

Xavier TROUSSARD^{1,2}, Nabil MAAROUF²

Leucémies biphénotypiques (BAL) : mythe, réalité, perspectives

RÉSUMÉ

Les leucémies biphénotypiques (BAL) sont définies par la présence sur les mêmes cellules blastiques de marqueurs appartenant à au moins deux lignées différentes. La fréquence est évaluée à moins de 5% des cas de leucémies aiguës, même s'il existe des disparités dans la littérature. Les aspects morphologiques des cellules blastiques sont variables, aspects de lymphoblastes dans 1/3 des cas ou de myéloblastes dans les autres cas. L'examen par cytométrie en flux des cellules blastiques distingue les BAL avec co-expression de marqueurs lymphoïdes et de marqueurs myéloïdes (L+M) ou de marqueurs myéloïdes avec marqueurs lymphoïdes (M+L). Les BAL avec marqueurs lymphoïdes B et T (B+T) sont plus rares, comme les BAL avec marqueurs lymphoïde B et T et marqueurs myéloïdes (B+T+M). L'examen cytogénétique conventionnel permet de mettre en évidence plus fréquemment dans les BAL des anomalies de type t(9;22)(q34;q11) chez l'adulte, des t(12;21)(p13;q22) chez l'enfant ou des anomalies en 11q23, plus rarement d'autres anomalies cytogénétiques.

Reste à déterminer, d'une part, si les BAL peuvent être considérées comme une véritable identité et, d'autre part, quelle stratégie thérapeutique il convient d'adopter en première intention. Doit-on mettre en place un traitement de type leucémie aiguë lymphoblastique (LAL) ou de type leucémie aiguë myéloblastique (LAM) ? Cette question reste sans réponse à ce jour.

MOTS-CLÉS

Leucémie, leucémie biphénotypique, cytométrie en flux

Biphenotypic leukaemia (BAL): myth, reality, prospects

SUMMARY

Biphenotypic leukaemia (BAL) are characterized by the presence of surface markers belonging to at least two different lines on the blast cells. The frequency is evaluated to less than 5% of the cases of all acute leukaemia, even if there are disparities in the literature. The morphological features are heterogeneous with either presence of lymphoid cells in one third of the cases or more frequently myeloid cells. The examination by flow cytometry of the blast cells distinguishes the BAL with co-expression of lymphoid and myeloid markers (L+M) or myeloid and lymphoid markers (M+L). The BAL with B and T markers (B+T) are rarer than those with lymphoid B and T and myeloid markers B+T+M). Cytogenetic analysis shows a few chromosomal abnormalities, specially t(9;22)(q34;q11) in adults, t(12;21)(p13;q22) in children, abnormalities in 11q23 and more rarely other chromosomal abnormalities. Today we still have to establish if BAL can be regarded as a true identity. Another question remains also unanswered : is it appropriate to give in first intention a treatment against acute lymphoid leukaemia (ALL) or against acute myeloid leukaemia (AML) ?

KEYWORDS

Leukaemia, biphenotypic leukaemia, flow cytometry

¹ Laboratoire d'hématologie - CHU de Caen - 14000 Caen - Tél. : 02 31 06 50 14 - E-Mail : troussard-x@chu-caen.fr

² Registre Régional des Hémapathies Malignes de Basse-Normandie, CHU de Caen.

I - Epidémiologie des leucémies aiguës

Les leucémies aiguës et chroniques sont fréquentes. Aux Etats-Unis, sur 136 985 cas d'hémopathies enregistrées entre 1992 et 2001 dans 13 registres américains couvrant environ 13% de la population américaine, les hémopathies (aiguës et chroniques) lymphoïdes sont les plus fréquentes et représentent 86,62% des cas et les hémopathies non lymphoïdes seulement 16,38% (1). Les leucémies/lymphomes lymphoblastiques représentent 4,47% de toutes les hémopathies et 5,34% des cas d'hémopathies lymphoïdes ; les leucémies aiguës myéloïdes représentent quant-à elles 85% des hémopathies non lymphoïdes (1).

En France, pour l'année 2000, le nombre de nouveaux cas de leucémies tous types confondus, leucémies aiguës et leucémies chroniques, a été estimé à 6243, dont 58% de cas chez les hommes. Le taux d'incidence standardisé sur la population mondiale est de 8,9 chez l'homme et de 5,5 chez la femme. Au cours de la même année, 4695 décès par leucémies sont survenus, dont 54% chez les hommes, soit un taux de mortalité standardisé de 5,1 chez l'homme et de 3,0 chez la femme (2). Pour les leucémies aiguës, le taux d'incidence standardisé est de 4,3 chez les hommes et de 3,2 chez les femmes (2).

II - Prise en charge d'un patient avec une leucémie aiguë

L'exploration d'un patient avec une leucémie aiguë (LA) nécessite une expertise pluridisciplinaire qui doit intégrer de façon globale les données morphologiques, immunologiques, cytogénétiques et moléculaires. L'examen microscopique reste la première étape du diagnostic en mettant en évidence la présence dans tous les cas de plus de 20% de cellules blastiques dans la moelle. Associé à la coloration à la myéloperoxydase (MPO), il permet de séparer les LA lymphoblastiques (LAL) MPO négatives et les LA myéloblastiques (LAM) MPO positives. Il est important de distinguer ces deux entités, car la prise en charge clinique et biologique des patients avec une LAL ou une LAM est différente.

La classification de l'OMS en 2001 (3) a identifié quatre types de LAM. L'examen microscopique permet dans la plupart des cas de faire le diagnostic de LAM en dehors des LAM0 (présence des marqueurs myéloïdes CD13, CD33, CD15, CD117 et la MPO) ou des LAM7 (présence des marqueurs CD41 et CD61) habituellement MPO négatives. Dans ces cas, l'examen par cytométrie en flux (CMF) est indispensable. Le premier groupe de LAM correspond aux patients avec anomalies cytogénétiques récurrentes

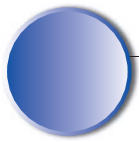
de type t(8;21)(q22;q22), inv(16)(p13q22), t(15;17)(q22;q12). Dans le deuxième groupe, une dysplasie multi-lignée, avec ou sans antécédents de syndrome myélodysplasique (SMD) est présente. Le troisième groupe correspond aux LAM secondaires aux traitements par chimiothérapie et/ou radiothérapie. Enfin, le dernier groupe correspond aux LAM non classables dans les catégories précédentes, un regroupement selon l'ancienne classification Franco-Américano-Britannique (FAB) (LAM0 à LAM7) est alors réalisé.

L'examen cytogénétique dans les LAM est nécessaire, l'impact sur le pronostic de certaines anomalies chromosomiques étant maintenant établi depuis de nombreuses années. Trois groupes d'anomalies ont été identifiés. La présence d'une t(8;21)(q22;q22), d'une inv(16)(p13q22) ou d'une t(15;17)(q22;q12) est habituellement associée à un bon pronostic. En revanche, la présence d'anomalies complexes, de -5/del(5q), d'anomalies 3q ou -7 est associée à un mauvais pronostic. Le groupe au pronostic intermédiaire est constitué par les autres patients, en particulier ceux qui présentent un examen cytogénétique normal. Les mutations de NPM1 (nucléophosmine) sont présentes chez les patients avec un caryotype normal, ces mutations entraînent une localisation cytoplasmique aberrante de la protéine. Elles sont observées préférentiellement chez les patients avec un caryotype normal (46/97 soit 47,4%) alors qu'elles ne sont pas détectées chez les patients présentant une t(8;21), une t(15;17), une del(5) ou une del(7). Elles sont observées rarement en cas d'inv(16) et peuvent être présentes en cas de t(9;22). L'analyse multivariée a montré dans cet article qu'en terme d'obtention de rémission complète (RC), les facteurs de mauvais pronostic sont l'absence de mutations de NPM1, un phénotype FAB autre que M2 et des anomalies cytogénétiques autres que celles qui sont de bon pronostic (4).

Quand la LA est MPO négative, l'examen par cytométrie en flux des cellules blastiques médullaires est indispensable, l'examen microscopique étant insuffisant pour porter avec certitude le diagnostic de LAL. La classification FAB est en réalité peu utile, en dehors de l'identification de la LAL3 de type Burkitt. Les molécules CD19,

Lignée B	
B-I (pro-B)	CD19+ et/ou CD79a+ et/ou CD22+
B-II (commune)	CD10+
B-III (pré-B)	IgM cyt+
B-IV (mûre)	Kappa ou Lambda, cyt ou s
Lignée T	
T-I (pro-T)	CD7+
T-II (pré-T)	CD2+ et/ou CD5+ et/ou CD8+
T-III (T corticale)	CD1a+
T-IV (T mûre)	CD1a- CD35+
Groupe a : TCR αβ+	
Groupe b : TCR γδ+	

Tableau I
Classification immunologique des Leucémies Aiguës Lymphoblastiques selon l'EGIL (5).



CD20, CD22, CD79a sont présentes à la surface des cellules B et les molécules CD2, CD3, CD5 et CD7 à la surface des cellules T. La classification immunologique du European Group for the Immunological Characterization of Leukemias ou EGIL (*tableau I*, page précédente) sépare les LAL-B et les LAL-T (5). La classification moléculaire des LAL montre des différences significatives entre l'adulte et l'enfant (6). Chez l'adulte, les LAL-T représentent environ 25% de l'ensemble des LAL et les LAL-B 75%, dont 25% de LAL avec t(9;22), 10% de LAL avec réarrangement de MLL en 11q23 et enfin 2% de LAL avec t(12;21). Chez l'enfant, les LAL-T sont moins fréquentes et représentent environ 11% de l'ensemble des LAL ; parmi les LAL-B, les LAL avec t(12;21), celles avec réarrangement en 11q23 et enfin les LAL avec t(9;22) représentent respectivement 22%, 8% et 3% des LAL B.

III - Définition de la leucémie biphénotypique

Les leucémies aiguës biphénotypiques (BAL) sont identifiées par la présence sur les mêmes blastes de molécules membranaires ou cytoplasmiques appartenant à au moins deux lignées (lymphoïde B, lymphoïde T ou myéloïde) (5, 7). La terminologie de la littérature concernant les BAL est néanmoins très confuse, car ces leucémies sont aussi parfois appelées leucémies «mixtes», leucémies «hybrides», leucémies «My+LAL» ou encore leucémies «Ly+LAM». Elles devraient en réalité être appelées leucémies «chimères» à distinguer cependant des leucémies biclonales ou des leucémies exprimant de façon aberrante un ou plusieurs marqueurs.

Tableau II
Identification de BAL par détermination du score immunologique de l'EGIL. Valeur en points attribuée à chaque marqueur pour les lignées B, T et Myéloïde.

Score	Lignée		
	B	T	Myéloïde
2 points	CD79a CD22 cyt IgM cyt	CD3 anti-TCR $\alpha\beta$ anti-TCR $\gamma\delta$	anti-MPO
1 point	CD19 CD10 CD20	CD2 CD5 CD8 CD10	CD13 CD33 CD117 CDW65
0,5 point	TdT CD24	TdT	CD14 CD15 CD64

IV - Caractéristiques des leucémies biphénotypiques

Les données épidémiologiques concernant les leucémies biphénotypiques sont rares. Dans une étude rétrospective réalisée chez 693 adultes et enfants recrutés entre janvier 1990 et août 1997 présentant une LA, les BAL ont été détectées dans 25 cas (3,6%) (8). Une fréquence plus élevée est parfois observée dans certaines séries de la littérature (9), une variabilité liée à une utilisation plus ou moins fréquente de la CMF dans le diagnostic d'une LA. Les BAL sont observées aussi bien chez l'adulte que chez l'enfant. Comme dans les LAM, certaines BAL peuvent apparaître *de novo* et d'autres peuvent être secondaires aux traitements en particulier à la chimiothérapie et/ou à la radiothérapie (9).

L'aspect morphologique des BAL est hétérogène : Comme dans toutes les LA, il existe dans la moelle plus de 20% de blastes, dont les aspects font évoquer soit des lymphoblastes dans environ 1/3 des cas soit plus fréquemment des myéloblastes (7). En cas de LAM, un aspect de LAM3, LAM6 ou LAM7 semblerait exceptionnel voir inexistant. La coloration à la MPO est essentielle : elle peut être positive, caractérisant la Ly+LAM, ou négative et identifiant alors la My+ LAL.

1. Apport de la cytométrie en flux

Seul l'examen par CMF est susceptible d'identifier la BAL en mettant en évidence un «score immunologique» de l'EGIL supérieur à 2 dans au moins deux lignées (*voir tableau II et encadré 1*). Ce score identifie plusieurs sous-groupes de BAL. Le premier groupe correspond à une co-expression de marqueurs lymphoïdes et de marqueurs myéloïdes (L+M). Ces BAL sont les plus fréquentes et l'expression des marqueurs myéloïdes est par ordre de fréquence le CD33, CD13 et le CD11b. En fonction de l'expression de la MPO, il est habituel de distinguer les BAL L+M MPO+ et les BAL avec marqueurs myéloïde et lymphoïde (M+L) MPO+. Les BAL avec marqueurs lymphoïde B et T (B+T) sont plus rares comme les BAL avec marqueurs lymphoïde B+T et marqueurs myéloïdes (B+T+M).

2. Apport de l'examen cytogénétique

L'examen cytogénétique conventionnel permet de mettre en évidence plus fréquemment dans les BAL des anomalies de type t(9;22)(q34;q11) ou des réarrangements BCR/ABL de type p190. Les LAL Ph1 positives sont plus fréquentes chez l'adulte que chez l'enfant et elles sont associées à l'expression de CD19, CD34 et CD10. Leur mauvais pronostic justifie des traitements innovants et la place des inhibiteurs de la tyrosine kinase (Glivec®) apparaît être importante. Contrairement aux t(9;22)(q34;q11), les t(12;21)(p13;q22) ou les réarrangements TEL-AML1 sont très fréquents chez l'enfant et présentent un relativement

Leucémies biphénotypiques (BAL) : mythe, réalité, perspectives

Encadré 1 – Cas clinique

Le patient âgé de 30 ans présente un syndrome tumoral avec adénopathies.

• Examens biologiques

Hb : 15,3 g/dL

Plaquettes : 311.109/L

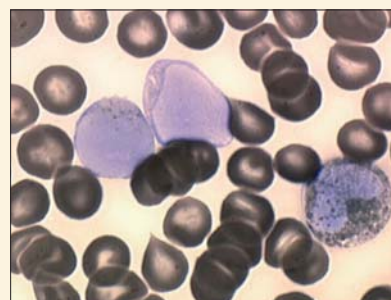
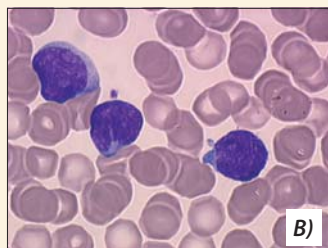
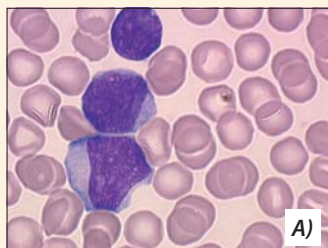
GB : 6,1.109/L dont 20% de blastes

Myélogramme : 70% de blastes

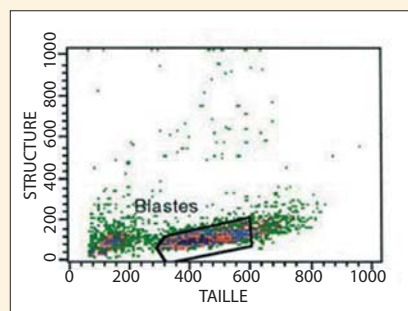
Caryotype : 46, XY [26]

• Examen morphologique**Figure 1**

A) et B) Présence de blastes sans grains intra-cytoplasmiques.

**Figure 2**

Présence dans moins de 3 % des blastes d'une positivité de la myéloperoxydase (technique benzidine)

• Cytométrie en flux et calcul du score de l'EGIL**Figure 3**

Analyse taille et structure de la population cellulaire étudiée par cytométrie en flux.

CD2	4%	CD19	12%	CD56	0%	MPO	85%
CD3 surface	3%	CD20	1%	CD34	85%	CD13	93%
CD3 cytoplasmique	85%	CD22 surface	0%	DR	19%	CD14	44%
CD4	2%	kappa	0%			CD15	0%
CD5	98%	lambda	0%			CD33	84%
CD7	98%	CD79a	2%				
CD8	2%	IgM surface	0%				
		CD10	93%				

Tableau III

Synthèse des résultats d'analyse par cytométrie en flux (diagrammes et histogrammes ne sont pas présentés pour des raisons de place).

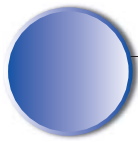
Lignées et marqueurs			Points attribués		
B	T	My	B	T	My
CD79a CD22cyt IgM cyt	CD3 Anti-TCR(αβ) Anti-TCR(γδ)	Anti-MPO	0 ND ND	2	2
CD19 CD10 CD20	CD2 CD5 CD8	CD13 CD33 CD117 CD65	0 0 0	0 1 1	1 1 0 0
TdT	TdT	CD14 CD15 CD64	ND	ND	0 0 ND
Résultat : BAL de type TII-My					

Tableau IV

La détermination des marqueurs exprimés ou non par les lignées B, T et myéloïde permet le calcul du score immunologique de l'EGIL (voir le tableau II p.36, pour les valeurs en points attribuées à chaque marqueur).

• Traitement

Un traitement de type LAL est mis en place. Le patient décède 2 ans après le diagnostic de maladie évolutive.



ment bon pronostic. Le pourcentage d'expression des molécules CD13 et CD33 est plus élevé chez les patients TEL/AML1 positifs par comparaison aux patients TEL/AML1 négatifs. Soixante trois % des enfants avec une BAL ont un réarrangement TEL/AML1 alors que seulement 11% des enfants avec une LAL non BAL présentent ce transcrite. (10). Les BAL associées à des anomalies en 11q23 sont associées à une expression du CD19 et du CD34 mais non à l'expression du CD10. Enfin, d'autres anomalies cytogénétiques récurrentes mais non spécifiques ont été aussi décrites dans les BAL (11).

BIBLIOGRAPHIE

- (1) MORTON LM, WANG SS, DEVESA SS, HARTGE P, WEISENBURGER DD, LINET MS. Lymphoma incidence patterns by WHO subtype in the United States, 1992-2001. *Blood*, 2006, 1, 265-276.
- (2) REMONTET L, ESTEVE J, BOUVIER AM, GROSCLAUDE P, LAUNOY G, MENEGOZ F, EXBRAYAT C, TRETARE B, CARLI PM, GUIZARD AV, TROUSSARD X, BERCELLI P, COLONNA M, HALNA JM, HEDELIN G, MACE-LESEC'H J, PENG J, BUEMI A, VELTEN M, JOUGLA E, ARVEUX P, LE BODIC L, MICHEL E, SAUVAGE M, SCHVARTZ C, FAIVRE J. Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev. Epidemiol. Sante Publique*. 2003, 51(1 Pt 1), 3-30.
- (3) JAFFE ES, HARRIS NL, STEIN H, VARDIMAN JW. (Eds): World Health Organization Classification of tumours. Pathology and genetics of tumours of haematopoietic and lymphoid tissues. IARC Press, Lyon 2001.
- (4) SUZUKI T, KIYOI H, OZEKI K, TOMITA A, YAMAJI S, SUZUKI R, KODERA Y, MIYAWAKI S, ASOU N, KURIYAMA K, YAGASAKI F, SHIMAZAKI C, AKIYAMA H, NISHIMURA M, MOTOJI T, SHINAGAWA K, TAKESHITA A, UEDA R, KINOSHITA T, EMI N, NAOE T. Clinical characteristics and prognostic implications of NPM1 mutations in acute myeloid leukemia. *Blood*, 2005, 106(8), 2854-2861.
- (5) BENE MC, CASTOLDI G, KNAPP W, LUDWIG WD, MATUTES E, ORFAO A, VAN'T VEER MB. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). *Leukemia*, 1995, 9(10), 1783-6, 1786.

V – Conclusion

L'ensemble de ces aspects ne permet peut-être pas de considérer les BAL comme une véritable identité. De fait, cette entité reconnue en Europe ne l'est pas formellement en Amérique. Sur le plan pratique, il convient de déterminer la meilleure stratégie thérapeutique. Convient-il de traiter les patients en première intention comme pour une LAL ou pour une LAM ? Des études méritent d'être rapidement menées pour répondre à cette question qui reste encore aujourd'hui à trancher.

- (6) PUI CH, RELLING MV, DOWNING JR. Acute lymphoblastic leukemia. *N. Engl. J. Med.*, 2004, 350(15), 1535-1548.
- (7) MATUTES E, MORILLA R, FARAHAT N, CARBONELL F, SWANSBURY J, DYER M, CATOVSKY D. Definition of acute biphenotypic leukemia. *Haematologica*, 1997, 82(1), 64-66.
- (8) KILLICK S, MATUTES E, POWLES RL, HAMBLIN M, SWANSBURY J, TRELEAVEN JG, ZOMAS A, ATRA A, CATOVSKY D. Outcome of biphenotypic acute leukemia. *Haematologica*, 1999, 84(8), 699-706.
- (9) HANSON CA, ABAZA M, SHELDON S, ROSS CW, SCHNITZER B, STOOLMAN LM. Acute biphenotypic leukaemia: immunophenotypic and cytogenetic analysis. *Br. J. Haematol.*, 1993, 84(1), 49-60.
- (10) BARUCHEL A, CAYUELA JM, BALLERINI P, LANDMAN-PARKER J, CEZARD V, FIRAT H, HADDAD E, AUCLERC MF, VALENSI F, CAYRE YE, MACINTYRE EA, SIGAUX F. The majority of myeloid-antigen-positive (My+) childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemias express TEL-AML1 fusion transcripts. *Br. J. Haematol.*, 1997, 99(1), 101-106.
- (11) DUNPHY CH, BATANIAN JR. Biphenotypic hematological malignancy with T-lymphoid and myeloid differentiation: association with t(3;12)(p25;q24.3). Case report and review of the literature. *Cancer Genet. Cytogenet.*, 1999, 1, 114(1), 51-57.