

**«OUF, C’EST POSITIF ! – DE L’USAGE DES BIOMARQUEURS EN PATHOLOGIE
MAMMAIRE»**

21 OCTOBRE 2021- **Responsable** : Dr Magali LACROIX-TRIKI- Institut Gustave Roussy
VILLEJUIF

Intervenants :

Dr Camille FRANCHET, Département de Pathologie -Oncopole TOULOUSE

Dr Natacha JOYON, Institut Gustave Roussy - VILLEJUIF

Dr Aurélie MARAN-GONZALEZ, ICM – Val d’Aurelle - MONTPELLIER

SOMMAIRE

Cas N°1 – HER2 (Dr Magali LACROIX-TRIKI)	page 5
Cas N°2 – CD30 (Magali LACROIX-TRIKI)	page 9
Cas N°3 – E-cadhérine (Dr Natacha JOYON)	page 15
Cas N°4 - NTRK (Dr Natacha JOYON)	page 20
Cas N°5 - MYB (Dr Camille FRANCHET)	page 25
Cas N°6 – c-MYC (Dr Aurélie MARAN-GONZALEZ)	page 29
Cas N°7 – GATA3, SOX10 &Co (Dr Camille FRANCHET)	page 36

INTRODUCTION

L'utilisation de biomarqueurs, qu'ils soient diagnostiques, pronostiques ou théranostiques (ou les 3 ensemble), est une évidence en pathologie mammaire comme dans tous les autres organes. A titre indicatif, le Tableau 1 liste les principaux biomarqueurs utilisés (quotidiennement ou non).

Cette liste évolue régulièrement, avec de nouveaux biomarqueurs qui apparaissent (comme par exemple PD-L1 qui va refaire son entrée dans les prochaines semaines pour le cancer du sein triple négatif), soulignant l'importance de mettre à jour nos connaissances. Par ailleurs, même de « vieux » biomarqueurs couramment utilisés se révèlent parfois d'interprétation difficile, avec quelques pièges à connaître, ou bien peuvent être utilisés de façon « atypique » dans une démarche diagnostique.

Cet histoséminaire abordera donc l'apport d'une sélection de certains biomarqueurs, qu'ils soient immunohistochimiques ou moléculaires, dans le diagnostic et la prise en charge des lésions du sein. Chaque cas illustrera l'utilisation d'un biomarqueur, ses avantages et inconvénients, son interprétation et les pièges possibles. Nous aborderons des biomarqueurs bien connus et couramment utilisés, mais aussi de plus récents qui peuvent vous sortir d'ornières diagnostiques...

TABLEAU 1 – LISTE NON EXHAUSTIVE DES PRINCIPAUX BIOMARQUEURS UTILISES EN PATHOLOGIE MAMMAIRE

Diagnostiques	Biomarqueur	Principale indication
	myoépithéliaux (p63, calponine, CK de haut poids moléculaire)	In situ vs invasif Lésions à différenciation myoépithéliale Lésions papillaires
	E-cadhérine +/- β -caténine	Lobulaire vs canalaire
	CK de haut poids moléculaire (CK5, CK14)	Lésions proliférantes (hyperplasie simple vs atypique)
	CD34, CD31, ERG, MYC β -caténine, AML, desmine, pan-cytokératine	Lésions à cellules fusiformes, lésions vasculaires
	GATA3, SOX10, mammaglobine	Contexte métastatique, prouver une origine mammaire
	Chromogranine, synaptophysine	Différenciation neuroendocrine
	MYB (IHC, FISH)	Carcinome adénoïde kystique
	TRK (IHC), FISH <i>ETV6</i>	Carcinome sécrétant
	Lysozyme, PS100	Adénose microglandulaire, carcinome à cellules acineuses
	IDH2 (IHC, séquençage)	Carcinome à cellules hautes et à polarité inversée
	CD30	Lymphome anaplasique à grandes cellules associé aux prothèses
Pronostiques	Ki67	Prolifération, classification luminal A vs B
	Signatures moléculaires pronostiques	Prédiction du risque de rechute +/- du bénéfice d'une chimiothérapie adjuvante
Théranostiques	RE, RP, HER2	Indispensable pour tout cancer infiltrant
	RA	A la demande dans les triple négatifs
	<i>PD-L1 (en cours)</i>	<i>A la demande dans les triple négatifs</i>
	FISH <i>HER2</i>	Pour les cas de score IHC HER2 2+

Cas n°1 – HER2 !

Dr Magali LACROIX-TRIKI, Gustave Roussy Cancer Campus – Villejuif

Renseignements cliniques

Pièce de réduction dans le cadre d'une symétrisation du sein gauche chez une femme de 50 ans, avec un antécédent homolatéral de carcinome canalaire in situ de haut grade de 57mm d'exérèse complète un an auparavant (tumorectomie et radiothérapie complémentaire), et controlatéral de carcinome infiltrant sans type spécifique dans un contexte de carcinome in situ également étendu.

Diagnostic**Carcinome canalaire in situ****Description macroscopique**

Pièce de réduction parvenue en 3 fragments orientés mesurant de 5.5 à 13.5cm de grand axe. En l'absence de lésion macroscopique, des prélèvements systématiques ont été effectués sur les 3 fragments (6 blocs initiaux, suivis d'une reprise de 28 blocs).

Description histologique

On observe un parenchyme mammaire fibreux, comportant quelques champs lobulaires et canaux d'architecture préservée, avec quelques aspects de galactophorite chronique, sans lésion proliférante identifiable. Certains lobules paraissent atrophiques. De façon focale, on observe dans quelques lobules un épithélium constitué de cellules de grande taille, à cytoplasme éosinophile abondant et à noyau volumineux, anisocaryotique, parfois nucléolé. Il n'y a pas de stratification, cet épithélium atypique de type plan laissant persister une lumière étroite, avec quelques pôles apicaux sécrétoires. Il n'y a pas de mitose ni de nécrose, ni d'architecture complexe. Il n'est pas noté de dystrophie nucléaire dans le tissu conjonctif. Ces lésions sont retrouvées de façon discontinue sur plusieurs blocs prélevés dans la même région, notamment sur ceux faits dans un deuxième temps (intérêt de faire une reprise lorsque l'on hésite !).

L'étude immunohistochimique montre dans ces lésions atypiques une expression hétérogène du récepteur des œstrogènes, une absence d'expression de la cytokératine de haut poids

moléculaire CK14 (avec des témoins internes conformes), et surtout une surexpression forte et intense de HER2 (marquage membranaire complet intense des cellules atypiques). Cet immunomarquage HER2 souligne l'extension des lésions à plusieurs lobules adjacents.

Compte tenu de ce phénotype et de la systématisation des lésions, le diagnostic de dystrophie épithéliale post-radique a été écarté et le diagnostic de lésion résiduelle du carcinome canalaire in situ de haut grade connu finalement retenu. L'exérèse était incomplète en interne. Une mastectomie complémentaire avec reconstruction immédiate a été effectuée, retrouvant un reliquat de carcinome canalaire in situ de haut grade.

Commentaires, diagnostics différentiels

La gestion des atypies épithéliales après traitement (chimiothérapie ou radiothérapie) est souvent problématique, surtout lorsqu'elles ne s'accompagnent pas de réelle prolifération épithéliale (lésion plane respectant l'architecture des lobules, sans comblement des canaux ni architecture complexe comme dans notre observation).

La radiothérapie peut induire des modifications morphologiques dans les cellules épithéliales (essentiellement au niveau des UTDL), le stroma et les vaisseaux. Une atrophie des lobules est habituelle, souvent prononcée, avec diminution du nombre des acini et également du nombre de cellules dans les acini restants [1]. Le tissu palléal dans les lobules devient collagénique, avec un épaissement des membranes basales, qui comprime parfois les acini et leur donne un aspect « pseudo-infiltrant ». On observe souvent des atypies cyto-nucléaires, avec des noyaux augmentés de taille, pléomorphes et un rapport nucléo-cytoplasmique augmenté [1]. Ces atypies, bien qu'habituellement légères à modérées, peuvent être d'interprétation difficile, notamment sur matériel biopsique ou cytologique, posant de réels problèmes de diagnostic différentiel avec un carcinome in situ (avec des conséquences majeures sur la prise en charge ultérieure). Parce qu'elles sont particulièrement sensibles aux radiations, les zones de métaplasie apocrine sont également susceptibles de développer des atypies, parfois marquées, après radiothérapie, ce qui complexifie le diagnostic [3]. Les atypies post-radiques se présentent le plus souvent sous la forme de cellules atypiques éparses, isolées, retrouvées de façon aléatoire dans plusieurs lobules sans systématisation régionale, alors que les lésions de carcinome canalaire in situ sont contiguës et systématisées. Par ailleurs, les atypies post-radiques surviennent le plus souvent dans un contexte d'atrophie lobulaire, sans hyperplasie associée, ni expansion des lobules, ni activité mitotique ou nécrose [1,2]. Il ne semble pas exister de lien formel entre la sévérité des atypies post-radiques observées et l'âge, la dose de radiation reçue, ni le délai après radiothérapie ou l'utilisation

d'une chimiothérapie adjuvante [2]. L'intensité de ces lésions en fonction de la localisation dans le sein (zones de boost ou à distance de ces zones) est variable selon les études, parfois plus marquée dans la zone du boost, notamment pour les dystrophies radio-induites du stroma [2,3]. Pour mémoire, ces modifications post-radiques sont à rapprocher de celles que l'on peut observer après chimiothérapie néoadjuvante à distance du lit tumoral [1].

A côté des atypies épithéliales, la radiothérapie peut entraîner un certain nombre de modifications du stroma, telles que de la cytotéatonécrose, de la fibrose et de l'élastose. Les fibroblastes peuvent également présenter des dystrophies nucléaires, avec des noyaux hypo ou hyperchromatiques, parfois atypiques ou multinucléés. Les structures vasculaires peuvent montrer un épaississement fibroblastique de l'intima, une fragmentation de la limitante élastique et des cellules endothéliales turgescents ou atypiques [1-3]. Les lésions vasculaires atypiques et angiosarcomes radio-induits sont plus spécifiquement abordés dans le cas n°6.

Les diagnostics différentiels évoqués dans le cadre de notre observation étaient donc en premier lieu des atypies épithéliales post-radiques, une adénose apocrine, une adénose apocrine atypique, des atypies épithéliales planes.

Dans ce contexte de diagnostic différentiel entre des atypies iatrogènes post-traitement (radiothérapie ou chimiothérapie) et un carcinome canalaire in situ, l'immunohistochimie n'est le plus souvent pas décisive. Quelques marqueurs peuvent cependant aider à y voir plus clair, voire faire le diagnostic comme dans notre observation :

- Le duo récepteur des œstrogènes (RE) / récepteur des androgènes (RA) peut vous permettre d'identifier une métaplasie apocrine (RE- RA+)
- La E-cadhérine peut permettre de porter le diagnostic d'hyperplasie lobulaire atypique ou de carcinome lobulaire in situ, parfois évoqué sur un mode de dissémination pagétoïde dans les canaux
- Les cytokératines de haut poids moléculaires (CK5, CK14) sont peu utiles en l'absence de prolifération épithéliale (lésions planes, métaplasie cylindrique et métaplasie apocrine sont négatives)
- HER2 peut être surexprimé en cas de carcinome canalaire in situ, notamment de haut grade (environ 35% des CCIS présentent une surexpression de HER2 en immunohistochimie) [4]. Le marquage doit être membranaire complet intense (de type 3+). A noter que les lésions apocrines peuvent présenter un marquage HER2 cytoplasmique granuleux qui ne doit pas être pris pour une surexpression.

Quand cela est possible, il est souhaitable d'effectuer de nouveaux prélèvements pour mieux échantillonner les lésions (comme dans notre observation) et le cas échéant documenter la qualité de l'exérèse. Sur biopsie, la réalisation de niveaux de coupe supplémentaires est souhaitable. Enfin, si la patiente présente un antécédent de carcinome in situ et que le matériel tumoral initial est disponible, une comparaison des lésions peut s'avérer utile (pour les lésions invasives, le type histologique, grade et phénotype tendent à être similaires sur la rechute en territoire irradié) [5].

Points importants à retenir

- La radiothérapie peut induire des atypies épithéliales, souvent dans un contexte d'atrophie et de fibrose des lobules
- Ces lésions sont le plus souvent discontinues et éparses (non systématisées) sous la forme de cellules isolées atypiques
- Il n'y a le plus souvent pas de prolifération associée, ni de distension des canaux, ni d'activité mitotique
- En cas de doute diagnostique avec une lésion carcinomateuse in situ, penser à refaire des prélèvements ou des niveaux, et à comparer avec la lésion antérieure le cas échéant
- HER2, surexprimé dans 35% des CCIS, peut être un marqueur utile !

Références

1. Provenzano E, Pinder SE. Modern therapies and iatrogenic changes in breast pathology. *Histopathol* 2017 ; 70 :40-55.
2. Schnitt SJ, Connolly JL, Harris JR et al. Radiation-induced changes in the breast. *Human Pathol* 1984 ;15 :545-50.
3. Hoda SA, Brogi E, Koerner FC, Rosen PP. *Rosen's breast pathology*. Philadelphia : Wolters Kluwer Health, 2020.
4. Sanati S. Morphologic and molecular features of breast ductal carcinoma in situ. *Am J Surg Pathol* 2019 ;189 :946-55.
5. Sigal-Zafrani B, Bollet MA, Antoni G et al. Are ipsilateral breast tumor invasive recurrences in young (≤ 40 years) women more aggressive than their primary tumors ? *Brit J Cancer* 2007 ;97 :1046-52.

Cas n°2 – CD30 !

Dr Magali LACROIX-TRIKI, Gustave Roussy Cancer Campus – Villejuif

Renseignements cliniques

Patiente âgée de 56 ans, aux antécédents de lupus, suivie pour un carcinome canalaire in situ du sein droit dans le cadre d'un syndrome de Cowden (mutation germinale du gène *PTEN*), prise en charge par mastectomie (homolatérale et prophylactique controlatérale) avec reconstruction immédiate par prothèse texturée de type Allergan en 2009. La patiente a présenté une augmentation de volume du sein droit avec douleur et collection péri-prothétique en décembre 2020. L'IRM montrait un épanchement péri-prothétique en hypersignal T2 de faible abondance, avec un réhaussement péri-prothétique d'allure réactionnelle, sans signe de rupture, et une adénopathie axillaire non spécifique. L'examen du liquide cytoponctionné à l'époque ne retrouvait pas d'argument cytologique pour un lymphome anaplasique. Une dépose de prothèse a été programmée, mais finalement retardée du fait d'une poussée de lupus (traitement par PLAQUENIL), et d'une symptomatologie gynécologique nécessitant des explorations. En juin 2021, la patiente consulte en urgence pour un nodule du sein droit d'apparition récente, fixé, avec adénopathie axillaire palpable homolatérale. Le nodule mesure 38mm, est situé en avant de la prothèse, et est classé ACR5. Une biopsie 14G est réalisée.

Diagnostic

Lymphome anaplasique à grandes cellules associé aux prothèses mammaires, ALK-, de phénotype T cytotoxique.

Description histologique

Les fragments biopsiques adressés montraient un tissu fibreux occupé par une prolifération tumorale maligne très atypique, formant des plages pseudo-cohésives. Les cellules tumorales, de grande taille, présentaient des noyaux volumineux, anisocaryotiques, souvent très atypiques, arrondis ou réniformes, avec de nombreuses mitoses. On observait de vastes territoires de nécrose, des corps apoptotiques, et une stroma réaction fibroblastique et inflammatoire. Il n'était pas retrouvé de tissu glandulaire mammaire résiduel.

L'étude immunohistochimique ne retrouvait pas d'expression des marqueurs épithéliaux (pan-cytokératines AE1/AE3, CK7). La prolifération exprimait de façon intense le CD45, avec le phénotype suivant : CD30+ (marquage intense de 100% des cellules tumorales), ALK1-, CD43+, CD3- (trou phénotypique, marquage de petits lymphocytes réactionnels mêlés à la prolifération), CD5+, CD4+, MUM1+, EMA+ très focal dans de rares cellules tumorales,

CD20-, CD15-, PAX5-, CD2-, CD7-, CD8-. La prolifération présentait par ailleurs un profil cytotoxique activé, avec expression de la perforine, du granzyme B (marquage cytoplasmique granuleux focal), sans expression de TIA1. L'index de prolifération Ki67 était élevé avec 90% de cellules tumorales marquées. La prolifération exprimait la forme phosphorylée de STAT3. Enfin, l'hybridation in situ à l'aide des sondes EBERs était négative et aucun réarrangement du locus *IRF4/DUSP22* n'était détecté en FISH interphasique.

La confrontation des données morphologiques et phénotypiques permettait donc de retenir le diagnostic de lymphome anaplasique à grandes cellules ALK- associé aux implants mammaires, de phénotype T cytotoxique, vraisemblablement de type infiltrant dans la limite du matériel biopsique examiné. Le cas a été référé au groupe LYMPHOPATH, déclaré à l'ANSM (Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé), et inclus pour analyse génomique dans le registre national dédié à cette pathologie. La patiente a été prise en charge par chimiothérapie première compte tenu du bilan d'extension montrant des adénopathies synchrones, et la dépose de prothèse différée.

Commentaires, diagnostics différentiels

Si les premiers cas ont été décrits dès 1997, le lymphome anaplasique à grandes cellules associé aux implants mammaires n'a été que récemment reconnu en tant qu'entité dans la classification OMS des tumeurs lymphoïdes [1]. Plus de 600 cas ont été recensés dans le monde. Ces tumeurs surviennent au contact de prothèses à surface texturée (100% des cas, qu'elles soient à contenu de type silicone ou salin), le plus souvent sous la forme d'un épanchement péri-prothétique (« sérome ») d'apparition tardive (plus d'un an après la pose de prothèse, en moyenne 8 ans après) et plus rarement sous la forme d'une masse ou d'une adénopathie axillaire [1-6]. Le diagnostic de cette entité, porté sur l'examen du liquide ponctionné ou du matériel de capsulectomie, est parfois difficile et retardé. Par ailleurs, si la plupart des cas rapportés dans la littérature sont d'évolution indolente, notamment en cas de sérome, des décès dûs à la progression de la maladie ont cependant été rapportés.

La présentation clinique habituelle est celle d'une augmentation de volume du sein, parfois douloureuse, amenant au diagnostic échographique d'épanchement péri-prothétique faisant suspecter en premier lieu une rupture prothétique. Plus rarement, il s'agit d'une masse, palpable ou détectée sur les imageries [3].

Du fait de cette présentation, le diagnostic peut en premier lieu être porté sur l'examen du liquide de cytoponction. Un minimum de 10 à 50ml est optimal pour obtenir suffisamment de matériel et réaliser des étalements, des cytoblocs pour phénotypage, voire si possible de la

cytométrie de flux et/ou des analyses moléculaires [3-6]. La prise en charge rapide du liquide ponctionné (le plus rapidement possible sans dépasser 48h) est le garant de la fiabilité des analyses morphologiques et phénotypiques ultérieures. L'aspect cytologique observé est celui de larges cellules discohésives et pléomorphes, dotées d'un noyau irrégulier à chromatine dispersée ou vésiculaire, fortement nucléolé, et d'un cytoplasme abondant parfois finement vacuolisé [1,4,6]. La présence de cellules « hallmark » à noyau réniforme ou en fer à cheval est habituelle. Des mitoses atypiques sont parfois observées. Le principal diagnostic différentiel sur cytologie est un liquide inflammatoire péri-prothétique, mais celui-ci contient typiquement des petits lymphocytes et des histiocytes de taille bien plus petite que les cellules lymphomateuses anaplasiques et de cytologie bien plus régulière. L'étude immunocytochimique (anti-CD30) est un élément clé du diagnostic (voire plus bas).

Lorsque la symptomatologie première est celle d'une masse, le diagnostic sera porté sur biopsie, comme dans notre observation. La prise en charge ultérieure, à la fois diagnostique et thérapeutique, consiste en une dépose de prothèse avec capsulectomie complète. Plusieurs publications très récentes détaillent les recommandations de prise en charge de ces pièces opératoires, que ce soit en cas de lymphome **avéré ou suspecté** [3-6]. Il ne s'agit bien sûr pas d'appliquer ce protocole exhaustif à toutes les pièces de capsulectomie, d'où la nécessité absolue de sensibiliser nos correspondants cliniciens à l'importance de nous communiquer les renseignements cliniques. Si la pièce opératoire est adressée entière avec l'implant, il faudra penser à prélever le liquide de collection s'il est présent, avant de retirer délicatement la prothèse et de fixer à plat la coque (en prélevant également tous les débris fibrineux attachés à l'implant ou à la face interne de la capsule). Un encrage de la partie externe de la coque est recommandé en raison du risque possible d'infiltration (1/3 des cas dans [5]). Après fixation et en l'absence de lésion macroscopique, un échantillonnage minimal de 12 sections transfixiantes (emportant la bordure externe), réparties sur la surface de coque, est souhaitable, notamment sur les zones épaissies. Certaines équipes recommandent une orientation et une cartographie des prélèvements, éventuellement assistée par la prise de photographies de la pièce [5]. L'exhaustivité des prélèvements (reprise de prélèvements si nécessaire) est importante pour garantir la qualité de la stadification pronostique. Si une masse est présente, celle-ci sera bien sûr prélevée après encrage des berges. L'examen histologique s'attachera à rechercher les cellules lymphomateuses précédemment décrites, dans la fibrine sur le versant interne de la capsule ou dans l'épaisseur de la coque. Il est habituel d'observer une nécrose abondante, des cellules lymphomateuses fantomatiques, et

des images de karyorrhexis [1,4,6]. La présence de polynucléaires éosinophiles est également rapportée [2]. L'utilisation de l'immunomarquage CD30 est essentielle et permet l'identification des cellules lymphomateuses. Il est ainsi recommandé d'effectuer au minimum un CD30 et un marqueur de la lignée macrophagique (e.g. CD163) devant toute cellule atypique [6]. L'interprétation du CD30 se fait bien sûr toujours en conjonction avec les données morphologiques (le CD30 peut être exprimé dans des cellules normales de type B ou T activés).

La stadification de la maladie comporte 5 stades, de pronostic différent [1,2]:

- T0 : présence de cellules lymphomateuses dans le liquide d'effusion sans détection dans la capsule
- T1 : cellules lymphomateuses restreintes à la face interne de la capsule
- T2 : invasion capsulaire débutante avec des cellules lymphomateuses enchâssées dans la partie superficielle de la capsule, associées à quelques éléments inflammatoires
- T3 : invasion capsulaire massive en amas ou plages tumorales avec nombreuses cellules inflammatoires entourant les cellules lymphomateuses
- T4 : cellules lymphomateuses au-delà de la capsule

En cas de tumeur T4, l'appréciation des berges d'exérèse est importante, car une berge positive pourrait participer à la décision de traitement complémentaire (reprise chirurgicale, chimiothérapie ou radiothérapie) [5]. Il est important de souligner ici que le lymphome anaplasique à grandes cellules associé aux prothèses est une affection initialement localisée, qui peut être guérie par une exérèse complète (98-100% de survie globale à 5 ans pour les formes in situ) [1,2]. Dans les formes les plus agressives (stade T4), la survie globale à 5 ans est de 52-72% [1,2].

La présence d'adénopathies satellites est possible, tumorales ou pas (possible hyperplasie réactionnelle ou siliconome en cas de rupture associée) ; l'exérèse de ces ganglions est alors recommandée [4].

Les principaux diagnostics différentiels incluent une réaction inflammatoire péri-prothétique (avec ou sans fuite ou rupture de la prothèse), un carcinome, un lymphome primitif du sein (il s'agit le plus souvent de lymphomes B, à grandes cellules (50%) ou de la zone marginale (18%), et plus rarement T dans 12% des cas) ou une localisation d'un lymphome de Hodgkin [1,2,4].

Le diagnostic positif repose principalement sur le phénotypage de la prolifération, dont l'élément clé est une **expression non équivoque, diffuse et intense du CD30 dans les**

cellules tumorales (100% des cas), sans expression de ALK-1 (100% des cas) [1-6]. Le phénotype est par ailleurs le plus souvent de type cytotoxique (perforine, granzyme B, TIA1), avec une expression incomplète des antigènes pan-T (« trou phénotypique » comme dans notre observation avec perte variable du CD3, du CD5 ou du CD7) et une expression possible de l'EMA dans 43-90% des cas [2,6] (attention au diagnostic différentiel de carcinome !). La plupart des cas conservent l'expression du CD4 (84%) [2,6] et du CD43 (95%) [2]. Un phénotype T/NK (CD56+) est très rarement observé, mais sans identification d'EBV [6]. IRF4/MUM1 est exprimé dans 89% des cas [2]. L'expression nucléaire de la forme phosphorylée de STAT3 est fréquente (100% dans [2]). Afin d'éliminer les diagnostics différentiels, il est recommandé de compléter l'analyse par l'utilisation de marqueurs B (CD20, CD79, PAX5), d'un CD15 (attention expression faible possible), d'une hybridation in situ à l'aide de sondes EBERs pour rechercher la présence du virus EBV, un marqueur de type pan-cytokératine (particulièrement si la patiente présente des antécédents de cancer du sein comme dans notre observation), et un marqueur de la lignée macrophagique (CD68 ou CD163) [4-6].

Les analyses de biologie moléculaire (PCR ou NGS) montrent un réarrangement clonal du gène du récepteur des cellules T (*TCR*). Des mutations activatrices de *STAT3* ont été rapportées dans 64% des cas, ainsi que des mutations de *JAK1*, *JAK3*, *DNMT3A*, ou *TP53* [1,4,6]. La recherche de ces anomalies n'est cependant pas nécessaire au diagnostic. Les réarrangements de *DUSP22* et/ou de *TP63*, décrits dans certains lymphomes anaplasiques à grandes cellules ALK- et dans les lymphomes anaplasiques cutanés, n'ont pas été à ce jour identifiés dans les lymphomes anaplasiques associés aux prothèses.

La prise en charge repose principalement sur **l'exérèse locale complète en berges saines** (dépose de prothèse et capsulectomie totale), garantissant les meilleurs taux de survie [1,6]. Une radiothérapie peut être proposée en cas d'exérèse incomplète [1,6]. Une chimiothérapie à base d'anthracyclines est proposée dans les stades plus avancés. Des thérapies ciblées anti-CD30 sont à l'étude dans le cadre d'essais cliniques pour les formes réfractaires [1,6].

La déclaration à l'ANSM est obligatoire, et l'inclusion dans le registre national indispensable.

Points importants à retenir

- Pathologie tardive associée aux prothèses texturées
- Présentation initiale la plus fréquente sous la forme d'un épanchement péri-prothétique (sérome)
- Le diagnostic peut être porté sur examen du liquide de ponction
- Eléments lymphomateux très atypiques de grande taille à noyau nucléolé réniforme
- CD30+ intense et diffus, ALK-1 -
- Phénotype T incomplet, le plus souvent de type cytotoxique
- 5 stades de pronostic différent selon le degré d'infiltration de la capsule
- Maladie indolente de bon pronostic en cas de stade localisé et d'exérèse complète

Références

1. Quesada AE, Medeiros LJ, Clemens MW et al. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma: a review. *Modern Pathol* 2019; 32:166-88.
2. Laurent C, Delas A, Gaulard P et al. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma: two distinct clinicopathological variants with different outcomes. *Ann Oncol* 2016; 27:306-14.
3. Clemens MW, Jacobsen ED, Horwitz SM. 2019 NCCN consensus guidelines on the diagnosis and treatment of breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma (BIA-ALCL). *Aesthetic surgery journal* 2019; 39:S3-13.
4. Jaffe ES, Ashar BS, Clemens MW et al. Best practices guideline for the pathologic diagnosis of breast implant-associated anaplastic large-cell lymphoma. *J Clin Oncol* 2020; 38: 1102-11.
5. Lyapichev KA, Pina-Oviedo S, Medeiros LJ et al. A proposal for pathologic processing of breast implant capsules in patients with suspected breast implant anaplastic large cell lymphoma. *Modern Pathol* 2020; 33: 367-79.
6. Jones JL, Hanby AM, Wells C et al. Breast implant-associated anaplastic large cell lymphoma (BIA-ALCL): an overview of presentation and pathogenesis and guidelines for pathological diagnosis and management. *Histopathology* 2019; 75: 787-96.

Cas N°3 – E-cadhérine !

Dr Natacha JOYON, Gustave Roussy Cancer Campus – Villejuif

Renseignements cliniques

Une femme de 75 ans, sans antécédent particulier, présente une lésion para-mamelonnaire interne du sein gauche, bilobée et mesurant 4.5 cm. Réalisation d'une tumorectomie mammaire associée à l'exérèse d'un nodule axillaire palpable de 3.5 cm.

Diagnostic

Carcinome lobulaire infiltrant avec morphologie papillaire

Description histologique

La lésion est assez bien limitée, constituée de deux contingents d'architecture différente : i) un contingent majoritaire, nodulaire, fait de papilles à axe grêle sans cellule myoépithéliale clairement identifiable et ii) un contingent minoritaire, périphérique, trabéculaire. Les cellules tumorales de ces deux contingents sont identiques. Elles sont discohésives, aux cytoplasmes peu abondants et aux noyaux de taille modérément augmentée. Les mitoses sont peu nombreuses (6 pour 2 mm²). Cette tumeur est de grade II selon Elston et Ellis. Il s'y associe en périphérie des lésions de carcinome lobulaire in situ de type classique (CLIS).

L'étude immunohistochimique confirme l'absence de cellule myoépithéliale et la nature infiltrante de cette tumeur (p63, calponine et CK14 négatives). Les cellules tumorales montrent un profil lobulaire avec une perte d'expression de la E-cadhérine et un marquage anormal (cytoplasmique para-nucléaire en dot) de la β -caténine. Le phénotype de la tumeur est luminal avec une expression forte du récepteur des œstrogènes (RE) (90% forte intensité) et une expression faible du récepteur de la progestérone (RP) (20% faible intensité). Absence de surexpression de HER2 (score 0) par les cellules tumorales. L'index de prolifération Ki-67 est assez élevé, estimé à 25%. Les marqueurs neuroendocrines sont négatifs (Chromogranine A, Synaptophysine et INSM1).

L'exérèse du nodule axillaire montre qu'il s'agit d'un ganglion lymphatique siège d'une métastase de la prolifération carcinomateuse précédemment décrite. On observe en effet un nodule bien limité, occupé par une prolifération carcinomateuse papillaire avec des cellules discohésives. Il persiste un liseré de tissu ganglionnaire lymphatique en périphérie. Absence d'effraction capsulaire. Il n'y a pas de tissu mammaire autour de ce nodule. L'étude immunohistochimique montre un profil identique à celui de la tumeur mammaire confirmant sa nature métastatique.

Analyse moléculaire

1) Next Generation Sequencing (panel Agilent pan-tumeur/HRD - 65 gènes) : présence d'une mutation délétère du gène *CDHI* (codant la E-cadhérine), c.2440-1G>A, avec une fréquence allélique de 40% dans le sein et 65% dans le ganglion. Présence également d'une mutation de signification inconnue de *PIK3CA*, c.1254_1262del, p.Glu418_Pro421del, avec une fréquence allélique de 18% dans le sein et 26% dans le ganglion.

2) Single Nucléotide Polymorphism (SNP) array (Oncoscan) : profil génétique complexe, avec signature luminaire 1q+16q- et comportant principalement des pertes segmentaires (11p, 12p, 12q, 14q, 11q, 16q) mais aussi des gains segmentaires (1p, 1q, 11q, 16q). Présence d'une perte d'hétérozygotie (LOH) du 16q sur le locus du gène *CDHI*. Perte d'un chromosome 15 entier. Le profil est globalement similaire entre la tumeur du sein et la localisation ganglionnaire.

Commentaires

Nous rapportons ici le sixième cas de carcinome lobulaire infiltrant à morphologie papillaire [1–3]. Il se présente le plus souvent chez une femme âgée par une masse d'assez grande taille (T2 ou T3). En microscopie, une morphologie caractéristique se dessine avec la présence de deux contingents d'architecture différente : i) un contingent majoritaire, nodulaire, assez bien limité, constitué de papilles à axe grêle et ii) un contingent minoritaire, en périphérie, trabéculaire, d'aspect semblable au carcinome lobulaire infiltrant (CLI) de type classique [1–3]. Les cellules tumorales de ces deux contingents sont discohésives avec des atypies nucléaires le plus souvent modérées. Ce sont des tumeurs le plus souvent de grade II selon Ellis et Elston [1–3]. Parfois des lésions de CLIS sont associées. A l'étude immunohistochimique, tous les cas montrent un profil similaire : i) un phénotype lobulaire avec une perte d'expression membranaire de la E-cadhérine et de la β -caténine et ii) un phénotype luminal avec une forte expression des récepteurs hormonaux et une absence de surexpression de HER2 [1–3]. Contrairement aux cas précédemment décrits, le notre se distingue par la présence d'une lésion métastatique ganglionnaire axillaire concomitante.

Cette nouvelle entité de carcinome lobulaire infiltrant de morphologie papillaire étant quasiment inconnue, les erreurs diagnostiques sont fréquentes. En effet, dans notre cas, un premier diagnostic de carcinome invasif sans type spécifique avait été proposé sur la biopsie. Parmi les cas précédemment décrits, trois ont d'abord été diagnostiqués comme des carcinomes papillaires encapsulés ou solides. Or ces carcinomes papillaires sont considérés comme des cancers du sein relativement indolents dont l'évolution clinique est comparable au

carcinome canalaire in situ [4] et sont généralement traités par tumorectomie seule. En revanche, les cancers lobulaires infiltrants impliquent une thérapie plus agressive. Devant une morphologie papillaire, certains indices permettent d'orienter le pathologiste vers une lésion lobulaire infiltrante : la présence de cellules carcinomateuses discohésives, l'existence de foyers infiltrants trabéculaires en périphérie du nodule papillaire, ou encore la présence de CLIS. Ces aspects doivent attirer l'œil et inciter le pathologiste à réaliser une E-cadhérine afin de confirmer la nature lobulaire de la lésion. Il faut cependant noter qu'entre 0% et 23.5% des lésions lobulaires peuvent exprimer la E-cadhérine [5], avec un marquage soit anormal (cytoplasmique +/- en dot, membranaire partiel faible) soit à la limite de la normalité (membranaire complet modéré) mais avec une moindre intensité que celle observée dans les glandes normales, soit similaire au tissu normal (membranaire complet fort) [5]. Dans toutes ces situations, l'utilisation d'un anticorps dirigé contre un membre du complexe cadhérine-caténine (p120, β -caténine, α -caténine) peut être utile en montrant un marquage anormal des cellules tumorales (i.e soit absence d'expression soit expression cytoplasmique en dot) [5]. Inversement certaines lésions non lobulaires peuvent perdre l'expression de la E-cadhérine. Rakha et al. ont rapporté 109 carcinomes non lobulaires sur 1516 analysés en TMA (soit 7.2%) ayant perdu l'expression complète de la E-cadhérine. Dans la majorité des cas, ces lésions correspondent à des tumeurs de haut grade, triple négative, souvent de type basal-like [6].

Bien que le profil phénotypique nous permette dans un 1^{er} temps de nous guider vers un carcinome lobulaire infiltrant de morphologie papillaire, la rareté d'une telle tumeur rend souhaitable son analyse moléculaire. Christgen et al. ont démontré pour leur cas qu'un clone lobulaire ancestral commun était bien à l'origine des deux contingents (papillaire et trabéculaire) [2]. En effet, le profil SNP array était quasi-similaire pour les deux contingents et en NGS une mutation très rare de la E-cadhérine (p.G169fs*5) a été retrouvée dans les deux contingents. Au contraire, Ang et al. [7] rapportent un cas englobant un carcinome papillaire et lobulaire avec de multiples métastases ganglionnaires dont les analyses moléculaires ont mis en évidence qu'il s'agissait d'une tumeur de collision. Ces deux exemples soulignent l'importance d'une analyse moléculaire devant une telle tumeur. En ce qui concerne notre cas, nous n'avons pas réalisé de microdissection. Cependant l'analyse en SNP array a montré des altérations similaires dans la tumeur principale et la métastase ganglionnaire et le NGS a retrouvé une mutation similaire, délétère du gène *CDH1* (c.2440-1G>A) confirmant d'une part la nature lobulaire de ces deux lésions et d'autre part qu'elles avaient émergé du même

clone carcinomateux. Notre patiente a reçu comme traitement adjuvant une radiothérapie ainsi qu'une hormonothérapie.

Pour conclure, notre objectif ici est double. D'une part il s'agit de sensibiliser les pathologistes à cette nouvelle variante émergente du carcinome lobulaire invasif de morphologie papillaire et d'autre part de souligner l'intérêt des outils immunohistochimiques et moléculaires comme aide au diagnostic dans certaines situations inédites ou inhabituelles.

Diagnostics différentiels

Carcinome papillaire encapsulé, carcinome papillaire solide

Points importants à retenir

- Le carcinome lobulaire infiltrant peut se présenter sous la forme d'une lésion papillaire.
- Les principaux diagnostics différentiels sont le carcinome papillaire encapsulé et le carcinome papillaire solide
- La présence de cellules discohésives, de structures trabéculaires en périphérie d'un nodule papillaire, et de carcinome lobulaire in situ doit inciter le pathologiste à réaliser une E-cadhérine voir un autre marqueur du complexe cadhérine-caténine (p120, β -caténine, α -caténine)
- Une étude moléculaire, en particulier à la recherche d'une mutation de *CDH1* permet de confirmer la nature lobulaire de la lésion et d'éliminer une tumeur de collision.

Références

1. Rakha EA, Abbas A, Sheeran R. Invasive Lobular Carcinoma Mimicking Papillary Carcinoma: A Report of Three Cases. *Pathobiology*. 2016;83:221-7.
2. Christgen M, Bartels S, van Luttikhuizen JL, Schieck M, Pertschy S, Kundu S, et al. Subclonal analysis in a lobular breast cancer with classical and solid growth pattern mimicking a solid-papillary carcinoma. *J Pathol Clin Res*. 2017;3:191-202.
3. Motanagh SA, Muller KE. Invasive lobular carcinoma with papillary features: A newly described variant that poses a difficult histologic differential diagnosis. *Breast J*. 2020;26:1231-3.
4. International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours Editorial Board - Breast Tumours. 5^e éd. Lyon; 2019.

5. Canas-Marques R, Schnitt SJ. E-cadherin immunohistochemistry in breast pathology: uses and pitfalls. *Histopathology*. 2016;68:57-69.
6. Mahler-Araujo B, Savage K, Parry S, Reis-Filho JS. Reduction of E-cadherin expression is associated with non-lobular breast carcinomas of basal-like and triple negative phenotype. *J Clin Pathol*. 2008;61:615-20.
7. Ang D, VanSandt AM, Beadling C, Warrick A, West RB, Corless CL, et al. Biphasic papillary and lobular breast carcinoma with PIK3CA and IDH1 mutations. *Diagn Mol Pathol*. 2012;21:221-4.

Cas N°4 – TRK !

Dr Natacha JOYON, Gustave Roussy Cancer Campus – Villejuif

Renseignements cliniques

Une femme de 72 ans se présente avec une masse mesurant 4,5 cm du sein droit. L'examen par mammo-échographie classe cette lésion ACR4c. Réalisation d'une microbiopsie.

Diagnostic

Carcinome infiltrant de type sécrétant

Description histologique

Les microbiopsies montrent un parenchyme mammaire occupé par un nodule tumoral assez bien limité. Ce nodule est constitué de multiples structures ou massifs glandulaires adossés les uns aux autres dans un stroma parfois très hyalin. Au sein des lumières glandulaires, il existe fréquemment un matériel éosinophile PAS positif, formant des boules par places d'aspect colloïde. On observe des aspects micro-kystiques. Les cellules tumorales bordant ces structures glandulaires présentent des atypies cytologiques modérées, sans activité mitotique notable.

L'étude immunohistochimique sur coupes en paraffine montre l'absence de cellule myoépithéliale (p63 et calponine négatives) et l'absence d'expression du lysosyme. Les cellules tumorales expriment le récepteur des œstrogènes (RE) (80% forte intensité) mais n'expriment pas le récepteur de la progestérone. Absence de surexpression de HER2. L'index de prolifération cellulaire Ki67 est faible estimé à 5%. Par ailleurs, les cellules tumorales expriment diffusément et de façon intense la PS100. On observe un marquage nucléaire modéré de 90% des cellules tumorales avec l'anticorps anti-TRK.

L'aspect morphologique et le profil immunophénotypique sont compatibles avec un carcinome infiltrant de type sécrétant de grade II selon Elston et Ellis.

Analyse moléculaire

La FISH *ETV6* (sonde Abbott) montre un réarrangement du gène *ETV6* avec dissociation des signaux de part et d'autre du point de cassure dans les cellules tumorales. Ce résultat confirme le diagnostic de carcinome infiltrant de type sécrétant.

Commentaires

Le carcinome infiltrant de type sécrétant est une tumeur rare représentant moins de 0,05% des carcinomes mammaires infiltrants [1]. Initialement décrite chez les enfants, cette tumeur se présente en fait plutôt chez les adultes avec une moyenne d'âge de 53 ans (de 3 à 87 ans) [1].

Le carcinome sécrétant réalise le plus souvent une masse unique, bien limitée, de couleur grise-jaunâtre, d'environ 2 cm (entre 0,5 et 16 cm), de topographie péri-aréolaire [1]. En microscopie optique, on observe une lésion nodulaire bien limitée constituée de 4 patterns architecturaux les plus souvent intriqués : microkystique, tubulaire, solide et papillaire [1]. La principale caractéristique typique du carcinome sécrétant est la présence de sécrétions extracellulaires PAS positives dans la lumière glandulaire qui associée au pattern microkystique tend à rappeler les follicules thyroïdiens [1]. Les cellules tumorales sont polygonales avec un cytoplasme éosinophile granulaire ou vacuolisé [1]. Les atypies nucléaires sont faibles et les mitoses sont rares [1]. Il s'agit en général de tumeur de grade I ou II selon Elston et Ellis [1]. Sur le plan phénotypique, cette tumeur exprime de façon intense et diffuse la PS100 et aussi la mammaglobine, SOX10 et MUC4 [1]. Dans une moindre mesure elle exprime CK5/6 [1]. Le carcinome sécrétant est connu comme une tumeur triple négative mais en réalité une faible expression des récepteurs hormonaux n'est pas rare [1]. Selon les séries entre 0% et 70% des cas peuvent exprimer les récepteurs hormonaux [2–8]. Diallo et al. ont rapporté un cas avec surexpression de HER2 [2]. Sur le plan moléculaire, le carcinome sécrétant est caractérisé par des réarrangements géniques entre les gènes *ETV6* et *NTRK3* aboutissant à un gène de fusion *ETV6-NTRK3* codant pour une protéine chimérique comportant le domaine et l'activité tyrosine kinase de la protéine TRK-C [1,3,5]. Les protéines TRK sont impliquées dans la croissance cellulaire, en particulier des neurones. Il existe 3 protéines TRK : TRK-A, TRK-B et TRK-C codées respectivement par les gènes *NTRK1*, *NTRK2* et *NTRK3*. La protéine de fusion créée par le réarrangement *ETV6-NTRK3* active les voies de signalisation cellulaire RAS-MAPK et PIK3-AKT. L'étude en hybridation in situ fluorescente (FISH) est la technique « gold standard » choisie pour détecter ce type de réarrangement [1]. Le plus souvent une sonde break-apart marquant les deux extrémités du gène *ETV6* est utilisée afin de mettre en évidence des cassures [1]. L'inconvénient de ce choix de sonde est l'impossibilité de déterminer le partenaire du gène *ETV6*. Bien que le gène *NTRK3* soit le partenaire principal dans les carcinomes mammaires sécrétants, un cas a été rapporté impliquant le gène *NTRK1* [9]. Une immunohistochimie pan-TRK permet désormais de rechercher l'expression des protéines TRK-A, TRK-B et TRK-C [6]. Harrison et al. ont testé cet immunomarqueur dans 24 carcinomes sécrétants mammaires et rapportent une positivité nucléaire dans 95,8% des cas (n=23) dont 71% avec un marquage nucléaire de forte intensité (n=17). Le seul cas négatif correspondait à une biopsie avec peu de matériel tumoral, suggérant un faux négatif. 21 cas contrôles étaient positifs sur les 203 analysés soit 10,3% ;

tous avaient cependant un marquage nucléaire focal de faible intensité. La sensibilité calculée pour un marquage nucléaire fort était de 83,3% et la spécificité de 100%. L'avantage d'une telle technique est son faible coût, sa facilité de mise en place et la détection des 3 protéines TRK A, B et C [10].

Le carcinome sécrétant est une tumeur de croissance lente, de très bon pronostic même lorsqu'il existe une métastase axillaire ganglionnaire concomitante. La survie à 5 ans et à 10 ans sont excellentes, respectivement à 94% et 91% [1]. Des thérapies ciblées anti-TRK ont récemment été développées (Larotrectinib et Entrectinib) avec des résultats très prometteurs [11–13]. Les intérêts majeurs de ne pas méconnaître ce type particulier de carcinome mammaire infiltrant sont donc la notion de son très bon pronostic (désescalade thérapeutique possible alors même que de phénotype triple négatif) et la possibilité éventuelle d'accès à un traitement ciblé. Bien que l'autorisation de mise sur le marché ne soit pour l'instant validée que dans le cadre des sarcomes pédiatriques présentant des réarrangements de *NTRK*, la porte est prête à s'ouvrir aux cancers du sein dans les années à venir.

Diagnostics différentiels

Les diagnostics différentiels sont nombreux : adénose microglandulaire, sphérulose collagène, carcinome infiltrant sans type spécifique, carcinome infiltrant à différenciation apocrine, carcinome hypersécrétoire in situ ou infiltrant, carcinome acineux [1].

Points importants à retenir

- Le carcinome mammaire infiltrant de type sécrétant est une tumeur très rare, de bon pronostic
- Profil phénotypique classiquement triple négatif mais expression faible des récepteurs hormonaux loin d'être rare
- Translocation pathognomonique t(12 ;15)(*ETV6*;*NTRK3*) à l'origine d'une protéine de fusion activant les voie RAS-MAPK et PIK3-CA
- Détection du réarrangement *ETV6-NTRK3* par FISH reste le gold standard
- Une immunohistochimie pan-TRK est disponible : marquage nucléaire de forte intensité
- Ne pas rater le diagnostic car très bon pronostic
- Des thérapies ciblées existent, mais d'accès pour le moment limité

Références

1. International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours Editorial Board - Breast Tumours. 5^e éd. Lyon; 2019.
2. Diallo R, Schaefer K-L, Bankfalvi A, Decker T, Ruhnke M, Wülfing P, et al. Secretory carcinoma of the breast: a distinct variant of invasive ductal carcinoma assessed by comparative genomic hybridization and immunohistochemistry. *Hum Pathol.* 2003;34:1299-305.
3. Laé M, Fréneaux P, Sastre-Garau X, Chouchane O, Sigal-Zafrani B, Vincent-Salomon A. Secretory breast carcinomas with ETV6-NTRK3 fusion gene belong to the basal-like carcinoma spectrum. *Mod Pathol.* 2009;22:291-8.
4. Li D, Xiao X, Yang W, Shui R, Tu X, Lu H, et al. Secretory breast carcinoma: a clinicopathological and immunophenotypic study of 15 cases with a review of the literature. *Mod Pathol.* 2012;25:567-75.
5. Del Castillo M, Chibon F, Arnould L, Croce S, Ribeiro A, Perot G, et al. Secretory Breast Carcinoma: A Histopathologic and Genomic Spectrum Characterized by a Joint Specific ETV6-NTRK3 Gene Fusion. *Am J Surg Pathol.* 2015;39:1458-67.
6. Harrison BT, Fowler E, Krings G, Chen Y-Y, Bean GR, Vincent-Salomon A, et al. Pan-TRK Immunohistochemistry: A Useful Diagnostic Adjunct For Secretory Carcinoma of the Breast. *Am J Surg Pathol.* 2019;43:1693-700.
7. Hoda RS, Brogi E, Pareja F, Nanjangud G, Murray MP, Weigelt B, et al. Secretory carcinoma of the breast: clinicopathologic profile of 14 cases emphasising distant metastatic potential. *Histopathology.* 2019;75:213-24.
8. Krings G, Joseph NM, Bean GR, Solomon D, Onodera C, Talevich E, et al. Genomic profiling of breast secretory carcinomas reveals distinct genetics from other breast cancers and similarity to mammary analog secretory carcinomas. *Mod Pathol.* 2017;30:1086-99.
9. Remoué A, Conan-Charlet V, Le Flahec G, Lambros L, Marcorelles P, Uguen A. [A NTRK1-rearranged mammary carcinoma]. *Ann Pathol.* 2020;40:42-5.
10. Uguen A, Penault-Llorca F. Tumeurs avec réarrangements des gènes NTRK : quand, comment et pourquoi les rechercher. *Correspondances en Onco-Théranostic.* 2019;VIII:102-10.
11. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, Farago AF, Albert CM, Rohrberg KS, et al. Larotrectinib in patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical trials. *Lancet Oncol.* 2020;21:531-40.
12. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, DuBois SG, Lassen UN, Demetri GD, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med.* 2018;378:731-9.

13. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw AT, Farago AF, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol.* 2020;21:271-82.

Cas N°5 – MYB !

Dr Camille Franchet, Institut Universitaire du Cancer Toulouse - Oncopole – Toulouse

Renseignements cliniques

Une femme de 65 ans, sans antécédent particulier, présente une lésion unique du sein gauche mesurant 3 cm de diamètre. Réalisation d'une tumorectomie mammaire associée à un curage axillaire.

Diagnostic

Carcinome adénoïde kystique variant massif - basaloïde

Description histologique

La lésion est assez bien limitée et correspond à une prolifération carcinomateuse organisée en massifs de taille variable, pleins ou cribriformes. Ces massifs sont composés de cellules basaloïdes modérément atypiques et mitotiques. La prolifération est de grade II selon Elston et Ellis (3+2+2 avec 6 mitoses / mm²). En coloration standard, il ne semble exister qu'une seule population cellulaire.

L'étude immunohistochimique montre que la prolifération est de phénotype triple négatif (RE-, RP-, HER2-). Les immunomarquages avec les anticorps anti-AE1/AE3 et anti-CK7 sont diffusément positifs. Les marqueurs myoépithéliaux p63, CK14 et CK5/6 sont inconstamment positifs en périphérie de certains massifs. Il n'y a pas d'expression des marqueurs neuroendocrines. L'index de prolifération évalué par le Ki67 est estimé à 25 %.

Une première hybridation in situ réalisée dans notre laboratoire ne mettait pas en évidence de réarrangement du gène *MYB* (absence de split).

L'hybridation in situ dans un second laboratoire a retrouvé un réarrangement du gène *MYB*. Un complément immunohistochimique a montré une forte expression de MYB par les cellules tumorales.

Commentaires

Le carcinome adénoïde kystique mammaire est une tumeur rare représentant entre 0,1 et 3,5 % des tumeurs du sein. Le plus souvent, il s'agit d'une tumeur centro-mammaire atteignant la femme âgée. Morphologiquement, il est identique à son équivalent des glandes salivaires, de la peau ou du poumon. La forme classique est formée de structures cribriformes et tubuleuses constituées de deux populations cellulaires épithéliale et myoépithéliale. Les cellules tumorales s'organisent autour de deux types de structures : d'authentique structures

glandulaires, mal visibles, entourées de cellules luminales ; et des pseudo-lumières correspondant à des invaginations intra-luminales de stroma, entourées de cellules myoépithéliales. Le carcinome adénoïde kystique est souvent associé à une fusion des gènes *MYB* et *NFIB* par une translocation t(6;9)(q22-23;p23-24) [1]. Cette fusion est mise en évidence par hybridation in situ dans la majorité des cas de carcinome adénoïde kystique. L'augmentation de l'expression de la protéine MYB liée à cette translocation peut être identifiée par immunohistochimie [2]. Les carcinomes adénoïdes kystiques sans réarrangement du gène *MYB* peuvent également être liés à des réarrangements de *MYBL1* ou à des amplifications de *MYB* [3].

Le variant massif – basaloïde du carcinome adénoïde kystique est plus rare et fut décrit pour la première fois par Fukuoka et coll. en 1999 puis par Shin et Rosen en 2002 [4,5]. Il est caractérisé par de petits massifs et nids de cellules basaloïdes présentant des atypies marquées, une élévation de l'index mitotique et des foyers de nécrose. Les engainements péri-nerveux sont classiques dans cette variante.

En immunohistochimie, on peine souvent à mettre en évidence une double population cellulaire. En effet, dans plus de 60 % des cas, la tumeur est diffusément positive pour la CK7. L'immunomarquage avec l'anticorps anti-MYB est fortement est diffusément positif dans plus de 80 % des cas [6]. Ce dernier point est doublement intéressant. D'une part parce que dans les cas où l'hybridation in situ ne met pas en évidence de réarrangement du gène *MYB* (situation plus fréquente dans le variant massif – basaloïde que dans la forme classique de carcinome adénoïde kystique [7]), l'immunohistochimie avec l'anticorps MYB permet de « rattraper » un grand nombre de cas [6]. L'anticorps MYB semble donc être un outil diagnostique sensible. D'autre part parce que la positivité intense de MYB en immunohistochimie semble n'être jamais retrouvée dans les carcinomes infiltrants mammaires triple négatifs de haut grade, l'un des diagnostics différentiels majeurs de ce variant. Tout au plus, Massé et coll. décrivent une expression faible de MYB dans 3 % des carcinomes infiltrants triple négatifs du sein de phénotype basal [6].

Du point de vue du diagnostic différentiel avec les formes plus communes de carcinomes infiltrants triple négatifs du sein, l'analyse moléculaire peut apporter une aide substantielle. En effet, le variant massif-basaloïde de carcinome adénoïde kystique présente volontiers des mutations de *NOTCH1* et *CREBBP* mais semble ne pas être porteur de mutations affectant classiquement les carcinomes infiltrants triple négatifs du sein telles celles de *TP53* [6,8].

Le pronostic du variant massif – basaloïde est plus péjoratif que celui du variant classique. En effet, les métastases ganglionnaires sont fréquentes et des métastases viscérales ou osseuses ont été décrites. Il n’y a pas de prise en charge thérapeutique codifiée pour ce variant, mais le caractère proliférant et peu différencié de ces tumeurs incite plutôt à la réalisation d’une chimiothérapie adjuvante, à l’inverse de la prise en charge commune du carcinome adénoïde kystique dans sa forme classique.

Diagnostics différentiels

Carcinome infiltrant de morphologie basaloïde.

Carcinome neuroendocrine à petites cellules.

Points importants à retenir

- Dans le variant massif-basaloïde du carcinome adénoïde kystique mammaire, il est parfois difficile, voire impossible, de faire la preuve d’une tumeur à double contingent épithélial et myoépithélial.
- La fusion des gènes *MYB* et *NFIB* par une translocation t(6;9)(q22-23;p23-24) est moins souvent retrouvée dans le variant massif-basaloïde que dans la forme classique du carcinome adénoïde kystique mammaire.
- L’immunohistochimie avec l’anticorps anti-MYB est plus sensible que l’hybridation in situ pour le diagnostic de variant massif-basaloïde du carcinome adénoïde kystique mammaire.
- Le variant massif-basaloïde du carcinome adénoïde kystique mammaire a un profil moléculaire spécifique (mutations de *NOTCH1* et *CREBBP*) qui le différencie des carcinomes mammaires triples négatifs plus communs.
- Le variant massif-basaloïde du carcinome adénoïde kystique mammaire est plus agressif que la forme classique. Sa prise en charge inclut souvent une chimiothérapie néoadjuvante.

Références

- [1] Persson M, Andrén Y, Mark J, Horlings HM, Persson F, Stenman G. Recurrent fusion of MYB and NFIB transcription factor genes in carcinomas of the breast and head and neck. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009;106:18740–4.
- [2] Poling JS, Yonescu R, Subhawong AP, Sharma R, Argani P, Ning Y, et al. MYB Labeling by Immunohistochemistry Is More Sensitive and Specific for Breast Adenoid Cystic Carcinoma than MYB Labeling by FISH. *Am J Surg Pathol* 2017;41:973–9.

- [3] Kim J, Geyer FC, Martelotto LG, Ng CK, Lim RS, Selenica P, et al. MYBL1 rearrangements and MYB amplification in breast adenoid cystic carcinomas lacking the MYB-NFIB fusion gene. *J Pathol* 2018;244:143–50.
- [4] Fukuoka K, Hirokawa M, Shimizu M, Sadahira Y, Manabe T, Kurebayashi J, et al. Basaloid type adenoid cystic carcinoma of the breast. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand* 1999;107:762–6.
- [5] Shin SJ, Rosen PP. Solid variant of mammary adenoid cystic carcinoma with basaloid features: a study of nine cases. *Am J Surg Pathol* 2002;26:413–20.
- [6] Massé J, Truntzer C, Boidot R, Khalifa E, Pérot G, Velasco V, et al. Solid-type adenoid cystic carcinoma of the breast, a distinct molecular entity enriched in NOTCH and CREBBP mutations. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 2020;33:1041–55.
- [7] D’Alfonso TM, Mosquera JM, MacDonald TY, Padilla J, Liu Y-F, Rubin MA, et al. MYB-NFIB gene fusion in adenoid cystic carcinoma of the breast with special focus paid to the solid variant with basaloid features. *Hum Pathol* 2014;45:2270–80.
- [8] Fusco N, Geyer FC, De Filippo MR, Martelotto LG, Ng CKY, Piscuoglio S, et al. Genetic events in the progression of adenoid cystic carcinoma of the breast to high-grade triple-negative breast cancer. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 2016;29:1292–305.

Cas N°6 – c-MYC !

Dr Aurélie MARAN-GONZALEZ, Institut Régional du Cancer – Montpellier

Renseignements cliniques

Le cas présenté concerne une femme âgée de 69 ans, suivie pour un carcinome invasif SAI, mammaire gauche, pT2 N0 grade II, RH+, HER2 négatif, traité 7 ans auparavant par chirurgie conservatrice, radiothérapie et hormonothérapie pendant 5 ans par anti-aromatase, chez qui l'examen clinique met actuellement en évidence un nodule d'aspect induré et inflammatoire para-aréolaire interne du sein traité. Une microbiopsie a été réalisée suivie d'une exérèse chirurgicale.

Abréviations : ASP (angiosarcome primitif), ASS (angiosarcome secondaire), FISH (hybridation in situ en fluorescence), IHC (immunohistochimie ou immunohistochimique), LVA (lésion vasculaire atypique)

Diagnostic

Angiosarcome secondaire (ASS) en territoire irradié.

Description macroscopique

La pièce de mastectomie, parvenue fraîche, fermée et orientée mesure 23 x 22,5 x 4,5 cm et pèse 1113 g. Elle est revêtue par un lambeau cutané de 21 x 14,5 cm comportant le mamelon. A l'ouverture de la pièce, on observe, à la jonction des quadrants externes, une zone de remaniements fibreux cicatriciels anciens de 3 x 1 cm, compatibles avec des remaniements post chirurgicaux en rapport avec la tumorectomie réalisée 7 ans auparavant.

Au niveau du lambeau cutané, on observe la présence de plusieurs papules violacées. La plus grande, para-aréolaire externe, mesure 2 x 0,9 cm. En regard de cette dernière, plus en profondeur, présence d'un foyer nodulaire sous cutané, peu induré, également violacé.

Description histologique

Les différentes lésions cutanées prélevées correspondent à des proliférations tumorales dermiques, constituées, dans leurs parties les plus superficielles, de fentes anastomosées, revêtues par des cellules peu atypiques, aplaties ou parfois plus cubiques. Plus en profondeur, cette prolifération présente quelques formations papillaires avec cellules plus nombreuses, certaines présentant un aspect « en clou de tapissier (hobnail) ». Ces zones ne renferment pas de mitose. Ces aspects sont en faveur d'une prolifération de type vasculaire bien différenciée. Certaines zones sont plus cellulaires, avec atypies cyto-nucléaires mais persistance de vasoformation sous la forme de structures vasculaires de tailles variables renfermant des

hématies. Ces proliférations occupent la totalité de l'épaisseur du derme et atteignent l'hypoderme en certains points.

Les prélèvements réalisés au niveau du nodule repéré en macroscopie ont intéressé une prolifération tumorale plus massive, constituée de cellules fusiformes. Ces cellules présentent des atypies cyto-nucléaires : tailles cellulaire et nucléaire augmentées, augmentation du rapport nucléocytoplasmique, noyaux fusiformes ou ovoïdes à contours irréguliers, anguleux, avec anisocaryose modérée et un ou plusieurs nucléoles proéminents. Dans ces zones, présence de mitoses (16 mitoses pour 10 champs à G400, soit 5,22 mitoses / mm²). L'ensemble de ces aspects est en faveur d'un angiosarcome.

On ne met pas en évidence de nécrose ou de lacs sanguins. Absence d'ulcération épidermique en regard. La distance à la berge d'exérèse profonde est de 10 mm et la distance à la berge latérale la plus proche est de 20 mm.

L'étude IHC montre, sur la prolifération tumorale, une expression forte et diffuse du CD31, sous la forme d'un marquage membranaire continu. Le CD34 n'est exprimé que de manière ponctuelle mais en situation plutôt cytoplasmique et sans marquage membranaire continu. Les cellules montrent un marquage nucléaire fort et diffus de ERG. L'expression de ces deux marqueurs confirme la nature vasculaire de cette prolifération. Les marqueurs épithéliaux sont totalement négatifs. L'index de prolifération avec le Ki67 est élevé, que ce soit dans les zones bien différenciées ou dans les zones plus indifférenciées (très variables avec foyers > 50%).

L'étude IHC montre une positivité du marqueur c-MYC. Cette positivité est en faveur de la nature secondaire de cet angiosarcome.

Commentaires, diagnostics différentiels

- Au niveau mammaire, il existe **deux types d'angiosarcome** : l'angiosarcome primitif (ASP) et l'angiosarcome secondaire (ASS) (post radiothérapie ou sur lymphoedème chronique) [1].

- *L'angiosarcome primitif (ASP) mammaire* est très rare. Les patientes atteintes d'ASP sont plus jeunes (âge médian de 40 ans) que les patientes atteintes d'ASS. Ces patientes ne présentent pas, en général, d'antécédent de radiothérapie ou de lymphoedème chronique. Ce sarcome est de localisation initiale profonde, intra-parenchymateuse. Il se présente cliniquement sous la forme d'une masse mal limitée, rapidement progressive. La taille est souvent > 5 cm.

- *L'angiosarcome secondaire (ASS)* est le plus fréquent des sarcomes du sein. Les patientes atteintes d'ASS sont plus âgées (âge médian de 70 ans) que les patientes atteintes d'ASP.

Ce sarcome est de localisation initiale cutanée (dermique). Il survient en territoire irradié ou sur lymphœdème chronique (Syndrome de Stewart-Treves). L'antécédent de radiothérapie date en général de plus de 5 à 6 ans et n'est que rarement inférieur à 3 ans. Cliniquement il se présente sous la forme de plaques, papules ou nodules cutanés, unique ou multiples, érythémateux ou violacés qui évoluent vers un œdème, une infiltration tumorale puis vers une ulcération cutanée avec hémorragie.

- *Sur le plan morphologique*, ces tumeurs peuvent présenter des aspects très variables.

- Lorsqu'elles sont bien différenciées, elles sont macroscopiquement spongieuses, hémorragiques. Sur le plan microscopique, on observe alors des vaisseaux bien formés, revêtus de cellules endothéliales peu atypiques (aplaties ou ovoïdes, à noyaux parfois hyperchromatiques ou vésiculeux avec petit nucléole). Ces vaisseaux sont cependant anormaux : ils sont anguleux, irréguliers, parfois anastomosés, et dissèquent le tissu normal adjacent (tissu adipeux et lobules mammaires pour l'ASP).
- Lorsque ces lésions évoluent, l'endothélium peut présenter des aspects en « clous de tapissier (hobnail) », une pluristratification ou des projections papillaires. Les noyaux sont plus volumineux, hyperchromatiques et les mitoses sont plus nombreuses.
- Au stade peu différencié, il s'agit macroscopiquement de tumeurs solides, charnues, fermes, gris-blanchâtres, parfois avec foyers de nécrose. On retrouve souvent un aspect hémorragique et spongieux en périphérie. Sur le plan microscopique, on observe des plages cellulaires solides constituées de cellules fusiformes ou épithélioïdes, renfermant quelques fentes vasculaires anastomosées plus ou moins bien formées, des lacs sanguins, des mitoses nombreuses et des foyers de nécrose.

Les ASP sont le plus souvent bien différenciés.

- *Sur le plan IHC*, la différenciation vasculaire est avérée par la positivité d'au moins deux marqueurs vasculaires parmi CD31, CD34 et ERG. Pour être considéré comme positif le marquage avec le CD31 ou le CD34 doit être membranaire, fort et diffus. Une positivité cytoplasmique, faible, hétérogène ne doit pas être prise en compte. La positivité du CD31 est presque constante dans les sarcomes vasculaires, tout comme la positivité de ERG (qui a l'intérêt de présenter un marquage nucléaire, utile lorsque qu'il existe un infiltrat histiocytaire important pouvant gêner l'interprétation du CD31). Le CD34 peut être négatif.

Les autres marqueurs vasculaires (Fli1, D2-40, facteur VIII...) sont inconstants et peu utiles.

- *Le pronostic* de ces deux types d'angiosarcomes est comparable : il est défavorable, avec un taux de récurrences locales très élevé et des métastases à distance possibles.

Il est actuellement recommandé [1] de ne pas grader ces deux types d'angiosarcomes, qu'il soit primitif ou secondaire. Ils doivent toujours être considérés comme de haut grade car même les angiosarcomes bien différenciés peuvent métastaser [2].

- *Les diagnostics différentiels* sont nombreux et fonction du degré de différenciation.

- Les ASP bien différenciés doivent principalement être distingués des hémangiomes intramammaires et de l'hyperplasie stromale pseudo-angiomateuse (PASH). Les hémangiomes sont constitués de petits vaisseaux bien différenciés, réguliers, non anastomosés, à endothélium unistratifié, peu cellulaire, sans atypie (excepté un hyperchromatisme parfois), ni mitose, situés dans le stroma interlobulaire sans infiltration du parenchyme glandulaire mammaire (excepté pour les hémangiomes périlobulaires). Au moindre doute sur biopsie, une exérèse chirurgicale est recommandée [3]. La PASH est une prolifération de myofibroblastes réalisant des fentes anastomosées, à lumières dépourvues d'hématies, au sein d'un stroma collagène dense. Il n'y a pas de mitose. Les myofibroblastes ne présentent pas d'atypie excepté dans les « PASH atypiques ». L'étude IHC montre une positivité du CD34, de l'AML, de la desmine et des RH et une négativité des marqueurs vasculaires (CD31, ERG, D2-40). Les autres diagnostics différentiels à citer sont : l'angiolipome, l'angiomatose et l'hyperplasie endothéliale papillaire [3].
- Les ASP peu différenciés doivent être distingués, en priorité, d'un carcinome métaplasique ou d'une tumeur phyllode. Une expression de marqueurs épithéliaux (cytokératines, EMA) ainsi que de marqueurs neuroendocrines (synaptophysine, chromogranine) a été décrite dans certaines tumeurs vasculaires, sur les cellules fusiformes, [4] mais un échantillonnage important de la lésion ainsi que l'étude IHC avec les marqueurs épithéliaux devra s'astreindre à rechercher avant tout une composante épithéliale « vraie » (maligne infiltrante ou in situ dans le carcinome, bénigne dans la tumeur phyllode). Les autres diagnostics différentiels à citer sont ceux des tumeurs à cellules fusiformes « morphologiquement malignes » du sein [5].
- Les ASS peu différenciés doivent être distingués, d'une récurrence cutanée du carcinome mammaire traité (de la même manière que décrit ci-dessus, à l'aide des marqueurs épithéliaux et vasculaires en IHC) et d'un autre sarcome radio-induit (sarcome indifférencié à cellules fusiformes et pléomorphes dans > 50% des cas) qui pourra se faire en IHC, à l'aide des marqueurs vasculaires et des autres marqueurs spécifiques de différenciation (musculaire lisse, musculaire striée, osseuse etc...) mais également à l'aide du c-MYC comme nous le verrons plus loin.

- Les ASS bien différenciés doivent être distingués essentiellement, dans un territoire irradié, des lésions vasculaires atypiques (LVA).

- ***Diagnostic différentiel entre un ASS bien différencié et une LVA.***

Il est important de faire le diagnostic différentiel entre ces deux tumeurs car la LVA est une pathologie d'évolution bénigne (même si elle peut récidiver) alors que l'ASS même bien différencié doit toujours être considéré comme un sarcome de haut grade.

Le contexte et les aspects cliniques de ces deux lésions peuvent être comparables, surtout s'il s'agit d'un ASS bien différencié débutant : l'âge médian est de 70 ans, la localisation est cutanée, il s'agit de papules brunâtres ou érythémateuses, en général multiples, et ces lésions surviennent en territoire irradié. Cependant, les lésions vasculaires atypiques restent en général de plus petite taille que les ASS [6] et l'antécédent de radiothérapie est parfois plus récent que pour les angiosarcomes (3 à 4 ans auparavant environ et seulement 1 an possible).

Sur le plan morphologique, une lésion vasculaire atypique (LVA), tout comme un angiosarcome bien différencié, se présente sous la forme de vaisseaux dilatés, à paroi fine, irréguliers, branchés, anastomosés, présentant une seule couche de cellules endothéliales, sans jamais de pluristratification dans la LVA. Les cellules endothéliales peuvent présenter un aspect « hobnail » ou hyperchromatiques mais sans atypie marquée. Les mitoses sont extrêmement rares [6] et il n'y a pas de nécrose. Une LVA n'infiltré que le derme superficiel ou moyen, rarement profond et jamais l'hypoderme. Elle est en général bien limitée et ne présente pas d'aspect infiltrant.

Sur le plan IHC, contrairement à l'angiosarcome, on retrouve en général une positivité de l'AML sur les péricytes périvasculaires. L'index de prolifération moyen avec le Ki67 est plus faible dans les LVA [6]. Mais ce qui permet formellement de faire la différence entre ces deux entités est l'utilisation du marqueur c-MYC qui est un facteur de transcription.

- ***c-MYC (Immunohistochimie et FISH) :***

Dans la LVA l'IHC c-MYC est en général négative (contrairement à l'ASS bien différencié). Cependant une positivité en IHC de c-MYC est possible dans les LVA (< 5% des cas LVA, [7]), mais la FISH ne mettra alors jamais en évidence d'amplification du gène *c-MYC* dans la LVA contrairement à l'ASS bien différencié [7]. Une expression de c-MYC en IHC est donc possible sans amplification du gène en FISH (concordance \neq 100%). Il faut savoir qu'il n'y a pas de critère bien défini d'interprétation de l'IHC c-MYC, cependant la quantification de la positivité nucléaire montre un plus faible taux dans les LVA comparé aux ASS [7].

De même d'autres lésions ou même des cellules normales peuvent exprimer *c-MYC* en IHC de manière non spécifique (faux positifs) : lymphangiomes, endothélium bénin ou réactionnel, lymphocytes, tissu de granulation... [7]. Sur biopsie, une positivité du *c-MYC* en IHC ne doit donc pas aboutir à un surdiagnostic d'angiosarcome.

Selon la revue d'articles de Motaparthy et al, à l'inverse, une négativité du *c-MYC* n'exclut pas le diagnostic d'ASS [7]. C'est alors la morphologie qui fera le diagnostic, d'où la nécessité d'avoir une biopsie représentative de la lésion et de réaliser un échantillonnage important de la lésion sur pièce opératoire. *MYC* est donc un marqueur spécifique mais peu sensible selon eux.

Les ASS avec amplification de *c-MYC* ont un pronostic plus péjoratif que ceux sans amplification (différence de survie globale).

Dans le cadre des ASS avec amplification de *c-MYC*, l'IHC *c-MYC* peut être très utile pour l'analyse des marges chirurgicales.

La présence d'une amplification du *c-MYC* est retrouvée dans les ASS post radiothérapie et dans les ASS sur lymphoedème chronique [7] et ne permet donc pas le diagnostic différentiel entre ces deux entités.

Les cas d'ASP mammaires avec surexpression et amplification du *c-MYC* décrits dans la littérature étant extrêmement rares, cette analyse peut aider au diagnostic différentiel entre ASS et ASP, en localisation mammaire (ce qui n'est pas le cas en localisation de peau insolée où les ASP peuvent souvent avoir une amplification de *c-MYC*).

Parmi les différents sarcomes radio-induits, une amplification de *c-MYC* n'est retrouvée que dans les angiosarcomes, ce qui permet le diagnostic différentiel entre ASS et autres sarcomes radio-induits [3].

Cependant l'interprétation des images de FISH doit toujours être effectuée avec prudence, afin de ne pas confondre une polysomie du chromosome 8 (très fréquente dans les sarcomes à cellules pléomorphes par exemple et qui peut entraîner une positivité en IHC) avec une réelle amplification. La définition d'une amplification varie selon les études mais il faut retenir, que dans les ASS l'amplification retrouvée est en général de haut niveau (en général > 10 copies par noyau) et dans les cas contraires, la question d'une polysomie doit se poser. Ainsi, devant le moindre doute sur biopsie, la FISH sera à renouveler sur pièce opératoire.

Points importants à retenir

- Dans le sein il existe deux types d'angiosarcomes : l'angiosarcome primitif et l'angiosarcome secondaire (post radiothérapie ou sur lymphoedème chronique). Ce sont deux entités différentes sur le plan pathogénique et anatomo-clinique.
- Le diagnostic différentiel entre un angiosarcome secondaire bien différencié débutant et une lésion vasculaire atypique est parfois très difficile : le marqueur c-MYC en IHC (marquage nucléaire) et en FISH (amplification) permet de faire la différence.

Références

1. International Agency for Research on Cancer. WHO Classification of Tumours Editorial Board - Breast Tumours. 5e éd. Lyon; 2019.
2. Nascimento AF, Raut CP, Fletcher CD. Primary angiosarcoma of the breast: clinicopathologic analysis of 49 cases, suggesting that grade is not prognostic. *Am J Surg Pathol.* 2008 Dec;32(12):1896-904.
3. Machado I, Giner F, Lavernia J, Cruz J, Traves V, Requena C, et al. Angiosarcomas: histology, immunohistochemistry and molecular insights with implications for differential diagnosis. *Histol Histopathol.* 2021 Jan;36(1):3-18.
4. Maran-Gonzalez A. Diagnostic challenges on breast needle core biopsies. Case 2: Spindle cell neoplasm. *Ann Pathol.* 2017 Oct;37(5):368-379.
5. Corradini AG, Asioli S, Morandi L, Brotto M, Righi A, Iommi M, et al. Post-radiotherapy vascular lesions of the breast: immunohistochemical and molecular features of 74 cases with long-term follow-up and literature review. *Histopathology.* 2020 Aug;77(2):293-302.
6. Motaparthy K, Lauer SR, Patel RM, Vidal CI, Linos K. MYC gene amplification by fluorescence in situ hybridization and MYC protein expression by immunohistochemistry in the diagnosis of cutaneous angiosarcoma: Systematic review and appropriate use criteria. *J Cutan Pathol.* 2021 Apr;48(4):578-586.
7. Ginter PS, McIntire PJ, Shin SJ. Vascular tumours of the breast: a comprehensive review with focus on diagnostic challenges encountered in the core biopsy setting. *Pathology.* 2017 Feb;49(2):197-214.

Cas N°7 – GATA3, SOX10 & Co !

Dr Camille Franchet, Institut Universitaire du Cancer Toulouse - Oncopole – Toulouse

Renseignements cliniques

Patiente de 73 ans sans antécédent familial de cancer. Antécédent personnel de cancer du sein gauche en 2014 traité par association radiothérapie / chimiothérapie sans plus d'informations. Récidive locale en 2016 traitée par mastectomie gauche complémentaire. Avril 2020 : masse de 55 mm dans le sein droit.

Les cliniciens nous interrogent : « peut-on formellement éliminer une métastase de mélanome ? »

Diagnostic

Carcinome infiltrant de type non spécifique triple négatif

Description histologique

On observe une prolifération tumorale infiltrante d'architecture massive, parfois vaguement papillaire, constituée de cellules très atypiques au cytoplasme éosinophile et au noyau volumineux parfois nucléolé. Les mitoses sont nombreuses et anormales. Il s'agit d'une tumeur de grade III selon Elston et Ellis (3+3+3 avec plus de 16 mitoses / mm²). La stroma réaction est modérément inflammatoire, lymphocytaire. En périphérie de la lésion, on retrouve des remaniements fibro-cicatriciels et inflammatoires avec pigments hémossidériniques. On n'observe pas de contingent carcinomateux in situ.

La prolifération est de phénotype triple négatif (RE-, RP-, HER2-). L'index de prolifération est estimé à 90 %. Les immunomarquages CK7, CK20, GATA3, le récepteur des androgènes et GCDFP15 sont négatifs.

Après discussion avec les cliniciens, un complément immunohistochimique est réalisé. Il retrouve un marquage focal avec l'AE1/AE3 et la CK8/18. La CK19 est négative. La PS100 et Melan-A sont focalement positifs. SOX10 et PRAME sont très fortement exprimés par les cellules tumorales. HMB45 et PNL2 sont négatifs.

La coloration du Fontana ne montre pas de mélanine au sein de la lésion.

L'analyse moléculaire de la lésion par NGS permettait de retrouver une mutation isolée du gène *TP53*, sans mutation de *BRAF*, *NRAS* ni *KIT*.

Commentaires

Nous rapportons ici une situation clinique relativement fréquente. Après avoir posé un diagnostic de carcinome infiltrant de haut grade triple négatif dont l'origine mammaire primitive est la plus probable, nous sommes sollicités par nos cliniciens qui veulent savoir si l'on peut affirmer l'origine mammaire de la lésion. Dans le cas présent, la question était plus précise : « pouvez-vous éliminer formellement une métastase intra-mammaire de mélanome ? ». En pratiquant un complément immunohistochimique pour répondre à cette question, nous avons fait face à une tumeur exprimant des marqueurs de différents lignages. C'est l'occasion de discuter des éléments morphologiques, immunohistochimiques et moléculaires permettant d'affirmer ou non l'origine mammaire d'une lésion. Nous privilégions ici la distinction entre un mélanome métastatique et un carcinome mammaire triple négatif.

Aspects morphologiques : d'abord, certains critères morphologiques simples sont en faveur d'une origine mammaire primitive. C'est le cas notamment de la présence de carcinome in situ associé au carcinome infiltrant. Par ailleurs, la majorité des carcinomes infiltrants mammaires triple négatifs correspond à des adénocarcinomes. Un aspect morphologique inhabituel ou peu différencié doit faire envisager une origine extra-mammaire. A noter que les métastases de mélanome peuvent prendre des aspects extrêmement trompeurs. De principe, la notion d'antécédent personnel de mélanome doit toujours faire craindre une métastase, quel que soit l'aspect de la lésion.

Pigmentation mélanique de la lésion : une pigmentation mélanique importante des cellules tumorales est un argument fort en faveur d'une métastase de mélanome. Une pigmentation plus discrète peut être mise en évidence par la coloration de Fontana. Il faut cependant se méfier de la colonisation des tumeurs mammaires par des mélanocytes quand les cellules tumorales atteignent la jonction dermo-épidermique et ne pas évoquer une métastase de mélanome sur ce seul critère [1].

Marqueurs immunohistochimiques

Marqueurs épithéliaux : l'expression de cytokératines ne permet pas d'affirmer la nature carcinomateuse de la tumeur, ni d'éliminer un mélanome. En effet, l'expression de cytokératines par les mélanomes est connue depuis très longtemps et pourrait compter pour environ 20 % des cas de mélanome, avec une nette prédominance pour les mélanomes métastatiques [2].

GATA3 : GATA3 est un facteur de transcription exprimé par un certain nombre de tumeurs (sein, épiderme, urothélium, pancréas...)[3]. Pour être considéré positif, il doit être nucléaire

intense. D'un point de vue physiologique, il est également exprimé par les lymphocytes Th2 qui peuvent parfois être abondant parmi les lymphocytes intra-tumoraux. Sa négativité dans une tumeur triple négative du sein est fréquente et n'exclue absolument pas l'origine mammaire de la lésion.

SOX10 et PS100 : SOX10 est un facteur de transcription exprimé par les cellules des crêtes neurales. Il est classiquement exprimé par les mélanomes, mais également par les carcinomes mammaires triple négatifs métaplasiques et/ou de phénotype basal [4]. SOX10 est exprimé par les progéniteurs basaux et luminaux de la glande mammaire [5]. Ces cellules pourraient être à l'origine d'une grande proportion des carcinomes mammaires triples négatifs et SOX10 pourrait médier leur dé-différenciation. En aucun cas la positivité de SOX10 ne permet d'orienter vers l'origine mammaire ou mélanocytaire de la lésion. Cependant, sa négativité ne serait pas en faveur d'une tumeur mélanocytaire. De la même manière, la positivité de la PS100 ne permet pas de favoriser l'un ou l'autre diagnostic.

Melan-A : Melan-A serait exprimé par 18 % des tumeurs mammaires [6]. Cette positivité serait directement corrélée à la dé-différenciation de la tumeur, mais pas à son immunophénotype, ni à la prolifération, ni à l'âge du patient. Encore une fois, la positivité de Melan-A ne nous permet pas de favoriser l'origine mélanocytaire de la lésion.

PRAME : PRAME est un outil récent pour aider le pathologiste à affirmer la malignité d'une lésion mélanocytaire [7,8]. Cependant, PRAME ne correspond pas à un marqueur de différenciation mélanocytaire. Il jouerait notamment un rôle dans la progression tumorale des cancers du sein triple négatifs en favorisant la transition épithélio-mésenchymateuse [9]. PRAME ne peut donc pas nous aider dans cette situation !

TRPS1 : notre salut pourrait venir d'un nouveau marqueur appelé TRPS1 (pour *trichorhinophalangeal syndrome type 1*) qui est présenté comme un marqueur nucléaire hautement spécifique de l'origine mammaire de tumeurs triple négatives [10]. Dans leur série, Ai et coll. ont testé l'anticorps anti-TRPS1 dans 1234 cas de tumeurs solides de différents organes. Sur 40 mélanomes testés, un seul exprimait TRSP1 de manière faible (2 %). Si la spécificité de ce marqueur se confirme, il pourrait devenir un outil incontournable en pathologie mammaire. Malheureusement, pour des raisons de délai d'approvisionnement, ce marqueur n'a pu être testé dans le cas présenté.

Analyse moléculaire

L'analyse moléculaire de notre cas a permis de retrouver une mutation isolée de *TP53* sans mutation de *BRAF*, *NRAS* ou *KIT*. En reprenant la totalité des analyses NGS de mélanome et

de cancer du sein pratiquées à l'Oncopole entre janvier 2019 et décembre 2020, nous avons pu évaluer la valeur diagnostique de cette mutation isolée de *TP53* dans le cadre du diagnostic différentiel avec un mélanome métastatique (*données non publiées*). 527 analyses NGS (panel tumeurs solides) ont été réalisées sur des mélanomes dans cette période. 68 mutations de *TP53* ont été retrouvées (13 %) dont seulement 6 étaient isolées (9 %). Toutes les autres étaient associées à d'autres variants. Dans la même période, 50 analyses NGS ont été réalisées sur des cancers du sein. 19 mutations de *TP53* ont été identifiées (38 %), dont 12 étaient isolées (63 %).

Les mutations de *TP53* semblent non seulement plus fréquentes, mais également plus souvent isolées dans les cancers du sein que dans les mélanomes. Cependant, cette notion ne peut servir à elle seule à faire la distinction entre cancer du sein et mélanome, mais peut participer à un faisceau d'arguments pour guider la prise en charge de la patiente.

En conclusion, devant une tumeur mammaire triple négative, il peut être très délicat voire impossible d'éliminer formellement une origine mélanocytaire. Cependant, sur la base des arguments cliniques, immunohistochimiques (positivité des marqueurs épithéliaux) et moléculaires et suite à une discussion en RCP multidisciplinaire, une prise en charge sénologique a été décidée.

L'anticorps anti-TRPS1 est prometteur et pourrait, dans certaines situations, permettre au pathologiste d'avoir un argument supplémentaire fort en faveur de l'origine mammaire d'une tumeur triple négative.

Points importants à retenir

- Il peut être extrêmement délicat, voire impossible, d'éliminer formellement l'origine mélanocytaire d'une lésion mammaire triple négative.
- Ni les cytokératines, ni la négativité de GATA3, ni la positivité de SOX10, PS100, Melan-A ou PRAME ne permettent d'orienter définitivement vers l'un ou l'autre diagnostic.
- La conjonction des données cliniques, morphologiques, immunohistochimiques et moléculaires permet de réunir un faisceau d'arguments pour aider à la décision thérapeutique.
- TRPS1 est un marqueur récemment décrit qui pourrait permettre d'appuyer l'origine mammaire des lésions triples négatives.

Références

- [1] Azzopardi JG, Eusebi V. Melanocyte colonization and pigmentation of breast carcinoma. *Histopathology* 1977;1:21–30.
- [2] Zarbo RJ, Gown AM, Nagle RB, Visscher DW, Crissman JD. Anomalous cytokeratin expression in malignant melanoma: one- and two-dimensional western blot analysis and immunohistochemical survey of 100 melanomas. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 1990;3:494–501.
- [3] Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, Rys J, Czapiewski P, Wazny K, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2014;38:13–22.
- [4] Laurent E, Begueret H, Bonhomme B, Veillon R, Thumerel M, Velasco V, et al. SOX10, GATA3, GCDFP15, Androgen Receptor, and Mammaglobin for the Differential Diagnosis Between Triple-negative Breast Cancer and TTF1-negative Lung Adenocarcinoma. *Am J Surg Pathol* 2019;43:293–302.
- [5] Saunus JM, De Luca XM, Northwood K, Raghavendra A, Hasson A, McCart Reed AE, et al. Epigenome erosion drives neural crest-like phenotypic mimicry in triple-negative breast cancer and other SOX10+ malignancies. *Cancer Biology*; 2021.
- [6] Bachmeier BE, Nerlich AG, Mirisola V, Jochum M, Pfeffer U. Lineage infidelity and expression of melanocytic markers in human breast cancer. *Int J Oncol* 2008;33:1011–5.
- [7] Lezcano C, Jungbluth AA, Busam KJ. PRAME Immunohistochemistry as an Ancillary Test for the Assessment of Melanocytic Lesions. *Surg Pathol Clin* 2021;14:165–75.
- [8] Lezcano C, Jungbluth AA, Nehal KS, Hollmann TJ, Busam KJ. PRAME Expression in Melanocytic Tumors. *Am J Surg Pathol* 2018;42:1456–65.
- [9] Al-Khadairi G, Naik A, Thomas R, Al-Sulaiti B, Rizly S, Decock J. PRAME promotes epithelial-to-mesenchymal transition in triple negative breast cancer. *J Transl Med* 2019;17:9.
- [10] Ai D, Yao J, Yang F, Huo L, Chen H, Lu W, et al. TRPS1: a highly sensitive and specific marker for breast carcinoma, especially for triple-negative breast cancer. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 2021;34:710–9.