

Mots clés :
carcinomes non à petites cellules, adénocarcinomes, histologie, thérapie ciblée.

Keywords :
non small cell carcinoma, adenocarcinoma, histology, target therapy.

Nouvelle classification anatomopathologique des cancers pulmonaires

Une approche pluridisciplinaire : de la morphologie à la réponse thérapeutique...

Résumé

Le cancer pulmonaire est l'un des cancers de plus mauvais pronostic. Récemment, les thérapies ciblées ont révolutionné leur prise en charge, notamment pour l'adénocarcinome, type histologique le plus fréquent, en démontrant leur efficacité sur la survie. De nombreuses mutations pourraient constituer des cibles thérapeutiques potentielles. Une refonte de la classification histologique OMS s'imposait devant le manque de reproductibilité des précédentes (imprécises avec multiples sous-types histologiques), les progrès cliniques, de l'imagerie, de la biologie moléculaire, des techniques de prélèvements. Prenant en compte toutes ces avancées, elle a été élaborée grâce à un travail pluridisciplinaire afin de standardiser la terminologie histologique et pour proposer une stratégie de prise en charge des petits prélèvements (biopsie, cytologie) majoritaires. La morphologie reste le critère principal pour la détermination du type histologique et du statut mutationnel associé. L'objectif est d'assurer une prise en charge optimale permettant à un maximum de patients de bénéficier des thérapies innovantes.

Introduction

Le cancer du poumon, principale cause de mortalité par cancer dans le monde (1,2 million/an), constitue un problème de santé publique majeur. En France on compte 28 380 décès/an (18,3 % des décès par cancer). Son caractère péjoratif s'explique par le fait que 70 % des patients sont inopérables car découverts à un stade avancé métastatique (stade III-IV).

L'adénocarcinome (ADK) est le type histologique le plus fréquent (40 %), chez l'homme et la femme. Aux USA, chez la femme, il pourrait dépasser le cancer du sein lié à l'augmentation du tabagisme, et rejoindre celle de l'homme (vers 2015-2017).

Les carcinomes du poumon sont divisés en 2 grandes entités anatomocliniques : le carcinome bronchique à petites cellules (CPC), environ 17 %, en diminution constante (traité par chimiothérapie seule [cis-plat VP16]) et le carcinome bronchique non à petites cellules (NSCLC), 83 %, avec 2 types histologiques principaux : le carcinome épidermoïde (SCC), 30 %, en diminution, et l'adénocarcinome, 50 % des cancers, en augmentation constante.

Le pronostic des CNPC reste redoutable avec une survie

Abstract

Lung cancer is considered one of the cancers worse prognosis. Recently, targeted therapies have revolutionized the patient support, including adenocarcinoma, the most common histological type, demonstrating their effectiveness on survival. Many mutations could be potential therapeutic targets. An overhaul of the WHO histological classification was needed at the lack of reproducibility of the preceding (imprecise with multiple histologic subtypes), clinical progress, imaging, molecular biology techniques samples. Taking into account all these advances, it was developed by a multidisciplinary working to standardize the histological terminology and propose a strategy for management of small samples (biopsy, cytology) majority. Morphology remains the main criterion for determining the histological type and associated mutational status. The aim is to ensure optimal support for a maximum of patients benefit from innovative therapies.

globale, tous stades confondus, n'excédant pas 15 % à 5 ans.

En 2004, la découverte de mutations activatrices des tyrosines kinases (TK) de l'EGFR, puis en 2007 des réarrangements activant les TK du gène ALK, et, les spécifiques associées (TC) dirigées contre ces TK dans certains ADK ont permis de réaliser des progrès pronostiques majeurs pour ces patients. De nombreuses molécules sont en cours de développement.

Concepts de la classification des carcinomes pulmonaires

L'ADK est la T la plus détectée dans les programmes de dépistage par TDM à faible dose.

Il a connu de nombreuses avancées sur les plans cliniques, radiologiques et moléculaires.

Les précédentes classifications OMS (1967, 1981, 1999) ont isolé de multiples sous-types histologiques peu reproductibles et sources de divergences diagnostiques. La dernière classification, 2004, a été la 1^{re} à prendre en compte les données cliniques et génétiques avec la découverte des

Auteurs



Joël CUCHEROUSET

Anatomopathologiste,
chef de service au GHU
le Raincy-Montfermeil.
jcuherouset@
ch-montfermeil.fr

Coécrit avec :



Nahla CUCHEROUSET

Anatomopathologiste,
CHU Paul Brousse
Villejuif.
nahla.cuherouset@bct.
aphp.fr

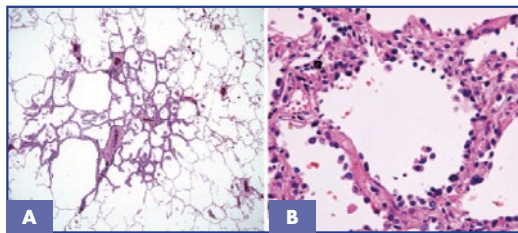


Figure 1 : HAA. **A** Lésion nodulaire de 3 mm. **B** Pneumocytes peu atypiques tapissant la paroi alvéolaire, cubiques espacés. Noyaux hyperchromatiques, peu augmentés de volume, parfois multinucléés.

mutations d'EGFR. Cependant, une harmonisation de la classification des ADK s'avérait indispensable : l'extrême variabilité des présentations cliniques, radiologiques, biologiques, histologiques étant un obstacle pour réaliser des études comparatives.

Les avancées de la BM ont montré qu'un typage histologique précis a des conséquences pronostiques et thérapeutiques : certains types étant plus souvent associés à une anomalie moléculaire prédictive de la réponse aux inhibiteurs des TKI (les ADK sont plus sensibles au pemetrexed, le traitement par bevacizumab du SCC est déconseillé en raison des risques hémorragiques). Les tumeurs présentant une mutation EGFR auraient une évolution plus indolente. La notion de tabagisme est un élément clinique important à évaluer, de même que les signes radiologiques (image en verre dépoli, aspect solide...).

Une stratégie d'optimisation de prise en charge des prélèvements de petite taille a été proposée afin de l'intégrer au maximum à la thérapeutique : ils représentent la majorité du matériel tumoral (TBNA*/EBUS*) et leur taille de plus en plus exiguë constitue un véritable défi pour le pathologiste. La classification OMS 2011, élaborée grâce à un travail consensuel d'un groupe d'experts internationaux

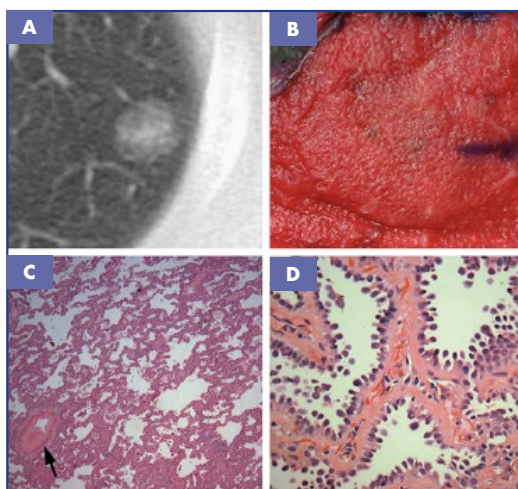


Figure 2 : ADK *in situ*, type non mucineux. **A** Opacité en verre dépoli persistante après exérèse de type wedge. **B** Les alvéoles conservent une architecture et une vascularisation normale. **C** Cellules néoplasiques tapissant la paroi alvéolaire sans épaissement de leur paroi⁽¹⁾.

(IASLC*/ATS*/ERS*) afin d'intégrer les paramètres cliniques, moléculaires, radiologiques et chirurgicaux est principalement basée sur l'histologie qui reste le critère de référence. L'accent est mis sur les intérêts pronostiques et thérapeutiques pour établir une classification précise et reproductible. Elle propose de nouvelles recommandations dans le but de soutenir à la fois la pratique clinique en permettant à un maximum de patients de bénéficier de tests théranostics, et, également favoriser la recherche et les essais cliniques.

Classification histologique

Les nouveautés de la classification OMS 2011

Les principales modifications par rapport à la classification OMS 2004 concernent :

- l'abandon du terme bronchioalvéolaire (BAC) et du terme adénocarcinome mixte ;
- l'introduction du nouveau sous-type micropapillaire de mauvais pronostic ;
- le terme lépidique désigne l'ancien terme de BAC ;
- l'adénocarcinome mucineux invasif remplace l'ancien carcinome BAC mucineux.

Elle s'adresse aux pièces opératoires et aux micro-prélèvements. Les nouveautés concernent surtout l'ADK : création de nouvelles entités et sous-types.

- Création de 2 nouvelles entités : ADK *in situ* (AIS) et ADK minimal invasif (MIA), Elles s'appliquent aux pièces de résection chirurgicales, et, permettent d'isoler un groupe de patient de bon pronostic avec une survie sans récurrence de 100 %, en cas de résection tumorale complète, nécessitant une étude de la totalité de la tumeur, dont l'invasion est souvent centrale, afin de confirmer le diagnostic et de s'assurer du caractère complet de l'exérèse.

Les lésions précessives sont classées en :

- hyperplasie adénomateuse atypique (HAA) $\leq 0,5$ cm (**figure 1**) ;
- ADK *in situ* ≤ 3 cm (**figure 2**) :
 - non mucineux,
 - mucineux (exceptionnel) (**figure 3**),
 - mixte.

Ces entités précédemment classées dans les BAC sont maintenant appelées lépidiques et correspondent à une prolifération de pneumocytes de type II et de cellules de Clara tapissant la paroi alvéolaire sans fibrose, ni invasion de la paroi bronchique, vasculaire ou pleurale. Le terme extension lépidique signifie préservation de l'architecture pulmonaire.

Adénocarcinome avec invasion minimale ≤ 3 cm et invasion ≤ 5 mm :

- non mucineux,
- mucineux,
- mixte.

Les ADK invasifs (infiltration > 5 mm) sont classés par type prédominant en différents sous-types et une évaluation semi-quantitative (%) des différents contingents doit être effectuée. La nouvelle classification définit les sous-types suivants (**figure 4**) :

- 1 : à prédominance lépidique (bon pronostic) ;
- 2 : acineux ;
- 3 : papillaire et modèles solides ;

- 4 : micropapillaire (nouveau sous-type histologique) de mauvais pronostic ;
- 5 : solide +/- avec production de mucus ;
- variants ADK invasifs (**figure 5**) :
 - adénocarcinome mucineux infiltrant (mutation KRAS plus fréquente/autres types),
 - adénocarcinome colloïde,
 - adénocarcinome de type foetal : patients plus jeunes, mutation b caténine,
 - adénocarcinome de type intestinal.

Les ADK invasifs représentent 70 à 90 % des pièces de résections chirurgicales. Pour définir un type prédominant un seuil de 5 % a été retenu afin de permettre une souplesse dans la classification. Cette classification, basée sur des types architecturaux, a permis de définir des groupes pronostics. Les ADK de type solide ou micropapillaire prédominant sont de mauvais pronostic, contrairement aux formes lépidiques (90 % survie à 5 ans, stade 1). Les types acineux et papillaire sont de pronostic intermédiaire.

Les formes prédominantes : définitions

- La terminologie d'ADK lépidique prédominant concerne les ADK à croissance lépidique non mucineux, classés à part.
- L'ADK acinaire prédominant est défini par une architecture glandulaire et focalement cribriforme avec perte de l'architecture alvéolaire et stroma myofibroblastique.
- L'ADK papillaire prédominant est formé d'axes conjonctivo-vasculaires tapissés par des cellules glandulaires.
- Le type micropapillaire comporte par contre des touffes papillaires ou pseudopapilles sans axe vasculaire pouvant se détacher dans la lumière des alvéoles.
- L'ADK solide prédominant est caractérisé par une architecture massive exclusive. Du mucus intra-cellulaire, mis en évidence par les colorations des mucines, doit être observé dans au moins 5 % des cellules, et ce, dans 2 champs au FG (x 400). Cette variante doit être différenciée des carcinomes épidermoïdes et à grandes cellules pouvant contenir de rares cellules mucosécrétantes.
- L'ADK invasif mucineux est défini comme une prolifération de cellules cylindriques ou caliciformes avec abondante mucosécrétion, et, atypies cyto-nucléaires souvent absentes. Il peut présenter tous les types architecturaux (lépidique, acinaire, papillaire, micropapillaire et solide) des tumeurs non mucineuses. Ils présentent une mutation KRAS plus fréquente/autres types (chapitre corrélation architecture/mutations).

Les variantes : définition

- Les ADK colloïdes sont caractérisés par une sécrétion extracellulaire de mucus. Les cystadénocarcinomes mucineux y sont intégrés, représentant probablement un spectre évolutif des ADK colloïdes.
- La présence d'une composante à cellules en bague à chaton ne doit pas être considérée comme un sous-type à part, mais doit être signalée. Il a en effet été démontré que lorsqu'elles représentent au moins 10 % du sous-type solide on observe 56 % de mutations de ALK-EML4.
- L'ADK de type foetal a une architecture glandulaire ou tubulaire avec cellules non ciliées, riches en glycogène ressemblant aux cellules de type foetal. Il présente une mutation du gène de la β caténine.

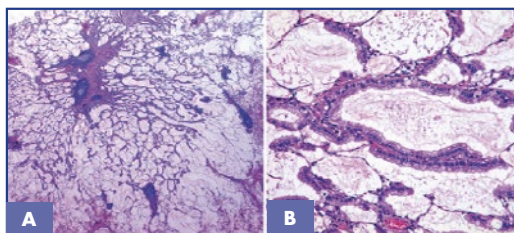


Figure 3 : ADK *in situ*, type mucineux.

- A** Prolifération nodulaire de type purement lépidique, petite cicatrice centrale, pas de stroma ou invasion vasculaire.
- B** Les cellules tumorales cylindriques avec mucine apicale abondante et petit noyau au pôle basal.

- Type intestinal : aspect entérique observé dans plus de 50 % de cette entité avec expression de CK20, MUC-2 en IHC. CK7+ et TTF1+ (50 %) permettant de les différencier des ADK colorectaux. Autres recommandations de bonne pratique de la classification OMS 2011.
- Le terme CBNPC-NOS (NSCLC-NOS) doit être restreint au maximum et constituer un diagnostic d'élimination, ainsi : lorsqu'un NSCLC présente une morphologie neuro-endocrine, un marquage (CD56, chromogranine, et synaptophysine) doit être réalisé pour porter le diagnostic.
- Le terme CBNPC-NOS (NSCLC-NOS) doit être restreint au maximum et constituer un diagnostic d'élimination, ainsi : lorsqu'un NSCLC présente une morphologie neuro-endocrine, un marquage (CD56, chromogranine, et synaptophysine) doit être réalisé pour porter le diagnostic.

Stratégie de prise en charge des micro-prélèvements dans le CBNPC

La détermination initiale du type histologique de cancer bronchique, et surtout d'ADK, est réalisée essentiellement sur des micro-prélèvements (biopsies, micro-biopsies avec cytologie) : en raison du diagnostic tardif (70 %), et, des progrès effectués par les techniques de prélèvement [aspiration transbronchique, biopsie transbronchique et biopsie endobronchique écho-guidée et ponction cytologique transcarénaire (ganglions) pour les tumeurs périphériques (EBUS, TNA)].

L'objectif du pathologiste :

- assurer un diagnostic histologique précis avec peu de coupes ;
- préserver le matériel pour les techniques de BM (en augmentation constante).

Pour économiser au maximum le matériel tumoral, plusieurs stratégies peuvent être adoptées :

- faire des lames blanches réalisées dans le même temps que les coupes colorées et pour l'IHC : cela évite de reprendre le bloc de paraffine (source de perte de matériel), la notion de suspicion de tumeur maligne est importante à connaître (demander d'augmenter le nombre de biopsies) ;
- répartir le matériel dans 2 blocs, un pour examen ACP et l'autre pour la BM ;
- limiter le nombre d'AC : 2 suffisent dans les tumeurs à grandes cellules.

Les prélèvements cytologiques, l'inclusion du culot en paraffine doivent être parfaits. Cependant, la quantité de matériel peut constituer un facteur limitant pour réali-

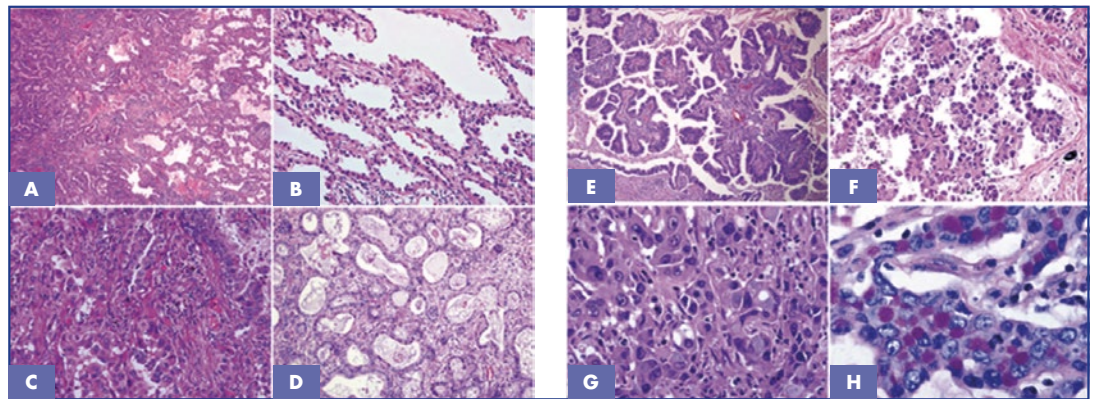


Figure 4 : Principaux sous-types ADK invasifs. **A** À prédominant lépidique (droite) et zone acinaire (gauche). **B** Forme lépidique. **C**, **D** Acineux, glandes malignes ovales, rondes et invasion du stroma. **E** Papillaire cellules tumorales avec axe fibrovasculaire. **F** Micropapillaire : micro-papilles sans axe vasculaire. **G** Solide : grandes cellules tumorales à cytoplasme abondant, noyaux vésiculeux avec nucléoles, sans composante acineuse, papillaire, ou lépidique. **H** Solide avec vacuole de mucine.

ser les techniques, parfois les cellules tumorales ne sont présentes que sur une biopsie (ex : lymphangite, stroma-réaction floride...).

- ➔ Trois éléments essentiels guident le pathologiste :
 - l'étude morphologique sur lames colorées par l'HES est la 1^{re} approche permettant d'orienter le diagnostic :
 - ADK : présence de vacuoles, noyaux nucléolés, polarité,
 - CEE : ponts d'unions, cellules dyskératosiques, enroulements cellulaires ;
 - les colorations spéciales des mucines orientent vers un ADK ;
 - l'IHC avec un panel minimal d'anticorps.
- ➔ Deux situations peuvent se présenter :
 - soit la morphologie est évidente, permettant de distinguer l'ADK/SCC ;
 - soit la morphologie est insuffisante, une étude LHC doit être effectuée avec un panel restreint d'anticorps :
 - marqueurs de l'ADK : TTF-1+ (80 %), CK7+,
 - marqueurs du SCC : P63, P40, CK5/6.

TTF1 est positif dans 75 à 85 % des ADK primitifs. Il est utile pour faire le diagnostic différentiel de métastase (colon, sein). P63 est le meilleur marqueur pour le SCC. Si TTF1 exprimé ainsi que quelques marqueurs malpighiens, le diagnostic d'ADK devrait être retenu. Si les marqueurs malpighiens et glandulaires sont exprimés dans des territoires différents au sein d'une tumeur, le diagnostic de carcinome adénoquameux doit être évoqué tout en précisant qu'il ne pourra être retenu que sur la pièce opératoire, à condition que chaque contingent représente au moins 10 % de la prolifération tumorale.

Les marqueurs neuro-endocrines (chromogranine, synaptophysine et CD56) ne doivent être utilisés qu'en cas de suspicion de carcinome neuro-endocrine à grandes cellules. Une expression faible et focale ne doit pas être retenue.

Dans les cas où des aspects sarcomatoïdes sont observés, il est recommandé de garder le diagnostic d'ADK ou de SCC clairement établi tout en précisant dans la conclusion que des cellules fusiformes ou géantes ont été observées. Il est en effet quasi impossible de retenir les diagnostics de carcinome pléomorphe, de carcinosarcome ou de blastome sur des prélèvements biopsiques souvent exigus.

Des cocktails d'AC pourront encore diminuer le nombre de coupes : ex. TTF1-CK5/7.

Les thérapies ciblées dans le CNPC

Les inhibiteurs des TKIs de l'EGFR

La 1^{re} mutation à rechercher systématiquement dans les ADK pulmonaires est celle du domaine TKI de l'EGFR, marqueur prédictif validé de la réponse aux inhibiteurs réversibles spécifiques de l'activité TK de l'EGFR dans les cancers avancés :

- l'erlotinib (Tarceva®) a reçu l'AMM en 2005 (2^{de} ligne et plus, patients avec T localement avancée ou métastatique, sans restriction du statut de l'EGFR) ;
- le géfitinib (Iressa®), le 2^e en 2009 (K avancé ou métastatique si mutation activatrice de l'EGFR en 1^{re} ligne).

En population non sélectionnée, ces molécules ont montré une amélioration significative de la survie sans progression (SSP) chez 10 % des patients d'origine caucasienne et 30 % d'origine asiatique (2, 6) en particulier :

- la femme (14/6 %) ;
- les ADK/SCC (14 /6 %) ;
- les non-fumeurs (25/4 %) ;
- les patients d'origine asiatique/caucasienne (30%/10 %).

Un taux de réponse a été observé dans 77 % des cas de mutation du domaine TK de l'EGFR.

L'essai IPASS a été l'étude princeps démontrant l'efficacité de l'anti-EGFR. C'est la plus grande étude de phase III ayant comparé en 1^{re} ligne de traitement un ITK de l'EGFR, le géfitinib (n = 609), à une chimiothérapie par paclitaxel-carboplatine (n = 608) [2,6]. Plusieurs méta-analyses et études prospectives de cohorte ont confirmé que les patients qui présentaient une mutation activatrice de l'EGFR avaient un meilleur taux de réponse objective, de SSP et de SG que ceux dont l'EGFR n'était pas muté.

L'EGFR

L'EGFR est une glycoprotéine transmembranaire monomérique de 170 KD de la famille HER (erbB) constituée de 4 membres HER1 à HER4. L'EGFR ou l'HER1 est codé par

le bras court du chr 7 (7p12), à partir du proto-oncogène *cerb B1* ou *HER 1*. L'EGFR joue un rôle prépondérant dans 2 voies majeures de la signalisation cellulaire participant à la carcinogenèse :

- la voie Ras/Raf/MEK/ERK impliquée dans la prolifération cellulaire ;
- la voie PI3K/AKT impliquée dans la survie, l'inhibition de l'apoptose et l'angiogenèse.

Le séquençage du gène EGFR a montré que la majorité des T répondant aux ITK de l'EGFR portaient des mutations dans le domaine TK de l'EGFR, au sein des 4 premiers exons 18 à 21.

Les mutations activatrices les plus fréquentes (85 %) concernent les exons 19 et 21, impliquant des éléments clés du site de fixation de l'ATP, de l'erlotinib et du gefitinib

- 45 % : mutations de l'exon 19 (délétions de quelques triplets de nucléotide (3 à 8 AA, 745 et 760).
- 45 % de cas mutations faux sens de l'exon 21 (en particulier L858R : substitutions AA en position 858 : pL858R (leucine donne arginine).
- 5 % : mutations faux sens exon 18 (surtout codon 719 : substitutions de NT (G719C G719S).

Mutation de résistances aux anti-EGFR

- 5 % de cas des altérations exon 20, le plus souvent à type de mutations faux sens (T790M) ou de petites insertions de l'exon 20, souvent concomitantes aux mutations activatrices décrites pour être des mutations de résistances aux TKI (présentes d'emblée ou acquises).

Ces mutations sont plus fréquentes chez les patients non fumeurs, de sexe féminin, asiatiques, et dans les ADK. Chez les caucasiens, seuls 10 % des patients sont concernés par ces mutations.

La recherche de ces mutations se fait par BM, après extraction d'ADN tumoral, par différentes techniques selon les PF (HRM, Séquençage Sanger, pyroséquençage, Taq Man).

Réarrangement de ALK*

En 2007, une anomalie du gène codant pour la kinase ALK (superfamille des récepteurs à l'insuline, le ligand est inconnu) a été décrite par Soda *et al.* dans les CBNPC. Il s'agit d'une translocation entre 2 gènes situés sur le chr 2 : le gène ALK (*Anaplastic Lymphoma Kinase*) en 2p23 et le gène EML4 (*Echinoderm Microtubule associated protein Like 4*) aboutissant à une inversion et une fusion de la région codant pour le TK d'ALK (codon 20) avec différentes portions N-terminales plus ou moins tronquées du gène EML4. Ceci entraîne une activité permanente du domaine TK dimérisé, indépendante du ligand, responsable de la prolifération cellulaire, du changement du cytosquelette, migration et survie. Quinze variants ont été décrits (2 observés dans 30 % des cas). Il existe d'autres partenaires qu'EML4 : TFG, KIF5B, KLC1...

Depuis 2011, la recherche de réarrangement d'ALK est réalisée systématiquement pour tous les ADK pulmonaires de phénotype EGFR et KRAS sauvages, et, détectés dans 3-5 % (séries patients non sélectionnés, en particulier) : patients jeunes, petits fumeurs (< 10 paquets/année) ou non fumeurs, dans les ADK (solides, acineux, cellules en bagues à chaton, TTF-1 +).

Le crizotinib® est un ITKI qui agit sur les protéines ALK,

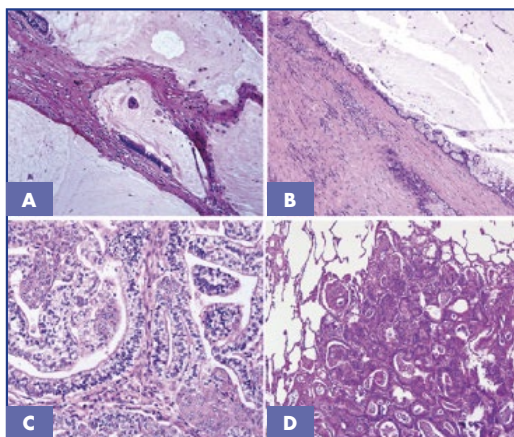


Figure 5 : Variants d'ADK. **A** ADK colloïde : flaques de mucine avec distension des espaces aériens. **B** Mucineux focalement bien différencié avec cellules glandulaires proliférant le long des parois fibreuses et flaques de mucus formant des kystes : auparavant appelé cystadénocarcinome mucineux. Épithélium mucineux. **C** ADK foetal : cellules glandulaires malignes formant des tubules et des papilles, cytoplasme clair au premier plan, et morules squameuses. **D** ADK entérique : ressemble à un ADK colique, tubes adossés, cellules cylindriques avec pseudostratification nucléaire.

ROS et MET. Un essai clinique de phase I a démontré son efficacité pour le traitement en 2^{de} ligne ou plus des patients ayant une translocation d'ALK. Après une durée moyenne de traitement de 6,4 mois, une réponse globale a été observée chez 57 % des patients et une stabilisation de la T ou une réponse partielle chez 33 %. Dans la population de patients ALK+, la survie à 1 an est de 70 % pour les patients sous crizotinib® versus 44 % pour le groupe contrôle. Après 2 ans, 55 % des patients sous crizotinib étaient en vie versus 12 % du groupe contrôle. L'implication des protéines de fusion de ALK était déjà connue dans les lymphomes anaplasiques (la translocation NPM-ALK, 70 à 80 % des cas), leur fréquence est plus faible – mais non négligeable – dans les cancers solides.

Trois techniques peuvent être utilisées : FISH, IHC et RT-PCR

- L'hybridation *in situ* (HIS) par FISH est la technique de référence car c'est la plus sensible : elle permet de détecter tous les réarrangements quel que soit le partenaire/variant. Elle est effectuée par les pathologistes. Les sondes de type Break appart sont les plus utilisées. L'interprétation est parfois difficile, il est recommandé 2 lecteurs au minimum. Le comptage se fait sur 100 cellules, (ou 60 au moins) à partir de coupe fine 2-5 µm. Il existe un réarrangement lorsque l'on observe un *split* : > 2 x diamètre d'un spot entre les 2 spots.
 - Positivité de la tumeur : ≥ 15 %
 - 3 lecteurs si entre 10 et 20 % de cellules réarrangées.
 - Nombre de cellules : signaux fusionnés (cellules normales), signaux séparés (cellules réarrangées), signaux rouges isolés (cellules réarrangées), polysomie (considérés non réarrangées).

Il existe 12-15 variants EML4-ALK.

- L'IHC est la technique la plus rapide et la moins coûteuse. Elle est moins sensible que la FISH car elle ne détecte

pas tous les variants de EML4 (25 % des IHC+ sont FISH+). Plusieurs clones : 5A4 (Abcam, clinisciens : 1/25) et D5F3 (Ventana) sont utilisés. Le marquage est cytoplasmique : on apprécie son intensité, le % de cellules marquées. Il est nécessaire d'utiliser un témoin positif externe.

- La RTPCR est la moins sensible et spécifique. Elle ne détecte pas tous les variants de EML4 (2 RT-/ FISH+). Identification du variant et du partenaire. Problème technique : quantité de matériel, qualité des tissus (paraffine). Quantité de matériel +++ (5 lames à 10 µm). Elle s'effectue sur tissus fixés au formol et inclus en paraffine (5 lames 10 µm), par technique multiplex avec des sondes spécifiques des variants EML4 (sondes *taqman applied biosystems*). Nécessite une extraction de l'ARN (paraffine) puis une reverse transcription : ADNc.

Corrélation type histologique, pronostic et thérapies ciblées

La nouvelle classification basée sur des types architecturaux a permis de définir de nouveaux groupes pronostics et des corrélations avec les types de mutations. Voici une synthèse des principales relations entre type histologique, profils cliniques et anomalies moléculaires :

- ADC *in situ* non mucineux, ADK à prédominance lépidique :
 - non fumeur, femme, (asiatique) – verre dépoli,
 - TTF-1 +, mutation EGFR (10-30 %) ;
- ADC papillaire :
 - nodule,
 - TTF-1 +, mutations EGFR (10-30%), KRAS (3 %) ;
- ADC acineux :
 - nodule,
 - TTF-1 +/-,
 - mutations EGFR (< 10 %) non fumeurs, KRAS (20 %) fumeurs ;
- ADC avec production de mucus :
 - TTF-1 + (70 %),
 - mutations KRAS (10-30 %) fumeurs, EGFR (10-30 %) non fumeurs,
 - réarrangement de ALK >5 % ;
- ADC mucineux :
 - mutation KRAS (> 80 %) ;
- ADC avec cellules en bague à chaton tabagisme léger ou 0, homme, plus jeune :
 - réarrangement de ALK.

Biologie moléculaire et autres Tc

D'autres TC ciblées en rapport avec des mutations spécifiques ont déjà démontré leur efficacité et sont en cours de validation. On sait que certaines mutations sont parfois mutuellement exclusives ou responsables de résistance primaire ou secondaire. La mutation de RAS (22 à 25 %

des ADK) est mutuellement exclusive des mutations de l'EGFR et associée à l'absence de réponse aux inhibiteurs d'EGFR. Elle est plus fréquente chez le fumeur ou ancien fumeur. En cas de mutation du gène RAS, l'association d'inhibiteur de MEK +/-PI3K peut être un espoir thérapeutique. Deux pour cent des ADK bronchiques présentent une mutation de HER2 (insertion au niveau de l'exon 20), mutuellement exclusive d'EGFR, plus fréquente chez la femme asiatique et chez les non-fumeurs. Le trastuzumab se révèle être une molécule efficace. Une mutation de BRAF est plus fréquente dans les ADK/SCC, exclusive d'EGFR, V600E (50 %) plutôt chez le non-fumeur (vemurranib, et, récemment le dabrafenib anti-TKI réversible). La translocation de ROS1, connue depuis 2007 avec différents gènes (CD74, SLC342) concerne 1 % des ADK (détecté en HIS), c'est un RTK structurellement proche de ALK : efficacité du crizotinib ?

L'INCa a lancé un programme d'étude pour la détection prospective des biomarqueurs émergents dans le cancer du poumon (colon...), mutations dans l'exon 20 de HER2 – KRAS – BRAF (V600E) - PIK3CA, et, le programme AcSé (Accès Sécurisé à des thérapies innovantes).

Conclusion

Cette nouvelle classification OMS 2011 est une avancée majeure pour la prise en charge des cancers du poumon, et, notamment, de l'adénocarcinome. En s'appuyant sur un travail multidisciplinaire prenant en compte les avancées cliniques, moléculaires, radiologiques et chirurgicales elle permet d'harmoniser la terminologie histologique et d'optimiser notamment le management des micro-prélèvements (largement majoritaires) afin d'optimiser au maximum la prise en charge des patients pour les thérapies innovantes. Ce travail de standardisation constituera sans doute un vecteur majeur pour la mise au point de nouvelles thérapies.

NB : Ce thème faisait partie du programme de la 3^e JPHG (Journée des Pathologistes des Hôpitaux Généraux), du 22 mars 2013 à Paris, CHU Hôtel Dieu. Nous remercions chaleureusement le Pr M.-C. Copin du CHU de Lille qui a abordé ce sujet.

ABRÉVIATIONS

- IASLC: *International Association for the Study of Lung Cancer*
- ATS : *American Thoracic Society*
- ERS : *European Respiratory Society*
- AA : acides aminés
- EMA : Agence Européenne des Médicaments
- EBUS-TBNA : *Endoscopic ultrasound guided fine-needle aspiration*

1. Borczuk AC. *Modern Pathology* [2012] 25, S1–S10.
 2. Gazdar 2009.
 3. Nonaka D. *Am J Surg Pathol*. 2012 Jun; 36:895-9.
 4. Rekhman N et al. *Mod Pathol*. 2012 Nov 30.
 5. Travis WD. *Arch Pathol Lab Med*. 2012 Sep 12.
 6. Thatcher. 2005, *Shepherd* 2005.