



Francine Garnache Ottou, Philippe Saas\*

Jean Feuillard\*\*

# Une nouvelle entité : les leucémies CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ou leucémies dérivées des cellules dendritiques plasmocytoides

## RÉSUMÉ

Une nouvelle entité de leucémie aiguë co-exprimant les marqueurs CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, dérivée des cellules dendritiques plasmocytoides a été récemment caractérisée par le Groupe d'Etude Immunologique des Leucémies (GEIL). Elle est dénommée leucémie CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ou leucémie dérivée des cellules dendritiques plasmocytoides (LpDC). Nous décrivons les critères de définition de cette entité d'après les données issues d'une centaine de cas décrits dans la littérature. Afin de poursuivre la caractérisation de cette entité et devant la rareté des cas, nous avons mis en place un réseau national «leucémie pDC» afin de recruter de nouveaux cas et d'étudier les caractéristiques cytologiques, phénotypiques, cytogénétiques, anatomopathologiques et moléculaires de ces cellules. A terme, ce travail permettra peut-être de donner une définition plus large de l'entité LpDC et de préciser, les critères diagnostics spécifiques de cette leucémie, appliqués aux laboratoires d'hématologie.

## MOTS-CLÉS

Leucémies aiguës, diagnostic biologique, immunophénotypage, leucémie CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup>, cellules dendritiques plasmocytoides

## A new entity of leukemia : CD4<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> leukemia or plasmacytoid dendritic cells leukemia

### SUMMARY :

A new entity of acute leukemia co-expressing CD4<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> markers without any other lineage-specific markers has recently been identified as arising from lymphoid-related plasmacytoid dendritic cells (pDC). We propose to call this type of leukemia plasmacytoid dendritic cell leukemia (pDCL). After a review of the literature, we describe the biological features (morphological aspects, cytometric and molecular markers, cytogenetic abnormalities) of pDCL. In order to better characterize pDCL, we are organizing a French pDC leukemia network. Through this network, we intend to record new cases and collect data on this rare leukemia. In the long term, we should be able to define specific criteria for its routine diagnosis in hematological and immunological laboratories.

### KEYWORDS

Acute leukemia, biological diagnosis, immunophenotyping, CD4<sup>+</sup>CD56<sup>+</sup> leukemia, plasmacytoid dendritic cells

## I - Introduction

Depuis quelques années, plusieurs articles dans la littérature ont relaté des cas de leucémies aiguës ou de lymphomes cutanés co-exprimant les mar-

queurs CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> sans marqueurs forts ou spécifiques des lignées myéloïdes, lymphoïdes B, T ou NK (1-3). Ces pathologies ont été classées selon les auteurs comme : pathologie maligne histiocytaire

\*Laboratoire d'hématologie et d'immunologie - EFS BFC - INSERM U 6454 / EA 2284 / IFR 133

1 Bd Fleming, 25020 Besançon - Tél. : 03 81 61 56 15 - Fax : 03 81 61 56 17 - E-Mail : francine.garnacheottou@efs.sante.fr, philippe.saas@efs.sante.fr

\*\* Laboratoire d'hématologie - 2 Av. M Luther King, 87042 Limoges - Tél. : 05 55 43 59 21 - E-Mail : jean.feuilleard@chu-limoges.fr



## REMERCIEMENTS

aux GEIL et GFHC et à leurs membres qui nous ont envoyé des cas : R. Garand (Nantes), E. Kuhlein et E. Duchayne (Toulouse), F. trimoreau (Limoges), A. falkenrodt et V. Leymarie (Stasbourg), Ors'antone Calendini (Paris Hôtel Dieu), C. Trichet (Argenteuil), D. Lusina (Aulnay), M. Capbern (Libourne), C. Garandeau (Aulnay), E. Jobert et C. Dupret (Iariboisière), M. degenne (Tours), ME. Noguera (Paris, St Louis), V. Foissaud (Hôpital militaire Percy Clamart), L. Baseggio et P. Felman (Lyon sud), A. Boudyerra (Alger), V. salaun (Caen), I. Arnoux (La Timone, Marseille), P. Moskovtchenko (Colmar), P. Lepelley (Lille), C. Fourcade (Argenteuil), S. Daliphard (Reims), F. Valensi et F. Delhonneau (Paris Necker).

## DES REMERCIEMENTS

aussi tout particulier aux membres du réseau LpDC : MC. Jacob, J. Plumas et L. Chaperot (Grenoble), D. Leroux (Cytogénétique, Grenoble), T. Petrella (Anatomopathologie, Dijon), F. valensi (Cytologie, Paris Necker).

(4), lymphome cutané agranulaire CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ou hémato-dermie agranulaire CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> (2, 3, 5, 6), leucémie/lymphome NK blastique (7-11), lymphomes NK (12, 13). Pendant longtemps l'origine ontogénique des cellules n'a pas été clairement établie (précurseur myélomonocytaire ? précurseur mixte NK/myélomonocytaire ?) et a été principalement fondée sur la seule expression de marqueurs phénotypiques associés à telle ou telle lignée.

En 1999, Orfao et al ont évoqué l'origine dendritique pour un cas inhabituel de lymphome (14). Finalement, les travaux de T. Petrella sur les localisations cutanées de ces pathologies d'une part et, l'étude du GEIL qui a caractérisé 23 cas de leucémie aiguë possédant des caractéristiques phénotypiques, morphologiques, cliniques et fonctionnelles homogènes d'autre part, ont montré que ces cellules leucémiques possédaient les caractéristiques des cellules dendritiques plasmocytoides (pDC). Ainsi ces leucémies CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> correspondraient à la contre partie maligne des pDC normales (1, 15) d'où le terme leucémie aiguë dérivée des pDC (LpDC).

La classification WHO, classe cette pathologie en lymphome à cellules NK blastiques (16). Un phénotype de « monocyte plasmocytoïde » CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> est également évoqué dans le chapitre consacré à la LMMC (16). En fait, les propositions actuelles de réactualisation des classifications des lymphomes T indiquent clairement que les lymphomes à cellules NK blastiques étaient mal classés et correspondent à des proliférations de cellules dendritiques plasmocytoides (17).

## II - Définition de l'entité

L'entité LpDC a été définie par les articles princeps que nous avons cités (1-3, 15). Nous partirons de ces données que nous pourrions comparer aux autres cas publiés dans la littérature sur de plus petites séries et avec des données parfois parcellaires. Globalement, environ 100 cas pouvant se rattacher aux LpDC sont décrits dans la littérature (18).

### 1. Fréquence

Il s'agit d'une entité rare qui représente moins de 1% des leucémies aiguës.

### 2. Présentation clinique

La présentation clinique des cas reportés dans la littérature est relativement homogène. La LpDC est décrite chez les femmes comme chez les hommes mais avec une nette prédominance masculine (sexe ratio : 3/1). Elle atteint préférentiellement les sujets âgés (67 % des patients ont plus de 50 ans ; moyenne : 70 ans ; (18)), mais quelques cas pédiatriques sont décrits.

La présentation clinique classique consiste en une lésion cutanée isolée au moment du diagnostic

évoluant rapidement (en quelques mois) en localisation multiple avec essaimage sanguin, médullaire, ganglionnaire et extraganglionnaire (rate, foie, système nerveux central, amygdales, muqueuses, poumons, reins, muscles...). De rares cas présentent une localisation cutanée isolée pendant plus de 6 mois. L'atteinte cutanée est donc le caractère le plus constant (90 % des patients), souvent le principal motif de consultation. Les lésions sont groupées dans un territoire ou disséminées sans préférence topographique. Leur taille va de quelques millimètres à plus de 10 cm et elles envahissent le derme sans atteinte de l'épiderme. Elles sont décrites comme des plaques, papules, tuméfactions ou nodules sous cutanés, érythémateuses, hyper pigmentées, purpuriques, nécrotiques, rouge sombre, violacés.

L'état général des patients est en général bien conservé au diagnostic sans signes généraux associés. Par contre, l'évolution clinique est très agressive et rapidement fatale.

### 3. Cytologie – cytochimie

La plupart des patients se présentent avec des cytopénies en relation avec l'infiltration médullaire : thrombopénie (78 % des cas), anémie (34 %), neutropénie (34 %). L'hyperleucocytose est peu fréquente (13 %), mais la présence de blastes dans le sang est observée le plus souvent. L'infiltration médullaire au diagnostic est constatée dans 87 % des cas à des taux très variables.

La morphologie des blastes est pléomorphe : la taille des cellules est variable de petite à grande, le noyau est de forme régulière rond ou ovale. La chromatine est fine d'allure blastique souvent nucléolée. Le cytoplasme est moyennement abondant, légèrement basophile, non granuleux mais possède une structure hétérogène et des microvacuoles en couronne (« collier de perles ») sous la membrane cytoplasmique (figure 1.C, page 54) qui peuvent correspondre aux vacuoles de pinocytose observées dans les pDC normales (19). La membrane cytoplasmique présente fréquemment des pseudopodes. Les réactions de cytochimie (péroxydases et butyrates estérases) sont négatives (1).

Dans l'étude du GEIL, des signes de myélodysplasie sont retrouvés pour 5 patients sur 23 et concernent de une à trois lignées (1). D'autres auteurs relatent aussi l'association de dysplasies avec les proliférations cutanées CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> (20, 21).

### 4. Histopathologie

L'analyse des lésions cutanées montre une infiltration dermique de cellules mononucléées sans angiotropisme, sans destruction des vaisseaux atteignant le tissu adipeux, mais épargnant toujours l'épiderme.

## Une nouvelle entité : les leucémies CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ou leucémies dérivées des cellules dendritiques plasmocytoïdes

Patients	LpDC	DC d'origine myéloïde	DC d'origine plasmocytoïde
<b>Marqueurs de la lignée T</b>			
CD2	-/+	-	-/+
CD3	-	-	-
CD4	+	+	+
CD7	-/+	-	-/+
CD8	-	-	-
CD5	-	-	-/+
<b>Marqueurs myélo-monocytaires</b>			
CD14	-	-	-
CD13	-	+	-
CD33	-/+	+	-
CD36	+	?	+
<b>Marqueurs de la lignée Natural Killer (NK)</b>			
CD16	-	-/+	-
CD56	+	-	-/+
CD57	-	-	-
<b>Marqueurs de la lignée B</b>			
CD19	-	-	-
<b>Récepteurs pour des cytokines</b>			
CD116	-/(+)	+	-
CD123	++	(+)	++
<b>Marqueurs des cellules dendritiques et molécules de co-stimulation</b>			
CD1a	-	+	-
CD11c	-	++	-
CD83	-/+	-/+	-/+
HLA classe I	+	+	+
HLA-DR	+	+	+
CD40	-/+	-/+	-/+
CD80	-/+	-/+	-/+
CD86	-/+	-/+	-/+
BDCA-2	+	-	+
BDCA-4	+	-	+
BDCA-3	-	+	-
BDCA-1	-	+	-
<b>Marqueurs de progéniteurs hématopoïétiques</b>			
CD38	+	?	+
CD34	-	-	-
<b>Marqueurs pan leucocytaires</b>			
CD45 RA	+	-	+
CD45 RO	-	+	-

### 5. Immunophénotypage

#### 5.1 - Vers l'identification de l'entité leucémie dérivée des cellules dendritiques plasmocytoïdes

L'analyse phénotypique de ces cellules montre l'expression conjointe de CD4<sup>+</sup> et CD56<sup>+</sup>, sans marqueurs spécifiques d'aucune lignée : lymphoïdes B, T NK, myéloïdes. Il n'y a pas d'expression du CD34, de la Tdt (1 seul cas positif dans l'étude du GEIL) et de CD10.

L'expression du CD45 indique bien l'origine hématopoïétique de ces cellules. Son intensité est faible comme pour les populations blastiques immatures (22).

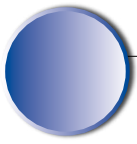
Ce profil phénotypique ne correspondrait à aucun de ceux connus pour les lignées B, T, myéloïdes à quelque stade de différenciation que ce soit (18). Par contre, il est identique à celui des pDC normales circulantes. L'expression de marqueurs spécifiques des pDC normales se retrouve sur les LpDC. En effet, les cellules des LpDC expriment le phénotype : CD123<sup>fort</sup> (récepteur à l'IL-3), HLA-DR<sup>+</sup>, CD45RA<sup>+</sup>, CD45RO<sup>-</sup> BDCA-2<sup>+</sup> (« Blood dendritic cells antigen »), BDCA-4<sup>+</sup>, ILT-3<sup>+</sup> (« Immunoglobulin like transcript ») (23). Dans l'étude du GEIL, Les LpDC expriment aussi le plus souvent CD36 (85 %) et CD68 (92 %) (2 marqueurs associés à la lignée myélo-monocytaire) et certains cas expriment CD2 (9 %) et CD7 (61 %) comme les pDC normales. Leur phénotype est donc identique à celui des pDC normales (tableau I), à l'exception de l'expression de CD56, caractéristique des LpDC dont l'expression sur les pDC normales n'est retrouvée que sur une sous fraction minoritaire (2, 24, 25) qui représente ainsi la contrepartie normale des LpDC.

Il est aussi intéressant de noter que certains cas de LpDC décrits dans la littérature n'expriment pas le CD56 (26, 27, 28). Dans l'étude du GEIL, un cas n'exprime le CD56 que sur 10 % des cellules, bien qu'il ait été parfaitement caractérisé comme LpDC (15). Ainsi, il est vraisemblable que des cas de Leucémies aiguës CD4<sup>+</sup> CD56<sup>-</sup> Lin<sup>-</sup> (ou qui expriment certains marqueurs de lignées, mais avec un score EGIL inférieur à 2) puissent correspondre à des LpDC CD56<sup>-</sup>. Ces LA sont probablement classées actuellement comme des LA indifférenciées (« stem cell leukemia ») (29). En effet, l'utilisation des marqueurs BDCA n'est le fait que de très peu de centres, et cela depuis très récemment, et le travail de Trimoreau et col (30) montre bien la perte de spécificité du profil LpDC en l'absence de CD56. Ces cas semblent très rares et il sera intéressant de les évaluer.

#### Tableau I

Comparaison du phénotype des blastes de LpDC, des cellules dendritiques plasmocytoïdes et myéloïdes.

Les données sont issues de la littérature. Symboles utilisés : + positif ; ++ positif fort ; (+) positif faible ; - négatif ; +/- expression variable selon les cas.



## 5.2 - Les différences phénotypiques retrouvées

Les différences phénotypiques retrouvées dans la littérature par rapport à la définition donnée (1, 15) portent sur :

- L'expression de marqueurs myéloïdes : le CD33 est le plus fréquemment retrouvé dans la littérature (4, 11, 20, 28, 31, 32, 33, 34, 35) de façon isolé le plus souvent et avec une intensité d'expression faible (36). L'expression de CD13 (37), CD117 (20,28,33,38) a été décrite aussi.
- L'expression de marqueurs NK : CD94 et TIA1 a été retrouvée dans 2/6 cas et 4/24 cas respectivement (9, 10, 21, 39). Les cas décrits n'exprimaient pas les autres marqueurs NK, CD16 et CD57, ni la perforine.
- L'expression de CD34 et /ou TdT : dans 2 cas (10, 21)

## 6. Etudes moléculaires

Dans tous les cas décrits dans l'étude du GEIL, les gènes du TCR $\gamma$  et les gènes des chaînes lourdes des immunoglobulines (Ig-JH) étaient non réarrangés, en configuration germinale (15). Dans la littérature, il est retrouvé de rares cas qui possèdent un TCR réarrangé (37, 40, 41).

Les études menées sur les pDC normales ont permis d'identifier différents transcrits associés aux lignées lymphoïdes comme la chaîne invariante du pré-récepteur T (pré-T $\alpha$ ), la chaîne  $\lambda$ -like associée au récepteur B (BCR), le facteur de transcription SpiB et granzyme B (42). Ces marqueurs ont été aussi retrouvés dans les LpDC (15).

## 7. Etudes fonctionnelles

Les pDC possèdent des propriétés fonctionnelles qui ont permis de les rattacher de manière indiscutable à la lignée dendritique, et en particulier aux pDC (15). En effet, en culture, en présence d'IL-3 et de CD40L ou en présence de virus, les cellules leucémiques peuvent se différencier en DC matures et elles sont capables d'activer des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> naïfs allogéniques. De plus, dans la plupart des cas, elles sécrètent de l'interféron- $\alpha$  après contact avec le virus influenzae (23).

Par contre, en culture dans différentes conditions, les LpDC ne sont pas capables de se différencier en cellules NK, en lymphocytes B, en cellules myéloïdes ou en monocytes (18) et donc, seule la différenciation en pDC mature a été possible confirmant leur affiliation à ces cellules et la dénomination LpDC.

## 8. Cytogénétique

Deux tiers des patients atteints de LpDC possèdent des anomalies cytogénétiques au diagnostic (43). Dans la plupart des cas, les caryotypes sont complexes et associent au sein du même clone une combinaison originale d'anomalies récurrentes touchant 6 régions chromosomiques :

- anomalies du bras long du chromosome 5 avec 2 régions cibles : 5q21 ou 5q34 (72 %) ;
- anomalies du bras court du chromosome 12 : 12p13 (64 %) ;

- anomalies du chromosome 13 (64 %) ;
- perte du bras long du chromosome 6 ou les délétions de 6q23-qter (50 %) ;
- monosomie 15p (43 %) ;
- monosomie 9 (28 %).

Ces anomalies sont retrouvées dans les pathologies lymphoïdes ou myéloïdes et aucune ne peut être considérée comme spécifique de la LpDC, mais leur association au sein d'un même clone est particulière.

## 9. Statut viral

La recherche des antigènes associés à une infection par le virus d'Epstein Barr (EBV) a été réalisée dans la plupart des cas et retrouvée négative, sauf dans 2 cas (18). Ceci contraste avec l'implication du virus EBV dans la majorité des pathologies NK matures. Il n'a pas été établi de relation avec d'autres virus (VIH, Hépatite B, C, HHV8, HHV6, CMV et HTLV-1).

## 10. Prise en charge thérapeutique et évolution clinique

La LpDC est relativement chimiosensible puisque, quelque soit le type de polychimiothérapie administrée par les différentes équipes (différents protocoles de LAL, LAM, lymphome), la rémission complète est facilement obtenue (plus de 2/3 des patients). Par contre les rechutes sont fréquentes et précoces (médiane 9 mois) avec des atteintes neuroméningées fréquentes (33 %) et seulement 52 % des patients sont en vie à un an de suivi. La médiane de survie globale est de 13 mois et n'est pas meilleure pour les patients présentant une forme cutanée pure (44).

Globalement, d'après les données de la littérature, l'allogreffe de cellules hématopoïétiques est la seule thérapeutique curative qui a permis d'obtenir des rémissions à long terme (1, 9, 11-13, 45). Les protocoles de polychimiothérapies de type LAL ou LAM ainsi que l'autogreffe (44) ne permettent pas d'obtenir une rémission durable et une survie à long terme. Une prévention systématique des rechutes neuroméningées semble indispensable.

## 11. Diagnostic différentiel

Le diagnostic différentiel de la LpDC avec différentes hémopathies doit être évoqué, en particulier pour les cas qui n'expriment pas un phénotype typique.

- **Les lymphomes NK CD56<sup>+</sup>** (nasal ou extranasal) sont différenciés par la présence de grains azurophiles dans le cytoplasme, l'association fréquente avec l'infection par le virus EBV, la mise en évidence de perforine et granzyme B intra cytoplasmique et d'autres marqueurs NK (CD16<sup>+</sup> CD57<sup>+</sup> TiA1<sup>+</sup>) ainsi que CD2<sup>+</sup> et CD7<sup>+</sup>. De plus, ces pathologies n'expriment pratiquement jamais le CD4 (16).

- **Les Leucémies Aiguës Myéloïdes CD33<sup>+</sup>** qui expriment CD4<sup>+</sup> et CD56<sup>+</sup> représentent 10 à 20 % des LAM. Le diagnostic différentiel ne se pose pas pour les LAM exprimant d'autres marqueurs myéloïdes et des réactions cytochimiques typiques,

## Une nouvelle entité : les leucémies CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ou leucémies dérivées des cellules dendritiques plasmocytoides

mais pour les cas de LAM très indifférenciés où les marqueurs myéloïdes classiques sont faiblement exprimés ou pour les LAM monoblastiques indifférenciées (estérases négatives). C'est dans ce type de pathologies que le profil pDC est intéressant à rechercher, ainsi que les marqueurs associés aux pDC tels que BDCA-2 et BDCA-4.

• **Les Leucémies aiguës mixtes myéloïdes/NK :** il s'agit de leucémies myéloïdes co-exprimant les marqueurs CD7<sup>+</sup> CD33<sup>+</sup> et CD56<sup>+</sup> qui correspondraient à la prolifération d'un précurseur immature ayant des potentialités myéloïdes et NK (46). Leur phénotype est différent de celui des pDC puisque, dans tous les cas décrits par Suzuki et al, le CD4 et le CD36 ne sont pas exprimés, alors que d'autres marqueurs myéloïdes le sont (CD13<sup>+</sup> MPO<sup>+</sup> CD11b<sup>+</sup>). De plus, ces cellules expriment CD34<sup>+</sup>.

Pour conclure, l'entité LpDC est caractérisée sur des bases phénotypiques (CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> CD123<sup>++</sup> Lin<sup>-</sup> CD45RA<sup>+</sup> CD45RO<sup>-</sup> HLA-DR<sup>+</sup> BDCA-2<sup>+</sup> BDCA-4<sup>+</sup>) et fonctionnelles (activation des lymphocytes T naïfs, sécrétion d'IFN $\alpha$ ). L'existence de leucémies possédant des caractéristiques communes (expression de CD56, CD4 et absence de marqueurs de lignées forts), mais qui présentent des différences par rapport à la définition de base (expression de marqueurs myéloïdes, absence d'expression de CD56,...) nécessite une nouvelle évaluation de ces cas par l'analyse des marqueurs de pDC (CD123, BDCA-2, BDCA-4) si ceux-ci sont validés comme spécifiques des LpDC.

### III – Création d'un réseau « leucémie pDC »

L'observation de l'expression du marqueur myéloïde CD33 sur les LpDC (36) nous a conduit à nous interroger sur la possible expression d'autres marqueurs « atypiques » sur ces blastes et si cela était le cas, le problème du diagnostic différentiel des LpDC avec les autres leucémies aiguës (LA). Nous avons mis en place un « réseau leucémie pDC » afin de recruter des nouveaux cas sur un plan national et de vérifier l'existence d'un profil d'expression atypique par rapport à la définition de base. Ce réseau regroupe des biologistes appartenant aux différentes disciplines hématologiques (cytologie, immunophénotypage, cytogénétique, anatomopathologie et biologie moléculaire) qui s'intéressent à cette pathologie et souhaitent travailler ensemble dans le cadre d'un travail multidisciplinaire.

L'objectif de ce travail est de continuer la caractérisation de cette entité dans ces différents aspects biologiques. Grâce à l'étude de ces cas, nous souhaitons déterminer les outils permettant de faire le diagnostic différentiel de LpDC dans les laboratoires d'hématologie et de répondre à la question souvent complexe de l'origine dendritique plasmocytoides d'une prolifération leucémique. Les outils

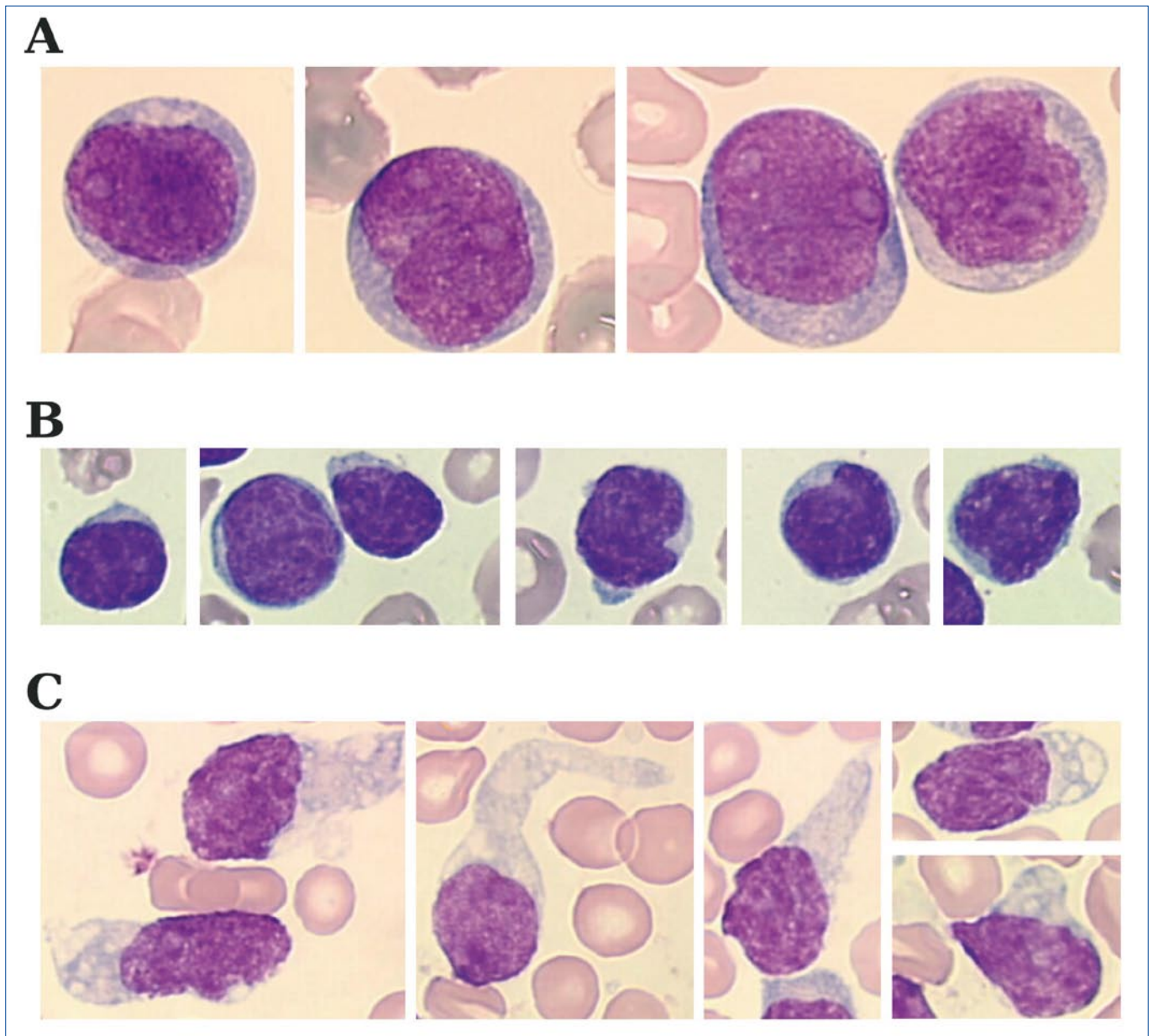
que nous souhaitons développer sont la recherche de marqueurs membranaires (recherche de profil phénotypique ou de marqueurs spécifiques par cytométrie en flux) ou moléculaires (recherche de l'expression de transcrits exprimés par les pDC normales).

### IV - Premiers résultats - Discussion

Les premiers cas répertoriés dans le « réseau national LpDC » nous montrent qu'effectivement, un certain nombre de leucémies aiguës (16/24 cas) présentant un phénotype compatible avec les LpDC et diagnostiquées comme telles par les biologistes présentent en fait, une « atypie » au moins par rapport à la définition de base (1, 15). Celles-ci portent sur l'expression souvent isolée d'un marqueur non classiquement décrit dans les LpDC (CD22, CD10, CD20, CD33, CD65, CD117, TdT, CD11c, CD2) et le score EGIL (47) dans chacune des lignées n'est jamais supérieur à 2. Nous déplorons dans ce cas l'absence de marqueurs reconnus comme spécifiques des LpDC. Les meilleurs candidats actuellement sont BDCA-2 et BDCA-4 qui ont été validés comme spécifiques des pDC normales dans le sang et dans la moelle osseuse. Par contre, dans d'autres sites (ganglions (48)) et dans certaines conditions *in vitro* (49) ils ne le sont pas. Il paraît donc indispensable de les tester à grande échelle dans les LpDC et sur d'autres LAM et LAL, afin d'apprécier leur spécificité. Chaperot et al ont déjà montré l'expression de BDCA-2 dans 6 cas de LpDC sur 7 et une expression faible à forte de BDCA-4 dans tous les cas (23). Dans les LAM, nos premiers résultats sont encourageants, puisque parmi les 8 cas de LAM testés aucun n'exprime BDCA-2 et 4 et CD123 (un autre marqueur potentiel) est exprimé faiblement. Cette étude est en cours dans différents laboratoires et permettra à terme, nous l'espérons, de déboucher sur un profil phénotypique spécifique des LpDC.

D'autres points peuvent être dégagés de l'étude préliminaire des cas du « réseau national LpDC » :

- La morphologie des cellules peut prendre des aspects très variables en fonction des patients (*figure 1* page suivante) et le diagnostic de cette entité ne peut être exclu sur un aspect de cellules différentes de celui qui a été décrit initialement (1).
- Il est intéressant aussi de noter la fréquence élevée de signes de myélodysplasie associée à la LpDC (*figure 2* page 55). Cet aspect sera également étudié et il est d'autant plus intéressant qu'il soulève le problème de l'origine ontogénique des pDC qui n'est pas encore clarifié d'après les données de la littérature. En effet, les différents arguments issus des données clinico-biologiques des patients atteints de LpDC, évoquent des points communs entre pDC et la lignée myéloïde. Des patients souffrant initialement de LpDC développent de véritables leucémies myélomonocytaires chroniques ou des leucémies aiguës myéloïdes (21, 50). Nous avons un



**Figure 1**

La morphologie des blastes est très variable selon les patients : cellules rondes de grande taille d'aspect blastique (M. Degenne, Tours) (A), petites cellules d'allure lymphocytaire (R. Garand, Nantes) (B) et cellules d'aspect plus typique, présentant des prolongements cytoplasmiques et des vacuoles en collier de perles (P. Lepelley, Lille) (C). Coloration May Grundwald Giemsa, grossissement x1000.

cas de ce type dans le réseau national (P Moskotchenco, Colmar). De plus, l'association systématique des lymphomes T plasmocytoïdes (une autre pathologie qui dérive vraisemblablement des pDC) avec des désordres myéloïdes évoque que le processus malin touche un précurseur qui possède des potentialités myéloïdes et dendritiques (51-55). Par contre, à notre connaissance, il n'a jamais été décrit d'évolution des LpDC ou des lymphomes T plasmocytoïdes en leucémie aiguë lymphoblastique. Les travaux intéressants de Herling et al (50) montrent l'expression du proto-oncogène TCL1 dans les néoplasies cutanées CD4+ CD56+ ainsi que dans les blastes

myélomonocytaires apparus lors de la transformation aiguë de cette pathologie. Par contre, TCL1 n'est que très rarement observé dans les LAM de novo. Des marqueurs myéloïdes comme le CD33 ou d'autres (CD13 et CD11c) peuvent aussi être exprimés sur les pDC normales et tumorales (au diagnostic, à la rechute ou en culture *in vitro*) (1, 4, 11, 20, 28, 31-36, 37).

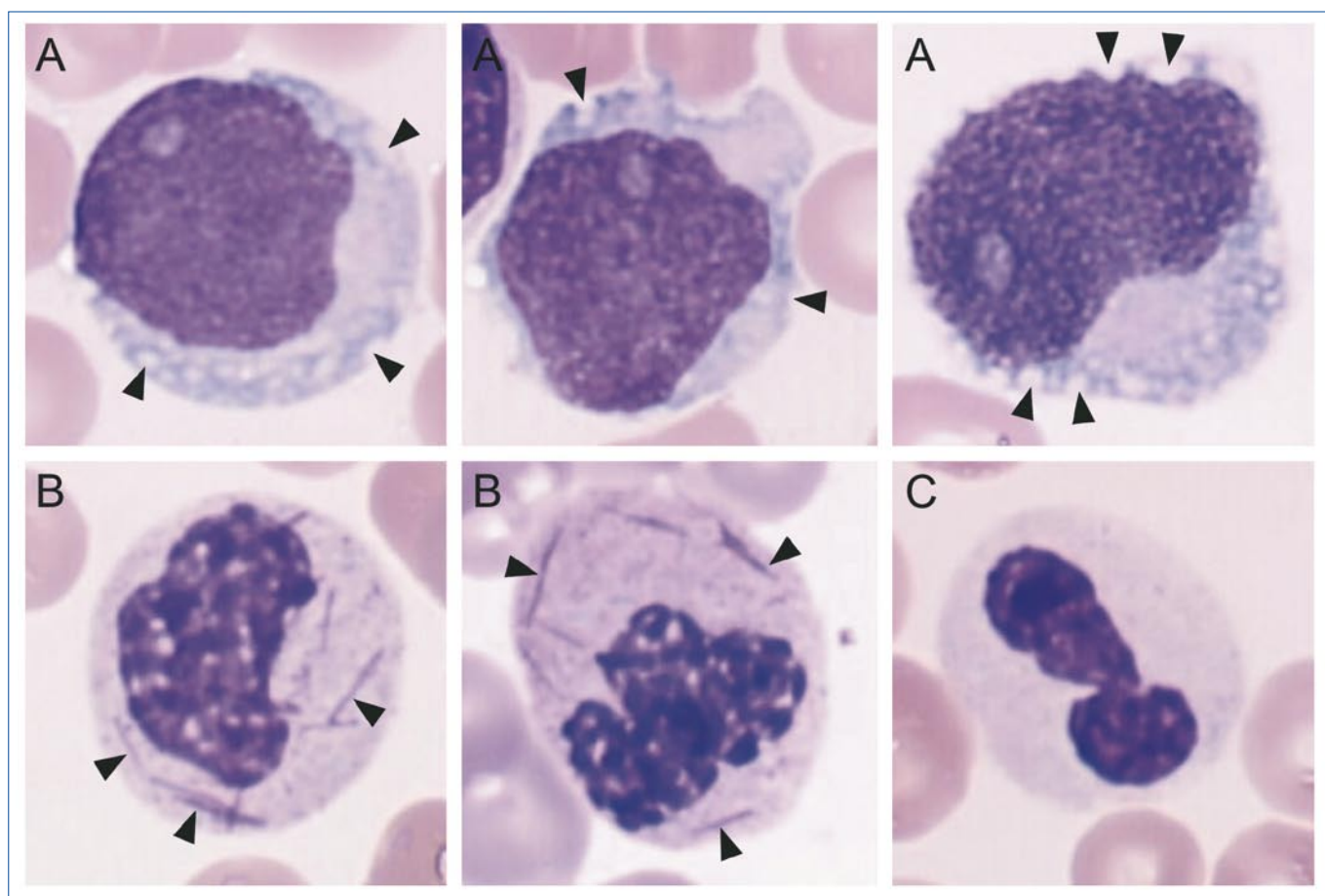
Au final, malgré les nombreux travaux publiés sur les pDC normales, l'origine ontogénique de ces cellules n'est toujours pas formellement établie. Les arguments évoquant l'origine lymphoïde des pDC sont largement décrits dans la littérature (voir ref (56)) et nous venons de citer des arguments rapprochant

## Une nouvelle entité : les leucémies CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ou leucémies dérivées des cellules dendritiques plasmocytoïdes

les pDC des cellules myéloïdes. Les nouveaux schémas de l'hématopoïèse (57-61) proposant, non plus une vision binaire de l'hématopoïèse (progéniteurs myéloïdes d'un côté et lymphoïdes de l'autre), mais la présence d'un ou de plusieurs progéniteurs myélo-lymphoïdes possédant des potentialités doubles, voire triples (myéloïdes, lymphoïde B,T et DC) (57, 62) permet de réinterpréter les données concernant les pDC. En effet, les pDC pourraient dériver d'un ou de progéniteur(s) de ce type, ce qui pourrait expliquer la persistance dans ces cellules de « marqueurs » des lignées lymphoïdes B, T ou NK, en même temps que des potentialités myéloïdes. L'étude étendue des LpDC et la comparaison avec les critères des autres LA devraient permettre d'apporter des éléments en faveur de cette nouvelle vision de l'hématopoïèse.

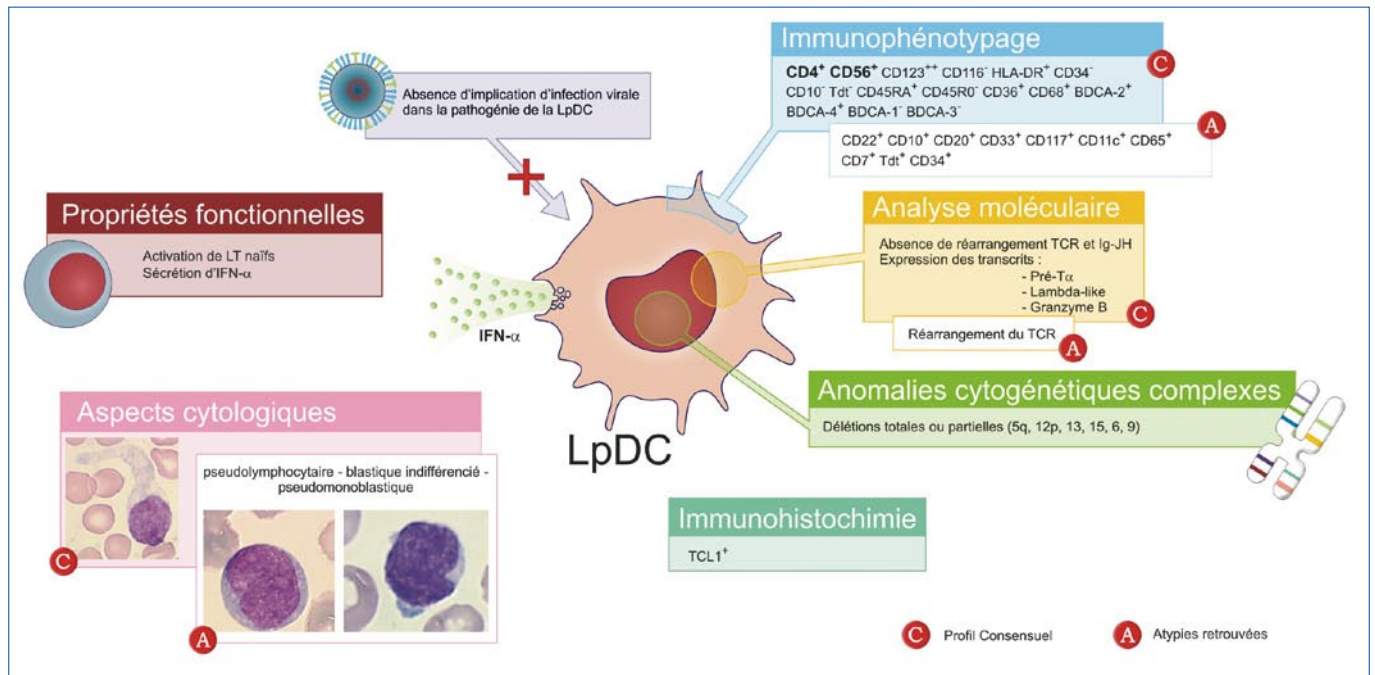
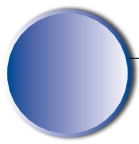
### V – Conclusion

En conclusion, les leucémies CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> que nous proposons de dénommer de façon plus générale leucémie dérivées des cellules dendritiques plasmocytoïdes (LpDC) représentent une entité rare de leucémies aiguës qui commencent à être mieux caractérisées. Leur diagnostic n'est pas toujours aisé et se base sur une approche multidisciplinaire du fait de l'absence de marqueurs spécifiques validés et accessibles aux laboratoires de diagnostic (*figure 3* page suivante) et ce d'autant que de nombreux cas présentent des « atypies » par rapport à la définition de base consensuelle.



**Figure 2**

Les dysmorphies sont très importantes sur les cellules de la lignée granuleuse de ce patient : présence de corps d'Auer dans les polynucléaires neutrophiles (B) et polynucléaires neutrophiles très dégranulés (C). Les blastes (A) ont une chromatine fine, nucléolée et présentent des microvacuoles sous la membrane cytoplasmique (S. Daliphard, Reims). Coloration May Grundwald Giemsa, grossissement x1000.



**Figure 3**  
Critères diagnostiques de la LpDC (Illustration : A. Puyraimond).

## BIBLIOGRAPHIE

- (1) FEUILLARD J, JACOB MC, VALENSI F, MAYNADIE M, GRESSIN R, CHAPEROT L, et al. Clinical and biologic features of CD4(+)/CD56(+) malignancies. *Blood*, 2002, **99**(5), 1556-1563.
- (2) PETRELLA T, COMEAU MR, MAYNADIE M, COUILLAULT G, DE MURET A, MALISZEWSKI CR, et al. 'Agranular CD4+ CD56+ Hematodermic Neoplasm' (Blastic NK-Cell Lymphoma) Originates From a Population of CD56+ Precursor Cells Related to Plasmacytoid Monocytes. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2002, **26**(7), 852-862.
- (3) PETRELLA T, DALAC S, MAYNADIE M, MUGNERET F, THOMINE E, COURVILLE P, et al. CD4+ CD56+ cutaneous neoplasms: a distinct hematological entity? Groupe Français d'Etude des Lymphomes Cutanés (GFELC). *Am. J. Surg. Pathol.*, 1999, **23**(2), 137-146.
- (4) GATTEI V, CARBONE A, ZAGONEL V, PINTO A. Expression of natural killer antigens in a subset of 'non-T, non-B lymphoma/leukaemia with histiocytic features'. *Br J Haematol* 1990, **76**(3), 444-448.
- (5) KAMEOKA J, ICHINOHASAMA R, TANAKA M, MIURA I, TOMIYA Y, TAKAHASHI S, et al. A cutaneous agranular CD2- CD4+ CD56+ «lymphoma»: report of two cases and review of the literature. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1998, **110**(4), 478-488.
- (6) BRODY JP, ALLEN S, SCHULMAN P, SUN T, CHAN WC, FRIEDMAN HD, et al. Acute agranular CD4-positive natural killer cell leukemia. Comprehensive clinicopathologic studies including virologic and in vitro culture with inducing agents. *Cancer*, 1995, **75**(10), 2474-2483.
- (7) KIMURA S, KAKAZU N, KURODA J, AKAOGI T, HAYASHI H, NISHIDA K, ET AL. Agranular CD4+CD56+ blastic natural killer leukemia/lymphoma. *Ann. Hematol.*, 2001, **80**(4), 228-231.
- (8) DIGIUSEPPE JA, LOUIE DC, WILLIAMS JE, MILLER DT, GRIF-FIN CA, MANN RB, et al. Blastic natural killer cell leukemia/lymphoma: a clinicopathologic study. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1997, **21**(10), 1223-1230.
- (9) BAYERL MG, RAKOZY CK, MOHAMED AN, VO TD, LONG M, EILENDER D, et al. Blastic natural killer cell lymphoma/leukemia: a report of seven cases. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002, **117**(1), 41-50.
- (10) KNUDSEN H, GRONBAEK K, THOR STRATEN P, GISSELO C, JOHANSEN P, TIMSHEL S, et al. A case of lymphoblastoid natural killer (NK)-cell lymphoma: association with the NK-cell receptor complex CD94/NKG2 and TP53 intragenic deletion. *Br. J. Dermatol.* 2002, **146**(1), 148-153.
- (11) RAKOZY CK, MOHAMED AN, VO TD, KHATIB G, LONG PM, EILENDER D, et al. CD56+/CD4+ lymphomas and leukemias are morphologically, immunophenotypically, cytogenetically, and clinically diverse. *Am. J. Clin. Pathol.* 2001, **116**(2), 168-176.
- (12) NAKAMURA S, SUCHI T, KOSHIKAWA T, KITOH K, KOIKE K, KOMATSU H, et al. Clinicopathologic study of CD56 (NCAM)-positive angiocentric lymphoma occurring in sites other than the upper and lower respiratory tract. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1995, **19**(3), 284-296.
- (13) DRENOU B, LAMY T, AMIOT L, FARDEL O, CAULET-MAUGENDRE S, SASPORTES M, et al. CD3- CD56+ non-Hodgkin's lymphomas with an aggressive behavior related to multidrug resistance. *Blood*, 1997, **89**(8), 2966-2974.
- (14) LUCIO P, PARREIRA A, ORFAO A. CD123hi dendritic cell lymphoma: an unusual case of non-Hodgkin lymphoma. *Ann. Intern. Med.*, 1999, **131**(7), 549-550.
- (15) CHAPEROT L, BENDRISS N, MANCHES O, GRESSIN R, MAYNADIE M, TRIMOREAU F, et al. Identification of a leukemic



## Une nouvelle entité : les leucémies CD4<sup>+</sup> CD56<sup>+</sup> ou leucémies dérivées des cellules dendritiques plasmocytoides

- counterpart of the plasmacytoid dendritic cells. *Blood*, 2001, **97**(10), 3210-3217.
- (16) HARRIS NL, JAFFE ES, DIEBOLD J, FLANDRIN G, MULLER-HERMELINK HK, VARDIMAN J, et al. The World Health Organization classification of neoplasms of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting--Airlie House, Virginia, November, 1997. *Hematol J* 2000;**1**(1), 53-66.
- (17) NAVA VE, JAFFE ES. The pathology of NK-cell lymphomas and leukemias. *Adv. Anat. Pathol.*, 2005, **12**(1), 27-34.
- (18) JACOB MC, CHAPEROT L, MOSSUZ P, FEUILLARD J, VALENSI F, LEROUX D, et al. CD4+ CD56+ lineage negative malignancies: a new entity developed from malignant early plasmacytoid dendritic cells. *Haematologica*, 2003, **88**(8), 941-955.
- (19) KOHRGRUBER N, HALANEK N, GROGER M, WINTER D, RAPPERSBERGER K, SCHMITT-EGENOLF M, et al. Survival, maturation, and function of CD11c- and CD11c+ peripheral blood dendritic cells are differentially regulated by cytokines. *J Immunol* 1999;**163**(6), 3250-3259.
- (20) KAZAKOV DV, MENTZEL T, BURG G, DUMMER R, KEMPF W. Blastic natural killer-cell lymphoma of the skin associated with myelodysplastic syndrome or myelogenous leukaemia: a coincidence or more? *Br. J. Dermatol.*, 2003,**149**(4), 869-876.
- (21) KHOURY JD, MEDEIROS LJ, MANNING JT, SULAK LE, BUESO-RAMOS C, JONES D. CD56(+) TdT(+) blastic natural killer cell tumor of the skin: a primitive systemic malignancy related to myelomonocytic leukemia. *Cancer*, 2002, **94**(9)2401-8.
- (22) LACOMBE F, DURRIEU F, BRIAIS A, DUMAIN P, BELLOC F, BASCANS E, et al. Flow cytometry CD45 gating for immunophenotyping of acute myeloid leukemia. *Leukemia*, 1997, **11**(11), 1878-1886.
- (23) CHAPEROT L, PERROT I, JACOB MC, BLANCHARD D, SALAUN V, DENEYS V, et al. Leukemic plasmacytoid dendritic cells share phenotypic and functional features with their normal counterparts. *Eur. J. Immunol.* 2004, **34**(2), 418-426.
- (24) COMEAU MR, VAN DER VUURST DE VRIES AR, MALISZEWSKI CR, GALIBERT L. CD123bright plasmacytoid dendritic cells: progenitors undergoing cell fate conversion? *J. Immunol.*, 2002,**169**(1), 75-83.
- (25) MACDONALD KP, MUNSTER DJ, CLARK GJ, DZIONEK A, SCHMITZ J, HART DN. Characterization of human blood dendritic cell subsets. *Blood*, 2002,**100**(13), 4512-4520. Epub 2002 Aug 15.
- (26) MOMOI A, TOBA K, KAWAI K, TSUCHIYAMA J, SUZUKI N, YANO T, et al. Cutaneous lymphoblastic lymphoma of putative plasmacytoid dendritic cell-precursor origin: two cases. *Leuk. Res.*, 2002, **26**(7), 693-698.
- (27) PETRELLA T, TEITELL MA, SPIEKERMANN C, MEIJER CJ, FRANCK F, ENACHE I. A CD56-negative case of blastic natural killer-cell lymphoma (agranular CD4+/CD56+ haematodermic neoplasm). *Br. J. Dermatol.*, 2004,**150**(1),174-176.
- (28) BUENO C, ALMEIDA J, LUCIO P, MARCO J, GARCIA R, DE PABLOS JM, et al. Incidence and characteristics of CD4(+)/HLA DRhi dendritic cell malignancies. *Haematologica*, 2004, **89**(1), 58-69.
- (29) TESTA U, TORELLI GF, RICCIONI R, MUTA AO, MILITI S, ANNINO L, et al. Human acute stem cell leukemia with multilineage differentiation potential via cascade activation of growth factor receptors. *Blood* 2002, **99**(12), 4634-4637.
- (30) TRIMOREAU F, DONNARD M, TURLURE P, GACHARD N, BORDESSOULE D, FEUILLARD J. The CD4+ CD56+ CD116-CD123+ CD45RA+ CD45RO- profile is specific of DC2 malignancies. *Haematologica*, 2003, **88**(3):ELT10.
- (31) TOUAHRI T, BELAOUNI H, MOSSAFA H, PULIK M, BOURGUIGNA L, IBBORA C, et al. Agranular CD4+/CD56+ cutaneous neoplasm. *Leuk. Lymphoma*, 2002, **43**(7), 1475-1479.
- (32) MHAWECH P, MEDEIROS LJ, BUESO-RAMOS C, COFFEY DM, GEI AF, SHAHAB I. Natural killer-cell lymphoma involving the gynecologic tract. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 2000;**124**(10),1510-1513.
- (33) GIAGOUNIDIS AA, HEINSCH M, HAASE S, AUL C. Early plasmacytoid dendritic cell leukemia/lymphoma coexpressing myeloid antigens. *Ann. Hematol.* 2004, **83**(11), 716-21, Epub 2004 Aug 05.
- (34) GINARTE M, ABALDE MT, PETEIRO C, FRAGA M, ALONSO N, TORIBIO J. Blastoid NK cell leukemia/lymphoma with cutaneous involvement. *Dermatology*, 2000, **201**(3), 268-271.
- (35) KARUBE K, OHSHIMA K, TSUCHIYA T, YAMAGUCHI T, SUEFUJI H, SUZUMIYA J, et al. Non-B, non-T neoplasms with lymphoblast morphology: further clarification and classification. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2003, **27**(10), 1366-1374.
- (36) GARNACHE-OTTOU F, CHAPEROT L, BIICHLER S, FERRAND C, REMY-MARTIN JP, DECONINCK E, et al. Expression of the myeloid-associated marker CD33 is not an exclusive factor for leukemic plasmacytoid dendritic cells. *Blood*, 2005;**105**(3), 1256-1264. Epub 2004 Sep 23.
- (37) PENVEN K, MACRO M, SALAUN V, COMOZ F, REMAN O, LEROY D, et al. Skin manifestations in CD4+, CD56+ malignancies. *Eur. J. Dermatol.*, 2003;**13**(2), 161-5.
- (38) ANARGYROU K, PATERAKIS G, BOUTSIS D, POLITOU M, PAPADHIMITRIOU SI, Siakandaris M, et al. An unusual case of CD4+ CD7+ CD56+ acute leukemia with overlapping features of type 2 dendritic cell (DC2) and myeloid/NK cell precursor acute leukemia. *Eur. J. Haematol.*, 2003, **71**(4), 294-298.
- (39) KOJIMA H, BAI A, MUKAI HY, HORI M, KOMENO T, HASEGAWA Y, et al. Chronic myelomonocytic leukemia derived from a possible common progenitor of monocytes and natural killer cells. *Leuk. Lymphoma*, 2000, **37**(5-6), 617-621.
- (40) BASTIAN BC, OTT G, MULLER-DEUBERT S, BROCKER EB, MULLER-HERMELINK HK. Primary cutaneous natural killer/T-cell lymphoma. *Arch. Dermatol.*, 1998, **134**(1), 109-111.
- (41) HOFBAUER GF, KAMARACHEV J, KEMPF W, BURG G, PESTALOZZI BC, DUMMER R. A CD4+ CD56+ natural killer-like T-cell systemic lymphoma with haemorrhagic cutaneous manifestations. *Br. J. Dermatol.*, 2001,**144**(2), 432-434.
- (42) RISSOAN MC, DUHEN T, BRIDON JM, BENDRISS-VERMARE N, PERONNE C, DE SAINT VIS B, et al. Subtractive hybridization reveals the expression of immunoglobulin-like transcript 7, Eph-B1, granzyme B, and 3 novel transcripts in human plasmacytoid dendritic cells. *Blood*, 2002,**100**(9), 3295-3303.
- (43) LEROUX D, MUGNERET F, CALLANAN M, RADFORD-WEISS I, DASTUGUE N, FEUILLARD J, et al. CD4(+), CD56(+) DC2 acute leukemia is characterized by recurrent clonal chromosomal changes affecting 6 major targets: a study of 21 cases by the Groupe Français de Cytogenétique Hematologique. *Blood*, 2002, **99**(11), 4154-4159.
- (44) REIMER P, RUDIGER T, KRAEMER D, KUNZMANN V, WEISINGER F, ZETTL A, et al. What is CD4+CD56+ malignancy and how should it be treated? *Bone Marrow Transplant*, 2003, **32**(7), 637-646.
- (45) SUMINOE A, MATSUZAKI A, TAKADA H, HATTORI H, FURUNO K, TAKEMOTO M, et al. An infant with precursor natural killer (NK) cell leukemia successfully treated with an unrelated cord blood transplantation. *Leuk. Lymphoma*, 2000, **39**(5-6), 641-646.



# COLLOQUE DU SNBH 2004

(46) SUZUKI R, YAMAMOTO K, SETO M, KAGAMI Y, OGURA M, YATABE Y, et al. CD7+ and CD56+ myeloid/natural killer cell precursor acute leukemia: a distinct hematolymphoid disease entity. *Blood*, 1997, **90**(6), 2417-2428.

(47) BENE MC, CASTOLDI G, KNAPP W, LUDWIG WD, MATUTES E, ORFAO A, et al. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*, 1995, **9**(10), 1783-1786.

(48) DZIOONEK A, INAGAKI Y, OKAWA K, NAGAFUNE J, ROCK J, SOHMA Y, et al. Plasmacytoid dendritic cells: from specific surface markers to specific cellular functions. *Hum. Immunol.* 2002, **63**(12), 1133-1148.

(49) DZIOONEK A, FUCHS A, SCHMIDT P, CREMER S, ZYSK M, MILTENYI S, et al. BDCA-2, BDCA-3, and BDCA-4: three markers for distinct subsets of dendritic cells in human peripheral blood. *J. Immunol.* 2000, **165**(11), 6037-6046.

(50) HERLING M, TEITELL MA, SHEN RR, MEDEIROS LJ, JONES D. TCL1 expression in plasmacytoid dendritic cells (DC2s) and the related CD4+ CD56+ blastic tumors of skin. *Blood*, 2003, **101**(12), 5007-5009. Epub 2003 Feb 06.

(51) PRASTHOFER EF, PRCHAL JT, GRIZZLE WE, GROSSI CE. Plasmacytoid T-cell lymphoma associated with chronic myeloproliferative disorder. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1985, **9**(5), 380-387.

(52) KOO CH, MASON DY, MILLER R, BEN-EZRA J, SHEIBANI K, RAPPAPORT H. Additional evidence that «plasmacytoid T-cell lymphoma» associated with chronic myeloproliferative disorders is of macrophage/monocyte origin. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1990, **93**(6), 822-827.

(53) MULLER-HERMELINK HK, STEIN H, STEINMANN G, LENNERT K. Malignant lymphoma of plasmacytoid T-cells. Morphologic and immunologic studies characterizing a special type of T-cell. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1983, **7**(8), 849-862.

(54) FACCHETTI F, DE WOLF-PEETERS C, KENNES C, ROSSI G, DE VOS R, VAN DEN OORD JJ, et al. Leukemia-associated lymph node infiltrates of plasmacytoid monocytes (so-called plasmacytoid T-cells). Evidence for two distinct histological and immunophenotypical patterns. *Am. J. Surg. Pathol.*, 1990, **14**(2), 101-112.

(55) CALDWELL CW, YESUS YW, LOY TS, BICKEL JT, PERRY MC. Acute leukemia/lymphoma of plasmacytoid T-cell type. *Am. J. Clin. Pathol.*, 1990, **94**(6), 778-786.

(56) BRIERE F, BENDRISS-VERMARE N, DELALE T, BURG S, CORBET C, RIS-SOAN MC, et al. Origin and filiation of human plasmacytoid dendritic cells. *Hum. Immunol.*, 2002, **63**(12), 1081-1093.

(57) KATSURA Y. Redefinition of lymphoid progenitors. *Nat. Rev. Immunol.*, 2002, **2**(2), 127-132.

(58) LU M, KAWAMOTO H, KATSUBE Y, IKAWA T, KATSURA Y. The common myelolymphoid progenitor: a key intermediate stage in hemopoiesis generating T and B cells. *J. Immunol.*, 2002, **169**(7), 3519-3525.

(59) LACAUD G, CARLSSON L, KELLER G. Identification of a fetal hematopoietic precursor with B cell, T cell, and macrophage potential. *Immunity*, 1998, **9**(6), 827-838.

(60) HAO QL, ZHU J, PRICE MA, PAYNE KJ, BARSKY LW, CROOKS GM. Identification of a novel, human multilymphoid progenitor in cord blood. *Blood* 2001, **97**(12), 3683-3690.

(61) MONTECINO-RODRIGUEZ E, LEATHERS H, DORSHKIND K. Bipotential B-macrophage progenitors are present in adult bone marrow. *Nat. Immunol.*, 2001, **2**(1), 83-88.

(62) MILLER JS, MCCULLAR V, PUNZEL M, LEMISCHKA IR, MOORE KA. Single adult human CD34(+)/Lin-/CD38(-) progenitors give rise to natural killer cells, B-lineage cells, dendritic cells, and myeloid cells. *Blood*, 1999, **93**(1), 96-106.

## SPECTRA

LA REVUE DU BIOLOGISTE PRATICIEN

## Bulletin d'abonnement (tient lieu de facture)

validité jusqu'au 31/01/06

Nom : ..... Société : .....  
Prénom : ..... Adresse : .....  
Tél. : ..... Fax : .....  
E-mail : .....

**Oui, je souscris** ..... abonnement(s) à **Spectra Biologie** – 7 numéros par an – pour :

**FRANCE** (dont TVA 19,60 %)

2 ans : 120 e TTC au lieu de 168 e\*

1 an : 75 e TTC au lieu de 84 e\*

**ÉTUDIANT** (sur justificatif)

2 ans : 70 e TTC

1 an : 45 e TTC

**ÉTRANGER** (exonéré)

2 ans : 190 e

1 an : 125 e

Envoi par avion + 32 e

Envoi par avion + 16 e

**Je préfère le couplage 1 an** (7n°/84e) + **le Guide de la Biologie Médicale** (150 e TTC) – *L'édition 2006 sera fournie dès septembre 2005*

**pour :**

**FRANCE** (dont TVA 19,60 %)

160 e TTC (port inclus)

**ÉTRANGER** (exonéré)

210 e (port inclus)

Envoi par avion + 16 e

147 A

Je règle la somme de ..... e par chèque bancaire ou postal à l'ordre de PCI.

Je souhaite recevoir une facture acquittée. (Facture N°..... du n°..... au n°.....)

Date : .....

Signature : .....

**MERCI DE COMPLÉTER VOTRE PROFIL**

**Centres d'intérêts**

**Fonction**

**Nb de dossiers / jour**

**Secteur d'activité**

**A-LABM**

**B-Laboratoire hospitalier**

**C-ETS**

**D-Enseignement**

**Y-Fournisseur de réactifs, matériels ou services**

**Z-Autre**

**A-Immunologie**

**B-Biochimie**

**C-Bactériologie**

**D-Virologie**

**E-Parasitologie**

**F-Hématologie /hémostase**

**G-Biologie moléculaire**

**Z-Autre**

**A-Directeur de laboratoire**

**B-Adjoint au directeur de laboratoire**

**C-Assistant ou praticien hospitalier**

**D-Enseignant**

**E-Technicien**

**A-< à 30**

**B-30 à 100**

**C-100 à 200**

**D-> à 200**

**Z-Autre**

**Z-Autre**

À compléter et retourner à: PCI – 176, rue du Temple – 75003 Paris

\*Prix au numéro 12 e

Spectra Biologie est éditée par PCI, s.a.s au capital de 50 000 e - RCS Paris B21 421 497 - Tél. 01 44 59 38 39 - Fax. 01 44 59 38 39 - E-mail : pci@editions-pci.fr

**L'abonnement à une publication spécialisée peut être pris en compte au titre de la formation professionnelle continue ou des frais généraux**