

SOMMAIRE

Cas n°1 M-C Copin, Mésothéliome malin épithélioïde	p. 2
Cas n°2 M-C Copin, Mésothéliome malin desmoplastique	p. 10
Cas n°3 F Galateau-Salle, Mésothéliome malin épithélioïde diffus	p. 15
Cas n°4 J-C Sabourin, Mésothéliome papillaire bien différencié évoluant vers une forme maligne	p. 24
Cas n°5 S Moreno-Swirc, Mésothéliome plurikystique du péritoine	p. 28
Cas n°6 J-C Noël, Tumeur séreuse borderline extra-ovarienne du Douglas	p. 32
Cas n°7 M Devouassoux-Shisheboran, Endométriose polypoïde pelvienne	p. 36
Cas n°8 R Barnoud, Tumeur desmoplastique à petites cellules rondes	p. 40

Observation n° 1 Marie-Christine Copin (Lille).

Renseignements cliniques

Homme de 69 ans. Suivi et indemnisé pour des plaques pleurales bilatérales depuis 2003. Amaigrissement associé à une dyspnée et à des douleurs thoraciques depuis trois semaines. Epanchement pleural gauche récidivant. Biopsie pleurale chirurgicale.

Diagnostic proposé

Mésothéliome malin épithélioïde.

Description macroscopique

Plèvre épaisse, mamelonnée, de consistance ferme.

Description histologique

Prolifération tumorale d'architecture massive ou acineuse constituée de cellules de morphologie épithélioïde, au cytoplasme abondant, éosinophile, au noyau rond à chromatine claire contenant un nucléole bien visible. Rares vacuoles alcianophiles intracytoplasmiques. Nombreuses mitoses. Stroma abondant, fibreux. Infiltration tumorale de la graisse pleurale pariétale. Infiltrat lymphocytaire dense en regard. Présence d'une plaque fibreuse entre la graisse pleurale pariétale et la tumeur.

Expression immunohistochimique par les cellules tumorales, nucléaire et cytoplasmique intense de la calrétinine, cytoplasmique intense de la cytokératine 5. Absence de marquage des cellules tumorales avec les anticorps anti-TTF-1 et Ber-EP4.

Commentaires

Ce texte reprend certaines des recommandations faites par la Société de Pneumologie de Langue Française (SPLF) sur le mésothéliome pleural accessibles sur le site de la SPLF http://www.splf.org/rmr/pdfNR/Reco_SPLF_MPM_texte_court_23Jan06.pdf

1- Epidémiologie

Selon les données du Groupe MESOPATH (Groupe anatomopathologique d'aide au diagnostic du Mésothéliome), la plèvre est la localisation la plus fréquente (90%), les localisations péritonéale et de la vaginale testiculaire étant plus rares respectivement 6% et 3% des cas et moins de 1% des cas pour la localisation péricardique. La grande majorité des mésothéliomes pleuraux (environ 90%) sont directement la conséquence d'une exposition

antérieure à l'amiante contre 60% des cas pour le mésothéliome péritonéal. En France, la mortalité par mésothéliome chez les hommes entre 50 et 79 ans va continuer à augmenter pour atteindre un pic de 1140 décès en 2030 à 1300 en 2040. Le délai entre le début de l'exposition à l'amiante et le diagnostic de mésothéliome est de 20 à 40 ans. D'autres facteurs sont incriminés dans la survenue du mésothéliome tels que l'érionite dans certains villages de Turquie, les radiations ionisantes et enfin plus controversé, le virus SV40 (simian virus 40) chez des patients ayant reçu un vaccin anti-polyomyélitique contaminé.

2 - Caractéristiques cliniques

Les signes cliniques les plus fréquents sont une dyspnée et une douleur thoracique, éventuellement associées à un amaigrissement. La dyspnée est liée à un épanchement pleural typiquement unilatéral, récidivant, exsudatif et hémorragique. Un pneumothorax est rarement révélateur. Les signes radiologiques sont un épaississement pleural, un épanchement ou des masses pleurales. Des plaques pleurales sont mises en évidence dans l'hémithorax controlatéral dans 1/3 des cas parfois associées à une fibrose interstitielle des lobes inférieurs et moyen. Plus rarement un carcinome pulmonaire primitif est détecté concomitamment.

3- Macroscopie

A un stade précoce, l'épanchement pleural est associé à de minimes granulations de la taille d'une tête d'épingle ou à des nodules isolés ou disséminés sur la surface de la plèvre pariétale et/ou viscérale. Ces nodules deviennent peu à peu coalescents jusqu'à engainer le poumon. Le mésothéliome a généralement un aspect discrètement mamelonné en surface de la plèvre. A la coupe, il est de consistance charnue, de teinte blanche et peut avoir une consistance visqueuse s'il produit de grandes quantités d'acide hyaluronique.

Il n'envahit pas initialement le poumon, la tumeur se développant le long des septa interlobaires et lobulaires. A terme, il peut envahir les structures médiastinales. Le mésothéliome métastase dans plus de 50% des cas, par voie lymphatique vers les ganglions du hile et du médiastin, au niveau de la plèvre viscérale et du poumon controlatéral, vers le péritoine directement au travers du diaphragme et à distance (cerveau, os, foie, surrénales).

Une forme rare de cancer primitif du poumon a un mode d'extension analogue au mésothéliome, l'adénocarcinome pseudo-mésothéliomateux, également de pronostic très défavorable. D'autres types tumoraux tels que les hémangio-endothéliomes épithélioïdes, les thymomes, les mélanomes et les lymphomes peuvent mimer macroscopiquement le mésothéliome.

4 - Moyens diagnostiques

L'épanchement pleural étant au premier plan du tableau clinique, la cytologie est souvent le premier examen réalisé dans la démarche diagnostique. L'épanchement pleural est de type exsudatif et de consistance visqueuse s'il y a production de grandes quantités d'acide hyaluronique. Le diagnostic de certitude est exceptionnellement apporté par l'examen cytologique seul. En effet, lorsque les cellules malignes mésothéliales sont très bien différenciées, il est très difficile de les distinguer de cellules mésothéliales réactionnelles. D'autre part, les cellules du mésothéliome malin peuvent revêtir un aspect pseudo carcinomateux. Néanmoins dans la moitié des cas, le liquide pleural contient de nombreux amas tumoraux massifs ou tubulo-papillaires. L'étude immunohistochimique réalisée à partir du culot inclus en paraffine permet alors un diagnostic plus précis sous réserve d'un contexte clinique et radiologique approprié. La recommandation de la conférence d'experts sur le Mésothéliome (SPLF, janvier 2006) est de ne pas certifier un diagnostic de mésothéliome, sur une cytologie seule, en raison d'un risque trop important d'erreur diagnostique.

De la même façon, le diagnostic de certitude ne peut être posé sur biopsie à l'aiguille fine (aiguilles d'Abrams ou de Castelain) que si le matériel est représentatif de la tumeur et en quantité suffisante pour permettre une analyse immunohistochimique complète.

Le diagnostic de mésothéliome et le diagnostic différentiel avec d'autres cancers ou des lésions réactionnelles nécessitent un matériel tissulaire suffisant obtenu par thoracoscopie ou biopsie chirurgicale. En présence de plaques fibrohyalines, des biopsies en bordure de la plaque sont indispensables. La seule indication de l'examen extemporané est de juger, si nécessaire, de la représentativité du prélèvement pour le diagnostic.

5 - Aspects histopathologiques

La nouvelle classification de l'OMS 2004 identifie deux groupes de mésothéliome malin conventionnel : une forme diffuse et une forme localisée, d'une part, et les tumeurs d'origine mésothéliale, d'autre part. Les mésothéliomes pleuraux malins diffus ou localisés, ces derniers étant beaucoup plus rares, sont subdivisés en quatre types histologiques : la forme d'aspect épithélial dite épithélioïde, la forme d'aspect sarcomateux dite sarcomatoïde, la forme desmoplastique très fibreuse, pauvre en cellules fusiformes et la forme biphasique comportant à la fois des aspects épithélioïdes et des aspects sarcomatoïdes. Pour porter le diagnostic de mésothéliome malin biphasique, il est nécessaire que chaque composante représente au minimum 10% de la tumeur.

Le mésothéliome de type épithélioïde est constitué de cellules de morphologie épithélioïde, à cytoplasme éosinophile, agencées en tubes, en acini, en papilles ou en cordons. Les mitoses sont habituellement peu nombreuses. La variabilité morphologique est grande d'une tumeur à l'autre et au sein d'une même tumeur, représentée par les formes tubulopapillaires et les formes acineuses morphologiquement très proches des adénocarcinomes étendus à la plèvre. Les variantes inhabituelles ne sont pas intégrées dans la nouvelle classification de l'OMS, en l'absence de consensus et de preuve de leur pertinence clinique. Dans la forme histiocytoïde, les cellules tumorales ressemblent à des macrophages et dans la forme déciduoïde à des cellules endométriales déciduales. Certains mésothéliomes comportent des remaniements kystiques ou des plaques alcianophiles d'acide hyaluronique dans lesquelles baignent les cellules tumorales ; d'autres contiennent des vacuoles cytoplasmiques conférant à la cellule une morphologie en chaton de bague ou sont au contraire peu différenciés, parfois à cellules géantes. Le diagnostic positif de mésothéliome épithélioïde nécessite une analyse immunohistochimique systématique qui a considérablement amélioré la qualité de ce diagnostic. Elle est abordée dans le chapitre « diagnostic différentiel ».

La microscopie électronique est un examen onéreux, exceptionnellement réalisé pour valider le diagnostic de mésothéliome. Il conserve toute sa valeur dans les tumeurs d'aspect épithélial quand l'analyse immunohistochimique n'est pas contributive et dans certaines tumeurs d'aspect sarcomatoïde. La présence de micro-villosités longues et fines est un argument fort en faveur du diagnostic de mésothéliome.

Il n'y a pas d'indication à congeler du tissu pleural tumoral à des fins sanitaires (diagnostique et thérapeutique). En revanche, il est recommandé de congeler du matériel tissulaire au titre de la recherche pour l'amélioration de la connaissance (marqueurs de progression tumorale, marqueurs de résistance à la chimiothérapie, mise en place de thérapies ciblées).

6 - Diagnostic différentiel

L'étude immunohistochimique est indispensable pour différencier un mésothéliome d'une métastase d'un adénocarcinome qu'il soit d'origine pulmonaire, mammaire, rénale, pancréatique, ovarienne ou vésicale. Le Panel International des Mésothéliomes a formulé des recommandations reprises par la conférence d'experts de la SPLF 2006. Celles ci sont d'utiliser au minimum deux marqueurs de valeur diagnostique positive pour le diagnostic de mésothéliome, tels que l'anti-calrétinine (signal nucléaire et cytoplasmique, mais seul le

signal nucléaire a une valeur diagnostique), anti-WT1 (signal nucléaire), anti-EMA (signal membranaire), anti-CK5/6 (signal cytoplasmique) et deux marqueurs de valeur diagnostique négative dits marqueurs de carcinomes : Ber-EP4 (signal membranaire), anti-TTF1 (signal nucléaire), anti-RO et anti-RP (signal nucléaire), anti-ACE (anticorps monoclonal ; marquage cytoplasmique), B72-3 (marquage cytoplasmique), anti-EMA (marquage cytoplasmique). Parmi tous les anticorps identifiants des antigènes exprimés par la cellule mésothéliale, l'anti-calrétinine est le plus spécifique montrant un marquage nucléaire et cytoplasmique de la grande majorité des cellules tumorales (70%), bien que de façon hétérogène. Comme pour tous les antigènes nucléaires un démasquage antigénique prolongé est nécessaire (tel que 15 minutes en autocuiseur) pour éviter des faux négatifs. Un signal moins intense et plus focal peut être observé avec cet anticorps dans de nombreux cancers, justifiant dans les cas douteux d'augmenter le nombre d'anticorps utilisés par rapport à la batterie minimale préconisée. Ainsi chez une femme, en cas de doute diagnostique, *a fortiori* s'il existe des antécédents de carcinome mammaire, un immunomarquage par l'anticorps anti-récepteur aux oestrogènes est systématiquement réalisé, XX% des carcinomes mammaires exprimant la calrétinine. De même 30% des adénocarcinomes bronchiques primitifs expriment également la calrétinine, mais aussi et pour 80% d'entre eux l'antigène TTF-1 de très grande spécificité. Il faut également avoir connaissance du fait que les cancers urothéliaux de haut grade, bien que métastasants rarement à la plèvre, ont le même profil immunohistochimique que les mésothéliomes épithélioïdes (expression forte de la calrétinine et des cytokératines 5/6). En dehors de l'adénocarcinome, le mésothéliome de type épithélioïde peut être morphologiquement proche de la métastase pleurale d'un mélanome malin, d'un thymome ou de la localisation pleurale d'un hémangioendothéliome épithélioïde nécessitant le recours à des immunomarquages complémentaires adaptés. Les variantes morphologiques inhabituelles peuvent être source de difficultés diagnostiques particulières, ainsi la variante lymphohistiocytoïde peut mimer un lymphome non hodgkinien, la variante à cellules claires la métastase d'un cancer du rein, la forme microkystique une exceptionnelle localisation pleurale de tumeur adénomatoïde ou encore la forme à cellules géantes un carcinome pléiomorphe. La connaissance par le pathologiste de la présentation clinique, des antécédents du patient (notamment de carcinome), d'un contexte d'exposition à l'amiante et des données de l'imagerie, sont indispensables, tout particulièrement dans ces variantes de diagnostic délicat.

Le mésothéliome papillaire superficiel bien différencié est une forme rare, à distinguer du mésothéliome conventionnel de type épithélioïde d'architecture papillaire. A l'examen

endoscopique elle se présente comme un semi de fines granulations millimétriques (1 à 2mm). Histologiquement il s'agit d'une prolifération mésothéliale superficielle d'architecture papillaire, comportant très peu d'atypies cytonucléaires, caractérisée par sa propension à diffuser à la surface de la plèvre sans infiltrer le tissu pleural sous jacent. Cette lésion est associée à une longue survie et correspond à une maladie indolente de la plèvre. Elle est interprétée comme une prolifération de malignité intermédiaire. Cependant, à terme on assiste à la survenue d'une infiltration des structures sous jacentes, alors associé à une évolution clinique plus agressive.

7 - Anomalies génétiques

Le délai particulièrement long de développement du mésothéliome suggère que de multiples altérations génétiques sont nécessaires à la transformation d'une cellule mésothéliale normale en une cellule maligne. Des études expérimentales montrent que les fibres d'amiante ont une action directe sur la ségrégation de la chromatine au cours de la mitose aboutissant à une aneuploïdie. La plupart des mésothéliomes ont plus de dix anomalies chromosomiques clonales, en particulier des délétions intéressant les bras courts des chromosomes 1, 3, 9 et du bras long du chromosome 6, mais sans anomalie récurrente identifiée. L'anomalie la plus fréquente est une perte d'une copie entière du chromosome 22. Actuellement, l'implication des gènes suppresseurs de tumeurs P16^{INK4A}, P53 et NF2 a été montrée.

8 - Evolution et pronostic

Quelque soit le type histopathologique, la plupart des patients décèdent dans l'année qui suit le diagnostic. Les facteurs de meilleur pronostic sont le type histologique épithélioïde, le jeune âge, un stade localisé au diagnostic, l'absence de douleur thoracique et l'appartenance au sexe féminin avant 50 ans.

Aucun traitement curatif n'existe actuellement. Lorsque la maladie est localisée à la cavité pleurale, la pleuropneumectomie reste le seul traitement de référence.

La France a mis en place dans le cadre de son programme national de surveillance des mésothéliomes (PNSM 1998-2007) sous l'égide de l'Institut National de Veille Sanitaire une procédure de validation du diagnostic par le Groupe Mesopath. Le groupe Mesopath a globalement confirmé le diagnostic de mésothéliome fait par le pathologiste initial dans 69% des cas et définitivement rejeté ce diagnostic dans 13% des cas. Le diagnostic est resté incertain (aucun élément fiable ne permettant d'affirmer définitivement le diagnostic ou de le réfuter) dans environ 17% des cas. Il est recommandé de demander une relecture par le

groupe Mesopath pour les patients inclus dans des essais thérapeutiques randomisés ou en cas de doute diagnostique compte tenu de la déclaration en maladie professionnelle et de l'indemnisation qui en découlent.

Points importants à retenir

- Le mode d'infiltration qui s'effectue sous forme d'un épaissement pleural diffus et mamelonné caractéristique mais non spécifique (observé également dans d'autres cancers : adénocarcinome pseudomésothéliomateux, sarcomes...)
- Il est recommandé de ne pas certifier un diagnostic de mésothéliome, sur une cytologie seule, en raison d'un risque trop important d'erreur diagnostique.
- La nécessité d'un matériel tissulaire biopsique suffisant obtenu par thoracoscopie ou biopsie chirurgicale (chaque fragment doit être soigneusement inclus sur la tranche pour apprécier au mieux l'invasion)
- La grande variabilité morphologique du mésothéliome épithélioïde
- La nécessité incontournable d'une étude immunohistochimique pour différencier un mésothéliome d'une localisation pleurale d'un adénocarcinome, en utilisant au minimum à deux marqueurs de valeur diagnostique positive pour le diagnostic de mésothéliome et deux marqueurs de valeur diagnostique négative dits marqueurs de carcinomes
- Avoir connaissance du Mésothéliome papillaire superficiel bien différencié, à distinguer du mésothéliome conventionnel de type épithélioïde d'architecture papillaire, car de bon pronostic.
- La connaissance par le pathologiste de la présentation clinique et radiologique et des antécédents oncologiques éventuels du patient au moment du diagnostic anatomopathologique est indispensable

Références

Allen T, Cagle PT, Churg AM, Colby TV, Gibbs AR, Hammar SP *et al.* Localized malignant mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 2005 ; 29 : 866-73.

Galateau-Sallé F, Vignaud JM, Burke L, Gibbs A, Brambilla E, Attanoos R *et al.* Well-differentiated papillary mesothelioma of the pleura: a series of 24 cases. *Am J Surg Pathol* 2004 ; 28 : 534-40.

Galateau-Sallé F. Apport de l'immunohistochimie pour le diagnostic en pathologie pleurale. Bulletin n°41 de la Division Française de l'Académie Internationale de Pathologie, juin 2005.

Galateau-Sallé F, Brambilla E, Cagle P, Colby TV, Churg A, Gibbs AR *et al.* Pathology of malignant mesothelioma; an update prepared by the International Mesothelioma Panel. New York : Springer-Verlag, 2005.

Goldberg M, Imbernon E, Rolland P, Gilg A, Ilg S, Saves M *et al.* The French National Mesothelioma Surveillance Program. *Occup Environ Med* 2006 ; 63 : 390-5.

Gordon GJ, Rockwell GN, Jensen RV, Rheinwald JG, Glickman JN, Aronson JP *et al.* Identification of novel candidate oncogenes and tumor suppressors in malignant pleural mesothelioma using large-scale transcriptional profiling. *Am J Pathol* 2005 ; 166 ; 1827-40.

King JE, Thatcher N, Pickering CA, Hasleton PS. Sensitivity and specificity of immunohistochemical markers used in the diagnosis of epithelioid mesothelioma: a detailed systematic analysis using published data. *Histopathology* 2006 ; 48 : 223-32.

Miettinen M, Sarlomo-Rikala M. Expression of calretinin, thrombomodulin, keratin 5, and mesothelin in lung carcinomas of different types: an immunohistochemical analysis of 596 tumors in comparison with epithelioid mesotheliomas of the pleura. *Am J Surg Pathol* 2003 ; 27 : 150-8.

Ordonez NG. Immunohistochemical diagnosis of epithelioid mesothelioma: an update. *Arch Pathol Lab Med* 2005 ; 129 : 1407-14.

Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink K, Harris CC (Eds) : World Health Organization Classification of Tumours. Pathology and Genetics of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. IARC Press: Lyon 2004.

Observation n° 2 Marie-Christine Copin (Lille).

Renseignements cliniques

Homme de 73 ans. Exposition professionnelle à l'amiante entre 1950 et 1966. Douleurs thoraciques, altération de l'état général. Examen tomodensitométrique thoracique : épaissement pleural mamelonné diffus droit associé à un épanchement pleural et à des plaques pleurales bilatérales

Diagnostic proposé

Mésothéliome malin desmoplastique

Description macroscopique

Plèvre épaisse, de consistance ferme

Description histologique

Plèvre épaissie par un tissu collagène dense contenant des cellules atypiques agencées en faisceaux courts. Cellularité plus élevée en profondeur par rapport à la surface. Infiltration tumorale de la graisse pleurale pariétale. Plaque fibreuse hyaline.

Immunomarquage par les anticorps AE1-AE3 et KL1 : marquage intense des cellules tumorales dont certaines situées entre les adipocytes de la graisse pleurale pariétale.

Commentaires (se reporter au cas n°1).

1 - Caractéristiques histopathologiques

Le mésothéliome de type desmoplastique est rare (2% des cas) et se présente macroscopiquement comme une fibrose pleurale diffuse, parfois calcifiée. Cette forme de mésothéliome est de diagnostic difficile. Dans le cas d'une plèvre diffusément épaissie, sans nodule visible, une biopsie profonde, par thoracotomie ou vidéothoroscopie, des plèvres pariétale et viscérale est indispensable, intéressant le tissu adipeux pleural pariétal et/ou le parenchyme pulmonaire. Selon la classification OMS 2004, le mésothéliome desmoplastique est un mésothéliome sarcomatoïde avec une prédominance (>50%) de stroma collagène dense contenant de rares cellules atypiques. Cette tumeur peut être confondue avec une pleurésie fibreuse ou plus cellulaire dite « organisée ». Les critères morphologiques qui orientent vers la malignité sont la présence de zones sarcomatoïdes, de foyers de nécrose, une infiltration du tissu adipeux, du muscle ou du poumon et l'existence de métastases. Les zones sarcomatoïdes

sont d'architecture souvent storiforme. L'immunomarquage par un anticorps anti-cytokératines est indispensable au diagnostic différentiel entre un mésothéliome desmoplastique et une pleurésie fibreuse en montrant, dans le mésothéliome, des cellules fusiformes marquées entre les adipocytes de la graisse pleurale pariétale ou dans le muscle.

2 - Diagnostic différentiel

Les pleurésies organisées fibreuses peuvent comporter des zones cellulaires situées sous la surface pleurale contenant des cellules cytokératine-positives et des capillaires orientés perpendiculairement à la surface. La diminution de la cellularité et l'augmentation de la quantité de collagène de la surface vers la profondeur (côté paroi thoracique) sont en faveur de la bénignité, à l'inverse de ce qui est observé dans les mésothéliomes desmoplastiques ou sarcomatoïdes dont les zones les plus cellulaires ont une disposition transmurale ou sont situées en profondeur avec des images d'infiltration de la graisse pleurale, du muscle pariétal ou du parenchyme pulmonaire. Une fibrose dissociant la graisse pleurale pariétale peut se voir dans des processus réactionnels et notamment après chirurgie. Seule l'infiltration par des cellules cytokératine-positives entre les adipocytes est un argument formel en faveur du diagnostic de mésothéliome desmoplastique.

Le mésothéliome sarcomatoïde représente 10-20% des mésothéliomes pleuraux et moins de 4% des mésothéliomes péritonéaux. Sur le plan microscopique, il s'agit d'une tumeur fusocellulaire ressemblant à un fibrosarcome ou à un histiocytofibrome malin. Les cellules tumorales, fusiformes s'agencent en faisceaux dans un stroma plus ou moins myxoïde. Dans un faible pourcentage de cas, la tumeur peut ressembler au moins focalement à un ostéosarcome et/ou un chondrosarcome, un léiomyosarcome ou encore un rhabdomyosarcome.

L'étude immunohistochimique avec les anticorps anti-cytokératines est indispensable au diagnostic de mésothéliome sarcomatoïde. La recommandation des experts de la SPLF est d'utiliser deux des marqueurs de valeur positive correspondant outre à l'anti-calrétinine à deux anticorps anti-pancytokératines de large spectre tels KL-1 et AE1/AE3 et des marqueurs de valeur négative utiles au diagnostic différentiel avec les sarcomes tels l'anti-CD34, l'anti-bcl2, et selon la morphologie les anticorps anti-desmine, anti-PS100, anti-CD31 et HMB45. L'étude immunohistochimique permettra, à la lumière des données radio-cliniques et notamment l'absence d'antécédent de sarcome, de mélanome ou le caractère localisé de la

tumeur d'éliminer la localisation pleurale d'un sarcome ou d'un mélanome à cellules fusiformes.

Les données du groupe Mesopath montrent que si l'on utilise un seul anticorps anti-cytokératines (KL1 ou AE1-AE3), 10% des tumeurs sont négatives, alors que si l'on combine ces deux anticorps seul 1% des mésothéliomes sarcomatoïdes sont totalement négatifs. 43% des tumeurs expriment la calrétinine mais dans la majorité des cas dans un contingent minoritaire de cellules. Dans les cas qui restent négatifs, seule la confrontation avec la présentation radiologique de la tumeur et l'absence d'argument en faveur d'un sarcome primitif extra-pleural permettront de porter le diagnostic de mésothéliome sarcomatoïde. Quelques cas expriment l'actine, la desmine ou la PS-100 (marquage faible de quelques cellules du stroma). L'immunomarquage avec l'anticorps anti-bcl-2 est négatif dans 100% des mésothéliomes sarcomatoïdes.

La localisation pleurale d'un sarcome synovial est discutée devant une tumeur biphasique ou monophasique. Les patients atteints de sarcome synovial sont plus jeunes. Ils présentent une tumeur localisée de croissance habituellement plus rapide que le mésothéliome. Les cellules tumorales s'agencent en faisceaux plus longs, enchevêtrés avec des aspects pseudo-hémangiopéricytaire. Le sarcome synovial peut exprimer la calrétinine dans son contingent épithélial. L'analyse moléculaire par technique de RT-PCR sur tissu inclus en paraffine ou congelé à la recherche des transcrits de fusion spécifiques de la translocation t(X;18) (p11; q11) du sarcome synovial est recommandée devant toute tumeur fusocellulaire de la plèvre, non typique de mésothéliome sur le plan clinique ou anatomopathologique.

Le léiomyosarcome peut exprimer les cytokératines dans 30% des cas alors que le mésothéliome sarcomatoïde peut exprimer la desmine.

La tumeur maligne des gaines nerveuses périphériques peut exprimer les cytokératines et la calrétinine mais exprime, classiquement dans un faible pourcentage de cellules, la PS-100

Dans les formes sarcomatoïdes de morphologie pléiomorphe, la distinction avec un carcinome pléiomorphe du poumon étendu à la plèvre ou avec la métastase d'un carcinome sarcomatoïde notamment d'origine rénale peut être difficile. En l'absence d'expression de TTF-1 (positivité dans 55% des cas de carcinome pléiomorphe ou sarcomatoïde du poumon), l'étude immunohistochimique n'est d'aucune utilité et seule la confrontation avec les données cliniques et radiologiques pourra permettre de conclure.

La tumeur fibreuse solitaire de la plèvre autrefois dénommée mésothéliome fibreux localisé est à distinguer d'un mésothéliome malin sarcomatoïde localisé. Dans les formes malignes, la

cellularité est plus élevée et l'activité mitotique est supérieure à 4 mitoses pour 10 champs au fort grossissement. A l'inverse du mésothéliome sarcomatoïde, la tumeur fibreuse solitaire exprime les antigènes CD34 et bcl-2 sauf dans certains cas de formes malignes.

Points importants à retenir

Mésothéliome de type desmoplastique

- Il s'agit d'une forme rare de mésothéliome (2% des cas), macroscopiquement proche d'une fibrose pleurale diffuse
- Le diagnostic est difficile nécessitant la réalisation d'une biopsie profonde, par thoracotomie ou vidéothoroscopie, des plèvres pariétale et viscérale, intéressant le tissu adipeux pleural pariétal et/ou le parenchyme pulmonaire.
- La présence d'un abondant stroma collagène (>50% en surface) contenant de rares cellules atypiques avec des foyers de nécrose collagène est évocatrice du diagnostic.
- Un immunomarquage avec deux anticorps anti-cytokératines est indispensable, notamment pour objectiver des images d'invasion (cellules fusiformes marquées entre les adipocytes de la graisse pleurale pariétale ou dans le muscle) ainsi qu'avec des marqueurs de valeur négative utiles au diagnostic différentiel avec les sarcomes (anti-CD34, anti-bcl-2...).
- 10-20% des mésothéliomes pleuraux
- tumeur fusocellulaire
- diagnostic différentiel : fibrosarcome, histiocytofibrome malin.

Références

Attanoos RL, Dojcinov SD, Webb R, Gibbs AR. Anti-mesothelial markers in sarcomatoid mesothelioma and other spindle cell neoplasms. *Histopathology* 2000 ; 37 : 224-31.

Churg A, Colby TV, Cagle P, Corson J, Gibbs A, Gilks B *et al.* The separation of benign and malignant mesothelial proliferations. *Am J Surg Pathol* 2000 ; 24 : 1183-200.

Flint A, Weiss SW. CD-34 and keratin expression distinguishes solitary fibrous tumor (fibrous mesothelioma) of pleura from desmoplastic mesothelioma. *Hum Pathol* 1995; 26 : 428-31.

Mangano WE, Cagle PT, Churg A, Vollmer RT, Roggli VL. The diagnosis of desmoplastic malignant mesothelioma and its distinction from fibrous pleurisy: a histologic and

immunohistochemical analysis of 31 cases including p53 immunostaining. *Am J Clin Pathol* 1998 ; 110 : 191-9.

Wilson GE, Hasleton PS, Chatterjee AK. Desmoplastic malignant mesothelioma: a review of 17 cases. *J Clin Pathol* 1992 ; 45 :295-8.

Renseignements cliniques

Patiente de 67 ans aux antécédents de polyarthrite rhumatoïde traitée par methotrexate hebdomadaire depuis deux ans. Cette patiente présente en 2005, une altération de l'état général dans un contexte de pleuro-péricardite fébrile. La ponction de l'épanchement pleural est hémorragique et lymphocytaire avec des cellules suspectes d'aspect épithélial. Puis, une biopsie à l'aiguille d'Abrams est réalisée. Celle ci intéresse de la plèvre siège d'un infiltrat lymphocytaire accompagné de cellules larges et épithélioïdes, suspectes. Décision de thoracotomie exploratrice.

Diagnostic proposé

Pleurésie lymphocytaire révélatrice d'un mésothéliome malin épithélioïde diffus chez une patiente porteuse d'une polyarthrite rhumatoïde.

Description macroscopique

Pleurectomie pariétale et biopsie pulmonaire de la lingula. La plèvre pariétale est le siège d'un épaissement diffus, assez charnu, blanchâtre et est tapissée de fausses membranes fibrineuses.

Description histologique

Au faible grossissement l'attention est attirée par l'association d'un infiltrat lymphocytaire diffus, localisé à l'interface avec le tissu cellulo-adipeux et d'une prolifération de cellules larges et épithélioïdes d'architecture trabéculaire occupant toute la hauteur de la paroi pleurale, disposée perpendiculairement à la surface. Il existe de nombreux follicules aux centres germinatifs d'allure réactionnelle.

Les éléments du diagnostic repose sur la présence de ces cellules larges et épithélioïdes, infiltrant en profondeur le tissu adipeux. Cette prolifération est associée à une hyperplasie lymphoïde nodulaire et à des manchons lymphocytaires à prédominance périvasculaire.

Données immunohistochimiques

Les immunomarquages objectivent du caractère mésothélial des cellules épithélioïdes observées et du caractère réactionnel de l'infiltrat lymphoplasmocytaire :

Le phénotype des cellules épithélioïdes est : AE1/3+, CK5/6+, calrétinine +(nucléaire et cytoplasmique hétérogène), mésothéline + (marquage membranaire), et ACE (moabs)-, BerEP4- , TTF-1-, RE et RP-.

Le phénotype des cellules lymphoïdes est de type B CD20+ associé à des cellules T, CD3+.

Commentaires

Le spectre des maladies susceptibles de donner une pleurésie lymphocytaire est assez large et englobe des pathologies assez communes mais aussi quelques maladies rares. Les pleurésies lymphocytaires [PL] sont rencontrées dans plus de 90% des pleurésies exsudatives toutes étiologies confondues. Ces pleurésies sont définies par la présence d'un contingent cellulaire comportant plus de 50% de lymphocytes [1].

La démarche diagnostique comporte deux étapes :

- S'agit-il d'une réaction lymphocytaire ou d'un lymphome associé à une hyperplasie mésothéliale ?

Ou s'il s'agit d'une réaction lymphocytaire, celle-ci est-elle révélatrice d'une lésion infectieuse ou inflammatoire avec hyperplasie mésothéliale ou d'une lésion maligne (métastase ou mésothéliome malin)?

Des techniques complémentaires (bactériologie, immunohistochimie, hybridation in situ ; recherche de virus EBV, HHV8, biologie moléculaire ; recherche de clonalité) sont souvent nécessaires voir indispensables pour obtenir un diagnostic précis.

Pour le clinicien, les pleurésies lymphocytaires sont représentatives de deux causes potentielles majeures; la tuberculose et la pathologie cancéreuse pleurale (rarement primitive correspondant à un mésothéliome malin ou plus fréquemment, métastatique d'un cancer). Mais, les PL sont aussi révélatrices d'une connectivite, d'une pathologie toxique, d'un chylothorax, d'une pathologie cardiaque (épanchement dans les suites de la mise en place d'un greffon coronarien), d'un rejet chez le transplanté pulmonaire, d'un syndrome des ongles jaunes. Finalement, les PL peuvent correspondre à une localisation d'un lymphome non hodgkinien ou plus exceptionnellement d'un lymphome primitif de la plèvre[2].

La constatation d'un épanchement lymphocytaire s'appuie donc toujours sur le contexte clinique, biologique et radiologique qui permettent un diagnostic précis et secondairement une prise en charge thérapeutique adaptée pour le patient.

Devant un épanchement, l'examen cytologique est souvent l'examen de première intention, car peu coûteux et peu traumatisant. Un certain nombre de notions classiques permettent d'orienter vers une cause potentielle [2]. Il est important que l'examen macroscopique soit notifié et que le prélèvement soit d'emblée partagé entre le service de biochimie (exsudat /transsudat ; un taux de protéines < 20/litre permet d'exclure une pathologie pleurale sous jacente, une glycopleurie effondrée peut orienter vers l'hypothèse d'une polyarthrite rhumatoïde), le service de microbiologie (recherche de micro-organismes pathogènes et en particulier de bacilles acido-alcool-résistants) et le service de cytologie (comptage cellulaire éventuel et recherche de cellules néoplasiques). Lorsqu'il existe une suspicion clinique de lymphome associé à un épanchement pleural, il est très important de prévoir de réaliser, dès l'arrivée du liquide de ponction pleural au laboratoire, un culot cellulaire non fixé sur lequel sera pratiquée une analyse par cytométrie en flux. Cet examen, peut être très informatif et permettre de caractériser définitivement le type de lymphome ou simplement confirmer le caractère réactionnel de l'infiltrat dans un délai très court. L'aspect du liquide peut avoir une valeur d'orientation ; lorsqu'il est hémorragique, il s'agit très vraisemblablement d'un cancer surtout si le taux d'activité de l'ADA (adenosine deaminase activity) est bas, s'il a un aspect chyleux l'hypothèse d'un lymphome est le diagnostic à envisager en première intention et lorsqu'il est visqueux, c'est le diagnostic de mésothéliome malin qui doit être privilégié. A contrario, un liquide jaune et translucide n'est absolument pas informatif.

Le comptage cellulaire sur le liquide d'épanchement (qui n'est pas indispensable pour le diagnostic) permet de mettre en évidence la présence de 50 à 70% de lymphocytes T constitué de lymphocytes CD4 positifs (dans plus de 70% des cas), et à un niveau moindre de lymphocytes T CD8, NK, $\gamma\delta$ T et de lymphocytes B, exprimant CD5 [1]. La distribution relative des différentes populations lymphocytaires T n'est en général pas informative pour orienter vers une cause potentielle par contre la présence de lymphocytes B orientent vers une localisation pleurale d'une leucose lymphoïde chronique ou d'un lymphome primitif de la plèvre.

En présence d'un prélèvement tissulaire.

Le diagnostic est dépendant de la taille, du nombre, du type de prélèvement.

Devant un épanchement exsudatif et lymphocytaire, surtout si le patient est fébrile, le diagnostic de tuberculose est le diagnostic de première intention. La biopsie à l'aiguille d'Abrams ou de Castelain est un bon examen pour confirmer l'hypothèse d'une tuberculose mais de peu d'apport lorsqu'il s'agit d'obtenir un diagnostic de malignité [3]. La sensibilité de ce type de prélèvement en faveur du diagnostic de tuberculose est de 87% mais est très dépendant du nombre de biopsies réalisées (au minimum 4 à 10) [3]. Devant un épanchement exsudatif et lymphocytaire avec suspicion de cancer, une cytoponction à l'aiguille fine n'est pas recommandée, pour plusieurs raisons ; 1) il existe un risque de faux négatif trop important ; 2) en cas de mésothéliome malin il y a un risque d'ensemencement du trajet de cytoponction ; 3) s'il s'agit d'une pleurésie néoplasique il est nécessaire de réaliser un talcage et il vaut mieux aller directement à la pleuroscopie.

Pleurésie lymphocytaire et tuberculose

Sur le plan clinique plusieurs situations sont envisagées : dans la majorité des cas, il s'agit d'une tuberculose de réactivation. Il est cependant important de garder à l'esprit l'éventualité d'une tuberculose associée à l'immunodépression (patient plus jeune, drogué, avec test cutané positif) ou à un cancer. Dans le cadre d'une tuberculose de réactivation, Kim et al,[4] ont montré sur une série rétrospective de 106 patients, qu'en présence d'un épanchement lymphocytaire tuberculeux, 31% des patients présentaient des BAAR sur l'examen direct et/ ou sur la culture des crachats, 86 % des patients étaient porteurs d'images radiologiques en faveur d'une tuberculose. Globalement 59% des patients avaient des signes radiologique et un examen bactériologique positif en faveur d'une tuberculose active et dans 74% des cas il s'agissait d'une tuberculose de réactivation. La biopsie à l'aiguille d'Abrams doit toujours être associée à un examen microbiologique.

L'image macroscopique est classiquement celle d'une pleurésie exsudative avec un aspect macroscopique dit "en langue de chat".

Histologiquement il s'agit d'une inflammation granulomateuse à cellules épithélioïdes et géantes nécrosante. Cet infiltrat granulomateux peut s'accompagner d'une hyperplasie mésothéliale assez atypique, cause d'erreur diagnostique. L'analyse immunohistochimique confirme la nature mésothéliale des cellules (calrétinine +, CK5/6 +, mésotheline +) et élimine une éventuelle métastase (marqueurs glandulaires négatifs) . La coloration de Zhiel

peut dans certains cas confirmer la présence de BAAR mais n'est pas très sensible. L'utilisation des techniques de PCR sur le produit d'épanchement/ ou le bloc d'inclusion en paraffine de la biopsie a été proposé par certains mais n'a pas fait la preuve définitive d'un consensus. Certains auteurs ayant montré une sensibilité de 70% et une spécificité de 100% associée d'une valeur prédictive négative de 86.5%(liquide d'épanchement)[5] d'autres n'ayant retrouvé qu'une sensibilité de 17.5% pour une spécificité de 98.1% [6]. L'utilisation des techniques de PCR, à partir du matériel inclus en paraffine est également très discutée[6].

Pleurésie lymphocytaire et connectivite.

- Pleurésie lymphocytaire et polyarthrite rhumatoïde

La polyarthrite rhumatoïde est une maladie systémique touchant 1-2% de la population mondiale parmi les sujets de 25-55 ans avec une prédominance féminine et un sexe ratio de 2.5 :1. [7]. Dans 50% des cas l'épanchement pleural passe inaperçu. Histologiquement il s'agit d'un épanchement sérofibrineux et lymphocytaire dont l'aspect morphologique est très évocateur. La surface de la plèvre est tapissée par une couche de cellules histiocytaires et macrophagiques associées à des cellules géantes disposées en palissade reposant sur une fibrose pleurale diffuse, cellulaire accompagnée d'un infiltrat lymphocytaire abondant. Il ne faut pas compter sur la présence d'un nodule rhumatoïde pour faire le diagnostic de polyarthrite rhumatoïde car il s'agit d'un événement assez rare. Le diagnostic repose sur l'association d'arguments cliniques et biologiques [2] et sur des arguments immunohistochimiques car les cellules histiocytaires peuvent être prises pour des cellules mésothéliales. L'expression des cellules pour l'anti-CD68 et l'absence d'expression de ces cellules pour les panCKs permet de rétablir le diagnostic, .

- Pleurésie lymphocytaire et lupus.

L'atteinte de la séreuse pleurale dans la maladie lupique correspond à un des 11 critères de la classification diagnostique faite par le Collège Américain de Rhumatologie et se rencontre dans 30% des cas. Ces pleurésies sont récidivantes dans 45% des cas [8]. Histologiquement, il s'agit d'une pleurésie sérofibrineuse accompagnée d'une fibrose pleurale diffuse. L'infiltrat lymphocytaire est moins proéminent que dans la pleurésie rhumatoïde. L'atteinte touche la plèvre viscérale et la plèvre pariétale. Le diagnostic est évoqué devant un contexte clinique et biologique (présence d'anticorps anti-DNA) évocateurs.

- Pleurésie lymphocytaire et maladie de Sjogrën.

La pleurésie n'est pas une manifestation commune de la maladie de Sjogren. Histologiquement il s'agit d'une pleurésie lymphocytaire de cellules lymphoïdes de phénotype T, CD4+ .

Pleurésie lymphocytaire et pleurésies médicamenteuses.

Les pleurésies médicamenteuses sont contrairement à la pathologie pulmonaire médicamenteuse beaucoup moins bien connues, mal classées et , lorsque des cas sont publiés ils le sont sous forme de cas cliniques isolés. Sur le plan clinique, l'étiologie de la pleurésie peut être rattachée à une cause médicamenteuse, lorsque la prise médicamenteuse déclenche la pleurésie, que celle ci disparaît à l'arrêt du traitement puis réapparaît lors de la réintroduction de ce même médicament. La pleurésie peut revêtir un caractère lymphocytaire prédominant et peut être accompagné d'une hyperplasie mésothéliale mais il s'agit le plus souvent d'une fibrose pleurale diffuse, pseudotumorale. Les médicaments le plus souvent en cause sont la bromocriptine, l'ergot de seigle, le methotrexate. L'interrogatoire du patient permet d'établir le diagnostic de ces pathologies assez exceptionnelles.

Pleurésie lymphocytaire et cancer primitif ou secondaire

Le diagnostic de mésothéliome malin diffus de cette observation présentait plusieurs difficultés et pièges.

- 1) Reconnaître la malignité chez cette patiente connue pour avoir une polyarthrite rhumatoïde dont on sait la fréquence des épanchements pleuraux chroniques associés et la signature morphologique particulière (abondance de l'infiltrat lymphocytaire, hyperplasie histiocytaire pseudotumorale).
- 2) Eliminer une éventuelle pathologie iatrogène médicamenteuse ou infectieuse (Methotrexate chez cette patiente traitée depuis deux ans) qui peut s'accompagner d'un infiltrat lymphocytaire abondant, et d'une hyperplasie mésothéliale avec des atypies. Dans cette observation la présence de cellules mésothéliales observées sur toute la hauteur de la paroi sans gradient de cellularité infiltrant le tissu cellulo-adipeux a permis d'établir sans discussion un diagnostic de malignité sur le prélèvement chirurgical alors que celui n'a pu être évoqué sur la biopsie à l'aiguille d'Abrams.
- 3) Eliminer une métastase d'un carcinome. Le diagnostic de métastase repose sur la constatation d'une prolifération tumorale maligne de nature épithéliale dont la

morphologie permet souvent de suspecter une métastase (irrégularité nucléaire, nombreuses mitoses, nucléoles proéminent, ce qui n'est pas le cas du mésothéliome dont les noyaux sont ronds assez monomorphe et généralement sans mitose) et d'orienter vers une origine plus particulière (mammaire, pulmonaire, ovarienne, rénale, thyroïdienne, pancréatique etc..). Le contexte clinique (femme, antécédent de carcinome mammaire, patient/e tabagique etc..) et l'analyse immunohistochimique incontournable, qui cherche à mettre en évidence une expression des cellules tumorales pour les marqueurs de différenciation glandulaire (anti ACE, anti BeREP4, anti CD15, anti RE/RP, anti TTF-1, antiBG8) et au contraire une absence d'expression pour les marqueurs de valeur positive pour la cellule mésothéliale (anti-calrétinine, anti-mésothéline, anti CK5/6, anti-WT1) sont des arguments discriminants en faveur du diagnostic de métastase. *Les recommandations du panel international des mésothéliomes sont d'utiliser au moins deux marqueurs de valeur positive pour la cellule mésothéliale et deux marqueurs de valeur négative avant de poser le diagnostic de mésothéliome et de ne surtout pas utiliser les CKs 7 ou 20 [2].*

- 4) Préciser la type histologique du mésothéliome malin diffus (épithélioïde) et le différencier de la variante inhabituelle du mésothéliome malin lymphohistiocytoïde. Cette dernière variante est souvent prise pour un lymphome associé à une hyperplasie mésothéliale. Sur le plan clinique les symptômes et la présentation clinique sont similaires à celles du mésothéliome malin diffus épithélioïde classique. La morphologie est par contre très différente et trompeuse, caractérisée par une prolifération de cellules de grande taille isolées non cohésives baignant dans un stroma lymphohistiocytaire très abondant. La difficulté est de reconnaître sur cette morphologie un mésothéliome malin. L'analyse immunohistochimique est indispensable et permet d'identifier l'origine mésothéliale des grandes cellules (calrétinine +, CK5/6+, mésothéline +, CD45 -, CD20-, CD30-) et de reconnaître le caractère réactionnel de la composante lymphocytaire. Ce diagnostic est conforté par la négativité des analyses moléculaires et en particulier par l'absence de réarrangement B par PCR et la négativité de l'EBV en hybridation in situ (EBER -). Le pronostic de cette forme inhabituelle de mésothéliome serait légèrement meilleur que celui du mésothéliome malin diffus classique tout du moins en début de maladie [9].

Pleurésie lymphocytaire et lymphome pleuraux

Les localisations pleurales des lymphomes extra-thoraciques sont assez rares et rencontrées dans les disséminations systémiques de stade IV de la classification "Revisited European American Lymphoma [REAL]. Pratiquement tous les lymphomes de cette classification peuvent donner une infiltration pleurale. Le diagnostic repose sur le contexte clinique, l'aspect morphologique des cellules et les résultats de l'analyse immunohistochimique [2].

Les lymphomes pleuraux primitifs sont très exceptionnels. On en dénombre deux types ; le lymphome post pyothorax associé à l'EBV et le lymphome des séreuses du sujet HIV+ .

-Le lymphome associé au pyothorax a été décrit chez les patients d'origine asiatique et porteur d'une inflammation pleurale chronique (pyothorax ou tuberculose) de longue durée (classiquement depuis plus de 20 ans). Ils ne sont pas associés à une infection HIV et sont habituellement caractérisés par la présence de grandes cellules CD45 + et CD20 +, EMA – mais EBV + et HHV8- [10].

-Le lymphome associé aux séreuses est caractérisé par l'absence de masse tumorale et la présence dans l'épanchement pleural de cellules d'assez grande taille, atypiques montrant une forte expression des marqueurs plasmocytaires pour l'anti-CD138, et par contre la perte des marqueurs de phénotype B (anti-CD20, anti-CD79a), une positivité pour l'anti-EMA , une possible expression pour les pan CKs et l'EBV (LMP1 et EBER par hybridation in situ) . Le diagnostic est établi sur la positivité de ces cellules pour l'anti- HHV-8 et l'anti KSHV (Kaposi sarcoma associated Herpes virus). Il s'agit d'un lymphome de très mauvais pronostic[11].

Références

1. Dalbeth N, Gary Lee YC. Lymphocytes in pleural disease. *Current Opinion in Pulmonary Medicine*. 2005;11:334-339.
2. Galateau-Salle F, Brambilla E, Cagle P, Churg A, Colby T, Hammar S, Hasleton P, Gibbs AR, Kouki I, Roggli V, Travis WD, Vignaud JM, Pathology of Malignant mesothelioma ; an update of the International mesothelioma panel in: Galateau –Sallé F, London, Springer Verlag 2006.
3. Prakash UBS, Reiman HM. Comparison of needle biopsy with cytologic analysis for the evaluation of pleural effusions: analysis of 414 cases. *Mayo Clin Proc* 1985; 60: 158-164.
4. Kim HJ, Lee HJ, Kwon SY, Yoon HI, Chung HS, Lee CT, Han SK, Shim YS, Yim JJ. The prevalence of pulmonary parenchymal tuberculosis in patients with tuberculous pleuritis.
5. Lima DM, Colares JK, daFonseca BA. Combined use of the polymerase chain reaction and detection of adenosine deaminase activity on pleural fluid improves the rate of diagnosis of pleural tuberculosis. *Chest* 2003; 124: 909-914.
6. Moon JW, Chang YS, Kim YS, Lee HM, Kim SK, Chang J. The utility of polymerase chain reaction for the diagnosis of pleural tuberculosis. *Clin Infect Dis* 2005;41:660-666.
7. Chou CW, Shi-Chuan C. Pleuritis as a presenting manifestation of rheumatoid arthritis : diagnostic clues in pleural fluid cytology. *Am. J. Sci.* 2002 ; 323 : 3 : 158-161.
8. Lapworth R, Tarn AC; British Thoracic Society guidelines for the investigation of unilateral pleural effusion in adults. *Ann Clin Biochem*, 2006;43:17-22.
9. Galateau-Sallé F, Attanoos R , Gibbs AR, Burke. L, Astoul.P, Rolland.P, Gilg soit Ilg A, Pairon JC, Brochard P, Begueret H, Vignaud JM, Kerr K, Launoy G, Imbernon E, Goldberg M. Lymphohistiocytoid variant of malignant mesothelioma of the pleura: A series of 22 cases. *Am J Surg Pathol*, 2006 septembre 2006 sous presse.
10. Jaffe ES. Primary body cavity-based AIDS-related lymphomas. *Am J Clin Pathol* 1996 ; 105 : 141-2.
11. Martin A, Capron F, Liguory-Brunaud M, et al. Epstein-Barr-virus-associated primary malignant lymphomas of the pleural cavity occurring in long standing pleural chronic inflammation. *Hum Pathol* 1994 ; 25 : 1314-8.

Observation n° 4 Jean-Christophe Sabourin (Rouen), Geneviève Tricot (Saint-Germain-en-Laye) et Asmae Benzekri (Villejuif).

Renseignements cliniques

Patiente de 54 ans, sans ATCD notable ; en juin 2003, apparition de douleurs abdominales faisant découvrir à l'échographie des lésions ovariennes bilatérales et une lame d'ascite. Le CA 125 est à 14. Une laparotomie est effectuée et permet de découvrir alors un aspect de "carcinose" cantonné au pelvis et à l'hypocondre droit constituée de petites végétations très friables. De plus, les deux ovaires sont totalement recouverts de papilles.

L'évolution clinique est marquée par une récurrence de l'ascite imposant des ponctions répétées évacuant 2,5 litres environ à chaque reprise. On note une forte élévation du CA 125 (à 210) avant chaque évacuation des ascites.

Cette poursuite évolutive de l'ascite, on décide de ré-intervenir en février 2004 amenant à découvrir de multiples nodules millimétriques au niveau du cul de sac de Douglas, du colon droit et de la vésicule biliaire. L'exérèse chirurgicale complète de toutes les lésions macroscopiques est suivie d'une chimiothérapie intra-péritonéale avec hyperthermie. Histologiquement ces lésions sont de nature mésothéliale, de très petit volume et correspondent à un mésothéliome papillaire différencié. Cependant, il existe focalement, notamment au niveau du Douglas, des secteurs beaucoup plus atypiques avec infiltration sous jacente. De plus, la présence de 3 localisations ganglionnaires fait alors porter le diagnostic de transformation maligne en mésothéliome malin diffus de type épithélial bien différencié.

Les lésions proposées à l'observation correspondent à l'exérèse ovarienne de 2003.

Diagnostic proposé

Mésothéliome papillaire bien différencié localisé à la surface de l'ovaire, évoluant vers une forme maligne.

Description macroscopique

Lésion ovarienne : petites papilles recouvrant les deux annexes.

Description histologique

A la surface de l'ovaire, on observe une lésion floride d'architecture papillaire. Les papilles sont bordées le plus souvent d'une seule assise de cellules mésothéliales aplaties ou cubiques, non atypiques. Dans certains territoires, les cellules sont pluristratifiées. L'axe des papilles est fibro-oedémateux.

L'étude immunohistochimique prouve la nature mésothéliale de ces cellules qui expriment la cytokératine AE1E3, la Calrétinine, l'HBME1 et l'EMA, en l'absence d'expression de l'ACE, du Ca 19.9 et du BerEP4.

Commentaires

Le mésothéliome papillaire bien différencié est une tumeur rare qui survient aussi bien chez la femme que chez l'homme. Il atteint surtout le péritoine, mais peut éventuellement siéger au niveau de toutes les séreuses comme la tunique vaginale testiculaire, le péricarde ou la plèvre⁽¹⁾.

La tumeur est généralement de découverte fortuite lors d'une intervention chirurgicale dans le pelvis. Ce biais de sélection semble expliquer la sur-représentation féminine de cette lésion (classiquement : femme jeune en âge de procréer). Quelques cas en relation avec une exposition à l'amiante ont été relatés mais aucun lien n'a encore été établi de façon formelle⁽²⁾. Macroscopiquement la tumeur se présente sous la forme d'un semi de granulations ou de petits nodules blanchâtres, fermes, de quelques millimètres, parfois regroupés en petits amas. Ces lésions sont multifocales et siègent à la surface de la cavité pelvienne au niveau de l'épiploon et du mésentère. De petits foyers tumoraux peuvent être présents à la surface de l'ovaire.

Microscopiquement, la tumeur est d'architecture papillaire, plus rarement tubulo-papillaire. Des territoires solides ou trabéculaires peuvent être retrouvés. Les papilles sont bordées par une seule assise de cellules mésothéliales aplaties ou cubiques, régulières, parfois hyperplasiques mais non atypiques. Les mitoses sont rares ou absentes. Des psammomes peuvent être présents. Assez fréquemment, en regard des micropapilles, on observe une fibrose comportant des structures glanduliformes parfois associées à des irrégularités pouvant alors simuler un adénocarcinome.

De même des études précédentes ont montré dans certains cas, la présence de foyers de microinfiltration en profondeur^{(2) (3)} ; mais ce signe isolé n'est pas suffisant pour porter un diagnostic de malignité.

L'étude immunohistochimique prouve la nature mésothéliale de ces cellules qui expriment la pancytokératine AE1E3, la Calrétinine, l'HBME1 et l'EMA en l'absence de marquage par le BerEP4, l'ACE et le Ca 19.9⁽⁴⁾.

Diagnostics différentiels

Les principaux diagnostics différentiels sont l'hyperplasie mésothéliale, un carcinome séreux papillaire et un mésothéliome malin d'architecture papillaire.

- Lorsque la lésion est de petite taille, il convient d'écartier le diagnostic d'hyperplasie mésothéliale. L'architecture papillaire, l'absence de réaction inflammatoire et de modifications de la séreuse rendent ce diagnostic improbable.
- L'aspect macroscopique per-opératoire peut mimer une carcinose péritonéale éliminée en histologie par l'absence d'atypies nucléocytoplasmiques.
- Le mésothéliome papillaire bien différencié présente parfois des structures tubulo-papillaires irrégulières associées à une fibrose pouvant faire évoquer un carcinome séreux papillaire. La recherche de territoires plus typiques de mésothéliome papillaire à distance de la fibrose et l'étude immunohistochimique permettront de redresser le diagnostic.
- Enfin, il convient d'éliminer un mésothéliome malin d'architecture diffuse papillaire sur l'aspect macroscopique des nodules tumoraux, beaucoup plus volumineux, et sur la présence de caractères cytologiques de malignité.

Evolution et traitement

Pendant longtemps considérée comme une tumeur bénigne, le mésothéliome papillaire bien différencié est maintenant considéré comme une tumeur «borderline» qui peut être agressive et évoluer vers un mésothéliome malin⁽²⁾⁽⁵⁾.

Le traitement chirurgical est le traitement de choix, seul dans les formes localisées, associé à un traitement adjuvant par chimiothérapie intrapéritonéale dans les formes cliniquement progressives. Une surveillance régulière et prolongée est indispensable dans tous les cas.

Points importants à retenir

- mésothéliome papillaire bien différencié est une tumeur « borderline »
- possibilité d'évoluer vers une forme maligne
- lésion millimétrique unique = très bon pronostic
- lésions disséminées = danger !

- aspect papillaire avec une seule assise de cellules mésothéliales très régulières
- possibilité d'infiltrations localisées (micro-invasion) non synonyme de malignité
- diagnostic différentiel : mésothéliome malin, une localisation péritonéale d'une tumeur séreuse (ovarienne ou péritonéale).

Références

- (1) Galateau-Salle F, Vignaud JM, Burke L, Gibbs A, Brambilla E, Attanoos R, Goldberg M, Launoy G; Mesopath group. Well-differentiated papillary mesothelioma of the pleura: a series of 24 cases. *Am J Surg Pathol* 2004; 28(4) : 534-40
- (2) KJ Butnor, TA Sporn, SP Hammar, VL Roggli
Well-differentiated papillary mesothelioma. *Am J Surg Pathol* 2001; 25(10): 1304-9
- (3) D Daya, WT McCaughey
Well differentiated papillary mesothelioma of the peritoneum: a clinicopathologic study of 22 cases. *Cancer* 1990; 65(2): 292-6
- (4) KJ Butnor
My approach to the diagnosis of mesothelial lesions. *J Clin Pathol* 2006; 59:564-574
- (5) R Hejmadi, R Ganesan, NG Kamal
Malignant transformation of a well differentiated peritoneal papillary mesothelioma. *Acta Cytol* 2003; 47(3): 517-8

Observation n° 5 Sophie Moreno-Swirc (Rouen) et Pierre Duvillard (Villejuif)

Renseignements cliniques

Patiente de 36 ans, adressée pour suspicion d'un pseudo-myxome péritonéal. Après un épisode douloureux de la fosse iliaque droite, il est apparu une augmentation progressive du périmètre abdominal amenant à découvrir un aspect radiologique évocateur d'un "pseudo-myxome" : le scanner abdominal montre un comblement de toute la cavité péritonéale par une tumeur d'allure liquidienne. Les fibroscopies gastrique et colique sont normales. Il est décidé d'une exérèse des lésions suivie d'une chimiothérapie hyperthermie intra-péritonéale (CHIP).

Au cours de l'intervention, il est découvert une masse poly-kystique, comblant la cavité abdominale du douglas aux coupes, de 18 x 13 x 4 cm, composé d'innombrables kystes de taille variable, le plus gros mesurant 7 cm de grand axe. Ces kystes ont une paroi très fine, infra-millimétriques, et sont à contenu liquidien clair citrin, par places discrètement hémorragique, voire même un peu mucoïde. L'ensemble a un aspect en "grappe de raisins" blanchâtre. L'examen extemporané permet de poser le diagnostic de mésothéliome plurikystique. L'exérèse de la lésion est effectuée. Deux ans après, la patiente se porte bien, sans récurrence.

Diagnostic proposé

Mésothéliome plurikystique du péritoine.

Description macroscopique

Masse poly-kystique de 18 x 13 x 4 cm, composé d'innombrables kystes de taille variable, le plus gros mesurant 7 cm de grand axe à paroi très fine, et à contenu liquidien clair citrin, par places discrètement hémorragique, voire même un peu mucoïde. L'ensemble a un aspect en "grappe de raisins" blanchâtre.

Description histologique

Lésion plurikystique dont les kystes sont plus ou moins affaissés, de taille variable, contenant un matériel séreux. Les kystes sont bordés de cellules aplaties ou cubiques parois hyperplasiques mais non atypiques. Il n'est pas retrouvé de mitose. La paroi des kystes est fibreuse ou fibro-oedémateuse et abrite un infiltrat inflammatoire mononucléé discret.

L'étude immunohistochimique montre la nature mésothéliale de ces cellules qui expriment l'AE1E3, la Calrétinine, l'EMA et l'HBME1 et n'expriment pas l'ACE, le CD 15 et le BerEP4.

Commentaires

Le mésothéliome kystique du péritoine a été décrit pour la 1^{ère} fois en 1979 par Mennemeyer et Smith ⁽¹⁾. Depuis, un peu plus d'une centaine de cas seulement a été rapportée. Aucun lien avec une exposition à l'amiante n'a jamais été mis en évidence. Les principaux facteurs favorisant sont une intervention chirurgicale abdominale ou pelvienne antérieure, une pathologie inflammatoire locorégionale, une endométriose, suggérant pour certains auteurs la nature "réactionnelle" de cette lésion plutôt que néoplasique. Ces antécédents traumatiques ou inflammatoire chronique ne sont toutefois pas toujours retrouvés.

Le mésothéliome kystique du péritoine touche essentiellement les femmes jeunes en âge de procréer. Les signes cliniques révélateurs sont peu spécifiques associant des douleurs abdominales basses ou pelviennes, parfois associées à une masse palpable.

Le diagnostic de cette lésion rare est rarement évoqué en pré-opératoire, souvent confondu avec une tumeur ovarienne ou un pseudomyxome dans les formes évoluées. Cette tumeur envahit et comble la cavité péritonéale et adhère aux organes abdominaux-pelviens. Macroscopiquement, elle se présente parfois sous la forme d'un seul kyste multiloculaire mais le plus souvent de plusieurs kystes prenant un aspect en "grappe". Les kystes ont une paroi translucide fine et contiennent un liquide séreux ou gélatineux, plus ou moins hémorragique. Ces kystes sont de taille très variable allant de quelques millimètres à plus de 30 cm.

Microscopiquement, les kystes sont bordés le plus souvent par une seule couche de cellules mésothéliales aplaties ou cubiques. Les cellules sont parfois hyperplasiques avec quelques atypies identiques à celles constatées lors des proliférations mésothéliales réactionnelles. Ces cellules peuvent également former de petites projections papillaires dans la lumière des kystes. On peut également retrouver des territoires de métaplasie adénomatoïde ou squameuse. Plus rarement, les cellules mésothéliales desquament et flottent dans la lumière des kystes ⁽²⁾.

L'étude immunohistochimique met en évidence le profil mésothélial de ces cellules qui expriment les cytokératines AE1E3, Cam 5.2, la Calrétinine, l'EMA et l'HMBE1 et n'expriment pas l'ACE, le CD 15 et le BerEP4.

Les kystes sont séparés par des cloisons conjonctivo-vasculaires pouvant abriter une population de cellules inflammatoires de type aiguë ou chronique plus ou moins abondante, ainsi que des remaniements hémorragiques. Dans ces cloisons, on retrouve parfois des cellules mésothéliales isolées, agencées en nids ou organisées en petites structures

glandulaires. Ces cellules mésothéliales parfois vacuolisées peuvent simuler un aspect en bagues à chatons.

Diagnostic différentiel

- Le principal diagnostic différentiel notamment sur l'aspect macroscopique est le lymphangiome kystique du péritoine. Microscopiquement, les kystes sont bordés de cellules endothéliales de taille uniforme et leur paroi renferment quelques faisceaux musculaires et d'assez nombreux lymphocytes. Aucune projection papillaire ni desquamation des cellules dans la lumière des kystes n'est observée ⁽³⁾. L'étude immunohistochimique permettra de rétablir le diagnostic, le lymphangiome exprimant de façon variable le CD31, le CD 34, et le facteur VIII.
- Le mésothéliome kystique du péritoine peut parfois présenter des territoires d'architecture adénomatoïde. Toutefois, la tumeur adénomatoïde est rarement extragénitale (atteint surtout l'utérus, la trompe, l'épididyme) et présente des caractères macroscopiques (tumeur bien limitée et nodulaire) et architecturaux (tubes et cordons cellulaires) différents. Le profil immunohistochimique de ces deux entités mésothéliales est cependant identique.
- Enfin, les données de l'imagerie ainsi que l'aspect macroscopique per-opératoire peuvent mimer un pseudomyxome péritonéal mais l'examen microscopique rétablit rapidement le diagnostic.

Evolution et traitement

Le mésothéliome kystique du péritoine est pour certains auteurs abusivement qualifié de tumeur "bénigne" car elle a fortement tendance à récidiver plus ou moins rapidement (50 % des cas), requérant de multiples interventions chirurgicales. L'équipe de Sugarbaker a rapporté en 2002 un cas de transformation maligne d'un mésothéliome kystique au bout de 10 ans d'évolution avec une surveillance régulière des lésions par laparoscopie ⁽⁴⁾.

Hormis une résection chirurgicale complète, aucun critère de taille, localisation, ou aspect histopathologique ne peut prédire une éventuelle récurrence ou transformation maligne.

Points importants à retenir

- Lésion plurikystique avec taille des kystes très variable.
- kystes à revêtement monocellulaire endothéliforme ou cubique, cytologiquement bénin

- Diagnostics différentiels : lymphangiome kystique du péritoine ; tumeur adénomatoïde; pseudomyxome péritonéal.

Références

(1) R Mennemeyer, M Smith

Multicystic peritoneal mesothelioma: a report with electron microscopy of case mimicking intraabdominal cystic hygroma (lymphangioma). *Cancer* 1979; 44 : 692-698

(2) RJ Kurman

Blaustein's pathology of the female genital tract. 5th Edition, Springer, New York, 2002.

(3) SW Weiss, FA Tavassoli

Multicystic mesothelioma: an analysis of pathologic findings and biologic behaviour in 37 cases. *Am J Surg Pathol* 1988; 12(10): 737-746

(4) S González-Moreno, H Yan, KW Alcorne, PH Sugarbaker

Malignant transformation of "benign" cystic mesothelioma of the peritoneum. *J Surg Oncol* 2002; 79: 243-251

Observation n° 6 Jean-Christophe Noël (Bruxelles)

Renseignements cliniques

Patiente de 35 ans, G2P1. Antécédents de grossesse extra-utérine et de lésions d'endométriose péritonéale. Se présente à la consultation de gynécologie pour stérilité et douleurs abdominales chroniques exacerbées durant les règles. Une échographie pelvienne et une RMN révèle une lésion nodulaire de 3 cm de grand axe au niveau du cul de sac de Douglas évocatrice d'une lésion d'endométriose. Une laparoscopie laser est effectuée avec découverte lors de l'intervention, d'une part de multiples granules « miliaires » au niveau de l'épiploon, du péritoine et d'autre part d'une formation tumorale nodulaire blanchâtre de 3 cm de grand axe au niveau du cul de sac de Douglas. On notait également la présence d'adhérences hémorragiques tubo-ovariennes gauche mais l'ovaire droit apparaissait normal. Une extemporanée de la lésion du Douglas est effectuée et conclut au diagnostic d'une tumeur séreuse « au moins borderline ». Devant le désir de grossesse de la patiente, un traitement conservateur est entrepris et une annexectomie gauche, omentectomie, un curage ganglionnaire iliaque, une résection des implants péritonéaux, et une biopsie de l'ovaire droit sont effectués.

Diagnostic proposé

Tumeur séreuse borderline extra-ovarienne du Douglas (« Atypical proliferative Serous Tumour- APST ») avec quelques foyers suspects de microinvasion stromale .Présence d'implants péritonéaux non invasifs et/ou desmoplastiques et de lésions étendues d'endosalpingiose.

Description macroscopique

La tumeur du Douglas mesurait 3,2 x 2,5 x 2 cm et présentait un aspect friable à la tranche de section. Les multiples implants péritonéaux étaient tous de taille infra-centrimétrique. La trompe gauche était sans particularité, et au sein de l'ovaire gauche on observait de multiples kystes folliculaires mais sans évidence d'infiltration néoplasique.

Description histologique

A l'examen histologique, la tumeur est caractérisée par une prolifération de structures papillaires fines ou trapues, non branchées tapissées d'un épithélium stratifié en 2-3 assises cellulaires. Les atypies nucléocytoplasmiques restent discrètes à modérées et l'indice

mitotique ne dépasse pas 3 mitoses par 10 champs à fort grossissement. Focalement, en surface, on observait également quelques micropapilles. Au sein du stroma quelques zones « suspectes » de micro-invasion étaient notées. Les multiples implants péritonéaux étaient soit de variante non invasive ou de type desmoplasique. Par ailleurs, de multiples lésions d'endosalpingiose parfois proliférantes ainsi que des lésions d'endométriase étaient également observées. Au sein des ganglions étaient notées des inclusions glandulaires mullériennes bénignes, des lésions d'endosalpingiose et des proliférations de structures papillaires focalement atypiques ressemblant aux structures papillaires observées dans la tumeur du Douglas (« Atypical Proliferative Serous Tumor-APST »). Au niveau de l'ovaire gauche quelques kystes folliculaires et kystes d'inclusions séreux de revêtement bénins étaient notés mais sans signe évident de prolifération ou de malignité. La trompe gauche et la biopsie effectuée au niveau de l'ovaire droit étaient sans particularité.

- **Immunohistochimie** : La composante épithéliale de la tumeur du Douglas était marqué par les anticorps suivants : cytokératine 7, EMA, CA-125, Ber-Ep4, RO (8/8), RP (8/8), sans marquage concomitant par l'anti-calrétinine et l'anticorps CK5-6. Au niveau des implants, d'une part la calrétinine confirmait la présence de cellules mésothéliales les entourant et d'autre part l'absence de réaction de réaction myofibroblastique était surlignée par la négativité de l'actine musculaire lisse.

Commentaires

Les tumeurs séreuses borderline péritonéales primitives (« extra-ovariennes ») sont des entités très rares décrites pour la première fois en 1990 par Bell et al et qui se caractérisent par des tumeurs extra-ovariennes ressemblant histologiquement aux tumeurs séreuses borderline primitives de l'ovaire. Par définition évidemment les ovaires sont normaux ou sont le siège d'une infiltration néoplasique limitée et ponctuelle. Ces lésions se présentent le plus souvent comme une infiltration focale ou diffuse (« miliaire ») du péritoine. Parfois, cependant, ces lésions peuvent se présenter sous la forme d'une masse abdominale (dans environ 15% des cas) comme ici. Cliniquement, cette tumeur survient chez des femmes jeunes de moins de 40 ans se plaignant d'infertilité et/ou de douleurs abdominales diffuses et non spécifiques. Histologiquement et immunohistochimiquement les lésions présentent toutes les caractéristiques des tumeurs séreuses borderline ovariennes sans évidence d'envahissement stromal ou avec un envahissement stromal minime (micro-invasion, « minimal invasion ») dont l'interprétation reste sujette à caution et varie extraordinairement dans la littérature. Le

diagnostic différentiel classique est le mésothéliome bien différencié (importance de la calrétinine) et le carcinome séreux péritonéal bien différencié mais qui est caractérisé par une invasion stromale plus marquée. Les tumeurs séreuses extra-ovariennes borderline ou invasives et bien différenciées sont fréquemment associées à des lésions d'endosalpingiose (plus de 70 % des cas) plus ou moins « proliférantes » et à des lésions d'endométriase. Lorsque ces lésions se présentent sous la forme d'une masse comme c'est le cas ici, les implants péritonéaux qui leurs sont associés sont typiquement de type non invasifs ou desmoplasiques. L'histogénèse de ces tumeurs reste jusqu'à présent extrêmement controversée, elles pourraient se développer à partir de l'épithélium coelomique et/ou du système mullérien secondaire. Les tumeurs séreuses extraovariennes borderline ou invasives de bas grade en général sont de bon pronostic si les implants qui leurs sont associés sont non invasifs. Le caractère pronostic de l'infiltration ganglionnaire dans les tumeurs séreuses borderline en général reste débattu, toutefois dans la majorité des études récentes l'infiltration ganglionnaire ne semble pas constituer un facteur péjoratif majeur. Le traitement de ces lésions est classiquement l'hystérectomie totale avec annexectomie bilatérale et la résection des implants (ou masse) péritonéaux. Toutefois, chez les patientes soucieuses de maintenir leur fertilité un traitement plus conservateur peut être envisagé.

Points importants à retenir

- Les tumeurs séreuses péritonéales (« extra-ovariennes ») primitives se présentant sous une forme pseudotumorale sont rarissimes et surviennent fréquemment chez des femmes jeunes se plaignant de douleurs abdominales et/ou d'infertilité.
- Par définition, il n'y a pas d'envahissement (« ou un envahissement minime ») de la surface ovarienne.
- Leurs aspects morphologiques et immunohistochimiques sont identiques à ceux des tumeurs séreuses borderline ovariennes primitives.
- Les implants qui leurs sont associés sont le plus souvent non invasifs ou desmoplasiques.
- L'association avec des lésions étendues d'endosalpingiose est la règle.
- Le traitement de ces tumeurs est chirurgical et consiste en une hystérectomie avec annexectomie bilatérale, résection des lésions péritonéales et épiploïques. Toutefois chez des patientes jeunes soucieuses de conserver leur fertilité un traitement conservateur peut être envisagé.

Références

Bell DA, Scully RE. Serous Borderline tumors of the peritoneum. *Am J Surg Pathol* 1990; 14: 230-9.

Weir M, Bell DA, Young R. Grade 1 peritoneal serous carcinomas: a report of 14 cases and comparison with 7 peritoneal serous psammocarcinomas and 19 peritoneal borderline tumors. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 849-862.

Joubert-Zakeyh J, Roelfs I, Darcha C, Dechelotte PJ. Peritoneal serous borderline tumors, report of two cases. *Ann Pathol* 2006; 26: 111-4.

Deffieux X, Morice P, Camatte S, Fourchette V, Duvillard P, Castaigne D. Results after laparoscopic management of serous borderline tumor of the ovary with peritoneal implants. *Gynecol Oncol* 2005; 97:84-89.

Mc Kenney J, Balzer B, Longacre T. Lymph node involvement in ovarian serous tumors of low malignant potential (Borderline tumors). *Am J Surg Pathol* 2006; 30: 614-24.

Lee ES, Leong AS, Kim YS, Lee JH, Kim I, Ahn GH, Kim HS, Chun YK. Calretinin, CD 34, and alpha smooth muscle actin in the identification of peritoneal invasive implants of serous borderline tumors of the ovary. *Mod Pathol* 2006; 19: 364-72.

Observation n°7 Mojgan Devouassoux-Shisheboran, F Allias-Montmayeur, D Raudrant (Lyon).

Renseignements cliniques

Patiente de 31 ans chez qui des douleurs pelviennes ont fait découvrir une image pelvienne gauche, solide et kystique de 15 cm, hypervasculaire ayant fait l'objet d'une résection (ovariectomie gauche), un an auparavant. Actuellement, récurrence avec une masse latéro-utérine gauche persistante, hypervasculaire et augmentant de volume malgré un traitement par analogue de LHRH.

Diagnostic proposé

Endométriose polypoïde pelvienne.

Description macroscopique

La résection pelvienne nous parvient sous la forme de deux masses de 3,5 et 5,5 cm de grand axe. A la coupe, il s'agit de masses solides contenant des foyers microkystiques et des projections papillaires jaunâtres dans des cavités kystes à contenu parfois hémorragique.

Description microscopique

Les masses sont formées d'un double contingent, épithélial et stromal. Le contingent épithélial est composé de glandes de taille variable. Certaines sont dilatées et kystiques. D'autres sont de plus petite taille. Ces glandes sont bordées par un épithélium cylindrique pseudo-stratifié, de type endométrial. Quelques mitoses sont observées, mais il n'existe pas d'atypie nucléaire. Dans certaines glandes, le revêtement est en métaplasie ciliée ou éosinophile. Le contingent stromal est formé de cellules petites et basophiles accompagnées de capillaires petits et ronds, évoquant le chorion cytotrophoblastique de la muqueuse endométriale. Focalement, on observe un aspect foliacé, avec des projections papillaires à l'intérieur de la lumière des glandes dilatées, donnant à l'ensemble une architecture « phyllode ». Ces papilles sont centrées par des cellules stromales. Dans ces zones, on note une discrète condensation des cellules du stroma dans la zone périglandulaire, avec quelques mitoses. Cependant, l'index mitotique ne dépasse pas 2 mitoses par 10 champs au fort grossissement et il n'existe pas d'atypie nucléaire du contingent stromal.

Commentaires

1 - Introduction

Le terme d' « endométriose polypoïde » a été initialement utilisé par Mostoufizadeh et Scully (1) pour désigner une variante particulière d'endométriose simulant cliniquement une tumeur maligne, avec des récurrences multiples et évoquant histologiquement « un polype de l'endomètre ». Cette variante d'endométriose a été rapportée essentiellement sous la forme de cas isolés, avec récemment la description d'une série de 24 cas (2).

2 - Cliniques

A l'inverse de la forme classique qui touche essentiellement les femmes en activité génitale, la variante polypoïde de l'endométriose est une lésion survenant à tout âge de 23 à 80 ans (3) avec 60% des femmes de plus de 50 ans (contre < 5% pour l'endométriose classique) (2). L'influence d'un traitement hormonal (traitement hormonal substitutif, tamoxifène, analogues de GnRH (4)) sur la genèse de cette variante d'endométriose a été soulignée par de nombreux auteurs, expliquant notamment, sa survenue chez les patientes ménopausées.

L'endométriose polypoïde touche le plus fréquemment l'ovaire (6 cas dans la série de 24 cas), mais également la séreuse colique, le vagin, le col, le péritoine pelvien. Elle se présente en pré et per opératoire comme une lésion tumorale, atteignant fréquemment plusieurs sites avec des masses multiples.

3 - Macroscopie

Cette variante d'endométriose se présente macroscopiquement, comme son nom l'indique sous la forme de polypes ou masses polypoïdes, variant de 0.4 à 14 cm. Il s'agit de masses essentiellement solides avec un degré variable de zones kystiques et hémorragiques.

4 - Microscopie

L'aspect morphologique est celui d'une muqueuse endométriale ectopique présentant un aspect floride d'hyperplasie endométriale simple, plus ou moins glandulo-kystique, et de polype endométrial de type hyperplasique. En effet, les glandes sont nombreuses, de taille variable, bordées par un épithélium endométrial de type prolifératif. Les foyers de métaplasie ciliée, éosinophile, malpighienne ou mucineuse sont très souvent observés (75 % des cas). La métaplasie épithéliale est en effet beaucoup plus fréquente que dans une endométriose classique. L'endométriose peut revêtir l'aspect d'un véritable polype endométrial avec un axe

fibreux et un bouquet vasculaire central. Des papillaires et des bourgeons composés de cellules stromales se projetant dans les glandes kystiques, peuvent s'observer de façon focale. Dans ces zones, une condensation périglandulaire peut être visible, mais il n'existe pas d'atypie nucléaire du contingent stromal.

5 – Diagnostic différentiel

L'architecture polypoïde et focalement foliacée et « phyllode » peut en imposer pour une tumeur müllérienne mixte de type adénofibrome ou adénosarcome.

L'adénofibrome peut être facilement écarté car dans l'endométriose polypoïde, le stroma fibromateux de l'adénofibrome (équivalent du stroma ovarien) n'est pas présent.

L'adénosarcome pose beaucoup plus de problème de diagnostic différentiel. En effet, l'endométriose polypoïde peut présenter focalement une condensation périglandulaire, des mitoses et des projections papillaires intra kystiques. Par ailleurs, l'adénosarcome extra utérin survient essentiellement sur un terrain d'endométriose (5). Cependant, dans l'endométriose, ces aspects restent localisés et ne sont que très focalement observés, alors que l'architecture « phyllode » et la condensation périglandulaire sont les caractéristiques de l'adénosarcome et sont évidentes et visibles sur l'ensemble des prélèvements dès l'examen au faible grossissement. Par ailleurs, il n'existe pas d'atypie nucléaire du contingent stromal dans l'endométriose polypoïde.

6 - Pronostic

Le pronostic de cette variante d'endométriose ne varie pas de celui de la forme classique, sans décès imputable directement à la lésion dans la série de Clement (2). La transformation maligne peut survenir comme dans toute endométriose dans 0,8% des cas (1% des cas d'endométriose ovarienne). Il s'agit de carcinomes essentiellement de type endométrioïde ou à cellules claires ou d'un sarcome stromal de bas grade. Des tumeurs mucineuses de type endocervical sont rapportées avec une fréquence accrue (30%) dans les endométrioses pelviennes. Des foyers d'hyperplasie complexe atypique sont également décrits dans l'endométriose polypoïde (3/24 cas).

7 - Conclusion

L'endométriose polypoïde est une variante d'endométriose qui pose des problèmes de diagnostic. En effet, elle survient essentiellement (60% des cas) chez des patientes ménopausées sous traitement hormonal et se présente comme une lésion tumorale pelvienne.

Histologiquement, la lésion est floride et peut en imposer pour une tumeur maligne, notamment un adénosarcome.

La connaissance d'une telle entité par les gynécologues et les pathologistes permet d'éviter d'éventuelles sanctions thérapeutiques abusives.

Points importants à retenir

L'endométriase polypoïde :

- peut toucher la femme ménopausée
- se présente comme une lésion tumorale pelvienne multifocale
- a un aspect d'hyperplasie endométriale simple plus ou moins complexe, ou d'un polype endométrial hyperplasique
- peut avoir focalement des projections papillaires dans la lumière des glandes et des foyers limités de condensation périglandulaire, mais sans atypie nucléaire des cellules stromales (ces aspects ne doivent pas en imposer pour un adénosarcome)

Références

(1) - Mostoufizadeh M, Scully RE. Malignant tumors arising in endometriosis.

Clin Obstet Gynecol. 1980;23(3):951-63.

(2) - Parker RL, Dadmanesh F, Young RH, Clement PB. Polypoid endometriosis: a clinicopathologic analysis of 24 cases and a review of the literature. Am J Surg Pathol. 2004;28(3):285-97.

(3) - Laird LA, Hoffman JS, Omrani A. Multifocal polypoid endometriosis presenting as huge pelvic masses causing deep vein thrombosis. Arch Pathol Lab Med. 2004;128(5):561-4.

(4) - Othman NH, Othman MS, Ismail AN, Mohammad NZ, Ismail Z. Multiple polypoid endometriosis--a rare complication following withdrawal of gonadotrophin releasing hormone (GnRH) agonist for severe endometriosis: a case report. Aust N Z J Obstet Gynaecol. 1996;36(2):216-8.

(5) - Eichhorn JH, Young RH, Clement PB, Scully RE. Mesodermal (mullerian) adenosarcoma of the ovary: a clinicopathologic analysis of 40 cases and a review of the literature. Am J Surg Pathol. 2002;26(10):1243-58.

Observation n°8 Raphaëlle Barnoud (Lyon)

Renseignements cliniques

Un patient de 46 ans aux antécédents de « prostatisme » est adressé pour la découverte de plusieurs masses abdominales dont un nodule ombilical de 4 cm de diamètre. Le scanner montre un aspect de carcinose péritonéale avec des masses mesurant plus de 10 cm et des métastases hépatiques. Il n'est pas identifié de foyer cancéreux viscéral. L'exérèse du nodule ombilical est réalisée.

Diagnostic proposé

Tumeur desmoplastique à petites cellules rondes.

Description anatomopathologique du cas

La lésion adressée mesure 6 x 4cm. Il s'agit d'un nodule solide, bien limité, présentant à la coupe un aspect blanchâtre et ferme, avec des foyers de nécrose et de calcifications.

A l'examen microscopique, il s'agit d'une prolifération tumorale solide, formée de massifs de taille variable. Ces massifs sont constitués de cellules rondes, à limites cytoplasmiques mal définies. Le cytoplasme est basophile ou très discrètement clarifié. Le noyau reste régulier, doté d'une chromatine mouchetée, poussiéreuse, avec un nucléole à peine visible. L'index mitotique est modéré avec 11 mitoses pour 10 champs au fort grossissement. Les massifs tumoraux sont parfois centrés par une zone de nécrose tumorale. Focalement, il était possible d'identifier au sein des massifs tumoraux des zones d'enroulement. Ces massifs tumoraux sont séparés les uns des autres par une stroma réaction fibreuse d'aspect desmoplastique. Au centre de ce nodule, est noté la présence de zones de calcification, d'ossification et de tissu cartilagineux. Ce tissu semble correspondre à une métaplasie du stroma car l'architecture de ces massifs reste organoïde, sans association aux cellules tumorales proprement dites.

L'étude immunohistochimique réalisée sur coupes déparaffinées montre que les cellules tumorales sont :

- pan cytokératines (AE1-AE3), cytokératine 18, desmine positives avec un marquage cytoplasmique intense de la totalité des cellules tumorales ;
- EMA positives avec un marquage membranaire n'intéressant que de très rares cellules tumorales (moins de 10 %) ;
- NSE positives avec un marquage cytoplasmique faible et diffus ;
- CD99 positives avec un marquage membranaire et cytoplasmique ;

- Calrétinine positives avec un marquage cytoplasmique et nucléaire de 50% des cellules ;
- cytokératines 7, cytokératine 20, synaptophysine, chromogranine, protéine S100, CD 34, CD31, CD20, CD3, Actine musculaire lisse (AML) négatives. Il est observé avec l'anticorps anti-AML, une positivité des cellules du stroma.

Un fragment congelé a été adressé au laboratoire de génétique de l'institut Curie (Dr O. Delattre) pour la réalisation de l'étude par RT-PCR des translocations spécifiques des tumeurs solides à petites cellules rondes. Il a permis la mise en évidence du transcrite de fusion EWS/WT1, spécifique de la tumeur desmoplastique à petites cellules rondes.

Commentaires

- Caractéristiques Cliniques :

C'est en 1989 (1) que Gerald et Rosai individualisent au sein des tumeurs à petites cellules rondes de l'enfant une nouvelle entité anatomo-clinique. Celle-ci est caractérisée par sa survenue chez l'adolescent ou l'adulte jeune, en général de sexe masculin, par une localisation intra-abdominale réalisant un tableau de carcinose péritonéale sans tumeur primitive connue et par un aspect histologique très particulier, associant un stroma fibro-cellulaire dit « desmoplastique » et des cellules tumorales d'aspect indifférencié capables de démontrer lors des études immunohistochimiques une différenciation polyphénotypique. La première terminologie utilisée par Gerald et Rosai était celle de « intra-abdominal small round cell tumor » car tous les cas décrits alors étaient localisés dans la cavité abdominale ou pelvienne (2). Cependant, la découverte de cas paratesticulaires et pleuraux a amené les auteurs à supprimer le terme « intra-abdominale » et à ne plus parler que de tumeur desmoplastique à petites cellules rondes (TDPCR). C'est donc une tumeur qui touche principalement les séreuses : péritoine abdominal ou pelvien, vaginale testiculaire, plus rarement la plèvre. D'exceptionnelles localisations sans rapport avec une surface séreuses ont également été décrites : tête et cou (orbite, sinus (3), sous mental, scalp (3), glande parotide), os, tissu mou des membres. Chez les femmes, la localisation pelvienne peut mimer une tumeur d'origine ovarienne (4). La symptomatologie, non spécifique, est fonction de la localisation tumorale et peut-être en rapport avec la compression des organes de voisinage ou le syndrome tumoral.

- Macroscopie :

Pour les localisations intra-abdominales, la tumeur se présente comme une volumineuse masse associée à de nombreux nodules satellites plus petits, attachés à la surface péritonéale. Les prélèvements, en cas de résection tumorale, mesurent en moyenne 12 à 15 cm. Gerald et coll. décrivent une tumeur mesurant plus de 40 cm de grand axe (2). La surface tumorale

apparaît généralement bosselée et la tranche de section solide, homogène, de couleur soit grise, soit jaune pâle. Il existe des foyers nécrotiques, hémorragiques, kystiques ou myxoïde. Les tumeurs paratesticulaires se caractérisent par une vaginale irrégulière, épaissie ou par une masse mieux individualisable associée à de nombreux petits nodules coalescents recouvrant la face pariétale de la vaginale testiculaire.

- **Microscopie :**

L'aspect est évocateur par la présence d'îlots ou d'amas de cellules tumorales entourées d'un stroma fibreux desmoplastique, riche en cellules fibroblastique et myofibroblastique. Les massifs cellulaires sont de taille variable, soit vastes, soit plus petits et réduits à des foyers de quelques cellules. Il peut exister des signes de différenciation épithéliale caractérisée par la présence de tubes ou de lumières de type glandulaire contenant parfois une substance éosinophile PAS et mucicarmin positive (4). Certains auteurs ont également noté un arrangement palissadique externe. Il est retrouvé parfois des aspects évoquant une différenciation nerveuse ou neuro-endocrine représentés par des rosettes de Homer-Wright, des pseudo-rosettes ou une disposition rappelant les tumeurs cacinoïdes. Des arrangements alvéolaires d'origine artéfactuelle probable et des remaniements nécrotiques sont présents. Les cellules tumorales sont petites ou de taille moyenne avec un noyau rond ou ovale, hyperchromatique, aux contours souvent irréguliers et contenant un ou plusieurs petits nucléoles. Les figures mitotiques sont en général fréquentes. Le cytoplasme est peu abondant, ses limites sont floues. Il est décrit la présence de cellules plus volumineuses, d'aspect rhabdoïde. Le stroma est le plus souvent abondant, desmoplastique et non inflammatoire. Il peut être plus réduit et, pour quelques cas décrits, perdre son caractère desmoplastique.

- **Immunohistochimie**

Le profil immunohistochimique des TDPCR est particulier par son caractère polyphénotypique avec une positivité vis-à-vis des marqueurs épithéliaux (kératine, EMA), mésenchymateux (vimentine), myogénique (desmine) et neuraux (NSE et CD56). L'immunomarquage réalisé avec l'anticorps anti-desmine est caractéristique par sa présentation en globules para-nucléaires. Il peut être limité à quelques cellules positives.

Ce profil immunohistochimique peut varier avec des tumeurs négatives vis à vis de la desmine ou des cytokératines ou positives vis-à-vis d'autres marqueurs comme de CD15 (leu-M1), le Ber-EP4, le CD99. Le marquage obtenu avec l'anticorps anti-CD99 est habituellement cytoplasmique, ce qui le différencie du marquage membranaire, intense et homogène obtenu dans les sarcomes d'Ewing/PNET. Un marqueur intéressant, en particulier pour le diagnostic différentiel, est représenté par l'anticorps anti-WT1 (C-19) dirigé contre

l'extrémité C-terminale de la protéine WT1 présente dans le transcrit de fusion EWS-WT1 spécifique des TDPCR (voir paragraphe sur les caractéristiques génétiques). Le marquage est nucléaire, diffus, et présent dans la presque totalité des tumeurs testées. En revanche, il est négatif dans les autres tumeurs à petites cellules rondes : les sarcomes d'Ewing/PNET, les neuroblastomes et la plupart des rhabdomyosarcome (5). Le résultat de l'ensemble des études immunohistochimiques des trois plus larges séries étudiées (3,6,7) est répertorié dans le tableau ci dessous.

Résultats de l'étude immunohistochimique des trois plus larges séries rapportés dans la littérature (exprimés en %)

Anticorps	CK	Des	EMA	NSE	CD57	Synap	Chromo	AML	CD15	CD99	WT1
Ordonnez (6)	95	100	96	72	67	16	4	19	69	35	89
Gerald (7)	86	90	93	81			2			20	93
Lae (3)	88	81		84				3		23	91

CK : pancytokératine AE1/AE3 ; Des : desmine ; Synapt : synaptophysine ; Chromo : Chromogranine.

- Caractéristiques génétiques :

La TDPCR est caractérisée par une translocation réciproque **t(11;22)(p13;q12)** qui réalise la fusion de deux gènes : le gène du sarcome d'Ewing (EWS) et le gène de la tumeur de Wilms (WT1). Le **transcrit de fusion EWS-WT1** résultant de cette translocation peut être mis en évidence par RT-PCR à partir de matériel tumoral congelé ou en paraffine et représente un bon critère diagnostique puisque qu'à l'heure actuelle, il est reconnu comme spécifique des TDPCR et qu'il est retrouvé dans plus de 95% des tumeurs (3,8). Le transcrit de fusion EWS-WT1 code pour une protéine chimère qui agirait comme un facteur de transcription régulant l'expression de gènes cibles pouvant participer à l'aspect desmoplastique du stroma ou être impliqués dans les mécanismes de carcinogenèse. A l'heure actuelle, la participation et le rôle exact de ces différents gènes restent hypothétiques et doivent être confirmés par des études in vivo chez l'animal qui seront possibles grâce à la mise au point récente d'une lignée cellulaire de TDPCR (10).

Diagnostic différentiel :

Histologiquement, la TDPCR devra être distingués des autres tumeurs à petites cellules rondes comme le sarcome d'Ewing/PNET, la métastase péritonéale d'un carcinome peu différencié, le lymphome, le rhabdomyosarcome, le mésothéliome malin, le neuroblastome et la tumeur de Wilms

Le **sarcome d'Ewing/PNET** est représenté par des amas et nids de petites cellules rondes. Il est positif vis-à-vis de MIC2 (CD99) avec un marquage membranaire (tandis que dans la TDPCR le marquage, quand il est positif, est décrit essentiellement comme cytoplasmique) et négatif vis-à-vis des cytokératines et des marqueurs musculaires. De plus le sarcome d'Ewing/PNET présente une translocation réciproque et des transcrits de fusion différents de ceux de la TDPCR.

C'est essentiellement l'aspect histologique qui posera le problème de **métastase péritonéale d'un carcinome**, en particulier **neuro-endocrine**. La clinique et l'étude immunohistochimique permettra d'éliminer ce diagnostic.

Le **lymphome malin** sera éliminé sur l'aspect des noyaux, le caractère cohésif des cellules et le résultat de l'étude immunohistochimique.

Les **rhabdomyosarcomes embryonnaire et alvéolaire** peuvent se présenter microscopiquement comme des amas ou nids de petites cellules rondes. Le stroma n'est pas desmoplastique. Les cellules sont positives vis-à-vis des marqueurs musculaires (desmine, AML, myogénine) et habituellement négatives vis-à-vis des cytokératines, et des marqueurs neuronaux. Le profil génétique du rhabdomyosarcome alvéolaire est différent. Pour le mésothéliome malin, le diagnostic différentiel se posera essentiellement avec la forme à petites cellules.

Le **neuroblastome** et la **tumeur de Wilms extra-rénale** surviennent chez des patients beaucoup plus jeunes avec des caractéristiques génétiques tout fait différentes.

Evolution et pronostic

Le plus souvent, le traitement se base sur l'association : chimiothérapie intensive, chirurgie et radiothérapie. La chirurgie peut prolonger la survie quand elle permet la résection totale des nodules tumoraux. Les résultats des différents protocoles utilisés sont variables allant d'une excellente réponse avec rémission complète (mais le plus souvent temporaire) à une chimiorésistance absolue avec progression tumorale sous traitement. L'**évolution** de cette maladie est **redoutable** avec une survie médiane variant de 1 à 3 ans selon les séries.

Cependant, les études fondamentales permettent de mieux cerner les mécanismes de carcinogénèse et laisse espérer la mise au point de thérapeutiques ciblées.

Points importants à retenir

La tumeur desmoplastique à petites cellules rondes est :

- une entité anatomoclinique caractérisée par sa survenue chez l'adolescent et l'adulte jeune, en général de sexe masculin
- touche principalement les séreuses : essentiellement le péritoine abdominal ou pelvien, mais également la vaginale testiculaire et plus rarement la plèvre
- tableau clinique, évocateur d'une carcinose péritonéale ou d'un mésothéliome diffus, avec généralement une masse tumorale principale et un essaimage nodulaire épiploïque ou pelvien sans foyer cancéreux viscéral identifiable
- aspect histologique associe un stroma fibrocellulaire dit desmoplastique et des amas ou plages de cellules tumorales de petites taille, d'aspect indifférenciées capables de démontrer lors des études immunohistochimiques une différenciation polyphénotypique avec une coexpression de marqueur de différenciation épithéliale, musculaire et nerveuse
- caractérisée par une translocation réciproque t(11 ;22)(p13 ;q12)
- transcrite de fusion EWS-WT1 peut être mis en évidence par RT-PCR à partir de matériel tumoral congelé ou en paraffine et représente un excellent critère diagnostic, en particulier pour les formes atypiques
- traitement : association chirurgie, chimiothérapie et radiothérapie
- pronostic reste redoutable

Références

- 1- Gerald WL, Rosai J. Desmoplastic small cell tumor with divergent differentiation. *Pediatr Pathol* 1989 ; 9 : 177-83.
- 2- Gerald WL, Miller HK, Battifora H, Miettinen M, Silva EG, Rosai J. Intra-abdominal desmoplastic small round-cell tumor : report of 19 cases of a distinctive type of high-grade polyphenotypic malignancy affecting young individuals. *Am J Surg Pathol* 1991 ; 15 : 499-513.
- 3- Lae ME, Roche PC, Jin L, Lloyd RV, Nascimento AG. Desmoplastic small round cell tumor : a clinicopathologic, immunohistochemical, and molecular study of 32 tumors. *Am J Surg Pathol* 26 : 823-35, 2002.

- 4- Young RH, Eichhorn JH, Dickersin GR, Scully RE. Ovarian involvement by the intra-abdominal desmoplastic small round cell tumor with divergent differentiation : a report of three cases. *Hum Pathol* 1992 ; 23 : 454-64.
- 5- Barnoud R, Sabourin JC, Pasquier D, Ranchère D, Bailly C, Terrier-Lacombe MJ, Pasquier B. Immunohistochemical expression of WT1 by desmoplastic small round cell tumor. A comparative study with other small round cell tumors. *Am J Surg Pathol* 2000 ; 24 : 830-836.
- 6- Ordonnez NG. Desmoplastic small round cell tumor: II: an ultrastructural and immunohistochemical study with emphasis on new immunohistochemical markers. *Am J Surg Pathol* 1998 ; 22 : 1314-27.
- 7- Gerald WL, Ladanyi M, de Alava E, Cuatrecasas M, Kushner BH, LaQuaglia MP et al. Clinical, pathologic, and molecular spectrum of tumors associated with t(11 ;22)(p13 ;q12) : desmoplastic small round-cell tumor an its variants. *J Clin Oncol* 1998 ; 16 : 3028-36.
- 8- Antonescu CR, Gerald WL, Magrid MS, Ladanyi M. Molecular variants of the EWS-WT1 gene fusion in desmoplastic small round cell tumor. *Diagn Mol Pathol* 1998 ; 7 : 24-8.
- 9- Gerald WL, Haber DA. The EWS-WT1 gene fusion in desmoplastic small round cell tumor. *Semin Cancer Biol* 2005 ; 15 : 197-205.
- 10- Nishio J, Iwasaki H, Ishiguro M, Ohjimi Y, Fujita C, Yanai F et al. Establishment and characterization of a novel human desmoplastic small round cell tumor line, JN-DSRCT-1. *Lab Invest* 2002 ; 82 : 1175-82.