« PATHOLOGIE ONCOTHORACIQUE : ACTUALITES ET DIFFICULTES »

20 OCTOBRE 2021- **Responsable :** Dr Audrey Lupo, Hôpital Cochin, AP-HP, Université de Paris

Intervenants :

Dr Véronique Hofman, CHU de Nice, Hôpital Pasteur

Dr Nicolas Piton, CHU Rouen

Dr Nicolas Poté, Hôpital Bichat, AP-HP, Université de P

SOMMAIRE

Introduction - Audrey Lupo **p.2**

Cas 1 - Véronique Hofman **p.3**

Cas 2 - Véronique Hofman **p.8**

Cas 3 - Nicolas Poté **p.15**

Cas 4 - Nicolas Poté **p.23**

Cas 5 - Nicolas Piton **p.30**

Cas 6 - Nicolas Piton **p.35**

Cas 7 - Audrey Lupo **p.39**

Cas 8 - Audrey Lupo **p.45**

Introduction

Cet histoséminaire fait suite à la publication de la **5ème édition de la classification OMS** des tumeurs thoraciques. Cette édition introduit deux nouvelles sections : « les critères diagnostiques essentiels et souhaitables » et « le diagnostic en pathologie moléculaire ». Dans les nouvelles entités décrites, on retiendra la **tumeur indifférenciée SMARCA4-déficiente** et la reconnaissance de **l'adénome bronchiolaire/tumeur papillaire muconodulaire ciliée,** comme un nouveau sous-type d'adénome.

Concernant les adénocarcinomes pulmonaires, la 4ème édition avait apporté de profonds changements sur la classification de ces tumeurs en fonction de leur architecture prédominante, représentant un facteur pronostique majeur. Cette nouvelle édition décrit un **nouveau grade histopronostique proposé par l'IASLC** (International Association of the Study of Lung Cancer), dépendant de la présence d'un contingent de haut grade. Elle redéfinit les critères d'invasion dans le spectre des adénocarcinomes d'architecture lépidique, ceci notamment car l'évaluation du pT, ne dépend que de la taille du contingent invasif et non de la taille tumorale totale, selon la 8ème édition de la classification TNM.

Nous reviendrons sur la classification des tumeurs neuro-endocrines (TNE) et ses critères diagnostiques. Cette nouvelle édition sépare les entités tumeurs NE (correspondant aux tumeurs carcinoïdes) des carcinomes, comme dans les tumeurs digestives et introduit le terme de **tumeur carcinoïde NOS** utilisé pour les prélèvements biopsiques/cytologiques et pour les métastases. Enfin, elle discute l'entité rare récemment décrite de **tumeur carcinoïde avec index mitotique et/ou index de prolifération Ki67 élevés**, analogue des TNE G3 de la classification des tumeurs digestives.

Nous discuterons le panel immunohistochimique recommandé par le réseau national RYTHMIC (réseau tumeurs thymiques et cancer) dans les tumeurs épithéliales thymiques et les difficultés de la classification de Masaoka-Koga détaillée par l'ITMIG. Concernant les carcinomes thymiques, la nouvelle édition apporte quelques changements mineurs, notamment la description du **carcinome thymique micronodulaire avec hyperplasie lymphoïde,** classé comme un sous-type de carcinome épidermoïde.

Enfin, nous présenterons deux tumeurs pulmonaires classées dans le spectre des tumeurs épithéliales, l'une correspondant au carcinome SMARCA4-déficient qui semble être affiliée à la nouvelle entité « tumeur indifférenciée SMARCA4-déficiente », et le carcinome NUT.

Cas n°1 - Véronique Hofman - Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Hôpital Pasteur.

Renseignements cliniques :

Découverte fortuite d'un nodule en verre dépoli du segment apical du lobe inférieur droit, chez une patiente âgée de 72 ans, tabagique à 40 paquets-années. Discrète augmentation de taille (12 mm) sur le scanner de surveillance à 2 ans. Exérèse par résection atypique après repérage par harpon.

Diagnostic :

Adénocarcinome avec invasion minime

Description macroscopique :

A la coupe, il existe un territoire de densification du parenchyme pulmonaire dont la taille est estimée à 13 mm de grand axe, située à 4 mm de la plèvre viscérale. L'exérèse de la tumeur est complète et elle est examinée en totalité.

Description microscopique :

Il s'agit d'une tumeur mesurant microscopiquement 12 mm de grand axe, d'architecture lépidique prédominante représentée par une prolifération, majoritairement continue, de pneumocytes avec atypies modérées, le long des cloisons alvéolaires avec rares chevauchements cellulaires. Au centre, on note la présence d'une zone de collapsus alvéolaire avec élargissement des septas par de la fibrose ou de l'élastose, et quelques territoires inflammatoires. Il s'y associe une composante invasive qui parait multifocale, acinaire et plus rarement sous forme de cellules indépendantes infiltrant le stroma. Les cellules de la composante invasive présentent, pour certaines d'entre elles, des atypies cyto-nucléaires un peu plus marquées avec notamment un nucléole bien visible. La mesure de la composante invasive est assez délicate compte tenu de très rares foyers microscopiques et l'estimation de la taille est faite en additionnant le pourcentage des foyers invasifs (estimés à 10% maximum de la surface tumorale) et en le multipliant par le grand axe de la tumeur (estimation à 1,2 mm soit ≤ 5mm). Il n'a pas été observé d'invasion pleurale, vasculaire, de dissémination aérienne (« Spread through air spaces » ou STAS) ou de nécrose. Le stade selon la pTNM 8ème édition est pT1(mi).

Evolution :

L'évolution à 3 ans est favorable, sans récidive.

Commentaires :

Définition : l'adénocarcinome avec invasion minime (AIM) est défini par une tumeur de taille ≤ 30 mm, généralement solitaire, d'architecture lépidique prédominante avec une zone invasive ≤ 5mm. Ce diagnostic doit être réalisé sur une pièce de résection avec analyse de la tumeur en totalité. Il ne peut pas être porté sur des « petits prélèvements », cytologiques ou biopsiques. L'AIM est majoritairement non mucineux, plus rarement mucineux ou mixte [1].

Généralités : les AIM sont généralement de découverte fortuite sur un scanner thoracique, se présentant sous forme d'une image en verre dépoli associé à une zone de condensation ≤ 5mm en cas d'AIM non mucineux [1].

Macroscopie : il s'agit d'une lésion périphérique présentant une petite zone centrale (≤ 5mm) solide avec parfois des foyers de collapsus et/ou d'anthracose et rétractant la plèvre dans certains cas. La taille de la tumeur peut être sous-estimée et doit être corrélée à celle du scanner thoracique. La tumeur doit être analysée en totalité [1].

Microscopie : la classification OMS 2021 (5ème édition) détaille les « critères diagnostiques essentiels et souhaitables » pour le diagnostic d'AIM :

- Essentiels : adénocarcinome d'architecture lépidique prédominante ≤ 30 mm avec une zone invasive ≤ 5mm. La composante invasive qui doit être mesurée correspond à tout autre sous-type histologique que le lépidique (acinaire, papillaire, micropapillaire, solide et plus rarement, colloïde, entérique, fœtal, ou adénocarcinome mucineux) ou bien à des cellules isolées infiltrant le stroma myofibroblastique. Il ne doit pas exister d'invasion pleurale, vasculaire, de dissémination aérienne (STAS), ou de nécrose. L'exérèse doit être complète et la tumeur prélevée et analysée en totalité.
- Souhaitables : le pourcentage de chaque composante invasive doit être rapporté.

L'architecture lépidique est définie par une prolifération continue de pneumocytes et/ou cellules de Clara le long des cloisons alvéolaires, avec atypies cyto-nucléaires modérées, avec parfois quelques chevauchements ou stratifications cellulaires légères. Il faut donc différencier ces territoires de croissance lépidique pure, des aspects invasifs des adénocarcinomes (composantes invasives listées ci-dessus) afin d'identifier la (les) zone(s) invasive(s) et mesurer sa(ses) taille(s). La taille du foyer d'invasion est mesurée dans sa plus grande dimension. Si les foyers invasifs sont multiples ou visibles sur plusieurs lames voire difficiles à mesurer, une estimation de la taille de l'invasion peut être faite en additionnant le pourcentage de composantes invasives et en le multipliant par le plus grand axe de la tumeur. Si la taille est ≤ 5mm, le diagnostic de

AIM est alors posé. Ce diagnostic est exclu si la tumeur infiltre les vaisseaux et/ou la plèvre, si la nécrose tumorale ou des lésions de STAS sont observées (1). De nombreux problèmes d'interprétations, notamment pour mettre en évidence les zones d'invasion, peuvent exister et seront développés dans le paragraphe diagnostic différentiel.

Immunohistochimie : l'AIM non mucineux exprime les marqueurs pneumocytaires (TTF1 et Napsin A). L'AIM mucineux est généralement négatif pour ces marqueurs mais exprime fréquemment la CK20 et/ou le CDX2.

Diagnostic sur petits prélèvements : la terminologie d'AIM ne doit pas être employée sur « petits prélèvements ». Il est recommandé de répondre « adénocarcinome avec architecture lépidique ». En cas de composante lépidique pure, les diagnostics possibles doivent être listés (AIM, adénocarcinome *in situ*, adénocarcinome invasif avec composante lépidique) et un commentaire doit être ajouté mentionnant qu'une composante invasive ne peut être exclue (1).

Altérations moléculaires : des altérations moléculaires sont identifiées précocement, dès le stade de lésions prénéoplasiques (mutations *EGFR* et *KRAS* notamment) et vont s'accumuler au cours du développement de l'adénocarcinome invasif. Le testing moléculaire n'est pas obligatoire [1].

Pronostic **:**

Il est très favorable en cas de résection complète avec 100% de survie sans récidive. Cette tumeur est considérée à très bas risque de malignité [2].

Diagnostics différentiels :

Les tumeurs d'architecture lépidique regroupent les **« lésions glandulaires précurseurs »,** nouvelle terminologie adoptée dans la classification OMS 2021 pour désigner l'hyperplasie adénomateuse atypique (HAA) et l'adénocarcinome *in situ* (AIS) anciennement dénommés « lésions préinvasives », ainsi que l'AIM et l'adénocarcinome à prédominance lépidique.

Les deux diagnostics différentiels sont les AIS et les adénocarcinomes à prédominance lépidique reposant essentiellement sur les critères histologiques d'invasion, souvent peu reproductibles [3-5]. Ces critères sont détaillés dans la nouvelle classification OMS 2021.

* La distinction avec l'AIS est parfois difficile. Les AIS et AIM, considérés à très bas risque de malignité [2], ont certains critères essentiels en commun, à savoir une taille ≤ 30 mm, l'absence d'invasion pleurale, vasculaire, et de STAS ainsi que l'absence de nécrose. Ces deux entités se

distinguent par une prolifération lépidique pure dans les AIS, alors qu'il existe une composante tumorale invasive de taille ≤ 5mm dans les AIM.

Certains aspects histologiques peuvent aider à distinguer les véritables zones invasives, souvent centrales, des territoires de collapsus alvéolaire avec élargissement des septas par de la fibrose ou de l'élastose. La persistance de macrophages alvéolaires dans les structures alvéolaires collabées, l'absence de stroma myofibroblastique dans le stroma et proches des cellules tumorales [6], est plus en faveur d'une architecture lépidique que d'acini tumoraux. Il existe parfois une transition cytologique entre les cellules de la composante lépidique et de la composante infiltrante qui présente des atypies cyto-nucléaires plus marquées. La destruction du réseau de fibres élastiques des septas alvéolaires est également un critère d'invasion, mais souvent difficile à interpréter en pratique [3, 5, 6]. Il faut également noter que les sections tissulaires tangentielles peuvent donner de faux aspects papillaires [6, 7].

Dans les territoires lépidiques purs, il ne doit pas être observé de cellules tumorales isolées dans les espaces aériens, au sein de la tumeur ou en périphérie, faisant suspecter des lésions de STAS, ou de stratification cellulaire de plus de 2 assises cellulaires (de type filigrane, décrit dans le cas n°2), faisant craindre alors une composante invasive micropapillaire [4, 6].

* Le diagnostic d'adénocarcinome à prédominance lépidique est porté en cas de zone tumorale invasive > 5mm et/ou d'invasion pleurale, vasculaire, de STAS ou de nécrose tumorale. Sont également classées comme tel, les AIS ou les AIM dont la taille est > 30 mm. Il est donc, également dans ce cas, important de distinguer les zones invasives des territoires lépidiques purs afin de mesurer la taille de l'invasion. De plus, depuis la 8ème édition de la classification TNM, il est recommandé en cas d'adénocarcinome lépidique non mucineux de se baser uniquement sur la taille du foyer d'invasion, mesurée dans sa plus grande dimension, et non la taille de la tumeur, pour établir le pT [7].

<u>Points importants à retenir</u>

- La nouvelle classification OMS (5ème édition) parue en 2021, comporte un nouveau paragraphe intitulé « les critères diagnostiques essentiels et souhaitables » pour chaque type histologique notamment pour les AIS, les AIM et les adénocarcinomes à prédominance lépidique.

- Dans le spectre des adénocarcinomes d'architecture lépidique, les critères diagnostiques d'invasion tumorale et donc de l'estimation de la taille de l'invasion sont clairement détaillés dans la classification OMS 2021. La taille de l'invasion (et non la taille de la tumeur) est celle

qui permet l'établissement du pT dans la 8ème édition dans le cas des adénocarcinomes à prédominance lépidique.

Remerciements : Mme le Pr Sylvie LANTUEJOUL.

Références bibliographiques :

1. WHO classification of the tumours Editorial Board. Thoracic Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2021
2. Nicholson et al. Editorial. Grading in Lung Adenocarcinoma: Another New Normal. J Thorac Oncol. 2021; 16(10): 1601-1604
3. Butnor KJ et al. Controversies and challenges in the histologic subtyping of lung adenocarcinoma. Transl Lung Cancer Res. 2020; 9(3): 839–846
4. Thunnissen E et al. Reproducibility of histopathological subtypes and invasion in pulmonary adenocarcinoma. An international interobserver study. Mod Pathol. 2012; 25(12):1574-83
5. Shih A et al. Problems in the reproducibility of classification of small lung adenocarcinoma: an international interobserver study. Histopathology. 2019; 75(5):649-659.
6. Yotsukura M et al. Prognostic impact of cancer-associated active fibroblasts and invasive architectural patterns on early-stage lung adenocarcinoma. 2020; 145:158-166.
7. Kameda K et al. Implications of the Eighth Edition of the TNM Proposal: Invasive vs. Total Tumor Size for the T Descriptor in Pathologic Stage I-IIA Lung Adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2018; 13(12): 1919–1929.

Cas n°2 : Véronique Hofman - Centre Hospitalier Universitaire de Nice, Hôpital Pasteur

Renseignements cliniques :

Découverte d'une lésion du lobe inférieur gauche de 23 mm au décours d'un bilan de toux, chez une patiente âgée de 67 ans, sans notion de tabagisme. Hyperfixation au PET TDM avec SUV à 6.8. Lobectomie inférieure gauche.

Diagnostic :

Adénocarcinome papillaire avec composante micropapillaire > 20% (grade 3 IASLC, peu différencié) avec dissémination aérienne (STAS : « spread through airspaces »).

Description macroscopique :

Il s'agit d'une tumeur périphérique, de topographie sous-pleurale, avec ombilication de la plèvre viscérale. A la coupe, la tumeur est de couleur grisâtre, assez mal limitée, sans remaniements nécrotiques et mesure 25 mm de diamètre. La palpation du parenchyme pulmonaire ne met pas en évidence de nodules satellites.

Description microscopique :

La tumeur est prélevée et analysée en totalité. Il s'agit d'une tumeur au centre fibroélastosique, avec différenciation papillaire prédominante (50%), micropapillaire (30%) et acineuse (20 %). La composante micropapillaire se présente sous forme d'amas ou « touffes » sans axes fibrovasculaires, détachées ou connectées aux cloisons alvéolaires, de quelques territoires acinaires ou papillaires au sein desquels se détachent des structures micropapillaires, et des foyers de type « filigrane », correspondant à un réseau délicat d'empilement étroit de 3 cellules ou plus, sans axes fibrovasculaires. Cette tumeur est classée en grade 3, peu différenciée selon le grade de l'IASLC (International Association for the Study of Lung Cancer) (tableau ci-dessous), en raison de sa composante micropapillaire ≥ 20%. Enfin, on note en périphérie des lésions de STAS. Le stade selon la pTNM 8ème édition est pT2a(PL1)N0.

Evolution :

L'évolution est favorable à 5 ans sans récidive. La patiente n'avait pas bénéficié de traitement complémentaire en post opératoire.

Commentaires :

Définition : selon l'OMS, l'adénocarcinome invasif non mucineux est un carcinome non à petites cellules avec différenciation morphologique ou immunohistochimique glandulaire. Ces

adénocarcinomes non mucineux sont classés en « sous-types » lépidiques, acinaires, papillaires, micropapillaires et solides. Il s'agit de tumeurs généralement mixtes.

Généralités : l'incidence des adénocarcinomes a considérablement augmenté, représentant actuellement plus de 50% des cancers pulmonaires [1]. Ils restent fortement liés à la consommation de tabac, notamment de cigarettes « légères », mais c'est le type histologique le plus fréquemment observé chez les patients non ou peu tabagiques, et plus particulièrement chez les femmes. Parmi les adénocarcinomes, les adénocarcinomes invasifs non mucineux sont largement majoritaires. Les signes cliniques sont peu spécifiques et dépendent essentiellement du stade de la tumeur, notamment de son extension locorégionale et/ou métastatique. Sur le plan scanographique, il s'agit de nodules solides (en rapport avec la composante invasive), de plages de verre dépoli (en rapport avec le contingent lépidique) ou bien de lésions mixtes [1].

Macroscopie : il s'agit d'une tumeur préférentiellement périphérique, rétractant souvent la plèvre viscérale, de couleur gris blanchâtre à la coupe, au centre fibreux, parfois tatoué d'anthracose.

Microscopie : la classification OMS 2021 (5ème édition) détaille les « critères diagnostiques essentiels et souhaitables » pour le diagnostic d'adénocarcinome invasif non mucineux :

- <u>Essentiels</u> :

  - tumeur épithéliale avec différenciation glandulaire architecturale (lépidique, acinaire, papillaire, micropapillaire, cribriforme) ou solide pure avec expression immunohistochimique des marqueurs pneumocytaires (TTF1 et/ou Napsin A) et/ou mise en évidence de mucines intracytoplasmiques sur au moins 5 cellules (sur coloration histochimique) sur chacun des 2 champs au fort grandissement.

  - la tumeur ne doit comporter plus de 5% d'un autre type d'adénocarcinome.

  - la tumeur doit être classée selon le sous-type histologique prédominant, après estimation de chaque composante, par incrément de 5% ou 10%.

- <u>Souhaitables</u> :

  - rapporter dans le compte-rendu histopathologique, le % de chaque sous-type histologique et le grade IASLC (tableau ci-dessous)

  - caractérisation immuno-histochimique et/ou moléculaire de la tumeur.

En pratique, la « sous-classification » des adénocarcinomes invasifs non mucineux basée sur le sous-type histologique prédominant reste d'actualité dans la nouvelle classification, puisqu'ils ont clairement été démontrés comme associés au pronostic ; les sous-types lépidiques

prédominants, associés à un pronostic favorable, les acinaires et papillaires à un pronostic intermédiaire, et les micropapillaires et solides à un mauvais pronostic [2, 3]. Cette classification en sous-types doit se faire en estimant chaque composante de façon semi-quantitative par incrément de 5% ou 10% (avec un total de 100%). L'incrément de 5% peut permettre d'aider à choisir le sous-type prédominant (si 2 composantes ont des % relativement proches) et de prendre en considération des composantes de « haut grade », dont la présence, même minoritaire (5%), reste fortement corrélée à un mauvais pronostic [4, 5].

Une des difficultés du cas présenté ici était de ne pas sous-estimer la composante micropapillaire, qui en dehors des critères classiques (petits amas ou « touffes » sans axe), peut présenter des aspects trompeurs : structures de type « anneaux » flottant dans les espaces alvéolaires, aspects en « filigrane » récemment décrits [6], ou bien « pattern » de type invasion stromale (les micropapilles infiltrant le stroma au sein de lymphatiques). Par ailleurs, les territoires lépidiques, acineux ou papillaires au sein desquels s'observent des micropapilles doivent être considérés comme micropapillaires.

Dans les sous-types de haut grade, en plus des sous-types solide et micropapillaire, on retrouve l'architecture cribriforme définie par des massifs creusés de lumières glandulaires ou glandes adossées sans stroma (architecture glandulaire complexe). Ce sous-type est considéré par l'OMS comme une catégorie du sous-type acinaire, malgré son pronostic de haut grade [1,7, 8].

Dans le cadre des adénocarcinomes invasifs non mucineux réséqués de stade précoce, un nouveau système de grade (proposé par l'IASLC) est recommandé en complément de la sous-classification, basé sur la présence de ces contingents de haut grade associés à un mauvais pronostic [7].

Grade	Différenciation	Sous-type
1	Bien différencié	Lépidique prédominant, sans ou avec sous-type de haut grade < 20%
2	Modérément différencié	Acinaire ou papillaire prédominant, sans ou avec sous-type de haut grade < 20%
3	Peu différencié	Toute tumeur avec sous-type de haut grade (solide, micropapillaire, cribrifome ou architecture glandulaire complexe*) ≥ 20%

Grade des adénocarcinomes invasifs non mucineux proposé par l'IASLC, réalisé uniquement sur pièce de résection. **** fusion de glandes ou cellules isolées infiltrant le stroma desmoplastique***

Enfin, la STAS, définie par la présence de cellules tumorales dans les espaces aériens jouxtant la tumeur [9] est reconnue comme facteur prédictif de mauvais pronostic et de récidive en cas de résection limitée. Elle s'observe majoritairement dans les sous-types micropapillaire et solide, formant des cellules isolées non cohésives, détachées des cloisons alvéolaires.

Immunohistochimie : l'analyse immunohistochimique (et principalement le TTF1 et/ Napsin A), associée à la recherche de mucines, est particulièrement importante en cas d'adénocarcinome solide prédominant et de suspicion de métastase. Le clone 8G7G3/1 est recommandé, car il est le plus spécifique [10].

Diagnostic sur petits prélèvements : la classification sur « petits prélèvements » recommande de typer le plus précisément possible les « carcinomes non à petites cellules » (CNPC). En cas d'aspects morphologiques glandulaires clairement définis, le diagnostic d'adénocarcinome doit être posé en listant l'ensemble des sous-types présents, sans rapporter leur %. En cas de CNPC d'aspect solide associé à un profil immunohistochimique TTF1+/p40- et/ou à la présence de mucines, la terminologie sera « CNPC, en faveur d'un adénocarcinome ». Le diagnostic de « CNPC NOS » ne s'appliquera qu'aux carcinomes peu différenciés après complément d'analyse immunohistochimique permettant d'exclure les sites métastatiques les plus courants [1]. La préservation du matériel est primordiale pour l'analyse moléculaire de ces tumeurs souvent de stade avancé.

Altérations moléculaires : la classification OMS 2021 comporte un paragraphe spécifique dédié au « diagnostic en pathologie moléculaire », décrivant les principales altérations génomiques d'intérêt observées dans ces entités et les thérapies ciblées disponibles associées. Dans le cas des adénocarcinomes non mucineux, les mutations de *EGFR, ERBB2* ainsi que des fusions de *ALK*, *ROS1*, *RET*, et *NTRK* sont principalement décrites plutôt chez des patients non ou peu tabagiques. Les mutations de *KRAS*, de *NRAS* et de *MAP2K1* sont plutôt détectées chez les patients tabagiques et les mutations de *BRAF*, *MET* et de *MET* saut exon 14 décrites quel que soit le statut tabagique.

La caractérisation du profil moléculaire, notamment la recherche d'anomalies moléculaires avec cible thérapeutique (altération des gènes *EGFR, ALK, ROS1, BRAF V600E, MET, RET* et *NTRK),* et l'expression de PD-L1 en immunohistochimie est systématique en cas d'adénocarcinome de stade avancé, mais apparait dans les critères diagnostiques souhaitables pour les adénocarcinomes réséqués de stade précoce. En effet, les mutations de *EGFR* (délétion sur l'exon 19 ou d'une mutation L858R) peuvent faire l'objet de traitement adjuvants [11]

Pronostic :

Le grade proposé par l'IASLC est un facteur pronostique, facilement applicable, reproductible, fortement significatif, supérieur à d'autres facteurs connus comme la taille de la tumeur, l'index mitotique, la nécrose et la STAS [3-5]. Ce grade aurait de plus une utilité clinique, les patients avec une tumeur de « haut grade », de stade I à IIIA pouvant bénéficier d'une chimiothérapie adjuvante [1, 5, 13]. Le pTNM est le principal facteur pronostique permettant de guider la prise en charge thérapeutique. Il est important de noter qu'en cas d'adénocarcinome à prédominance lépidique, la taille de l'invasion (et non la taille de la tumeur) est celle qui permet l'établissement du pT dans la 8ème édition [12].

Diagnostics différentiels :

Il s'agit principalement de distinguer ces adénocarcinomes d'autres carcinomes pulmonaires, adénocarcinomes plus rares (invasif mucineux, colloïde, fœtal, entérique), de carcinomes épidermoïdes ou neuroendocrines à grandes cellules. Il faut également parfois exclure une métastase de site extrapulmonaire voire un mésothéliome. Dans tous les cas, il faut s'appuyer sur la présentation clinique, la morphologie ainsi qu'une analyse immunohistochimique appropriée. Enfin, une approche mutltidisciplinaire (clinique, radiologique, voire moléculaire) est recommandée pour distinguer les adénocarcinomes primitifs multiples des métastases intrapulmonaires. La composante lépidique est en faveur d'un adénocarcinome primitif [1].

Points importants à retenir

- La nouvelle classification OMS (5ème édition) parue en 2021 inclut 2 nouvelles sections, les critères diagnostiques « essentiels et souhaitables » ainsi que « le diagnostic en pathologie moléculaire »

- La « sous-classification » des adénocarcinomes invasifs non mucineux, basée sur le sous-type histologique prédominant reste d'actualité. Il est important de préciser le % de chaque sous-type par incrément de 5-10%.

- Un grade histopronostique pour les adénocarcinomes non mucineux réséqués est proposé par l'IASLC (*International Association for the Study of Lung Cancer*) et inclus dans la nouvelle classification, dépendant de la présence de sous-types histologiques de « haut grade »

- Depuis la 8ème édition de la classification TNM, il est recommandé en cas d'adénocarcinome lépidique non mucineux de se baser sur la taille du foyer d'invasion et non pas sur la taille de la tumeur.

Remerciements : Mme le Pr Sylvie LANTUEJOUL.

Références bibliographiques :

1. WHO classification of the tumours Editorial Board. Thoracic Tumours. Lyon: International Agency for Research on Cancer; 2021
2. Miyahara N et al. Solid predominant subtype in lung adenocarcinoma is related to poor prognosis after surgical resection: A systematic review and meta-analysis. Eur J Surg Oncol. 2019; 45(7):1156-1162.
3. Pyo JS et al. Clinicopathological Significance of Micropapillary Pattern in Lung Adenocarcinoma. Pathol Oncol Res. 2018; 24(3):547-555.
4. Butnor KJ et al. Controversies and challenges in the histologic subtyping of lung adenocarcinoma. Transl Lung Cancer Res. 2020; 9(3): 839–846.
5. Choi SH et al. Clinical implication of minimal presence of solid or micropapillary subtype in early-stage lung adenocarcinoma Thorac Cancer. 2021 Jan; 12(2): 235–244
6. Emoto K et al. Expansion of the Concept of Micropapillary Adenocarcinoma to Include a Newly Recognized Filigree Pattern as Well as the Classical Pattern Based on 1468 Stage I Lung Adenocarcinomas. J Thorac Oncol. 2019; 14(11):1948-1961.
7. Moreira AL et al. A Grading System for Invasive Pulmonary Adenocarcinoma: A Proposal from the International Association for the Study of Lung Cancer Pathology Committee. J Thorac Oncol. 2020; 15(10):1599-1610.
8. Kadota K et al. Cribriform Subtype is an Independent Predictor of Recurrence and Survival after Adjustment for the Eighth edition of TNM Staging System in Patients with Resected Lung Adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2019; 14(2):245-254. Oct 15.
9. Kadota K et al. Tumor Spread through Air Spaces is an Important Pattern of Invasion and impacts the Frequency and Location of Recurrences after Limited Resection for Small Stage I Lung Adenocarcinomas. J Thorac Oncol. 2015;10(5):806-814
10. Yatabe et al. Best Practices Recommendations for Diagnostic Immunohistochemistry in Lung Cancer.J Thorac Oncol. 2019; 14(3): 377–407
11. Wu YL et al. Osimertinib in Resected EGFR-Mutated Non-Small-Cell Lung Cancer. N Engl J Med. 2020 29;383(18):1711-1723

12. Koji Kameda et al. Implications of the Edition of the TNM Proposal: Invasive vs. Total Tumor Size for the T Descriptor in Pathologic Stage I-IIA Lung Adenocarcinoma. J Thorac Oncol. 2018; 13(12): 1919–1929
13. Nicholson et al. Editorial. Grading in Lung Adenocarcinoma: Another New Normal. J Thorac Oncol. 2021; 16(10): 1601-1604

Cas n°3 - Nicolas Poté – Hôpital Bichat, AP-HP, Paris.

Renseignements cliniques :

Patiente de 40 ans. Découverte d'un nodule suspect de 26 mm du lobe inférieur droit avec hypermétabolisme au PET scan (18-FDG), dans le cadre d'un bilan de toux. Lobectomie inférieure droite avec curage ganglionnaire. Les cellules tumorales sont TTF1 positives. L'index mitotique est évalué à 12 mitoses/2mm^2.

Diagnostic :

Tumeur carcinoïde atypique avec index mitotique élevé

Description macroscopique :

A la coupe, il existe une tumeur sous-pleurale beige/jaunâtre, bien limitée, de consistance ferme, sans remaniement nécrotique ou hémorragique, mesurant 3,5 x 2,5 cm.

Description histologique :

La prolifération tumorale est d'architecture endocrinoïde, faite d'amas ou ilots de taille variable parfois centrés par de la nécrose. Les cellules tumorales sont d'aspect monotone, tantôt polygonales, tantôt fusiformes, et prennent parfois un agencement palissadique en périphérie des amas. Le noyau présente une chromatine fine « poivre et sel », avec un nucléole rarement visible. Le cytoplasme est éosinophile, granulaire, ou parfois clair. L'index mitotique, variable d'un secteur à l'autre, est évalué à 12 mitoses/2mm^2 dans les zones les plus proliférantes. Le stroma est grêle, fibro-hyalin, richement vascularisé et siège d'un discret infiltrat lymphocytaire. La prolifération tumorale est bien limitée en périphérie et infiltre focalement la plèvre viscérale. Elle est classée pT2aN0 R0 selon la classification TNM.

Profil immunohistochimique : la prolifération exprime la **chromogranine A**, la **synaptophysine** et le **TTF1**. L'expression de **Rb** est conservée. L'index de prolifération, évalué par l'immunomarquage **Ki67,** est évalué à 25% dans les « hotspots ».

Évolution :

La patiente a présenté une récidive tumorale à 3 ans de la chirurgie sous formes de multiples métastases (pulmonaires, osseuses et hépatiques). La biopsie d'une métastase osseuse montrait une tumeur de morphologie carcinoïde d'aspect superposable à la tumeur primitive, avec un index de prolifération estimé par le Ki67 à 14%. La patiente est décédée rapidement après le diagnostic de récidive.

Commentaires :

Définition : Selon l'OMS, les tumeurs carcinoïdes sont définies comme des tumeurs neuroendocrines ayant une architecture bien différenciée, organoïde [1]. Il en existe deux sous-types: les tumeurs carcinoïdes typiques (CT) définis par un index mitotique **< 2 mitoses/2 mm^2 et l'absence de nécrose**, et les tumeurs carcinoïdes atypiques (CA)/ tumeur neuroendocrine de grade 2 définis par un index mitotique de 2 à 10 mitoses/2 mm^2 et/ou la présence de nécrose.

Généralités : Les tumeurs carcinoïdes sont des tumeurs rares, représentant ≤ 2% des tumeurs pulmonaires [2]. Les CT sont beaucoup plus fréquents que les CA, avec un ratio de 8 à 10:1 [3]. Bien qu'il n'existe pas de facteur de risque reconnu pour les tumeurs carcinoïdes, elles peuvent survenir dans un contexte de néoplasie neuroendocrine multiple de type 1 (NEM1) associée aux mutations constitutionnelles du gène *MEN1*, ou bien dans le cadre d'une hyperplasie neuroendocrine pulmonaire diffuse (DIPNECH) qui est considérée comme une lésion pré-invasive. Les CT sont plus souvent de localisation proximale, responsable de signes en rapport avec l'obstruction bronchique (pneumopathies, hémoptysie,...). Les CA sont plus souvent de localisation périphérique, asymptomatiques, de découverte fortuite à l'imagerie [3]. Les symptômes secondaires à la sécrétion tumorale d'hormones (syndrome carcinoïde, syndrome de Cushing) sont rares. Le bilan d'extension minimal comprend une TDM thoraco-abdominale avec injection et un PET scanner au $^{68-}$Ga-DOTATOC détectant le récepteur de la somatostatine [4].

Macroscopie : Les tumeurs carcinoïdes de localisation proximale sont souvent bien limitées, rondes/ovalaires, formant souvent un bourgeon endobronchique d'aspect « framboisé ». À la coupe, la tumeur est grise/jaunâtre, et des remaniements hémorragiques sont possibles. La consistance est molle ou ferme. À noter que, par définition, les nodules <5mm sont classés comme « **tumorlet** ».

Microscopie : Les tumeurs carcinoïdes présentent une morphologie de type endocrine définie par une architecture organoïde associant dans des proportions variables des amas, ilots, travées, cordons ou pseudoglandes. Des rosettes ainsi qu'un agencement palissadique des cellules tumorales en périphérie des massifs tumoraux sont caractéristiques, mais présents de façon inconstante. Les cellules tumorales, polygonales ou fusiformes, sont d'aspect monotone et les atypies cyto-nucléaires sont peu marquées. Le noyau présente un aspect caractéristique avec une chromatine fine granulaire et un nucléole rarement visible. Le cytoplasme est abondant, le plus souvent éosinophile granulaire. Il existe par ailleurs des variants cytologiques, faits de cellules oncocytaires ou cellules claires.

Les seuls critères permettant de distinguer un CT d'un CA sont l'index mitotique (nombre de mitoses/2 mm^2) et/ou la présence de nécrose (cf définition), éléments qui doivent impérativement figurer dans le compte rendu. La nécrose est le plus souvent ponctuée, non extensive. Selon les recommandations de l'OMS [1], les mitoses doivent être comptées dans les aires où l'activité mitotique est la plus élevée. Dans les cas où l'index mitotique est proche des seuils (2 ou 10 mitoses/2 mm^2), il faut effectuer un compte dans au moins 3 zones de $2mm^2$, et en rapporter la moyenne. Les caractéristiques morphologiques en faveur d'une figure de mitose (plutôt que d'un noyau pycnotique) incluent l'absence de membrane nucléaire, la présence de projections « chevelues » et la basophilie du cytoplasme (plutôt que l'éosinophilie). Seules les mitoses caractéristiques doivent être comptées [1].

Immunohistochimie : L'expression de marqueurs neuroendocrines (**chromogranine A, synaptophysine**, CD56, INSM1) est observée dans la plupart des tumeurs carcinoïdes, et représente un critère diagnostique souhaitable selon la nouvelle classification OMS [1]. L'expression du **TTF-1** est variable selon la topographie de la tumeur (souvent positif dans les tumeurs périphériques, alors que souvent négatif dans les tumeurs proximales) et peut être utile en situation métastatique pour suggérer une origine pulmonaire. Pour rappel, l'expression de TTF1 dans les carcinomes neuroendocrines ne préjuge pas de l'origine pulmonaire.
Concernant l'immunomarquage **Ki67**, bien qu'il n'existe pas de seuil consensuel permettant de distinguer les CT des CA, un Ki67> 5% est plutôt en faveur d'un CA mais ceci nécessite d'être validé [1]. Le Ki67 est également utile en cas de doute diagnostique avec un carcinome neuro-endocrine de haut grade (CNE) (cf diagnostic différentiel) et fait partie des critères diagnostiques souhaitables selon la dernière classification OMS.

Diagnostic des tumeurs carcinoïdes sur petits prélèvements : La distinction entre CT et CA est le plus souvent impossible sur petits prélèvements (biopsie, cytoponction), compte tenu des critères diagnostiques et de l'échantillonnage limité. Ainsi, la dernière classification de l'OMS recommande d'utiliser le terme de **« tumeur carcinoïde NOS (not otherwise specified) »** sur prélèvement biopsique de la tumeur primitive ou d'une métastase. Il est par ailleurs suggéré de préciser dans le compte rendu le nombre de mitoses, la présence ou l'absence de nécrose et l'index de prolifération Ki67 [1]. Comme plus de 90% des tumeurs carcinoïdes sont résécables, le diagnostic histopathologique définitif (CT *versus* CA) sera établi sur la pièce opératoire.

Altérations moléculaires :

Les tumeurs carcinoïdes ont une faible charge mutationnelle, comparé aux CNE. Les mutations dans les gènes de remodelage de la chromatine sont présentes dans 50% des cas et les gènes les

plus fréquemment mutés sont *MEN1* et *ARID1A*. À l'inverse des CNE, les mutations inactivatrices des gènes *TP53* et *RB1* sont extrêmement rares dans les tumeurs carcinoïdes [5]. De façon intéressante, ces mutations se traduisent à l'échelle protéique par une surexpression (ou perte d'expression) de P53 et une perte d'expression de Rb, pouvant être détectées par immunohistochimie et aider au diagnostic en cas de doute avec un CNE (cf diagnostics différentiels).

Pronostic et traitement :

Les principaux facteurs pronostiques des tumeurs carcinoïdes sont la classification OMS (typique versus atypique) et le stade TNM (1). Ainsi, les taux de survie globale à 5 ans sont de 82-100% et 50-68% pour les CT et CA, respectivement [1]. Concernant le stade TNM, la survie globale à 10 ans des stades I, II, III et IV est de 96%, 85%, 81%, 59% pour les CT et de 88%, 75%, 47%, 18% pour les CA [6]. Après résection chirurgicale, la classification OMS et le statut ganglionnaire (pN) sont les deux facteurs pronostiques principaux, justifiant un curage ganglionnaire systématique [4]. Un index Ki67 ≥ 5% et ≥ 10% a été rapporté comme associé à un mauvais pronostic dans les CT et CA, respectivement [7]. Des données supplémentaires sont cependant nécessaires afin de valider l'impact pronostique et la valeur ajoutée du Ki67 par rapport à la classification OMS et au stade TNM.

Le traitement chirurgical est la référence dans les formes localisées, avec une résection anatomique associée à un curage ganglionnaire. Le traitement des formes métastatiques repose sur les analogues de la somatostatine pour les CT et/ou les tumeurs carcinoïdes de progression lente, et sur l'évérolimus (ou une chimiothérapie à base de témozolomide) pour les CA et/ou les tumeurs carcinoïdes rapidement progressives [4].

Cas particuliers des tumeurs carcinoïdes avec index mitotique et/ou index de prolifération Ki67 élevés.

La tumeur carcinoïde rapportée ici présentait la particularité d'avoir un index mitotique élevé (12 mitoses/2 mm^2), supérieur à celui attendu pour le diagnostic de CA (2 à 10 mitoses/2 mm^2). Récemment, l'existence de tumeurs carcinoïdes ayant une morphologie de CA mais un index mitotique trop élevé (>10 mitoses/2 mm^2) et/ou un index de prolifération Ki67 trop élevé (>30%) par rapport à celui attendu a été rapportée dans la littérature [8]. Les caractéristiques de ces tumeurs semblent similaires à celles des TNE digestives de grade 3. Ces tumeurs, rares au niveau du site primitif (5% des tumeurs carcinoïdes), sont le plus souvent observées dans les sites métastatiques [1]. Leurs altérations génomiques sont peu décrites, mais les données

disponibles montrent un profil moléculaire plus proche des tumeurs carcinoïdes que des carcinomes neuro-endocrines à grandes cellules (CNEGC) de par la quasi-absence de mutation de *RB1* et *TP53* et/ou la présence de mutations de *MEN1* [9]. Par ailleurs, leur pronostic semble meilleur que celui des CNEGC mais plus péjoratif que celui des CA [10]. Cependant, ces tumeurs sont toujours actuellement classées en carcinome neuro-endocrine à grandes cellules du fait de leur index mitotique >10/2mm^2 . Compte tenu de leurs caractéristiques spécifiques, il est donc suggéré de les classer comme CNEGC mais d'ajouter une note spécifiant la présence de caractéristiques histologiques de tumeur carcinoïde et d'indiquer l'index mitotique et l'index Ki67 (si disponible) [1]. Des données cliniques et moléculaires supplémentaires sont nécessaires afin de mieux caractériser ces tumeurs et ainsi définir la meilleure stratégie thérapeutique.

Diagnostics différentiels :

- ***Tumeur neuroendocrine d'un autre site (en situation métastatique)*** : Les tumeurs neuroendocrines bien différenciées, en particulier digestives, sont d'aspect superposable aux tumeurs carcinoïdes pulmonaires. Les marqueurs d'origine d'organe peuvent aider à identifier le primitif, les tumeurs carcinoïdes pulmonaires étant souvent TTF1+, les tumeurs neuroendocrines de l'appareil digestif étant CDX2+ (tube digestif) ou PAX8+ (pancréas).

- ***Carcinomes neuro-endocrines (carcinome à petites cellules, carcinome neuroendocrine à grandes cellules)*** **:** L'index mitotique est parfois le seul critère morphologique permettant de distinguer les tumeurs carcinoïdes des CNE, les CNE ayant par définition un index mitotique élevé (>10 mitoses/2 mm^2). Cependant, l'index mitotique peut être difficile à évaluer sur des petits prélèvements, parfois avec artéfacts d'écrasement. Dans cette situation, l'immunomarquage Ki67 peut aider au diagnostic, les CNE ayant un index Ki67 élevé (souvent >30%) et les tumeurs carcinoïdes un index Ki67 bas (<30%). Les immunomarquages Rb et/ou P53 sont également utiles au diagnostic (surexpression ou perte d'expression de P53 +/- perte d'expression de Rb dans les CNE ; expression « sauvage » de P53 et expression conservée de Rb dans les tumeurs carcinoïdes).

- ***Tumeurs de type glandes salivaires :*** Les tumeurs de type glande salivaire sont généralement négatives pour les marqueurs neuro-endocrines. Le carcinome mucoépidermoïde exprime habituellement la p40 et présente une mucosécretion. Le carcinome adénoïde kystique exprime p63 et PS100 dans les cellules myoépithéliales.

- ***Paragangliome*:** La distinction est principalement basée sur la morphologie. De plus, l'expression d'une pancytokératine permet d'éliminer formellement ce diagnostic, mais il faut garder en tête qu'environ 20% des tumeurs carcinoïdes également.

- ***Mélanome* :** Les mélanomes expriment fréquemment HMB45, PS100, et SOX10 et sont négatifs pour les marqueurs neuroendocrines.

Points importants à retenir

- Les tumeurs carcinoïdes sont des tumeurs pulmonaires rares, définies comme des tumeurs neuroendocrines d'architecture bien différenciée.

- Les tumeurs carcinoïdes typiques sont définies par un index mitotique < 2 mitoses/2 mm^2 et l'absence de nécrose ; les tumeurs carcinoïdes atypiques sont définies par un index mitotique allant 2 à 10 mitoses/2 mm^2 et/ou la présence de nécrose.

- La démonstration d'une différenciation neuroendocrine à l'aide d'un panel de marqueurs immunohistochimiques comprenant la chromogranine A, la synaptophysine et CD56 est un critère diagnostique souhaitable.

- L'immunomarquage Ki67 n'est pas recommandé pour la classification des tumeurs carcinoïdes (CT versus CA). Il est cependant utile en cas de doute diagnostique avec un carcinome neuro-endocrine.l.

- Sur biopsie, le terme **« tumeur carcinoïde NOS »** est recommandé. Il est par ailleurs conseillé de préciser dans le compte rendu le nombre de mitoses, la présence ou l'absence de nécrose et l'index de prolifération Ki67. Le diagnostic définitif sera porté sur la pièce opératoire en cas de chirurgie.

- Un sous-groupe rare de tumeur carcinoïde avec index mitotique élevé (>10 mitoses/2 mm^2) et/ou un index de prolifération Ki67 élevé (>30%) a récemment été rapporté. Ces tumeurs sont toujours classées en carcinome neuro-endocrine à grandes cellules (CNEGC) selon l'OMS. Cependant, elles présentent des altérations moléculaires plus proche des tumeurs carcinoïdes et leur pronostic semble meilleur que celui des CNEGC. Ainsi, il est suggéré d'ajouter une note spécifiant la présence de caractéristiques histologiques de tumeur carcinoïde et d'indiquer l'index mitotique et l'index Ki67 (si disponible).

- Les principaux diagnostics différentiels des tumeurs carcinoïdes sont les carcinomes neuro-endocrines (carcinome pulmonaire à petites cellules, carcinome neuroendocrine à grandes

cellules). Les immunomarquages Ki67, Rb et P53 peuvent aider au diagnostic, les tumeurs carcinoïdes ayant un index Ki67 souvent bas (<30%) et une expression conservée de Rb et de P53, à l'inverse des carcinomes neuro-endocrines.

Références bibliographiques

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. WHO Classification of Tumours. Thoracic tumours. 5th edition. Vol. 5. International Agency for Research on Cancer; 2021.

2. Caplin ME, Baudin E, Ferolla P, Filosso P, Garcia-Yuste M, Lim E, et al. Pulmonary neuroendocrine (carcinoid) tumors: European Neuroendocrine Tumor Society expert consensus and recommendations for best practice for typical and atypical pulmonary carcinoids. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. août 2015;26(8):1604-20.

3. Soga J, Yakuwa Y. Bronchopulmonary carcinoids: An analysis of 1,875 reported cases with special reference to a comparison between typical carcinoids and atypical varieties. Ann Thorac Cardiovasc Surg Off J Assoc Thorac Cardiovasc Surg Asia. août 1999;5(4):211-9.

4. Baudin E, Caplin M, Garcia-Carbonero R, Fazio N, Ferolla P, Filosso PL, et al. Lung and thymic carcinoids: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up☆. Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. avr 2021;32(4):439-51.

5. Fernandez-Cuesta L, Peifer M, Lu X, Sun R, Ozretić L, Seidal D, et al. Frequent mutations in chromatin-remodelling genes in pulmonary carcinoids. Nat Commun. 27 mars 2014;5:3518.

6. Yoon JY, Sigel K, Martin J, Jordan R, Beasley MB, Smith C, et al. Evaluation of the Prognostic Significance of TNM Staging Guidelines in Lung Carcinoid Tumors. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. févr 2019;14(2):184-92.

7. de Vilhena AF, das Neves Pereira JC, Parra ER, Balancin ML, Ab Saber A, Martins V, et al. Histomorphometric evaluation of the Ki-67 proliferation rate and CD34 microvascular and D2-40 lymphovascular densities drives the pulmonary typical carcinoid outcome. Hum Pathol. nov 2018;81:201-10.

8. Hermans BCM, Derks JL, Moonen L, Habraken CHJ, der Thüsen J von, Hillen LM, et al. Pulmonary neuroendocrine neoplasms with well differentiated morphology and high

proliferative activity: illustrated by a case series and review of the literature. Lung Cancer Amst Neth. déc 2020;150:152-8.

9. Alcala N, Leblay N, Gabriel A a. G, Mangiante L, Hervas D, Giffon T, et al. Integrative and comparative genomic analyses identify clinically relevant pulmonary carcinoid groups and unveil the supra-carcinoids. Nat Commun. 20 août 2019;10(1):3407.

10. Rubino M, Scoazec JY, Pisa E, Faron M, Spaggiari L, Hadoux J, et al. Lung carcinoids with high proliferative activity: Further support for the identification of a new tumor category in the classification of lung neuroendocrine neoplasms. Lung Cancer Amst Neth. oct 2020;148:149-58.

Cas n°4 - Nicolas Poté –Hôpital Bichat, AP-HP, Paris.

Renseignements cliniques :

Patient de 69 ans, tabagique actif à 50 PA, présentant une volumineuse masse basi-thoracique droite infiltrant le médiastin postérieur sans adénomégalie médiastinale. Biopsie transthoracique sous TDM.

Diagnostic :

Carcinome neuroendocrine à grandes cellules

Description histologique

Il s'agit d'une prolifération tumorale d'architecture endocrinoïde, s'agençant sous forme d'amas, de massifs ou de structures pseudo-glandulaires. Au sein des massifs, de nombreuses rosettes sont visibles ainsi que focalement un agencement palissadique des noyaux. Les cellules tumorales sont de grande taille (>3 lymphocytes), présentent un noyau rond/ovalaire à la chromatine fine renfermant parfois un nucléole bien visible. Le cytoplasme est abondant, éosinophile. Il n'y a pas de mucosecrétion sur la coloration du bleu alcian. Il existe par ailleurs de nombreuses figures de mitose, et quelques rares foyers de nécrose sont observés. Le stroma est abondant, fibro-oedémateux, siège d'un discret infiltrat lymphocytaire.

Profil immunohistochimique : la prolifération exprime de façon hétérogène le TTF1, la chromogranine A, la synaptophysine et le CD56. L'index de prolifération estimé par le marquage Ki67 est également hétérogène, évalué à 80% dans les « hotspots ». Il existe enfin une perte d'expression de Rb par les cellules tumorales (témoin positif sur les cellules du stroma).

L'analyse en NGS ADN montrait la présence d'une mutation isolée de *TP53.*

Évolution :

Le patient, non opérable, a bénéficié d'une chimiothérapie par cisplatine-étoposide (VP16) avec réponse partielle à 2 cures. Décision en RCP de poursuite de la chimiothérapie associée à de la radiothérapie.

Commentaires :

Définition : Le carcinome neuro-endocrine à grandes cellules (CNEGC) est un carcinome non à petites cellules de morphologie endocrine dont l'index mitotique est > 10 mitoses/2 mm^2 et qui exprime un ou plusieurs marqueurs neuroendocrines [1].

Généralités : Le CNEGC est une tumeur rare, représentant environ 3% des carcinomes pulmonaires opérés, survenant préférentiellement chez l'homme âgé (>65 ans) grand fumeur (>90%). La présentation clinique est similaire à celle des carcinomes bronchiques non à petites cellules (CBNPC), et la majorité des tumeurs sont périphériques (75%). 40 à 50% des patients sont diagnostiqués à un stade métastatique. Les syndromes paranéoplasiques sont rares, contrairement au carcinome à petites cellules. Le bilan d'extension est le même que celui réalisé pour les CBNPC.

Macroscopie : L'aspect macroscopique est similaire à celui des CBNPC. La tumeur est le plus souvent de siège périphérique, généralement bien limitée, beige. Des remaniements nécrotiques sont fréquents [1].

Microscopie : Le CNEGC présente une architecture organoïde de type endocrine, comme décrit pour les tumeurs carcinoïdes (cf cas n°3). Les caractéristiques cytologiques sont proches de celles des CBNPC, avec des cellules de grande taille (>3 lymphocytes), un nucléole souvent proéminent (parfois absent), une chromatine le plus souvent fine/granulaire (parfois vésiculeuse), et un cytoplasme abondant éosinophile avec souvent une membrane cytoplasmique bien visible. Les figures de mitose sont nombreuses, par définition >10/2 mm^2. La nécrose est présente dans quasiment tous les cas, souvent extensive, mais parfois focale dans certains cas (centre des massifs tumoraux) [1]. À noter qu'environ 20 à 25% des CNEGC opérés comportent un contingent non neuroendocrine (CNEGC combinés), le plus souvent de type adénocarcinome mais tous les types histologiques peuvent s'observer (carcinome épidermoïde, ...) [1]. En revanche si le CNEGC est combiné avec des secteurs de type carcinome à petites cellules, le terme utilisé est celui de carcinome à petites cellules combiné.

Immunohistochimie : La plupart des CNEGC expriment 2 ou 3 des marqueurs neuroendocrines standards (chromogranine A, synaptophysine, CD56), et l'expression d'au moins un des marqueurs est typiquement diffuse [2]. Cependant, en cas de morphologie typique de CNEGC, l'expression d'un seul marqueur (autre que NSE, non spécifique), quelle que soit son étendue, est acceptée pour le diagnostic [3]. Des précautions sont toutefois à prendre en cas d'expression isolée du CD56 en raison de sa faible spécificité [3] mais également pour la synaptophysine que l'on peut également retrouver positive dans 20% des adénocarcinomes. Environ 50% des CNEGC expriment le TTF1. L'index de prolifération estimé par le Ki67 est élevé, toujours >30% et parfois >80% comme observé dans la plupart des carcinomes à petites cellules [4]. Enfin, la perte d'expression de Rb, pouvant être utile pour le typage des CNEGC

ou en cas de doute diagnostique (cf diagnostics différentiels), est observée dans environ un tiers des cas [5].

Altérations moléculaires : sur le plan génomique, des données obtenues par NGS ont montré que les CNEGC présentent des mutations inactivatrices très fréquentes des gènes *TP53* et *RB1* dans 81% et 33% des cas, respectivement. Comme discuté dans le cas n°3, ces altérations moléculaires ont une traduction sur le plan immunohistochimique, l'inactivation de *TP53* se traduisant par une perte ou une surexpression de la P53, celle de *RB1* par une perte d'expression de Rb. De façon intéressante, deux sous-types moléculaires de CNEGC ont récemment été individualisés : un sous-type « CPC-like » proche du profil mutationnel des carcinomes à petites cellules (inactivation de *TP53+/-RB1* et amplification de *MYCL*) et un sous-type « CBNPC-like » proche du profil mutationel des adénocarcinomes (mutations *KRAS*, *STK11*, *KEAP1*,...) [5]. Les altérations moléculaires « ciblables », telles que celles observées dans les adénocarcinomes pulmonaires, sont rares (≈ 2% de mutations *EGFR*), et sont plus souvent observées dans les CNEGC de profil « CBNPC-like » (avec maintien de l'expression de Rb en immunohistochimie) [5]. Ainsi, bien qu'actuellement non recommandée [1], leur recherche systématique au stade métastatique peut se discuter.

Diagnostic de CNEGC sur biopsie : Le diagnostic de CNEGC est possible sur biopsie si la morphologie est caractéristique et si l'expression des marqueurs neuro-endocrines est évidente. En cas de doute diagnostique (échantillons très exigus, immunomarquages difficilement interprétables,...), il est suggéré de proposer le diagnostic de **« Carcinome non à petites cellules, possiblement carcinome neuroendocrine à grandes cellules »** [1].

La distinction entre CNEGC et carcinome à petites cellules (CPC) peut être difficile sur biopsie en raison d'artéfacts d'écrasement ou de nécrose étendue. Dans ce cas, le diagnostic de **« carcinome neuroendocrine de haut grade NOS »** peut être proposé mais cette terminologie est à utiliser de façon la plus restreinte possible [1]. Si disponible, un prélèvement cytologique peut être utile, la morphologie cellulaire étant mieux conservée que sur biopsie.

La distinction entre CNEGC et les autres CBNPC (adénocarcinome, carcinome épidermoïde,...) peut également être difficile sur biopsie, en raison d'une morphologie neuroendocrine souvent difficile à identifier [2]. Un score semi-quantitatif associant des critères morphologiques, immunohistochimiques et un Ki67>40% a récemment été rapporté, avec une sensibilité et spécificité élevées [6]. Par ailleurs, l'expression de ≥ 2 marqueurs neuroendocrines est beaucoup plus fréquente dans les CNEGC (≥ 80%) que dans les CBNPC (1-4%) [2].

CBNPC avec morphologie neuroendocrine isolée ou expression isolée de marqueurs neuroendocrines : le terme « carcinome à grandes cellules avec morphologie neuroendocrine » [1] est proposé dans de rares situations en cas de tumeur ayant une morphologie de CNEGC mais sans expression de marqueurs neuro-endocrines.

Le terme « CBNPC avec différenciation neuroendocrine » [1] fait référence aux CBNPC (adénocarcinome, carcinome épidermoïde, carcinome à grandes cellules, carcinome à cellules fusiformes,...) qui expriment un ou plusieurs marqueurs neuroendocrines en l'absence de morphologie neuroendocrine, représentant environ 15 à 20% des CBNPC [7]. **Ainsi, la réalisation d'immunomarquages neuroendocrines en l'absence de morphologie neuroendocrine n'est pas recommandée** [1].

Pronostic et traitement : le pronostic des CNEGC opérés est plus péjoratif que celui des CBNPC, avec un taux élevé de récidive post-opératoire (40 à 70%). Au diagnostic, 60 à 80% des patients ont une atteinte ganglionnaire et 40% des métastases viscérales. Au stade métastatique, leur pronostic est similaire à celui des CPC, avec une survie médiane autour de 10 mois [8].

Selon le référentiel inter-régional ONCORIF, la chirurgie est la référence dans les stades localisés (https://www.oncorif.fr/professionnels/referentiels-nationaux/references-regionales). Concernant les stades localement avancés ou métastatiques, le traitement repose sur une chimiothérapie de type CPC (sels de platine/ étoposide). En option, une chimiothérapie de type adénocarcinome (sels de platine + taxane ou gemcitabine) peut être proposée pour les CNEGC ayant un profil « CBNPC-like » (expression conservée de Rb en immunohistochimie et mutation de *KRAS* +/- *STK11*+/- *KEAP1*). En effet, une étude a montré que les profils « CPC-like » et « CBNPC-like » pourraient être prédictifs de réponse aux différents types de chimiothérapie, motivant la réalisation précoce de ces marqueurs dès le diagnostic [9]. Cependant, ces données nécessitent d'être validées. Enfin, l'immunothérapie basée sur les inhibiteurs de checkpoints de l'immunité est administrée dans le cadre d'essais thérapeutiques. Le testing PD-L1 systématique n'est donc à ce jour pas recommandé, hors essais cliniques.

Diagnostics différentiels :

- ***Carcinome à petites cellules:*** le CNEGC se distingue du CPC par la présence d'un nucléole proéminent, et/ou d'un cytoplasme abondant et d'une plus grande taille cellulaire (>3 lymphocytes). Cependant, en raison du chevauchement de caractéristiques nucléocytoplasmiques qu'il peut exister entre ces deux entités, le diagnostic peut s'avérer difficile dans certains cas car il n'existe pas de marqueur immunohistochimique ou génomique

permettant de les distinguer (possibilité d'utiliser dans ce cas le terme de « carcinome neuroendocrine de haut grade NOS »). Par ailleurs, il existe des formes mixtes associant un contingent de CPC et un contingent de CNEGC [1].

- ***Adénocarcinome :*** le CNEGC se distingue de l'adénocarcinome d'architecture solide/cribriforme par l'aspect morphologique (architecture endocrinoïde, agencement palissadique des noyaux, présence de rosettes) et par l'expression de marqueurs neuro-endocrines (cf section immunohistochimie). Comme mentionné précédemment, 15 à 20% des CBNPC expriment des marqueurs neuro-endocrines. Cependant, cette expression est le plus souvent focale et limité à un seul marqueur, souvent la synaptophysine [1]. Enfin, la perte d'expression de Rb en immunohistochimie est en faveur du diagnostic de CNEGC.

- ***Tumeur carcinoïde atypique:*** les CNEGC se distinguent des tumeurs carcinoïdes atypiques, hormis la morphologie, par un index mitotique plus élevé (> 10 mitoses/2 mm^2), un nucléole proéminent et la présence de nécrose extensive (ponctuée dans les tumeurs carcinoïdes atypiques) [1]. Les immunomarquages Ki67, P53 et Rb sont également utiles pour les diagnostics différentiels, les CNEGC ayant un Ki67 élevé (souvent >30%), une perte (ou surexpression) de P53 et une perte d'expression de Rb (33% des cas).

- ***Carcinome épidermoïde basaloïde:*** les carcinomes basaloïdes peuvent présenter un aspect morphologique proches des CNEGC (palissades, rosettes,…). L'expression constante de la p40/p63 permet de faire le diagnostic [1].

<u>Points importants à retenir</u>

- Le CNEGC est un carcinome pulmonaire rare du patient plutôt âgé, le plus souvent grand fumeur.

- **Critères diagnostiques essentiels** : Le CNEGC est un carcinome non à petites cellules de morphologie endocrine, dont l'index mitotique est > 10 mitoses/2 mm^2. La morphologie endocrine est définie par des critères architecturaux (agencement organoïde d'amas, ilots, travées, cordons ou pseudoglandes, présence de rosettes, agencement palissadique des noyaux). La cytologie est de type CBNPC (grandes cellules avec une taille > 3 lymphocytes, , cytoplasme abondant, chromatine fine ou vésiculeuse avec nucléole proéminent). La positivité d'au moins 1 marqueur neuroendocrine (chromogranine A, synaptophysine ou CD56) est requise.

- **Critères diagnostiques souhaitables** : présence de nécrose (généralement étendue, parfois focale), index Ki67 élevé (>30%), p40 négatif.

- Les marqueurs neuroendocrines doivent être réalisés uniquement en cas de morphologie neuroendocrine évocatrice, leur expression pouvant s'observer dans les CBNPC.

- Le diagnostic de CNEGC est possible sur biopsie si la morphologie est caractéristique et si l'expression des marqueurs neuroendocrines est évidente. En cas de doute, le diagnostic de **« Carcinome non à petites cellules, possiblement carcinome neuroendocrine à grandes cellules »** peut être proposé.

- La distinction entre CNEGC et CPC peut être difficile. Dans ce cas, le diagnostic de **« carcinome neuroendocrine de haut grade NOS »** peut être proposé.

- Les principaux diagnostics différentiels des CNEGC incluent les CPC, les adénocarcinomes d'architecture solide/cribrifome et les tumeurs carcinoïdes atypiques. Dans ces deux derniers cas, l'**immunomarquage Rb** peut aider au diagnostic (perte d'expression dans environ un tiers des CNEGC ; expression conservée dans les adénocarcinomes et les tumeurs carcinoïdes).

- Deux sous-types moléculaires de CNEGC ont été récemment identifiés : un sous-type « CPC-like » (inactivation du gène *RB1* avec perte d'expression de Rb) et un sous-type « CBNPC-like » (mutation *KRAS* +/- *STK11* +/- *KEAP1*, expression conservée de Rb).

- Il n'existe pas à l'heure actuelle de recommandations concernant le typage moléculaire (NGS ADN) des CNEGC. Cependant, des données récentes suggèrent que les sous-types moléculaires pourraient être prédictifs de la réponse aux différents types de chimiothérapie. Par ailleurs, la recherche d'altérations moléculaires ciblables telles que celles observées dans les adénocarcinomes pulmonaires peut se discuter, notamment dans les CNEGC avec expression conservée de Rb (« CBNPC-like »).

<u>Références bibliographiques</u>

1. WHO Classification of Tumours Editorial Board. WHO Classification of Tumours. Thoracic tumours. 5th edition. Vol. 5. International Agency for Research on Cancer; 2021.

2. Derks JL, Dingemans A-MC, van Suylen R-J, den Bakker MA, Damhuis RAM, van den Broek EC, et al. Is the sum of positive neuroendocrine immunohistochemical stains useful for

diagnosis of large cell neuroendocrine carcinoma (LCNEC) on biopsy specimens? Histopathology. mars 2019;74(4):555-66.

3. Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, Warth A, Russell PA, Lantuejoul S, et al. Best Practices Recommendations for Diagnostic Immunohistochemistry in Lung Cancer. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. mars 2019;14(3):377-407.

4. Rekhtman N, Pietanza MC, Hellmann MD, Naidoo J, Arora A, Won H, et al. Next-Generation Sequencing of Pulmonary Large Cell Neuroendocrine Carcinoma Reveals Small Cell Carcinoma-like and Non-Small Cell Carcinoma-like Subsets. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 15 juill 2016;22(14):3618-29.

5. Derks JL, Leblay N, Lantuejoul S, Dingemans A-MC, Speel E-JM, Fernandez-Cuesta L. New Insights into the Molecular Characteristics of Pulmonary Carcinoids and Large Cell Neuroendocrine Carcinomas, and the Impact on Their Clinical Management. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. juin 2018;13(6):752-66.

6. Baine MK, Sinard JH, Cai G, Homer RJ. A Semiquantitative Scoring System May Allow Biopsy Diagnosis of Pulmonary Large Cell Neuroendocrine Carcinoma. Am J Clin Pathol. 2 janv 2020;153(2):165-74.

7. Kriegsmann K, Zgorzelski C, Muley T, Christopoulos P, Thomas M, Winter H, et al. Role of Synaptophysin, Chromogranin and CD56 in adenocarcinoma and squamous cell carcinoma of the lung lacking morphological features of neuroendocrine differentiation: a retrospective large-scale study on 1170 tissue samples. BMC Cancer. 1 mai 2021;21(1):486.

8. Naidoo J, Santos-Zabala ML, Iyriboz T, Woo KM, Sima CS, Fiore JJ, et al. Large Cell Neuroendocrine Carcinoma of the Lung: Clinico-Pathologic Features, Treatment, and Outcomes. Clin Lung Cancer. sept 2016;17(5):e121-9.

9. Derks JL, Leblay N, Thunnissen E, van Suylen RJ, den Bakker M, Groen HJM, et al. Molecular Subtypes of Pulmonary Large-cell Neuroendocrine Carcinoma Predict Chemotherapy Treatment Outcome. Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 1 janv 2018;24(1):33-42.

Cas n°5 : Nicolas Piton - Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, Hôpital Charles Nicolle

Renseignements cliniques :

Patiente de 69 ans aux antécédents d'hyperthyroïdie et de cancer du sein. Au cours d'un bilan pour myasthénie fluctuante, il est mis en évidence une masse médiastinale antérieure assez bien limitée. Le traitement est chirurgical, par thymectomie.

Diagnostic :

Thymome AB, de stade IIa selon la classification de Masaoka-Koga modifié en 2011 par l'ITMIG et de stade I (pT1a) selon la 8ème édition de la classification TNM proposée par l'IASLC/ITMIG et adoptée par l'AJCC/UICC.

Description macroscopique :

La pièce de thymectomie mesure 14 x 6 x 2,5 cm et pèse 30 grammes. On retrouve à la coupe une tumeur intra-thymique, macroscopiquement bien encapsulée et mesurant 3,2 cm de grand axe.

Description histologique :

À faible grossissement, la lésion présente une architecture lobulée et apparaît le plus souvent circonscrite par une capsule fibreuse. Il existe deux composantes, l'une plutôt éosinophile (territoires de type A) et l'une basophile (territoires de type B). À plus fort grossissement, les territoires de type A correspondent à une composante épithéliale fusiforme constituée de cellules relativement peu atypiques, plutôt fusiformes mais parfois ovoïdes, au noyau dépourvu de nucléole. Les lymphocytes y sont très rares voire absents. Les territoires B quant à eux intéressent une composante riche en lymphocytes de petite taille.

On note un envahissement très localisé par la tumeur de la capsule, avec invasion du tissu adipeux médiastinal de moins de 3 mm, ce qui correspond à un stade IIa selon la classification de Masaoka-Koga modifié en 2011 par l'ITMIG.

Le **phénotype** des cellules épithéliales est AE1AE3 et p63 positif, et l'on note bien l'aspect fusiforme de celles-ci. Elles expriment également CD20, bien que faiblement et de manière hétérogène. En revanche, elles sont négatives pour le CD5. La composante B exprime quant à elle CD5 et Tdt, marqueur d'immaturité lymphocytaire, sur plus de 10% de la tumeur.

Commentaires :

Les tumeurs épithéliales thymiques sont largement représentées par les thymomes (entre 75 et 85% des cas), et, parmi eux, les thymomes AB sont les plus fréquents (entre 15 et 45% des cas) [1]. La classification OMS 2021 exige **3 critères essentiels** pour poser le diagnostic de thymome AB [1] :

- 1) la tumeur doit être lobulée ;

- 2) elle doit être composée de territoires A (cellules épithéliales fusiformes pauvres en lymphocytes) et de territoires B, riches en lymphocytes ;

- 3) les cellules épithéliales sont fusiformes, ovoïdes ou rarement polygonales, et il existe une composante lymphocytaire T immature.

Dans le thymome AB, la composante A et la composante B peuvent être clairement distinctes ou être entremêlées [2]. Lorsqu'une composante de type A est identifiée en plus d'une composante riche en lymphocytes, il s'agit d'une lésion biphasique et le diagnostic est celui de thymome AB. La terminologie de thymome « mixte » (par exemple A et B1) ne doit plus être utilisée. **Une étude immunohistochimique systématique dans les thymomes est recommandée** par le groupe RYTHMIC : AE1AE3, p63, CD5, CD20 et Tdt, auxquels sont ajoutés CD117 et GLUT1 si l'on suspecte un carcinome thymique [3]. Dans le thymome AB, la pancytokératine AE1AE3 souligne le caractère dense du réseau de cellules épithéliales, surtout dans les territoires riches en lymphocytes. La p63 permet habituellement d'apprécier le caractère allongé, fusiforme, des cellules épithéliales et l'on retrouve fréquemment pour ces cellules une positivité aberrante, hétérogène, avec l'anti-CD20, ce qui peut être d'une aide précieuse dans les cas de diagnostic difficile. Il faut bien sûr garder en tête qu'il existe parfois quelques lymphocytes B réactionnels au sein de la tumeur qui ne doivent pas être confondus avec des cellules épithéliales tumorales. Enfin, la Tdt permet de visualiser les lymphocytes T immatures, qui dans le thymome AB sont « impossibles à compter » ou « difficiles à compter » sur plus de 10% de la tumeur.

<u>Diagnostics différentiels</u> :

Ils sont peu nombreux. Le thymome A ne comporte pas de composante lymphocytaire T immature, ou alors de façon minime (« facile à compter » ou sur moins de 10% de la tumeur). Le thymome micronodulaire avec hyperplasie lymphoïde présente lui une architecture micronodulaire bien visible au faible grossissement, et comporte de nombreux follicules lymphoïdes avec de nombreux lymphocytes exprimant CD20 et assez peu de lymphocytes T

immatures, exprimant la Tdt. Dans les thymomes B1, B2 ou B3 enfin, les cellules épithéliales ne sont pas fusiformes et n'expriment pas le CD20.

Pronostic et traitement :

La place de la radiothérapie adjuvante reste débattue. Les critères utilisés pour décider d'un traitement adjuvant après résection sont le stade de Masaoka-Koga, le caractère complet ou non de l'exérèse chirurgicale et le type histologique de la tumeur, d'où l'importance d'évaluer précisément ces facteurs par le pathologiste [4]. Ainsi, la radiothérapie post-opératoire est recommandée uniquement pour les patients présentant un haut risque de récidive, c'est-à-dire à partir du stade III de Masaoka-Koga ou en cas d'atteinte des marges chirurgicale. Elle peut être discutée en cas de type histologique agressif (thymomes B2 ou B3) ou à partir du stade IIb de Masaoka-Koga. La radiothérapie devant débuter dans les 3 mois suivant la chirurgie, **le pathologiste joue ici un rôle crucial dans la prise de décision thérapeutique**.

On évalue le stade de la tumeur selon deux classifications : celle de Masaoka-Koga modifiée par l'ITMIG en 2011 [5] et la classification TNM 8ème édition proposée par l'IASLC/ITMIG et adoptée par l'AJCC/UICC [6, 7]. Pour évaluer le stade Masaoka-Koga, il faut apprécier l'intégrité de la capsule autour de la tumeur. Si la lésion reste partout bien encapsulée, il s'agit d'un stade I. En cas de dépassement capsulaire et donc d'envahissement du tissu adipeux médiastinal, on mesure le territoire tumoral infiltrant perpendiculairement à la tangente à la capsule. On peut s'aider pour cela des outils de pathologie numérique, particulièrement indiqués dans ce contexte car permettant d'effectuer des mesures très précises et reproductibles. Si l'invasion est inférieure ou égale à 3 mm, il s'agit d'un stade IIa. Au-delà, il s'agit au minimum d'un stade IIb. Si la tumeur envahit les structures adjacentes (plèvre, péricarde, poumon, nerf phrénique ou nerf vague, gros vaisseaux), il s'agit au minimum d'un stade III. Ces derniers critères histologiques d'invasion s'avèrent souvent être difficile à apprécier, même en relecture collégiale. En cas de métastases enfin, il s'agit d'un stade IV.

Points importants à retenir :

- Le thymome AB comporte une composante épithéliale fusiforme et une composante lymphocytaire immature. Ces deux composantes peuvent être entremêlées ou distinctes.

- Lorsqu'une composante A est identifiée, il s'agit soit d'un thymome A si elle est seule ou accompagnée de rares lymphocytes immatures, soit d'un thymome AB si une composante lymphocytaire immature « impossible à compter » ou « difficile à compter » est identifiée dans

plus de 10% de la tumeur. Le terme de thymome « mixte » (A et B1, A et B2 ou A et B3) est à proscrire.

- En cas de thymome, une étude immunohistochimique systématique est recommandée à l'aide des marquages AE1AE3, p63, CD5, CD20 et Tdt.

- Dans le thymome A ou AB, les cellules épithéliales expriment fréquemment le CD20, bien que faiblement et de manière hétérogène. Cette caractéristique peut être très utile pour orienter vers ce diagnostic.

- Après résection, le pathologiste joue un rôle crucial dans la prise de décision d'un traitement adjuvant, notamment par radiothérapie, qui doit être débutée dans les 3 mois suivant la chirurgie.

- Les critères habituellement utilisés pour discuter d'une radiothérapie post-opératoire sont le stade de Masaoka-Koga, le caractère complet ou non de l'exérèse chirurgicale et le type histologique de la tumeur.

- Après résection, il est donc recommandé de déterminer le stade de la tumeur selon deux classifications : celle de Masaoka-Koga modifié par l'ITMIG en 2011, et selon la 8ème édition de la classification TNM proposée par l'IASLC/ITMIG et adoptée par l'AJCC/UICC.

- Le stade de Masaoka-Koga modifié par l'ITMIG en 2011 s'établit pour partie en fonction de l'intégrité de la capsule. Si celle-ci est franchie, on distingue le stade IIa et IIb en mesurant le territoire infiltrant perpendiculairement à la tangente à la capsule, avec un seuil de 3 mm.

- Les outils de pathologie numérique permettent de mesurer avec précision le degré d'invasion des tumeurs thymique, et donc d'établir de façon fiable et reproductible le stade de Masaoka-Koga modifié par l'ITMIG en 2011.

Remerciements : Mme Édith BAZÉLI, M. le Professeur Thierry Jo MOLINA et le réseau RYTHMIC.

Références bibliographiques

1- WHO Classification of Tumors. Thoracic Tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer ; 2021. (Who classification of tumours series, 5th ed.; vol.5). p. 319-398.

2- Müller-Hermelink HK, Marx A. Pathological aspects of malignant and benign thymic disorders. Ann Med 1999 Oct;31 Suppl 2:5-14.

3- Chalabreysse L, Dubois R, Hofman V, Le Naoures C, Mansuet-Lupo A, de Montpréville VT *et al*. Diagnostic des thymomes et carcinomes thymiques malpighiens ; expérience du réseau RYTHMIC. Ann Pathol. 2021 Apr;41(2):154-165. doi: 10.1016/j.annpat.2020.11.002.

4- Rimner A, Yao X, Huang J, et al. Postoperative Radiation Therapy is Associated with Longer Overall Survival in Completely Resected Stage II and III Thymoma – An Analysis of the International Thymic Malignancies Interest Group (ITMIG) Retrospective Database. J Thorac Oncol. 2016 Oct;11(10):1785-92.

5- Detterbeck FC, Nicholson AG, Kondo K, Van Schil P, Moran C. The Masaoka-Koga stage classification for thymic malignancies: clarification and definition of terms. J Thorac Oncol. 2011 Jul;6(7 Suppl 3):S1710-6. doi: 10.1097/JTO.0b013e31821e8cff.

6- Detterbeck FC, Stratton K, Giroux D, Asamura H, Crowley J, Falkson C, Filosso PL *et al*. The IASLC/ITMIG thymic epithelial tumors staging project: proposal for an evidence-based stage classification system for the forthcoming (8th) edition of the TNM classification of malignant tumors. J Thorac Oncol. 2014 Sep;9(9 Suppl 2):S65-72.

7- Brierly JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. Thymic tumors. TNM Classification of Malignant Tumors 8th ed. 2017. Wiley, Oxford, UK. p. 74.

Cas n°6 : Nicolas Piton - Centre Hospitalier Universitaire de Rouen, Hôpital Charles Nicolle

Renseignements cliniques :

Patient de 62 ans présentant une masse médiastinale antérieure réséquée par thymectomie.

Diagnostic :

Carcinome thymique micronodulaire avec hyperplasie lymphoïde (CMNHL).

Description macroscopique :

La pièce mesure 14 x 11,5 x 3 cm et comporte une tumeur blanchâtre bien limitée de 6,8 x 4 x 2,8 cm.

Description histologique :

À faible grossissement, il s'agit d'une lésion non encapsulée, plutôt éosinophile, d'architecture nodulaire ou micronodulaire, se disposant au sein d'un stroma lymphoïde réactionnel souvent folliculaire. Les nodules tumoraux sont parfois coalescents et forment alors des plages. À plus fort grossissement, les cellules tumorales présentent des atypies nucléo-cytoplasmiques marquées. Elles sont ovoïdes ou un peu allongées et comportent un noyau vésiculeux irrégulier, contenant souvent un nucléole bien visible. On peut retrouver focalement des phénomènes de kératinisation. Les mitoses sont souvent nombreuses. On ne retrouve pas de lymphocytes au sein des ilots carcinomateux.

Le phénotype des cellules tumorales est p63, CD5, GLUT1 et CD117 positif. Point important, on ne retrouve pas de lymphocytes T immatures, exprimant la Tdt.

Diagnostic différentiel :

Les carcinomes thymiques représentent 20% des tumeurs épithéliales thymiques et il en existe d'après l'OMS 13 types histologiques [1] dont le plus fréquent est le carcinome épidermoïde [2, 3]. Ces carcinomes thymiques peuvent prendre des aspects très divers et leur diagnostic est parfois difficile, surtout sur des prélèvements de petite taille.

Le CMNHL est aujourd'hui dans la classification OMS 2021 un sous-type bien défini de carcinome épidermoïde thymique [1]. Son principal diagnostic différentiel est le thymome micronodulaire à stroma lymphoïde, qui s'organise également en nids de cellules épithéliales se disposant au sein d'un stroma lymphoïde notamment B avec follicules lymphoïdes [4]. Il est important de ne pas confondre ces deux diagnostics, car leur pronostic comme leur prise en

charge diffèrent significativement, même si dans les deux cas, il s'agit de lésions relativement peu agressives [5].

Dans le CMNHL, les cellules épithéliales comportent des atypies marquées et souvent un nucléole proéminent ; les mitoses sont de plus relativement nombreuses. L'étude immunohistochimique à l'aide du panel AE1AE3, p63, CD5, CD20, Tdt, CD117 et GLUT1 est indispensable et permet d'éliminer facilement un thymome micronodulaire avec hyperplasie lymphoïde [6]. Contrairement au thymome micronodulaire, on retrouve très fréquemment une expression par des cellules épithéliales de CD5, CD117 et GLUT1, et une absence de composante lymphocytaire T immature marquée par la Tdt [4, 6].

Dans une moindre mesure, on peut confondre le CMNHL avec un carcinome thymique lymphoépithélial, une tumeur rare et de très mauvais pronostic, avec une médiane de survie de seulement 36 mois [7, 8]. Le carcinome lymphoépithélial présente une architecture souvent plus diffuse, syncitiale, et comporte de nombreux lymphocytes au sein des ilots tumoraux. La nécrose est fréquente. Point important, il est associé dans 50% des cas environ au virus d'Epstein-Barr (EBV), ce qui n'est pas le cas dans le carcinome micronodulaire à stroma lymphoïde [9]. Dans les cas difficiles, il est donc possible de s'aider d'une recherche de EBER (« EBV-encoded small RNA ») par hybridation *in situ*, mais cet examen n'aura cependant de valeur qu'en cas de positivité.

Points importants à retenir :

- Le carcinome thymique micronodulaire avec hyperplasie lymphoïde (CMNHL) est classé comme un sous-type bien défini de carcinome épidermoïde thymique dans la classification OMS 2021. Cette lésion est habituellement de bon pronostic.

- Son principal diagnostic différentiel est le thymome micronodulaire à stroma lymphoïde, de meilleur pronostic encore. L'aspect cytologique (atypies nucléocytoplasmiques et nombreuses mitoses) permet d'orienter le diagnostic.

- Dans une moindre mesure, on peut confondre le CMNHL avec un carcinome thymique lymphoépithélial, tumeur de très mauvais pronostic.

- L'étude immunohistochimique est indispensable et permet d'affirmer le diagnostic de CMNHL, avec une fréquente expression de CD5, CD117 et GLUT1 par les cellules épithéliales,

à l'inverse du thymome micronodulaire, ainsi qu'une absence de composante lymphocytaire T immature exprimant la Tdt.

Remerciements : Mme Édith BAZÉLI, M. le Dr Vincent THOMAS DE MONTPREVILLE, M. le Professeur Thierry MOLINA et le réseau RYTHMIC.

Le lecteur souhaitant davantage d'informations sur la pathologie thymique tumorale et sa prise en charge se reportera au site internet du réseau RYTHMIC (www.rythmic.org) et à son référentiel, régulièrement mis à jour.

Références bibliographiques

1- WHO Classification of Tumors. Thoracic Tumours. Lyon (France): International Agency for Research on Cancer ; 2021. (Who classification of tumours series, 5th ed.; vol.5). p. 319-398.

2- ZhaoY, Zhao H, Hu D, Fan L, Shi J, Fang W. Surgical treatment and prognosis of thymic squamous cell carcinoma: a retrospective analysis of 105 cases. Ann Thorac Surg. 2013 Sep;96(3):1019-24.

3- Ahmad U, Yao X, Detterbeck F, Huang J, Antonicelli A, Filosso PL, Ruffini E, Travis W, Jones DR, Zhan Y, Lucchi M, Rimner A. Thymic carcinoma outcomes and prognosis: results of an international analysis. J Thorac Cardiovasc Surg. 2015 Jan;149(1):95-100, 101.e1-2. doi: 10.1016/j.jtcvs.2014.09.124.

4- Weissferdt A, Moran CA. Micronodular thymic carcinoma with lymphoid hyperplasia: a clinicopathological and immunohistochemical study of five cases. Mod Pathol. 2012 Jul;25(7):993-9. doi: 10.1038/modpathol.2012.40.

5- Mneimneh WS, Gökmen-Polar Y, Kesler KA, Loehrer PJ Sr, Badve S. Micronodular thymic neoplasms: case series and literature review with emphasis on the spectrum of differentiation. Mod Pathol. 2015 Nov;28(11):1415-27. doi: 10.1038/modpathol.2015.104.

6- Thomas de Montpréville V, Mansuet-Lupo A, Le Naoures C, Chalabreysse L, De Muret A, Hofman V *et al*. Micronodular thymic carcinoma with lymphoid hyperplasia: relevance of immunohistochemistry with a small panel of antibodies for diagnosis-a RYTHMIC study**.** Virchows Arch. 2021 Feb 24. doi: 10.1007/s00428-021-03044-2.

7- Huang J, Ahmad U, Antonicelli A, et al. Development of the International Thymic Malignancy Interest Group international database: an unprecedented resource for the study of a rare group of tumors. J Thorac Oncol. 2014;9:1573–1578. doi: 10.1097/JTO.0000000000000269.

8- Gomez JMD, Syed G, Co MLF, Bayoumi M, Abrams R. A rare highly aggressive tumour: lymphoepithelioma-like thymic carcinoma. BMJ Case Reports bcr-2017-221478. https://doi.org/10.1136/bcr-2017-221478.

9- Zhang G, Yu Z, Shen G, Chai Y, Liang C. Association between Epstein-Barr virus and Thymic epithelial tumors: a systematic review. Infect Agent Cancer. 2019 Nov 6;14:32. doi: 10.1186/s13027-019-0254-5. eCollection 2019. PMID: 31709004.

Cas n°7 – Audrey Lupo, Hôpital Cochin, Paris

Renseignements cliniques :

Patient âgé de 60 ans, tabagique à 40PA avec BPCO, présentant une lésion spiculée de 22 mm du culmen, hypermétabolique, en progression depuis un an. Elle est associée à des adénopathies para-aortiques et hilaires gauches hypermétaboliques. Une lobectomie supérieure gauche est réalisée. Les premiers immunomarquages montrent une négativité de la prolifération tumorale pour le TTF1 et la p40.

Diagnostic proposé :

Adénocarcinome pulmonaire solide, de grade 3, SMARCA4-déficient.

Description macroscopique :

Le lobe mesure 22 x 16 x 4 cm, il comporte une lésion tumorale située dans le culmen, mesurant 2,3 x 2,1 x 1 cm, située à distance de la section bronchique et de la plèvre viscérale. La tumeur est mal limitée, blanchâtre, sans remaniements nécrotiques visibles.

Description histologique :

Il s'agit d'un carcinome non à petites cellules, sans différenciation glandulaire ou malpighienne clairement identifiable. On observe des massifs tumoraux faits de grandes cellules polygonales au noyau à chromatine vésiculeuse possédant un nucléole proéminent, et au cytoplasme éosinophile modérément abondant. La coloration au bleu alcian met en évidence de nombreuses vacuoles de mucosécrétion. Le stroma est infiltré par de nombreuses cellules immunitaires, de type polynucléaires neutrophiles et lymphocytes. Le stade TNM était pT1cN2.

L'étude immunohistochimique montre une absence de marquage de TTF1 et de p40. Les marqueurs épithéliaux AE1/AE3 et cytokératine 7 sont intensément positifs. Il n'existe pas de perte de BRM/SMARCA2, ni de INI1/SMARCB1. Les marqueurs CD34 et SOX2 sont négatifs.

Évolution :

Le patient a reçu une chimiothérapie adjuvante par carboplatine-alimta puis a bénéficié d'une radiothérapie médiastinale, sans réel bénéfice. Le patient est décédé à 11 mois du diagnostic.

Commentaires :

La perte de BRG1/SMARCA4-déficient est un évènement assez fréquent puisqu'il concerne environ **5-10% des carcinomes pulmonaires non à petites cellules** [1-4].

Le gène *SMARCA4* code la protéine BRG1 qui est une des 2 sous-unités catalytiques du **complexe SWI/SNF** (SWItch/Sucrose Non-Fermenting), avec SMARCA2/BRM. Ce complexe joue un rôle clé dans le remodelage de la chromatine, processus primordial nécessaire à la réplication, à la transcription et à la réparation de l'ADN. Les mutations inactivatrices de *SMARCA4* engendrant une perte d'expression nucléaire de la protéine BRG1, ont été décrites dans des tumeurs d'origine différente, incluant des localisations thoraciques. Le carcinome non à petites cellules SMARCA4-déficient (CBNPC-SD) n'est pas reconnu comme une entité à part entière dans la classification OMS 2021. Seule la tumeur thoracique indifférenciée SMARCA4-déficiente (UT-SD) figure dans le chapitre des tumeurs épithéliales rares du poumon, avec le carcinome NUT. La tumeur thoracique indifférenciée SMARCA4-déficiente (UT-SD), décrite en 2015, a été initialement classée en sarcome [5], puis de récentes études ont montré que ces deux entités présentaient des caractéristiques cliniques communes (tabagisme et prédominance masculine) et un profil génomique similaire avec des altérations génétiques sur les mêmes gènes (*KRAS, STK11, KEAP1*) traduisant une signature tabagique, suggérant ainsi que ces entités pouvaient appartenir, à des degrés de différenciation différents, au même spectre tumoral. Ceci étant corroboré par la description de cas combinant un contingent de CBNPC conventionnel juxtaposé au contingent de UT-SD [6].

Description clinico-pathologique : les patients atteints de CBNPC-SD sont généralement des hommes ayant un tabagisme important. Histologiquement, ces carcinomes pulmonaires non à petites cellules SMARCA4-déficients (CNPC-SD) sont généralement peu différenciés et le plus souvent de type adénocarcinome d'architecture solide, carcinome à grandes cellules ou carcinome sarcomatoïde/pléomorphe. L'étude immunohistochimique révèle le plus souvent une perte d'expression de TTF1/p40 mais des formes bien différenciées d'adénocarcinome de grade 2 (tubuleux, papillaire), exprimant TTF1 sont également possibles. Dans les formes peu différenciées, les cellules tumorales sont le plus souvent de grande taille avec un noyau vésiculeux fortement nucléolé, les cytoplasmes sont larges éosinophiles, parfois rhabdoïdes. Il peut exister des secteurs à cellules claires. Le stroma est souvent riche en cellules immunitaires, notamment en polynucléaires neutrophiles.

Nomenclature : l'entité « carcinome SMARCA4-déficient » n'étant pas reconnue comme une entité à part entière dans la nouvelle classification OMS, il est recommandé d'établir un diagnostic conforme à la classification (exemple pour notre cas : adénocarcinome solide, de grade 3), puis d'ajouter le terme « SMARCA4-déficient ».

Moléculaire : il est important de noter que le terme SMARCA4-muté n'est pas similaire à SMARCA4-déficient puisque toutes les mutations de *SMARCA4* ne conduisent pas à une perte protéique de BRG1. En effet, la perte de BRG1 est souvent associée à des mutations du gène *SMARCA4* de type tronquante (décalage du cadre de lecture, non-sens), alors que les mutations non-tronquantes (faux-sens) n'induisent généralement pas de perte d'expression protéique. De plus, la perte de BRG1 n'est pas toujours synonyme de mutation *SMARCA4*, des phénomènes épigénétiques pouvant également induire des pertes d'expression de BRG1 [1,4].

Diagnostics différentiels :

Les types histologiques les plus fréquemment retrouvés avec une perte de BRG1/SMARCA4-déficient sont les adénocarcinomes solides TTF1-négatif, les carcinomes à grandes cellules et les carcinomes sarcomatoïdes/pléomorphes. Les critères diagnostiques qui permettent de différencier l'adénocarcinome solide du carcinome à grandes cellules sont précisés dans la classification OMS. Le diagnostic de carcinome à grandes cellules repose sur les critères diagnostiques essentiels suivant : (i) l'absence de différenciation glandulaire, malpighienne ou neuroendocrine, (ii) ce diagnostic ne se pose que sur pièce opératoire (l'appellation sur prélèvements biopsiques est celui de CBNPC sans autre indication SAI/NOS), (iii) et la négativité des marqueurs d'adénocarcinome (TTF1-napsine A), de carcinome épidermoïde (CK5/6-p40-p63) et neuro-endocrines, ces derniers n'étant réalisés que si la morphologie est de type neuro-endocrine. La présence d'altérations génétiques, souvent similaires à celles des adénocarcinomes fait partie des critères diagnostiques souhaitables.

Le diagnostic d'adénocarcinome dans les tumeurs d'architecture solide sans différenciation glandulaire et de phénotype TTF1-négatif, repose sur la mucosécrétion, objectivée par une coloration type PAS ou bleu alcian, qui doit être retrouvée dans **≥ 5 cellules/champ au fort grandissement sur au moins 2 champs** (critères diagnostiques essentiels).

Le diagnostic de carcinome pléomorphe fait partie du groupe des carcinomes sarcomatoïdes avec le blastome pulmonaire et le carcinosarcome. Il peut être de type à cellules fusiformes et/ou de type à cellules géantes. Il est souvent associé à des contingents d'adénocarcinome ou de carcinome épidermoïde. Dans ces cas, **≥10%** de secteurs à cellules fusiformes +/- cellules géantes sont nécessaires pour porter le diagnostic de carcinome pléomorphe (critères diagnostiques essentiels).

Enfin, le diagnostic différentiel avec la tumeur indifférenciée SMARCA4-déficiente (UT-SD) peut parfois être difficile en raison du chevauchement des profils cliniques, histologiques, phénotypiques et moléculaires entre les deux entités. D'un point de vue clinique, les patients

porteurs de UT-SD sont généralement plus jeunes (40-50 versus 50-60 ans), mais le terrain avec une prédominance masculine et un important tabagisme est similaire. La localisation est souvent médiastino-pulmonaire plutôt que pulmonaire pure et la présentation au stade métastatique est fréquente, avec des métastases ganglionnaires souvent nécrotiques et des métastases viscérales [6-8]. Histologiquement, les UT-SD sont constituées de plages de cellules épithélioïdes **non cohésives**, avec parfois un aspect rhabdoïde. L'étude immunohistochimique montre une **expression focale voire absente des cytokératines**, une perte constante de la seconde sous-unité catalytique BRM/SMARCA2, une perte du marqueur d'adhésion épitheliale claudin-4 et une expression du CD34 et du marqueur des cellules souches SOX2 [6,7]. Néanmoins, ces marqueurs ne sont pas totalement discriminants car l'expression de SOX2 et la perte de SMARCA2/BRM sont également possibles dans les CBNPC-SD, corroborant l'affiliation commune entre ces 2 tumeurs.

Pronostic et traitement : Le pronostic de ces CBNPC-SD semble plus mauvais que celui des CBNPC conventionnels non-SD [3,4]. D'un point de vue thérapeutique, l'absence de cible thérapeutique, comme EGFR, ALK, ROS1, exclut l'utilisation de thérapies ciblées [3,4], et les données préliminaires sur l'efficacité de l'immunothérapie sont controversées mais plutôt en faveur d'une absence de bénéfice aux inhibiteurs des points de contrôle immunologique [9,10].

Points importants à retenir

- L'entité carcinome SMARCA4-déficient n'est actuellement pas reconnue comme entité à part entière dans la nouvelle classification OMS. Il est donc recommandé d'utiliser les entités définies par la classification OMS, suivies de « SMARCA4-déficient ».

- Devant un carcinome peu différencié (TTF1/p40 négatif), il est recommandé de réaliser l'immunohistochimie BRG1.

- Le pronostic des CBNPC SMARCA4-déficient semble plus mauvais que celui des CBNPC conventionnels non-SMARCA4 déficients.

- Les CBNPC-SD ne présentent généralement pas de cibles thérapeutiques, comme EGFR, ALK et ROS1, ce qui en fait de mauvais candidats pour les thérapies ciblées et les résultats préliminaires sur l'efficacité de l'immunothérapie semblent plutôt en faveur d'une absence de bénéfice.

Références bibliographiques

1. Agaimy A, Fuchs F, Moskalev EA, Sirbu H, Hartmann A, Haller F. SMARCA4-deficient pulmonary adenocarcinoma: clinicopathological, immunohistochemical, and molecular characteristics of a novel aggressive neoplasm with a consistent TTF1neg/CK7pos/HepPar-1pos immunophenotype. Virchows Arch Int J Pathol. 2017 Nov;471(5):599–609.
2. Herpel E, Rieker RJ, Dienemann H, Muley T, Meister M, Hartmann A, et al. SMARCA4 and SMARCA2 deficiency in non–small cell lung cancer: immunohistochemical survey of 316 consecutive specimens. Ann Diagn Pathol. 2017 Feb 1;26:47–51.
3. Dagogo-Jack I, Schrock AB, Kem M, Jessop N, Lee J, Ali SM, Ross JS, Lennerz JK, Shaw AT, Mino-Kenudson M. Clinicopathologic Characteristics of BRG1-Deficient NSCLC. J Thorac Oncol. 2020 May;15(5):766-776.
4. Schoenfeld AJ, Bandlamudi C, Lavery JA, Montecalvo J, Namakydoust A, Rizvi H, et al. The Genomic Landscape of SMARCA4 Alterations and Associations with Outcomes in Patients with Lung Cancer. Clin Cancer Res. 2020 Nov 1;26(21):5701–8.
5. Le Loarer F, Watson S, Pierron G, de Montpreville VT, Ballet S, Firmin N, et al. SMARCA4 inactivation defines a group of undifferentiated thoracic malignancies transcriptionally related to BAF-deficient sarcomas. Nat Genet. 2015 Oct;47(10):1200–5.
6. Rekhtman N, Montecalvo J, Chang JC, Alex D, Ptashkin RN, Ai N, et al. SMARCA4-Deficient Thoracic Sarcomatoid Tumors Represent Primarily Smoking-Related Undifferentiated Carcinomas Rather Than Primary Thoracic Sarcomas. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. 2020 Feb;15(2):231-247.
7. Perret R, Chalabreysse L, Watson S, Serre I, Garcia S, Forest F, Yvorel V, Pissaloux D, Thomas de Montpreville V, Masliah-Planchon J, Lantuejoul S, Brevet M, Blay JY, Coindre JM, Tirode F, Le Loarer F. SMARCA4-deficient Thoracic Sarcomas: Clinicopathologic Study of 30 Cases With an Emphasis on Their Nosology and Differential Diagnoses. Am J Surg Pathol. 2019 Apr;43(4):455-465.
8. Yoshida A, Kobayashi E, Kubo T, Kodaira M, Motoi T, Motoi N, et al. Clinicopathological and molecular characterization of SMARCA4-deficient thoracic sarcomas with comparison to potentially related entities. Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc. 2017;30(6):797–809.

9. Alessi JV, Ricciuti B, Spurr LF, Gupta H, Li YY, Glass C, et al. SMARCA4 and Other SWItch/Sucrose NonFermentable Family Genomic Alterations in NSCLC: Clinicopathologic Characteristics and Outcomes to Immune Checkpoint Inhibition. J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer. 2021 Jul;16(7):1176–87.
10. Liu L, Ahmed T, Petty WJ, Grant S, Ruiz J, Lycan TW, et al. SMARCA4 mutations in KRAS-mutant lung adenocarcinoma: a multi-cohort analysis. Mol Oncol. 2021 Feb;15(2):462–72.

Cas n°8 – Audrey Lupo, Hôpital Cochin, Paris

Renseignements cliniques :

Patiente de 31 ans, non tabagique, présentant une tumeur médiastino-pulmonaire (biopsies bronchiques)

Diagnostic :

Carcinome NUT

Description histologique :

Il s'agit d'un carcinome peu différencié constitué de nappe de cellules rondes monomorphes de taille moyenne, possédant un haut rapport nucléo-cytoplasmique, un noyau à chromatine fine avec parfois un nucléole proéminent. Les cytoplasmes sont peu abondants, éosinophiles pâles. Les cellules sont peu cohésives, avec souvent un espace visible entre elles, sans aspect d'empilement nucléaire. On retrouve des foyers de différenciation épidermoïde abrupte, caractéristiques. Les remaniements nécrotiques sont abondants, en plage.

Le **phénotype** des cellules tumorales est le suivant : positivité des marqueurs épithéliaux (AE1/AE3), et de p63 (ou p40) indiquant une différenciation malpighienne. Le diagnostic repose sur la **positivité de NUT** (anticorps monoclonal, clone C52B1), sous la forme d'un marquage nucléaire ponctué dans **> 50 % des cellules tumorales**.

Evolution :

La patiente a été traitée par radiochimiothérapie sans bénéfice avec une progression à l'arrêt de la radiochimiothérapie. Elle est décédée 3 mois plus tard.

Commentaires :

Définition : Les carcinomes NUT sont des carcinomes peu différenciés **rares et agressifs**, définis par la présence d'un **réarrangement du gène *NUT*** (nuclear protein in testis, également appelé *NUTM1*) [1].

Généralités : Initialement, ces carcinomes étaient décrits chez les sujets jeunes, âgés entre 20-30 ans, et au niveau des structures de la ligne médiane, mais les différents cas rapportés ont montré qu'on peut les retrouver à tous les âges et dans toutes les localisations, notamment le médiastin, le poumon, les tissus mous, l'os ou le rein [2], même si les localisations les plus fréquentes sont la région de la tête et du cou et le médiastin. Il ne semble pas y avoir de prédominance de sexe [3-5]. Son incidence est difficile à estimer car probablement sous-

évaluée, mais une étude a montré que cette entité représentait environ 3,5% des carcinomes d'origine médiastinale [6].

Etiologie : Il n'existe pas de facteur favorisant viral ou environnemental connu, notamment il ne semble pas y avoir de rapport avec le tabac. Les virus EBV ou HPV ne sont pas associés aux carcinomes NUT et leur mise en évidence permet donc d'exclure le diagnostic, néanmoins il a été décrit des cas avec forte positivité de P16 non liée à HPV [7].

Morphologie : la présence de **foyers de différenciation épidermoïde** est caractéristique, même si elle est présente dans <50% des cas. Certaines cellules peuvent prendre un aspect « œuf au plat », en raison de leur cytoplasme clair ou bien par la présence d'artefact séparant les cellules.

Etude immunohistochimique : le marqueur épithélial AE1/AE3 est positif dans la grande majorité des cas, alors que les autres marqueurs comme EMA, BerEP4 et CK5/6 sont moins souvent positifs. La grande majorité des cas sont positifs pour p40/p63. L'anticorps monoclonal NUT (clone C52B1) suffit pour porter le diagnostic, à condition que le marquage intéresse **plus de 50 % des cellules tumorales** (OMS 2021). La spécificité de l'anticorps est de 100% avec une sensibilité de 87% [8]. L'expression de la protéine NUT dans les tissus normaux est restreinte au testicule (cellules germinales), d'où son nom « *NUT* : *nuclear protein in testis* », ce tissu peut donc servir de témoin positif externe.

Diagnostic moléculaire : même si la positivité de l'immunohistochimie suffit pour le diagnostic, la caractérisation de la translocation par technique moléculaire (FISH, RT-PCR, RNAseq ciblé) est recommandée pour assoir le diagnostic mais également en terme **d'interêt pronostique** dans les formes non-thoraciques où les fusions BRD4-NUTM1 sont associées à un mauvais pronostic, comparées aux fusions BRD3-NUTM1 et NSD3-NUTM1 [4-5].
La majorité des gènes partenaires du réarrangement de *NUTM1* font partie de la famille BET (**b**romodomaine et domaine **e**xtra**t**erminal), comme *BRD4* retrouvé dans la majorité (70%) des carcinomes NUT et *BRD3* dans 15% des cas. Ces protéines ont la particularité de posséder des bromodomaines permettant la liaison aux histones acétylés. D'autre part, la protéine NUT permet le recrutement d'une histone acetyltransférase entraînant ainsi une acétylation aberrante des histones et la transcription de certains oncogènes, notamment *cMYC*, induisant la prolifération cellulaire et le blocage de la différenciation cellulaire.
<u>Diagnostics différentiels</u> :

En raison de la rareté de ces tumeurs, cette entité est souvent sous-diagnostiquée au profit de diagnostics différentiels de type carcinome épidermoïde peu différencié ou carcinome basaloïde, notamment ceux d'origine thymique. Ainsi, il est recommandé de réaliser l'immunohistochimie NUT dans tous les cas de carcinome peu différencié du médiastin et de la tête et du cou, notamment lorsqu'ils expriment p40/p63.

Le carcinome basaloïde est le diagnostic différentiel principal, notamment sur prélèvements biopsiques car il possède une morphologie (carcinome peu différencié avec foyers de kératinisation abrupte) et un phénotype (positivité de p40/p63) similaires à ceux du carcinome NUT. Ainsi, seule la positivité de NUT permet de les différencier. Néanmoins, on peut noter certaines caractéristiques très évocatrices des carcinomes basaloïdes, visibles sur pièce opératoire, comme l'agencement palissadique des cellules en périphérie des massifs tumoraux et la comédonécrose, généralement absente dans les carcinomes NUT.

Des positivités faibles des marqueurs neuro-endocrines et du TTF1 ont été rapportées et peuvent conduire au diagnostic erroné de carcinome neuro-endocrine, notamment celui de carcinome à petites cellules, mais la positivité de p63 ou p40 élimine ce diagnostic.

Il peut également exister des positivités de CD34 et de CD99 [9], induisant des erreurs diagnostiques avec des tumeurs hématopoïétiques ou les sarcomes d'Ewing, la positivité du CD45 et la présence d'un réarrangement du gène *EWSR1* permettant de corriger respectivement ces diagnostics.

Enfin, devant un carcinome peu différencié, notamment thoracique, l'immunohistochimie BRG1 doit être réalisée, permettant d'éliminer une tumeur indifférenciée SMARCA4-déficiente.

Pronostic et traitement :

Les carcinomes NUT sont souvent découverts à un stade métastatique donc non résécables, notamment dans les formes thoraciques, ce qui expliquent leur mauvais pronostic, avec une médiane de survie de 6 mois et un décès le plus souvent dans l'année suivant le diagnostic [3-5]. Il n'existe pas de traitement efficace des carcinomes NUT, qui sont généralement peu sensibles à la chimiothérapie et à la radiothérapie. L'utilisation d'inhibiteurs de bromodomaine semblerait avoir une certaine efficacité [10].

Points importants à retenir :

- La présence de foyer de différenciation épidermoïde abrupte dans un carcinome peu différencié est assez caractéristique du diagnostic et doit conduire à réaliser une immunohistochimie NUT.

- L'immunohistochimie NUT doit également être réalisée dans tous les cas de carcinome thoracique peu différencié, notamment en cas de positivité de p63/p40.

- La mise en évidence du réarrangement *NUTM1* est requise pour le diagnostic **(critère diagnostique essentiel)**, l'étude immunohistochimique peut suffire en cas de positivité de > 50% des cellules tumorales. L'identification du gène partenaire par analyse moléculaire permet, outre la confirmation du réarrangement, d'évaluer le pronostic.

Remerciements : Mme le Pr Sylvie LANTUEJOUL.

Références bibliographiques

1. French CA, Kutok JL, Faquin WC, Toretsky JA, Antonescu CR, Griffin CA, Nose V, Vargas SO, Moschovi M, Tzortzatou-Stathopoulou F, Miyoshi I, Perez-Atayde AR, Aster JC, Fletcher JA. Midline carcinoma of children and young adults with NUT rearrangement. J Clin Oncol. 2004 Oct 15;22(20):4135-9.
2. Dickson BC, Sung YS, Rosenblum MK, Reuter VE, Harb M, Wunder JS, Swanson D, Antonescu CR. NUTM1 Gene Fusions Characterize a Subset of Undifferentiated Soft Tissue and Visceral Tumors. Am J Surg Pathol. 2018 May;42(5):636-645.
3. Bauer DE, Mitchell CM, Strait KM, Lathan CS, Stelow EB, Lüer SC, Muhammed S, Evans AG, Sholl LM, Rosai J, Giraldi E, Oakley RP, Rodriguez-Galindo C, London WB, Sallan SE, Bradner JE, French CA. Clinicopathologic features and long-term outcomes of NUT midline carcinoma. Clin Cancer Res. 2012 Oct 15;18(20):5773-9.
4. Chau NG, Ma C, Danga K, Al-Sayegh H, Nardi V, Barrette R, Lathan CS, Dubois SG, Haddad RI, Shapiro GI, Sallan SE, Dhar A, Nelson JJ, French CA. An Anatomical Site and Genetic-Based Prognostic Model for Patients With Nuclear Protein in Testis (NUT) Midline Carcinoma: Analysis of 124 Patients. JNCI Cancer Spectr. 2019 Nov 6;4(2)
5. Chau NG, Hurwitz S, Mitchell CM, Aserlind A, Grunfeld N, Kaplan L, Hsi P, Bauer DE, Lathan CS, Rodriguez-Galindo C, Tishler RB, Haddad RI, Sallan SE, Bradner JE, French CA. Intensive treatment and survival outcomes in NUT midline carcinoma of the head and neck. Cancer. 2016 Dec 1;122(23):3632-3640.

6. Evans AG, French CA, Cameron MJ, Fletcher CD, Jackman DM, Lathan CS, Sholl LM. Pathologic characteristics of NUT midline carcinoma arising in the mediastinum. Am J Surg Pathol. 2012 Aug;36(8):1222-7.
7. 7-Salles PG, Moura Rde D, Menezes LM, Bacchi CE. Expression of P16 in NUT carcinomas with no association with human papillomavirus (HPV). Appl Immunohistochem Mol Morphol. 2014 Apr;22(4):262-5.
8. Haack H, Johnson LA, Fry CJ, Crosby K, Polakiewicz RD, Stelow EB, Hong SM, Schwartz BE, Cameron MJ, Rubin MA, Chang MC, Aster JC, French CA. Diagnosis of NUT midline carcinoma using a NUT-specific monoclonal antibody. Am J Surg Pathol. 2009 Jul;33(7):984-91.
9. Bishop JA, Westra WH. NUT midline carcinomas of the sinonasal tract. Am J Surg Pathol. 2012 Aug;36(8):1216-21.
10. Stathis A, Zucca E, Bekradda M, Gomez-Roca C, Delord JP, de La Motte Rouge T, Uro-Coste E, de Braud F, Pelosi G, French CA. Clinical Response of Carcinomas Harboring the BRD4-NUT Oncoprotein to the Targeted Bromodomain Inhibitor OTX015/MK-8628. Cancer Discov. 2016 May;6(5):492-500.