

# Démembrement des adénocarcinomes broncho-pulmonaires. Le point de vue du pathologiste.

Marie-Pierre CHENARD  
Noëlle WEINGERTNER  
Département de Pathologie  
CHU de Strasbourg

Cours GOLF  
Novembre 2015

# Tumeurs pulmonaires malignes d'après l'OMS 1999/2004

- **Formes dites « communes »**

Carcinome épidermoïde (CE): 30 %

Adénocarcinome (ADC) : 30 à 40 %

- Acineux, Papillaire, Solide, Bronchiolo-alvéolaire (mucineux / non mucineux)
- Mixte (80 %)

Carcinome à grandes cellules : 10 %

**Carcinome à petites cellules** : 20 %

**Carcinomes  
non à petites  
cellules  
(CNPC)**

- **Formes « non communes »** : 5 à 10 %

Carcinoïde (80 %)

Variétés rares

# Contexte de la nouvelle classification anatomo-pathologique des CNPC (2011)

- **Un traitement « histo-guidé »** : nécessité de distinguer carcinomes épidermoïdes et carcinomes non-épidermoïdes
  - Pemetrexed / bevacizumab
  - Thérapies ciblées : EGFR-TKI et mutations *EGFR* / Crizotinib et réarrangt de *ALK*
- ADC = type histologique le + fréquent de cancer pulmonaire (50%)  
Classifications OMS 1999 et 2004 : confusion dans la définition des sous-types d' ADC (80 % de type mixte, carcinomes bronchiolo-alvéolaires)
- **70% des CNPC sont diagnostiqués à un stade avancé non opérable**  
→ traitement basé uniquement sur les résultats de l' analyse de « petits prélèvements » = biopsies et cytologies  
Classifications OMS 1999 et 2004: diagnostic histopathologique sur pièces de résection
- ▶ en 2011, nouvelle classification, **approche multidisciplinaire** intégrant des données **histologiques**, cliniques, radiologiques, moléculaires, chirurgicales.

*Travis et al. Journal of Thoracic Oncology 2011, Vol 6, N°2, p244 - 285.*  
*Travis et al 2015 : WHO Classification of Tumors of the Lung, Pleura, Thymus and Heart.*

# Grands principes de cette classification

*Travis et al. Journal of Thoracic Oncology 2011, Vol 6, N°2, p244 - 285.*

→ 3 parties

1. Classification et stratégie de prise en charge pour les **prélèvements biopsiques et cytologiques**

2. Classification pour **les pièces de résection** (formes opérables):  
nouvelle classification des **ADC**

3. Rôle du pathologiste dans la **détermination du phénotype moléculaire** des ADC

**Classification des CNPC pulmonaires  
sur biopsies et cytologies.  
Stratégie de prise en charge.**

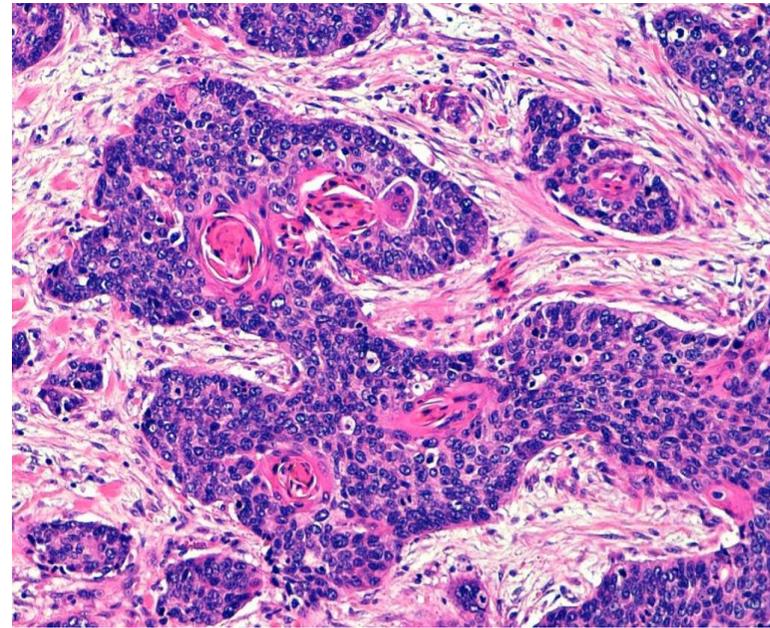
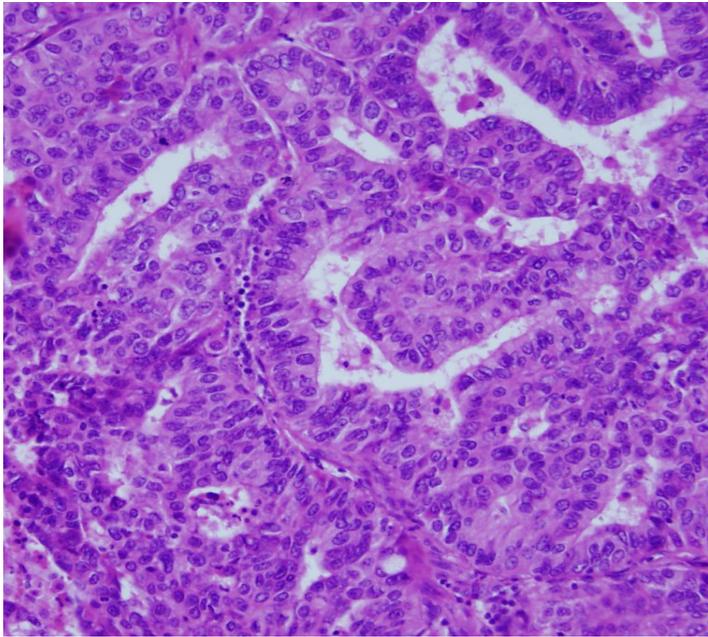
Cours GOLF  
Novembre 2015

# Classification des CNPC pulmonaires sur biopsies et cytologies et stratégie de prise en charge

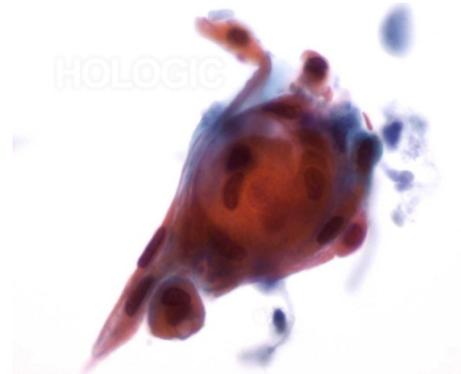
- Seul matériel disponible chez des patients à un stade localement avancé ou métastatique (70 % des patients avec CBNPC).
- Impératif : **séparer ADC et C épidermoïde**  
ADC testés pour mutations *EGFR*, *K-RAS*, *B-RAF*, *HER2* et réarrangement *ALK* et *ROS1*  
Eligibilité pour pemetrexed ou bevacizumab
- Utilité de techniques complémentaires : histochimie et immunohistochimie (IHC).
- Attention à préserver le tissu, car matériel nécessaire pour les analyses de biologie moléculaire  
→ **Panel IHC minimal : 1 marqueur ADC et 1 marqueur CE suffisent dans la majorité des cas**

# Classification des CNPC pulmonaires sur biopsies et cytologies et stratégie de prise en charge

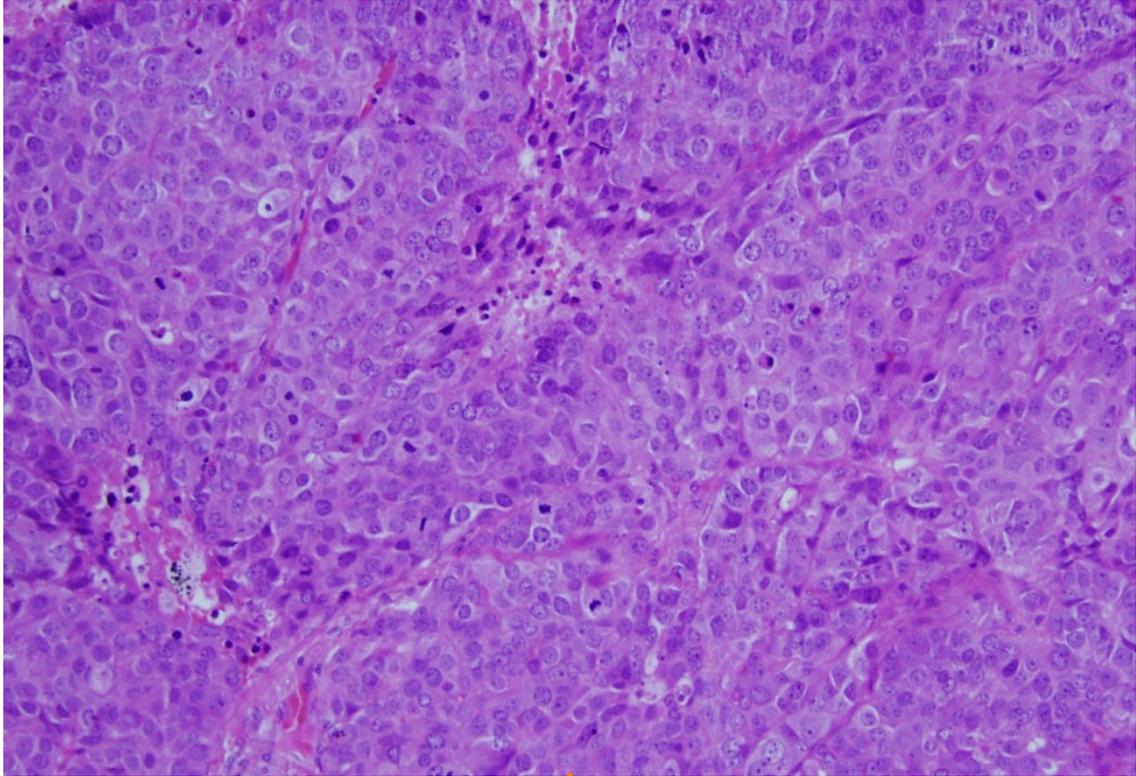
- Si diagnostic clair avec technique standard, classer en carcinome épidermoïde ou adénocarcinome
- Si pas de critères histologiques formels, faire immunomarquages (+/- coloration des mucines)
  - # mucines / TTF1 / Napsin A en faveur d' un ADC ;
  - # cytokératine 5/6 et P63/P40 en faveur d' un C épidermoïde  
*P40 est plus spécifique que P63*
- Marqueurs endocrines (chromogranine, synatophysine, CD56):  
uniquement si morphologie évocatrice de différenciation endocrine
- **NB : environ 20% des ADC primitifs pulmonaires sont TTF1-**



Adénocarcinome



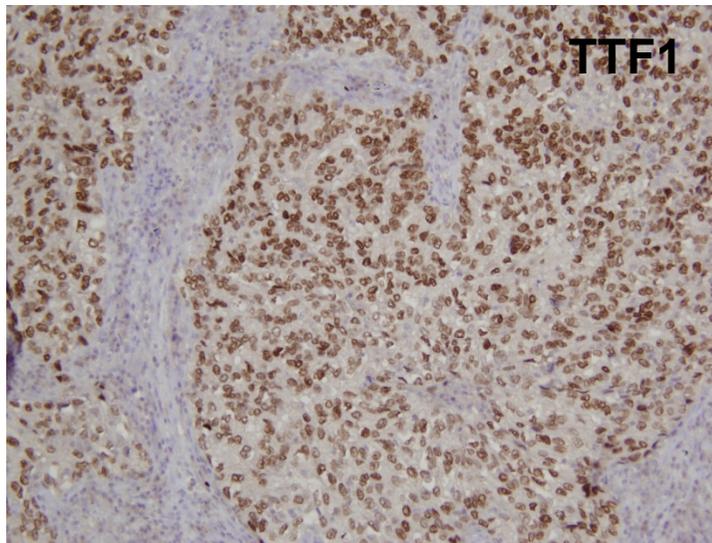
Carcinome épidermoïde



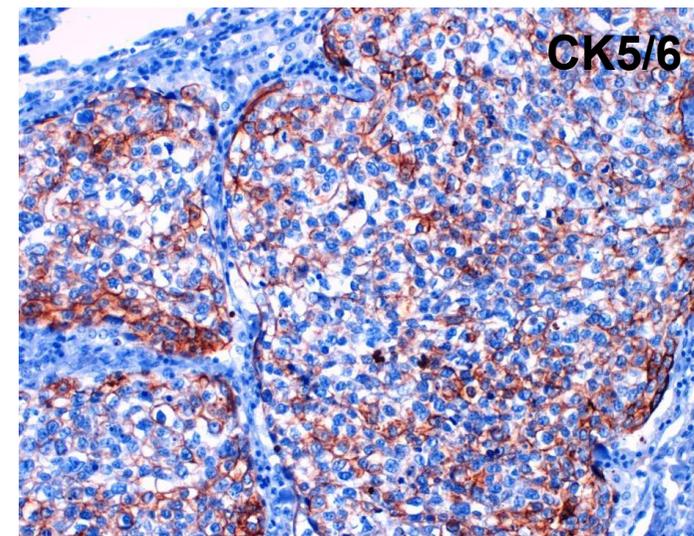
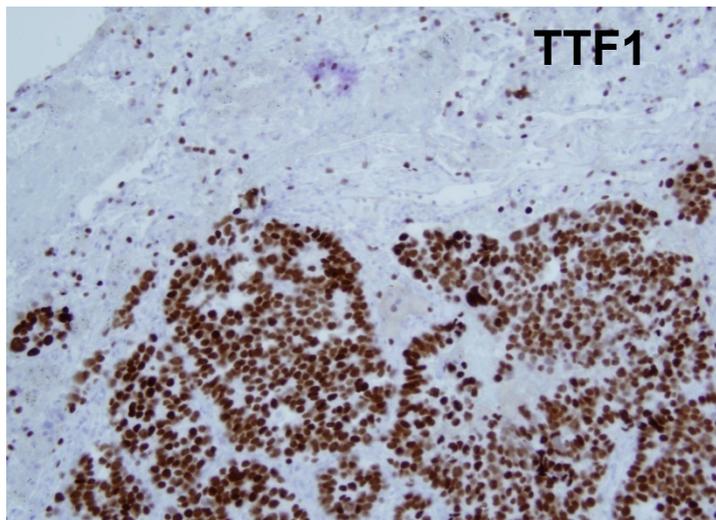
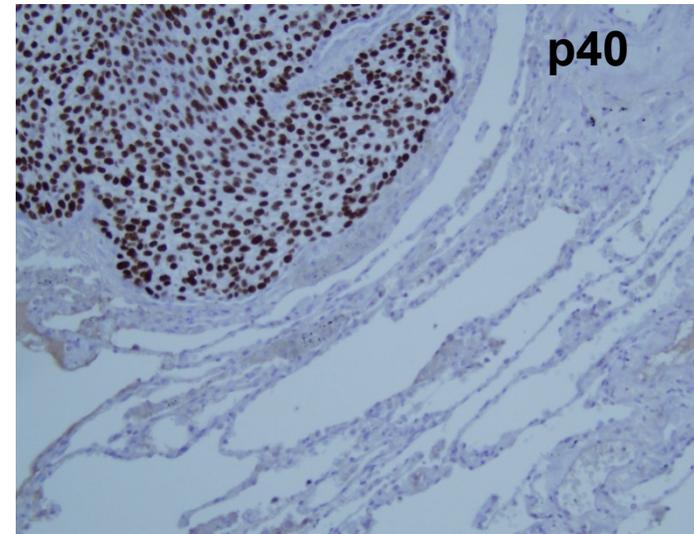
carcinome non à  
petites cellules

Immunohistochimie

TTF1+ , p40/p63 -, CK5/6 -



p40/p63+, CK5/6+, TTF1-



CNPC, en faveur d' un ADK

CNPC, en faveur d' un CE

## Classification des CNPC pulmonaires sur biopsies et cytologies et stratégie de prise en charge

- TTF1+ et P40/P63+ et CK5/6+ mais dans des cellules différentes : CNPC, possible carcinome adéno-squameux
- TTF1-, P63/P40-, CK5/6- : CNPC, SAI (ou NOS)
- Attention: si TTF1/mucine – et P63 ou P40 ou kératine 5/6+ mais de manière faible et focale: CNPC, SAI
- Au final, après IHC, très peu de cas resteront classés en carcinome non à petites cellules SAI

# Classification des CNPC pulmonaires sur biopsies et cytologies et stratégie de prise en charge

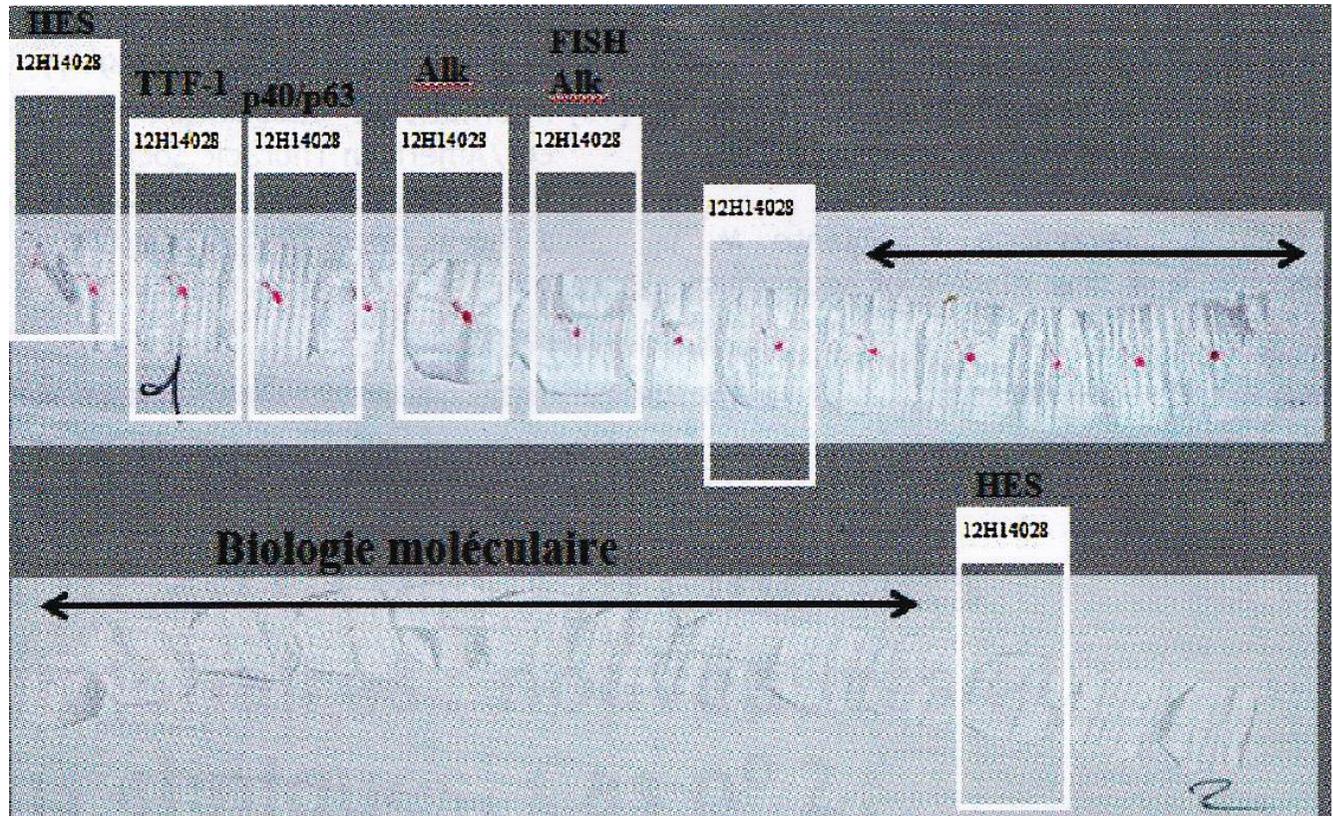
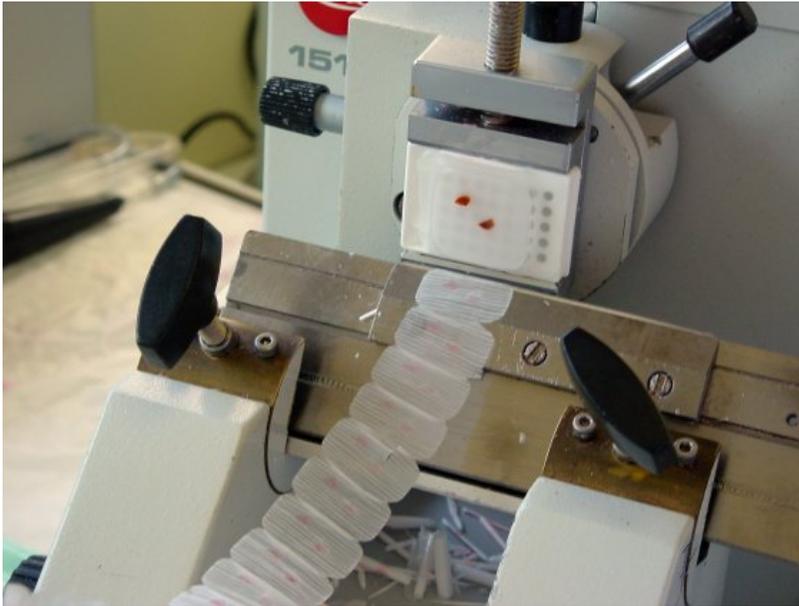
- La recherche de mutations d' *EGFR*, *KRAS*, *B-RAF*, *HER2* et de réarrangements de *ALK* et *ROS1* se fera sur :
  - Les ADC
  - Les carcinomes non à petites cellules en faveur d' un ADC
  - Les carcinomes non à petites cellules SAI
  - Les carcinomes non à petites cellules, possibles carcinomes adénoquameux
  - D'autres types histologiques, sur demande des cliniciens, en fonction de caractéristiques cliniques particulières

# Limitations des biopsies

- Ne pas poser de diagnostic de carcinome à grandes cellules sur biopsie. C'est un diagnostic d'exclusion, réservé aux pièces, si aucune différenciation. Sur biopsie « carcinome non à petites cellules SAI ».
- Diagnostics de carcinome adénoquameux, de carcinome sarcomatoïde, de carcinome neuro-endocrine à grandes cellules difficiles à faire sur de petits prélèvements.
- Impossible de poser un diagnostic d'ADC in situ ou avec invasion minime. Conclure « ADC à composante lépidique » ; commentaire « une composante invasive ne peut être exclue »

# Conseils pour optimiser les prélèvements

- Pour le clinicien :
  - **Biopsier plus** : au minimum 3 biopsies (voire 6)
  - Effectuer des **prélèvements cytologiques** en plus
- Pour le pathologiste :
  - Fixer au **formol 10%** et bien contrôler la chaîne d'inclusion
  - **Economiser le tissu**  
Coupes sériées ; **garder les rubans** de paraffine en réserve pour IHC ou biologie moléculaire (ou des lames blanches à 4°C).  
Utiliser les IHC avec parcimonie, pour garder du matériel pour les analyses moléculaires (recherche de mutations, IHC, FISH, etc...).  
Inclure en paraffine les culots de matériel cytologique.



# Classification des ADC pulmonaires sur pièces de résection

Cours GOLF  
Novembre 2015

# Classification des ADC pulmonaires sur pièces de résection

- Ce qui a changé :
  - disparition du terme de carcinome bronchiolo-alvéolaire (CBA)
  - 2 nouvelles entités :
    - ADC in situ (AIS = ex CBA non mucineux) : lésion pré-invasive, comme l'hyperplasie adénomateuse atypique
    - ADC à invasion minime (MIA)
  - ADC mucineux invasif = remplace l'ex CBA mucineux
  - disparition du terme d'ADC invasif « de type mixte » : les ADC non-mucineux sont classés selon le «pattern» prédominant + évaluation semi-quantitative de tous les patterns présents.

# Classification des ADC pulmonaires sur pièces de résection

## *Lésions pré-invasives*

- Hyperplasie adénomateuse atypique (HAA)

- taille < 5 mm
- pneumocytes II ou cellules de Clara modérément atypiques, tapissant des cloisons alvéolaires.
- cellules souvent séparées les unes des autres par des espaces intercellulaires.

*Mutations de KRAS dans 33% des cas  
et d'EGFR dans 35% des cas.  
Valide le statut de précurseur d'ADC pulmonaire.*



*WHO Classification of tumors of the lung, 2004*

# Classification des ADC pulmonaires sur pièces de résection

## *Lésions pré-invasives*

### ■ ADC in situ (AIS)

- taille  $\leq 3$  cm

- Cellules néoplasiques formant une assise continue le long des septa alvéolaires (architecture purement lèpidique). Parois alvéolaires souvent fibreuses.

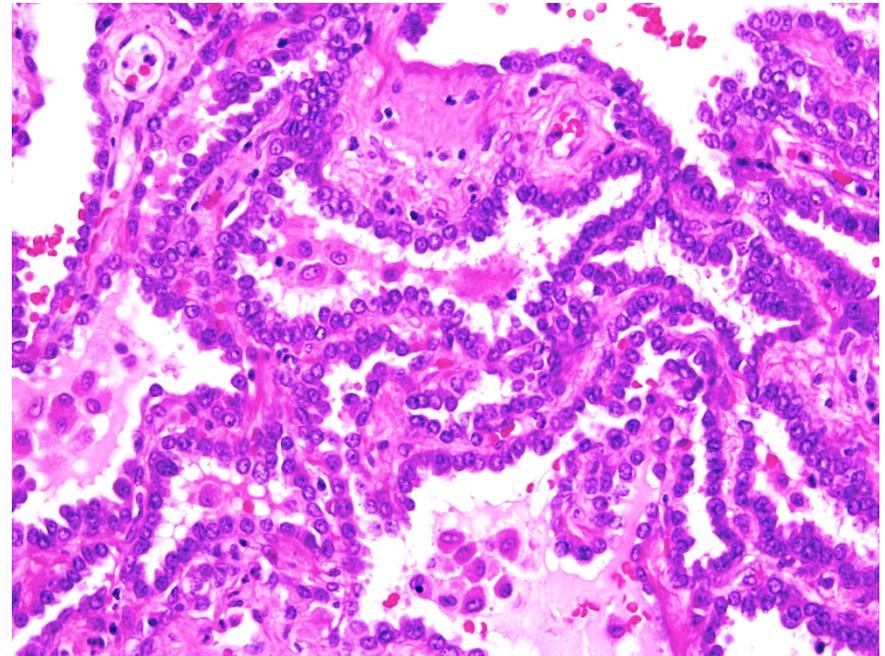
- pas d'invasion stromale, vasculaire ou pleurale

- pas d'architecture papillaire ou micropapillaire

- pas de nécrose

*Quasi tous non mucineux*

→ **Survie de 100 % à 5 ans**  
si exérèse complète.



# Classification des ADC pulmonaires sur pièces de résection

## *ADC à invasion minime (MIA)*

- ADC à invasion minime (MIA)

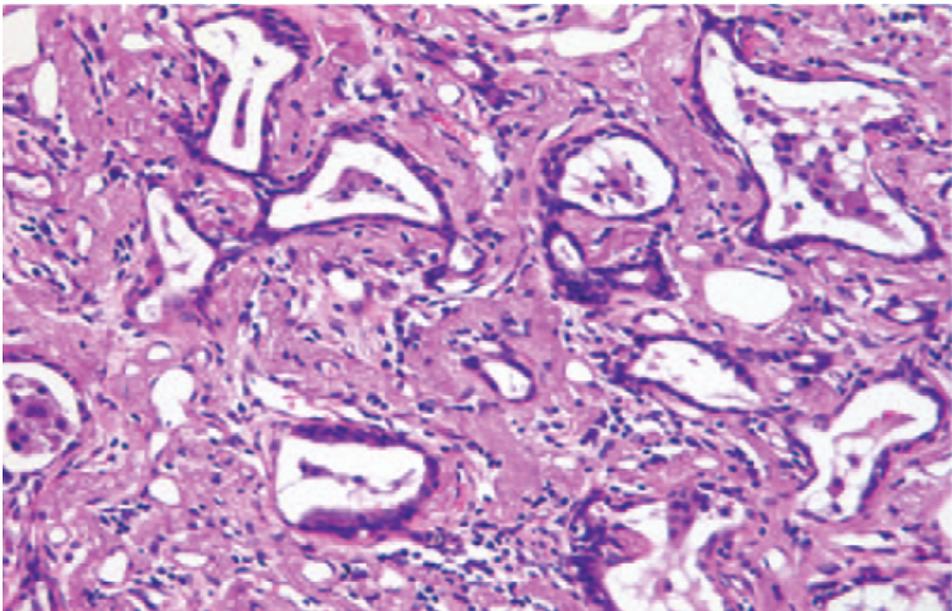
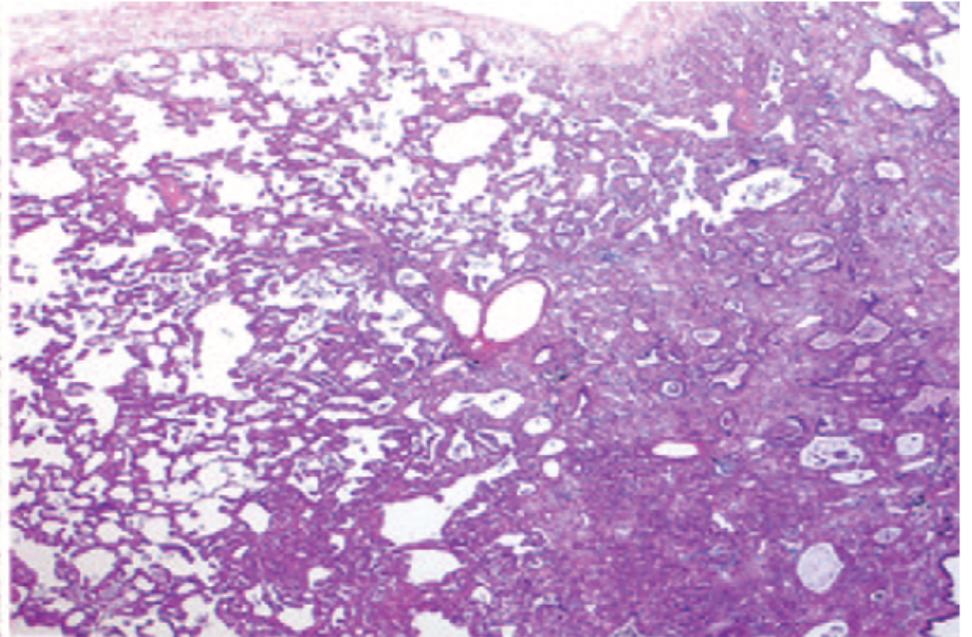
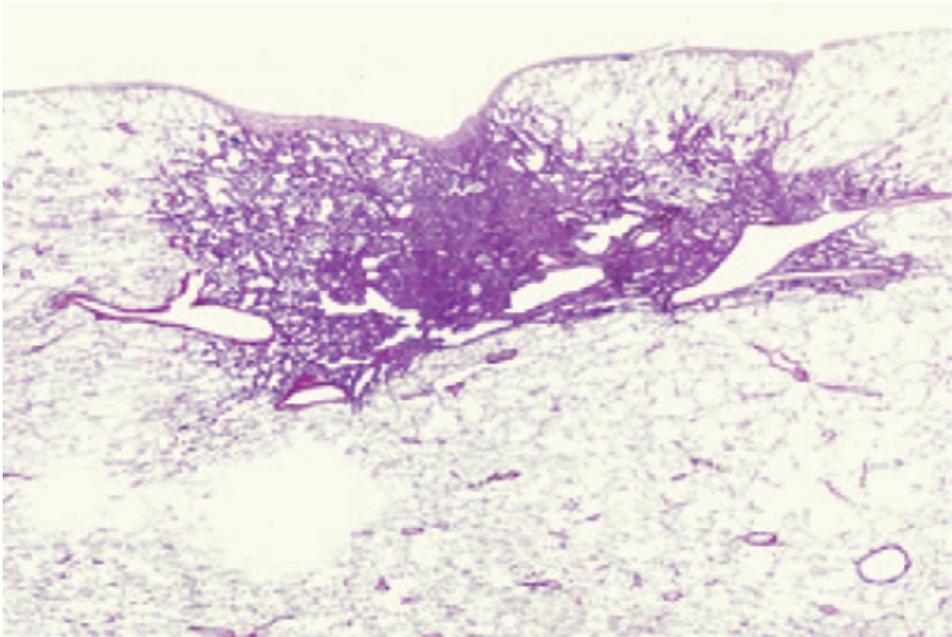
- taille  $\leq 3$  cm
- architecture lépidique prédominante
- zone invasive  $\leq 5$  mm = acineuse, papillaire, micro-papillaire, solide, ou cellules tumorales infiltrant un stroma myofibroblastique
- pas d'invasion vasculaire, pleurale, ou des espaces aériens
- pas de nécrose

***le plus souvent non-mucineux***

Si plusieurs petits foyers invasifs, ne pas additionner les tailles ; compter le plus grand foyer

→ **100 % de survie à 5 ans** si résection complète.

**ATTENTION** : diagnostic AIS ou MIA uniquement sur pièce de résection et après inclusion de la totalité du foyer tumoral. Impossible sur biopsies.



*Travis et al, JTO 2011*

# Classification des ADC invasifs sur pièces de résection

## *ADC non mucineux et autres variantes*

- **ADC invasifs non mucineux**

- Prédominance **lépидique** : architecture lépидique prédominante mais avec foyer(s) invasif(s) > 5 mm.

- Prédominance **acineuse** : glandes rondes ou ovales avec lumière centrale ; parfois aspects cribriformes

- Prédominance **papillaire** : axes fibro-vasculaires tapissés de cellules tumorales

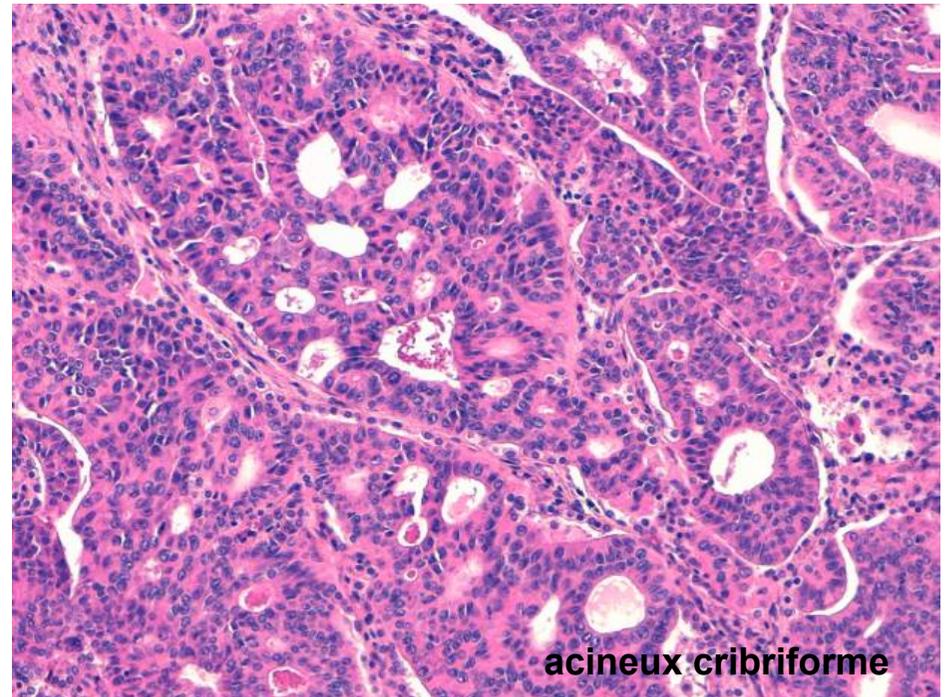
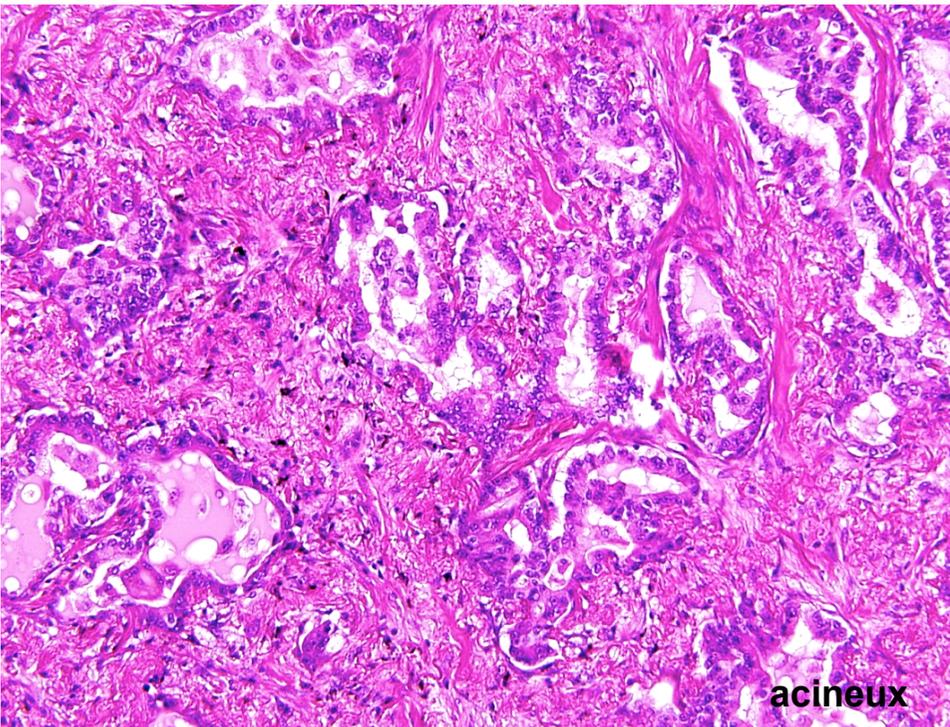
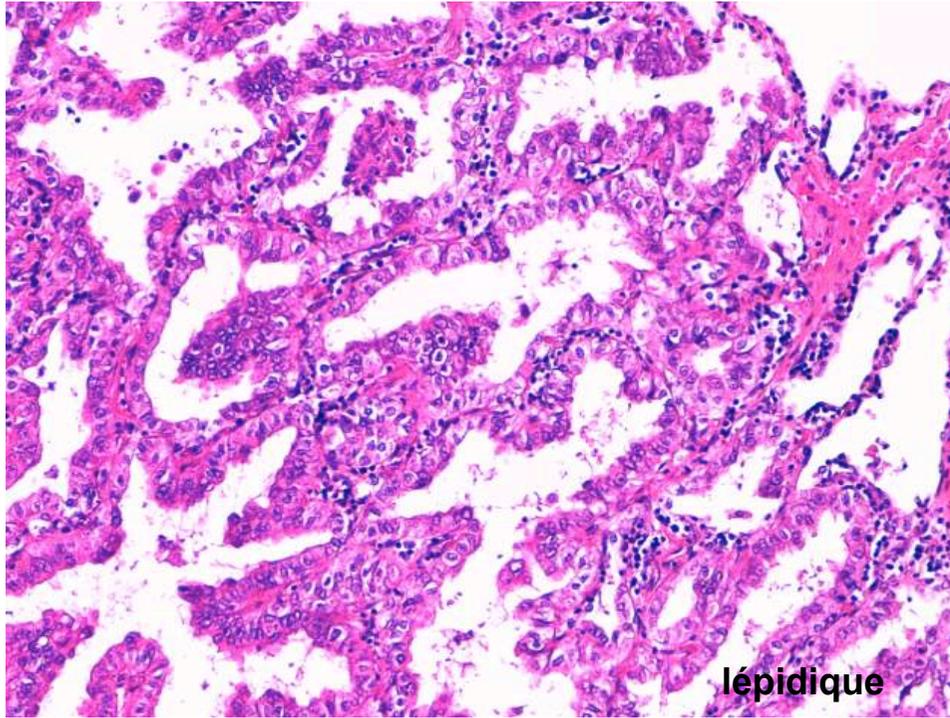
- Prédominance **micropapillaire** : petites touffes papillaires sans axes conj-vasc, flottant parfois dans les lumières alvéolaires. Fréquentes invasions vasculaires

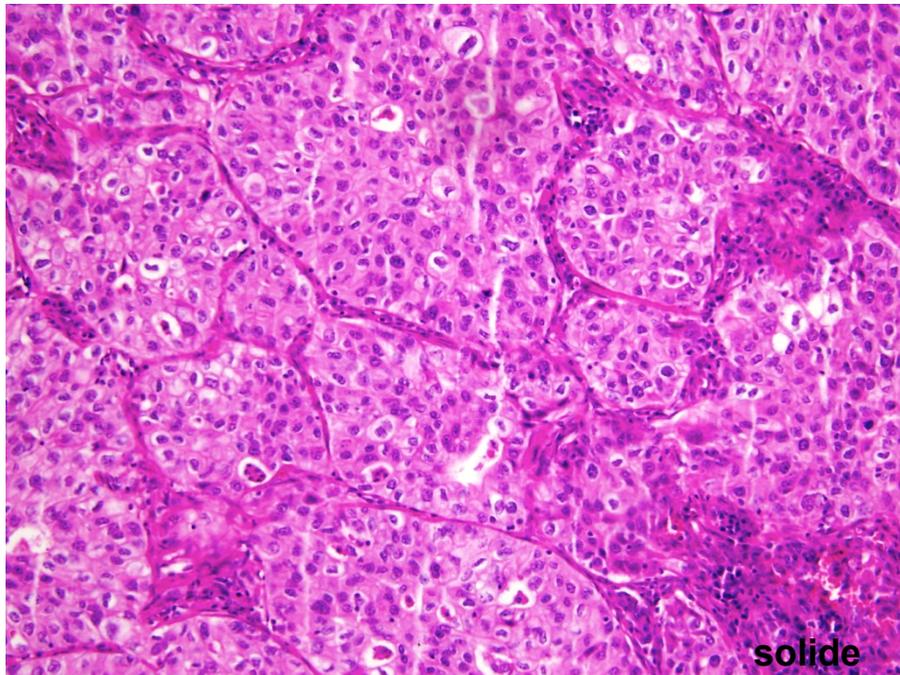
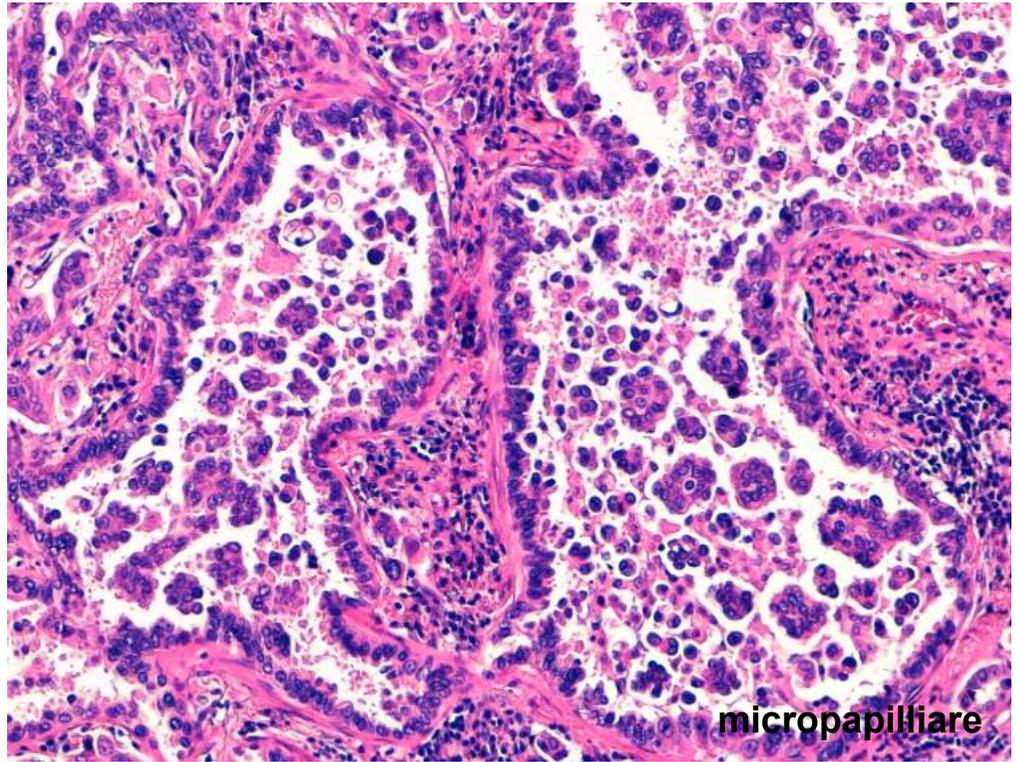
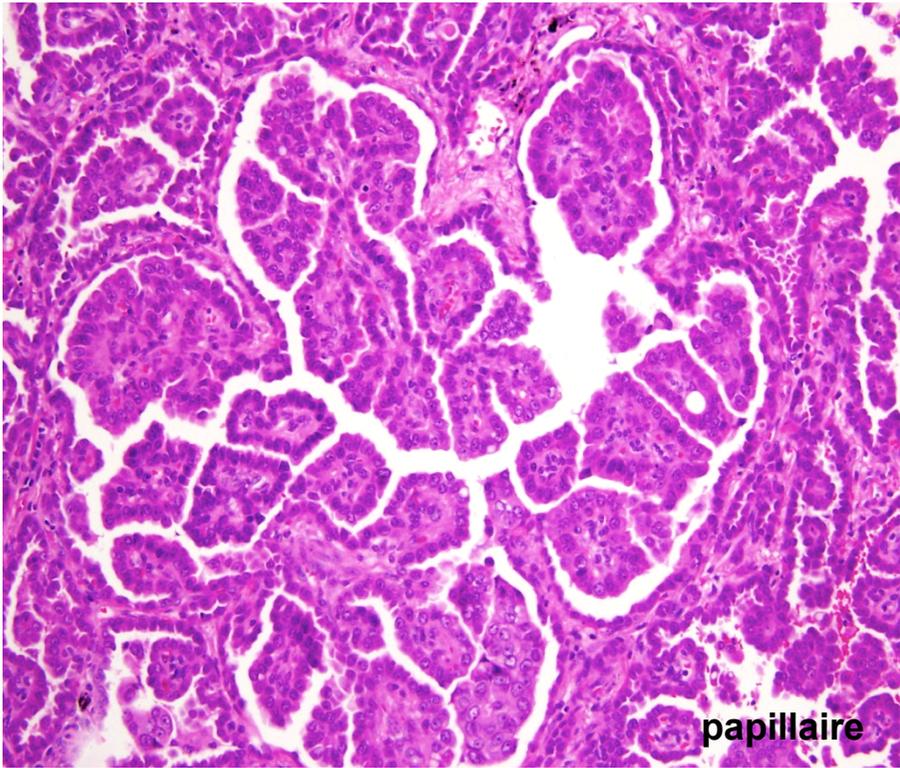
- Prédominance **solide** : îlots compacts.

Diag. Diff : carcinome à grandes cellules. Ici, sécrétion de mucus (au moins 5 cellules tumorales par champ sur 2 champs à x40) ou TTF1/NapsinA+ en IHC.

- **Grande hétérogénéité** : mélange complexe de sous-types histo.

**Rapporter le pattern prédominant.** Décrire et quantifier également les autres patterns (par tranches de 5 %)





# ADC invasifs non mucineux

## *Pourquoi les classer selon le pattern ?*

→ Identifier des **groupes de pronostic différent** :

Type **lépidique** : pronostic **bon** ou **intermédiaire**

Type **acineux et papillaire** : pronostic **intermédiaire**

Type **micropapillaire, solide et acineux cribriforme** : **mauvais pronostic**.

Fait office de grading (basé sur l'architecture). Pas de grading cytologique validé.

→ Identifier des **profils moléculaires différents**

fréquence des mutations *EGFR* dans les patterns lépidiques non mucineux

# ADC invasifs non mucineux

## *Pourquoi évaluer tous les patterns représentés ?*

- évaluer le degré d' hétérogénéité d' une tumeur
- identifier la présence, même en petite quantité, de patterns ayant un impact pronostique défavorable (solide, micropapillaire)
- comparer des tumeurs multiples synchrones ou métachrones (tumeurs primitives ou métastases ?)

# Classification des ADC sur pièces de résection

## *Autres variantes*

- **Autres variantes**

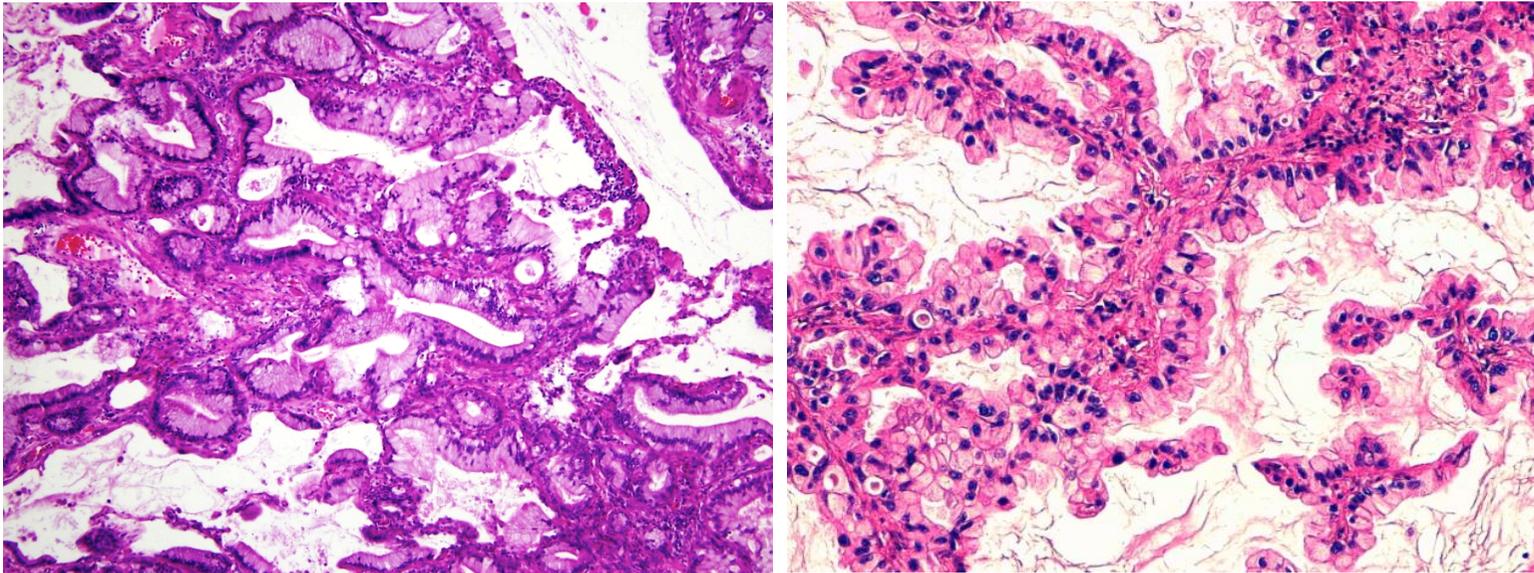
- ADC mucineux invasif : ex bronchiolo-alvéolaire mucineux (obsolète)
- ADC colloïde
- ADC foetal
- ADC entérique

NB: Les adénocarcinomes à cellules claires ou en bagues à chatons ne sont plus des sous-types.

# Autres Variantes

## ■ ADK mucineux invasif

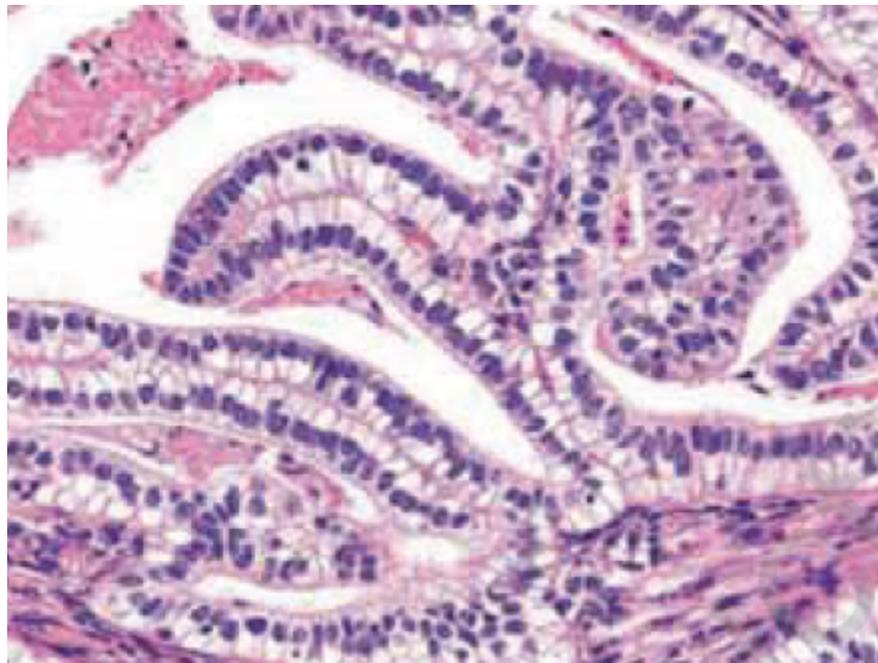
- Profil clinique, RX et moléculaire très différents des ADC non mucineux. Svt muté *KRAS* ; pas de mutation *EGFR* ; TTF1-/ kératine 20+
- Cellules tumorales cylindriques avec pôle apical contenant du mucus. Atypies souvent discrètes, espaces alvéolaires remplis de mucus
- Taille tumorale > 3 cm, invasion > 5 mm, bordure irrégulière, mal limitée
- Svt multicentrique, multilobaire ou bilatéral
- Pronostic idem que ADC solide et micro-papillaire.



# Autres Variantes

- **ADC foetal**

Structures glandulaires avec tubules faits de cellules non ciliées, riches en glycogène, avec vacuoles sous-nucléaires. Ressemble aux tubules du poumon foetal. Bas grade (le plus souvent) ou haut grade. Patients plus jeunes. Mutations  $\beta$ -caténine.

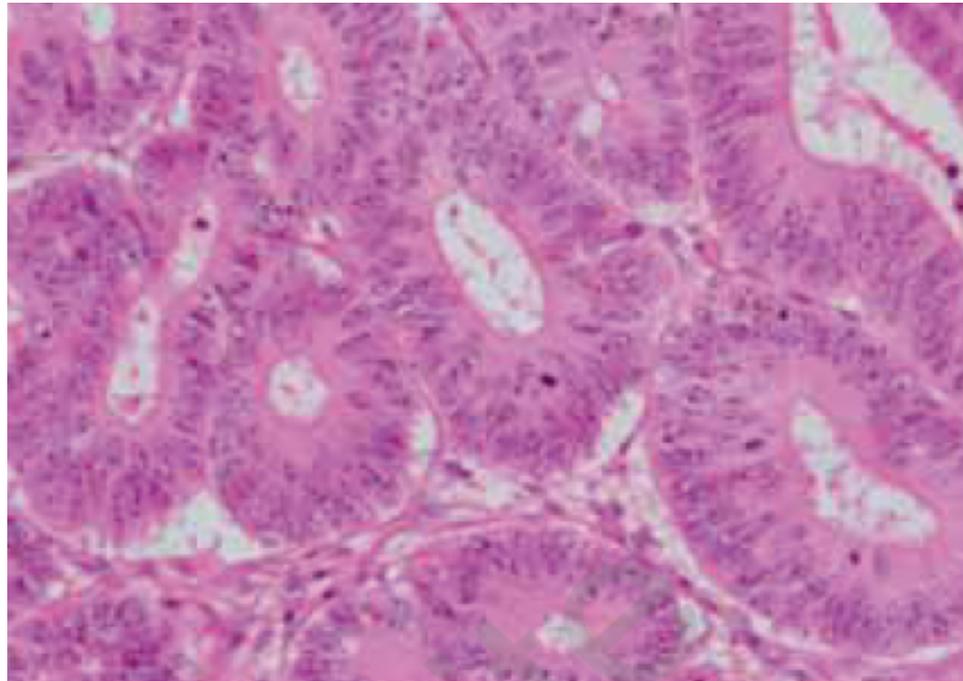


# Autres Variantes

- **ADC entérique**

Ressemble au carcinome colorectal ; glandes adossées, revêtement cylindrique pseudostratifié, svt nécrose luminaire. Expression d' au moins 1 des marqueurs de différenciation entérique : CDX2, CK20 ou MUC2.

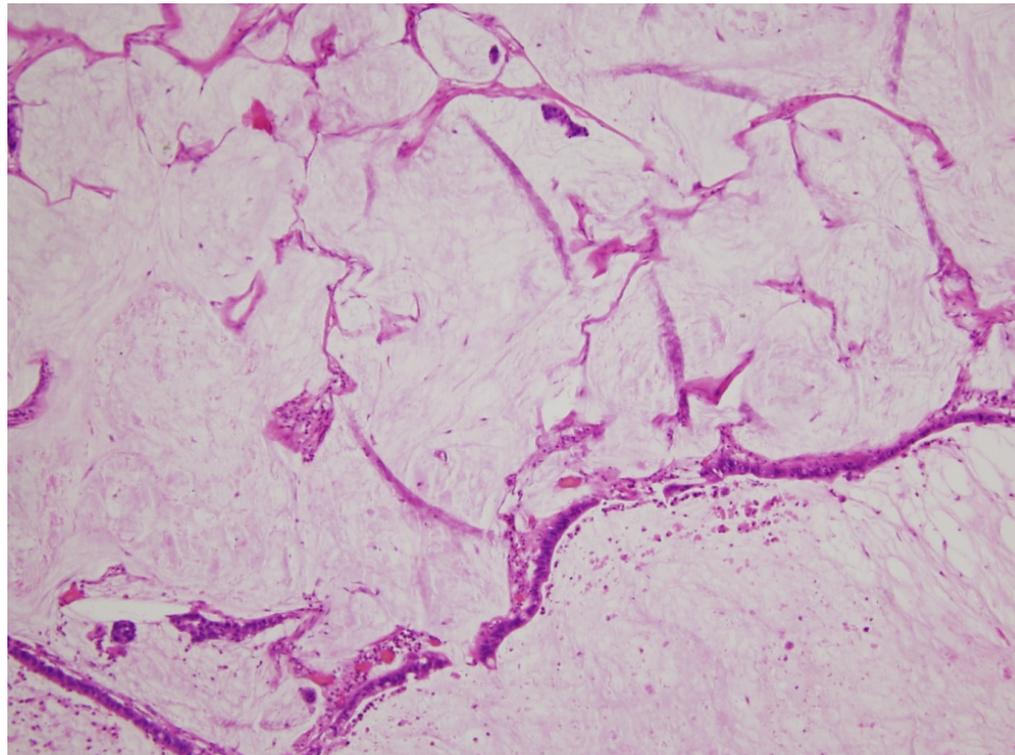
Dg Diff avec métastase : association à d' autres patterns architecturaux (lépidoïque ++); IHC : en général CK7+, parfois TTF1+.



# Autres Variantes

- **ADC colloïde**

Abondant mucus extra-cellulaire qui distend et rompt les espaces alvéolaires. Dans le mucus, rares amas de cellules tumorales.  
IHC: marqueurs « intestinaux » positifs (CDX2, MUC2, CK20)  
Le cystadénocarcinome mucineux est inclus dans ce groupe.



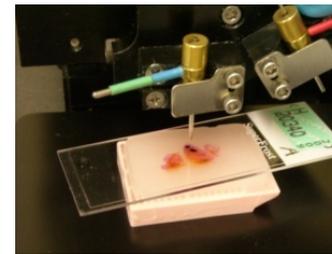
# Rôle du pathologiste dans la détermination du phénotype moléculaire des adénocarcinomes

Cours GOLF  
Novembre 2015

# Rôle du pathologiste dans la détermination du phénotype moléculaire des ADC

## ■ Gestion des prélèvements

- Fixation formol et circuit d'inclusion maîtrisés (sinon ADN dégradé); économie du tissu ; culot d'inclusion cytologique.
- Transmission de matériel au labo de Bio-Mol pour recherche de mutations des gènes *EGFR*, *KRAS*, *B-RAF*, *HER2* par séquençage (copeaux si % de cellules tumorales élevé ; punch si % CT bas, < 20%)



- Détermination du statut des gènes *ALK*, *ROS1* et *MET* au labo d' Ana-Path, par IHC et/ou hybridation in situ (FISH)

# Détermination du statut *ALK* dans les CNPC

## Quand, qui, comment ?

- Réarrangement de *ALK*: 2-7% des CBNPC, surtout ADC
- Thérapie ciblée : Crizotinib
- Quand ?
  - Systématiquement au moment du diagnostic histo (donc initié par le pathologiste), sur tous les cas envoyés pour recherche de mutations *EGFR*, *KRAS*... (c.a.d. tous les types sauf les épidermoïdes).  
*ALK+* plus fréquent dans ADC à prédominance acineuse et solide, avec des cellules en bagues à chaton ou ADC exprimant *P63* / *P40*.
  - A la demande du clinicien, pour certains profils de patients : non-fumeur ou petit fumeur (< 10 paquets–année), plutôt jeune, *EGFR* et *K-RAS* non mutés.
  - En cas de récurrence, retester (changement mutationnel ? gènes de résistance ?).

# Détermination du statut *ALK* dans les CNPC

## Quand, qui, comment ?

- Sur quel matériel ?

Tout matériel tumoral disponible : cancer primitif ou métastase, histologique (biopsie ou pièce) ou cytologique (de préférence culot d'inclusion)

- Comment ?

Travail en 2 étapes :

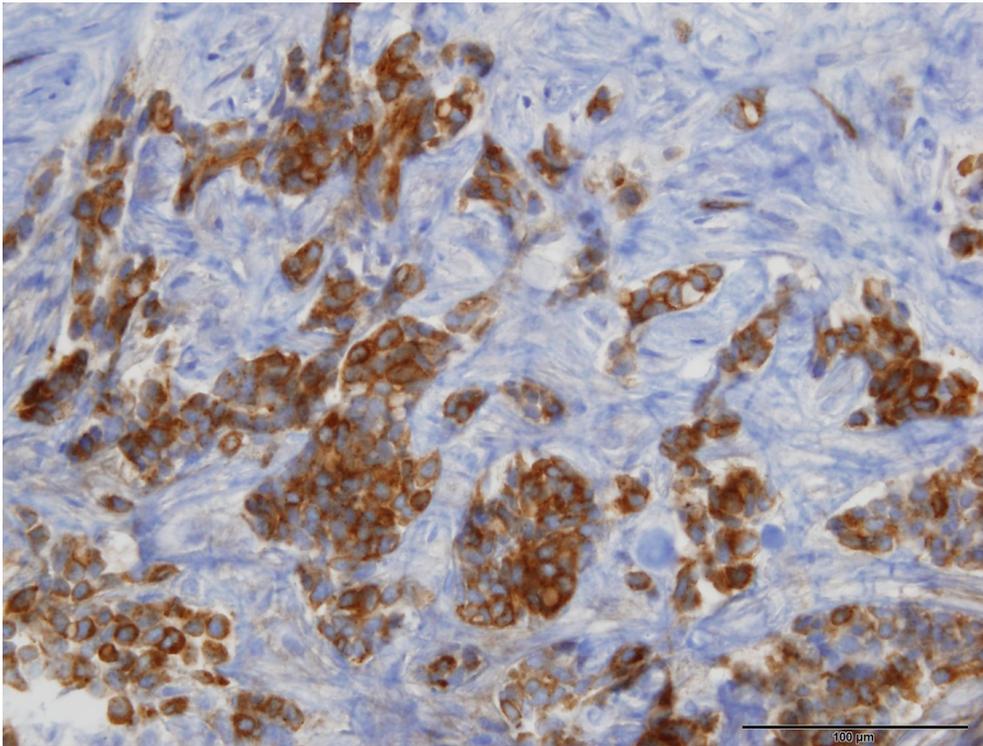
    Pré-screening par IHC :

Avantages : économie de tissu (1 lame préparée à partir du ruban disponible) ; technique rapide (2-3 heures ; résultat le lendemain du diagnostic) ; facile à lire ; peu chère.

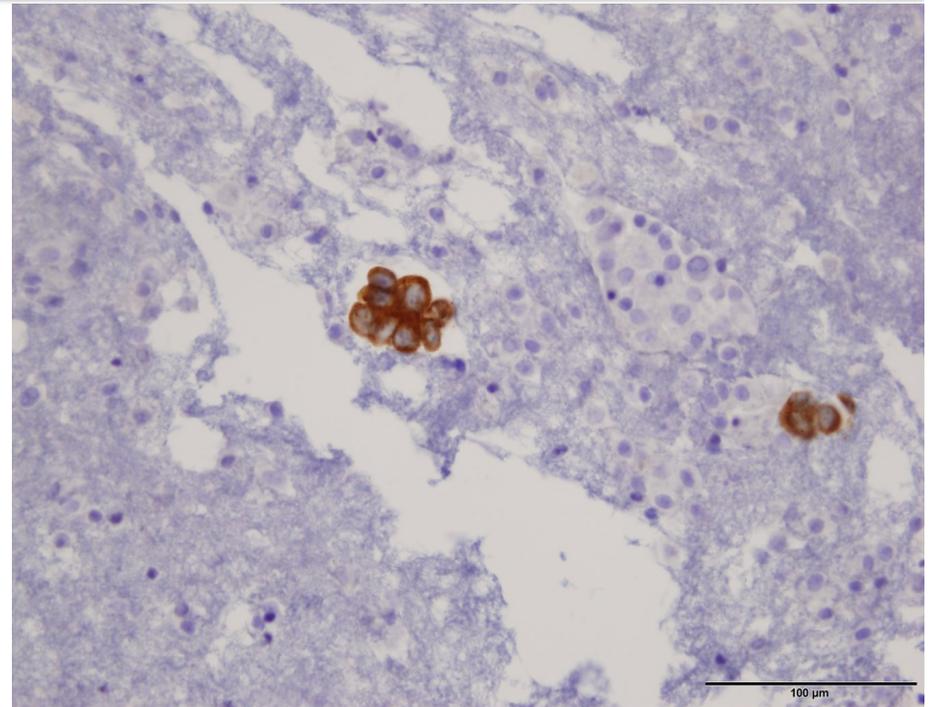
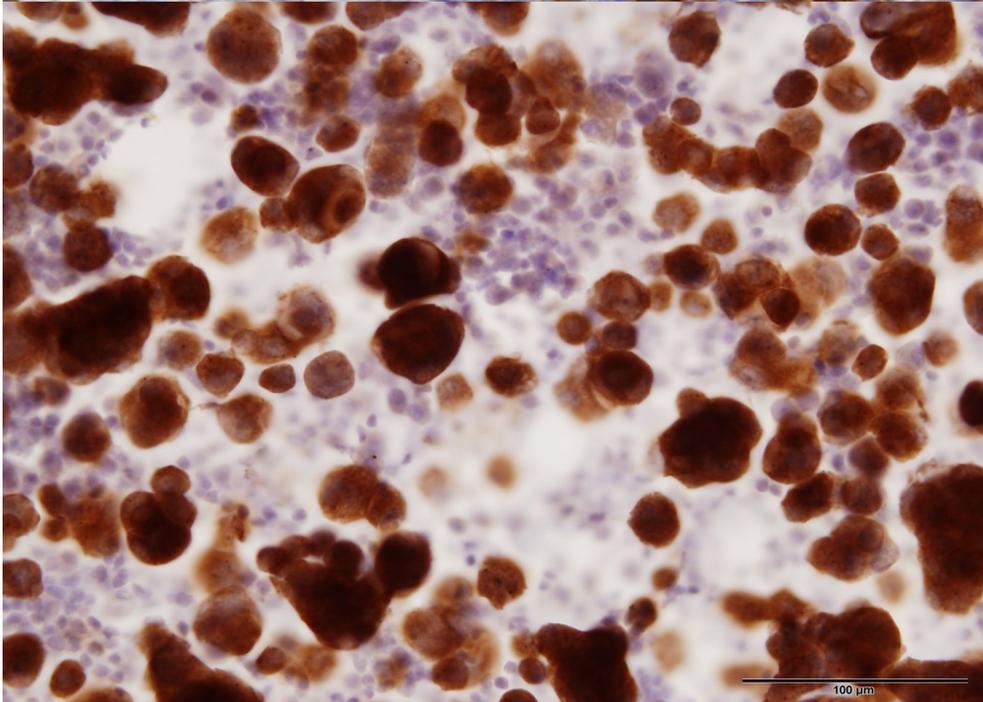
    Les cas positifs ou « douteux » en IHC sont contrôlés par FISH : recherche de la translocation EML4-ALK.

# Immunohistochimie

Pièce opératoire

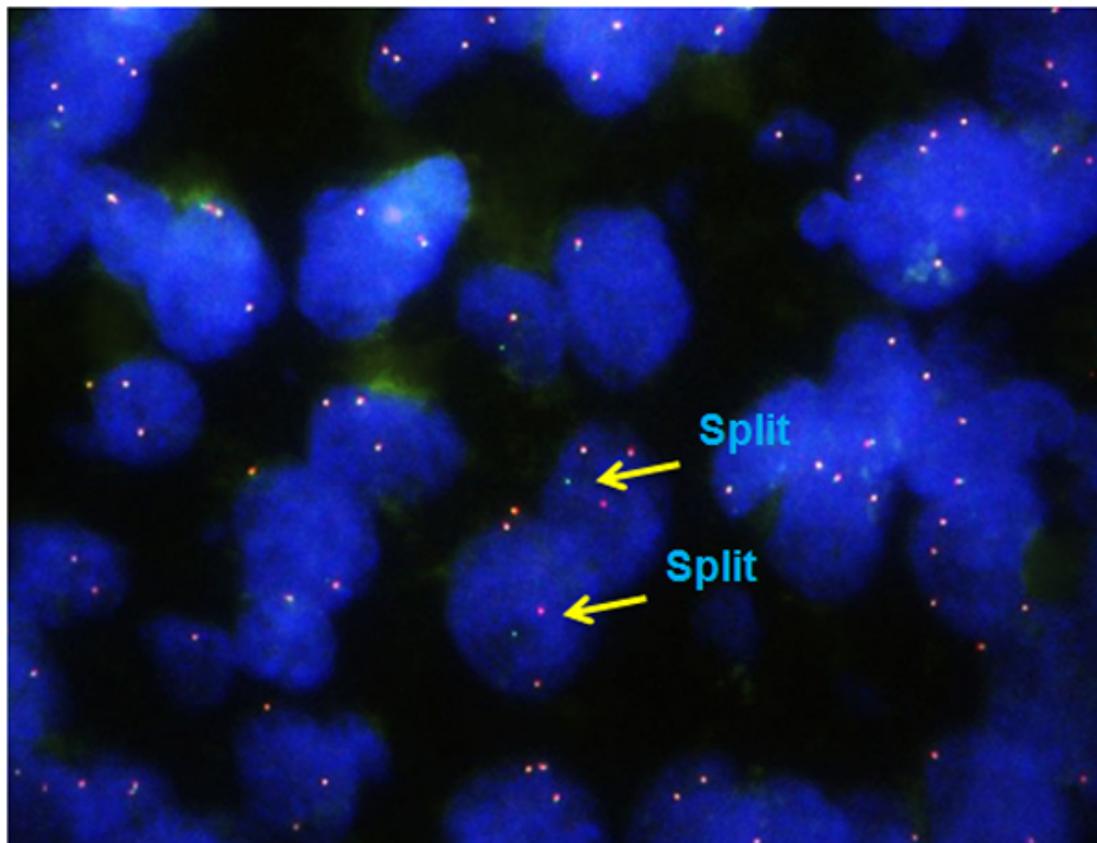


Prélèvements cytologiques (liquide ; culot)



# Résultats FISH

Présence d'un réarrangement du gène ALK  
≥ 15% de noyaux tumoraux réarrangés



Spots rouge et vert  
séparés = translocation

# Détermination du statut du gène *ROS1* dans les CNPC

- Réarrangement de *ROS1* : 1 à 2 % des CNPC, surtout ADC
- Thérapie ciblée: Crizotinib
- Comment ?
  - **Pré-tri** : détermination du statut de *ROS1* uniquement sur les ADC non mutés *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *HER2* et n'ayant pas de translocation *ALK*
  - Screening IHC, avec le clone D4D6 (Cell Signaling)
  - FISH si IHC positive ou douteuse

# Détermination du statut du gène *MET* dans les CNPC

- Thérapies « anti-MET »: onartuzumab (MetMab), crizotinib, tivantinib (ARQ197)
- Traitement par crizotinib des patients dont la tumeur présente une amplification ou une surexpression de *MET* (Acsé crizotinib). *MET* également impliqué dans la résistance aux TKI anti-EGFR.
- Statut de *MET*:
  - IHC (clone SP<sub>44</sub>, Ventana) : expression forte, 2+ ou 3+
  - FISH : nb de copies > 5

# Autres cibles potentielles dans les CBNPC

- RET
- Immunothérapie : PD1/PDL1
- Point crucial : la gestion du matériel...