cutanée. Nous allons tout d'abord rappeler des éléments d'immunologie fondamentale concernant la lignée lymphocytaire T, dont sont issues les CS, qui ont été décrites comme des lymphocytes T (LT) matures mémoires, avant d'aborder l'état actuel des connaissances sur ces cellules tumorales.

2.1.1. Différenciation des lymphocytes T conventionnels en physiologie humaine

- Différenciation thymique :

Le thymus est un organe lymphoïde primaire qui assure la différenciation vers la lignée T des progéniteurs hématopoïétiques multipotents CD34+CD1a-, recrutés dans la moelle osseuse.

La capacité des LT humains à monter une réponse immunitaire contre des agents pathogènes variés est liée à la diversité du répertoire TCR de l'individu. Un premier niveau de diversité est réalisé lors des réarrangements somatiques aléatoires entre les segments V (*variable*), D (*diversity*) et J (*joining*) du TCRß et TCRδ (par recombinaisons VDJ), et les segments V et J pour le TCRα et TCRγ (recombinaisons VJ). La diversité est ensuite largement accrue au niveau des zones de jonction, correspondant à la région CDR3 (*Complementarity-Determining Region 3*), grâce aux mécanismes aléatoires d'excision et d'ajout de nucléotides.

Les thymocytes peuvent ainsi réarranger séquentiellement les gènes codant les chaînes δ , γ puis β du TCR au cours de la phase DN2/3 (double négatifs CD4-CD8-). Ils s'engageront vers la lignée $\alpha\beta$ ou $\gamma\delta$, selon la productivité de leurs réarrangements, l'expression de surface d'un TCR $\alpha\beta$ ou TCR $\gamma\delta$ étant mutuellement exclusive. Les lymphocytes T $\alpha\beta$ conventionnels naïfs CD4+ et CD8+, capables de coloniser les organes périphériques, seront générés après les étapes de β -sélection (au stade DN3), de réarrangement du locus de la chaîne α (au stade double positifs CD4+CD8+), puis de sélection positive des lymphocytes capables de reconnaître des antigènes dans le contexte du CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) du soi, et sélection négative par délétion clonale des lymphocytes de haute affinité pour les antigènes du soi (Figure) (Dik *et al.* 2005 ; Rothenberg *et al.* 2008).

- Homéostasie et maturation périphérique des LT naïfs :

Chaque lymphocyte T reconnaît spécifiquement l'association d'un peptide dérivé d'un antigène protéique, à une molécule HLA de classe I pour les T CD8+, ou de classe II pour les T CD4+. Ce phénomène de double reconnaissance d'un peptide donné présenté par un allèle HLA du soi particulier, est appelé restriction allogénique (Doherty et Zinkernagel 1975). Les molécules CD3 forment un complexe avec le TCR, participant à la transduction du signal, tandis que les molécules CD4 et CD8 sont des co-récepteurs des molécules HLA de classe II et I, respectivement, et potentialisent la reconnaissance des complexes peptide-CMH (pCMH) par le TCR (König 2002). Les cellules capables de capturer et d'apprêter les antigènes, afin de les présenter sous forme de complexes pCMH, sont regroupées sous le terme de cellules présentatrices d'antigènes (CPA). Les plus spécialisées sont les cellules dendritiques (DC) matures, présentes dans les organes lymphoïdes secondaires (OLS) (rate, ganglion lymphatique, tissu lymphoïde associé aux muqueuses) (Banchereau et Steinman 1998).

Une cellule naïve est capable d'être activée grâce à l'intégration de plusieurs signaux positifs : la reconnaissance par son TCR du complexe pCMH qui lui est spécifique, associée à des signaux de costimulation (passant notamment par CD40L, CD28 ou ICOS) (Sharpe et Freeman 2002). Cette activation déclenche alors la phosphorylation et le recrutement de nombreuses protéines, qui se regroupent spatialement en formant une synapse immunologique autour du TCR. Une cascade d'activation de voies de signalisation s'engage (voie des MAPKinases, PKC, Ras, mTor, mobilisation du calcium intracellulaire, réarrangements du cytosquelette...), menant à l'activation de nombreux facteurs de transcription (NF-κB, AP-1, NFAT...), comme illustré Figure (Iwashima 2003). Toute cette machinerie protéique va permettre l'entrée en cycle de réplication cellulaire, une signalisation autocrine et paracrine à l'interleukine 2 (IL-2) renforcée, et l'augmentation de l'activité métabolique, aboutissant à l'expansion clonale du LT et à sa différenciation en cellules effectrices, dont les propriétés diffèrent selon la lignée T CD4+ ou CD8+ (Chapman et Chi 2018).





L'activation du TCR par la CPA déclenche une cascade de signalisation qui détermine le sort du LT, en régulant la sécrétion cytokinique, la différenciation, la survie et la prolifération cellulaires. La signalisation du TCR est modulée par des co-récepteurs (CD4/CD8), récepteurs de costimulation (tel CD28) et de co-inhibition (tels PD-1, CTLA-4), recrutés à la synapse immunologique. Un des premiers évènements suite à l'activation, est la phosphorylation par la kinase Lck des motifs ITAMs (*immunoreceptor tyrosinebased activation motifs*) intracellulaires du complexe TCR/CD3. Lck est elle-même activée par la phosphatase CD45. La tyrosine kinase Zap-70 est ensuite recrutée au niveau de ces ITAMs phosphorylés, déclenchant les voies NF-ĸB, PI3K/Akt/mTORC1, PLCγ, MAPK et Ras, et l'activation de facteurs de transcription (dont NF-ĸB, NFAT, AP-1, 4E-BP, S6K). Ces derniers sont transloqués dans le noyau, et permettent la transcription de nombreux gènes. Les molécules de co-inhibition permettent de réguler l'activation du TCR, grâce à la tyrosine phosphatase SHP-2 qui bloque de nombreuses voies en aval du TCR.

- Différenciation des LT CD4+ en cellules T « helpers » (Th) effectrices :

Après activation d'un clone T naïf, la cellule peut se différencier en plusieurs types de Th, engendrant une hétérogénéité intra-clonale des cellules effectrices. Ces lignées de Th sont définies par leur signature cytokinique/chimiokinique et l'expression de facteurs de transcription spécifiques (Zhu et Paul 2008) :

- \circ Th1 (Th de type 1) : Ils produisent des cytokines telles l'IL-2, IFN-γ (interféron-γ), TNF-α, expriment le récepteur de chimiokine CXCR3 et les facteurs de transcription T-bet et Stat4. Ils sont impliqués notamment dans l'activation des macrophages, des lymphocytes T CD8+ cytotoxiques, des cellules NK, et l'élimination des pathogènes intracellulaires (tels les mycobactéries et les virus).
- Th2 (Th de type 2) : Ils produisent de l'IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10, IL-13, IL-25. Ils sécrètent également de l'IL-2, mais pas d'IFN-γ et peu de TNF-α. Ces cellules expriment CCR4, CCR3, CRTh2 et les facteurs de transcription GATA-3 et Stat5. Ils sont impliqués dans la prolifération et la différenciation des lymphocytes B, ainsi que la production de certaines sous-classes

d'anticorps (dont les IgE). Ils induisent la production de mucus par les cellules épithéliales, et le recrutement des mastocytes et polynucléaires éosinophiles, d'où leur rôle clé dans l'immunité humorale et l'élimination de pathogènes extracellulaires (tels les helminthes et les bactéries extracellulaires). Ce type d'immunité est impliquée dans la réparation tissulaire, mais aussi dans la physiopathologie de la fibrose et des réactions allergiques.

Th17 (Th de type 17) : Ils produisent des cytokines pro-inflammatoires telles l'IL-17A, IL-17F, IL-22, IL-8, IL-6. Ils expriment CCR6, CCR4 et les facteurs de transcription RORyt et Stat3. La famille de l'IL-17 joue un rôle clé dans l'activation et le recrutement de l'immunité innée, notamment des polynucléaires neutrophiles, contre les champignons et les bactéries extracellulaires. L'IL-22 induit la sécrétion d'agents microbicides par les kératinocytes. Les Th17 sont impliqués aussi bien dans l'homéostasie intestinale que dans de nombreuses maladies auto-immunes.

A côté des T conventionnels (Tconv), on distingue les LT régulateurs (Treg), qui inhibent les réponses T et participent au contrôle de la réponse immunitaire, en particulier le maintien de la tolérance immunitaire et la prévention des phénomènes auto-immuns. Leur origine provient soit d'une différenciation en périphérie à partir de T CD4+ conventionnels, pour les Treg dits induits (iTreg), sous l'influence d'un environnement cytokinique immunorégulateur (TGF- β , IL-10), soit d'une différenciation directement au niveau thymique, pour les Treg dits naturels. Les Treg se caractérisent par leur phénotype CD25^{high}CD127^{iow} et l'expression des facteurs de transcription Foxp3 (*forkhead box p3*) et Stat5. Foxp3 contrôle notamment l'expression de l'IL-2 et de son récepteur, ainsi que de la molécule CTLA-4. Les Treg expriment constitutivement un récepteur à l'IL-2 de haute affinité, composé des trois sous-unités CD25, CD122 et CD132. La production d'IL-2 et à l'inverse réprimée, ce qui rend les Treg dépendants de la présence exogène d'IL-2 (Chinen *et al.* 2016). CTLA-4 est une molécule de co-inhibition, qui présente une plus forte affinité que CD28 pour leurs ligands communs de la famille B7 (CD80, CD86). Dans le cas où le TCR de la Treg reconnaît spécifiquement un pCMH, elle pourra entrer en compétition avec les Tconv pour la liaison de CD80/CD86 à la surface des CPA, et donc inhiber la stimulation des Tconv (Yamaguchi *et al.* 2013).

In vitro, une orientation particulière du contexte cytokinique permet de générer de façon préférentielle un type de Th à partir de cellules naïves, comme l'II-2, IL-12 pour les Th1, et l'IL-4 pour les Th2 (Sekiya et Yoshimura 2016). La description de ces sous-types cellulaires n'est en revanche pas figée, des phénomènes de plasticité dépendants de l'environnement ayant été montrés, permettant au système immunitaire d'adopter la meilleure balance entre ces quatre types de réponse, en fonction du contexte. Une hétérogénéité existe de plus au sein de chaque catégorie, ayant amené à la définition de nouveaux types cellulaires (Tfh, Th22, Th9 et Tr1 par exemple) (Sallusto 2016 ; Zhou *et al.* 2009). Un

déséquilibre peut mener au développement de pathologies, en particulier auto-immunes et allergiques (Annunziato *et al.* 2015).



Figure 6 – Hétérogénéité de différenciation et fonctions des lymphocytes T CD4+ helpers conventionnels et des Treg

- Différenciation des LT CD8+ en cellules T cytotoxiques (CTL) :

Après activation des T CD8+ naïves, les T CD8+ effectrices ont des capacités fonctionnelles de CTL. Toute cellule normale présente de manière continue des peptides d'origine endogène, issus de la dégradation des antigènes par la voie du protéasome, ce qui permet la stabilisation des molécules HLA de classe I à sa surface. Si la cellule est infectée ou anormale, elle présentera par la même voie des peptides du non soi ou du soi modifié, qui seront reconnus par des T CD8+ spécifiques. La cellule cible est ensuite lysée, par exocytose du contenu enzymatique des granules lysosomiaux des CTL. La perforine induit ainsi la perforation de la membrane cellulaire, permettant aux granzymes de pénétrer et d'initier la cascade apoptotique (Lopez *et al.* 2013), qui peut également être médiée depuis la surface cellulaire par la voie Fas/FasL (Halle *et al.* 2017).

Les CTL sécrètent aussi diverses cytokines, et par analogie aux T CD4+ « helpers », on distingue les Tc1 T-bet+Eomes+, les plus fortement cytotoxiques, produisant majoritairement IFN- γ et TNF- α , des Tc2 GATA-3+ produisant IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, et des Tc17 ROR γ t+ sécrétant IL-17A, IFN- γ , TNF- α , IL-21, IL-22 (Annunziato *et al.* 2015 ; Gonzalez *et al.* 2017). La polarisation des CTL est également induite par leur environnement cytokinique.

 Hétérogénéité du destin cellulaire T lors de la réponse immune, relations entre cellules effectrices et mémoires :

Après activation, la majorité des cellules T migre vers les tissus périphériques et les sites de la réaction inflammatoire, grâce à des gradients de chimiokines. Ces dernières appartiennent à une famille de cytokines aux propriétés chimiotactiques, contrôlant la migration cellulaire, l'homéostasie des cellules immunes et plus globalement la réponse immunitaire.

Lors du « priming » d'un clone T, l'intensité et la durée du signal médié par le TCR, amplifié par la costimulation, ainsi qu'un contexte inflammatoire, influencent le développement à la fois de populations effectrices et mémoires. De nombreux facteurs de transcription (dont T-bet, Eomes, Blimp-1, Bcl-6, ID2/3, Stat3/4/5), des modifications épigénétiques mais aussi métaboliques (gouvernés par la voie PI3K/Akt/mTOR) sont impliqués (Hamilton et Jameson 2012 ; Jameson et Masopust 2018 ; Kaech et Cui 2012). En contexte aigu, on distingue trois phases : (i) l'expansion clonale des LT stimulés, avec une différenciation en cellules effectrices hautement activées, suivie par (ii) la contraction du pool lymphocytaire T par apoptose suite à la clairance de l'antigène. Cette mort cellulaire par apoptose peut se dérouler de deux façons (Hildeman et al. 2003 ; Nussbaum et Whitton 2004) : soit par « activationinduced cell death » (AICD), déclenchée lors de stimulations antigéniques répétées du TCR, et médiée par les récepteurs de mort de la famille du TNF, principalement Fas (CD95) (Alderson et al. 1995), soit par déprivation en facteurs de croissance et cytokines, ce qui modifie l'équilibre intracellulaire entre protéines pro- et anti-apoptotiques de la famille Bcl-2. (iii) Enfin, au terme de la réponse immunitaire des populations mémoires sont générées, destinées à persister. Ce pool mémoire n'est pas dépendant de l'antigène, mais de cytokines telles l'IL-7 et l'IL-15, pour leur survie et leur prolifération homéostatique (basale). En cas de rencontre secondaire avec l'antigène, ces cellules mémoires réacquièrent rapidement des fonctions effectrices.

La génération des populations effectrices et mémoires au cours de la différenciation T est encore débattue, et la définition précise de ces termes peut varier selon les auteurs, semant la confusion (Appay et Rowland-Jones 2004). Il a été montré par des expériences de transfert adoptif en « singlecell » qu'elles proviennent du même clone (Buchholz *et al.* 2013 ; Gerlach *et al.* 2013). Deux principaux modèles ont été proposés (Figure A) : (i) la génération de cellules T mémoires à partir de T effectrices ayant proliféré lors de la phase d'expansion clonale, et qui survivraient à la phase de contraction, ou (ii) un modèle de décision précoce du devenir de la cellule, par division asymétrique de la cellule naïve activée, qui donnerait naissance à une cellule fille destinée à un profil mémoire, et à une seconde engagée vers une fonction effectrice de court terme (Jameson et Masopust 2018 ; Restifo et Gattinoni 2013). La force du signal médié par le TCR est capable de moduler le ratio cellules effectrices /
mémoires, un signal plus faible favorisant le développement de T mémoires et *vis-versa* (Kaech et Cui 2012 ; Sallusto *et al.* 2004). De nombreuses études phénotypiques, transcriptomiques, épigénétiques et métaboliques, sont en faveur d'une division asymétrique précoce (Gattinoni *et al.* 2011 ; Sallusto *et al.* 2004). Mais l'étude des profils de méthylation de l'ADN chez la souris de Youngblood et al. (2017), qui met en évidence la déméthylation de gènes effecteurs clés chez les cellules mémoires, montre que cette question n'est pas si tranchée, et que la réalité pourrait être une combinaison de ces deux hypothèses.

- Différenciation séquentielle de la cellule naïve aux cellules mémoires :

On observe ainsi dans le sang différents états de différenciation post-thymique des LT, étudiables en CMF par des marqueurs de surface tels CD45RA et CD45RO, CCR7, CD62L et CD27 (Fritsch *et al.* 2005 ; Sallusto *et al.* 1999). CD45RA et CD45RO sont deux isoformes de la molécule CD45, exprimée sur toutes les cellules hématopoïétiques, de rôle mal connu. CCR7 est un récepteur de chimiokine, molécule d'écotaxie (*homing*) vers les ganglions lymphatiques, de même CD62L (L-sélectine) est une molécule d'adhésion permettant l'entrée dans les ganglions. CD27, membre de la superfamille des récepteurs au TNF, est une molécule de costimulation exprimée par les cellules T naïves (TN), dont l'expression est perdue au cours de la différenciation. L'étude phénotypique des LT a été complétée par d'autres caractéristiques comme la longueur des télomères, les capacités proliférative, cytotoxique, et de sécrétion cytokinique, ainsi que le degré de multipotence, et les programmes métabolique, épigénétique et transcriptomique.

Les TN sont CD45RA+CD45RO-CD27+CD28+. L'expression additionnelle de CCR7 et CD62L leur permet de rejoindre les OLS. Après activation, on observe une forte production d'IL-2, témoin de leur multiplication rapide.

Les cellules mémoires sont hétérogènes, et les études de différenciation sont en faveur de modifications progressives (Figure B), comme la perte des capacités prolifératives, d'autorenouvellement et de multipotence, l'augmentation des capacités effectrices, une transition métabolique en faveur de la glycolyse, et un raccourcissement des télomères. Chaque état est caractérisé par des marqueurs phénotypiques distincts (Farber *et al.* 2014 ; Fritsch *et al.* 2005 ; Restifo et Gattinoni 2013).

Parmi les T mémoires CD45RA-CD45RO+, on distingue principalement les T centrales mémoires (TCM) CCR7+CD62L+CD27+ et les T effectrices mémoires (TEM) CCR7-CD62L-CD27- (Sallusto *et al.* 1999). Les TCM constituent une mémoire à long terme, circulant dans les OLS mais peu présentes dans les tissus

périphériques (Reinhardt *et al.* 2001 ; Weninger *et al.* 2001). Elles régulent positivement les facteurs de transcription Eomes, TCF1, Bcl-6, ID3, et Stat3 (Martin et Badovinac 2018). Les centrales mémoires peuvent être activées de nouveau par les DC matures des OLS, avec un seuil d'activation relativement bas, et une moindre dépendance aux signaux de costimulation, entraînant une forte production d'IL-2 accompagnée de prolifération soutenue lors de réponses secondaires. Du TNF- α est également produit, favorisant le recrutement de cellules de l'immunité innée. La stimulation des TCM s'accompagne de la perte d'expression de CCR7, parallèlement à leur différenciation en TEM.

Les TEM montrent un renouvellement plus rapide que les TCM (Macallan et al. 2004), et expriment plus fortement l'antigène nucléaire Ki67, présent dans les cellules en cycle (Lugli et al. 2013a ; Scholzen et Gerdes 2000). Elles prolifèrent in vitro en présence des cytokines homéostatiques IL-7 et Il-15, sans stimulation antigénique, alors que les TN et TCM nécessitent une incubation préalable avec des cytokines produites par les DC (TNF-α, IL-6, IL-10, and IL-12) pour augmenter leur sensibilité aux cytokines (Geginat et al. 2001). Les TEM sont en revanche plus sensibles à l'apoptose (Riou et al. 2007). Elles expriment fortement des intégrines et récepteurs de chimiokines, comme CCR4, CCR5, CCR6, CXCR3 (Sallusto et al. 1999), leur permettant de migrer vers les sites inflammatoires et les tissus et d'y déployer rapidement des fonctions effectrices (Masopust et al. 2001 ; Reinhardt et al. 2001 ; Weninger et al. 2001). Elles régulent positivement les facteurs de transcription T-bet, Blimp1, ID2, et Stat4 (Martin et Badovinac 2018). Après stimulation du TCR, les TEM sécrètent surtout de l'IL-4, IL-5 et IFN- γ , tandis que les T CD8+ effectrices mémoires ont pour particularité l'expression d'enzymes cytolytiques (granzymes A/B, perforine) (Mahnke et al. 2013). Les sécrétions d'IL-2 sont en revanche plus faibles que chez les TCM (Sallusto et al. 1999), les télomères plus courts, avec une activité télomérase réduite (Patrick et al. 2019 ; Sallusto et al. 1999). Les capacités d'auto-renouvellement, de multipotence, et de prolifération suite à une stimulation antigénique spécifique, sont au final réduites par rapport aux TCM et aux TN (Gattinoni et al. 2011 ; Mahnke et al. 2013 ; Sallusto et al. 1999).

Les T transitionnelles mémoires (TTM) sont des cellules intermédiaires entre ces deux types, ayant conservé la molécule de costimulation CD27, mais perdu les molécules de *homing* vers les ganglions CCR7 et CD62L. Elles produisent principalement de l'IFN-y (Fritsch *et al.* 2005).

Enfin, les T effectrices mémoires dites terminales (TEMRA), expriment CD45RA à nouveau et des marqueurs de sénescence tels KLRG-1 et CD57. Ces cellules peuvent être prédominantes parmi les T CD8+, et expriment très fortement la perforine. Elles présentent de faibles capacités prolifératives et fonctionnelles, ainsi que les télomères les plus courts (Fali *et al.* 2019 ; Mahnke *et al.* 2013).

Plus récemment, un nouveau type cellulaire, plus rare, représentant 1-2% des T CD4+ chez le sujet sain, a été identifié. Les T « Memory Stem cells » (TSCM) correspondent à des LT tout nouvellement

mémoires. Ils sont doués de capacités d'auto-renouvellement et multipotents, pouvant générer tous les sous-types T mémoires et effecteurs *in vitro* tout en gardant leur identité « souche » par division asymétrique. Leur profil d'expression génique est intermédiaire entre les TN et les TCM. Après stimulation non spécifique du TCR par des anticorps anti-CD3/CD28, ils présentent une capacité deux fois plus grande à maintenir leur phénotype, en comparaison aux TCM. Ils expriment fortement le récepteur à l'IL-2 et à l'IL-7, partiellement les récepteurs de chimiokines CXCR3 et CXCR4, et sécrètent de l'IL-2. Ces cellules se différencient phénotypiquement des cellules naïves (CD45RA+CCR7+CD27+) par l'expression additionnelle de la molécule CD95 (récepteur Fas), mais aussi de CD58 (LFA-3), et par une moindre expression de CD31 (PECAM-1) et CD38 (Cieri *et al.* 2013 ; Gattinoni *et al.* 2011 ; Lugli *et al.* 2013b).

Au niveau tissulaire, de nombreux modèles d'infection chez la souris ont permis de différencier les cellules effectrices mémoires circulantes, de cellules mémoires prenant résidence dans un compartiment tissulaire particulier (poumons, intestins, muqueuse vaginale, peau...), qui ont été dénommées T résidentes mémoires (TRM) (Gebhardt et al. 2009a ; Masopust et al. 2010). Phénotypiquement, les TRM se caractérisent par l'expression de molécules d'adhésion et d'intégrines leur permettant de rester dans les tissus : CD69 (lectine de type C), le récepteur à l'acide hyaluronique et au collagène CD44, ainsi que l'intégrine α E CD103 (surtout chez les TRM CD8+). L'intensité de ces marqueurs varie selon les localisations tissulaires (Thome et Farber 2015). A l'inverse, les TRM n'expriment pas les récepteurs permettant la recirculation et la migration vers les ganglions (Klf2, S1PR1, CCR7, CD62L...) (Pa et al. 2019). Ce programme de rétention tissulaire serait instruit par les facteurs de transcription Hobit et Blimp1 (Mackay et al. 2016). Elles sont capables de se mobiliser rapidement, en secrétant des cytokines et enzymes effectrices (IFN- γ , IL-17, TNF- α , IL-2, granzyme B...), mais auraient aussi un rôle anti-inflammatoire et immuno-régulateur (sécrétion d'IL-10, expression des récepteurs inhibiteurs PD-1, LAG3, CTLA-4) (Kumar et al. 2017). L'origine cellulaire des TRM est actuellement mal connue. Des expériences chez la souris ont montré que les TRM se développent avant la phase de contraction, à partir de précurseurs KLRG1 négatifs entrant dans la peau, ce qui est en défaveur de précurseurs de type effecteurs ou TEM (Mackay et al. 2013 ; Milner et al. 2017). Le facteur de transcription Runx3 (Milner et al. 2017), ainsi que l'IL-15 et le TGF-ß (Mackay et al. 2013) jouent un rôle clé dans leur développement. Leur programme transcriptionnel est bien distinct des cellules mémoires circulantes. En effet, Eomes et T-bet, indispensables au développement de TCM et TEM respectivement, répriment celui des TRM (Milner et Goldrath 2018). Néanmoins, l'analyse du répertoire TCR montre que les TCM et TRM proviennent du même clone naïf (Gaide et al. 2015). Le précurseur des TRM pourrait ainsi être généré précocement après l'activation de la TN dans les OLS. La maintenance des résidentes mémoires dans la peau est quant à elle assurée par la production des

cytokines homéostatiques IL-7 et IL-15 par les kératinocytes (Kabashima *et al.* 2019), et l'expression de molécules anti-apoptotiques comme Bcl-2.

Les mécanismes de génération de ces différents sous-types mémoires après stimulation de la TN, sont incomplètement élucidés. L'existence de plusieurs voies de développement est probable pour contribuer à la diversité phénotypique, à la plasticité des cellules effectrices et mémoires, et plus généralement à la flexibilité de ces composants majeurs du système immunitaire (Gasper et al. 2014). Des différences pourraient également exister entre la maturation T CD4+ et T CD8+. Il a ainsi été montré l'existence, au cours de la phase d'expansion des LT CD8+, de cellules effectrices précurseurs de cellules mémoires. Elles ont été nommées MPECs (« memory precursor effector cells »), expriment peu la molécule de sénescence KLRG-1 et fortement la chaîne α du récepteur à l'IL-7 (CD127). Ces souspopulations survivent à la phase de contraction et peuvent générer des TEM, contrairement aux SLECs (« short-lived effector cells », KLRG-1^{high}CD127^{low}) qui sont perdues (Kaech et al. 2003). L'expansion des T CD4+ est bien moindre que celle des T CD8+, et l'existence d'une population effectrice précurseur mémoire, est moins claire (Gasper et al. 2014 ; Marshall et al. 2011). Par ailleurs, la perte séquentielle d'expression des molécules de costimulation, après stimulation virale, varie entre les populations T CD4+ et CD8+. CD27 est perdu plus précocement que CD28 pour les T CD4+ avec expression tardive de perforine chez les CD27(-)CD28(-), alors que pour les T CD8+, la perte de CD28 et l'expression de perforine interviennent avant la régulation négative de CD27 (Amyes et al. 2003 ; Appay et Rowland-Jones 2004). De plus, les profils d'expression de CD27 / CD28 varient chez les LT présents au repos dans les infections chroniques, en fonction de leur spécificité anti-virale, comme montré pour le VHC (virus de l'hépatite C), EBV (virus d'Epstein-Barr), VIH (virus de l'immunodéficience humaine) et le CMV (cytomégalovirus).

Le modèle de différenciation progressive comme récapitulé Figure B, s'applique aux cellules mémoires quiescentes. En cas de nouvelle stimulation par son antigène spécifique, la cellule mémoire devient une cellule effectrice, avec un phénotype proche des TEM mais s'en distingue par la forte expression des marqueurs d'activation HLA-DR, CD69, CD25 et CD38 (Mahnke *et al.* 2013).

- Cas particulier des Treg :

Les LT régulateurs se distinguent également par plusieurs types de sous-populations naïves / mémoires. Sakaguchi *et al.* rapportent plusieurs fractions de T CD4+Foxp3+, en fonction de l'expression de CD45RA et des intensités de CD25 (IL-2R α) et/ou Foxp3. La fraction CD45RA-Foxp3^{low}CD25^{high} n'est pas suppressive *in vitro*, mais sécrète des cytokines pro-inflammatoires (IL-2, IFN γ , Il-17), et pourrait correspondre à des LT conventionnels activés qui régulent Foxp3 positivement de façon transitoire.

Deux sous-populations de Treg suppressives peuvent être séparées : (*i*) les Treg naïves dites au repos, CD45RA+Foxp3^{low}CD25^{low}, Ki67-négatives mais capables de proliférer après stimulation du TCR, et de se différencier en (*ii*) Treg effectrices ou activées, CD45RA-Foxp3^{high}CD25^{high}, qui à la différence des Treg naïves, expriment les marqueurs d'activation HLA-DR, ICOS, et fortement la molécule CTLA-4 essentielle à leur fonction suppressive. La proportion de Treg effectrices augmente avec l'âge et certaines pathologies auto-immunes comme le lupus (Miyara *et al.* 2009).

- Evolution des sous-types lymphocytaires T liés à l'âge :

Le thymus, très actif à la naissance, involue de façon progressive chez l'enfant et le jeune adulte pour laisser la place à un tissu graisseux, et son activité après 40 ans n'est plus que résiduelle. Le pool de T naïves joue donc un rôle majeur pour soutenir la diversité du répertoire TCR tout au long de la vie. Il est maintenu par une faible prolifération homéostatique (médiée principalement par l'IL-7), et des signaux de survie (Appay et Sauce 2014 ; Kumar *et al.* 2018 ; Surh et Sprent 2008 ; Zhan *et al.* 2017).

Au cours des deux premières années de vie, le pool de LT mémoires s'accroît considérablement (Li *et al.* 2019 ; Saule *et al.* 2006), et les TRM deviennent largement majoritaires au niveau des muqueuses (Thome *et al.* 2016a). Les Treg, très présentes chez le jeune enfant (10-30% des T CD4+ tissulaires), s'infléchissent pour représenter moins de 5% chez le jeune adulte (Thome *et al.* 2016a). Les ganglions lymphatiques sont le site où les TN baissent le plus lentement, participant vraisemblablement de façon importante au maintien homéostatique du pool de TN au cours de la vie (Kumar *et al.* 2018 ; Thome *et al.* 2016b). La diversité des TN est ainsi maintenue même aux âges avancés (même si elle est moindre que celle du jeune adulte), permettant de répondre à de nouveaux antigènes (Qi *et al.* 2014). De même, la baisse des populations naïves affecte les Treg, passant d'environ 25% à 20 ans à 10% de Treg CD45RA+CD27+ à 60 ans (Santner-Nanan *et al.* 2008). Les populations T sont relativement stables entre 20 et 60 ans (Farber *et al.* 2014).

Enfin, la fonctionnalité des LT décroît sensiblement au cours de la dernière partie de la vie, processus nommé immunosénescence. Les réponses vaccinales sont par exemple amoindries, la susceptibilité aux infections s'accroît, et les LT en particulier CD8+ expriment plus fortement des marqueurs de sénescence, comme CD39, DUSP4/6, CD57, et perdent l'expression de molécules de costimulation comme CD27 et CD28. Même les populations peu différenciées des sujets âgés, dont les TN, présentent des signes de sénescence, comme attesté par leurs télomères particulièrement courts et leurs défauts de signalisation (Appay et Sauce 2014 ; Fali *et al.* 2019 ; Li *et al.* 2012). Participant à ce phénomène, le caractère inflammatoire cellulaire et cytokinique de l'environnement s'accroît au cours du vieillissement (Goronzy et Weyand 2017 ; Pinti *et al.* 2016). Les fréquentes infections virales latentes

influencent également largement le compartiment T au cours de la vie, dû à l'expansion de clones T virus-spécifiques, comme retrouvé pour le varicella zoster virus (VZV), l'EBV et le CMV (Goronzy et Weyand 2017). Le CMV est responsable des expansions de TCD8+ de type TEMRA les plus fortes (Di Benedetto *et al.* 2015 ; Fali *et al.* 2019 ; Wertheimer *et al.* 2014).

- Lymphocytes T de l'environnement cutané :

La peau est un organe peu étudié des immunologistes, possiblement du fait de l'accès difficile aux prélèvements, et du faible rendement des méthodes d'extraction cellulaires classiques (EDTA, digestion à la collagénase), alors qu'il se révèle être un organe immunitaire majeur. L'équipe de Thomas S. Kupper a mis au point une culture d'explant cutané en matrice tri-dimensionnelle, qui permet la récupération des lymphocytes migrant hors de l'explant du fait de la production de chimiokines par les fibroblastes présents (Clark *et al.* 2006b). Par cette méthode, ils estiment que la peau adulte humaine contient environ 1 million de LT / cm², soit une vingtaine de milliards pour l'ensemble de la surface corporelle, ce qui correspondrait au double de la population T circulante (Clark *et al.* 2006a).

Anatomiquement, la peau est constituée de trois grandes couches : (*i*) L'épiderme, donnant sur le milieu extérieur, est lui-même composé de plusieurs couches de kératinocytes, migrant au cours de leur différenciation du *stratum basale* au superficiel *stratum corneum* (couche cornée) – couche de kératinocytes morts, qui constitue une barrière physique hydrophobe contre les agressions extérieures. Il est peuplé par le microbiote cutané. (*ii*) Le derme, tissu conjonctif dont les composants de la matrice extracellulaire (fibres de collagène et d'élastine) sont synthétisés par les fibroblastes. Il est traversé par un réseau de capillaires sanguins et lymphatiques, permettant des échanges systémiques, et par des fibres neuronales. (*iii*) Le tissu adipeux sous-cutané. Les follicules pileux et les canaux sudoripares pénètrent dans les profondeurs du derme à partir de l'épiderme, et sont à ce titre également envahis de micro-organismes (Kabashima *et al.* 2019).

Comme l'illustre la Figure , la plupart des LT de la peau saine sont de type T CD4+ conventionnels mémoires ou Treg capables de recirculer, ainsi que des TRM et TEM CD4+, et se localisent dans les régions périvasculaires du derme ou autour des follicules pileux (Collins *et al.* 2016). L'infiltrat épidermique est moins riche, majoritairement constitué de T CD8+ de types TRM et TEM, qui se retrouvent au niveau des follicules pileux. Des populations T portant un TCR de type $\gamma\delta$, sont également présentes dans le derme et l'épiderme (Mueller *et al.* 2014). Les veinules post-capillaires, perméabilisées en cas d'inflammation, sont un lieu privilégié pour le recrutement de cellules de

l'immunité innée (macrophages, neutrophiles, mastocytes), des DC dermiques et des cellules T, réalisant une structure lymphoïde particulière, fréquemment observée lors des maladies inflammatoires dermatologiques. Elles ne comprennent en revanche ni lymphocytes B, ni T naïves, ce qui exclue la possibilité de phases de « priming » dans ces structures (Kabashima *et al.* 2019).

Lors de la première rencontre avec un antigène au niveau du derme (Figure A), les DC immatures y résidant (cellules de Langerhans, DC conventionnelles, DC plasmacytoïdes, DC dérivées de monocytes) vont capturer et apprêter cet antigène, avant de migrer vers le ganglion lymphatique drainant la peau, où il sera présenté et pourra activer une TN spécifique. Les T effectrices ayant acquis un tropisme vers la peau pourront y migrer par circulation sanguine, et éliminer le pathogène. L'activation de la TN ganglionnaire permettra également de générer des précurseurs de TRM (Gaide *et al.* 2015), qui finaliseront leur différenciation dans la peau (Mackay *et al.* 2013). Les T effectrices d'adressages différents migreront vers d'autres tissus, permettant de générer en parallèle une immunisation systémique (Clark 2010).

Lors de réponse secondaire à l'antigène (Figure B), les DC matures pourront activer les TCM des ganglions drainants, mais aussi les TRM locales, engendrant une inflammation avec activation endothéliale, et recrutement de cellules innées et adaptatives à la fois non spécifiques et spécifiques (Clark 2010). Une telle circulation des cellules T entre les ganglions lymphatiques et la peau a pu être tracée en microscopie biphotonique chez un modèle de souris transgénique (Egawa et Kabashima 2011).

Ces mouvements de circulation impliquent des mécanismes de tropisme et d'extravasation des lymphocytes vers les tissus, qui sont rythmés par trois grandes étapes, comme illustré Figure (Springer 1994). Tout d'abord, le ralentissement des leucocytes par roulement à la surface endothéliale est réalisé par la présence de molécules d'adhésion, de la famille des sélectines. La L-sélectine (CD62L) exprimée par les TN et TCM, se lie aux carbohydrates sialylés (molécules de la famille sialyl-Lewis) présentés par les veinules à endothélium épais (HEV) des OLS. Le ligand de sélectine CLA (*Cutaneous Lymphocyte Antigen*) est quant à lui exprimé par les LT à tropisme cutané, et se lie à la E-sélectine ou la P-sélectine, exprimées par les endothéliums activés (Fuhlbrigge *et al.* 2002).

La migration des leucocytes est ensuite déterminée par l'expression de récepteurs de chimiokines, tels CCR4, CCR6, CCR8 et CCR10 impliqués dans le tropisme cutané, ou CCR7 pour le tropisme ganglionnaire. Ils constituent une famille de récepteurs à 7 domaines transmembranaires, couplés à des protéines G (RCPG), et classés en 4 familles selon l'espacement entre leurs résidus cystéines Nterminales (C, CC, CXC et CX3C). Ils peuvent souvent lier spécifiquement plusieurs chimiokines (voir exemples de récepteurs dans le Tableau 4). Ces cytokines chimiotactiques, très diverses et

redondantes, sont sécrétées par des cellules de l'immunité innée (polynucléaires, macrophages, DC, cellules NK, mastocytes), ainsi que les cellules épithéliales des muqueuses, les kératinocytes, fibroblastes et les cellules endothéliales. La plupart des chimiokines impliquées dans le tropisme cutané (CCL17, CCL22, CCL20, CCL27, CCL28) sont produites principalement lors de processus inflammatoires (McCully et Moser 2011). Ces petites molécules solubles se diffusent et se lient progressivement aux glycosaminoglycanes des endothéliums (tels l'héparane sulfate), permettant d'être présentées aux leucocytes circulants préalablement freinés sur les surfaces endothéliales, selon un gradient croissant qui dirige leur migration (Allen *et al.* 2007 ; Tan *et al.* 2015).

La signalisation par la protéine G médiée par le récepteur de chimiokine, déclenche le déploiement des intégrines de surface du lymphocyte en formes actives (Springer 1994). Elles permettent de réaliser la dernière étape d'immobilisation par interaction forte, et de diapédèse tissulaire. Les intégrines sont des glycoprotéines hétérodimériques composées d'une chaîne α et d'une chaîne β . On peut citer l'intégrine LFA-1 (CD11a/CD18, α L β 2), dont les ligands de la superfamille des immunoglobulines sont exprimés par les cellules endothéliales et les kératinocytes (ICAM-1, ICAM-3) (Tan *et al.* 2015).

2.1.2. Constats et hypothèses sur l'origine du clone tumoral

- Une cellule Tαß mature

La CS est un lymphocyte T CD3+CD4+αβ+, les loci du TCR gamma et bêta étant réarrangés de façon clonale (Bakels *et al.* 1991 ; Theodorou *et al.* 1995). Le séquençage haut débit (HTS) des gènes du TCRγ a montré qu'en moyenne chaque clone tumoral comporte 1,8 allèles du TCRγ réarrangés (Kirsch *et al.* 2015), tout comme les cellules Tαß matures en physiologie (Sherwood *et al.* 2011).

Les premières analyses histologiques des infiltrats lymphoïdes dans le MF/SS (Ralfkiaer *et al.* 1991 ; Sterry et Mielke 1989), en correspondance avec les caractérisation des cellules T circulantes dans les CTCL avancés (Jakob *et al.* 1996), retrouvaient l'expression des antigènes de surface CD2, CD3, CD5, CD4, ainsi que CD45RO et CDw29 (intégrine β1), CD45RA étant négatif, en faveur d'un phénotype mature et mémoire des CS (Willemze *et al.* 1997). Une étude a également rapporté la présence cellules néoplasiques CD45RA+CD62L-CD11a+CD29+, plutôt en faveur de phénotypes mémoires terminaux TEMRA, dans 9% des MF (Fierro *et al.* 2001). De très rares cas de CTCL CD8+ ont également été décrits, de caractéristiques cliniques, histologiques et phénotypiques hétérogènes, associés à un mauvais pronostic (Berti *et al.* 1999). L'épigénome des CS est également en faveur de cellules mémoires, avec une perte quasi-complète de la signature naïve (Qu *et al.* 2017).

L'état mémoire de ces lymphocytes exprimant un TCRaß fonctionnel, soulève l'hypothèse de la stimulation d'un clone T naïf initial par un antigène, comme facteur déclencheur de transformation. Cependant aucune région CDR3 ne présente de motif partagé d'acides aminés entre les patients, qui aurait orienté vers une liaison à un antigène peptidique commun (Ingen-Housz-Oro et al. 2002 ; van der Fits et al. 2011b). En revanche, certains auteurs soulignent la restriction du répertoire TCRVB parmi les lymphocytes sanguins et cutanés. La survenue d'une stimulation par un superantigène bactérien présent au niveau de la peau a été évoquée. A la différence des antigènes peptidiques classiques, les superantigènes n'ont pas besoin d'être apprêtés par une CPA avant présentation aux LT. Ces toxines de nature protéigue se lient directement à la molécule de classe II de la CPA, en dehors de la poche peptidique, et simultanément à la région CDR4 du TCRVß ou parfois du TCRVα (Fraser 2011). En courtcircuitant les mécanismes classiques de présentation, les superantigènes peuvent ainsi induire une large réponse T polyclonale (jusqu'à 20% des LT périphériques), avec expansion des familles TCRVB préférentiellement activées, qui peuvent également être plus ou moins délétées par la suite par AICD (Fraser 2011 ; van der Fits et al. 2011b). La colonisation de la peau par la bactérie Staphylococcus aureus est fréquente dans les CTCL (Nguyen et al. 2008), or certaines familles du TCRVB rapportées dans les CTCL (Vß2, Vß5) ont été associées à des toxines staphylococciques (Thomas et al. 2009). Vß5 est ainsi sur-représentée dans plusieurs études (Linnemann et al. 2004 ; Potoczna et al. 1996 ; Vonderheid et al. 2005), alors que d'autres rapportent une sur-représentation de Vß2 dans des cas positifs pour la toxine du syndrome de choc staphylococcique (TSST-1) (Jackow et al. 1997), avec réponse proliférative spécifique in vitro en présence de cet antigène (Tokura et al. 1992). La famille Vß2 a cependant été rapportée comme sous-représentée dans d'autres cohortes (van der Fits et al. 2011b ; Vonderheid et al. 2005). Plusieurs auteurs contredisent l'hypothèse d'une stimulation superantigénique (Musette et Bachelez 1997) ou par antigène peptidique, après avoir observé au contraire des répertoires du TCRB et des régions CDR3 divers et hétérogènes entre patients (Bahler et al. 1992 ; Gorochov et al. 1995 ; Ingen-Housz-Oro et al. 2002 ; Morgan et al. 2006).

- Une cellule T à tropisme cutané et/ou recirculante

Le tropisme cutané de ces cellules est expliqué par l'expression de molécules d'adressage vers la peau, dont plusieurs récepteurs de chimiokines. Les plus fortement retrouvés dans les échantillons sanguins de SS et cutanés de SS/MF sont CCR4, CCR10 et CXCR4 (Capriotti *et al.* 2007 ; Ferenczi *et al.* 2002 ; Narducci *et al.* 2006 ; Sokolowska-Wojdylo *et al.* 2005). CXCR3 est plus fréquemment exprimé dans le MF que le SS, et est perdu lors des transformations à grandes cellules (Lu *et al.* 2001 ; Shono *et al.* 2019). CCR3 est exprimé dans les CTCL CD30+ (Kleinhans *et al.* 2003). L'expression et les fonctions en

physiologie nde ces récepteurs, ainsi que le détail de leurs ligands, sont indiqués dans le Tableau 4. Certains sont associés à une polarisation Th particulière, comme évoqué précédemment.

La perte de CD26 (Dipeptidyl-peptidase IV, DPPIV), enzyme clivant l'extrémité N-terminale de nombreuses chimiokines (Lambeir *et al.* 2003), pourrait augmenter la susceptibilité des CS à ces molécules chimiotactiques. SDF-1 (CXCL12, ligand de CXCR4), MDC (CCL22, ligand de CCR4), ainsi que les ligands de CXCR3, I-TAC (CXCL11) et IP-10 (CXCL10) font partie des substrats préférentiels de DPPIV (Lambeir *et al.* 2001). Leur forme tronquée a une affinité au récepteur et une capacité de signalisation réduites, voire un effet antagoniste (Barreira da Silva *et al.* 2015 ; Van Damme *et al.* 2004). Il a été montré que l'inhibition de l'enzyme DPPIV préserve la forme biologiquement active de CXCL10, et favorise le trafic des lymphocytes CXCR3+ vers l'environnement tumoral (Barreira da Silva *et al.* 2015). Dans le SS, l'activité plasmatique de la forme soluble de CD26 est également réduite en présence de CD26 soluble exogène (Narducci *et al.* 2006).

Le récepteur de sélectines CLA est fortement exprimé par les cellules malignes du MF/SS (Heald *et al.* 1993 ; Lu *et al.* 2001 ; Sokolowska-Wojdylo *et al.* 2005). De plus, ICAM-1, ligand d'intégrine exprimé par les kératinocytes, ainsi que les intégrines α 3 β 1 et VLA-1 (α 1 β 1) retrouvées à la surface des CS, pourraient jouer un rôle dans l'épidermotropisme (Savoia *et al.* 1992 ; Sterry *et al.* 1992).

A côté de l'adressage vers la peau, des molécules de *homing* vers les ganglions, qui pourraient permettre la recirculation des cellules tumorales dans certains types de CTCL, ont également été décrites. L'expression du récepteur de chimiokine CCR7 est forte dans le SS, suggérant une recirculation périphérique des CS (Sokolowska-Wojdylo *et al.* 2005). Elle a également été décrite aux stades plaques / tumeurs du MF, possiblement en lien avec l'envahissement sous-cutané des cellules malignes dans le MF (Hu *et al.* 2014 ; Kallinich *et al.* 2003). L'expression de CD62L (L-sélectine), essentielle pour l'entrée des lymphocytes dans les OLS, a été reliée à la présence de lymphadénopathie (Capriotti *et al.* 2007). CD62L est au contraire faiblement exprimé dans la peau des MF (Magro *et al.* 2005).

Récepteu	r Ligands	Expression et fonction du récepteur sur les lymphocytes en physiologie humaine	Expression du récepteur par les cellules tumorales dans les CTCL
CCR4	CCL17 (TARC), CCL22 (MDC)	Th2, T CLA+ à tropisme cutané, Treg (homing vers la peau et les tissus enflammés)	MF, SS
CCR7	CCL19 (MIP-3b), CCL21 (SLC)	TN, TSCM, TCM (homing vers les OLS)	MF avancé, SS
CCR10	CCL27 (CTACK), CCL28 (MEC)	T CLA+ à tropisme cutané, plasmocytes IgA+, Th22 <i>(homing vers la peau)</i>	MF, SS
CXCR3	CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP-10), CXCL11 (I-TAC)	Th1, NK, ILCs, NKT, B (homing vers les tissus enflammés)	MF > SS Perdu lors de transformation à grandes cellules
CXCR4	CXCL12 (SDF-1)	B (maturation, trafic et fonctions), Tconv et Treg (homing vers la moelle osseuse, synapse immunologique)	MF, SS
CCR3	CCL5 (RANTES), CCL7 (MCP-3), CCL8 (MCP-2), CCL11 (Eotaxine-1), CCL13 (MCP-4), CCL15 (MIP-5), CCL16, CCL24 (Eotaxine-2), CCL26 (Eotaxine-3), CCL28 (MEC)	Th1, Th2 (recrutement de cellules inflammatoires en contexte notamment de réaction d'hypersensibilité)	MF et SS CD30+
CLA	E-sélectine (CD62E), P- sélectine	T à tropisme cutané <i>(diapédèse vers la peau)</i>	MF, SS
CD62L	L-sélectine	TN, TSCM, TCM (extravasation vers les OLS)	CTCL avec atteinte ganglionnaire

Tableau 4 – Récepteurs de chimiokines, sélectines et leurs ligands, impliqués dans les CTCL (OLS : organe lymphoïde secondaire)

- MF / SS : des maladies distinctes ?

L'origine sanguine ou cutanée des CTCL est inconnue. D'autre part, MF et SS présentent des caractéristiques cliniques et histologiques très proches (Kamarashev *et al.* 1998). Ceci peut laisser envisager que le SS et le MF, seraient des stades cliniques différents de la même maladie, le SS étant la forme clinique la plus avancée, avec franchissement par les CS de la barrière cutanée vers les ganglions et le sang. Cependant très peu de patients diagnostiqués MF au stade précoce évoluent vers un SS, et la plupart des patients Sézary sont diagnostiqués d'emblée au stade IV, érythrodermiques. La frontière EMF / SS est moins évidente, certains patients évoluant vers un SS et d'autres non. Un des buts de l'étude PROCLIPI est d'améliorer la stratification de ces patients (Scarisbrick *et al.* 2018a).

L'analyse onco-génomique comparative du MF tumoral et du SS montre des profils hétérogènes entre les patients MF, qui diffèrent cependant beaucoup des patients SS. Les altérations chromosomiques les plus fréquentes dans le SS sont des gains de régions dans les bras longs des chromosomes 17 (17q22-25, 80% de gain dans le SS contre 30% dans le MF) et 8 (8q22-24, 75% de gain dans le SS contre 25% dans le MF), ce dernier étant responsable d'une surexpression du gène *MYC*, peu détectée dans le MF. Dans le MF tumoral, les altérations principales sont les gains dans le bras long du chromosome 7 (7q21-36, 55% de gain dans le MF versus 10-20% dans le SS) et d'autres anomalies détectées dans moins de 20% des SS. Elles sont reliées à d'autres cibles oncogéniques ou gènes suppresseurs de tumeurs dans le MF, tels *RB1*, *CDKN2A*, *MCL1*, *MDMX* et *FASTK*. Le MF avancé découlerait donc de mécanismes moléculaires distincts du SS (van Doorn *et al.* 2009). Néanmoins, une étude postérieure retrouve une ségrégation de certains patients MF transformés avec des patients SS, en analyse non supervisée (Laharanne *et al.* 2010).

Une théorie distinguant le MF du SS, sur la base du stade de maturation du clone tumoral, a ensuite été développée par l'équipe américaine de Thomas S. Kupper et Rachael A. Clark. Grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-TCRVβ spécifiques des clones, ces auteurs ont montré que les CS de patients Sézary sont de phénotype CCR7+CD62L+CD27+CCR4+, à la fois dans la peau (n=6) et le sang (n=12), avec une expression de CLA plus forte dans la peau. Les cellules malignes de patients MF (stades IA/IB) sont décrites quant à elles, de phénotype CCR7-CD62L-CD27-CCR4+CLA+, dans la peau (n=15) et le sang (n=1). Pour les auteurs, ces phénotypes sont en faveur de cellules TCM malignes dans le SS et TEM dans le MF, bien que des expressions variables de CD45RA et CD45RO soient observées dans leur étude (Campbell *et al.* 2010).

L'alemtuzumab est un anticorps monoclonal (AcM) dirigé contre CD52, molécule exprimée par l'ensemble des lymphocytes T. Son administration entraîne une lymphopénie profonde. Dans la peau, l'équipe de T.S. Kupper a constaté la déplétion sélective des populations CCR7+CD62L+ de type TCM, alors que les populations CCR7-CD62L- de types TEM/TRM sont préservées (Clark et al. 2012). En raccord avec leur précédente étude, ceci expliquerait pourquoi l'alemtuzumab peut induire des rémissions à long terme dans le SS mais est au contraire peu efficace dans le MF (de Masson et al. 2014b). L'inefficacité de l'alemtuzumab sur les populations résidentes cutanées pourrait être lié à la rareté dans la peau des polynucléaires neutrophiles et cellules NK, nécessaires aux mécanismes de cytotoxicité à médiation cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) (Clark et al. 2012). Pour les auteurs, ces observations confirmeraient un modèle dans lequel les cellules tumorales du SS sont des TCM CLA+CCR4+ capables de recirculer entre le sang, les ganglions et la peau, alors que les cellules tumorales du MF sont des TEM CLA+CCR4+, ou plus exactement des TRM, car CD69+ (Clark 2015 ; Watanabe et al. 2015). Ultérieurement, un troisième type de cellules tumorales a été observé par cette équipe dans la peau, de phénotype CCR7+CD62L-CD69+/-CLA+ qu'ils dénommèrent TMM pour « Migratory Memory T cells ». Ce phénotype avec dissociation des expressions de CCR7 et du CD62L, est également observé dans la peau saine. Les TMM recirculent entre le sang et la peau, et sont

déplétées par l'alemtuzumab. Les ganglions anormaux chez ces patients tendent à être strictement limités aux ganglions drainant les lésions, ce qui pourrait être expliqué par l'absence de CD62L nécessaire à l'extravasation vers les ganglions plus distaux.

Le phénotype des cellules néoplasiques serait donc relié à l'aspect clinique du CTCL (Figure) : les TCM à tropisme cutané, capables de recirculer largement, seraient responsables de l'érythrodermie généralisée et de la leucémisation du SS ; les TRM résidentes au niveau de la peau seraient à l'origine des lésions fixes à contour net en macules ou plaques du MF ; tandis que les TMM à recirculation limitée engendreraient de multiples lésions érythémateuses à contour mal défini (Watanabe *et al.* 2015). Les TCM peuvent parfois être associées à des TMM ou TRM malignes.

Néanmoins, ce modèle développé à partir de l'exploration d'un petit nombre de patients (inférieur à 13 par étude), mériterait d'être confirmé à large échelle par d'autres équipes, et les définitions phénotypiques d'être approfondies sur le plan moléculaire et fonctionnel.

2.2. Caractéristiques tumorales et immunologiques de la CS

2.2.1. À la recherche de biomarqueurs de surface positifs de CS

La mise en évidence de CS, selon les critères internationaux, repose toujours aujourd'hui soit sur l'analyse cyto-morphologique opérateur-dépendante, soit sur la perte non spécifique et inconstante de marqueurs pan-T. Afin de caractériser et d'isoler correctement ces cellules malignes, un marqueur positif de surface, sensible et spécifique, paraît indispensable, aussi bien pour harmoniser les pratiques de recherche que pour les pratiques hospitalières de diagnostic, classification pronostique et suivi des patients.

2.2.1.1 Identification par la clonalité du TCR

Le locus humain du *TCRVB* comprend 39 à 47 segments géniques fonctionnels appartenant à 23 familles Vß d'après leurs homologies de séquence (Rowen *et al.* 1996 ; Vonderheid *et al.* 2005). Les anticorps monoclonaux spécifiques de familles du TCRVβ peuvent être utilisés en CMF pour identifier le clone tumoral (Schwab *et al.* 2002), mais ce panel d'anticorps disponible dans le commerce ne couvre que 70% du répertoire VDJβ (Langerak *et al.* 2001). Une déviation du répertoire peut être repérée chez les patients SS avec un fort clone tumoral circulant (Scala *et al.* 2015). Le panel d'anti-TCRVß paraît cependant inadapté pour la quantification des CS en pratique courante hospitalière, et

nécessite en recherche de sélectionner les patients étudiables. En outre, certains clones ne sont pas reconnus par l'anticorps spécifique, possiblement à cause de variations épitopiques, de moindre réactivité au sein d'une même famille Vβ, ou d'une sous-expression du TCRαβ à la surface de la CS. Enfin, il faut se méfier de la nature même de l'expansion clonale observée, qui peut certes identifier le clone tumoral, mais correspondre à un autre type de lymphoprolifération T, voire à un clone réactionnel (anti-tumoral, inflammatoire, ou encore lié à l'âge) (Ortonne *et al.* 2006). Tout marquage par un anti-TCRV β inclue de plus une petite partie de cellules T non tumorales, comprise dans la diversité du répertoire physiologique de l'individu. Ce procédé d'identification ne relève donc pas d'un marqueur universel de CS.

2.2.1.2. KIR3DL2 / CD158k

En 2001, en collaboration avec Alessandro Moretta qui découvrit la famille des « Killer-cell Immunoglobulin-like Receptors » (KIRs), l'équipe de Martine Bagot et Armand Bensussan montra, sur deux lignées cellulaires de CTCL, la réactivité pour les anticorps monoclonaux Q66 (IgM) et AZ158 (IgG2a) reconnaissant le KIR-p140, parmi un panel dirigé contre les récepteurs inhibiteurs aux molécules HLA de classe I. Elle fut également observée sur les LT sanguins et cutanés de patients SS/MF. Le séquençage des transcrits mit en évidence deux allèles possibles pour cette molécule, 3DL2*001 et 3DL2*008, ce dernier étant rapporté pour la première fois (Bagot 2001 ; Gardiner *et al.* 2001). La molécule p140 était jusqu'alors connue chez le sujet sain, comme appartenant à la famille des KIRs. Elle est constituée de trois domaines « Immunoglobulin-like », et exprimée uniquement par certaines cellules NK et une sous-population de lymphocytes T CD8+ activés. Son rôle en physiologie est de médier un signal inhibiteur suite à la liaison avec les allèles HLA-A3 et HLA-A11, ce qui empêche l'activité cytotoxique de ces cellules (Moretta *et al.* 1997 ; Pende *et al.* 1996) (Figure). Cette molécule fut dénommée KIR3DL2 lors de l'homogénéisation de la nomenclature des KIRs, et CD158k en nomenclature « Cluster of Differentiation » (utilisée pour les protéines de surface des cellules immunitaires).

Une équipe américaine entreprit de reproduire l'analyse d'expression des récepteurs KIRs à la surface des lymphocytes de patients Sézary, et observa également que seul le KIR3DL2 était fortement exprimé (chez 32/33 patients) (Bahler *et al.* 2008). Ce biomarqueur fut ensuite largement développé sur le site de l'hôpital Saint-Louis à Paris, grâce à la collaboration étroite entre le service de Dermatologie (Pr Martine Bagot), les laboratoires d'Immunologie / Hématologie, les unités INSERM U976 (Pr Armand Bensussan), INSERM U1160 (Pr Antoine Toubert, Dr Hélène Moins-Teisserenc), ainsi que grâce à la mise à disposition de l'AcM anti-CD158k/KIR3DL2 par la firme Innate-Pharma à Marseille.

- Caractérisation du KIR3DL2 comme biomarqueur dans les CTCL :

KIR3DL2 a été étudié en biologie moléculaire par Nicolas Ortonne *et al*. L'analyse comparative entre typage moléculaire par technique Immunoscope, et phénotypique par emploi d'anticorps anti-TCRVβ et anti-KIR3DL2, dans le sang et la peau, suggère que le KIR3DL2 permet de différencier clones tumoraux et réactionnels (Ortonne *et al*. 2006). La quantification des transcrits KIR3DL2 dans la peau a permis de distinguer 10 patients SS et 10 patients atteints de MF transformés, de 26 patients atteints d'EID (Ortonne *et al*. 2008, 2012).

Des études ultérieures sur des cohortes de plus de 25 patients montrent la corrélation positive entre les pourcentages et les valeurs absolues de lymphocytes CD3+KIR3DL2+ déterminés en CMF (anticorps AZ158), et de cellules atypiques identifiées sur frottis sanguin (Bouaziz et al. 2010), avant et sous traitement (Bouaziz et al. 2010 ; Klemke et al. 2008 ; Poszepczynska-Guigné et al. 2004). En CMF, le panel d'identification et la stratégie de fenêtrage ont été affinés afin d'exclure les cellules non Sézary pouvant fixer l'anti-KIR3DL2 : monocytes CD14+, T CD8+ et lymphocytes NK CD56+ et/ou CD16+, tout en prenant en compte la variabilité de taille des CS et des éventuels défauts d'expression du CD3 et CD4 (Figure A). Ainsi chez 55 patients CTCL, des corrélations positives ont été retrouvées entre chacun des quatre paramètres suivants, en valeurs absolues par µL de sang : clone T (déterminé par Immunoscope quantitatif), T KIR3DL2+, T CD4+CD26-, et compte de CS sur frottis sanguin. Le chiffre de T KIR3DL2+ et le compte absolu du clone T ont été les mieux corrélés (r²=0,78). De plus la diminution des cellules T KIR3DL2+ a été associée à une réponse clinique chez 12 patients SS (Moins-Teisserenc et al. 2015). Une autre étude montre que, chez 64 patients SS, un seuil ≥5% de cellules KIR3DL2+ parmi les lymphocytes T non CD8+, est associé à une sensibilité de 87,5%, contre 81,8% pour le critère EORTC reposant sur la perte de CD26 (≥ 30% CD4+CD26-). En analyse multivariée, un pourcentage de cellules KIR3DL2+ >85% parmi les T CD3+ est associé de manière significative à une survie réduite (3,2 ans versus 5,7 ans), montrant pour la première fois l'intérêt pronostique de ce marqueur. Sous traitement, KIR3DL2 paraît être un bon marqueur de maladie résiduelle, puisque les CS KIR3DL2+ peuvent être détectées en l'absence de cellules atypiques en cytologie, et sont les premières à réapparaître en cas de rechute (Hurabielle et al. 2017).

La clonalité de la population lymphocytaire T KIR3DL2+ triée a été confirmée par analyse de taille de la région CDR3 du TCRVβ (par Immunoscope), chez plusieurs patients des deux dernières études, alors que la population T KIR3DL2- restait polyclonale (Moins-Teisserenc *et al.* 2015 ; Poszepczynska-Guigné *et al.* 2004).

Pour pallier les difficultés liées à l'utilisation du clone AZ158 (Boonk *et al.* 2016), Innate-Pharma développa par la suite un clone plus réactif et spécifique pour KIR3DL2, le MOG1-M-K322-13E4 (IgG1)

(Marie-Cardine *et al.* 2014), qui est utilisé désormais en pratique courante à l'hôpital Saint-Louis depuis 2014, pour le diagnostic et le suivi des patients CTCL.

En immunohistochimie, le clone AZ158 initial montrait une réactivité croisée avec KIR3DL1/S1 (Pende *et al.* 2019), ce qui limitait fortement sa spécificité (Ortonne *et al.* 2008). La réactivité et la spécificité pour KIR3DL2, sur sections congelées, furent nettement améliorées lors du développement par Innate-Pharma du clone MOG1-MK323-12B11 (IgG1). Une étude avec ce nouvel anticorps montre une très bonne spécificité du KIR3DL2 pour les CTCL, puisque les donneurs sains et les EID présentent des médianes d'expression parmi les cellules lymphoïdes de 0,2% et 4,9% seulement, respectivement. Outre le MF/SS, divers types de CTCL expriment à plus de 5% le KIR3DL2 (Figure B), comme l'ALCL, le lymphome primitif cutané T $\gamma\delta$, l'ATLL, et quelques autres types plus rares de CTCL (Battistella *et al.* 2017 ; Hurabielle *et al.* 2018), ouvrant les perspectives d'utilisation de ce biomarqueur en anatomopathologie.

Ce marqueur n'a néanmoins toujours pas été évalué dans des études multicentriques internationales, lui permettant d'être finalement validé par les instances savantes, et intégré aux critères internationaux de diagnostic, pronostic et de suivi des CTCL.

Compte tenu de la quasi-absence du KIR3DL2 sur les T CD4+ de donneurs sains, aussi bien que chez les patients atteints d'EID, la signification de ce récepteur à la surface des cellules malignes pourrait être un élément clé dans leur physiopathologie.

Expression et fonctions de KIR3DL2 à la surface des lymphocytes :

La nomenclature des récepteurs de la famille des KIRs (CD158) indique que KIR3DL2 est un « KIR-L », caractérisé par une longue partie cytoplasmique comprenant des motifs inhibiteurs ITIMs (*immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motifs*), qui une fois phosphorylés recrutent des phosphatases (Figure), contrairement aux « KIR-S » qui sont des récepteurs activateurs. La terminaison « 3D » précise qu'il est constitué de trois domaines « immunoglobulin-like ».

Les KIRs constituent des récepteurs majeurs pour les cellules NK aux stades tardifs de leur différenciation, en particulier sur les populations CD56^{dim}CD16^{bright}. Le panel de récepteurs KIRs inhibiteurs exprimé par la cellule NK, lui permet de réagir par levée d'inhibition, face à des cellules accusant la perte des molécules du « soi » de l'individu, que sont le CMH I (Cisneros *et al.* 2020 ; Pende *et al.* 2019).

Le gène *KIR3DL2* est retrouvé dans l'ensemble des haplotypes NK et est localisé à l'extrémité télomérique du locus génique de la famille KIR (19q13.4). Sa séquence comprend plusieurs éléments

régulateurs, notamment des sites de liaison putatifs pour les facteurs de transcription RUNX, c-myc, p53 et NF-κB. L'activité transcriptionnelle du gène a été relié à l'hypo-méthylation de son promoteur et aux modifications des histones (Shaw et Kollnberger 2012). 84 polymorphismes alléliques ont été décrits pour *KIR3DL2*, mais aucun allèle en particulier n'a été associé au CTCL, puisque chez les CS de patients, des expressions homozygotes ou hétérozygotes de KIR3DL2*001, 002, 003, 005, 007, 008 et 009 ont été retrouvées (Bagot 2001 ; Musette *et al.* 2003) .

Les premiers ligands identifiés pour KIR3DL2 furent les molécules de classe I HLA*03, HLA*11. La séquence du peptide lié interviendrait dans la reconnaissance du complexe peptide-CMH par KIR3DL2, ce qui le distingue d'autres KIRs inhibiteurs (Shaw et Kollnberger 2012). KIR3DL2 est en effet capable de se lier à des tétramères HLA-A3 et HLA-A11 chargés d'épitopes dérivés du virus EBV, alors qu'aucune interaction n'a lieu avec des peptides modifiés en position 8, ou des peptides du soi (Hansasuta *et al.* 2004). La molécule de classe I non classique HLA-F est également reconnue par KIR3DL2, lorsqu'elle est exprimée en surface en conformation ouverte (sans peptide ni ß2-microglobuline) (Goodridge *et al.* 2013), ainsi que HLA-B27 sous forme d'homodimère sans ß2-microglobuline ni peptide (Kollnberger *et al.* 2007), ce qui pourrait associer KIR3DL2 à des maladies inflammatoires. Au-delà de la reconnaissance des molécules du soi, KIR3DL2 a été reconnu comme un senseur de motifs moléculaires caractéristiques des microbes, les PAMPs (« pathogen-associated molecular patterns »). En effet, le domaine extracellulaire D0 est capable de reconnaître les oligodeoxynucléotides CpG (DDNs) des ADN bactériens, entraînant l'internalisation du récepteur KIR, puis une sécrétion d'IFN-y par les cellules NK, qui pourrait être médiée par la liaison des ODNs à leur récepteur TLR9 (famille des récepteurs *Toll-like*) dans le compartiment endosomal (Sivori *et al.* 2010).

Les KIRs, dont KIR3DL2, sont également exprimés par certaines sous-populations effectrices T CD8+, Tγδ et de rares T CD4+ (Mingari *et al.* 1996 ; van Bergen *et al.* 2004). Elles deviennent plus fréquentes avec l'âge et lors de maladies inflammatoires chroniques. Les KIRs de ces LT, après reconnaissance d'une molécule de classe I, exercent une action distincte de celle des KIRs des cellules NK : recrutés à la synapse immunologique, ils contribueraient à éteindre la signalisation du TCR passé un certain délai (Henel *et al.* 2006). L'origine clonale ou pas de ces populations n'est pas claire (Mingari *et al.* 1996 ; Snyder *et al.* 2002). Pour KIR3DL2, des fréquences de 9% (4,6–13,7%, clone DX31, IgG2a) sur les T CD8+ (Chan *et al.* 2005), et de 1,4% (0,2-8,7%, clone 13E4) sur les T CD4+ (Marie-Cardine *et al.* 2014), ont été rapportées, avec cependant deux clones différents d'AcM utilisés pour les marquages. Les cellules T KIR3DL2+ sont augmentées dans les maladies inflammatoires comme la spondylarthrite et l'arthrite juvénile, chez les malades HLA-B27+, avec un phénotype effecteur de type Th17, fortement activé (Bowness *et al.* 2011 ; Chan *et al.* 2005). Il a été montré dans ces maladies que la liaison du HLA-B27 au KIR3DL2 entraîne une inhibition de la production d'IFN-γ par les NK, une sécrétion d'IL-17 pro-

inflammatoire par les Th17, et promeut la survie des NK et T KIR3DL2+. Les NK KIR3DL2+ de ces patients présentent un phénotype activé et une activité cytotoxique renforcée (Bowness *et al.* 2011 ; Chan *et al.* 2005 ; Kollnberger *et al.* 2007 ; Payeli *et al.* 2012).

- Hypothèses sur la signification de KIR3DL2 à la surface des CS :

La fonctionnalité de KIR3DL2 à la surface des CS a été testée *in vitro* lors de stimulations du TCR par anti-CD3, en présence ou non de l'AcM AZ158 anti-KIR3DL2 (Thonnart *et al.* 2014). L'engagement de KIR3DL2 aboutit à une forte inhibition de la phosphorylation du CD3ζ, ainsi que de la prolifération des CS et de l'apoptose CD3-dépendante par AICD. KIR3DL2 serait donc fonctionnel en tant que récepteur co-inhibiteur, et pourrait contribuer à la résistance à l'apoptose des CS. Cependant à ce jour, aucun ligand naturel pour cette voie de signalisation n'a été mis en évidence dans les CTCL.

La piste des CpG ODNs a été explorée. Sivori et al. (2010), rapportent une forte régulation négative de KIR3DL2 suite à l'exposition aux ODNs, comparable au mécanisme chez les NK KIR3DL2+ de donneurs sains décrits ci-dessus, mais sans sécrétion détectable de cytokines, malgré la présence de transcrits TLR9. En immunofluorescence, la protéine KIR3DL2, mais pas TLR9, a été retrouvée dans le compartiment endolysosomal. De façon inattendue, l'interaction avec les ODNs *in vitro* entraîne une apoptose des CS, médiée par la voie des caspases (Ghazi *et al.* 2015).

Par ailleurs, l'expression d'une molécule habituellement exprimée par les cellules NK pose la question d'une reprogrammation du lymphocyte T CD4+ malin vers la lignée NK. D'autres récepteurs NK ont ainsi été analysés pour explorer cette hypothèse (Schmitt *et al.* 2013).

2.2.1.3. Autres marqueurs habituels de lignée NK

Les autres récepteurs KIRs ont été explorés à plusieurs reprises, et parfois retrouvés de manière inconstante sur les CS, notamment CD158a (KIR2DL1) et CD158b (KIR2DL2/L3) (Boonk *et al.* 2016 ; Marie-Cardine *et al.* 2007 ; Ortonne *et al.* 2012).

Une autre famille de récepteurs exprimés par les cellules NK, les NCRs (*natural cytotoxicity receptors*), ont été recherchés. Seul NKp46 a pu être retrouvé co-exprimé avec KIR3DL2 sur les CS circulantes de 12/13 patients SS, et absent dans les cas de MF et d'EID. L'engagement de NKp46 par l'AcM spécifique n'entraîne pas de différence de croissance spontanée des CS *in vitro*, mais réduit très fortement la prolifération médiée par le TCR, avec une phosphorylation diminuée du CD3ζ, sans mort cellulaire

détectable (Bensussan *et al.* 2011). Les transcrits NKp46 ont également été retrouvés sur sections microdisséquées parmi les T CD4+ résidents cutanés de patients SS et MF (Schneider *et al.* 2014).

Un autre récepteur inhibiteur spécifique pour les molécules de classe I, ILT2 / CD85j (*Ig-like transcript* 2), habituellement exprimé en surface des lymphocytes B, certains NK et T CD8+, a été retrouvé avec une intensité faible et variable chez 12/12 patients SS. Les cellules T CD4+ILT2+ sont moins sensibles à l'AICD que la contrepartie ILT2- (Nikolova *et al.* 2002b). ILT2 a été associé à des T CD8+ spécifiques pour l'EBV, le VIH et le CMV, et l'engagement de ce récepteur inhibe significativement la production d'IFN-y par les CTL (Ince *et al.* 2004).

L'expression de protéines cytotoxiques comme le granzyme B et le TIA-1, a aussi été rapportée en immunohistochimie, dans des cas de MF (Vermeer *et al.* 1999). Aucune activité cytotoxique des CS n'a cependant été montrée, et leur sécrétion cytokinique diffère largement des cellules NK classiques (IFN- γ , TNF- α), comme on le verra par la suite.

2.2.1.4. Autres biomarqueurs potentiels

Une protéine du cytosquelette, la vimentine (filament intermédiaire), induite uniquement de façon précoce et transitoire à la surface des LT sains, a été retrouvée à la surface des CS (identifiées par le TCRVß ou le KIR3DL2) (Huet *et al.* 2006 ; Nikolova *et al.* 2001, 2002a). Toutefois, Ortonne et al. ont retrouvé par la suite que la vimentine est également exprimée à la surface des T CD4+ bénins chez les patients CTCL (Ortonne *et al.* 2006). Là encore, l'engagement de ce récepteur sur les CS inhibe la prolifération médiée par la stimulation du TCR.

Par ailleurs, tandis que la surexpression de la molécule CD60 (ganglioside GD3 O-acétylé) avait déjà été constatée dans le sang et la peau de patients Sézary (Hansen *et al.* 1993), une équipe italienne a rapporté l'association de la population clonale TCRVß+CD26- chez ces patients, à un phénotype CD60+CD49d- (Scala *et al.* 2002, 2010).

Enfin, la surexpression de molécules associées aux CS constituent de nouveaux biomarqueurs potentiels, comme la sialomucine CD164, molécule d'adhésion (Benoit *et al.* 2017), ou encore l'ectonucléotidase CD39 (Bensussan *et al.* 2019).

L'analyse des altérations génétiques, épigénétiques et transcriptomiques de la CS constitue une autre piste pour le développement de biomarqueurs. Elles seront ici présentées sous forme synthétique, ne faisant pas l'objet de cette thèse. Nous insisterons sur les altérations touchant les voies de signalisation T critiques, impliquées dans la pathogenèse des CTCL.

2.2.2. Altérations génétiques, épigénétiques et transcriptomiques de la CS, signatures de la maladie

2.2.2.1. Altérations chromosomiques

Les CS sont des cellules tumorales, présentant fréquemment des anomalies de leur contenu en ADN (Lima *et al.* 2003), avec une instabilité chromosomique et microsatellitaire, attestée par la présence de marqueurs de cassures double-brin de l'ADN (Tsang *et al.* 2018).

La technique de CGH-array (*comparative genomic hybridization*) a permis de dégager dans le MF/SS de fréquentes délétions touchant les bras chromosomiques 1p et 17p (Caprini *et al.* 2009 ; Salgado *et al.* 2010 ; van Doorn *et al.* 2009 ; Vermeer *et al.* 2008), mais les caryotypes sont complexes et hétérogènes (Mao *et al.* 2002).

De nombreux gènes, dont des suppresseurs de tumeurs et oncogènes, sont ainsi remaniés par délétion, duplication, ou translocation, engendrant des variations de leur nombre de copies (CNV pour *copy number variation*) (Choi *et al.* 2015 ; lżykowska *et al.* 2017 ; Prasad *et al.* 2016 ; Wang *et al.* 2015). L'ampleur de l'instabilité chromosomique est caractéristique des CTCL, puisque 92% des mutations impliquées sont le résultat de CNVs plutôt que de mutations ponctuelles, alors que ces dernières sont largement majoritaires dans la plupart des cancers (Choi *et al.* 2015). Plusieurs mécanismes ont été évoqués pour la génération des CNVs, dont la mutation de gènes de réparation de l'ADN, la réactivation de rétrotransposons et des endonucléases RAG (Choi *et al.* 2015 ; Damsky et Choi 2016), mais aussi l'altération de l'activité télomérase (Chevret *et al.* 2014) et l'expression ectopique de gènes germinaux de la méiose (Gantchev *et al.* 2019 ; Tsang *et al.* 2018).

2.2.2.2. Altérations génétiques, épigénétiques et transcriptomiques

En dehors des CNVs, il existe des mutations somatiques ponctuelles par variation d'un nucléotide (SNVs pour *single nucleotide variant*). Leur taux dans le SS est comparable à celui observé dans les tumeurs solides de l'adulte (3,8 mutations / Mb) (Wang *et al.* 2015). En revanche, les CTCL se distinguent par le fait que la majorité des SNVs sont des transitions C > T (67,5%) (Park *et al.* 2017). Ces mutations peuvent être attribuées à la fois à l'âge et aux rayons UV, quels que soient les antécédents de photothérapies (Choi *et al.* 2015 ; Wang *et al.* 2015).

La connaissance de l'oncogénome des SS a grandement progressé depuis l'avènement des techniques NGS (séquençage de nouvelle génération) en haut débit. De nombreuses études génomiques et trancriptomiques ont été menées depuis les années 2000, avec des résultats divers liés aux méthodologies très variables employées (Dulmage et Geskin 2013), à savoir la technologie, les stades de CTCL et effectifs étudiés, le type d'échantillon (cutané congelé ou en paraffine, PBMCs, T CD4+ sanguines totales ou CS triées), type de référentiel pour les études transcriptomiques (donneurs sains, T CD4+ saines préalablement polarisées Th2 *in vitro*, patients EID, contrepartie bénigne des T CD4+ des patients CTCL). La plupart des études partent de matériel cellulaire total, et donc en plus de refléter le contenu en ARN des cellules malignes, même majoritaires, peuvent être entachées par les modifications liées à l'environnement tumoral. Ces multiples choix d'analyse ne répondent pas aux mêmes objectifs et ont pour conséquence la complexification de la vision globale sur les CTCL, d'autant que les patients sont hétérogènes entre eux et durant l'évolution de leur maladie, comme souligné par Litvinov et collègues (2017). Néanmoins, la vue peut être systématisée par l'analyse de groupes de gènes impliqués dans des processus biologiques, en approche statistique GSEA (« Gene Set Enrichment Analysis ») (Subramanian *et al.* 2005), ou bio-informatique IPA (« Ingenuity Pathways Analysis ») (Dulmage et Geskin 2013 ; Krämer *et al.* 2014).

Une méta-analyse rassemblant les résultats de 9 études, soit 220 cas de CTCL, dont 186 SS et 25 MF, a été publiée en 2017 (Park *et al.* 2017). 55 gènes potentiellement impliqués dans l'oncogenèse, dits « drivers » ont été ainsi identifiés dans le CTCL. La vision moléculaire du MF reste à ce jour plus limitée que celle du SS, probablement du fait de l'accès moins évident aux biopsies cutanées, cependant un seul gène « driver » (*MAPK1*) présentait un enrichissement significatif dans les MF comparé au SS. Ces gènes « drivers » relèvent de trois grandes catégories : les gènes canoniques du cancer (gènes suppresseurs de tumeurs et oncogènes), les gènes spécifiques de la lignée T, et les gènes impliqués dans la modification chromatinienne. L'expression aberrante de gènes normalement non exprimés par les T matures a par ailleurs été relevée.

- Gènes canoniques du cancer :

Ces gènes classiquement associés aux cancers concernent tout d'abord des gènes suppresseurs de tumeurs comme *ATM*, *RB1*, ou *TP53*, qui est l'anomalie la plus récurrente dans le SS (Chevret et Merlio 2016). *TP53* a été retrouvé délété (17p13) ou muté dans plus de 60% des SS, et délété dans 9% des MF (Choi *et al.* 2015 ; Prasad *et al.* 2016 ; van Doorn *et al.* 2009). Des altérations génétiques peuvent affecter des protéines du cycle cellulaire et de réparation de l'ADN (Litvinov *et al.* 2015), ainsi que la voie des MAP kinases (*mitogen-activated protein kinases*), impliquée dans la croissance cellulaire et la régulation de l'apoptose (Park *et al.* 2017) (Figure D).

Enfin, des gènes impliqués dans l'apoptose peuvent subir des altérations, comme *FAS* ou *TNFRSF10A* (codant TRAIL-R1). Les transcrits SATB1, BIN1, FasL et du récepteur de mort Fas (CD95), sont régulés négativement, et JUNB, c-FLIP, Bcl-2 positivement dans les CTCL, participant à la résistance à l'apoptose des CS (Contassot *et al.* 2008 ; Dereure *et al.* 2000 ; Dulmage et Geskin 2013 ; Esmailzadeh *et al.* 2015 ; Jones *et al.* 2010 ; Klemke *et al.* 2009 ; Li *et al.* 2018 ; Wang *et al.* 2011 ; Wu *et al.* 2009).

Toutes ces altérations contribuent à la survie de la cellule tumorale.

- Gènes spécifiques de lignée T (Figure B) :

De nombreux gènes impliqués dans la signalisation et la différenciation T ont été impliqués (Wang *et al.* 2015), suggérant des propriétés et des fonctions particulières pour les CS.

La signalisation du TCR (Figure), tout d'abord, paraît hyperactivée à tous les niveaux. L'avidité de la molécule de costimulation CD28 pour les molécules de la famille B7 (CD80, CD86), peut être augmentée par mutations gain de fonction (Choi *et al.* 2015), ou nouveaux transcrits de fusion CTLA4-CD28 et ICOS-CD28 (Ungewickell *et al.* 2015 ; Wang *et al.* 2015). A l'inverse, des délétions sont fréquentes dans *PDCD1*, codant la molécule de co-inhibition PD-1 (Choi *et al.* 2015).

De même, à l'échelle transcriptomique, de nombreux gènes T essentiels sont surexprimés, tels *IL2*, les trois chaînes de son récepteur (CD25, CD122, γc), *IL7* et *IL7R*, le marqueur d'activation précoce *CD69*, ainsi que les gènes de la voie du TCR *TCRA*, *TCRB*, *CD3E*, *CD3Z*, *LCK*, *PIK3CD*, *ZAP70*, *FYB*, *TCRIM*, *LAT*, *PLCG1*, et des gènes impliqués dans son activation, comme *SH2D1A*, *SLAMF1*, *PDCD1*, *CD40L* (Hahtola *et al.* 2006 ; Shin *et al.* 2007 ; Tracey *et al.* 2003 ; Zhang *et al.* 2012).

La voie NF-ĸB, majeure pour la régulation de la fonction T, en aval du TCR et de la signalisation de plusieurs cytokines, serait activée constitutivement dans les CTCL. Ceci augmenterait les capacités de prolifération, de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires, et inhiberait l'apoptose des CS (Ungewickell *et al.* 2015 ; Wang *et al.* 2015). Les voies PI3K/Akt, MAPK, c-myc et Wnt sont également souvent sur-représentées par analyses GSEA et IPA (Dulmage et Geskin 2013 ; Lee *et al.* 2012 ; Shin *et al.* 2007 ; van Doorn *et al.* 2004).

La signalisation Jak (*Janus kinases*) / Stat (*Signal transducers and activators of transcription*), normalement déclenchée par la liaison d'interférons et interleukines variées à leur récepteur spécifique, se montre souvent activée de manière constitutive dans les CTCL (Netchiporouk *et al.* 2014). Cette voie active la transcription de nombreux gènes, régulant la prolifération, la différenciation et l'apoptose des cellules T. Des amplifications et de nombreuses mutations gain de fonction, ont été

rapportées pour *JAK1*, *JAK3*, et dans 60% des CTCL pour *STAT3* et *STAT5B* (Kiel *et al.* 2015 ; Park *et al.* 2017) (Figure C). La signalisation Jak/Stat assure la polarisation des cellules Th. Les facteurs de transcription-clés pour la différenciation Th2, GATA3 et Stat5 (Figure), sont positivement régulés dans les CTCL (Kari *et al.* 2003 ; Litvinov *et al.* 2015), tandis que ceux pour la différenciation Th1, T-bet et Stat4, dont régulés négativement (dans les stades avancés seulement pour Stat4) (Hahtola *et al.* 2006 ; Johnson *et al.* 2014 ; Litvinov *et al.* 2015). D'autres facteurs de transcription pousseraient vers une différenciation Th2 dans les CTCL, comme JUNB (Hartenstein *et al.* 2002 ; Li *et al.* 1999), et la régulation négative de *SATB1* et *ZEB1* (Ahlfors *et al.* 2010 ; Fredholm *et al.* 2018 ; Zheng et Flavell 1997).

De façon surprenante, la surexpression de transcrits de cytokines et leurs récepteurs, associés à la polarisation Th17, a également été retrouvée, mais uniquement dans les études cutanées : *IL26, IL17A, IL17F, IL21, IL21R, IL22* (Lefrançois *et al.* 2018 ; Litvinov *et al.* 2015 ; Shin *et al.* 2007).

TGF-ß est une cytokine immunorégulatrice, anti-proliférative et pro-apoptotique, qui bloque la production cellulaire d'IL-2 et d'IFN-γ et oriente les T effecteurs vers les polarisations Th17 et Treg (Li et Flavell 2008). Une sous-expression des gènes *TGFBR2* et *TGFB1, SMAD3* et *SMAD7*, a été observée de façon récurrente dans le SS, suggérant l'extinction de la voie du TGF-ß dans la CS (Dulmage et Geskin 2013 ; van Doorn *et al.* 2004).

Des gènes impliqués dans le tropisme cutané et l'adhésion cellulaire, sont par ailleurs régulés positivement. C'est le cas pour *CCR4*, et les précurseurs *SELPLG* et *FUT7* pour la molécule CLA (Knibbs *et al.* 1996), aussi bien que pour les gènes de la superfamille des intégrines *ITGB1*, *ITGB7*, et *ITGAL*. *SELL* (codant CD62L) et CCR7, impliqués dans le tropisme ganglionnaire, sont majoritairement induits aux stades tumoraux des CTCL (Kari *et al.* 2003 ; Shin *et al.* 2007).

Enfin, un grand nombre de gènes de la famille du TNF ont été retrouvés surexprimés dans le MF/SS (Shin *et al.* 2007). Ils sont impliqués soit dans les voies de stimulation T (HVEM, OX40L, CD27, CD40, CD40L, CD70, RANKL) (Dulmage et Geskin 2013), soit dans la régulation de l'apoptose TNFdépendante (TRAF-1, CD40, TRAIL) (Gyrd-Hansen et Meier 2010 ; Shin *et al.* 2007 ; Tracey *et al.* 2003). La co-expression de CD40 et de son ligand pourrait impliquer une boucle autocrine ou paracrine participant à la survie et à la prolifération des cellules malignes (Storz *et al.* 2001). Il en est de même pour l'interaction CD70-CD27 qui semble particulière au SS (van Doorn *et al.* 2004).

Au final, de nombreuses voies interconnectées sont donc altérées dans le CTCL (Dulmage et al. 2019).

- Gènes modifiant l'architecture chromatinienne (Figure A) :

L'ADN et les histones sont soumis à des modifications chimiques enzymatiques que l'on nomme modifications épigénétiques, modifiant l'architecture chromatinienne et par conséquent l'accès à l'ADN (Audia et Campbell 2016). Peu d'études encore à ce jour portent sur l'épigénome des CS (Qu *et al.* 2017 ; van Doorn *et al.* 2016). Dans les CTCL, la perte de fonction de la méthyl-transférase *DNMT3A*, aussi bien que de la déméthylase *TET2*, ont été rapportées (Park *et al.* 2017), ainsi que des altérations génétiques touchant d'autres modificateurs chromatiniens (Bastidas Torres *et al.* 2018 ; McGirt *et al.* 2015 ; Park *et al.* 2017).

- Altération de l'expression des microARN :

Les microARN (miR), petits ARN non codants, régulent l'expression des gènes au niveau posttranscriptionnel. Par appariement à leur ARN complémentaire cible, ils sont capables d'inhiber de manière spécifique la traduction en protéine. Différents miRs ont été trouvés sur- ou sous-exprimés dans les CTCL, comme dans de nombreux cancers, avec des résultats cependant très hétérogènes (Kohnken et Mishra 2019 ; Narducci *et al.* 2011 ; Qin *et al.* 2012 ; Ralfkiaer *et al.* 2011, 2014 ; Sandoval *et al.* 2015 ; Shen *et al.* 2018). Certains, comme miR-155 et miR-21 ont été reliés dans les CTCL à la voie Jak/Stat (Kopp *et al.* 2013 ; Lindahl *et al.* 2016 ; van der Fits *et al.* 2011a) (Figure).

- Expression aberrante de gènes normalement non exprimés par les T matures :

Les cellules malignes expriment fortement *TOX* (*thymocyte selection-associated high-mobility group box protein*) (Dulmage *et al.* 2019 ; Huang *et al.* 2015 ; Lefrançois *et al.* 2018 ; Morimura *et al.* 2014 ; Zhang *et al.* 2012). Ce facteur de transcription est fortement et transitoirement exprimé lors du développement intra-thymique de la lignée T CD4+. Mais il n'est plus exprimé physiologiquement sur les T CD4+ naïves ni sur les plus matures (Aliahmad *et al.* 2010 ; Wilkinson *et al.* 2002). Le « *silencing* » de *TOX* (*knockdown*) par transfection de la lignée Sézary Hut78 avec un ARN interférent, a montré un impact sur l'expression de plus de 1000 gènes (Xu *et al.* 2019), réduisant sa prolifération et induisant son apoptose (Dulmage *et al.* 2019 ; Huang *et al.* 2015). Dans les CTCL, *TOX* pourrait être induit par *GATA3* (McGirt *et al.* 2016).

Les gènes *BLK* et *POU2AF*, impliqués dans la maturation lymphoïde B, sont exprimés de façon encore plus aberrante (Krejsgaard *et al.* 2009 ; Litvinov *et al.* 2014c ; Shin *et al.* 2007).

PLS3, codant la T-plastine, protéine se liant à l'actine, est un gène non lymphoïde fortement exprimé par les CS (Dulmage et Geskin 2013 ; Kari *et al.* 2003). La T-plastine serait induite par la voie NFAT et impliquée dans la résistance à l'apoptose et la capacité migratoire des CS (Begue *et al.* 2012). D'autres gènes impliqués dans la motilité cellulaire, normalement très peu exprimés par les LT, sont surexprimés dans les CTCL, tels *DNM3*, *VCAN* et *EPH4* (Booken *et al.* 2008 ; Dulmage et Geskin 2013 ; van Doorn *et al.* 2004). Le gène *TWIST*, exprimé dans les MF avancés et le SS (Goswami *et al.* 2012 ; van Doorn *et al.* 2004), code un facteur de transcription impliqué dans la différenciation mésodermique, qui aurait également des propriétés anti-apoptotiques.

Enfin, comme dans de nombreux cancers, les CS expriment des gènes de cellules souches embryonnaires (ESC) et de cellules germinales, dits « Cancer-Testis ». Il a été retrouvé l'expression de gènes impliqués dans le maintien de la pluripotence des ESC (*EED*, *SUZ12*, *EZH2*, *MTF2*, *OCT4*, *CHD7*, *TIP60*), ainsi que des gènes « Cancer-Testis » impliqués dans le processus méiotique (*STAG3*, *SGO2*, *SYCP1*, *SYCP3*, *DMC1*, *REC8*) (Gantchev *et al.* 2019 ; Litvinov *et al.* 2014b ; c). Les gènes ESC pourraient reprogrammer les cellules cancéreuses en cellules souches cancéreuses (CSC), ayant des capacités d'auto-renouvellement, de résistance à l'apoptose, le maintien d'un état non différencié, et capables de regénérer l'ensemble de la tumeur. Un modèle de résistance aux thérapies anti-cancéreuses envisage les CSC comme une population tumorale distincte et quiescente (Ayob et Ramasamy 2018). Les gènes « Cancer-Testis » pourraient quant à eux contribuer à la grande instabilité chromosomique observée dans les CTCL, en rendant par exemple possible les cassures double-brin d'ADN.

La régulation positive de gènes thymiques et « souches » soulève des questions sur la tumorigenèse (Odum 2015). L'expression de *TOX* pourrait laisser présager que la CS dériverait d'un précurseur thymique transformé, mais le fait que l'ensemble des CS présentent des réarrangements fonctionnels du TCR avec un phénotype mature, rend peu probable cette hypothèse. La seconde possibilité serait celle d'une expression secondaire aberrante de ces gènes précoces, qui pourrait être synonyme d'une dédifférenciation. L'expression de ces gènes « souches » doit dans tous les cas jouer sur de nombreuses voies cellulaires et modifier considérablement le programme T des CS.

2.2.2.3. Signatures de la maladie

Ces altérations transcriptomiques ont été exploitées pour développer de nouveaux biomarqueurs moléculaires des CTCL (Cristofoletti *et al.* 2019b ; Dulmage *et al.* 2017).

La rt-qPCR (réverse-transcription PCR quantitative) est une technique relativement simple et peu coûteuse, qui permet de mettre en place des panels utilisables à des fins diagnostiques et/ou pronostiques. Les panels qui ont été proposés dans le sang et la peau sont résumés dans le Tableau 5. Ils nécessiteraient d'être validés à plus large échelle. Par ailleurs, plusieurs panels basés sur les miRs, ont été développés dans la peau (Lindahl *et al.* 2018 ; Marstrand *et al.* 2014 ; Ralfkiaer *et al.* 2011 ; Shen *et al.* 2018), ou à partir du plasma de patients (Dusílková *et al.* 2017). Enfin, l'étude de la méthylation de l'ADN des T CD4+ a permis de proposer des marqueurs épigénétiques pour le diagnostic du SS, notamment l'hyperméthylation du promoteur du gène *CMTM2* (van Doorn *et al.* 2016).

Tableau 5 – Panels de transcrits proposés dans le sang (a) et la peau (b) pour le diagno	ostic / pronostic des CTCL.
Transcrit sans indication : sur-expression ; Transcrit (\downarrow) : sous-expre	ession

a. Panels sanguins							
Transcrits recherchés	Matériel biologique	Sensibilité (Se), Spécificité (Sp)	5.44				
en rt-qPCR	pour extractions ARN	dans les populations testées Se = 84% $Sp = 94%$	<u>Référence</u>				
TRAIL, CD1D	PBMCs	/ 49 SS, 65 HD	al. 2006)				
DNM3, CDO1	T CD4+ circulantes isolées	AUC courbe ROC = 0,956 / 27 SS, 14 MF, 24 EID, 10 HD	(Booken <i>et al.</i> 2008)				
KIR2DL2, NKp46, PLS3, Twist	T CD4+ circulantes isolées	Se = 100%, Sp = 100% / 81 SS, 12 HD Se = 100% au stade B2 (n=81), 78% au stade B1 (n=18), Sp = 100% / 21 EME, 12 HD	(Michel <i>et al.</i> 2013) (Hurabielle et al., 2016)				
DNM3, TWIST1, EPHA4,	T CD4+ circulantes	Se = 98%, $Sp = 100%$	(Boonk et al.				
PLS3, STAT4 (↓)	isolées	/ 55 SS, 19 EID, 4 HD	2016)				
miR-155, miR-203 (↓), miR-205 (↓)	Plasma	Se = 94% , Sp = 100% / 3 SS 7 ME 6 FID 5 HD	(Dusílková <i>et</i> al. 2017)				
mix-203 (‡)	h. Pa	nels cutanés	<i>ui.</i> 2017)				
	Matériel biologique	Méthodes, principaux résultats.					
Transcrits recherchés	pour extractions ARN	populations testées	Référence				
TOX, PDCD1	Biopsies fraîches, matériel congelé en RNA later	rt-qPCR Sp = 100%, Se = 71% (TOX) et 60% (PDCD1) / 21 MF précoces (IA-IB), 15 EID, 21 HD	(Zhang <i>et al.</i> 2012)				
STAT4 (↓), FOXP3 (↓), IL4	Biopsies cutanées congelées	rt-qPCR (ratio sur l'expression du CD3) p<0,05 entre progresseurs et non progresseurs / 18 MF précoces (IA-IIA)	(Johnson <i>et al.</i> 2014)				
CCL18, CCL26, FYB, T3JAM, MMP12, LEF1, LCK, ITK, GNLY, IL2RA, IL26, IL22, CCR4, GTSF1, SYCP1, STAT5A, TOX	Biopsies cutanées congelées	rt-qPCR Quantification corrélée au stade du CTCL / 60 CTCL au diagnostic, 17 EID, 6 HD	(Litvinov <i>et al.</i> 2015)				
TOX, FYB, GTSF1, CCR4	Biopsies cutanées inclues en paraffine	<i>TruSeq Targeted RNA expression assay</i> Différences significatives entre stades de CTCL / 110 CTCL 29 EID	(Litvinov <i>et al.</i> 2017)				
TOX, FYB, CCR4, CD52	Biopsies cutanées inclues en paraffine	<i>TruSeq Targeted RNA expression assay</i> Association significative pour chaque marqueur, à la progression et à une survie raccourcie / 110 CTCL Cohortes de validation externes : RNA-seq / 48 SS, 8 HD	(Lefrançois <i>et al.</i> 2018)				
miR-155, miR-203 (↓), miR-205 (↓)	Biopsies cutanées inclues en paraffine	rt-qPCR Se = 91%, Sp = 97% / 43 CTCL, 60 EID	(Ralfkiaer <i>et al.</i> 2011)				
miR-155, miR-203 (↓), miR-205 (↓)	Biopsies cutanées inclues en paraffine	rt-qPCR Se = 90%, Sp = 98% / 30 CTCL (14 MF précoces I-II, 11 ALCL, 5 NOS), 48 EID	(Marstrand <i>et al.</i> 2014)				
miR-130b, miR-142-3p, miR-155, miR-200b (↓), miR-203 (↓)	Biopsies cutanées inclues en paraffine	rt-qPCR Se = 98%, Sp = 96% / 50 CTCL, 21 EID Cohorte de validation : Se = 96%, Sp = 72% / 50 CTCL, 25 EID	(Shen <i>et al.</i> 2018)				
miR-106b-5p, miR-148a-3p, miR-338-3p	Biopsies cutanées inclues en paraffine	rt-qPCR Prédiction de la progression Hazard ratio (HR) = 3,79 / 82 MF précoces (I-II) au diagnostic, 20 HD Validation, HR = 3,47 / 71 MF précoces	(Lindahl <i>et al.</i> 2018)				

2.2.3. Capacités prolifératives et de survie, rôle de l'environnement cytokinique dans le développement des CS

La fonctionnalité de ces cellules tumorales T a été explorée, notamment au vu des voies de signalisation repérées comme altérées lors des études génétiques et transcriptomiques.

2.2.3.1. Fonctionnalité des voies de signalisation TCR-médiées

- Capacités d'activation et de prolifération des CS in vitro :

De manière spontanée, les CS ne prolifèrent pas en culture in vitro, ni ne sont tumorigènes chez la souris (Carney et al. 1980; Gazdar et al. 1980). Les lectines végétales, telles la phytohémagglutinine (PHA), la concanavaline-A (Con-A) ou le « pockeweed mitogen » (PWM) ont la capacité d'établir des liaisons croisées entre les glycoprotéines des surfaces cellulaires, dont le complexe du TCR, et d'induire un signal mitogène non spécifique pour les cellules T, passant par les voies calciques en présence de certaines molécules accessoires des CPA (Halvorsen et al. 1988 ; Ijichi et al. 1996 ; Palacios 1982). Les PBMCs de patients Sézary répondent mal aux stimulations par ces agents mitogènes classiques, par rapport aux LT sains (Carney et al. 1980 ; Dalloul et al. 1992 ; Gazdar et al. 1979, 1980 ; Golstein et al. 1986 ; Romagnani et al. 1982). Il en est de même pour la stimulation du TCR par anti-CD3, avec ou sans costimulation anti-CD28 (McCusker et al. 1997 ; Thonnart et al. 2014). La signalisation du TCR déclenchée par ces moyens est réduite, comme attesté par la faible activité enzymatique de Csk, Syk, Lck et Zap-70 (Fargnoli et al. 1997). De même les marqueurs d'activation CD25 et CD69 restent inconstants après stimulation par anti-CD3 (French et al. 2005). En revanche, une réponse synergique de croissance des CS est observée avec des molécules accessoires, par exemple lorsque la PHA et l'anti-CD28 sont combinés, ou lorsque l'anti-CD3 est employé en co-culture avec des CPA allogéniques inactivées (McCusker et al. 1997). De même, une synergie est observée avec la PMA (phorbol myristate acetate) qui stimule directement les voies calciques (Hansen et al. 1993). Ce besoin de co-activation pourrait être expliqué par la faible capacité des CS à réguler positivement l'expression du CD40L après activation du TCR (French et al. 2005 ; McCusker et al. 1997). Ces données sont donc en faveur d'une signalisation du TCR altérée chez la CS.

- Susceptibilité des CS à la mort cellulaire par AICD (Figure) :

Conformément aux résultats des études moléculaires, il est admis que les CS sont résistantes à l'AICD, ce qui leur confère un avantage de survie (Klemke *et al.* 2009 ; Ni *et al.* 2005 ; Wu *et al.* 2015). Cette

propriété serait en partie liée à un défaut d'activation de la PLC-γ1 en aval du TCR (Wu *et al.* 2015). Il en résulte une faible production de radicaux libres (ROS) et l'absence d'influx calcique, nécessaires à l'induction de *Fas* et *FasL* (Hildeman *et al.* 2003 ; Klemke *et al.* 2009 ; Ni *et al.* 2005). Ils peuvent être restaurés grâce à un traitement PMA-ionomycine, entraînant l'apoptose (Klemke *et al.* 2009).

Les membres de la famille du TNF et KIR3DL2 pourraient aussi être impliqués, comme évoqué précédemment (Contassot *et al.* 2008 ; Thonnart *et al.* 2014).

- Expression des molécules de costimulation du TCR :

Les cellules T néoplasiques du CTCL sont caractérisées par l'expression récurrente de certaines molécules de costimulation, sans que leur fonctionnalité à leur surface soit aujourd'hui appréhendée. En physiologie, les récepteurs de costimulation sont recrutés à la synapse immunologique et permettent de moduler la signalisation du TCR, soit positivement, soit négativement pour d'autres (Figure). Chez le sujet sain, alors que certains sont présents de manière constitutive (CD27, CD28), la plupart sont exprimés de façon versatile à la surface des LT CD4+ et T CD8+ matures, en fonction de l'état d'activation et de l'environnement, les CPA exprimant de leur côté un panel plus ou moins large de ligands. Un même ligand (e.g. CD80 ou PVR) peut lier à la fois un récepteur T de stimulation positive (CD28 ou DNAM-1) ou négative (CTLA-4 ou TIGIT et TACTILE, respectivement). Ceux-ci peuvent donc entrer en compétition. Après intégration de ces divers signaux positifs et/ou négatifs, les récepteurs de costimulation interviennent dans la régulation de l'activation et la différenciation T, les fonctions effectrices, la formation de clones mémoires et la survie cellulaire (Chen et Flies 2013), d'où leur dénomination d'« immune checkpoints », points de contrôle immunitaires. Ils interviennent également dans l'homéostasie, la prolifération et les fonctions suppressives des Treg, qui expriment de manière forte et constitutive la molécule CTLA-4 (Bour-Jordan et Bluestone 2009 ; Chen et Flies 2013). La plupart de ces molécules font partie structurellement de la superfamille des immunoglobulines ou du TNF, comme résumé dans le Tableau 6.

-

Tableau 6 – Principaux récepteurs lymphocytaires T de co-stimulation et co-inhibition et leurs ligands (d'après Chen et Flies, 2013) ; IgSF : superfamille des immunoglobulines, TNFRSF : superfamille des récepteurs au TNF, *LIGHT peut être un récepteur T de costimulation et HVEM son ligand à la surface de la CPA, **CD80, CD70 et PD-L1 peuvent être exprimés par la cellule T activée, fonctions mal connues

		Fonctions de	
Récepteur exprimé	Ligand(s) exprimé(s) par la	co-stimulation ou co-	Famille
sur la cellule T	СРА	inhibition sur la cellule T	structurale
CD28	CD80 (B7-1)**, CD86 (B7-2)	Stimulatrice	IgSF
CD27	CD70**	Stimulatrice	TNFRSF
4-1BB (CD137)	4-1BBL (CD137L)	Stimulatrice	TNFRSF
OX40 (CD134)	OX40L (CD134L)	Stimulatrice	TNFRSF
DNAM-1 (CD226)	PVR (CD155), PVRL2 (CD112)	Stimulatrice	IgSF
HVEM (CD270)*	LIGHT*	Stimulatrice	TNFRSF
CD30	CD30L	Stimulatrice	TNFRSF
CTLA-4 (CD152)	B7-1 (CD80), B7-2 (CD86)	Inhibitrice	IgSF
PD-1 (CD279)**	PD-L1 (B7-H1, CD274)**, PD-L2 (B7-DC, CD273)	Inhibitrice	IgSF
LAG-3 (CD223)	CMH de classe II et ligand inconnu	Inhibitrice	IgSF
TIGIT (VSTM3)	PVR (CD155, Necl-5), PVRL2 (CD112, Nectin-2), PVRL3 (CD113, Nectin-3)	Inhibitrice	IgSF
TACTILE (CD96)	PVR (CD155, Necl-5), CD111 (PVRL1, Nectin-1),	Inhibitrice	IgSF
TIM-3 (CD366)	Galectine-9	Inhibitrice	IgSF
BTLA (CD272), CD160	HVEM (CD270)	Inhibitrice	TNFRSF

Les molécules de costimulation ont des particularités, par exemple CD27, HVEM, et surtout CD28 sont impliquées dans le « priming » des LT naïfs (Coyle et Gutierrez-Ramos 2001). CD27 et HVEM induisent une différenciation préférentielle des T CD4+ en Th1, tandis que CD30 et TIGIT poussent vers une polarisation Th2 (Chen et Flies 2013 ; Croft 2003 ; Kourepini et al. 2016) et OX40 vers Th9 (Xiao et al. 2012). Beaucoup de récepteurs co-inhibiteurs sont exprimés durant la phase effectrice, comme BTLA, CD160, CTLA-4, PD-1, LAG-3, TIM-3, permettant de limiter et terminer les réponse T CD4+ et T CD8+ (Baitsch et al. 2012). Ces mêmes molécules de co-inhibition sont aussi associées aux états d'anergie ou aux états d'épuisement, dit « exhaustion » des LT (Fife et Bluestone 2008). Les cellules T anergiques se développent en contexte d'activation suboptimale du TCR lors de la phase initiale de « priming », et se montrent insensibles aux stimulations antigéniques ultérieures, participant à la tolérance périphérique (Schwartz 2003). L'état d' « exhaustion » découle au contraire d'une exposition chronique à un

antigène, par exemple en contexte viral chronique ou tumoral, et se caractérise par une altération du programme de différenciation, marqué par des capacités prolifératives et effectrices réduites (Thommen et Schumacher 2018 ; Wherry et Kurachi 2015). Il est néanmoins réversible si les signaux de co-inhibition sont bloqués, ou la costimulation augmentée (Catakovic *et al.* 2017 ; Kurachi 2019 ; Zarour 2016).

Dans le CTCL, des expressions fortes et récurrentes des molécules de costimulation négative PD-1 et TIGIT sont retrouvées, à la surface des CS circulantes et des cellules malignes cutanées des patients MF. Ces études basées sur l'usage de l'anti-TCRVβ du clone tumoral (Anzengruber *et al.* 2019 ; Murray et al. 2019) ou la perte de CD26 (Samimi et al. 2010), valident les précédentes réalisées en l'absence de marqueur tumoral (Cetinözman et al. 2012 ; Kantekure et al. 2012 ; Querfeld et al. 2018 ; Wada et al. 2011). Ce phénotype peut paraître paradoxal, au vu des fréquentes délétions touchant le gène PDCD1, mais les pertes d'hétérozygotie n'ont pu être reliées à de plus faibles niveaux de transcrits PD-1 (Choi et al. 2015 ; Wang et al. 2015 ; Wartewig et al. 2017). PD-L1 a été retrouvé à la surface des CS circulantes, et est parfois surexprimé par les CS cutanées (Wilcox et al. 2009a) et les cellules tumorales du MF (Murray et al. 2019). Lors des transformations à larges cellules, l'expression de PD-L1 semble prépondérante sur celle de PD-1 (Kantekure et al. 2012). Concernant les autres « immune checkpoints », des expressions faibles de LAG-3, et de fortes expressions de BTLA, TIM-3, PVR, CD80 et CD28 ont été retrouvées à la surface des cellules malignes du SS et/ou du MF (Anzengruber et al. 2019 ; Murray et al. 2019 ; Nickoloff et al. 1994 ; Takahashi et al. 2017 ; Zhang et al. 2014). Le niveau de CTLA-4 à la surface des CS ne diffère pas significativement des T CD4+ saines (Anzengruber et al. 2019).

La régulation positive de plusieurs molécules de co-inhibition est ainsi évocatrice d'un phénotype d'épuisement, consécutif à un engagement chronique du TCR ou à une signalisation intra-cellulaire aberrante, comme suggéré par les nombreuses altérations génétiques touchant les voies du TCR (Murray *et al.* 2019). Elle a pu faire évoquer un phénotype d'anergie de ces cellules, expliquant leur faible capacité proliférative et leur résistance à l'apoptose *in vitro* (Crespo *et al.* 2013 ; Schietinger et Greenberg 2014 ; Tiemessen *et al.* 2006). Les conséquences de ce phénotype sont mal connues, et le rôle de la surexpression de PD-1 en particulier semble être complexe.

La signalisation de PD-1 pourrait être induite, l'expression de PD-L1 ayant été observée à la fois dans le micro-environnement tumoral (TME), et à la surface des monocytes circulants (Murray *et al.* 2019 ; Querfeld *et al.* 2018 ; Samimi *et al.* 2010 ; Wilcox *et al.* 2009a). Globalement, l'impact de l'expression de PD-1 à la surface d'une cellule cancéreuse reste mal connue. La prolifération tumorale pourrait être contenue par ce biais, l'activation de PD-1 menant à la réduction de la phosphorylation des protéines

d'aval du TCR, ce qui a été montré dans des modèles expérimentaux de lymphome T, et à partir de lignées cellulaires de cancer bronchique (Wang *et al.* 2020 ; Wartewig *et al.* 2017 ; Wartewig et Ruland 2019). Mais au contraire, dans d'autres cancers (mélanome, hépatocarcinome), l'expression et l'engagement de PD-1 par la cellule tumorale peut déclencher des voies de croissance cellulaire, telle la voie mTOR (Kleffel *et al.* 2015 ; Yao *et al.* 2018). Dans le CTCL, la signalisation en aval de PD-1 n'est pas connue, et pourrait varier selon le contexte. On sait néanmoins que la voie mTOR est activée dans les CTCL avancés (Cristofoletti *et al.* 2019a ; Marzec *et al.* 2008).

L'expression de molécules co-inhibitrices pourrait d'autre part créer des interactions avec le TME, et exercer une immunosuppression tout en permettant aux cellules malignes d'échapper à l'immunité anti-tumorale. Une moindre susceptibilité à la cytotoxicité, dépendante de l'expression de PD-L1, a été observée chez une lignée cellulaire de lymphome T (Wilcox et al. 2009a). CD80 exprimé de façon atypique pour une cellule T, pourrait exercer un effet suppressif sur les cellules immunes CTLA-4 positives (Zhang et al. 2014). Un phénotype Treg a été évoqué par plusieurs auteurs concernant la CS. En effet, la régulation positive du CTLA-4 intra-cytoplasmique et membranaire a pu être obtenue in vitro, après stimulation de la CS par des DCs chargées avec des cellules malignes autologues apoptotiques, en parallèle de l'induction de Foxp3, CD25, de la sécrétion d'Il-10 et de TGF-β. En coculture, ces CS stimulées assurent la suppression de la sécrétion cytokinique de lymphocytes contrôles (Berger et al. 2005). Un phénotype similaire a également été obtenu après stimulation par IL-2 ou IL-15, ou à la PMA/Ionomycine (Kasprzycka et al. 2008 ; Wong et al. 2006). Néanmoins, dans ces études, les propriétés Treg ont été induites artificiellement chez la CS in vitro, et il aurait pu être fait de même à partir de T CD4+ saines (Clark 2009 ; Steinman et al. 2003 ; Ye et al. 2018). Des données préliminaires suggèrent la co-expression de TIGIT et FCRL3 avec le facteur de transcription Helios (Anzengruber et al. 2019 ; Jariwala et al. 2017 ; Wysocka et al. 2014), qui sont des marqueurs d'une sous-population de Treg mémoires (Bin Dhuban et al. 2015). Quant au facteur de transcription majeur Foxp3, définissant les Treg, son expression a été rapportée chez des CS primaires, associé à la déméthylation de son promoteur et à des fonctions suppressives, mais de manière inconstante selon les études (Capriotti et al. 2008 ; Gjerdrum et al. 2007 ; Heid et al. 2009 ; Klemke et al. 2006). Il a pu être décrit comme un variant d'épissage, différent du Foxp3 sauvage (Krejsgaard et al. 2008).

2.2.3.2. Sécrétion cytokinique et fonctionnalités des voies de signalisation médiées par les cytokines

- Altération des voies Jak/Stat dans les CTCL (Figure) :

Les voies Jak/Stat sont induites par la fixation de cytokines présentes dans l'environnement à leur récepteur. Elles permettent en particulier d'orienter la polarisation cytokinique de la cellule (Figure) (Seif *et al.* 2017).

Dans les CTCL, Stat4, requis pour la différenciation Th1 et induit par l'IL-12, est surexprimé dans la peau lésionnelle aux stades précoces (Litvinov *et al.* 2014a ; Tracey *et al.* 2003). Lors de l'évolution de la maladie et aux stades avancés, cette expression est perdue, de façon concomitante à une baisse de la signalisation à l'IL-12 (Netchiporouk *et al.* 2014 ; Showe *et al.* 1999). Les expressions de Stat5 puis Stat3 sont au contraire renforcées, promouvant une différenciation Th2, ainsi que la prolifération et la survie cellulaire (Nielsen *et al.* 2002 ; Sommer *et al.* 2004 ; van Kester *et al.* 2008 ; Vieyra-Garcia *et al.* 2016). La signalisation Stat5 est déclenchée par les cytokines IL-2, IL-7, IL-15, tandis que l'activation de Stat3 crée une boucle de signalisation autocrine à l'IL-21 (Caprioli *et al.* 2008 ; van der Fits *et al.* 2012). Ces quatre cytokines ont pour point commun de transduire leur signal par un récepteur comportant la chaîne γ dite « commune » (γ c). Aux stades les plus avancés, Stat3 et Stat5 deviennent indépendants de l'environnement cytokinique, activés de manière constitutive par Jak1/3 (Netchiporouk *et al.* 2014). L'activation constitutive de Stat3 est associée dans les lignées CTCL, à l'expression de SOCS-3 (*suppressor of cytokine signaling-3*), qui pourrait rendre les CS moins sensibles aux cytokines du milieu, notamment à l'IFN- α (Brender *et al.* 2001, 2005).

- Profil de sécrétion cytokinique des cellules tumorales :

L'IL-2, important facteur de croissance T produit par les LT activés (Malek 2008), n'est pas significativement surproduite par la CS par rapport à la T CD4+ saine, même si certains patients présentent un pourcentage élevé de CS IL-2 positives (Guenova *et al.* 2013). L'expression de CD25 (IL-2Rα), nécessaire à la formation du récepteur de haute affinité à l'IL-2, est corrélé au stade de la maladie dans la peau (Talpur *et al.* 2006). Cependant les CS prolifèrent peu *in vitro* en présence d'IL-2, rendant difficile l'obtention de lignées cellulaires stables (Dalloul *et al.* 1992 ; Gazdar *et al.* 1979, 1980). L'IL-15 est une cytokine de la même famille que l'IL-2, produite majoritairement par les monocytes et macrophages, mais également les LT, intervenant dans la prolifération, l'homéostasie et la survie des LT mémoires (Read *et al.* 2016). Elle est fortement produite par les cellules malignes circulantes et cutanées (Asadullah *et al.* 2000 ; Döbbeling *et al.* 1998 ; Mishra *et al.* 2016). Cette hypersécrétion

pourrait être liée à une altération de Zeb1, régulateur négatif du gène *IL15* (Choi *et al.* 2015 ; Mishra *et al.* 2016). L'IL-15 augmente la prolifération des CS *in vitro*, de manière synergique avec l'IL-7 (non produite par les LT) (Döbbeling *et al.* 1998 ; Marzec *et al.* 2008), et stabilise la protéine antiapoptotique Bcl-2 (Qin *et al.* 2001). La stimulation de la lignée Sez-4 par l'IL-2 ou l'IL-15 affecte de façon similaire et importante le transcriptome de ces cellules (> 1000 gènes avec un *fold change* \geq 2). La majorité des gènes modulés correspondent à des cytokines et récepteurs de cytokines, à des cibles des voies Jak/Stat et MAPK, ainsi que des gènes de prolifération et de progression du cycle cellulaire (Marzec *et al.* 2008), montrant l'importance de l'environnement cytokinique pour la CS.

Conformément aux études moléculaires et aux effets attendus de l'altération des voies Jak/Stat, un biais cytokinique Th2 est décrit de longue date dans les MF avancés et le SS, accompagné d'une hyperéosinophilie, et d'un taux élevé en immunoglobulines IgE et IgA (Borish *et al.* 1993 ; Dummer *et al.* 1998 ; Fermand *et al.* 1993 ; Papadavid *et al.* 2003 ; Suchin *et al.* 2001 ; Tancrède-Bohin *et al.* 2004 ; Tendler *et al.* 1994 ; Vowels *et al.* 1992b). Des taux sériques élevés d'IL-4 et IL-10, associés à de faibles concentrations en IFN- γ et TNF- α ont été rapportés (Geskin *et al.* 2014 ; Vowels *et al.* 1992b). Dans la peau, les transcrits de cytokines Th1 (IL-2, IFN- γ) sont retrouvés dans le MF précoce, alors que les transcrits Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, TSLP pour *thymic stromal lymphopoietin*) prédominent dans le SS (Saed *et al.* 1994 ; Takahashi *et al.* 2016 ; Vowels *et al.* 1994). La voie de transactivation par le TCR du récepteur de chimiokine CXCR4, permettrait de stabiliser ces transcrits (Kremer *et al.* 2017).

Le recours aux anticorps anti-TCRV β a permis de constater que les clones tumoraux eux-mêmes sont capables de telles sécrétions de cytokines Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13), alors que les sécrétions Th1 (IFN- γ , TNF- α) sont atténuées par rapport à des T CD4+ saines (Cedeno-Laurent *et al.* 2012 ; Dummer *et al.* 1996 ; Guenova *et al.* 2013). Elles influencent le comportement des cellules malignes, qui peuvent exprimer les récepteurs aux cytokines TH2. L'IL-4 et IL-13 par exemple, augmentent la signalisation Stat6 et la prolifération des CS (Geskin *et al.* 2015). L'IL-9 pourrait être un autre facteur de croissance autocrine pour la tumeur (Vieyra-Garcia *et al.* 2016). Cliniquement, le phénotype Th2 contribue au prurit chronique des patients, conjointement à d'autres molécules (comme l'histamine, la sérotonine, certaines protéases, les leucotriènes, les prostaglandines et le NGF), produites par les cellules de l'immunité innée (Lewis *et al.* 2018 ; Mollanazar *et al.* 2016). Les données relatives à l'IL-31, autre cytokine Th2 fortement impliquée dans le prurit des patients de dermatite atopique (Saulite *et al.* 2016), sont contradictoires (Lewis *et al.* 2018 ; Möbs *et al.* 2015 ; Nattkemper *et al.* 2016).

Des cytokines Th17 ont également été évoquées dans les CTCL, sans que le facteur de transcription RORyt ait été retrouvé (Guenova *et al.* 2013). L'IL-17A et l'IL-17F, cytokines pro-inflammatoires, sont présentes au niveau des infiltrats lymphocytaires malins des lésions cutanées de certains patients

progresseurs, avec une synthèse induite par la voie Jak3/Stat3 (Krejsgaard *et al.* 2011, 2013 ; Willerslev-Olsen *et al.* 2014) (Figure). L'IL-21 est augmentée, sous l'influence des voies MAPK (Fredholm *et al.* 2016) et Stat3, à l'origine d'une boucle positive autocrine (Caprioli *et al.* 2008) (Figure), qui augmente l'expression d'IL-2Rα (CD25), et la sensibilité des CS à l'IL-2 (Eriksen *et al.* 2001 ; Marzec *et al.* 2008 ; van der Fits *et al.* 2012).

Indépendamment de toute polarisation T *helper*, l'IL-32 pourrait être une autre cytokine proinflammatoire servant de facteur de croissance autocrine pour la cellule tumorale (Ohmatsu *et al.* 2014 ; Suga *et al.* 2014).

Enfin, la possibilité de faire sécréter les cytokines immunosuppressives IL-10 et TGF- β à la CS après stimulation (Berger *et al.* 2005), sans expression du récepteur TGF β RII (Capocasale *et al.* 1995), permet là encore de discuter un phénotype Treg pour ces cellules malignes.

En conclusion, bien que le biais Th2 soit le plus couramment admis, les sécrétions cytokiniques des cellules malignes des CTCL pourraient dépendre du degré de progression de la maladie, avec accumulation de mutations pouvant toucher les voies Jak/Stat, et donc la polarisation T chez certains patients (Ehrentraut *et al.* 2016). L'hypothèse d'une plasticité dépendante de l'environnement est également envisageable (Abraham *et al.* 2011 ; Kasprzycka *et al.* 2008 ; Wilcox 2014). De manière réciproque, on peut s'attendre à ce que le développement d'un phénotype malin particulier ait un impact sur le compartiment bénin et la réponse immune. La compréhension de la physiopathologie des CTCL ne peut donc dissocier l'étude de la cellule tumorale, de celle des cellules immunitaires bénignes circulantes et cutanées avec lesquelles elle interagit.

3. Compartiment immunitaire bénin des patients MF/SS

3.1. Généralités sur l'immunité en contexte tumoral

Le concept d'immunosurveillance, où la cellule immunitaire serait capable de reconnaître et de contenir la tumeur, a été introduit dès 1909 par Paul Ehrlich, puis formulé dans les années 1950 par Lewis Thomas et Frank Mac Farlane Burnet (Ribatti 2016). Il a connu de nombreux détracteurs, si bien que l'évidence d'un rôle du système immunitaire dans le développement tumoral, n'a resurgit qu'au début des années 2000, après l'accumulation de preuves expérimentales, avec le concept des 3 « E » du « cancer immunoediting », formulé par Gavin P. Dunn et Robert D. Schreiber (Dunn *et al.* 2002) (Figure). Ce terme rend compte du rôle ambivalent de l'immunité anti-tumorale, qui contribue à la fois à protéger l'hôte, et à remodeler l'immunogénicité de la tumeur. En parallèle des premiers succès de l'immunothérapie anti-tumorale, l'échappement à la surveillance par le système immunitaire a été intégré parmi les critères cardinaux caractérisant la cellule tumorale, formulés par Hanahan et Weinberg (Hanahan et Weinberg 2011).

Chez l'hôte immunocompétent, aux stades précoces du développement tumoral, les cellules immunes innées et adaptatives peuvent reconnaître la cellule maligne en tant qu'élément anormal, et ralentir sa prolifération ou la tuer : c'est la première phase dite d'« élimination », correspondant à l'immunosurveillance. Si malgré tout, certains clones tumoraux persistent, la phase d'« équilibre » correspond au processus durant lequel les cellules immunes et malignes rentrent en phase d'équilibre dynamique : le système immunitaire exerce une pression de sélection sur la tumeur, génétiquement instable et dont certaines mutations lui permettent de s'adapter à la réponse de l'organisme. La croissance tumorale est encore contenue dans cette phase, mais le système immunitaire contribue à modeler au fur et à mesure divers sous-clones tumoraux de plus en plus résistants. L'instabilité génétique et l'hétérogénéité tumorale sont ainsi deux caractéristiques qui permettent à la tumeur de survivre. Lorsque la tumeur est devenue suffisamment peu immunogénique, c'est à dire mal reconnaissable par le système immunitaire, ou résistante à la cytotoxicité exercée par ce dernier, elle peut se développer librement, ce qui correspond à la dernière phase, dite d'« échappement ». C'est à ce niveau que généralement la tumeur devient cliniquement détectable. Les mécanismes d'échappement sont multiples, et peuvent être notamment liés à la régulation négative par la cellule tumorale des molécules reconnues par les cellules immunes effectrices (perte du CMHI, de l'expression antigénique, des ligands NK activateurs, des molécules de costimulation), à une résistance intrinsèque de la cellule maligne (insensibilité aux interférons, résistance à l'apoptose), ou bien à une action immunosuppressive sur son environnement (sécrétions de VEGF, TGF-β, IL-10, stimulation des Treg ou
de cellules myéloïdes immunosuppressives), ou encore à l'épuisement des cellules immunitaires ellesmêmes (Calì *et al.* 2017 ; Dunn *et al.* 2004 ; Khong et Restifo 2002 ; Marincola *et al.* 2000).

Le micro-environnement tumoral (TME) est également apparu d'importance pour supporter la croissance tumorale (Whiteside 2008). Il est constitué de cellules de l'immunité innée (macrophages, DC, lymphocytes NK, cellules lymphoïdes innées, polynucléaires, mastocytes...) et adaptative (LT CD4+ et CD8+, lymphocytes B), mais aussi des constituants cellulaires de l'environnement stromal (dont les fibroblastes, kératinocytes et vaisseaux sanguins) (Gajewski *et al.* 2013). La tumeur est en permanente communication avec le TME, par interactions cellule-cellule, mais aussi sécrétion de facteurs de croissance, cytokines, chimiokines et enzymes protéolytiques. Autour de la tumeur va ainsi de développer une niche, propice à son envahissement, sa croissance et survie, lui permettant d'échapper au système immunitaire. Le TME des CTCL est actuellement peu décrit (Menter et Tzankov 2019).

3.2. Présence d'une réponse immunitaire T anti-tumorale et développement d'un

micro-environnement Th2-dominant au cours des CTCL

La présence de lymphocytes non néoplasiques de types T CD4+ et CD8+, infiltrant les lésions cutanées, a été décrite de longue date dans le CTCL (Wood *et al.* 1994a). Ces LT du TME sont désignés par le terme « TILs » (*tumor-infiltrating lymphocytes*). La présence de clones réactifs cytotoxiques capables de reconnaître et tuer *in vitro* la tumeur dans le contexte des molécules du CMH de classe I, a été rapportée, à la fois dans le MF et le SS, preuve d'une immunité anti-tumorale, qu'il s'agisse de TILs au niveau des lésions cutanées (Bagot *et al.* 1998), ou de CTL spécifiques sanguins (Berger *et al.* 1996, 1998 ; Thestrup-Pedersen *et al.* 2007). *In vivo*, la présence d'une immunité T anti-tumorale est vérifiée par la survenue de progressions rapides, rapportées chez plusieurs patients MF traités par un immunosuppresseur inhibant l'activation T, la ciclosporine, suite à une erreur de diagnostic (Zackheim *et al.* 2002). Les TILs CD8+ et CTL circulants du MF expriment des marqueurs d'activation (HLA-DR+, LFA-1+) et de cytotoxicité (TIA-1+), mais peu les granzymes et les KIRs (Asadullah *et al.* 1997 ; Vermeer *et al.* 2001 ; Wood *et al.* 1998 ; Berger *et al.* 1996). Un infiltrat plus important a été associé à un stade plus précoce et corrélé à la survie (Hoppe *et al.* 1995 ; Vermeer *et al.* 2001), de même pour les valeurs absolues de T CD8+ circulants (Abeni *et al.* 2005).

Les études portant sur le statut immunitaire traitent pour la plupart des CTCL de type MF/SS dans leur globalité, sans distinguer les SS qui sont inclus dans les formes dites avancées. Aux stades précoces de

MF (stades IA/IB), les T CD4+ non malins, que nous appellerons T CD4+ bénins, sont polarisés Th1 ou sans biais de polarisation, selon les études, dans le sang et la peau (Asadullah *et al.* 1997 ; Krejsgaard *et al.* 2017 ; Papadavid *et al.* 2003 ; Rubio Gonzalez *et al.* 2016). Ils sont capables de sécréter de l'IFN- γ et IL-2 et de déclencher une réponse anti-tumorale (Echchakir *et al.* 2000). L'expression du facteur de transcription T-bet est à ce stade prédominante sur GATA3 dans la peau (Hsi *et al.* 2015). Une autre étude discriminant les populations bénignes des malignes par leur TCRVß, trouve cependant des sécrétions d'IL-10 et d'IL-17 augmentées dans le MF précoce, à la fois par les T CD4+ et CD8+ circulants et infiltrant les lésions (Murray *et al.* 2019).

Une transition vers une polarisation Th2 est observable lors de la progression du MF, alors qu'il existe vraisemblablement d'emblée dans le SS : dans le plasma et la peau les cytokines IL-4, IL-5, IL-10, IL-13 sont augmentées (Asadullah et al. 1996 ; Geskin et al. 2015 ; Papadavid et al. 2003 ; Vowels et al. 1994), ainsi que les facteurs de transcription GATA-3 (Hsi et al. 2015), Stat3 et Stat6 (Netchiporouk et al. 2014), parallèlement à la diminution des cytokines IFN-γ, TNF-α (Guenova et al. 2013 ; Papadavid et al. 2003) et des facteurs de transcription T-bet (Hahtola et al. 2006 ; Hsi et al. 2015), Stat4 (Netchiporouk et al. 2014). Ce phénotype fut d'abord attribué exclusivement aux cellules malignes, mais la discrimination avec les cellules bénignes parmi les PBMCs des patients SS, a montré que le biais Th2 était également observé chez ces dernières (Guenova et al. 2013). Dans cette étude, la culture des cellules bénignes triées, permet en revanche de réexprimer le facteur de transcription T-bet et les cytokines de type 1, alors que le phénotype des CS triées sur la base de leur TCRVß reste invariable. La co-culture des cellules T CD4+ malignes et bénignes séparées par une membrane en technique d'insert Trans-well, permettant les échanges de facteurs solubles entre les deux compartiments, réprime la production de cytokines Th1, montrant que la polarisation Th2 des T CD4+ bénignes serait induite par un facteur soluble produit par la cellule tumorale. Il pourrait s'agir de la galectine-1, protéine se liant aux β-galactosides, fortement exprimée par les cellules tumorales des CTCL, comme dans de nombreux cancers (Cedeno-Laurent et al. 2012). Elle induit in vitro un biais de polarisation Th2 et rend sensible à l'apoptose les cellules mémoires Th1 CD45RO+CD7+ (Motran et al. 2008). De plus, le biais Th2 pourrait également être entretenu par le TME, l'IL-4 et l'IL-13 induisant indirectement la production par les kératinocytes de TSLP, fortement exprimée dans les lésions du MF (Takahashi et al. 2016 ; Tuzova et al. 2015) et le plasma des patients (Miyagaki et al. 2009). La TSLP est capable d'activer les DCs et d'induire des réponses de type 2 et la chimio-attraction des cellules orientées Th2 (Soumelis et Liu 2004 ; Tuzova et al. 2015).

Par ailleurs, la modification du profil chimiokinique au niveau des lésions cutanées contribue au biais Th2 du TME et facilite probablement le trafic des cellules tumorales (Miyagaki et Sugaya 2014a) (voir Tableau 4 pour rappel). Concordant avec le biais Th1 observé dans le MF précoce, les chimiokines

CXCL9, CXCL10 et CXCL11, ligands de CXCR3 induits par l'IFN-y, sont d'abord produites en grande quantité par les fibroblastes de la peau, alors qu'elles diminuent dans les formes avancées (stades III-IV) et sont faibles dans le SS (Miyagaki et al. 2012b). Au contraire, la production de chimiokines associées à la polarisation Th2 et au tropisme cutané, augmente au cours de la progression de la maladie, et sont fortes dans le SS. CCL17 et CCL22, ligands de CCR4, sont exprimées par les kératinocytes, cellules endothéliales et DCs, avec des taux plasmatiques accrus au stade tumoral (Ferenczi et al. 2002 ; Kakinuma et al. 2003). Il en est de même pour CCL27, ligand de CCR10, dès le stade plaques du MF (Fujita et al. 2006 ; Goteri et al. 2012 ; Kagami et al. 2006). CCL26 et CCL11, produites par les fibroblastes, les kératinocytes et les cellules endothéliales, ont des taux plasmatiques significativement élevés dans le CTCL par rapport à des contrôles sains (Miyagaki et al. 2010). Leur récepteur CCR3 a été rapporté sur les cellules tumorales CD30+ uniquement (Kleinhans et al. 2003), les polynucléaires éosinophiles et cellules Th2. CCL18, dont un des récepteurs identifiés est CCR8 (Islam et al. 2013), est surexprimé dans les CTCL de manière corrélée au stade clinique, par les DCs et macrophages CD163+CD209+ (Günther et al. 2011 ; Miyagaki et al. 2013). L'expression de l'ensemble de ces chimiokines sont induites par les cytokines Th2 et pourraient créer un cercle vicieux amplifiant l'environnement Th2 (Bao et al. 2012 ; Fujii 2018 ; Miyagaki et Sugaya 2014a ; Sugaya 2010). L'axe CCR6/CCL20, plutôt relié au profil Th17/Th22, est également impliqué, les taux plasmatiques élevés d'IL-22 pouvant expliquer l'augmentation de production de CCL20 par les kératinocytes et le recrutement de cellules Th22 et DCs, voire de cellules tumorales CCR6+ vers la peau, attirées par le gradient de CCL20 (Ikeda et al. 2016 ; Ito et al. 2014 ; Miyagaki et al. 2011).

L'ensemble de ces résultats souligne des modifications progressives et dynamiques au cours du MF, de l'environnement cytokinique et chimiokinique. Le SS paraît biaisé d'emblée, à moins que les données ne soient manquantes pour des prélèvements très précoces au diagnostic. Les interactions qui en découlent doivent remodeler considérablement le TME et favoriser le trafic des cellules tumorales.

3.3. Développement d'un environnement inflammatoire par interactions des cellules tumorales avec l'immunité innée et le stroma

- Infiltration myéloïde du TME :

Durant la progression, les lésions du CTCL se montrent de plus en plus infiltrées par des cellules inflammatoires de la lignée myéloïde, tels les macrophages, les polynucléaires éosinophiles et mastocytes (Krejsgaard *et al.* 2017).

L'environnement cytokinique est connu pour affecter la différenciation des macrophages. Les macrophages activés par la voie classique (IFN- γ , TNF- α , lipopolysaccharides bactériens), sont dits macrophages M1, alors que ceux activés par voies alternatives sont appelés macrophages M2. L'IL-4, IL-10 et IL-13 en particulier, induisent une polarisation M2 (Hao et al. 2012). Les macrophages M1 sont inflammatoires et microbicides, sécrètent de l'IL-12, IL-23, TNF- α et des chimiokines de type 1 (CXCL9, CXCL10), alors que les M2 modulent la réponse immune et stimulent la réparation tissulaire, en secrétant des cytokines immunosuppressives (TGF- β , IL-10), des chimiokines de type 2 (CCL17, CCL22, CCL24), des facteurs pro-angiogéniques (VEGF), et en exprimant des molécules de co-inhibition (PD-L1/2, LAG-3, BTLA, CTLA-4, TIM-3). Durant la tumorigenèse, les macrophages associés aux tumeurs (TAMs) sont plastiques et passent classiquement d'un phénotype M1 à un phénotype M2, ce qui favorise l'échappement tumoral (Biswas et Mantovani 2010 ; Jayasingam et al. 2020 ; Sica et Massarotti 2017 ; Van Dalen et al. 2019). Concordant avec l'environnement Th2, des infiltrats de macrophages CD163+, évocateurs de TAMs de type M2, ont été observés dans les lésions de CTCL, ainsi que les ganglions pathologiques, avec une importance accrue lors de la progression (Furudate et al. 2016 ; Sugaya et al. 2012 ; Tada et al. 2014 ; Wu et al. 2014) et dans le SS (Sugaya et al. 2012). De tels macrophages CD163+ sont normalement rares dans le derme sain. Une étude montre que ces macrophages, présents à la marge d'invasion de la tumeur (interface tumeur-stroma) et au niveau des micro-abcès de Pautrier, sécrètent la chimiokine CCL18, dont les concentrations plasmatiques ont été corrélées au pronostic des patients MF/SS (Günther et al. 2011 ; Miyagaki et al. 2013). Dans un modèle murin de CTCL, la déplétion des macrophages freine la progression tumorale, l'angiogenèse et la lymphangiogenèse (Wu et al. 2014).

Les cellules tumorales produisent des cytokines Th2 et la protéine HMGB1, facteurs reliés à l'infiltration et l'activation éosinophile (Fredholm *et al.* 2014 ; Lotfi *et al.* 2009). Ceci pourrait expliquer les fréquentes infiltrations des lésions du MF avancé, par des polynucléaires éosinophiles, avec une densité et un niveau d'activation reliés à la progression (Fredholm *et al.* 2014 ; lonescu *et al.* 2005 ; Kural *et al.* 2010). On sait que les éosinophiles activés sont responsables du relargage de médiateurs pro-inflammatoires et d'IL-5. Des signes de dégranulation ont été observés dans le CTCL, avec présence de dépôts tissulaires d'éosinophile peroxydase (EPO) et d'IL-5, ainsi que des concentrations plasmatiques élevées en protéine cationique éosinophile (ECP).

Cet infiltrat d'éosinophiles est accompagné de mastocytes, souvent à la marge d'invasion tumorale dans le MF/SS (Eder *et al.* 2016). Dans un modèle murin déficient en mastocytes, la croissance tumorale était freinée par rapport à la souris sauvage, suggérant un rôle support de ces cellules pour la prolifération des CS, comme montré *in vitro* en présence de leur surnageant (Rabenhorst *et al.* 2012). Le nombre de mastocytes a été corrélé à la densité en micro-vaisseaux, ce qui pourrait être lié au rôle

pro-angiogénique connu de ces cellules, leurs granules étant riches en VEGF, FGF-2 et en sérine protéases (Ribatti et Crivellato 2012). Les mastocytes sont par ailleurs impliqués dans les symptômes prurigineux des patients (Lewis *et al.* 2018).

Un autre groupe de cellules myéloïdes fréquemment impliquées dans les cancers, dites suppressives et regroupées sous le terme de MDSC (*Myeloid-Derived Suppressor Cells*), sont plus fortement représentées dans les MF au stade IIB qu'aux stades IA/B, suggérant un mécanisme de progression (Pileri *et al.* 2017). Ces cellules sont réputées pour inhiber les réponses T anti-tumorales, en produisant des espèces réactives de l'oxygène (ROS), et en induisant des enzymes du catabolisme des acides aminés (oxyde nitrique synthase ou iNOS, indoleamine 2,3-dioxygenase ou IDO, arginase I) (Sica et Massarotti 2017).

- Altération du micro-environnement stromal cutané :

Une angiogenèse accrue est observée au cours de la progression des CTCL, et les cellules endothéliales, qui sont activées, expriment des métalloprotéases, en faveur d'un processus de dégradation de la matrice extra-cellulaire (Mazur *et al.* 2004 ; Vacca *et al.* 1997). Elle est reliée à la sécrétion par les cellules malignes de VEGF-A, VEGF-C, et de lymphotoxine α, induite par la voie Jak3 (Krejsgaard *et al.* 2006 ; Lauenborg *et al.* 2015), ainsi que de prostaglandines (Kopp *et al.* 2010). De plus, les taux plasmatiques d'angiogénine et d'angiopoiétine-2 sont augmentés et positivement corrélés au stade de CTCL, les concentrations étant les plus fortes chez les patients érythrodermiques EMF/SS (Kawaguchi *et al.* 2014 ; Miyagaki *et al.* 2012a). La lymphangiogenèse est également accrue, associée à la sécrétion de VEGF-C par les cellules malignes et les fibroblastes, à la fois dans le MF (Pedersen *et al.* 2013)et le SS (Karpova *et al.* 2011).

Dans un modèle de souris xénogreffée, il a été montré que les cellules malignes induisent une désorganisation de la structure cutanée, avec une prolifération des kératinocytes et une stratification altérée (Thode *et al.* 2015). Au niveau des lésions humaines, les kératinocytes expriment fortement les récepteurs « Toll-like » (TLR) et le « Nerve growth factor » (NGF), contribuant à l'inflammation locale et au prurit (Jarrousse *et al.* 2006 ; Suga *et al.* 2013 ; Yamaguchi *et al.* 2009).

3.4. Action immunosuppressive des cellules malignes sur les cellules de l'immunité anti-tumorale

- Action immunosuppressive sur les TILs :

Les patients SS, même faiblement leucémiques, ont un nombre de lymphocytes T circulants bénins abaissé (Heald *et al.* 1994), avec un répertoire TCR particulièrement restreint aux stades avancés et une répartition non gaussienne dans les longueurs des régions CDR3 (Ingen-Housz-Oro *et al.* 2002 ; Yawalkar *et al.* 2003). Ces perturbations sont comparables à celles observées dans les infections VIH (Raaphorst *et al.* 2002). La distribution des familles TCRVB apparaît biaisée même aux stades précoces de CTCL, ce qui pourrait indiquer l'expansion préférentielle de certains clones réactifs suite à une stimulation antigénique, ou encore un mécanisme de compensation où des clonotypes prendraient la place créée suite à la perte de populations T (Yawalkar *et al.* 2003). Les remaniements du répertoire rapportés dans cette étude ne semblent pas être attribuables aux traitements, puisque des patients atteints de psoriasis traités par photothérapie ou méthotrexate, montrent des répertoires plus harmonieux que les patients MF de stade I traités par stéroïdes topiques seuls. Cette lymphopénie pouvant être profonde dans le SS, est à l'origine d'une immunodépression des patients, qui sont fréquemment victimes d'infections sévères, cause fréquente de mortalité (Axelrod *et al.* 1992 ; Blaizot *et al.* 2018), et développent plus de cancers secondaires que les patients atteints de psoriasis recevant les mêmes traitements (Huang *et al.* 2007 ; Kantor *et al.* 1989 ; Scarisbrick *et al.* 1999).

Les cellules malignes exercent vraisemblablement un effet suppressif sur les cellules T bénignes, limitant leur nombre et leurs fonctions, par des mécanismes directs et indirects (Krejsgaard *et al.* 2017), qui n'ont pas été étudiés de manière détaillée à l'heure actuelle.

Une première hypothèse simple est qu'elles pourraient, lors de leur prolifération, priver les cellules bénignes de l'accès aux cytokines homéostatiques (IL-2, IL-7, IL-15) (Kirsch *et al.* 2015), tout en sécrétant elles-mêmes des cytokines suppressives telles l'IL-10 ou le TGF- β (Krejsgaard *et al.* 2017). Les CS seraient protégées de cette action suppressive, car elles expriment peu les récepteurs à l'IL-10 et au TGF- β (Capocasale *et al.* 1995 ; Dulmage et Geskin 2013 ; Kadin *et al.* 1994 ; Krejsgaard *et al.* 2014). La voie de signalisation du TGF- β pourrait de plus être réprimée par la régulation négative du facteur de transcription ZEB1 chez la CS (Nakahata *et al.* 2010 ; Zheng et Flavell 1997).

Comme discuté précédemment, les cellules malignes du CTCL expriment des molécules « immune checkpoint », pouvant exercer un effet suppressif sur les TILs, par interactions entre CD80 (B7-1) /CTLA-4 (Zhang *et al.* 2014), ou PD-L1/PD-1 (Wilcox *et al.* 2009a). De leur côté, les TILs du MF, qu'ils soient T CD4+ ou CD8+, expriment des molécules de co-inhibition, comme PD-1 et TIGIT, ainsi que les

marqueurs de stimulation HLA-DR, CMH-I et Fas, en faveur d'une stimulation antigénique chronique (Murray *et al.* 2019). Des expressions de CTLA-4, ICOS et LAG-3 ont été rapportées à la surface des T CD8+ cutanés chez les patients MF/SS (Querfeld *et al.* 2018).

Un autre mécanisme immunosuppressif pourrait passer par l'expression de CD39 par les CS (Bensussan *et al.* 2019), ectonucléotidase générant la production d'adénosine, anti-inflammatoire et inhibant la prolifération T et la cytotoxicité (Bastid *et al.* 2015).

Deux publications issues de la même équipe suggèrent que les cellules malignes seraient même capables de tuer directement les cellules bénignes Fas-positives, grâce à l'expression du FasL par les CS. L'argument repose sur un infiltrat T CD8+ beaucoup plus rare autour des zones infiltrées par les lymphocytes CD45RO+FasL+ (Ni *et al.* 2001). Cependant, FasL est exprimé en surface de manière faible et/ou retardée chez trois lignées CTCL (Ni *et al.* 2005), et il est connu pour être régulé négativement dans les CTCL (Wang *et al.* 2011).

- Action immunosuppressive sur les DCs :

Dans le TME, les DCs peuvent à la fois contribuer à stimuler les TILs, par présentation d'antigènes tumoraux, mais aussi nuire à l'immunité anti-tumorale, selon le contexte et leur état de maturation et d'activation (Gardner et Ruffell 2016). Dans le CTCL, les DCs pourraient ainsi à la fois soutenir la croissance des cellules malignes, et contribuer à l'anergie des TILs anti-tumoraux (Edelson 2001). Leur rôle a été souligné depuis l'observation de DCs au contact de cellules tumorales (Goos et al. 1976), notamment au niveau des micro-abcès de Pautrier, où elles se regroupent autour des dendrites des cellules de Langerhans intra-épidermiques (Jimbow et al. 1982 ; Matejka et Konrad 1983). Les DCs sont plus nombreuses dans le derme et l'épiderme lésionnels que dans la peau saine. L'infiltrat myéloïde du MF précoce est majoritairement constitué de cellules de Langerhans épidermiques, tandis qu'aux stades avancés les DCs dermiques prédominent (Lüftl et al. 2002 ; Pileri et al. 2017). L'importance de ces cellules pour la prolifération et la survie des cellules néoplasiques a ensuite été attestée par l'établissement de lignées CTCL grâce à des co-cultures en présence de DCs autologues immatures (Berger et al. 2002a ; McCusker et al. 1997). Une hypothèse a été proposée, où la présentation par les DCs d'antigènes tumoraux issus de cellules malignes apoptotiques, pourrait perpétuer la prolifération clonale des CS (Berger et al. 2002a ; Edelson 2001). Dans un tel système in vitro, les DCs ne sont en revanche pas capables de maturer entièrement, leur capacité de phagocytose étant maintenue, et l'expression des molécules de costimulation de la famille B7, CD80 et CD86, n'apparaissant que tardivement après plusieurs mois de culture (Berger et al. 2002a ; Thumann et al. 2003). Il en est probablement de même in vivo, car l'examen histologique de lésions du MF tardif a pu mettre en évidence un marquage CD83 à l'état de traces uniquement (Wilcox *et al.* 2009b), ainsi qu'un forte proportion de DCs CD1a+ ayant incorporé des corps apoptotiques, caractéristiques d'un état immature (Lüftl *et al.* 2002). L'IL-10 sécrétée par les cellules malignes de certains patients contribuerait à freiner la maturation des DCs, ce qui nuirait à l'efficacité de l'immunité anti-tumorale, par le biais du développement de DCs tolérigènes et par conséquent, de TILs anergiques (Berger *et al.* 2002a ; Thumann *et al.* 2003 ; Wilcox *et al.* 2009b). Histologiquement, la proximité spatiale entre les DCs immatures CD1a+ et des cellules IL-10+ a été observée, surtout dans les formes avancées (Lüftl *et al.* 2002). *In vitro*, les DCs maturées en présence d'IL-10 produisent peu d'IL-12 et empêchent l'induction de réponses Th1 (De Smedt *et al.* 1997 ; Rook *et al.* 1995). Par ailleurs, un défaut de sécrétion d'IL-12 et TNF-α par les CPA de patients SS, a été relié à un défaut d'induction de la molécule CD40L à la surface des CS (French *et al.* 2005 ; Wysocka *et al.* 2002).

- Cas des cellules NK :

Les cellules NK sont reconnues pour participer à l'activité anti-tumorale par leur capacité à tuer les cellules tumorales (Ruggeri et al. 2002 ; Shimasaki et al. 2020). Dans le cadre du biais Th2 des CTCL, avec des taux réduits d'IL-2, IL-12 et IFN- α , ces cellules de l'immunité innée seraient cependant peu favorisées (Annunziato et al. 2015). Quantitativement, elles représentent une faible proportion des cellules lymphocytaires circulantes et sont abaissées en valeur absolue chez les patients Sézary, ce qui n'est pas le cas des patients MF (Bouaziz et al. 2005 ; Mundy-Bosse et al. 2018 ; Yoo et al. 2001). Phénotypiquement, elles expriment un panel de récepteurs activateurs tels NKG2D, NKG2C, DNAM-1 (CD226), les NCR (« Natural Cytotoxicity Receptors ») NKp30, NKp44 et NKp46, ainsi que des récepteurs inhibiteurs comme NKG2A et la famille KIR2D (Dulphy et al. 2009 ; ManfrereC et al. 2017 ; Mundy-Bosse et al. 2018). Des expressions particulièrement abaissées de NKG2D ont néanmoins été rapportées chez certains patients, susceptibles d'altérer leur capacité de réponse (Dulphy et al. 2009; ManfrereC et al. 2017). La fonctionnalité globale des lymphocytes NK dans les CTCL par rapport aux NK saines n'a pas été clairement déterminée, et les études sont contradictoires, dues à la diversité des protocoles utilisés et à la difficulté de trier ces cellules faiblement représentées. Des fonctions cytotoxiques diminuées (Laroche et Kaiserlian 1983 ; Wood et al. 1990b ; Wysocka et al. 2004 ; Yoon et al. 2008), similaires (Bouaziz et al. 2005 ; Jensen et al. 1982), ou même augmentées (Mundy-Bosse et al. 2018), ont ainsi été rapportées par rapport aux donneurs sains, face à la lignée cellulaire K562 dépourvue de molécules du CMH-I. Toutes les études montrent en revanche que les NK de patients sont stimulables, comme le montre l'augmentation du marqueur d'activation CD69, de leur cytotoxicité face aux cellules K562, et la production d'IFN-y en présence d'IL-2, IL-12 (Rook et al. 1995

; Zaki *et al.* 2002), IL-21 (Yoon *et al.* 2008), IL-15 et CpG ODNs (Wysocka *et al.* 2004), ainsi que d'agonistes des TLR7/8 (ManfrereC *et al.* 2017). Cette activation passe notamment par l'engagement du récepteur NKG2D (Dulphy *et al.* 2009). Point important, les NK de patients sont capables de lyser des lignées tumorales Sézary, ou des CS primaires après blocage du CMH I, montrant que ces molécules du soi participent à la protection des cellules tumorales (Bouaziz *et al.* 2005). Les CS expriment en effet les molécules du CMH-I, liant les KIRs, mais aussi de façon variable ULBP-1, -2 et/ou -3, MICA, MICB qui lient le récepteur NKG2D, aussi bien que CD155, liant DNAM-1, tous deux activateurs pour la cellule NK (Dulphy *et al.* 2009). Le constat de lyse efficace *in vitro*, par mécanisme d'ADCC, des CS par les NK autologues des patients en présence de l'AcM anti-KIR3DL2 (Marie-Cardine *et al.* 2014) ou anti-CCR4 (Yano *et al.* 2007), ont récemment ouvert une voie thérapeutique majeure, celle de l'utilisation des anticorps monoclonaux.

3.5. Hypothèses sur le rôle des agents infectieux dans la progression de la maladie

Les infections sévères, majoritairement cutanées et pulmonaires, sont fréquentes, surtout chez les patients Sézary et lymphopéniques (<0,5 G/L de lymphocytes non malins). Elles sont responsables de près de 58% de la mortalité des CTCL (Blaizot *et al.* 2018). Les germes opportunistes associés à un déficit de l'immunité cellulaire (*Herpes Simplex Virus*, VZV, toxoplasme, champignons opportunistes) ne sont pas ceux rencontrés en majorité, ce qui est possiblement lié aux prophylaxies anti-infectieuses instaurées. *Staphylococcus aureus*, qui colonise cinq fois plus fréquemment la peau des patients CTCL érythrodermiques que dans la population générale, est le premier agent impliqué dans les bactériémies, la barrière cutanée étant fortement altérée dans les formes sévères. Il constitue une cause majeure de mortalité, mais aussi de progression de la maladie, l'antibiothérapie permettant dans certains cas de faire régresser rapidement l'érythrodermie et l'infiltration tumorale (Lindahl *et al.* 2019 ; Talpur *et al.* 2008).

Dans les cancers, de multiples agents bactériens ou viraux ont été impliqués dans la transformation tumorale, comme HTLV-1 dans l'ATL, *Helicobacter pylori* dans les cancers gastriques, ou le VHC dans l'hépatocarcinome. D'autres germes du microbiote ont été reliés à la progression tumorale (Hu *et al.* 2013 ; Zitvogel *et al.* 2015). *S. aureus* a ainsi été suspecté d'agent causal des CTCL, comme nous l'avons évoqué à propos de l'hypothèse d'une stimulation superantigénique, mais aussi d'agent accélérateur de prolifération maligne (Litvinov *et al.* 2016 ; Willerslev-Olsen *et al.* 2013). Une équipe scientifique a proposé un mécanisme impliquant la contrepartie T bénigne, qui serait activée par les entérotoxines staphylococciques, et induirait indirectement la voie oncogénique JAK3/STAT3 des cellules malignes (Krejsgaard *et al.* 2014 ; Lindahl *et al.* 2019 ; Willerslev-Olsen *et al.* 2016 ; Woetmann *et al.* 2007).

D'autres bactéries de la flore cutanée pourraient au contraire être bénéfiques, en régulant l'inflammation ou en entrant en compétition avec les bactéries pathogènes et pro-tumorigènes (Zitvogel *et al.* 2015), mais ceci n'a pas encore été étudié dans les CTCL.

La vision actuelle du double rôle du système immunitaire et de l'environnement, qui seraient impliqués à la fois dans le contrôle et la progression tumorale, est récapitulé dans le schéma ci-dessous.



Figure 19 – Hypothèses actuelles sur la participation de l'environnement et du système immunitaire, au contrôle anti-tumoral, principalement dans les stades précoces du CTCL, et à l'échappement tumoral dans les stades tardifs, lié à un cercle vivieux développé par la tumeur

(CTL : lymphocytes T CD8+ cytotoxiques ; DCs : cellules dendritiques ; MDSC : cellules myéloïdes suppressives ; TAMs : macrophages associés aux tumeurs ; TILs : lymphocytes infiltrant les tumeurs ; TME : micro-environnement tumoral)

4. Stratégies thérapeutiques des CTCL de type MF/SS : une place pour les immunothérapies

Nous aborderons ici les approches thérapeutiques des CTCL sous l'angle de leur action immunologique.

Un panel de traitements existe, mais aucun n'est curatif et les rémissions à long terme restent rares dans les stades avancés. Les thérapeutiques sont graduelles et adaptées au stade clinique (Dereure 2019 ; Trautinger *et al.* 2017). Dans le MF, une surveillance simple est recommandée chez les patients au stade la, qui présentent un faible risque de progression. Aux stades IA, IB et IIA (sans tumeurs), les traitements recommandés en première ligne sont locaux à visée cutanée, alors que les traitements systémiques sont envisagés en seconde ligne ou dans les stades plus avancés.

4.1. Traitements topiques cutanés

On distingue plusieurs familles de topiques sous forme de pommades ou gels (Tarabadkar et Shinohara 2019) : les corticoïdes, les alkylants (chlorméthine et carmustine), les rétinoïdes (bexarotène), et plus récemment les agonistes des TLR7 et TLR8, que sont l'imiquimod et le resiquimod. Ces derniers présentent un intérêt particulier du point de vue immunologique, car permettent de restaurer la production d'IFN- α , TNF- α , IL-12 et d'autres cytokines pro-inflammatoires, ce qui active les cellules NK (ManfrereC *et al.* 2017), la maturation des DCs, et induit l'apoptose des cellules malignes. L'expansion et le recrutement de nouveaux clones T bénins a été observée au niveau des lésions cutanées traitées, accompagnée de la régression partielle à complète du clone tumoral (Rook *et al.* 2015).

Il existe par ailleurs une grande variété de traitements physiques à visée locale (Tarabadkar et Shinohara 2019) :

- Photothérapie UV (PUVA-thérapie et photothérapie UVB) :

La PUVA (« Psoralen plus UVA ») associe le 8-methoxypsoralène (agent intercalant de l'ADN), médicament photosensibilisant pris par voie orale avant le début de séance, à un rayonnement ultraviolet UVA (320-400nm). Elle est néanmoins associée à long terme à un risque de développement accru de carcinome épidermoïde (Archier *et al.* 2012 ; Querfeld *et al.* 2005). Les UVB peuvent être employés soit en bande étroite (311-312nm), soit en bande large (290-320nm). Ces photothérapies peuvent être associées à des thérapies systémiques, en particulier les rétinoïdes et l'IFN-α. Les taux de

réponse sont élevés en raison d'une réduction efficace de l'inflammation, mais le clone malin n'est pas éradiqué dans les lésions fortement infiltrées. En revanche si ce clone représente <20% des lymphocytes cutanés, la photothérapie peut induire le recrutement de nouveaux clones TCD8+ et une transition chimiokinique vers un milieu Th1 (CXCL9, CXCL10, CXCL11) (Vieyra-Garcia *et al.* 2019).

- Electronthérapie corporelle totale (TSEBT) :

Les cellules néoplasiques du MF sont particulièrement radiosensibles, et la TSEBT est l'un des traitements les plus efficaces en monothérapie dans le MF précoce. Les électrons générés par un accélérateur linéaire, sont atténués pour limiter leur pénétration aux couches superficielles, la toxicité sur la moelle osseuse et les organes internes étant dose-dépendante. Le traitement standard consiste en l'administration de 30-36Gy totaux sur une période de 8-10 semaines (Jones *et al.* 2002), avec jusque 66% de rémission complète dans le MF de stade IB (Chinn *et al.* 1999), mais la toxicité est fréquente à cette dose, associant érythème, desquamation sèche, anhidrose, chute des ongles et alopécie (Hoppe 2003). La TSEBT à faible dose a été développée (12Gy totaux sur 3 semaines), permettant de limiter ces effets indésirables tout en maintenant une efficacité correcte, éliminant partiellement ou totalement le clone malin (Hoppe *et al.* 2015 ; O'Malley *et al.* 2020 ; Taverniers *et al.* 2019).

- Radiothérapie localisée : par faisceaux de photons ou d'électrons, sur lésions bien individualisées.

4.2. Traitements systémiques

4.2.1. Traitements systémiques conventionnels de premières et deuxièmes lignes

Les deux premières lignes de traitement font l'objet de recommandations par l'EORTC (Trautinger *et al.* 2017).

- Photophérèse extra-corporelle (ECP) :

Elle représente la première ligne systémique la plus commune, seule ou en combinaison (Quaglino *et al.* 2017), malgré un mécanisme d'action non entièrement élucidé depuis sa première utilisation en 1987 (Edelson *et al.* 1987). Durant la procédure d'ECP, le sang veineux du patient est collecté et les

leucocytes sont séparés, avant d'être exposés à une radiation UVA en présence de 8methoxypsoralène, puis réinjectés au patient (Cho *et al.* 2018).

Il a été montré une augmentation de l'apoptose des lymphocytes T et NK suite à l'exposition photochimique (Wolnicka-Glubisz et al. 2010), avec une réduction immédiate de la fréquence du clone Sézary dans les produits de cytaphérèse traités (Ingen-Housz-Oro et al. 2002). Ceci n'explique cependant pas pourquoi l'ECP montre une efficacité privilégiée dans des pathologies dermatologiques, y compris non tumorales impliquant les LT, comme la maladie du greffon contre l'hôte, la sclérodermie, ou la dermatite atopique, alors que seule une petite partie des cellules circulantes est traitée (5 à 10%) (Cho et al. 2018 ; Legitimo et al. 2007). Des effets immunomodulateurs indirects s'exerceraient vraisemblablement sur des cellules à distance. Il est par exemple suspecté que le contact des monocytes avec les surfaces extra-corporelles des tubulures du système, suivie par le traitement photochimique induirait leur activation. Il s'en suivrait une production de cytokines proinflammatoires comme le TNF- α et l'IL-6 (Vowels *et al.* 1992a), et une maturation incomplète des DCs, comme évoqué précédemment (Berger et al. 2001 ; Legitimo et al. 2007 ; Spisek et al. 2006). L'immunogénicité des cellules tumorales pourrait également être accrue suite à l'ECP, une augmentation de la synthèse de molécules du CMH-I ayant été observée dans deux lignées tumorales (Hanlon et al. 1998 ; Moor et al. 1995). L'incubation sur une nuit de la poche de cytaphérèse a été proposée pour favoriser la maturation des DCs et la présentation antigénique (Berger et al. 2002b ; Girardi et al. 2006). Le milieu cytokinique global pourrait également être modifié, mais les études sont contradictoires (Bladon et Taylor 2006). Enfin, une étude transcriptomique a montré que les voies canoniques les plus touchées concernent la signalisation par les intégrines et l'IL-1 (Ying et al. 2019).

- Molécules biomodulatrices :

Le *bexarotène* est un rétinoïde de synthèse qui active sélectivement les RXR (*retinoid-X receptors*), à distinguer des molécules agissant sur les RAR (*retinoid acid receptors*). Les RXR interagissent avec de nombreux récepteurs nucléaires, ce qui permet de réguler de multiples processus cellulaires, tels la différenciation, la prolifération et l'apoptose. *In vitro*, cette molécule est capable d'induire l'apoptose de diverses lignées cellulaires CTCL (Nieto-Rementería *et al.* 2009).

L'interféron- α permet d'activer les lymphocytes T CD8+ et NK, et de diminuer la sécrétion de cytokines Th2 dans les CTCL. Il peut être associé à d'autres thérapies. L'interféron- γ est une cytokine Th1 stimulant les immunités innées et adaptatives, moins fréquemment utilisée (Olsen 2003).

- Chimiothérapies anti-cancéreuses conventionnelles :

Elles reprennent les standards utilisés dans les lymphomes non-Hodgkiniens, tel le protocole CHOP (cyclophosphamide – doxorubicine – vincristine – prednisone), le chlorambucil (agent alkylant), la doxorubicine liposomale (anthracycline), la gemcitabine ou le méthotrexate, antimétabolites bloquant les cellules en cycle en phase S. Le méthotrexate est employé dans les CTCL à faible dose (5-25mg/ semaine), et peut être associé à d'autres thérapies (Trautinger *et al.* 2017).

- Allogreffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT) :

Elle constitue la seule option curative à ce jour, mais nécessite l'obtention d'une rémission au préalable, et est réalisable au prix d'une morbi-mortalité non négligeable. Les patients les mieux à même de bénéficier de ce protocole particulièrement lourd, doivent donc être sélectionnés soigneusement, en fonction de leurs facteurs de mauvais pronostic, de la compatibilité HLA des donneurs disponibles, et en l'absence de contre-indication d'âge ou médicale. L'autogreffe de cellules souches hématopoïétiques reste quant à elle décevante dans les CTCL (Duarte *et al.* 2008 ; Ingen-Housz-Oro *et al.* 2004).

Plusieurs études ont confirmé l'apport d'une réaction du greffon contre la tumeur, dit effet GVL (*graft-versus-lymphoma*) (Duarte *et al.* 2008), avec des rémissions complètes secondaires induites après perfusions de lymphocytes du donneur (Duarte *et al.* 2010). Des données rétrospectives à long terme rapportent des survies de 46% à 5 ans dans le MF avancé/SS (Duarte *et al.* 2014). Les malades en réponse complète ou très bonne réponse partielle avant transplantation ont les meilleures survies sans progression, alors qu'elles sont plus courtes en cas de recours au sérum anti-lymphocytaire (de Masson *et al.* 2014a). Le conditionnement d'intensité réduite par irradiation corporelle totale ou chimiothérapie, est plus fréquemment employé que le conditionnement myélo-ablatif, car associé à une meilleure survie (Duarte *et al.* 2010).

L'une des complications majeures est la maladie du greffon contre l'hôte ou GVHD (*graft-versus-host-disease*), liée à la présence de LT alloréactifs du donneur et à l'activation des cellules myéloïdes. La GVHD aiguë a été recensée pour les CTCL dans 70% des allogreffes, dont 49% sont sévères (≥ grade 2) et 59% se produisent dans la peau, ce qui peut contribuer à l'efficacité du traitement. La GVHD chronique a une incidence cumulative à 2 ans de 44% (de Masson *et al.* 2014a). La mortalité liée à l'allogreffe a été estimée à 22% à sept ans (Duarte *et al.* 2014).

4.2.2. Nouvelles options thérapeutiques, et essor des immunothérapies

Le traitement des CTCL avancés reste problématique, car les durées de réponse aux traitements usuels de première et deuxième lignes restent courtes, en moyenne 4 mois (Hughes *et al.* 2015). L'état général des patients soumis à des thérapeutiques lourdes, et leur qualité de vie peut se dégrader rapidement, liés à l'immunodépression, au développement de symptômes fonctionnels (douleur, prurit) et psychologiques handicapants, la maladie dermatologique étant exposée au regard de soi et des autres (Demierre *et al.* 2006 ; Holahan *et al.* 2018). De nouvelles thérapies, basées sur les connaissances acquises des CTCL, ont été développées pour tenter de prolonger les durées de survie sans progression, et améliorer la qualité de vie des patients. Tous les essais cliniques présentés ici ont inclus des patients atteints de MF avancé / SS, réfractaires ou en rechute.

- Inhibiteurs d'histone désacétylase (HDACi) :

Les HDACs sont des enzymes impliquées dans le remodelage de la chromatine, catalysant l'élimination d'un groupement acétyl au niveau des histones, et jouent un rôle clé dans le contrôle épigénétique de l'expression des gènes. Les HDACi sont des petites molécules venant se loger dans la poche enzymatique des HDACs. Elles modulent ainsi l'expression de nombreux gènes, notamment impliqués dans le cycle cellulaire, la différenciation, mais aussi l'activité de protéines non-histones, permettant ainsi d'induire l'apoptose, et d'inhiber l'angiogenèse et la prolifération tumorale (Duvic et Vu 2007 ; Grant *et al.* 2010 ; Zhang *et al.* 2019). L'étendue des effets pléiotropiques des HDACi est encore mal appréhendée, et une synergie d'action est attendue avec d'autres thérapeutiques, comme la radiothérapie et les inhibiteurs du protéasome (Camphausen et Tofilon 2007 ; Grant *et al.* 2010).

La *romidepsine* et le *vorinostat* sont sous régime d'autorisation temporaire d'utilisation (ATU) actuellement en France. Ces deux médicaments ont montré des taux de réponse globale (ORR) de 25-35%, avec des durées médianes de réponse proches de 14 mois (Bates *et al.* 2015 ; Duvic *et al.* 2007 ; Olsen *et al.* 2007b ; Piekarz *et al.* 2009 ; Shimony *et al.* 2019). Les effets indésirables sont essentiellement d'ordre infectieux, digestifs, généraux (fatigue) et hématologiques (cytopénies). De nombreux autres HDACi sont en cours de développement (comme le bélinostat, panobinostat, quisinostat, réminostat).

- Immunothérapies ciblées :

Les AcM ont été développés dans les années 1990, grâce au clonage des gènes des immunoglobulines (Köhler et Milstein 1975 ; Winter et Milstein 1991). Les avancées techniques ont permis de passer de la production d'anticorps murin, à des anticorps chimériques, puis humanisés, réduisant ainsi l'immunogénicité pour l'homme. Les anticorps thérapeutiques peuvent agir par plusieurs mécanismes, après liaison à l'antigène cible par leur partie variable F(ab) (Chames et al. 2009 ; Golay et Introna 2012). Le plus répandu est l'action par ADCC, lyse induite d'une cellule cible par une cellule effectrice NK, après liaison à la partie invariable Fc de l'AcM. Son efficacité dépend de l'affinité de cette région de l'immunoglobuline pour le FcyR de la cellule NK, liée à sa séquence peptidique mais aussi à la présence d'oligosaccharides. Cette interaction permet la formation d'une synapse immunologique au niveau du lymphocyte NK, puis la dégranulation de perforine et granzyme, ainsi que le déclenchement de la voie Fas/FasL. Les polymorphismes génétiques du FcyRIIIA (CD16), récepteur NK le plus fréquent et activateur, affectent l'efficacité de l'ADCC au niveau de l'individu (Musolino et al. 2008). Les monocytes / macrophages induisent quant à eux la phagocytose de la cellule opsonisée par les AcM, par mécanisme d'ADCP (antibody-dependent cell phagocytosis). La cytotoxicité dépendante du complément (CDC) est l'induction de la voie classique du complément, déclenchée par le recrutement de la molécule C1q par le complexe antigène-anticorps, la cascade du complément aboutissant à la formation d'un complexe d'attaque membranaire et de pores dans la cellule. La CDC requiert cependant une forte densité de fixation des anticorps à la surface cellulaire, avec une orientation permettant une fixation hexamérique au C1q, ce qui rend en particulier les IgG4 peu propices à son déclenchement (de Taeye et al. 2019 ; Golay et Introna 2012). L'anticorps thérapeutique peut également dans d'autres cas neutraliser une cible soluble (AcM neutralisant), bloquer la voie cellulaire d'aval d'un récepteur (AcM antagoniste), vectoriser des molécules cytotoxiques localement de manière très spécifique, ou encore rapprocher deux types de cellules (anticorps bispécifique).

Plusieurs anticorps ciblant des antigènes exprimés par les cellules tumorales du MF/SS ont ainsi été développés au cours des 20 dernières années :

L'alemtuzumab a été le premier AcM à être introduit en thérapeutique des CTCL. Cette IgG1 humanisée est dirigée contre CD52, antigène exprimé à la surface de tous les lymphocytes T et B, entraînant par ADCC la lyse tumorale et une lymphopénie profonde. L'efficacité se montre supérieure dans le SS comparé au MF (Clark *et al.* 2012 ; de Masson *et al.* 2014b), avec des rémissions complètes observées à long terme (>2 ans) dans le SS. Ceci serait lié à la déplétion sélective des populations tumorales recirculantes dans le SS, et à la pauvreté de la peau en cellules NK et phagocytaires, expliquant la faible action sur les cellules tumorales résidentes du MF (Clark *et al.* 2012 ; Watanabe *et al.* 2015), comme discuté précédemment. L'indication de l'alemtuzumab dans les CTCL a été retirée, du fait du risque infectieux découlant de l'effet lympho-déplétant de ce médicament (de Masson *et al.* 2014b).

Le brentuximab vedotin est une IgG1 anti-CD30 couplée à un poison du fuseau, le monométhyl auristatin E. Il lie le récepteur CD30 et après internalisation par endocytose, libère son composé cytotoxique par protéolyse. Il en résulte un blocage de la polymérisation de la tubuline, ce qui inhibe la prolifération et entraîne l'apoptose. CD30 est exprimé par les cellules tumorales du lymphome de Hodgkin, de l'ALCL, et dans certains cas de MF/SS, particulièrement les LCT et les MF folliculotropes. L'expression physiologique du CD30, appartenant à la superfamille des récepteurs au TNF, est restreinte aux LT activés de type Th2, aux lymphocytes B naïfs, macrophages M2 et granulocytes, ainsi qu'à la medulla thymique (Horie et Watanabe 1998 ; Kim *et al.* 2015). Le brentuximab pourrait donc exercer un rôle immunomodulateur supplémentaire par déplétion de ces populations (Assaf et Hwang 2016). L'activité du brentuximab vedotin en fonction de l'expression de la cible sur les cellules tumorales n'est cependant pas claire à ce jour. L'essai Alcanza de phase II a montré une amélioration de la réponse objective globale, mesurée dans les différents compartiments de la maladie (Duvic et al. 2015b ; Kim et al. 2015 ; Prince et al. 2017). Les effets indésirables obligent parfois à arrêter le traitement, avec de rares neutropénies de grade 3-4 et des neuropathies périphériques chez environ 65% des patients, durables une dizaine de mois. Une réponse complète est obtenue chez près de 30% des patients, mais de durée limitée. Dernièrement, cet AcM a ainsi été employé avant procédure d'HSCT, l'efficacité de l'allogreffe dépendant de l'obtention d'une rémission complète avant conditionnement. Ce protocole montre des résultats encourageants, y compris chez les MF CD30-(André et al. 2020 ; Dumont et al. 2019 ; Mahévas et al. 2019 ; Schneeweiss et al. 2016). Le brentuximab vedotin a été approuvé par l'EMEA dans les CTCL, l'ALCL et le lymphome de Hodgkin.

Le *mogamulizumab* (MGZ) est une IgG1 monoclonale humanisée qui reconnaît la région N-terminale du récepteur de chimiokine CCR4 (Makita et Tobinai 2017). Comme il a été évoqué, CCR4 est un récepteur couplé à une protéine G fortement exprimé par les CS sanguines et cutanées (Capriotti *et al.* 2007 ; Ferenczi *et al.* 2002 ; Sokolowska-Wojdylo *et al.* 2005). Il est également exprimé par des populations T mémoires de type Th2 et Treg (Iellem *et al.* 2001 ; Yoshie et Matsushima 2015). La chaîne oligosaccharidique de la partie Fc a été défucosylée, afin d'accroître l'ADCC induite par le MGZ, en augmentant l'affinité et limitant la compétition de l'AcM avec les IgG plasmatiques endogènes, pour la liaison au récepteur FcyRIIIA (Iida *et al.* 2006 ; Niwa *et al.* 2004). Le MGZ n'exerce pas de CDC ni de cytotoxicité directe. Devant les résultats cliniques prometteurs des études de phase I/II (Duvic *et al.* 2015a ; Ogura *et al.* 2014), un essai global de phase III, comparant le MGZ au vorinostat, a été mené entre 2013 et 2016 (Kim *et al.* 2018). La survie sans progression par rapport au vorinostat a été améliorée de manière significative (7,7 mois en moyenne contre 3,1 mois). Le taux de réponse globale (dans le sang et la peau), était supérieur dans le SS comparé au MF (37% contre 21%), avec des réponses plus fréquentes dans le sang (68%) que dans les autres compartiments. Elles étaient plus

durables que celles obtenues avec les thérapies conventionnelles, les durées médianes de réponse étant de 25 mois dans le sang et 21 mois dans la peau. Les effets indésirables les plus fréquents étaient des éruptions cutanées (20% de grade 1-2, 4% de grade 3) et la pyrexie.

4.2.3. Molécules thérapeutiques en développement

Les essais cliniques en cours sont recensés sur le site *clinicaltrials.gov* (NIH, U.S. National Library of Medicine), et témoignent des pistes variées quant au traitement des CTCL.

- Agents immunomodulateurs :

Le *lénalidomide* (analogue du thalidomide) est une molécule largement utilisée en hématologie, inhibant la prolifération cellulaire, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et l'angiogenèse, et stimulant la cytotoxicité et la sécrétion de cytokines Th1 (Kotla *et al.* 2009). Un essai de phase II retrouve une réponse globale chez 28% des patients CTCL, avec une durée médiane de 10 mois (Querfeld *et al.* 2014). Ce médicament a par ailleurs montré des résultats encourageants en tant que traitement de maintenance, comparé à l'observation clinique seule (Bagot *et al.* 2017).

- Immunotoxines :

Des thérapies cytotoxiques ont été développées, ciblant le récepteur de l'IL-2, fortement exprimé à la surface des CS (Talpur *et al.* 2006) et des Treg (Chinen *et al.* 2016).

Le *denileukin difitox* est une protéine recombinante cytotoxique de fusion issue du génie génétique, associant le domaine catalytique de la toxine diphtérique, à l'IL-2 sous sa forme entière. Il est capable de se lier au récepteur à l'IL-2 de moyenne et haute affinité (composé des chaînes β , γ , sans ou avec la chaîne α , CD25), qui est alors internalisé par endocytose avec la protéine de fusion. La toxine est libérée dans la cellule après protéolyse, et exerce son action cytotoxique en inhibant la synthèse protéique, menant à la mort cellulaire. Les essais de phase III ont montré des taux de réponse de 30-44% (Olsen *et al.* 2001 ; Prince *et al.* 2010), et le médicament a été commercialisé aux Etats-Unis pour le traitement des CTCL CD25+. L'efficacité était supérieure dans les CTCL avancés, exprimant plus fortement CD25 (Talpur *et al.* 2006). Cependant la distribution a été stoppée, due à des difficultés de production (Ramelyte *et al.* 2019). Afin de les résoudre, une nouvelle forme purifiée, l'*E7777* a été mise au point. Un essai de phase II retrouve une réponse globale de 36% dans les CTCL, quel que soit le niveau d'expression de CD25 (Maruyama *et al.* 2019).

- Le lacutamab (IPH4102) :

Suite à la caractérisation du récepteur KIR3DL2 à la surface des CS, cet AcM anti-KIR3DL2 a été développé, et a montré son efficacité *ex vivo*, par mécanismes d'ADCC et ADCP, mais pas par CDC (Marie-Cardine *et al.* 2014). L'essai clinique de phase I dans le CTCL a montré une réponse globale chez 16/44 patients (36%) dont 15/36 Sézary (43%), avec une durée médiane de réponse de 13,8 mois. Le prurit était soulagé de manière sensible. Le médicament était bien toléré, avec principalement des effets indésirables de grade 1-2 à type d'œdème périphérique et asthénie, tandis que la lymphopénie était l'effet indésirable de grade 3 le plus fréquent (7%) (Bagot *et al.* 2019). L'expression de KIR3DL2 dans la peau à la mise sous traitement n'a pas été clairement corrélée à la réponse clinique, mais la réduction des cellules KIR3DL2+ dans le sang et la peau sous traitement, était associée à une réponse prolongée. Les cellules NK KIR3DL2+ n'ont pas été déplétées (Bagot *et al.* 2019 ; Marie-Cardine *et al.* 2014). L'essai de phase II Tellomak est actuellement en cours, évaluant le lacutamab chez les patients MF/SS ayant reçu au moins deux traitements antérieurs (dont le mogamulizumab pour le SS), et dans le PTCL en association à une chimiothérapie standard (gemcitabine-oxaliplatine).

- Les inhibiteurs d'« immune checkpoints » :

Dans les tumeurs solides, les cellules malignes peuvent échapper à la surveillance immune en exprimant PD-L1, qui inhibe l'activation des LT circulants et TILs exprimant PD-1 (Chen 2004). Néanmoins dans les hémopathies malignes T, la cellule tumorale peut elle-même exprimer PD-1, ce qui est souvent le cas dans le MF et le SS (Anzengruber *et al.* 2019 ; Kantekure *et al.* 2012 ; Murray *et al.* 2019 ; Samimi *et al.* 2010). Or la signification et la fonctionnalité de PD-1 à la surface des cellules malignes n'est pas connue, comme discuté précédemment. Il peut être craint que le blocage de cette molécule ne stimule la prolifération tumorale (Wartewig *et al.* 2017).

Un essai clinique de phase II pour le *pembrolizumab*, IgG4 anti-PD-1, rapporte un taux de réponse globale de 38%, avec une médiane de durée de réponse non atteinte à la 58^e semaine. Les effets indésirables de type immun ont cependant mené à l'arrêt du traitement chez 4/24 patients. Une réaction transitoire de poussée de l'érythrodermie et du prurit a été reliée à une forte expression initiale de PD-1 par les cellules tumorales, mais n'a pas été associée à la réponse ultérieure (Khodadoust *et al.* 2019). Contrairement à ce qui a été observé dans d'autres cancers (Havel *et al.* 2019), ni les expressions de PD-L1 et PD-1 en immunohistochimie avant traitement, ni la charge tumorale mutationnelle, reflet indirect de l'immunogénicité, ne corrélaient dans cet essai avec la réponse clinique. Un plus petit essai trouve un taux de réponse de 33% (5/15), avec cependant une survie sans progression limitée à 3,2 mois et deux arrêts de traitement suite à une toxicité sévère (Barta

et al. 2019). Il paraît nécessaire avant de manier avec plus d'assurance ce traitement, de comprendre l'effet d'un anticorps anti-PD-1 sur la cellule tumorale, notamment en fonction de son statut mutationnel pour la voie de signalisation de PD-1, et d'identifier les caractéristiques différenciant patients répondeurs et non répondeurs. Des cas de progression rapide sous anti-PD-1 ont en effet été rapportés dans l'ATLL, dès la première injection chez les 3 premiers patients inclus, avec un mécanisme semblant passer par une levée d'inhibition des cellules malignes (Rauch *et al.* 2019). Un seul cas de progression rapide a pour le moment été rapporté dans le SS (Malachowski *et al.* 2020), incitant à la prudence.

Plusieurs essais cliniques sont en cours, évaluant le nivolumab, une autre IgG4 humanisée anti-PD-1, l'atezolizumab et le durvalumab, deux IgG1 anti-PD-L1, ainsi que le tremelimumab, IgG2 anti-CTLA-4 (Ramelyte *et al.* 2019).

- Les inhibiteurs de miR :

Plusieurs miR ont été reliés aux dérégulations des voies Jak/Stat et de survie MAPK/ERK, PI3K/AKT dans la CS, en particulier miR-155 (Kohnken et Mishra 2019 ; Kopp *et al.* 2013 ; Seto *et al.* 2018). Le *cobomarsen* est un inhibiteur nucléotidique de ce miR, qui induit parmi des lignées CTCL la diminution d'expression de nombreux gènes, impliqués dans la survie, la prolifération et la résistance à l'apoptose (Seto *et al.* 2018). Des essais cliniques de phase I (injections intra-tumorales) et II (injections intraveineuses) sont en cours.

Enfin, de nombreuses autres molécules sont en phase de développement plus précoce (Ramelyte *et al.* 2019). On peut citer parmi les essais de phase I le récepteur-leurre SIRP α Fc (TTI-621), qui permet de bloquer l'interaction entre CD47 et SIRP- α (*signal regulatory protein-\alpha*) à la surface des cellules myéloïdes. Ce dernier constitue un signal « do-no-eat-me » permettant à la cellule tumorale hyperexprimant CD47 d'échapper à l'immunité anti-tumorale (Folkes *et al.* 2018 ; Johnson *et al.* 2019 ; Thompson *et al.* 2017). D'autres approches thérapeutiques ciblent les altérations des voies de signalisation de la CS, comme le duvelisib, un inhibiteur des isoformes δ/γ de PI3K (Horwitz *et al.* 2018). Des inhibiteurs de Jak/Stat sont en développement pré-clinique *in vitro* (Pérez *et al.* 2014). Il en est de même pour la manipulation des voies de l'apoptose, avec le bortezomib (inhibiteur du protéasome), le venetoclax (inhibiteur de Bcl-2) et des inhibiteurs de la protéine anti-apoptotique Mcl-1 (Koch *et al.* 2019 ; Ri *et al.* 2009). La mise au point de nouvelles thérapeutiques est ainsi de plus en plus guidée par la compréhension de la biologie de la cellule maligne, et les caractéristiques de son environnement. Ces molécules très ciblées nécessiteront une évaluation plus fine du statut tumoral et immunologique du patient avant et en cours de traitement.

Objectifs

Cette thèse de sciences fait suite aux travaux de mon équipe, ayant montré la spécificité et la fiabilité du KIR3DL2 en tant que marqueur positif de CS, et mis en évidence une hétérogénéité inattendue des phénotypes naïf/mémoires des CS dans le sang (Moins-Teisserenc *et al.* 2015). Ce marqueur est depuis utilisé au laboratoire hospitalier, pour le diagnostic et le suivi des patients Sézary. Les résultats de cette thèse se découpent en trois parties, correspondant aux objectifs principaux suivants :

Partie A :

- Évaluer prospectivement les performances du marqueur KIR3DL2 pour le diagnostic et la classification sanguine des CTCL de type MF/SS,

Partie B :

- Explorer l'hétérogénéité des cellules tumorales du SS, à l'aide du marqueur KIR3DL2, dans le sang et la peau, afin de caractériser les interactions entre ces deux compartiments de la maladie,
- Étudier l'hétérogénéité immunologique des CS d'un point de vue fonctionnel,

Partie C :

- Explorer l'hétérogénéité des cellules tumorales et son évolution chez les patients MF/SS traités par immunothérapie anti-CCR4 (mogamulizumab), en fonction des réponses au traitement, et/ou du développement de résistance thérapeutique,
- Évaluer l'évolution des populations lymphocytaires « normales » (conventionnelles et régulatrices) des patients traités par mogamulizumab, en fonction des réponses au traitement et des effets indésirables à type d'auto-immunité.

Résultats

Partie A

Apport du KIR3DL2 dans la classification sanguine

des CTCL

Article I

Reconsidération de la classification sanguine du mycosis fongoïde et du syndrome de Sézary à l'aide du marqueur KIR3DL2/CD158k

Revisiting the initial diagnosis and blood staging of mycosis fungoides and Sézary syndrome with the KIR3DL2 marker

British Journal of Dermatology, 2019

M. Roelens, A. de Masson, C. Ram-Wolff, G. Maki, J.M. Cayuela, A. Marie-Cardine, A. Bensussan, A. Toubert, M. Bagot, H. Moins-Teisserenc

Contexte et objectifs :

Les lymphomes T cutanés (CTCL) sont un groupe de lymphomes pour lesquels la classification sanguine (B pour « Blood »), a permis d'améliorer l'évaluation pronostique. Le mycosis fongoïde (MF) se définit par une atteinte cutanée limitée et une évolution généralement indolente, alors que le syndrome de Sézary (SS), beaucoup plus agressif, se caractérise par une érythrodermie généralisée et la présence de lymphocytes (Ly) atypiques circulants, dits cellules de Sézary (CS), en quantité \geq 1000 /µL au frottis sanguin (stade B2). Le MF érythrodermique (MFE) se distingue du SS par un envahissement sanguin faible ou nul (stades B0, ou B1 dit « pré-SS »). La numération des CS sur frottis sanguin, fortement dépendante de l'expertise du cytologiste, n'a cependant jamais atteint un consensus international. Dernièrement, la cytométrie en flux s'est imposée comme une technique plus objective, et la classification sanguine a été ré-évaluée en fonction de la perte de marqueurs pan-T, CD7 et CD26, à la surface des cellules TCD4+.

Mon équipe a précédemment montré la fiabilité du marqueur KIR3DL2/CD158k pour identifier les CS, en mettant au point une stratégie de fenêtrage adaptée, et en vérifiant la corrélation du nombre de CS KIR3DL2+, au nombre de CS sur frottis sanguin, ainsi qu'au clone tumoral quantifié en biologie moléculaire. Depuis, la molécule KIR3DL2 a permis le diagnostic et le suivi des patients CTCL à l'hôpital Saint-Louis (centre de référence). Ici nous présentons notre expertise sur 5 ans concernant le diagnostic initial de 254 patients venus consulter à notre centre pour suspicion de CTCL, en discutant

nos résultats en regard des dernières recommandations de l'EORTC. Ce travail vise ainsi à participer à l'amélioration de la définition consensuelle sanguine du MF et du SS.

Matériel et Méthodes :

Le diagnostic et la classification sanguine ont été réalisés selon les recommandations actuelles émises par l'ISCL/EORTC. Parmi les 254 patients, 35 ont été diagnostiqués SS, 6 pré-SS, 13 MFE et 46 MF. 124 patients présentaient une dermatose inflammatoire bénigne, et 30 une dermatose maligne autre. Les cellules KIR3DL2+ ont été quantifiées en CMF sur sang frais, à l'aide de l'IgG1 monoclonale anti-KIR3DL2 (CD158k), clone 13E4 (Innate Pharma), après exclusion des Ly T CD8+, NK et monocytes, selon notre stratégie de fenêtrage précédemment décrite. Les valeurs absolues et relatives des cellules KIR3DL2+ ont été confrontées à celles des Ly TCD4+CD26– et TCD4+CD7– . Des marquages supplémentaires avec des anticorps anti-TCRV β spécifiques ont été réalisés sur PBMCs congelées, chez 24 patients SS sous traitement.

Résultats :

La sensibilité (Se) et la spécificité (Sp) de KIR3DL2 pour le diagnostic du SS atteignent 88,6% et 96,3%, respectivement, au seuil de $\ge 200 / \mu$ L Ly positifs. Ces performances sont comparables au critère fixé par l'EORTC, de $\ge 1000 \text{ TCD4+CD26-} / \mu$ L (Se =91,4%, Sp =95,9%), avec une meilleure Se que pour le second critère $\ge 1000 \text{ TCD4+CD7-} / \mu$ L (Se =68,6%). De plus, aucun patient non CTCL n'a ≥ 200 cellules KIR3DL2+/ μ L, et les 4 patients CTCL initialement classés B1 avec $\ge 200 \text{ CS KIR3DL2+} / \mu$ L, ont tous évolué au stade B2 dans les 7 mois suivant le diagnostic. Parmi les 213 patients avec < 1600 Ly / μ L, seul KIR3DL2 au seuil de $\ge 200 / \mu$ L ou $\ge 10\%$ de Ly positifs, a permis de détecter les 5 patients Sézary. Sous traitement, les patients avec < 1600 Ly / μ L ont des valeurs absolues de CS KIR3DL2+ mieux corrélées aux TCD4+TCRV β +, que les TCD4+CD26– . En effet, les CS KIR3DL2+/TCRV β + ne sont pas entièrement CD26-, et chez plus de la moitié des patients, une fraction $\ge 30\%$ des TCD4+ bénignes TCRV β – n'exprime pas CD26.

Conclusion :

Nos résultats indiquent que la recherche de lymphocytes T circulants KIR3DL2+, apporte une contribution significative au diagnostic initial de SS, en particulier lorsque les patients sont lymphopéniques. Elle pourrait de plus se montrer prédictive d'une évolution en SS chez les patients MF/MFE. En tant que seul marqueur positif universel de CS, il paraît également plus fiable pour le suivi de la charge tumorale des patients sous traitement. Nous proposons l'introduction de ce paramètre en tant que marqueur tumoral dans la classification sanguine, en association avec CD26, pour le diagnostic du SS et du MFE.

Revisiting the initial diagnosis and blood staging of mycosis fungoides and Sézary syndrome with the KIR3DL2 marker

M. Roelens,^{1,2} A. de Masson,^{1,3,6} C. Ram-Wolff,^{1,3,6} G. Maki,⁴ J-M. Cayuela,^{1,5} A. Marie-Cardine,^{1,3} A. Bensussan,^{1,3} A. Toubert,^{1,2,4} M. Bagot^{1,3,6} and H. Moins-Teisserenc ^{1,2,5}

¹Université de Paris, Paris, France

²INSERM UMR-1160 and ³INSERM UMR-976; Institut de Recherche Saint-Louis, 75010 Paris, France

⁴Laboratoire d'Immunologie-Histocompatibilité, ⁵Laboratoire d'Hématologie Biologique and ⁶Service de Dermatologie; AP-HP, Hôpital Saint Louis, 75010 Paris, France

Summary

Correspondence

Hélène Moins-Teisserenc. E-mail: helene.moins@univ-paris-diderot.fr

Accepted for publication 24 August 2019

Funding sources

M.R. is funded by ARC French foundation for Cancer Research. This work was supported by INSERM and projet Cancéropôle Emergence.

Conflicts of interest

None to declare.

DOI 10.1111/bjd.18481

Background The early diagnosis of Sézary syndrome (SS) is challenging. Loss of CD7 and CD26 expression on $CD4^+$ T cells is the currently used criterion in the initial diagnosis and staging of patients with SS.

Objectives Our aim was to evaluate the respective value of CD26, CD7 and KIR3DL2 expression on CD4^+ T cells and total lymphocytes at initial diagnosis of SS.

Methods This prospective study included 254 patients with clinical features consistent with cutaneous T-cell lymphoma seen at our institution between March 2014 and February 2019. Peripheral blood analysis by flow cytometry was performed for each patient at the time of diagnosis and during follow-up. The diagnosis of SS was based on ISCL/EORTC criteria.

Results The presence of KIR3DL2⁺ Sézary cells (SCs) $\geq 200 \ \mu L^{-1}$ correlated with the diagnosis of SS, with sensitivity of 88.6% and specificity of 96.3%. All 154 patients with either inflammatory skin disease or other haematological disease had KIR3DL2⁺ cells < 200 μL^{-1} , while eight of them had CD4⁺ CD26⁻ T cells \geq 1000 μL^{-1} . Of five patients with SS and lymphopenia, four had CD4⁺ CD7⁻ T cells < 1000 μL^{-1} and three had CD4⁺ CD26⁻ T cells < 1000 μL^{-1} . However, all of them had KIR3DL2⁺ CD4⁺ T cells \geq 200 μL^{-1} . Among patients with available samples during evolution, all B1-staged patients with \geq 200 μL^{-1} KIR3DL2⁺ SCs at diagnosis evolved to B2 stage within 7 months.

Conclusions KIR3DL2 expression on T cells is highly specific and helps the early diagnosis of SS, especially in those patients with lymphopenia.

What's already known about this topic?

- In the ISCL/EORTC cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) categorization of blood involvement (B0–B2), B2 is defined as a T-cell receptor clonal rearrangement in blood, associated with high blood-smear Sézary cell (SC) count.
- Flow cytometry was developed to circumvent interobserver variability of SC manual counts; however, it mostly relies on detection of cells lacking CD7 and/or CD26 expression.
- We previously reported the reliability of KIR3DL2 as the first positive SC marker.

What does this study add?

• Based on our analysis of 254 patients, we propose that KIR3DL2 be added to the ISCL/EORTC criteria for initial diagnosis of Sézary syndrome (SS) and B2 staging.

- This marker improved sensitivity of SS B2-stage CTCL diagnosis with a specificity > 95%, especially for patients with lymphopenia.
- We found KIR3DL2 helped early diagnosis of SS and was more reliable than CD26 in assessing blood tumour burden during therapy.

What is the translational message?

- SC quantification is the major means of staging at initial diagnosis and monitoring blood tumour burden in a clinical trials setting.
- We recommend using a threshold value of KIR3DL2⁺ SCs $\geq 200 \ \mu L^{-1}$ or KIR3DL2⁺ SCs/lymphocytes $\geq 10\%$ in the diagnostic criteria of SS and propose a novel algorithm for CTCL B2 blood staging.

Cutaneous T-cell lymphomas (CTCLs) are a group of primary cutaneous lymphomas including mycosis fungoides (MF) and Sézary syndrome (SS). SS is characterized by erythroderma and high numbers of circulating atypical lymphocytes, Sézary cells (SCs).¹ Erythrodermic MF (EMF) differs from SS by absent/ minimal blood involvement (see below). In 2007, blood staging was added to the tumour–node–metastasis classification of MF/SS, reflecting the broad spectrum of CTCLs as well as the poor prognosis related to blood involvement.² Blood classes B0–B2 were then defined using blood-smear manual counts of SCs (BsSCs). However, manual counting of malignant cells with cerebriform-like nuclear contours never reached international consensus status because of the highly subjective nature of this method.

During the past decade, several markers with variable efficiency for MF/SS diagnosis, outcome prediction, blood response to treatment or as potential therapeutic targets have been identified.³⁻⁵ Such markers are essential for sharing and publishing consistent data about diagnosis, staging, prognosis and response to therapies. Detection of SCs is still mainly based on the absence of pan-T-cell markers such as CD7 and/ or CD26, which is not constant and may be also observed in some benign dermatoses.^{6–8} In most laboratories, diagnosis and follow-up of MF and SS are still hampered by the absence of a 'generic' specific cell-surface marker. The usefulness of flow cytometry (FCM) in tracking tumour burden and response to therapy relies on the assumption that at least one marker remains relatively constant over time. The identification of KIR3DL2/CD158k at the surface of the malignant cells in SS⁹⁻¹² and advanced MF^{13,14} has greatly helped the detailed study of the malignant clone in these diseases.

We have demonstrated the specificity and reliability of KIR3DL2/CD158k as a positive marker for SCs, and in 2014 introduced our optimized FCM strategy⁶ as part of the routine care of patients with erythroderma. Using a subtractive gating strategy, excluding T-cell receptor $(TCR)V\beta^+$ KIR3DL2⁺ T cells, we reported that more than 30% of the nonclonal CD4⁺ T-cell subset was CD26 negative in 82% of patients with SS (14 of 17). Moreover, 30% of patients displayed CD7⁺ SCs, suggesting that neither marker was fully reliable for blood assessment and/or diagnosis of SS.¹⁵

Here, we report our 5 years of expertise in the use of blood FCM for initial diagnosis in 254 patients with suspected CTCL. Our results are discussed in light of the latest recommendations from the EORTC Cutaneous Lymphoma Task Force, which provided a recent comprehensive literature review seeking a universal blood-class MF/SS definition.¹⁶

Patients and methods

Patients

In this prospective study, patients with clinical features consistent with CTCL were referred to our laboratory at the time of initial diagnosis by the dermatology department at Hospital Saint-Louis between March 2014 and February 2019. Diagnosis was made using ISCL/EORTC criteria^{2,7} and the recently published EORTC criteria,16 after correlation of the clinical, histological and molecular characteristics.¹ 'Sézary' refers here to T4 and B2 (stage IV), namely the presence of an identical T-cell clone evidenced in blood and skin with: (i) expanded $CD4^+$ T cells with either $CD4^+$ $CD26^- \ge 30\%$, or $CD4^+$ $CD7^ \geq$ 40%, or CD4/CD8 ratio \geq 10; 2 (ii) SCs \geq 1000 μL^{-1} on blood smear;² or (iii) either CD4⁺ CD7⁻ or CD4⁺ CD26⁻ T cells \geq 1000 μ L^{-1.16} 'Pre-Sézary' refers to EMF (T4) with B1 blood involvement (stage IIIB), that is, either (i) BsSC > 5%,² or (ii) either $CD4^+$ $CD7^-$ or $CD4^+$ $CD26^-$ T cells ≥ 250 $\mu L^{-1},^{16}$ but does not meet the criteria for B2. 'Erythrodermic MF' refers to EMF (T4) with B0 blood involvement (stage IIIA), that is (i) BsSC \leq 5%,² and (ii) either CD4⁺ CD7⁻ or $CD4^+$ $CD26^-$ T cells < 250 $\mu L^{-1.16}$ 'MF' refers to MF with patches, plaques or tumours but no erythroderma (T1, 2 or 3) (stages I-II).

Flow cytometry

Absolute lymphocyte count was calculated using the BD Tru-Count system (BD Biosciences, San Jose, CA, U.S.A.) and eight-colour labelling was performed on whole blood with the following monoclonal antibodies (mAbs): anti-CD3-V450, -CD4-V500, -CD8-PerCP, -CD26-FITC, -CD7-APC, -CD16/ CD56-PECy7 and -CD14-APC-H7 (all Becton Dickinson, le Pont de la Claix, France). The anti-KIR3DL2/CD158k mAb (murine IgG1), termed MOG1-M-K322-13E4, was kindly provided by Innate Pharma (Marseille, France) (panels and staining protocol in Fig. S1; see Supporting Information). When available, additional stainings with specific anti-V β mAbs (Beckman Coulter, Brea, CA, U.S.A.) were performed also on frozen peripheral blood mononuclear cells. Results were communicated to the clinician within 24 h and formulated as 'Sézary cells expressing KIR3DL2 represent X% of total lymphocytes (= X μ L⁻¹). Among CD3⁺ CD4⁺ lymphocytes, X are CD26⁻ and X are CD7⁻.' Heterogeneity or loss of CD3 and CD4 expression were mentioned, if applicable.

Briefly, the gating strategy of KIR3DL2⁺ cells among lymphocytes described in Moins-Teisserenc *et al.*⁶ and in Fig. S1 excludes CD14⁺ monocytes, CD8⁺ cells and CD56⁺ and/or CD16⁺ natural killer cells. These cells are referred to here as KIRD3L2⁺ SCs. In addition, as SCs with defects in CD3 or CD4 expression may distort results using only the CD26 marker, any unusual lymphocyte subset was reported and followed up.

Clonality assessment

DNA was extracted using the QIAmp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany). TCR gamma rearrangement was analysed by multiplex polymerase chain reaction as previously described, using BIOMED-2 primers.¹⁷

Statistics

Receiver operating characteristic (ROC) curves were generated using Prism (GraphPad Software, La Jolla, CA, U.S.A.). The optimum cut-off point for SS diagnosis was set as the value of KIR3DL2⁺ SC lymphocytes that maximizes Youden's index: J = sensitivity + specificity - 1.

Results

Patient tumour and blood classification at initial diagnosis

A total of 254 patients were evaluated at the initial time point. Among them, 35 were diagnosed with SS, six pre-SS, 13 EMF, 46 MF, 30 'other lymphoma or haemopathy' and 124 with 'benign inflammatory disease' (ISD). Blood staging (B0–B2), FCM and clonality data are detailed in Table S1 (see Supporting Information) for the 100 patients with CTCL.

CD26 and KIR3DL2, but not CD7, are reliable markers for B2 staging at initial diagnosis. Our goal was to evaluate the respective importance of each currently used marker for blood staging and to estimate the value added by the introduction of anti-KIR3DL2 in FCM panels.

Of note, percentage evaluation of CD26⁻ or CD7⁻ cells does not seem to be unequivocal among centres, some using CD4⁺ T cells as the reference population and others total lymphocytes.^{7,17} Therefore, we analysed the respective sensitivity/

specificity of CD26 and CD7 percentages in both populations (Table 1a and Fig. 1).

Defining blood classes using the CD4⁺ CD7⁻ subset allowed diagnosis of SS (B2) with relatively low sensitivity (< 69%) despite strong specificity (> 95%), either when results were expressed as percentages or absolute counts. In contrast, both sensitivity (91·4%) and specificity (95·9%) of CD4⁺ CD26⁻ T-cell counts \geq 1000 μ L⁻¹ were high. Similar results were observed for the percentage of CD4⁺ CD26⁻, provided these cells were related to total lymphocytes (evaluation of percentage of CD4⁺ CD26⁻ T cells related to CD4⁺ T cells and to total lymphocytes, respectively, is represented in Fig. S2; see Supporting Information).

We then defined a threshold of KIR3DL2⁺ SCs $\geq 200 \ \mu L^{-1}$ and KIR3DL2⁺ SCs/lymphocytes $\geq 10\%$, according to the optimum cut-off point for SS diagnosis (ROC in Fig. 1b). For these values, the marker reached a sensitivity of 88.6% and 85.7% and specificity of 96.3% and 95.4%, respectively. All 154 patients with either ISD or other lymphoma/haematological

Table 1 Sensitivity and specificity of CD4⁺ CD26⁻, CD4⁺ CD7⁻ and KIR3DL2⁺ Sézary cell percentages and absolute counts for Sézary syndrome diagnosis in 254 patients: (a) for all patients; (b) for patients with CD4⁺ T cells < 1600 μ L⁻¹; and (c) for patients with a combination of CD26 and KIR3DL2 markers

	Threshold	Sensitivity	Specificity
(a) All patients $(n = 254)$			
$CD4^{+}CD7^{-}\mu L^{-1}$	$\geq 1000 \ \mu L^{-1}$	68.6%	98.2%
CD4 ⁺ CD7 ⁻ /%	> 40%	62.9%	99.5%
lymphocytes			
CD4 ⁺ CD7 ⁻ /%	$\geq 40\%$	62.9%	95.4%
CD4 ⁺			
$CD4^+$ $CD26^ \mu L^{-1}$	$\geq 1000 \ \mu L^{-1}$	91.4%	95.9%
CD4 ⁺ CD26 ⁻ /%	$\geq 30\%$	97.1%	93.2%
lymphocytes			
CD4 ⁺ CD26 ⁻ /% CD4 ⁺	$\geq 30\%$	97.1%	50.2%
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ ratio	≥ 10	48.6%	98.6%
KIR3DL2 ⁺ μ L ⁻¹	$\geq 200 \ \mu L^{-1}$	88.6%	96.3%
KIR3DL2 ⁺ /%	$\geq 10\%$	85.7%	95.4%
lymphocytes			
(b) $CD4^+$ T cells < 1600	μL^{-1}		
$CD4^+$ $CD7^ \mu L^{-1}$	$\geq 1000 \ \mu L^{-1}$	1/5	100%
CD4 ⁺ CD7 ⁻ /%	$\geq 40\%$	1/5	100%
lymphocytes			
$CD4^+$ $CD26^ \mu L^{-1}$	$\geq 1000 \ \mu L^{-1}$	2/5	98.6%
CD4 ⁺ CD26 ⁻ /%	$\geq 30\%$	5/5	94.2%
lymphocytes		,	
$KIR3DL2^+ \mu L^{-1}$	$\geq 200 \ \mu L^{-1}$	5/5	96.6%
KIR3DL2 ⁺ /%	$\geq 10\%$	5/5	95.7%
lymphocytes			
(c) $CD4^+$ $CD26^-$ and/or H	KIR3DL2 ⁺		
$CD4^+$ $CD26^ \mu L^{-1}$	$\geq 1000 \ \mu L^{-1}$	100%	92.7%
KIR3DL2 ⁺ μ L ⁻¹	$\geq 200 \ \mu L^{-1}$		
CD4' CD26/%	$\geq 30\%$	100%	90.4%
lymphocytes			
KIR3DL2'/%	≥ 10%		
lymphocytes			



Fig 1. Patients with clinical features of cutaneous T-cell lymphoma. Evaluation of (a) CD26, CD7 and (b) KIR3DL2 markers at initial diagnosis. Receiver operating characteristic curves for Sézary syndrome (SS) diagnosis (upper panels), phenotype distribution according to initial diagnosis (middle panels), correlations between absolute counts of clonal T-cell receptor (TCR)V β^+ cells and absolute counts of CD4⁺ CD26⁻, CD4⁺ CD7⁻ and KIR3DL2⁺ Sézary cells, respectively (lower panels). MF, mycosis fungoides; EMF, erythrodermic MF; ISD, benign inflammatory disease.

disease had KIR3DL2⁺ SCs < 200 μL^{-1} , while eight of them had CD4⁺ CD26⁻ $\geq 1000 \ \mu L^{-1}$ (Fig. 1 a, b). We were able to perform TCRV\beta labelling for 21 patients at initial diagnosis. Absolute counts of both KIR3DL2⁺ SCs and CD4⁺ CD26⁻ T cells were strongly correlated to absolute counts of clonal TCRV\beta cells, whereas CD4⁺ CD7⁻ T cells and clonal TCRV\beta cells were less well correlated (Fig. 1a, b, lower panels).

Three patients with SS (9%) displayed KIR3DL2⁺ SCs below the thresholds, but fulfilled FCM-related ISCL/EORTC criteria for B2 stage (Table S1). An elevated lactate dehydrogenase (LDH) level of > 450 U L⁻¹ was found in 60% of patients with SS (median 561 U L⁻¹; range 325–1316) (Table S1). However, we did not find any correlation between KIR3DL2⁺ SC counts and LDH levels in patients with SS as well as in all patients with CTCL (data not shown), confirming previous data reported by Hurabielle et al.¹⁰

KIR3DL2 is a sensitive marker for Sézary syndrome diagnosis in the absence of CD4⁺ lymphocytosis

There is currently no consensual definition of 'expanded CD4⁺ T cells'. An upper limit of a normal value of 1600 μL^{-1} for

CD4⁺ T cells in the blood has been suggested to define the threshold of CD4⁺ CD26⁻ T cells < 250 μ L⁻¹ for B0 staging.⁷ We reanalysed 213 of 254 patients with CD4⁺ T cells < 1600 μ L⁻¹. Among them, five had SS, six pre-SS, six MF and 13 EMF (examples of FCM data are shown in Fig. 2). The sensitivity assessment could not be fully completed due to the low number of patients with SS without CD4⁺ lymphocytosis. However, results in Table 1b indicate that thresholds of CD4⁺ CD7⁻ and CD4⁺ CD26⁻ cells \geq 1000 μ L⁻¹ were not reached in four of five and three of five patients with SS, respectively. Among FCM-based criteria, only the percentage of CD4⁺ CD26⁻ relative to total lymphocytes was reliable (present in all patients), whereas KIR3DL2 remained both sensitive (five of five patients) and specific using our defined thresholds either in terms of percentages or absolute counts. Of note, four of five patients displayed aberrant phenotypes with altered CD3 and/or CD4 expression (BO43, CC50, WN55 and BR34; Fig. 2a).

According to these findings, we then evaluated the contribution of both CD26 and KIR3DL2 markers, in association or not with initial SS diagnosis, in all 254 patients. CD4⁺ CD26⁻ \geq 1000 μ L⁻¹ and/or KIR3DL2⁺ SCs \geq 200 μ L⁻¹ allowed a



Fig 2. Flow cytometry dot plots from patients with $CD4^+$ T cells < 1600 μL^{-1} . (a) Patients with Sézary syndrome (SS); (b) patients with pre-SS and mycosis fungoides (MF). Arrows indicate aberrant T-cell phenotypes: $CD3^{low}$ $CD4^{low}$ T cells (BO43, CC50), $CD3^{low}$ $CD4^+$ T cells (WN55 and BS40), mix of $CD3^{low}$ $CD4^+$ KIR3DL2⁺ and $CD3^{low}$ $CD4^+$ KIR3DL2⁻ cells (BR34), $CD4^ CD8^-$ KIR3DL2⁺ T cells (KY32). SN27 and PM41 display KIR3DL2⁺ Sézary cells (SCs) with morphological heterogeneity (Sézary normal and high forward scatter characteristics). NK, natural killer cells.

specificity of 92.7% and sensitivity of 100% (Table 1c). Of note, these data were generated according to ISCL/EORTC criteria for diagnosis, without considering KIR3DL2 as a marker for blood assessment.

Increased KIR3DL2⁺ cells in B1-staged patients is predictive for B2 evolution

We focused on B1-staged patients (n = 10) at initial diagnosis, having at least one follow-up time point \geq 5 months (up to month 32) (Table S2; see Supporting Information). Four of them developed SS within 2–7 months. Two were originally assigned as pre-SS (KY32, SN27) and two as MF (PM41, BS40). Despite CD4⁺ T-cell counts < 1600 µL⁻¹ and CD4⁺ CD26⁻/CD7⁻ < 1000 µL⁻¹, more than 200 µL⁻¹ KIR3DL2⁺ cells were detected in all of these patients at diagnosis with KIR3DL2⁺ SCs/percentage of lymphocytes \geq 10% (Fig. 2b). Patient KY32 was diagnosed with SS within 3 months with respect to the increase of BsSCs. Of note, KIR3DL2 was already strongly expressed on an expanded CD4-negative T-cell subset at initial diagnosis.

Therefore, our data suggest that the presence of KIR3DL2⁺ SCs \geq 200 μ L⁻¹ at initial diagnosis may be a risk factor for evolution to B2 stage.

KIR3DL2 is a reliable marker for assessing tumour blood burden during therapy

The relevance of blood staging is not only related to initial diagnosis but is also an indicator of response to therapy. We analysed a group of 24 patients with an $\alpha\beta$ TCR clone identified by FCM and who received at least one line of systemic treatment. Our results showed a strong correlation between

 $CD4^+$ $CD26^-$ and $CD4^+$ $TCRV\beta^+$ as well as between KIR3DL2⁺ SCs and $CD4^+$ $TCRV\beta^+$ cell counts (Fig. 3a). However, when focusing on the 13 patients with $CD4^+$ T cells < 1600 μL^{-1} , only KIR3DL2⁺ SCs remained highly correlated with $CD4^+$ $TCRV\beta^+$ cells (Fig. 3b).

Nonclonal ('benign') CD4⁺ T cells were then determined as TCRV β -clone negative. All 24 patients had 'benign' CD4⁺ T-cell counts above 100 μ L⁻¹ (median 395 μ L⁻¹; range 103–1593).

As shown in Figure 3c, the majority of but not all clonal $CD4^+$ $TCRV\beta^+$ cells and KIR3DL2⁺ SCs were CD26 negative, and more than 62% of patients displayed 'benign' $CD4^+$ T cells with partial loss of CD26 (\geq 30%). These results suggest that KIR3DL2 should be considered as a reliable positive marker for blood staging during the follow-up, whereas CD26 might underestimate the positive biological response to therapy.

Discussion

Since the introduction of our optimized FCM strategy⁶ for KIR3DL2 staining at Saint-Louis Hospital 5 years ago, a total of 254 patients have been addressed for initial diagnosis and prospectively monitored using the MOG1-M-K322-13E4 anti-KIR3DL2 mAbs. Diagnosis was made according to the ISCL/EORTC clinical and biological criteria. Sensitivity and specificity of the negative markers CD7 and CD26 on CD4⁺ T cells and total lymphocytes were compared with those of the positive marker KIR3DL2 for SS initial diagnosis. As SCs often present altered morphology¹⁸ and defects in T-cell markers including CD4, our gating strategy for KIR3DL2⁺ SC detection included lymphocyte subsets of different sizes with or without defects of either CD3 or CD4 expression. Our data emphasize the high sensitivity and specificity of KIR3DL2 is similar to that of



Fig 3. Evaluation of T-cell receptor (TCR)V β , CD26 and KIR3DL2 markers in treated patients with Sézary syndrome. (a) Correlations in 24 patients; (b) correlations in 13 patients with CD4⁺ T cells < 1600 μ L⁻¹; (c) distribution of CD26⁻ cells within 'benign' CD4⁺ clonal TCRV β ⁺ T cells, KIR3DL2⁺ Sézary cells (SCs) and CD4⁺ T cells from healthy donors (HD).

 Table 2 Flow cytometry (FCM) criteria for cutaneous T-cell

 lymphoma B2 staging in patients who have T-cell receptor clonal

 rearrangement in blood

$CD4^+$ T cells $\geq 1600 \ \mu L^{-1}$	$CD4^+$ T cells < 1600 μL^{-1}
$CD4^+$ $CD26^- \ge 1000$ μL^{-1}	$CD4^+$ $CD26^-$ /lymphocytes $\geq 30\%$
or	or
${\rm CD4}^+ \ {\rm CD7}^- {\geq 1000} \ \mu {\rm L}^{-1}$	$\text{KIR3DL2}^+ \text{ SCs} \geq 200 \ \mu\text{L}^{-1} \ \text{a}$
or	or
$\text{KIR3DL2}^+ \text{ SCs} \geq 200 \ \mu\text{L}^{-1}$	$KIR3DL2^+$ SCs/lymphocytes $\ge 10\%$
-	

SCs, Sézary cells. $^{a}Follow$ evolution if the only FCM criterion is KIR3DL2 $^{+}$ SCs \geq 200 $\mu L^{-1}.$

 $CD4^+$ $CD26^- \ge 1000 \ \mu L^{-1}$ when a threshold value of KIR3DL2⁺ SCs $\ge 200 \ \mu L^{-1}$ is applied.

This study confirmed that counts and percentage of CD4⁺ CD7⁻ cells, as well as CD4/CD8 ratio, are not sensitive for SS diagnosis. However, the use of CD7⁻ or CD26⁻ percentages is not consensual between centres, as the results are very different depending on which reference population (total lymphocytes or CD4⁺ T cells), CD4⁺ CD7⁻ and CD4⁺ CD26⁻ percentages are calculated.^{7,19} A clear statement is needed to have a universal objective definition, as percentages are particularly relevant for patients with lymphopenia. Here, our data clearly show that the best specificity, with the same sensitivity, is obtained when total lymphocytes are used as the referent subset at the thresholds indicated by EORTC/ISCL. In our hands, the specificity dramatically dropped to 50.2% when percentage of CD4⁺ CD26⁻ was calculated according to CD4⁺ T cells.

The KIR3DL2 marker appears particularly useful in patients with erythroderma with low CD4⁺ T-cell counts (< 1600 μL^{-1}). Indeed, these patients usually do not meet the current ISCL/EORTC criteria for B2 stage. Our data indicate that patients with KIR3DL2⁺ SCs \geq 200 μL^{-1} are likely to evolve to B2 stage within a few months. Moreover, the KIR3DL2⁺ population gives a better estimation of the blood tumour burden for patients with CD4⁺ T-cell lymphopenia, than does the CD4⁺ CD26⁻ population. These data need to be confirmed on a larger cohort of patients with SS and lymphopenia in order to assess the added value of KIR3DL2 as a blood response criterion.

This study, based on 254 patients referred with CTCL at initial diagnosis, is an important first step in initiating international validation studies of this marker. This is of importance as the phase I trial using the targeted anti-KIR3DL2 antibody IPH4102 was published in June 2019,²⁰ and the Phase II trial TELLOMAK started in May 2019, underlining the relevance of KIR3DL2, at both diagnostic and therapeutic levels.

Thus, the KIR3DL2 marker is useful in (i) initial diagnosis of SS; (ii) predicting the evolution to SS in patients with erythroderma; (iii) evaluating the blood tumour burden in patients with $CD4^+$ T-cell lymphopenia; and (iv) following the blood tumour burden during treatment. We propose, as laid out in Table 2, a novel algorithm for CTCL B2 blood staging. Therefore, we recommend testing the KIR3DL2 marker for the initial diagnosis and staging of CTCL. Further international collaborative studies will evaluate the impact of this marker for blood staging of patients with CTCL.

Acknowledgments

The anti-KIR3DL2 (MOG1-M-K322-13E4) was free of charge and provided by Innate Pharma (material transfer agreement, Marseille, France).

References

- 1 Willemze R, Jaffe ES, Burg G et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. Blood 2005; **105**:3768–85.
- 2 Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N et al. Revisions to the staging and classification of mycosis fungoides and Sézary 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**:1713–22.
- 3 Bahler DW, Hartung L, Hill S, Bowen GM et al. CD158k/KIR3DL2 is a useful marker for identifying neoplastic T-cells in Sézary syndrome by flow cytometry. Cytometry B Clin Cytom 2008; 74:156-62.
- 4 Dulmage B, Geskin L, Guitart J, Akilov OE. The biomarker landscape in mycosis fungoides and Sézary syndrome. Exp Dermatol 2017; 26:668–76.
- 5 Nicolay JP, Felcht M, Schledzewski K et al. Sézary syndrome: old enigmas, new targets. J Dtsch Dermatol Ges 2016; 14:256-64.
- 6 Moins-Teisserenc H, Daubord M, Clave E et al. CD158k is a reliable marker for diagnosis of Sezary syndrome and reveals an unprecedented heterogeneity of circulating malignant cells. J Invest Dermatol 2015; 135:247–57.
- 7 Olsen EA, Whittaker S, Kim YH et al. 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; 29:2598–607.
- 8 Vonderheid EC, Hou JS. CD4⁺ CD26⁻ lymphocytes are useful to assess blood involvement and define B ratings in cutaneous T cell lymphoma. Leuk Lymphoma 2018; 59:330–9.
- 9 Bagot M, Moretta A, Sivori S et al. CD4⁺ cutaneous T-cell lymphoma cells express the p140-killer cell immunoglobulin-like receptor. Blood 2001; 97:1388–91.
- 10 Hurabielle C, Thonnart N, Ram-Wolff C et al. Usefulness of KIR3DL2 to diagnose, follow-up, and manage the treatment of patients with Sézary syndrome. Clin Cancer Res 2017; 23(14):3619–27.
- 11 Klemke CD, Brade J, Weckesser S et al. The diagnosis of Sézary syndrome on peripheral blood by flow cytometry requires the use of multiple markers. Br J Dermatol 2008; 159:871–80.
- 12 Poszepczynska-Guigné E, Schiavon V, D'Incan M et al. CD158k/ KIR3DL2 is a new phenotypic marker of Sézary cells: relevance for the diagnosis and follow-up of Sézary syndrome. J Invest Dermatol 2004; 122:820–3.
- 13 Battistella M, Leboeuf C, Ram-Wolff C et al. KIR3DL2 expression in cutaneous T-cell lymphomas: expanding the spectrum for KIR3DL2 targeting. Blood 2017; 130:2900–2.
- 14 Ortonne N, Le Gouvello S, Tabak R et al. CD158k/KIR3DL2 and NKp46 are frequently expressed in transformed mycosis fungoides. Exp Dermatol 2012; 21:461–3.

- 15 Roelens M, Delord M, Ram-Wolff C et al. Circulating and skinderived Sézary cells: clonal but with phenotypic plasticity. Blood 2017; 130:1468–71.
- 16 Scarisbrick JJ, Hodak E, Bagot M et al. Blood classification and blood response criteria in mycosis fungoides and Sézary syndrome using flow cytometry: recommendations from the EORTC cutaneous lymphoma task force. Eur J Cancer 2018; 93:47–56.
- 17 van Dongen JJM, Langerak AW, Brüggermann M et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: Report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. Leukemia 2003; 17:2257–317.
- 18 Clark RA, Shackelton JB, Watanabe R et al. High-scatter T cells: a reliable biomarker for malignant T cells in cutaneous T-cell lymphoma. Blood 2011; 117:1966–76.
- 19 Bernengo MG, Novelli M, Quaglino P et al. The relevance of the CD4+ CD26- subset in the identification of circulating Sézary cells. Br J Dermatol 2001; 144:125–35.

20 Bagot M, Porcu P, Marie-Cardine A et al. IPH4102, a first-in-class anti-KIR3DL2 monoclonal antibody, in patients with relapsed or refractory cutaneous T-cell lymphoma: an international, first-inhuman, open-label, phase 1 trial. Lancet Oncol 2019; 20:1160–70.

Supporting Information

Additional Supporting Information may be found in the online version of this article at the publisher's website:

Fig S1 Gating strategy for KIR3DL2⁺ lymphocytes.

Fig S2 Patients with clinical features of cutaneous T-cell lymphoma: evaluation of $CD4^+$ $CD26^-$ cells among $CD4^+$ T cells or among total lymphocytes.

 Table S1 Patients with cutaneous T-cell lymphoma at initial diagnosis.

Table S2 Patients followed for > 5 months, with < 1600 CD4⁺ T cells μ L⁻¹ and staged B1 at initial diagnosis.
Fluorchome	FITC	PE	PECy7	PercP	APC	APC-H7	V450	V500
marker	CD26	KIR3DL2/C D158k	CD16 and CD56	CD8	CD7	CD14	CD3	CD4
Clone	L272	MOG1-M- K322-13E4	3G8 and B159	SK1	M-T701	МфР9	UCHT1	RPA-T4

Staining protocol: all mAbs are from Becton Dickinson, excepted KIR3DL2 from Innate Pharma. 50 uL of whole blood were stained for 30' at room temperature, then red cells were lysed (Facs Lysing solution, Becton Dickinson). Samples were immediately acquired on FACSCanto II (Becton Dickinson).



Supplemental Figure 1: Panels and Gating strategy for KIR3DL2+ Lymphocytes (patient JM59): Small and large lymphocytes were selected based on size/morphology plot. Then doublet cells, CD14+, CD3+CD8+ and NK cells were excluded. KIR3DL2+/CD158k+ lymphocytes were then gated within this final gate.



Supplemental Figure 2: Patients with clinical features of CTCL: evaluation of % CD4+CD26- cells among CD4+ T-cells (left) or total lymphocytes (right)

Supplemental Table 1: CTCL patients at initial diagnosis

poly: polyclonal; B clonal = S: identical clone in blood and skin; ND: not done; NA: not available at initial diagnosis; Ly: total Lymphocytes. In bold results in accordance with ISCL/EORTC criteria for B2 stage.

	Initial			Clonality	LDH	Ly	CD4+	Т4/Т8	Bs	SC	CD	4+CD7- T o	ells	CD4	4+CD26- T	cells	KIR3D	L2+ cells
Patient	Diagnosis	Stag	ging	in blood (B) and skin (S)			T cells											
		т	в		UI/L	/μL	/μL	ratio	% WBC	/μL	% Ly	% CD4+ T cells	/µL	% Ly	% CD4+ T cells	/µL	% Ly	/μL
BM55	SS	Т4	B2	B clonal = S	726	48,707	47,597	37.9	82	48,938	26.0	26.6	12,661	96.0	98.2	46,740	91.1	44,976
VM42	SS	Т4	B2	B clonal = S	623	31,536	30,637	281.0	91	35,117	79.7	82	25,122	96.6	99.4	30,453	31.3	9,870
DS55	SS	Т4	B2	B clonal = S	1126	27,727	26,503	133.0	59	20626	29.6	31	8,216	90.8	95	25,178	3.4	943
FA69	SS	Т4	B2	B clonal = S	629	17,638	16,837	73.0	76	32,133	94.8	99.3	16,719	95.1	99.6	16,770	94.5	16,668
PC61	SS	Т4	В2	B clonal, S ND	499	14,149	13,698	38.9	30	4,620	94.6	97.7	13,383	95.7	98.9	13,547	0	0
SI28	SS	Т4	B2	B clonal, S ND	583	10,424	9,400	30.0	46	7,254	63.0	63	6,567	94.0	94	9,799	83.4	8,693
PF64	SS	Т4	В2	B clonal, S ND	953	6,840	6,721	110.0	41	5,437	95.5	97.2	6,533	95.7	97.4	6,546	94.5	6,471
BH71	SS	Т4	B2	B clonal = S	897	7,585	6,790	17.8	32	5,533	84.1	94	6,383	85.5	95.5	6,484	82.6	6,265
FG53	SS	T4	B2	B clonal = S	357	7,658	6,949	29.9	40	5,284	77.7	85.6	5,948	81.6	89.9	6,247	22.7	1,738
AP59	SS	Т4	B2	B clonal = S	517	6,564	6,336	99.0	30	4,533	91.8	95.1	6,026	92.7	96	6,083	90.3	5,930
TC49	SS	Т4	B2	B clonal = S	NA	5,854	5,612	79.0	20	2,238	82.8	86.4	4,849	93.5	97.5	5,472	3.5	205
CR58	SS	Т4	B2	B clonal = S	395	4,417	4,270	7.5	23	3 <i>,</i> 358	49.3	51	2,178	90.9	94	4,014	64	2,827
BA52	SS	Τ4	B2	B clonal = S	410	4,848	4,124	21.2	1.5	131	81.7	96	3,959	82.5	97	4,000	36.8	1,784
BM36	SS	Т4	B2	B clonal = S	545	4392	3,895	19.6	23	2,657	8.1	9.1	354	85.6	96.5	3,759	82	3,601
PP57	SS	Т4	B2	B clonal = S	379	4,758	4,257	50.1	20	1,980	1.5	1.7	72	74.4	83.2	3,542	69	3,283
BM63	SS	Т4	B2	B clonal = S	408	4,036	3,670	13.5	60	6,336	73.6	80.9	2,969	81.1	89.2	3,274	59	2,381
JP38	SS	Т4	B2	B clonal = S	325	3,886	3,145	9.3	23	2,450	71.6	88.5	2,783	76.1	94	2,956	1.3	50
LL66	SS	Т4	B2	B clonal, S poly	477	4,379	3,233	5.8	78	6,310	57.2	77.5	2,506	66.4	89.9	2,906	12	525
BJ51	SS	T4	B2	B clonal = S	342	3,992	3,067	7.1	31	2,579	8.8	11.4	350	64.0	83.3	2,555	28.5	1,138
DJ46	SS	Т4	B2	B clonal = S	580	3,048	2,646	15.0	5	490	2.6	3	79	79.4	91.5	2,421	45.5	1,387
SX58	SS	Т4	B2	B clonal = S	673	3,285	2,813	15.0	27	1,836	73.0	85.2	2,397	73.6	86	2,419	68	2,233
LM51	SS	Т4	B2	B clonal = S	574	3,194	2,435	10.0	16	658	67.2	88.2	2,148	69.9	91.7	2,233	5.5	175
CA49	SS	Т4	B2	B clonal, S ND	387	2,985	2,310	6.2	24	1,620	20.4	26.3	608	67.6	87.3	2,017	19.7	588
LA36	SS	Т4	B2	B clonal = S	NA	2,542	1,854	8.0	28	2,565	63.7	87.3	1,619	68.3	93.6	1,735	0.8	20
GL88	SS	Т4	B2	B clonal = S	NA	3,300	2,255	5.0	14	1,222	16.7	24.5	552	52.1	76.2	1,718	19.5	643
JM59	SS	T4	B2	B clonal =S	1316	3,045	1,843	3.6	<1	0	49.0	81	1,493	50.7	83.7	1,543	60	1927

Patient	Initial	Staging	Clonality	LDH	Ly	CD4+	Т4/Т8	Bs	SC	CD	4+CD7- T (ells	CD4	1+CD26- T	cells	KIR3DL	.2+ cells
ratient	Diagnosis	Juging	skin (S)			i cens											
		ТВ		UI/L	/μL	/μL	ratio	% WBC	/μL	% Ly			т	В		/μL	/μL
ZA39	SS	T4 B2	B ND, S clonal	619	2,503	2,037	6.9	3	307	42.5	52.2	1,063	60.5	74.4	1,516	40.4	1,010
JM44	SS	T4 B2	B clonal = S	375	4,877	4,210	13.2	23	2,861	41.4	48	2,021	25.3	29.3	1,234	60.9	2,970
BR34	SS	T4 B2	B clonal = S	481	1,828	1,498	5.0	<1	<1	13.4	16.3	244	64.3	78.5	1,176	15.8	311
WN55	SS	T4 B2	B clonal = S	514	1,987	1,539	4.8	13	725	55.6	71.8	1,105	58.2	75.2	1,157	42.2	839
LJ49	SS	T4 B2	B clonal = S	NA	1,840	1,222	4.6	14	879	19.6	29.5	360	59.0	88.9	1,086	34.7	638
VM50	SS	T4 B2	B clonal = S	333	2,914	1,594	3.3	22	2,244	43.7	79.9	1,274	36.4	66.6	1,062	11.3	329
BO43	SS	T4 B2	B clonal, S poly	583	1,945	1,452	6.2	<1	<1	2.8	3.7	54	47.9	64.2	932	42.7	800
RC38	SS	T4 B2	B clonal = S	406	1,789	1,165	3.4	10	609	8.5	13	151	43.6	67	781	11.2	200
CC50	SS	T4 B2	B clonal = S	358	1,417	1,015	9.5	2	130	17.6	24.6	250	36.4	50.8	516	31.5	446
VS66	Pre-SS	T4 B1	B clonal = S	402	2,279	1,248	3.6	<1	<1	3.5	6.4	80	23.5	43	537	22.4	510
SN27	Pre-SS	T4 B1	B clonal = S	581	1,348	587	1.4	7	488	13.1	30	176	29.6	68	399	19	256
FS16	Pre-SS	T4 B1	B clonal, S poly	704	2,388	897	1.6	<1	<1	8.1	21.6	194	14.2	37.9	340	2.2	52
TJ23	Pre-SS	T4 B1	B clonal, S poly	453	1,182	669	2.9	<1	<1	8.0	14.2	95	26.9	47.5	318	2.2	26
KY32	Pre-SS	T4 B1	B clonal = S	NA	2,704	414	0.5	8	510	4.1	27	112	11.5	75	311	60.7	1,641
VC61	Pre-SS	T4 B1	B poly	469	1,926	1,123	4.0	10	968	4.1	7	79	14.0	24	270	3.4	65
LB62	EMF	T4 B0	B clonal = S	309	1,312	545	1.8	<1	<1	2.8	6.8	37	18.7	45	245	1	13
GP44	EMF	T4 B0	S clonal, B ND	609	654	367	9.1	3	186	22.2	39.6	145	33.6	59.8	219	2.8	18
KG80	EMF	T4 B0	B, S poly	NA	1,061	491	2.8	<1	<1	2.3	5	25	20.5	44.4	218	4.9	52
BM22	EMF	T4 B0	ND	395	1,501	570	2.1	<1	<1	6.8	18	103	13.1	34.4	196	8	120
AS47	EMF	T4 B0	ND	NA	1,285	573	1.6	<1	<1	4.9	11	63	14.3	32	183	3.3	42
AH42	EMF	T4 B0	B, S poly	413	978	477	2.0	<1	<1	4.9	10	48	17.6	36	172	1.9	18.5
SL39	EMF	T4 B0	B ND, S clonal	NA	2,378	1,069	3.0	<1	<1	3.6	8	86	7.2	16	171	1.8	43
SC49	EMF	T4 B0	B, S poly	496	1,843	1,247	4.6	10	1,290	4.5	6.6	82	9.1	13.5	168	2.3	42
BG40	EMF	T4 B0	B, S poly	439	1,224	571	4.8	<1	<1	7.9	17	97	10.4	22.2	127	1.8	22
GM39	EMF	T4 B0	B clonal = S	449	1,246	128	0.1	<1	<1	2.8	27.4	35	5.5	53.2	68	5.5	68
QJ45	EMF	T4 B0	B clonal = S	439	172	104	4.0	1	72	3.6	5.9	6	26.4	43.6	45	14	24
SE60	EMF	T4 B0	B, S poly	436	557	223	1.8	<1	<1	0.9	2.3	5	5.5	13.7	31	2.5	14
LD67	EMF	T4 B0	B clonal = S	451	381	120	1.6	<1	<1	1.9	6.1	7	6.1	19.3	23	0	0
MF85	MF	T2 B2	B clonal = S	400	2,910	1,776	2.7	8	602	18.3	30	533	47.2	77.4	1,375	10.8	314
BS40	MF	T2 B1	B ND, S clonal	388	1,412	884	2.8	12	628	2.3	3.6	32	42.9	68.5	606	42	593

Detient	Initial	Staging	Clonality	LDH	Ly	CD4+	Т4/Т8	BsS	SC	CD4	4+CD7- T c	ells	CD4	I+CD26- T (ells	KIR3DL	2+ cells
Patient	Diagnosis	Staging	skin (S)			I cells											
		ТВ		UI/L	/μL	/μL	ratio	% WBC	/μL	% Ly			т	В		/μL	/μL
PM41	MF	T2 B1	B ND, S poly	NA	986	730	51.8	5	405	3.7	5	37	61.2	82.7	604	50	493
RL50	MF	T2 B1	ND	NA	1,279	699	3.4	<1	<1	24.4	44.7	312	40.0	73.2	512	15.9	203
HD59	MF	T2 B1	B ND, S clonal	485	3,220	1,531	2.3	1	85	6.4	13.5	207	13.8	29	444	1.1	32
SI63	MF	T2 B1	B clonal = S	500	1,080	659	2.6	3	138	26.2	43	283	30.5	50	330	3.5	38
LE79	MF	T2 B1	B poly, S clonal	729	1,404	912	2.7	<1	<1	4.2	6.4	58	21.4	33	301	2.6	36
PC48	MF	T3 B1	B clonal ≠ S	423	1,088	536	1.6	3	214	9.2	18.6	100	26.6	54	289	1.2	13
LK04	MF	T2 B1	B ND, S clonal	NA	2,242	728	1.2	<1	<1	2.0	6.1	44	11.9	36.7	267	1.5	34
PJ29	MF	T2 B1	B clonal = S	443	916	262	0.7	<1	<1	18.0	18	165	29.0	29	266	8.3	80
SO54	MF	T2 B1	B ND, S clonal	305	2,215	1,098	3.1	<1	<1	6.0	12.1	133	11.8	23.9	262	1.6	35
DN73	MF	T2 B1	ND	376	1,970	730	1.2	<1	<1	4.3	11.5	84	13.0	35.1	256	1.4	28
RJ43	MF	T3 B0	ND	392	1,256	579	1.8	<1	<1	11.3	24.5	142	19.8	43	249	2.6	32.6
AJ48	MF	T2 B0	ND	436	1,529	726	2.6	2	95	6.2	13	94	16.1	34	247	2.8	42
MN63	MF	T2 B0	B clonal ≠ S	NA	1,527	557	0.7	<1	<1	8.2	22.4	125	16.1	44.1	246	1.3	20
JH58	MF	T2 B0	B poly, S clonal	404	1,661	659	2.6	<1	<1	3.3	8.4	55	14.2	35.8	236	1	16
VM50	MF	T2 B0	B clonal, S poly	636	1,680	801	9.1	<1	<1	2.7	5.6	45	13.8	29	232	16.5	277
PD50	MF	T2 B0	B clonal, poly	311	7,330	1,276	2.3	<1	<1	1.1	6.5	83	3.2	18.2	232	0.7	51
TA78	MF	T2 B0	B ND, S clonal	346	2,151	1,243	2.3	<1	<1	3.5	6	75	10.4	18	224	1.5	32
AR65	MF	T2 B0	B clonal ≠ S	379	1,804	730	1.4	<1	<1	4.5	11	80	12.1	30	219	1	18
TJ88	MF	T2 B0	ND	NA	1,886	813	1.9	<1	<1	1.4	3.2	26	11.2	26	211	0	0
NM51	MF	T1 B1	B clonal, S poly	362	2,516	1,370	1.9	7	446	13.7	25.1	344	8.1	14.8	203	3.9	98
CR34	MF	T2 B0	B, S poly	NA	1,304	620	1.8	<1	<1	6.2	13	81	15.2	32	198	2.9	38
КО40	MF	T2 B0	B clonal = S	525	2,863	401	0.2	<1	<1	3.9	28	112	6.6	47	188	1.3	28
AA83	MF	T2 B0	ND	437	2,317	1,021	2.6	ND	ND	5.1	11.5	117	8.0	18.1	185	1.1	25
MK76	MF	T1 B0	B clonal ≠ S	587	1,228	646	3.8	0.5	20	5.3	10	65	14.7	28	181	2.6	31
TD40	MF	T2 B0	B clonal ≠ S	748	1,282	880	3.6	<1	<1	4.1	6	53	13.0	19	167	1.3	17
SS98	MF	T2 B0	B, S poly	474	1,720	826	1.9	1	43	1.2	2.5	21	9.6	20	165	2	34
SJ48	MF	T2 B0	ND	354	1,811	912	4.0	1	62	4.4	8.8	80	8.6	17	155	2.5	45
KL55	MF	T1 B0	ND	343	1,659	968	3.1	ND	ND	4.0	6.9	67	9.1	15.6	151	0.8	0
GC41	MF	T1 B0	B ND, S poly	285	4,565	1,267	0.8	2	480	2.2	8	101	3.2	11.5	146	0.5	23
BF96	MF	T2 B0	ND	403	1,027	402	1.9	<1	<1	3.6	9.3	37	14.0	35.8	144	1.6	16

	Initial			Clonality	LDH	Ly	CD4+	T4/T8	BsS	SC .	CD4	4+CD7- T c	ells	CD4	4+CD26- T c	ells	KIR3DL	2+ cells
Patient	Diagnosis	Stagi	ng	in blood (B) and skin (S)			T cells											
		т	в		UI/L	/μL	/μL	ratio	% WBC	/μL	% Ly			т	В		/μL	/µL
BB52	MF	T1 E	во	B, S poly	NA	656	163	4.0	3	177	20.8	20.8	136	20.6	20.6	135	2.1	24
AM88	MF	T2 E	во	B, S poly	NA	1,155	515	2.4	<1	<1	2.0	4.4	23	11.6	26	134	0	0
DD33	MF	T3 E	во	B, S poly	489	1,199	760	3.8	<1	<1	3.2	5	38	11.1	17.5	133	0.7	8
GP64	MF	T3 E	во	B clonal ≠ S	330	1,643	878	2.4	<1	<1	3.7	7	61	7.7	14.4	126	2.9	48
DL93	MF	T3 E	во	B poly, S clonal	556	1,426	709	1.6	<1	<1	1.7	3.4	24	8.4	16.84	119	0	0
BH57	MF	T2 E	во	ND	NA	1,554	690	1.3	1	86	4.9	11	76	7.5	17	117	2	30
SJ60	MF	T1 6	в0	B ND, S poly	329	1,749	898	2.5	<1	<1	2.3	4.5	40	6.7	13	117	0	0
PJ90	MF	T1 6	в0	B ND, S clonal	568	974	417	0.8	<1	<1	3.9	9.1	38	11.4	26.6	111	1.4	14
MJ65	MF	T1 6	в0	B clonal = S	288	1834	1,076	3.3	2	214	9.7	16.6	179	5.3	9	97	4.5	82
KM44	MF	T3 E	в0	B ND, S clonal	581	827	322	1.9	<1	<1	4.3	11	35	10.9	28	90	1.4	11
DL53	MF	T2 E	в0	B oligo ≠ S clonal	513	884	354	1.3	2	94	5.0	12.6	45	7.7	19.2	68	2.5	22
BD29	MF	T2 E	во	B clonal, S poly	425	944	399	1.2	<1	<1	2.7	6.3	25	5.7	13.5	54	2.2	21
DD57	MF	T2 E	во	B poly, S clonal	315	352	87	2.9	ND	ND	2.1	8.5	7	8.4	34	30	2.8	10
HS31	MF	T3 E	в0	B clonal = S	NA	336	98	1.0	<1	<1	1.8	6	6	6.4	22	22	1.2	4

	Initial dia	agno	sis (C	D4 ⁺ T cells <	1600/µ	L)												After more th	han 5 mo	onths fol	low-up										
		Sta	ging	Clonality	Ly	CD4+	T4/T8	BsS	C	CD4	4+ CD7- T	cells	CD4+	CD26- 7	[cells	KIR	.3DL2+	Follow-up	Ly	CD4+	T4/T8	Bs	SC	CD	4+ CD7- T	cells	CD4	+ CD26- 1	۲ cells	KIR	3DL2+
				in blood (B)		I cells	ratio		,							с	ells			I cells	ratio									с	ells
		Т	В	and skin (S)	/µL	/µL		% WBC	/µL	% % Ly	6CD4+ T cells	/µL	% % Ly	%CD4+ 7 cells	/μL	% Ly	/µL		/µL	/µL		% WBC	/µL	% Ly	%CD4 ⁺ T cells	/µL	% 9 Ly	%CD4+ T cells	/µL	% Ly	/µL
KY32	Pre-SS	T4	B1	B clonal = S	2.704	414	0.4	8	509	4.1	27	112	11.5	75	310	60.7	1641	SS	5408	689	0.7	17	1560	2.3	18	124	10.2	80	551	63	3426
SN27	Pre-SS	T4	B1	B clonal = S	1.348	587	1.4	7	488	13.1	30	176	29.6	68	399	19	256	SS	9404	9.079	56.0	37	7651	29.3	30.3	2751	95.6	90.9	8552	99	9000
VS66	Pre-SS	T4	B1	B clonal = S	2.279	1.248	3.6	< 1	< 1	3.5	6.4	80	23.5	43	537	22.4	510	Pre-SS	1882	1.208	5.6	9	588	2.2	3.4	41	24.1	47.3	454	27.2	512
TJ23	Pre-SS	T4	B1	B clonal = S	1.182	669	2.9	ND	ND	8	14.2	95	26.9	47.5	318	2.2	26	Pre-SS	1749	550	0.7	< 1	< 1	3.3	11	32	10.1	36.1	198	2	33
PM41	MF	T2	B1	B ND. S poly	986	730	51.8	5	404	3.7	5	36	61.2	82.7	603	50	493	SS*	1386	936	11.1	15	1000	16.1	23.9	224	57.3	84.8	794	24.3	337
BS40	MF	T2	B1	B ND. S clonal	1.412	884	2.8	12	627	2.3	3.6	32	42.9	68.5	604	42	593	SS*	1885	1.199	2.9	21	878	2.8	4.4	53	41.3	65	779	37	700
DN73	MF	Т2	B1	ND	1.970	730	1.2	<1	<1	4.3	11.5	84	13	35.1	256	1.4	28	Pre-SS (T4)	2343	876	1.3	<1	<1	5	13.3	116	10.9	29.1	255	1.3	30
NM51	MF	T1	B1	B clonal. S poly	2.516	1.370	1.9	7	446	13.7	25.1	34.4	8.1	14.8	203	3.9	98	MF (T1)	2921	1.421	1.5	5	310	7.5	15.4	219	17.0	34.9	496	< 1	< 1
SI63	MF	T2	B1	B clonal =S	1.080	659	2.6	3	138	26.2	43	283	30.5	50	329	3.5	38	MF	1102	565	1.9	3	114	12.4	23.5	150	17.8	36	203	2	22
LE79	MF	T2	B1	B poly, S clonal	1.404	912	2.7	< 1	< 1	4.2	6.4	58	21.4	33	301	2.6	36	MF	2279	593	0.4	< 1	< 1	4.8	18.3	108	14.1	54	320	1.5	34

Supplemental Table 2: Patients followed for > 5 months, with < 1600 CD4⁺ T cells μ L⁻¹ and staged B1 at initial diagnosis

BsSC, blood-smear manual counts of Sézary cells; WBC, white blood cells; Ly, total lymphocytes; SS, Sézary syndrome; B clonal = S, identical clone in blood and skin; MF, mycosis fungoides; ND, not done; poly, polyclonal. *T4 and clone detected.

Article II

Lettre à l'éditeur concernant l'article intitulé « Syndrome de Sézary et mycosis fongoïde : une vue d'ensemble, incluant le rôle de l'immunophénotypage »

Letter to the editor with regard to the article entitled « Sézary syndrome and mycosis fungoides: An overview, including the role of immunophenotyping » (M.P. Pulitzer, P. Horna, J. Almeida, *Cytometry. Part B, Clinical Cytometry*, 2020 June 9, doi: 10.1002)

Manuscrit soumis

M. Roelens, A. de Masson, C. Ram-Wolff, M. Bagot, H. Moins-Teisserenc

Préambule :

Les auteurs de l'article « Sézary syndrome and mycosis fungoides: An overview, including the role of immunophenotyping », M.P Pulitzer *et* al, discutent de l'importance du diagnostic différentiel entre SS, MF précoces, et dermatoses bénignes inflammatoires. Ils exposent l'intérêt des techniques en cytométrie, sur le sang dans le SS et le MFE, et dans le sang et/ou la peau pour le MF. La dernière partie de l'article appuie sur le fait que les marqueurs actuellement recommandés par l'EORTC/ISCL, CD7 et CD26, sont perdus par une fraction des TCD4+ mémoires à l'état physiologique, et également de manière réactionnelle chez ces patients. Il en résulte une mauvaise discrimination entre les TCD4+ bénignes et les réelles CS, et donc un manque de spécificité pouvant mener à des erreurs diagnostiques.

Nous avons rédigé ce commentaire pour corriger l'affirmation faite par les auteurs, qu'aucun marqueur spécifique de CS n'existe à l'heure actuelle. Il est fait référence à l'article de Boonk *et* al, rapportant pour KIR3DL2 une sensibilité de seulement 33%, avec une spécificité de 95% au seuil de \geq 5% cellules KIR3DL2+ parmi les lymphocytes TCD4+. Mais cette étude mentionnait la réalisation de marquages sur PBMCs congelées, et l'obtention de marquages d'intensité faible, liés à l'utilisation du précédent clone AZ158 (IgG2a). Nous recommandons l'usage du clone 13E4 (IgG1), plus sensible, sur cellules fraîches ou congelées. Nous sommes en désaccord avec M.P Pulitzer *et* al, sur le fait que le

114

KIR3DL2 n'aurait pas été évalué de manière appropriée à la surface de la contrepartie TCD4+ bénigne, puisque dans nos études nous avons utilisé des anticorps anti-TCRVβ spécifique des clones tumoraux, afin de distinguer cellules malignes et bénignes.

Enfin, les auteurs proposent le recours à une combinaison de plusieurs marqueurs afin de mieux identifier les CS : CD3/TCRαβ(low), CD4(low), CD2(–/low), CD7(–/low), CD26(–/low), CD45RO(high). Cependant, aucun de ces marqueurs n'est à lui seul spécifique de CS, et le phénotype cité permet mal de discriminer les cellules TCD4+ bénignes et malignes, les deux populations étant soumises au même environnement cytokinique et présentant des altérations comparables, comme constaté pour CD26 et d'autres marqueurs dont il sera discuté dans l'article V.

Letter to the editor with regard to the article entitled « Sézary syndrome and mycosis fungoides: An overview, including the role of immunophenotyping »

M. Roelens^{1,2}, A. de Masson^{1,3,4}, C. Ram-Wolff^{1,3,4}, M. Bagot^{1,3,4} and H. Moins-Teisserenc^{1,2,5}

¹ Université de Paris, ² INSERM UMR-1160, Institut de Recherche Saint-Louis, ³Service de Dermatologie APHP, ⁴INSERM UMR-976, Institut de Recherche Saint-Louis, ⁵Laboratoire d'Hématologie Biologique APHP.

All at 1, av. Claude Vellefaux, 75010 Paris, France

Correspondence: Dr Hélène Moins-Teisserenc. MD PhD INSERM UMR-1160 Hôpital Saint-Louis 1 avenue Claude Vellefaux 75010 Paris, France helene.moins@univ-paris-diderot.fr

Funding sources that supported the work: M.R. is funded by ARC. This work was supported by INSERM and Projet Emergent Cancéropôle PaSe.

Conflict of interest disclosures: All authors declare that there are no conflicts of interest.

Pulitzer et al. published into Cytometry Part B: Clinical Cytometry on June 9, 2020 an overview on Sézary syndrome (SS) and mycosis fungoides (MF), with a focus on the latest advances concerning the role of immunophenotyping in their diagnosis. We were very interested in how the authors discussed the complexity of Sézary cells (SCs) and their extreme heterogeneity. Besides the detection of a malignant clone in blood and skin, using molecular based technologies, flow cytometry (FC) has been widely developed for the diagnosis and patients' follow-up. We agree with the authors, claiming that the currently used FC markers (lack of CD7 and CD26) recommended by ISCL/EORTC, are not able to discriminate SCs from benign cells, which may have the same aberrant phenotypes with defects in nonspecific marker expression. However, since the first description of KIR3DL2/CD158k by Bagot et al in 2001, we, and other teams, have repeatedly demonstrated the reliability of this marker for the detection of SCs in blood and skin. In healthy donors, KIR3DL2/CD158k expression is highly restricted on minor NK-cell and CD8+T-cell subsets and on rare CD3+CD4+T-cells. In SS patients, we found that the percentages and absolute numbers of KIR3DL2/CD158k cells were strongly correlated to the percentages and absolute numbers of clonal circulating SCs (as evidenced by the use of clonal-specific anti-TCR-V β chain antibodies) and that (not NK, not CD8+ and CD4+/-) KIR3DL2/CD158k+ lymphocytes corresponded to the malignant clonal cell population ¹. We do not agree with the authors saying that KIR3DL2/CD158k has not been adequately analyzed in normal CD4+ T-cells, as we reported extended characterization of the KIR3DL2–TCRV-V β – "benign" counterpart of SCs. In addition, analyses of 40 healthy donors showed that the mean percentage of CD4+ T-cells expressing KIR3DL2/CD158k is 1.5% (min-max= 0-2.5%) (our unpublished data).

The review also cites the work of Boonk et *al.,* evaluating, among other markers, KIR3DL2/CD158k for SS and reporting that the results were not conclusive, as SCs identification was not accurate enough. Of note, this study was conducted on frozen peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) instead of freshly isolated PBMCs. Since then, a novel anti-KIR3DL2/CD158k monoclonal antibody (murine IgG1), termed MOG1-M-K322-13E4, was developed in 2014 by Innate Pharma (Marseille, France), which greatly improved the specificity and the sensitivity of SCs immunostaining, both on fresh and frozen samples. Since then, KIR3DL2/CD158k is part of the routine care of erythrodermic patients at Hospital Saint-Louis, which is the French national reference center for CTCL.

In our paper reporting results of 254 consecutive patients at initial diagnosis with suspected CTCL, we propose to add KIR3DL2/CD158k in a novel algorithm for blood staging, together with CD7 and CD26 markers. We also revisited the specificity and the sensitivity of CD7 and CD26 in the particular case of CD4+T-cell counts <1 $600/\mu$ L at initial diagnosis and during therapy. Our results again, emphasize the reliability of KIR3DL2/CD158k, whereas the lack of CD26 remains informative only when results are given as percentages of total CD4+T-cells.

117

We acknowledge Pulitzer et *al.* to have mentioned our work describing SCs diversity in naive/memory maturation phenotypes and molecular signature, as well as cytokine/chemokine receptor expression but we would like to stress out that we already described this heterogeneity for the first time in 2015, with SCs expressing naive markers in some patients, while SCs have been largely described elsewhere as TCM cells exclusively¹. In addition, we demonstrated that skin-derived SCs showed a more advanced maturation profile than blood-derived SCs, with effector memory and resident memory phenotypes, which are not the hallmark of skin infiltrating T-cells as usually described in MF.

Finally, Pulitzer et *al.* argued that distinction between SCs and normal/reactive CD4+ T-cells significantly improves when a more extensive phenotypic profile (and not just individual parameters) is considered. This would make sense if at least one of the markers mentioned remained relatively constant over time. In our hands, benign CD4+ T-cells in SS patients often display aberrant phenotypes, not only concerning CD7 and CD26, but also the usual markers of naive/memory cells and exhaustion, which resemble to SCs (Figure) (*Roelens al, personal communication*). Although surprising, these phenotypes may play a role in the well documented immunodepression of SS patients. In addition, benign and malignant CD4+ T-cells often evolve in the same way under treatment. As these cells may be affected by the same variations of cytokine environment, such common phenotypes question the reliability of extended phenotype using only non-specific markers for SCs. We are currently monitoring these populations with regards to the tumor burden evolution (*manuscript in preparation*).

As opposed to FC markers recommended by the authors (mainly negative/down-regulated cell-surface molecules), tracking SCs with KIR3DL2/CD158k does not take into-account benign cells which may have the same aberrant phenotypes with defects in non-specific marker expression. Indeed, the decrease of such T-cells may not indicate clearance of neoplastic cells and conversely, the presence of these cells may underestimate the rate of blood response.

In conclusion, the early diagnosis and follow-up of SS/MF is still challenging, because of a lack in most laboratories, of a truly specific surface marker for malignant cells. In such circumstances some patients are diagnosed with a delay, even treated with inappropriate therapies which worsens their prognosis. In response to Pulitzer et *al.*, we recommend to introduce in further studies KIR3DL2/CD158k as a positive marker for SCs identification using FC.

118



Figure Legend:

Example of an extended immune-profile by FC viewed sequentially in a Sézary patient:

A) Sézary cells defined as CD4+TCRV β +KIR3DL2+, **B)** "Benign" CD4+T-cells defined as TCRV β -KIR3DL2-CD4+ T-cells; **C)** immune-profile of an age-matched Healthy Donor (HD). Note the % of KIR3DL2+ cells in HD (1% of total CD4+ T-cells).

In this example, the lymphocyte subset defined as CD4+CD45RA-CD26-CD27+CD28+PD1+ represents 58.5% and 49.2% of total SCs and "Benign" CD4+T-cells respectively, in the Sézary patient, whereas it represents only 3.8% of total CD4+ T-cells from the HD (right panel). Therefore, even if extended phenotypes are performed, the distinction between malignant and benign cells remains challenging in the absence of specific positive markers.

References

1. Moins-Teisserenc H, Daubord M, Clave E, Douay C, Félix J, Marie-Cardine A, Ram-Wolff C, Maki G, Beldjord K, Homyrda 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.

2. 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.

Partie B

De l'hétérogénéité tumorale du syndrome de

Sézary

Article III

Des cellules de Sézary : clonales mais versatiles

Circulating and skin-derived Sézary cells: clonal but with phenotypic plasticity

Blood, 2017

Marie Roelens, Marc Delord, Caroline Ram-Wolff, Anne Marie-Cardine, Antonio Alberdi, Guitta Maki, Laurence Homyrda, Armand Bensussan, Martine Bagot, Antoine Toubert, Hélène Moins-Teisserenc

Objectifs:

Le syndrome de Sézary est une forme leucémique rare et agressive de CTCL. La physio-pathogénie reste obscure, notamment les mécanismes gouvernant les relations entre les localisations cutanée et sanguine, et l'origine du clone tumoral. Suite aux publications de T.S. Kupper *et al.*, il est couramment admis que les CS circulantes et de la peau, identifiées par la clonalité de leur TCRV β , présentent un phénotype central mémoire (TCM). De cette observation a émergé l'hypothèse que ces CS auraient la capacité de recirculer dans le sang à partir de la peau grâce à l'expression de CCR7. L'étude approfondie des CS et des mécanismes physio-pathogéniques de la maladie se sont jusqu'alors heurtés à la difficulté d'identifier et d'isoler ces cellules. Nous avons confirmé la fiabilité du marqueur KIR3DL2 (CD158k) pour l'identification des CS, et avons ainsi observé dans le sang une hétérogénéité inattendue des phénotypes naïf/mémoires Sézary. Le but de ce travail était de caractériser cette diversité sur une large cohorte de patients, en comparant les CS sanguines et cutanées, afin de mieux comprendre les interactions entre ces deux compartiments de la maladie. Il inclue l'étude de sous-populations récemment décrites, les TSCM (« T memory stem cells ») et TRM (T résidentes mémoires).

Méthodes :

47 échantillons sanguins de patients Sézary et 16 biopsies cutanées prélevées le même jour ont été analysés en cytométrie en flux pour l'expression de marqueurs de maturation et de récepteurs aux cytokines, à la surface des CS KIR3DL2+ ou KIR3DL2+TCRVβ+ (en fonction de la disponibilité de l'AcM). Le transcriptome de 3 patients a été réalisé sur CS sanguines triées, en parallèle de populations T CD4+ de 3 donneurs sains (DS), afin de relier les phénotypes observés à une signature moléculaire distincte.

Résultats :

Bien que les phénotypes centraux mémoires étaient les plus fortement représentés parmi les CS, 38% des patients comportaient des cellules tumorales exprimant des marqueurs de cellules naïves, et 15% étaient compatibles avec un profil TSCM. De plus, 43% des échantillons sanguins présentaient une hétérogénéité intra-individuelle de ces phénotypes naïf/mémoires tumoraux. Ces profils ont évolué chez 40% des 29 patients suivis plus de 6 mois, particulièrement lors des rechutes dans le sang. Les CS cutanées présentaient des profils de maturation plus avancés, exclusivement mémoires, avec une expression différentielle des récepteurs aux principales interleukines homéostatiques T, ainsi que des récepteurs de chimiokines impliqués dans le tropisme cutané.

L'étude transcriptomique a permis de relier les CS triées en fonction de leur phénotype, à des signatures moléculaires proches des TCM et TSCM CD4+ de DS, vérifiant ainsi cette hétérogénéité sur le plan moléculaire, avec chez un des patients sa confirmation à l'échelle intra-clonale.

Conclusion :

Nous rapportons une importante hétérogénéité intra- et inter-individuelle des CS, avec des différences phénotypiques sang/peau et des évolutions dans le temps chez certains patients, qui pourraient impliquer une certaine plasticité de ces cellules malignes. De tels profils ont été reliés dans le sang aux signatures moléculaires naïves/mémoires établies chez le DS, remettant en cause le dogme selon lequel les CS seraient exclusivement de type TCM. L'observation, en particulier, de phénotypes tumoraux TSCM serait à explorer, ces « souches mémoires » ayant été décrites chez le sujet sain comme douées de fortes capacités d'auto-renouvellement et de différenciation, et impliquées en tant que réservoir tumoral dans l'ATLL. Au vu de cette diversité des CS, nos résultats sont en faveur du développement de thérapies plus personnalisées, guidées par la caractérisation de la population tumorale à l'échelle intra-clonale.

122

To the editor:

Circulating and skin-derived Sézary cells: clonal but with phenotypic plasticity

Marie Roelens,¹⁻³ Marc Delord,^{2,4} Caroline Ram-Wolff,^{2,5,6} Anne Marie-Cardine,^{2,5} Antonio Alberdi,^{2,7} Guitta Maki,³ Laurence Homyrda,³ Armand Bensussan,^{2,5} Martine Bagot,^{2,5,6} Antoine Toubert,¹⁻³ and Hélène Moins-Teisserenc¹⁻³

¹INSERM Unité Mixte de Recherche 1160, Institut Universitaire d'Hématologie, Paris, France; ²University of Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France; ³Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Laboratoire d'Immunologie-Histocompatibilité, Hôpital Saint Louis, Paris, France; ⁴Biostatistics and Clinical Epidemiology, INSERM Unité Mixte de Recherche 1153, Paris, France; ⁵INSERM Unité Mixte de Recherche 976, Unité de Formation et de Recherche de Médecine, Paris, France; ⁶Assistance Publique–Hôpitaux de Paris, Service de Dermatologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France; and ⁷Plateforme Technologique, Institut Universitaire d'Hématologie, Paris, France

Sézary syndrome (SS) is a rare, aggressive leukemic form of primary cutaneous T-cell lymphoma.¹ The diagnostic criteria associate a clonal T-cell receptor (TCR) rearrangement with peripheral Sézary cell (SC) counts of ≥ 1 G/L, an increased CD4/CD8 ratio of ≥ 10 , CD4⁺CD7⁻ cells of $\geq 40\%$, or CD4⁺CD26⁻ cells of $\geq 30\%$.² The use of anti-TCR-V β antibodies provides a suitable tool for SCs, although 30% of the repertoire is not covered. We, and others, showed the specificity and the reliability of CD158k/KIR3DL2, a member of the killer-cell immunoglobulin-like receptor family, to identify blood-³⁻⁶ and skin-^{7,8} derived SCs. We developed an optimized flow cytometry strategy⁹ and reported that circulating CD158k⁺ T cells are more heterogeneous than expected, being not exclusively of CD62L⁺ CCR7⁺ central memory (TCM) T-cell phenotype.¹⁰⁻¹²

However, skin infiltration mechanisms and the relationships between circulating and infiltrating SCs are not fully understood.¹³ Here we characterize the phenotypic diversity of CD158k⁺ T cells in a large cohort of patients, including markers of recently described T-cell subsets, such as stem-cell memory (TSCM)¹⁴ and resident memory (TRM).¹⁵ A total of 47 SS patients diagnosed according to the International Society for Cutaneous Lymphomas– European Organization of Research and Treatment of Cancer classification² were consecutively included in a prospective study at Saint-Louis Hospital. Bloodand skin-paired samples from 16 patients were also analyzed. The phenotypic diversity of SCs was further characterized at the transcriptomic level to provide molecular signatures of naïve/memory cell-sorted clones.

First, to investigate the heterogeneity of patients' T cells, we characterized naïve (TN), TCM, transitional memory (TTM), effector memory (TEM), and terminal effector memory (TEMRA) subsets, on the basis of CD45RA, CCR7, CD27, and CD95 expression¹⁶ (supplemental Table 1, available on the *Blood* Web site). The recently identified TSCM subset, differing from TN by the expression of Fas receptor (CD95),¹⁴ possesses stem cell–like properties including selfrenewal capacity and multipotency to generate memory subsets. The combination of anti-CD158k and TCR-V β labeling in 17 of 47 patients improved the discrimination between "clonal" V β ⁺CD158k⁺ T cells and nonclonal V β ⁻CD158k⁻CD4⁺ T cells (supplemental Figure 1A, supplemental Table 2).

Our results show that $V\beta^+CD158k^+$ T cells or CD158k⁺ T cells from 25 patients were not uniformly of the TCM phenotype, 18 of them expressing naïve markers (Figure 1A-B). Unexpectedly, 7 patients displayed $V\beta^+CD158k^+$ T cells or CD158k⁺ T cells of the TSCM phenotype, one having a homogeneous expansion of TSCM⁻CD158k⁺ T cells (Figure 1B, CERA45). TSCM cells are considered as the earliest memory T subset, and the concept of their stemness in cancer was first introduced in adult T-cell leukemia.¹⁷ Harnessing this potential may be valuable for the generation of cell lines or mouse models, which are poorly developed in SS. On the other hand, the expression of CD95, classically associated with memory CD45RA⁻ subsets (healthy donor's [HD's] median 65%, 50% to 79%), was extremely heterogeneous among CD45RA⁻V β ⁺CD158k⁺ T cells, from 0.6% to 97% (supplemental Figure 1B). A dysregulation of its expression on circulating SCs was already reported, up- or downregulation being involved in apoptosis resistance or tumorigenesis.^{18,19} During the follow-up, the initial naïve/memory phenotype of SC subsets fluctuated in 40% of the 29 patients monitored for more than 6 months, especially during blood relapse, as is shown for patient ARGP38, who shifted from TN to TCM (Figure 1B).

Using a subtractive gating strategy, excluding $V\beta^+CD158k^+$ T cells, we characterized the nonclonal TCD4⁺ subset in 17 patients (supplemental Table 2) with naïve/memory phenotype distribution similar to that of CD4⁺ T cells from HD (Figure 1C). $V\beta^+CD158k^+$ T cells were mostly but not fully CD26⁻ (median 99%, range 6% to 100%). Strikingly, more than 30% of $V\beta^-CD158k^-CD4^+$ T cells were CD26⁻ in 14 patients (total patients' median 44%, 8% to 74%) (supplemental Figure 1C-D). A similar trend for CD7 expression was observed, suggesting that T cells from SS patients display a skewed CD26⁻ phenotype, CD7⁻ phenotype, or both, not limited to SCs.

We then performed a transcriptomic analysis of sorted CD158k[†] CD4⁺ T cells from 3 patients, having a phenotype of TN, TSCM, TCM, or all 3. Of note, 2 types of clonal V β 2⁺CD158k⁺ SCs (TCM and TSCM) were isolated for patient SYLN27. Results were confronted to sorted TN, TSCM, and TCM CD4⁺ T cells from 3 HDs. Unsupervised hierarchical clustering showed that all HD's CD4⁺ T cells segregate into the same cluster and then according to their respective state of differentiation (supplemental Figure 2). By contrast, SCs displayed a distinct signature, which may be explained by genetic alterations involved in SS,²⁰ such as overexpression of KIR3DL2, PLS3 (T-plastin), and TWIST1 (supplemental Figure 3). We then focused on transcripts discriminating naïve/memory subsets in the 3 HDs. Results in Figure 1D and supplemental Figure 4 showed that transcript profiles from SYLN27- and MARC54-sorted CD158k⁺ TCM are similar to those of HD's TCM. More important, the second clonal V $\beta 2^+$ CD158k⁺ subset from SYLN27, with phenotypic characteristics of TSCM, displayed molecular signatures close to those from HD's TSCM. Of note, the naïve clonal CD158k⁺ subset from COIJ47 did not segregate with normal CD4⁺ TN but with TSCM. It can be noticed that SYLN27 TSCM and COIJ47 TN expressed naïve genes at a low



Figure 1. Phenotypic heterogeneity of circulating CD158k⁺ T cells. (A) Among 47 patients, 28 display SCs of only 1 phenotype, mostly TCM, whereas 19 present a mix of several subsets, comprising naïve, TSCM, TCM, TTM, TEM, or TEMRA. (B) Example of 2 Sézary patients: CERA45, with 87% of SCs displaying a TSCM phenotype (CD45RA⁺CCR7⁺CD27⁺CD95⁺), stable over time; ARGP38, with SCs being exclusively naïve (85%) (CD45RA⁺CCR7⁺CD27⁺CD95⁻) in March 2014, presented a mix of naïve (66%) and TCM (30%) (CD45RA⁻CCR7⁺CD27⁺) in July 2016, along with an increase of blood tumoral burden and large-size lymphocytes (from 0.02 G/L CD158k⁺ T cells in November 2015 to 2.5 G/L in July 2016). (C) Vβ⁺CD158k⁺ T cells versus Vβ⁻CD158k⁻CD4⁺ T cells naïve/memory phenotype distribution within 17 patients. Ranges in 18 HDs are indicated by the blue backgrounds (mean ± 2 SD). Results were obtained after immunostaining on thawed PBMCs. Statistical analyses are paired among patients (Wilcoxon test), and a Mann-Whitney test was used for comparisons with HDs. Results are expressed as medians \pm interquartile ranges. (D) Heat map resulting from supervised hierarchical clustering of differentially expressed genes among the TN, TSCM, and TCM phenotypes of CD4⁺ T cells from HDs and CD158k⁺CD4⁺ T cells from Sézary patients (*P* = .00001 I log2 fold change I > 1). ns, not statistically significant. **P* < .05. ***P* < .01. ****P* < .001.

level, with an atypical expression of some memory genes (supplemental Figure 4). According to their molecular signature, "naïve" SCs from COIJ47 may be reassigned as TSCM with an underexpression of *FAS* (supplemental Table 3), reflecting here a possible apoptosis resistance mechanism rather than a maturation feature.¹⁸

We next compared the distribution of naïve/memory SCs from blood and skin. Both compartments contained tumor cells with distinct differentiation profiles (Figure 2A; gating strategy in skin; supplemental Figure 5A). Skin-derived SCs, defined as CD158k⁺ T cells, V β ⁺CD158k⁺ SCs, or both (supplemental Table 4), were exclusively memory (Figure 2B). According to the progressive model of T-cell differentiation,²¹ our data are in favor of "early" phenotypes in the blood and more "advanced" phenotypes in the skin, similar to skin CD4⁺ T cells from HDs (supplemental Table 5). The C-type lectin CD69, normally expressed by TRM,^{15,22} was quasi-exclusively found on skin-derived SCs (median 75%, range 44% to 90%, n = 7), in



Figure 2. Phenotypic discrepancies between circulating CD158k⁺ T cells and skin-derived SCs. (A) Naïve/memory phenotypes, in favor of more mature subtypes in skin-derived SCs (n = 16). (B) Example of characterization of skin-derived V β 22⁺CD158k⁺ T cells from patient MOTM35, showing the exclusively memory TTM/TEM phenotypes (CD45RA⁻CCR7⁻CD27[±]CD95⁺). These SCs express CD69, a marker of TRM, but not CD103. Ninety-four percent of the CD158k⁺ T cells coexpress TCRV β 22. (C) Expression CXCR3, CCR6, CCR10 (n = 16), and CCR4 (n = 13). (D) Expression of CD127 (IL-7R α , n = 9), CD215 (IL-15R α , n = 8), and CD25 (IL-2R α , n = 16). Results were obtained from immunostaining on fresh whole blood and extracted cutaneous cells from 16 patients. Statistical analyses are paired among patients (Wilcoxon test). Medians ± interguartile ranges are indicated.

association or not with the CD103 integrin (Figure 2B; supplemental Figure 5B). These results suggest that a continuous recirculation of TCM-SCs between blood and skin may not be applicable to all SCs. In the light of these results, the relationships between circulating and infiltrating SCs need to be revisited.

Besides a remarkable disparity between blood- and skin-derived CD158k⁺ T cells, and apart from CCR4, the proportion of cells expressing the homing receptors CXCR3, CCR6, and CCR10 tended to be higher in the skin (Figure 2C). CCR4⁺CD158k⁺ T cells accounted from 2% to 100% of circulating SCs and were less represented within skin SCs. This may explain the results from a recent study evaluating mogamulizumab, an anti-CCR4 monoclonal antibody, showing that the response rate is 2 times less in the skin than in the blood.²³ Heterogeneity between both disease sites was also found regarding receptors of T-cell homeostatic interleukins IL-2, IL-7, and IL-15 (Figure 2D), which are involved in SS pathogenesis,²⁴ with a particular IL-7R α overexpression on blood SCs.

In conclusion, we highlight the great diversity of SCs, in terms of naïve/memory maturation phenotype and molecular signature, as well as cytokine/chemokine receptor expression. These results question the dogma of SCs being exclusively of the TCM phenotype. Skin-derived

SCs show a more advanced maturation pattern than do their circulating counterpart. Our data, aiming to clarify the origin and evolution of SCs during the disease and the relationships between skin and blood compartments, may potentially provide new therapeutic targets for tomorrow's immunotherapies.

The online version of this article contains a data supplement.

Acknowledgments: M.R. is funded by "Médaille d'Or de l'Internat" (Assistance Publique–Hôpitaux de Paris). This work was supported by INSERM and Projet Emergent Cancéropôle PaSe. The authors thank the Technology Platform from the Institut Universitaire d'Hématologie for cell sorting and molecular biology.

Contribution: M.R. performed research, analyzed the data, and wrote the paper; M.D. analyzed transcriptomic data; C.R.-W. provided blood and skin samples and followed the patients; A.M.-C. performed TCR repertoire analyses; A.A. was in charge of molecular biology assays; G.M. performed analyses and participated in writing the manuscript; L.H. performed research; A.B., M.B., and A.T. designed research and participated in writing the manuscript; and H.M.-T. designed research, analyzed the data, and wrote the paper.

Conflict-of-interest disclosure: The authors declare no competing financial interests.

ORCID profiles: A.B., 0000-0002-0409-2497; M.B., 0000-0002-0400-1954; A.T., 0000-0002-7308-7317; H.M.-T., 0000-0003-1602-7534.

Correspondence: Hélène Moins-Teisserenc, INSERM UMR-1160, Institut Universitaire d'Hématologie, Hôpital Saint Louis, 1 av. Claude Vellefaux, 75010 Paris, France; e-mail: helene.moins@univ-paris-diderot.fr.

References

- Willemze R, Jaffe ES, Burg G, et al. WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas. *Blood*. 2005;105(10):3768-3785.
- Olsen E, Vonderheid E, Pimpinelli N, et al; 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.
- Poszepczynska-Guigné E, Schiavon V, D'Incan M, et al. CD158k/KIR3DL2 is a new phenotypic marker of Sezary cells: relevance for the diagnosis and followup of Sezary syndrome. J Invest Dermatol. 2004;122(3):820-823.
- Klemke CD, Brade J, Weckesser S, et al. The diagnosis of Sézary syndrome on peripheral blood by flow cytometry requires the use of multiple markers. Br J Dermatol. 2008;159(4):871-880.
- Hurabielle C, Thonnart N, Ram-Wolff C, et al. Usefulness of KIR3DL2 to diagnose, follow-up, and manage the treatment of patients with Sézary syndrome. *Clin. Cancer Res.* 2017;23(14):3619-3627.
- Bagot M, Moretta A, Sivori S, et al. CD4(+) cutaneous T-cell lymphoma cells express the p140-killer cell immunoglobulin-like receptor. *Blood.* 2001;97(5): 1388-1391.
- Wechsler J, Bagot M, Nikolova M, et al. Killer cell immunoglobulin-like receptor expression delineates in situ Sézary syndrome lymphocytes. *J Pathol.* 2003;199(1):77-83.
- Ortonne N, Le Gouvello S, Mansour 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(2):465-472.
- Moins-Teisserenc H, Daubord M, Clave E, et al. CD158k is a reliable marker for diagnosis of Sézary syndrome and reveals an unprecedented heterogeneity of circulating malignant cells. *J Invest Dermatol.* 2015;135(1):247-257.
- Campbell JJ, Clark RA, Watanabe R, Kupper TS. Sezary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors. *Blood*. 2010;116(5):767-771.
- 11. Fierro MT, Novelli M, Quaglino P, et al. Heterogeneity of circulating CD4+ memory T-cell subsets in erythrodermic patients: CD27 analysis can help to

distinguish cutaneous T-cell lymphomas from inflammatory erythroderma. *Dermatology*. 2008;216(3):213-221.

- Clark RA, Watanabe R, Teague JE, et al. Skin effector memory T cells do not recirculate and provide immune protection in alemtuzumab-treated CTCL patients. *Sci Transl Med.* 2012;4(117):117ra7.
- Kirsch IR, Watanabe R, O'Malley JT, et al. TCR sequencing facilitates diagnosis and identifies mature T cells as the cell of origin in CTCL. *Sci Transl Med.* 2015; 7(308):308ra158.
- 14. Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. *Nat Med.* 2011;17(10):1290-1297.
- 15. Mueller SN, Zaid A, Carbone FR. Tissue-resident T cells: dynamic players in skin immunity. *Front Immunol.* 2014;5:332.
- Felix J, Lambert J, Roelens M, et al. Ipilimumab reshapes T cell memory subsets in melanoma patients with clinical response. *Oncolmmunology*. 2016; 5(7):1136045.
- Nagai Y, Kawahara M, Hishizawa M, et al. T memory stem cells are the hierarchical apex of adult T-cell leukemia. *Blood*. 2015;125(23):3527-3535.
- Jones CL, Wain EM, Chu C-C, et al. Downregulation of Fas gene expression in Sézary syndrome is associated with promoter hypermethylation. *J Invest Dermatol.* 2010;130(4):1116-1125.
- Chen L, Park S-M, Tumanov AV, et al. CD95 promotes tumour growth. *Nature*. 2010;465(7297):492-496.
- Dulmage BO, Geskin LJ. Lessons learned from gene expression profiling of cutaneous T-cell lymphoma. *Br J Dermatol.* 2013;169(6):1188-1197.
- Mahnke YD, Brodie TM, Sallusto F, Roederer M, Lugli E. The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets. *Eur J Immunol.* 2013; 43(11):2797-2809.
- Watanabe R, Gehad A, Yang C, et al. Human skin is protected by four functionally and phenotypically discrete populations of resident and recirculating memory T cells. *Sci Transl Med.* 2015;7(279):279ra39.
- Duvic M, Pinter-Brown LC, Foss FM, et al. Phase 1/2 study of mogamulizumab, a defucosylated anti-CCR4 antibody, in previously treated patients with cutaneous T-cell lymphoma. *Blood*. 2015;125(12):1883-1889.
- Netchiporouk E, Litvinov IV, Moreau L, Gilbert M, Sasseville D, Duvic M. Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression. *Cell Cycle*. 2014;13(21): 3331-3335.

DOI 10.1182/blood-2017-03-772996

© 2017 by The American Society of Hematology

Supplemental Materials and Methods

Patients and healthy donors (HDs)

Forty seven SS patients were included in a prospective study at Saint-Louis hospital (Paris, France) between March 2014 and November 2016 (age range 30-88 years, 0-17 lines of treatment), 29 of them were followed for more than 6 months. All patients were informed and written consents were obtained (CPP Saint-Louis hospital). 18 samples from healthy donors (HDs) were collected from the blood donor bank (Etablissement Français du Sang, Saint-Louis hospital).

Blood samples

Blood samplings were performed and processed as previously described¹. PBMCs were isolated and stored in liquid nitrogen.

Skin samples

Fresh skin biopsies and blood samples were collected the same day from 16 patients, and phenotypes were performed immediately. Six healthy patients undergoing esthetical plastic surgery provided healthy skin as controls.

Skin biopsies were rinsed in cold RPMI 1640 medium, mechanically minced and incubated with 2 mg/ml collagenase II (Sigma Aldrich) for 30 min at 37°C, then washed in PBS/10 mM EDTA and filtered before immunostaining.

Flow cytometry

Eight-color labeling was performed on PBMCs with the following monoclonal antibodies: anti-CD3-APC-H7, -CD4-V500, -CD8-PacificBlue, -CD7-APC, -CD25-APC-H7, -CD27-APC-H7, -CD45-APC, -CD45RA-APC, -CD56PECy7, -CD69-PerCPCy5.5, -CD95-FITC, -CLA-FITC, -CCR4-PerCPCy5.5, -CCR6-PECy7, -CCR7-BV421, -CCR10-BV421, -CXCR3-APC, CD45RA-APC, -CD279-PerCPCy5.5 (BD Biosciences), -CD26-PerCPCy5.5, -CD103-BV421 (BioLegend), -CD215-AF488 (Novus Biological), -Vβ-FITC, -CD127-PECy7 (Beckman Coulter). The anti-CD158k (murine IgG1) termed MOG1-M-K322-13E4 was kindly provided by Innate Pharma (Marseille, France). Acquisition was performed using a FACSCanto II flow-cytometer and data were analyzed using FACSDiva (BD Biosciences).

Whole genome gene expression analysis

CD4+CD158k+T-cells from patients and CD4+T-cells from HDs were sorted in RLT medium (Qiagen) using a FACSAria II cell sorter (BD Biosciences), and the anti-CD158k, anti-CD3, anti-CD4, anti-CD45RA, anti-CCR7, anti-CD27 and anti-CD95 monoclonal antibodies previously quoted. 7-AAD was used to exclude dead cells during cell-sorting. Total RNA was isolated and purified using an RNAeasy Plus Micro kit (Qiagen), quantified and qualified using a HT RNA Pico sensitivity LabChip, with a Caliper LabChip Microfluidics System (Perkin Elmer). 4 ng of total RNA were amplified, labed and fragmented using a GeneChip WT Pico kit (Affymetrix). Each sample was then hybridized to a GeneChip Human Transcriptome Array 2.0 (Affymetrix), washed and stained on a GeneChip Fluidics Station 450 (Affymetrix). Arrays were scanned with the GeneChip Scanner 3000 7G (Affymetrix), using the Command Console (Affymetrix) software. Raw chip data preprocessing and quantil-normalization were performed using the Affymetrix rma-sketch routine. Gene level data were then expressed on the log2 scale and annotated using Affymetrix HTA2.0 library files.

Statistics

We used paired statistical analyses to compare percentages of cell subsets (among living CD4+T-cells or Vb+CD158k+T-cells) from each patient according to their origin (blood vs skin) and their tumoral characteristics (Vb+CD158k+T-cells vs Vb-CD158k-T-cells) (Wilcoxon test). Mann-Whitney test was used for comparisons between patients and HDs (independent samples). These nonparametric statistical tests were performed on GraphPad Prism.

Supplemental Tables

	CD45RA	CCR7	CD27	CD95
Naive T-cell (TN)	+	+	+	-
Stem Cell Memory T-cell (TSCM)	+	+	+	+
Central Memory T-cell (TCM)	-	+	+	x
Transitional Memory (TTM)	-	-	+	x
Effector Memory (TEM)	-	-	-	x
Terminal Effector Memory (TEMRA)	+	-	-	x

Supplemental Table 1. Naïve/memory T-cell subsets were identified according to the respective expression of CD45RA, CCR7, CD27 and CD95. X: marker not used for identification.

	Date of sampling	TCR-Vβ	CD158k+ T-cells μL ⁻¹	CD158k- CD4+ T-cells µL ⁻¹	% Vβ+ /CD158k+ T-cells	% Vβ+ /CD158k- CD4+T cells	Clonality TCRG rearrangement Blood
ARGP38	07/2016	Vβ8	2497	80	99	12.9	Clonal
BIBP37	11/2015	Vβ13.6	422	77	95.3	1.6	Clonal
BINH71	05/2016	Vβ2	247	196	75.2	13.3	Clonal
COIJ47	09/2014	Vβ13.6	710	98	92.2	3.8	Clonal
FILG53	01/2017	Vβ1	476	123	95.4	7.1	Clonal
GRIM40	05/2014	Vβ17	561	693	70.8	19.4	Clonal
KOUA40	06/2014	Vβ8	329	152	72.4	12.8	Clonal
LECD48	11/2015	Vβ5.1	14151	956	98	13.4	Clonal
LESC45	02/2014	Vβ17	2968	162	97.3	7.5	Clonal
MEUJ44	02/2016	Vβ5.1	608	81	95	6.2	ND
OUZH76	05/2014	Vβ22	312	183	82.7	2.5	ND
SEMF36	06/2014	Vβ2	13826	151	99.3	11.2	Clonal
SIWX58	01/2016	Vβ1	532	532	89.7	8.2	Clonal
STAI28	03/2016	Vβ13.1	4761	223	98.5	6	ND
SYLN27	01/2016	Vβ2	5592	193	98.4	8.1	Clonal
TIRD53	04/2014	Vβ2	1684	482	95.2	12.7	Clonal
ULMG41	<u>12/201</u> 6	Vβ2	1437	57	98.9	8.8	Clonal

Supplemental Table 2. Characterization of blood-derived SCs including anti-TCRV β labeling (n=17 patients): CD158k+ and CD158k-CD4+ T-cell counts were determined from freshly collected blood using the TruCount system (BD Biosciences). Correspondences between anti-CD158k-PE and anti-TCR-V β -FITC labeling are indicated. Clonal TCRV β was first determined by molecular biology (T cell receptor gamma (TCRG) rearrangement)².

Sample	CD158k+	T-cells from S	ezary patients					CD4+T-	cells from HE	S				
Gene symbol	COIJ47 TN SYL	N27 TSCM SYL	N27 TCM MA	RC54 TCM	HD TN 1	HD TN 2	HD TN 3 HI	D TSCM 1 HD	TSCM 2 HD	TSCM 3 F	ID TCM 1 H	ID TCM 2 H	D TCM 3	Reference
ACTN1	7,9225	8,2510	8,3256	7,6859	9,9854	9,6145	9,6145	9,0064	9,0813	9,4678	8,2388	8,4556	8,7905	3,5
ANPEP	9,5495	7,3135	7,6909	5,7356	4,5152	4,5543	4,4494	8,4953	9,6975	7,5898	5,2282	5,4067	4,5406	ო
ANXA2	10,0508	9,8625	9,9366	10,4503	6,3338	6,4373	6,7491	9,5044	9,5593	8,5283	9,0443	9,1861	9,1058	3,4,5
ANXA2P2	9,4356	9,1959	9,2797	9,6825	5,7288	5,7103	6,1269	8,9045	8,9045	7,8472	8,3405	8,4443	8,4291	3,5
CCR4	9,1315	8,8846	9,6597	8,7237	3,9863	3,9007	4,3827	7,2413	7,4294	7,5084	8,4903	9,0127	9,3880	ო
CD38	4,0447	4,0603	3,8125	3,8059	5,2726	5,9686	5,4828	4,5787	5,8473	5,6169	4,2070	4,7758	4,5201	ო
CD58	7,3193	8,3020	8,6979	7,5248	5,4966	4,0225	5,4103	7,8214	8,0746	7,3703	8,4049	8,1172	7,7031	3,4,5
CD74	8,1591	8,5034	7,6368	7,0404	6,6372	7,6497	6,6234	8,1290	8,6499	8,4352	6,8683	7,7058	7,4944	3,4
CDCA7L	4,1622	4,6559	4,2792	4,4291	7,3110	6,8338	6,6924	6,1001	6,5323	6,7093	5,4542	5,1673	5,2308	3,5
CERS6	6,6408	6,8423	6,1902	6,7660	7,3311	7,3698	7,2287	6,4488	6,7306	6,9844	5,6907	6,0550	6,3966	3,5
EEA1	5,6077	5,6540	5,7165	5,7100	6,3382	5,9202	6,3156	5,6607	5,7683	6,0176	5,6243	5,3354	5,3802	3,4
FAM129A	7,3334	7,5819	8,4291	8,2638	4,1292	4,0722	4,1473	6,5535	6,3667	6,4908	7,3050	6,4977	7,4469	3,4,5
FAS	5,8823	7,4901	6,7886	6,2013	5,7760	7,5489	5,8524	7,1726	7,3905	7,2301	7,0283	8,1104	7,0972	3,4,5
FCER1G	9,4874	9,3880	7,1388	5,6272	4,8302	5,0159	5,0991	8,7566	9,5798	8,7014	5,6831	6,2064	4,8343	5
FOXP1	7,3849	7,3208	7,3444	7,0620	8,4707	8,1078	8,1591	8,2748	7,7912	7,9957	7,8947	7,5576	7,9332	3,5
GZMA	3,8773	8,9091	7,5946	5,0639	3,5615	3,1592	3,1309	6,7566	8,0299	8,2870	7,3204	6,6359	4,6766	3,4,5
HLA-DMA	8,8224	7,6346	6,5461	5,8552	5,5838	5,7516	6,0615	8,2542	9,6027	9,2176	6,0112	6,4387	5,7961	e
HNRNPLL	5,3028	4,7703	5,9130	6,8512	5,2579	5,3752	5,5022	5,6159	5,3947	5,3461	6,7355	6,4078	6,4355	4
IL6ST	7,3495	8,0690	8,1030	7,5974	9,1530	8,8685	8,7286	8,6499	8,5348	8,3678	7,8676	8,3450	8,0963	3,5
ITGB1	8,3754	9,6424	10,0349	9,6725	5,6275	6,1013	5,3618	7,7533	7,4433	7,1902	7,8264	8,0766	7,9305	4,5
KLRB1	4,5894	9,0127	7,6405	5,0599	3,4930	6,3261	3,6491	8,4903	8,9114	8,5147	9,5593	7,6364	9,6300	3,4,5
LRRN3	6,4441	4,8767	4,5539	4,7234	7,8284	6,8056	8,2777	5,6175	5,8869	7,9089	5,0134	5,3642	7,0162	ო
LYZ	9,4202	9,2621	7,3212	5,0030	4,0045	3,7927	3,7818	9,4824	10,8356	7,1607	5,9833	5,4422	4,0710	ო
MPEG1	7,2866	7,3708	5,0820	4,3517	2,8820	3,1657	2,9781	6,9183	8,5529	7,0027	3,5966	4,1703	2,8302	ი
MY01F	9,7482	8,8376	9,9854	10,2891	6,1071	5,8068	6,6447	8,2959	8,4792	8,9261	9,0576	8,6256	8,2846	3,5
NETO2	4,4971	4,7229	4,6504	4,9751	4,0961	4,2855	4,2172	4,9345	4,8786	5,1070	5,3455	5,0869	5,0904	3,4,5
NOG	7,4550	5,6074	5,1159	5,3911	9,5080	8,5766	8,9487	8,3162	8,3493	7,6934	6,4414	5,5652	7,4539	3,5
PECAM1	6,8564	7,2243	4,6234	4,0307	5,8752	5,0732	5,5064	4,7814	6,1154	6,3952	3,7202	3,9968	2,8622	3,4
PLEK	6,4493	7,4311	6,4732	5,2163	3,9309	4,0280	3,8375	6,4680	7,1464	7,6562	5,1799	5,3381	4,3107	ო
PRDM1	6,1552	5,7127	5,9969	6,2721	4,7489	5,4121	4,8974	6,3710	6,8822	5,7897	6,0352	6,4908	6,1328	3,5
PTPN13	3,8289	3,9798	4,2666	5,4842	3,4236	3,4283	3,2790	3,5654	3,3993	3,5035	4,7078	4,0501	4,5558	ო
RAB31	8,8437	7,9110	5,9066	4,9172	4,5209	4,5522	4,4117	8,6338	9,5290	7,6568	4,9715	5,3966	4,4430	ო
RGS2	6,3319	8,7129	8,5847	7,0569	5,1070	4,7400	4,6795	7,3750	7,5328	6,4531	7,5974	7,4237	6,9138	5
RNASE6	6,7919	6,0645	4,2484	4,0478	2,4147	2,0728	2,4343	5,4083	6,5949	4,0408	2,5580	3,6934	3,4045	ო
SYT11	7,2753	7,5564	7,7275	8,2660	3,4921	4,1124	3,9179	5,2329	5,6603	6,2526	5,9740	6,6779	7,2329	3,4,5
TAF4B	4,1403	3,8782	4,1673	4,5609	5,1678	6,0187	5,4715	4,9013	5,1949	5,0576	4,6791	4,0603	4,5597	3,5
TBXAS1	8,1399	7,1888	5,8592	7,3841	4,7140	4,5802	4,4729	7,3400	7,9128	7,1437	6,0199	5,9969	6,1247	ę
TCF7	9,1613	9,3832	9,3590	9,5798	10,0508	9,5080	9,9854	9,3375	9,0691	9,3539	9,5135	9,1593	9,6825	ς
THBS1	10,0418	7,0628	7,7640	7,3887	4,9846	5,0506	4,9672	9,7543	11,0730	6,5115	7,2366	6,3817	6,8527	ស
ZEB2	6,6247	6,4085	6,3009	4,5382	3,2745	3,5539	3,3592	4,7023	6,2413	5,9437	3,6756	4,0872	3,6385	2
.taolaan 3	LTCHIC C DAA	-ileaner V		a cioca a	in loc 2	عتاء عم (مام	.itaitaana 1	botolos no		iong poto	itorotil a	+	05 JU 201	
onphiemen	יאוח .כ שוטום ו וו		eu gene ev		1111 1082 Su	un in falle	נפו בנו רומרוי	0נו-נ הומרהי	nh callag	סופח יי הי	ש וורפו מרח	רפ: סט טער	01 /U gci	les

displayed on supplemental Figure 4 were previously found to be differentially expressed among CD4+ and/or CD8+ TN, TSCM and TCM from HD (Olvera-Garcia et al³, Scholz et al⁴, Gattinoni et al⁵) – see supplemental references.

	Date of sampling	TCR-Vβ	CD158k+T cells. µL ⁻¹	% Vβ+ /circulating CD158k+T cells	% Vβ+ / skin- derived CD158k+T	Clonality TCR	G rearrangement
					cells	Blood	Skin
BIBP37	11/2015	Vβ13.6	422	98	80	Clonal	Clonal
BINH71	02/2016	Vβ2	480	ND	ND	Clonal	Clonal
FOUC36	10/2015	NA	219	NA	NA	ND	ND
GOLM47	11/2015	NA	1747	NA	NA	Clonal	ND
KOUA40	10/2015	Vβ8	337	ND	ND	Clonal	Clonal
LECD48	11/2015	Vβ5.1	14151	98.9	88	Clonal	ND
MANF85	12/2015	NA	347	NA	NA	Clonal	Clonal
MEUJ44	02/2016	Vβ5.1	608	95	78.7	ND	Clonal
MOTM35	11/2015	Vβ22	27436	99.4	94	Clonal	Clonal
RUBL38	10/2015	NA	1416	NA	NA	ND	ND
SAMP30	10/2015	Vβ14	208	ND	ND	ND	ND
SIWX58	01/2016	Vβ1	532	98	82.3	Clonal	Clonal
STAI28	03/2016	Vβ13.1	4761	99	89.6	ND	ND
SYLN27	10/2015	Vβ2	10952	ND	ND	Clonal	Clonal
TIRD53	10/2015	Vβ2	1633	ND	ND	Clonal	Clonal
VOIM42	10/2015	Vβ13.6	422	NA	NA	Clonal	Clonal

Supplemental Table 4. Characterization of blood and skin derived SCs in 16 patients: Blood-derived CD158k+ T-cell counts, T cell receptor gamma (TCRG) rearrangement, and correspondence between anti-CD158k-PE and anti-TCR-V β 8-FITC labeling in 6 patients. ND: not done; NA: anti-TCRV β mAb not commercially available.

Healthy donor skin	%TN	%TSCM	%TCM	%TTM	%TEM	%TEMRA	%CD69+	%CD103+
No. 1	0	0	5.6	10.2	76.1	5.6	-	-
No. 2	0	0	9.3	16.3	65.1	9.3	56.5	15.7
No. 3	0.3	0.3	46	10.1	36.8	6.1	90.3	10.9
No. 4	6	0	14.3	10.7	57.1	3.6	67.2	29
No. 5	1.2	0	29.6	18.5	42	5	61.3	34.7
No. 6	0	0.6	28.5	18.9	42.6	5.3	67.7	25.3

Healthy donor skin	%CXCR3+	%CCR4+	%CCR6+	%CCR10+	%CD127+	%CD215+	%CD25+
No. 1	-	-	-	-	-	-	14.2
No. 2	1.6	3.3	1.6	42.6	89.2	4.8	-
No. 3	-	-	-	-	47.6	0.4	13.6
No. 4	6.6	21	10.5	24.3	33.5	28.8	13.4
No. 5	2.2	43.2	1.4	28.8	67.4	-	16
No. 6	13.3	19.6	17.3	10	45.4	12.4	12.5

Supplemental Table 5. Data in skin healthy donors: (No. 1: face lifting, No. 2-5: abdominoplasty, No. 6: breast reduction). All percentages are indicated among living CD4+ T-cells.

Supplemental Figure legends

Supplemental Figure 1. Characterization of circulating « clonal » V β +CD158k+T-cells and non-clonal V β -CD158k-CD4+T-cells; example of patient ARGP38 (July 2016, PBMCs). (A) Correspondence between anti-CD158k-PE and anti-TCR-V β 8-FITC labeling. V β 8+CD158k+T-cells are depicted in orange, whereas V β 8-CD158k-CD4+T-cells are in green. 99% of CD158k+T-cells co-express TCRV β 8, whereas 13% of CD158k- T-cells express TCRV β from other specificities. (B) Altered expression of CD95 among memory CD45RA- T-cells, showing a bimodal repartition for V β +CD158k+ T-cells (n=17). Statistical analyses are paired among patients (Wilcoxon test), and a Mann-Whitney test was used for comparisons with HDs (medians ± IQ ranges). (C) Expression of the CD7 and CD26 T-cells markers, showing underexpression on both V β +CD158k+T-cells and V β -CD158k-T-cells. (D) CD7 and CD26 expression on V β +CD158k+T-cells, V β -CD158k-CD4+T-cells and HDs' CD4+T-cells. The pathologic thresholds, as defined by the ISCL group (International Society of Cutaneous Lymphoma), are symbolized by a red dotted line (> 40% for CD4+CD7-, and > 30% for CD4+CD26-T-cells).

Supplemental Figure 2. Unsupervised hierarchical clustering of CD4+T-cells subsets from HD and CD158k+CD4+T-cells from Sézary patients. The hierarchical clustering was performed using complete linkage method on the euclidean distance between samples, on 16,980 probesets retained in the analysis.

Supplemental Figure 3. Heat map of some genes reported to be dysregulated in CTCL⁶⁻⁹ (see supplemental references). Sézary samples are faced with CD4+T-cells from HDs.

Supplemental Figure 4. Supervised transcriptomic analysis of CD4+T-cells subsets from HDs compared to CD158k+CD4+T-cells from Sézary patients. Heat map resulting from supervised hierarchical clustering of differentially expressed genes between the TN, TSCM and TCM phenotypes of CD4+T-cells from HDs and CD158k+CD4+T-cells from Sézary patients (p=0.01, |log2 Fold Change (FC)| > 2.2). These TSCM, TN and TCM signatures include a total amount of 70 genes, 39 of which were already reported (see supplemental Table 3). Of note, *HNRNPLL* (*Heterogeneous Nuclear Ribonucleoprotein L-like*) is a key regulator of the alternative splicing of the CD45 pre-mRNA^{4,5}. Some transcripts are involved in T-cell activation and differentiation, such as *PRDM1*, *HLA-DR*, *CD74* (*HLA-DR*, *CD74* (*HLA-DR*).

DR Gamma Chain), *CD58* (or *LFA3*), *FOXP1*, *CERS6*, *TCF7*, as well as genes encoding for cytotoxic and antimicrobial molecules (GZMA, LYZ, RNASE6, CYBB).

Supplemental Figure 5. Identification and characterization of skin SCs. (A) Gating strategy of skinderived CD158k+ T-cells (patient MANF85). Singlets are first discriminated, then a viability dye (Fixable Viability Dye eFluor506, eBioscience) and anti-CD45-APC mAb (BD Bioscience) allowed the identification of hematopoietic CD45+ living cells, and subsequently the gating of CD158k+CD4+ Tcells. (B) Expression of T resident memory (TRM) markers CD69 (n=7) and CD103 (n=11) among circulating and blood-derived CD158k+ T-cells. Statistical analyses are paired among patients (Wilcoxon test), medians ± IQ ranges are indicated.

Supplemental references:

- 1. Moins-Teisserenc H, Daubord M, Clave E, et al. CD158k is a reliable marker for diagnosis of Sézary syndrome and reveals an unprecedented heterogeneity of circulating malignant cells. J. Invest. Dermatol. 2015;135(1):247–257.
- van Dongen JJM, Langerak AW, Brüggemann M, et al. Design and standardization of PCR primers and protocols for detection of clonal immunoglobulin and T-cell receptor gene recombinations in suspect lymphoproliferations: report of the BIOMED-2 Concerted Action BMH4-CT98-3936. *Leukemia*. 2003;17(12):2257–2317.
- Olvera-García G, Aguilar-García T, Gutiérrez-Jasso F, et al. A transcriptome-based model of central memory CD4 T cell death in HIV infection. *BMC Genomics*. 2016;17(1):956.
- 4. Scholz G, Jandus C, Zhang L, et al. Modulation of mTOR Signalling Triggers the Formation of Stem Cell-like Memory T Cells. *EBioMedicine*. 2016;4:50–61.
- Gattinoni L, Lugli E, Ji Y, et al. A human memory T cell subset with stem cell-like properties. Nat. Med. 2011;17(10):1290–1297.
- 6. Dulmage BO, Geskin LJ. Lessons learned from gene expression profiling of cutaneous T-cell lymphoma. *Br. J. Dermatol.* 2013;169(6):1188–1197.
- 7. Jariwala N, Benoit B, Kossenkov AV, et al. TIGIT and Helios Are Highly Expressed on CD4(+) T Cells in Sézary Syndrome Patients. J. Invest. Dermatol. 2017;137(1):257–260.
- Qin Y, Buermans HP, van Kester MS, et al. Deep-sequencing analysis reveals that the miR-199a2/214 cluster within DNM3os represents the vast majority of aberrantly expressed microRNAs in Sezary syndrome. *J Invest Dermatol*. 2012;132(5):1520–2.
- Michel L, Jean-Louis F, Begue E, Bensussan A, Bagot M. Use of PLS3, Twist, CD158k/KIR3DL2, and NKp46 gene expression combination for reliable Sézary syndrome diagnosis. *Blood*. 2013;121(8):1477–1478.

Supplemental Figure 2







Supplemental Figure 3





MARC54 SCs TCM SYLN27 SCs TCM HD2 CD4+ TCM HD1 CD4+ TCM HD3 CD4+ TCM HD3 CD4+ TN HD2 CD4+ TN HD2 CD4+ TN HD2 CD4+ TSCM HD1 CD4+ TSCM

Supplemental Figure 4

PHENOTYPE OF

TSCM

TCM

HD

-1

-2

SEZARY PATIENT

TN

SORTED T-CELLS



B3GALT2 HNRNPLL NFATC2 PTPN13 GPR15 TGFBR3 SYT11

SYT11 ITGB1 CCR4 FAM129A MYO1F ANXA2P2 ANXA2 LRRN3

NOG FOXP1 CDCA7L ACTN1 IL6ST CD38

CD38 TAF4B TCF7 CERS6 EEA1 PECAM1 PECAM1 PLXDC2 RAB31 IGSF6 TYPOERB

TYROBP IL13RA1 LPCAT2 CSF1R ANPEP LYZ DUSP6 CCR1 FAM49A FCGR3A FCGR3A C5AR1 FCRL3 KLRB1 NETO2 GZMA

CD58 RG52 PRDM1 THB51 TBXAS1 FPR3 SLC7A11 SLAMF7 CCL4L2 FGL2 CD74 CCL4 PLEK LYN HLA-DRA CYBB MPEG1 FCER1G CXCL16 HLA-DRB1 HLA-DRB5

IFI30 HLA-DMA HLA-DRB5

Supplemental Figure 5

Α

В







Circulating CD158k+ T-cells

Skin-derived CD158k+ T-cells

Etude annexe à l'article III :

Potentiel de différenciation *in vitro* des cellules de Sézary

Objectifs:

L'observation d'une hétérogénéité phénotypique et moléculaire des CS, avec des évolutions ayant lieu *in vivo* sous traitement chez près de la moitié des patients étudiés, et des différences entre profils sanguins et cutanés, suggère un potentiel plastique de ces cellules. Nous nous sommes ainsi interrogés sur la signification et les caractéristiques fonctionnelles de ces phénotypes parmi la population tumorale du SS. Des stimulations *in vitro* non spécifiques du TCR, en association aux principales cytokines homéostatiques, ont été entreprises, afin d'évaluer les capacités de différenciation, activation et prolifération des CS, en fonction de leur phénotype naïf / mémoire initial.

Matériels et Méthodes :

Tests de stimulation et différenciation in vitro des CS et TCD4+ de donneur sain

Les PBMCs de 5 patients Sézary ont été décongelées, traitées à la DNAse I (ThermoFisher scientific) en RPMI 1640 (Gibco, ThermoFisher scientific) (80 U/mL, 30 min à 37°C). Elles ont été marquées au Cell Trace Violet (Invitrogen, ThermoFisher scientific) selon les instructions du fabricant, à la concentration ajustée de 1 ng/mL/ million de cellules. Les cellules ont été mises en plaque 96 puits pré-coatées par un anticorps anti-CD3 (0,25 μ g/mL, 100 μ L/puits, Beckman Coulter), à 100 000 cellules / 200 μ L, en milieu RPMI 1640 additionné de 10% de sérum humain AB, d'anticorps anti-CD28 soluble (1 μ g/mL) et du cocktail de cytokines suivants : IL-2 (50 ng/mL), IL-7 (10 ng/mL), IL-15 (40 ng/mL) (Miltenyi Biotec). La plaque a été incubée à 37°C sous CO₂ durant 7 jours.

Les PBMCs d'un donneur sain (DS) de l'EFS a été traité de manière parallèle. Les cellules TN, TSCM et TCM CD4+ ont également été triées sur BD FACS Aria III, à l'aide des AcM suivants (BD Biosciences): anti-CD45RA PE-CF594, -CD95 APC, -CD27 BV605, -CCR7 BV421, -CD4 APC-H7, -CD3 FITC et du Fixable Viability Dye eFluor506 (eBioscience, ThermoFisher).

Des marquages ont été réalisés avant incubation et à 7 jours, à l'aide des AcM suivants (tous de BD Biosciences, sauf spécifié) : anti-CD45RA BUV737, -CD95 BUV395, -CD25 BV786, -CD27 BV605, -CCR7

PECy7, -CD4 APC-H7, -CD3 AF700, -KIR3DL2 PE (Innate Pharma, IgG1 clone 13E4), -TCRVß FITC (Beckman Coulter). L'acquisition des marquages a été réalisée sur cellules fixées (PFA 2%), sur cytomètre LSR Fortessa (BD Biosciences), et les cellules mortes positives au Fixable Viability Dye eFluor506 (eBioscience, ThermoFisher) ont été exclues. Pour une meilleure reproductibilité des intensités de fluorescence, le cytomètre a été calibré avant chaque séance d'acquisition à l'aide des Rainbow Calibration Particles (8 pics) (BD Biosciences). Les données ont été analysées à l'aide du logiciel FlowJo, LLC (BD). L'index de prolifération (PI) correspond au nombre total de divisions cellulaires, divisé par le nombre de cellules ayant subi au moins une division.

Résultats :

Afin de tester la réponse des différentes sous-populations naïve / mémoires, les PBMCs naïves, TSCM et TCM d'un DS ont été triées et stimulées *in vitro* en présence d'anticorps anti-CD3/CD28 et d'interleukines IL-2 / IL-7 / IL-15. Les PBMCs totales de patients SS comprenant > 50% de CS parmi leurs lymphocytes, ont été stimulées de manière identique. Après 4 jours d'incubation, les TCD4+ de DS prolifèrent largement (n=5-7 divisions selon les sous-populations triées, PI=1,6-2,5) (Tableau 1), alors que les CS ne montrent que 0-1 division seulement. Une étude à 7 jours a ainsi été retenue pour permettre d'observer les variations phénotypiques au cours des divisions cellulaires, à la fois chez les CS et les TCD4+ saines.

La prolifération spécifique des CS et des TCD4+ du DS, quantifiée au Cell Trace Violet, confirme un nombre de divisions et un index de prolifération plus faible pour les CS à 7 jours (Figure 1A), qui sont effectivement réputées pour répondre faiblement aux stimulations et agents mitogènes (Dalloul *et al.* 1992 ; Gazdar *et al.* 1979 ; McCusker *et al.* 1997). Au bout d'une semaine, les CS régulent positivement CD25 (IL-2R α), et négativement CD127 (IL-7R α), mais souvent de manière moins franche que le DS. La chaîne α du récepteur à l'IL-7 est connue pour être internalisée par endocytose suite à la liaison avec l'IL-7, ici présente en excès dans le milieu de culture (Henriques *et al.* 2010). Ce processus semble donc être actif chez la cellule tumorale, même si plus faiblement chez certains patients (tel ARGP38).

De manière remarquable, les marqueurs de différenciation évoluent au fil des divisions des CS (Figure 1B), avec la régulation négative de CD45RA, CD27, CCR7 et positive de CD95 chez 3/5 patients. Il est à noter que, contrairement au processus physiologique, les CS perdent souvent l'expression de CD27 avant CCR7 (ARGP38, KASI67, CERA45). Pour les trois autres marqueurs, le processus séquentiel de différenciation TCD4+ décrit par Fritsch *et al.* (2005), est en revanche respecté, même s'il paraît plus lent que chez le DS dans les mêmes conditions (voir pour comparaison la différenciation des TCD4+ naïves, TSCM et TCM triées du DS, présentées Tableau 1). Seules les CS TSCM de CERA45, qui régulent

137

négativement la molécule CD27 de manière isolée, n'évoluent pas en état mémoire plus avancé au 7^e jour.

Conclusion :

In vitro, un processus de différenciation a pu être observé sous stimulation, au fil des divisions et de l'activation des CS. Il suit globalement le processus séquentiel décrit physiologiquement pour les lymphocytes T CD4+, même si CD27 est perdu avant la transition TTM / TEM chez certains patients.

Tableau 1 – Différenciation et prolifération de cellules TCD4+ naïves, TSCM et TCM triées issues d'un DS, sous stimulation par anti-CD3/CD28 et cocktail IL-2/IL-7/IL-15 pendant 4, 7 et 11 jours (n : nombre de divisions, PI : index de prolifération)

J1	TN	TSCM	ТСМ
J4	100% TSCM	57% TCM 3% TTM 3% TEM 35% TSCM	85% TTM 12% TEM
	n=6, PI=2,47	n=5, PI=1,6	n=7, PI=2,21
J7	97% TSCM 3% TCM	/	62% TTM 38% TEM
	n=7, PI=2		n=9, PI=2,42
J11	70% TSCM 25% TCM 5% TTM	9% TCM 47% TTM 43% TEM	39% TTM 61% TEM
	n>10	n>10	n>10



J7

J7

J7

J7

J7

J7





Partie C

Caractérisation immunologique des compartiments T malins et bénins dans les CTCL de type mycosis fongoïde / syndrome de Sézary :

Application à l'immunothérapie par anti-CCR4

Article IV

Association de manifestations auto-immunes à une rémission complète chez deux patientes Sézary traitées par mogamulizumab

Association of autoimmunity and long-term complete remission in patients with Sezary syndrome treated with mogamulizumab

British Journal of Dermatology, 2018

P. Bonnet, M. Battistella, **M. Roelens**, C. Ram-Wolff, F. Herms, L. Frumholtz, J.D. Bouaziz, P. Brice, H. Moins-Teisserenc, M. Bagot*, A. de Masson* (* contribution égale)

Contexte :

Les rémissions complètes au long terme sont rares dans les CTCL avancés. L'immunothérapie par mogamulizumab (MGZ), ciblant le récepteur de chimiokine CCR4, a récemment montré son efficacité dans l'essai clinique de phase III Mavoric. Ce médicament (POTELIGEO, Kyowa Kirin Pharma) a obtenu son autorisation de mise sur le marché en France (AMM) en novembre 2018, pour le MF de stade III-IV non transformé, le SS après échec d'au moins un traitement systémique antérieur, et le MF stade IB-II non transformé réfractaire, après échec d'au moins 2 traitements systémiques antérieurs. Il a été montré que l'anticorps anti-CCR4 ne déplète pas uniquement les populations malignes, mais également les Treg, de manière durable.

Observations :

Nous rapportons ici deux cas cliniques de patientes Sézary, préalablement multi-traitées par agents topiques et systémiques, dont des chimiothérapies anti-cancéreuses, et une première immunothérapie par alemtuzumab (IgG1 humanisée anti-CD52). Elles ne présentaient pas

d'antécédents familiaux ni personnels de maladie auto-immune. Sous traitement par MGZ et même à son arrêt, elles ont développé des réactions sévères (grade 2-3) répondant à une corticothérapie systémique, dont l'origine auto-immune a été confirmée biologiquement et histologiquement : exanthème, pelade, hépatite, vitiligo, thyroïdite pour la première ; anémie hémolytique pour la seconde. Les valeurs absolues des populations Treg étaient particulièrement basses. D'autre part, en l'absence de traitement de maintenance, une réponse complète à la fois dans le sang et la peau, a été maintenue de manière remarquable durant plus de deux ans.

Conclusion :

Le traitement par MGZ peut induire des manifestations auto-immunes sévères et prolongées, en parallèle de la déplétion des populations Treg. Un lien entre ces réactions et la persistance de réponses complètes à long terme, par activation à la fois de lymphocytes TCD8+ auto-réactifs et anti-tumoraux, reste à établir.

Association of autoimmunity and long-term complete remission in patients with Sézary syndrome treated with mogamulizumab

DOI: 10.1111/bjd.17320

DEAR EDITOR, Long-term complete remissions (CRs) are rare in patients with advanced cutaneous T-cell lymphoma (CTCL). Treatment with mogamulizumab, a monoclonal antibody targeting CCR4, was recently shown to increase progression-free survival compared with vorinostat in previously treated CTCL.¹ CCR4 is consistently expressed by Sézary cells, and also by natural regulatory T cells (Tregs). Treatment with mogamulizumab results in a significant and lasting decrease in blood CD4⁺ CD25⁺ FoxP3⁺ Tregs.^{2,3} We report long-lasting CR associated with autoimmune manifestations in two patients with Sézary syndrome treated with moga-

A 61-year-old woman was diagnosed with stage IB CTCL in 2001. She received methotrexate during 1 year with short-term improvement, 6 months of psoralen–ultraviolet A without response, topical chlormethine (stopped due to intolerance), oral bexarotene with stable disease, oral corticosteroids with a temporary remission and extracorporeal photopheresis during 6 months with a partial remission. She progressively developed Sézary syndrome and received alemtuzumab during 18 months with CR, but relapsed 3 months after alemtuzumab withdrawal. She had two other courses of alemtuzumab (4 and 8 months, respectively) with CR, but relapsed and received 2 months of bexarotene and two cycles of gemcitabine without efficacy. She started mogamulizumab in September 2014. She was in stage IVA1 at the onset of mogamulizumab. She had no personal family history of autoimmune disease.

While she was in partial remission in the skin and blood, she developed a Common Terminology for Adverse Criteria grade 3 skin reaction after the seventh infusion, leading to the end of treatment after 3 months. She was then in CR in the blood but received three infusions of doxorubicin for persistent skin lesions. Five months later, she presented with severe, biopsy-proven autoimmune hepatitis with anti-smooth muscle antibodies, and received systemic glucocorticosteroids for a few weeks. She was then in CR in the skin and blood and progressively developed vitiligo, noncicatricial hair loss consistent with alopecia areata, and mild autoimmune thyroiditis with positive antithyroglobulin and antithyroperoxidase antibodies. The patient has now experienced ongoing CR in the skin and blood without any treatment for 3 years (Fig. 1a, b) and has decreased Treg numbers and percentages in the blood: 0.022 \times 10⁹ cells L^{-1} (normal level > 0.033 \times 10⁹), 5.6% of CD4 T cells.

A 64-year-old woman without any personal or family history of autoimmunity presented with erythroderma and mild blood involvement (stage IIIB) in 2004. She was treated with topical chlormethine with a poor tolerance, then received 1 year of phototherapy without efficacy. She received methotrexate during 4 months without response. She did not tolerate oral acitretin and chlorambucil and did not respond after 6 months of extracorporeal photopheresis and 4 months of bexarotene. She then presented a CR after 3 months of alemtuzumab. After 4 years in CR, she eventually relapsed and was enrolled in the vorinostat arm of the MAVORIC trial in November 2014.¹ She was then in stage IVA1. She was crossed over to mogamulizumab due to progression in the skin. At the 40th infusion she was in CR in the skin, blood and lymph nodes



Fig 1. (a) Patient 1: absolute Sézary cell count (by cytomorphological examination of the peripheral blood smear, blue line; CD4⁺ CD158k⁺ cells by flow cytometry, purple dashed line) and modified Severity Weighted Assessment Tool (mSWAT, red dotted line) over time after onset of mogamulizumab. (b) Patient 1: pictures at onset of mogamulizumab (left) and 3 years after treatment (right).
but developed autoimmune haemolytic anaemia with positive Coombs test, resulting in treatment withdrawal. Her blood Treg count and percentage were strikingly decreased: 0.006×10^9 cells L⁻¹, 1.8% of CD4 T cells. Treatment with systemic corticosteroids was effective. She has been in CR without treatment for 2 years (figure available on request).

The exact number of patients treated with mogamulizumab who presented with autoimmune adverse events is not certain. Out of 21 patients treated with mogamulizumab at our institution, only two developed a proven autoimmune disease. Cutaneous adverse reactions have been described in 63% of adult patients with T-cell leukaemia or lymphoma receiving mogamulizumab,³ and overall survival was higher in patients experiencing a cutaneous reaction.⁴ Two cases of CD8 T-cell-mediated interface dermatitis^{5,6} and four cases of toxic epidermal necrolysis⁷ have been reported. Other mogamulizumab-induced adverse events include hepatic cytolysis, polymyositis, panbronchiolitis and colitis. Interestingly, many of these adverse events share clinical and/or histological features with graft-versus-host disease.

The depletion of CCR4-expressing Tregs is believed to activate cytotoxic T lymphocytes. This mechanism may explain the long-term CR observed in our patients, and also the occurrence of severe graft-versus-host disease in patients receiving allogeneic stem cell transplantation after mogamulizumab.⁸ Although the relationship between autoimmunity, long-term remission and mogamulizumab cannot be proven here and warrants further evaluation, our report on two patients with exceptional long-term remission of Sézary syndrome without maintenance treatment and autoimmune diseases after mogamulizumab suggests that the activation of antitumour immunity may induce prolonged CTCL control.

Acknowledgments

We thank Dmitri Grebennik and Fiona Herr for their critical review of the manuscript.

¹ Department of Dermatology, Saint-Louis	P. Bonnet ¹
Hospital, INSERM U976, Paris Diderot	M. BATTISTELLA ²
University, 1 avenue Claude Vellefaux,	M. Roelens ³
75010 Paris, France	C. RAM-WOLFF ¹
² Department of Pathology, Saint-Louis	F. Herms ¹
Hospital, Paris Diderot University, Paris,	L. Frumholtz ¹
France	JD. BOUAZIZ ¹
³ Department of Immunology and	P. BRICE ⁴
Histocompatibility, INSERM U1160,	H. Moins-Teisserenc ³
Institut Universitaire d'Hématologie, Paris	M. Bagot ¹
Diderot University, Paris, France	A. de Masson ¹ 🝺
⁴ Department of Hemato-oncology,	

Saint-Louis Hospital, Paris Diderot University, Paris, France Correspondence: Martine Bagot. E-mail: martine.bagot@aphp.fr

References

- 1 Kim YH, Bagot M, Pinter-Brown L et al. Anti-CCR4 monoclonal antibody mogamulizumab versus vorinostat in previously treated cutaneous T-cell lymphoma (MAVORIC): an international, randomized, phase 3 trial. Lancet Oncol 2018; 19:1192–204.
- 2 Kurose K, Ohue Y, Wada H et al. Phase Ia study of FoxP3⁺ CD4 Treg depletion by infusion of a humanized anti-CCR4 antibody, KW-0761, in cancer patients. Clin Cancer Res 2015; 21:4327–36.
- 3 Ishida T, Joh T, Uike N et al. Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody (KW-0761) for relapsed adult T-cell leukemia– lymphoma: a multicentre phase II study. J Clin Oncol 2012; 30:837–42.
- 4 Tokunaga M, Yonekura K, Nakamura D et al. Clinical significance of cutaneous adverse reaction to mogamulizumab in relapsed or refractory adult T-cell leukaemia–lymphoma. Br J Haematol 2018; 181:539–42.
- 5 Ito A, Sugita K, Adachi K et al. CD8⁺ T-cell-mediated interface dermatitis after CCR4⁺ T-cell depletion by mogamulizumab treatment of adult T-cell leukaemia/lymphoma. Acta Derm Venereol 2017; 97:377–8.
- 6 Tani N, Sugita K, Ito A et al. CD8⁺ T cell-mediated interface dermatitis during combination chemotherapy with mogamulizumab in a patient with adult T-cell leukaemia/lymphoma. Clin Exp Dermatol 2018; **43**:736–7.
- 7 Shiratori S, Ohhigashi H, Ito S et al. Late onset toxic epidermal necrolysis induced by mogamulizumab, an anti-CC chemokine receptor 4 antibody for the treatment of adult T-cell leukaemia/ lymphoma. Hematol Oncol 2017; 35:138–40.
- 8 Hosoi H, Mushino T, Nishikawa A et al. Severe graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with residual mogamulizumab concentration. Int J Hematol 2018; 107:717–19.

M. Bagot and A.M. share last authorship.

Funding sources: none.

Conflicts of interest: M. Bagot is a member of the scientific committee of Kyowa Kirin. A.M. has received financial support from Kyowa Kirin.

Article V

Évaluation des compartiments malins et lymphocytaires T bénins des CTCL de type Mycosis fongoïde / syndrome de Sézary au cours de l'immunothérapie anti-CCR4

Manuscrit en préparation

M. Roelens^{1,2*}, A. de Masson^{1,3,4*}, L. Biard⁵, C. Ram-Wolff³, S. Mourah^{1,6}, M. Battistella^{1,7}, M.J. Estevez², E. Clave^{1,2}, M. Bagot^{1,3,4}, H. Moins-Teisserenc^{1,2,8}

 ¹Université de Paris, ²INSERM UMR-1160, Institut de Recherche Saint-Louis, ³Service de Dermatologie, Hôpital Saint-Louis, AP-HP, ⁴INSERM UMRS-976, Institut de Recherche Saint-Louis
 ⁵INSERM UMR-1153, Hôpital Saint-Louis, ⁶Laboratoire de Pharmacogénomique, Hôpital Saint-Louis,
 ⁷Laboratoire de Pathologie, Hôpital Saint-Louis, ⁸Laboratoire d'Hématologie, Hôpital Saint-Louis, Paris

(*) contribution égale

Hypothèses et objectifs

CCR4 est exprimé sur la plupart des CS mais aussi à l'état physiologique par des sous-populations T mémoires et Treg (Iellem et al. 2001 ; Yoshie et Matsushima 2015). Le MGZ, immunothérapie anti-CCR4, déplète donc probablement aussi une partie de la population bénigne, chez des patients souvent lymphopéniques hors population tumorale (Blaizot et al. 2018). Par ailleurs, malgré l'amélioration significative de la survie sans progression, les durées moyennes de réponse sont de 8-19 mois (Kim et al. 2018). Nos précédents résultats (article III) montrent une hétérogénéité tumorale intra- et interindividuelles dans le sang et la peau, évoluant chez près de la moitié des patients sous traitement. Ceci implique possiblement des différences de sensibilité aux thérapeutiques entre les différents sousclones malins. L'arrêt du MGZ pour progression, résistance ou toxicité, rend les patients éligibles à d'autres immunothérapies en essais cliniques, dont le succès dépend de l'efficacité à mettre en œuvre ou à restaurer une réponse immune. Le système immunitaire chez ces patients est important à considérer, car il participe à la fois à l'élimination de la population tumorale (immunité anti-tumorale, processus d'ADCC sous immunothérapie), et à la protection contre les agents pathogènes. Or les patients CTCL sont connus pour être immunodéprimés (Axelrod et al. 1992 ; Blaizot et al. 2018), et des perturbations immunitaires avec survenue de manifestations auto-immunes sévères, ont récemment été observées dans notre centre, comme présenté article IV.

Nos objectifs étaient d'évaluer si le traitement par MGZ est capable d'améliorer le statut immunitaire des patients, et si l'hétérogénéité des cellules malignes, et la contrepartie T bénigne circulante, influe sur la réponse, le développement de résistance, ou d'effets indésirables de type auto-immuns.

Matériel et Méthodes

Cohortes de patients et donneurs sains, critères de réponse clinique

Les caractéristiques des 32 patients CTCL et des témoins, ainsi que les réponses cliniques des patients CTCL sont indiquées dans le Tableau 1.

Depuis l'obtention de l'AMM en novembre 2018, 21 patients traités par MGZ (POTELIGEO®, Kyowa Kirin) pour CTCL en rechute ou réfractaire après au moins un traitement systémique, ont été prélevés pour le sang à la mise sous traitement (J1), puis J15, M1, M2, M3, M6, M9, et au terme de chaque année de traitement par MGZ, pour analyse prospective. De plus, les PBMCs de 11 patients conservées depuis 2013 par notre laboratoire au cours de l'essai Mavoric, ont été étudiées rétrospectivement. Tous les patients ont signé un consentement (CPP 2019-A01158-49). Le traitement comprend une perfusion intra-veineuse de 1mg/kg une fois par semaine pendant le premier cycle de 28 jours, puis une perfusion toutes les 2 semaines aux jours 1 et 15 de chaque cycle suivant, jusqu'à progression de la maladie ou survenue d'une toxicité inacceptable. Les prélèvements contrôles proviennent d'une part de donneurs sains (DS) issus de l'établissement français du sang (EFS) (n=8), et d'autre part de patients atteints de dermatoses bénignes (n=7). L'âge médian est de 63 ans pour les témoins (45-81), et 67 ans pour les patients CTCL (43-88) (voir Tableau 1). Les PBMCs ont été extraites par Ficoll, et conservées en azote liquide en DMSO/sérum de veau fœtal. Des biopsies cutanées ont été effectuées à la rechute / progression chez trois patients, au punch de 4 mm, après recueil du consentement.

Les réponses cliniques, maintenues pendant \geq 4 semaines, ont été définies selon Olsen *et al.* 2011. Dans le sang, la réponse complète (RC) est définie comme le passage du stade B1/B2 à B0 (\leq 5% de CS au frottis sanguin et < 250 CD4+CD26–/µL), la réponse partielle (RP) comme une diminution du nombre de CS > 50% par rapport au J1 sans atteindre B0, et la stabilité comme moins de 50% de diminution ou d'augmentation des CS par rapport au J1, sans transition de B1 à B0 ni B2. La perte de réponse sanguine a été considérée comme une augmentation du nombre de CS > 50% par rapport au nadir, avec > 5% de CS au frottis sanguin et/ou > 250 CD4+CD26–/µL. Dans la peau, la RC est définie comme la disparition de la totalité des lésions cutanées, la RP comme 50-99% de disparition des zones cutanées lésées par rapport au J1, sans apparition de nouvelle tumeur. La stabilité est caractérisée comme < 25% d'augmentation ou < 50% de diminution de la surface cutanée lésée sans nouvelle tumeur, et la progression comme \ge 25% d'augmentation de la maladie cutanée depuis J1, ou l'apparition d'une nouvelle tumeur \ge 1cm. Les patients considérés répondeurs incluent les RC et les RP.

Cytométrie en flux

Les prélèvements sanguins recueillis prospectivement ont été traités immédiatement pour marquage en deux panels de 8 couleurs, et compte absolu des lymphocytes à l'aide du TruCount system (BD Biosciences). Les AcM étaient les suivants (BD Biosciences) : anti-CD3 APC-H7, -CD4 V500, -CD8 PerCP, -CD45 PerCP, -CD45 APC-H7, -CD16 PECy7, -CD56 PECy7, -CD158k PE (Innate Pharma, IgG1 clone 13E4), -CD26 FITC, -CD7 APC, -CD45RA APC, -CD25 PECy7, -CD127 FITC, -CCR4 BV421.

Trois panels complémentaires d'immunophénotypages 17 couleurs ont été réalisées sur PBMCs décongelées, traitées à la DNAse I (ThermoFisher scientific) en RPMI 1640 (Gibco, ThermoFisher scientific) (80 U/mL, 30 min à 37°C), lavées et marquées en milieu Brilliant Stain Buffer (BD Biosciences), par les AcM suivants (tous de BD Biosciences sauf spécifié), au cours de deux incubations successives de 8 AcM chacune, pour les deux panels en extra-cellulaire : anti-CD3 AF700, -CD4 APC-H7, -CD8 BV510, -CD158k PE (Innate Pharma, IgG1 clone 13E4), -TCRVß FITC (Beckman Coulter), -CD26 BV421, -CD16 AF647, -CD56 AF647, -CCR4 PE-CF594, -CD45RA BUV737, -CD27 BV605, -CCR7 PE-Cy7, -CD95 BUV395, -CD25 BV786, -CD127 BV711, -CD31 BV650, -PD-1 BV711, -TIGIT PE-Cy7 (BioLegend), -DNAM-1 BV650, -BTLA PE-CF594, -CD57 PerCP-Cy5.5, -CD28 PerCP-Cy5.5. Les marquages intracellulaires du 3^e panel ont été réalisés à l'aide du Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer Set (eBioscience, ThermoFisher) selon les instructions du fabricant, avec les AcM anti-Ki67 AF647 (BD Biosciences), -Foxp3 BV421 (BioLegend), et les mêmes AcM extra-cellulaires : anti-CD3 AF700, -CD4 APC-H7, -CD8 BV510, -CD158k PE, -TCRVß FITC (Beckman Coulter), -CD45RA BUV737, -CD27 BV605, -CCR7 PE-Cy7, -CD95 BUV395, -CD25 BV786, -CD127 BV711. L'acquisition des marquages en tubes 17 couleurs a été réalisée sur cellules non fixées (pour les 2 panels extra-cellulaires), sur cytomètre LSR Fortessa (BD Biosciences), et les cellules mortes 7-AAD+ ont été exclues. Pour une meilleure reproductibilité des intensités de fluorescence, le cytomètre a été calibré avant chaque séance d'acquisition à l'aide des Rainbow Calibration Particles (8 pics) (BD Biosciences). Les données ont été analysées à l'aide du logiciel FlowJo, LLC (BD).

Les CS ont été identifiées parmi les lymphocytes KIR3DL2+ et/ou TCRVß+, après exclusion des LT CD8+ et NK (CD3-CD16+ et/ ou CD56+) (Moins-Teisserenc *et al.* 2015 ; article I ; Figure supplémentaire S1A). Les AcM anti-TCRVß FITC commercialement disponibles (couvrant 70% du répertoire), ont été utilisés en complément de l'anti-KIR3DL2 PE. En cas de non disponibilité du clone TCRVß (n=12), seuls les patients dont les marquages CD26, CD3 et CD4 étaient cohérents avec le marquage KIR3DL2 ont été

inclus dans l'étude (absence de population KIR3DL2–CD26– atypique). Les sous-populations naïves / mémoires TCD4+ ont été définies sur la base des expressions du CD45RA, CD27, CCR7, CD95 (Felix *et al.* 2016 ; article III), comme illustré Figure S1B, les TCM englobant dans cette étude les TTM CCR7–. Les populations Treg ont été fenêtrées parmi les T CD4+CD127^{high}CD25^{low} (panels de marquage extra-cellulaire), ou les T CD4+Foxp3+ (panel intra-cellulaire), et les Treg(ff) discriminées des Treg naïves grâce au CD45RA, comme décrit Figure S1C. Les expressions au sein d'une sous-population n'ont été considérées que si celle-ci était suffisamment représentée (≥ 100 événements acquis au cytomètre).

Afin de vérifier l'absence de compétition pour la fixation de CCR4 entre l'anticorps utilisé pour le marquage (IgG1κ murine, clone 1G1, BD Biosciences) et l'anticorps thérapeutique (IgG1κ humanisée, Kyowa Kirin), une pré-incubation des PBMCs en présence de MGZ (1µg/100µL et 5µg/100µL) 30 min à 4°C a été réalisée, avant lavages et marquage par l'AcM anti-CCR4-PE-CF594. Aucune modification d'intensité de fluorescence n'a été constatée par rapport au marquage simple sans pré-incubation au MGZ (Figure S1D).

A partir des biopsies fraîches de lésions cutanées, les cellules ont été extraites, après dissection au scalpel puis digestion à la collagénase de type II (1 mg/mL, Sigma) 20 min à 37°C, lavage en PBS / EDTA 10mM, et enfin filtration au tamis cellulaire. Les marquages ont été réalisés consécutivement en milieu Brilliant Stain Buffer (BD Biosciences), en utilisant les AcM suivants (BD Biosciences) : anti-CD3 AF700, -CD4 APC-H7, -CD8 BV510, -CD158k PE (Innate Pharma, IgG1 clone 13E4), -TCRVß FITC (Beckman Coulter), -CD45RA BUV737, -CD45 BUV395, -CCR4 PE-CF594, -CCR10 BV421. Les cellules hématopoïétiques vivantes ont été repérées en se basant sur la représentation taille/morphologie, l'expression de CD45 et la négativité du marquage de viabilité au 7-AAD (comme décrit dans l'article III).

Quantification des chimiokines plasmatiques

Les chimiokines CCL17 et CCL22 ont été quantifiées dans les plasmas dilués au 1/2 et au 1/10^e de 7 patients à J1 et M2, et de 16 DS, à l'aide du Luminex Human Magnetic Assay (R&D) sur Luminex MAGPIX analyzer, conformément aux instructions du fabricant.

Incubation des PBMCs de patients progresseurs

Les PBMCs de 4 patients, fraîches et lavées après Ficoll, ont été incubées pendant 20h, à 200 000 cellules / 200µL de milieu RPMI 1640 (Gibco, ThermoFisher scientific) / 10% sérum de veau fœtal, à

37°C sous 5% CO₂, seules ou en présence d'IL-4 (10 ng/mL) et d'IL-13 (100 ng/mL), ou d'une association d'IL-4 (10 ng/mL), IL-13 (100 ng/mL), IL-2 (5 ng/mL) et anti-IFN-γ (1 μg/mL). Les marquages pour analyse de l'expression de CCR4 à la surface des CS en cytométrie en flux, ont été réalisés après incubation.

Quantification des transcrits en rt-qPCR

Les CS CD3+CD4+KIR3DL2+ et/ou TCRVß+ ainsi que les TCD4+ de trois DS ont été triés sur BD FACS Aria III, après marquage sur PBMCs décongelées avec les AcM précédemment cités. L'ARN total a ensuite été extrait en utilisant le TRIzol reagent (Invitrogen, ThermoFisher scientific), puis dosé au Nanodrop (ThermoFisher). 1 µg d'ARN a été rétro-transcrit à l'aide du SuperScript IV VILO Master Mix (ThermoFisher) selon les instructions du fournisseur. L'analyse PCR en temps réel a ensuite été préparée à partir de 4 µL d'ADNc distribué en plaque Applied Biosystems Fast Optical 96 puits (ThermoFisher), du TaqMan Fast Advanced Master Mix (ThermoFisher), des sondes TaqMan Gene Expression Assays CCR4 référence Hs01396342_m1 (FAM-MGB, ThermoFisher) et TaqMan Gene Expression Assay GAPDH (VIC-MGB Primer Limited, ThermoFisher). Elle a été réalisée sur instrument 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems, ThermoFisher). L'indice fold change a été calculé en appliquant la formule 2^($-\Delta\Delta$ Ct) (Livak et Schmittgen 2001), où Ct représente le cycle de seuil (*threshold cycle*) pour le gène donné, moyenné sur l'essai en doublon, et Δ Ct la différence entre le Ct du gène analysé et le Ct du gène de référence (GAPDH). $\Delta\Delta$ Ct résulte de la différence entre le Δ Ct obtenu chez le patient et le Δ Ct du DS contrôle servant de référence.

Séquençage haut débit du gène TCRB

Le séquençage haut débit (HTS) a été réalisé chez 3 patients rechuteurs ou progresseurs, avant traitement et lors de l'échec thérapeutique, à partir de biopsie cutanée et PBMCs congelées. L'ADN a été extrait avec le kit Maxwell RSC (Promega). Pour le séquençage du gène *TCRB*, la librairie d'ADN a été préparée à l'aide du kit ImmunoSeq (Adaptive Biotechnologies), et le séquençage réalisé sur Illumina Miseq, avec analyse des données à l'aide de l'outil bio-informatique Immunoseq (Adaptive Biotechnologies).

Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Prism (GraphPad). Pour les comparaisons entre les données des patients CTCL et des témoins, un test non paramétrique de Mann-Whitney a été

employé, et pour les données d'évolution sous traitement, un test non paramétrique apparié entre chaque patient de Wilcoxon. Les graphes sont en représentation de Tukey (montrant la médiane et l'intervalle interquartile).

Cohorte		Pathologie Â	ge médian (J1) (min-max)	Genre M/F	Durée médiane de traitement (min-max)	Meilleure réponse sanguine	Meilleure réponse cutanée
Patients CTCL traités par MGZ	AMM n=21	MF : 3 MFE : 2 SS : 16	66 ans (53-88)	12 / 9	5 mois (1-19)	Stable : 3 RP : 8 RC : 8 NC : 2	Progression : 5 Stable : 9 RP : 7
	Mavoric n=11	MF : 1 MFE : 1 SS : 9	70 ans (43-76)	5 / 6	18 mois (3-65)	RP : 2 RC : 7 NC : 2	Stable : 3 RP : 4 RC : 4
Témoins	Donneurs sains (EFS) n=8		58 ans (45-64)	5/3			
	Dermatoses bénignes n=7	Dermatite atopique : 4 Psoriasis : 2 Pytyriasis rubra pilaire : 1	67 ans (63-81)	5 / 2			

Tableau 1– Cohortes de patients et témoins, caractéristiques et réponses cliniques RP : réponse partielle ; RC : réponse complète ; NC : non concerné (MF B0)

Résultats

Statut immunitaire à l'initiation du traitement par MGZ

Avant initiation de traitement par MGZ, 21/32 patients présentent une lymphopénie globale, affectant les compartiments TCD4+ bénins (médiane chez les 32 patients à 318,4/µL, 43,8-2839/µL) et TCD8+ (144,5/µL, 21-2355/µL) (Figure 1A). Les cellules NK sont diminuées de façon non significative (121/µL, 16-594 chez les patients, contre 161/µL 17-673 chez les témoins). Les sous-populations naïve/mémoires T CD4+ bénignes, Treg et CD8+, se répartissent de manière similaire aux témoins (Figure S2A). On note cependant chez quatre patients une proportion inhabituelle de TN exprimant l'antigène CD57 (23-79% versus 0,8-12% chez les témoins ; Figure S2B), en faveur d'un processus de vieillissement des populations précoces, plus marqué que chez les témoins d'âge comparable (Fali *et al.* 2019). Parmi les T CD8+, les TEMRA sont représentées de manière extrêmement hétérogène (3-95%), ce qui n'est pas ici corrélable à l'âge, ni entièrement expliqué par le statut sérologique IgG pour le cytomégalovirus CMV (58,1%, 3-95,1% de TEMRA CD8+ chez les séropositifs, versus 40,9%, 4,4-85,2% chez les séronégatifs). Les phénotypes naïf/mémoires des CS sont hétérogènes, conformément à l'article III. Ils consistent majoritairement en des profils TCM seuls (43%), ou associés pour le même clone TCRVß, à des sous-types TN et/ou TSCM (46%), alors que les phénotypes isolés TN/TSCM ou TEMRA sont moins fréquents (Figure S2C).

Le récepteur CCR4, cible de l'immunothérapie par MGZ, est fortement exprimé en pourcentage parmi les Treg(eff) (médiane à 81,5%), mais aussi les T CD4+ bénins mémoires (54,9%), et de façon souvent moindre mais hétérogène, par les T CD8+ mémoires (20,9%) (Figure 1B). On peut noter que les populations T CD4+ bénignes expriment significativement plus fréquemment CCR4 par rapport aux populations témoins. Une tendance similaire se dégage pour les Treg, T CD8+ et les cellules NK, suggérant un impact global de l'environnement sur l'expression de ce récepteur de chimiokine associé à l'immunité Th2. Les CS expriment fréquemment CCR4 (96,6%, 58-99,8%, marquages sur sang frais), PD-1, TIGIT, assez souvent CD70, et co-expriment fréquement CD27/CD28 ainsi que PD-1/TIGIT (Figure 1C). Elles sous-expriment significativement DNAM-1 (contrepartie positive de TIGIT pour la liaison du récepteur PVR) et CD26 par rapport aux T CD4+ témoins. Contrairement aux TCD4+ saines qui expriment surtout CCR4, PD-1, TIGIT et DNAM-1 à la surface des cellules mémoires, les divergences de phénotypes naïf/mémoires des CS ne correspondent pas à des profils particuliers pour l'expression de ces molécules (Figure S2D et exemple Figure 1D). De manière frappante, les T CD4+ bénins des patients CTCL montrent des expressions intermédiaires entre les CS et les T CD4+ témoins, pour CCR4, PD-1, TIGIT, CD70 et CD26. Là encore les phénotypes sont altérés de manière similaire entre les CS et leur contrepartie bénigne, comme nous l'avions déjà rapporté concernant CD26 (articles I et III), suggérant

un effet commun de l'environnement sanguin sur ces deux types cellulaires (contexte cytokinique), amenant à des évolutions conjointes vers un phénotype Th2 (CCR4+TIGIT+CD26-) (Annunziato *et al.* 1998 ; Kourepini *et al.* 2016) et « exhausted » (PD-1+TIGIT+). Les T CD8+ ne sont en revanche pas significativement altérés quant à l'expression de ces marqueurs (Figure S2E).





 (B) Exemple de marquage CCR4 en fonction de CD45RA, pour les différentes populations lymphocytaires bénignes d'un patient Sézary. Expression de CCR4 en fonction de l'état de différenciation des T CD4+ bénignes, Treg, T CD8+ et NK ;
 (C) Expression de CCR4, des molécules « immune checkpoints », et CD26 à la surface des T CD4+ malignes, bénignes et témoins. Exemples de marquages CCR4, PD-1 et TIGIT, et (D) en fonction du CD45RA, comparant les CS d'un patient Sézary CD45RA+/-, aux T CD4+ d'un DS, montrant que l'expression de ces 3 récepteurs et indépendante du profil naïf/mémoire de la CS.

Réponses cliniques au traitement et évaluation du compartiment malin sous MGZ

Sous MGZ, la baisse de la charge tumorale sanguine est rapide et drastique, dès la première injection (Figure 2A), hormis chez deux patients non répondeurs exprimant moins de CCR4 à la surface de leurs CS à J1 (58% et 71,7%). Concordant avec les résultats de l'essai clinique Mavoric (Kim *et al.* 2018), les réponses hématologiques (89%) sont plus fréquentes que les réponses dermatologiques (44%) (Tableau 1). Les RC sanguines sont également plus durables : parmi nos 32 patients suivis, onze ont pu maintenir une RC hématologique de plus de 12 mois, et 5 patients de la cohorte Mavoric pendant au moins 3 ans, contre 4 RC dermatologiques de plus de 12 mois. Suite à l'arrêt du MGZ pour souhait du patient ou effets indésirables sévères, le bénéfice thérapeutique a même été maintenu chez 3 patients pendant au moins 6 mois, 2 ans et 4 ans, soit bien au-delà de la période de clairance du médicament (demi-vie de 17,6 jours en moyenne, Ishida *et al.* 2012). Le taux de réponse globale (associant au moins une RP sanguine à une RP cutanée) est pour cette cohorte de 46% dans le SS (11/24) et 43% dans le MF (3/7).

Cependant, le MGZ a été arrêté pour non réponse ou perte de réponse, globalement dans deux types de cas : soit précocement chez les patients non répondeurs dans la peau, avec une réponse sanguine variable (n=14), soit tardivement chez des patients en rechute (après deux ans), avec une progression parallèle à la fois dans le sang et la peau (n=4, indiqués par une flèche Figure 2A). Le traitement a néanmoins été maintenu plusieurs années pour 3/4 patients dans ce deuxième cas de figure, la progression étant particulièrement lente. L'analyse phénotypique a révélé que dans l'ensemble des cas de progressions (précoces et tardives), les CS impliquées n'expriment plus CCR4 à leur surface, expliquant le manque d'efficacité de l'anticorps par perte de sa cible (Figure 2B).

Nous avons cherché à explorer ce mécanisme de résistance. L'expression physiologique de CCR4, récepteur couplé à une protéine G (RCPG) est dynamique, impliquant des mécanismes d'internalisation suite à la liaison de CCL17/CCL22, et de recyclage vers la membrane (Mariani *et al.* 2004). Aucune variation significative des chimiokines CCL17 (TARC) et CCL22 (MDC) plasmatiques n'a été observée précocement entre J1 et M2, quelle que soit la réponse (Figure S3A). Une tendance à la normalisation de ces concentrations est cependant possible sur le long terme, y compris chez les patients rechuteurs, mais l'absence d'échantillon plasmatique à J1 pour les 4 patients testés à 3-4 ans (cohorte Mavoric) nous empêche de conclure. Ces données ne semblent donc pas impliquer les ligands de CCR4 dans le mécanisme de progression. A la recherche d'une possible ré-expression du CCR4, les PBMCs fraîches de 4 patients progresseurs ont été incubées 20h, seules ou en condition cytokinique Th2 (II-4/IL-13 avec ou sans IL-2/anti-IFN-γ). L'expression de CCR4 n'a pas été modifiée, quelle que soit la condition (non montré). D'autre part, nous avons pu observer le maintien du phénotype CCR4– au-

delà de la clairance de l'AcM, à 6 mois et deux ans chez les deux patients progresseurs explorés après arrêt du MGZ, en défaveur d'un mécanisme actif d'internalisation / recyclage du RCPG. En revanche, les TCD4+ bénignes ré-expriment progressivement CCR4 après arrêt du MGZ, probablement au cours de leur différenciation en cellules mémoires (Figure 2B).

Trois cas de progression à 1 mois, 3 et 5 ans, ont été approfondis. La cytométrie en flux réalisée sur échantillon cutanée a montré l'absence de CCR4, à la surface des CS de la peau (Figure S3B). Malheureusement, l'étude de CCR4 dans la peau à J1 n'était pas disponible en raison l'absence d'échantillon frais pour la réalisation de la cytométrie, et de résultats non probants avec l'anticorps anti-CCR4 (clone 1G1) en immunohistochimie. Les transcrits CCR4 restent détectables, mais en quantité diminuée lors de la progression par rapport au J1 (Figure S3C). Le séquençage haut débit des gènes du *TCRB* a mis en évidence la présence des mêmes clones dominants avant et après traitement à la rechute / progression, à la fois dans la peau et le sang (Figure 2C et S3D). De plus, l'étude comparative des immunophénotypages à J1 et lors de l'augmentation de la charge tumorale, a retrouvé la présence de petites populations sous-clonales CCR4–/low parmi l'hétérogénéité tumorale initiale chez les patients progresseurs/rechuteurs, comme illustré Figure 2E et S3E, en faveur d'une sélection des populations CCR4– sous traitement. La présence de CS CCR4–, en quantité non négligeable à J1 chez *RL59* (25,5% des CS, 1105/µL), avec une progression sanguine modérée dès M4, n'a cependant pas empêché le maintien d'un bénéfice clinique pendant 6 ans, avec des CS comprises entre 1000 et 2500/µL et une progression cutanée très lente.





(A) Valeurs absolues de CS / µL de sang au cours du traitement. Progression chez 4 patients indiquée par les flèches. Exemple de RC sanguine >2 ans.
 (B) Valeurs absolues de CS CCR4- /µL de sang, Exemple de marquage CCR4 chez LA49, traité pendant plus de 4 ans et progressant lentement, avec développement d'une population maligne KIR3DL2+CCR4-, persistant 6 mois après l'arrêt du MGZ ;
 FC36, traité pendant 12 mois ; (C) Alignement des clones obtenus en séquençage haut débit du *TCRB*, montrant la présence du même clone TCRBV06-01 chez le patient LA49, dans le sang et la peau.

(D) Analyse t-SNE (FlowJo LLC) montrant l'intensité d'expression de CCR4 parmi la population Sézary, et expression de CCR4 en fonction de CD45RA et CD27/CD95, à J1 et 4 ans pour *LA49* (gauche, rechute) et à 6 mois pour *FC36* (droite, RP). Une fraction de CS CCR4– pré-existe à J1 dans les deux cas.

Evolution de l'hétérogénéité tumorale sous MGZ

L'analyse en réduction de dimensions t-SNE (« t-distributed stochastic neighbor embedding ») a permis d'obtenir une vision globale de l'hétérogénéité des CS sanguines, et de suivre son évolution sous traitement chez les patients rechuteurs / répondeurs partiels / progresseurs. Le degré d'hétérogénéité est variable selon les patients à J1, et sous traitement est essentiellement guidé par la sélection des populations CCR4–.

On constate globalement deux cas de figure :

- Soit l'expression de CCR4 est indépendante des autres marqueurs, quelle que soit leur hétérogénéité. C'est le cas de *FC36*, qui présente des niveaux variés d'expression de CD45RA, CD95, PD-1 et DNAM-1 à J1 (comme indiqué par les flèches Figure 3A), sans association à l'expression de CCR4. Sous MGZ, seules les CS CCR4– persistent, mais l'hétérogénéité pour les autres marqueurs est conservée. On peut noter une négativation de BTLA et une diminution de l'expression de CD28, homogène sur toute la population. *LA49* comporte une population tumorale assez homogène (Figure 3B), et sous MGZ la population CCR4– est sélectionnée. Les expressions du CD45RA (flèche), CD28 et BTLA varient au cours du temps.

Soit l'expression de CCR4 est associée à un phénotype particulier, et dans ce cas le(s) sousclone(s) CCR4- de phénotype(s) défini(s) est/sont sélectionné(s) sous MGZ. Ceci amène à une modification du degré d'hétérogénéité global, mais lié essentiellement à la déplétion des CS CCR4+. Par exemple, L149 montre à J1 des gradients d'expression pour CD45RA et TIGIT, mais sous MGZ une sous-population ultra-minoritaire (3,1% du clone total à J1) se développe, de phénotype TEMRA et PD-1-CD27-CD28-DNAM-1+CCR4- (flèches, Figure 3C), relativement homogène, au détriment de la population CCR4+ initiale, hétérogène pour CD45RA et TIGIT (93% et 51% de cellules positives, respectivement). Les CS TEMRA ne modifient pas leur phénotype sous MGZ. RL59 est le patient évoqué précédemment, avec une RP sanguine puis une progression lente dans le sang, et une RC cutanée prolongée durant 6 ans. Il présente à J1 deux sous-clones majoritaires, distincts par l'expression de CD95 (Figure 3D). La sous-population CD95– (flèche), à 32,4% CCR4– à J1, devient majoritaire au cours de la première année par rapport à celle CD95+, à 18,8% CCR4- à J1. La sous-population CD95int/+ prend ensuite le dessus progressivement, au cours des années suivantes. Quant aux autres marqueurs étudiés, seul CD45RA varie (de négatif à intermédiaire), amenant à des modifications de proportions entre CS de type TN, TSCM et TCM, en particulier à la ré-émergence de CS TN à A3, à l'encontre d'un processus classique de différenciation.

La sélection des sous-clones CCR4– apparaît donc être la principale cause de remaniement des populations Sézary chez les patients, et l'hétérogénéité après traitement dépend donc

majoritairement de l'hétérogénéité initiale du/des sous-clone(s) CCR4–. D'autres marqueurs de l'immunité peuvent cependant aussi évoluer indépendamment de CCR4 chez certains patients.



B – LA49



C – *LJ*49



Figure 3 – Analyse t-SNE de la population Sézary, basée sur les marqueurs de différenciation et molécules de costimulation / co-inhibition chez 4 patients à J1 et lors de RP / progression / rechute, comparaison avec les marquages CCR4 (second panel)
 (A) FC36 : RP sanguine, stabilité cutanée puis progression à M12, (B) LA49 : RC sanguine et RP cutanée puis progression lente à 3 ans, (C) LI49 : RP sanguine et stabilité cutanée, (D) RL59, page suivante : RP sanguine puis progression lente à M8, RC cutanée puis rechute à 6 ans



D – *RL59*

Evolution du compartiment immunitaire bénin sous MGZ

La proportion de LT CCR4+ chute sous traitement (Figure S4A). Toutes les populations lymphocytaires diminuent de façon précoce en valeurs absolues sous MGZ, les populations NK étant les moins touchées (Figure 4A). Les populations TCD4+ bénignes totales en particulier, diminuent de 334,6/µL (43,8-2839/µL) (J1) à 174,5/µL (19,6-406,8/µL) à M1, et après un an de traitement ne représentent que 255,1 cellules /µL en moyenne (59,2-800,5/µL). Une reconstitution très progressive sur plusieurs années semble se produire, en particulier concernant les Treg et les NK (Figure 4A et Tableau S1). La part de TN, sous-populations majoritairement CCR4– à J1, augmente considérablement parmi les T CD4+ bénins et les Treg entre J1 et M6, passant en moyenne de 24,8% à 75,2% (p<0,001 en test statistique apparié) et de 16,8% à 79,7% (p<0,001) respectivement (Figure 4B). Les T CD8+ sont beaucoup moins affectées par ces remaniements.

Les marquages Ki67 montrent des proliférations plus soutenues des TCD4+ bénignes par rapport aux témoins avant et sous traitement par MGZ, ainsi qu'un pic de prolifération entre M1 et M6 affectant les sous-populations TN, TSCM et TCM (CCR4– sous traitement) (Figure 4C). Ce n'est pas le cas des TCD8+, qui ne diffèrent pas significativement des témoins. Néanmoins, la reconstitution des TN CD4+ paraît lente et progressive (Figure S4B et Tableau S1, modélisations statistiques en cours). Nous avons ensuite évalué le processus de génération thymique, qui pourrait participer à la reconstitution du pool de TN CD4+. Il est cependant connu comme étant amoindri chez le sujet de plus de 40 ans en raison de l'involution thymique (Kumar *et al.* 2018). Les valeurs absolues de RTE CD31+ diminuent modérément à M3 par rapport à J1 parmi les TN CD4+ bénignes et n'augmentent pas significativement à un an (Figure S4C), n'apportant pas d'argument pour une reconstitution d'origine thymique chez ces patients.

Les Treg chutent rapidement de 32,6/µL (1,1-422/µL, J1) à 6,8/µL à M3 (0,4-35,4/µL). Le ratio des Treg(eff) sur les T conventionnelles mémoires diminue significativement et de façon durable sous traitement et par rapport aux témoins (Figure S4D). Il est à noter que les deux patientes ayant développé des atteintes auto-immunes sévères sous MGZ (article IV), présentaient des ratios Treg(eff)/ T conventionnelles mémoires particulièrement bas (en rouge Figure S4D).



Figure 4 – Evolution du compartiment immunitaire bénin circulant sous MGZ

(A) Valeurs absolues des populations T CD4+ bénignes, T CD8+, Treg et NK / μL de sang au cours du traitement (bande grisée : valeurs usuelles) ; (B) Sous-populations naïves / mémoires parmi les T CD4+ bénignes, T CD8+ et Treg ;
(C) Cellules Ki67+ parmi les T CD4+ bénignes (totales, TN, TSCM et TCM), en comparaison aux témoins (T) ;
(D) Expressions de CD127, PD-1 et TIGIT à la surface des T CD4+ bénignes, et de TIGIT sur les TCM CD4+ bénignes, à J1, au nadir sanguin (NS) et lors des pertes de réponses sanguine (PRS) et/ou cutanée (PRP).

Les cinétiques de réponse étant très diverses entre patients, nous avons retenu quatre points pour l'évaluation des profils immunitaires en fonction du statut clinique : la mise sous traitement (J1), le nadir de la charge tumorale sanguine, la perte de réponse dans le sang et celle dans la peau. Le nadir sanguin est associé par rapport au J1, à l'augmentation des cellules CD127+ (IL-7R α +), et aux diminutions significatives des cellules PD-1+ et TIGIT+ en pourcentages parmi la population T CD4+ bénigne totale, et en particulier de TIGIT parmi les TCM CD4+ bénins (Figure 4D). Ceci pourrait indiquer une amélioration du statut immunitaire chez l'ensemble des patients répondant dans le sang. De plus, même en cas de perte de réponse sanguine et/ou cutanée ultérieure, ces modifications des populations bénignes sanguines sont conservées (Figure 4D et Tableau S1), signifiant un impact du MGZ sur le profil immunitaire des patients, indépendamment de son action sur le clone tumoral.

Conclusion :

Avant mise sous immunothérapie anti-CCR4, les patients présentent une lymphopénie globale, avec des signes d'altération des populations TCD4+ bénignes. Sous MGZ, les valeurs absolues de CS chutent dès la première injection. Les populations bénignes sont également en partie déplétées par l'anticorps, majoritairement les TCD4+ mémoires et Treg(eff). Leur reconstitution semble lente, avec une diminution significative au nadir sanguin et persistante, des cellules exprimant les marqueurs d' « exhaustion ».

L'ensemble des patients progresseurs ou rechuteurs dans le sang et la peau, sont caractérisés par l'expansion progressive de CS CCR4– à la membrane, initialement à l'état de sous-clones parmi l'hétérogénéité de la population tumorale. Cette hétérogénéité participe donc au développement de sous-clones malins résistants, et peut être remaniée lorsque les CS persistent, principalement par ces mécanismes de déplétion des populations CCR4+. D'autres marqueurs peuvent néanmoins évoluer de manière indépendante dans les populations malignes CCR4–, suggérant une plasticité intrinsèque des CS.

Le MGZ est donc au final, non seulement un AcM ciblant un antigène tumoral, mais une immunothérapie affectant profondément le compartiment TCD4+ conventionnel et Treg. Son effet persiste à long terme, même après arrêt du traitement, chez les patients en RC ou en rechute / progression, en faveur d'un effet global sur l'immunité et l'environnement sanguin.

Figures supplémentaires





(A) Fenêtrage des lymphocytes NK et TCD8+, après exclusion des doublets, cellules mortes et irrégularités de fluidique (graphe « Time »). Fenêtrage, parmi les lymphocytes non-NK non-TCD8+, des CS KIR3DL2+TCRVβ+ et des TCD4+ bénignes KIR3DL2–TCRVβ– (les KIR3DL2–TCRVβ bénignes étant exclues par précaution);

(B) Fenêtrage des populations naïves / mémoires lymphocytaires T ;

(C) Fenêtrage des lymphocytes Treg en fonction des expressions de CD25, CD127 (panels de marquage extra-cellulaires) et Foxp3 (panel intra-cellulaire). Distinction des Treg naïves CD45RA+ et des Treg(eff) CD45RA- ;

(D) Compétition entre le MGZ et l'anticorps anti-CCR4 PE-CF594, après pré-incubation au MGZ, montrant l'absence de déplacement de l'AcM de marquage par le MGZ



Figure S2 – Phénotypes à J1, par rapport à la cohorte de témoins d'âge apparié

(A) Etats de différenciation des T CD4+ bénignes, Treg et T CD8+, et (B) expression de CD57 parmi ces sous-populations;
 (C) Phénotypes naïfs / mémoires rencontrés pour les CS des patients CTCL (en considérant les populations représentant >10% du clone); (D) « Heatmap » comparant les médianes de fluorescence (MFI) des molécules indiquées, entre les CS et les TCD4+ témoins, en fonction des sous-populations TN, TSCM et TCM;

(E) Expression de CCR4 (marquage sur sang frais), des molécules « immune checkpoints », et CD26 (marquages sur PBMCs congelées) à la surface des T CD8+.



Figure S3 – Exploration des pertes de réponse au MGZ

Analyses réalisées pour trois cas de progressions dans le sang et la peau, à 1 mois (RC38), 3 ans (LA49) et 5 ans (AJ56) :
 (A) Concentrations plasmatiques en CCL17 et CCL22, à J1 et M2 chez 7 patients (gauche), ainsi qu'à 3-4 ans chez 4 patients de la cohorte Mavoric ayant répondu à long terme, dont 2 au moment de la rechute, par rapport à 16 donneurs sains ;
 (B) Négativité du marquage CCR4 à la surface des CS issues d'une biopsie de lésion cutanée du patient LA49 à la rechute parallèle dans le sang et la peau (résultats comparables pour RC38 et AJ56) ;

(C) Quantification en rt-qPCR des transcrits CCR4 sur CS, TCD4+ bénignes et TCD4+ de donneurs sains, triés à J1 et lors de la rechute (LA49, AJ56) ou progression (RC38) hématologique ;

(D) Séquençage haut débit du gène *TCRB*, à partir d'ADN de PBMCs pour RC38 et AJ56, montrant le même clone à J1 et lors de la progression (résultat identique à partir des biopsies cutanées) ;

(E) Analyse t-SNE des CS montrant l'intensité d'expression de CCR4 à J1 et populations correspondantes pour CCR4/CD45RA, par rapport au phénotype présent lors de la progression (< 6 mois : AP59, TL62 ; > 6 mois : LJ49, BO43) / rechute tardive (> 2 ans : RL38, AJ56, PG43).





(A) Expression de CCR4 parmi les CS, TCD4+ bénignes, TCD8+ et Treg ; (B) Valeurs absolues de TN CD4+ bénignes ; (C) Valeurs absolues d'émigrants thymiques récents RTE (TN CD4+CD31+) ; (D) Ratio entre les Treg(eff) et les Tconv mémoires (somme des TSCM, TCM, TEM et TEMRA). Les deux patientes ayant développé une auto-immunité sévère sont représentées par des points rouges, et montrent des ratios particulièrement bas.

				TCD4+	TN				%PD-1+/	%TIGIT+/	%CD127+/
Patient	Temps	Clinique	CS/µl	bén/μL	CD4+bén/µL	TCD8+/µL	Treg/µL	NK/µL	TCD4+bén	TCD4+bén	TCD4+bén
	J1		207	591	235	155	124,0	116	20,5	32,2	64,1
AJ56	M1	RC sang				62					
	M3					104					
	M6		62	272	218	101	5,2	70	13,2	5,5	88,3
	A1	Due en esta esta es	207	427	389	92	12,9	52	2,8	3,2	83,9
	A2	Progression	2500	75	F 4	91	24.7	140	12.0	10.5	70.0
	A3	lente	2099	/5	54	1/0	24,7	140	12,9	18,5	79,6
	A4	sang+peau	3030	115		145	10,9	125			
	11		2957	375	35	95	13.8	211	76.7	35.1	63.4
	M1		2007	0,0			10,0			00)1	00)1
	M3	RC sang	21	63	21	49	1.0	176	23.2	25.6	81.9
	M6						7-			- / -	- /-
LA49	A1										
	A2	Progression	53	20	121	60	2,2	105	8,08	8,73	78,3
	A3	lente	801	170	101	73	0,9	118	21,9	11,4	85,9
	A4	sang+peau									
	A5		1652	147	245	98	25,0	112	10,4	15	74,6
	J1		302	2839	175	126	422,6	123	35,9	33,3	51,9
	M1										
	M3		4	163	18	120	3,0	209	43,1	13,2	49,8
1.045	1016	DC	2	202	120	110	17	245	12.5	6.22	07.1
LC45	A1	RC sang	2	203	139	118	1,7	245	13,5	6,23	87,1
	A2		0	2/3	100	109	0,5	408	22.1	7.01	49,2
	A3		0	5/1	230	220	7,2	505	22,1	7,91	70,8
	A5		0.6	354	213	200	15.3	374	26.2	10.7	80.2
	11		13250	1639	7	2355	15.2	594	21,1	20.2	61.8
	M1	RC sang	0	247	4	484	7,4	123			8.94
	M3		8	252	11	566	5,3	29	23,6	24,1	42,4
10.40	M6		3	468	19	1368	9,7	206	17,1	17,9	25,9
LD48	A1		· · · · ·				· · · · ·				
	A2	Arrêt	92	698	256	1286	27,0	299	11,1	19,9	88,7
	A3	(souhait)									
	A4		47	1148	363	2083	62,0	221	25,6	18,9	67,7
	J1		3194	44	6	71	1,4	150	85,2	51,3	68,1
	M1										
	IVI3	BC cong	0	67	27	124	11	120	42.5	21 5	60.5
	1010	RC salig	0		27	134	1,1	139	45,5	21,5	60,5
PG43	A1		0	1	42	130	1,2	200	50	15,2	49,7
	Δ3										
	A4		18	148	96	134	7.0	273	20	11 3	60.6
	A5		6	137		132	7,5	538		11,0	00,0
	J1		4336	192	13	1082	1.9	572	81.8	54.5	60.8
	M1	RC sang	354	407	29	371	1,7	190	67,3	23,5	73,1
	M3	-					, i				
	M6		539	636	83	362	3,3	154	65,8	25,6	78,9
RL59	A1	Progression	1215	800	73	422	4,6	189	73,3	52,2	78,1
	A2	lente	1748	818	119	215	3,3	212	64	45,6	78
	A3	sangtneau	1509	410	51	99		133	65,4	79,1	61,8
	A4	sang-hean									
1	A5		2206	412	106	161	20,9	167	65,3	55,1	35,8

Tableau S1 – Valeurs absolues des populations lymphocytaires, et expression de PD-1, TIGIT, CD127 à la surface des TCD4+ bénignes, chez 6 patients répondeurs de l'essai Mavoric, suivis pendant > 4 ans (TCD4+bén : TCD4+ bénignes)

Les CTCL de type mycosis fongoïde/Sézary sont des lymphomes T non Hodgkiniens complexes sur les plans clinique et biologique. Les CS circulantes nécessitent une stratégie d'identification fiable, tant pour le diagnostic et le suivi des patients Sézary, que pour la caractérisation des cellules malignes à des fins d'étude. Or les recommandations actuelles se basent sur l'analyse de clonalité, combinée à une quantification manuelle et subjective de CS sur frottis sanguin, ou plus récemment à l'association de plusieurs critères en cytométrie en flux (CMF) (Olsen et al. 2007a, 2011 ; Scarisbrick et al. 2018a). Ces trois techniques comportent malheureusement de nombreuses limites. L'analyse de clonalité est invasive concernant le prélèvement cutané, les délais de rendu sont longs, et les résultats parfois difficiles à interpréter et non spécifiques du CTCL (Ortonne et al. 2006). La fiabilité de l'estimation de l'envahissement sanguin par quantification des CS sur frottis sanguin repose sur un cytologiste expérimenté, et manque de sensibilité (Scarisbrick et al. 2018a). Enfin, en CMF l'analyse recommandée repose sur la perte de marqueurs pan-T, et n'est pas spécifique des CS, comme il le sera discuté. Ainsi, les pratiques sont encore très diverses selon les centres, liée à la complexité et aux mauvaises performances de ces critères (Gibson et al. 2016). Le premier travail de cette thèse a été d'évaluer les performances de la molécule KIR3DL2/CD158k en cytométrie, identifiée à la surface des CS par l'équipe de Martine Bagot, et développée depuis comme biomarqueur positif de CS à l'hôpital Saint-Louis de Paris, mais aussi comme cible thérapeutique.

Le KIR3DL2 nous a permis d'étudier les CS, et de comparer leurs phénotypes naïfs / mémoires dans les compartiments sanguins et cutanés de la maladie, l'origine et la circulation de la cellule tumorale étant mal connues dans le SS. Une théorie largement admise dans les revues sur le sujet (Cristofoletti *et al.* 2019b ; Damsky et Choi 2016 ; Fujii 2018 ; Rubio Gonzalez *et al.* 2016 ; Wilcox 2014), repose sur le fait que les cellules malignes du SS sont de type TCM, capables de recirculer entre le sang, les ganglions et la peau, alors que celles du MF ont des profils TEM ou TRM, et restent localisées dans la peau (Campbell *et al.* 2010 ; Clark 2015 ; Watanabe *et al.* 2015). Cette théorie est séduisante dans le sens où elle relie chaque aspect dermatologique de la maladie à un phénotype mémoire particulier (comme précédemment illustré Figure 12). Mon équipe a au contraire mis en lumière une hétérogénéité inattendue de ces phénotypes (Moins-Teisserenc *et al.* 2015), les CS KIR3DL2+ sanguines des patients Sézary n'étant pas exclusivement centrales mémoires. Le travail qui a suivi, ici décrit, se proposait d'éclaircir les relations entre les compartiments sanguins et cutanés du SS, en incluant des marqueurs de nouvelles sous-populations décrites en physiologie, les TSCM (Gattinoni *et al.* 2011) et les TRM

(Gebhardt *et al.* 2009b). Les phénotypes ont été confirmés par étude transcriptomique, en comparaison aux sous-populations correspondantes parmi les T CD4+ de donneurs sains. Une évolution au cours de la maladie et des traitements a été constatée, nous amenant à questionner une éventuelle plasticité des CS. Des tests préliminaires de stimulations *in vitro* ont été entrepris, à la recherche de modifications en termes d'activation et de différenciation de ces cellules.

Il nous est apparu que KIR3DL2, en plus d'identifier assez aisément les CS, nous permettait d'étudier les populations T CD4+ bénignes, négatives pour ce marqueur, de manière parallèle. Or les patients atteints de MF avancés et de SS présentent une forte létalité infectieuse, liée à une immunodépression sous-jacente et à l'altération de leur barrière cutanée (Blaizot et al. 2018). La fonctionnalité de la contrepartie bénigne reste méconnue, du fait des difficultés à les séparer des CS sans marqueur adéquat. Le petit nombre d'études distinguant assez rigoureusement la population bénigne des cellules malignes à l'aide de l'analyse de la clonalité, rapportent principalement un répertoire TCR restreint (Yawalkar et al. 2003) et un biais de polarisation Th2 (Guenova et al. 2013). Il a été montré que les cellules tumorales contribuent à cet environnement Th2, et exercent aussi vraisemblablement un effet immunosuppressif par plusieurs mécanismes (Kreisgaard et al. 2017). Nos premières études nous ont semblé cependant biaisées d'emblée, de par la diversité des lignes de traitement subies par les patients, notamment chimiothérapies anti-cancéreuses agressives, affectant très probablement les fonctionnalités des CS et des cellules T CD4+ bénignes. La disponibilité des prélèvements au diagnostic, permettant de s'affranchir de cet inconvénient, restait par ailleurs très limitée. Finalement, l'opportunité d'avoir accès à une cohorte plus homogène de patients traités par immunothérapie anti-CCR4, à l'issue des phases d'essais cliniques, nous a permis d'exploiter nos résultats et les techniques mises au point, pour apprécier l'impact de l'hétérogénéité des CS et de l'évolution des profils immunitaires du compartiment bénin sanguin, sur la réponse et/ou la survenue de toxicités au cours de l'immunothérapie anti-CCR4.

Place du KIR3DL2 pour le diagnostic et le suivi des patients CTCL

Nous avons tout d'abord évalué, sur 254 patients avec suspicion de CTCL, les deux critères diagnostiques actuellement admis en cytométrie pour la classification en stade B2 par l'EORTC/ISCL (Olsen *et al.* 2007a, 2011 ; Scarisbrick *et al.* 2018a). Les diagnostics retenus se basaient uniquement sur les critères de ces recommandations. La sensibilité et la spécificité au seuil de \geq 1000/µL LT CD4+CD26– atteignent 91,4% et 95,9% respectivement, alors que les performances du critère CD4+CD7– \geq 1000/µL sont moins bonnes, comme précédemment rapporté (Bernengo *et al.* 2001 ; Steinhoff *et al.* 2009 ; Vonderheid et Hou 2018), avec une sensibilité à 68,6% malgré une spécificité à

98,2%. Ils reposent sur des marqueurs négatifs de CS, CD26 et CD7, également non exprimés par une fraction des lymphocytes T CD4+ normaux du donneur sain, principalement naïfs, comme l'atteste le recours à des seuils élevés (\ge 40% de lymphocytes circulants CD4+CD26- et \ge 30% de lymphocytes CD4+CD7-) (Bernengo et al. 2001 ; Lambeir et al. 2003). Ces marqueurs sont de surcroît plus fortement perdus à la surface des TCD4+ non malins des patients CTCL, puisque nous rapportons dans nos études en moyenne 9,1% de lymphocytes CD26- parmi les TCD4+ chez le donneur sain (6-11,7%), contre 38,9% parmi les TCD4+ bénignes des patients Sézary traités (18,6-59,3%). Cette perte de CD26 (enzyme DPP-4) pourrait concorder avec le biais de polarisation des T helpers observée dans les CTCL avancés, les cellules Th2 et Treg exprimant classiquement peu CD26, contrairement aux Th1 et Th17 (Willheim et al. 1997 ; Zhao et al. 2014). De même, l'antigène CD7 est perdu par 17,7% des TCD4+ de donneurs sains (10-25,4%) contre 27% des TCD4+ bénins (13-37,3%) de patients. Ces limites ont déjà été évoquées (Vonderheid et Hou 2018), mais elle sont quantifiées ici pour la première fois, rigoureusement à l'aide d'un double marquage KIR3DL2 / TCRVß. Ainsi, la perte de ces molécules pan-T ne permet pas à elle-seule d'identifier les CS, sans inclure une part de cellules bénignes, même si au diagnostic cet effet est peu visible car les CS sont généralement largement prédominantes sur leur contrepartie bénigne. En revanche, on peut s'interroger sur la fiabilité des travaux de recherche identifiant les CS comme des LT CD4+CD7- (Wang et al. 2011 : 1) ou CD4+CD26- (Samimi et al. 2010), bien que certainement plus justes que la plupart des études, réalisées sur PBMCs ou TCD4+ totales.

Par ailleurs, les recommandations internationales paraissent difficilement interprétables pour les cytologistes, la population de référence des pourcentages indiqués n'étant pas précisée de manière explicite dans la terminaison « CD4+CD26- cells » seule, ce qui amène à rapporter ces cellules au chiffre de lymphocytes totaux ou de TCD4+ selon les centres (Bernengo *et al.* 2001 ; Olsen *et al.* 2011). Nous avons retrouvé des valeurs de sensibilité et spécificité acceptables et proches des études de référence de ces marqueurs (Bernengo *et al.* 2001 ; Gibson *et al.* 2016 ; Scarisbrick *et al.* 2018a ; Vonderheid et Hou 2018), uniquement lorsque les valeurs relatives de CD4+CD26- sont rapportées aux lymphocytes totaux. Les stratégies de fenêtrages en CMF sont de plus manquantes dans ces recommandations, alors que les populations tumorales peuvent présenter des aberrations de taille ainsi que des défauts partiels, voire plus rarement totaux, d'expression du CD3 et CD4 (Clark *et al.* 2011 ; Moins-Teisserenc *et al.* 2015 ; Olsen *et al.* 2007a). Ces écueils rendent le rendu d'analyse très complexe pour un biologiste non averti, alors même que les CTCL sont des pathologies peu courantes.

Ces difficultés sont soulignées par plusieurs auteurs, qui incitent au développement de nouveaux marqueurs plus spécifiques et plus simples d'utilisation (Cristofoletti *et al.* 2019b ; Dulmage *et al.* 2017 ; Klemke *et al.* 2008 ; Nicolay *et al.* 2016 ; Pulitzer *et al.* 2020 ; Vonderheid 2018). La classification B0/B1/B2 ne paraît pas satisfaisante actuellement, sur la base du CD26, au regard des courbes de

survie (Vonderheid 2018 ; Vonderheid et Hou 2018). Certains recommandent d'associer de multiples marqueurs sous- ou sur-exprimés, comme CD3, CD4, CD2, CD7, CD26, CD45RO (Pulitzer *et al.* 2020), alors même que nous avons constaté des phénotypes Sézary, en dehors du CD26, très variables concernant ces antigènes, à la fois selon les patients et au cours du temps. De plus, certains marqueurs évoqués par ces auteurs (CD26, CD45RO, CD27, CD28, PD-1) peuvent être d'utilisation particulièrement délicate pour différencier les T CD4+ bénignes des malignes, qui, comme nous l'avons observé dans la dernière partie de notre travail, présentent des aberrations moins marquées mais similaires aux CS, probablement lié à l'environnement et au contexte cytokinique communs baignant ces deux types cellulaires. Nous sommes convaincus que l'introduction d'au moins un marqueur positif générique des CS dans les panels de phénotypage permet d'identifier les CS de manière fiable et simple, comme nous l'avons argumenté tout récemment en commentaire à l'article de M.P. Pulitzer (article II).

En effet, un biomarqueur idéal de CS se définirait par sa capacité à discriminer les CS des cellules bénignes, son apparition précoce au cours de la maladie, mais aussi ses performances à suivre la régression ou la progression de la maladie, ainsi qu'à prédire l'issue clinique. Sur le plan technique, il doit être simple de mise en œuvre et reproductible, tout en bénéficiant d'un coût modéré. Enfin il doit participer à une meilleure prise en charge des patients (Dulmage et al. 2017). Le récepteur KIR3DL2/CD158k se positionne actuellement comme le seul marqueur positif universel de surface des CS bien caractérisé. Sa spécificité aux seuils proposés de \geq 200 cellules /µL ou \geq 10% de lymphocytes totaux, est supérieure à 95%. De plus parmi les 7 patients restants non assignés B2 avec \geq 200 cellules KIR3DL2+/µL au diagnostic, quatre assignés B1 ont vu leur chiffre de LT CD4+CD26- augmenter audessus de 1000 / μ L en moins de 7 mois, alors qu'aucun patient avec < 200 cellules KIR3DL2+/ μ L au diagnostic n'a évolué en stade B2 dans les 30 mois suivants. Ces données suggèrent que, soit KIR3DL2 est un marqueur prédictif d'évolution en SS, ou soit est plus sensible au diagnostic que les critères actuellement admis. Les patients assignés B1 selon les critères internationaux, n'ont pas de données d'évolution clinique claires à ce jour (Scarisbrick et al. 2018a), et correspondent à des quantités de cellules KIR3DL2+ très hétérogènes (en moyenne 222/µL, 13-1641/µL). Nous suspectons que l'analyse de plus larges cohortes B1 confrontant à la fois les données cliniques et les valeurs de cellules KIR3DL2+, pourrait permettre de mieux classer les réels patients à risque d'évolution en stade B2 et de pronostic péjoratif.

La sensibilité du KIR3DL2 est satisfaisante, entre 85 et 90%, même si elle est plus faible que celle du CD26. Elle est liée à l'absence (chez moins de 10% des patients) ou la sous-expression de KIR3DL2 parmi une partie, voire rarement la totalité de la population tumorale, comme déjà rapporté (Hurabielle et al., 2017). L'existence de ces cas particuliers montre que l'utilisation concomitante de plusieurs

marqueurs en CMF reste pour le moment incontournable, associée à l'analyse de la clonalité, comme nous le proposons dans nos nouveaux critères, combinant l'évaluation de CD26, CD7 et KIR3DL2 chez les patients présentant un réarrangement clonal du TCR dans le sang. Ils permettent d'obtenir une sensibilité de 97,2% avec une spécificité de 92,7% pour l'assignation au stade B2. De plus, chez les patients ne présentant pas de lymphocytose T CD4+ (< 1600 T CD4+/µL selon Olsen et al. 2011), le KIR3DL2 est dans notre étude plus sensible pour détecter les 5 patients SS que les marqueurs négatifs historiques. Si cette observation était validée à plus large échelle, elle poserait le fait que KIR3DL2 est un meilleur marqueur pour identifier finement les cellules malignes chez les patients à faible charge tumorale. Ce récent biomarqueur reste néanmoins à manier avec précaution, comme illustré en 2015 dans la stratégie de fenêtrage des CS proposée par mon équipe : les T CD8+ et les cellules NK, dont une partie exprime physiologiquement ce récepteur, ainsi que les monocytes, qui peuvent fixer non spécifiquement l'anticorps, doivent être exclus. Parmi cette population, les lymphocytes de grande taille, et les cellules présentant des défauts d'expression de CD3 et/ou CD4 doivent au contraire être inclus (Moins-Teisserenc et al. 2015). Le clone de l'anticorps utilisé est également important (MOG1-M-K322-13E4, IgG1, Innate Pharma), et a amené par le passé à la publication de résultats de performance moindre avec un autre clone (AZ158, IgG2a, Innate Pharma), beaucoup moins intéressants que ceux que nous rapportons (Boonk et al. 2016 ; Klemke et al. 2008), freinant le développement international de ce biomarqueur.

Enfin, nous avons évalué la justesse de l'évaluation de la charge tumorale circulante au cours de la maladie avec le KIR3DL2 et le CD26, par rapport à celle du clone quantifié avec un anti-TCRVß spécifique, chez 24 patients Sézary. Nous observons une meilleure corrélation avec KIR3DL2 (p=0,95) par rapport à CD26 (p=0,69), chez les patients sans expansion des TCD4+, indiquant que le KIR3DL2 permet de quantifier plus justement la charge tumorale, en particulier dans les cas difficiles où elle est faible. Ceci explique les bonnes performances du KIR3DL2 en tant que marqueur pronostique des CTCL et de suivi d'efficacité thérapeutique (Hurabielle *et al.* 2017 ; Moins-Teisserenc *et al.* 2015), et ouvre des perspectives d'évaluation de la maladie résiduelle et de la réponse sanguine avec ce marqueur. Au contraire, la perte de CD26 sur les cellules non tumorales peut amener à surestimer la charge tumorale, alors que les hétérogénéités d'expression montrées sur la population CD4+TCRVß+ peuvent amener dans d'autres cas à la sous-estimer. KIR3DL2 apparaît ainsi comme un marqueur positif de CS constant au cours de la maladie.

Ce marqueur a cependant été développé pour le moment exclusivement sur le site de l'hôpital Saint-Louis, centre de référence national des CTCL, avec un fort soutien pour sa mise en place dans les autres laboratoires français. La participation régulière aux congrès EORTC et Euroflow, outre la diffusion par publication dans des journaux internationaux, sont destinées à promouvoir son évaluation et son

utilisation en dehors de Paris et de l'Hexagone (Sun et Wang 2019). En pratique clinique, ce développement à l'hôpital Saint-Louis a non seulement eu un impact analytique pour le diagnostic et le suivi des patients, mais également thérapeutique, puisqu'une immunoglobuline lgG1 monoclonale humanisée anti-KIR3DL2 (IPH4102, lacutamab) a été développée et est actuellement en cours d'essai clinique de phase II (Innate Pharma, Marseille).

Hétérogénéité tumorale sanguine et cutanée du syndrome de Sézary

Ce travail nous a permis de confirmer nos précédents résultats, concernant l'hétérogénéité des phénotypes naïfs / mémoires des CS circulantes, chez 47 patients atteints de SS. Les CS ont été identifiées à l'aide du marqueur KIR3DL2, mais aussi avec un anti-TCRVß spécifique du clone du patient lorsqu'il était disponible (17 patients). A travers l'analyse des molécules de différenciation CD45RA, CD27, CCR7 et CD95, nous avons observé que, bien que les TCM constituent le phénotype majoritaire (47%), il peut être associé pour le même clone TCRVß, à d'autres phénotypes allant de la T naïve à la TEMRA (chez 38% des patients). Enfin, parmi les autres patients (15%), les CS présentaient des phénotypes TN et/ou TSCM exclusivement. Dans notre cohorte, la grande disparité des lignes de traitement conduites nous a empêchés de rechercher une corrélation fine entre populations Sézary et réponses cliniques, mais aucun impact pronostique évident ne s'est dégagé en pratique clinique. Les CS sanguines ont ensuite été comparées chez 16 patients, à leurs CS cutanées, issues de biopsies cutanées prélevées en parallèle le même jour. Les données appariées ont montré des profils significativement différents entre le sang et la peau, plus matures et relativement homogènes dans le compartiment tissulaire (comportant des profils TCM, TEM et TEMRA). De plus, les CS expriment des marqueurs de T résidents mémoires (TRM), en particulier CD69, uniquement dans la peau. CD103 est faiblement exprimé, mais est plutôt associé dans la littérature aux TRM de type CD8+ (Thome et Farber 2015). CD69 étant également un marqueur d'activation, nous ne pouvons pas affirmer avec certitude que les CS CD69+CD103- sont des TRM. Seuls les échantillons sanguins comportaient des cellules tumorales naïves ou TSCM. Ces données remettent en cause le modèle de circulation entre le sang et la peau proposé par l'équipe américaine de Thomas S. Kupper, où dans le SS les cellules tumorales seraient invariablement de même phénotype TCM (Clark 2015). De nos données émergent deux hypothèses : (i) soit la présence de CS originaires du même clone, mais ayant divergé en fonction de leur site sanguin ou cutané, sans échange ultérieur entre les deux compartiments, (ii) soit au contraire un modèle dynamique, le comportement du clone étant plastique et influencé au gré de sa circulation entre les sites.

Nous avons également analysé l'expression de récepteurs rapportés impliqués dans le développement (Dalloul *et al.* 1992 ; Döbbeling *et al.* 1998 ; Marzec *et al.* 2008) et l'écotaxie des CS (Capriotti *et al.* 2007 ; Ferenczi *et al.* 2002 ; Ikeda *et al.* 2016 ; Shono *et al.* 2019 ; Sokolowska-Wojdylo *et al.* 2005). Des expressions significativement différentes des récepteurs aux interleukines homéostatiques IL-2, IL-7, IL-15, ainsi que des récepteurs de chimiokines CCR4, CCR10, CXCR3, CCR6, ont été retrouvées, entre compartiments sanguin et cutané, suggérant des comportements et des dépendances aux cytokines variables pour les CS, en fonction de leur localisation. Concernant les deux principaux récepteurs de tropisme vers la peau et impliqués dans les CTCL (Campbell *et al.* 2010 ; Gonzalez *et al.* 2016), CCR4 et CCR10 sont exprimés de façon privilégiée par les CS sanguines et les CS cutanées, respectivement (à noter, les deux patients avec des expressions quasi-nulles de CCR4 étaient sous traitement par AcM anti-CCR4 lors de notre étude). L'expression de ce type de récepteurs à la surface des CS du sang suggère une circulation rapide vers le tissu cutané, favorisée par la surexpression des chimiokines par les cellules du micro-environnement tumoral cutané dans les CTCL avancés (Ferenczi *et al.* 2002 ; Miyagaki et Sugaya 2014b).

Ces phénotypes sanguins ont été confirmés à l'échelle moléculaire, par comparaison du transcriptome de CS triées issues de 3 patients et de phénotypes TN, TSCM ou TCM, avec le transcriptome de cellules T CD4+ de mêmes phénotypes et triées, de 3 donneurs sains. Seul le phénotype Sézary TN n'a pas été confirmé, la signature moléculaire maligne du patient COIJ47 se rapprochant des TSCM de donneurs sains, avec l'expression de multiples gènes mémoires. Ceci signale probablement que la molécule CD95 (Fas), bien que la plus couramment utilisée pour distinguer les TN des TSCM en physiologie (Gattinoni *et al.* 2011), est probablement un marqueur inadéquat dans le cas des CS. Ce récepteur de mort cellulaire est en effet fréquemment muté, constituant un mécanisme de résistance à l'apoptose des CS (Jones *et al.* 2010). Nous avons aussi pu constater que les CS de types TCM et TEM de certains patients expriment très peu CD95 (en moyenne 37,4%, 0,6-97,2%), ce qui est aberrant pour une cellule mémoire, comme le montre la comparaison aux donneurs sains (61%, 59-74%).

On peut remarquer que la théorie de Thomas S. Kupper se base sur un faible nombre de patients (inférieur à 13 par étude) (Campbell *et al.* 2010 ; Clark 2015 ; Clark *et al.* 2012 ; Watanabe *et al.* 2015). Cette équipe décrit des phénotypes centraux et effecteurs mémoires malgré une expression variable du CD45RA et CD45RO, sans approfondissement sur le plan moléculaire ni fonctionnel. Dans la littérature, d'autres auteurs contredisent la théorie de Thomas S. Kupper. Des cas de MF CD45RA+CD62L- évocateurs de phénotypes TEMRA ont été observés en histopathologie, sans distinction évidente sur le plan clinique (Fierro *et al.* 2001). Un screening de 240 molécules de surface chez 11 patients SS a retrouvé une grande hétérogénéité parmi les CS circulantes TCRVß+, portant notamment sur les marqueurs de différenciation (CD45RA, CD45RO, CCR7, CD62L, CD27, CD95) (Buus

et al. 2018). Une étude similaire et postérieure à la nôtre, présente les immunophénotypages sanguins de 33 patients SS, 19 MF et 27 patients contrôles sans tumeur, en identifiant les cellules malignes de façon moins rigoureuse, sur la présence d'anomalies d'expression du CD3, CD4, CD26 et/ou CD2 (Horna et al. 2019). Elle retrouve des TN (CD45RA+CD62L+) dans 12% des SS, proportion proche de notre étude, mais moins fréquemment des TCM (33%) et plus fréquemment des TEM (49%), qui dans leur définition (CD45RA-CD62L-) incluent aussi les TTM. De façon intrigante, les cellules tumorales circulantes de MF ne présentaient pas de phénotypes significativement différents de ceux des SS, contredisant cette fois-ci la théorie de recirculation limitée des cellules malignes, car strictement TEM, dans le MF (Campbell et al. 2010). De manière similaire, nos données ultérieures concernant les patients traités par mogamulizumab, constatent la présence de phénotypes variés chez les patients EMF ou MF avec cellules tumorales KIR3DL2+ sanguines détectables. Ainsi, les différences de comportement clinique entre SS et MF ne seraient probablement pas imputables à leur type naïf / mémoire. Les relations entre le sang, les ganglions et la peau restent néanmoins une question centrale pour mieux comprendre la pathogenèse de ces lymphomes. Afin de tenter d'y répondre, de nombreuses études dans les années 1970-1980 ont apprécié les proliférations des CS dans différents compartiments par techniques radioactives, in vitro et même in vivo chez l'Homme. Elles retrouvent des taux de prolifération plus importants pour les CS cutanées que sanguines (Bunn et al. 1981 ; Chandra et al. 1981 ; Schwarzmeier et al. 1981). L'une d'elles relate l'expérimentation invasive réalisée à l'époque in vivo chez deux patients Sézary, qui consistait en l'injection en bolus intraveineux de thymidine tritiée, suivie de prélèvements séquentiels sanguins, cutanés et ganglionnaires (Bunn et al. 1981). Elle montre une fixation tumorale 50 à 200 fois plus importante dans la peau comparée au sang, reflétant la prédominance du pool cutané sur le pool sanguin. Les cinétiques suggèrent quant à elles le trafic de CS sanguines vers la peau. L'incorporation de thymidine, indicateur de prolifération cellulaire, était beaucoup plus intense dans les CS ganglionnaires, identifiées en microscopie chez l'unique patient consentant, alors que les CS sanguines étaient les moins proliférantes. Les auteurs concluent que la source de CS pourrait être extra-cutanée, notamment ganglionnaire, comme suspecté par d'autres auteurs (Schwarzmeier et al. 1981 ; Shackney et Schuette 1983). Pourtant les ganglions ne sont généralement impliqués qu'aux stades avancés de CTCL. Dans un travail plus récent, grâce aux marquages de l'antigène Ki67, les index de prolifération se sont révélés plus élevés pour les CS cutanées (11%) par rapport aux CS sanguines (2%) des mêmes patients, et corrélés à une activation plus importante de la voie PI3K/Akt/mTORC1 (Cristofoletti et al. 2019a). Les modèles murins satisfaisants manquent à l'heure actuelle pour reprendre de telles études de cinétique et compartimentalisation tumorale.

Nous avons ensuite voulu aborder la caractérisation fonctionnelle de ces sous-types naïf/mémoires, notre étude transcriptomique nous laissant à penser que les différences d'expression des marqueurs de différenciation ne seraient pas juste le reflet d'aberrations phénotypiques sans retentissement moléculaire et cellulaire. De plus, ces phénotypes évoluent chez 40% des patients suivis à long terme de notre cohorte, sans que cette évolution ne suive forcément le sens de différenciation physiologique (par exemple de la TN à la TCM). Horna et al. ont fait ultérieurement un constat similaire, avec 6/10 patients modifiant leur phénotype naïf/mémoire au cours du temps, par exemple de la TEM à la TCM (Horna et al. 2019). Ceci nous a amenés à nous interroger sur l'éventuel potentiel plastique des CS, phénomène pouvant générer de l'hétérogénéité parmi la tumeur (Meacham et Morrison 2013). Des stimulations sur PBMCs totales et CS triées, par anti-CD3 et anti-CD28, associé à un cocktail de cytokines (IL-2, IL-7, IL-15), nous ont permis de constater au fil des lentes divisions des CS, des pertes de CD45RA et CD27 et l'apparition de marqueurs d'activation. Curieusement l'expression de CCR7 est souvent retenue, ne permettant pas d'évoquer un processus de différenciation strictement comparable à la physiologie du LT CD4+. En conclusion de ces expériences préliminaires, les traits des CS ne sont pas figés, mais peuvent être manipulés in vitro, et probablement in vivo par le TME et les thérapeutiques mises en œuvre.

Plus globalement, notre étude révèle une hétérogénéité phénotypique et moléculaire à la fois interet intra-individuelle des CS, qui concorde avec l'hétérogénéité déjà constatée sur les plans génétiques et épigénétiques (Litvinov et al. 2017). Cette caractéristique est de plus en plus rapportée dans de nombreux cancers, depuis l'avènement des techniques en « single-cell » et le perfectionnement en expérimentation animale de la transplantation tumorale. L'instabilité génétique est un des critères intrinsèques aux cellules tumorales (Hanahan et Weinberg 2011), qui permettent aux plus agressives de s'adapter en permanence par évolution clonale à leur environnement et aux traitements qui leur sont infligés (Nowell 1976). L'étude de l'instabilité microsatellitaire de l'ADN sur lésions de MF microdisséquées au laser, a permis de retracer un arbre phylogénétique d'évolution clonale, compatible avec la progression multi-lignée de sous-clones génétiquement instables (Rübben et al. 2004). Ainsi, les tumeurs, qu'elles soient hématologiques ou solides, évoluent en populations sousclonales, bien qu'issues d'une même cellule à l'origine. L'instabilité génétique n'est probablement pas le seul facteur d'hétérogénéité phénotypique. La présence de cellules souches cancéreuses peut participer à cette hétérogénéité, en donnant naissance à diverses cellules différenciées par division asymétrique, certaines étant tumorigènes et d'autres pas, tout en gardant elles-mêmes un potentiel d'auto-renouvellement (Kreso et Dick 2014 ; Meacham et Morrison 2013). Une hypothèse découlant de nos résultats, était celle d'un potentiel souche tumoral des CS de type TSCM, comme montré dans l'ATLL (Nagai et al. 2015), où le clone TSCM, distinct des autres populations, est capable d'une part de

s'auto-renouveler sur un mode de division lent, et d'autre part de donner des populations mémoires TCM et TEM lors de prolifération massive. Dans notre cohorte, les patients présentant des CS TSCM ne sont pas affectés par une évolution plus agressive, et nos tests préliminaires *in vitro* n'ont pas retrouvé une prolifération ni une capacité de différenciation accrue de ces CS.

Enfin, l'influence du TME sur la cellule cancéreuse peut modifier considérablement son comportement, constituant un facteur de diversité fonctionnelle en fonction de la micro-localisation de la tumeur (Hanahan et Coussens 2012 ; Kreso et Dick 2014 ; Meacham et Morrison 2013). Ceci pourrait expliquer au moins en partie les différences phénotypiques constatées entre les CS sanguines et les CS cutanées, ces dernières régulant positivement des molécules de rétention dans la peau comme CD69 ou CD103 et certains récepteurs de chimiokines. D'autre part, l'hétérogénéité tumorale peut avoir d'importantes conséquences cliniques, une fraction plus agressive de la tumeur pouvant à tout moment prendre le dessus si le contexte lui est moins défavorable que pour les autres sous-clones tumoraux. Dans ce sens, plusieurs études dans les CTCL, menées en techniques « single-cell », ont permis de montrer une grande diversité intra-clonale quant aux signatures moléculaires de prolifération et du cycle cellulaire (Gaydosik et al. 2019), ainsi qu'une association entre l'hétérogénéité tumorale et la progression de la maladie (Borcherding et al. 2019), ou encore la résistance aux traitements (Buus et al. 2018) (voir pour revue Rassek et lzykowska 2020). Dans l'étude de N. Borcherding et al., plusieurs clusters avec un point de divergence au cours de l'évolution transcriptionnelle, ont été rapportés à partir de cellules tumorales circulantes d'un patient Sézary, après tri et vérification de la monoclonalité. Dans l'étude de T.B. Buus et al., l'hétérogénéité phénotypique a été suivie au cours du traitement des PBMCs in vitro par deux inhibiteurs d'histone désacétylase, chez 6 patients Sézary. Ces auteurs montrent la sélection de sous-populations clonales pré-existantes, illustrant le fait que les différences de sensibilités aux traitements peuvent favoriser l'émergence de sous-clones résistants et expliquer les fréquentes rechutes dans les CTCL. De notre côté, nous avions pu constater que les évolutions phénotypiques naïves/mémoires chez un patient correspondaient souvent à une rechute ou à la mise en place d'un nouveau traitement. On peut par ailleurs suspecter que l'hétérogénéité que nous avons observé entre le sang et la peau, pourrait être responsable de réponses dermatologiques et hématologiques dissociées, même si une différence d'efficacité des mécanismes d'ADCC pourrait également y contribuer dans le cas des thérapies par anticorps monoclonaux (Clark et al. 2012).

Evaluation des compartiments malins et lymphocytaires T bénins T au cours de l'immunothérapie anti-CCR4 par mogamulizumab (MGZ)

A la lumière de ces résultats, nous avons exploré une cohorte de patients MF/SS réfractaires ou en rechute, traités par mogamulizumab, un AcM anti-CCR4. Cette immunothérapie est une IgG1 monoclonale humanisée défucosylée (KW-0761) (Ishii *et al.* 2010), développée dans le traitement des ATLL, PTCL et MF/SS (Ishida *et al.* 2012 ; Ogura *et al.* 2014). L'essai Mavoric de phase 3 a montré une prolongation significative de la survie sans progression, comparé au vorinostat (HDACi), dans le MF/SS en rechute ou réfractaire (Kim *et al.* 2018).

Le récepteur de chimiokine CCR4 est connu pour être fortement exprimé par les CS sanguines et cutanées (Capriotti et al. 2007 ; Ferenczi et al. 2002 ; Sokolowska-Wojdylo et al. 2005), ce que nous avions pu constater dans la partie précédente. Mais il est également exprimé à l'état physiologique à la surface des thymocytes CD4 simple positifs CD30+ (Annunziato et al. 2000), et en périphérie sur une partie des LT CD4+ et CD8+ mémoires, ainsi que sur les Treg (lellem et al. 2001 ; Yoshie et Matsushima 2015). La présence de CCR4 est associée à une polarisation Th2 et aux cellules CLA+ à tropisme cutané (Imai et al. 1999 ; Kunkel et al. 2002 ; Sallusto et al. 2004). Il n'est en revanche quasiment pas exprimé sur les lymphocytes B et NK (Imai et al. 1999). Les chimiokines CCL17 (TARC) et CCL22 (MDC), principalement produites dans le thymus et la peau enflammée, induisent la migration des cellules CCR4+. Ces deux ligands de haute affinité de CCR4 sont sécrétés par les monocytes, macrophages, cellules endothéliales et DCs en réponse aux signaux inflammatoires, et se différencient par leur localisation, CCL17 étant principalement présent au niveau des surfaces endothéliales, alors que CCL22 est exprimé dans le micro-environnement tissulaire (Campbell et al. 1999 ; Imai et al. 1999 ; Mariani et al. 2004 ; Vulcano et al. 2001). Suite à la liaison d'un de ses deux ligands, le récepteur CCR4, couplé à une protéine G (famille des RCPG) est internalisé, puis recyclé à la surface après clairance de la chimiokine, CCL22 étant plus puissant inducteur d'internalisation que CCL17 (Mariani et al. 2004). L'accumulation au niveau cutané des cellules malignes CCR4+, est en partie expliquée par la présence, dans la peau et le plasma des patients, de fortes concentrations en CCL17 et CCL22, ce que nous avons pu vérifier pour le plasma. Ces concentrations ont été corrélées à l'activité des CTCL de type MF/SS (Ferenczi et al. 2002 ; Kakinuma et al. 2003 ; Tanita et al. 2019). Le même constat est aussi valable dans l'ATLL (Yoshie et al. 2002), le lymphome T/NK de type nasal (NNKTL) (Kumai et al. 2015), l'ALCL et une partie des PTCL (Yoshie et Matsushima 2015), élargissant les perspectives d'indication de l'anticorps thérapeutique anti-CCR4.

Cette étude est partie de plusieurs hypothèses, la première étant que les nombreuses lignes thérapeutiques administrées de manière successive aux patients, permettent de soulager leurs

symptômes et de diminuer temporairement la masse tumorale, mais participeraient aussi au développement de clones résistants, ce qui n'a pas encore été caractérisé in vivo chez les patients. Un des objectifs de notre étude était d'évaluer l'impact de l'hétérogénéité et de l'éventuelle plasticité des cellules malignes, sur la réponse ou au contraire le développement de résistance thérapeutique. Notre deuxième hypothèse concernait la contrepartie T bénigne, partant de plusieurs constats. D'une part, les patients atteints de CTCL avancé sont connus pour être immunodéprimés, et d'autre part, deux cas de rémissions complètes sous MGZ associés à des effets indésirables auto-immuns sévères venaient d'être rapportés à l'hôpital Saint-Louis (article IV). Au vu de l'expression de CCR4 non seulement sur la population maligne, mais aussi sur une partie des T bénignes, plusieurs compartiments immuns nous paraissaient susceptibles d'être affectés par le MGZ. Malgré les données d'efficacité du MGZ, la durée moyenne de réponse est de 8-19 mois et la rémission complète n'est pas atteinte dans la plupart des cas (Kim et al. 2018). Or son arrêt pour progression, rechute, résistance ou toxicité rend les patients éligibles à d'autres immunothérapies encore aujourd'hui en essais cliniques, ciblant notamment PD-L1, PD-1 ou KIR3DL2. Ces trois traitements reposent tous sur les capacités d'ADCC, principalement NKmédiées, et pour les deux premières sur la présence de TILs réactifs, donc sur les facultés à développer une réponse immunitaire. Les fonctionnalités des NK et des TILs a été rapportée dans les CTCL (Bagot et al. 1998 ; Berger et al. 1996, 1998 ; Marie-Cardine et al. 2014 ; Thestrup-Pedersen et al. 2007 ; Yano et al. 2007), mais le développement tumoral contribue à altérer la fonctionnalité des lymphocytes (Krejsgaard et al. 2017), qui montrent des signes d'épuisement, avec expression de molécules de coinhibition (Murray et al. 2019 ; Querfeld et al. 2018 ; et observations personnelles dans le SS). Par ailleurs, CCR4 est exprimé au sein des Treg par les Treg(eff) CD45RA-Foxp3^{high}CTLA-4+, les plus suppressifs, et fortement représentés dans de nombreux cancers (Tanaka et Sakaguchi 2017). Or la balance entre Treg et Tconv est connue pour participer au contrôle de l'efficacité anti-tumorale (assurée par les Tconv), et de l'auto-immunité (assurée par les Treg). Ainsi le MGZ, en déplétant les Treg(eff), favoriserait l'immunité anti-tumorale comme montré dans le mélanome et l'ATLL (Sugiyama et al. 2013). Mais il est encore mal appréhendé si cet effet pourrait déclencher des phénomènes autoimmuns (Shimizu et al. 1999), même si leur fréquence paraît faible dans les MF/SS traités par MGZ (Kim et al. 2018).

Nous avons suivi, à la mise sous traitement puis pendant sa durée, 32 patients SS/MF, en analysant dans le compartiment sanguin l'expression de CCR4, les phénotypes naïf / mémoires, et les molécules « immune checkpoints », des T CD4+ malignes (KIR3DL2+TCRVß+), bénignes (KIR3DL2–TCRVß–), des T CD8+ et Treg. Les profils immunitaires ont été comparés à ceux d'une cohorte de témoins constituée de donneurs sains et patients atteints de dermatoses bénignes, d'âge comparable, en raison des
variations notables liées à l'âge sur les paramètres analysés (Globerson et Effros 2000 ; Kumar *et al.* 2018).

A l'initiation de traitement, nos données montrent chez les patients une lymphopénie globale, affectant majoritairement les TCD4+ bénignes, mais aussi les TCD8+, y compris pour les 7 patients MF/EMF. Les marquages Ki67 attestent malgré tout d'une prolifération plus soutenue des TCD4+ bénignes, par rapport aux témoins avant traitement. Ce statut prolifératif est probablement réactionnel à la lymphopénie TCD4+ bénigne, mais n'est pas efficace pour la corriger, suggérant une mortalité cellulaire accrue. L'expression de CCR4, comme attendu, est très forte à la surface des CS (positive chez tous les patients, 58-99,8%), mais aussi des Treg(eff). Elle est retrouvée chez environ la moitié des TCD4+ mémoires, et un peu moins parmi les TCD8+ mémoires. Des niveaux comparables d'expression ont déjà été rapportés, mais sans discrimination des sous-populations naïves / mémoires ni analyse des TCD4+ bénins (Ni et al. 2015). Curieusement, l'expression de CCR4 en pourcentage parmi les TCD4+ bénignes, mais aussi d'autres molécules associées à un profil Th2 (CD26, TIGIT), ou d' « exhaustion » (PD-1, TIGIT), est intermédiaire entre celle des CS et des TCD4+ témoins, en faveur d'une implication du contexte cytokinique sanguin, et/ou d'interactions entre les compartiments malins et bénins. A part de rares patients, les TCD8+ n'étaient pas altérés pour l'expression de ces molécules, mais l'étude des cytokines sécrétées par les TCD8+ et de leur capacité cytotoxique serait nécessaire pour investiguer leur fonctionnalité.

Sous traitement, la chute de la charge tumorale circulante est spectaculaire et durable au moins plusieurs mois, excepté chez 2 patients Sézary avec <75% de CS CCR4+ à J1. Néanmoins, un patient présentant 75,5% de CS CCR4+ à J1 a pu maintenir un bénéfice thérapeutique sous MGZ pendant 6 ans. Ces observations contradictoires au premier abord, nécessiteraient d'évaluer les réponses en fonction de l'expression initiale de CCR4 dans le sang et la peau à large échelle, afin de tester si CCR4 pourrait servir de biomarqueur prédictif de l'efficacité du traitement par MGZ, et dans quelles conditions. A ce sujet, les essais pré-cliniques n'avaient pas retrouvé d'association entre les MFI pour CCR4 des lignées ATLL testées in vitro, et l'efficacité de l'ADCC (Ishii et al. 2010), mais une étude clinique de phase I/II analysant les CS circulantes CD3+CD4+CD26- et/ou CD7-, rapporte des expressions de CCR4 <75% parmi 3/5 patients non répondeurs, contre 1/14 patients répondeurs (Ni et al. 2015). Dans notre cohorte, les marquages CCR4 réalisés sur sang frais retrouvent >80% de CS CCR4+ chez 20/22 répondeurs et <58-79% de CS CCR4+ chez les 3 patients stables dans le sang. La réponse cutanée était moins fréquente (44%) et plus brève que la réponse sanguine (89%). Ces observations sont en accord avec les résultats de l'essai Mavoric, où les patients Sézary présentaient aussi un meilleur taux de réponse globale et prolongée, par rapport aux patients MF (Kim et al. 2018). Ceci atteste probablement des sensibilités différant significativement entre les CS sanguines et cutanées,

avec une tumeur cutanée dans le SS qui semble pouvoir se maintenir en l'absence ou avec une faible contribution de la forme sanguine. De façon notable, les CS cutanées expriment moins fortement CCR4 que leur contrepartie sanguine (Ni et al., 2015 ; article III), ce qui pourrait contribuer aux différences de sensibilités. Des combinaisons thérapeutiques ciblant d'une part l'atteinte cutanée, d'autre part la forme leucémique, pourraient être envisagées. Un paramètre important à prendre en compte pour expliquer l'efficacité d'un anticorps thérapeutique agissant par ADCC, est la performance en ellemême de ce mode de lyse NK-médiée. Dans notre étude, les cellules NK étaient quantitativement diminuées par rapport aux témoins, mais de façon non significative. Leur fonctionnalité avant / après MGZ est en cours d'exploration par mon équipe. Les notions sur la fonctionnalité NK des patients CTCL sont contradictoires à ce jour (Bouaziz *et al.* 2005 ; Mundy-Bosse *et al.* 2018 ; Wysocka *et al.* 2004 ; Yoon *et al.* 2008). Après thérapie par MGZ, une étude très préliminaire sans analyse statistique, montre une augmentation de la cytotoxicité NK, chez 4/4 patients répondeurs testés, contrairement à 2 patients non répondeurs (Ni *et al.* 2015). Par ailleurs, le recours à l'IL-12, l'IFN- α 2b et à l'IFN- γ , cytokines destinées à stimuler les NK de patients, a permis d'augmenter l'efficacité de l'ADCC sur des lignées CTCL, en présence d'un autre AcM anti-CCR4 défucosylé (KM2760) (Yano *et al.* 2007).

Un apport indéniable de cette molécule à l'arsenal thérapeutique, est l'allongement du temps jusqu'à la ligne thérapeutique suivante (TTNT, « time to next treatment »), estimée en moyenne à 13 mois dans le SS et 9 mois dans le MF (Pro *et al.* 2019), alors qu'elle n'est généralement que de quelques mois dans le SS avec les thérapies classiques (Whittaker *et al.* 2016). Parmi nos 32 patients suivis, 11 (34%) ont pu maintenir une réponse complète hématologique pendant plus de 12 mois, dont 5 patients de la cohorte Mavoric pendant au moins 3 ans, l'un d'entre eux étant encore sous traitement pour la 6^e année consécutive. La réponse a même été maintenue chez 3 patients après arrêt du MGZ, au-delà de la période de clairance, similairement aux observations d'autres centres (Lolli *et al.* 2020). Ceci est en faveur d'une éradication durable du clone malin, maintenue par une immunité anti-tumorale active. La réduction drastique des CS doit probablement modifier l'environnement cytokinique, réputé comme biaisé Th2 dans les CTCL avancés (Guenova *et al.* 2013). Aussi, il a été montré dans des cas de rémissions complètes chez des patients SS, une augmentation des sécrétions d'IFN-γ et de la cytotoxicité NK, associées à une diminution de l'IL-4, en faveur de la restauration des populations Th1 (Yoo *et al.* 2001), critiques pour le développement d'une réponse anti-tumorale (Kennedy et Celis 2008).

Malgré ces données encourageantes, un changement de thérapeutique a dû être opéré globalement dans deux types de cas : soit précocement chez les patients non répondeurs dans la peau, malgré une fréquente réponse sanguine, soit tardivement chez les patients en rechute, avec une progression lente à la fois dans le sang et la peau. Nous nous sommes intéressés aux progressions hématologiques, et

Discussion

dans l'ensemble des cas avons pu isoler des clones Sézary n'exprimant plus CCR4 à la membrane, mais comportant en technique HTS les mêmes réarrangements du *TCRB* que les clones initiaux. La présence de transcrits CCR4 reste détectable, en quantité diminuée par rapport à la mise sous traitement. De plus, une petite sous-population CCR4 négative est distinguable en cytométrie chez les patients progresseurs avant traitement, nous incitant fortement à penser que le MGZ contribue à la sélection des populations tumorales CCR4–, initialement présentes parmi l'hétérogénéité tumorale. Nous caractérisons ainsi pour la première fois *in vivo* l'impact de cette hétérogénéité sur la survenue de résistances thérapeutiques.

Le mécanisme de non-expression de CCR4 à la surface, malgré la présence de transcrits, reste cependant à élucider. Les mesures des concentrations plasmatiques de CCL17 et CCL22, n'ont pas montré de variation pouvant expliquer un rôle éventuel dans une internalisation prolongée de leur récepteur. Les clones résistants que nous avons pu suivre, ne récupèrent pas l'expression de CCR4 dans les mois suivants l'arrêt du MGZ in vivo ni in vitro, contrairement à la ré-expression progressive observée sur la contrepartie bénigne. Ceci suggère la persistance d'un effet de l'environnement tumoral, ou un mécanisme bloquant le trafic de CCR4 vers la membrane, impliquant possiblement une mutation déjà présente avant mise sous immunothérapie. Concernant un autre récepteur de chimiokine, CXCR4, une pathologie a été étudiée, la lymphopénie TCD4+ idiopathique, se caractérisant par la rétention du récepteur CXCR4 dans le compartiment intra-cellulaire. A contrario de notre expérience concernant CCR4, l'expression de surface de CXCR4 était récupérable après traitement in vitro et in vivo par l'IL-2 (Scott-Algara et al. 2010). Le mécanisme de résistance au MGZ dans les CTCL semble plutôt proche de celui constaté dans l'ATLL. En effet, un cas de rechute à cellules n'exprimant plus CCR4, mais appartenant au clone initial a été rapporté (Ohno et al. 2013), ainsi qu'un second cas avec présence initiale d'une sous-population maligne CCR4- (Cook et al. 2019). De telles résistances étaient attendues (Duvic et al. 2016), de par l'expérience acquise depuis l'avènement de l'utilisation des AcM en thérapeutique, le tout premier développé en oncologie étant le rituximab. Des résistances primaires et secondaires au rituximab ont été observées, impliquant plusieurs mécanismes (Bonavida 2014) : (i) un défaut d'ADCC chez les patients présentant un polymorphisme dans le gène du récepteur FcyRIIIa (158F), exprimé à la surface des cellules NK (Cartron et al. 2002); (ii) une résistance à l'apoptose à l'origine de résistance croisée avec de nombreuses chimiothérapies (Jazirehi et al. 2007) ; (iii) une protection contre les mécanismes de CDC également impliqués dans l'action du rituximab (polymorphismes du C1q, sur-expression de protéines régulatrices du complément) (Bannerji et al. 2003 ; Racila et al. 2008). (iiii) Enfin, la perte d'expression de l'antigène cible, CD20, a été reliée soit à la présence d'une mutation/délétion (Terui et al. 2009), soit à un processus dit de « rasage » de la molécule CD20 à la surface cellulaire, par des monocytes capables de la récupérer par trogocytose,

Discussion

soit à l'internalisation du CD20 (Beers *et al.* 2010), ou soit encore à la sélection de clones sousexprimant CD20 (Bonavida 2014). On ne peut donc pas exclure que plusieurs types de résistance soient observées sous MGZ, et que la perte de CCR4 en surface ne soit liée à des mécanismes similaires et multiples. Pour le rituximab, dans les cas d'échecs thérapeutiques liés à une régulation négative du CD20, le traitement des cellules avec des HDACi a permis de restaurer son expression de surface *in vitro*, ouvrant de nouvelles perspectives pour surmonter ce type de résistance (Shimizu *et al.* 2010). La compréhension du mécanisme de résistance au MGZ pourrait ainsi potentiellement permettre de récupérer la sensibilité des clones résistants.

La comparaison des profils tumoraux en cours de traitement, a montré que le principal impact du MGZ sur l'hétérogénéité tumorale dépendait de la sélection des sous-clones CCR4–, et que les plus importants changements de profils s'opèrent lorsque les sous-populations CCR4– et CCR4+ sont phénotypiquement déjà très divergentes avant traitement. Parmi les CCR4–, d'autres marqueurs de l'immunité peuvent varier, mais dans les deux sens opposés au cours du traitement, ce qui laisse à penser que le MGZ n'est pas à l'origine de ces modifications, qui pourraient être aléatoires. Notre travail met ainsi en évidence pour la première fois *in vivo* chez des patients CTCL, des variations de l'hétérogénéité phénotypique tumorale en cours de traitement, liées au développement de résistance. Il serait intéressant de rechercher si des traitements avec des effets pléïotropiques sur la CS, tels les HDACi, auraient plus d'impact qu'une thérapie très ciblée, sur la complexité de l'hétérogénéité tumorale dans les cas de progression.

Outre le versant tumoral, les populations bénignes sont elles aussi en partie déplétées sous MGZ. La proportion de TCD4+ bénignes et Treg de phénotype naïf devient majoritaire par rapport aux populations mémoires et effectrices, alors que le ratio naïve / mémoires est peu modifié pour les TCD8+. L'analyse de la prolifération à l'aide du marqueur Ki67 montre un pic de prolifération entre M1 et M6 touchant les TN, TSCM et TCM (CCR4 négatives sous traitement), alors qu'en valeurs absolues la reconstitution du répertoire bénin paraît très lente et progressive, sur plusieurs années comme constaté chez les patients issus de la cohorte Mavoric. Une étude *ex vivo* de l'apoptose sur cellules fraîches pourrait peut-être permettre de comprendre le décalage observé entre la proportion importante de TCD4+ bénignes Ki67+ à J1 puis sous MGZ, et la lymphopénie constatée.

Un des objectifs initiaux de notre étude portait sur l'étude des populations Treg, suite à l'observation de manifestations auto-immunes sévères chez deux patients en rémission complète. Aucun cas supplémentaire n'a été observé au cours de notre étude. Nous pouvons constater la diminution de la population Treg(eff) CCR4+, par déplétion sous MGZ, comme précédemment rapporté, indépendamment de la réponse clinique (Ishida *et al.* 2012 ; Kurose *et al.* 2015 ; Ni *et al.* 2015 ;

Sugiyama et al. 2013). De plus, le ratio des Treg(eff) sur les T conventionnelles mémoires est abaissé au cours du traitement, ce qui pourrait effectivement augmenter la susceptibilité des patients à l'autoimmunité. Cette diminution, même si particulièrement importante pour les deux cas rapportés, est visible chez l'ensemble des patients, ce qui laisse à penser que d'autres facteurs doivent intervenir (mécanisme immunitaire ou toxique autre, prédisposition génétique). La survenue d'auto-immunité sévère, associée à la déplétion des Treg(eff) par le MGZ, a également été décrite dans l'ATLL, alors que la rechute coïncidait avec la réapparition de cette population, en faveur du contrôle qu'elle exercerait sur la balance immunité anti-tumorale / auto-immunité (Ureshino et al. 2016), comme indiqué également par l'équipe de S. Sakaguchi (Sugiyama et al. 2013). Une cytotoxicité par CDC interviendrait par ailleurs, attestée par la présence de dépôts de C1q, d'IgM et IgG dirigés contre les kératinocytes et les mélanocytes (avec une spécificité anti-BP180 chez certains patients), suggérant des mécanismes d'induction possiblement plus larges de l'auto-immunité (Suzuki et al. 2019). Par ailleurs, les éruptions cutanées liées au MGZ sont fréquentes et d'origine inconnue : 24% rapportées dans l'essai de phase III chez les patients CTCL, majoritairement de grade 1-2 (Kim et al. 2018), et jusque 22% de grade 3 (ou 63% au total) dans un essai de phase II dans l'ATLL (Ishida et al. 2012). Elles paraissent donc plus fréquentes et graves dans l'ATLL, des cas particulièrement sévères de syndrome de Stevens-Johnson ayant été rapportés (Honda et al. 2015 ; Ishida et al. 2013). L'étude pathologique de ces lésions montre un infiltrat TCD8+, positif pour le granzyme-B, beaucoup plus riche que dans les dermatoses inflammatoires bénignes, alors que l'infiltrat Treg est très pauvre (Honda et al. 2015 ; Ishida et al. 2013 ; Ito et al. 2019). L'étude des caractéristiques histologiques et immunologiques des patients de notre cohorte CTCL ayant développés un exanthème sous MGZ, est en cours.

Enfin, l'évaluation du compartiment circulant bénin en fonction de la réponse clinique reste compliquée, du fait des réponses dissociées entre les deux compartiments, et de la présence de seulement 3 patients non répondeurs dans le sang, compartiment de notre étude. Les cinétiques des paramètres analysés divergent, et seule l'analyse comparée entre le point à la mise sous traitement et celui au nadir sanguin, a permis de dégager des évolutions caractérisées chez les patients répondeurs, à savoir : une baisse significative du pourcentage de cellules PD-1+ et TIGIT+, et une augmentation des cellules CD127+ (IL7Rα+) parmi les TCD4+ bénignes. La proportion accrue des cellules exprimant le récepteur à l'IL-7 pourrait favoriser la prolifération du compartiment bénin, en facilitant l'accès à l'IL-7, alors que l'amélioration du statut immunitaire TCD4+ sous MGZ, suggérée par la baisse des molécules de co-inhibition, serait à confirmer par des analyses fonctionnelles. Il est à prendre en compte le fait que le profil immunitaire TCD4+ apparaissant sous traitement correspond majoritairement à des cellules naïves, exprimant par définition peu les molécules de co-inhibition, et que les mémoires PD-1+TIGIT+CCR4+ ont largement été déplétées en début de traitement. Cependant

la baisse des cellules TIGIT+ a également été observée parmi les TCM CD4+ bénignes, et le statut immunitaire observé persiste à la progression / rechute, en faveur d'un effet plus global, de « réinitialisation » du compartiment TCD4+ bénin. Dans l'ATLL, la reconstitution d'un répertoire immun TCD4+ polyclonal et TCD8+ oligoclonal plus vaste a été constatée, dans le sang et la peau, après MGZ (Saito *et al.* 2020 ; Shindo *et al.* 2018).

Au final, plusieurs arguments laissent penser qu'une seconde ligne de traitement par immunothérapie serait une option pertinente : la préservation (du moins quantitativement) des populations NK et TCD8+, les indices de reconstitution d'une immunité TCD4+ bénigne, et une baisse des Treg(eff). Le maintien de mécanismes d'ADCC fonctionnels a été vérifiée par l'obtention d'une réponse clinique chez 3/7 patients Sézary traités par anti-KIR3DL2 après MGZ, avec une survie sans progression particulièrement longue (16,8 mois) (Bagot *et al.* 2019). De plus, les immunothérapies présentent plusieurs avantages par rapport aux chimiothérapies conventionnelles. Leur effet semble plus durable, persistant parfois au-delà de l'arrêt du traitement, tout en étant mieux tolérées, comme constaté avec les inhibiteurs d' « immune checkpoints », en particulier dans le mélanome (Emens *et al.* 2017; Jansen *et al.* 2019). Les associations thérapeutiques avec le MGZ seraient une autre option intéressante, afin de limiter le développement de résistance, qui paraît très spécifique à cet AcM anti-CCR4, et de mieux cibler le compartiment cutané de la maladie, en fonction des caractéristiques de la tumeur, et notamment de son hétérogénéité.

Conclusion et Perspectives

L'amélioration du diagnostic, du pronostic et de la prise en charge thérapeutique des patients CTCL, n'est pas dissociable des nécessaires avancées dans la compréhension de ces pathologies, à l'heure des thérapies ciblées et immunothérapies.

Nous recommandons d'associer la numération des cellules KIR3DL2 positives, aux critères internationaux actuels. En effet, ce marqueur est actuellement le seul définissant de manière positive et spécifique la cellule tumorale, avec une bonne sensibilité. La perte de CD26, malgré de bonnes performances au diagnostic, ne permet pas de discriminer les TCD4+ bénignes des CS. Ce défaut est limitant en particulier chez les patients à faible charge tumorale, notamment lors du suivi sous traitement.

Grâce à l'emploi de ce marqueur, nos études révèlent une hétérogénéité importante des phénotypes Sézary entre les patients, mais également pour un même patient entre les populations tumorales sanguines et cutanés, et assez souvent au sein même d'un de ces deux compartiments. Ces observations nous questionnent encore sur l'origine du clone tumoral, ainsi que les relations entre le sang et la peau, qui paraissent plus complexe que la théorie déjà proposée (Campbell *et al.* 2010). L'assimilation des CS aux états de différenciation naïf/mémoires classiquement décrits doit probablement être imparfaite, de nombreuses voies de signalisation étant altérées, dont en première ligne celle du TCR. Les molécules de l'immunité peuvent être touchées par des mutations conférant à la cellule tumorale un avantage de survie (comme CD95), ou possiblement être la simple conséquence aléatoire de l'instabilité génomique. Une définition oncogénomique mais aussi fonctionnelle, basée par exemple sur l'étude du trafic de ces cellules, leurs capacités de prolifération et d'envahissement cutané et/ou sanguin, de plasticité, de résistance à l'apoptose, sur leurs sécrétions cytokiniques, et leur comportement face aux cellules de l'immunité, est certainement plus appropriée. Elle permettrait en effet de les décrire en tant que cellules tumorales, et de formuler de meilleures distinctions physiopathologiques entre les formes de CTCL indolentes et agressives.

L'étude des marqueurs de l'immunité nous renseigne cependant sur l'hétérogénéité tumorale, puisque divers sous-clones peuvent être mis en évidence grâce à des expressions différenciées, et suivis au cours du temps. Leur signification à la surface des CS reste encore pour certaines à renseigner. Cette hétérogénéité est probablement non seulement créée par l'instabilité génomique des CS, mais aussi modelée par les divers traitements et le micro-environnement, englobant les interactions entre cellules malignes et cellules bénignes, le contexte cytokinique et l'accès aux facteurs de croissance, oxygène et nutriments.

Ainsi, une cohorte de patients traités par anticorps thérapeutique anti-CCR4, le mogamulizumab, nous a permis de suivre cette hétérogénéité tumorale au cours d'un traitement, mais également sa contrepartie bénigne, chez des patients souvent immunodéprimés suite à la progression de leur maladie et aux multiples lignes de traitement. Nous avons pu constater la participation de l'hétérogénéité tumorale intra-clonale au développement de résistance thérapeutique, à travers la sélection de sous-clones CCR4 négatifs dans le cas présent. Un biais affectant la population TCD4+ bénigne sur plusieurs molécules de l'immunité, a également été observé. Il est probablement lié au dialogue qui s'établit au fur et à mesure de la maladie avec l'environnement immun, que la CS manipule pour détourner de ses fonctions anti-tumorales initiales. Des dosages des cytokines plasmatiques Th1, Th2 et homéostatiques, sont prévus avant/après traitement, pour évaluer l'impact de la réduction drastique de la charge tumorale sur l'environnement cytokinique, produit alors par le compartiment bénin, initialement biaisé. La prise en compte du statut immunitaire avant et en cours de traitement, nous apparaît primordial pour développer et manier au mieux les immunothérapies de demain, au vu de leur impact sur les immunités anti-tumorales, anti-infectieuses mais aussi le développement d'auto-immunité.

La poursuite de ce projet est prévue autour de deux axes. Le premier est d'évaluer le KIR3DL2 en tant que marqueur de réponse dans le sang, et outil pour l'évaluation des thérapies en développement, permettant le suivi de la maladie résiduelle et une détection précoce des clones résistants. Le second axe approfondirait l'analyse de l'environnement immun avant / après thérapie par mogamulizumab, et son possible impact à long terme chez les patients. Les capacités de différenciation, prolifération et sécrétions cytokiniques des sous-populations bénignes T CD4 stimulées *in vitro*, seront évaluées, comme déjà mis au point au cours de ma thèse. Une évaluation immunohistochimique des biopsies cutanées avant traitement et à la rechute sera aussi réalisée. Enfin, une analyse transcriptionnelle quantitative de gènes ciblés de l'immunité (molécules d'adhésion, chimiokines, cytokines, molécules « immune-checkpoints »), dans le sang et la peau, permettra de dégager les principales modifications de l'environnement tumoral lors de cette immunothérapie.

Bibliographie

- ABENI D., M. FRONTANI, F. SAMPOGNA, F. SERA, S. BOLLI, R. CORONA, G. BALIVA et G. RUSSO, 2005 « Circulating CD8+ lymphocytes, white blood cells, and survival in patients with mycosis fungoides », *The British Journal of Dermatology*, 153, 2 : 324-330.
- ABRAHAM R.M., Q. ZHANG, N. ODUM et M.A. WASIK, 2011 « The role of cytokine signaling in the pathogenesis of cutaneous T-cell lymphoma », *Cancer Biology & Therapy*, 12, 12 : 1019-1022.
- AGAR N.S., E. WEDGEWORTH, S. CRICHTON, T.J. MITCHELL, M. COX, S. FERREIRA, A. ROBSON, E. CALONJE, C.M. STEFANATO, E.M. WAIN, B. WILKINS, P.A. FIELDS, A. DEAN, K. WEBB, J. SCARISBRICK, S. MORRIS et S.J. WHITTAKER, 2010 « Survival outcomes and prognostic factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: validation of the revised International Society for Cutaneous Lymphomas/European Organisation for Research and Treatment of Cancer staging proposal », Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 28, 31 : 4730-4739.
- AHLFORS H., A. LIMAYE, L.L. ELO, S. TUOMELA, M. BURUTE, K.V.P. GOTTIMUKKALA, D. NOTANI, O. RASOOL, S. GALANDE et R. LAHESMAA, 2010 « SATB1 dictates expression of multiple genes including IL-5 involved in human T helper cell differentiation », *Blood*, 116, 9 : 1443-1453.
- ALDERSON M.R., T.W. TOUGH, T. DAVIS-SMITH, S. BRADDY, B. FALK, K.A. SCHOOLEY, R.G. GOODWIN, C.A. SMITH, F. RAMSDELL et D.H. LYNCH, 1995 « Fas ligand mediates activation-induced cell death in human T lymphocytes. », *Journal of Experimental Medicine*, 181, 1 : 71-77.
- ALIAHMAD P., B. DE LA TORRE et J. KAYE, 2010 « Shared dependence on the DNA-binding factor TOX for the development of lymphoid tissue-inducer cell and NK cell lineages », *Nature Immunology*, 11, 10 : 945-952.
- ALLEN S.J., S.E. CROWN et T.M. HANDEL, 2007 « Chemokine: receptor structure, interactions, and antagonism », Annual Review of Immunology, 25 : 787-820.
- AMYES E., C. HATTON, D. MONTAMAT-SICOTTE, N. GUDGEON, A.B. RICKINSON, A.J. MCMICHAEL et M.F.C. CALLAN, 2003 « Characterization of the CD4+ T Cell Response to Epstein-Barr Virus during Primary and Persistent Infection », Journal of Experimental Medicine, 198, 6 : 903-911.
- ANDRÉ R., C. RAM-WOLFF, M. BATTISTELLA, R. PEFFAULT DE LATOUR, A. PETIT, J.D. BOUAZIZ, P. BRICE, M. BAGOT et A. DE MASSON, 2020 « Effectiveness of brentuximab vedotin before and after allogeneic stem-cell transplantation in the management of transformed mycosis fungoides », *The British Journal of Dermatology*, 182, 6 : 1503-1504.
- ANNUNZIATO F., G. GALLI, L. COSMI, P. ROMAGNANI, R. MANETTI, E. MAGGI et S. ROMAGNANI, 1998 « Molecules associated with human Th1 or Th2 cells », *European Cytokine Network*, 9, 3 Suppl : 12-16.
- ANNUNZIATO F., C. ROMAGNANI et S. ROMAGNANI, 2015 « The 3 major types of innate and adaptive cell-mediated effector immunity », *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 135, 3 : 626-635.
- ANNUNZIATO F., P. ROMAGNANI, L. COSMI, C. BELTRAME, B.H. STEINER, E. LAZZERI, C.J. RAPORT, G. GALLI, R. MANETTI, C. MAVILIA, V. VANINI, D. CHANTRY, E. MAGGI et S. ROMAGNANI, 2000 « Macrophage-derived chemokine and EBI1-ligand chemokine attract human thymocytes in different stage of development and are produced by distinct subsets of medullary epithelial cells: possible implications for negative selection », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 165, 1 : 238-246.
- ANZENGRUBER F., D. IGNATOVA, T. SCHLAEPFER, Y.-T. CHANG, L.E. FRENCH, S. PASCOLO, E. CONTASSOT, M. BOBROWICZ, W. HOETZENECKER et E. GUENOVA, 2019 « Divergent LAG-3 versus BTLA, TIGIT, and FCRL3 expression in Sézary syndrome », Leukemia & Lymphoma, 60, 8 : 1899-1907.

- APPAY V. et S.L. ROWLAND-JONES, 2004 « Lessons from the study of T-cell differentiation in persistent human virus infection », *Seminars in Immunology*, 16, 3 : 205-212.
- APPAY V. et D. SAUCE, 2014 « Naive T cells: the crux of cellular immune aging? », *Experimental Gerontology*, 54 : 90-93.
- ARCHIER E., S. DEVAUX, E. CASTELA, A. GALLINI, F. AUBIN, M. LE MAÎTRE, S. ARACTINGI, H. BACHELEZ, B. CRIBIER, P. JOLY, D. JULLIEN, L. MISERY, C. PAUL, J.-P. ORTONNE et M.-A. RICHARD, 2012 « Carcinogenic risks of psoralen UV-A therapy and narrowband UV-B therapy in chronic plaque psoriasis: a systematic literature review », *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV*, 26 Suppl 3 : 22-31.
- ASADULLAH K., W.D. DÖCKE, A. HAEUSSLER, W. STERRY et H.D. VOLK, 1996 « Progression of mycosis fungoides is associated with increasing cutaneous expression of interleukin-10 mRNA », *The Journal of Investigative Dermatology*, 107, 6 : 833-837.
- ASADULLAH K., M. FRIEDRICH, W.D. DÖCKE, S. JAHN, H.D. VOLK et W. STERRY, 1997 « Enhanced expression of T-cell activation and natural killer cell antigens indicates systemic anti-tumor response in early primary cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 108, 5 : 743-747.
- ASADULLAH K., A. HAEUSSLER-QUADE, S. GELLRICH, S. HANNEKEN, T.E. HANSEN-HAGGE, W.D. DÖCKE, H.D. VOLK et W. STERRY, 2000 « IL-15 and IL-16 overexpression in cutaneous T-cell lymphomas: stage-dependent increase in mycosis fungoides progression », *Experimental Dermatology*, 9, 4 : 248-251.
- ASCHEBROOK-KILFOY B., P. COCCO, C. LA VECCHIA, E.T. CHANG, C.M. VAJDIC, M.E. KADIN, J.J. SPINELLI, L.M. MORTON, E.V. KANE, J.N. SAMPSON, C. KASTEN, A.L. FELDMAN, S.S. WANG et Y. ZHANG, 2014 « Medical history, lifestyle, family history, and occupational risk factors for mycosis fungoides and Sézary syndrome: the InterLymph Non-Hodgkin Lymphoma Subtypes Project », *Journal of the National Cancer Institute. Monographs*, 2014, 48 : 98-105.
- Assaf C. et S.T. HWANG, 2016 « Mac attack: macrophages as key drivers of cutaneous T-cell lymphoma pathogenesis », *Experimental Dermatology*, 25, 2 : 105-106.
- AUDIA J.E. et R.M. CAMPBELL, 2016 « Histone Modifications and Cancer », Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 8, 4 : a019521.
- AXELROD P.I., B. LORBER et E.C. VONDERHEID, 1992 « Infections complicating mycosis fungoides and Sézary syndrome », JAMA, 267, 10: 1354-1358.
- AYOB A.Z. et T.S. RAMASAMY, 2018 « Cancer stem cells as key drivers of tumour progression », *Journal of Biomedical Science*, 25, 1 : 20.
- BAGOT M., 2001 « CD4+ cutaneous T-cell lymphoma cells express the p140-killer cell immunoglobulin-like receptor », *Blood*, 97, 5 : 1388-1391.
- BAGOT M., H. ECHCHAKIR, F. MAMI-CHOUAIB, M.H. DELFAU-LARUE, D. CHARUE, A. BERNHEIM, S. CHOUAIB, L. BOUMSELL et A. BENSUSSAN, 1998 « Isolation of tumor-specific cytotoxic CD4+ and CD4+CD8dim+ T-cell clones infiltrating a cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 91, 11 : 4331-4341.
- BAGOT M., B. HASAN, S. WHITTAKER, M. BEYLOT-BARRY, R. KNOBLER, E. SHAH, S. MARREAUD, S. MORRIS, S. DALLE, O. SERVITJE,
 R. COWAN, L. VÄKEVÄ, G. CHABY, C. JONAK, C.P. FOX, D. RITCHIE, M.H. VERMEER, R. STADLER, P.L.O. ROMERO, J. SCARISBRICK et P. QUAGLINO, 2017 « A phase III study of lenalidomide maintenance after debulking therapy in patients with advanced cutaneous T-cell lymphoma EORTC 21081 (NCT01098656): results and lessons learned for future trial designs », *European journal of dermatology: EJD*, 27, 3 : 286-294.
- BAGOT M., P. PORCU, A. MARIE-CARDINE, M. BATTISTELLA, B.M. WILLIAM, M. VERMEER, S. WHITTAKER, F. ROTOLO, C. RAM-WOLFF, M.S. KHODADOUST, A. BENSUSSAN, C. PATUREL, C. BONNAFOUS, H. SICARD, H.A. AZIM et Y.H. KIM, 2019 « IPH4102, a first-in-class anti-KIR3DL2 monoclonal antibody, in patients with relapsed or refractory

cutaneous T-cell lymphoma: an international, first-in-human, open-label, phase 1 trial », *The Lancet. Oncology*, 20, 8 : 1160-1170.

- BAHLER D.W., G. BERRY, J. OKSENBERG, R.A. WARNKE et R. LEVY, 1992 « Diversity of T-cell antigen receptor variable genes used by mycosis fungoides cells », *The American Journal of Pathology*, 140, 1 : 1-8.
- BAHLER D.W., L. HARTUNG, S. HILL, G.M. BOWEN et E.C. VONDERHEID, 2008 « CD158k/KIR3DL2 is a useful marker for identifying neoplastic T-cells in Sézary syndrome by flow cytometry », *Cytometry. Part B, Clinical Cytometry*, 74, 3 : 156-162.
- BAITSCH L., A. LEGAT, L. BARBA, S.A. FUERTES MARRACO, J.-P. RIVALS, P. BAUMGAERTNER, C. CHRISTIANSEN-JUCHT, H. BOUZOURENE, D. RIMOLDI, H. PIRCHER, N. RUFER, M. MATTER, O. MICHIELIN et D.E. SPEISER, 2012 « Extended coexpression of inhibitory receptors by human CD8 T-cells depending on differentiation, antigenspecificity and anatomical localization », *PloS One*, 7, 2 : e30852.
- BAKELS V., J.W. VAN OOSTVEEN, R.L. GORDIJN, J.M. WALBOOMERS, C.J. MEIJER et R. WILLEMZE, 1991 « Diagnostic value of T-cell receptor beta gene rearrangement analysis on peripheral blood lymphocytes of patients with erythroderma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 97, 5 : 782-786.

BANCHEREAU J. et R.M. STEINMAN, 1998 « Dendritic cells and the control of immunity », Nature, 392, 6673 : 245-252.

- BANNERJI R., S. KITADA, I.W. FLINN, M. PEARSON, D. YOUNG, J.C. REED et J.C. BYRD, 2003 « Apoptotic-regulatory and complement-protecting protein expression in chronic lymphocytic leukemia: relationship to in vivo rituximab resistance », Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 21, 8 : 1466-1471.
- BAO L., V.Y. SHI et L.S. CHAN, 2012 « IL-4 regulates chemokine CCL26 in keratinocytes through the Jak1, 2/Stat6 signal transduction pathway: Implication for atopic dermatitis », *Molecular Immunology*, 50, 1-2 : 91-97.
- BARREIRA DA SILVA R., M.E. LAIRD, N. YATIM, L. FIETTE, M.A. INGERSOLL et M.L. ALBERT, 2015 « Dipeptidylpeptidase 4 inhibition enhances lymphocyte trafficking, improving both naturally occurring tumor immunity and immunotherapy », *Nature Immunology*, 16, 8 : 850-858.
- BARTA S.K., J. ZAIN, A.W. MACFARLANE, S.M. SMITH, J. RUAN, H.C. FUNG, C.R. TAN, Y. YANG, R.K. ALPAUGH, E. DULAIMI, E.A. ROSS, K.S. CAMPBELL, N. KHAN, R. SIDDHARTA, N.H. FOWLER, R.I. FISHER et Y. OKI, 2019 « Phase II Study of the PD-1 Inhibitor Pembrolizumab for the Treatment of Relapsed or Refractory Mature T-cell Lymphoma », Clinical Lymphoma Myeloma and Leukemia, 19, 6 : 356-364.e3.
- BASTID J., A. REGAIRAZ, N. BONNEFOY, C. DÉJOU, J. GIUSTINIANI, C. LAHEURTE, S. COCHAUD, E. LAPREVOTTE, E. FUNCK-BRENTANO, P. HEMON, L. GROS, N. BEC, C. LARROQUE, G. ALBERICI, A. BENSUSSAN et J.-F. ELIAOU, 2015 « Inhibition of CD39 enzymatic function at the surface of tumor cells alleviates their immunosuppressive activity », *Cancer Immunology Research*, 3, 3 : 254-265.
- BASTIDAS TORRES A.N., S. NAJIDH, C.P. TENSEN et M.H. VERMEER, 2018 « Molecular advances in cutaneous T-cell lymphoma », *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 37, 1:81-86.
- BATES S.E., R. EISCH, A. LING, D. ROSING, M. TURNER, S. PITTALUGA, H.M. PRINCE, M.H. KIRSCHBAUM, S.L. ALLEN, J. ZAIN, L.J. GESKIN, D. JOSKE, L. POPPLEWELL, E.W. COWEN, E.S. JAFFE, J. NICHOLS, S. KENNEDY, S.M. STEINBERG, D.J. LIEWEHR, L.C. SHOWE, C. STEAKLEY, J. WRIGHT, T. FOJO, T. LITMAN et R.L. PIEKARZ, 2015 « Romidepsin in peripheral and cutaneous T-cell lymphoma: mechanistic implications from clinical and correlative data », *British Journal* of Haematology, 170, 1 : 96-109.
- BATTISTELLA M., C. LEBOEUF, C. RAM-WOLFF, C. HURABIELLE, C. BONNAFOUS, H. SICARD, A. BENSUSSAN, M. BAGOT et A. JANIN, 2017 « KIR3DL2 expression in cutaneous T-cell lymphomas: expanding the spectrum for KIR3DL2 targeting », *Blood*, 130, 26 : 2900-2902.

- BEERS S.A., R.R. FRENCH, H.T.C. CHAN, S.H. LIM, T.C. JARRETT, R.M. VIDAL, S.S. WIJAYAWEERA, S.V. DIXON, H. KIM, K.L. COX, J.P. KERR, D.A. JOHNSTON, P.W.M. JOHNSON, J.S. VERBEEK, M.J. GLENNIE et M.S. CRAGG, 2010 « Antigenic modulation limits the efficacy of anti-CD20 antibodies: implications for antibody selection », *Blood*, 115, 25 : 5191-5201.
- BEGUE E., F. JEAN-LOUIS, M. BAGOT, S. JAULIAC, J.M. CAYUELA, L. LAROCHE, N. PARQUET, H. BACHELEZ, A. BENSUSSAN, G. COURTOIS et L. MICHEL, 2012 « Inducible expression and pathophysiologic functions of T-plastin in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 120, 1 : 143-54.
- BENOIT B.M., N. JARIWALA, G. O'CONNOR, L.K. OETJEN, T.M. WHELAN, A. WERTH, A.B. TROXEL, H. SICARD, L. ZHU, C. MILLER, J. TAKESHITA, D.W. MCVICAR, B.S. KIM, A.H. ROOK et M. WYSOCKA, 2017 « CD164 identifies CD4+ T cells highly expressing genes associated with malignancy in Sézary syndrome: the Sézary signature genes, FCRL3, Tox, and miR-214 », Archives of Dermatological Research, 309, 1 : 11-19.
- BENSUSSAN A., B. JANELA, N. THONNART, M. BAGOT, P. MUSETTE, F. GINHOUX et A. MARIE-CARDINE, 2019 « Identification of CD39 as a Marker for the Circulating Malignant T-Cell Clone of Sézary Syndrome Patients », *The Journal of Investigative Dermatology*, 139, 3 : 725-728.
- BENSUSSAN A., N. REMTOULA, S. SIVORI, M. BAGOT, A. MORETTA et A. MARIE-CARDINE, 2011 « Expression and function of the natural cytotoxicity receptor NKp46 on circulating malignant CD4+ T lymphocytes of Sezary syndrome patients », J Invest Dermatol, 131, 4 : 969-76.
- VAN BERGEN J., A. THOMPSON, A. VAN DER SLIK, T.H.M. OTTENHOFF, J. GUSSEKLOO et F. KONING, 2004 « Phenotypic and functional characterization of CD4 T cells expressing killer Ig-like receptors », *Journal of Immunology* (*Baltimore, Md.: 1950*), 173, 11 : 6719-6726.
- BERGER C.L., D. HANLON, D. KANADA, M. DHODAPKAR, V. LOMBILLO, N. WANG, I. CHRISTENSEN, G. HOWE, J. CROUCH, P. EL-FISHAWY et R. EDELSON, 2002a « The growth of cutaneous T-cell lymphoma is stimulated by immature dendritic cells », *Blood*, 99, 8 : 2929-2939.
- BERGER C.L., D. HANLON, D. KANADA, M. GIRARDI et R.L. EDELSON, 2002b « Transimmunization, a novel approach for tumor immunotherapy », *Transfusion and Apheresis Science: Official Journal of the World Apheresis Association: Official Journal of the European Society for Haemapheresis*, 26, 3 : 205-216.
- BERGER C.L., B.J. LONGLEY, S. IMAEDA, I. CHRISTENSEN, P. HEALD et R.L. EDELSON, 1998 « Tumor-specific peptides in cutaneous T-cell lymphoma: association with class I major histocompatibility complex and possible derivation from the clonotypic T-cell receptor », *International Journal of Cancer*, 76, 3 : 304-311.
- BERGER C.L., R. TIGELAAR, J. COHEN, K. MARIWALLA, J. TRINH, N. WANG et R.L. EDELSON, 2005 « Cutaneous T-cell lymphoma: malignant proliferation of T-regulatory cells », *Blood*, 105, 4 : 1640-1647.
- BERGER C.L., N. WANG, I. CHRISTENSEN, J. LONGLEY, P. HEALD et R.L. EDELSON, 1996 « The immune response to class Iassociated tumor-specific cutaneous T-cell lymphoma antigens », *The Journal of Investigative Dermatology*, 107, 3 : 392-397.
- BERGER C.L., A.L. XU, D. HANLON, C. LEE, J. SCHECHNER, E. GLUSAC, I. CHRISTENSEN, E. SNYDER, V. HOLLOWAY, R. TIGELAAR et R.L. EDELSON, 2001 « Induction of human tumor-loaded dendritic cells », *International Journal of Cancer*, 91, 4 : 438-447.
- BERNENGO M.G., M. NOVELLI, P. QUAGLINO, F. LISA, A. DE MATTEIS, P. SAVOIA, N. CAPPELLO et M.T. FIERRO, 2001 « The relevance of the CD4+ CD26- subset in the identification of circulating Sézary cells », *The British Journal* of Dermatology, 144, 1 : 125-135.
- BERTI E., D. TOMASINI, M.H. VERMEER, C.J. MEIJER, E. ALESSI et R. WILLEMZE, 1999 « Primary cutaneous CD8-positive epidermotropic cytotoxic T cell lymphomas. A distinct clinicopathological entity with an aggressive clinical behavior », *The American Journal of Pathology*, 155, 2 : 483-492.

- BIN DHUBAN K., E. D'HENNEZEL, E. NASHI, A. BAR-OR, S. RIEDER, E.M. SHEVACH, S. NAGATA et C.A. PICCIRILLO, 2015 « Coexpression of TIGIT and FCRL3 identifies Helios+ human memory regulatory T cells », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 194, 8 : 3687-3696.
- BISWAS S.K. et A. MANTOVANI, 2010 « Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm », *Nature Immunology*, 11, 10 : 889-896.
- BLADON J. et P.C. TAYLOR, 2006 « Extracorporeal photopheresis: a focus on apoptosis and cytokines », *Journal of Dermatological Science*, 43, 2 : 85-94.
- BLAIZOT R., E. OUATTARA, A. FAUCONNEAU, M. BEYLOT-BARRY et A. PHAM-LEDARD, 2018 « Infectious events and associated risk factors in mycosis fungoides/Sézary syndrome: a retrospective cohort study », *The British Journal of Dermatology*, 179, 6 : 1322-1328.
- BOGEN S.A., D. PELLEY, M. CHARIF, M. MCCUSKER, H. KOH, F. FOSS, M. GARIFALLOU, C. ARKIN et D. ZUCKER-FRANKLIN, 1996 « Immunophenotypic identification of Sezary cells in peripheral blood », *American Journal of Clinical Pathology*, 106, 6 : 739-748.
- BONAVIDA B., 2014 « Postulated Mechanisms of Resistance of B-NHL to Rituximab Treatment Regimens: Strategies to Overcome Resistance », *Seminars in oncology*, 41, 5 : 667-677.
- BOOKEN N., A. GRATCHEV, J. UTIKAL, C. WEISS, X. YU, M. QADOUMI, M. SCHMUTH, N. SEPP, D. NASHAN, K. RASS, T. TÜTING, C. ASSAF, E. DIPPEL, R. STADLER, C.-D. KLEMKE et S. GOERDT, 2008 « Sézary syndrome is a unique cutaneous T-cell lymphoma as identified by an expanded gene signature including diagnostic marker molecules CDO1 and DNM3 », *Leukemia*, 22, 2 : 393-399.
- BOONK S.E., W.H. ZOUTMAN, A. MARIE-CARDINE, L. VAN DER FITS, J.J. OUT-LUITING, T.J. MITCHELL, I. TOSI, S.L. MORRIS, B. MORIARTY, N. BOOKEN, M. FELCHT, P. QUAGLINO, R. PONTI, E. BARBERIO, C. RAM-WOLFF, K. JANTTI, A. RANKI, M.G. BERNENGO, C.D. KLEMKE, A. BENSUSSAN, L. MICHEL, S. WHITTAKER, M. BAGOT, C.P. TENSEN, R. WILLEMZE et M.H. VERMEER, 2016 « Evaluation of Immunophenotypic and Molecular Biomarkers for Sezary Syndrome Using Standard Operating Procedures: A Multicenter Study of 59 Patients », J Invest Dermatol, 136, 7 : 1364-72.
- BORCHERDING N., A.P. VOIGT, V. LIU, B.K. LINK, W. ZHANG et A. JABBARI, 2019 « Single-Cell Profiling of Cutaneous T-Cell Lymphoma Reveals Underlying Heterogeneity Associated with Disease Progression », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*.
- BORISH L., J. DISHUCK, L. COX, J.J. MASCALI, J. WILLIAMS et L.J. ROSENWASSER, 1993 « Sézary syndrome with elevated serum IgE and hypereosinophilia: role of dysregulated cytokine production », *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 92, 1 Pt 1 : 123-131.
- BOUAZIZ J.-D., N. ORTONNE, J. GIUSTINIANI, V. SCHIAVON, D. HUET, M. BAGOT et A. BENSUSSAN, 2005 « Circulating natural killer lymphocytes are potential cytotoxic effectors against autologous malignant cells in sezary syndrome patients », *The Journal of Investigative Dermatology*, 125, 6 : 1273-1278.
- BOUAZIZ J.-D., N. REMTOULA, A. BENSUSSAN, A. MARIE-CARDINE et M. BAGOT, 2010 « Absolute CD3+ CD158k+ lymphocyte count is reliable and more sensitive than cytomorphology to evaluate blood tumour burden in Sézary syndrome », *The British Journal of Dermatology*, 162, 1 : 123-128.
- BOUR-JORDAN H. et J.A. BLUESTONE, 2009 « Regulating the regulators: costimulatory signals control the homeostasis and function of regulatory T cells », *Immunological reviews*, 229, 1 : 41-66.
- BOWNESS P., A. RIDLEY, J. SHAW, A.T. CHAN, I. WONG-BAEZA, M. FLEMING, F. CUMMINGS, A. MCMICHAEL et S. KOLLNBERGER, 2011 « Th17 cells expressing KIR3DL2+ and responsive to HLA-B27 homodimers are increased in ankylosing spondylitis », Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 186, 4 : 2672-2680.

- BRENDER C., P. LOVATO, V.H. SOMMER, A. WOETMANN, A.-M. MATHIESEN, C. GEISLER, M. WASIK et N. ØDUM, 2005 « Constitutive SOCS-3 expression protects T-cell lymphoma against growth inhibition by IFNalpha », *Leukemia*, 19, 2 : 209-213.
- BRENDER C., M. NIELSEN, K. KALTOFT, G. MIKKELSEN, Q. ZHANG, M. WASIK, N. BILLESTRUP et N. ODUM, 2001 « STAT3mediated constitutive expression of SOCS-3 in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 97, 4 : 1056-1062.
- BUCHHOLZ V.R., M. FLOSSDORF, I. HENSEL, L. KRETSCHMER, B. WEISSBRICH, P. GRÄF, A. VERSCHOOR, M. SCHIEMANN, T. HÖFER et D.H. BUSCH, 2013 « Disparate Individual Fates Compose Robust CD8+ T Cell Immunity », *Science*, 340, 6132 : 630-635.
- BUNN P.A., R. EDELSON, S.S. FORD et S.E. SHACKNEY, 1981 « Patterns of cell proliferation and cell migration in the Sézary syndrome », *Blood*, 57, 3 : 452-463.
- BUUS T.B., A. WILLERSLEV-OLSEN, S. FREDHOLM, E. BLÜMEL, C. NASTASI, M. GLUUD, T. HU, L.M. LINDAHL, L. IVERSEN, H. FOGH,
 R. GNIADECKI, I.V. LITVINOV, J.L. PERSSON, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, J.P. CHRISTENSEN, T. KREJSGAARD, T. LITMAN,
 A. WOETMANN et N. ØDUM, 2018 « Single-cell heterogeneity in Sézary syndrome », *Blood Advances*, 2, 16
 : 2115-2126.
- CALÌ B., B. MOLON et A. VIOLA, 2017 « Tuning cancer fate: the unremitting role of host immunity », *Open Biology*, 7, 4.
- CAMPBELL J.J., R.A. CLARK, R. WATANABE et T.S. KUPPER, 2010 « Sezary syndrome and mycosis fungoides arise from distinct T-cell subsets: a biologic rationale for their distinct clinical behaviors », *Blood*, 116, 5 : 767-771.
- CAMPBELL J.J., G. HARALDSEN, J. PAN, J. ROTTMAN, S. QIN, P. PONATH, D.P. ANDREW, R. WARNKE, N. RUFFING, N. KASSAM, L. WU et E.C. BUTCHER, 1999 « The chemokine receptor CCR4 in vascular recognition by cutaneous but not intestinal memory T cells », *Nature*, 400, 6746 : 776-780.
- CAMPHAUSEN K. et P.J. TOFILON, 2007 « Inhibition of histone deacetylation: a strategy for tumor radiosensitization », Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 25, 26 : 4051-4056.
- CAPOCASALE R.J., R.J. LAMB, E.C. VONDERHEID, F.E. FOX, A.H. ROOK, P.C. NOWELL et J.S. MOORE, 1995 « Reduced surface expression of transforming growth factor beta receptor type II in mitogen-activated T cells from Sézary patients », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 92, 12 : 5501-5505.
- CAPRINI E., C. CRISTOFOLETTI, D. ARCELLI, P. FADDA, M.H. CITTERICH, F. SAMPOGNA, A. MAGRELLI, F. CENSI, P. TORRERI, M. FRONTANI, E. SCALA, M.C. PICCHIO, P. TEMPERANI, A. MONOPOLI, G.A. LOMBARDO, D. TARUSCIO, M.G. NARDUCCI et G. RUSSO, 2009 « Identification of key regions and genes important in the pathogenesis of sezary syndrome by combining genomic and expression microarrays », *Cancer Research*, 69, 21 : 8438-8446.
- CAPRIOLI F., M. SARRA, R. CARUSO, C. STOLFI, D. FINA, G. SICA, T.T. MACDONALD, F. PALLONE et G. MONTELEONE, 2008 « Autocrine regulation of IL-21 production in human T lymphocytes », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 180, 3 : 1800-1807.
- CAPRIOTTI E., E.C. VONDERHEID, C.J. THOBURN, E.C. BRIGHT et A.D. HESS, 2007 « Chemokine receptor expression by leukemic T cells of cutaneous T-cell lymphoma: clinical and histopathological correlations », *The Journal of Investigative Dermatology*, 127, 12 : 2882-2892.
- CAPRIOTTI E., E.C. VONDERHEID, C.J. THOBURN, M.A. WASIK, D.W. BAHLER et A.D. HESS, 2008 « Expression of T-plastin, FoxP3 and other tumor-associated markers by leukemic T-cells of cutaneous T-cell lymphoma », *Leukemia & Lymphoma*, 49, 6 : 1190-1201.
- CARNEY D.N., P.A. BUNN, G.P. SCHECHTER et A.F. GAZDAR, 1980 « Lymphocyte transformation in patients with cutaneous T-cell lymphomas », *International Journal of Cancer*, 26, 5 : 535-542.

- CARTRON G., L. DACHEUX, G. SALLES, P. SOLAL-CELIGNY, P. BARDOS, P. COLOMBAT et H. WATIER, 2002 « Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcgammaRIIIa gene », *Blood*, 99, 3 : 754-758.
- CATAKOVIC K., E. KLIESER, D. NEUREITER et R. GEISBERGER, 2017 « T cell exhaustion: from pathophysiological basics to tumor immunotherapy », *Cell communication and signaling: CCS*, 15, 1 : 1.
- CEDENO-LAURENT F., R. WATANABE, J.E. TEAGUE, T.S. KUPPER, R.A. CLARK et C.J. DIMITROFF, 2012 « Galectin-1 inhibits the viability, proliferation, and Th1 cytokine production of nonmalignant T cells in patients with leukemic cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 119, 15 : 3534-3538.
- CETINÖZMAN F., P.M. JANSEN, M.H. VERMEER et R. WILLEMZE, 2012 « Differential expression of programmed death-1 (PD-1) in Sézary syndrome and mycosis fungoides », *Archives of Dermatology*, 148, 12 : 1379-1385.
- CHAMES P., M. VAN REGENMORTEL, E. WEISS et D. BATY, 2009 « Therapeutic antibodies: successes, limitations and hopes for the future », *British Journal of Pharmacology*, 157, 2 : 220-233.
- CHAN A.T., S.D. KOLLNBERGER, L.R. WEDDERBURN et P. BOWNESS, 2005 « Expansion and enhanced survival of natural killer cells expressing the killer immunoglobulin-like receptor KIR3DL2 in spondylarthritis », *Arthritis and Rheumatism*, 52, 11 : 3586-3595.
- CHANDRA P.O., A.D. CHANANA, G. CHIKKAPPA et E.P. CRONKITE, 1981 « Cellular kinetics in a patient with Sezary syndrome », *American Journal of Hematology*, 10, 4 : 327-329.
- CHAPMAN N.M. et H. CHI, 2018 « Hallmarks of T-cell Exit from Quiescence », *Cancer Immunology Research*, 6, 5 : 502-508.
- CHEN L., 2004 « Co-inhibitory molecules of the B7-CD28 family in the control of T-cell immunity », *Nature Reviews. Immunology*, 4, 5 : 336-347.
- CHEN L. et D.B. FLIES, 2013 « Molecular mechanisms of T cell co-stimulation and co-inhibition », *Nature Reviews. Immunology*, 13, 4 : 227-242.
- CHEVRET E., L. ANDRIQUE, M. PROCHAZKOVA-CARLOTTI, J. FERRER, D. CAPPELLEN, E. LAHARANNE, Y. IDRISSI, A. BOETTIGER, W. SAHRAOUI, F. RUIZ, A. PHAM-LEDARD, B. VERGIER, F. BELLOC, P. DUBUS, M. BEYLOT-BARRY et J.-P. MERLIO, 2014 « Telomerase functions beyond telomere maintenance in primary cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 123, 12 : 1850-1859.
- CHEVRET E. et J.-P. MERLIO, 2016 « Sézary Syndrome: Translating Genetic Diversity into Personalized Medicine », The Journal of Investigative Dermatology, 136, 7 : 1319-1324.
- CHINEN T., A.K. KANNAN, A.G. LEVINE, X. FAN, U. KLEIN, Y. ZHENG, G. GASTEIGER, Y. FENG, J.D. FONTENOT et A.Y. RUDENSKY, 2016 « An essential role for the IL-2 receptor in Treg cell function », *Nature Immunology*, 17, 11 : 1322-1333.
- CHINN D.M., S. CHOW, Y.H. KIM et R.T. HOPPE, 1999 « Total skin electron beam therapy with or without adjuvant topical nitrogen mustard or nitrogen mustard alone as initial treatment of T2 and T3 mycosis fungoides », International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 43, 5 : 951-958.
- CHO A., C. JANTSCHITSCH et R. KNOBLER, 2018 « Extracorporeal Photopheresis-An Overview », *Frontiers in Medicine*, 5 : 236.
- CHOI J., G. GOH, T. WALRADT, B.S. HONG, C.G. BUNICK, K. CHEN, R.D. BJORNSON, Y. MAMAN, T. WANG, J. TORDOFF, K. CARLSON, J.D. OVERTON, K.J. LIU, J.M. LEWIS, L. DEVINE, L. BARBAROTTA, F.M. FOSS, A. SUBTIL, E.C. VONDERHEID, R.L. EDELSON, D.G. SCHATZ, T.J. BOGGON, M. GIRARDI et R.P. LIFTON, 2015 « Genomic landscape of cutaneous T cell lymphoma », *Nature Genetics*, 47, 9 : 1011-1019.

- CIERI N., B. CAMISA, F. COCCHIARELLA, M. FORCATO, G. OLIVEIRA, E. PROVASI, A. BONDANZA, C. BORDIGNON, J. PECCATORI, F. CICERI, M.T. LUPO-STANGHELLINI, F. MAVILIO, A. MONDINO, S. BICCIATO, A. RECCHIA et C. BONINI, 2013 « IL-7 and IL-15 instruct the generation of human memory stem T cells from naive precursors », *Blood*, 121, 4 : 573-584.
- CISNEROS E., M. MORARU, N. GÓMEZ-LOZANO, A. MUNTASELL, M. LÓPEZ-BOTET et C. VILCHES, 2020 « Haplotype-Based Analysis of KIR-Gene Profiles in a South European Population—Distribution of Standard and Variant Haplotypes, and Identification of Novel Recombinant Structures », *Frontiers in Immunology*, 11.
- CLARK R.A., 2009 « Regulation gone wrong: a subset of Sézary patients have malignant regulatory T cells », *The Journal of Investigative Dermatology*, 129, 12 : 2747-2750.
- ———, 2015 « Resident memory T cells in human health and disease », Science Translational Medicine, 7, 269 : 269rv1.
- ----, 2010 « Skin-resident T cells: the ups and downs of on site immunity », *The Journal of Investigative Dermatology*, 130, 2 : 362-370.
- CLARK R.A., B. CHONG, N. MIRCHANDANI, N.K. BRINSTER, K. YAMANAKA, R.K. DOWGIERT et T.S. KUPPER, 2006a « The Vast Majority of CLA+ T Cells Are Resident in Normal Skin », *The Journal of Immunology*, 176, 7 : 4431-4439.
- CLARK R.A., B.F. CHONG, N. MIRCHANDANI, K.-I. YAMANAKA, G.F. MURPHY, R.K. DOWGIERT et T.S. KUPPER, 2006b « A novel method for the isolation of skin resident T cells from normal and diseased human skin », *The Journal of Investigative Dermatology*, 126, 5 : 1059-1070.
- CLARK R.A., J.B. SHACKELTON, R. WATANABE, A. CALARESE, K. YAMANAKA, J.J. CAMPBELL, J.E. TEAGUE, H.P. KUO, D. HIJNEN et T.S. KUPPER, 2011 « High-scatter T cells: a reliable biomarker for malignant T cells in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 117, 6 : 1966-1976.
- CLARK R.A., R. WATANABE, J.E. TEAGUE, C. SCHLAPBACH, M.C. TAWA, N. ADAMS, A.A. DOROSARIO, K.S. CHANEY, C.S. CUTLER, N.R. LEBOEUF, J.B. CARTER, D.C. FISHER et T.S. KUPPER, 2012 « Skin effector memory T cells do not recirculate and provide immune protection in alemtuzumab-treated CTCL patients », *Science Translational Medicine*, 4, 117 : 117ra7.
- COLLINS N., X. JIANG, A. ZAID, B.L. MACLEOD, J. LI, C.O. PARK, A. HAQUE, S. BEDOUI, W.R. HEATH, S.N. MUELLER, T.S. KUPPER, T. GEBHARDT et F.R. CARBONE, 2016 « Skin CD4(+) memory T cells exhibit combined cluster-mediated retention and equilibration with the circulation », *Nature Communications*, 7 : 11514.
- CONTASSOT E., K. KERL, S. ROQUES, R. SHANE, O. GAIDE, M. DUPUIS, A.H. ROOK et L.E. FRENCH, 2008 « Resistance to FasL and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in Sezary syndrome Tcells associated with impaired death receptor and FLICE-inhibitory protein expression », *Blood*, 111, 9 : 4780-4787.
- COOK L.B.M., M.A. DEMONTIS, S. SAGAWE, A. WITKOVER, A. MELAMED, J. TURPIN, R. DILLON, J. HADDOW, A.J. MARKS, C.R.M. BANGHAM, P. FIELDS, G.P. TAYLOR et A.G. ROWAN, 2019 « Molecular remissions are observed in chronic adult T-cell leukemia/lymphoma in patients treated with mogamulizumab », *Haematologica*, 104, 12 : e566-e569.
- COYLE A.J. et J.-C. GUTIERREZ-RAMOS, 2001 « The expanding B7 superfamily: Increasing complexity in costimulatory signals regulating T cell function », *Nature Immunology*, 2, 3 : 203-209.
- CRESPO J., H. SUN, T.H. WELLING, Z. TIAN et W. ZOU, 2013 « T cell anergy, exhaustion, senescence, and stemness in the tumor microenvironment », *Current Opinion in Immunology*, 25, 2 : 214-221.
- CRISTOFOLETTI C., A. BRESIN, M. PICOZZA, M.C. PICCHIO, F. MONZO, M. HELMER CITTERICH, F. PASSARELLI, A. FREZZOLINI, E. SCALA, A. MONOPOLI, M. CANTONETTI, R. BENUCCI, S. D'ATRI, E. CAPRINI, G. RUSSO et M.G. NARDUCCI, 2019a

« Blood and skin-derived Sezary cells: differences in proliferation-index, activation of PI3K/AKT/mTORC1 pathway and its prognostic relevance », *Leukemia*, 33, 5 : 1231-1242.

- CRISTOFOLETTI C., M.G. NARDUCCI et G. RUSSO, 2019b « Sézary Syndrome, recent biomarkers and new drugs », Chinese Clinical Oncology, 8, 1 : 2.
- CROFT M., 2003 « Co-stimulatory members of the TNFR family: keys to effective T-cell immunity? », *Nature Reviews. Immunology*, 3, 8 : 609-620.
- DALLOUL A., L. LAROCHE, M. BAGOT, M.D. MOSSALAYI, C. FOURCADE, D.J. THACKER, D.E. HOGGE, H. MERLE-BÉRAL, P. DEBRÉ et C. SCHMITT, 1992 « Interleukin-7 is a growth factor for Sézary lymphoma cells », *The Journal of Clinical Investigation*, 90, 3 : 1054-1060.
- DAMSKY W.E. et J. CHOI, 2016 « Genetics of Cutaneous T Cell Lymphoma: From Bench to Bedside », *Current Treatment Options in Oncology*, 17, 7 : 33.
- DE SMEDT T., M. VAN MECHELEN, G. DE BECKER, J. URBAIN, O. LEO et M. MOSER, 1997 « Effect of interleukin-10 on dendritic cell maturation and function », *European Journal of Immunology*, 27, 5 : 1229-1235.
- DEMIERRE M.-F., S. GAN, J. JONES et D.R. MILLER, 2006 « Significant impact of cutaneous T-cell lymphoma on patients' quality of life: results of a 2005 National Cutaneous Lymphoma Foundation Survey », *Cancer*, 107, 10 : 2504-2511.
- DEREURE O., 2019 « [Primary skin lymphomas: Current therapy] », Annales De Dermatologie Et De Venereologie, 146, 2 : 92-99.
- DEREURE O., P. PORTALES, J. CLOT et J.J. GUILHOU, 2000 « Decreased expression of Fas (APO-1/CD95) on peripheral blood CD4+ T lymphocytes in cutaneous T-cell lymphomas », *The British Journal of Dermatology*, 143, 6 : 1205-1210.
- DI BENEDETTO S., E. DERHOVANESSIAN, E. STEINHAGEN-THIESSEN, D. GOLDECK, L. MÜLLER et G. PAWELEC, 2015 « Impact of age, sex and CMV-infection on peripheral T cell phenotypes: results from the Berlin BASE-II Study », *Biogerontology*, 16, 5 : 631-643.
- DIK W.A., K. PIKE-OVERZET, F. WEERKAMP, D. DE RIDDER, E.F.E. DE HAAS, M.R.M. BAERT, P. VAN DER SPEK, E.E.L. KOSTER, M.J.T. REINDERS, J.J.M. VAN DONGEN, A.W. LANGERAK et F.J.T. STAAL, 2005 « New insights on human T cell development by quantitative T cell receptor gene rearrangement studies and gene expression profiling », *The Journal of Experimental Medicine*, 201, 11 : 1715-1723.
- DÖBBELING U., R. DUMMER, E. LAINE, N. POTOCZNA, J.Z. QIN et G. BURG, 1998 « Interleukin-15 is an autocrine/paracrine viability factor for cutaneous T-cell lymphoma cells », *Blood*, 92, 1 : 252-258.
- DOHERTY P.C. et R.M. ZINKERNAGEL, 1975 « H-2 compatibility is required for T-cell-mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus », *The Journal of Experimental Medicine*, 141, 2 : 502-507.
- VAN DOORN R., R. DIJKMAN, M.H. VERMEER, J.J. OUT-LUITING, E.M.H. VAN DER RAAIJ-HELMER, R. WILLEMZE et C.P. TENSEN, 2004 « Aberrant expression of the tyrosine kinase receptor EphA4 and the transcription factor twist in Sézary syndrome identified by gene expression analysis », *Cancer Research*, 64, 16 : 5578-5586.
- VAN DOORN R., M.S. VAN KESTER, R. DIJKMAN, M.H. VERMEER, A.A. MULDER, K. SZUHAI, J. KNIJNENBURG, J.M. BOER, R. WILLEMZE et C.P. TENSEN, 2009 « Oncogenomic analysis of mycosis fungoides reveals major differences with Sezary syndrome », *Blood*, 113, 1 : 127-136.
- VAN DOORN R., R.C. SLIEKER, S.E. BOONK, W.H. ZOUTMAN, J.J. GOEMAN, M. BAGOT, L. MICHEL, C.P. TENSEN, R. WILLEMZE, B.T. HEIJMANS et M.H. VERMEER, 2016 « Epigenomic Analysis of Sézary Syndrome Defines Patterns of

Aberrant DNA Methylation and Identifies Diagnostic Markers », *The Journal of Investigative Dermatology*, 136, 9 : 1876-1884.

- DUARTE R.F., A. BOUMENDIL, F. ONIDA, I. GABRIEL, R. ARRANZ, W. ARCESE, X. POIRÉ, G. KOBBE, F. NARNI, A. CORTELEZZI, E. OLAVARRÍA, N. SCHMITZ, A. SUREDA et P. DREGER, 2014 « Long-term outcome of allogeneic hematopoietic cell transplantation for patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome: a European society for blood and marrow transplantation lymphoma working party extended analysis », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 32, 29 : 3347-3348.
- DUARTE R.F., C. CANALS, F. ONIDA, I.H. GABRIEL, R. ARRANZ, W. ARCESE, A. FERRANT, G. KOBBE, F. NARNI, G.L. DELILIERS, E. OLAVARRIA, N. SCHMITZ et A. SUREDA, 2010 « Allogeneic hematopoietic cell transplantation for patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: a retrospective analysis of the Lymphoma Working Party of the European Group for Blood and Marrow Transplantation », J Clin Oncol, 28, 29 : 4492-9.
- DUARTE R.F., N. SCHMITZ, O. SERVITJE et A. SUREDA, 2008 « Haematopoietic stem cell transplantation for patients with primary cutaneous T-cell lymphoma », *Bone Marrow Transplantation*, 41, 7 : 597-604.
- DULMAGE B., L. GESKIN, J. GUITART et O.E. AKILOV, 2017 « The biomarker landscape in mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Experimental Dermatology*, 26, 8 : 668-676.
- DULMAGE B.O., O. AKILOV, J.R. VU, L.D. FALO et L.J. GESKIN, 2019 « Dysregulation of the TOX-RUNX3 pathway in cutaneous T-cell lymphoma », *Oncotarget*, 10, 33 : 3104-3113.
- DULMAGE B.O. et L.J. GESKIN, 2013 « Lessons learned from gene expression profiling of cutaneous T-cell lymphoma », *The British Journal of Dermatology*, 169, 6 : 1188-1197.
- DULPHY N., J. BERROU, J.A. CAMPILLO, M. BAGOT, A. BENSUSSAN et A. TOUBERT, 2009 « NKG2D ligands expression and NKG2D-mediated NK activity in Sezary patients », *J Invest Dermatol*, 129, 2 : 359-64.
- DUMMER R., R. GEERTSEN, E. LUDWIG, E. NIEDERER et G. BURG, 1998 « Sézary syndrome, T-helper 2 cytokines and accessory factor-1 (AF-1) », *Leukemia & Lymphoma*, 28, 5-6 : 515-522.
- DUMMER R., P.W. HEALD, F.O. NESTLE, E. LUDWIG, E. LAINE, S. HEMMI et G. BURG, 1996 « Sézary syndrome T-cell clones display T-helper 2 cytokines and express the accessory factor-1 (interferon-gamma receptor beta-chain) », *Blood*, 88, 4 : 1383-1389.
- DUMMER R., F.O. NESTLE, E. NIEDERER, E. LUDWIG, E. LAINE, H. GRUNDMANN, P. GROB et G. BURG, 1999 « Genotypic, phenotypic and functional analysis of CD4+CD7+ and CD4+CD7- T lymphocyte subsets in Sézary syndrome », *Archives of Dermatological Research*, 291, 6 : 307-311.
- DUMONT M., C. RAM-WOLFF, M. ROELENS, P. BRICE, R.P. de LATOUR, M. BATTISTELLA, I. MADELAINE, J. DELYON, F. HERMS, J.-D. BOUAZIZ, H. MOINS-TEISSERENC, C. LEBBÉ, M. BAGOT et A. de MASSON, 2019 « Efficacy and safety of brentuximab vedotin plus bendamustine in advanced-stage primary cutaneous T-cell lymphomas », British Journal of Dermatology, 181, 6 : 1315-1317.
- DUNN G.P., A.T. BRUCE, H. IKEDA, L.J. OLD et R.D. SCHREIBER, 2002 « Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape », *Nature Immunology*, 3, 11 : 991-998.
- DUNN G.P., L.J. OLD et R.D. SCHREIBER, 2004 « The three Es of cancer immunoediting », Annu Rev Immunol, 22 : 329-60.
- DUSÍLKOVÁ N., P. BAŠOVÁ, J. POLÍVKA, O. KODET, V. KULVAIT, M. PEŠTA, M. TRNĚNÝ ET T. STOPKA, 2017 « Plasma miR-155, miR-203, and miR-205 are Biomarkers for Monitoring of Primary Cutaneous T-Cell Lymphomas », *International Journal of Molecular Sciences*, 18, 10.
- DUVIC M., M. EVANS et C. WANG, 2016 « Mogamulizumab for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma: recent advances and clinical potential », *Therapeutic Advances in Hematology*, 7, 3 : 171-174.

- DUVIC M., L.C. PINTER-BROWN, F.M. FOSS, L. SOKOL, J.L. JORGENSEN, P. CHALLAGUNDLA, K.M. DWYER, X. ZHANG, M.R. KURMAN, R. BALLERINI, L. LIU et Y.H. KIM, 2015a « Phase 1/2 study of mogamulizumab, a defucosylated anti-CCR4 antibody, in previously treated patients with cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 125, 12 : 1883-1889.
- DUVIC M., R. TALPUR, X. NI, C. ZHANG, P. HAZARIKA, C. KELLY, J.H. CHIAO, J.F. REILLY, J.L. RICKER, V.M. RICHON et S.R. FRANKEL, 2007 « Phase 2 trial of oral vorinostat (suberoylanilide hydroxamic acid, SAHA) for refractory cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) », *Blood*, 109, 1 : 31-39.
- DUVIC M., M.T. TETZLAFF, P. GANGAR, A.L. CLOS, D. SUI et R. TALPUR, 2015b « Results of a Phase II Trial of Brentuximab Vedotin for CD30+ Cutaneous T-Cell Lymphoma and Lymphomatoid Papulosis », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33, 32 : 3759-3765.
- DUVIC M. et J. VU, 2007 « Update on the treatment of cutaneous T-cell lymphoma (CTCL): Focus on vorinostat », *Biologics : Targets & Therapy*, 1, 4 : 377-392.
- ECHCHAKIR H., M. BAGOT, G. DOROTHÉE, D. MARTINVALET, S. LE GOUVELLO, L. BOUMSELL, S. CHOUAIB, A. BENSUSSAN et F. MAMI-CHOUAIB, 2000 « Cutaneous T cell lymphoma reactive CD4+ cytotoxic T lymphocyte clones display a Th1 cytokine profile and use a fas-independent pathway for specific tumor cell lysis », *The Journal of Investigative Dermatology*, 115, 1 : 74-80.
- EDELSON R., C. BERGER, F. GASPARRO, B. JEGASOTHY, P. HEALD, B. WINTROUB, E. VONDERHEID, R. KNOBLER, K. WOLFF et G. PLEWIG, 1987 « Treatment of cutaneous T-cell lymphoma by extracorporeal photochemotherapy. Preliminary results », *The New England Journal of Medicine*, 316, 6 : 297-303.
- EDELSON R.L., 2001 « Cutaneous T cell lymphoma: the helping hand of dendritic cells », Annals of the New York Academy of Sciences, 941 : 1-11.
- EDER J., R. ROGOJANU, W. JERNEY, F. ERHART, A. DOHNAL, M. KITZWÖGERER, G. STEINER, J. MOSER et F. TRAUTINGER, 2016 « Mast Cells Are Abundant in Primary Cutaneous T-Cell Lymphomas: Results from a Computer-Aided Quantitative Immunohistological Study », *PloS One*, 11, 11 : e0163661.
- EGAWA G. et K. KABASHIMA, 2011 « Skin as a peripheral lymphoid organ: revisiting the concept of skin-associated lymphoid tissues », *The Journal of Investigative Dermatology*, 131, 11 : 2178-2185.
- EHRENTRAUT S., B. SCHNEIDER, S. NAGEL, C. POMMERENKE, H. QUENTMEIER, R. GEFFERS, M. FEIST, M. KAUFMANN, C. MEYER, M.E. KADIN, H.G. DREXLER et R.A.F. MACLEOD, 2016 « Th17 cytokine differentiation and loss of plasticity after SOCS1 inactivation in a cutaneous T-cell lymphoma », *Oncotarget*, 7, 23 : 34201-34216.
- EMENS L.A., P.A. ASCIERTO, P.K. DARCY, S. DEMARIA, A.M.M. EGGERMONT, W.L. REDMOND, B. SELIGER et F.M. MARINCOLA, 2017 « Cancer immunotherapy: Opportunities and challenges in the rapidly evolving clinical landscape », European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990), 81 : 116-129.
- ERIKSEN K.W., K. KALTOFT, G. MIKKELSEN, M. NIELSEN, Q. ZHANG, C. GEISLER, M.H. NISSEN, C. RÖPKE, M.A. WASIK et N. ODUM, 2001 « Constitutive STAT3-activation in Sezary syndrome: tyrphostin AG490 inhibits STAT3-activation, interleukin-2 receptor expression and growth of leukemic Sezary cells », *Leukemia*, 15, 5 : 787-793.
- ESMAILZADEH S., Y. HUANG, M.-W. SU, Y. ZHOU et X. JIANG, 2015 « BIN1 tumor suppressor regulates Fas/Fas ligandmediated apoptosis through c-FLIP in cutaneous T-cell lymphoma », *Leukemia*, 29, 6 : 1402-1413.
- FALI T., L. PAPAGNO, C. BAYARD, Y. MOULOUD, J. BODDAERT, D. SAUCE et V. APPAY, 2019 « New Insights into Lymphocyte Differentiation and Aging from Telomere Length and Telomerase Activity Measurements », Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 202, 7 : 1962-1969.
- FARBER D.L., N.A. YUDANIN et N.P. RESTIFO, 2014 « Human memory T cells: generation, compartmentalization and homeostasis », *Nat Rev Immunol*, 14, 1 : 24-35.

- FARGNOLI M.C., R.L. EDELSON, C.L. BERGER, S. CHIMENTI, C. COUTURE, T. MUSTELIN et R. HALABAN, 1997 « Diminished TCR signaling in cutaneous T cell lymphoma is associated with decreased activities of Zap70, Syk and membrane-associated Csk », *Leukemia*, 11, 8 : 1338-1346.
- FELIX J., J. LAMBERT, M. ROELENS, E. MAUBEC, H. GUERMOUCHE, C. PAGES, I. SIDINA, D.J. CORDEIRO, G. MAKI, F. CHASSET, R. PORCHER, M. BAGOT, A. CAIGNARD, A. TOUBERT, C. LEBBÉ et H. MOINS-TEISSERENC, 2016 « Ipilimumab reshapes T cell memory subsets in melanoma patients with clinical response », Oncoimmunology, 5, 7 : 1136045.
- FERENCZI K., R.C. FUHLBRIGGE, J.L. PINKUS, G.S. PINKUS et T.S. KUPPER, 2002 « Increased CCR4 Expression in Cutaneous T Cell Lymphoma », *Journal of Investigative Dermatology*, 119, 6 : 1405-1410.
- FERMAND J.P., M.T. MITJAVILA, J.P. LE COUEDIC, A. TSAPIS, R. BERGER, R. MODIGLIANI, M. SELIGMANN, J.C. BROUET et W. VAINCHENKER, 1993 « Role of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-3 and interleukin-5 in the eosinophilia associated with T cell lymphoma », *British Journal of Haematology*, 83, 3 : 359-364.
- FIERRO M.T., M. NOVELLI, P. SAVOIA, I. CAMBIERI, P. QUAGLINO, S. OSELLA-ABATE et M.G. BERNENGO, 2001 « CD45RA+ immunophenotype in mycosis fungoides: clinical, histological and immunophenotypical features in 22 patients », *Journal of Cutaneous Pathology*, 28, 7 : 356-362.
- FIFE B.T. et J.A. BLUESTONE, 2008 « Control of peripheral T-cell tolerance and autoimmunity via the CTLA-4 and PD-1 pathways », *Immunological Reviews*, 224 : 166-182.
- VAN DER FITS L., M.S. VAN KESTER, Y. QIN, J.J. OUT-LUITING, F. SMIT, W.H. ZOUTMAN, R. WILLEMZE, C.P. TENSEN et M.H. VERMEER, 2011a « MicroRNA-21 expression in CD4+ T cells is regulated by STAT3 and is pathologically involved in Sézary syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 131, 3 : 762-768.
- VAN DER FITS L., J.J. OUT-LUITING, M.A. VAN LEEUWEN, J.N. SAMSOM, R. WILLEMZE, C.P. TENSEN et M.H. VERMEER, 2012 « Autocrine IL-21 stimulation is involved in the maintenance of constitutive STAT3 activation in Sézary syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 132, 2 : 440-447.
- VAN DER FITS L., Y. SANDBERG, N. DARZENTAS, W.H. ZOUTMAN, D. TIELEMANS, I.L.M. WOLVERS-TETTERO, M.H. VERMEER et A.W. LANGERAK, 2011b « A restricted clonal T-cell receptor αβ repertoire in Sézary syndrome is indicative of superantigenic stimulation », *The British Journal of Dermatology*, 165, 1 : 78-84.
- FOLKES A.S., M. FENG, J.M. ZAIN, F. ABDULLA, S.T. ROSEN et C. QUERFELD, 2018 « Targeting CD47 as a cancer therapeutic strategy: the cutaneous T-cell lymphoma experience », *Current Opinion in Oncology*, 30, 5 : 332-337.
- FRASER J.D., 2011 « Clarifying the Mechanism of Superantigen Toxicity », PLOS Biology, 9, 9 : e1001145.
- FREDHOLM S., L.M.R. GJERDRUM, A. WILLERSLEV-OLSEN, D.L. PETERSEN, I.Ø. NIELSEN, C.-S. KAUCZOK, M. WOBSER, U. RALFKIAER, C.M. BONEFELD, M.A. WASIK, T. KREJSGAARD, C. GEISLER, E. RALFKIAER, R. GNIADECKI, A. WOETMANN et N. ODUM, 2014 « STAT3 activation and infiltration of eosinophil granulocytes in mycosis fungoides », Anticancer Research, 34, 10 : 5277-5286.
- FREDHOLM S., I.V. LITVINOV, N.P. MONGAN, S. SCHIELE, A. WILLERSLEV-OLSEN, D.L. PETERSEN, T. KREJSGAARD, N. SIBBESEN, C. NASTASI, C.M. BONEFELD, J.L. PERSSON, P.T. STRATEN, M.H. ANDERSEN, S.B. KORALOV, M.M. WASIK, C. GEISLER, D. SASSEVILLE, A. WOETMANN et N. ØDUM, 2016 « The Expression of IL-21 Is Promoted by MEKK4 in Malignant T Cells and Associated with Increased Progression Risk in Cutaneous T-Cell Lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 136, 4 : 866-869.
- FREDHOLM S., A. WILLERSLEV-OLSEN, Ö. MET, L. KUBAT, M. GLUUD, S.L. MATHIASEN, C. FRIESE, E. BLÜMEL, D.L. PETERSEN, T. HU, C. NASTASI, L.M. LINDAHL, T.B. BUUS, T. KREJSGAARD, M.A. WASIK, K.L. KOPP, S.B. KORALOV, J.L. PERSSON, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, A. WOETMANN, L. IVERSEN, J.C. BECKER et N. ØDUM, 2018 « SATB1 in Malignant T Cells », The Journal of Investigative Dermatology, 138, 8 : 1805-1815.

- FRENCH L.E., B. HUARD, M. WYSOCKA, R. SHANE, E. CONTASSOT, J.-F. ARRIGHI, V. PIGUET, S. CALDERARA et A.H. ROOK, 2005 « Impaired CD40L signaling is a cause of defective IL-12 and TNF-alpha production in Sézary syndrome: circumvention by hexameric soluble CD40L », *Blood*, 105, 1 : 219-225.
- FRITSCH R.D., X. SHEN, G.P. SIMS, K.S. HATHCOCK, R.J. HODES et P.E. LIPSKY, 2005 « Stepwise Differentiation of CD4 Memory T Cells Defined by Expression of CCR7 and CD27 », *The Journal of Immunology*, 175, 10 : 6489-6497.
- FUHLBRIGGE R.C., S.L. KING, C.J. DIMITROFF, T.S. KUPPER et R. SACKSTEIN, 2002 « Direct Real-Time Observation of E- and P-Selectin-Mediated Rolling on Cutaneous Lymphocyte-Associated Antigen Immobilized on Western Blots », *The Journal of Immunology*, 168, 11 : 5645-5651.
- FUJII K., 2018 « New Therapies and Immunological Findings in Cutaneous T-Cell Lymphoma », Frontiers in Oncology, 8 : 198.
- FUJITA Y., R. ABE, M. SASAKI, A. HONDA, M. FURUICHI, Y. ASANO, O. NORISUGI, T. SHIMIZU et H. SHIMIZU, 2006 « Presence of circulating CCR10+ T cells and elevated serum CTACK/CCL27 in the early stage of mycosis fungoides », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 12, 9 : 2670-2675.
- FURUDATE S., T. FUJIMURA, A. KAKIZAKI, T. HIDAKA, M. ASANO et S. AIBA, 2016 « Tumor-associated M2 macrophages in mycosis fungoides acquire immunomodulatory function by interferon alpha and interferon gamma », *Journal of Dermatological Science*, 83, 3 : 182-189.
- GAIDE O., R.O. EMERSON, X. JIANG, N. GULATI, S. NIZZA, C. DESMARAIS, H. ROBINS, J.G. KRUEGER, R.A. CLARK et T.S. KUPPER, 2015 « Common clonal origin of central and resident memory T cells following skin immunization », *Nature Medicine*, 21, 6 : 647-653.
- GAJEWSKI T.F., H. SCHREIBER et Y.-X. FU, 2013 « Innate and adaptive immune cells in the tumor microenvironment », Nature Immunology, 14, 10 : 1014-1022.
- GANTCHEV J., A. MARTÍNEZ VILLARREAL, P. XIE, P. LEFRANÇOIS, S. GUNN, E. NETCHIPOROUK, D. SASSEVILLE et I.V. LITVINOV, 2019 « The Ectopic Expression of Meiosis Regulatory Genes in Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL) », Frontiers in Oncology, 9 : 429.
- GARDINER C.M., L.A. GUETHLEIN, H.G. SHILLING, M. PANDO, W.H. CARR, R. RAJALINGAM, C. VILCHES et P. PARHAM, 2001 « Different NK cell surface phenotypes defined by the DX9 antibody are due to KIR3DL1 gene polymorphism », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 166, 5 : 2992-3001.
- GARDNER A. et B. RUFFELL, 2016 « Dendritic Cells and Cancer Immunity », Trends in Immunology, 37, 12 : 855-865.
- GASPER D.J., M.M. TEJERA et M. SURESH, 2014 « CD4 T-Cell Memory Generation and Maintenance », Critical reviews in immunology, 34, 2 : 121-146.
- GATTINONI L., E. LUGLI, Y. JI, Z. POS, C.M. PAULOS, M.F. QUIGLEY, J.R. ALMEIDA, E. GOSTICK, Z. YU, C. CARPENITO, E. WANG, D.C. DOUEK, D.A. PRICE, C.H. JUNE, F.M. MARINCOLA, M. ROEDERER et N.P. RESTIFO, 2011 « A human memory T cell subset with stem cell-like properties », *Nature Medicine*, 17, 10 : 1290-1297.
- GAYDOSIK A.M., T. TABIB, L.J. GESKIN, C.-A. BAYAN, J.F. CONWAY, R. LAFYATIS et P. FUSCHIOTTI, 2019 « Single-Cell Lymphocyte Heterogeneity in Advanced Cutaneous T-cell Lymphoma Skin Tumors », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 25, 14 : 4443-4454.
- GAZDAR A.F., D.N. CARNEY, P.A. BUNN, E.K. RUSSELL, E.S. JAFFE, G.P. SCHECHTER et J.G. GUCCION, 1980 « Mitogen requirements for the in vitro propagation of cutaneous T-cell lymphomas », *Blood*, 55, 3 : 409-417.
- GAZDAR A.F., D.N. CARNEY, E.K. RUSSELL, G.P. SCHECHTER et P.A. BUNN, 1979 « In vitro growth of cutaneous T-cell lymphomas », *Cancer Treatment Reports*, 63, 4 : 587-590.

- GEBHARDT T., L.M. WAKIM, L. EIDSMO, P.C. READING, W.R. HEATH et F.R. CARBONE, 2009a « Memory T cells in nonlymphoid tissue that provide enhanced local immunity during infection with herpes simplex virus », *Nature Immunology*, 10, 5 : 524-530.
- GEBHARDT T., L.M. WAKIM, L. EIDSMO, P.C. READING, W.R. HEATH et F.R. CARBONE, 2009b « Memory T cells in nonlymphoid tissue that provide enhanced local immunity during infection with herpes simplex virus », *Nat Immunol*, 10, 5 : 524-30.
- GEGINAT J., F. SALLUSTO et A. LANZAVECCHIA, 2001 « Cytokine-driven Proliferation and Differentiation of Human Naive, Central Memory, and Effector Memory CD4+ T Cells », *Journal of Experimental Medicine*, 194, 12 : 1711-1720.
- GERLACH C., J.C. ROHR, L. PERIÉ, N. VAN ROOIJ, J.W.J. VAN HEIJST, A. VELDS, J. URBANUS, S.H. NAIK, H. JACOBS, J.B. BELTMAN, R.J. DE BOER et T.N.M. SCHUMACHER, 2013 « Heterogeneous differentiation patterns of individual CD8+ T cells », *Science (New York, N.Y.)*, 340, 6132 : 635-639.
- GESKIN L.J., O.E. AKILOV, Y. LIN et A.E. LOKSHIN, 2014 « Distinct age-matched serum biomarker profiles in patients with cutaneous T-cell lymphoma », *Experimental Dermatology*, 23, 8 : 598-600.
- GESKIN L.J., S. VIRAGOVA, D.B. STOLZ et P. FUSCHIOTTI, 2015 « Interleukin-13 is overexpressed in cutaneous T-cell lymphoma cells and regulates their proliferation », *Blood*, 125, 18 : 2798-2805.
- GHAZAWI F.M., N. ALGHAZAWI, M. LE, E. NETCHIPOROUK, S.J. GLASSMAN, D. SASSEVILLE et I.V. LITVINOV, 2019 « Environmental and Other Extrinsic Risk Factors Contributing to the Pathogenesis of Cutaneous T Cell Lymphoma (CTCL) », Frontiers in Oncology, 9 : 300.
- GHAZAWI F.M., E. NETCHIPOROUK, E. RAHME, M. TSANG, L. MOREAU, S. GLASSMAN, N. PROVOST, M. GILBERT, S.-E. JEAN, O. ROSHDY, K. PEHR, D. SASSEVILLE et I.V. LITVINOV, 2018 « Distribution and Clustering of Cutaneous T-Cell Lymphoma (CTCL) Cases in Canada During 1992 to 2010 », *Journal of Cutaneous Medicine and Surgery*, 22, 2 : 154-165.
- GHAZI B., N. THONNART, M. BAGOT, A. BENSUSSAN et A. MARIE-CARDINE, 2015 « KIR3DL2/CpG ODN interaction mediates Sézary syndrome malignant T cell apoptosis », *The Journal of Investigative Dermatology*, 135, 1 : 229-237.
- GIBSON J.F., J. HUANG, K.J. LIU, K.R. CARLSON, F. FOSS, J. CHOI, R. EDELSON, J.W. HUSSONG, R. MOHL, S. HILL et M. GIRARDI, 2016 « Cutaneous T-cell lymphoma (CTCL): Current practices in blood assessment and the utility of Tcell receptor (TCR)-Vβ chain restriction », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 74, 5 : 870-877.
- GIRARDI M., C.L. BERGER, L.D. WILSON, I.R. CHRISTENSEN, K.R. THOMPSON, E.J. GLUSAC et R.L. EDELSON, 2006 « Transimmunization for cutaneous T cell lymphoma: A phase I study », *Leukemia & Lymphoma*, 47, 8 : 1495-1503.
- GJERDRUM L.M., A. WOETMANN, N. ODUM, C.M. BURTON, K. ROSSEN, G.L. SKOVGAARD, L.P. RYDER et E. RALFKIAER, 2007 « FOXP3+ regulatory T cells in cutaneous T-cell lymphomas: association with disease stage and survival », *Leukemia*, 21, 12 : 2512-2518.
- GLOBERSON A. et R.B. EFFROS, 2000 « Ageing of lymphocytes and lymphocytes in the aged », *Immunology Today*, 21, 10 : 515-521.
- GOLAY J. et M. INTRONA, 2012 « Mechanism of action of therapeutic monoclonal antibodies: Promises and pitfalls of in vitro and in vivo assays », Archives of Biochemistry and Biophysics, 526, 2 : 146-153.
- GOLSTEIN M.M., C. FARNARIER-SEIDEL, P. DAUBNEY et S. KAPLANSKI, 1986 « An OKT4+ T-cell population in Sézary syndrome: attempts to elucidate its lack of proliferative capacity and its suppressive effect », *Scandinavian Journal of Immunology*, 23, 1:53-64.

- GONZALEZ B.R., J. ZAIN, S.T. ROSEN et C. QUERFELD, 2016 « Tumor microenvironment in mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Current Opinion in Oncology*, 28, 1 : 88-96.
- GONZALEZ S.M., N.A. TABORDA et M.T. RUGELES, 2017 « Role of Different Subpopulations of CD8+ T Cells during HIV Exposure and Infection », *Frontiers in Immunology*, 8 : 936.
- GOODRIDGE J.P., A. BURIAN, N. LEE et D.E. GERAGHTY, 2013 « HLA-F and MHC class I open conformers are ligands for NK cell Ig-like receptors », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 191, 7 : 3553-3562.
- GOOS M., E. KAISERLING et K. LENNERT, 1976 « Mycosis fungoides: model for T-lymphocyte homing to the skin? », *The British Journal of Dermatology*, 94, 2 : 221-222.
- GOROCHOV G., H. BACHELEZ, J.M. CAYUELA, E. LEGAC, L. LAROCHE, L. DUBERTRET et F. SIGAUX, 1995 « Expression of V beta gene segments by Sezary cells », *The Journal of Investigative Dermatology*, 105, 1 : 56-61.
- GORONZY J.J. et C.M. WEYAND, 2017 « Successful and Maladaptive T Cell Aging », Immunity, 46, 3 : 364-378.
- GOSWAMI M., M. DUVIC, A. DOUGHERTY et X. NI, 2012 « Increased Twist expression in advanced stage of mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Journal of Cutaneous Pathology*, 39, 5 : 500-507.
- GOTERI G., S. RUPOLI, A. CAMPANATI, A. ZIZZI, P. PICARDI, M. CARDELLI, F. GIANTOMASSI, L. CANAFOGLIA, F. MARCHEGIANI, G. MOZZICAFREDDO, G. BRANDOZZI, D. STRAMAZZOTTI, G. GANZETTI, R. LISA, O. SIMONETTI, A. OFFIDANI, I. FEDERICI, G. FILOSA et P. LEONI, 2012 « Serum and tissue CTACK/CCL27 chemokine levels in early mycosis fungoides may be correlated with disease-free survival following treatment with interferon alfa and psoralen plus ultraviolet A therapy », *The British Journal of Dermatology*, 166, 5 : 948-952.
- GRANT C., F. RAHMAN, R. PIEKARZ, C. PEER, R. FRYE, R.W. ROBEY, E.R. GARDNER, W.D. FIGG et S.E. BATES, 2010 « Romidepsin: a new therapy for cutaneous T-cell lymphoma and a potential therapy for solid tumors », *Expert review of anticancer therapy*, 10, 7: 997-1008.
- GUENOVA E., R. WATANABE, J.E. TEAGUE, J.A. DESIMONE, Y. JIANG, M. DOWLATSHAHI, C. SCHLAPBACH, K. SCHAEKEL, A.H.
 ROOK, M. TAWA, D.C. FISHER, T.S. KUPPER et R.A. CLARK, 2013 « TH2 cytokines from malignant cells suppress
 TH1 responses and enforce a global TH2 bias in leukemic cutaneous T-cell lymphoma », *Clinical Cancer* Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 19, 14 : 3755-3763.
- GÜNTHER C., N. ZIMMERMANN, N. BERNDT, M. GROSSER, A. STEIN, A. KOCH et M. MEURER, 2011 « Up-regulation of the chemokine CCL18 by macrophages is a potential immunomodulatory pathway in cutaneous T-cell lymphoma », *The American Journal of Pathology*, 179, 3 : 1434-1442.
- GYRD-HANSEN M. et P. MEIER, 2010 « IAPs: from caspase inhibitors to modulators of NF-kappaB, inflammation and cancer », *Nature Reviews. Cancer*, 10, 8 : 561-574.
- HAHTOLA S., S. TUOMELA, L. ELO, T. HÄKKINEN, L. KARENKO, B. NEDOSZYTKO, H. HEIKKILÄ, U. SAARIALHO-KERE, J. ROSZKIEWICZ, T. AITTOKALLIO, R. LAHESMAA et A. RANKI, 2006 « Th1 response and cytotoxicity genes are down-regulated in cutaneous T-cell lymphoma », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 12, 16 : 4812-4821.
- HALIOUA B. et J. REVUZ, 2011 « Albert Jean Antoine Sézary et le syndrome de Sézary ». *in* B. Cribier, B. Halioua, J. Revuz, et G. Tilles (dir.): *Quelques cas historiques en dermatologie*. 171-175. Paris, Springer.
- HALLE S., O. HALLE et R. FÖRSTER, 2017 « Mechanisms and Dynamics of T Cell-Mediated Cytotoxicity In Vivo », *Trends in Immunology*, 38, 6 : 432-443.
- HALVORSEN R., T. LEIVESTAD, G. GAUDERNACK et E. THORSBY, 1988 « Role of Accessory Cells in the Activation of Pure T Cells via the T Cell Receptor-CD3 Complex or with Phytohaemagglutinin », *Scandinavian Journal of Immunology*, 27, 5 : 555-563.

HAMILTON S.E. et S.C. JAMESON, 2012 « CD8 T cell memory: it takes all kinds », Front Immunol, 3 : 353.

HANAHAN D. et L.M. COUSSENS, 2012 « Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment », *Cancer Cell*, 21, 3 : 309-322.

HANAHAN D. et R.A. WEINBERG, 2011 « Hallmarks of cancer: the next generation », *Cell*, 144, 5 : 646-674.

- HANLON D.J., C.L. BERGER et R.L. EDELSON, 1998 « Photoactivated 8-methoxypsoralen treatment causes a peptidedependent increase in antigen display by transformed lymphocytes », *International Journal of Cancer*, 78, 1 : 70-75.
- HANSASUTA P., T. DONG, H. THANANCHAI, M. WEEKES, C. WILLBERG, H. ALDEMIR, S. ROWLAND-JONES et V.M. BRAUD, 2004 « Recognition of HLA-A3 and HLA-A11 by KIR3DL2 is peptide-specific », *European Journal of Immunology*, 34, 6 : 1673-1679.
- HANSEN E.R., G.L. VEJLSGAARD, K.D. COOPER, M. HEIDENHEIM, J.K. LARSEN, V.C. HO, C.W. ROSS, D.A. FOX, K. THOMSEN et O. BAADSGAARD, 1993 « Leukemic T cells from patients with cutaneous T-cell lymphoma demonstrate enhanced activation through CDw60, CD2, and CD28 relative to activation through the T-cell antigen receptor complex », *The Journal of Investigative Dermatology*, 100, 5 : 667-673.
- HAO N.-B., M.-H. LÜ, Y.-H. FAN, Y.-L. CAO, Z.-R. ZHANG et S.-M. YANG, 2012 « Macrophages in tumor microenvironments and the progression of tumors », *Clinical & Developmental Immunology*, 2012 : 948098.
- HARMON C.B., T.E. WITZIG, J.A. KATZMANN et M.R. PITTELKOW, 1996 « Detection of circulating T cells with CD4+CD7immunophenotype in patients with benign and malignant lymphoproliferative dermatoses », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 35, 3 Pt 1 : 404-410.
- HARTENSTEIN B., S. TEURICH, J. HESS, J. SCHENKEL, M. SCHORPP-KISTNER et P. ANGEL, 2002 « Th2 cell-specific cytokine expression and allergen-induced airway inflammation depend on JunB », *The EMBO journal*, 21, 23 : 6321-6329.
- HAVEL J.J., D. CHOWELL et T.A. CHAN, 2019 « The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy », *Nature reviews. Cancer*, 19, 3 : 133-150.
- HEALD P., S.L. YAN et R. EDELSON, 1994 « Profound deficiency in normal circulating T cells in erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma », *Archives of Dermatology*, 130, 2 : 198-203.
- HEALD P.W., S.L. YAN, R.L. EDELSON, R. TIGELAAR et L.J. PICKER, 1993 « Skin-selective lymphocyte homing mechanisms in the pathogenesis of leukemic cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 101, 2 : 222-226.
- HEID J.B., A. SCHMIDT, N. OBERLE, S. GOERDT, P.H. KRAMMER, E. SURI-PAYER et C.-D. KLEMKE, 2009 « FOXP3+CD25- tumor cells with regulatory function in Sézary syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 129, 12 : 2875-2885.
- HENEL G., K. SINGH, D. CUI, S. PRYSHCHEP, W.-W. LEE, C.M. WEYAND et J.J. GORONZY, 2006 « Uncoupling of T-cell effector functions by inhibitory killer immunoglobulin-like receptors », *Blood*, 107, 11 : 4449-4457.
- HENRIQUES C.M., J. RINO, R.J. NIBBS, G.J. GRAHAM et J.T. BARATA, 2010 « IL-7 induces rapid clathrin-mediated internalization and JAK3-dependent degradation of IL-7Ralpha in T cells », *Blood*, 115, 16 : 3269-3277.
- HILDEMAN D.A., T. MITCHELL, J. KAPPLER et P. MARRACK, 2003 « T cell apoptosis and reactive oxygen species », *The Journal of Clinical Investigation*, 111, 5 : 575-581.

- HOLAHAN H.M., R.S. FARAH, S. FITZ, S.L. MOTT, N.N. FERGUSON, J. MCKILLIP, B. LINK et V. LIU, 2018 « Health-related quality of life in patients with cutaneous T-cell lymphoma? », *International Journal of Dermatology*, 57, 11 : 1314-1319.
- HONDA T., M. HISHIZAWA, T.R. KATAOKA, K. OHMORI, A. TAKAORI-KONDO, Y. MIYACHI et K. KABASHIMA, 2015 « Stevens-Johnson Syndrome Associated with Mogamulizumab-induced Deficiency of Regulatory T cells in an Adult T-cell Leukaemia Patient », *Acta Dermato-Venereologica*, 95, 5 : 606-607.
- HOPPE R.T., 2003 « Mycosis fungoides: radiation therapy », Dermatologic Therapy, 16, 4 : 347-354.
- HOPPE R.T., C. HARRISON, M. TAVALLAEE, S. BASHEY, U. SUNDRAM, S. LI, L. MILLION, B. DABAJA, P. GANGAR, M. DUVIC et Y.H. KIM, 2015 « Low-dose total skin electron beam therapy as an effective modality to reduce disease burden in patients with mycosis fungoides: results of a pooled analysis from 3 phase-II clinical trials », Journal of the American Academy of Dermatology, 72, 2 : 286-292.
- HOPPE R.T., L.J. MEDEIROS, R.A. WARNKE et G.S. WOOD, 1995 « CD8-positive tumor-infiltrating lymphocytes influence the long-term survival of patients with mycosis fungoides », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 32, 3 : 448-453.
- HORIE R. et T. WATANABE, 1998 « CD30: expression and function in health and disease », *Seminars in Immunology*, 10, 6 : 457-470.
- HORNA P., L.C. MOSCINSKI, L. SOKOL et H. SHAO, 2019 « Naïve/memory T-cell phenotypes in leukemic cutaneous Tcell lymphoma: Putative cell of origin overlaps disease classification », *Cytometry. Part B, Clinical Cytometry*, 96, 3 : 234-241.
- HORWITZ S.M., R. KOCH, P. PORCU, Y. OKI, A. MOSKOWITZ, M. PEREZ, P. MYSKOWSKI, A. OFFICER, J.D. JAFFE, S.N. MORROW,
 K. ALLEN, M. DOUGLAS, H. STERN, J. SWEENEY, P. KELLY, V. KELLY, J.C. ASTER, D. WEAVER, F.M. FOSS et D.M.
 WEINSTOCK, 2018 « Activity of the PI3K-δ,γ inhibitor duvelisib in a phase 1 trial and preclinical models of T-cell lymphoma », *Blood*, 131, 8 : 888-898.
- HSI A.C., S.J. LEE, I.S. ROSMAN, K.R. CARSON, A. KELLEY, V. VIELE, X. PANG, A. MUSIEK et A. SCHAFFER, 2015 « Expression of helper T cell master regulators in inflammatory dermatoses and primary cutaneous T-cell lymphomas: diagnostic implications », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 72, 1 : 159-167.
- HU B., E. ELINAV, S. HUBER, T. STROWIG, L. HAO, A. HAFEMANN, C. JIN, C. WUNDERLICH, T. WUNDERLICH, S.C. EISENBARTH et R.A. FLAVELL, 2013 « Microbiota-induced activation of epithelial IL-6 signaling links inflammasome-driven inflammation with transmissible cancer », *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110, 24 : 9862-9867.
- HU S.C.-S., C.-L. LIN, C.-H. HONG, H.-S. YU, G.-S. CHEN et C.-H. LEE, 2014 « CCR7 expression correlates with subcutaneous involvement in mycosis fungoides skin lesions and promotes migration of mycosis fungoides cells (MyLa) through mTOR activation », *Journal of Dermatological Science*, 74, 1 : 31-38.
- HUANG K.P., M.A. WEINSTOCK, C.A. CLARKE, A. MCMILLAN, R.T. HOPPE et Y.H. KIM, 2007 « Second lymphomas and other malignant neoplasms in patients with mycosis fungoides and Sezary syndrome: evidence from population-based and clinical cohorts », *Archives of Dermatology*, 143, 1 : 45-50.
- HUANG Y., M.-W. SU, X. JIANG et Y. ZHOU, 2015 « Evidence of an oncogenic role of aberrant TOX activation in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 125, 9 : 1435-1443.
- HUET D., M. BAGOT, D. LOYAUX, J. CAPDEVIELLE, L. CONRAUX, P. FERRARA, A. BENSUSSAN et A. MARIE-CARDINE, 2006 « SC5 mAb represents a unique tool for the detection of extracellular vimentin as a specific marker of Sezary cells », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 176, 1 : 652-659.
- HUGHES C.F.M., A. KHOT, C. MCCORMACK, S. LADE, D.A. WESTERMAN, R. TWIGGER, O. BUELENS, K. NEWLAND, C. TAM, M. DICKINSON, G. RYAN, D. RITCHIE, C. WOOD et H.M. PRINCE, 2015 « Lack of durable disease control with

chemotherapy for mycosis fungoides and Sézary syndrome: a comparative study of systemic therapy », *Blood*, 125, 1: 71-81.

- HURABIELLE C., C. LEBOEUF, C. RAM-WOLFF, V. MEIGNIN, J. RIVET, M.-D. VIGNON-PENNAMEN, C. BONNAFOUS, H. SICARD, C.
 FITE, E. RAFFOUX, B. ARNULF, E. OKSENHENDLER, F. SICRE DE FONTBRUNE, R. PEFFAULT DE LATOUR, G. SOCIÉ, J.-D.
 BOUAZIZ, C. LEBBÉ, A. BENSUSSAN, A. JANIN, M. BAGOT et M. BATTISTELLA, 2018 « KIR3DL2 expression in patients with adult T-cell lymphoma/leukaemia », *The British Journal of Dermatology*, 179, 1 : 197-199.
- HURABIELLE C., N. THONNART, C. RAM-WOLFF, H. SICARD, A. BENSUSSAN, M. BAGOT et A. MARIE-CARDINE, 2017 « Usefulness of KIR3DL2 to Diagnose, Follow-Up and Manage the Treatment of Sézary Syndrome Patients », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*.
- IELLEM A., M. MARIANI, R. LANG, H. RECALDE, P. PANINA-BORDIGNON, F. SINIGAGLIA et D. D'AMBROSIO, 2001 « Unique chemotactic response profile and specific expression of chemokine receptors CCR4 and CCR8 by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells », *The Journal of Experimental Medicine*, 194, 6 : 847-853.
- IIDA S., H. MISAKA, M. INOUE, M. SHIBATA, R. NAKANO, N. YAMANE-OHNUKI, M. WAKITANI, K. YANO, K. SHITARA et M. SATOH, 2006 « Nonfucosylated therapeutic IgG1 antibody can evade the inhibitory effect of serum immunoglobulin G on antibody-dependent cellular cytotoxicity through its high binding to FcgammaRIIIa », Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 12, 9 : 2879-2887.
- LJICHI S., Y. YAMANO, M. OSAME et W.W. HALL, 1996 « A Kinetic Comparative Study on Lymphocyte Responses to Superantigen and Phytohemagglutinin: Reciprocal Presentation of Superantigen on the Surface of Activated Lymphocytes », *Cellular Immunology*, 173, 2 : 312-316.
- IKEDA S., A. KITADATE, M. ITO, F. ABE, M. NARA, A. WATANABE, N. TAKAHASHI, T. MIYAGAKI, M. SUGAYA et H. TAGAWA, 2016 « Disruption of CCL20-CCR6 interaction inhibits metastasis of advanced cutaneous T-cell lymphoma », Oncotarget, 7, 12 : 13563-13574.
- IMAI T., M. NAGIRA, S. TAKAGI, M. KAKIZAKI, M. NISHIMURA, J. WANG, P.W. GRAY, K. MATSUSHIMA et O. YOSHIE, 1999 « Selective recruitment of CCR4-bearing Th2 cells toward antigen-presenting cells by the CC chemokines thymus and activation-regulated chemokine and macrophage-derived chemokine », International Immunology, 11, 1: 81-88.
- INCE M.N., B. HARNISCH, Z. XU, S.-K. LEE, C. LANGE, L. MORETTA, M. LEDERMAN et J. LIEBERMAN, 2004 « Increased expression of the natural killer cell inhibitory receptor CD85j/ILT2 on antigen-specific effector CD8 T cells and its impact on CD8 T-cell function », *Immunology*, 112, 4 : 531-542.
- INGEN-HOUSZ-ORO S., H. BACHELEZ, O. VEROLA, C. LEBBÉ, J.P. MAROLLEAU, C. HENNEQUIN, L. DUBERTRET, P. MOREL, C. GISSELBRECHT et P. BRICE, 2004 « High-dose therapy and autologous stem cell transplantation in relapsing cutaneous lymphoma », *Bone Marrow Transplantation*, 33, 6 : 629-634.
- INGEN-HOUSZ-ORO S., A. BUSSEL, B. FLAGEUL, L. MICHEL, L. DUBERTRET, P. KOURILSKY, G. GACHELIN, H. BACHELEZ et P. MUSETTE, 2002 « A prospective study on the evolution of the T-cell repertoire in patients with Sézary syndrome treated by extracorporeal photopheresis », *Blood*, 100, 6 : 2168-2174.
- IONESCU M.A., J. RIVET, M. DANESHPOUY, J. BRIERE, P. MOREL et A. JANIN, 2005 « In situ eosinophil activation in 26 primary cutaneous T-cell lymphomas with blood eosinophilia », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 52, 1 : 32-39.
- ISHIDA T., A. ITO, F. SATO, S. KUSUMOTO, S. IIDA, H. INAGAKI, A. MORITA, S. AKINAGA et R. UEDA, 2013 « Stevens-Johnson Syndrome associated with mogamulizumab treatment of adult T-cell leukemia / lymphoma », *Cancer Science*, 104, 5 : 647-650.
- Ishida T., T. Joh, N. Uike, K. Yamamoto, A. Utsunomiya, S. Yoshida, Y. Saburi, T. Miyamoto, S. Takemoto, H. Suzushima, K. Tsukasaki, K. Nosaka, H. Fujiwara, K. Ishitsuka, H. Inagaki, M. Ogura, S. Akinaga, M. Tomonaga, K. Tobinai

et R. UEDA, 2012 « Defucosylated anti-CCR4 monoclonal antibody (KW-0761) for relapsed adult T-cell leukemia-lymphoma: a multicenter phase II study », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 30, 8 : 837-842.

- ISHII T., T. ISHIDA, A. UTSUNOMIYA, A. INAGAKI, H. YANO, H. KOMATSU, S. IIDA, K. IMADA, T. UCHIYAMA, S. AKINAGA, K. SHITARA et R. UEDA, 2010 « Defucosylated humanized anti-CCR4 monoclonal antibody KW-0761 as a novel immunotherapeutic agent for adult T-cell leukemia/lymphoma », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 16, 5 : 1520-1531.
- ISLAM S.A., M.F. LING, J. LEUNG, W.G. SHREFFLER et A.D. LUSTER, 2013 « Identification of human CCR8 as a CCL18 receptor », *Journal of Experimental Medicine*, 210, 10 : 1889-1898.
- ITO A., Y. SUZUKI, A. MASAKI, S. YOSHIDA, H. SUZUSHIMA, S. TAKEMOTO, A. UTSUNOMIYA, T. ISHII, M. HIURA, T. TAKAHASHI, S. YURIMOTO, H. INAGAKI, A. MORITA, S. IIDA et T. ISHIDA, 2019 « Quantitatively immunological characterization of mogamulizumab skin disorders in ATL patients », *Journal of Cutaneous Immunology and Allergy*, 2, 4 : 102-107.
- ITO M., K. TESHIMA, S. IKEDA, A. KITADATE, A. WATANABE, M. NARA, J. YAMASHITA, K. OHSHIMA, K. SAWADA et H. TAGAWA, 2014 « MicroRNA-150 inhibits tumor invasion and metastasis by targeting the chemokine receptor CCR6, in advanced cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 123, 10 : 1499-1511.
- IWASHIMA M., 2003 « Kinetic perspectives of T cell antigen receptor signaling », *Immunological Reviews*, 191, 1 : 196-210.
- IŻYKOWSKA K., G.K. PRZYBYLSKI, C. GAND, F.C. BRAUN, P. GRABARCZYK, A.W. KUSS, K. OLEK-HRAB, A.N. BASTIDAS TORRES, M.H. VERMEER, W.H. ZOUTMAN, C.P. TENSEN et C.A. SCHMIDT, 2017 « Genetic rearrangements result in altered gene expression and novel fusion transcripts in Sézary syndrome », *Oncotarget*, 8, 24 : 39627-39639.
- JACKOW C.M., J.C. CATHER, V. HEARNE, A.T. ASANO, J.M. MUSSER et M. DUVIC, 1997 « Association of erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma, superantigen-positive Staphylococcus aureus, and oligoclonal T-cell receptor V beta gene expansion », *Blood*, 89, 1 : 32-40.
- JAHAN-TIGH R.R., A.O. HUEN, G.L. LEE, J.V. POZADZIDES, P. LIU et M. DUVIC, 2013 « Hydrochlorothiazide and cutaneous T cell lymphoma: prospective analysis and case series », *Cancer*, 119, 4 : 825-831.
- JAKOB T., K. NEUBER, J. ALTENHOFF, L. KOWALZICK et J. RING, 1996 « Stage-dependent expression of CD7, CD45RO, CD45RA and CD25 on CD4-positive peripheral blood T-lymphocytes in cutaneous T-cell lymphoma », Acta Dermato-Venereologica, 76, 1 : 34-36.
- JAMESON S.C. et D. MASOPUST, 2018 « Understanding Subset Diversity in T Cell Memory », *Immunity*, 48, 2 : 214-226.
- JANSEN Y.J.L., E.A. ROZEMAN, R. MASON, S.M. GOLDINGER, M.H.G. FOPPEN, L. HOEJBERG, H. SCHMIDT, J.V. VAN THIENEN, J.B. a. G. HAANEN, L. TIAINEN, I.M. SVANE, S. MÄKELÄ, T. SEREMET, A. ARANCE, R. DUMMER, L. BASTHOLT, M. NYAKAS, O. STRAUME, A.M. MENZIES, G.V. LONG, V. ATKINSON, C.U. BLANK et B. NEYNS, 2019 « Discontinuation of anti-PD-1 antibody therapy in the absence of disease progression or treatment limiting toxicity: clinical outcomes in advanced melanoma », Annals of Oncology, 30, 7 : 1154-1161.
- JARIWALA N., B. BENOIT, A.V. KOSSENKOV, L.K. OETJEN, T.M. WHELAN, C.M. CORNEJO, J. TAKESHITA, B.S. KIM, L.C. SHOWE, M. WYSOCKA et A.H. ROOK, 2017 « TIGIT and Helios Are Highly Expressed on CD4(+) T Cells in Sézary Syndrome Patients », The Journal of Investigative Dermatology, 137, 1 : 257-260.
- JARROUSSE V., G. QUEREUX, S. MARQUES-BRIAND, A.-C. KNOL, A. KHAMMARI et B. DRENO, 2006 « Toll-like receptors 2, 4 and 9 expression in cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sézary syndrome) », *European journal of dermatology: EJD*, 16, 6 : 636-641.

- JAWED S.I., P.L. MYSKOWSKI, S. HORWITZ, A. MOSKOWITZ et C. QUERFELD, 2014 « Primary cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides and Sezary syndrome): part I. Diagnosis: clinical and histopathologic features and new molecular and biologic markers », *J Am Acad Dermatol*, 70, 2 : 205 e1-16; quiz 221-2.
- JAYASINGAM S.D., M. CITARTAN, T.H. THANG, A.A. MAT ZIN, K.C. ANG et E.S. CH'NG, 2020 « Evaluating the Polarization of Tumor-Associated Macrophages Into M1 and M2 Phenotypes in Human Cancer Tissue: Technicalities and Challenges in Routine Clinical Practice », *Frontiers in Oncology*, 9.
- JAZIREHI A.R., M.I. VEGA et B. BONAVIDA, 2007 « Development of rituximab-resistant lymphoma clones with altered cell signaling and cross-resistance to chemotherapy », *Cancer Research*, 67, 3 : 1270-1281.
- JENSEN J.R., K. THESTRUP-PEDERSEN, S. AHRONS et H. ZACHARIAE, 1982 « The immunological profile of mycosis fungoides. », *Clinical and Experimental Immunology*, 50, 2 : 397-405.
- JIMBOW K., M. CHIBA et T. HORIKOSHI, 1982 « Electron microscopic identification of Langerhans cells in the dermal infiltrates of mycosis fungoides », *The Journal of Investigative Dermatology*, 78, 2 : 102-107.
- JOHNSON L.D.S., S. BANERJEE, O. KRUGLOV, N.N. VILLER, S.M. HORWITZ, A. LESOKHIN, J. ZAIN, C. QUERFELD, R. CHEN, C. OKADA, A. SAWAS, O.A. O'CONNOR, E.L. SIEVERS, Y. SHOU, R.A. UGER, M. WONG et O.E. AKILOV, 2019 « Targeting CD47 in Sézary syndrome with SIRPαFc », *Blood Advances*, 3, 7 : 1145-1153.
- JOHNSON V.E., E.C. VONDERHEID, A.D. HESS, C.M. EISCHEN et L.Y. MCGIRT, 2014 « Genetic markers associated with progression in early mycosis fungoides », *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV*, 28, 11 : 1431-1435.
- JONES C.L., E. MARY WAIN, C.-C. CHU, I. TOSI, R. FOSTER, R.C.T. MCKENZIE, S.J. WHITTAKER et T.J. MITCHELL, 2010 « Downregulation of Fas Gene Expression in Sézary Syndrome Is Associated with Promoter Hypermethylation », Journal of Investigative Dermatology, 130, 4 : 1116-1125.
- JONES D., N.H. DANG, M. DUVIC, L.T. WASHINGTON et Y.O. HUH, 2001 « Absence of CD26 expression is a useful marker for diagnosis of T-cell lymphoma in peripheral blood », *American Journal of Clinical Pathology*, 115, 6 : 885-892.
- JONES G.W., B.M. KACINSKI, L.D. WILSON, R. WILLEMZE, M. SPITTLE, G. HOHENBERG, L. HANDL-ZELLER, F. TRAUTINGER et R. KNOBLER, 2002 « Total skin electron radiation in the management of mycosis fungoides: Consensus of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Cutaneous Lymphoma Project Group », Journal of the American Academy of Dermatology, 47, 3 : 364-370.
- KABASHIMA K., T. HONDA, F. GINHOUX et G. EGAWA, 2019 « The immunological anatomy of the skin », *Nature Reviews*. *Immunology*, 19, 1 : 19-30.
- KADIN M.E., M.W. CAVAILLE-COLL, R. GERTZ, J. MASSAGUÉ, S. CHEIFETZ et D. GEORGE, 1994 « Loss of receptors for transforming growth factor beta in human T-cell malignancies », Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 91, 13 : 6002-6006.
- KAECH S.M. et W. CUI, 2012 « Transcriptional control of effector and memory CD8+ T cell differentiation », *Nature Reviews. Immunology*, 12, 11 : 749-761.
- KAECH S.M., J.T. TAN, E.J. WHERRY, B.T. KONIECZNY, C.D. SURH et R. AHMED, 2003 « Selective expression of the interleukin 7 receptor identifies effector CD8 T cells that give rise to long-lived memory cells », Nature Immunology, 4, 12 : 1191-1198.
- KAGAMI S., M. SUGAYA, Y. MINATANI, H. OHMATSU, T. KAKINUMA, H. FUJITA et K. TAMAKI, 2006 « Elevated serum CTACK/CCL27 levels in CTCL », *The Journal of Investigative Dermatology*, 126, 5 : 1189-1191.

- KAKINUMA T., M. SUGAYA, K. NAKAMURA, F. KANEKO, M. WAKUGAWA, K. MATSUSHIMA et K. TAMAKI, 2003 « Thymus and activation-regulated chemokine (TARC/CCL17) in mycosis fungoides: serum TARC levels reflect the disease activity of mycosis fungoides », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 48, 1 : 23-30.
- KALLINICH T., J.M. MUCHE, S. QIN, W. STERRY, H. AUDRING et R.A. KROCZEK, 2003 « Chemokine receptor expression on neoplastic and reactive T cells in the skin at different stages of mycosis fungoides », *The Journal of Investigative Dermatology*, 121, 5 : 1045-1052.
- KAMARASHEV J., G. BURG, W. KEMPF, M. HESS SCHMID et R. DUMMER, 1998 « Comparative analysis of histological and immunohistological features in mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Journal of Cutaneous Pathology*, 25, 8 : 407-412.
- KANTEKURE K., Y. YANG, P. RAGHUNATH, A. SCHAFFER, A. WOETMANN, Q. ZHANG, N. ODUM et M. WASIK, 2012 « Expression patterns of the immunosuppressive proteins PD-1/CD279 and PD-L1/CD274 at different stages of cutaneous T-cell lymphoma/mycosis fungoides », *The American Journal of Dermatopathology*, 34, 1 : 126-128.
- KANTOR A.F., R.E. CURTIS, E.C. VONDERHEID, E.J. VAN SCOTT et J.F. FRAUMENI, 1989 « Risk of second malignancy after cutaneous T-cell lymphoma », *Cancer*, 63, 8 : 1612-1615.
- KARI L., A. LOBODA, M. NEBOZHYN, A.H. ROOK, E.C. VONDERHEID, C. NICHOLS, D. VIROK, C. CHANG, W.-H. HORNG, J. JOHNSTON, M. WYSOCKA, M.K. SHOWE et L.C. SHOWE, 2003 « Classification and prediction of survival in patients with the leukemic phase of cutaneous T cell lymphoma », *The Journal of Experimental Medicine*, 197, 11 : 1477-1488.
- KARPOVA M.B., K. FUJII, D. JENNI, R. DUMMER et M. UROSEVIC-MAIWALD, 2011 « Evaluation of lymphangiogenic markers in Sézary syndrome », *Leukemia & Lymphoma*, 52, 3 : 491-501.
- KASPRZYCKA M., Q. ZHANG, A. WITKIEWICZ, M. MARZEC, M. POTOCZEK, X. LIU, H.Y. WANG, M. MILONE, S. BASU, J. MAUGER, J.K. CHOI, J.T. ABRAMS, J.S. HOU, A.H. ROOK, E. VONDERHEID, A. WOETMANN, N. ODUM et M.A. WASIK, 2008
 « Gamma c-signaling cytokines induce a regulatory T cell phenotype in malignant CD4+ T lymphocytes », Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 181, 4 : 2506-2512.
- KAWAGUCHI M., M. SUGAYA, H. SUGA, T. MIYAGAKI, H. OHMATSU, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2014 « Serum levels of angiopoietin-2, but not angiopoietin-1, are elevated in patients with erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma », Acta Dermato-Venereologica, 94, 1 : 9-13.
- KENNEDY R. et E. CELIS, 2008 « Multiple roles for CD4+ T cells in anti-tumor immune responses », *Immunological Reviews*, 222 : 129-144.
- VAN KESTER M.S., J.J. OUT-LUITING, P.A. VON DEM BORNE, R. WILLEMZE, C.P. TENSEN et M.H. VERMEER, 2008 « Cucurbitacin I inhibits Stat3 and induces apoptosis in Sézary cells », *The Journal of Investigative Dermatology*, 128, 7 : 1691-1695.
- KHODADOUST M.S., A.H. ROOK, P. PORCU, F. FOSS, A.J. MOSKOWITZ, A. SHUSTOV, S. SHANBHAG, L. SOKOL, S.P. FLING, N. RAMCHURREN, R. PIERCE, A. DAVIS, R. SHINE, S. LI, S. FONG, J. KIM, Y. YANG, W.M. BLUMENSCHEIN, J.H. YEARLEY, B. DAS, R. PATIDAR, V. DATTA, E. CANTU, J.N. MCCUTCHEON, C. KARLOVICH, P.M. WILLIAMS, P.B. SUBRAHMANYAM, H.T. MAECKER, S.M. HORWITZ, E. SHARON, H.E. KOHRT, M.A. CHEEVER et Y.H. KIM, 2019 « Pembrolizumab in Relapsed and Refractory Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: A Multicenter Phase II Study », *Journal of Clinical Oncology*, 38, 1 : 20-28.
- KHONG H.T. et N.P. RESTIFO, 2002 « Natural selection of tumor variants in the generation of "tumor escape" phenotypes », *Nature Immunology*, 3, 11 : 999-1005.
- KIEL M.J., A.A. SAHASRABUDDHE, D.C.M. ROLLAND, T. VELUSAMY, F. CHUNG, M. SCHALLER, N.G. BAILEY, B.L. BETZ, R.N. MIRANDA, P. PORCU, J.C. BYRD, L. JEFFREY MEDEIROS, S.L. KUNKEL, D.W. BAHLER, M.S. LIM et K.S.J. ELENITOBA-

JOHNSON, 2015 « Genomic analyses reveal recurrent mutations in epigenetic modifiers and the JAK-STAT pathway in Sézary syndrome », *Nature Communications*, 6 : 8470.

- KIM Y.H., M. BAGOT, L. PINTER-BROWN, A.H. ROOK, P. PORCU, S.M. HORWITZ, S. WHITTAKER, Y. TOKURA, M. VERMEER, P.L. ZINZANI, L. SOKOL, S. MORRIS, E.J. KIM, P.L. ORTIZ-ROMERO, H. ERADAT, J. SCARISBRICK, A. TSIANAKAS, C. ELMETS, S. DALLE, D.C. FISHER ET AL., M. DUVIC et MAVORIC INVESTIGATORS, 2018 « Mogamulizumab versus vorinostat in previously treated cutaneous T-cell lymphoma (MAVORIC): an international, open-label, randomised, controlled phase 3 trial », *The Lancet. Oncology*, 19, 9 : 1192-1204.
- KIM Y.H., M. TAVALLAEE, U. SUNDRAM, K.A. SALVA, G.S. WOOD, S. LI, S. ROZATI, S. NAGPAL, M. KRATHEN, S. REDDY, R.T. HOPPE, A. NGUYEN-LIN, W.-K. WENG, R. ARMSTRONG, M. PULITZER, R.H. ADVANI et S.M. HORWITZ, 2015 « Phase II Investigator-Initiated Study of Brentuximab Vedotin in Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome With Variable CD30 Expression Level: A Multi-Institution Collaborative Project », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 33, 32 : 3750-3758.
- KIRSCH I.R., R. WATANABE, J.T. O'MALLEY, D.W. WILLIAMSON, L.-L. SCOTT, C.P. ELCO, J.E. TEAGUE, A. GEHAD, E.L. LOWRY, N.R. LEBOEUF, J.G. KRUEGER, H.S. ROBINS, T.S. KUPPER et R.A. CLARK, 2015 « TCR sequencing facilitates diagnosis and identifies mature T cells as the cell of origin in CTCL », *Science Translational Medicine*, 7, 308 : 308ra158.
- KLEFFEL S., C. POSCH, S.R. BARTHEL, H. MUELLER, C. SCHLAPBACH, E. GUENOVA, C.P. ELCO, N. LEE, V.R. JUNEJA, Q. ZHAN, C.G. LIAN, R. THOMI, W. HOETZENECKER, A. COZZIO, R. DUMMER, M.C. MIHM, K.T. FLAHERTY, M.H. FRANK, G.F. MURPHY, A.H. SHARPE, T.S. KUPPER et T. SCHATTON, 2015 « Melanoma Cell-Intrinsic PD-1 Receptor Functions Promote Tumor Growth », *Cell*, 162, 6 : 1242-1256.
- KLEINHANS M., A. TUN-KYI, M. GILLIET, M.E. KADIN, R. DUMMER, G. BURG et F.O. NESTLE, 2003 « Functional expression of the eotaxin receptor CCR3 in CD30+ cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 101, 4 : 1487-1493.
- KLEMKE C.D., N. BOOKEN, C. WEISS, J.P. NICOLAY, S. GOERDT, M. FELCHT, C. GÉRAUD, W. KEMPF, C. ASSAF, N. ORTONNE, M. BATTISTELLA, M. BAGOT, R. KNOBLER, P. QUAGLINO, B. ARHEILIGER, M. SANTUCCI, P. JANSEN, M.H. VERMEER et R. WILLEMZE, 2015 « Histopathological and immunophenotypical criteria for the diagnosis of Sézary syndrome in differentiation from other erythrodermic skin diseases: a European Organisation for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Cutaneous Lymphoma Task Force Study of 97 cases », The British Journal of Dermatology, 173, 1: 93-105.
- KLEMKE C.D., J. BRADE, S. WECKESSER, M.M. SACHSE, N. BOOKEN, M. NEUMAIER, S. GOERDT et T.C. NEBE, 2008 « The diagnosis of Sezary syndrome on peripheral blood by flow cytometry requires the use of multiple markers », *Br J Dermatol*, 159, 4 : 871-80.
- KLEMKE C.-D., D. BRENNER, E.-M. WEISS, M. SCHMIDT, M. LEVERKUS, K. GÜLOW et P.H. KRAMMER, 2009 « Lack of T-cell receptor-induced signaling is crucial for CD95 ligand up-regulation and protects cutaneous T-cell lymphoma cells from activation-induced cell death », *Cancer Research*, 69, 10 : 4175-4183.
- KLEMKE C.-D., B. FRITZSCHING, B. FRANZ, E.V. KLEINMANN, N. OBERLE, N. POENITZ, J. SYKORA, A.H. BANHAM, G. RONCADOR, A. KUHN, S. GOERDT, P.H. KRAMMER et E. SURI-PAYER, 2006 « Paucity of FOXP3+ cells in skin and peripheral blood distinguishes Sézary syndrome from other cutaneous T-cell lymphomas », *Leukemia*, 20, 6 : 1123-1129.
- KNIBBS R.N., R.A. CRAIG, S. NATSUKA, A. CHANG, M. CAMERON, J.B. LOWE et L.M. STOOLMAN, 1996 « The fucosyltransferase FucT-VII regulates E-selectin ligand synthesis in human T cells », *The Journal of Cell Biology*, 133, 4 : 911-920.
- KOCH R., A.L. CHRISTIE, J.L. CROMBIE, A.C. PALMER, D. PLANA, K. SHIGEMORI, S.N. MORROW, A. VAN SCOYK, W. WU, E.A. BREM, J.P. SECRIST, L. DREW, A.G. SCHULLER, J. CIDADO, A. LETAI et D.M. WEINSTOCK, 2019 « Biomarker-driven strategy for MCL1 inhibition in T-cell lymphomas », *Blood*, 133, 6 : 566-575.

- KÖHLER G. et C. MILSTEIN, 1975 « Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity », *Nature*, 256, 5517 : 495-497.
- KOHNKEN R. et A. MISHRA, 2019 « MicroRNAs in Cutaneous T-Cell Lymphoma: The Future of Therapy », *The Journal* of Investigative Dermatology, 139, 3 : 528-534.
- KOLLNBERGER S., A. CHAN, M.-Y. SUN, L.Y. CHEN, C. WRIGHT, K. DI GLERIA, A. MCMICHAEL et P. BOWNESS, 2007 « Interaction of HLA-B27 homodimers with KIR3DL1 and KIR3DL2, unlike HLA-B27 heterotrimers, is independent of the sequence of bound peptide », *European Journal of Immunology*, 37, 5 : 1313-1322.
- KÖNIG R., 2002 « Interactions between MHC molecules and co-receptors of the TCR », *Current Opinion in Immunology*, 14, 1 : 75-83.
- KOPP K.L., U. RALFKIAER, L.M.R. GJERDRUM, R. HELVAD, I.H. PEDERSEN, T. LITMAN, L. JØNSON, P.H. HAGEDORN, T. KREJSGAARD,
 R. GNIADECKI, C.M. BONEFELD, L. SKOV, C. GEISLER, M.A. WASIK, E. RALFKIAER, N. ØDUM et A. WOETMANN, 2013
 « STAT5-mediated expression of oncogenic miR-155 in cutaneous T-cell lymphoma », *Cell Cycle* (*Georgetown, Tex.*), 12, 12 : 1939-1947.
- KOPP K.L.M., C.S. KAUCZOK, B. LAUENBORG, T. KREJSGAARD, K.W. ERIKSEN, Q. ZHANG, M.A. WASIK, C. GEISLER, E. RALFKIAER, J.C. BECKER, N. ØDUM et A. WOETMANN, 2010 « COX-2-dependent PGE(2) acts as a growth factor in mycosis fungoides (MF) », Leukemia, 24, 6 : 1179-1185.
- KOTLA V., S. GOEL, S. NISCHAL, C. HEUCK, K. VIVEK, B. DAS et A. VERMA, 2009 « Mechanism of action of lenalidomide in hematological malignancies », *Journal of Hematology & Oncology*, 2 : 36.
- KOUREPINI E., N. PASCHALIDIS, D.C.M. SIMOES, M. AGGELAKOPOULOU, J.L. GROGAN et V. PANOUTSAKOPOULOU, 2016 « TIGIT Enhances Antigen-Specific Th2 Recall Responses and Allergic Disease », *The Journal of Immunology*, 196, 9 : 3570-3580.
- KRÄMER A., J. GREEN, J. POLLARD et S. TUGENDREICH, 2014 « Causal analysis approaches in Ingenuity Pathway Analysis », *Bioinformatics (Oxford, England)*, 30, 4 : 523-530.
- KREJSGAARD T., L.M. GJERDRUM, E. RALFKIAER, B. LAUENBORG, K.W. ERIKSEN, A.-M. MATHIESEN, L.F. BOVIN, R. GNIADECKI, C. GEISLER, L.P. RYDER, Q. ZHANG, M.A. WASIK, N. ODUM et A. WOETMANN, 2008 « Malignant Tregs express low molecular splice forms of FOXP3 in Sézary syndrome », *Leukemia*, 22, 12 : 2230-2239.
- KREJSGAARD T., L.M. LINDAHL, N.P. MONGAN, M.A. WASIK, I.V. LITVINOV, L. IVERSEN, E. LANGHOFF, A. WOETMANN et N. ODUM, 2017 « Malignant inflammation in cutaneous T-cell lymphoma—a hostile takeover », Seminars in Immunopathology, 39, 3 : 269-282.
- KREJSGAARD T., I.V. LITVINOV, Y. WANG, L. XIA, A. WILLERSLEV-OLSEN, S.B. KORALOV, K.L. KOPP, C.M. BONEFELD, M.A. WASIK, C. GEISLER, A. WOETMANN, Y. ZHOU, D. SASSEVILLE et N. ODUM, 2013 « Elucidating the role of interleukin-17F in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 122, 6 : 943-950.
- KREJSGAARD T., U. RALFKIAER, E. CLASEN-LINDE, K.W. ERIKSEN, K.L. KOPP, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, S. DABELSTEEN, M.A. WASIK, E. RALFKIAER, A. WOETMANN et N. ODUM, 2011 « Malignant cutaneous T-cell lymphoma cells express IL-17 utilizing the Jak3/Stat3 signaling pathway », *The Journal of Investigative Dermatology*, 131, 6 : 1331-1338.
- KREJSGAARD T., C.S. VETTER-KAUCZOK, A. WOETMANN, H. KNEITZ, K.W. ERIKSEN, P. LOVATO, Q. ZHANG, M.A. WASIK, C. GEISLER, E. RALFKIAER, J.C. BECKER et N. ØDUM, 2009 « Ectopic expression of B-lymphoid kinase in cutaneous T-cell lymphoma », Blood, 113, 23 : 5896-5904.
- KREJSGAARD T., C.S. VETTER-KAUCZOK, A. WOETMANN, P. LOVATO, T. LABUDA, K.W. ERIKSEN, Q. ZHANG, J.C. BECKER et N. ØDUM, 2006 « Jak3- and JNK-dependent vascular endothelial growth factor expression in cutaneous Tcell lymphoma », *Leukemia*, 20, 10 : 1759-1766.

- KREJSGAARD T., A. WILLERSLEV-OLSEN, L.M. LINDAHL, C.M. BONEFELD, S.B. KORALOV, C. GEISLER, M.A. WASIK, R. GNIADECKI, M. KILIAN, L. IVERSEN, A. WOETMANN et N. ODUM, 2014 « Staphylococcal enterotoxins stimulate lymphomaassociated immune dysregulation », *Blood*, 124, 5 : 761-770.
- KREMER K.N., B.A. DINKEL, R.M. STERNER, D.G. OSBORNE, D. JEVREMOVIC et K.E. HEDIN, 2017 « TCR-CXCR4 signaling stabilizes cytokine mRNA transcripts via a PREX1-Rac1 pathway: implications for CTCL », *Blood*, 130, 8 : 982-994.
- KRESO A. et J.E. DICK, 2014 « Evolution of the cancer stem cell model », Cell Stem Cell, 14, 3 : 275-291.
- KUKEL S., U. REINHOLD, I. OLTERMANN et H.W. KREYSEL, 1994 « Progressive increase of CD7- T cells in human blood lymphocytes with ageing », *Clinical and Experimental Immunology*, 98, 1 : 163-168.
- KUMAI T., T. NAGATO, H. KOBAYASHI, Y. KOMABAYASHI, S. UEDA, K. KISHIBE, T. OHKURI, M. TAKAHARA, E. CELIS et Y. HARABUCHI, 2015 « CCL17 and CCL22/CCR4 signaling is a strong candidate for novel targeted therapy against nasal natural killer/T-cell lymphoma », *Cancer immunology, immunotherapy : CII*, 64, 6 : 697-705.
- KUMAR B.V., T.J. CONNORS et D.L. FARBER, 2018 « Human T Cell Development, Localization, and Function throughout Life », *Immunity*, 48, 2 : 202-213.
- KUMAR B.V., W. MA, M. MIRON, T. GRANOT, R.S. GUYER, D.J. CARPENTER, T. SENDA, X. SUN, S.-H. HO, H. LERNER, A.L. FRIEDMAN, Y. SHEN et D.L. FARBER, 2017 « Human Tissue-Resident Memory T Cells Are Defined by Core Transcriptional and Functional Signatures in Lymphoid and Mucosal Sites », Cell Reports, 20, 12 : 2921-2934.
- KUNKEL E.J., J. BOISVERT, K. MURPHY, M.A. VIERRA, M.C. GENOVESE, A.J. WARDLAW, H.B. GREENBERG, M.R. HODGE, L. WU, E.C. BUTCHER et J.J. CAMPBELL, 2002 « Expression of the Chemokine Receptors CCR4, CCR5, and CXCR3 by Human Tissue-Infiltrating Lymphocytes », *The American Journal of Pathology*, 160, 1 : 347-355.
- KURACHI M., 2019 « CD8+ T cell exhaustion », Seminars in Immunopathology, 41, 3 : 327-337.
- KURAL Y.B., O. SU, N. ONSUN et A.R. URAS, 2010 « Atopy, IgE and eosinophilic cationic protein concentration, specific IgE positivity, eosinophil count in cutaneous T Cell lymphoma », *International Journal of Dermatology*, 49, 4 : 390-395.
- KUROSE K., Y. OHUE, H. WADA, S. IIDA, T. ISHIDA, T. KOJIMA, T. DOI, S. SUZUKI, M. ISOBE, T. FUNAKOSHI, K. KAKIMI, H. NISHIKAWA, H. UDONO, M. OKA, R. UEDA et E. NAKAYAMA, 2015 « Phase Ia Study of FoxP3+ CD4 Treg Depletion by Infusion of a Humanized Anti-CCR4 Antibody, KW-0761, in Cancer Patients », Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 21, 19 : 4327-4336.
- LAHARANNE E., N. OUMOUHOU, F. BONNET, M. CARLOTTI, C. GENTIL, E. CHEVRET, T. JOUARY, M. LONGY, B. VERGIER, M. BEYLOT-BARRY et J.-P. MERLIO, 2010 « Genome-wide analysis of cutaneous T-cell lymphomas identifies three clinically relevant classes », *The Journal of Investigative Dermatology*, 130, 6 : 1707-1718.
- LAMBEIR A.-M., C. DURINX, S. SCHARPÉ et I. DE MEESTER, 2003 « Dipeptidyl-peptidase IV from bench to bedside: an update on structural properties, functions, and clinical aspects of the enzyme DPP IV », *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 40, 3 : 209-294.
- LAMBEIR A.-M., P. PROOST, C. DURINX, G. BAL, K. SENTEN, K. AUGUSTYNS, S. SCHARPÉ, J.V. DAMME et I.D. MEESTER, 2001 « Kinetic Investigation of Chemokine Truncation by CD26/Dipeptidyl Peptidase IV Reveals a Striking Selectivity within the Chemokine Family », *Journal of Biological Chemistry*, 276, 32 : 29839-29845.
- LANGERAK A.W., R. VAN DEN BEEMD, I.L. WOLVERS-TETTERO, P.P. BOOR, E.G. VAN LOCHEM, H. HOOIJKAAS et J.J. VAN DONGEN, 2001 « Molecular and flow cytometric analysis of the Vbeta repertoire for clonality assessment in mature TCRalphabeta T-cell proliferations », *Blood*, 98, 1 : 165-173.

- LAROCHE L. et D. KAISERLIAN, 1983 « Decreased natural-killer-cell activity in cutaneous T-cell lymphomas », *The New England Journal of Medicine*, 308, 2 : 101-102.
- LAUENBORG B., L. CHRISTENSEN, U. RALFKIAER, K.L. KOPP, L. JØNSON, S. DABELSTEEN, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, L.M.R. GJERDRUM, Q. ZHANG, M.A. WASIK, E. RALFKIAER, N. ØDUM et A. WOETMANN, 2015 « Malignant T cells express lymphotoxin α and drive endothelial activation in cutaneous T cell lymphoma », *Oncotarget*, 6, 17 : 15235-15249.
- LEE C.S., A. UNGEWICKELL, A. BHADURI, K. QU, D.E. WEBSTER, R. ARMSTRONG, W.K. WENG, C.J. AROS, A. MAH, R.O. CHEN, M. LIN, U. SUNDRAM, H.Y. CHANG, M. KRETZ, Y.H. KIM et P.A. KHAVARI, 2012 « Transcriptome sequencing in Sezary syndrome identifies Sezary cell and mycosis fungoides-associated lncRNAs and novel transcripts », *Blood*, 120, 16 : 3288-97.
- LEFRANÇOIS P., P. XIE, L. WANG, M.T. TETZLAFF, L. MOREAU, A.K. WATTERS, E. NETCHIPOROUK, N. PROVOST, M. GILBERT, X. NI, D. SASSEVILLE, D.A. WHEELER, M. DUVIC et I.V. LITVINOV, 2018 « Gene expression profiling and immune cell-type deconvolution highlight robust disease progression and survival markers in multiple cohorts of CTCL patients », Oncoimmunology, 7, 8 : e1467856.
- LEGITIMO A., R. CONSOLINI, A. FAILLI, S. FABIANO, W. BENCIVELLI, F. SCATENA et F. MOSCA, 2007 « In vitro treatment of monocytes with 8-methoxypsolaren and ultraviolet A light induces dendritic cells with a tolerogenic phenotype », *Clinical and Experimental Immunology*, 148, 3 : 564-572.
- LEWIS D.J., S. HUANG et M. DUVIC, 2018 « Inflammatory cytokines and peripheral mediators in the pathophysiology of pruritus in cutaneous T-cell lymphoma », *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*, 32, 10 : 1652-1656.
- LI B., C. TOURNIER, R.J. DAVIS et R.A. FLAVELL, 1999 « Regulation of IL-4 expression by the transcription factor JunB during T helper cell differentiation. », *The EMBO Journal*, 18, 2 : 420-432.
- LI G., M. YU, W.-W. LEE, M. TSANG, E. KRISHNAN, C.M. WEYAND et J.J. GORONZY, 2012 « Decline in miR-181a expression with age impairs T cell receptor sensitivity by increasing DUSP6 activity », *Nature Medicine*, 18, 10 : 1518-1524.
- LI M., D. YAO, X. ZENG, D. KASAKOVSKI, Y. ZHANG, S. CHEN, X. ZHA, Y. LI et L. XU, 2019 « Age related human T cell subset evolution and senescence », *Immunity & Ageing*, 16, 1 : 1-7.
- LI M.O. et R.A. FLAVELL, 2008 « TGF-beta: a master of all T cell trades », *Cell*, 134, 3 : 392-404.
- LI Y., J. WANG, M. YU, Y. WANG, H. ZHANG, J. YIN, Z. LI, T. LI, H. YAN, F. LI et X. WANG, 2018 « SNF5 deficiency induces apoptosis resistance by repressing SATB1 expression in Sézary syndrome », *Leukemia & Lymphoma*, 59, 10 : 2405-2413.
- LIMA M., J. ALMEIDA, M. DOS ANJOS TEIXEIRA, M.L. QUEIROS, A.H. SANTOS, S. FONSECA, A. BALANZATEGUI, B. JUSTICA et A. ORFAO, 2003 « Utility of flow cytometry immunophenotyping and DNA ploidy studies for diagnosis and characterization of blood involvement in CD4+ Sézary's syndrome », *Haematologica*, 88, 8 : 874-887.
- LINDAHL L.M., S. BESENBACHER, A.H. RITTIG, P. CELIS, A. WILLERSLEV-OLSEN, L.M.R. GJERDRUM, T. KREJSGAARD, C. JOHANSEN, T. LITMAN, A. WOETMANN, N. ODUM et L. IVERSEN, 2018 « Prognostic miRNA classifier in early-stage mycosis fungoides: development and validation in a Danish nationwide study », *Blood*, 131, 7 : 759-770.
- LINDAHL L.M., S. FREDHOLM, C. JOSEPH, B.S. NIELSEN, L. JØNSON, A. WILLERSLEV-OLSEN, M. GLUUD, E. BLÜMEL, D.L. PETERSEN, N. SIBBESEN, T. HU, C. NASTASI, T. KREJSGAARD, D. JÆHGER, J.L. PERSSON, N. MONGAN, M.A. WASIK, I.V. LITVINOV, D. SASSEVILLE, S.B. KORALOV, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, A. WOETMANN, E. RALFKIAER, L. IVERSEN et N. ODUM, 2016 « STAT5 induces miR-21 expression in cutaneous T cell lymphoma », Oncotarget, 7, 29 : 45730-45744.

- LINDAHL L.M., A. WILLERSLEV-OLSEN, L.M.R. GJERDRUM, P.R. NIELSEN, E. BLÜMEL, A.H. RITTIG, P. CELIS, B. HERPERS, J.C. BECKER, B. STAUSBØL-GRØN, M.A. WASIK, M. GLUUD, S. FREDHOLM, T.B. BUUS, C. JOHANSEN, C. NASTASI, L. PEIFFER, L. KUBAT, M. BZOREK, J.O. ERIKSEN, T. KREJSGAARD, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, T. MUSTELIN, E. LANGHOFF, M. GIVSKOV, A. WOETMANN, M. KILIAN, T. LITMAN, L. IVERSEN et N. ODUM, 2019 « Antibiotics inhibit tumor and disease activity in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 134, 13 : 1072-1083.
- LINNEMANN T., S. GELLRICH, A. LUKOWSKY, A. MIELKE, H. AUDRING, W. STERRY et P. WALDEN, 2004 « Polyclonal expansion of T cells with the TCR V beta type of the tumour cell in lesions of cutaneous T-cell lymphoma: evidence for possible superantigen involvement », *The British Journal of Dermatology*, 150, 5 : 1013-1017.
- LITVINOV I.V., B. CORDEIRO, S. FREDHOLM, N. ØDUM, H. ZARGHAM, Y. HUANG, Y. ZHOU, K. PEHR, T.S. KUPPER, A. WOETMANN et D. SASSEVILLE, 2014a « Analysis of STAT4 expression in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) patients and patient-derived cell lines », *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 13, 18 : 2975-2982.
- LITVINOV I.V., B. CORDEIRO, Y. HUANG, H. ZARGHAM, K. PEHR, M.-A. DORÉ, M. GILBERT, Y. ZHOU, T.S. KUPPER et D. SASSEVILLE, 2014b « Ectopic expression of cancer-testis antigens in cutaneous T-cell lymphoma patients », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 20, 14 : 3799-3808.
- LITVINOV I.V., E. NETCHIPOROUK, B. CORDEIRO, M.-A. DORÉ, L. MOREAU, K. PEHR, M. GILBERT, Y. ZHOU, D. SASSEVILLE et T.S. KUPPER, 2015 « The Use of Transcriptional Profiling to Improve Personalized Diagnosis and Management of Cutaneous T-cell Lymphoma (CTCL) », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 21, 12 : 2820-2829.
- LITVINOV I.V., E. NETCHIPOROUK, B. CORDEIRO, H. ZARGHAM, K. PEHR, M. GILBERT, Y. ZHOU, L. MOREAU, A. WOETMANN, N. ØDUM, T.S. KUPPER et D. SASSEVILLE, 2014c « Ectopic expression of embryonic stem cell and other developmental genes in cutaneous T-cell lymphoma », *Oncoimmunology*, 3, 11 : e970025.
- LITVINOV I.V., A. SHTREIS, K. KOBAYASHI, S. GLASSMAN, M. TSANG, A. WOETMANN, D. SASSEVILLE, N. ØDUM et M. DUVIC, 2016 « Investigating potential exogenous tumor initiating and promoting factors for Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL), a rare skin malignancy », *Oncoimmunology*, 5, 7 : e1175799.
- LITVINOV I.V., M.T. TETZLAFF, P. THIBAULT, P. GANGAR, L. MOREAU, A.K. WATTERS, E. NETCHIPOROUK, K. PEHR, V.G. PRIETO, E. RAHME, N. PROVOST, M. GILBERT, D. SASSEVILLE et M. DUVIC, 2017 « Gene expression analysis in Cutaneous T-Cell Lymphomas (CTCL) highlights disease heterogeneity and potential diagnostic and prognostic indicators », Oncoimmunology, 6, 5 : e1306618.
- LIVAK K.J. et T.D. SCHMITTGEN, 2001 « Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method », *Methods (San Diego, Calif.)*, 25, 4 : 402-408.
- LOLLI G., B. CASADEI, L. ARGNANI, L. NANNI, M. CAVO et P.L. ZINZANI, 2020 « Impressive Continuous Complete Response after Mogamulizumab in a Heavily Pretreated Sézary Syndrome Patient », *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 12, 1 : e2020040.
- LOPEZ J.A., O. SUSANTO, M.R. JENKINS, N. LUKOYANOVA, V.R. SUTTON, R.H.P. LAW, A. JOHNSTON, C.H. BIRD, P.I. BIRD, J.C. WHISSTOCK, J.A. TRAPANI, H.R. SAIBIL et I. VOSKOBOINIK, 2013 « Perforin forms transient pores on the target cell plasma membrane to facilitate rapid access of granzymes during killer cell attack », *Blood*, 121, 14 : 2659-2668.
- LOTFI R., G.I. HERZOG, R.A. DEMARCO, D. BEER-STOLZ, J.J. LEE, A. RUBARTELLI, H. SCHREZENMEIER et M.T. LOTZE, 2009 « Eosinophils Oxidize Damage-Associated Molecular Pattern Molecules Derived from Stressed Cells », *The Journal of Immunology*, 183, 8 : 5023-5031.
- LU D., M. DUVIC, L.J. MEDEIROS, R. LUTHRA, D.M. DORFMAN et D. JONES, 2001 « The T-cell chemokine receptor CXCR3 is expressed highly in low-grade mycosis fungoides », *American Journal of Clinical Pathology*, 115, 3 : 413-421.

- LÜFTL M., A. FENG, E. LICHA et G. SCHULER, 2002 « Dendritic cells and apoptosis in mycosis fungoides », *The British Journal of Dermatology*, 147, 6 : 1171-1179.
- LUGLI E., M.H. DOMINGUEZ, L. GATTINONI, P.K. CHATTOPADHYAY, D.L. BOLTON, K. SONG, N.R. KLATT, J.M. BRENCHLEY, M. VACCARI, E. GOSTICK, D.A. PRICE, T.A. WALDMANN, N.P. RESTIFO, G. FRANCHINI et M. ROEDERER, 2013a « Superior T memory stem cell persistence supports long-lived T cell memory », *J Clin Invest*, 123, 2 : 594-9.
- LUGLI E., L. GATTINONI, A. ROBERTO, D. MAVILIO, D.A. PRICE, N.P. RESTIFO et M. ROEDERER, 2013b « Identification, isolation and in vitro expansion of human and nonhuman primate T stem cell memory cells », *Nature Protocols*, 8, 1 : 33-42.
- MACALLAN D.C., D. WALLACE, Y. ZHANG, C. DE LARA, A.T. WORTH, H. GHATTAS, G.E. GRIFFIN, P.C.L. BEVERLEY et D.F. TOUGH, 2004 « Rapid turnover of effector-memory CD4(+) T cells in healthy humans », *The Journal of Experimental Medicine*, 200, 2 : 255-260.
- MACKAY L.K., M. MINNICH, N.A.M. KRAGTEN, Y. LIAO, B. NOTA, C. SEILLET, A. ZAID, K. MAN, S. PRESTON, D. FREESTONE, A. BRAUN, E. WYNNE-JONES, F.M. BEHR, R. STARK, D.G. PELLICCI, D.I. GODFREY, G.T. BELZ, M. PELLEGRINI, T. GEBHARDT, M. BUSSLINGER, W. SHI, F.R. CARBONE, R.A.W. VAN LIER, A. KALLIES et K.P.J.M. VAN GISBERGEN, 2016
 « Hobit and Blimp1 instruct a universal transcriptional program of tissue residency in lymphocytes », *Science (New York, N.Y.)*, 352, 6284 : 459-463.
- MACKAY L.K., A. RAHIMPOUR, J.Z. MA, N. COLLINS, A.T. STOCK, M.L. HAFON, J. VEGA-RAMOS, P. LAUZURICA, S.N. MUELLER, T. STEFANOVIC, D.C. TSCHARKE, W.R. HEATH, M. INOUYE, F.R. CARBONE et T. GEBHARDT, 2013 « The developmental pathway for CD103(+)CD8+ tissue-resident memory T cells of skin », *Nat Immunol*, 14, 12 : 1294-301.
- MAGRO C.M., M.P. SACHDEVA, A.N. CROWSON, A. BARUSEVICIUS, P.N. BARAN et A.J. KOVATICH, 2005 « The application of a monoclonal antibody to CD62L on paraffin-embedded tissue samples in the assessment of the cutaneous T-cell infiltrates », *Journal of Cutaneous Pathology*, 32, 1 : 12-20.
- MAHÉVAS T., C. RAM-WOLFF, M. BATTISTELLA, M.D.V. PENNAMEN, J. RIVET, P. BRICE et M. BAGOT, 2019 « Dramatic response to brentuximab vedotin in refractory nontransformed CD30- mycosis fungoides allowing allogeneic stem cell transplant and long-term complete remission », *The British Journal of Dermatology*, 180, 6 : 1517-1520.
- MAHNKE Y.D., T.M. BRODIE, F. SALLUSTO, M. ROEDERER et E. LUGLI, 2013 « The who's who of T-cell differentiation: human memory T-cell subsets », *European Journal of Immunology*, 43, 11 : 2797-2809.
- MAKITA S. et K. TOBINAI, 2017 « Mogamulizumab for the treatment of T-cell lymphoma », *Expert Opinion on Biological Therapy*, 17, 9 : 1145-1153.
- MALACHOWSKI S.J., L.A. HATCH, L. SOKOL, J. MESSINA et L. SEMINARIO-VIDAL, 2020 « Pembrolizumab-associated tumor development in a patient with Sézary syndrome », JAAD case reports, 6, 1 : 16-18.
- MALEK T.R., 2008 « The biology of interleukin-2 », Annual Review of Immunology, 26 : 453-479.
- MANFREREC K.C.G., M.P. TORREALBA, D.R. MIYASHIRO, N.Z. PEREIRA, F.S.Y. YOSHIKAWA, L. DE M OLIVEIRA, J. CURY-MARTINS, A.J.S. DUARTE, J.A. SANCHES et M.N. SATO, 2017 « Profile of differentially expressed Toll-like receptor signaling genes in the natural killer cells of patients with Sézary syndrome », *Oncotarget*, 8, 54 : 92183-92194.
- MAO X., D. LILLINGTON, J.J. SCARISBRICK, T. MITCHELL, B. CZEPULKOWSKI, R. RUSSELL-JONES, B. YOUNG et S.J. WHITTAKER, 2002 « Molecular cytogenetic analysis of cutaneous T-cell lymphomas: identification of common genetic alterations in Sézary syndrome and mycosis fungoides », *The British Journal of Dermatology*, 147, 3 : 464-475.
- MARIANI M., R. LANG, E. BINDA, P. PANINA-BORDIGNON et D. D'AMBROSIO, 2004 « Dominance of CCL22 over CCL17 in induction of chemokine receptor CCR4 desensitization and internalization on human Th2 cells », *European Journal of Immunology*, 34, 1 : 231-240.
- MARIE-CARDINE A., D. HUET, N. ORTONNE, N. REMTOULA, S. LE GOUVELLO, M. BAGOT et A. BENSUSSAN, 2007 « Killer cell Ig-like receptors CD158a and CD158b display a coactivatory function, involving the c-Jun NH2-terminal protein kinase signaling pathway, when expressed on malignant CD4+ T cells from a patient with Sezary syndrome », *Blood*, 109, 11 : 5064-5065.
- MARIE-CARDINE A., N. VIAUD, N. THONNART, R. JOLY, S. CHANTEUX, L. GAUTHIER, C. BONNAFOUS, B. ROSSI, M. BLÉRY, C. PATUREL, A. BENSUSSAN, M. BAGOT et H. SICARD, 2014 « IPH4102, a humanized KIR3DL2 antibody with potent activity against cutaneous T-cell lymphoma », *Cancer Research*, 74, 21 : 6060-6070.
- MARINCOLA F.M., E.M. JAFFEE, D.J. HICKLIN et S. FERRONE, 2000 « Escape of human solid tumors from T-cell recognition: molecular mechanisms and functional significance », *Advances in Immunology*, 74 : 181-273.
- MARSHALL H.D., A. CHANDELE, Y.W. JUNG, H. MENG, A.C. POHOLEK, I.A. PARISH, R. RUTISHAUSER, W. CUI, S.H. KLEINSTEIN, J. CRAFT et S.M. KAECH, 2011 « Differential expression of Ly6C and T-bet distinguish effector and memory Th1 CD4(+) cell properties during viral infection », *Immunity*, 35, 4 : 633-646.
- MARSTRAND T., C.B. AHLER, U. RALFKIAER, A. CLEMMENSEN, K.L. KOPP, N.A. SIBBESEN, T. KREJSGAARD, T. LITMAN, M.A. WASIK, C.M. BONEFELD, K. GRØNBÆK, L.M.R. GJERDUM, R. GNIADECKI, E. RALFKIAER, C. GEISLER, A. WOETMANN, M.A. RØPKE, C. GLUE, L. SKOV et N. ODUM, 2014 « Validation of a diagnostic microRNA classifier in cutaneous Tcell lymphomas », Leukemia & Lymphoma, 55, 4 : 957-958.
- MARTIN M.D. et V.P. BADOVINAC, 2018 « Defining Memory CD8 T Cell », Frontiers in Immunology, 9.
- MARTINEZ-ESCALA M.E., A.L. POSLIGUA, H. WICKLESS, A. RUTHERFORD, K.A. SABLE, B. RUBIO-GONZALEZ, X.A. ZHOU, J.B. KAPLAN, B. PRO, J. CHOI, C. QUERFELD, S.T. ROSEN et J. GUITART, 2018 « Progression of undiagnosed cutaneous lymphoma after anti-tumor necrosis factor-alpha therapy », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 78, 6 : 1068-1076.
- MARUYAMA D., K. ANDO, K. YAMAMOTO, E. KIYOHARA, Y. TERUI, N. FUKUHARA, T. MIYAGAKI, H. KAWAI, Y. TOKURA, M. SAKATA-YANAGIMOTO, T. IGARASHI, J. KURODA, J. FUJITA, T. UCHIDA, T. ISHIKAWA, K. YONEKURA, K. KATO, T. NAKANISHI, K. NAKAI, R. MATSUNAGA et K. TOBINAI, 2019 « Phase 2 Study of E7777, a Diphtheria Toxin Fragment-Interleukin-2 Fusion Protein, in Japanese Patients with Relapsed or Refractory Peripheral and Cutaneous T-Cell Lymphoma », *Blood*, 134, Supplement_1: 4032-4032.
- MARZEC M., K. HALASA, M. KASPRZYCKA, M. WYSOCKA, X. LIU, J.W. TOBIAS, D. BALDWIN, Q. ZHANG, N. ODUM, A.H. ROOK et M.A. WASIK, 2008 « Differential effects of interleukin-2 and interleukin-15 versus interleukin-21 on CD4+ cutaneous T-cell lymphoma cells », *Cancer Research*, 68, 4 : 1083-1091.
- MASOPUST D., D. CHOO, V. VEZYS, E.J. WHERRY, J. DURAISWAMY, R. AKONDY, J. WANG, K.A. CASEY, D.L. BARBER, K.S. KAWAMURA, K.A. FRASER, R.J. WEBBY, V. BRINKMANN, E.C. BUTCHER, K.A. NEWELL et R. AHMED, 2010 « Dynamic T cell migration program provides resident memory within intestinal epithelium », *The Journal of Experimental Medicine*, 207, 3 : 553-564.
- MASOPUST D., V. VEZYS, A.L. MARZO et L. LEFRANÇOIS, 2001 « Preferential localization of effector memory cells in nonlymphoid tissue », *Science (New York, N.Y.)*, 291, 5512 : 2413-2417.
- DE MASSON A., M. BEYLOT-BARRY, J.-D. BOUAZIZ, R. PEFFAULT DE LATOUR, F. AUBIN, S. GARCIAZ, M. D'INCAN, O. DEREURE, S. DALLE, A. DOMPMARTIN, F. SUAREZ, M. BATTISTELLA, M.-D. VIGNON-PENNAMEN, J. RIVET, H. ADAMSKI, P. BRICE, S. FRANÇOIS, S. LISSANDRE, P. TURLURE, E. WIERZBICKA-HAINAUT, E. BRISSOT, R. DULERY, S. SERVAIS, A. RAVINET, R. TABRIZI, S. INGEN-HOUSZ-ORO, P. JOLY, G. SOCIÉ, M. BAGOT ET FRENCH STUDY GROUP ON CUTANEOUS LYMPHOMAS AND SOCIÉTÉ FRANÇAISE DE GREFFE DE MOËLLE ET THÉRAPIE CELLULAIRE, 2014a « Allogeneic stem cell transplantation for advanced cutaneous T-cell lymphomas: a study from the French Society of Bone

Marrow Transplantation and French Study Group on Cutaneous Lymphomas », *Haematologica*, 99, 3 : 527-534.

- DE MASSON A., P. GUITERA, P. BRICE, I. MOULONGUET, F. MOULY, J.-D. BOUAZIZ, M. BATTISTELLA, I. MADELAINE, J. ROUX, C. RAM-WOLFF, J.-M. CAYUELA, H. BACHELEZ, A. BENSUSSAN, L. MICHEL et M. BAGOT, 2014b « Long-term efficacy and safety of alemtuzumab in advanced primary cutaneous T-cell lymphomas », *The British Journal of Dermatology*, 170, 3 : 720-724.
- DE MASSON A., J.T. O'MALLEY, C.P. ELCO, S.S. GARCIA, S.J. DIVITO, E.L. LOWRY, M. TAWA, D.C. FISHER, P.M. DEVLIN, J.E. TEAGUE, N.R. LEBOEUF, I.R. KIRSCH, H. ROBINS, R.A. CLARK et T.S. KUPPER, 2018 « High-throughput sequencing of the T cell receptor β gene identifies aggressive early-stage mycosis fungoides », *Science Translational Medicine*, 10, 440.
- MATEJKA M. et K. KONRAD, 1983 « Epidermal Langerhans cells in mycosis fungoides and Sézary syndrome », Wiener Klinische Wochenschrift, 95, 23 : 847-852.
- MAZUR G., Z. WOŹNIAK, T. WRÓBEL, J. MAJ et K. KULICZKOWSKI, 2004 « Increased angiogenesis in cutaneous T-cell lymphomas », *Pathology oncology research: POR*, 10, 1 : 34-36.
- MCCULLY M.L. et B. MOSER, 2011 « The Human Cutaneous Chemokine System », Frontiers in Immunology, 2.
- MCCUSKER M.E., M. GARIFALLOU et S.A. BOGEN, 1997 « Sezary lineage cells can be induced to proliferate via CD28mediated costimulation », Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950), 158, 10 : 4984-4991.
- MCGIRT L.Y., C.A. DEGESYS, V.E. JOHNSON, J.A. ZIC, J.P. ZWERNER et C.M. EISCHEN, 2016 « TOX expression and role in CTCL », Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV, 30, 9 : 1497-1502.
- McGirt L.Y., P. JIA, D.A. BAERENWALD, R.J. DUSZYNSKI, K.B. DAHLMAN, J.A. ZIC, J.P. ZWERNER, D. HUCKS, U. DAVE, Z. ZHAO et C.M. EISCHEN, 2015 « Whole-genome sequencing reveals oncogenic mutations in mycosis fungoides », *Blood*, 126, 4 : 508-519.
- MEACHAM C.E. et S.J. MORRISON, 2013 « Tumor heterogeneity and cancer cell plasticity », *Nature*, 501, 7467 : 328-337.
- MENTER T. et A. TZANKOV, 2019 « Lymphomas and Their Microenvironment: A Multifaceted Relationship », *Pathobiology*, 86, 5-6 : 225-236.
- MEYER C.J., A.W. VAN LEEUWEN, E.M. VAN DER LOO, L.B. VAN DE PUTTE et W.A. VAN VLOTEN, 1977 « Cerebriform (Sézary like) mononuclear cells in healthy individuals: a morphologically distinct population of T cells. Relationship with mycosis fungoides and Sézary's syndrome », *Virchows Archiv. B, Cell Pathology*, 25, 2 : 95-104.
- MICHEL L., F. JEAN-LOUIS, E. BEGUE, A. BENSUSSAN et M. BAGOT, 2013 « Use of PLS3, Twist, CD158k/KIR3DL2, and NKp46 gene expression combination for reliable Sézary syndrome diagnosis », *Blood*, 121, 8 : 1477-1478.
- MILNER J.J. et A.W. GOLDRATH, 2018 « Transcriptional programming of tissue-resident memory CD8+ T cells », *Current Opinion in Immunology*, 51 : 162-169.
- MILNER J.J., C. TOMA, B. YU, K. ZHANG, K. OMILUSIK, A.T. PHAN, D. WANG, A.J. GETZLER, T. NGUYEN, S. CROTTY, W. WANG, M.E. PIPKIN et A.W. GOLDRATH, 2017 « Runx3 programs CD8+ T cell residency in non-lymphoid tissues and tumours », *Nature*, 552, 7684 : 253-257.
- MINGARI M.C., F. SCHIAVETTI, M. PONTE, C. VITALE, E. MAGGI, S. ROMAGNANI, J. DEMAREST, G. PANTALEO, A.S. FAUCI et L. MORETTA, 1996 « Human CD8+ T lymphocyte subsets that express HLA class I-specific inhibitory receptors represent oligoclonally or monoclonally expanded cell populations », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93, 22 : 12433-12438.

- MISHRA A., K. LA PERLE, S. KWIATKOWSKI, L.A. SULLIVAN, G.H. SAMS, J. JOHNS, D.P. CURPHEY, J. WEN, K. MCCONNELL, J. QI, H. WONG, G. RUSSO, J. ZHANG, G. MARCUCCI, J.E. BRADNER, P. PORCU et M.A. CALIGIURI, 2016 « Mechanism, consequences and therapeutic targeting of abnormal IL-15 signaling in cutaneous T-cell lymphoma », *Cancer discovery*, 6, 9 : 986-1005.
- MIYAGAKI T. et M. SUGAYA, 2014a « Immunological milieu in mycosis fungoides and Sezary syndrome », *J Dermatol*, 41, 1 : 11-8.
- MIYAGAKI T. et M. SUGAYA, 2014b « Immunological milieu in mycosis fungoides and Sézary syndrome », *The Journal* of Dermatology, 41, 1 : 11-18.
- MIYAGAKI T., M. SUGAYA, H. FUJITA, H. OHMATSU, T. KAKINUMA, T. KADONO, K. TAMAKI et S. SATO, 2010 « Eotaxins and CCR3 interaction regulates the Th2 environment of cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 130, 9 : 2304-2311.
- MIYAGAKI T., M. SUGAYA, H. FUJITA, H. SAEKI et K. TAMAKI, 2009 « Increased serum thymic stromal lymphopoietin levels in patients with cutaneous T cell lymphoma », *Clinical and Experimental Dermatology*, 34, 4 : 539-540.
- MIYAGAKI T., M. SUGAYA, H. SUGA, K. AKAMATA, H. OHMATSU, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2012a « Angiogenin levels are increased in lesional skin and sera in patients with erythrodermic cutaneous T cell lymphoma », Archives of Dermatological Research, 304, 5 : 401-406.
- MIYAGAKI T., M. SUGAYA, H. SUGA, M. KAMATA, H. OHMATSU, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2011 « IL-22, but not IL-17, dominant environment in cutaneous T-cell lymphoma », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 17, 24 : 7529-7538.
- MIYAGAKI T., M. SUGAYA, H. SUGA, S. MORIMURA, H. OHMATSU, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2012b « Low herpesvirus entry mediator (HVEM) expression on dermal fibroblasts contributes to a Th2dominant microenvironment in advanced cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 132, 4 : 1280-1289.
- MIYAGAKI T., M. SUGAYA, H. SUGA, H. OHMATSU, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2013 « Increased CCL18 expression in patients with cutaneous T-cell lymphoma: association with disease severity and prognosis », *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology: JEADV*, 27, 1 : e60-67.
- MIYARA M., Y. YOSHIOKA, A. KITOH, T. SHIMA, K. WING, A. NIWA, C. PARIZOT, C. TAFLIN, T. HEIKE, D. VALEYRE, A. MATHIAN, T. NAKAHATA, T. YAMAGUCHI, T. NOMURA, M. ONO, Z. AMOURA, G. GOROCHOV et S. SAKAGUCHI, 2009 « Functional delineation and differentiation dynamics of human CD4+ T cells expressing the FoxP3 transcription factor », *Immunity*, 30, 6 : 899-911.
- MÖBS M., S. GRYZIK, A. HAIDAR, D. HUMME, M. BEYER et S. VANDERSEE, 2015 « Analysis of the IL-31 pathway in Mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Archives of Dermatological Research*, 307, 6 : 479-485.
- MOINS-TEISSERENC H., M. DAUBORD, E. CLAVE, C. DOUAY, J. FÉLIX, A. MARIE-CARDINE, C. RAM-WOLFF, G. MAKI, K. BELDJORD, L. HOMYRDA, L. MICHEL, A. BENSUSSAN, A. TOUBERT et M. BAGOT, 2015 « CD158k is a reliable marker for diagnosis of Sézary syndrome and reveals an unprecedented heterogeneity of circulating malignant cells », *The Journal of Investigative Dermatology*, 135, 1 : 247-257.
- MOLLANAZAR N.K., P.K. SMITH et G. YOSIPOVITCH, 2016 « Mediators of Chronic Pruritus in Atopic Dermatitis: Getting the Itch Out? », *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 51, 3 : 263-292.
- MOOR A.C., I.M. SCHMITT, G.M. BEIJERSBERGEN VAN HENEGOUWEN, S. CHIMENTI, R.L. EDELSON et F.P. GASPARRO, 1995 « Treatment with 8-MOP and UVA enhances MHC class I synthesis in RMA cells: preliminary results », *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 29, 2-3 : 193-198.

- MORETTA A., R. BIASSONI, C. BOTTINO, D. PENDE, M. VITALE, A. POGGI, M.C. MINGARI et L. MORETTA, 1997 « Major histocompatibility complex class I-specific receptors on human natural killer and T lymphocytes », Immunological Reviews, 155 : 105-117.
- MORGAN S.M., E. HODGES, T.J. MITCHELL, S. HARRIS, S.J. WHITTAKER et J.L. SMITH, 2006 « Molecular analysis of T-cell receptor beta genes in cutaneous T-cell lymphoma reveals Jbeta1 bias », *The Journal of Investigative Dermatology*, 126, 8 : 1893-1899.
- MORIMURA S., M. SUGAYA, H. SUGA, T. MIYAGAKI, H. OHMATSU, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2014 « TOX expression in different subtypes of cutaneous lymphoma », *Archives of Dermatological Research*, 306, 9 : 843-849.
- MOTRAN C.C., K.M. MOLINDER, S.D. LIU, F. POIRIER et M.C. MICELI, 2008 « Galectin-1 functions as a Th2 cytokine that selectively induces Th1 apoptosis and promotes Th2 function », *European Journal of Immunology*, 38, 11 : 3015-3027.
- MUELLER S.N., A. ZAID et F.R. CARBONE, 2014 « Tissue-resident T cells: dynamic players in skin immunity », Frontiers in Immunology, 5 : 332.
- MUNDY-BOSSE B., N. DENLINGER, E. MCLAUGHLIN, N. CHAKRAVARTI, S. HWANG, L. CHEN, H.C. MAO, D. KLINE, Y. YOUSSEF, R. KOHNKEN, D.A. LEE, G. LOZANSKI, A.G. FREUD, P. PORCU, B. WILLIAM, M.A. CALIGIURI et A. MISHRA, 2018 « Highly cytotoxic natural killer cells are associated with poor prognosis in patients with cutaneous T-cell lymphoma », *Blood Advances*, 2, 15 : 1818-1827.
- MURRAY D., J.L. MCMURRAY, S. ELDERSHAW, H. PEARCE, N. DAVIES, J.J. SCARISBRICK et P. MOSS, 2019 « Progression of mycosis fungoides occurs through divergence of tumor immunophenotype by differential expression of HLA-DR », *Blood Advances*, 3, 4 : 519-530.
- MUSETTE P. et H. BACHELEZ, 1997 « Cutaneous T-cell lymphomas and bacterial superantigens », *Blood*, 90, 1 : 472-473.
- MUSETTE P., L. MICHEL, F. JEAN-LOUIS, M. BAGOT et A. BENSUSSAN, 2003 « Polymorphic expression of CD158k/p140/KIR3DL2 in Sézary patients », *Blood*, 101, 3 : 1203-1203.
- MUSOLINO A., N. NALDI, B. BORTESI, D. PEZZUOLO, M. CAPELLETTI, G. MISSALE, D. LACCABUE, A. ZERBINI, R. CAMISA, G. BISAGNI, T.M. NERI et A. ARDIZZONI, 2008 « Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/neu-positive metastatic breast cancer », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 26, 11 : 1789-1796.
- NAGAI Y., M. KAWAHARA, M. HISHIZAWA, Y. SHIMAZU, N. SUGINO, S. FUJII, N. KADOWAKI et A. TAKAORI-KONDO, 2015 « T memory stem cells are the hierarchical apex of adult T-cell leukemia », *Blood*, 125, 23 : 3527-3535.
- NAKAHATA S., S. YAMAZAKI, H. NAKAUCHI et K. MORISHITA, 2010 « Downregulation of ZEB1 and overexpression of Smad7 contribute to resistance to TGF-beta1-mediated growth suppression in adult T-cell leukemia/lymphoma », *Oncogene*, 29, 29 : 4157-4169.
- NARDUCCI M.G., D. ARCELLI, M.C. PICCHIO, C. LAZZERI, E. PAGANI, F. SAMPOGNA, E. SCALA, P. FADDA, C. CRISTOFOLETTI, A. FACCHIANO, M. FRONTANI, A. MONOPOLI, M. FERRACIN, M. NEGRINI, G.A. LOMBARDO, E. CAPRINI et G. RUSSO, 2011
 « MicroRNA profiling reveals that miR-21, miR486 and miR-214 are upregulated and involved in cell survival in Sézary syndrome », *Cell Death & Disease*, 2 : e151.
- NARDUCCI M.G., E. SCALA, A. BRESIN, E. CAPRINI, M.C. PICCHIO, D. REMOTTI, G. RAGONE, F. NASORRI, M. FRONTANI, D. ARCELLI, S. VOLINIA, G.A. LOMBARDO, G. BALIVA, M. NAPOLITANO et G. RUSSO, 2006 « Skin homing of Sézary cells involves SDF-1-CXCR4 signaling and down-regulation of CD26/dipeptidylpeptidase IV », *Blood*, 107, 3 : 1108-1115.

- NATTKEMPER L.A., M.-E. MARTINEZ-ESCALA, A.B. GELMAN, E.M. SINGER, A.H. ROOK, J. GUITART et G. YOSIPOVITCH, 2016 « Cutaneous T-cell Lymphoma and Pruritus: The Expression of IL-31 and its Receptors in the Skin », *Acta Dermato-Venereologica*, 96, 7 : 894-898.
- NEBOZHYN M., A. LOBODA, L. KARI, A.H. ROOK, E.C. VONDERHEID, S. LESSIN, C. BERGER, R. EDELSON, C. NICHOLS, M. YOUSEF, L. GUDIPATI, M. SHANG, M.K. SHOWE et L.C. SHOWE, 2006 « Quantitative PCR on 5 genes reliably identifies CTCL patients with 5% to 99% circulating tumor cells with 90% accuracy », *Blood*, 107, 8 : 3189-3196.
- NETCHIPOROUK E., I.V. LITVINOV, L. MOREAU, M. GILBERT, D. SASSEVILLE et M. DUVIC, 2014 « Deregulation in STAT signaling is important for cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) pathogenesis and cancer progression », *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 13, 21 : 3331-3335.
- NGUYEN V., R.H. HUGGINS, T. LERTSBURAPA, K. BAUER, A. RADEMAKER, P. GERAMI et J. GUITART, 2008 « Cutaneous T-cell lymphoma and Staphylococcus aureus colonization », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 59, 6 : 949-952.
- NI X., P. HAZARIKA, C. ZHANG, R. TALPUR et M. DUVIC, 2001 « Fas ligand expression by neoplastic T lymphocytes mediates elimination of CD8+ cytotoxic T lymphocytes in mycosis fungoides: a potential mechanism of tumor immune escape? », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 7, 9 : 2682-2692.
- NI X., J.L. JORGENSEN, M. GOSWAMI, P. CHALLAGUNDLA, W.K. DECKER, Y.H. KIM et M.A. DUVIC, 2015 « Reduction of regulatory T cells by Mogamulizumab, a defucosylated anti-CC chemokine receptor 4 antibody, in patients with aggressive/refractory mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 21, 2 : 274-285.
- NI X., C. ZHANG, R. TALPUR et M. DUVIC, 2005 « Resistance to activation-induced cell death and bystander cytotoxicity via the Fas/Fas ligand pathway are implicated in the pathogenesis of cutaneous T cell lymphomas », *The Journal of Investigative Dermatology*, 124, 4 : 741-750.
- NICKOLOFF B.J., F.O. NESTLE, X.G. ZHENG et L.A. TURKA, 1994 « T lymphocytes in skin lesions of psoriasis and mycosis fungoides express B7-1: a ligand for CD28 », *Blood*, 83, 9 : 2580-2586.
- NICOLAY J.P., M. FELCHT, K. SCHLEDZEWSKI, S. GOERDT et C. GÉRAUD, 2016 « Sézary syndrome: old enigmas, new targets », Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft = Journal of the German Society of Dermatology: JDDG, 14, 3 : 256-264.
- NIELSEN M., M.H. NISSEN, J. GERWIEN, M.-B. ZOCCA, H.M. RASMUSSEN, K. NAKAJIMA, C. RÖPKE, C. GEISLER, K. KALTOFT et N. ØDUM, 2002 « Spontaneous interleukin-5 production in cutaneous T-cell lymphoma lines is mediated by constitutively activated Stat3 », *Blood*, 99, 3 : 973-977.
- NIETO-REMENTERÍA N., G. PÉREZ-YARZA, M.D. BOYANO, A. APRAIZ, R. IZU, J.L. DÍAZ-PÉREZ et A. ASUMENDI, 2009 « Bexarotene activates the p53/p73 pathway in human cutaneous T-cell lymphoma », *The British Journal* of Dermatology, 160, 3 : 519-526.
- NIKOLOVA M., M. BAGOT, L. BOUMSELL et A. BENSUSSAN, 2002a « Identification of cell surface molecules characterizing human cutaneous T-cell lymphomas », *Leukemia & Lymphoma*, 43, 4 : 741-746.
- NIKOLOVA M., P. MUSETTE, M. BAGOT, L. BOUMSELL et A. BENSUSSAN, 2002b « Engagement of ILT2/CD85j in Sézary syndrome cells inhibits their CD3/TCR signaling », *Blood*, 100, 3 : 1019-1025.
- NIKOLOVA M., A. TAWAB, A. MARIE-CARDINE, M. BAGOT, L. BOUMSELL et A. BENSUSSAN, 2001 « Increased Expression of a Novel Early Activation Surface Membrane Receptor in Cutaneous T Cell Lymphoma Cells », *Journal of Investigative Dermatology*, 116, 5 : 731-738.
- NIWA R., E. SHOJI-HOSAKA, M. SAKURADA, T. SHINKAWA, K. UCHIDA, K. NAKAMURA, K. MATSUSHIMA, R. UEDA, N. HANAI et K. SHITARA, 2004 « Defucosylated chimeric anti-CC chemokine receptor 4 IgG1 with enhanced antibody-

dependent cellular cytotoxicity shows potent therapeutic activity to T-cell leukemia and lymphoma », *Cancer Research*, 64, 6 : 2127-2133.

NOWELL P.C., 1976 « The clonal evolution of tumor cell populations », Science (New York, N.Y.), 194, 4260 : 23-28.

- NUSSBAUM A.K. et J.L. WHITTON, 2004 « The Contraction Phase of Virus-Specific CD8+ T Cells Is Unaffected by a Pan-Caspase Inhibitor », *The Journal of Immunology*, 173, 11 : 6611-6618.
- ODUM N., 2015 « Malignant TOXication of T cells », Blood, 125, 9 : 1361-1362.
- OGURA M., T. ISHIDA, K. HATAKE, M. TANIWAKI, K. ANDO, K. TOBINAI, K. FUJIMOTO, K. YAMAMOTO, T. MIYAMOTO, N. UIKE, M. TANIMOTO, K. TSUKASAKI, K. ISHIZAWA, J. SUZUMIYA, H. INAGAKI, K. TAMURA, S. AKINAGA, M. TOMONAGA et R. UEDA, 2014 « Multicenter phase II study of mogamulizumab (KW-0761), a defucosylated anti-cc chemokine receptor 4 antibody, in patients with relapsed peripheral T-cell lymphoma and cutaneous Tcell lymphoma », Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 32, 11 : 1157-1163.
- OHMATSU H., D. HUMME, N. GULATI, J. GONZALEZ, M. MÖBS, M. SUÁREZ-FARIÑAS, I. CARDINALE, H. MITSUI, E. GUTTMAN-YASSKY, W. STERRY et J.G. KRUEGER, 2014 « IL32 is progressively expressed in mycosis fungoides independent of helper T-cell 2 and helper T-cell 9 polarization », *Cancer Immunology Research*, 2, 9 : 890-900.
- OHNO N., S. KOBAYASHI, T. ISHIGAKI, K. YUJI, M. KOBAYASHI, K. SATO, N. WATANABE, A. TOJO et K. UCHIMARU, 2013 « Loss of CCR4 antigen expression after mogamulizumab therapy in a case of adult T-cell leukaemialymphoma », *British Journal of Haematology*, 163, 5 : 683-685.
- OLSEN E., M. DUVIC, A. FRANKEL, Y. KIM, A. MARTIN, E. VONDERHEID, B. JEGASOTHY, G. WOOD, M. GORDON, P. HEALD, A. OSEROFF, L. PINTER-BROWN, G. BOWEN, T. KUZEL, D. FIVENSON, F. FOSS, M. GLODE, A. MOLINA, E. KNOBLER, S. STEWART, K. COOPER, S. STEVENS, F. CRAIG, J. REUBEN, P. BACHA et J. NICHOLS, 2001 « Pivotal phase III trial of two dose levels of denileukin diftitox for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma », Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 19, 2 : 376-388.
- OLSEN E., E. VONDERHEID, N. PIMPINELLI, R. WILLEMZE, Y. KIM, R. KNOBLER, H. ZACKHEIM, M. DUVIC, T. ESTRACH, S. LAMBERG, G. WOOD, R. DUMMER, A. RANKI, G. BURG, P. HEALD, M. PITTELKOW, M.-G. BERNENGO, W. STERRY, L. LAROCHE, F. TRAUTINGER, S. WHITTAKER et ISCL/EORTC, 2007a « 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*, 110, 6 : 1713-1722.
- OLSEN E.A., 2003 « Interferon in the treatment of cutaneous T-cell lymphoma », *Dermatologic Therapy*, 16, 4 : 311-321.
- OLSEN E.A., Y.H. KIM, T.M. KUZEL, T.R. PACHECO, F.M. FOSS, S. PARKER, S.R. FRANKEL, C. CHEN, J.L. RICKER, J.M. ARDUINO et M. DUVIC, 2007b « Phase IIb multicenter trial of vorinostat in patients with persistent, progressive, or treatment refractory cutaneous T-cell lymphoma », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 25, 21 : 3109-3115.
- OLSEN E.A., S. WHITTAKER, Y.H. KIM, M. DUVIC, H.M. PRINCE, S.R. LESSIN, G.S. WOOD, R. WILLEMZE, M.-F. DEMIERRE, N. PIMPINELLI, M.G. BERNENGO, P.L. ORTIZ-ROMERO, M. BAGOT, T. ESTRACH, J. GUITART, R. KNOBLER, J.A. SANCHES, K. IWATSUKI, M. SUGAYA, R. DUMMER ET AL., INTERNATIONAL SOCIETY FOR CUTANEOUS LYMPHOMAS, UNITED STATES CUTANEOUS LYMPHOMA CONSORTIUM et CUTANEOUS LYMPHOMA TASK FORCE OF THE EUROPEAN ORGANISATION FOR RESEARCH AND TREATMENT OF CANCER, 2011 « Clinical end points and response criteria in mycosis fungoides and Sézary 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 », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 29, 18 : 2598-2607.

- O'MALLEY J.T., A. DE MASSON, E.L. LOWRY, A. GIOBBIE-HURDER, N.R. LEBOEUF, C. LAROCCA, A. GEHAD, E. SEGER, J.E. TEAGUE, D.C. FISHER, T.S. KUPPER, P.M. DEVLIN et R.A. CLARK, 2020 « Radiotherapy Eradicates Malignant T Cells and Is Associated with Improved Survival in Early-Stage Mycosis Fungoides », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 26, 2 : 408-418.
- ORTONNE N., D. HUET, C. GAUDEZ, A. MARIE-CARDINE, V. SCHIAVON, M. BAGOT, P. MUSETTE et A. BENSUSSAN, 2006 « Significance of circulating T-cell clones in Sezary syndrome », *Blood*, 107, 10 : 4030-4038.
- ORTONNE N., S. LE GOUVELLO, H. MANSOUR, C. POILLET, N. MARTIN, M.-H. DELFAU-LARUE, K. LEROY, J.-P. FARCET, M. BAGOT et A. BENSUSSAN, 2008 « CD158K/KIR3DL2 transcript detection in lesional skin of patients with erythroderma is a tool for the diagnosis of Sézary syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 128, 2 : 465-472.
- ORTONNE N., S. LE GOUVELLO, R. TABAK, A. MARIE-CARDINE, J. SETIAO, F. BERREHAR, A. NGHE-TANG, N. MARTIN, M. BAGOT et A. BENSUSSAN, 2012 « CD158k/KIR3DL2 and NKp46 are frequently expressed in transformed mycosis fungoides », *Experimental Dermatology*, 21, 6 : 461-463.
- PA S., M. M et F. DL, 2019 « Location, location: Tissue resident memory T cells in mice and humans. », Science Immunology, 4, 34.
- PALACIOS R., 1982 « Concanavalin A triggers T lymphocytes by directly interacting with their receptors for activation », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 128, 1 : 337-342.
- PAPADAVID E., J. ECONOMIDOU, A. PSARRA, V. KAPSIMALI, V. MANTZANA, C. ANTONIOU, K. LIMAS, A. STRATIGOS, N. STAVRIANEAS, G. AVGERINOU et A. KATSAMBAS, 2003 « The relevance of peripheral blood T-helper 1 and 2 cytokine pattern in the evaluation of patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome », *The British Journal of Dermatology*, 148, 4 : 709-718.
- PARK J., J. YANG, A.T. WENZEL, A. RAMACHANDRAN, W.J. LEE, J.C. DANIELS, J. KIM, E. MARTINEZ-ESCALA, N. AMANKULOR, B. PRO, J. GUITART, M.L. MENDILLO, J.N. SAVAS, T.J. BOGGON et J. CHOI, 2017 « Genomic analysis of 220 CTCLs identifies a novel recurrent gain-of-function alteration in RLTPR (p.Q575E) », Blood, 130, 12 : 1430-1440.
- PATRICK M.S., N.-L. CHENG, J. KIM, J. AN, F. DONG, Q. YANG, I. ZOU et N. WENG, 2019 « Human T Cell Differentiation Negatively Regulates Telomerase Expression Resulting in Reduced Activation-Induced Proliferation and Survival », *Frontiers in Immunology*, 10.
- PAYELI S.K., S. KOLLNBERGER, O.M. BELAUNZARAN, M. THIEL, K. MCHUGH, J. GILES, J. SHAW, S. KLEBER, A. RIDLEY, I. WONG-BAEZA, S. KEIDEL, K. KUROKI, K. MAENAKA, A. WADLE, C. RENNER et P. BOWNESS, 2012 « Inhibiting HLA–B27 homodimer–driven immune cell inflammation in spondylarthritis », *Arthritis & Rheumatism*, 64, 10 : 3139-3149.
- PEDERSEN I.H., A. WILLERSLEV-OLSEN, C. VETTER-KAUCZOK, T. KREJSGAARD, B. LAUENBORG, K.L. KOPP, C. GEISLER, C.M. BONEFELD, Q. ZHANG, M.A. WASIK, S. DABELSTEEN, A. WOETMANN, J.C. BECKER et N. ODUM, 2013 « Vascular endothelial growth factor receptor-3 expression in mycosis fungoides », *Leukemia & Lymphoma*, 54, 4 : 819-826.
- PENDE D., R. BIASSONI, C. CANTONI, S. VERDIANI, M. FALCO, C. DI DONATO, L. ACCAME, C. BOTTINO, A. MORETTA et L. MORETTA, 1996 « The natural killer cell receptor specific for HLA-A allotypes: a novel member of the p58/p70 family of inhibitory receptors that is characterized by three immunoglobulin-like domains and is expressed as a 140-kD disulphide-linked dimer », *The Journal of Experimental Medicine*, 184, 2 : 505-518.
- PENDE D., M. FALCO, M. VITALE, C. CANTONI, C. VITALE, E. MUNARI, A. BERTAINA, F. MORETTA, G. DEL ZOTTO, G. PIETRA, M.C. MINGARI, F. LOCATELLI et L. MORETTA, 2019 « Killer Ig-Like Receptors (KIRs): Their Role in NK Cell Modulation and Developments Leading to Their Clinical Exploitation », *Frontiers in Immunology*, 10.

- PÉREZ C., J. GONZALEZ-RINCON, C. ALMARAZ, S. CURIEL, N. GARCIA, H. PISONERO, S. GOMEZ, L. CERECEDA, A. ONAINDIA, R. MADUREIRA, A. LEON, C. GONZÁLEZ-VELA, P.L. ORTIZ-ROMERO, N. MARTINEZ, M. SANCHEZ-BEATO, J.P. VAQUÉ et M.A.A. PIRIS, 2014 « A Role of JAK/STAT Pathway in Cutaneous T-Cell Lymphomas: Exploring Its Effects for Targeted Therapy », *Blood*, 124, 21 : 4498-4498.
- PHAN A., R. VELDMAN et M.J. LECHOWICZ, 2016 « T-cell Lymphoma Epidemiology: the Known and Unknown », *Current Hematologic Malignancy Reports*, 11, 6 : 492-503.
- PIEKARZ R.L., R. FRYE, M. TURNER, J.J. WRIGHT, S.L. ALLEN, M.H. KIRSCHBAUM, J. ZAIN, H.M. PRINCE, J.P. LEONARD, L.J. GESKIN, C. REEDER, D. JOSKE, W.D. FIGG, E.R. GARDNER, S.M. STEINBERG, E.S. JAFFE, M. STETLER-STEVENSON, S. LADE, A.T. FOJO et S.E. BATES, 2009 « Phase II multi-institutional trial of the histone deacetylase inhibitor romidepsin as monotherapy for patients with cutaneous T-cell lymphoma », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 27, 32 : 5410-5417.
- PILERI A., C. AGOSTINELLI, M. SESSA, P. QUAGLINO, M. SANTUCCI, C. TOMASINI, V. GRANDI, P. FAVA, C. ASTRUA, S. RIGHI, A. PATRIZI, S.A. PILERI et N. PIMPINELLI, 2017 « Langerhans, plasmacytoid dendritic and myeloid-derived suppressor cell levels in mycosis fungoides vary according to the stage of the disease », Virchows Archiv: An International Journal of Pathology, 470, 5 : 575-582.
- PINTI M., V. APPAY, J. CAMPISI, D. FRASCA, T. FÜLÖP, D. SAUCE, A. LARBI, B. WEINBERGER et A. COSSARIZZA, 2016 « Aging of the immune system: Focus on inflammation and vaccination », *European Journal of Immunology*, 46, 10 : 2286-2301.
- POSZEPCZYNSKA-GUIGNÉ E., V. SCHIAVON, M. D'INCAN, H. ECHCHAKIR, P. MUSETTE, N. ORTONNE, L. BOUMSELL, A. MORETTA, A. BENSUSSAN et M. BAGOT, 2004 « CD158k/KIR3DL2 is a new phenotypic marker of Sezary cells: relevance for the diagnosis and follow-up of Sezary syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 122, 3 : 820-823.
- POTOCZNA N., W.H. BOEHNCKE, F.O. NESTLE, C. KÜENZLEN, W. STERRY, G. BURG et R. DUMMER, 1996 « T-cell receptor beta variable region (V beta) usage in cutaneous T-cell lymphomas (CTCL) in comparison to normal and eczematous skin », *Journal of Cutaneous Pathology*, 23, 4 : 298-305.
- PRASAD A., R. RABIONET, B. ESPINET, L. ZAPATA, A. PUIGGROS, C. MELERO, A. PUIG, Y. SARRIA-TRUJILLO, S. OSSOWSKI, M.P. GARCIA-MURET, T. ESTRACH, O. SERVITJE, I. LOPEZ-LERMA, F. GALLARDO, R.M. PUJOL et X. ESTIVILL, 2016 « Identification of Gene Mutations and Fusion Genes in Patients with Sézary Syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 136, 7 : 1490-1499.
- PRINCE H.M., M. DUVIC, A. MARTIN, W. STERRY, C. ASSAF, Y. SUN, D. STRAUS, M. ACOSTA et A. NEGRO-VILAR, 2010 « Phase III placebo-controlled trial of denileukin diftitox for patients with cutaneous T-cell lymphoma », *Journal* of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 28, 11 : 1870-1877.
- PRINCE H.M., Y.H. KIM, S.M. HORWITZ, R. DUMMER, J. SCARISBRICK, P. QUAGLINO, P.L. ZINZANI, P. WOLTER, J.A. SANCHES, P.L. ORTIZ-ROMERO, O.E. AKILOV, L. GESKIN, J. TROTMAN, K. TAYLOR, S. DALLE, M. WEICHENTHAL, J. WALEWSKI, D. FISHER, B. DRÉNO, R. STADLER, T. FELDMAN, T.M. KUZEL, Y. WANG, M.C. PALANCA-WESSELS, E. ZAGADAILOV, W.L. TREPICCHIO, W. ZHANG, H.-M. LIN, Y. LIU, D. HUEBNER, M. LITTLE, S. WHITTAKER, M. DUVIC et ALCANZA STUDY GROUP, 2017 « Brentuximab vedotin or physician's choice in CD30-positive cutaneous T-cell lymphoma (ALCANZA): an international, open-label, randomised, phase 3, multicentre trial », *Lancet (London, England)*, 390, 10094 : 555-566.
- PRO B., Y.H. KIM, P.L. ORTIZ-ROMERO, L. SOKOL, J. SCARISBRICK, A. MUSIEK, M. VERMEER, R. DUMMER, A.S. HALWANI, M.T. FIERRO, J. MORIYA, M. LEONI et M. BAGOT, 2019 « Time to next treatment in patients with previously treated cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) receiving mogamulizumab or vorinostat: A MAVORIC post-hoc analysis. », Journal of Clinical Oncology, 37, 15_suppl : 7539-7539.
- PULITZER M.P., P. HORNA et J. ALMEIDA, 2020 « Sézary syndrome and mycosis fungoides: An overview, including the role of immunophenotyping », *Cytometry. Part B, Clinical Cytometry*.

- QI Q., Y. LIU, Y. CHENG, J. GLANVILLE, D. ZHANG, J.-Y. LEE, R.A. OLSHEN, C.M. WEYAND, S.D. BOYD et J.J. GORONZY, 2014 « Diversity and clonal selection in the human T-cell repertoire », *Proceedings of the National Academy* of Sciences of the United States of America, 111, 36 : 13139-13144.
- QIN J.Z., C.L. ZHANG, J. KAMARASHEV, R. DUMMER, G. BURG et U. DÖBBELING, 2001 « Interleukin-7 and interleukin-15 regulate the expression of the bcl-2 and c-myb genes in cutaneous T-cell lymphoma cells », *Blood*, 98, 9 : 2778-2783.
- QIN Y., H.P.J. BUERMANS, M.S. VAN KESTER, L. VAN DER FITS, J.J. OUT-LUITING, S. OSANTO, R. WILLEMZE, M.H. VERMEER et C.P. TENSEN, 2012 « Deep-sequencing analysis reveals that the miR-199a2/214 cluster within DNM3os represents the vast majority of aberrantly expressed microRNAs in Sézary syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 132, 5 : 1520-1522.
- QU K., L.C. ZABA, A.T. SATPATHY, P.G. GIRESI, R. LI, Y. JIN, R. ARMSTRONG, C. JIN, N. SCHMITT, Z. RAHBAR, H. UENO, W.J. GREENLEAF, Y.H. KIM et H.Y. CHANG, 2017 « Chromatin Accessibility Landscape of Cutaneous T Cell Lymphoma and Dynamic Response to HDAC Inhibitors », *Cancer Cell*, 32, 1 : 27-41.e4.
- QUAGLINO P., M. MAULE, H.M. PRINCE, P. PORCU, S. HORWITZ, M. DUVIC, R. TALPUR, M. VERMEER, M. BAGOT, J. GUITART,
 E. PAPADAVID, J.A. SANCHES, E. HODAK, M. SUGAYA, E. BERTI, P. ORTIZ-ROMERO, N. PIMPINELLI, O. SERVITJE, A.
 PILERI, P.L. ZINZANI ET AL., 2017 « Global patterns of care in advanced stage mycosis fungoides/Sezary syndrome: a multicenter retrospective follow-up study from the Cutaneous Lymphoma International Consortium », Annals of Oncology: Official Journal of the European Society for Medical Oncology, 28, 10 : 2517-2525.
- QUERFELD C., S. LEUNG, P.L. MYSKOWSKI, S.A. CURRAN, D.A. GOLDMAN, G. HELLER, X. WU, S.H. KIL, S. SHARMA, K.J. FINN, S. HORWITZ, A. MOSKOWITZ, B. MEHRARA, S.T. ROSEN, A.C. HALPERN et J.W. YOUNG, 2018 « Primary T Cells from Cutaneous T-cell Lymphoma Skin Explants Display an Exhausted Immune Checkpoint Profile », *Cancer Immunology Research*, 6, 8 : 900-909.
- QUERFELD C., S.T. ROSEN, J. GUITART, M. DUVIC, Y.H. KIM, S.W. DUSZA et T.M. KUZEL, 2014 « Results of an open-label multicenter phase 2 trial of lenalidomide monotherapy in refractory mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Blood*, 123, 8 : 1159-1166.
- QUERFELD C., S.T. ROSEN, T.M. KUZEL, K.A. KIRBY, H.H. ROENIGK, B.M. PRINZ et J. GUITART, 2005 « Long-term follow-up of patients with early-stage cutaneous T-cell lymphoma who achieved complete remission with psoralen plus UV-A monotherapy », *Archives of Dermatology*, 141, 3 : 305-311.
- RAAPHORST F.M., R.L. SCHELONKA, J. RUSNAK, A.J. INFANTE et J.M. TEALE, 2002 « TCRBV CDR3 diversity of CD4+ and CD8+ T-lymphocytes in HIV-infected individuals », *Human Immunology*, 63, 1 : 51-60.
- RABENHORST A., M. SCHLAAK, L.C. HEUKAMP, A. FÖRSTER, S. THEURICH, M. VON BERGWELT-BAILDON, R. BÜTTNER, P. KURSCHAT, C. MAUCH, A. ROERS et K. HARTMANN, 2012 « Mast cells play a protumorigenic role in primary cutaneous lymphoma », *Blood*, 120, 10 : 2042-2054.
- RACILA E., B.K. LINK, W.-K. WENG, T.E. WITZIG, S. ANSELL, M.J. MAURER, J. HUANG, C. DAHLE, A. HALWANI, R. LEVY et G.J. WEINER, 2008 « A polymorphism in the complement component C1qA correlates with prolonged response following rituximab therapy of follicular lymphoma », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 14, 20 : 6697-6703.
- RALFKIAER E., K. THOMSEN et G.L. VEJLSGAARD, 1991 « Expression of a cell adhesion protein (VLA beta) in normal and diseased skin », *The British Journal of Dermatology*, 124, 6 : 527-532.
- RALFKIAER U., P.H. HAGEDORN, N. BANGSGAARD, M.B. LØVENDORF, C.B. AHLER, L. SVENSSON, K.L. KOPP, M.T. VENNEGAARD,
 B. LAUENBORG, J.R. ZIBERT, T. KREJSGAARD, C.M. BONEFELD, R. SØKILDE, L.M. GJERDRUM, T. LABUDA, A.-M.
 MATHIESEN, K. GRØNBÆK, M.A. WASIK, M. SOKOLOWSKA-WOJDYLO, C. QUEILLE-ROUSSEL, R. GNIADECKI, E.
 RALFKIAER, C. GEISLER, T. LITMAN, A. WOETMANN, C. GLUE, M.A. RØPKE, L. SKOV et N. ODUM, 2011 « Diagnostic microRNA profiling in cutaneous T-cell lymphoma (CTCL) », *Blood*, 118, 22 : 5891-5900.

- RALFKIAER U., L.M. LINDAHL, L. LINDAL, T. LITMAN, L.-M. GJERDRUM, C.B. AHLER, R. GNIADECKI, T. MARSTRAND, S. FREDHOLM,
 L. IVERSEN, M.A. WASIK, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, T. KREJSGAARD, C. GLUE, M.A. RØPKE, A. WOETMANN, L. SKOV,
 K. GRØNBÆK et N. ODUM, 2014 « MicroRNA expression in early mycosis fungoides is distinctly different
 from atopic dermatitis and advanced cutaneous T-cell lymphoma », *Anticancer Research*, 34, 12 : 7207-7217.
- RAMELYTE E., R. DUMMER et E. GUENOVA, 2019 « Investigative drugs for the treatment of cutaneous T-cell lymphomas (CTCL): an update », *Expert Opinion on Investigational Drugs*.
- RAPPL G., J.M. MUCHE, H. ABKEN, W. STERRY, W. TILGEN, S. UGUREL et U. REINHOLD, 2001 « CD4(+)CD7(-) T cells compose the dominant T-cell clone in the peripheral blood of patients with Sezary syndrome », J Am Acad Dermatol, 44, 3 : 456-61.
- RASSEK K. et K. IŻYKOWSKA, 2020 « Single-Cell Heterogeneity of Cutaneous T-Cell Lymphomas Revealed Using RNA-Seq Technologies », *Cancers*, 12, 8 : 2129.
- RAUCH D.A., K.C. CONLON, M. JANAKIRAM, J.E. BRAMMER, J.C. HARDING, B.H. YE, X. ZANG, X. REN, S. OLSON, X. CHENG, M.D. MILIKOVIC, H. SUNDARAMOORTHI, A. JOSEPH, Z.L. SKIDMORE, O. GRIFFITH, M. GRIFFITH, T.A. WALDMANN et L. RATNER, 2019 « Rapid progression of adult T-cell leukemia/lymphoma as tumor-infiltrating Tregs after PD-1 blockade », Blood, 134, 17 : 1406-1414.
- READ K.A., M.D. POWELL, P.W. McDONALD et K.J. OESTREICH, 2016 « IL-2, IL-7, and IL-15: Multistage regulators of CD4(+) T helper cell differentiation », *Experimental Hematology*, 44, 9 : 799-808.
- REINHARDT R.L., A. KHORUTS, R. MERICA, T. ZELL et M.K. JENKINS, 2001 « Visualizing the generation of memory CD4 T cells in the whole body », *Nature*, 410, 6824 : 101-105.
- REINHOLD U. et H. ABKEN, 1997 « CD4+ CD7- T cells: a separate subpopulation of memory T cells? », Journal of Clinical Immunology, 17, 4 : 265-271.
- RESTIFO N.P. et L. GATTINONI, 2013 « Lineage relationship of effector and memory T cells », *Curr Opin Immunol*, 25, 5 : 556-63.
- RI M., S. IIDA, T. ISHIDA, A. ITO, H. YANO, A. INAGAKI, J. DING, S. KUSUMOTO, H. KOMATSU, A. UTSUNOMIYA et R. UEDA, 2009 « Bortezomib-induced apoptosis in mature T-cell lymphoma cells partially depends on upregulation of Noxa and functional repression of Mcl-1 », *Cancer Science*, 100, 2 : 341-348.
- RIBATTI D., 2016 « The concept of immune surveillance against tumors: The first theories », *Oncotarget*, 8, 4 : 7175-7180.
- RIBATTI D. et E. CRIVELLATO, 2012 « Mast cells, angiogenesis, and tumour growth », *Biochimica Et Biophysica Acta*, 1822, 1 : 2-8.
- RIOU C., B. YASSINE-DIAB, J. VAN GREVENYNGHE, R. SOMOGYI, L.D. GRELLER, D. GAGNON, S. GIMMIG, P. WILKINSON, Y. SHI, M.J. CAMERON, R. CAMPOS-GONZALEZ, R.S. BALDERAS, D. KELVIN, R.P. SEKALY et E.K. HADDAD, 2007 « Convergence of TCR and cytokine signaling leads to FOXO3a phosphorylation and drives the survival of CD4+ central memory T cells », J Exp Med, 204, 1 : 79-91.
- ROMAGNANI S., G.F. DEL PRETE, E. MAGGI, A. CADONI, G. CORTE, G. GHEZZI, S. MORETTI et M. RICCI, 1982 « Phenotypic and functional characterization of a Sézary cell », *Journal of Clinical Immunology*, 2, 4 : 343-349.
- ROOK A.H., J.M. GELFAND, J.C. GELFAND, M. WYSOCKA, A.B. TROXEL, B. BENOIT, C. SURBER, R. ELENITSAS, M.A. BUCHANAN, D.S. LEAHY, R. WATANABE, I.R. KIRSCH, E.J. KIM et R.A. CLARK, 2015 « Topical resiquimod can induce disease regression and enhance T-cell effector functions in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 126, 12 : 1452-1461.

- ROOK A.H., M. KUBIN, M. CASSIN, E.C. VONDERHEID, B.R. VOWELS, J.T. WOLFE, S.F. WOLF, A. SINGH, G. TRINCHIERI et S.R. LESSIN, 1995 « IL-12 reverses cytokine and immune abnormalities in Sezary syndrome », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 154, 3 : 1491-1498.
- ROTHENBERG E.V., J.E. MOORE et M.A. YUI, 2008 « Launching the T-cell-lineage developmental programme », *Nature Reviews. Immunology*, 8, 1 : 9-21.
- ROWEN L., B.F. KOOP et L. HOOD, 1996 « The complete 685-kilobase DNA sequence of the human beta T cell receptor locus », *Science (New York, N.Y.)*, 272, 5269 : 1755-1762.
- RÜBBEN A., W. KEMPF, M.E. KADIN, D.R. ZIMMERMANN et G. BURG, 2004 « Multilineage progression of genetically unstable tumor subclones in cutaneous T-cell lymphoma », *Experimental Dermatology*, 13, 8 : 472-483.
- RUBIO GONZALEZ B., J. ZAIN, S.T. ROSEN et C. QUERFELD, 2016 « Tumor microenvironment in mycosis fungoides and Sezary syndrome », *Curr Opin Oncol*, 28, 1 : 88-96.
- RUGGERI L., M. CAPANNI, E. URBANI, K. PERRUCCIO, W.D. SHLOMCHIK, A. TOSTI, S. POSATI, D. ROGAIA, F. FRASSONI, F. AVERSA, M.F. MARTELLI et A. VELARDI, 2002 « Effectiveness of donor natural killer cell alloreactivity in mismatched hematopoietic transplants », *Science (New York, N.Y.)*, 295, 5562 : 2097-2100.
- SAED G., D.P. FIVENSON, Y. NAIDU et B.J. NICKOLOFF, 1994 « Mycosis fungoides exhibits a Th1-type cell-mediated cytokine profile whereas Sezary syndrome expresses a Th2-type profile », *The Journal of Investigative Dermatology*, 103, 1 : 29-33.
- SAITO M., T. ISHII, I. URAKAWA, A. MATSUMOTO, A. MASAKI, A. ITO, S. KUSUMOTO, S. SUZUKI, T. TAKAHASHI, A. MORITA, H. INAGAKI, S. IIDA et T. ISHIDA, 2020 « Robust CD8+ T-cell proliferation and diversification after mogamulizumab in patients with adult T-cell leukemia-lymphoma », *Blood Advances*, 4, 10 : 2180-2191.
- SALGADO R., O. SERVITJE, F. GALLARDO, M.H. VERMEER, P.L. ORTIZ-ROMERO, M.B. KARPOVA, M.C. ZIPSER, C. MUNIESA, M.P. GARCÍA-MURET, T. ESTRACH, M. SALIDO, J. SÁNCHEZ-SCHMIDT, M. HERRERA, V. ROMAGOSA, J. SUELA, B.I. FERREIRA, J.C. CIGUDOSA, C. BARRANCO, S. SERRANO, R. DUMMER, C.P. TENSEN, F. SOLÉ, R.M. PUJOL et B. ESPINET, 2010 « Oligonucleotide array-CGH identifies genomic subgroups and prognostic markers for tumor stage mycosis fungoides », *The Journal of Investigative Dermatology*, 130, 4 : 1126-1135.
- SALLUSTO F., 2016 « Heterogeneity of Human CD4(+) T Cells Against Microbes », Annual Review of Immunology, 34 : 317-334.
- SALLUSTO F., J. GEGINAT et A. LANZAVECCHIA, 2004 « Central memory and effector memory T cell subsets: function, generation, and maintenance », *Annu Rev Immunol*, 22 : 745-63.
- SALLUSTO F., D. LENIG, R. FÖRSTER, M. LIPP et A. LANZAVECCHIA, 1999 « Two subsets of memory T lymphocytes with distinct homing potentials and effector functions », *Nature*, 401, 6754 : 708-712.
- SAMIMI S., B. BENOIT, K. EVANS, E.J. WHERRY, L. SHOWE, M. WYSOCKA et A.H. ROOK, 2010 « Increased Programmed Death-1 Expression on CD4+ T Cells in Cutaneous T-Cell Lymphoma: Implications for Immune Suppression », *Archives of Dermatology*, 146, 12 : 1382-1388.
- SANDOVAL J., A. DÍAZ-LAGARES, R. SALGADO, O. SERVITJE, F. CLIMENT, P.L. ORTIZ-ROMERO, A. PÉREZ-FERRIOLS, M.P. GARCIA-MURET, T. ESTRACH, M. GARCIA, L. NONELL, M. ESTELLER, R.M. PUJOL, B. ESPINET et F. GALLARDO, 2015
 « MicroRNA expression profiling and DNA methylation signature for deregulated microRNA in cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 135, 4 : 1128-1137.
- SANTNER-NANAN B., N. SEDDIKI, E. ZHU, V. QUENT, A. KELLEHER, B. FAZEKAS DE ST GROTH et R. NANAN, 2008 « Accelerated age-dependent transition of human regulatory T cells to effector memory phenotype », *International Immunology*, 20, 3 : 375-383.

- SAULE P., J. TRAUET, V. DUTRIEZ, V. LEKEUX, J.-P. DESSAINT et M. LABALETTE, 2006 « Accumulation of memory T cells from childhood to old age: central and effector memory cells in CD4(+) versus effector memory and terminally differentiated memory cells in CD8(+) compartment », *Mechanisms of Ageing and Development*, 127, 3 : 274-281.
- SAULITE I., W. HOETZENECKER, S. WEIDINGER, A. COZZIO, E. GUENOVA et U. WEHKAMP, 2016 « Sézary Syndrome and Atopic Dermatitis: Comparison of Immunological Aspects and Targets », *BioMed Research International*, 2016 : 9717530.
- SAVOIA P., M. NOVELLI, M.T. FIERRO, O. CREMONA, P.C. MARCHISIO et M.G. BERNENGO, 1992 « Expression and Role of Integrin Receptors in Sézary Syndrome », *Journal of Investigative Dermatology*, 99, 2 : 151-159.
- SCALA E., D. ABENI, D. POMPONI, M.G. NARDUCCI, G.A. LOMBARDO, A. MARI, M. FRONTANI, M.C. PICCHIO, M.A. PILLA, E. CAPRINI et G. RUSSO, 2010 « The role of 9-O-acetylated ganglioside D3 (CD60) and {alpha}4{beta}1 (CD49d) expression in predicting the survival of patients with Sezary syndrome », *Haematologica*, 95, 11 : 1905-1912.
- SCALA E., D. ABENI, D. POMPONI, N. RUSSO, G. RUSSO et M.G. NARDUCCI, 2015 « Single TCR-Vβ2 evaluation discloses the circulating T cell clone in Sezary syndrome: one family fits all! », Archives of Dermatological Research.
- SCALA E., M.G. NARDUCCI, P. AMERIO, G. BALIVA, R. SIMONI, A. GIOVANNETTI, L. SILVESTRI, P. PUDDU, O. DE PITA et G. RUSSO, 2002 « T cell receptor-Vbeta analysis identifies a dominant CD60+ CD26- CD49d- T cell clone in the peripheral blood of Sézary syndrome patients », *The Journal of Investigative Dermatology*, 119, 1 : 193-196.
- SCARISBRICK J.J., F.J. CHILD, A.V. EVANS, E.A. FRASER-ANDREWS, M. SPITTLE et R. RUSSELL-JONES, 1999 « Secondary malignant neoplasms in 71 patients with Sézary syndrome », Archives of Dermatology, 135, 11 : 1381-1385.
- SCARISBRICK J.J., E. HODAK, M. BAGOT, R. STRANZENBACH, R. STADLER, P.L. ORTIZ-ROMERO, E. PAPADAVID, F. EVISON, R. KNOBLER, P. QUAGLINO et M.H. VERMEER, 2018a « Blood classification and blood response criteria in mycosis fungoides and Sézary syndrome using flow cytometry: recommendations from the EORTC cutaneous lymphoma task force », European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990), 93 : 47-56.
- SCARISBRICK J.J., E. HODAK, M. BAGOT, R. STRANZENBACH, R. STADLER, P.L. ORTIZ-ROMERO, E. PAPADAVID, R. KNOBLER, P. QUAGLINO et M. VERMEER, 2018b « Developments in the understanding of blood involvement and stage in mycosis fungoides/Sezary syndrome », *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, 101 : 278-280.
- SCARISBRICK J.J., Y.H. KIM, S.J. WHITTAKER, G.S. WOOD, M.H. VERMEER, H.M. PRINCE et P. QUAGLINO, 2014 « Prognostic factors, prognostic indices and staging in mycosis fungoides and Sézary syndrome: where are we now? », *British Journal of Dermatology*, 170, 6 : 1226-1236.
- SCARISBRICK J.J., H.M. PRINCE, M.H. VERMEER, P. QUAGLINO, S. HORWITZ, P. PORCU, R. STADLER, G.S. WOOD, M. BEYLOT-BARRY, A. PHAM-LEDARD, F. FOSS, M. GIRARDI, M. BAGOT, L. MICHEL, M. BATTISTELLA, J. GUITART, T.M. KUZEL, M.E. MARTINEZ-ESCALA, T. ESTRACH, E. PAPADAVID ET AL., 2015 « Cutaneous Lymphoma International Consortium Study of Outcome in Advanced Stages of Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome: Effect of Specific Prognostic Markers on Survival and Development of a Prognostic Model », Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology, 33, 32 : 3766-3773.
- SCARISBRICK J.J., S. WHITTAKER, A.V. EVANS, E.A. FRASER-ANDREWS, F.J. CHILD, A. DEAN et R. RUSSELL-JONES, 2001 « Prognostic significance of tumor burden in the blood of patients with erythrodermic primary cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 97, 3 : 624-630.
- SCHIETINGER A. et P.D. GREENBERG, 2014 « Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction », *Trends in Immunology*, 35, 2 : 51-60.

- SCHMITT C., A. MARIE-CARDINE, M. BAGOT et A. BENSUSSAN, 2013 « Natural killer reprogramming in cutaneous T-cell lymphomas: Facts and hypotheses », *World Journal of Immunology*, 3, 1 : 1-6.
- SCHNEEWEISS M., E. PORPACZY, M. KOCH, C. JONAK, A.-I. SCHIEFER, I. SIMONITSCH-KLUPP, C. SILLABER, M. MAYERHÖFER et U. JÄGER, 2016 « Transformed mycosis fungoides: bridging to allogeneic stem cell transplantation with brentuximab vedotin », *Leukemia & Lymphoma*, 57, 1 : 206-208.
- SCHNEIDER P., L.F. PLASSA, P. RATAJCZAK, C. LEBOEUF, L. VERNEUIL, M. BATTISTELLA, A. BENSUSSAN, M. BAGOT et A. JANIN, 2014 « NKp46-specific expression on skin-resident CD4(+) lymphocytes in mycosis fungoides and Sezary syndrome », J Invest Dermatol, 134, 2 : 574-8.
- SCHOLZEN T. et J. GERDES, 2000 « The Ki-67 protein: from the known and the unknown », Journal of Cellular Physiology, 182, 3 : 311-322.
- SCHWAB C., J. WILLERS, E. NIEDERER, E. LUDWIG, T. KÜNDIG, P. GROB, G. BURG et R. DUMMER, 2002 « The use of anti-Tcell receptor-Vbeta antibodies for the estimation of treatment success and phenotypic characterization of clonal T-cell populations in cutaneous T-cell lymphomas », *British Journal of Haematology*, 118, 4 : 1019-1026.
- SCHWARTZ R.H., 2003 « T cell anergy », Annual Review of Immunology, 21 : 305-334.
- SCHWARZMEIER J.D., E. PAIETTA, T. RADASZKIEWICZ, K. KONRAD et L. MAROSI, 1981 « Proliferation kinetics of Sézary cells », *Blood*, 57, 6 : 1049-1054.
- SCOTT-ALGARA D., K. BALABANIAN, L.A. CHAKRABARTI, L. MOUTHON, F. DROMER, C. DIDIER, F. ARENZANA-SEISDEDOS et O. LORTHOLARY, 2010 « Idiopathic CD4+ T-cell lymphocytopenia is associated with impaired membrane expression of the chemokine receptor CXCR4 », *Blood*, 115, 18 : 3708-3717.
- SEIF F., M. KHOSHMIRSAFA, H. AAZAMI, M. MOHSENZADEGAN, G. SEDIGHI et M. BAHAR, 2017 « The role of JAK-STAT signaling pathway and its regulators in the fate of T helper cells », *Cell Communication and Signaling*, 15, 1 : 23.
- SEKIYA T. et A. YOSHIMURA, 2016 « In Vitro Th Differentiation Protocol », *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 1344 : 183-191.
- SETO A.G., X. BEATTY, J.M. LYNCH, M. HERMRECK, M. TETZLAFF, M. DUVIC et A.L. JACKSON, 2018 « Cobomarsen, an oligonucleotide inhibitor of miR-155, co-ordinately regulates multiple survival pathways to reduce cellular proliferation and survival in cutaneous T-cell lymphoma », *British Journal of Haematology*, 183, 3 : 428-444.
- SHACKNEY S.E. et W.H. SCHUETTE, 1983 « Multicompartment analysis of cell proliferation and cell migration in the Sezary syndrome », *Hematological Oncology*, 1, 1 : 31-48.
- SHARPE A.H. et G.J. FREEMAN, 2002 « The B7–CD28 superfamily », Nature Reviews Immunology, 2, 2 : 116-126.
- SHAW J. et S. KOLLNBERGER, 2012 « New perspectives on the ligands and function of the killer cell immunoglobulinlike receptor KIR3DL2 in health and disease », *Front Immunol*, 3 : 339.
- SHEN X., B. WANG, K. LI, L. WANG, X. ZHAO, F. XUE, R. SHI et J. ZHENG, 2018 « MicroRNA Signatures in Diagnosis and Prognosis of Cutaneous T-Cell Lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 138, 9 : 2024-2032.
- SHERWOOD A.M., C. DESMARAIS, R.J. LIVINGSTON, J. ANDRIESEN, M. HAUSSLER, C.S. CARLSON et H. ROBINS, 2011 « Deep sequencing of the human TCRγ and TCRβ repertoires suggests that TCRβ rearranges after αβ and γδ T cell commitment », *Science Translational Medicine*, 3, 90 : 90ra61.

- SHIMASAKI N., A. JAIN et D. CAMPANA, 2020 « NK cells for cancer immunotherapy », *Nature Reviews Drug Discovery*, 19, 3 : 200-218.
- SHIMIZU J., S. YAMAZAKI et S. SAKAGUCHI, 1999 « Induction of tumor immunity by removing CD25+CD4+ T cells: a common basis between tumor immunity and autoimmunity », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 163, 10 : 5211-5218.
- SHIMIZU R., J. KIKUCHI, T. WADA, K. OZAWA, Y. KANO et Y. FURUKAWA, 2010 « HDAC inhibitors augment cytotoxic activity of rituximab by upregulating CD20 expression on lymphoma cells », *Leukemia*, 24, 10 : 1760-1768.
- SHIMONY S., N. HOROWITZ, E. RIBAKOVSKY, U. ROZOVSKI, A. AVIGDOR, K. ZLOTO, T. BERGER, I. AVIVI, C. PERRY, U. ABADI, P. RAANANI, A. GAFTER-GVILI et R. GURION, 2019 « Romidepsin treatment for relapsed or refractory peripheral and cutaneous T-cell lymphoma: Real-life data from a national multicenter observational study », *Hematological Oncology*, 37, 5 : 569-577.
- SHIN J., S. MONTI, D.J. AIRES, M. DUVIC, T. GOLUB, D.A. JONES et T.S. KUPPER, 2007 « Lesional gene expression profiling in cutaneous T-cell lymphoma reveals natural clusters associated with disease outcome », *Blood*, 110, 8 : 3015-3027.
- SHINDO T., K. KITAURA, H. URESHINO, K. KAMACHI, M. MIYAHARA, K. DOI, T. WATANABE, E. SUEOKA, T. SHIN-I, R. SUZUKI et S. KIMURA, 2018 « Deep sequencing of the T cell receptor visualizes reconstitution of T cell immunity in mogamulizumab-treated adult T cell leukemia », Oncoimmunology, 7, 3 : e1405204.
- SHONO Y., H. SUGA, H. KAMIJO, H. FUJII, T. OKA, T. MIYAGAKI, N. SHISHIDO-TAKAHASHI, M. SUGAYA et S. SATO, 2019 « Expression of CCR3 and CCR4 Suggests a Poor Prognosis in Mycosis Fungoides and Sézary Syndrome », Acta Dermato-Venereologica, 99, 9 : 809-812.
- SHOWE L.C., F.E. FOX, D. WILLIAMS, K. AU, Z. NIU et A.H. ROOK, 1999 « Depressed IL-12-mediated signal transduction in T cells from patients with Sézary syndrome is associated with the absence of IL-12 receptor beta 2 mRNA and highly reduced levels of STAT4 », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 163, 7 : 4073-4079.
- SICA A. et M. MASSAROTTI, 2017 « Myeloid suppressor cells in cancer and autoimmunity », *Journal of Autoimmunity*, 85 : 117-125.
- SIVORI S., M. FALCO, S. CARLOMAGNO, E. ROMEO, C. SOLDANI, A. BENSUSSAN, A. VIOLA, L. MORETTA et A. MORETTA, 2010 « A novel KIR-associated function: evidence that CpG DNA uptake and shuttling to early endosomes is mediated by KIR3DL2 », *Blood*, 116, 10 : 1637-1647.
- SNYDER M.R., L.-O. MUEGGE, C. OFFORD, W.M. O'FALLON, Z. BAJZER, C.M. WEYAND et J.J. GORONZY, 2002 « Formation of the killer Ig-like receptor repertoire on CD4+CD28null T cells », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 168, 8 : 3839-3846.
- SOKOLOWSKA-WOJDYLO M., J. WENZEL, E. GAFFAL, J. LENZ, P. SPEUSER, S. ERDMANN, F. ABUZAHRA, E. BOWMAN, J. ROSZKIEWICZ, T. BIEBER et T. TUTING, 2005 « Circulating clonal CLA(+) and CD4(+) T cells in Sezary syndrome express the skin-homing chemokine receptors CCR4 and CCR10 as well as the lymph node-homing chemokine receptor CCR7 », *Br J Dermatol*, 152, 2 : 258-64.
- SOMMER V.H., O.J. CLEMMENSEN, O. NIELSEN, M. WASIK, P. LOVATO, C. BRENDER, K.W. ERIKSEN, A. WOETMANN, C.G. KAESTEL, M.H. NISSEN, C. ROPKE, S. SKOV et N. ØDUM, 2004 « In vivo activation of STAT3 in cutaneous T-cell lymphoma. Evidence for an antiapoptotic function of STAT3 », *Leukemia*, 18, 7 : 1288-1295.
- SONG S.X., R. WILLEMZE, S.H. SWERDLOW, M.C. KINNEY et J.W. SAID, 2013 « Mycosis fungoides: report of the 2011 Society for Hematopathology/European Association for Haematopathology workshop », American Journal of Clinical Pathology, 139, 4 : 466-490.

- SOUMELIS V. et Y.-J. LIU, 2004 « Human thymic stromal lymphopoietin: a novel epithelial cell-derived cytokine and a potential key player in the induction of allergic inflammation », *Springer Seminars in Immunopathology*, 25, 3-4 : 325-333.
- SPISEK R., Z. GASOVA et J. BARTUNKOVA, 2006 « Maturation state of dendritic cells during the extracorporeal photopheresis and its relevance for the treatment of chronic graft-versus-host disease », *Transfusion*, 46, 1:55-65.
- SPRINGER T.A., 1994 « Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm », *Cell*, 76, 2 : 301-314.
- STEINHOFF M., S. SCHÖPP, C. ASSAF, M. MUCHE, M. BEYER, W. STERRY et A. LUKOWSKY, 2009 « Prevalence of genetically defined tumor cells in CD7 as well as CD26 positive and negative circulating T-cell subsets in Sézary syndrome », *Leukemia Research*, 33, 1 : 88-99.
- STEINMAN R.M., D. HAWIGER et M.C. NUSSENZWEIG, 2003 « Tolerogenic dendritic cells », Annual Review of Immunology, 21: 685-711.
- STERRY W. et V. MIELKE, 1989 « CD4+ cutaneous T-cell lymphomas show the phenotype of helper/inducer T cells (CD45RA-, CDw29+) », *The Journal of Investigative Dermatology*, 93, 3 : 413-416.
- STERRY W., V. MIELKE, U. KONTER, I. KELLNER et W.H. BOEHNCKE, 1992 « Role of beta 1-integrins in epidermotropism of malignant T cells », *The American Journal of Pathology*, 141, 4 : 855-860.
- STORZ M., K. ZEPTER, J. KAMARASHEV, R. DUMMER, G. BURG et A.C. HÄFFNER, 2001 « Coexpression of CD40 and CD40 ligand in cutaneous T-cell lymphoma (mycosis fungoides) », *Cancer Research*, 61, 2 : 452-454.
- SUBRAMANIAN A., P. TAMAYO, V.K. MOOTHA, S. MUKHERJEE, B.L. EBERT, M.A. GILLETTE, A. PAULOVICH, S.L. POMEROY, T.R. GOLUB, E.S. LANDER et J.P. MESIROV, 2005 « Gene set enrichment analysis: a knowledge-based approach for interpreting genome-wide expression profiles », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102, 43 : 15545-15550.
- SUCHIN K.R., M. CASSIN, S.L. GOTTLEIB, S. SOOD, A.J. CUCCHIARA, E.C. VONDERHEID et A.H. ROOK, 2001 « Increased interleukin 5 production in eosinophilic Sézary syndrome: regulation by interferon alfa and interleukin 12 », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 44, 1 : 28-32.
- SUGA H., M. SUGAYA, T. MIYAGAKI, M. KAWAGUCHI, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2014 « The role of IL-32 in cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 134, 5 : 1428-1435.
- SUGA H., M. SUGAYA, T. MIYAGAKI, H. OHMATSU, H. FUJITA, S. KAGAMI, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO et S. SATO, 2013 « Association of nerve growth factor, chemokine (C-C motif) ligands and immunoglobulin E with pruritus in cutaneous T-cell lymphoma », *Acta Dermato-Venereologica*, 93, 2 : 144-149.
- SUGAYA M., 2010 « Chemokines and cutaneous lymphoma », Journal of Dermatological Science, 59, 2 : 81-85.
- SUGAYA M., T. MIYAGAKI, H. OHMATSU, H. SUGA, H. KAI, M. KAMATA, H. FUJITA, Y. ASANO, Y. TADA, T. KADONO, H. OKOCHI et S. SATO, 2012 « Association of the numbers of CD163(+) cells in lesional skin and serum levels of soluble CD163 with disease progression of cutaneous T cell lymphoma », *Journal of Dermatological Science*, 68, 1 : 45-51.
- SUGIYAMA D., H. NISHIKAWA, Y. MAEDA, M. NISHIOKA, A. TANEMURA, I. KATAYAMA, S. EZOE, Y. KANAKURA, E. SATO, Y. FUKUMORI, J. KARBACH, E. JÄGER et S. SAKAGUCHI, 2013 « Anti-CCR4 mAb selectively depletes effector-type FoxP3+CD4+ regulatory T cells, evoking antitumor immune responses in humans », Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 110, 44 : 17945-17950.
- SUN J. et Y. WANG, 2019 « KIR3DL2 in cutaneous T-cell lymphoma: from a promising biomarker to a potential therapeutic target », *The British Journal of Dermatology*.

SURH C.D. et J. SPRENT, 2008 « Homeostasis of naive and memory T cells », Immunity, 29, 6 : 848-862.

- SUZUKI Y., M. SAITO, T. ISHII, I. URAKAWA, A. MATSUMOTO, A. MASAKI, A. ITO, S. KUSUMOTO, S. SUZUKI, M. HIURA, T. TAKAHASHI, A. MORITA, H. INAGAKI, S. IIDA et T. ISHIDA, 2019 « Mogamulizumab Treatment Elicits Autoantibodies Attacking the Skin in Patients with Adult T-Cell Leukemia-Lymphoma », Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 25, 14 : 4388-4399.
- TADA K., T. HAMADA, K. ASAGOE, H. UMEMURA, K. MIZUNO-IKEDA, Y. AOYAMA, M. OTSUKA, O. YAMASAKI et K. IWATSUKI, 2014 « Increase of DC-LAMP+ mature dendritic cell subsets in dermatopathic lymphadenitis of mycosis fungoides », European journal of dermatology: EJD, 24, 6 : 670-675.
- DE TAEYE S.W., T. RISPENS et G. VIDARSSON, 2019 « The Ligands for Human IgG and Their Effector Functions », Antibodies, 8, 2.
- TAKAHASHI N., M. SUGAYA, H. SUGA, T. OKA, M. KAWAGUCHI, T. MIYAGAKI, H. FUJITA, T. INOZUME et S. SATO, 2017 « Increased Soluble CD226 in Sera of Patients with Cutaneous T-Cell Lymphoma Mediates Cytotoxic Activity against Tumor Cells via CD155 », *The Journal of Investigative Dermatology*, 137, 8 : 1766-1773.
- TAKAHASHI N., M. SUGAYA, H. SUGA, T. OKA, M. KAWAGUCHI, T. MIYAGAKI, H. FUJITA et S. SATO, 2016 « Thymic Stromal Chemokine TSLP Acts through Th2 Cytokine Production to Induce Cutaneous T-cell Lymphoma », *Cancer Research*, 76, 21 : 6241-6252.
- TALPUR R., R. BASSETT et M. DUVIC, 2008 « Prevalence and treatment of Staphylococcus aureus colonization in patients with mycosis fungoides and Sézary syndrome », *The British Journal of Dermatology*, 159, 1 : 105-112.
- TALPUR R., D.M. JONES, A.J. ALENCAR, N. APISARNTHANARAX, K.L. HERNE, Y. YANG et M. DUVIC, 2006 « CD25 expression is correlated with histological grade and response to denileukin diftitox in cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 126, 3 : 575-583.
- TAN S.-Y., B. ROEDIGER et W. WENINGER, 2015 « The role of chemokines in cutaneous immunosurveillance », Immunology And Cell Biology, 93, 4 : 337-346.
- TANAKA A. et S. SAKAGUCHI, 2017 « Regulatory T cells in cancer immunotherapy », Cell Research, 27, 1: 109-118.
- TANCRÈDE-BOHIN E., M.A. IONESCU, P. DE LA SALMONIÈRE, A. DUPUY, J. RIVET, M. RYBOJAD, L. DUBERTRET, H. BACHELEZ, C. LEBBÉ et P. MOREL, 2004 « Prognostic value of blood eosinophilia in primary cutaneous T-cell lymphomas », *Archives of Dermatology*, 140, 9 : 1057-1061.
- TANITA K., T. FUJIMURA, Y. SATO, C. LYU, Y. KAMBAYASHI, D. OGATA, S. FUKUSHIMA, A. MIYASHITA, H. NAKAJIMA, M. NAKAMURA, A. MORITA et S. AIBA, 2019 « Bexarotene Reduces Production of CCL22 From Tumor-Associated Macrophages in Cutaneous T-Cell Lymphoma », Frontiers in Oncology, 9 : 907.
- TARABADKAR E.S. et M.M. SHINOHARA, 2019 « Skin Directed Therapy in Cutaneous T-Cell Lymphoma », Frontiers in Oncology, 9.
- TAVERNIERS A., A. DU-THANH, M. CHARISSOUX, C. KERR et O. DEREURE, 2019 « Low- vs. Middle-dose Total Skin Electron Beam Therapy for Mycosis Fungoides: An Efficiency-based Retrospective Survey of Skin Response », Acta Dermato-Venereologica, 99, 6 : 544-550.
- TENDLER C.L., J.D. BURTON, J. JAFFE, D. DANIELPOUR, M. CHARLEY, J.P. MCCOY, M.R. PITTELKOW et T.A. WALDMANN, 1994 « Abnormal cytokine expression in Sézary and adult T-cell leukemia cells correlates with the functional diversity between these T-cell malignancies », *Cancer Research*, 54, 16 : 4430-4435.
- TERUI Y., Y. MISHIMA, N. SUGIMURA, K. KOJIMA, T. SAKURAI, Y. MISHIMA, R. KUNIYOSHI, A. TANIYAMA, M. YOKOYAMA, S. SAKAJIRI, K. TAKEUCHI, C. WATANABE, S. TAKAHASHI, Y. ITO et K. HATAKE, 2009 « Identification of CD20 C-terminal deletion mutations associated with loss of CD20 expression in non-Hodgkin's lymphoma »,

Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research, 15, 7 : 2523-2530.

- THEODOROU I., M.H. DELFAU-LARUE, C. BIGORGNE, C. LAHET, G. COCHET, M. BAGOT, J. WECHSLER et J.P. FARCET, 1995 « Cutaneous T-cell infiltrates: analysis of T-cell receptor gamma gene rearrangement by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis », *Blood*, 86, 1 : 305-310.
- THESTRUP-PEDERSEN K., R. PARHAR, K. WU, P.-A. BERTILSSON, B. MEYER, S. ABU-AMERO, B. HAINAU, A. ALEISA, A. ALFADLEY, I. HAMADAH, A. ALAJLAN, K. AL-HUSSEIN et F. AL-MOHANNA, 2007 « Skin-homing CD8+ T lymphocytes show preferential growth in vitro and suppress CD4+ T-cell proliferation in patients with early stages of cutaneous T-cell lymphoma », Acta Dermato-Venereologica, 87, 2 : 118-126.
- THODE C., A. WOETMANN, H.H. WANDALL, M.C. CARLSSON, K. QVORTRUP, C.S. KAUCZOK, M. WOBSER, A. PRINTZLAU, N. ØDUM et S. DABELSTEEN, 2015 « Malignant T cells secrete galectins and induce epidermal hyperproliferation and disorganized stratification in a skin model of cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 135, 1 : 238-246.
- THOMAS D., O. DAUWALDER, V. BRUN, C. BADIOU, T. FERRY, J. ETIENNE, F. VANDENESCH et G. LINA, 2009 « Staphylococcus aureus Superantigens Elicit Redundant and Extensive Human Vβ Patterns », *Infection and Immunity*, 77, 5 : 2043-2050.
- THOME J.J.C., K.L. BICKHAM, Y. OHMURA, M. KUBOTA, N. MATSUOKA, C. GORDON, T. GRANOT, A. GRIESEMER, H. LERNER, T. KATO et D.L. FARBER, 2016a « Early-life compartmentalization of human T cell differentiation and regulatory function in mucosal and lymphoid tissues », *Nature Medicine*, 22, 1 : 72-77.
- THOME J.J.C. et D.L. FARBER, 2015 « Emerging concepts in tissue-resident T cells: lessons from humans », *Trends in Immunology*, 36, 7 : 428-435.
- THOME J.J.C., B. GRINSHPUN, B.V. KUMAR, M. KUBOTA, Y. OHMURA, H. LERNER, G.D. SEMPOWSKI, Y. SHEN et D.L. FARBER, 2016b « Longterm maintenance of human naive T cells through in situ homeostasis in lymphoid tissue sites », *Science Immunology*, 1, 6.
- THOMMEN D.S. et T.N. SCHUMACHER, 2018 « T Cell Dysfunction in Cancer », Cancer Cell, 33, 4 : 547-562.
- THOMPSON J.A., O. AKILOV, C. QUERFELD, M.H. TAYLOR, L. JOHNSON, T. CATALANO, P.S. PETROVA, R.A. UGER, M. IRWIN et E.L. SIEVERS, 2017 « A phase 1 dose-escalation trial of intratumoral TTI-621, a novel immune checkpoint inhibitor targeting CD47, in subjects with relapsed or refractory percutaneously-accessible solid tumors and mycosis fungoides. », Journal of Clinical Oncology, 35, 15_suppl : TPS3101-TPS3101.
- THONNART N., A. CAUDRON, I. LEGAZ, M. BAGOT, A. BENSUSSAN et A. MARIE-CARDINE, 2014 « KIR3DL2 is a coinhibitory receptor on Sézary syndrome malignant T cells that promotes resistance to activation-induced cell death », *Blood*, 124, 22 : 3330-3332.
- THUMANN P., M. LÜFTL, I. MOC, M. BAGOT, A. BENSUSSAN, G. SCHULER et L. JENNE, 2003 « Interaction of cutaneous lymphoma cells with reactive T cells and dendritic cells: implications for dendritic cell-based immunotherapy », *The British Journal of Dermatology*, 149, 6 : 1128-1142.
- TIEMESSEN M.M., T.J. MITCHELL, L. HENDRY, S.J. WHITTAKER, L.S. TAAMS et S. JOHN, 2006 « Lack of suppressive CD4+CD25+FOXP3+ T cells in advanced stages of primary cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 126, 10 : 2217-2223.
- TOKURA Y., P.W. HEALD, S.L. YAN et R.L. EDELSON, 1992 « Stimulation of cutaneous T-cell lymphoma cells with superantigenic staphylococcal toxins », *The Journal of Investigative Dermatology*, 98, 1 : 33-37.
- TRACEY L., R. VILLUENDAS, A.M. DOTOR, I. SPITERI, P. ORTIZ, J.F. GARCIA, J.L.R. PERALTO, M. LAWLER et M.A. PIRIS, 2003 « Mycosis fungoides shows concurrent deregulation of multiple genes involved in the TNF signaling pathway: an expression profile study », *Blood*, 102, 3 : 1042-1050.

- TRAUTINGER F., J. EDER, C. ASSAF, M. BAGOT, A. COZZIO, R. DUMMER, R. GNIADECKI, C.-D. KLEMKE, P.L. ORTIZ-ROMERO, E. PAPADAVID, N. PIMPINELLI, P. QUAGLINO, A. RANKI, J. SCARISBRICK, R. STADLER, L. VÄKEVÄ, M.H. VERMEER, S. WHITTAKER, R. WILLEMZE et R. KNOBLER, 2017 « European Organisation for Research and Treatment of Cancer consensus recommendations for the treatment of mycosis fungoides/Sézary syndrome Update 2017 », European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990), 77 : 57-74.
- TSANG M., J. GANTCHEV, E. NETCHIPOROUK, L. MOREAU, F.M. GHAZAWI, S. GLASSMAN, D. SASSEVILLE et I.V. LITVINOV, 2018 « A study of meiomitosis and novel pathways of genomic instability in cutaneous T-cell lymphomas (CTCL) », Oncotarget, 9, 102 : 37647-37661.
- TUZOVA M., J. RICHMOND, D. WOLPOWITZ, C. CURIEL-LEWANDROWSKI, K. CHANEY, T. KUPPER et W. CRUIKSHANK, 2015 « CCR4+T cell recruitment to the skin in mycosis fungoides: potential contributions by thymic stromal lymphopoietin and interleukin-16 », *Leukemia & Lymphoma*, 56, 2 : 440-449.
- UNGEWICKELL A., A. BHADURI, E. RIOS, J. REUTER, C.S. LEE, A. MAH, A. ZEHNDER, R. OHGAMI, S. KULKARNI, R. ARMSTRONG, W.-K. WENG, D. GRATZINGER, M. TAVALLAEE, A. ROOK, M. SNYDER, Y. KIM et P.A. KHAVARI, 2015 « Genomic analysis of mycosis fungoides and Sézary syndrome identifies recurrent alterations in TNFR2 », *Nature Genetics*, 47, 9 : 1056-1060.
- URESHINO H., T. SHINDO, H. NISHIKAWA, N. WATANABE, E. WATANABE, N. SATOH, K. KITAURA, H. KITAMURA, K. DOI, K. NAGASE, H. KIMURA, M. SAMUKAWA, S. KUSUNOKI, M. MIYAHARA, T. SHIN-I, R. SUZUKI, S. SAKAGUCHI et S. KIMURA, 2016 « Effector Regulatory T Cells Reflect the Equilibrium between Antitumor Immunity and Autoimmunity in Adult T-cell Leukemia », *Cancer Immunology Research*, 4, 8 : 644-649.
- VACCA A., S. MORETTI, D. RIBATTI, A. PELLEGRINO, N. PIMPINELLI, B. BIANCHI, E. BONIFAZI, R. RIA, G. SERIO et F. DAMMACCO, 1997 « Progression of mycosis fungoides is associated with changes in angiogenesis and expression of the matrix metalloproteinases 2 and 9 », *European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990)*, 33, 10 : 1685-1692.
- VAN DALEN F.J., M.H.M.E. VAN STEVENDAAL, F.L. FENNEMANN, M. VERDOES et O. ILINA, 2019 « Molecular Repolarisation of Tumour-Associated Macrophages », *Molecules*, 24, 1 : 9.
- VAN DAMME J., S. STRUYF et G. OPDENAKKER, 2004 « Chemokine-protease interactions in cancer », *Seminars in Cancer Biology*, 14, 3 : 201-208.
- VERMEER M.H., R. VAN DOORN, R. DIJKMAN, X. MAO, S. WHITTAKER, P.C. VAN VOORST VADER, M.-J.P. GERRITSEN, M.-L. GEERTS, S. GELLRICH, O. SÖDERBERG, K.-J. LEUCHOWIUS, U. LANDEGREN, J.J. OUT-LUITING, J. KNIJNENBURG, M. IJSZENGA, K. SZUHAI, R. WILLEMZE et C.P. TENSEN, 2008 « Novel and highly recurrent chromosomal alterations in Sézary syndrome », *Cancer Research*, 68, 8 : 2689-2698.
- VERMEER M.H., R. VAN DOORN, D. DUKERS, M.W. BEKKENK, C.J. MEIJER et R. WILLEMZE, 2001 « CD8+ T cells in cutaneous T-cell lymphoma: expression of cytotoxic proteins, Fas Ligand, and killing inhibitory receptors and their relationship with clinical behavior », *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 19, 23 : 4322-4329.
- VERMEER M.H., F.A. GEELEN, J.A. KUMMER, C.J. MEIJER et R. WILLEMZE, 1999 « Expression of cytotoxic proteins by neoplastic T cells in mycosis fungoides increases with progression from plaque stage to tumor stage disease », *The American Journal of Pathology*, 154, 4 : 1203-1210.
- VIEYRA-GARCIA P., J.D. CROUCH, J.T. O'MALLEY, E.W. SEGER, C.H. YANG, J.E. TEAGUE, A.M. VROMANS, A. GEHAD, T.S. WIN, Z. YU, E.L. LOWRY, J.-I. NA, A.H. ROOK, P. WOLF et R.A. CLARK, 2019 « Benign T cells drive clinical skin inflammation in cutaneous T cell lymphoma », *JCl insight*, 4, 1.
- VIEYRA-GARCIA P.A., T. WEI, D.G. NAYM, S. FREDHOLM, R. FINK-PUCHES, L. CERRONI, N. ODUM, J.T. O'MALLEY, R. GNIADECKI et P. WOLF, 2016 « STAT3/5-Dependent IL9 Overexpression Contributes to Neoplastic Cell Survival in Mycosis Fungoides », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 22, 13 : 3328-3339.

- VONDERHEID E., 2018 « Comment on B ratings for erythrodermic cutaneous T-cell lymphoma », European Journal of Cancer (Oxford, England: 1990), 101 : 281-283.
- VONDERHEID E.C., C.M. BOSELLI, M. CONROY, L. CASAUS, L.C. ESPINOZA, P. VENKATARAMANI, R.D. BIGLER et J. STEVE HOU, 2005 « Evidence for Restricted Vβ Usage in the Leukemic Phase of Cutaneous T Cell Lymphoma », *Journal of Investigative Dermatology*, 124, 3 : 651-661.
- VONDERHEID E.C. et J.S. HOU, 2018 « CD4+CD26- lymphocytes are useful to assess blood involvement and define B ratings in cutaneous T cell lymphoma », *Leukemia & Lymphoma*, 59, 2 : 330-339.
- VOWELS B.R., M. CASSIN, M.H. BOUFAL, L.J. WALSH et A.H. ROOK, 1992a « Extracorporeal photochemotherapy induces the production of tumor necrosis factor-alpha by monocytes: implications for the treatment of cutaneous T-cell lymphoma and systemic sclerosis », *The Journal of Investigative Dermatology*, 98, 5 : 686-692.
- VOWELS B.R., M. CASSIN, E.C. VONDERHEID et A.H. ROOK, 1992b « Aberrant cytokine production by Sezary syndrome patients: cytokine secretion pattern resembles murine Th2 cells », *The Journal of Investigative Dermatology*, 99, 1:90-94.
- VOWELS B.R., S.R. LESSIN, M. CASSIN, C. JAWORSKY, B. BENOIT, J.T. WOLFE et A.H. ROOK, 1994 « Th2 cytokine mRNA expression in skin in cutaneous T-cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 103, 5 : 669-673.
- VULCANO M., C. ALBANESI, A. STOPPACCIARO, R. BAGNATI, G. D'AMICO, S. STRUYF, P. TRANSIDICO, R. BONECCHI, A. DEL PRETE, P. ALLAVENA, L.P. RUCO, C. CHIABRANDO, G. GIROLOMONI, A. MANTOVANI et S. SOZZANI, 2001 « Dendritic cells as a major source of macrophage-derived chemokine/CCL22 in vitro and in vivo », *European Journal of Immunology*, 31, 3 : 812-822.
- WADA D.A., R.A. WILCOX, S.M. HARRINGTON, E.D. KWON, S.M. ANSELL et N.I. COMFERE, 2011 « Programmed death 1 is expressed in cutaneous infiltrates of mycosis fungoides and Sézary syndrome », American Journal of Hematology, 86, 3 : 325-327.
- WANG L., X. NI, K.R. COVINGTON, B.Y. YANG, J. SHIU, X. ZHANG, L. XI, Q. MENG, T. LANGRIDGE, J. DRUMMOND, L.A. DONEHOWER, H. DODDAPANENI, D.M. MUZNY, R.A. GIBBS, D.A. WHEELER et M. DUVIC, 2015 « Genomic profiling of Sézary syndrome identifies alterations of key T cell signaling and differentiation genes », *Nature Genetics*, 47, 12 : 1426-1434.
- WANG X., X. YANG, C. ZHANG, Y. WANG, T. CHENG, L. DUAN, Z. TONG, S. TAN, H. ZHANG, P.E. SAW, Y. GU, J. WANG, Y. ZHANG, L. SHANG, Y. LIU, S. JIANG, B. YAN, R. LI, Y. YANG, J. YU, Y. CHEN, G.F. GAO, Q. YE et S. GAO, 2020 « Tumor cell-intrinsic PD-1 receptor is a tumor suppressor and mediates resistance to PD-1 blockade therapy », Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 117, 12 : 6640-6650.
- WANG Y., M. SU, L.L. ZHOU, P. TU, X. ZHANG, X. JIANG et Y. ZHOU, 2011 « Deficiency of SATB1 expression in Sezary cells causes apoptosis resistance by regulating FasL/CD95L transcription », *Blood*, 117, 14 : 3826-3835.
- WARTEWIG T., Z. KURGYIS, S. KEPPLER, K. PECHLOFF, E. HAMEISTER, R. ÖLLINGER, R. MARESCH, T. BUCH, K. STEIGER, C. WINTER, R. RAD et J. RULAND, 2017 « PD-1 is a haploinsufficient suppressor of T cell lymphomagenesis », *Nature*, 552, 7683 : 121-125.
- WARTEWIG T. et J. RULAND, 2019 « PD-1 Tumor Suppressor Signaling in T Cell Lymphomas », *Trends in Immunology*, 40, 5 : 403-414.
- WATANABE R., A. GEHAD, C. YANG, L.L. SCOTT, J.E. TEAGUE, C. SCHLAPBACH, C.P. ELCO, V. HUANG, T.R. MATOS, T.S. KUPPER et R.A. CLARK, 2015 « Human skin is protected by four functionally and phenotypically discrete populations of resident and recirculating memory T cells », *Science Translational Medicine*, 7, 279 : 279ra39.

- WENINGER W., M.A. CROWLEY, N. MANJUNATH et U.H. VON ANDRIAN, 2001 « Migratory properties of naive, effector, and memory CD8(+) T cells », *The Journal of Experimental Medicine*, 194, 7 : 953-966.
- WERTHEIMER A.M., M.S. BENNETT, B. PARK, J.L. UHRLAUB, C. MARTINEZ, V. PULKO, N.L. CURRIER, D. NIKOLICH-ŽUGICH, J. KAYE et J. NIKOLICH-ŽUGICH, 2014 « Aging and cytomegalovirus infection differentially and jointly affect distinct circulating T cell subsets in humans », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 192, 5 : 2143-2155.
- WHERRY E.J. et M. KURACHI, 2015 « Molecular and cellular insights into T cell exhaustion », *Nature Reviews Immunology*, 15, 8 : 486-499.
- WHITESIDE T., 2008 « The tumor microenvironment and its role in promoting tumor growth », *Oncogene*, 27, 45 : 5904-5912.
- WHITTAKER S., R. HOPPE et H.M. PRINCE, 2016 « How I treat mycosis fungoides and Sézary syndrome », *Blood*, 127, 25 : 3142-3153.
- WILCOX R.A., 2014 « Cutaneous T-cell lymphoma: 2014 update on diagnosis, risk-stratification, and management », American Journal of Hematology, 89, 8 : 837-851.
- WILCOX R.A., A.L. FELDMAN, D.A. WADA, Z.-Z. YANG, N.I. COMFERE, H. DONG, E.D. KWON, A.J. NOVAK, S.N. MARKOVIC, M.R. PITTELKOW, T.E. WITZIG et S.M. ANSELL, 2009a « B7-H1 (PD-L1, CD274) suppresses host immunity in T-cell lymphoproliferative disorders », *Blood*, 114, 10 : 2149-2158.
- WILCOX R.A., D.A. WADA, S.C. ZIESMER, S.F. ELSAWA, N.I. COMFERE, A.B. DIETZ, A.J. NOVAK, T.E. WITZIG, A.L. FELDMAN, M.R. PITTELKOW et S.M. ANSELL, 2009b « Monocytes promote tumor cell survival in T-cell lymphoproliferative disorders and are impaired in their ability to differentiate into mature dendritic cells », *Blood*, 114, 14 : 2936-2944.
- WILKINSON B., J.Y.-F. CHEN, P. HAN, K.M. RUFNER, O.D. GOULARTE et J. KAYE, 2002 « TOX: an HMG box protein implicated in the regulation of thymocyte selection », *Nature Immunology*, 3, 3 : 272-280.
- WILLEMZE R., E.S. JAFFE, G. BURG, L. CERRONI, E. BERTI, S.H. SWERDLOW, E. RALFKIAER, S. CHIMENTI, J.L. DIAZ-PEREZ, L.M. DUNCAN, F. GRANGE, N.L. HARRIS, W. KEMPF, H. KERL, M. KURRER, R. KNOBLER, N. PIMPINELLI, C. SANDER, M. SANTUCCI, W. STERRY, M.H. VERMEER, J. WECHSLER, S. WHITTAKER et C.J.L.M. MEIJER, 2005 « WHO-EORTC classification for cutaneous lymphomas », *Blood*, 105, 10 : 3768-3785.
- WILLEMZE R., H. KERL, W. STERRY, E. BERTI, L. CERRONI, S. CHIMENTI, J.L. DIAZ-PEREZ, M.L. GEERTS, M. GOOS, R. KNOBLER,
 E. RALFKIAER, M. SANTUCCI, N. SMITH, J. WECHSLER, W.A. VAN VLOTEN et C.J. MEIJER, 1997 « EORTC classification for primary cutaneous lymphomas: a proposal from the Cutaneous Lymphoma Study Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer », *Blood*, 90, 1 : 354-71.
- WILLEMZE R. et C.J.L.M. MEIJER, 2006 « Classification of cutaneous T-cell lymphoma: from Alibert to WHO-EORTC », Journal of Cutaneous Pathology, 33 Suppl 1 : 18-26.
- WILLERSLEV-OLSEN A., T. KREJSGAARD, L.M. LINDAHL, C.M. BONEFELD, M.A. WASIK, S.B. KORALOV, C. GEISLER, M. KILIAN, L. IVERSEN, A. WOETMANN et N. ODUM, 2013 « Bacterial toxins fuel disease progression in cutaneous T-cell lymphoma », *Toxins*, 5, 8 : 1402-1421.
- WILLERSLEV-OLSEN A., T. KREJSGAARD, L.M. LINDAHL, I.V. LITVINOV, S. FREDHOLM, D.L. PETERSEN, C. NASTASI, R. GNIADECKI, N.P. MONGAN, D. SASSEVILLE, M.A. WASIK, C.M. BONEFELD, C. GEISLER, A. WOETMANN, L. IVERSEN, M. KILIAN, S.B. KORALOV et N. ODUM, 2016 « Staphylococcal enterotoxin A (SEA) stimulates STAT3 activation and IL-17 expression in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 127, 10 : 1287-1296.
- WILLERSLEV-OLSEN A., I.V. LITVINOV, S.M. FREDHOLM, D.L. PETERSEN, N.A. SIBBESEN, R. GNIADECKI, Q. ZHANG, C.M. BONEFELD, M.A. WASIK, C. GEISLER, Y. ZHOU, A. WOETMANN, D. SASSEVILLE, T. KREJSGAARD et N. ODUM, 2014

« IL-15 and IL-17F are differentially regulated and expressed in mycosis fungoides (MF) », Cell Cycle (Georgetown, Tex.), 13, 8 : 1306-1312.

WILLHEIM M., C. EBNER, K. BAIER, W. KERN, K. SCHRATTBAUER, R. THIEN, D. KRAFT, H. BREITENEDER, W. REINISCH et O. SCHEINER, 1997 « Cell surface characterization of T lymphocytes and allergen-specific T cell clones: correlation of CD26 expression with T(H1) subsets », *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 100, 3 : 348-355.

WINTER G. et C. MILSTEIN, 1991 « Man-made antibodies », Nature, 349, 6307 : 293-299.

- WOETMANN A., P. LOVATO, K.W. ERIKSEN, T. KREJSGAARD, T. LABUDA, Q. ZHANG, A.-M. MATHIESEN, C. GEISLER, A. SVEJGAARD,
 M.A. WASIK et N. ØDUM, 2007 « Nonmalignant T cells stimulate growth of T-cell lymphoma cells in the presence of bacterial toxins », *Blood*, 109, 8 : 3325-3332.
- WOLNICKA-GLUBISZ A., J. FRACZEK, J. SKRZECZYNSKA-MONCZNIK, G. FRIEDLEIN, T. MIKOLAJCZYK, T. SARNA et J. PRYJMA, 2010 « Effect of UVA and 8-methoxypsoralen, 4, 6, 4'-trimethylangelicin or chlorpromazine on apoptosis of lymphocytes and their recognition by monocytes », *Journal of Physiology and Pharmacology: An Official Journal of the Polish Physiological Society*, 61, 1 : 107-114.
- WONG H.K., A.J. WILSON, H.M. GIBSON, M.S. HAFNER, C.J. HEDGCOCK, C.L. BERGER, R.L. EDELSON et H.W. LIM, 2006 « Increased Expression of CTLA-4 in Malignant T Cells from Patients with Mycosis Fungoides – Cutaneous T-Cell Lymphoma », Journal of Investigative Dermatology, 126, 1 : 212-219.
- WOOD G.S., A. EDINGER, R.T. HOPPE et R.A. WARNKE, 1994a « Mycosis fungoides skin lesions contain CD8+ tumorinfiltrating lymphocytes expressing an activated, MHC-restricted cytotoxic T-lymphocyte phenotype », *Journal of Cutaneous Pathology*, 21, 2 : 151-156.
- WOOD G.S., S.R. HONG, D.T. SASAKI, E.A. ABEL, R.T. HOPPE, R.A. WARNKE et V.B. MORHENN, 1990a « Leu-8/CD7 antigen expression by CD3+ T cells: Comparative analysis of skin and blood in mycosis fungoides/Sézary syndrome relative to normal blood values », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 22, 4 : 602-607.
- WOOD G.S., R.M. TUNG, A.C. HAEFFNER, C.F. CROOKS, S. LIAO, R. OROZCO, H. VEELKEN, M.E. KADIN, H. KOH et P. HEALD, 1994b « Detection of clonal T-cell receptor gamma gene rearrangements in early mycosis fungoides/Sezary syndrome by polymerase chain reaction and denaturing gradient gel electrophoresis (PCR/DGGE) », *The Journal of Investigative Dermatology*, 103, 1 : 34-41.
- WOOD N.L., E.N. KITCES et W.K. BLAYLOCK, 1990b « Depressed lymphokine activated killer cell activity in mycosis fungoides. A possible marker for aggressive disease », *Archives of Dermatology*, 126, 7 : 907-913.
- WU J., M. NIHAL, J. SIDDIQUI, E.C. VONDERHEID et G.S. WOOD, 2009 « Low FAS/CD95 expression by CTCL correlates with reduced sensitivity to apoptosis that can be restored by FAS upregulation », *The Journal of Investigative Dermatology*, 129, 5 : 1165-1173.
- WU J., K.A. SALVA et G.S. WOOD, 2015 « c-CBL E3 ubiquitin ligase is overexpressed in cutaneous T-cell lymphoma: its inhibition promotes activation-induced cell death », *The Journal of Investigative Dermatology*, 135, 3 : 861-868.
- WU X., B.C. SCHULTE, Y. ZHOU, D. HARIBHAI, A.C. MACKINNON, J.A. PLAZA, C.B. WILLIAMS et S.T. HWANG, 2014 « Depletion of M2-like tumor-associated macrophages delays cutaneous T-cell lymphoma development in vivo », *The Journal of Investigative Dermatology*, 134, 11 : 2814-2822.
- WYSOCKA M., B.M. BENOIT, S. NEWTON, L. AZZONI, L.J. MONTANER et A.H. ROOK, 2004 « Enhancement of the host immune responses in cutaneous T-cell lymphoma by CpG oligodeoxynucleotides and IL-15 », *Blood*, 104, 13 : 4142-4149.

- WYSOCKA M., A.V. KOSSENKOV, B.M. BENOIT, A.B. TROXEL, E. SINGER, A. SCHAFFER, B. KIM, T. DENTCHEV, S. NAGATA, T. ISE, L.C. SHOWE et A.H. ROOK, 2014 « CD164 and FCRL3 are highly expressed on CD4+CD26- T cells in Sezary syndrome patients », J Invest Dermatol, 134, 1 : 229-36.
- WYSOCKA M., M.H. ZAKI, L.E. FRENCH, J. CHEHIMI, M. SHAPIRO, S.E. EVERETTS, K.S. MCGINNIS, L. MONTANER et A.H. ROOK, 2002 « Sézary syndrome patients demonstrate a defect in dendritic cell populations: effects of CD40 ligand and treatment with GM-CSF on dendritic cell numbers and the production of cytokines », *Blood*, 100, 9 : 3287-3294.
- XIAO X., S. BALASUBRAMANIAN, W. LIU, X. CHU, H. WANG, E.J. TAPAROWSKY, Y.-X. FU, Y. CHOI, M.C. WALSH et X.C. LI, 2012 « OX40 signaling favors the induction of T(H)9 cells and airway inflammation », *Nature Immunology*, 13, 10 : 981-990.
- XU J., H. HUANG, S. WANG, Y. CHEN, X. YIN, X. ZHANG et Y. ZHANG, 2019 « Molecular profiling of TOX-deficient neoplastic cells in cutaneous T cell lymphoma », *Archives of Dermatological Research*.
- YAMAGUCHI J., M. AIHARA, Y. KOBAYASHI, T. KAMBARA et Z. IKEZAWA, 2009 « Quantitative analysis of nerve growth factor (NGF) in the atopic dermatitis and psoriasis horny layer and effect of treatment on NGF in atopic dermatitis », *Journal of Dermatological Science*, 53, 1: 48-54.
- YAMAGUCHI T., A. KISHI, M. OSAKI, H. MORIKAWA, P. PRIETO-MARTIN, K. WING, T. SAITO et S. SAKAGUCHI, 2013 « Construction of self-recognizing regulatory T cells from conventional T cells by controlling CTLA-4 and IL-2 expression », *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110, 23 : E2116-2125.
- YAMASHITA T., L.P.F. ABBADE, M.E.A. MARQUES et S.A. MARQUES, 2012 « Mycosis fungoides and Sézary syndrome: clinical, histopathological and immunohistochemical review and update », *Anais brasileiros de dermatologia*, 87, 6 : 817-830.
- YANO H., T. ISHIDA, A. INAGAKI, T. ISHII, J. DING, S. KUSUMOTO, H. KOMATSU, S. IIDA, H. INAGAKI et R. UEDA, 2007 « Defucosylated anti CC chemokine receptor 4 monoclonal antibody combined with immunomodulatory cytokines: a novel immunotherapy for aggressive/refractory Mycosis fungoides and Sezary syndrome », *Clinical Cancer Research: An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, 13, 21 : 6494-6500.
- YAO H., H. WANG, C. LI, J.-Y. FANG et J. XU, 2018 « Cancer Cell-Intrinsic PD-1 and Implications in Combinatorial Immunotherapy », *Frontiers in Immunology*, 9.
- YAWALKAR N., K. FERENCZI, D.A. JONES, K. YAMANAKA, K.-Y. SUH, S. SADAT et T.S. KUPPER, 2003 « Profound loss of T-cell receptor repertoire complexity in cutaneous T-cell lymphoma », *Blood*, 102, 12 : 4059-4066.
- YE C., D. BRAND et S.G. ZHENG, 2018 « Targeting IL-2: an unexpected effect in treating immunological diseases », Signal Transduction and Targeted Therapy, 3.
- YING Z., L. SHIUE, K. PARK, J. KOLLET, P. BIJANI, M. GOSWAMI, M. DUVIC et X. NI, 2019 « Blood transcriptional profiling reveals IL-1 and integrin signaling pathways associated with clinical response to extracorporeal photopheresis in patients with leukemic cutaneous T-cell lymphoma », Oncotarget, 10, 34 : 3183-3197.
- Yoo E.K., M. CASSIN, S.R. LESSIN et A.H. ROOK, 2001 « Complete molecular remission during biologic response modifier therapy for Sézary syndrome is associated with enhanced helper T type 1 cytokine production and natural killer cell activity », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 45, 2 : 208-216.
- YOON J.S., S.M. NEWTON, M. WYSOCKA, A.B. TROXEL, S.D. HESS, S.K. RICHARDSON, J.H. LIN, B.M. BENOIT, M. KASPRZYCKA, M.A. WASIK et A.H. ROOK, 2008 « IL-21 enhances antitumor responses without stimulating proliferation of malignant T cells of patients with Sézary syndrome », *The Journal of Investigative Dermatology*, 128, 2 : 473-480.

- YOSHIE O., R. FUJISAWA, T. NAKAYAMA, H. HARASAWA, H. TAGO, D. IZAWA, K. HIESHIMA, Y. TATSUMI, K. MATSUSHIMA, H. HASEGAWA, A. KANAMARU, S. KAMIHIRA et Y. YAMADA, 2002 « Frequent expression of CCR4 in adult T-cell leukemia and human T-cell leukemia virus type 1-transformed T cells », *Blood*, 99, 5 : 1505-1511.
- YOSHIE O. et K. MATSUSHIMA, 2015 « CCR4 and its ligands: from bench to bedside », *International Immunology*, 27, 1:11-20.
- YOUNGBLOOD B., J.S. HALE, H.T. KISSICK, E. AHN, X. XU, A. WIELAND, K. ARAKI, E.E. WEST, H.E. GHONEIM, Y. FAN, P. DOGRA, C.W. DAVIS, B.T. KONIECZNY, R. ANTIA, X. CHENG et R. AHMED, 2017 « Effector CD8 T cells dedifferentiate into long-lived memory cells », *Nature*, 552, 7685 : 404-409.
- ZACKHEIM H.S., J. KOO, P.E. LEBOIT, T.H. MCCALMONT, P.H. BOWMAN, M. KASHANI-SABET, C. JONES et J. ZEHNDER, 2002 « Psoriasiform mycosis fungoides with fatal outcome after treatment with cyclosporine », *Journal of the American Academy of Dermatology*, 47, 1 : 155-157.
- ZAKI M.H., M. WYSOCKA, S.E. EVERETTS, K.S. WANG, L.E. FRENCH, J. RITZ et A.H. ROOK, 2002 « Synergistic enhancement of cell-mediated immunity by interleukin-12 plus interleukin-2: basis for therapy of cutaneous T cell lymphoma », *The Journal of Investigative Dermatology*, 118, 2 : 366-371.
- ZAROUR H.M., 2016 « Reversing T-cell Dysfunction and Exhaustion in Cancer », *Clinical Cancer Research*, 22, 8 : 1856-1864.
- ZHAN Y., E.M. CARRINGTON, Y. ZHANG, S. HEINZEL et A.M. LEW, 2017 « Life and Death of Activated T Cells: How Are They Different from Naïve T Cells? », *Frontiers in Immunology*, 8.
- ZHANG Q., H.Y. WANG, F. WEI, X. LIU, J.C. PATERSON, D. ROY, D. MIHOVA, A. WOETMANN, A. PTASZNIK, N. ODUM, S.J. SCHUSTER, T. MARAFIOTI, J.L. RILEY et M.A. WASIK, 2014 « Cutaneous T cell lymphoma expresses immunosuppressive CD80 (B7-1) cell surface protein in a STAT5-dependent manner », *Journal of Immunology (Baltimore, Md.: 1950)*, 192, 6 : 2913-2919.
- ZHANG Q., S. WANG, J. CHEN et Z. YU, 2019 « Histone Deacetylases (HDACs) Guided Novel Therapies for T-cell lymphomas », International Journal of Medical Sciences, 16, 3 : 424-442.
- ZHANG Y., Y. WANG, R. YU, Y. HUANG, M. SU, C. XIAO, M. MARTINKA, J.P. DUTZ, X. ZHANG, Z. ZHENG et Y. ZHOU, 2012 « Molecular markers of early-stage mycosis fungoides », *The Journal of Investigative Dermatology*, 132, 6 : 1698-1706.
- ZHAO Y., L. YANG, X. WANG et Z. ZHOU, 2014 « The new insights from DPP-4 inhibitors: their potential immune modulatory function in autoimmune diabetes », *Diabetes/Metabolism Research and Reviews*, 30, 8 : 646-653.
- ZHENG W. et R.A. FLAVELL, 1997 « The transcription factor GATA-3 is necessary and sufficient for Th2 cytokine gene expression in CD4 T cells », *Cell*, 89, 4 : 587-596.
- ZHOU L., M.M.W. CHONG et D.R. LITTMAN, 2009 « Plasticity of CD4+ T Cell Lineage Differentiation », *Immunity*, 30, 5 : 646-655.

ZHU J. et W.E. PAUL, 2008 « CD4 T cells: fates, functions, and faults », Blood, 112, 5 : 1557-1569.

ZITVOGEL L., L. GALLUZZI, S. VIAUD, M. VÉTIZOU, R. DAILLÈRE, M. MERAD et G. KROEMER, 2015 « Cancer and the gut microbiota: An unexpected link », *Science translational medicine*, 7, 271 : 271ps1.



LISTE DES ÉLÉMENTS SOUS DROITS

Liste de tous les éléments retirés de la version complète de la thèse faute d'en détenir les droits

(Annexe séparée accompagnant obligatoirement la version partielle de la thèse)

Illustrations, figures, images...

LÉGENDE (image, figure)	N° (figure)	Pages dans la thèse
Aspects cliniques dermatologiques du MF/SS	1	22
Histologie d'une lésion cutanée de SS	2	26
Frottis sanguins montrant deux cellules de Sézary	3	27
Etapes de maturation des cellules T dans le thymus	4	31
Représentation schématique des modèles de maturation périphérique lymphocytaire T	7	40
Variations du nombre et des proportions des sous- populations lymphocytaires T CD4+ et T CD8+ au cours des trois tranches d'âge immunologique de la vie, comme décrit par Farber et al., 2014	8	42
Structure de la peau et types de cellules immunitaires présents	9	43
Modèles de réponses immunitaires primaire (A) et secondaire (B) suite à l'effraction de la barrière cutanée par un pathogène	10	45
Mécanismes du trafic leucocytaire en trois étapes	11	47
Modèle proposé par l'équipe de T.S. Kupper et R.A. Clark, selon lequel les TCM à tropisme cutané, TMM et TRM malignes donneraient naissance à des lésions inflammatoires distinctes	12	52
Structure homodimérique de KIR3DL2/CD158k, et modèle connu de transduction du signal par les lymphocytes NK	13	54
Exemples de marquages avec l'anticorps anti-KIR3DL2 en cytométrie en flux sur PBMCs, et en histologie sur coupe de tissu cutané congelé	14	56
Altérations génétiques dans les voies de signalisation ou processus mutés de façon récurrente dans les CTCL	15	65
Signalisation de mort cellulaire par AICD dans la cellule T normale et les CTCL	16	70
Modifications touchant la signalisation Jak/Stat dans les CTCL	17	75
Les trois « E » du « cancer immunoediting	18	79
Illustration de la procédure de photophérèse extra-corporelle (ECP)	20	92
Principaux mécanismes d'action des AcM utilisés en thérapeutique	21	96

Articles, chapitres, entretiens cliniques...

TITRE (article, document)	N° (si	Pages dans la thèse
	numéroté)	
PULITZER M.P., P. HORNA et J. ALMEIDA, 2020 « Sézary syndrome and mycosis fungoides: An overview, including the role of immunophenotyping », Cytometry. Part B, Clinical Cytometry		127-133