



HISTOSEMINAIRE CARREFOUR PATHOLOGIE 2017

« CARCINOMES DE SITE PRIMITIF INCONNU. LE ROLE DU PATHOLOGISTE EN 2017 »

22 NOVEMBRE 2017

Coordination : Marius ILIE

Avec la participation de :

Elodie LONG-MIRA, Marie-Christine MATHIEU, Philippe ROCHAIX, Janick SELVES

Sommaire

Introduction	3
Cas N°01 : Synovialosarcome biphasique de grade 3 de la FNCLCC Philippe Rochaix	6
Cas N°02 : Localisation péritonéale d'un adénocarcinome trabéculaire ou à cellules isolées dont le profil est CK7+, CK20-, GATA3+, GCDFP15-, RE+ faible, E-Cadhérine-, oriente en premier lieu vers la métastase péritonéale d'un carcinome mammaire de type lobulaire Philippe Rochaix	13
Cas N°03 : Métastase sous-cutanée d'un adénocarcinome peu différencié du côlon droit, de phénotype dMMR (perte d'expression MLH1 et PMS2) Janick Selves	22
Cas N°04 : Tumeur stromale gastrique (GIST) mutée PDGFRA, exon 18 (c.2528_2539 del12; pI843_S847delins), avec métastases hépatiques et péritonéale Janick Selves	28
Cas N°05 : Métastase pulmonaire d'un adénocarcinome de pancréas Elodie Long-Mira	33
Cas N°06 : Métastase pulmonaire d'un adénocarcinome de prostate Elodie Long-Mira	38
Cas N°07 : Métastase pulmonaire d'un adénocarcinome de l'ouraque Marius Ilié	42
Cas N°08 : Métastase hépatique d'un adénocarcinome moyennement différencié évocateur d'une origine excréto-pancréato-biliaire ou digestif haut Marie-Christine Mathieu	47

Déclaration d'intérêts : Les auteurs déclarent de pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec ces articles.

Introduction

Le carcinome de site primitif inconnu (CAPI) est la métastase d'une tumeur maligne épithéliale sans site primitif identifié en dépit de la pratique d'une liste d'examen complémentaires lors du bilan pré-thérapeutique [1]. La diversité des sous-types histopathologiques et de leur localisation en fait une entité hétérogène. La démarche diagnostique a pour but essentiel d'identifier les entités anatomocliniques de CAPI sensibles à un traitement connu. En dehors de ces entités anatomocliniques, la recherche de la tumeur primitive n'a pas de conséquence pronostique ou thérapeutique et un bilan exhaustif systématique est inutile et onéreux [2]. Cependant, le choix thérapeutique et les quelques cas de meilleur pronostic justifient une précision histopathologique qu'apporte souvent l'étude immunohistochimique, et plus récemment, l'analyse moléculaire [3, 4]. En pratique, quatre sites primitifs (sein, ovaire, prostate et thyroïde) impliquant un traitement spécifique et un meilleur pronostic doivent être recherchés en priorité [5]. De plus, le développement des thérapies ciblées doit faire éliminer une origine primitive pulmonaire ou colique.

L'immunohistochimie apporte une orientation diagnostique dans environ 90% des tumeurs malignes indifférenciées, mais le plus souvent au terme d'un algorithme décisionnel morpho-immunohistochimique fastidieux et onéreux. Les CAPI posent au pathologiste une problématique difficile car il doit porter le diagnostic le plus précis possible sur un matériel généralement exigü. En outre, la multiplication des anticorps et des technologies de biologie moléculaire complexifie la démarche diagnostique.

Ainsi, l'objectif principal de l'histoséminaire est de faire le point sur les données récentes en immunohistochimie et en biologie moléculaire dans les CAPI, de proposer un algorithme diagnostique basé sur la clinique, la morphologie et l'immunohistochimie, et de rappeler quelques images trompeuses et pièges diagnostiques.

Si la morphologie n'est pas suffisante, la première étape de l'algorithme diagnostique est basée sur un panel restreint d'anticorps dirigés respectivement contre des antigènes épithéliaux (cytokératine à large spectre), lymphoïdes (CD45, ou CD20 et CD3), et mélanique (protéine S100) [6]. La Vimentine n'est pas discriminante, car peu spécifique.

Parmi les métastases d'une tumeur d'origine épithéliale, l'étude immunohistochimique permettra de distinguer trois sous-types histopathologiques : i) un adénocarcinome (50% des cas), ii) un carcinome peu différencié (30% des cas), et iii) un carcinome épidermoïde (15%

des cas). Le profil observé avec les cytokératines CK7 et CK20 permet, dans un second temps, une orientation grossière vers une origine primitive.

Les cas N°01 et N°02 permettront d'illustrer le profil CK7+/CK20-, les cas N°03 et N°04 le profil CK7-/CK20+, le cas N°05 le profil CK7+/CK20+, et les cas N°06 et N°07 le profil CK7-/CK20-. Il ne faut pas méconnaître les réactivités croisées de certains anticorps liées à des épitopes communs à des sites antigéniques de cellules différentes ; par exemple, des antigènes épithéliaux (CK, EMA) peuvent être exprimés par des sarcomes, des mélanomes ou même des lymphomes. D'autre part, certains anticorps caractéristiques d'une tumeur primitive peuvent s'épuiser dans les métastases. Ces différents pièges diagnostiques seront discutés dans les cas N°01, N°04 et N°06.

Le phénotype de tumeur maligne peu différenciée peut varier, mais les positivités inhabituelles sont en général faibles et focales. De plus, l'hétérogénéité intratumorale peut rendre plus difficile l'interprétation. C'est pourquoi une étude immunohistochimique extensive complétée par des anticorps plus ou moins spécifiques de certains types tumoraux est souvent nécessaire pour en préciser l'origine. Additionnés aux cytokératines CK7 et CK20, certains marqueurs utilisés couramment en routine sont plus spécifiques d'une origine primitive. Ces dernières années, de nouveaux anticorps ont été développés, essentiellement dirigés contre des facteurs de transcription, et qui ont apporté pour certains, en combinaison avec les anticorps plus « classiques », une amélioration de la spécificité [7, 8]. Ainsi, l'intérêt diagnostique de certains anticorps sera discuté.

Cependant, dans environ 5% des cas, l'immunohistochimie est peu informative et le diagnostic restera celui de tumeur maligne indifférenciée sans aucune référence à une origine tumorale malgré toutes les investigations. Certaines de ces limites seront illustrées dans les cas N°07 et N°08.

Les informations nécessaires au clinicien pour proposer une prise en charge thérapeutique optimale et personnalisée sont de plus en plus nombreuses et dépassent la question de l'origine de la tumeur primitive [1]. La chimiothérapie à base de platine reste le standard de la prise en charge des CAPI. Plus récemment, une stratégie alternative est de proposer un traitement ciblant le primitif supposé selon la signature moléculaire [9]. Dans cette optique, l'essai randomisé de phase III GEFCAPI04 comparant une chimiothérapie standard à une chimiothérapie adaptée au siège primitif défini par le profil d'expression des gènes est en

phase de recrutement en France (clinicalTrials.gov NCT01540058) [1]. Certains résultats du test moléculaire utilisé dans cet essai seront illustrés dans le cas N°08.

De façon générale, le diagnostic de CAPI est porté sur des prélèvements de petite taille pour lesquels il est indispensable de s'assurer de la disponibilité suffisante de matériel pour l'ensemble des examens IHC complémentaires et de pouvoir correctement réaliser une analyse moléculaire. De plus, la multitude de marqueurs IHC nécessaires pour orienter le diagnostic oblige à s'interroger sur leur disponibilité et l'impact budgétaire dans chaque laboratoire ACP et potentiellement sur la mise en place au niveau national de « centres experts » de second avis en IHC pour pouvoir réaliser ces examens.

REFERNENCES

- [1] Benderra MA, Ilie M, Hofman P, Massard C. [Standard of care of carcinomas on cancer of unknown primary site in 2016]. *Bull Cancer* 2016;103:697-705.
- [2] Ross JS, Wang K, Gay L, Otto GA, White E, Iwanik K, et al. Comprehensive Genomic Profiling of Carcinoma of Unknown Primary Site: New Routes to Targeted Therapies. *JAMA Oncol* 2015;1:40-9.
- [3] Pavlidis N, Pentheroudakis G. Cancer of unknown primary site. *Lancet* 2012;379:1428-35.
- [4] Bahrami A, Truong LD, Ro JY. Undifferentiated tumor: true identity by immunohistochemistry. *Arch Pathol Lab Med* 2008;132:326-48.
- [5] Voigt JJ. Immunohistochimie: un progrès majeur pour la classification des CAPI. *Oncologie* 2008;10:693-7.
- [6] Lesimple T, Voigt JJ, Bataillard A, Coindre JM, Culine S, Lortholary A, et al. [Clinical practice guidelines: Standards, Options and Recommendations for the diagnosis of carcinomas of unknown primary site]. *Bull Cancer* 2003;90:1071-96.
- [7] Lin F, Liu H. Immunohistochemistry in undifferentiated neoplasm/tumor of uncertain origin. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138:1583-610.
- [8] Conner JR, Hornick JL. Metastatic carcinoma of unknown primary: diagnostic approach using immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol* 2015;22:149-67.
- [9] Hainsworth JD, Rubin MS, Spigel DR, Boccia RV, Raby S, Quinn R, et al. Molecular gene expression profiling to predict the tissue of origin and direct site-specific therapy in patients with carcinoma of unknown primary site: a prospective trial of the Sarah Cannon research institute. *J Clin Oncol* 2013;31:217-23.

Cas N°01 Philippe Rochaix

Institut Universitaire du Cancer - Oncopole, Toulouse

Renseignements cliniques

Femme de 35 ans. Biopsie d'une tumeur de la cuisse de 83mm sans autre localisation connue. AE1/AE3+, CK7+, CK20-.

Diagnostic

Synovialosarcome biphasique de grade 3 de la FNCLCC

Description macroscopique

Carotte biopsique adressée avec pour renseignement clinique : « biopsie d'une lésion de la cuisse gauche, métastase ? ». Le bilan d'extension ne met en évidence aucune autre localisation tumorale

Description histologique

Les carottes biopsiques montrent une prolifération tumorale essentiellement constituée de cellules d'aspect épithélial glandulaire disposées en nids, en travées et formant des glandes. Par place ces cellules deviennent plus fusiformes. L'examen immunohistochimique de première ligne montre une expression forte et diffuse de l'EMA, une expression forte mais plus hétérogène des cytokératines (AE1/AE3) et plus particulièrement de la CK7 sans expression de la CK20. Les autres marqueurs réalisés sont négatifs : PS100, CD34, ERG, desmine, caldesmone, MDM2, HMGA2. Guidé par ce phénotype d'adénocarcinome CK7+ CK20- un second panel de marquage est réalisé mais reste non informatif : TTF1-, GATA3-, GCDP15-, RE-, RP-, PAX8-, Chromogranine-, Synaptophysine-, Calrétinine-, CK5/6-, BerEp4-, OCT4-, SALL4-. Devant la négativité de l'ensemble de ces marqueurs le diagnostic de « CAPI CK7+ CK20- » est proposé.

Commentaires

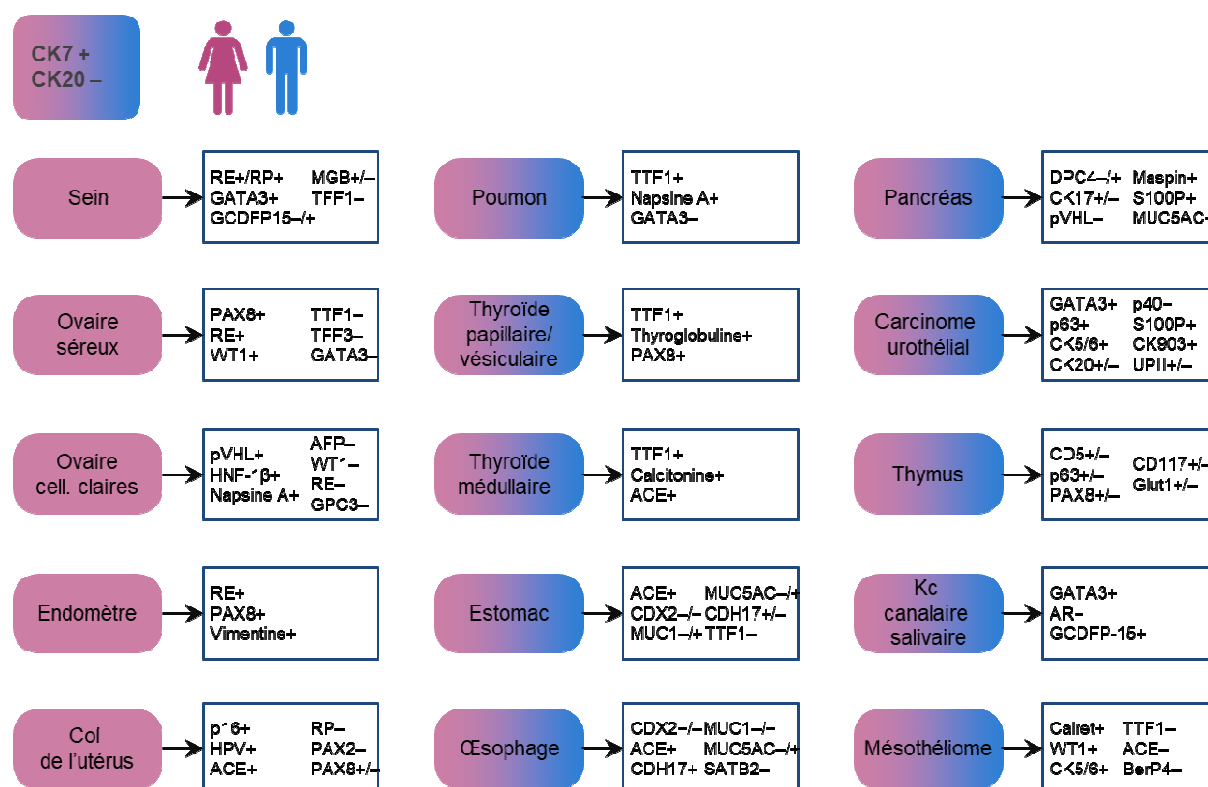
Dans un premier temps, en l'absence de tout renseignement clinique, la lésion a été considérée comme la métastase d'un adénocarcinome de primitif inconnu CK7+ CK20-.

Les principales origines rapportées des CAPI CK7+/CK20- sont les adénocarcinomes pulmonaires, mammaires, ovariens, thyroïdiens, endométriaux, salivaires, pancréatiques, excréto-biliaires, cervicaux utérins, endocrines et les mésothéliomes. Dans le cas présenté ici, la négativité de TTF1 n'oriente pas vers une origine pulmonaire ou thyroïdienne, la négativité de GATA3, GCDP15, RE et RP n'oriente pas vers une origine mammaire, la négativité de PAX8 n'oriente pas vers une origine urogénitale, la négativité de la Chromogranine et de la

synaptophysine élimine un carcinome endocrine, la négativité des CK5/6, Calrétinine et BerEP4 n'oriente pas vers une origine mésothéliale. Enfin, la négativité de SALL4 et OCT4 n'oriente pas vers une tumeur germinale. Bien entendu, la négativité de ces marqueurs n'élimine pas complètement les diagnostics évoqués. En effet, seule la positivité de certains d'entre eux permet d'orienter vers un diagnostic précis.

En 2015, lors du symposium de la Société Française de Pathologie sur les « carcinomes de primitif inconnu », les principaux diagnostics des CAPI CK7+ CK20- et leurs phénotypes ont été résumés (Figure 1).

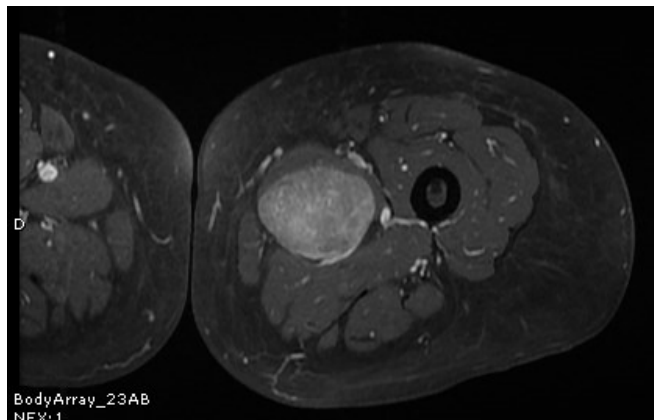
Figure 1. Principaux phénotypes des métastases révélatrices d'un carcinome CK7+/CK20-.



Compte tenu de la présentation clinique étonnante, la RCP a demandé une relecture accompagnée de bons renseignements cliniques et l'imagerie IRM.

En réalité, Mme M présentait une tumeur isolée, profonde, de 8,3 x 6 cm, de la face antéro-médiale de la cuisse gauche, bien visible sur la coupe IRM (Figure 2).

Figure 2. Coupe IRM en "gadolinium FatSat" de la tumeur de la cuisse.



En seconde lecture, nous avons évoqué le diagnostic de synovialosarcome de grade 3 de la FNCLCC qui a été confirmé par étude en FISH en montrant un réarrangement du gène SS18. Cette femme jeune a bénéficié d'une chirurgie d'exérèse R0 puis radiothérapie adjuvante. Elle est aujourd'hui vivante, sans récurrence 2 ans après la fin du traitement.

Commentaire de ce second temps diagnostique

Les tumeurs non épithéliales avec composante épithéliale glandulaire sont des tumeurs très rares, presque toujours biphasiques ce qui permet de les différencier des carcinomes. Cependant, le caractère partiel et exigu des carottes biopsiques peut parfois ne porter que sur la composante épithéliale et nous induire en erreur comme dans le cas rapporté ici.

On peut classer ces tumeurs biphasiques en « conjonctives » et « non conjonctives » :

- Les tumeurs conjonctives d'aspect biphasique : Les plus classiques sont les synovialosarcomes, les liposarcomes dédifférenciés, les tumeurs mixtes/myoépithéliomes des tissus mous, les tumeurs malignes des gaines des nerfs périphériques (ou MPNST avec différenciation hétérologue de type glandulaire), et le thymome ectopique hamartomateux.
- Les tumeurs non-conjonctives avec un pattern biphasique et/ou mixte : sont principalement les mésothéliomes biphasiques, les tumeurs germinales et les tumeurs malignes mixtes müllériennes (carcinosarcome et adénosarcome avec « stroma overgrowth »).

Les tumeurs conjonctives d'aspect biphasique

1) Le synovialosarcome représente 5 à 10 % des sarcomes des tissus mous. Sa définition est « une tumeur conjonctive, présentant un degré variable de différenciation épithéliale » incluant

la formation de glandes. Elle est caractérisée par une translocation spécifique t(X;18)(p11;q11) (1). La forme biphasique est assez fréquente (30% à 50% des cas).

Cette tumeur se manifeste surtout entre 15 et 40 ans, sans prédominance de sexe, par une masse profonde, surtout au niveau des membres (85 à 95 % des cas) inférieurs (65 à 75 %) ou supérieurs (20 à 30 %), mais peut se rencontrer dans des sites anatomiques variés [1].

Le synovialosarcome biphasique est habituellement facile à reconnaître par la coexistence d'une composante à cellules fusiformes et d'une composante d'aspect épithélial pseudo-glandulaire. La vascularisation est de type hémangiopéricytaire ce qui doit orienter vers l'hypothèse d'un synovialosarcome.

Les cellules d'aspect épithélial sont diffusément positives avec la pan-kératine de type AE1/AE3 et l'EMA. A l'inverse, les cellules fusiformes présentent un marquage presque constamment positif avec l'EMA bien que focal, alors qu'un marquage de quelques cellules dispersées n'est retrouvé que dans 70 à 80% des cas avec l'AE1/AE3. Une positivité focale des cellules fusiformes avec la PS100 est rencontrée dans 40% des cas. A l'inverse, le CD34 est presque toujours négatif au niveau des deux composantes et une positivité du CD34 va à l'encontre du diagnostic de synovialosarcome.

Plus de 95% des synovialosarcomes sont caractérisés par une translocation spécifique : t(X;18)(p11;q11). Cette translocation peut être détectée par FISH en mettant en évidence un réarrangement du gène *SS18*.

2) Le liposarcome dédifférencié : défini comme une tumeur comportant un liposarcome bien différenciée associé à un sarcome non lipogène et comportant d'un point de vue génomique une amplification de la région 12q13-15 comportant les gènes *MDM2*, *CDK4* et *HMGA2*.

L'étude immunohistochimique montre une positivité avec *MDM2*, *CDK4* et de *HMGA2*. Le diagnostic est confirmé par la mise en évidence d'une amplification des gènes *MDM2* et *CDK4*.

Il survient préférentiellement après 40 ans en situation rétro-péritonéale ou au niveau des membres. La composante dédifférenciée peut arborer des trans-différenciations très variables et peut parfois comporter une composante épithéliale glandulaire. Il s'agit de cas tout à fait exceptionnels.

3) Tumeur mixte/myoépithéliome des tissus mous : tumeur à malignité intermédiaire, survenant à tout âge, principalement localisé au niveau des membres et dans 50% au niveau des tissus sous-cutanés [1]. L'aspect morphologique est identique aux tumeurs mixtes des

glandes salivaires. La présence d'une composante épithéliale de type ductale sous forme de tubes de taille variée (le terme de « tumeur mixte » est alors utilisé) peut faire errer le diagnostic sur microbiopsies et poser le problème de diagnostic différentiel avec un adénocarcinome, un synoviosarcome biphasique et une MPNST avec composante hétérologue « glandulaire ». L'étude immunohistochimique montre une positivité le plus souvent diffuse de l'AE1/AE3, l'EMA et la PS100. Ces tumeurs expriment parfois l'actine musculaire lisse et la P63 et dans la moitié des cas la GFAP. Entre 10 à 40% des formes malignes présentent une perte d'expression de INI-1 à l'inverse des synoviosarcomes chez lesquels a été rapportés une diminution de l'expression de INI-1 mais pas de perte [2]. Environ la moitié des myoépithéliomes des tissus mous présentent une translocation réciproque spécifique impliquant le gène *EWSR1* avec des partenaires variables : gènes *POU5F1*, *PBX1* et *ZNF444* [3]. Ces translocations peuvent être détectées par FISH en mettant en évidence un réarrangement du gène *EWSR1*.

4) MPNST avec différenciation hétérologue de type glandulaire : ces tumeurs surviennent, dans la moitié des cas, dans un contexte de neurofibromatose de type 1. Même si une composante hétérologue est observée dans 10 à 20% des MPNST, une différenciation glandulaire est rare. Ces glandes présentent un phénotype entéroïde : cellules en gobelets CK20+ avec une différenciation neuro-endocrine. La composante fusiforme est généralement négative pour les marqueurs épithéliaux (AE1/AE3 et EMA). De plus, la composante fusiforme présente une positivité hétérogène dans environ 50% des cas avec la PS100 ce qui est assez similaire à ce que l'on peut observer dans les synoviosarcome. La recherche de réarrangement du gène *SS18* permet d'établir un diagnostic de certitude : présence de réarrangement du gène *SS18* dans les synoviosarcomes et absence dans les MPNST.

5) Thymome ectopique hamartomateux : cette tumeur bénigne d'origine probablement branchiale et non thymique, est actuellement considérée comme une forme de tumeur mixte [4]. Elle atteint typiquement l'adulte masculin d'âge moyen (40 ans), sous la forme d'une masse de 5 cm en moyenne, sous-cutanée ou profonde, à proximité de la jonction sterno-claviculaire. L'aspect microscopique montre un mélange de cellules fusiformes au cytoplasme éosinophile, de cellules fusiformes d'allure fibroblastique, de tissu adipeux mature et de d'îlots de cellules épithéliales présentant une différenciation malpighienne ou glandulaire. Le diagnostic est parfois difficile. L'immunophénotype montre une positivité diffuse des cellules

fusiformes au cytoplasme éosinophile avec les cytokératines AE1/AE3, CK5/6, CK14 et des cellules fusiformes d'allure fibroblastique pour le CD34 [4].

Les tumeurs non-conjonctives avec un pattern biphasique et/ou mixte

6) Mésothéliome biphasique : le contexte clinique est généralement spécifique : localisation pleurale et antécédent d'exposition à l'amiante, patients entre 60 et 70 ans. En immunohistochimie, la composante épithéliale conserve une positivité avec l'AE1/AE3, les CK5/6, la calrétinine et WT1 (nucléaire), alors que les zones fusiformes peuvent perdre ces marqueurs.

7) Tumeur germinale : Il s'agit principalement d'une tumeur testiculaire de l'homme jeune entre 20 et 40 ans mais les tumeurs germinales sont également rapportées au niveau de sites extra-gonadiques tels que le rétro-péritoine et le médiastin (sites de migration des ébauches gonadiques). Une élévation de marqueurs sériques (alpha-fœto-protéine et bêta-HCG) peut être retrouvée. D'un point de vue morphologique, cette tumeur est composée d'un mélange très variable d'éléments séminomateux et non-séminomateux (carcinome embryonnaire, choriocarcinome, tératome,...). Occasionnellement, une malignisation d'éléments tératomateux peut être observée, notamment en composante sarcomateuse (rhabdomyosarcome notamment). En immunohistochimie, la plupart des composantes des tumeurs germinales sont positives avec SALL-4 et les pan-kératines ; les éléments séminomateux sont positifs avec KIT (CD117) et OCT-4.

8) Tumeurs müllériennes mixtes (« carcinosarcome ») : Tumeur utérine de la femme ménopausée (âge médian de 65 ans), elle peut parfois atteindre l'ovaire ou le péritoine et se présenter comme une volumineuse masse pelvienne atteignant l'utérus. Morphologiquement, ces tumeurs présentent une proportion variable de composante carcinomateuse (carcinome séreux ou endométrioïde à rechercher par un échantillonnage soigneux) et de composante conjonctive maligne (prolifération de cellules fusiformes, pléomorphes et indifférenciées avec parfois des éléments hétérologues de type rhabdomyo-, léiomyo-, chondro- ou d'ostéosarcome). En immunohistochimie, la composante carcinomateuse est positive avec la pan-kératine AE1/AE3, PAX8 et WT1 (pour le carcinome séreux) ; à l'inverse la composante sarcomateuse présente une expression variable avec les kératines mais peut exprimer des marqueurs de différenciation spécifique (desmine, myogénine, caldesmone, PS100 en fonction des éléments hétérologues présents).

Points importants à retenir

- Face à une biopsie exiguë montrant une tumeur d'aspect adénocarcinomateux, il faut toujours garder en tête la possibilité d'une tumeur biphasique des tissus mous.
- Il est nécessaire de disposer d'un minimum de renseignements cliniques, d'effectuer une analyse morphologique rigoureuse de chaque composante (et notamment d'apprécier l'aspect monomorphe ou pléomorphe de la composante fusiformes), et d'utiliser un panel d'anticorps pertinent, permettant de guider les analyses moléculaires éventuelles. Elles seules permettent un diagnostic de certitude, notamment pour le synovialosarcome qui est la tumeur biphasique des tissus mous la plus fréquente.

REFERENCES

- [1] Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, et al. World Health Organization classification of tumours: Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone. Lyon, France: IARC Press 2012.
- [2] Kohashi K, Oda Y, Yamamoto H .Reduced expression of SMARCB1/INI1 protein in synovial sarcoma. Mod Pathol 2010;2:981-90.
- [3] Antonescu CR, Zhang L, Chang NE, et al. EWSR1-POU5F1 fusion in soft tissue myoepithelial tumors. A molecular analysis of sixty-six cases, including soft tissue, bone, and visceral lesions, showing common involvement of the EWSR1 gene. Gene Chromos cancer 2010;49:1114-24.
- [4] Fetsch JF, Laskin WB, Michal M, et al. Ectopic hamartomatous thymoma. A clinicopathologic and immunohistochemical analysis of 21 cases with data supporting reclassification as a branchial anlage mixed tumor. Am J Surg Pathol 2004;28:1360-70.

Cas N°02 Philippe Rochaix

Institut Universitaire du Cancer - Oncopole, Toulouse

Renseignements cliniques

Femme 80 ans. Biopsie d'une carcinose péritonéale. AE1/AE3+, CK7+, CK20-.

Diagnostic

Localisation péritonéale d'un adénocarcinome trabéculaire ou à cellules isolées dont le profil est CK7+, CK20-, GATA3+, GCDFP15-, RE+ faible, E-Cadhérine-, oriente en premier lieu vers la métastase péritonéale, d'un carcinome mammaire de type lobulaire.

Description macroscopique

Prélèvements biopsiques péritonéaux réalisés per-coelioscopie chez une patiente de 80 ans, sans antécédent connu, présentant de vagues douleurs digestives, une altération de l'état général et une augmentation du périmètre abdominal. Les données iconographiques mettent en évidence une ascite avec des lésions de carcinose péritonéale sans masse pelvienne associée.

Description histologique

Les prélèvements biopsiques montrent une prolifération tumorale se disposant en travées, cellules isolées, ou rares petits amas. Les cellules sont peu cohésives, au cytoplasme éosinophile, dotées de noyaux à atypies modérées, en position parfois périphérique dans la cellule. L'activité mitotique reste modérée. La stroma réaction est peu abondante. Il n'y a pas d'image de mucisécrétion ou de différenciation kératinisante.

L'étude immunohistochimique montre le phénotype suivant : CK7+ diffus, CK 20-, GATA3+ diffus, Mammaglobine-, GCDFP15-, RE+ faible et focal ~10 %, RP-, HER2-, E-cadhérine-, PAX8-, WT1-, Calrétinine-, Chromogranine-, Synaptophysine-.

Commentaires

Parmi les éléments orientant notre démarche diagnostique devant un CAPI, le site métastatique est important. En effet, selon cette localisation, la hiérarchie de probabilité de chaque origine varie. Au-delà du phénotype CK7+/CK20-, nous allons discuter ci-après la problématique de la conduite à tenir face à une carcinose péritonéale.

Dans le cas des carcinoses péritonéales, une origine digestive est retrouvée dans 2/3 des cas (50% colorectale, 20% pancréatique, 10% vésicule biliaire, intestin grêle, anus). Pour le 1/3 restant plus de la moitié sont d'origine ovarienne, viennent ensuite plus rarement une origine

pulmonaire ou mammaire [1]. Dans certaines situations il reste parfois difficile de distinguer un processus métastatique d'une tumeur primitive notamment un mésothéliome.

Le diagnostic repose évidemment sur une bonne connaissance du dossier clinique du patient, bien entendu les antécédents notamment carcinologiques, mais également l'âge et le sexe. Par exemple la recherche d'expression des récepteurs hormonaux a une très grande importance lorsqu'il s'agit d'une femme, mais n'a aucun intérêt lorsqu'il s'agit d'un homme. De même l'expression de WT1 lorsque le patient est une femme pourra orienter soit vers un carcinome séreux ovarien soit vers un mésothéliome malin péritonéal, alors que lorsque le patient est un homme l'expression de WT1 aura un poids fort en faveur du mésothéliome malin. Enfin, une tumeur de l'adolescent/jeune adulte nous orientera plus vers une tumeur germinale, lymphoïde, desmoplastique à cellules rondes ou un sarcome d'Ewing que vers une tumeur épithéliale ovarienne par exemple.

Outils immunohistochimiques

Comme pour tous les CAPI, les recommandations sont d'utiliser un premier doublet d'anticorps (Ac) CK7 et CK20 qui permet d'orienter en partie vers une origine.

Ainsi de façon classique ou prédominante, suivant la combinaison de ces 2 Ac le phénotype pourra orienter vers différentes origines primitives (Tableau 1) [2].

Tableau 1. Principaux diagnostics à évoquer en fonction des résultats des marquages CK7 et CK20.

CK7 +/ CK20 –	CK7 + /CK 20 +	CK7– /CK20+	CK7 – / CK 20 –
Sein	Voie pancréato-biliaire	Colorectal	Foie (carcinome hépatocellulaire)
Ovaire (non mucineux)	Ovaire (mucineux)	Carcinome à cellules de Merkel	Rein (carcinome à cellules claires)
Endomètre	Estomac		Prostate
Poumon	Vessie		Cortex surrénalien
Mésothéliome			
Thyroïde			
Glandes salivaires			
Rein (carcinome papillaire)			

Cette classification permet une orientation globale. Elle est cependant à nuancer. Ainsi les carcinomes de l'estomac peuvent présenter un profil très variable : CK7+/CK20+ dans 32% ; CK7-/CK20+ dans 35% et CK7-/CK20- dans 14 % des cas.

De même, les carcinomes mammaires canaux et lobulaires sont CK7+/CK20- dans 86 à 94% des cas, les autres configurations dans cette localisation étant par ordre de fréquence CK7+/CK20+, puis CK7-/CK20+ et enfin CK7-/CK20-.

Lorsque le profil CK7/CK20 est défini, certains Ac vont nous permettre d'affiner ou d'orienter plus précisément l'origine de la carcinomatose. Leur réactivité est souvent assez complexe dans cette localisation et ils doivent être utilisés en panel. Les « anticorps à réactivité complexe » les plus classiquement utilisés devant une carcinomatose péritonéale sont : GATA3, PAX8, WT1.

GATA3

GATA3 a été proposé pour orienter vers une origine mammaire lorsque la tumeur exprime le couple CK7+/CK20- et présente des récepteurs hormonaux. En effet GATA3 est exprimé dans 92 à 100 % des carcinomes mammaires canaux et lobulaires [3, 4].

Il s'agit d'un marquage nucléaire, le plus souvent diffus et intense. Ce marquage est retrouvé quel que soit le type histologique (canaux ou lobulaire), le type de prélèvement (biopsie versus pièce opératoire) et le phénotype de la tumeur RH+ versus tumeur RH- et tumeur triple négative [5].

Cependant GATA3 est également exprimé dans 80 à 90 % des carcinomes urothéliaux et par l'épithélium urothélial bénin. De plus, d'autres carcinomes peuvent exprimer GATA3 dans des proportions importantes : les carcinomes baso cellulaires (98%), les carcinomes épidermoïdes cutanés (81%), les carcinomes épidermoïdes cervicaux (33 %), les tumeurs des glandes annexielles et les mésothéliomes (58%), les carcinomes rénaux à cellules chromophobes (51 %) [6].

PAX8

PAX8 est un marqueur nucléaire, habituellement exprimé par les tumeurs müllériennes (ovariennes et endométriales), les carcinomes à cellules rénales, les carcinomes thyroïdiens d'origine folliculaire [7]. Il permet ainsi de distinguer les carcinomes d'origine gynécologique face aux carcinomes mammaires devant un profil CK7+/CK20- / RH+. PAX8 a été évalué sur 2 séries de 1100 et 1200 tissus normaux et tumoraux [8, 9], et montre une très forte sensibilité dans :

- Les carcinomes ovariens : 79 à 99 %
- Les carcinomes endométriaux : 93 à 84 %,
- Les adénocarcinomes cervicaux 84%,
- Les carcinomes à cellules rénales : 90 à 100 %
- Les carcinomes thyroïdiens : 100% des carcinomes folliculaires, papillaires, peu différenciés, 79% des carcinomes anaplasiques et 75% des carcinomes médullaires.

PAX8 est négatif dans 98% des carcinomes épidermoïdes cervicaux, 93% des carcinomes de la vessie y compris les adénocarcinomes. Aucun des carcinomes du sein, du colon, de la prostate, du foie, des testicules, de l'estomac, de l'œsophage, des mélanomes, des GISTs, des leiomyosarcome ou phéochromocytome testés n'exprimait PAX8.

En résumé, PAX8 est un marqueur sensible et spécifique des tumeurs müllériennes, rénales et thyroïdiennes.

WT1 (N-Terminal)

WT1 est un marqueur nucléaire exprimé dans un groupe de tumeur hétérogène comme le mésothéliome malin, le carcinome ovarien séreux ou la tumeur desmoplastique à petites cellules rondes. Plusieurs études ont montré qu'il est exprimé dans plus de 90% des carcinomes séreux de haut grade de l'ovaire (plus rarement dans les carcinomes séreux de l'endomètre). Il est considéré comme un bon marqueur de cette pathologie. Il faut cependant noter qu'il est également présent dans les cellules mésothéliales bénignes et dans les mésothéliomes. En cas de doute diagnostique entre un carcinome séreux ou un mésothéliome, il ne sera pas d'utilité chez la femme, mais sera très intéressant chez l'homme (cf. plus bas). Il peut être exprimé de façon rare et focale dans les carcinomes gastriques, pulmonaires ou urothéliaux [10]. Attention WT1 peut être exprimé par les carcinomes mammaires, dans ces cas-là le marquage est cytoplasmique et non nucléaire.

Le mésothéliome malin

Devant une carcinose péritonéale, le premier diagnostic à évoquer est celui de mésothéliome malin. L'immunohistochimie est alors d'une aide indispensable [11]. Le choix des anticorps dépendra du type histologique (épithélioïde versus sarcomatoïde), de la topographie (plèvre versus péritoine) et du diagnostic différentiel envisagé. Les diagnostics différentiels à envisager devant un MMP épithélioïde sont essentiellement les carcinoses péritonéales : carcinose d'un carcinome séreux primitif du péritoine/ovarien/tubaire, du tractus gastro-

intestinal, moins fréquemment d'origine pulmonaire, mammaire ou utérine. Tous les MMP épithélioïdes expriment les pancytokératines (AE1/AE3, KL1, MNF16). Ainsi, si un processus tumoral malin péritonéal de morphologie épithélioïde n'exprime pas les cytokératines, d'autres diagnostics doivent être envisagés. Il est nécessaire d'utiliser un panel d'anticorps dits « positifs » et « négatifs » du MMP (Tableau 2).

Tableau 2. MMP versus carcinome papillaire séreux (CPS) et adénocarcinomes non gynécologiques (ADK) [12, 13].

Marqueurs mésothéliaux	
Calrétinine	Utile. Positif dans 85 à 100% des MMP. Sa positivité dans 0 à 38% des CPS empêche son utilisation comme seul marqueur.
D2-40	Potentiellement utile. Positif dans 93 à 96% des MMP, mais positivité de 13 à 65% des CPS (focal), nécessité de données supplémentaires
CK5/6	Utilité limitée. Positif dans 53 à 100% des MMP, mais positif dans 22 à 35% des CPS (focal).
WT1	Non utile. Positif dans 43 à 93% des MMP mais positif dans 89 à 93% des CPS.
Marqueurs CPS	
MOC-31	Très utile. Positif dans 98% des CPS et 5% des MMP
PAX8	Très utile. Positif dans la plupart des carcinomes müllériens, négatif dans les MMP.
BG8	Très utile. Positif dans 73% des CPS et 3-9% des MMP.
BerEP4	Utile. Positif dans 83-100% des CPS et 9-13% des MMP.
B72.3	Utilité limitée. Positif dans 65-100% des CPS et 0-3% des MMP mais de façon focale.
ACE	Non utile. positif dans seulement 0 à 45% des CPS et négatif dans MMP mais sensibilité trop faible par rapport à d'autres marqueurs.
Récepteur aux œstrogènes	Utile. Positif dans 60 à 93% des CPS et 0 à 8% des MMP.
Récepteur à la progestérone	Utilité limitée. Sensibilité plus faible que les récepteurs aux œstrogènes dans les CPS, négatif dans les MMP. Peut être utile en cas de positivité.
Mésothéliome vs adénocarcinome non gynécologique (voie biliaire, pancréas, estomac, colon)	
Calrétinine	Très utile. Positif dans 85 à 100% des MMP mais aussi positif dans 10% des ADK pancréatiques, valeur limitée si seul marqueur.
WT1	Très utile. Positif dans 43 à 93% des MMP, 3% des ADK gastriques et 0% des ADK pancréatiques.
D2-40	Potentiellement utile. Positif dans 93 à 96% des MMP, négatif dans les ADK gastriques et pancréatiques (données limitées).
CK5/6	Non utile. Positif dans 53 à 100% des MMP et 38% des ADK pancréatiques.
MOC-31	Très utile. Positif dans 5% des MMP et 87% des ADK.

BG8	Très utile. Positif dans 3-9% des MMP et 89% des ADK.
ACE	Très utile. Négatif dans MMP et positif dans 81% des ADK.
B72.3	Très utile. Positif dans 0-3% des MMP, 84% ADK pancréas, 89% ADK voies biliaires, 98% des ADK colon.
BerEP4	Utile. Positif dans 9-13% MMP et > 98% ADK pancréatiques et gastriques.
CDX2	Utile. 90 à 100% dans le colon, 80% l'intestin grêle, 70% les carcinomes gastriques et négatif dans les MMP

Les marqueurs positifs du MMP sont : Calrétinine (marquage cytoplasmique avec renforcement nucléaire en « œuf sur le plat »), CK5/6 (marquage cytoplasmique), EMA (marquage membranaire), WT1 (marquage nucléaire), et D2-40 (marquage membranaire)

Les marqueurs négatifs du MMP ou « marqueurs épithéliaux » sont : BerP4, B72.3, MOC-31, BG8, ACE, PAX8 (carcinomes müllériens chez la femme), les récepteurs hormonaux (chez la femme), PSA chez l'homme.

La topographie du marquage doit être prise en compte. Par exemple, l'EMA a classiquement un marquage membranaire dans les MMP et cytoplasmique dans les adénocarcinomes. Il n'existe pas de seuil de positivité en termes de pourcentage de cellules marquées, mais certains auteurs ont retenu un chiffre de 10%.

Les marqueurs utiles chez la femme en faveur d'un MMP sont la Calrétinine, probablement le D2-40 (qui peut être positif dans quelques cas de carcinome séreux) et en faveur d'un adénocarcinome sont MOC-31, BG8 (moins spécifique) et BerEP4.

Chez les hommes, les marqueurs utiles en faveur d'un MMP sont la calrétinine, le WT1 (marquage nucléaire), D2-40. Les marqueurs utiles en faveur d'un carcinome non séreux sont : B72.3, MOC31, BG 8, et Ber-EP4.

Le groupe d'experts international, the International Mesothelioma Interest Group préconise d'utiliser dans un premier temps et en fonction des diagnostics différentiels envisagés deux marqueurs dits « positifs » et deux marqueurs dits « négatifs » [12, 13]. Si les résultats sont concordants, le diagnostic peut être établi. En cas de discordance, un deuxième panel d'anticorps, plus élargi, est nécessaire.

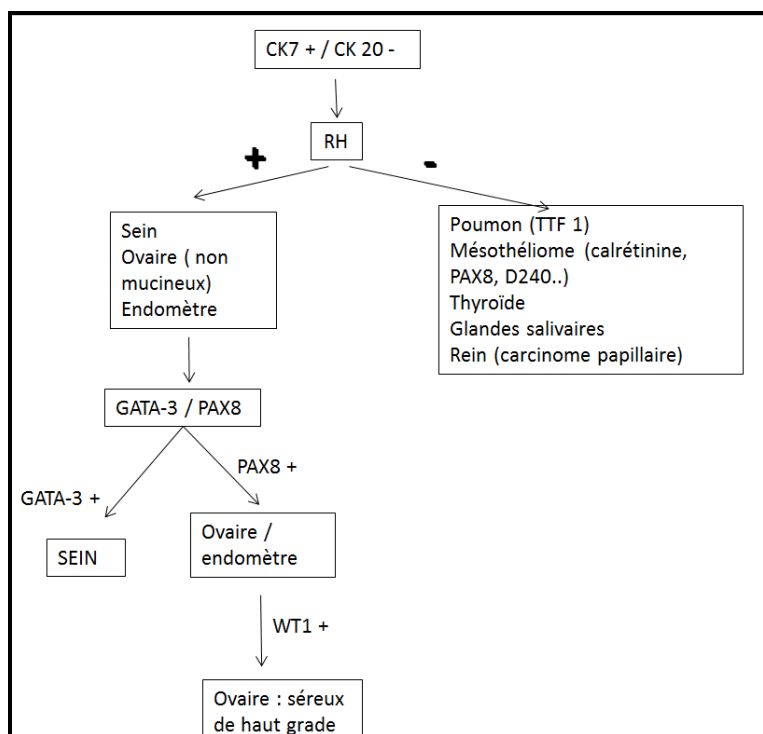
Points importants à retenir

- Face à une carcinomatose péritonéale sans renseignements cliniques précis ou fiables, et en fonction des aspects morphologiques, l'expression de CK7/CK20 orientera grossièrement vers une origine. A ce doublet d'Ac on rajoutera des Ac plus

spécifiques d'organes ou plus en faveur d'une origine mésothéliale [14]. Ce panel pourra comprendre les Ac suivants : RE, RP, PAX8 (tumeurs mülleriennes), GATA3 (sein et urothélium), CDX2 (tumeurs digestives entéroïdes au sens large), Calrétinine+, BerEP4+, WT1+ et CK5/6+ (mésothéliome malin).

- Les situations les plus fréquentes sont représentées par un profil CK7+/CK20-. S'il s'agit d'une femme, il faudra ajouter au panel immunohistochimique les récepteurs hormonaux, et s'aider du PAX8, GATA3 et WT1 (Figure 1). Si aucun marqueur ne peut orienter vers une origine primitive, la carcinose sera considérée d'origine inconnue.
- Une approche multidisciplinaire est essentielle pour peser l'indication de chaque examen et cibler ceux qui auront un impact thérapeutique.

Figure 1. Algorithme diagnostique chez une femme présentant une carcinomatose péritonéale CK7+/CK20-.



REFERENCES

- [1] Elias D. traitement combiné par chirurgie et chimiothérapie locale des carcinoses péritonéales d'origine digestive. Hepatogastro 1999;6,429-36.

- [2] Chu PG, Weiss LM. Keratin expression in human tissues and neoplasms. *Histopathology* 2002;40:403-39.
- [3] Liu H, Shi J, Wilkerson ML, Lin F. Immunohistochemical evaluation of GATA3 expression in tumors and normal tissues: a useful immunomarker for breast and urothelial carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2012;138:57-64.
- [4] Davis DG, Siddiqui MT, Oprea-Ilie G, Stevens K, Osunkoya AO, Cohen C, Li XB. GATA3 and FOXA1 expression is useful to differentiate breast carcinoma from other carcinomas. *Hum Pathol* 2016;47:26-31.
- [5] Clark BZ, Beriwal S, Dabbs DJ, Bhargava R. Semiquantitative GATA3 immunoreactivity in breast, bladder, gynecologic tract, and other cytokeratin 7-positive carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2014;142:64-71.
- [6] Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, Rys J, Czapiewski P, Wazny K, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2014;38:13-22.
- [7] Nonaka D, Chiriboga L, Soslow RA. Expression of pax8 as a useful marker in distinguishing ovarian carcinomas from mammary carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2008;32:1566-71.
- [8] Tacha D, Zhou D, Cheng L. Expression of PAX8 in normal and neoplastic tissues: a comprehensive immunohistochemical study. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2011;19:293-9.
- [9] Ozcan A, Shen SS, Hamilton C, Anjana K, Coffey D, Krishnan B, Truong LD. PAX 8 expression in non-neoplastic tissues, primary tumors, and metastatic tumors: a comprehensive immunohistochemical study. *Mod Pathol* 2011;24:751-64.
- [10] Nakatsuka S, Oji Y, Horiuchi T, Kanda T, Kitagawa M, Takeuchi T, et al. Immunohistochemical detection of WT1 protein in a variety of cancer cells. *Mod Pathol* 2006;19:804-14.
- [11] Mery É, Hommell-Fontaine J, Capovilla M, Chevallier A, Bibeau F, Croce S, et al. Peritoneal malignant mesothelioma: review and recent data. *Ann Pathol* 2014;34:26-33.
- [12] Husain AN, Colby T, Ordonez N, Krausz T, Attanoos R, Beasley MB, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: 2012 update of the consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med* 2013;137:647-67.

[13] Husain AN, Colby TV, Ordóñez NG, Allen TC, Attanoos RL, Beasley MB, et al. Guidelines for pathologic diagnosis of malignant mesothelioma: a consensus statement from the International Mesothelioma Interest Group. *Arch Pathol Lab Med* 2009;133:1317-31.

[14] Conner JR, Hornick JL. Metastatic carcinoma of unknown primary: diagnostic approach using immunohistochemistry. *Adv Anat Pathol* 2015;22:149-67.

Cas N°03 Janick Selves

Institut Universitaire du Cancer - Oncopole, Toulouse

Renseignements cliniques

Patient de 62 ans avec nodules sous-cutanés depuis 3 mois et amaigrissement de 10 kg (pas d'autres renseignements cliniques transmis au pathologiste). Exérèse d'un nodule cutané de 3 x 1,5 cm. Diagnostic initial de carcinome de Merkel. 2^{ème} lecture dans le cadre d'une présentation en RCP de recours.

Diagnostic

Métastase sous-cutanée d'un adénocarcinome peu différencié du côlon droit, de phénotype dMMR (perte d'expression MLH1 et PMS2).

Compléments de l'histoire clinique : devant un diagnostic initial de carcinome de Merkel, le patient a été présenté en RCP de recours. La relecture du TDM thoraco-abdominal initial a révélé plusieurs nodules hépatiques de grande taille, des nodules dans le psoas, une carcinose péritonéale, des adénopathies rétro-péritonéales et une lésion circonscrite du côlon droit de 10 cm de hauteur.

Description histologique

Il s'agit d'une tumeur d'architecture tubulo-glandulaire peu différenciée, avec très peu de lumière glandulaire (<5%), largement nécrosée, infiltrant l'hypoderme sous la forme d'un nodule bien limité. Les cellules sont de grande taille, assez régulières, avec un cytoplasme peu abondant, basophile ou clair dans les zones péri-nécrotiques, sans vacuoles mucisécrétantes. Les noyaux sont arrondis ou ovalaires, un peu irréguliers avec une chromatine poussiéreuse. L'index mitotique est élevé, de l'ordre de 5 mitoses/CFG. En immunohistochimie, les cellules tumorales sont CK7-, CK20+ focal (20%) sans « dot », Chromogranine et Synaptophysine négatives. Elles sont CDX2 +++ diffus, GATA3-, MLH1 et PMS2 négatifs avec maintien d'expression de MSH6 et MSH2 (phénotype dMMR). Un génotypage *RAS* est réalisé compte-tenu du diagnostic de métastase de cancer colique ainsi qu'une recherche d'instabilité microsatellitaire, de mutation *BRAF* et de méthylation du gène *MLH1* compte-tenu du phénotype dMMR.

Marqueurs moléculaires :

- Pas de mutation *KRAS* ni *NRAS* (exons 2, 3, 4).

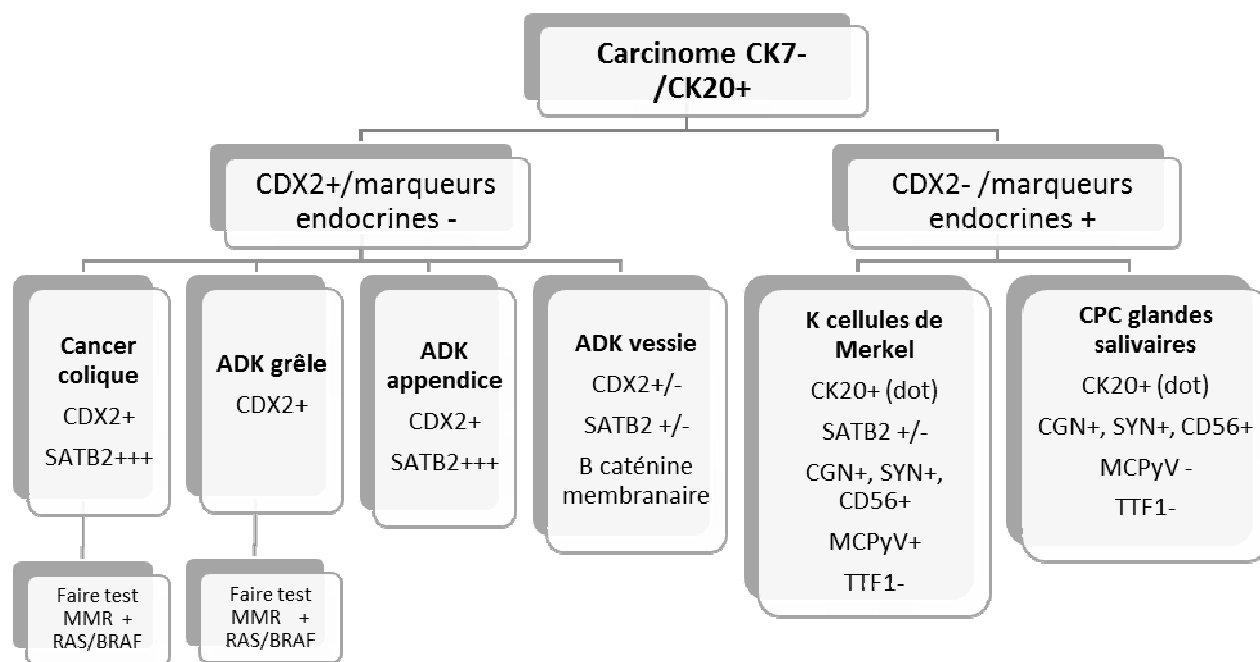
- Instabilité microsatellitaire. Présence d'une mutation *BRAF* V600E et hyperméthylation *MLH1*. Ce profil moléculaire est en faveur d'un cancer d'origine sporadique.

Commentaires

Ce cas permet d'illustrer la démarche diagnostique devant la métastase d'un carcinome CK7-, CK20+ de morphologie non lieberkhünienne, l'importance de l'histoire clinique et l'intérêt d'identifier une origine colo-rectale pour proposer un traitement adapté guidé par les biomarqueurs.

Conduite à tenir devant la métastase d'un carcinome CK7-/CK20+ sans morphologie colique (Figure 1) :

Figure 1. Algorithme diagnostique devant un carcinome CK7-/CK20+.



- La première étiologie à évoquer est **une origine colique** correspondant le plus souvent à un adénocarcinome peu différencié (comme dans le cas présenté). La CK20 est souvent exprimée de façon focale dans ces formes peu différenciées. Les carcinomes médullaires ou indifférenciés d'origine colique ont souvent un phénotype CK7-/CK20-. CDX2 n'a que peu de valeur ajoutée dans le contexte d'une tumeur CK7-/CK20+ [1]. En effet CDX2 n'est pas un marqueur anatomique de l'intestin, mais un facteur de transcription de différenciation

intestinale. C'est donc un marqueur peu spécifique d'une origine colique car il peut être exprimé dans tous les carcinomes avec une différenciation intestinale : adénocarcinome du grêle mais aussi certains cancers gastriques ou œsophagiens, pancréatiques, ovariens, de l'ouraue, naso-sinusiens... [2]. L'expression de CDX2 peut être diminuée dans les cancers coliques proximaux (à droite), dans les cancers coliques peu différenciés et dans les cancers MSI+ [3]. Une expression différentielle des *mucines* (MUC2, MUC5AC, MUC6, MUC4) permettant de distinguer les différentes origines intestinales a été proposée par certains auteurs. Cependant, l'association fréquente de l'expression de plusieurs mucines dans une même tumeur, la difficulté à déterminer un seuil d'expression pour chacune d'entre elles, ainsi que l'absence d'impact thérapeutique de l'identification de ces origines anatomiques limitent donc leur intérêt [4]. La *villine* n'a pas de valeur ajoutée par rapport à CDX2 et peut également être exprimée dans de nombreux cancers non intestinaux (vessie, carcinome à cellules de Merkel, adénocarcinome entérique naso-sinusien, ...). En revanche, l'apport d'un nouveau marqueur, SATB2 (special AT-rich sequence-binding protein 2) qui est un régulateur de la transcription, paraît plus utile car serait restreint au tractus digestif bas. Son expression est maintenue dans quasiment tous les adénocarcinomes de l'appendice (y compris les adénocarcinomes ex-carcinome à cellules en gobelet) et dans plus de 85% des cancers coliques [4]. Il augmente la valeur prédictive d'une origine colique de 93% à 99% pour les tumeurs CK7-/CK20+ et est exprimé dans les tumeurs coliques peu différenciées CDX2- et/ou CK20- [5]. Son expression est maintenue dans la majorité des carcinomes médullaires coliques [6].

- Il est souvent difficile mais important de distinguer un **adénocarcinome de la vessie** d'une origine colique car ces deux tumeurs ont un aspect morphologique et un profil immunohistochimique identiques (CK7-/CK20+/CDX2+). Une différence d'activation de la voie Wnt/béta-caténine se traduisant par un marquage nucléaire de la *béta-caténine* dans les cancers coliques (75% des cas) alors que le marquage reste membranaire dans les adénocarcinomes de la vessie (17 %) peut se révéler utile [7]. Rappelons que GATA3 n'a pas d'intérêt dans ce cadre-là car les adénocarcinomes de la vessie sont GATA3 négatifs [8]. SATB2 serait exprimé dans près de la moitié des adénocarcinomes de la vessie, limitant l'intérêt de cet anticorps pour distinguer les deux étiologies [4].

- Le panel immunohistochimique d'une tumeur CK7-/CK20+ doit inclure des *marqueurs endocrines* (chromogranine, synaptophysine et CD56) car ce profil est l'apanage

des **carcinomes de Merkel** et des **carcinomes à petites cellules des glandes salivaires** avec dans les deux cas un marquage en dot para-nucléaire de la CK20. Le phénotype des carcinomes de Merkel est donc : CK7-/CK20+ en « dot », CDX2-, SATB2+, Chromogranine+, Synaptophysine+, et MCPyV+ (polyomavirus à cellules de Merkel). Celui des CPC des glandes salivaires est Synaptophysine+, Chromogranine+/-, CD56+, CDX2- [4, 9].

Caractéristiques morphologiques, phénotypiques et moléculaires des CCR dMMR (ou MSI) :

Les caractéristiques morphologiques des CCR dMMR (ou MSI) sont une faible différenciation ou une différenciation mucineuse et une forte stroma réaction lymphoïde mais ces caractéristiques ne sont pas constantes. En revanche, une morphologie de carcinome médullaire est pathognomonique d'un phénotype dMMR. Le profil immunohistochimique des CCR dMMR peut être variable : CK7-/CK20+ mais aussi fréquemment CK7-/CK20- [10]. Ils sont CDX2 négatifs dans 15 à 20% des cas [4]. SATB2 paraît un marqueur plus sensible que CDX2 mais son expression dans le groupe des tumeurs dMMR n'est pas réellement connue en dehors de carcinomes médullaires [6]. Seulement 5% des formes métastatiques des cancers colo-rectaux ont un phénotype MSI. Cette voie d'oncogenèse résulte de la perte de fonction des gènes MMR (déficient MisMatch Repair), d'origine le plus souvent sporadique (80% des cas) par inactivation purement somatique du gène MLH1 (hyperméthylation du promoteur du gène MLH1), plus rarement génétique avec une mutation constitutionnelle d'un des gènes du système MMR et c'est le syndrome de Lynch. La mutation *BRAF* dans les cancers colo-rectaux MSI est associée aux formes sporadiques et permet d'écarter un syndrome de Lynch. Rappelons que la voie d'oncogenèse MSI n'est pas spécifique d'une origine colo-rectale mais est également associée à de nombreux autres carcinomes, en premier lieu l'endomètre mais aussi les cancers gastriques, des voies urinaires hautes, de l'intestin grêle, de l'ovaire, etc., et qu'un phénotype dMMR ne constitue pas en soi un marqueur d'origine colique.

Conduite à tenir devant un diagnostic de métastase d'un cancer du côlon

Il est important d'identifier l'origine colo-rectale d'un processus métastatique pour proposer une chimiothérapie adaptée, et pour déclencher la demande des marqueurs moléculaires

guidant ce traitement : mutation de *RAS* (*KRAS* et *NRAS*, exons 2, 3, 4) pour la prescription d'anti-EGFR, mutation de *BRAF* (exon 15) pour intensification thérapeutique et test MMR pour immunothérapie. En effet, le traitement de CCR métastatique correspond à une bi-chimiothérapie (5FU et oxaliplatine) associée à une thérapie ciblée (anti-angiogénique ou anti-EGFR) ou à une tri-thérapie (5FU, oxaliplatine, irinotécan +/- anti-angiogénique) pour les formes agressives, guidé par les biomarqueurs. Il est maintenant recommandé de réaliser un statut MMR dès le diagnostic de métastase d'un CCR en vue d'une immunothérapie (Thésaurus National de Cancérologie Digestive : www.tncc.org). Réputés de bon pronostic dans les formes non métastatiques, les CCR dMMR sont de très mauvais pronostic au stade métastatique et doivent pouvoir rapidement bénéficier d'une immunothérapie.

Points importants à retenir

- Les origines d'une métastase de profil CK7-/CK20+ sont restreintes : colique (ou digestive) le plus souvent, intestinal non digestif (vessie), ou endocrinienne (carcinome à cellules de Merkel et CPC des glandes salivaires) nécessitant un panel d'anticorps limité pour les distinguer : CDX2 (+/- SATB2), marqueurs endocrines et MCPyV.
- Les cancers coliques MSI sont souvent peu différenciés, perdent les marqueurs de différenciation intestinale (CK20, CDX2) mais sont des tumeurs agressives au stade métastatique, pouvant bénéficier d'une immunothérapie.
- Identifier l'origine colique d'une métastase est rarement difficile (sauf dans les cancers peu différenciés) mais extrêmement utile pour le traitement.

REFERENCES

- [1] Bayrak R, Haltas H, Yenidunya S. The value of CDX2 and cytokeratins 7 and 20 expression in differentiating colorectal adenocarcinomas from extraintestinal gastrointestinal adenocarcinomas: cytokeratin 7-/20+ phenotype is more specific than CDX2 antibody. *Diagn Pathol* 2012;7:9.
- [2] Scoazec JY. Facteurs de transcription : quelles applications diagnostiques ? *Ann Pathol* 2012 32S,S32-S33.

- [3] Olsen J, Eiholm S, Kirkeby LT, Espersen ML, Jess P, Gögenür I, et al. CDX2 downregulation is associated with poor differentiation and MMR deficiency in colon cancer. *Exp Mol Pathol* 2016;100:59-66.
- [4] Wang H, Kim CJ, Koo J, Zhou W, Choi EK, Arcega R, et al. Practical immunohistochemistry in neoplastic pathology of the gastrointestinal tract, liver, biliary tract and pancreas. *Arch Pathol Lab Med* 2017;141:1155-80.
- [5] Dragomir A, de Wit M, Johansson C, Uhlen M, Pontén F. The role of SATB2 as a diagnostic marker for tumors of colorectal origin: Results of a pathology-based clinical prospective study. *Am J Clin Pathol* 2014;141:630-8.
- [6] Lin F, Shi J, Zhu S, Chen Z, Li A, Chen T, Wang HL, Liu H. Cadherin-17 and SATB2 are sensitive and specific immunomarkers for medullary carcinoma of the large intestine. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138:1015-26.
- [7] Roy S, Smith MA, Cieply KM, Acquafondata MB, Parwani AV. Primary bladder adenocarcinoma versus metastatic colorectal adenocarcinoma: a persisting diagnostic challenge. *Diagn Pathol* 2012;7:151.
- [8] Rao Q, Williamson SR, Lopez-Beltran A, Montironi R, Huang W, Eble JN, et al. Distinguishing primary adenocarcinoma of the urinary bladder from secondary involvement by colorectal adenocarcinoma: extended immunohistochemical profiles emphasizing novel markers. *Mod Pathol* 2013;26:725-32.
- [9] Fukuhara M, Agnarsdóttir M, Edqvist PH, Coter A, Ponten F. SATB2 is expressed in Merkel cell carcinoma. *Arch Dermatol Res* 2016;308:449-54
- [10] Lugli A, Tzankov A, Zlobec I, Terracciano LM. Differential diagnostic and functional role of the multi-marker phenotype CDX2/CK20/CK7 in colorectal cancer stratified by mismatch repair status. *Mod Pathol* 2008;11:1403-12.

Cas N°04 Janick Selves

Institut Universitaire du Cancer - Oncopole, Toulouse

Renseignements cliniques

Découverte chez une femme de 69 ans lors d'un bilan d'épigastralgies d'un nodule péritonéal, associé à deux lésions hépatiques. Biopsie du nodule hépatique (et nodule péritoine non montré).

Diagnostic

Tumeur stromale gastrique (GIST) mutée *PDGFRA*, exon 18 (c.2528_2539 del12; pI843_S847delins), avec métastases hépatiques et péritonéale.

Description macroscopique

Renseignements récupérés ultérieurement (non transmis initialement au pathologiste) : la gastroscopie réalisée en première intention avait montré une petite lésion de 1,5 cm, sous-muqueuse de l'antrum dont la biopsie était négative. Le TDM abdomino-pelvien montrait une paroi gastrique épaissie avec multiples formations nodulaires en arrière de l'estomac, un nodule tissulaire latéro-colique droit sous-pariétal de 35 mm et deux lésions hépatiques de 16 et 11 mm. Le bilan hépatique était normal, ainsi que le dosage sanguin de la NSE et de la chromogranine.

Description histologique

La biopsie hépatique montrait une prolifération tumorale bien limitée, d'architecture pseudo-trabéculaire, un peu lâche et richement vascularisée. Les travées étaient par place séparées par de fins septa hyalins. Il existait des zones congestives, œdémateuses et un peu hémorragiques. Les cellules tumorales étaient par place intimement mêlées aux ductules réactionnels. Les cellules étaient polygonales, avec un cytoplasme assez abondant éosinophile ou clair avec quelques rares vacuoles cytoplasmiques optiquement vides. Les noyaux étaient arrondis, réguliers, à chromatine fine, avec de rares petits nucléoles. L'index mitotique était de 3 mitoses / 5 mm². La biopsie du nodule péritonéal montrait la même prolifération tumorale.

La tumeur était négative avec l'anti-cytokératine AE1/AE3 et l'EMA, négative pour l'anti-hépatocyte, le CD10 et le glypican 3, négative avec l'anti-Chromogranine et l'anti-Synaptophysine, PS100 et Melan A négative. Elle était CD34 et KIT négative mais DOG 1 positive.

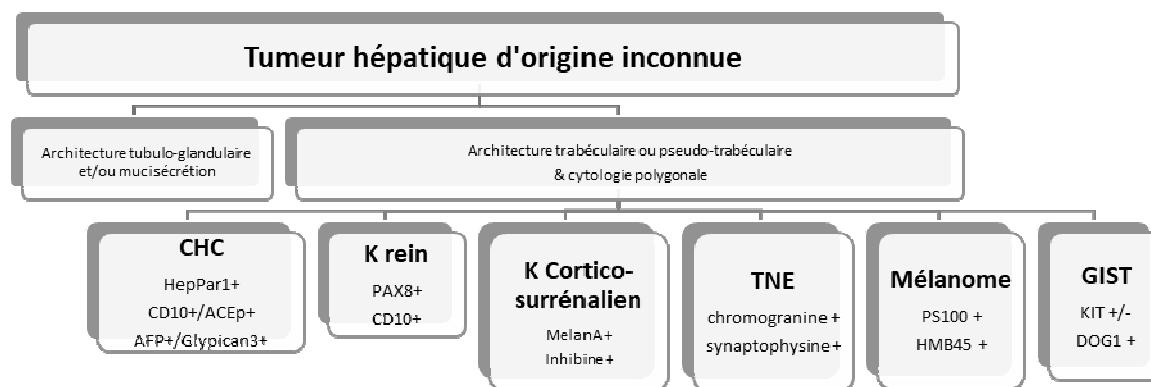
La biologie moléculaire réalisée sur la biopsie du péritoine montrait une mutation activatrice de l'exon 18 de *PDGFRA* (c.2528_2539 del12; pI843_S847delinsT).

Commentaires

Ce cas permet de rappeler que toutes les tumeurs à cellules polygonales dans le foie ne sont pas forcément des carcinomes et de proposer un algorithme diagnostique simple devant ce type de tumeur.

Une tumeur hépatique peut correspondre à deux origines : un carcinome primitif hépatique (carcinome hépatocellulaire ou cholangiocarcinome) ou métastase d'un carcinome, beaucoup plus rarement d'une tumeur non épithéliale (Figure 1).

Figure 1. Algorithme diagnostique devant une tumeur hépatique d'origine inconnue.



On distingue sur l'analyse morphologique simple les adénocarcinomes avec formations tubulo-glandulaires et/ou mucisécration : il s'agit alors le plus souvent de métastases d'adénocarcinomes d'origine digestive, mammaire, broncho-pulmonaire, gynécologique ou autres, voire d'un cholangiocarcinome, pour lesquels l'immunohistochimie couplée à la morphologie et à l'histoire clinique permet d'identifier l'origine primitive. Pour les cas sans architecture tubulo-glandulaire ni mucisécration, l'architecture de la tumeur et l'aspect cytologique va permettre d'orienter vers certains types de carcinome. C'est le cas des tumeurs à cellules polygonales avec une architecture trabéculaire, acineuse ou cordonale, qui doivent faire évoquer certains diagnostics dans le foie : le carcinome hépatocellulaire (CHC), une métastase hépatique d'un cancer du rein, du cortex surrénalien, d'une tumeur neuro-endocrine et plus rarement la métastase de tumeurs non épithéliales [1]. Le contexte clinique et l'utilisation d'un panel simple d'anticorps permet généralement d'identifier un CHC ou une tumeur neuro-endocrine, une origine rénale ou du cortex surrénalien pouvant être plus difficile à identifier. Il faut rappeler que tout diagnostic de tumeur hépatique doit se faire en

connaissance du contexte clinique, en particulier d'antécédent de tumeur (pour le diagnostic de métastases) ou d'hépatopathie chronique (cirrhose ou maladie fibrosante) pour le diagnostic de carcinome hépatocellulaire. Quand le clinicien suspecte un CHC, il doit réaliser dans la mesure du possible une biopsie en foie non tumoral pour s'assurer de l'état du foie sous-jacent.

- ***Le diagnostic de CHC sur foie sain*** sera toujours porté avec prudence et en connaissance du contexte clinique car 85 % des CHC se développent sur foie cirrhotique ou fibreux, et les autres cas généralement dans des contextes hépatiques particuliers (syndrome métabolique, adénome, etc.). Les marqueurs du CHC sont HepPar 1 et les marqueurs canaliculaires CD10 ou l'ACE polyclonal. Ils sont exprimés dans la majorité des CHC (>80%) mais parfois de façon un peu hétérogène et surtout dans les CHC bien et moyennement différenciés [2]. L'arginase-1 est plus sensible (>90% des CHC) et a l'avantage de marquer les CHC peu différenciés mais est moins disponible dans les laboratoires français. L'AFP et le glypican 3 sont deux marqueurs onco-fœtaux moins sensibles mais un peu plus spécifiques (le glypican 3 peut cependant être exprimé dans certains mélanome), ils ont l'avantage d'être exprimés dans certains CHC peu différenciés n'exprimant pas HepPar 1 ni les marqueurs canaliculaires. Les CHC expriment certaines cyto-kératine (8,18) mais les pan-cytokératines sont souvent négatives et ils n'expriment généralement pas l'EMA.
- ***Le diagnostic de métastase d'une TNE*** se portera sur l'expression de la Chromogranine et/ou de la Synaptophysine. L'expression des marqueurs endocrines est généralement diffuse. Il faut se méfier d'une expression très faible et hétérogène de la Synaptophysine car les carcinomes peu différenciés ou indifférenciés (y compris ceux d'origine hépatocytaire) peuvent donner un marquage faible non spécifique avec la synaptophysine. L'expression isolée de CD56 (sans Chromogranine ni Synaptophysine) doit être interprétée avec prudence car d'autres carcinomes que les carcinomes neuro-endocrines peuvent l'exprimer en particulier les cholangiocarcinomes (12 à 16 % des cas) [3]. Les métastases de carcinome neuro-endocrine expriment toujours les pan-cytokératines ; une expression des marqueurs neuro-endocrines sans marqueur épithélial doit faire proposer un diagnostic de métastase d'un paragangliome ou de phéochromocytome.

- **Les diagnostics de métastase hépatique d'un cancer du rein ou cortico-surrénalien** reposent sur la présence d'une masse rénale ou surrénalienne et l'expression de PAX8 pour une origine rénale (exprimant également CD10 avec un marquage membranaire, trompeur avec le CHC qui montre un marquage canaliculaire); de Melan A et d'inhibine pour le cortex surrénalien.

Une fois les diagnostics de CHC et autres carcinomes écartés et en l'absence de marqueurs épithéliaux (pan-cytokératine), les deux diagnostics à éliminer devant le caractère épithélioïde de la tumeur sont la métastase d'un mélanome (PS100+ et autres marqueurs mélanocytaires +) ou celle d'un sarcome épithélioïde en particulier dans une localisation hépatique et péritonéale la métastase d'une tumeur stromale gastro-intestinale (GIST).

- **Les GIST** se compliquent de métastases hépatiques et/ou péritonéales qui peuvent révéler le diagnostic. Ce diagnostic sera plus facilement évoqué dans les GIST fusiformes que dans les formes épithélioïdes. Les GIST épithélioïdes sont l'apanage des GIST gastriques (20% des GIST gastriques sont épithélioïdes) [4]. Elles sont d'autant plus trompeuses qu'elles peuvent ne pas exprimer KIT/CD117 ou l'exprimer faiblement. Elles sont DOG1+ ce qui permet de redresser le diagnostic [5, 6]. D'un point de vue moléculaire, les GIST gastriques épithélioïdes, KIT- et DOG1+ n'ont généralement pas de mutation de *cKIT* mais sont associées à une mutation de *PDGFRA* (exon 18 le plus souvent, très rarement exons 12 ou 14) [6]. Les mutations de *PDGFRA* représentent 25% des mutations des GIST gastriques. La mutation D842V de *PDGFRA* est la plus fréquente (3/4 des cas), associée à un bon pronostic et un faible risque évolutif mais à une résistance primaire à l'imatinib (dans le cas présenté, il s'agissait d'une autre mutation de *PDGFRA*) [7, 8]. Le traitement des GIST métastatiques (hépatiques, péritonéales ou autre, est avant tout médical (imatinib et autres anti-tyrosine kinases), guidé par le profil moléculaire (ESMO) [9].

Points importants à retenir

- Une tumeur hépatique d'architecture pseudo-trabéculaire mais sans marqueurs épithéliaux ni hépatocytaires doit faire évoquer deux diagnostics : la métastase d'un mélanome ou d'un sarcome épithélioïde et en premier lieu celle d'une GIST.
- Les GIST gastriques épithélioïdes sont souvent KIT négatives en immunohistochimie mais DOG1+, sans mutation de *KIT* mais avec une mutation de *PDGFRA*.

- Toute tumeur non épithéliale, de type épithélioïde de la cavité abdominale doit faire évoquer une GIST.

REFERENCES

- [1] Iacobuzzo-Donahue C, Ferrell L. Secondary tumours of liver, in World Health Organisation classification of tumors of the digestive system. IARC press, Lyon, 2010; 251-3.
- [2] Choi WT, Ramachandran R, Kakar S. Immunohistochemical approach for the diagnosis of a liver mass on small biopsy specimens. *Human Pathology* 2017;63:1-13.
- [3] Jin M, Zhou X, Yearsley M, Frankel WL. Liver Metastases of Neuroendocrine Tumors Rarely Show Overlapping Immunoprofile with Hepatocellular Carcinomas. *Endocr Pathol* 2016;27:253-8.
- [4] Lasota J, Dansonka-Mieszkowska A, Sobin LH, Miettinen M. A great majority of GISTs with PDGFRA mutations represent gastric tumors of low or no malignant potential. *Lab Invest* 2004;84:874-83.
- [5] Miettinen M, Wang ZF, Lasota J. DOG1 antibody in the differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a study of 1840 cases. *Am J Surg Pathol* 2008;33:1401-8.
- [6] Rubin BP, Heinrich MC. Genotyping and immunohistochemistry of gastrointestinal stromal tumors: An update. *Semin Diagn Pathol* 2015;32:392-9.
- [7] Capelli L, Petracchi E, Quagliuolo V, Saragoni L, Colombo P, Morgagni P, et al. Gastric GISTs: Analysis of c-Kit, PDGFRA and BRAF mutations in relation to prognosis and clinical pathological characteristics of patients - A GIRCG study. *Eur J Surg Oncol* 2016;42:1206-14.
- [8] Farag S, Somaiah N, Choi H, Heeres B, Wang WL, van Boven H et al. Clinical characteristics and treatment outcome in a large multicentre observational cohort of PDGFRA exon 18 mutated gastrointestinal stromal tumour patients. *Eur J Cancer* 2017;76:76-83.
- [9] The ESMO/European Sarcoma Network Working Group. Gastrointestinal stromal tumours: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2014; 25 (suppl 3): iii21-iii26.

Cas N°05 Elodie Long-Mira

CHU de Nice

Renseignements Cliniques

Homme de 80 ans, tabagique, présentant une lésion pulmonaire. Résection du segment de Nelson. Pas d'autres renseignements cliniques au moment du diagnostic.

Diagnostic

Métastase pulmonaire d'un adénocarcinome du pancréas.

Description macroscopique

Tumeur centro-périphérique de 1,5 cm de diamètre, de couleur blanc grisâtre, mal limitée.

Description histologique

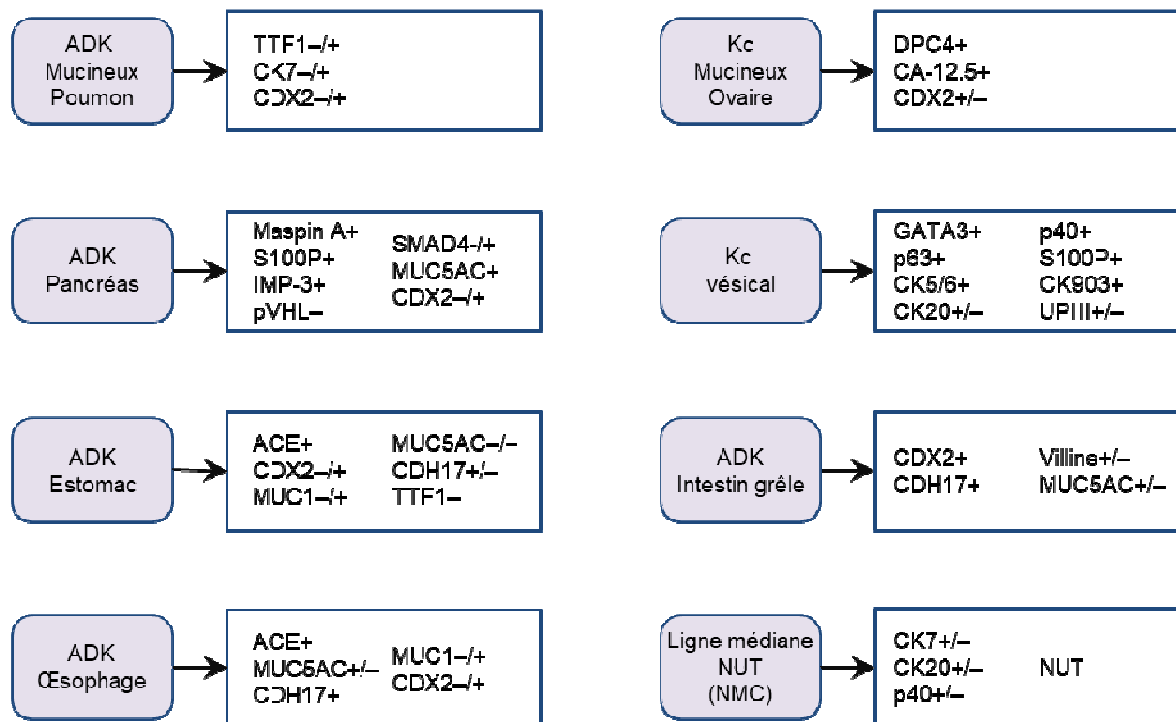
Il s'agit d'un adénocarcinome bien différencié d'architecture tubuleuse et tubulo-papillaire. Les cellules sont cylindriques hautes avec des atypies cytonucléaires modérées. La stroma réaction est de type fibro-inflammatoire assez abondante, avec des nappes d'histiocytes spumeux. La nécrose tumorale est focale. Les embolies vasculaires tumoraux sont présents, de type capillaire. Profil IHC : CK7+, CK20+ (inconstant), CDX2+ (inconstant), TTF1-, mACE+, p40-. Mutation du gène *KRAS* (p.G12D, c.35G>A).

Commentaires

Les métastases pulmonaires ont une prévalence de 30% à 50% chez les patients porteurs d'une néoplasie extra thoracique. Cliniquement, les origines primitives les plus fréquentes sont mammaire, colique, gastrique, pancréatique, rénale, mélanocytaire, prostatique, hépatique, thyroïdienne, surrénalienne, génitale. Le profil CK7+/CK20+ permettrait d'exclure une origine mammaire (CK7+/CK20-), colique (CK7-/CK20+/-), rénale (CK7-/CK20-), prostatique (CK7-/CK20-), hépatique (CK7-/CK20-), thyroïdienne (CK7+/CK20-), et surrénalienne (CK7-/CK20-) (1).

Devant une prolifération épithéliale maligne ayant un profil CK7+/CK20+ diffus ou focal, il convient d'exclure une origine pulmonaire (adénocarcinome sous-type mucineux ex carcinome bronchio-alvéolaire mucineux et adénocarcinome entérique), pancréatique, digestive (gastrique, œsophagienne, intestin grêle), ovarienne (sous-type mucineux), et parfois vésicale ou de la ligne médiane (Figure 1) [1].

Figure 1. Principaux phénotypes des métastases révélatrices d'un carcinome CK7+/CK20+.



Origine primitive pulmonaire : Les adénocarcinomes pulmonaires mucineux sont le plus souvent périphériques. Ils peuvent être d'architecture lépidique, acineuse, papillaire ou micropapillaire à l'instar des autres adénocarcinomes. Les cellules tumorales cylindrique ou de type « goblet » ont un cytoplasme pâle, riche en mucine. Ils sont TTF1 négatifs et peuvent perdre l'expression de la CK7, associée à une expression de la CK20, et parfois de CDX2. Ils sont généralement mutés pour le gène *KRAS* [2]. Le principal diagnostic différentiel est la métastase d'origine pancréatique ou ovarienne, les renseignements cliniques sont indispensables.

L'adénocarcinome entérique (ou adénocarcinome de type intestinal) est plus rare. Il est d'architecture cribriforme ou acinaire avec des aspects tubulo-papillaire et peut comporter des points de nécrose focale. Les cellules sont cylindriques, hautes avec une bordure en brosse et des noyaux vésiculeux. Il ressemble morphologiquement à un adénocarcinome colorectal dont il est le principal diagnostic différentiel. L'immunohistochimie est peu contributive dans ce sous type histologique : TTF1- (attention TTF1 peu rarement être exprimé par d'authentique adénocarcinome d'origine colorectal [9]), CK7-/+ , CK20+ , CDX-2+ , Villin+/- et les renseignements cliniques demeurent primordiaux.

Les carcinomes de la ligne médiane NUT, sont des tumeurs très agressives avec réarrangements du gène NUT pouvant être mis en évidence par une immunohistochimie anti-NUT [5]. Bien qu'initialement décrit chez le sujet jeune, ce cancer peut affecter tous les âges (2-78 ans) sans prédominance de sexe. Ce carcinome ne présente aucune spécificité tissulaire ou d'organe et se présente comme un carcinome peu différencié en situation médiane (épiglotte, région sino-nasale, poumon, médiastin 65<%), avec foyers de kératinisation abrupte et exprime fréquemment la protéine p40 [5]. Il s'agit d'une tumeur très infiltrante avec métastases fréquentes au moment du diagnostic.

Origine Vésicale : Les marqueurs CK7+/CK20+, GATA3+, p40+ (inconstant), Villin-, Thrombomoduline+, et l'expression cytoplasmique de la β -caténine seront en faveur de l'origine vésicale/urothéliale. A l'inverse, un profil Villin+, thrombomoduline+ associé à une positivité nucléaire de la β -caténine et membranaire de CDH17 seront en faveur d'un adénocarcinome de l'intestin grêle [3].

GATA3 est un marqueur de différenciation urothéliale exprimé dans 70% à 90% des carcinomes urothéliaux [4]. Cependant d'autres carcinomes peuvent exprimer GATA3 dans des proportions importantes : les carcinomes baso cellulaires (98%), les carcinomes épidermoïdes cutanés (81%), les carcinomes épidermoïdes cervicaux (33 %), les tumeurs des glandes annexielles et les mésothéliomes (58%), les carcinomes rénaux à cellules chromophobes du rein (51 %) (cf. Cas N°02).

Origine Ovarienne : L'expression d'ACE, de CA.125, de Dpc4 ou de MUC2, mais pas de MUC5AC, plaiderait pour une origine métastatique ovarienne. WT1 est un marqueur nucléaire exprimé par les cellules mésothéliales, ovariennes (granulosa), rénales (glomérules). Son intérêt est démontré dans les adénocarcinomes d'origine primitive inconnue car il a une sensibilité et spécificité de 90% dans les carcinomes séreux de l'ovaire [10].

Origine Digestive : Le marqueur CDX2 n'apporte pas d'élément distinctif car exprimé dans les tumeurs glandulaires à différenciation intestinale ou mucineuse quelle que soit leur origine [4]. Dpc4 (famille SMAD4, gène suppresseur de tumeur) est également exprimé par le tissu pancréatique normal (canaux, acini). Une perte d'expression est en faveur d'une transformation maligne (utilité dans les biopsies). Peu spécifique, ce marqueur a finalement peu d'intérêt dans les CAPI car il peut être exprimé également dans les métastases de carcinome colorectal, appendiculaire, gastrique et endocervical [4].

Les marqueurs ACE +, MUC5A-/+ , MUC1-/+ , CDH17+/- seront en faveur d'une origine gastrique. Le profil ACE+, MUC5A+/- , MUC1-/+ , CDH17+ sera en faveur d'une origine œsophagienne [4].

Un panel de quatre marqueurs, associant la positivité de Maspin A (*mammary serine protease inhibitor*), S100P (*placental S100 protein*), IMP-3 (*insulin-like growth factor II messenger RNA binding protein-3*) et la négativité de pVHL (*von Hippel-Lindau tumor suppressor*), a été décrit comme étant 100% sensible et spécifique pour une origine pancréatique [6].

Cependant, l'expression individuelle de chacun de ces marqueurs n'apporte pas d'élément diagnostique. La spécificité de S100P est limitée car de nombreux carcinomes sont positifs, dont les adénocarcinomes pancréaticobiliaires, digestifs, vésicaux et pulmonaires [7]. De plus, leur utilisation en routine est limitée par une disponibilité réduite dans les laboratoires d'ACP. Enfin, l'activation de l'oncogène *KRAS* est la mutation la plus fréquemment détectée dans les cancers pancréatiques (~70%–93%) [8]. Malgré la faible spécificité, une mutation *KRAS* pourrait apporter un critère diagnostique supplémentaire [8].

Points importants à retenir

- Le profil CK7+/CK20+ diffus ou focal, permet d'évoquer une origine pulmonaire (sous-type mucineux ou entérique), pancréatique, gastro-intestinale (gastrique, œsophagienne, intestin grêle), ovarienne (sous-type mucineux), et parfois vésicale ou de la ligne médiane.
- Un panel de quatre marqueurs, associant la positivité de Maspin A, S100P, IMP-3 et la négativité de pVHL, permet d'orienter vers une origine secondaire pancréatique.
- L'absence de marqueur spécifique ou la rareté de certains marqueurs rend les renseignements cliniques indispensables notamment pour différencier une origine primitive pulmonaire d'une origine secondaire digestive ou pancréatique.

REFERENCES

- [1] Benderra MA, Ilie M, Hofman P, Massard C. [Standard of care of carcinomas on cancer of unknown primary site in 2016]. *Bull Cancer* 2016;103:697-705.
- [2] Lantuéjoul S, Salameire D, Brambilla E. Évolution de la classification histologique des cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules. *La Lettre du Cancérologue*. 2011;6:376-81.

- [3] Molinié V. Le rôle du pathologiste dans le diagnostic des métastases d'origine urologique. *Prog Urol* 2008;18:S178-S195.
- [4] Lin F, Liu H. Immunohistochemistry in undifferentiated neoplasm/tumor of uncertain origin. *Arch Pathol Lab Med* 2014;138:1583-610.
- [5] Evans AG, French CA, Cameron MJ, Fletcher CD, Jackman DM, Lathan CS, Sholl LM. Pathologic characteristics of NUT midline carcinoma arising in the mediastinum. *Am J Surg Pathol* 2012;36:1222-7.
- [6] Lin F, Chen ZE, Wang HL. Utility of immunohistochemistry in the pancreatobiliary tract. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139:24-38.
- [7] Suryavanshi M, Sanz-Ortega J, Sirohi D, Divatia MK, Ohe C, Zampini C, et al. S100P as a Marker for Urothelial Histogenesis: A Critical Review and Comparison with Novel and Traditional Urothelial Immunohistochemical Markers. *Adv Anat Pathol* 2017;24:151-60.
- [8] Biankin AV, Waddell N, Kassahn KS, Gingras MC, Muthuswamy LB, Johns AL, et al. Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes. *Nature* 2012;491:399-405.
- [9] WHO Classification of Tumors of Lung, Pleura, Thymus and Heart, 4th Edition.
- [10] Kandalaf PL, Gown AM. Practical Applications in Immunohistochemistry: Carcinomas of Unknown Primary Site. *Arch Pathol Lab Med* 2016;140:508-23

Cas N°06 Elodie Long-Mira

CHU de Nice

Renseignements Cliniques

Homme de 70 ans. Multiples nodules pulmonaires. Antécédent de cancer du rein. Antécédent de cancer de la prostate. Tabagisme sevré depuis 20 ans. Exérèse d'un nodule du lobe supérieur gauche. Augmentation du taux sérique de PSA (renseignement communiqué à postériori).

Diagnostic

Sans PSAP : Evoquer le profil des tumeurs malignes CK7-/CK20- (Adénocarcinome de prostate, Carcinome rénal à cellules claires, Carcinome Hépatocellulaire ; Figure 1).

Avec PSAP : Métastase pulmonaire d'un adénocarcinome de prostate.

Description macroscopique

Nodule périphérique, sous pleural, rétractant la plèvre. A la coupe aspect blanchâtre bien limité.

Description histologique

Il s'agit d'une tumeur nodulaire assez bien limitée, faite d'une prolifération tumorale d'architecture acineuse majoritaire à laquelle s'associe quelques aspects papillaires. Les cellules tumorales sont de taille intermédiaire, cylindro-cubiques au noyau arrondi ou ovalaire peu irrégulier renfermant un ou plusieurs nucléoles bien visibles. Le cytoplasme éosinophile est dépourvu de mucus (coloration de bleu alcian négative). L'index mitotique est faible. Il n'y a pas de territoire de nécrose tumorale ni embolie vasculaire ou engainement nerveux. La tumeur arrive au contact de la limitante élastique interne du feuillet pleural viscéral. L'examen du parenchyme pulmonaire adjacent montre un emphysème sous pleural et des dépôts anthracosiques.

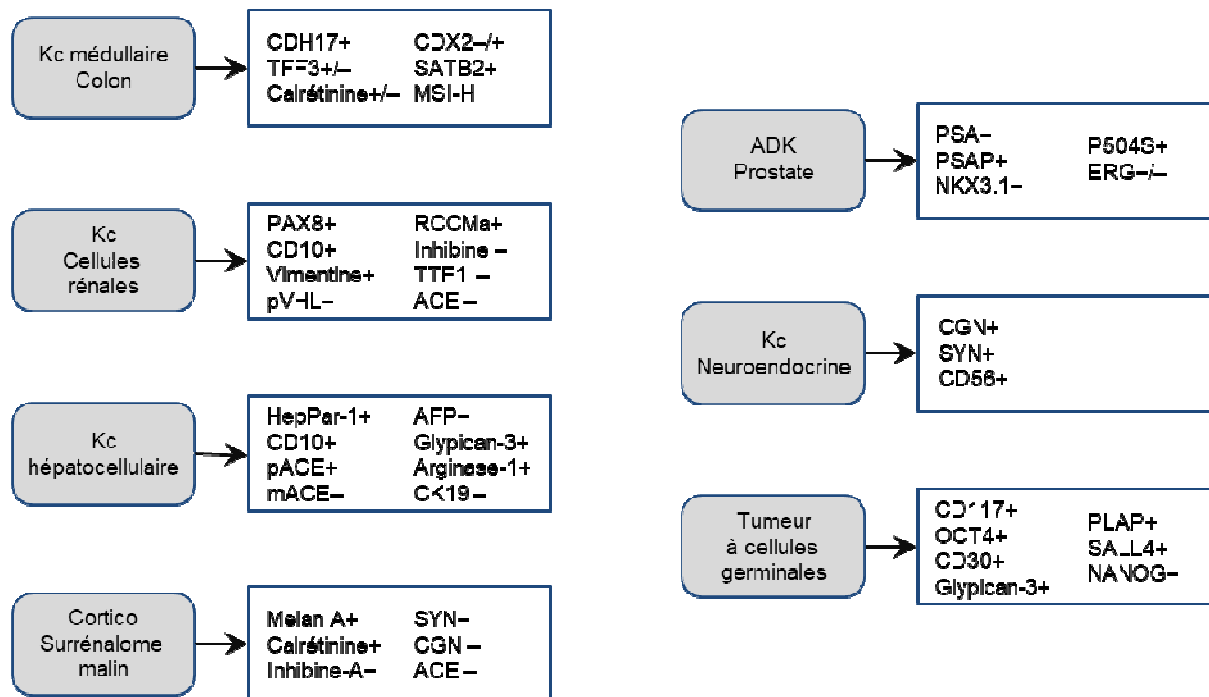
Profil IHC : TTF1-, CK7-, CK20-, PSA-, PAX8-, CD10 non contributif, Vimentine +, PSAP+

Commentaires

Devant une morphologie d'adénocarcinome, le profil CK7-/CK20- permet d'exclure une origine primitive pulmonaire. Une origine prostatique ou rénale peut être évoquée. Le poumon est le premier site métastatique des cancers du rein [1], la fréquence des métastases pulmonaire d'origine rénale est de l'ordre de 10%. Les métastases pulmonaires de cancers de

prostate sont moins fréquentes (environ 2%), néanmoins il faut savoir évoquer une origine prostatique devant une métastase pulmonaire d'un adénocarcinome.

Figure 1. Principaux phénotypes des métastases révélatrices d'un carcinome CK7-/CK20-.



En l'absence de renseignements cliniques, l'origine prostatique peut être suspectée sur la morphologie en cas de prolifération tumorale bien limitée, agencée en petites structures tubulaires constituée de cellules de taille moyenne peu atypiques présentant des nucléoles proéminents. La nécrose, les mitoses et les emboles vasculaires sont généralement rare ou absent. L'utilisation des anticorps anti-PSA et anti-PSAP permet la confirmation de l'origine prostatique dans la majorité des cas [2].

- Le PSA (prostate-specific antigen) est exprimé dans le tissu prostatique normal ainsi que dans la majorité des adénocarcinomes prostatiques [3]. Cependant, en cas de carcinome de haut grade ou peu différencié ainsi que dans certains types histologiques (carcinome à petites cellules) ces marqueurs peuvent être négatifs. De plus, on peut observer une perte d'expression de PSA dans 10 à 20% des métastases ainsi qu'après traitement par hormonothérapie. Enfin, l'expression de PSA a été observée dans des carcinomes d'autres origines comme les cancers des glandes salivaires ou du sein [4].

- Le PSAP (prostatic specific acid phosphatase) ou PAP (Prostatic acid phosphatase) peut-être un bon marqueur additionnel. Il est également exprimé dans le tissu prostatique

normal et la majorité des adénocarcinomes. Il serait moins spécifique que PSA pouvant être exprimé dans les tumeurs neuroendocrines (pancréas, tumeur carcinoïde digestive), les carcinomes urothéliaux ou cloacogénique [5].

- D'autres marqueurs décrits comme très spécifiques de l'origine prostatique peuvent également être utilisés seul ou en association pour déterminer l'origine prostatique : p501s (prostein), PSAM (prostate-specific membrane antigen), et NKX3.1 [6]. Récemment la détection de la protéine ERG (liée à la présence du gène de fusion TMPRSS2-ERG, altération moléculaire la plus fréquente et spécifique des cancers de prostate) est apparue comme un argument diagnostique complémentaire dans les cancers de primitif inconnu, puisqu'elle est détectée dans environ 30% des métastases prostatiques [7]. Enfin, le récepteur aux androgènes est un marqueur peu spécifique, exprimé dans de nombreuses tumeurs (carcinome mammaire, carcinome sébacé ...) et ne saurait être utilisé seul pour affirmer le diagnostic [8].

Le profil CK7-/CK20- doit également faire éliminer une métastase d'un carcinome rénal à cellules claires. Les métastases pulmonaires d'origine rénale sont souvent peu différenciées ou peuvent présenter des caractéristiques morphologiques différentes du primitif. Un panel d'anticorps associant CK7 et CK20, Vimentine, RCC marker, CD10 et CAIX permet le plus souvent de confirmer l'origine rénale [9]. PAX8 (facteur de transcription impliqué dans le développement embryonnaire rénal, thyroïdien et mullerien) est un marqueur sensible mais peu spécifique. Une expression de PAX8 a entre autre été observée dans les carcinomes d'origine rénale, thyroïdienne, ovarienne, endométrial, ou utérine [10].

Points importants à retenir

- Savoir identifier les métastases pulmonaires pour lesquelles il existe un traitement spécifique
- Le profil CK7-/CK20- permet d'exclure une origine primitive pulmonaire
- L'expression des antigènes de prostate pouvant s'avérer négative dans les métastases d'origine prostatique ou après traitement par hormonothérapie un panel associant plusieurs marqueurs peut s'avérer nécessaire.

REFERENCES

[1] Johnsen JA, Hellsten S. Lymphatogenous spread of renal cell carcinoma: an autopsy study. J Urol 1997;157:450-3.

- [2] Molinié V. The role of the pathologist in the diagnosis of metastases from urological malignancies. *Prog Urol* 2008;18:S178-195.
- [3] Sheridan T, Herawi M, Epstein JI, Illei PB. The role of P501S and PSA in the diagnosis of metastatic adenocarcinoma of the prostate. *Am J Surg Pathol* 2007;31:1351–5.
- [4] Carder PJ, Speirs V, Ramsdale J, Lansdown MR. Expression of prostate specific antigen in male breast cancer. *J Clin Pathol* 2005;58:69–71.
- [5] Graddis TJ, McMahan CJ, Tamman J, Page KJ, Trager JB. Prostatic acid phosphatase expression in human tissues. *Int J Clin Exp Pathol* 2011;4:295–306.
- [6] Queisser A, Hagedorn SA, Braun M, Vogel W, Duensing S, Perner S. Comparison of different prostatic markers in lymph node and distant metastases of prostate cancer. *Mod Pathol* 2015;28:138-45.
- [7] Navaei AH, Walter BA, Moreno V, Pack SD, Pinto P, Merino MJ. Possible Role in Diagnosis and Therapy. ERG Since TMPRSS2-ERG rearrangements, leading to an ETS-related gene (ERG) overexpression. *J Cancer* 2017;8:2604-13.
- [8] Downes MR, Torlakovic EE, Aldaoud N, Zlotta AR, Evans AJ, van der Kwast TH. Diagnostic utility of androgen receptor expression in discriminating poorly differentiated urothelial and prostate carcinoma. *J Clin Pathol* 2013;66:779–86.
- [9] Skinnider BF, Amin MB. An immunohistochemical approach to the differential diagnosis of renal tumors. *Semin Diagn Pathol* 2005;22:51–68.
- [10] Ozcan A1, Shen SS, Hamilton C, Anjana K, Coffey D, Krishnan B, Truong LD. PAX 8 expression in non-neoplastic tissues, primary tumors, and metastatic tumors: a comprehensive immunohistochemical study. *Mod Pathol* 2011;6:751-64.

Cas N°07 Marius Ilié

CHU de Nice

Renseignements cliniques

Homme de 64 ans. Apparition d'un nodule de 7 mm apical pulmonaire droit dans un contexte de tabagisme actif 50 PA. Antécédent de liposarcome pectoral droit 6 mois auparavant, traité par chirurgie et radiothérapie. Vidéothoroscopie du nodule du lobe pulmonaire supérieur droit.

Diagnostic

Métastase pulmonaire d'un adénocarcinome de l'ouraque.

Description macroscopique

Nodule périphérique sous pleural de 1 x 0,9 cm, assez bien limité, beige.

Description histologique

Il s'agit d'une tumeur assez bien limitée au centre déshabité, fibreux, hyalin et myxoïde. La tumeur s'agence sous forme d'îlots ou de massifs cohésifs creusés parfois de cavités glandulaires comblées d'une substance mucoïde parfois avec invagination du stroma. Les cellules tumorales sont assez monomorphes, de taille moyenne, au cytoplasme éosinophile, au noyau ovalaire, modérément anisocaryotique, doté d'un ou plusieurs nucléoles fins. La coloration de Bleu Alcian montre la présence de nombreuses vacuoles de mucus, d'une quantité assez importante de mucus extracellulaire et la prise de colorant par le stroma myxoïde. Profil IHC : AE1/AE3+, EMA+/-, CK7-, CK20-, TTF1-, p40-, CDX2+ (inconstant), GATA3-, CK34βE12+ (inconstant), PAX8-, SATB2-, AFP-, Synaptophysine-, PSA-, PSAP-, GCDFP15-, Calrétinine+ (inconstant), WT1-, CD117-, Inhibine A-, CD30-, PLAP-, CD99-, Melan A-, CD10+ (inconstant), Calcitonine-.

Sur le plan moléculaire, l'analyse NGS (Ion AmpliSeqCancer Hotspot Panel v2, ThermoScientific) n'a pas mis en évidence de mutation sur les 50 gènes analysés.

Commentaires

Les adénocarcinomes primitifs de l'ouraque sont extrêmement rares et ne représentent qu'environ 0,35% à 0,7% des néoplasmes de la vessie, et 22% à 35% des adénocarcinomes vésicaux. Ces tumeurs touchent environ 2,3 hommes pour une femme. L'âge moyen de découverte est de 50 ans (intervalle d'âge, 2 ans à 83 ans). Le diagnostic est souvent tardif (91%) à un stade évolué (Sheldon≥III) [1].

La symptomatologie de découverte n'est pas spécifique par rapport aux carcinomes urothéliaux se révélant le plus souvent par une hématurie ou une dysurie, plus rarement par une mucosurie [1]. Souvent, une métastase peut être révélatrice. Les localisations métastatiques les plus fréquentes sont situées dans les ganglions lymphatiques, les poumons, le péritoine, la paroi abdominale antérieure, l'os et les ovaires [2]. A l'inverse, les métastases pulmonaires ont une prévalence de 30% à 50% chez les patients porteurs d'une néoplasie extra thoracique. Les origines primitives les plus fréquentes sont mammaire, colique, gastrique, pancréatique, rénale, mélanocytaire, prostatique, hépatique, thyroïdienne, surrénalienne, génitale.

Les adénocarcinomes primitifs d'origine ouraquienne sont localisés au niveau du dôme vésical ou de la paroi postérieure. Ils se développent sur des restes ouraquiens, siège de lésions adénomateuses ou de lésions tumorales mucineuses kystiques. Le diagnostic de l'origine primitive ouraquienne de l'adénocarcinome repose sur la localisation caractéristique du néoplasme, avec plus rare association à des lésions de cystite kystique ou glandulaire également observées au niveau du dôme et de la paroi antérieure, le caractère plutôt exophytique solido-kystique et mucoïde de la masse tumorale, avec invasion de la paroi et conservant une nette délimitation avec la muqueuse vésicale qui peut être ulcérée [3, 4]. L'influence du type histologique, le plus souvent mucineux, sur le pronostic n'est pas déterminante contrairement au stade. Le traitement de référence est chirurgical, ces tumeurs étant peu chimiosensibles [1].

Lorsqu'elle est évoluée, la tumeur envahit la muqueuse vésicale et le diagnostic différentiel peut être difficile, avec une forme primitive muqueuse ou secondaire par extension à partir d'un organe de voisinage. Dans ces cas, le contexte clinique et la morphologie sont plus importants que le profil immunohistochimique [5].

Le diagnostic de l'origine ouraquienne repose sur des critères cliniques et morphologiques, le profil immunohistochimique étant le plus souvent très variable et peu spécifique, montrant des similitudes avec celui des adénocarcinomes extra-vésicaux. Le profil CK7/CK20 est peu informatif dans cette indication [3-5]. Le phénotype CK7+/CK20+ est observé dans 50% des adénocarcinomes de l'ouraqué, alors que près de 30% ne présentent pas de marquage par CK7, et un profil CK7-/CK20- peut être également exceptionnellement observé, ce qui peut représenter une difficulté dans le diagnostic différentiel [3-7].

Devant une prolifération épithéliale maligne ayant un profil CK7-/CK20-, il convient d'exclure une origine digestive, rénale, hépatique, corticosurrénalienne, germinale ou prostatique (Figure 1, Cas N°06). Le marqueur CDX2 n'apporte pas d'élément distinctif car exprimé dans les tumeurs glandulaires à différenciation intestinale quelle que soit leur origine. Une aide peut être apportée par l'expression de la β -caténine, de localisation nucléaire et membranaire dans les adénocarcinomes digestifs alors que seulement membranaire en cas d'adénocarcinome de l'ouraque [4]. La thrombomoduline est exprimée par la plupart des carcinomes urothéliaux et dans environ 60% des adénocarcinomes d'origine vésicale ouraquienne ou non-ouraquienne. Bien que positive dans d'assez nombreux autres carcinomes, elle est négative dans les adénocarcinomes digestifs. La CK34 β E12 est habituellement exprimée dans environ 60% des adénocarcinomes de l'ouraque, et dans seulement 10% des adénocarcinomes coliques [3]. La p63 est peu fiable car souvent perdue ou très focalement exprimée dans les adénocarcinomes de l'ouraque. GATA3 est un marqueur de différenciation urothéliale exprimé dans 70% à 90% des carcinomes urothéliaux, mais souvent perdu dans les adénocarcinomes primitifs vésicaux en dehors du sous-groupe à cellules isolées mucosécrétantes (40%). Il est également exprimé par un certain nombre d'adénocarcinomes extra-vésicaux, dont les carcinomes mammaires [8]. La perte d'expression membranaire de l'E-cadhérine avec localisation nucléaire aberrante est souvent associée à une évolution agressive de certains carcinomes dont l'adénocarcinome primitif de l'ouraque [4].

Compte tenu du phénotype immunohistochimique très hétérogène de cette entité, des études récentes ont été réalisées afin de découvrir de nouveaux marqueurs diagnostiques ou thérapeutiques sur le plan moléculaire. En plus des mutations activatrices du gène *FGFR3*, ces tumeurs peuvent comporter des insertions/délétions sur des gènes tels qu'*APC*, *COL5A1*, *KIF26B*, *LRP1B*, *SMAD4* et *TP53* [9]. Plus récemment, il a été montré qu'elles partagent des caractéristiques moléculaires avec les carcinomes colorectaux, telles que l'amplification du gène *EGFR* et le phénotype sauvage de *KRAS*, pouvant avoir des implications thérapeutiques et la possibilité d'un traitement par le cetuximab [10].

Points importants à retenir

- Les localisations métastatiques les plus fréquentes de l'adénocarcinome de l'ouraque sont situées dans les ganglions lymphatiques, les poumons, le péritoine, la paroi abdominale antérieure, l'os et les ovaires.

- La difficulté diagnostique d'une métastase d'origine ouraquienne repose sur l'extrême rareté de ce néoplasme, le profil immunohistochimique variable et peu spécifique, montrant des similitudes avec celui des adénocarcinomes extra-vésicaux.
- Les marqueurs CK7, CK20, CDX2, p63 et GATA3 sont peu informatifs dans cette indication.
- Une aide diagnostique peut être apportée par l'expression membranaire de la β -caténine, la positivité de la thrombomoduline et de la CK34 β E12.
- Le traitement de référence de la tumeur primitive est chirurgical, ces tumeurs étant peu chimiosensibles.

Remerciements

Remerciements aux Docteurs Isabelle Birtwisle-Peyrottes (Centre Antoine Lacassagne, Nice) et Françoise Tanguy (Medipath, Mougins) pour leur collaboration.

REFERENCES

- [1] Szarvas T, Módos O, Niedworok C, Reis H, Szendrői A, Szász MA, Nyirády P. Clinical, prognostic, and therapeutic aspects of urachal carcinoma-A comprehensive review with meta-analysis of 1,010 cases. *Urol Oncol* 2016;34:388-98.
- [2] Aly FZ, Tabbarah AZ, Voltaggio L. Metastatic urachal carcinoma in bronchial brush cytology. *Cytojournal* 2013; 31:10-1.
- [3] Gopalan A, Sharp DS, Fine SW, Tickoo SK, Herr HW, Reuter VE, Olgac S. Urachal carcinoma: a clinicopathologic analysis of 24 cases with outcome correlation. *Am J Surg Pathol* 2009;33:659-68.
- [4] Lindner V. Bladder tumor histoseminar - Case 7: Primary urothelial adenocarcinoma. *Ann Pathol* 2016;36:398-403.
- [5] Rao Q, Williamson SR, Lopez-Beltran A, Montironi R, Huang W, Eble JN, et al. Distinguishing primary adenocarcinoma of the urinary bladder from secondary involvement by colorectal adenocarcinoma: extended immunohistochemical profiles emphasizing novel markers. *Mod Pathol* 2013;26:725-32.
- [6] Amin MB, Trpkov K, Lopez-Beltram A, Grignon D. Best practices recommendations in application of immunohistochemistry in the bladder lesions. Report from the international society of urologic pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol* 2014;38:e20-e34.

- [7] Thirunavukkarasu B, Mridha AR, Yadav S, Kumar R, Gamanagatti S. Fine Needle Aspiration Cytology Diagnosis of an Urachal Adenocarcinoma. *J Clin Diagn Res* 2016;10:ED10-2.
- [8] Ellis CL, Chang AG, Cimino-Mathews A, Argani P, Youssef RF, Kapur P et al. GATA3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of adenocarcinoma of the urinary bladder. *Am J Surg Pathol* 2013;37:1756-60.
- [9] Lee S, Lee J, Sim SH, Lee Y, Moon KC, Lee C, et al. Comprehensive somatic genome alterations of urachal carcinoma. *J Med Genet* 2017;54:572-8.
- [10] Collazo-Lorduy A, Castillo-Martin M, Wang L, Patel V, Iyer G, Jordan E, et al. Urachal Carcinoma Shares Genomic Alterations with Colorectal Carcinoma and May Respond to Epidermal Growth Factor Inhibition. *Eur Urol* 2016;70:771-5.

Cas N°08 Marie-Christine Mathieu

Institut Gustave Roussy, Villejuif

Renseignements Cliniques

Femme de 55, non fumeuse, sans antécédents personnel ou familiaux. Consulte pour des douleurs abdominales et dorso-lombaires. Le bilan met en évidence des adénopathies latéro-aortiques, lombo-aortiques et médiastinales, des métastases hépatiques, pulmonaires et osseuses et une hyperfixation nasopharyngée. Le bilan ORL est normal. Biopsie d'un nodule hépatique.

Diagnostic

Métastase hépatique d'un adénocarcinome moyennement différencié évocateur d'une origine excréto-pancréato-biliaire ou digestif haut.

Description histologique

Il existe une prolifération tumorale carcinomateuse agencée en formations glandulaires, en massifs poly-adénoïdes. Les cellules sont cubiques ou cylindriques avec un noyau situé au pôle basal. Leur noyau est arrondi ou ovalaire de taille moyenne, comporte un nucléole bien visible. Leur cytoplasme est clair et contient des vacuoles. Les limites cytoplasmiques sont bien visibles. L'index mitotique est faible. L'absence de noyaux allongés, hyperchromatiques, pluristatifiés et de cytoplasme basophile n'est pas en faveur d'un « type intestinal ». La coloration de PAS après diastase et la coloration de Bleu Alcian ne met pas en évidence de mucosécrétion. Le stroma est fibreux, assez abondant.

Phénotype : CK7+, CK20-, CK19+, MUC1+, TTF1-, RH-, GATA3-, CDX2-, MUC2-, MUC4-, MUC5AC-, WT1-, SATB2-, PAX8-, p16-.

Analyse moléculaire complémentaire

Une analyse moléculaire du profil d'expression de 92 gènes (CancerTYPEID®, Biotheranostics, San Diego, USA) a été demandée afin de préciser le site tumoral initial. Il conclut à un cholangiocarcinome avec une probabilité de 90%. Ce test a été réalisé dans le cadre du protocole GEFCAPI04 qui compare un traitement standard à un traitement adapté au site tumoral primitif proposé par le test.

Commentaires

Cette tumeur moyennement différenciée à cellules claires CK7+/CK20- exprime aussi MUC1 et CK19 qui sont des anticorps peu discriminants car généralement positifs dans les tumeurs CK7+ [1]. L'aspect histologique et le profil CK7+/CK20- n'est pas en faveur d'une origine

colique. Parmi les adénocarcinomes de profil CK7+/CK20-, l'aspect histologique associé à l'immunohistochimie ne sont pas en faveur d'une origine primitive ovarienne (WT1-), endométriale (PAX8-), urothéliale (GATA3+), pulmonaire (TTF1-), mammaire (RE, GATA3-). L'absence d'expression de p16 n'est pas en faveur d'un adénocarcinome du col utérin.

Les origines primitives les plus probables sont excréto-pancréato-biliaire ou gastrique. Le profil moléculaire est concordant avec l'analyse histologique mais précise le type : cholangiocarcinome (90% de concordance) et exclut l'adénocarcinome pancréatique (<5% de probabilité).

D'un point de vue histologique, on ne peut différencier un carcinome excréto-pancréatique d'un cholangiocarcinome. Il a été décrit un phénotype plus fréquent dans les cholangiocarcinomes: MUC5AC- CK17- pVHL+ S100P-, le carcinome excréto-pancréatique étant plutôt MUC5AC+, CK17+/-, pVHL- S100P+ mais l'intérêt en pratique reste à définir [2].

Malgré les avancées de l'imagerie, les cancers de primitif inconnu (CAPI) représentent 2% des cancers de l'adulte ; ce sont des formes graves (survie moyenne <12 mois) et hétérogènes. Le phénotype CK7+CK20- est le plus fréquent (60%) des adénocarcinomes d'origine inconnue ; il a été choisi pour introduire les nouvelles techniques qui peuvent compléter l'analyse histologique dans les formes indifférenciées, peu différenciés ou sans phénotype spécifique d'une origine. Une analyse moléculaire peut permettre d'orienter vers une origine primitive. Un traitement adapté au cancer d'origine pourrait alors être proposé au patient.

Dans les années 2000, il a été montré que les cancers avaient des profils d'expression génique différents selon leur siège, reflétant le profil d'expression des tissus normaux dont ils dérivent. Plusieurs signatures utilisant une reverse transcriptase polymérase chain reaction (RT-PCR) ou un gene microarray ont été proposées. Ces tests, validés sur des banques de tumeurs de primitif connu, permettent de proposer l'origine d'un CAPI en analysant le taux de concordance de son profil génomique avec celui d'une métastase d'origine connue.

Le test d'expression de 92 gènes par RT-PCR (CancerTYPEID®) permet de bien identifier le cancer primitif pour des métastases d'origine connue dans 85% des cas et pour des CAPI dont le primitif a été secondairement retrouvé dans 15/20 cas (75%) [3, 4]. Dans une série prospective de 247 CAPI, il donne un profil moléculaire permettant de prédire l'origine du cancer dans 98% des tumeurs analysées [5]. On note un taux d'échec de la technique de 13 %

par insuffisance de matériel. Les sites primitifs les plus fréquents sont biliaires, urothélial, colorectal et pulmonaire (cancer non à petites cellules (CNPC)) ; ils représentent 55% des patients. L'origine primitive est donnée avec une probabilité supérieure à 80% dans 48% des cas. Quand le test prédit un type de cancers plus sensible au traitement, la survie médiane est significativement améliorée comparée aux autres types tumoraux (13,4 vs 7,6 mois respectivement ; $P=0.04$).

Cet essai prospectif ne permet pas de savoir, si un traitement adapté à la tumeur primitive suggérée par l'analyse moléculaire, change le pronostic du patient. Le protocole randomisé GEFCAPI04 actuellement en cours a pour objectif de répondre à cette question [6]. Il compare le pronostic de patients ayant un traitement adapté à l'origine primitive de la tumeur après analyse moléculaire à celui du traitement standard de référence Cisplatine - Gemcitabine. Le test utilisé CancerTYPEID® se fait sur coupe de tissu fixé et inclus en paraffine contenant au moins 300 cellules (à l'exclusion des prélèvements osseux décalcifiés). Les résultats présentent la localisation de la tumeur primitive ayant le taux de probabilité le plus élevé et les localisations qui peuvent être exclues.

Plus récemment, un test basé sur l'analyse de la méthylation de l'ADN (EPICUP®) par technique micorarray a été proposé [7]. Ce test, validé sur 2790 tumeurs de primitif connu, suggère une origine primitive dans 87% des 216 cas de métastases de primitif inconnu analysées. Les sites primitifs les plus fréquents sont par ordre pulmonaire (CNPC), voies biliaires, voies aérodigestives supérieures, sein, colon, foie, pancréas.

Actuellement une autre stratégie se met en place. L'identification de mutations génétiques pourrait permettre de proposer une thérapeutique adaptée non sur le site primitif mais ciblée sur ces altérations. Il est montré par séquençage à haut débit (NGS) (FoundationOne®, Foundation Medicine, Cambridge, USA) de 237 gènes que presque tous le CAPI (96%) ont au moins une altération génétique, la moyenne étant de 4 par tumeur [8]. Parmi celles-ci, environ 85% ont une altération qui pourrait être utilisée pour le choix d'un traitement. Par exemple, une altération de la voie RTK/Ras est observée dans 72% des adénocarcinomes CAPI. Une étude prospective est nécessaire pour déterminer l'intérêt de cette stratégie.

Il faut toutefois noter que la recherche de cibles thérapeutiques ne doit pas remplacer la recherche d'une origine primitive par le pathologiste d'autant que l'efficacité d'un traitement ciblé sur une mutation peut varier selon la localisation du cancer.

Outre le diagnostic, le pathologiste a un rôle important à jouer dans la bonne gestion du matériel souvent biopsique qui lui est confié. Une des principales causes d'échec (15 à 25 %) des analyses moléculaires est la trop faible quantité de tumeur. Il est souhaitable de prévoir des lames blanches avec le ruban de coupe pour les études immunohistochimiques et de faire l'étude immunohistochimique par étapes successives pour préserver le tissu.

Points importants à retenir

- Une approche moléculaire permet de rechercher l'origine d'un carcinome quand celui-ci est indifférencié ou n'exprime aucun marquage spécifique d'une origine.
- Le séquençage haut débit permet de mettre en évidence des altérations génétiques ayant une cible thérapeutique
- Ces nouvelles approches moléculaires sont coûteuses ; l'adaptation du traitement qui en découle doit permettre d'améliorer le pronostic des patients ce qui reste à démontrer.
- Le matériel histologique utilisé pour le diagnostic et le phénotypage doit être utilisé avec parcimonie si une analyse moléculaire est envisagée.

Remerciements

Remerciements aux Docteurs Peggy Dartigues, Zahira Merabet et au Pr Jean-Yves Scoazec pour leur collaboration.

REFERENCES

- [1] Lau SK, MD, Weiss LM, MD, Chu PG. Differential expression of MUC1, MUC2, and MUC5AC in carcinomas of various sites. An immunohistochemical study. *Am J Clin Pathol* 2004;122:61-9.
- [2] Lok T, Chen L, Lin F, Wang HL. Immunohistochemical distinction between intrahepaticcholangiocarcinoma and pancreatic ductal adenocarcinoma. *Hum Pathol* 2014;4:394-400.
- [3] Greco FA, Spigel DR, Yardley DA, Erlander MG, Ma XJ, Hainsworth JD. Molecular profiling in unknown primary cancer: accuracy of tissue of origin prediction. *Oncologist* 2010;15:500-6.

- [4] Ma XJ, Patel R, Wang X, Salunga R, Murage J, Desai R, et al. Molecular classification of human cancers using a 92-gene real-time quantitative polymerase chain reaction assay. *Arch Pathol Lab Med* 2006;130:465-73.
- [5] Hainsworth JD, Rubin MS, Spigel DR, Boccia RV, Raby S, Quinn R, et al. Molecular gene expression profiling to predict the tissue of origin and direct site-specific therapy in patients with carcinoma of unknown primary site: a prospective trial of the Sarah Cannon research institute. *J Clin Oncol* 2013;31:217-23.
- [6] clinicalTrials.gov NCT01540058 ; <https://clinicaltrials.gov/show/NCT01540058>
- [7] Moran S, Martínez-Cardús A, Sayols S, Musulén E, Balañá C, Estival-Gonzalez A, et al. Epigenetic profiling to classify cancer of unknown primary: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol* 2016;17:1386–95.
- [8] Ross JS, Wang K, Gay L, Otto GA, White E, Iwanik K, et al. Comprehensive Genomic Profiling of Carcinoma of Unknown Primary Site New Routes to Targeted Therapies. *JAMA Oncol* 2015;1:40-9.