

Démarche diagnostique en hématopathologie :

Apport de l'immunohistochimie



Dr N. MOULAI^(a, c),
Pr W. OUAHIOUNE^(a, c),
Pr K. BOUALGA^(b, c)

(a) Service d'Anatomie Pathologique,
 CHU Frantz-Fanon Blida ;

(b) Service de Radiothérapie Oncologie,
 CAC Blida ;

(c) Laboratoire de Recherche en Cancérologie,
 Université Blida -1-

Résumé

Le diagnostic de lymphome est un diagnostic pluridisciplinaire. Le rôle du pathologiste est crucial dans la démarche diagnostique en hématopathologie. L'immunohistochimie est aujourd'hui un outil indispensable pour le diagnostic et la classification de la plupart des lymphomes. Sa prescription répond à un arbre décisionnel selon l'aspect morphologique ainsi que le contexte clinico-biologique. D'où l'importance de l'interaction étroite entre le pathologiste et le clinicien.

>>> Mots-clés :

Lymphome, immunohistochimie, anticorps, CD20, classification OMS

Abstract

The diagnosis of lymphoma is multidisciplinary. The role of the pathologist is crucial in the diagnosis approach in hematopathology. Immunohistochemistry is now an indispensable tool for the diagnosis and classification of most lymphomas. Its prescription corresponds to a decision tree according to the morphological aspect as well as the clinico-biological context. Hence the close interaction with the clinician.

>>> Key-words :

Lymphoma, immunohistochemistry, antibodies, CD20, WHO classification

Introduction :

Les tumeurs hématopoiétiques correspondent à des entités anatomo-cliniques, définies par leurs caractéristiques morphologiques, immunophénotypiques, génétiques et moléculaires associées aux données cliniques ^[1]. Leur diagnostic repose sur une approche multidisciplinaire impliquant une interaction étroite entre pathologiste et hématologue. Le pathologiste a un rôle important en hématopathologie : il permet le diagnostic de lymphome, et de son type précis selon la classification OMS, participe au bilan d'extension et au choix thérapeutique. L'immunohistochimie (IHC) constitue une étape majeure dans la démarche diagnostique. Devant toute suspicion de lymphome, le pathologiste réalisera une batterie d'anticorps permettant de typer le lymphome selon sa cellule d'origine, d'évaluer le pronostic et guider le traitement. Cependant, l'étape préalable au diagnostic anatomo-pathologique est dépendante de la qualité du prélèvement qui peut influencer la qualité du résultat.

Grâce aux dernières avancées des techniques de biologie moléculaire, notamment au séquençage nouvelle génération (NGS) ; et aux données phénotypiques, cytogénétiques, microbiologiques, une édition révisée de la classification OMS 2008, va être prochainement publiée. Plusieurs nouvelles entités provisoires ont été définies, certaines entités provisoires sont devenues définitives ^[2].

Dans cette mise au point, nous aborderons la démarche diagnostique en pathologie lymphoïde.

Prise en charge diagnostique^[3, 4]

1. Étape pré-analytique

Cette étape est dépendante du clinicien qui orientera le préleveur sur le choix du type de prélèvement. Le prélèvement doit être correctement fixé au formol (privilégier le formol tamponné). La durée de fixation est de 6 heures pour les biopsies à l'aiguille et de 24 heures pour les ganglions. Le prélèvement doit contenir une quantité suffisante de matériel tumoral à analyser.

2. Nature du prélèvement

L'examen diagnostique de choix est la biopsie exérèse ganglionnaire, qui permet d'apprécier l'architecture globale de la prolifération. Il faut éviter les ganglions des territoires de drainage des membres supérieurs et inférieurs, ganglions inguinaux et axillaires. Ces derniers, sont le siège de remaniements inflammatoires chroniques pouvant gêner l'interprétation histologique. La réalisation de biopsies à l'aiguille peut rendre l'interprétation difficile et le diagnostic imprécis. Leur indication est limitée en cas de masses ganglionnaires profondes (ganglions médiastinaux, rétro-péritonéaux, abdominales). Il faut demander au moins 3 cylindres biopsiques de bonne taille à l'aiguille de 14 à 16 Gauges. Il est préférable de mettre un cylindre biopsique par cassette afin de pouvoir demander plus de marqueurs immunohistochimiques et de permettre des études moléculaires. Si tous les critères de diagnostic de lymphome ne sont pas présents, il faut demander une biopsie exérèse^[3].

3. Renseignements cliniques

Tout prélèvement, doit être accompagné d'une fiche de demande d'examen anatomopathologique dûment remplie. L'âge du patient, et les renseignements cliniques sont fondamentaux pour une interprétation histologique fiable.

4. Principaux anticorps de base en pathologie lymphoïde^[4,6]

Il est important de connaître les structures reconnues

par ces anticorps et le type de marquage attendu (nucléaire, membranaire ou cytoplasmique). Ce qui implique d'avoir des informations sur la biologie de l'antigène recherché.

1. Marqueurs lymphoïdes B : le lymphocyte B exprime le CD19, CD20, CD79a, PAX5 et une immunoglobuline (Ig) de surface ou récepteur B (B-Cell receptor ou BCR) de type IgM. Les autres antigènes : CD10, CD23, Ig D sont exprimés selon le stade de différenciation du lymphocyte B.

2. Marqueurs lymphoïdes T et NK : le lymphocyte T exprime les CD suivants : CD2, CD3ε, CD5, CD7 et peut être de type facilitant CD4 ou cytotoxique CD8. Il exprime le récepteur T (TCR=T-cell receptor) αβ ou γδ. Il peut être d'origine cytotoxique non activé (exprimant le Tia1) ou cytotoxique activé (exprimant les protéines Tia1, Granzyme B et Perforine).

Le lymphocyte T peut être d'origine T folliculaire (TFH= T follicular helper) exprimant les antigènes CXCL13, ICOS, PD1, CD10, et bcl-6.

Le lymphocyte d'origine NK exprime le CD3ε et le CD56.

3. Autres :

CD30 : c'est un antigène d'activation des cellules T et B. Exprimé par certains lymphomes à grandes cellules B, le lymphome anaplasique, le lymphome de Hodgkin classique...etc. Son expression est également à visée pronostique et thérapeutique.

CD138 : marque les plasmocytes et les lymphomes à différenciation plasmocytaire.

Cycline-D1 : est une protéine kinase impliquée dans le cycle cellulaire, son expression est caractéristique du lymphome à cellules du manteau.

Myc : est un proto-oncogène impliqué dans la prolifération cellulaire B et la régulation de l'apoptose. Il est indiqué dans les lymphomes de haut grade double et/ou triple hit selon la classification révisée de l'OMS 2016. Ces lymphomes présentent un réarrangement de Myc et Bcl-2 et/ou Bcl-6^[2].

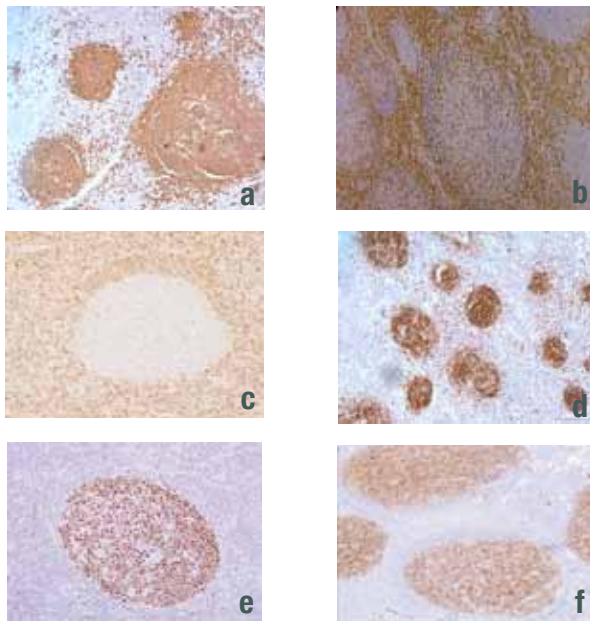


Figure 1 : Aspects immunohistochimiques d'un ganglion normal

(a) Les follicules lymphoïdes expriment CD20, (b) les cellules du paracortex expriment CD3, (c) Bcl-2 exprimé par les cellules lymphoïdes T et B normales sauf par les cellules du centre germinatif, (d) le centre germinatif contient de nombreuses cellules folliculaires dendritiques CD23, (e) Bcl-6 exprimée par les cellules du centre germinatif, (f) les centres germinatifs expriment le CD10

Démarche diagnostique [3,4,5,6]

Quel que soit l'organe, et devant toute suspicion de lymphome sur l'aspect morphologique, le pathologiste doit répondre à des questions :

Architecture nodulaire, diffuse ou mixte (Organe reconnaissable ?

Destruction ? Pattern infiltratif ?)

Densité de l'infiltrat ?

Composition de l'infiltrat ?

1. **Polymorphe** : Type cellulaire : lymphocytes, plasmocytes, histiocytes

2. **Follicules lymphoïdes** : présence de centre germinatif, de zone marginale

3. **Monotonie cellulaire** : cellules de petite ou grande taille ou mélange des deux.

Et en fonction de l'aspect cyto-architectural observé mais aussi du contexte clinique et des données biologiques ; le pathologiste va prescrire des anticorps selon un arbre décisionnel en fonction de l'hypothèse

diagnostique et ceci en plusieurs étapes.

La première étape va faire appel à des anticorps incontournables permettant de reconnaître les antigènes exprimés par les lymphocytes B (CD20) et T (CD3). Et devant une tumeur indifférenciée dont l'origine lymphoïde est incertaine, on pourra précéder cette étape par l'utilisation d'un marqueur panleucocytaire, le CD45.

La deuxième étape consiste à utiliser une batterie d'anticorps plus spécialisée afin de préciser le stade de différenciation du lymphocyte tumoral et de classer ainsi le lymphome. Schématiquement deux situations peuvent être envisagées :

Une prolifération lymphoïde à petites cellules et une prolifération lymphoïde à grandes cellules.

1. Conduite à tenir devant une prolifération lymphoïde à petites cellules

Une cellule lymphoïde tumorale de petite taille est une cellule dont la taille du noyau est voisine à celle d'un petit lymphocyte réactionnel. Sa taille ne dépasse pas 2 noyaux de lymphocytes (qui définit la grande taille^[5]). Devant une prolifération lymphoïde à petites cellules (figure 2), les anticorps de base à utiliser sont le CD20 et le CD3.

1. Prolifération B CD20+ homogène :

Si le CD20 est homogène, il faut envisager l'hypothèse d'une hémopathie lymphoïde à petites cellules après avoir éliminé une hyperplasie lymphoïde atypique.

2. Prolifération T CD3+ ou mixte CD3+/CD20+ (figure 3 et 4)

Devant une prolifération à petites cellules T CD3+ ou mixte CD3+/CD20+ ; il faudra éliminer dans un premier temps les lymphomes à petites cellules de phénotype T ou NK.

Le Ki-67 est utile pour retenir ou éliminer un lymphome lymphoblastique T. Selon la classification révisée de l'OMS 2016^[2,10] ; le groupe des lymphomes T de phénotype T folliculaire auxiliaire (TFH) comporte plusieurs entités : le lymphome T angio-immunoblastique, le lymphome T folliculaire, le lymphome T périphérique ganglionnaire de phénotype TFH. Les critères diagnostiques sont inchangés. Ces lymphomes d'origine lymphoïde T folliculaire helper (TFH) doivent exprimer au moins deux marqueurs TFH parmi CD10, Bcl-6, PD1, CXCL13^[2]. Dans les cas difficiles, il faut s'aider d'une étude de la clonalité. La recherche des transcrits Ebers par hybridation in situ peut être également utile au diagnostic.

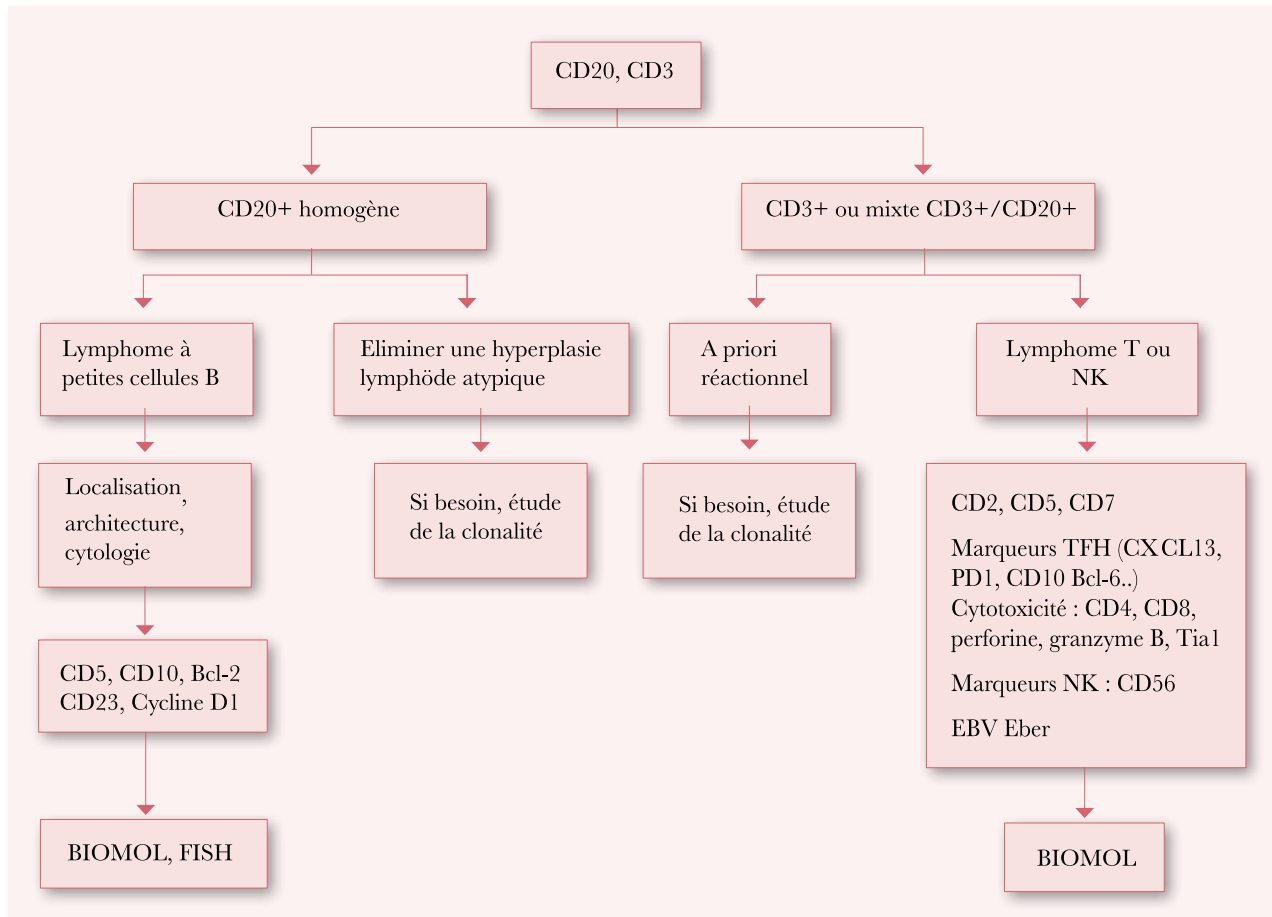


Figure 2 : Arbre décisionnel devant une prolifération lymphoïde à petites cellules

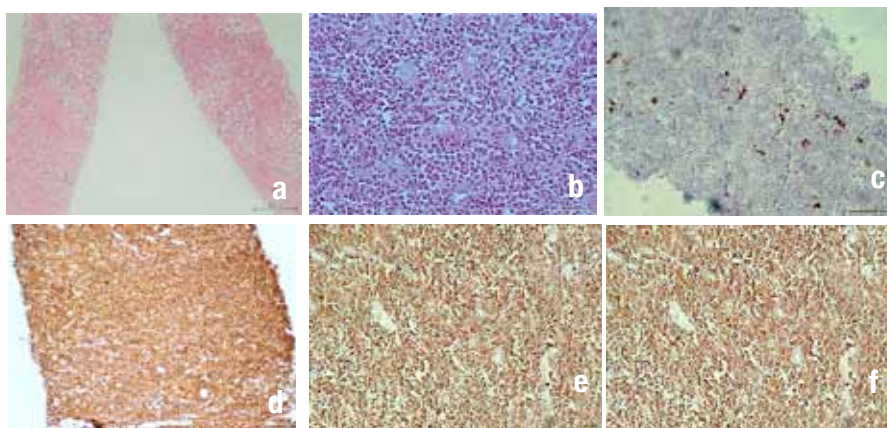


Figure 3 : Lymphome lymphoblastique T

(a, b) Biopsie à l'aiguille : prolifération lymphoïde d'architecture diffuse à petites cellules. Cellules monotones, denses à chromatine poussiéreuse, (c) CD20 négatif, (d) expression cytoplasmique intense du CD3, (e) expression nucléaire de la TDT, (f) le Ki-67 est à 100%.

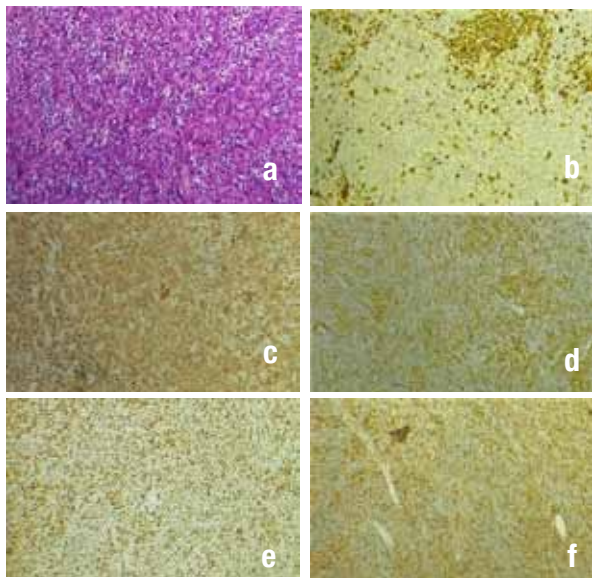


Figure 4 : Lymphome T de phénotype TFH

(a) Prolifération lymphoïde d'architecture diffuse, composée de cellules de taille petite à moyenne au cytoplasme clair. (b) expression de quelques cellules tumorales au CD20. (c) expression intense du CD3. (d) PD1 positif. (e) expression nucléaire du Bcl-6. (f) positivité du CD10

3. Classification des hémopathies lymphoïdes B à petites cellules

Le diagnostic de lymphome à petites cellules n'est pas suffisant. Il est primordial de distinguer les principales entités qui ont une évolution et un pronostic différent. Elles sont classées selon l'architecture (nodulaire ou diffuse), la cytologie, le phénotype et les anomalies cytogénétiques et moléculaires [1,2]. Les anticorps de base qui permettent de les distinguer sont : CD5, CD10, Bcl-2, CD23 et Cycline-D1 (tableau1) [4,5]. Les principales entités sont :

- Le lymphome lymphocytaire / LLC-B (figure 5)
- Le lymphome lympho-plasmocytaire
- Le lymphome à cellules du manteau
- Le lymphome folliculaire
- Le lymphome de la zone marginale

Leur profil phénotypique est le suivant :

LLC-B : CD20+/-, CD79+, CD5+, CD10-, CD23+, IgD+, Cycline-D1-

L. folliculaire : CD5-, CD10+ ET bcl-2+, CD23-, IgD-, Cycline-D1-, bcl-6+ et bcl-2+

L. à cellules du manteau : CD5+, CD10-, CD23-, IgD+, Cycline-D1+, bcl-2+

L. zone marginale (MALT, ganglionnaire, splénique) : CD5-, CD10-, CD23-, IgD+/-, Cyclin-D1-, bcl2+

L. lympho-plasmocytaire : CD138+, CD5+/-, CD10-, CD23-, IgD+/-, Cycline -D1-

	CD20	CD5	CD10	CD23	Bcl-2	Cycline D1
L. lympho-plasmocytaire	+/-	+/-	-	-	+	-
LLCB	+	+	-	+	+	-
L. Manteau	+	+	-	-	+	+
L. folliculaire	+	-	+	-	+	-
L. zone marginale	+	-	-	-	+	-

Tableau 1 : phénotype des principales hémopathies lymphoïdes à petites cellules

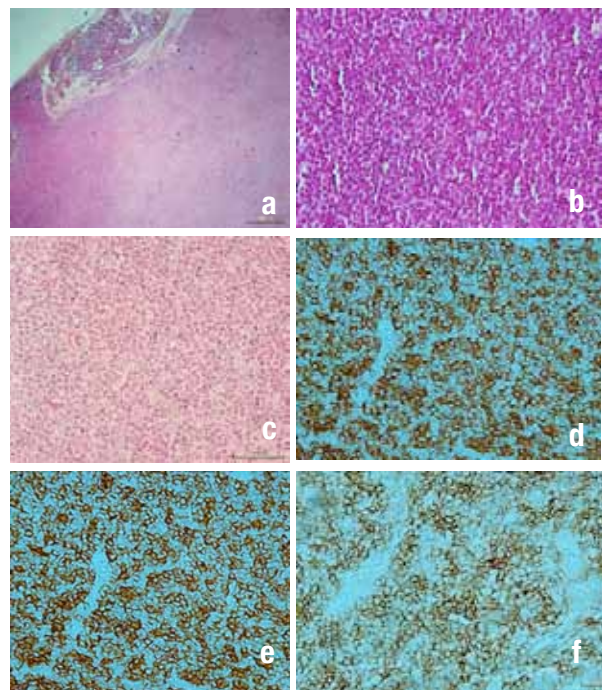


Figure 5 : Prolifération lymphoïde à petites cellules : lymphome lymphocytaire chronique B /LLC-B

(a) Architecture ganglionnaire effacée par une prolifération lymphoïde à petites cellules d'architecture vaguement nodulaire. Présence de zones sombres et claires HEX4, (b) cellules de petite taille à chromatine mottée au niveau des zones sombres HEX20, (c) zones claires : centres de prolifération composés de para-immunoblastes et pro-lymphocytes HEX40, (d) expression membranaire du CD20, (e) le CD5 est positif, (f) expression membranaire intense du CD23.

Remarque :

- Le Bcl-2 est positif dans tous les lymphomes B à petites cellules. En fait, sa seule vraie valeur diagnostique est le diagnostic différentiel d'une hyperplasie folliculaire Bcl-2- / L folliculaire Bcl-2+. Cependant, 15-20% des lymphomes folliculaires sont Bcl-2- d'où l'utilité de

l'anticorps anti Bcl-2 clone E17 en deuxième intention qui est positif dans la majorité des cas.

Le CD5 peut être négatif dans un % de LLC-B et de L à cellules du manteau et quelques cas de L de la zone marginale sont CD5+

Le CD23 peut être positif dans :

- Quelques L folliculaires
- LDGC B du médiastin
- Quelques L de la zone marginale
- Rares cas de L à cellules du manteau

D'autres anticorps de deuxième intention peuvent être utiles en cas de difficulté diagnostique. Ils doivent être réservés aux services spécialisés en hématopathologie^[9].

Exemples :

Le Lef1 : facteur de transcription positif jusqu'à 100% des LLC-B

Le SOX11 : est utile dans les lymphomes à cellules du manteau cycline-D1 négative

MYD88 : le lymphome lympho-plasmocytaire est associé jusqu'à 90% de mutation de MYD88.

	LLC-B	L. Manteau	L. Folliculaire	L. Zone marginale	L. Lympho-plasmocytaire
LEF1	+	-	-	-	-
CD160	+	-	-	-	-
CD200	+	-	-	-	+
SOX11	-	+	-	-	-
HGAL	-	-	+	-	-
LMO2	-	-	+	-	-
Stathmin	-	+	+	-	-
CGET1	-	-	+	-	-
IRTA1	-	-	-	+	-
MNDA	+	+	-	+	+
MYD88	-	-	-	-	+

Tableau 2 : Anticorps de deuxième intention devant une prolifération lymphoïde à petites cellules

2. Conduite à tenir devant une prolifération lymphoïde à grandes cellules^[4]

Devant une prolifération lymphoïde à grandes cellules (figure. 6), l'utilisation de 3 anticorps de base anti CD45, anti cytokératine et anti PS-100 permettent dans un premier temps d'orienter vers une origine lymphoïde CD45+.

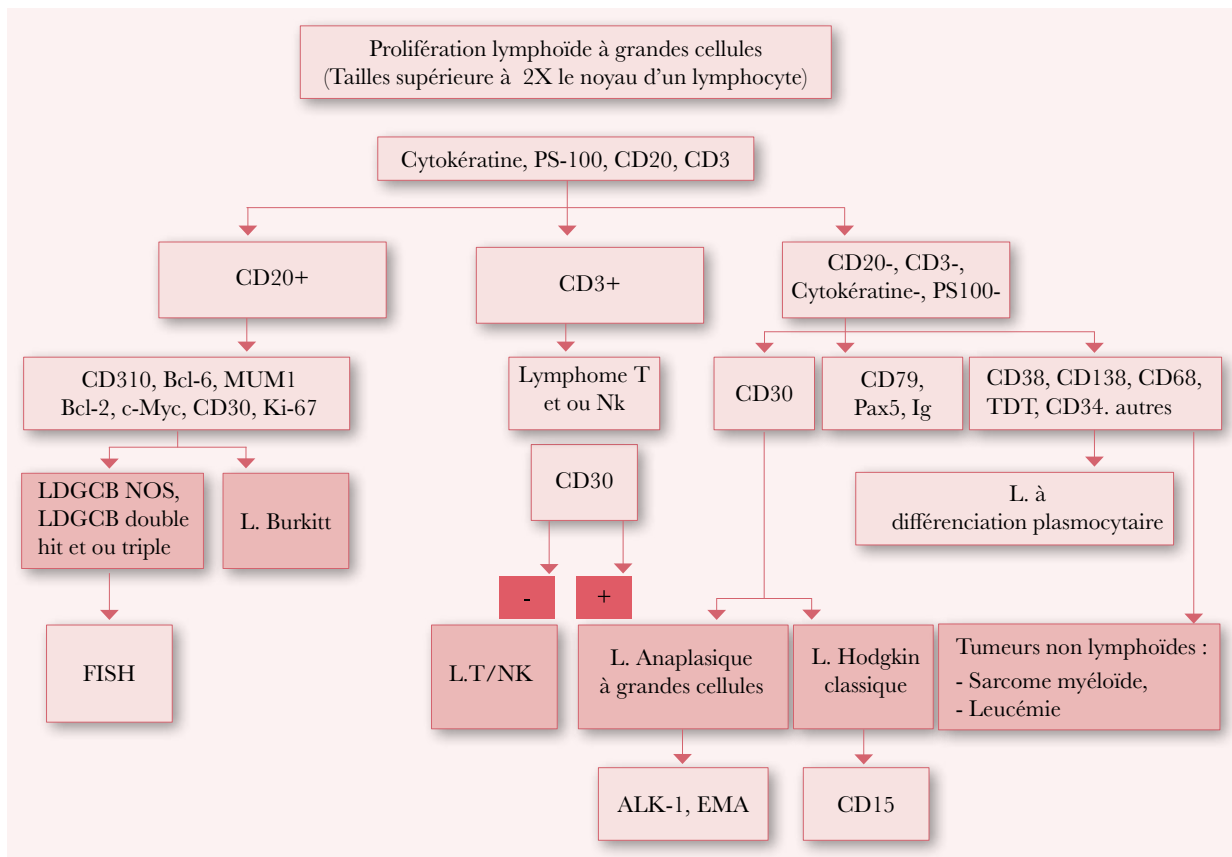


Figure 6. Algorithme décisionnel devant une prolifération lymphoïde à grandes cellules

1. Prolifération lymphoïde à grandes cellules B (figure 7) : Une prolifération homogène de grandes cellules CD20+ permettra de porter le diagnostic de lymphome diffus à grandes cellules B (LDGCB). Dans la classification révisée de l'OMS 2016 [2], les LDGCB sans autre spécificité NOS sont classés en deux catégories selon la cellule d'origine : de type B du centre-germinatif (GCB) et de type B activé (non GCB ; ABC). Cette distinction est le fruit d'études moléculaires, cytogénétiques et phénotypiques. La classification selon la cellule d'origine est réalisée par technique d'immunohistochimie, selon l'algorithme de Hans, [2,7] (fig. 5) basé sur l'expression des anticorps CD10, BCL 6 et MUM1 avec un cut-off de 30% pour chaque anticorps. Il a été établi que les types GCB sont de meilleur pronostic [7]. Dans la nouvelle classification révisée, le phénotype double expresseur MYC+ Bcl2+ est un facteur de mauvais pronostic. L'évaluation de l'expression de CD30 dans les LDGCB, NOS est à visée pronostique et représente une cible thérapeutique [8]. Il faut aussi éliminer un lymphome de Burkitt devant un profil CD10+, Bcl6+, Bcl-2- et Ki-67 100%. Le recours à la FISH est indispensable. [11].

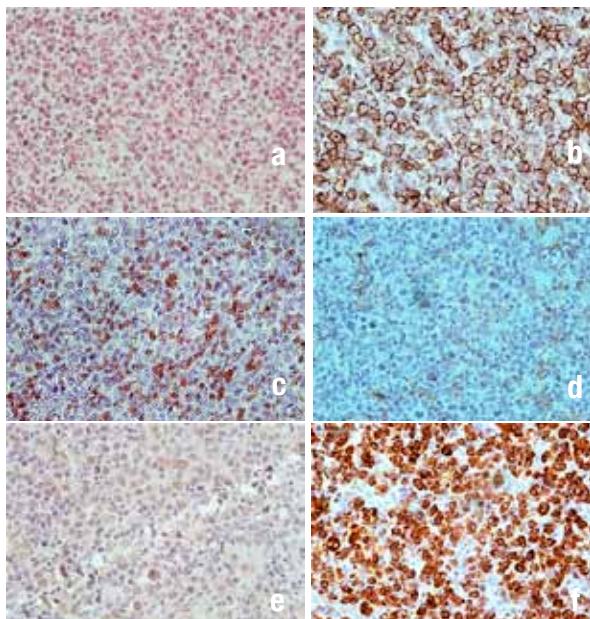


Figure 7 : LDGCB NOS de phénotype non GCB, ABC, selon l'algorithme de Hans

(a) Prolifération lymphoïde diffuse à grandes cellules, riche en centroblastes HEX10. (b) expression membranaire intense du CD20. (c) Le CD3 est négatif, positivité de quelques lymphocytes T réactionnels. (d) Le CD 10 est négatif. (e) Bcl6 négatif, positivité de 5% des cellules lymphoïdes tumorales. (f) Expression nucléaire intense du MUM1.

2. Prolifération lymphoïde à grandes cellules T [9] :

Dans le cas d'une prolifération à grandes cellules CD3+ [2,4,10] :

- **Lymphome T périphérique** : une autre batterie d'anticorps spécialisée permettra de phénotyper plus précisément ce lymphome et de déterminer son origine TFH ou cytotoxique ou NK. [2,9]

- **Lymphome anaplasique** : L'expression du CD30 (70% à 100%), de l'EMA et de la protéine ALK 1 ainsi que les protéines cytotoxiques Granzyme B, Perforine et Tia1 permettent de retenir le diagnostic d'un lymphome anaplasique.

3. Prolifération lymphoïde à grandes cellules de phénotype nul : Une prolifération lymphoïde à grandes cellules n'exprimant pas le CD20 et le CD3 ne doit pas faire éliminer un lymphome et plusieurs entités doivent être discutées :

- **Une prolifération à différenciation plasmocytaire** : regroupant plusieurs entités individualisées. Ces lymphomes expriment les marqueurs plasmocytaires CD138, CD38, MUM1 et EMA [12].

Lymphome plasmoblastique (figure 8) : CD79a+, CD138+, MUM1+, EMA+/-, le Ki67 est élevé. Une monotypie kappa ou lambda est retrouvée. Le CD30 et le CD56 sont négatifs. Eber+ en hybridation in situ.

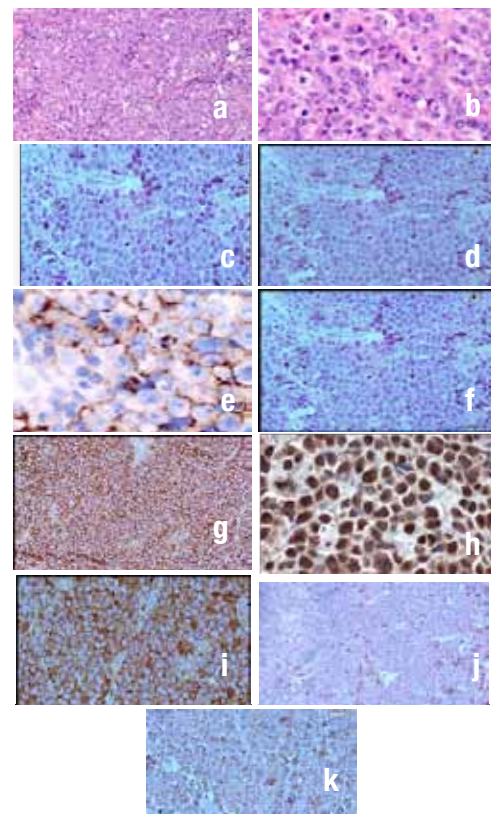


Figure 8 : Prolifération lymphoïde à grandes cellules de phénotype nul à différenciation plasmocytaire : Lymphome plasmoblastique

(a) Prolifération d'allure lymphoïde à grandes cellules HEX10, (b) cellules de grande taille, fortement nucléolées au cytoplasme abondant éosinophile, nombreuses figures de mitose HEX40, (c) négativité du CD20, (d) CD3 négatif, (e) expression membranaire du CD79a, (f) négativité du CD30, (g) forte expression membranaire du CD138, (h) expression nucléaire intense du MUM1, (i) expression cytoplasmique d'une chaîne lourde IgG, (j, k) présence d'une monotypie Lambda.

- Lymphome B diffus à grandes cellules B ALK+^[2] :
Est une entité définitive dans la classification révisée de l'OMS 2016.

Les cellules sont CD79-, Pax5-, CD138+, MUM1+, EMA+, ALK+. Il existe une monotypie kappa ou lambda et une forte expression d'IgA.

- Lymphome anaplasique à grandes cellules (figure 9) :
CD30+, EMA+, ALK+/-^[2,13]

- Le lymphome anaplasique à grandes cellules ALK- est reconnu comme une entité définitive dans la classification révisée de l'OMS 2016. La majorité des cellules expriment l'EMA et les protéines cytotoxiques, et ont perdu l'expression des antigènes lymphoïdes T (CD2, CD3, CD5, CD7).

- Un lymphome de Hodgkin classique riche en cellules tumorales : CD30+ et CD15+

- Sarcome myéloïde : CD68+, Myéloperoxydase+

Conclusion :

L'IHC est la première étape dans le diagnostic et la classification de la plupart des lymphomes. Elle doit être interprétée selon l'aspect morphologique, ainsi que les données clinico-biologiques. Il faut se rappeler qu'aucun anticorps n'est spécifique, et leur prescription doit répondre à un arbre décisionnel tout en tenant compte de certaines réactivités inhabituelles. Dans les cas difficiles, le recours à un deuxième avis par un expert spécialisé en hématopathologie est crucial.

Références bibliographiques :

1. Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, Jaffe ES, Pileri S, Stein H, et al. WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues, 4th ed. IARC Press, Lyon ; 2008.
2. Swerdlow SH, Campo E, Pileri SA, Harris NL, Stein H, Siebert R, et al. The 2016 revision of the World Health Organization classification of lymphoid neoplasms. *Blood* 2016 ; 127 (20) : 2375-90
3. Brousse N, Bruneau J (Eds). Pathologie lymphoïde. Les lymphomes et leurs diagnostics différentiels. Sauramps Médical (Montpellier) 2014
4. Copie-Bergmann C. Anticorps indispensables pour le diagnostic en hématopathologie. *Bulletin AIP* 2013, 57 : 137-42
5. Molina T, J, Bruneau J, Canioni D, Brousse N, pièges diagnostiques en hématopathologie. Lympho-proliférations à petites cellules. *Bulletin AIP* 2014, 59 : 28-33
6. Russell A. Higgins, MD; Jennifer E. Blankenship, MD; Marsha C. Kinney, MD. Application of Immunohistochemistry in the Diagnosis of Non-Hodgkin and Hodgkin Lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*—Vol 132, March 2008
7. Hans CP, Weisenburger DD, Greiner TC, Gascoyne RD, Delabie J, Ott G, Müller-Hermelink HK, Campo E, Brazier RM, Jaffe ES, Pan Z, Farinha P, Smith LM, Falini B, Banham AH, Rosenwald A, Staudt LM, Connors JM, Armitage JO, Chan WC. Confirmation of the molecular classification of diffuse large B-cell lymphoma by immunohistochemistry using a tissue microarray. *Blood*. 2004 Jan 1;103(1):275-82
8. Pierce JM, Mehta A. Diagnostic, prognostic and therapeutic role of CD30 in lymphoma. *Expert Rev Hematol*. 2017 Jan;10(1):29-37
9. Xiaohong (Mary) Zhang, MD, PhD; Nadine Aguilera, MD. New Immunohistochemistry for B-Cell Lymphoma and Hodgkin Lymphoma. *Arch Pathol Lab Med*—Vol 138, December 2014
10. Manli Jiang, N. Nora Bennani & Andrew L. Feldman (2017): Lymphoma classification update: T-cell lymphomas, Hodgkin lymphomas, and histiocytic/dendritic cell neoplasms, *Expert Review of Hematology*, DOI: 10.1080/17474086.2017.1281122
11. Dennis P. O'Malley, MD; Aaron Auerbach, MD; Lawrence M. Weiss, MD. Practical Applications in Immunohistochemistry. Evaluation of Diffuse Large B-Cell Lymphoma and Related Large B-Cell Lymphomas. *Arch Pathol Lab Med*—Vol 139, September 2015
12. Montes-Moreno S, Montalban C, Piris MA. Large B cell lymphoma with plasmablastic differentiation : a biological and therapeutic challenge. *Leuk. Lymphoma* 2012, 53(2) : 185-94
13. Maria A. Pletneva, MD, PhD; Lauren B. Smith, MD. Anaplastic Large Cell Lymphoma Features Presenting Diagnostic Challenges. *Arch Pathol Lab Med*. 2014;138:1290–1294

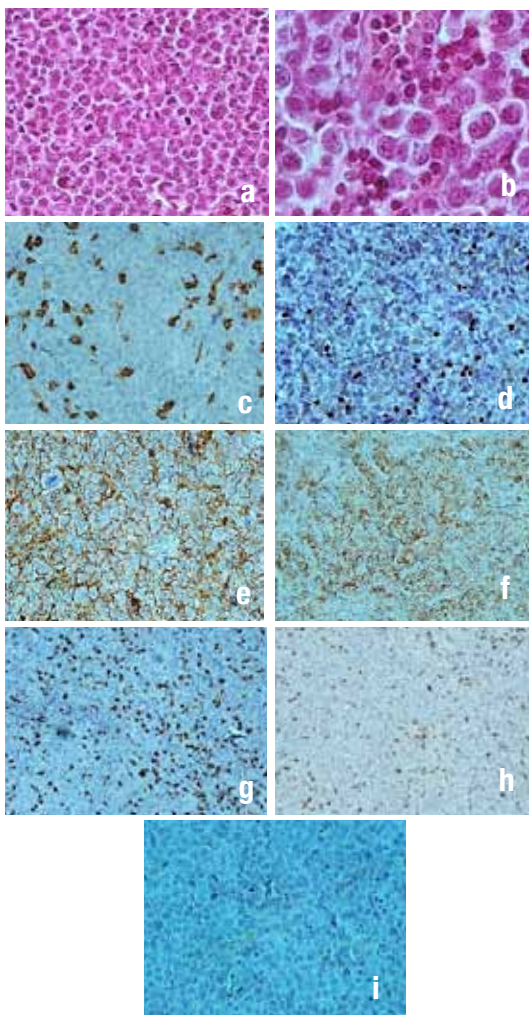


Figure 9 : Prolifération lymphoïde à grandes cellules de phénotype nul : Lymphome anaplasique à grandes cellules

(a) Prolifération lymphoïde à grandes cellules HEX10, (b) cellules de grande taille de type « horse cell » HEX40, (c) négativité du CD20, (d) le CD3 est négatif, (e) expression membranaire de l'EMA, (f) Le CD30 est positif, (g) CD2 négatif, (h) CD7 négatif, (e) Protéine ALK négative