

UNIVERSITÉ DE NANTES

FACULTÉ DE MÉDECINE

Année : 2020

N°

THÈSE

pour le

DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Hématologie clinique

Présentée et soutenue publiquement le 2 Novembre 2020

par

Madame Louise BOUARD
Née le 03/12/1991 à Nantes

**Reconstitution immunitaire et complications infectieuses liées à la procédure d'autogreffe
et de maintenance par rituximab dans le lymphome à cellules du manteau**

Président : Monsieur le Professeur Steven LE GOUILL

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur Steven LE GOUILL

Membres du Jury : Monsieur le Professeur David BOUTOILLE, Monsieur le
Professeur Patrice CHEVALLIER, Monsieur le Docteur Thomas GASTINNE, Monsieur
le Docteur Benoit TESSOULIN

Remerciements

Au Professeur Le Gouill, pour avoir accepté de diriger ce travail, présider ce jury et pour l'accueil au sein de son service pour y apprendre mon métier,

Au Professeur Chevallier, pour avoir accepté de juger ce travail, pour les travaux qu'il m'a confiés et la simplicité de nos rapports,

Au Professeur Boutoille, pour avoir accepté de juger ce travail,

Au Docteur Gastinne, pour avoir accepté de juger ce travail, pour le plaisir que j'ai eu à travailler et échanger avec lui et pour sa rigueur clinique,

Au Docteur Tessoulin, pour avoir accepté de juger ce travail, pour sa disponibilité et pour les allusions cinématographiques toujours reçues et renvoyées,

Au Docteur Touzeau, pour le plaisir de travailler ensemble, et pour tous ses messages à caractères informatifs,

Aux Docteurs Mahé, Blin, Guillaume, Peterlin, Garnier, Dubruille pour le plaisir de ces années d'internat sous leurs giron et la complémentarité de leurs personnalités,

À Amandine, Anne et Sophie, co-internes puis chefs de qualité,

À toutes les équipes paramédicales, pour la bonne humeur, pour les rires éclatants de la salle de soins de l'UMAC,

À Catherine Pellat et son équipe, pour l'année de Master 2, riche en découvertes,

À tous mes co-internes, pour le travail en équipe et la bienveillance ambiante,

À mes parents, pour m'avoir toujours laissée libre de mes choix, pour m'avoir permis de les accomplir et pour leur amour,

À ma sœur et à mon frère, Sophie et Arnaud, pour m'avoir toujours donné envie de grandir, d'apprendre et pour leur amour,

À Renaud, pour son soutien et son amour indispensables ; des kilomètres de vie en rose,

À tous mes amis, qui ont connu et accompagné ces longues années étudiantes, ponctuées de révisions, examens et fêtes incroyables,

À mes chevaux, pour tous les parcours de saut d'obstacles franchis,

À mes chats, pour leurs ronrons apaisants lors de la rédaction de ce manuscrit, fidèles au poste.

Tables des matières

Abréviations.....	5
Introduction.....	6
I/ Classification et épidémiologie.....	6
II/ Présentation clinique et biologique des LCM.....	7
III/ Facteurs pronostiques.....	7
IV/ Prise en charge thérapeutique du sujet jeune éligible à un traitement intensif.....	7
IV-1/ Immunochimiothérapie.....	8
IV-2/ Aracytine haute dose.....	8
IV-3/ Autogreffe.....	9
IV-4/ Maintenance.....	10
V/ Le rituximab, anticorps monoclonal anti CD 20.....	11
V-1/ Mécanismes d'action biologiques.....	11
V-2/ Effets secondaires infectieux et d'immunosuppression liés au rituximab.....	12
V-2-A/ Données disponibles sur la toxicité infectieuse du rituximab associé à la chimiothérapie, en maintenance et en péri-autogreffe dans les LNHB.....	12
V-2-B/ Hypogammaglobulinémie.....	13
V-2-C/ Neutropénie.....	14
V-2-D/ Lymphopénie TCD4.....	15
VI / Mesures prophylactiques de l'immunosuppression en hématologie.....	17
VI-1/ Prophylaxies anti-infectieuses.....	17
VI-2/ Substitution en Immunoglobulines polyvalentes.....	17
 Justification de l'étude.....	 19
Objectifs primaire et secondaires de l'étude.....	19
Matériel et méthode.....	20
I/ Patients.....	20
II/ Éléments de suivi et monitoring.....	21
III/ Analyse statistique.....	22
 Résultats.....	 24

I/ Description de la population et devenir des patients.....	24
II/ Survenue d'évènements cliniques et biologiques d'immunosuppression et description des sites infectieux.....	26
II-1/ Épisodes fébriles, infections et hospitalisations pour cause infectieuse.....	26
II-2/ Description des sites infectieux et agents pathogènes.....	28
II-3/ Évènements biologiques d'immunosuppression.....	30
II-3-A/ Neutropénies < 0,5 G/L et < 1G/L.....	30
II-3-B/ Hypogammaglobulinémies < 6g/L.....	31
II-3-C/ Lymphopénies T CD4 < 0,2 G/L.....	33
II-4/ Substitution en immunoglobulines polyvalentes.....	35
III/ Impact de la survenue d'évènements cliniques et biologiques d'immunosuppression sur la SSP et la SG.....	36
III-1/ Évènements cliniques : épisodes infectieux et substitution en Ig IV.....	36
III-2/ Évènements biologiques : neutropénie < 0,5G/L, hypogammaglobulinémie < 6g/L et lymphopénie T CD4 < 0,2G/L	36
IV/ Facteurs prédictifs d'évènements cliniques et biologiques d'immunosuppression	39
IV-1/ Analyse univariée.....	39
IV-2/ Analyse multivariée.....	39
Discussion.....	41
Conclusion.....	44
Références.....	45

ABREVIATIONS

ADCC : Cytotoxicité dépendante de l'anticorps

ASCT : Autogreffe de cellules souches

BOM : Biopsie ostéo-médullaire

HR : Hazard ratio

HSV : Herpes simplex virus

IC 95% : Intervalle de confiance à 95%

Ig : Immunoglobulines

IgG : Gammaglobulines

LCM : Lymphome à cellules du manteau

LEMP : Leuco-encéphalopathie multifocale progressive

LON : Late onset neutropenia

LNH B : Lymphome non-hodgkinien B

LTCD4/8 : Lymphocytes T CD4+/CD8+

MRD : Minimal residual disease – Maladie résiduelle détectable

OR : Odd Ratio

qPCR : Polymerase chain reaction quantitative

PNN : Polynucléaires neutrophiles

RC : Réponse complète

RC : Réponse complète incertaine

RP : Réponse partielle

SG : Survie globale

SSE : Survie sans évènement

SSP : Survie sans progression

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VZV : Varicella-zoster virus

INTRODUCTION

I/ Classification et Épidémiologie

Le lymphome à cellules du manteau (LCM) est une hémopathie lymphoïde B définie comme un lymphome non hodgkinien (LNH) agressif¹, exception faite des formes dites indolentes et in situ. Il s'agit d'une entité représentant environ 7%² des lymphomes en Europe et 4% aux Etats-Unis³. Son incidence semble moins forte dans les pays asiatiques¹. La médiane d'âge au diagnostic est supérieure à 60 ans, avec une nette prédominance masculine : le ratio homme / femme est à 3 pour 1².

Le diagnostic est anatomo-pathologique, réalisé sur une biopsie ganglionnaire ou ostéomédullaire². Le LCM se présente sous forme d'un envahissement de la zone du manteau par de petits à moyens lymphocytes monomorphes aux contours nucléaires irréguliers². Il existe cependant différents variants morphologiques : classique, pléomorphe et blastoïde^{1,2}. L'immuno-histo-chimie révèle des marquages CD 20, CD 5 et cycline D1 positifs et des marquages CD 10 et Bcl-6 négatifs³. Le LCM est caractérisé par la translocation t(11 ;14) qui n'est pas spécifique du LCM, mais reste un évènement clé dans la pathogénèse du LCM. Cette translocation induit l'hyperexpression de la Cycline D1. Les conséquences sont l'inactivation du gène *Rb*, suppresseur de tumeur et l'activation du cycle cellulaire favorisant la prolifération des cellules de LCM⁴¹. Les cas de LCM non-porteurs de cette hyper-expression surexpriment la cycline D2 ou D3⁴.

Il existe 2 sous-types distincts^{3,5} différant par leurs pathogénèses moléculaires et les manifestations cliniques. Le sous-type commun nodal représente 80 à 90% des LCM^{1,5}. Les lymphocytes de ce sous-type ne transitent pas par le centre germinale des organes lymphoïdes secondaires, présentent un domaine variable des chaînes lourdes d'immunoglobulines (gène *IGHV*) non muté et surexpriment le gène *SOX-11*. Le deuxième sous-type, leucémique non nodal, dont les lymphocytes B pénètrent le centre germinale, ne surexprime pas le gène *SOX-11* et présente des lymphocytes à *IGHV* mutés. Les patients concernés par ce second sous-type se présentent souvent avec une forme leucémisée et une splénomégalie mais la cinétique de leur maladie peut rester indolente. Ces sous-types peuvent néanmoins évoluer vers une présentation agressive à la faveur de certaines mutations génétiques de leur clone lymphocytaire, notamment du gène *TP53*¹.

II/ Présentation clinique et biologique des LCM

Les circonstances de découvertes sont hétérogènes. Dans le cas du sous-type commun, les patients présentent le plus souvent un syndrome tumoral superficiel et/ou profond, parfois avec syndrome de masse et compression d'organes adjacents, voire un envahissement extra-nodal notamment du tractus digestif¹. Des cytopénies peuvent également être une circonstance de découverte¹. Les patients peuvent ou non présenter une altération de l'état général, avec des signes généraux dits signes B : perte de poids, sueurs nocturnes et fièvre nue. Pour le sous-type non nodal, la présentation est le plus souvent indolente et/ou les patients présentent une phase leucémisée plus ou moins importante et/ou une splénomégalie¹.

III/ Facteurs pronostiques

Le LCM est une hémopathie à ce jour considérée comme incurable pour laquelle il n'a pas été mis en évidence de plateau de survie à distance des traitements^{1,5}.

Le score pronostique MIPI, basé sur des cohortes rétrospectives et hétérogènes en termes de traitements reçus, permet de distinguer 3 groupes pronostiques : faible risque, risque intermédiaire et risque élevé avec des survies globales à 5 ans de 20, 35 et 60%, respectivement⁶. Il comporte 4 variables indépendantes : l'âge, le *performans status* selon l'ECOG, le taux de LDH (lactate deshydrogenase) et la numération leucocytaire. D'autres données ont des valeurs pronostiques prouvées, telles que l'index histologique Ki67⁷, le statut mutationnel des *IGVH*⁸, le variant histologique morphologique, le statut mutationnel de *SOX11*⁸ et *TP53*⁹, ou encore l'existence d'un caryotype complexe¹⁰.

IV/ Prise en charge thérapeutique du sujet jeune éligible à un traitement intensif

Pour les rares cas de maladie indolente non nodale ou de LCM de stade I ou II peu ou pas symptomatiques, une attitude prudente de surveillance peut être envisagée¹¹.

En pratique dans la plupart des cas, les patients présentent des stades III ou IV au diagnostic et/ou une masse tumorale importante et symptomatique. Le traitement ne doit alors pas être différé.

IV-1/ Immuno-chimiothérapie

L'utilisation du rituximab, anticorps monoclonal anti-CD 20, associé au régime de polychimiothérapie CHOP -cyclophosphamide, doxorubicine, vincristine et corticoïdes- sans autogreffe (ASCT) au décours, a été associée à une amélioration du délai avant rechute dans un essai prospectif randomisé (R-CHOP contre CHOP) en 2005¹²: 21 contre 14 mois. L'adjonction de l'anticorps permet une amélioration des taux de réponse globale (94% contre 75%) et de réponse complète (34% contre 7%), avec et sans rituximab, respectivement. Néanmoins, cette étude portant sur 128 patients n'avait pas mis en évidence d'avantage en termes de survie sans progression (SSP) ou globale (SG)¹². Une méta-analyse portant sur des lymphomes B indolents et des LCM ($N_{LCM}=260$) a ensuite montré un avantage en termes de survie globale pour les patients traités par R-chimiothérapie par rapport à la chimiothérapie seule : HR décès= 0,60 IC 95% (0,37-0,98)¹³.

IV-2/ Aracytine Haute dose

L'intérêt de l'adjonction de l'aracytine haute dose dans le régime de chimiothérapie a été introduit par une étude de Lefrere *et al.*¹⁴, qui incluait des patients traités pour un LCM insuffisamment répondeurs après un régime de type CHOP. Le taux de réponse complète (RC) avant rattrapage était de 7%, et passait à 84% avec un rattrapage de type DHAP, avant autogreffe de consolidation.

Une étude de phase II¹⁵, incluant 97 patients atteints de LCM en première ligne a évalué l'efficacité du régime intensif combinant rituximab, Hyper CVAD et Méthotrexate-aracytine. Le taux de réponse globale était de 97%, avec 87% de RC. À 3 ans, la SSP et la SG étaient de 64 et 82%, respectivement. Néanmoins, malgré ces résultats satisfaisants, la toxicité principalement hématologique avait empêché 29% des patients de parvenir à la fin du programme thérapeutique et il n'était pas observé de plateau de survie. Une mise à jour de

cette étude en 2017¹⁶, avec une suivi médian de 13,4 ans montrait une SSP médiane de 4,8 ans et une SG médiane de 10,7 ans.

En 2013, un essai de phase II évaluant chez 60 patients une induction par 3 cures de CHOP et du rituximab pour la 3^{ème} puis 3 R-DHAP avant autogreffe dans le LCM mettait en évidence un meilleur taux de RC après les R-DHAP (57%) qu'après les (R)-CHOP (12%)¹⁷. Avec une SSP médiane de 83 mois, ce régime alterné semblait produire de meilleurs résultats en comparaison aux précédents essais sans rituximab ou sans aracytine¹⁷. En 2016, un essai randomisé a comparé l'induction par 6 R-CHOP à une alternance R-CHOP (x3) et R-DHAP (x3) avant autogreffe¹⁸. Quatre cent soixante-six patients ont été inclus. La supériorité d'une induction contenant de l'aracytine a alors été démontrée, avec un temps médian jusqu'à échec du traitement de 9,1 ans dans le bras avec alternance contre 3,9 ans dans le bras 6 R-CHOP, *hazard ratio* HR= 0,56; $p=0,038$. Cela se traduisait par un meilleur taux de RC, de SSP et de maladie résiduelle (MRD, *minimal residual disease*) indétectable au niveau moléculaire¹⁸. En effet, la PCR (*Polymerase chain reaction*) quantitative, mesurant sur un échantillon de sang périphérique le nombre de copies clonales transcrites de l'aberration chromosomique t(11 ;14) spécifique des cellules tumorales, représente un marqueur important dans les essais thérapeutiques. Une MRD indétectable est prédictive d'une meilleure SSP¹⁹. La détection de la MRD n'est cependant pas recommandée en routine². Dans cette étude randomisée, la toxicité hématologique de grade 3 ou 4 était significativement supérieure dans le bras expérimental avec un taux plus important de neutropénies fébriles ($p=0,0075$) mais pas d'infections documentées ($p=0,32$)¹⁸.

IV-3/ Autogreffe de cellules souches hématopoïétiques

En 2003, une étude rétrospective de Vandenberghe *et al.*²⁰, incluant 195 patients intensifiés puis autogreffés pour un LCM mettait en évidence un avantage de cette pratique lorsqu'elle était réalisée en situation de première RC. En effet la SG et la SSP étaient significativement meilleures pour ces patients comparés à tous les autres : HR=2,95, IC 95% (1,35-6,45), $p=0,007$ et HR= 2,99 IC 95% (1,66-5,8), $p<0,001$. Pour le groupe de patients en situation de première réponse partielle, la SSP était significativement meilleure par rapport aux autres (réfractaires primaires ou ayant eu une ligne antérieure) : HR= 1,57 ; IC 95% (1,01-2,43), $p=0,045$, mais cet avantage n'était pas ici significatif en termes de SG. Néanmoins, l'étude suggérait un bénéfice

de l'autogreffe dès la première ligne chez le sujet jeune en réponse²⁰. Les types de conditionnements reçus étaient hétérogènes dans cette cohorte rétrospective et n'ont pas montré de différence significative de survie, y compris l'utilisation d'une irradiation corporelle totale²⁰.

Deux ans plus tard, une étude prospective randomisée²¹ montrait un avantage significatif sur la SSP en faveur de la réalisation d'une autogreffe en comparaison à la maintenance par interféron : SSP moyenne de 39 contre 17 mois, $p=0,01$. L'induction de ces patients était réalisée par du CHOP +/- rituximab pour 26% d'entre eux.

Le bénéfice de la réalisation de l'autogreffe reste significatif à l'ère du rituximab. Tam *et al.* ont montré dans un groupe de patients autogreffés en première ligne, que l'utilisation du rituximab améliorait significativement la SSP par rapport aux patients autogreffés n'ayant pas reçu l'anticorps monoclonal²².

Ainsi, l'autogreffe en situation de réponse complète dès la première ligne est une stratégie recommandée pour les patients jeunes^{1,2}.

IV-4/ Maintenance

En 2012, Geisler *et al.* ont présenté une mise à jour des données de leur essai MCL-2²³ de phase II, évaluant l'utilisation de l'autogreffe chez 160 patients porteurs de LCM en 1ère ligne. Le suivi médian était de 6,5 ans. Pour les patients en situation de réponse post autogreffe, 60 avaient rechuté dont 10% plus de 5 ans après l'autogreffe, mettant en lumière l'absence de plateau de survie malgré les progrès thérapeutiques. Soixante-dix-huit patients sur 160 avaient un suivi sur le plan moléculaire (qPCR), et 74/160 étaient considérés en RC morphologique. Vingt-six ont reçu un traitement pré-emptif par rituximab seul, en situation de rechute moléculaire, sans rechute clinique. Cette attitude a permis une reprise de la réponse moléculaire (MDR indétectable) pour 92% des patients concernés²⁴.

L'intérêt de la maintenance par rituximab dans le cadre du LCM avait été démontrée chez les sujets non-éligibles à un traitement intensif dans un essai randomisé²⁵. Trois cent seize patients en réponse après l'induction (R-CHOP ou R-FC, rituximab endoxan fludarabine) ont été randomisés entre rituximab en maintenance tous les 2 mois jusqu'à progression et maintenance par interféron alfa. Le bénéfice du rituximab a alors été démontré avec une SG

à 4 ans dans le groupe maintenance par rituximab de 87% contre 63% dans le bras interféron alfa, $p=0,005$.

L'essai prospectif randomisé LyMa²⁶ a évalué l'utilité d'un régime de maintenance par rituximab, administré à la dose de 375mg/m² tous les 2 mois pendant 3 ans en post autogreffe pour les patients en première ligne thérapeutique. Dans cette étude incluant 299 patients, le traitement d'induction consistait en 4 cures de R-DHAP (rituximab 375mg/m² à J1, dexaméthasone 40 mg de J1 à J4, cytarabine 2g/m² toutes les 12h à J2 et des dérivés de sels de platines selon les centres ; cisplatine IV 100 mg/m² sur 24h à J1 ou carboplatine AUC 5 mg/mL.min ou oxaliplatine 130 mg/m² à J1) et le conditionnement de l'autogreffe utilisé était le R-BEAM (rituximab 500 mg/m² à J-8, carmustine 300 mg/m² à J-7, etoposide 400 mg/m² de J-6 à J-3, cytarabine 400 mg/m² de J-6 à J-3 et melphalan 140 mg/m² à J-2). Après un suivi médian de 54,4 mois, le régime de maintenance apporte une amélioration de la survie sans événement (SSE), de la SSP et de la SG à 4 ans, respectivement : 79% dans le bras expérimental contre 61% ; $p=0,001$, 83% dans le bras expérimental contre 64%, $p<0,001$ et 89% dans le bras expérimental contre 80%, $p=0,04$. Depuis cet essai, la maintenance par rituximab est recommandée pour les sujets jeunes en réponse après autogreffe^{1,2,27}.

V/ Rituximab, anticorps monoclonal anti-CD 20

V-1/ Mécanismes d'action biologiques

Le rituximab est un anticorps monoclonal chimérique (humain/souris) de type IgG1, anti CD20. Le CD 20 est un marqueur exprimé à la surface des cellules B depuis le stade pré-B jusqu'à la différenciation terminale où son expression est perdue au stade du plasmocyte. Les premiers essais *in vivo* d'anticorps monoclonaux anti-CD20 datent de 1994. Les mécanismes d'action du rituximab sont multiples et il est difficile d'estimer la proportion de chacun d'entre eux dans l'effet anti-tumoral du traitement²⁸. De plus, ces mécanismes sont probablement intriqués et se potentialisent entre eux.

D'une part, un mécanisme majeur expliquant l'efficacité du rituximab est la cytotoxicité dépendante de l'anticorps (ADCC), la fraction constante de l'anticorps chimérique se liant aux récepteurs de cellules effectrices telles que les lymphocytes Natural Killer (CD16) et les

macrophages, de façon non exhaustive. Ces effecteurs immuns ont à leur tour une cytotoxicité directe et/ou une réponse humorale favorisant une amplification de la réponse²⁸.

Plusieurs études ont d'autre part montré un mécanisme de cytotoxicité médiée par le complément, suspecté d'être à l'origine des réactions à la perfusion du Rituximab²⁸.

Enfin, le rituximab induit une mort cellulaire immune-indépendante, par signalisation directe en se liant à sa cible^{28,29}. Ce mécanisme a été mis en évidence par l'observation *in vitro* d'une inhibition de croissance cellulaire de lignées B malignes lorsque l'anticorps était mis en contact, sans l'aide d'effecteurs immunitaires ou de microenvironnement. Ce mécanisme d'action semble reposer sur l'inhibition de voies de signalisation anti-apoptotiques²⁸ et sur la favorisation de la formation de l'apoptosome : Apaf-1 et cytochrome cytosolique³⁰.

V-2/ Effets secondaires immunologiques et leucocytaires du rituximab

V-2-A/ Données disponibles de toxicité infectieuse du rituximab en combinaison avec la chimiothérapie, en maintenance et en péri-autogreffe dans les LNH B

Le bénéfice thérapeutique lié à l'utilisation du rituximab seul ou en combinaison avec la chimiothérapie pour les lymphomes non-hodgkiniens B a été largement démontré dans des essais thérapeutiques durant ces 2 dernières décennies³¹. Concernant son profil de toxicité, peu d'études précisent les conséquences immunologiques et infectieuses du ciblage spécifique d'un marqueur pan-B à court et long terme, notamment selon un schéma de maintenance post autogreffe.

Dans une méta-analyse de Lanini³² *et al.* de 17 essais randomisés (5259 patients) comparant des régimes de chimiothérapie pour des LNH B contre ces mêmes régimes avec adjonction de rituximab sans autogreffe au décours, les schémas de traitement étaient finis, avec au maximum 8 injections de rituximab et en médiane 6 injections reçues. Cette méta-analyse a confirmé l'avantage en termes de réponse globale (comprenant la réponse complète, complète incertaine et la réponse partielle ; RC,RCu et RP) avec l'utilisation du rituximab, mais une augmentation du risque de leucopénie et granulocytopénie de grades supérieurs ou égaux à 3 ; Risque relatif (RR)= 1,24, IC 95% (1,12-1,37) et RR= 1,07 (1,02-1,12) respectivement. Il n'y avait en revanche pas de majoration significative du risque d'infection sévère ou de décès pour cause infectieuse³².

Concernant le schéma de maintenance, dans l'essai comparatif randomisé PRIMA, démontrant prospectivement le bénéfice de la maintenance par rituximab après traitement par R-CHOP de lymphomes folliculaires³³, 1019 patients ont été inclus. L'effet secondaire le plus fréquent dans le bras rituximab était la survenue d'infections de grade 2 à 4 : 39% contre 24% dans le bras observation, Risque relatif = 1,62, CI 95% (1,35 - 1,96). Les points d'appel infectieux majoritaires étaient répartis comme suit : bronchites, infections respiratoires hautes, sinusites, infections urinaires et ORL. Le taux d'infection de grades 3 et 4 était de 24% contre 17%, pour le bras rituximab et le bras observation respectivement, avec un risque relatif à 1,46 CI 95% (1,14-1,87), $p=0,0026$. Le nombre de patients n'ayant pas achevé leur séquence thérapeutique était dans le bras maintenance de 4% contre 2% dans le bras observation ($p=0,0029$)³³.

L'intensification thérapeutique et l'autogreffe dans les LNH rapporte un taux de morbi-mortalité liée à la procédure de moins de 2%³⁴. Dans une étude rétrospective de 34 patients atteints de LCM, l'utilisation du rituximab (4 cycles) en péri-greffe ne retardait pas la reconstitution hématopoïétique: délai moyen pour PNN > 0,5G/L de 10 jours³⁵. En revanche, plusieurs études s'accordent à dire qu'en utilisant du rituximab au cours de l'induction des LNH B, les taux de lymphocytes B, T et d'immunoglobulines restent diminués pendant 6 à 12 mois post ASCT ^{34,36}. Le rapport des lymphocytes T CD4/CD8 reste altéré durant le même délai^{34,36}.

Plus spécifiquement, certaines études dédiées rapportent un risque d'hypogammaglobulinémie^{37,38}, de neutropénie³⁹ et de lymphopénie T CD4⁴⁰ lié à l'utilisation du rituximab pour le traitement des LNH B.

V-2-B/ Hypogammaglobulinémie – Mécanisme physiopathologiques et implications cliniques

L'hypogammaglobulinémie est la conséquence directe d'une déplétion des populations B, ciblée par l'anti-CD20. L'utilisation répétée du rituximab induit une immunodépression B profonde et prolongée³⁷. Dans une étude sur la reconstitution B et l'impact fonctionnel du rituximab, Anolik *et al.*³⁷ rapportent une profonde déplétion en cellules B pouvant durer jusqu'à 9 mois après la dernière injection. Le retour à des taux de cellules B équivalents aux taux pré-thérapeutiques prend en moyenne 12 mois. L'étude phénotypique de sang

périphérique de patients montre une augmentation des lymphocytes B transitionnels (non fonctionnels) lors de la reconstitution et un très faible de taux de lymphocytes B mémoires, restant faible à un an de la dernière injection de rituximab. Les auteurs parlent d'un blocage de maturation au stade transitionnel. Fonctionnellement, ces lymphocytes ont des capacités de prolifération réduites³⁷.

L'impact clinique spécifique de cette diminution de l'immunité humorale liée au rituximab a été étudié dans une étude rétrospective de 211 patients atteints de LNH B³⁸. La cohorte regroupait des patients recevant soit du rituximab monothérapie, soit en association avec de la chimiothérapie soit en maintenance. Il y avait 19 patients atteints de LCM. Les facteurs de risque indépendants de survenue d'une hypogammaglobulinémie (<6 g/L) étaient : l'administration de rituximab en schéma de maintenance, le fait d'avoir reçu des analogues des purines et d'avoir reçu au moins 2 doses de rituximab. L'hypogammaglobulinémie symptomatique, définie par le même taux de gammaglobulines associé à la survenue de 2 infections sans contexte de neutropénie dans les 6 mois après administration de rituximab, montrait une incidence de 6,6% et était corrélée au nombre d'injection de rituximab. La majorité des épisodes infectieux décrits étaient des infections ORL ou respiratoires hautes. La substitution par Immunoglobulines (Ig) polyvalentes réduisait significativement le nombre d'infections³⁸.

V-2-C/ Neutropénie – Mécanisme physiopathologiques et implications cliniques

La neutropénie liée au rituximab est un phénomène qui survient en moyenne 95 jours après la dernière injection d'où le terme de « Late onset neutropenia (LON) »³⁹. Ses caractéristiques uniformément rapportées sont les suivantes : une durée de neutropénie courte d'environ 6 jours, un délai long après la dernière injection de rituximab et l'absence de complication infectieuse³⁹. Le mécanisme n'est cependant pas univoque. La comparaison de 12 biopsies de moëlle de patients expérimentant une LON dans le cas d'administration de rituximab pour un LNH avec 38 biopsies contrôles (13 LNH recevant du rituximab sans LON et 25 donneurs sains) montrent plusieurs différences significatives. D'une part, les cas de LON montrent une lymphodéplétion B plus importante³⁹. Les cas de LON présentent une inversion du rapport CD4/CD8 concernant les lymphocytes T, en faveur de la fraction CD8+ et notamment une infiltration médullaire par de grands lymphocytes T granuleux (LGL-T, CD3+, CD8+ et CD57+)

de plus de 30%. Ces LGL-T présentent un récepteur TCR non clonal. Enfin, ces moëles montrent une augmentation du taux de figures apoptotiques dans la maturation granuleuse. Ainsi, par analogie avec l'entité leucémie à LGL-T (monoclonale), l'hypothèse de cette étude est celle d'une sécrétion de Fas-Fas Ligand majoré par ces LGL-T induisant l'apoptose des granuleux, expliqué par un déséquilibre des populations T en contexte de lymphodéplétion B. Une autre hypothèse, potentiellement non exclusive de la précédente, est celle d'un déséquilibre en chémokine SDF-1⁴¹. SDF-1, synthétisé par la moëlle osseuse et nécessaire à l'adressage des granuleux matures hors de la moëlle, est également nécessaire au développement lymphocytaire B. Ainsi, la déplétion B due au rituximab consommerait SDF-1, diminuant la sortie médullaire des granuleux⁴¹.

Sur le plan clinique, une méta-analyse⁴² reprenant 5 essais comparatifs randomisés et 4 essais de phase 2 s'est spécifiquement intéressé à la problématique de la LON chez les patients recevant du rituximab. La population regroupée était hétérogène en termes de pathologies, de nombre de lignes antérieures reçues et de type de traitement. Le risque relatif de développer une neutropénie de tous grades étaient de 2,4 avec l'utilisation du rituximab, CI 95% (1,5-3,0), $p < 0,001$ ⁴². Le taux de neutropénies dans les essais randomisés était de 13,4% pour les patients recevant le rituximab, contre 6,3% pour les autres patients, $p < 0,001$. Le taux de neutropénies de tout grade était de 11,9% pour les patients des essais de phase 2⁴². Il y est mis en évidence un risque relatif d'infections de tous grades liées au rituximab de 2,8 ; CI 95% (1,3-6,2), $p = 0,01$ ⁴².

V-2-D/ Lymphopénie T CD 4 – mécanismes physiopathologiques et implications cliniques

Outre l'explication physiopathologique de l'expansion de LGL-T polyclonaux sus-citée³⁹, le mécanisme de lymphopénie T CD4 liée au rituximab n'est pas élucidé et il n'existe pas d'étude avec cet objectif chez des patients traités par rituximab seul pour un LNH. Il a été rapporté une augmentation de l'incidence d'infections opportunistes sévères lorsque le rituximab a été ajouté aux régimes de chimiothérapie pour le traitement des LNH. Une étude incluant des patients traités par rituximab seul pour une polyarthrite rhumatoïde retrouve une lymphopénie T CD4 profonde après administration de l'anticorps monoclonal. Les patients

pour qui cela n'était pas constaté n'obtenaient d'ailleurs aucun bénéfice thérapeutique avec le rituximab⁴³.

Une étude de modèle murin traité par anticorps monoclonal anti-CD 20 seul⁴⁴ montre une susceptibilité accrue de ces souris à l'infection et pneumopathie à *Pneumocystis*, parasite opportuniste infectant en cas de lymphopénie T CD 4 profonde < 0,2G/L. Le modèle murin montre une permissivité à *Pneumocystis* et l'absence de réponse fonctionnelle T CD4 au cours de l'infection. Une méta-analyse regroupant 11 essais concernant au total 1919 patients traité par rituximab ou non pour un LNH retrouvait un risque relatif de développer une pneumopathie à *Pneumocystis Jirovecii* sous rituximab de 3,65 ; CI 95% 51,65-8,07), $p=0,001$ avec un taux de mortalité 33,3%⁴⁵.

Une autre étude rapporte l'expérience d'un centre italien de 976 patients traités ou non par rituximab pour des LNH B entre 1994 et 2008 ⁴⁰. Les auteurs décrivent une incidence de 240 de leuco-encéphalopathie multifocale progressive (LEMP) à virus JC pour 100000 patients années dans le groupe rituximab contre 0 dans le groupe sans rituximab. Il est noté une majoration de l'incidence des cas de LEMP à la faveur de l'avènement de meilleurs outils diagnostique et de l'émergence de régime de maintenance par rituximab. La LEMP est une complication infectieuse opportuniste classique de la thérapie ciblée Natalizumab, anticorps monoclonal anti intégrine $\alpha 4\beta 1$, utilisée dans les maladies auto-immunes, dont l'incidence augmente par effet cumulatif de l'exposition à l'anticorps Natalizumab. Ce constat d' « effet-dose » n'a été validé par aucun essai prospectif dans le cadre de la maintenance par rituximab et l'incrimination du rituximab seul reste débattu. Il est retrouvé des cas de LEMP rapportés avec l'utilisation d'anticorps monoclonaux anti-CD 20 de nouvelle génération tels que ofatumumab et obinutuzumab⁴⁶. Les systèmes de collectes d'effets indésirables européen et américain, Eudravigilance -European union drug relating authorities pharmacovigilance- et FAERS -FDA adverse events reporting system- signifient une incidence de 1,39 à 1,87 de LEMP pour 10000 patients exposés au rituximab, avec un taux de mortalité chez les patients chez ces patients de 60 à 70%⁴⁰. Le dénominateur commun de la survenue d'une LEMP et de pneumopathies à *P.Jiroveci* est la profonde lymphopénie T CD4 (< 0,2 G/L).

VI/ Mesures préventives et pré-emptives de l'immunosuppression en hématologie

VI-1/ Prophylaxies anti-infectieuses

Compte-tenu du risque majoré d'infections opportunistes lors des cycles répétés de polychimiothérapie, d'autant plus en péri-transplantation, les recommandations sont en faveur de la prescription au long cours de prophylaxies anti-infectieuses chez ces patients.

Les patients traités par chimiothérapie et/ou immunothérapie pour des LNH sont placés sous triméthoprim sulfaméthoxazole ou atovoquone ou pentacarinate en cas d'intolérance, au long cours afin de prévenir les infections à *pneumocystis jirovecii*.^{45,47,48} Cette prophylaxie réduit le risque de pneumopathie de manière drastiquement significative, avec quasiment aucun cas d'échec de prophylaxie rapporté⁴⁵. Le seuil de lymphocytes T CD4 communément admis pour poursuivre cette prophylaxie est une numération de CD 4 < 0,2G/L, par analogie avec les patients porteurs du VIH^{48,49}.

Il est également recommandé l'utilisation du valaciclovir ou aciclovir en prévention des récurrence herpétiques (HSV 1 et 2) ou du virus de la varicelle et Zona (VZV) chez les patients recevant une chimiothérapie intensive ou une greffe⁴⁷.

VI-2/ Substitution en Immunoglobulines polyvalentes

Les Ig polyvalentes sont des produits dérivés du sang à partir de donneurs sains. Une Ig est une glycoprotéine composée d'une paire de chaînes lourdes et d'une paire de légères identiques entre elles. Chaque chaîne lourde possède un segment variable et 3 segments constants, chaque chaîne légère possède un segment constant et un segment variable. L'association des segments variables d'une chaîne lourde et d'une chaîne légère constitue le site de fixation de l'antigène spécifique ; une Ig possède donc 2 sites de liaison à l'antigène (identiques). Par hypermutation somatique et substitution nucléotidique, chaque individu peut produire 10^{12} Ig ou anticorps différents. La partie constante de l'Ig est sa partie effectrice par liaison à des effecteurs immuns⁵⁰. Les traitements et la production des Ig polyvalentes en font un produit constitué à plus de 95% d'IgG (gammaglobulines). La substitution en Ig peut se faire en intraveineux ou en sous-cutané. La distribution au secteur vasculaire a lieu dans les

2 cas en 36 à 48h. Le rythme d'administration est hebdomadaire en sous-cutané et toutes les 3 à 4 semaines pour la forme IV⁵⁰.

Les recommandations de l'HAS en matière de prescription d'Ig polyvalentes dans le cadre de LNH sont les suivantes : il ne s'agit pas d'une indication prioritaire, la prescription doit être soumise à une réunion de concertation pluridisciplinaire, et ne s'envisage qu'en cas de gammaglobulinémie < 4g/L associée à la survenue d'infections récurrentes malgré une prophylaxie bien conduite et entraînant une hospitalisation.

Dans un observatoire français s'intéressant à cette pratique chez 231 patients atteints d'hémopathies malignes, dont 32 LNH agressifs et 23% de patients ayant reçu une procédure d'autogreffe, la raison pour débiter un traitement substitutif par Ig polyvalentes était soit le constat d'infections à répétition, soit l'invocation d'une amélioration de la qualité de vie des patients. Aucun chiffre de gammaglobulines n'était mentionné pour justifier la substitution⁵¹.

JUSTIFICATION DE L'ETUDE

Les différentes études conduites dans le LCM démontrent l'impact thérapeutique du rituximab dans le LCM^{1,2,52}. Les recommandations internationales positionnent le rituximab dans le traitement de première ligne des LCM que ce soit chez les sujets éligibles à un traitement intensif ou chez les sujets âgés⁵³. Le rituximab en maintenance permet de prolonger la durée de la réponse et la SG^{26,53}. Au vu de la place centrale du rituximab dans le LCM, il est légitime de s'interroger sur ses effets secondaires et notamment l'immunosuppression potentielle induite par une maintenance après une procédure myéloablative d'autogreffe. Nous avons étudié une population homogène pour répondre à la question du risque infectieux lié à l'immunosuppression d'une maintenance par rituximab de trois ans chez des patients autogreffés en première ligne pour un LCM.

OBJECTIFS PRIMAIRE ET SECONDAIRES

L'objectif principal de ce travail était de décrire les conséquences leucocytaires, immunologiques (sur les polynucléaires neutrophiles, gammaglobulines, lymphocytes T CD4) et les complications infectieuses de la séquence d'immuno-chimiothérapie et autogreffe suivie de maintenance par rituximab en première ligne chez sujet atteint de lymphome à cellules du manteau.

Les objectifs secondaires étaient de décrire les sites infectieux les plus représentés et le recours à la substitution par immunoglobulines polyvalentes, d'analyser l'impact de ces résultats sur les données de survie des patients (SSP et SG), et définir s'il existait des facteurs prédictifs de la survenue d'évènements infectieux cliniques ou biologiques d'immunosuppression dans cette population.

MATERIEL ET METHODE

I/ Patients

La population étudiée dans notre travail est celle des patients inclus dans le protocole LyMa (NCT00921414) et dont l'analyse finale a été publiée en 2017²⁶. En résumé, l'étude LyMa est une étude de phase 3 ouverte, multicentrique et interventionnelle. La population incluse était représentée par des patients adultes d'âge inférieur à 66 ans, éligibles à un traitement intensif, présentant un LCM non traité de stade Ann Arbor supérieur ou égal à 2. Les patients présentant une séropositivité pour le VIH ou présentant des comorbidités importantes n'étaient pas éligibles. Les patients devaient présenter un *performans status* à 0, 1 ou 2. Le diagnostic anatomopathologique a été revu de manière centralisée (LYSA-P, Créteil, France). Tous les patients ont signé un consentement de participation à l'étude.

Entre Septembre 2008 et Aout 2012, 299 patients ont été inclus. Deux cent soixante-dix-neuf patients ont complété la totalité de l'induction avec 4 cycles de R-DHAP (figure 1). Parmi ces 279 patients, 20 ont reçu 4 cycles de rattrapage par R-CHOP en raison d'une réponse non satisfaisante après 4 R-DHAP. Les critères pour la réalisation de l'autogreffe était la condition de réponse complète ou partielle avec au minimum une diminution de 75% de la masse tumorale, selon une évaluation par scanner thoraco-abdomino-pelvien selon les critères de l'1999 IWG, et un greffon autologue de minimum 2.10^6 cellules CD34+ par kilo de poids corporel. Deux cent cinquante-sept patients ont reçu la procédure d'intensification et autogreffe. Au décours et jusqu'à 3 mois post autogreffe, 240 patients ont été randomisés pour recevoir du rituximab ($375\text{mg}/\text{m}^2$) en maintenance tous les 2 mois pendant 3 ans ou une surveillance simple selon le même calendrier. Chacun des deux groupes de randomisation « observation » et « maintenance par rituximab » comportaient 120 patients. Il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes concernant les caractéristiques des patients. L'objectif primaire de cet essai était la survie sans évènement (SSE) à partir de la date de randomisation. Les évènements considérés pour la SSE étaient la mise en évidence d'une progression ou rechute de la maladie, le décès, la survenue d'une infection sévère de grade 4 avec mise en jeu du pronostic vital, ou d'une réaction allergique sévère au rituximab, justifiant l'arrêt du traitement de maintenance. Les objectifs secondaires étaient la SSP, définie comme

l'absence de progression ou rechute et l'absence de décès de toute cause et la SG à partir de la date de randomisation.

La présente étude a été réalisée sur les patients inclus et randomisés, donc ayant reçu l'autogreffe avec une reconstitution hématologique satisfaisante au plus tard 3 mois après l'autogreffe.

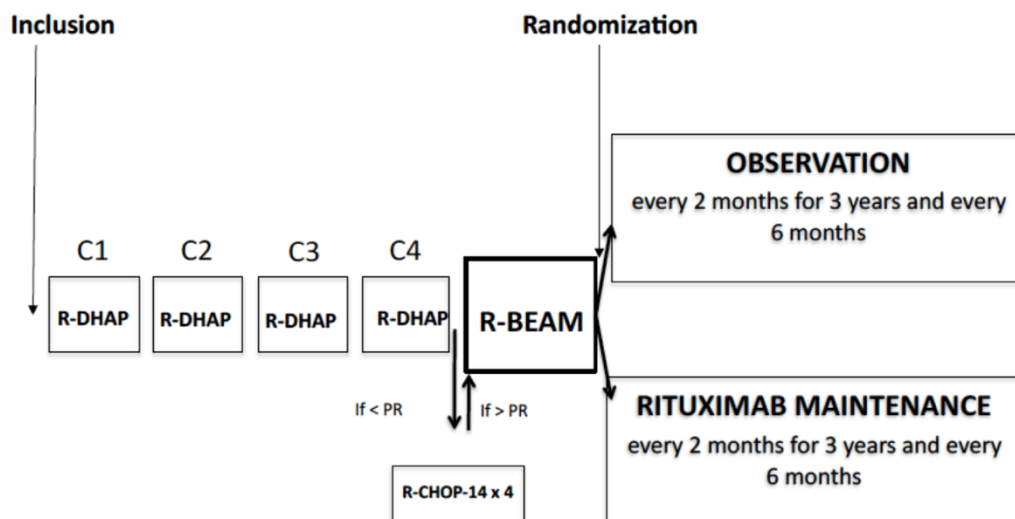


Figure 1 : Design de l'essai prospectif randomisé LyMa, d'après Le Gouill *et al.*, NEJM 2017

II/ Éléments de suivi et monitoring

Les 240 patients ont eu un suivi longitudinal identique comme prédéfini dans le protocole initial. Les patients étaient examinés sur le plan médical par un investigateur tous les 2 mois à l'occasion d'une perfusion de rituximab ou d'une simple consultation selon leur bras de traitement.

Afin d'aborder les complications infectieuses et d'immunosuppression liées à la maintenance par rituximab, les données collectées prospectivement dans l'essai thérapeutique ont été analysées. Les événements cliniques suivants ont été collectés : survenue d'un épisode fébrile, défini comme un épisode de température corporelle supérieur à 38°C, survenue d'une infection cliniquement documentée (fébrile ou pas) et rapportée dans les observations médicales de suivi des patients (CRF, case report form) ou d'une hospitalisation liée à un

problème infectieux. Ont également été repris les évènements biologiques de numérations des polynucléaires neutrophiles ($<0,5\text{G/L}$ et $<1\text{G/L}$), des lymphocytes T CD4, LTCD4 ($<0,2\text{G/L}$) et dosage pondéral des gammaglobulines ($<6\text{g/L}$). La neutropénie a été recueillie selon 2 seuils, PNN $<0,5\text{G/L}$ et $<1\text{G/L}$, car le risque infectieux est accru à partir de $<1\text{G/L}$ en pratique courante et la neutropénie est dite sévère si les PNN sont inférieurs à $0,5\text{G/L}$ ⁴⁷.

Le recours à la substitution par immunoglobulines polyvalentes a été reporté dans le CRF par les investigateurs. Les données suivantes ont été informées : le nombre d'injections total (intraveineuse ou sous cutanée) et les dates d'injections dans les documents de suivis médicaux des patients. L'essai LyMa ne prévoyait aucune recommandation quant à cette pratique. Les patients ayant commencé une substitution au-delà des 36 mois après randomisation, date de fin de maintenance ou observation, n'étaient pas comptabilisés dans les patients substitués.

III/ Analyse statistique

Pour l'analyse des évènements cliniques, biologiques et de substitution en Ig dans chaque bras, les pourcentages de patients ayant présenté l'évènement ont été comparés à l'aide d'un test du χ^2 ou de Fisher, si les effectifs attendus sont inférieurs à 5. Les tests sont bilatéraux avec un seuil de significativité α fixé à 5%. Les comparaisons de numérations ou taux médians entre les 2 groupes ont été réalisées à l'aide d'un test de Mann-Whitney. Les comparaisons de délai médians de survenue d'évènement ont été réalisés à l'aide d'un test du log-rank.

Les données de survie SSP et SG ont été analysées selon la survenue ou non d'évènement clinique ou biologique d'immunosuppression. Les patients ont été considérés dans le groupe « oui » pour la survenue d'un évènement clinique ou biologique si celui-ci était au moins survenu une fois au moment de l'analyse de survie. Les données de survie SSP et SG sont présentées à l'aide de courbes de Kaplan Meier. Les distributions des courbes de survie dans les deux groupes de traitement sont comparées en utilisant le test du log-rank.

L'effet traitement est estimé par *hazard ratio* et son intervalle de confiance est obtenu par le modèle de régression des risques proportionnels de Cox.

Pour l'analyse des corrélations entre évènements clinico-biologiques et substitution par Ig polyvalentes, les données appariées (nombre avant/après) ont été comparées à l'aide du test des rangs signés de Wilcoxon.

Pour l'analyse univariée, les variables ont été comparées par un test de Fischer. L'analyse multivariée fait appel à une régression logistique, en incorporant dans le modèle les covariables sélectionnées en analyse univariée ($p < 20\%$).

La période de suivi a été volontairement répartie en 4 périodes par rapport à la randomisation : moins de 6 mois, 6-12 mois, 12-24 mois et 24-36 mois. Ce choix a été fait pour permettre de discriminer l'imputabilité du régime de maintenance par rituximab et l'imputabilité de l'autogreffe dans la reconstitution hématopoïétique et immunologique.

RESULTATS

I/ Description de la population et devenir des patients

La figure 2 représente le *flow chart* de l'étude ancillaire présentée dans ce travail.

Sur les 240 patients randomisés, 120 et 120 ont constitués les bras observation et maintenance par rituximab. Les caractéristiques des patients inclus sont résumées dans la table 1. Il n'y avait pas de différence significative entre les 2 groupes de patients.

	OBSERVATION		RITUXIMAB	
	N=120		N=120	
Sexe				
Masculin	97	(80.8%)	92	(76.7%)
Feminin	23	(19.2%)	28	(23.3%)
Age à l'inclusion (années)				
N	120		120	
Moyenne (SD)	55.2 (6.59)		56.0 (7.18)	
Min ; Max	29 ; 65		27 ; 65	
MIPI				
Bas	63	(52.5%)	70	(58.3%)
Intermediaire	31	(25.8%)	34	(28.3%)
Elevé	26	(21.7%)	16	(13.3%)
Biopsie ostéo-médullaire				
Non faite ou non informative	10	(8.3%)	7	(5.9%)
Envahie	73	(60.8%)	76	(64.4%)
Manquante	0		2	
Nombre de CD34 prélevées (10⁶/kg)				
N	120		119	
Moyenne (SD)	7.84 (4.758)		8.00 (4.527)	
Temps entre autogreffe et randomisation (mois)				
N	120		120	
Mediane	2.10		2.10	
Evènements pour l'SSE à 54,4 mois				
Pas d'évènement	73	(60.8%)	95	(79.2%)
Progression	37	(30.8%)	16	(13.3%)
Décès sans évènement	6	(5.0%)	4	(3.3%)
Infection sévère	4	(3.3%)	4	(3.3%)
Réaction allergique sévère	0	(0.0%)	1	(0.8%)
Evènements pour la SSP à 54,4 mois				
Pas d'évènement	77	(64.2%)	100	(83.3%)
Progression	37	(30.8%)	16	(13.3%)
Décès sans progression	6	(5.0%)	4	(3.3%)
Evènement pour la SG à 54,4 mois				
Vivants	96	(80.0%)	107	(89.2%)
Décédés	24	(20.0%)	13	(10.8%)

Table 1 : Caractéristiques des patients inclus dans l'étude ancillaire

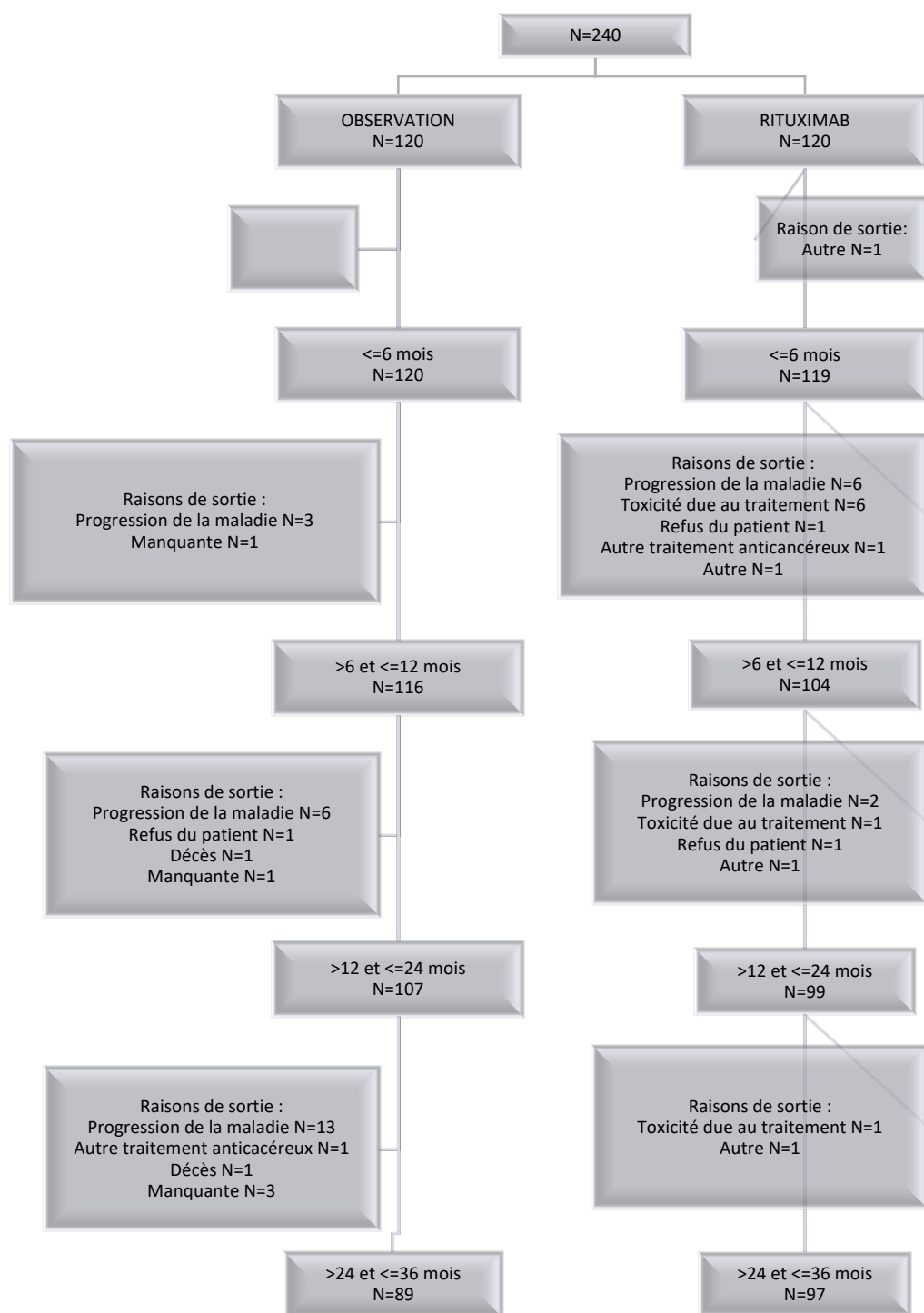


Figure 2 : Flow chart des patients inclus dans l'étude ancillaire, répartition des effectifs et devenir des patients

II/ Survenue d'évènements cliniques et biologiques d'immunosuppression et description des sites infectieux

II-1/ Épisodes fébriles, infections et hospitalisations pour cause infectieuse

Cinquante épisodes fébriles sur les 240 patients inclus dans l'étude ancillaire ont été recensés, ces 50 épisodes concernaient 36 patients (15%). Dans le bras observation, 10 patients (8,3%) ont expérimenté un ou plusieurs épisodes fébriles, avec 12 évènements recensés. Dans le bras rituximab, 26 (21,7%) patients ont expérimenté 38 épisodes fébriles. Cette différence d'incidence d'épisode fébrile n'a été significative que sur les périodes « 12-24 mois » et « 24-36 mois » (respectivement 1 patient (0,8%) dans le groupe observation contre 7 patients (5,8%) dans le groupe rituximab, $p=0,03$ et 2 patients (1,7%) dans le groupe observation contre 10 (8,3%) dans le bras rituximab ont présenté un épisode fébrile, $p=0,02$). La médiane de nombre de jours avec une température corporelle $> 38,5^{\circ}\text{C}$ était de 1 (1-3) dans le groupe observation versus 2 (1-15) dans le groupe rituximab, $p=0,20$.

Il a été rapporté 178 épisodes infectieux documentés, 51 dans le bras observation et 127 dans le bras maintenance. Ces 178 épisodes ont concerné 79 patients (32,9%), 30 (25,0%) dans le bras observation et 49 (40,8%) dans le bras maintenance. Selon les périodes prédéfinies, la différence n'était significative que sur la période « 12-24 mois » : 11 patients (9,2%) dans le bras observation contre 28 (23,3%) dans le bras maintenance, $p=0,001$. La figure 3 présente la courbe des incidences cumulées d'épisodes infectieux documentés dans les 2 bras depuis la randomisation jusqu'à la fin du suivi. L'incidence était supérieure dans le bras rituximab à nouveau, $p=0,0032$.

Cinquante-cinq hospitalisations pour infection et/ou fièvre ont eu lieu sur la période de suivi pour l'ensemble de la cohorte, intéressant 45 patients (18,8%). Dans le bras observation, 18 patients (15,0%) ont été hospitalisés une ou plusieurs fois, pour un total de 20 hospitalisations. Dans le bras maintenance, 27 patients (22,5%) ont engendrés 35 épisodes d'hospitalisations. Sur aucune des périodes étudiées cette différence n'a été significative (table 3). La figure 4 représente la courbe d'incidences cumulées des hospitalisations pour cause infectieuse selon le bras de randomisation, $p=0,129$.

Dans le bras observation, la durée médiane d'hospitalisation était de 6 (1-25) jours, contre 6 (1-27) jours dans le bras maintenance, ce qui n'était pas statistiquement significatif ; $p=0,78$.

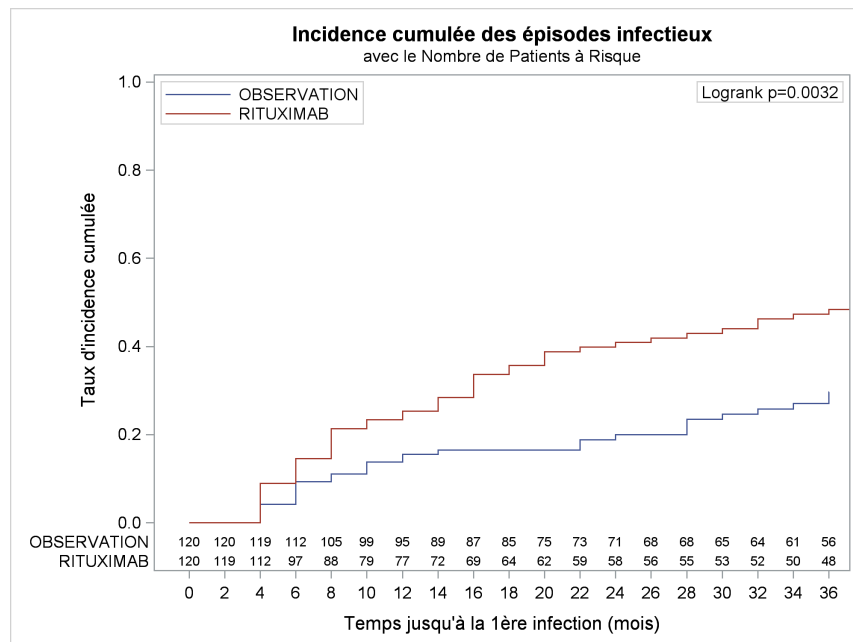


Figure 3 : Courbes d'incidences cumulées d'épisodes infectieux selon le bras de traitement

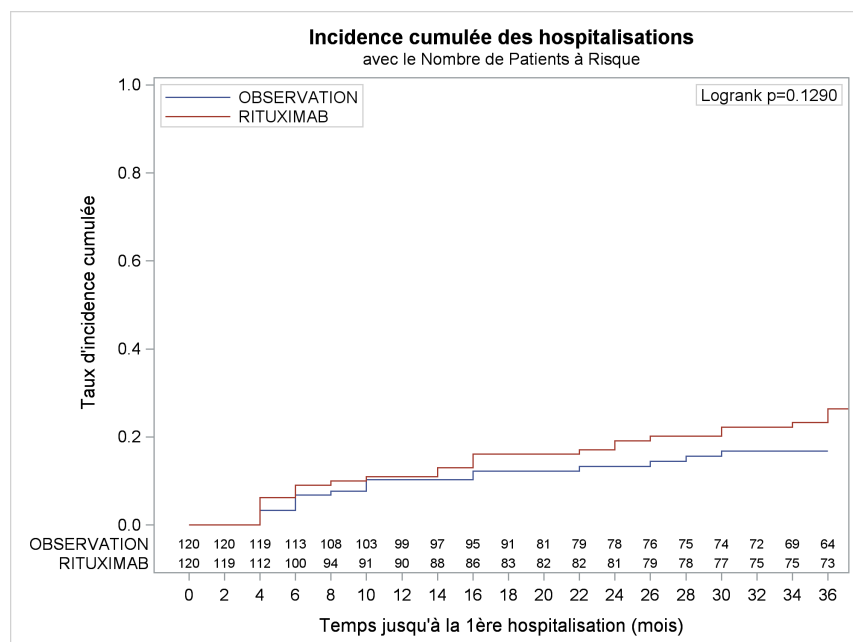


Figure 4 : Courbes d'incidences cumulées d'hospitalisations selon le bras de traitement

II-2/ Description des sites infectieux concernés et agents pathogènes

Huit événements infectieux significatifs mettant notamment en jeu le pronostic vital ont été considérés pour l'analyse de survie sans événement (SSE) dans l'essai LyMa ; 4 dans chaque bras de traitement²⁶. Il est rapporté dans le bras observation un épisode de septicémie, un épisode de cellulite infectieuse, un épisode de méningite aiguë bactérienne à méningocoque et un épisode de pneumopathie sévère bilatérale. Dans le bras rituximab, on décompte un épisode de spondylodiscite bactérienne à staphylocoque blanc, un épisode de pyélonéphrite aiguë, un épisode de septicémie et un épisode de pneumopathie varicelleuse. Le nombre de toxicités infectieuses de grades 3 ou 4 non décomptées pour l'analyse de SSE n'était pas significativement différents dans les 2 bras : 9 dans le bras observation et 12 dans le bras rituximab²⁶, $p=0,50$. Comme précédemment évoqué, le nombre d'épisodes infectieux recensés dans l'étude ancillaire était supérieur dans le bras rituximab seulement sur la période « 12-24 mois ». La répartition des sites infectieux des tous grades, selon le bras de traitement est présentée dans la figure 5. Les infections sont pour plus de 50% ORL/respiratoires hautes, ou pulmonaires/respiratoires basses et ce, quel que soit la période et le bras de traitement. Les sites infectieux montrant une hausse de l'incidence dans le groupe rituximab étaient les infections ORL, respiratoires basses, digestives et les bactériémies. Ainsi les épisodes ORL/respiratoires hauts, ont été comptés au nombre de 40 dans le groupe rituximab et 17 dans le groupe observation, $p=0,0025$. La proportion tenue par les infections ORL n'était pas différente entre les 2 bras. Les infections bronchiques/respiratoires basses ont constitué 18 épisodes dans le groupe observation et 38 dans le groupe rituximab, $p=0,008$. Il y a eu 4 et 5 épisodes de pneumopathies dans le bras observation et rituximab, respectivement. La proportion de ce site infectieux sur l'ensemble des infections était identique dans les 2 bras à nouveau. Les infections digestives/hépatobiliaires, ont représenté le 3^{ème} site infectieux en fréquence, avec 18 événements rapportés dans le groupe rituximab et 2 dans le groupe observation, $p=0,0003$. Elles ont été rapportées sous le terme « gastro-entérite virale » pour 6 épisodes dont les 2 du bras observation. Dans le groupe rituximab, on note des diarrhées bactériennes documentées avec 13 épisodes dont 6 colites à *Clostridium difficile* toxigène, 5 à *Campylobacter Jejuni*, 1 à *Salmonella enterica* et 1 à *Escherichia coli*. Il s'agit du seul site infectieux plus représenté en proportion sur l'ensemble des infections dans le groupe rituximab : 14,2% contre 3,8% ; $p= 0,05$. Les bactériémies ont été plus nombreuses dans le

bras rituximab : 5 contre 0 dans le groupe observation, $p=0,04$. Par ordre de fréquence suivent ensuite, d'incidences et proportions identiques dans les 2 bras, les infections de la peau et tissus mous, les infections urinaires, les récurrences virales de type herpétiques ou zona, les infections ostéo-articulaires puis méningées (une dans le groupe observation seulement). Hormis les bactériémies, les récurrences virales, et les infections des tissus mous dans le groupe observation, l'ensemble des infections survenaient en médiane sur la période « 12-24 mois ». La table 2 présente les sites infectieux selon le bras de traitement avec leurs médianes de survenue.

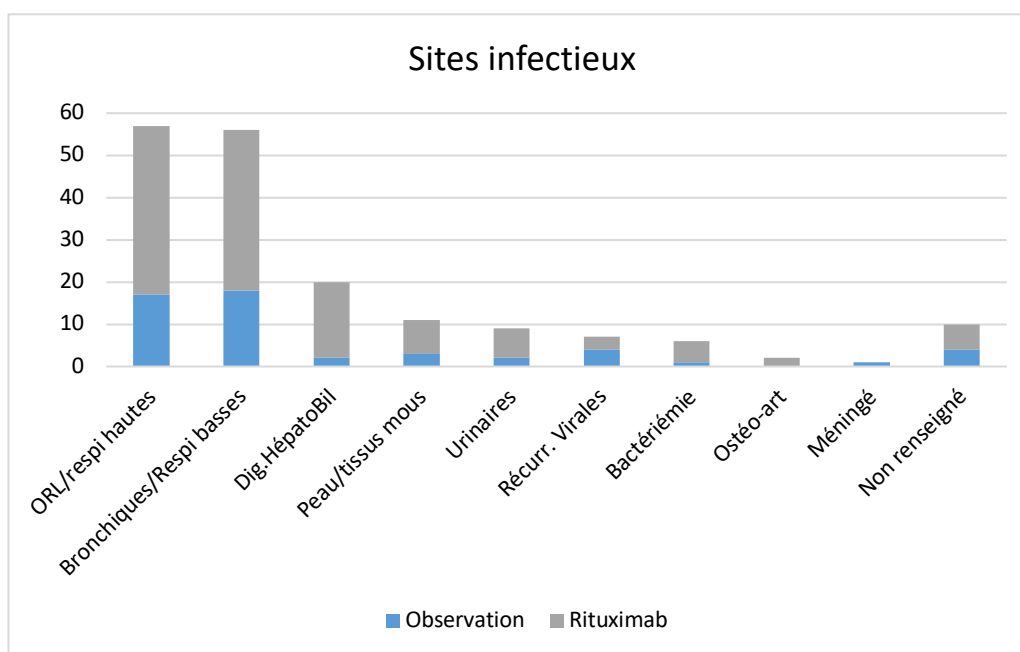


Figure 5 : Sites infectieux rapportés dans les infections cliniquement documentées, de tous grades.

	<i>Observation</i>		<i>Rituximab</i>		<i>p</i>	<i>Total</i>	
<i>Site infectieux</i>	N épisodes	Survenue médiane (mois) (min-max)	N épisodes	Survenue médiane (mois) (min-max)		N épisodes	Survenue médiane (mois) (min-max)
<i>ORL/ Respi. hautes</i>	17	16 (4-32)	40	22 (4-36)	0,0025	57	20 (4-36)
<i>Bronchiques/respi. basses</i>	18	13 (4-34)	38	19 (4-36)	0,008	56	18 (4-36)
<i>Digestif/hépatobil</i>	2	19 (10-28)	18	16 (4-36)	0,0003	20	16 (4-36)
<i>Cutané/tissus mous</i>	4	10 (6-28)	8	14 (4-36)	0,25	12	14 (4-36)
<i>Urinaires</i>	2	14 (4-24)	7	14 (4-30)	0,11	9	14 (4-30)
<i>Récurrences virales</i>	4	17 (4-36)	3	4 (4-18)	0,62	7	8 (4-36)
<i>Bactériémie</i>	0	NA	5	6 (4-14)	0,04	6	6 (4-14)
<i>Ostéoarticulaire</i>	0	NA	2	34 (32-36)	0,16	2	34 (32-36)
<i>Méningé</i>	1	22	0	NA	0,32	1	22,0
<i>Non documentée</i>	4	21 (10-36)	6	23 (8-36)	0,53	10	23 (8-36)

Table 2 : Infections de tous grades cliniquement documentées, classées selon le site infectieux et le groupe de traitement, présentées avec leurs médianes de survenue

II-3/ Évènements biologiques d'immunosuppression

II-3-A/ Neutropénies <0,5G/L et <1G/L

Sur la période globale, 30 épisodes de neutropénies <0,5G/L et 95 neutropénies < 1G/L sont survenues, concernant respectivement 26 (10,8%) et 68 patients (28,3%). Dans le bras observation, il a été décompté 16 neutropénies < 0,5G/L et 44 neutropénies < 1G/L, intéressant respectivement 14 (11,7%) et 33 patients (27,5%). Dans le bras maintenance, il y a eu 14 épisodes de neutropénies < 0,5 G/L pour 12 patients (10%) et 51 épisodes de neutropénies < 1G/L, pour 35 patients (29,2%).

Il y avait une différence significative d'incidence pour la neutropénie < 1G/L sur la période « 6-12 mois » post ASCT : 10 patients (8,3%) ont connu un épisode de neutropénie < 1G/L dans le bras rituximab, contre 3 (2,5%) dans le groupe observation, $p=0,03$. Pour rappel, sur cette

période de suivi, aucun évènement clinique « épisode fébrile », « infection documentée » ou « hospitalisation pour une cause infectieuse » n'a été plus représenté dans le groupe rituximab. Pour les autres périodes, il n'y a eu aucune différence significative entre les 2 bras, respectivement pour un seuil à 0,5 G/L et 1G/L et par ordre chronologique : $p=0,26$ et $p=0,18$; $p=0,10$ et $p=0,03$; $p=0,61$ et $p=0,27$; $p=NA$ et $p=0,25$.

Pour tous les épisodes de neutropénies < 0,5G/L ou < 1G/L, la médiane de survenue des évènements se situait dans la tranche « < 6 mois » post autogreffe : 2,40 (0-30,8) mois et 2,27 (0-30,8) mois dans la cohorte entière. Le délai médian de survenue de neutropénie était significativement retardé dans le bras rituximab. Pour un seuil à 0,5 G/L le délai médian de survenue était de 1,86 mois (0,0-16,1) contre 4,35 mois (0,6-19,8) dans le bras observation et rituximab respectivement, $p=0,048$. Pour un seuil à 1G/L, les délais médians étaient respectivement 1,97 mois (0,0-15,0) contre 4,11 mois (0,1-30,8), $p=0,0002$. La figure 6 représente la courbe de numération des PNN en fonction du temps et selon le bras de traitement.

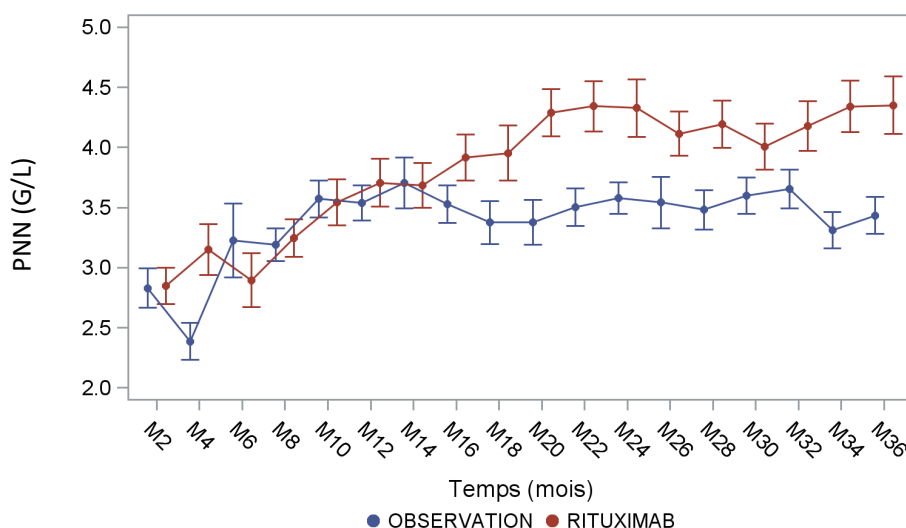


Figure 6 : Courbes de valeurs absolues de numérations des PNN selon le bras de traitement

II-3-B/ Hypogammaglobulinémies < 6g/L

Il y a eu 1379 évènements d'hypogammaglobulinémie (IgG < 6g/L), dont 589 dans le groupe observation et 790 dans le groupe rituximab. La différence était significative sur les périodes « 12-24 mois » et « 24-36 mois » post autogreffe. Entre 12 et 24 mois post autogreffe, 56

patients (46,7%) dans le bras observation contre 77 (64,2%) dans le groupe maintenance ont présenté au moins un épisode d'hypogammaglobulinémie, $p=0,0001$. Entre 24 et 36 mois post autogreffe, 38 (31,7%) patients dans le groupe observation contre 82 (68,3%) dans le bras rituximab ont présenté un ou plusieurs épisodes d'hypogammaglobulinémie, $p<0,0001$. Dans le groupe observation, le nombre de patients connaissant un épisode d'hypogammaglobulinémie est de 80 (66,7%) sur la période des 6 mois post autogreffe, puis 67 (55,8%), 56 (46,7%) et 38 (31,7%) sur les périodes « 6-12 mois », « 12-24 mois » et « 24-36 mois » respectivement, montrant une restauration de l'immunité humorale progressive et constante. Dans le groupe rituximab, ces chiffres sont respectivement 85 (70,8%), 63 (52,5%), 77 (64,2%) et 82 (68,3%) patients. Le dosage médian de gammaglobulines passait dans le groupe observation de 5,11 (2,1-11,1) à 6,41 (0,6-11,7) g/L de la période « < 6 mois » à la période « 24-36 mois ». Dans le groupe rituximab, ce dosage passait de 4,68 (1,6-10,3) à 4,68 (1,0-9,5) g/L sur les mêmes périodes. La différence des médianes de dosage de gammaglobulines entre les 2 bras devenait statistiquement significative à partir de la période « 12-24 mois », respectivement 5,11 (2,1-11,1) versus 4,68 (1,6-10,3) g/L, $p=0,28$; 5,20 (1,1-10,8) versus 4,75 (1,2-9,9) g/L, $p=0,11$; 6,11 (1,2-12,9) versus 4,70 (1,2-9,1) g/L, $p<0,0001$; 6,41 (0,6-11,7) versus 4,68 (1,0-9,5) g/L $p<0,0001$ pour les 4 périodes en ordre chronologique. La figure 7 représente la courbe de dosage des gammaglobulines (IgG) en fonction du temps et selon le bras de traitement.

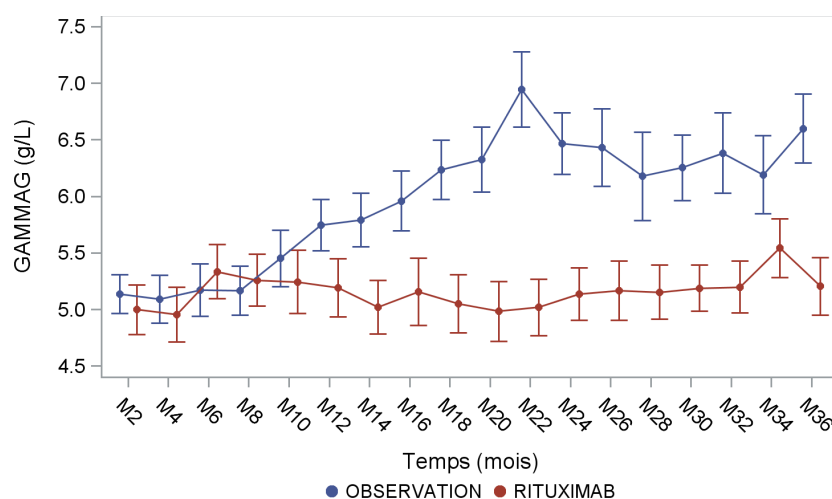


Figure 7 : Courbes de valeurs des dosages pondéraux des gammaglobulines selon le bras de traitement

II-3-C/ Lymphopénies T CD4 < 0,2 G/L

Il y a eu 73 évènements de lymphopénies T CD4 < 0,2 G/L, concernant 49 (20,4%) patients. Dans le groupe observation, 24 patients (20,0%) ont connu 36 épisodes, contre 25 (20,8%) patients et 37 épisodes dans le groupe rituximab. Sur l'ensemble des périodes de l'analyse, la différence entre les 2 groupes n'était pas significative, respectivement $p=0,99$; $p=0,58$; $p=0,18$ et $p=0,23$ chronologiquement. Plus de 50% des évènements sont survenus dans la période « <6 mois » post autogreffe dans les 2 groupes. Les médianes de numérations lymphocytaires T CD4 pour le groupe observation passaient de 0,320 (0,00-0,980) G/L sur la période « <6 mois » à 0,670 (0,100-1,312) G/L sur la période « 24-36 mois ». Dans le groupe rituximab, ces valeurs étaient de 0,300 (0,00-1,021) G/L et 0,630 (0,200-0,885) G/L. Sur aucune des périodes étudiées, le taux médian de lymphocytes T CD4 n'était significativement différent, respectivement $p=0,83$; $p=0,44$; $p=0,08$; $p=0,49$ pour les 4 périodes en ordre chronologique. La figure 8 représente la courbe de numération des lymphocytes T CD4 en fonction du temps et selon le bras de traitement.

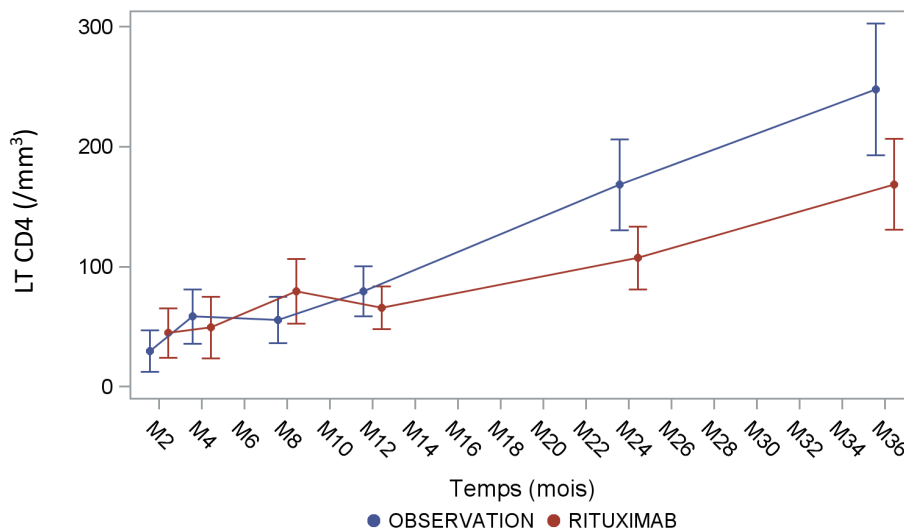


Figure 8 : Courbes de valeurs des dosages lymphocytaires T CD4 selon le bras de traitement

L'ensemble des évènements cliniques et biologiques collectés sont résumés dans la table 3.

	< 6 mois			6-12 mois			12-24 mois			24-36 mois		
	O N=120	R N=119	p	O N=116	R N=104	p	O N=107	R N=99	p	O N=89	R N=97	p
Episodes fébriles												
N Patients (%)	7 (5,8)	10 (8,4)	0,440	1 (0,9)	5 (4,8)	0,103	1 (0,9)	7 (7,1)	0,030*	2 (2,2)	10 (10,3)	0,025*
N Evenements	7	11		1	5		1	8		3	14	
Episodes infectieux												
N Patients (%)	11 (9,2)	16 (13,4)	0,296	9 (7,8)	16 (15,4)	0,075	11 (10,3)	28 (28,3)	0,001*	13 (14,6)	22 (22,7)	0,159
N Evenement	12	19		11	22		15	45		13	41	
Hospitalisations												
N Patients (%)	8 (6,7)	10 (8,4)	0,611	5 (4,3)	4 (3,8)	1,000	3 (2,8)	8 (8,1)	0,092	3 (3,4)	9 (9,3)	0,101
N Evenements	8	11		5	5		3	9		4	10	
Neutropénies < 0,5 G/L												
N Patients (%)	13 (10,8)	8 (6,7)	0,262	0 (0)	3 (2,9)	0,104	1 (0,9)	2 (2,0)	0,609	0 (0)	0 (0)	NA
N Evenements	15	8		0	4		1	2		0	0	
< 1G/L												
N Patients (%)	32 (26,7)	23 (19,3)	0,178	3 (2,6)	10 (9,6)	0,027*	2 (1,9)	5 (5,1)	0,265	0 (0)	3 (3,1)	0,247
N Evenements	39	27		3	13		2	7		0	4	
Hypogamma- globulinémies < 6g/L												
N Patients (%)	80 (66,7)	85 (71,4)	0,426	67 (57,8)	63 (60,6)	0,671	56 (52,3)	77 (77,8)	0,0001*	38 (42,7)	82 (84,5)	<.0001*
N Evenements	163	154		131	127		169	243		126	266	
Lymphopénies T CD4 < 0,2G/L												
N Patients (%)	17 (14,2)	19 (16,0)	0,697	14 (12,1)	11 (10,6)	0,728	0 (0)	2 (2)	0,230	1 (1,1)	1 (1,0)	1,000
N Evenements	18	20		17	14		0	2		1	1	

Table 3 : Table descriptive des évènements cliniques et biologiques survenus sur les 4 périodes de traitement selon le bras de randomisation

II-4/ Substitution en immunoglobulines polyvalentes

Les données de substitution en gammaglobulines ont été collectées au sein de 47 centres participant à l'essai LyMa sur 66 centres au total. Ces 47 centres avaient inclus en tout 248 patients soit 82,9% des 299 patients inclus dans l'essai randomisé. Sur les 248 patients, 197 avaient été randomisés, représentant 82,1% des 240 patients randomisés dans l'essai LyMa et donc de la cohorte ancillaire ; avec 100 patients du bras observation (83,3%) et 97 patients du bras rituximab (80,8%). Les caractéristiques au diagnostic et les données de SSE, SSP et SG de ce groupe de patients ne différaient pas de la cohorte globale.

Sur cet effectif, il y a eu 328 substitutions en immunoglobulines polyvalentes (Ig), ayant concerné 28 patients (14,2%). Sur la période de suivi globale, dans le bras observation, 5 patients (5,0%) ont été substitués, avec 45 épisodes. Dans le bras maintenance, 23 (23,7%) patients ont été substitués, avec 273 épisodes, $p=0,0002$. A partir de 12 mois post autogreffe, la différence atteint une tendance non significative ($p=0,075$) avec 5 patients (5,0%) recevant 23 substitutions dans le groupe observation contre 11 (11,3%) patients et 48 substitutions dans le groupe rituximab. La différence entre les 2 bras est significative ($p<0,0001$) sur la période « 24-36 mois » post autogreffe. Sur cette période, on retrouve 1 patient (1,0%) dans le bras observation avec 3 épisodes de substitution contre 19 (19,6%) patients dans le bras rituximab ayant été substitués en Ig, avec 165 épisodes de substitution. Sur l'ensemble de la période de maintenance, pour les patients substitués il y a eu en médiane 8 (1-19) substitutions par patient dans le bras observation contre 6 (1-82) dans le bras rituximab, ce qui n'était pas significatif, $p=0,93$.

Il a été retrouvé une corrélation significative entre la survenue d'une hypogammaglobulinémie $< 6\text{g/L}$ et le recours à la substitution en Ig polyvalentes, avec 91,7% des patients substitués porteurs d'une hypogammaglobulinémie contre 8,3% sans hypogammaglobulinémie, $p=0,035$.

La survenue d'un épisode infectieux documenté était corrélée au recours à la substitution, $p=0,002$ avec 55,6% des patients substitué ayant présenté au moins un épisode infectieux alors que seulement 28,6% des patients non substitués avaient présenté un épisode infectieux.

Le nombre d'épisodes d'hypogammaglobulinémie < 6g/L était significativement réduit dès la première injection d'immunoglobulines substitutives, avec une différence médiane (avant-après) de 3,5 épisodes, $p=0,037$.

En revanche, le nombre d'épisode infectieux n'était pas significativement réduit après substitution, mais on peut noter une tendance à la réduction du nombre d'épisodes infectieux après 3 injections substitutives, $p=0,06$.

III/ Impact de la survenue d'évènements cliniques et biologiques d'immunosuppression sur la SSP et la SG

III-1/ Évènements cliniques : épisodes infectieux et substitutions en Ig.

La survenue d'un épisode infectieux au cours du suivi n'était prédictive d'aucune donnée de survie, que ce soit dans le groupe observation ($p=0,31$ pour la SSP et $p=0,55$ pour la SG), dans le groupe rituximab ($p=0,13$ pour la SSP et $p=0,09$ pour la SG) ou dans l'ensemble de la cohorte ($p=0,08$ pour la SSP et $p=0,16$ pour la SG).

Le recours à la substitution par Ig polyvalentes n'était pas prédictif des données de survie dans le groupe observation ($p=0,93$ pour la SSP et $p=0,21$ pour la SG), dans le groupe rituximab ($p=0,10$ pour la SSP et $p=0,22$ pour la SG) ou sur la cohorte globale ($p=0,14$ pour la SSP et $p=0,15$ pour la SG).

III-2/ Évènements biologiques : neutropénies < 0,5G/L, hypogammaglobulinémies < 6g/L et lymphopénies T CD4 < 0,2G/L.

La survenue d'une neutropénie < 0,5G/L n'était pas prédictive de la SSP ou de la SG sur l'ensemble dans la cohorte ($p=0,28$ pour la SSP et $p=0,10$ pour la SG) et sur les 2 groupes séparés (bras observation $p=0,16$ pour la SSP et $p=0,26$ pour la SG ; bras rituximab $p=0,96$ pour la SSP et $p=0,21$ pour la SG).

La survenue d'une hypogammaglobulinémie < 6 g/L était corrélée à une meilleure SSP pour les patients du groupe rituximab, avec une SSP à 36 mois de 93,2% contre 63,5%, $p=0,0078$ respectivement pour les patients ayant expérimenté un taux d'IgG < 6g/L et les autres (Figure

9A). Dans le bras observation, la tendance à l'amélioration de la SSP à la faveur de l'hypogammaglobulinémie était non significative ; $p=0,09$. Sur l'ensemble de la cohorte, la SSP à 36 mois pour les patients hypogammaglobulinémiques était significativement meilleure : 85,6% contre 63,6%, $p=0,0005$. Après ajustement sur le bras de traitement, l'avantage restait significatif : HR SSP= 0,488 IC 95% (0,287-0,830), $p=0,008$ (Figure 9 B). Il n'a pas été retrouvé d'impact significatif de la survenue d'une hypogammaglobulinémie < 6g/L sur la SG (bras observation $p=0,75$, bras rituximab $p=0,22$ et cohorte globale $p=0,45$).

Il n'a pas été retrouvé d'impact de la lymphopénie CD 4 sur la SSP et la SG dans les groupes (bras observation $p=0,16$ pour la SSP et $p=0,98$ pour la SG ; bras rituximab $p=0,38$ pour la SSP et $p=0,98$ pour la SG) comme sur la cohorte globale ($p=0,10$ pour la SSP et $p=0,95$ pour la SG). Afin d'identifier la période de suivi dans laquelle la survenue d'évènements était prédictive de la survie, la même analyse a été réalisée à certains points de suivi : M2, M6, M12, M18, M24, M30, M36. Les patients étaient considérés dans le groupe « oui » sur la survenue d'un évènement si cet évènement était en cours au moment du point de suivi considéré. Cette analyse a été réalisée pour la SSP et la SG, sur les 3 évènements biologiques « hypogammaglobulinémie < 6g/L », « neutropénie < 0,5G/L » et « lymphopénie T CD 4 < 0,2G/L ». Il n'a pas été mis en évidence le point de suivi auquel la survenue d'évènements biologiques était statistiquement associée à une meilleure SSP ou SG.

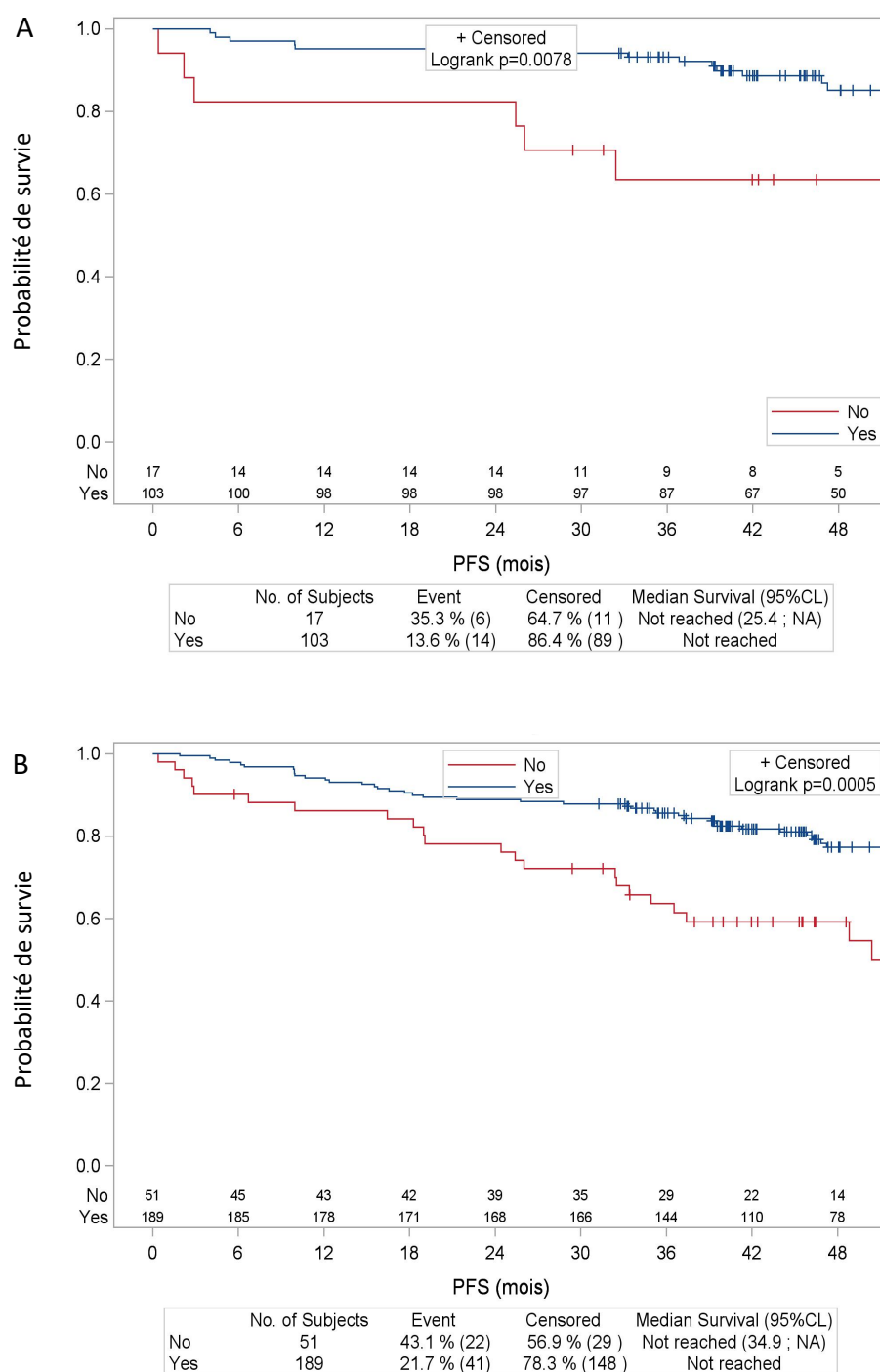


Figure 9 : Courbes de SSP à partir de la randomisation selon la survenue ou non d'une hypogammaglobulinémie dans le groupe de traitement rituximab (A) et dans la cohorte entière (B)

IV/ Facteurs prédictifs d'évènements cliniques et biologiques d'immunosuppression

IV-1/ Analyse univariée

Les variables sélectionnées pour l'analyse univariée sont représentées dans la table 4. La survenue d'un épisode infectieux était corrélée au fait de recevoir plus de la moitié du programme de maintenance (9 injections de rituximab), $p < 0,001$. Concernant la neutropénie $< 0,5$ G/L, aucune variable n'y était significativement corrélée. Le nombre d'injections de rituximab était également significativement corrélé au risque d'hypogammaglobulinémie < 6 g/L, $p < 0,001$. La réponse morphologique complète évaluée par scanner avant randomisation montrait une corrélation à tendance significative sur la survenue d'une hypogammaglobulinémie < 6 g/L, $p = 0,074$. Le risque de développer une lymphopénie CD 4 était corrélé au performans status au diagnostic, $p = 0,023$.

IV-2/ Analyse multivariée

En analyse multivariée, le nombre d'injections de rituximab était lié à la survenue d'un épisode infectieux et d'une hypogammaglobulinémie < 6 g/L avec des *Odd Ratio (OR)* respectifs pour l'administration de moins de 9 injections : $OR = 0,271$ IC 95% (0,155-0,474), $p < 0,0001$ et $OR = 0,202$ IC 95% (0,078-0,523), $p = 0,001$. La réponse complète morphologique par rapport à la réponse partielle $> 75\%$ constituait un facteur de risque dans la cohorte entière de survenue d'hypogammaglobulinémie : $OR = 2,972$, IC 95% (1,263-6,994), $p = 0,013$. Le variant morphologique commun était associé à un risque moindre d'hypogammaglobulinémie par rapport aux autres types histologiques : $OR = 0,278$; IC 95% (0,086-0,899) $p = 0,033$. Un performans status au diagnostic < 1 était un facteur associé à un risque moindre de lymphopénie T CD4, avec un *Odd ratio* à 0,423 IC 95% (0,220-0,812) $p = 0,01$. Aucune variable explicative n'était corrélée à la neutropénie $< 0,5$ G/L.

VARIABLES	MODALITES
Caractéristiques clinico-biologiques au diagnostic	
Sexe	H vs F
Age	< ou > à 60 ans
Performans status	0 vs 1 vs 2
Stade Ann Arbor	II vs III vs IV
Score MIPI	Faible vs intermédiaire vs élevé
Variant morphologique	Forme classique vs autres
Envahissement médullaire	Oui vs Non
Statut de la maladie après induction	
Performans status	0 vs 1 vs 2
Réponse métabolique évaluée par PET scanner	Réponse complète vs PET positif
Réponse BOM-envahissement médullaire	Oui vs Non
Réponse morphologique évaluée par TDM TAP	RC vs RP >75% vs RP< 75%
Nécessité de rattrapage par R-CHOP	Oui vs Non
Délai entre autogreffe et randomisation/début de maintenance	< ou > 2 mois
Richesse du greffon	< 5 vs 5-8 vs > 5.10 ⁶ CD 34/kg
Nombre d'injections de rituximab	< ou égal vs > 9

Table 4 : Variables considérées pour l'analyse univariée

DISCUSSION

L'objectif principal de l'étude était d'apprécier la reconstitution immunitaire et le risque infectieux engendrés par un régime de maintenance par rituximab pendant 3 ans après intensification thérapeutique et autogreffe dans LCM. Pour cela, ont été étudiées les données cliniques d'évènements infectieux prospectivement collectées dans l'essai randomisé LyMa (épisodes fébriles, épisodes infectieux cliniquement documentés et hospitalisations pour cause infectieuse) ainsi que des paramètres biologiques, également recueillis de manière prospective et prévue *a priori*. Les 3 paramètres biologiques étudiés ont été sélectionnés de manière à rendre une vision d'ensemble sur l'état immunitaire des patients : les PNN, acteurs de l'immunité innée, le taux de gammaglobulines et le taux de lymphocytes T CD 4, respectivement paramètres de l'immunité adaptative humorale et cellulaire. Il est mis en évidence une augmentation du risque infectieux dans le bras rituximab à partir du 12^{ème} mois de maintenance avec significativement plus de patients concernés par des épisodes fébriles et infectieux dans le bras rituximab. Au cours de la première année, il n'y avait pas de différence entre les 2 bras, suggérant la responsabilité de l'immunosuppression post intensification thérapeutique sur les épisodes infectieux encourus par les patients. Sur les données biologiques collectées, seule l'hypogammaglobulinémie était statistiquement plus rencontrée chez les patients du groupe maintenance à partir du 12^{ème} mois. L'analyse multivariée montre que le fait de recevoir au moins la moitié du schéma de maintenance soit 9 injections est un facteur prédictif de survenue d'une hypogammaglobulinémie < 6g/L et de survenue d'un épisode infectieux mais pas de neutropénie ou lymphopénie T CD4. Cela souligne le corollaire entre la hausse du risque infectieux et l'hypogammaglobulinémie < 6g/L causée par le régime de maintenance par rituximab. Ces résultats argumentent également la notion d'effet cumulatif de l'anticorps monoclonal sur le risque infectieux. Comme déjà démontré dans l'essai LyMa, les épisodes infectieux de grades 3 ou 4 n'étaient pas significativement augmentés dans le bras rituximab, sur aucune des périodes de suivi. On peut alors conclure que le rituximab en schéma de maintenance est responsable d'une augmentation du risque d'infections de grade 1 ou 2, à partir de 1 an post autogreffe à la faveur d'une hypogammaglobulinémie plus profonde et prolongée.

Les sites infectieux majoritairement représentés étaient les sphères ORL et respiratoires comme précédemment décrit dans la littérature. On note une proportion significativement

plus importante d'épisodes de colites infectieuses bactériennes documentées au plan microbiologique dans le bras rituximab, ce qui n'a jamais été décrit dans la littérature à notre connaissance.

L'étude des données de substitution en Ig polyvalentes montre un écart du recours à cette pratique entre les 2 bras à partir de 12 mois post autogreffe, $p=0,075$ puis surtout après 24 mois, $p<0,0001$. L'étude montre que cette pratique permet de réduire significativement le nombre d'épisodes d'hypogammaglobulinémie < 6 g/L mais ne réduit pas le nombre d'épisodes infectieux cliniques ce qui n'encourage pas cette pratique dans cette indication-là. La substitution en Ig polyvalentes n'était pas spécifiquement recommandée dans l'essai LyMa et ne constitue pas une indication prioritaire selon les recommandations actuelles de l'HAS.

Notre étude met en évidence une corrélation entre l'hypogammaglobulinémie < 6 g/L et une meilleure SSP à 3 ans et une corrélation entre réponse complète morphologique et un taux d'IgG < 6 g/L. L'hypogammaglobulinémie < 6 g/L est une variable indépendante protectrice de la rechute dans le bras rituximab ; HR = 0,294, IC 95% (0,13-0,767), $p=0,012$. Cette différence reste significative sur la cohorte entière : HR ajusté au traitement pour la SSP à 0,488 IC 95% (0,287-0,830), $p=0,008$. Or, l'analyse multivariée montre que l'hypogammaglobulinémie est favorisée par le fait de recevoir au moins la moitié des injections de rituximab prévues, donc potentialisée par la durée de la maintenance. Ce résultat pose la question d'une efficacité différentielle du rituximab parmi les patients. Des équipes ont déjà avancé l'hypothèse de l'influence du polymorphisme du gène *FCGR3A* codant pour le récepteur au fragment constant des Ig (FC γ RIIIa) sur la réponse au rituximab dans les LNH B. Ce récepteur est exprimé par les lymphocytes natural killer et macrophages, acteurs majeurs de la cytotoxicité dépendante de l'anticorps (ADCC). Les Ig G1, dont fait partie le rituximab, se lient plus fortement au FC γ RIIIa homozygote 158 V⁵⁴. Une étude⁵⁴ conduite chez 49 patients atteints de lymphomes folliculaires de faible masse traités par rituximab seul a montré que l'homozygotie *FCGR3A*-158V était un facteur prédictif indépendant de la réponse à 2 et 12 mois du traitement, $p=0,02$ et $p=0,01$ respectivement et également de d'une maladie résiduelle indétectable par PCR à 12 mois $p=0,04$ ⁵⁴. Dans le lymphome B diffus à grandes cellules, une étude rapporte une réponse différentielle selon le dimorphisme *FCGR3A*-158V/F sur 113 patients traités par R-CHOP, à la faveur des patients homozygotes VV, $p=0,002$ ⁵⁵. Ce n'était pas le cas des patients traités par

CHOP, sans rituximab⁵⁵. Il a été rapporté chez des patients atteints de lupus érythémateux systématisé que le l'homozygotie VV était associée à une déplétion B plus importante $p=0,019$ ⁵⁶ lors du traitement par rituximab.

Les résultats de notre étude peuvent ainsi suggérer qu'un taux d'IgG < 6g/L serait le reflet d'une lympho-déplétion B plus importante liée à une meilleure affinité du rituximab avec les effecteurs cytotoxiques majeurs de l'ADCC et ainsi reflet de l'activité du rituximab.

Ces hypothèses doivent être confirmées sur d'autres cohortes. Les modalités telles que le moment de suivi adéquat et la durée de l'hypogammaglobulinémie doivent être affinés. Il serait intéressant d'évaluer la corrélation entre hypogammaglobulinémie et maladie résiduelle en PCR, puisqu'il est démontré qu'une réponse plus profonde est associée à une meilleure SSP¹⁹.

CONCLUSION

Notre étude met en évidence que la maintenance par rituximab dans le LCM en post-autogreffe induit une immunosuppression humorale au-delà d'un an de maintenance, avec un effet cumulatif lié aux nombres d'injections mais que la toxicité demeure acceptable au regard du bénéfice démontré en SSE, SSP et SG.

Nous démontrons aussi l'absence d'amélioration clinique sur le nombre d'épisodes infectieux lors de la substitution par Ig polyvalentes, intervention coûteuse et non recommandée de manière prioritaire dans cette indication.

Quant à l'impact spécifique de l'hypogammaglobulinémie sur le devenir des patients, elle semble être le corolaire de l'impact propre du rituximab.

REFERENCES

1. Jain, P. & Wang, M. Mantle cell lymphoma: 2019 update on the diagnosis, pathogenesis, prognostication, and management. *Am. J. Hematol.* **94**, 710–725 (2019).
2. Dreyling, M. *et al.* Newly diagnosed and relapsed mantle cell lymphoma: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann. Oncol.* **28**, iv62–iv71 (2017).
3. Vose, J. M. Mantle cell lymphoma: 2017 update on diagnosis, risk-stratification, and clinical management: Vose. *Am. J. Hematol.* **92**, 806–813 (2017).
4. Martín-García, D. *et al.* CCND2 and CCND3 hijack immunoglobulin light-chain enhancers in cyclin D1– mantle cell lymphoma. *Blood* **133**, 940–951 (2019).
5. Swerdlow, S. H. *et al.* The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* **127**, 2375–2390 (2016).
6. Hoster, E. *et al.* A new prognostic index (MIPI) for patients with advanced-stage mantle cell lymphoma. *Blood* **111**, 558–565 (2008).
7. Hoster, E. *et al.* Prognostic Value of Ki-67 Index, Cytology, and Growth Pattern in Mantle-Cell Lymphoma: Results From Randomized Trials of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **34**, 1386–1394 (2016).
8. Navarro, A. *et al.* Molecular Subsets of Mantle Cell Lymphoma Defined by the IGHV Mutational Status and SOX11 Expression Have Distinct Biologic and Clinical Features. *Cancer Res.* **72**, 5307–5316 (2012).
9. Aukema, S. M. *et al.* Expression of TP53 is associated with the outcome of MCL independent of MIPI and Ki-67 in trials of the European MCL Network. *Blood* **131**, 417–420 (2018).
10. Greenwell, I. B. *et al.* Complex karyotype in patients with mantle cell lymphoma predicts inferior survival and poor response to intensive induction therapy: Complex Karyotype in MCL. *Cancer* **124**, 2306–2315 (2018).
11. Abrisqueta, P. *et al.* Observation as the initial management strategy in patients with mantle cell lymphoma. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **28**, 2489–2495 (2017).
12. Lenz, G. *et al.* Immunochemotherapy with rituximab and cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine, and prednisone significantly improves response and time to treatment failure, but not long-term outcome in patients with previously untreated mantle

cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the German Low Grade Lymphoma Study Group (GLSG). *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **23**, 1984–1992 (2005).

13. Schulz, H. *et al.* Immunochemotherapy with rituximab and overall survival in patients with indolent or mantle cell lymphoma: a systematic review and meta-analysis. *J. Natl. Cancer Inst.* **99**, 706–714 (2007).

14. Lefrère, F. *et al.* Sequential chemotherapy by CHOP and DHAP regimens followed by high-dose therapy with stem cell transplantation induces a high rate of complete response and improves event-free survival in mantle cell lymphoma: a prospective study. *Leukemia* **16**, 587–593 (2002).

15. Romaguera, J. E. *et al.* High rate of durable remissions after treatment of newly diagnosed aggressive mantle-cell lymphoma with rituximab plus hyper-CVAD alternating with rituximab plus high-dose methotrexate and cytarabine. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **23**, 7013–7023 (2005).

16. Chihara, D. *et al.* Rituximab plus hyper-CVAD alternating with MTX/Ara-C in patients with newly diagnosed mantle cell lymphoma: 15-year follow-up of a phase II study from the MD Anderson Cancer Center. *Br. J. Haematol.* **172**, 80–88 (2016).

17. Delarue, R. *et al.* CHOP and DHAP plus rituximab followed by autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma: a phase 2 study from the Groupe d'Etude des Lymphomes de l'Adulte. *Blood* **121**, 48–53 (2013).

18. Hermine, O. *et al.* Addition of high-dose cytarabine to immunochemotherapy before autologous stem-cell transplantation in patients aged 65 years or younger with mantle cell lymphoma (MCL Younger): a randomised, open-label, phase 3 trial of the European Mantle Cell Lymphoma Network. *The Lancet* **388**, 565–575 (2016).

19. Pott, C. *et al.* Molecular remission is an independent predictor of clinical outcome in patients with mantle cell lymphoma after combined immunochemotherapy: a European MCL intergroup study. *Blood* **115**, 3215–3223 (2010).

20. Vandenberghe, E. *et al.* Outcome of autologous transplantation for mantle cell lymphoma: a study by the European Blood and Bone Marrow Transplant and Autologous Blood and Marrow Transplant Registries. *Br. J. Haematol.* **120**, 793–800 (2003).

21. Dreyling, M. Early consolidation by myeloablative radiochemotherapy followed by autologous stem cell transplantation in first remission significantly prolongs progression-free

survival in mantle-cell lymphoma: results of a prospective randomized trial of the European MCL Network. *Blood* **105**, 2677–2684 (2005).

22. Tam, C. S. & Khouiri, I. F. Autologous and allogeneic stem cell transplantation: rising therapeutic promise for mantle cell lymphoma. *Leuk. Lymphoma* **50**, 1239–1248 (2009).

23. Geisler, C. H. *et al.* Nordic MCL2 trial update: six-year follow-up after intensive immunochemotherapy for untreated mantle cell lymphoma followed by BEAM or BEAC + autologous stem-cell support: still very long survival but late relapses do occur. *Br. J. Haematol.* **158**, 355–362 (2012).

24. Andersen, N. S. *et al.* Pre-emptive treatment with rituximab of molecular relapse after autologous stem cell transplantation in mantle cell lymphoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **27**, 4365–4370 (2009).

25. Kluin-Nelemans, H. C. *et al.* Treatment of older patients with mantle-cell lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **367**, 520–531 (2012).

26. Le Gouill, S. *et al.* Rituximab after Autologous Stem-Cell Transplantation in Mantle-Cell Lymphoma. *N. Engl. J. Med.* **377**, 1250–1260 (2017).

27. Hilal, T. *et al.* Rituximab maintenance therapy for mantle cell lymphoma: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Hematol.* **93**, 1220–1226 (2018).

28. Weiner, G. J. Rituximab: Mechanism of Action. *Semin. Hematol.* **47**, 115–123 (2010).

29. Shan, D., Ledbetter, J. A. & Press, O. W. Signaling events involved in anti-CD20-induced apoptosis of malignant human B cells. *Cancer Immunol. Immunother. CII* **48**, 673–683 (2000).

30. Jazirehi, A. R., Gan, X.-H., De Vos, S., Emmanouilides, C. & Bonavida, B. Rituximab (anti-CD20) selectively modifies Bcl-xL and apoptosis protease activating factor-1 (Apaf-1) expression and sensitizes human non-Hodgkin's lymphoma B cell lines to paclitaxel-induced apoptosis. *Mol. Cancer Ther.* **2**, 1183–1193 (2003).

31. Coiffier, B. Treatment of Non-Hodgkin's Lymphoma: A Look over the Past Decade. *Clin. Lymphoma Myeloma* **7**, S7–S13 (2006).

32. Lanini, S. *et al.* Risk of infection in patients with lymphoma receiving rituximab: systematic review and meta-analysis. *BMC Med.* **9**, 36 (2011).

33. Salles, G. *et al.* Rituximab maintenance for 2 years in patients with high tumour burden follicular lymphoma responding to rituximab plus chemotherapy (PRIMA): a phase 3, randomised controlled trial. *The Lancet* **377**, 42–51 (2011).

34. Heß, G. *et al.* Safety and feasibility of CHOP/rituximab induction treatment followed by high-dose chemo/radiotherapy and autologous PBSC-transplantation in patients with previously untreated mantle cell or indolent B-cell-non-Hodgkin's lymphoma. *Bone Marrow Transplant.* **31**, 775–782 (2003).
35. Thieblemont, C. *et al.* Chemotherapy with rituximab followed by high-dose therapy and autologous stem cell transplantation in patients with mantle cell lymphoma. *Cancer* **104**, 1434–1441 (2005).
36. Olsen, G. A., Gockerman, J. P., Bast, R. C., Borowitz, M. & Peters, W. P. ALTERED IMMUNOLOGIC RECONSTITUTION AFTER STANDARD-DOSE CHEMOTHERAPY OR HIGH-DOSE CHEMOTHERAPY WITH AUTOLOGOUS BONE MARROW SUPPORT: *Transplantation* **46**, 57–60 (1988).
37. Anolik, J. H. *et al.* B cell reconstitution after rituximab treatment of lymphoma recapitulates B cell ontogeny. *Clin. Immunol.* **122**, 139–145 (2007).
38. Casulo, C., Maragulia, J. & Zelenetz, A. D. Incidence of Hypogammaglobulinemia in Patients Receiving Rituximab and the Use of Intravenous Immunoglobulin for Recurrent Infections. *Clin. Lymphoma Myeloma Leuk.* **13**, 106–111 (2013).
39. Stamatopoulos, K. *et al.* Lymphocyte subpopulation imbalances, bone marrow hematopoiesis and histopathology in rituximab-treated lymphoma patients with late-onset neutropenia. *Leukemia* **22**, 1446–1449 (2008).
40. Focosi, D., Tuccori, M. & Maggi, F. Progressive multifocal leukoencephalopathy and anti-CD20 monoclonal antibodies: What do we know after 20 years of rituximab. *Rev. Med. Virol.* **29**, (2019).
41. Dunleavy, K. B-cell recovery following rituximab-based therapy is associated with perturbations in stromal derived factor-1 and granulocyte homeostasis. *Blood* **106**, 795–802 (2005).
42. Aksoy, S., Dizdar, Ö., Hayran, M. & Harputluoğlu, H. Infectious complications of rituximab in patients with lymphoma during maintenance therapy: a systematic review and meta-analysis. *Leuk. Lymphoma* **50**, 357–365 (2009).
43. Mélet, J. *et al.* Rituximab-Induced T Cell Depletion in Patients With Rheumatoid Arthritis: Association With Clinical Response: Rituximab-Induced T Cell Depletion and Clinical Response in RA. *Arthritis Rheum.* **65**, 2783–2790 (2013).
44. Elsegeiny, W., Eddens, T., Chen, K. & Kolls, J. K. Anti-CD20 Antibody Therapy and

- Susceptibility to Pneumocystis Pneumonia. *Infect. Immun.* **83**, 2043–2052 (2015).
45. Jiang, X., Mei, X., Feng, D. & Wang, X. Prophylaxis and Treatment of Pneumocystis jiroveci Pneumonia in Lymphoma Patients Subjected to Rituximab-Contained Therapy: A Systemic Review and Meta-Analysis. *PLOS ONE* **10**, e0122171 (2015).
 46. Raisch, D. W., Rafi, J. A., Chen, C. & Bennett, C. L. Detection of cases of progressive multifocal leukoencephalopathy associated with new biologicals and targeted cancer therapies from the FDA's adverse event reporting system. *Expert Opin. Drug Saf.* **15**, 1003–1011 (2016).
 47. Taplitz, R. A. *et al.* Antimicrobial Prophylaxis for Adult Patients With Cancer-Related Immunosuppression: ASCO and IDSA Clinical Practice Guideline Update. *J. Clin. Oncol.* **36**, 3043–3054 (2018).
 48. Gauthier, M. *et al.* Prognostic role of CD4 T-cell depletion after frontline fludarabine, cyclophosphamide and rituximab in chronic lymphocytic leukaemia. *BMC Cancer* **19**, 809 (2019).
 49. Phair, J. *et al.* The Risk of *Pneumocystis carinii* Pneumonia among Men Infected with Human Immunodeficiency Virus Type 1. *N. Engl. J. Med.* **322**, 161–165 (1990).
 50. Ueda, M., Berger, M., Gale, R. P. & Lazarus, H. M. Immunoglobulin therapy in hematologic neoplasms and after hematopoietic cell transplantation. *Blood Rev.* **32**, 106–115 (2018).
 51. Benbrahim, O. *et al.* A French observational study describing the use of human polyvalent immunoglobulins in hematological malignancy-associated secondary immunodeficiency. *Eur. J. Haematol.* **101**, 48–56 (2018).
 52. Campo, E. & Rule, S. Mantle cell lymphoma: evolving management strategies. *Blood* **125**, 48–55 (2015).
 53. Kanate, A. S. *et al.* Maintenance Therapies for Hodgkin and Non-Hodgkin Lymphomas After Autologous Transplantation: A Consensus Project of ASBMT, CIBMTR, and the Lymphoma Working Party of EBMT. *JAMA Oncol.* **5**, 715 (2019).
 54. Cartron, G. *et al.* Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcγRIIIa gene. *Blood* **99**, 754–758 (2002).
 55. Kim, D. H. *et al.* FCGR3A gene polymorphisms may correlate with response to frontline R-CHOP therapy for diffuse large B-cell lymphoma. *Blood* **108**, 2720–2725 (2006).
 56. Anolik, J. H. *et al.* The relationship of FcγRIIIa genotype to degree of B cell depletion

by rituximab in the treatment of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* **48**, 455–459 (2003).

Vu, le Président du Jury,
(tampon et signature)



Professeur Steven LE GOUILL

Vu, le Directeur de Thèse,
(tampon et signature)



Professeur Steven LE GOUILL

Vu, le Doyen de la Faculté,



Professeur Pascale JOLLIET

Titre de Thèse : Reconstitution immunitaire et complications infectieuses liées à la procédure d'autogreffe et de maintenance par rituximab dans le lymphome à cellules du manteau

RESUME

La maintenance par rituximab post autogreffe tous les 2 mois pendant 3 ans a montré un avantage de survie sans évènement, sans progression (SSP) et globale dans le lymphome du manteau dans l'essai randomisé LyMa (observation versus maintenance). Nous avons évalué les complications infectieuses engendrées par ce schéma thérapeutique. Il y a eu plus d'épisodes infectieux de grade 1 ou 2 et d'épisodes d'hypogammaglobulinémies < 6g/L dans le bras rituximab à partir d'un an de maintenance. Il n'y avait pas de différence de survenue d'hospitalisation, neutropénie ou lymphopénie T CD 4 entre les 2 bras. L'hypogammaglobulinémie favorisée par la durée de la maintenance était corrélée à une meilleure SSP dans le groupe rituximab et sur l'ensemble de la cohorte. Le risque infectieux lié à la maintenance par rituximab post autogreffe est acceptable aux regards des bénéfices de survie apportés.

MOTS-CLES

LYMPHOME DU MANTEAU ; AUTOGREFFE ; RITUXIMAB ; MAINTENANCE ; INFECTIONS ; RECONSTITUTION IMMUNITAIRE ; HYPOGAMMAGLOBULINEMIE