

**Académie d'Orléans –Tours
Université François-Rabelais**

FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

Année 2015

N°

Thèse

pour le

DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'Etat

Par

**Caroline VASSEUR
Née le 18 avril 1985 à Paris 13ème**

Présentée et soutenue publiquement le 26 juin 2015

**ETUDE DES MARQUEURS DE LA TRANSITION EPITHELIO-
MESENCHYMATEUSE ET DES MARQUES EPIGENETIQUES ASSOCIEES
DANS LE DEVELOPPEMENT ET LA PROGRESSION DU CANCER DE LA
PROSTATE**

Jury

**Président de Jury : Monsieur le Professeur Philippe BOUGNOUX
Membres du jury : Monsieur le Professeur Gonzague Du BOUEXIC de PINIEUX,
Monsieur le Professeur Franck BRUYERE
Madame le Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD**

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Professeur Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Professeur Henri MARRET

ASSESSEURS

Professeur Denis ANGOULVANT, *Pédagogie* Professeur
Mathias BUCHLER, *Relations internationales* Professeur Hubert
LARDY, *Moyens – relations avec l'Université* Professeur Anne-
Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale* Professeur
François MAILLOT, *Formation Médicale Continue* Professeur
Philippe ROINGEARD, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE

Madame Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Professeur Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Professeur Georges DESBUQUOIS (†)- 1966-1972
Professeur André GOUAZÉ - 1972-1994
Professeur Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Professeur Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Professeur Alain AUTRET
Professeur Catherine BARTHELEMY
Professeur Jean-Claude BESNARD
Professeur Patrick CHOUTET
Professeur Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Professeur Guy GINIES
Professeur Olivier LE FLOCH
Professeur Etienne LEMARIE
Professeur Chantal MAURAGE
Professeur Léandre POURCELOT
Professeur Michel ROBERT
Professeur Jean-Claude ROLLAND

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. Ph. ANTHONIOZ - A. AUDURIER – Ph. BAGROS - G. BALLON – P.BARDOS - Ch. BERGER –
J. BRIZON - Mme M. BROCHIER - Ph. BURDIN - L. CASTELLANI J.P. FAUCHIER - B. GRENIER –
A. GOUAZE – M. JAN – J.-P. LAMAGNERE - F. LAMISSE – J. LANSAC – J. LAUGIER - G. LELORD -
G. LEROY - Y. LHUINTE - M. MAILLET - Mlle C. MERCIER – J. MOLINE - Cl. MORAINÉ - J.P. MUH -
J. MURAT - Ph. RAYNAUD – JC. ROLLAND – Ph. ROULEAU - A. SAINDELLE - J.J. SANTINI - D. SAUVAGE
– J. THOUVENOT - B. TOUMIEUX - J. WEILL.

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

MM.	ALISON Daniel.....	Radiologie et Imagerie médicale
	ANDRES Christian.....	Biochimie et Biologie moléculaire
	ANGOULVANT Denis.....	Cardiologie
	ARBEILLE Philippe.....	Biophysique et Médecine nucléaire
	AUPART Michel.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	BABUTY Dominique.....	Cardiologie
	BALLON Nicolas.....	Psychiatrie ; Addictologie
Mme	BARILLOT Isabelle.....	Cancérologie ; Radiothérapie
MM.	BERNARD Louis.....	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
	BEUTTER Patrice.....	Oto-Rhino-Laryngologie
	BINET Christian.....	Hématologie ; Transfusion
	BODY Gilles.....	Gynécologie et Obstétrique
	BONNARD Christian.....	Chirurgie infantile
	BONNET Pierre.....	Physiologie
Mme	BONNET-BRILHAULT Frédérique.....	Physiologie
MM.	BOUGNOUX Philippe.....	Cancérologie ; Radiothérapie
	BRILHAULT Jean.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	BRUNEREAU Laurent.....	Radiologie et Imagerie médicale
	BRUYERE Franck.....	Urologie
	BUCHLER Matthias.....	Néphrologie
	CALAIS Gilles.....	Cancérologie ; Radiothérapie
	CAMUS Vincent.....	Psychiatrie d'adultes
	CHANDENIER Jacques.....	Parasitologie et Mycologie
	CHANTEPIE Alain.....	Pédiatrie
	COLOMBAT Philippe.....	Hématologie ; Transfusion
	CONSTANS Thierry.....	Médecine interne ; Gériatrie et Biologie du vieillissement
	CORCIA Philippe.....	Neurologie
	COSNAY Pierre.....	Cardiologie
	COTTIER Jean-Philippe.....	Radiologie et Imagerie médicale
	COUET Charles.....	Nutrition
	DANQUECHIN DORVAL Etienne.....	Gastroentérologie ; Hépatologie
	DE LA LANDE DE CALAN Loïc.....	Chirurgie digestive
	DE TOFFOL Bertrand.....	Neurologie
	DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique ; médecine d'urgence
	DESTRIEUX Christophe.....	Anatomie
	DIOT Patrice.....	Pneumologie
	DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague.....	Anatomie & Cytologie pathologiques
	DUMONT Pascal.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
	EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
	FAUCHIER Laurent.....	Cardiologie
	FAVARD Luc.....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	FOUQUET Bernard.....	Médecine physique et de Réadaptation
	FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
	FROMONT-HANKARD Gaëlle.....	Anatomie & Cytologie pathologiques
	FUSCIARDI Jacques.....	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	GAILLARD Philippe.....	Psychiatrie d'Adultes
	GYAN Emmanuel.....	Hématologie ; thérapie cellulaire
	GOGA Dominique.....	Chirurgie maxillo-faciale et Stomatologie
	GOUDEAU Alain.....	Bactériologie -Virologie ; Hygiène hospitalière
	GOUPILLE Philippe.....	Rhumatologie
	GRUEL Yves.....	Hématologie ; Transfusion
	GUERIF Fabrice.....	Biologie et Médecine du développement et de la reproduction
	GUILMOT Jean-Louis.....	Chirurgie vasculaire ; Médecine vasculaire
	GUYETANT Serge.....	Anatomie et Cytologie pathologiques
	HAILLOT Olivier.....	Urologie
	HALIMI Jean-Michel.....	Thérapeutique ; médecine d'urgence (Néphrologie et Immunologie clinique)
	HANKARD Régis.....	Pédiatrie
	HERAULT Olivier.....	Hématologie ; transfusion
	HERBRETEAU Denis.....	Radiologie et Imagerie médicale
Mme	HOMMET Caroline.....	Médecine interne, Gériatrie et Biologie du vieillissement
MM.	HUTEN Noël.....	Chirurgie générale
	LABARTHE François.....	Pédiatrie
	LAFFON Marc.....	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence
	LARDY Hubert.....	Chirurgie infantile
	LAURE Boris.....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
	LEBRANCHU Yvon.....	Immunologie
	LECOMTE Thierry.....	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
	LESCANNE Emmanuel.....	Oto-Rhino-Laryngologie

	LINASSIER Claude	Cancérologie ; Radiothérapie
	LORETTE Gérard	Dermato-Vénéréologie
	MACHET Laurent	Dermato-Vénéréologie
	MAILLOT François	Médecine Interne
	MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie
	MARRET Henri	Gynécologie et Obstétrique
	MARUANI Annabel	Dermatologie
	MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
	MORINIERE Sylvain	O.R.L.
	MULLEMAN Denis	Rhumatologie
	PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
	PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, Pharmacologie clinique
	PATAT Frédéric	Biophysique et Médecine nucléaire
	PERROTIN Dominique	Réanimation médicale ; médecine d'urgence
	PERROTIN Franck	Gynécologie et Obstétrique
	PISELLA Pierre-Jean	Ophthalmologie
	QUENTIN Roland	Bactériologie-Virologie ; Hygiène hospitalière
	REMERAND Francis	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale
	ROBIER Alain	Oto-Rhino-Laryngologie
	ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
	ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
	ROYERE Dominique	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
	RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, Economie de la Santé et Prévention
	SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
	SALIBA Elie	Biologie et Médecine du développement et de la Reproduction
Mme	SANTIAGO-RIBEIRO Maria	Biophysique et Médecine Nucléaire
MM.	SIRINELLI Dominique	Radiologie et Imagerie médicale
	THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
Mme	TOUTAIN Annick	Génétique
MM.	VAILLANT Loïc	Dermato-Vénéréologie
	VELUT Stéphane	Anatomie
	WATIER Hervé	Immunologie.

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

M.	LEBEAU Jean-Pierre	Médecine Générale
Mme	LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES

MM.	MALLET Donatien	Soins palliatifs
	POTIER Alain	Médecine Générale
	ROBERT Jean	Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme	ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique : addictologie
M.	BAKHOS David	Physiologie
Mme	BERNARD-BRUNET Anne	Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
M.	BERTRAND Philippe	Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
Mme	BLANCHARD Emmanuelle	Biologie cellulaire
	BLASCO Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
M.	BOISSINOT Éric	Physiologie
Mme	CAILLE Agnès	Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
M.	DESOUBEAUX Guillaume	Parasitologie et mycologie
Mme	DUFOUR Diane	Biophysique et Médecine nucléaire
M.	EHRMANN Stephan	Réanimation médicale
Mme	FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie	Anatomie et Cytologie pathologiques
M.	GATAULT Philippe	Néphrologie
Mmes	GAUDY-GRAFFIN Catherine	Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
	GOUILLEUX Valérie	Immunologie
	GUILLON-GRAMMATICO Leslie	Biostatistiques, Informatique médical et Technologies de Communication
MM.	HOARAU Cyrille	Immunologie
	HOURIOUX Christophe	Biologie cellulaire
Mmes	LARTIGUE Marie-Frédérique	Bactériologie - Virologie ; Hygiène hospitalière
	LE GUELLEC Chantal	Pharmacologie fondamentale ; Pharmacologie clinique
	MACHET Marie-Christine	Anatomie et Cytologie pathologiques
MM.	PIVER Eric	Biochimie et biologie moléculaire

	ROUMY Jérôme.....	Biophysique et médecine nucléaire in vitro
Mme	SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et Droit de la santé
MM.	SAMIMI Mahtab	Dermatologie
	TERNANT David.....	Pharmacologie – toxicologie
Mme	VALENTIN-DOMELIER Anne-Sophie.....	Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière
M.	VOURC'H Patrick.....	Biochimie et Biologie moléculaire

MAITRES DE CONFERENCES

Mme	ESNARD Annick	Biologie cellulaire
M.	LEMOINE Maël	Philosophie
Mme	MONJAUZE Cécile	Sciences du langage - Orthophonie
M.	PATIENT Romuald	Biologie cellulaire

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE

Mmes	HUAS Caroline.....	Médecine Générale
	RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

M.	BOUAKAZ Ayache.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
Mmes	BRUNEAU Nicole	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
	CHALON Sylvie.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM.	CHARBONNEAU Michel.....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	COURTY Yves.....	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
	GAUDRAY Patrick	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	GILOT Philippe	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
	GOUILLEUX Fabrice	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
Mmes	GOMOT Marie	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
	GRANDIN Nathalie	Chargée de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
	HEUZE-VOURCH Nathalie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
MM.	KORKMAZ Brice	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
	LAUMONNIER Frédéric.....	Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
	LE PAPE Alain	Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
Mme	MARTINEAU Joëlle	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
MM.	MAZURIER Frédéric.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
	MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
	RAOUL William.....	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
Mme	RIO Pascale.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1069
M.	SI TAHAR Mustapha.....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour la Faculté de Médecine

Mme	BIRMELE Béatrice	Praticien Hospitalier (<i>éthique médicale</i>)
M.	BOULAIN Thierry	Praticien Hospitalier (<i>CSCT</i>)
Mme	CRINIERE Lise	Praticien Hospitalier (<i>endocrinologie</i>)
M.	GAROT Denis.....	Praticien Hospitalier (<i>sémiologie</i>)
Mmes	MAGNAN Julie.....	Praticien Hospitalier (<i>sémiologie</i>)
	MERCIER Emmanuelle	Praticien Hospitalier (<i>CSCT</i>)

Pour l'Ecole d'Orthophonie

Mme	DELORE Claire	Orthophoniste
MM.	GOUIN Jean-Marie	Praticien Hospitalier
	MONDON Karl	Praticien Hospitalier
Mme	PERRIER Danièle.....	Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

Mme	LALA Emmanuelle	Praticien Hospitalier
M.	MAJZOUB Samuel.....	Praticien Hospitalier

Remerciements

A ma Directrice de thèse, Madame le Professeur Gaëlle Fromont-Hankard,

Je vous remercie de m'avoir proposé ce travail et de m'avoir fait confiance. Je vous remercie de votre attention et votre disponibilité. Merci de m'avoir enseigné l'anapath et la rigueur scientifique tout au long de mon internat, je vous en suis très reconnaissante. C'est avec plaisir et honneur que je travaillerai à vos côtés, vos qualités professionnelles et votre rigueur sont pour moi un exemple à suivre.

A mon Président de jury de thèse, Monsieur le Professeur Philippe Bougnoux,

Je suis honorée par l'intérêt que vous portez à ce travail et je suis heureuse que vous ayez accepté avec enthousiasme de juger mon travail.

A Monsieur le Professeur Franck Bruyère,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail et veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

A Monsieur le Professeur Gonzague De Pinieux,

Je vous remercie d'avoir accepté de juger mon travail. Apprendre à vos côtés est un privilège, merci de partager avec nous l'amour de cette belle discipline qu'est l'anapath, de nous enseigner avec patience, rigueur et indulgence.

A Monsieur le Professeur Serge Guyétant,

Je vous remercie de partager avec nous votre savoir et de nous faire bénéficier d'un enseignement de qualité. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

Aux médecins anatomo-pathologistes du CHU de Tours, je vous suis reconnaissante de m'avoir enseigné cette belle spécialité, d'avoir partagé avec nous vos connaissances avec passion et de nous prodiguer au quotidien de précieux conseils.

Aux équipes techniques et secrétariats des services d'Anapath de Bretonneau et Trousseau, merci pour votre aide au quotidien !

A Roseline, merci pour ton travail et tes conseils techniques, travailler avec toi est un plaisir.

Aux services d'anapath de Chartres et Orléans, merci de m'avoir accueillie au début de mon internat et enseigné les bases de l'anapath avec bienveillance.

Aux services de médecine interne et de gastro-entérologie de l'hôpital de Dreux, ces semestres en périphérie resteront pour moi de très bons souvenirs.

A tous mes Co-internes, Elodie, Charlotte, Bérengère, Damien, Thibaud, Matthias et Claire merci pour les supers moments partagés, merci également à nos amies oncologues-radiothérapeutes qui sont venues découvrir notre merveilleuse spécialité : Armelle, Marion, Sarah M, et Sarah L !

A mes amis internes tourangeaux, Sarah C, Sarah L, merci pour votre soutien si précieux lors de ces dernières longues années d'étude.

A mes amis de fac, qui sont loin mais que je n'oublie pas, Dolores, Caroline, Leslie, Sarah, Pierre-Yves (et Chacha bien sûr) !

A Anne-So, Orane et Edouard, merci pour votre Amitié. Merci pour notre belle histoire, pour tous ces moments passés ensemble et pour tous ceux à venir ! Vous comptez tellement pour moi.

A mes plus vieux amis, Damien, Miguel, Ninnin et Aurélie, Thomas et Catherine (et tous les autres !) je vous dois beaucoup, à vos cotés je me sens bien, merci pour votre soutien et compréhension durant ces longues études. Je vous adore!!! PS : Catherine, arrête l'élevage de poules, PASSE TA THESE !!!!

A Djun's, mon fidèle compagnon de galère, une petite dédicace spéciale pour toi et toutes tes qualités que je suis la seule à reconnaître ☺.

A toute ma grande famille, j'espère que ce travail vous rendra fiers.

A ma Tati, merci pour ton soutien, ta proximité et ta compréhension... c'est si important de pouvoir se confier à quelqu'un qui est passé par là !

A mes grands-parents que j'aime si fort. Je vous remercie pour tous ces précieux moments passés à vos cotés. Merci de croire en moi !

A mes parents que j'aime plus que tout, merci, sans vous rien n'aurait été possible.

A mes grosses dindes de sœurs, Anne-Sophie, Manon et Margaux, merci pour votre soutien. Merci de me supporter depuis toutes ces années. On pourra toujours compter les unes sur les autres. Notre fratrie est ma plus grande richesse. A tous nos moments partagés. Merci Anne-Sophie pour ta précieuse aide pour la pagination de ce travail ☺. A mon beau-frère, Jérémy qui prend soin de ma petite soeur.

A Pascal, la vie à tes cotés est un régal! Merci pour ta bonne humeur, ta patience et ta compréhension. A tous nos projets à venir! Je t'aime.

A Clémence, mon rayon de soleil, tu rends tous les jours notre vie plus belle...

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.
Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS.....	12
RESUME	13
1. ETAT DE LA QUESTION	14
1.1. La prostate.....	14
1.1.1. Embryologie	14
1.1.2. Anatomie.....	14
1.1.3. Fonction	15
1.1.4. Histologie.....	15
1.2. L'adénocarcinome prostatique.....	16
1.2.1. Épidémiologie	16
1.2.2. Facteurs de risque	17
1.2.3. Diagnostic.....	18
1.2.4. Histopathologie.....	19
1.2.5. Traitements.....	21
1.3. Histoire naturelle du cancer de la prostate	25
1.4. Tissu adipeux et cancer de la prostate	26
1.4.1. Fonctions du tissu adipeux.....	26
1.4.2. Rôle potentiel dans le développement et la progression du cancer.....	26
1.5. La transition épithélio-mésenchymateuse	28
1.5.1. Modifications cellulaires de la transition épithélio-mésenchymateuse et gènes cibles	29
1.5.2. Contrôle de la transition épithélio-mésenchymateuse	30
1.5.3. Rôle des modifications épigénétiques dans la transition épithélio-mésenchymateuse	31
1.5.3.1. Méthylation de l'ADN.....	32
1.5.3.2. Modification des histones.....	32
1.5.3.3. microARN.....	33
2. OBJECTIF	34
3. MATERIELS ET METHODES.....	35
3.1. Patients et tissus	35
3.2. Tissue microarray.....	36
3.2.1. Technique	36
3.2.2. Construction des blocs de TMA.....	37
3.3. Marquages immunohistochimiques.....	37
3.3.1. Anticorps utilisés.....	38
3.3.2. Interprétation	38
3.4. Analyses statistiques.....	39
4. RÉSULTATS.....	40
4.1. Expression des marqueurs aux premières étapes de progression du cancer	40
4.2. Expression des marqueurs dans les cellules tumorales en fonction de la localisation intra-prostatique et extra-prostatique	41
4.3. Corrélation des marqueurs entre eux	42
4.4. Expression des marqueurs et caractéristiques anatomo-cliniques.....	42
4.5. Récapitulatif de l'évolution des marqueurs de la TEM au cours de la progression de l'adénocarcinome de la prostate	44

5. DISCUSSION	49
5.1. EZH2, Zeb1 et modifications d'histones associées.....	49
5.2. Evolution des marqueurs aux premières étapes de la progression tumorale	50
5.3. Expression des marqueurs en fonction du contact avec le TAPP	51
5.4. Caractéristiques anatomo-cliniques et marqueurs de la transition épithélio- mésenchymateuse	53
6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	54
BIBLIOGRAPHIE	55

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1	20
Figure 2	25
Figure 3	29
Figure 4	31
Figure 5	36
Figure 6	37
Figure 7	45
Figure 8	46
Figure 9	47
Figure 10	48
Figure 11	48
Table 1	23
Table 2	30
Table 3	36
Table 4	38
Table 5	40
Table 6	41
Table 7	42
Table 8	42
Table 9	43
Table 10	43
Table 11	44

LISTE DES ABREVIATIONS

5HMC : 5-hydroxy-méthyl-cytosine
5MC : 5-méthyl-cytosine
Ac: Anticorps
ADN : Acide Désoxyribonucléique
ARN : Acide Ribonucléique
Ag: Antigène
AG: Acide Gras
BNV: Bandelettes Neuro-Vasculaires
CaP: Carcinome Prostatique
EZH2 : Enhancer of zeste homolog 2
GST: Gène Suppresseur de Tumeur
H3K27me: Méthylation de la lysine 27 de l'histone 3
H3K27ac: Acétylation de la lysine 27 de l'histone 3
HAT: Histone Acetyl Transferase
HDAC: Histone DésACétylase
HES: Hématoxyline-Eosine-Safran
Il-6 : Interleukine 6
IMC: Indice de Masse Corporel
IRM: Imagerie par Résonnance Magnétique
MEC : Matrice extra-cellulaire
MMP: Matrix MetalloProtease
PIN: Néoplasie Intra épithéliale Prostatique
PINHG: Néoplasie Intra épithéliale Prostatique de Haut Grade
PSA: Antigène Prostatique Spécifique
RA: Récepteurs aux Androgènes
TA: Tissu Adipeux
TAPP: Tissu Adipeux Péri-Prostatique
TEM: Transition Epithélio-Mésenchymateuse
TMA: Tissue Microarray
TNF- α : Tumoral Necrosis Factor alpha
TNM: *Tumor, Node, Metastasis*
ZEB1 : Zinc finger E-box homeobox

RESUME

Introduction : Le microenvironnement tumoral joue un rôle essentiel dans le développement du cancer prostatique (CaP). La progression tumorale est induite par des phénomènes d'invasion et de migration, sous la dépendance de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), dont le facteur de transcription clé est Zeb1, et dont les gènes cibles sont régulés par des modifications épigénétiques. Lors de la progression du CaP, les cellules tumorales sont au contact du tissu adipeux péri-prostatique (TAPP). L'hypothèse est que le contact entre le TAPP et les cellules tumorales pourrait modifier l'expression de gènes impliqués dans la TEM. Notre but est d'étudier l'évolution de marqueurs de la TEM (dont Zeb1) et des marques épigénétiques associées dans les différentes phases de développement du CaP.

Matériels et méthodes : Nous avons évalué en immunohistochimie sur tissu microarray l'expression de Zeb1, de l'histone méthyl transférase EZH2, des marques H3K27me3, H3K27ac, 5-méthylcytosine (5MC), 5-hydroxyméthylcytosine (5HMC) et de Ki67 (marqueur de prolifération). Trois groupes de tissus ont été analysés : prostate normale (n=54), néoplasie intra-épithéliale de haut grade (PINHG) (n=81), et CaP (n=59). Les tissus tumoraux proviennent de prostatectomies réalisées pour cancers pT3. Dans ce groupe, 2 zones tumorales sont analysées par patient : l'une en intra-prostatique et l'autre en extra-prostatique (contact avec le TAPP). Le PSA, le score de Gleason et l'indice de masse corporelle des patients ont été recueillis.

Résultats : Dans les PINHG par rapport à la prostate normale, les expressions de EZH2 et H3K27me3 sont augmentées sans modification d'expression de Zeb1 ni d'H3K27ac. Dans les CaP (intra-prostatiques), les expressions de Zeb1, EZH2 et H3K27me3 sont augmentées, comparé aux PINHG. En localisation extraprostatique comparé à la localisation intraprostatique, les expressions de Zeb1 et de Ki67 sont augmentées, celles de H3K27ac et 5MC diminuées. Les expressions de Zeb1 et H3K27ac sont négativement corrélées, et celles d'EZH2 et de H3K27me3 sont positivement corrélées. Parmi les facteurs anatomo-cliniques, seul le PSA est significativement corrélé à l'expression de Zeb1.

Conclusion : Ces résultats suggèrent que l'expression d'EZH2 est un événement précoce de la progression tumorale et que la surexpression de Zeb1 associée à la perte d'H3K27ac, augmente lors du passage de la tumeur au contact du TAPP. De nouvelles études sont nécessaires pour identifier une relation de cause à effet entre le TAPP et les marqueurs de la TEM, et pour comprendre la fonction des composants du tissu adipeux dans la TEM et la progression tumorale.

Mots clés : Cancer, prostate, transition épithélio-mésenchymateuse, EZH2, Zeb1, histone, épigénétique, tissu adipeux

1. ETAT DE LA QUESTION

1.1. La prostate

1.1.1. Embryologie

L'épithélium prostatique se développe à partir d'évaginations endoblastiques de la face postérieure de l'urètre prostatique pendant la 12^{ème} semaine, sous la dépendance des androgènes. Le stroma et le muscle lisse se développent à partir du mésoblaste environnant. La glande devient active à partir de la 15^{ème} semaine et englobe à ce stade, les canaux éjaculateurs et l'utricule prostatique ainsi que l'urètre.

1.1.2. Anatomie

La prostate est un organe ovoïde, qui pèse 15 à 20 g chez l'adulte jeune. Sa forme est conique, comparée à celle d'une châtaigne. Sa consistance est ferme.

La prostate est située sous la vessie, en avant de l'ampoule rectale et en arrière du pubis. Elle entoure le col de la vessie et l'urètre proximal (prostatique) qui devient l'urètre membraneux à l'apex. Sur la face postérieure de l'urètre prostatique, à la jonction entre le tiers moyen et le tiers distal, les canaux éjaculateurs viennent s'insérer au niveau du *veru montanum*.

La base, située au pôle supérieur, est convexe. Elle répond au col vésical en avant. La face antérieure est légèrement convexe, située en arrière de la symphyse pubienne. La face postérieure, plane, est inclinée de haut en bas et d'avant en arrière. Elle est accolée au rectum par l'intermédiaire du septum recto-vésical de Denonvillier (compris entre le cul de sac de Douglas et le centre tendineux du périnée). Les faces latérales sont au contact des muscles élévateurs du rectum. L'apex discrètement pointu, se trouve au pôle inférieur, en contact étroit avec le sphincter de l'urètre et le diaphragme urogénital.

En 1981, McNeal établit le modèle des quatre zones constituant la prostate (1):

- la zone centrale située autour des canaux éjaculateurs,
- la zone de transition composée de deux lobes situés latéralement par rapport à la partie proximale de l'urètre prostatique. Elle est à l'origine du développement de l'hypertrophie bénigne de la prostate et de 20% des cancers,
- la zone périphérique se situe à la partie postérieure de la prostate et constitue l'ensemble de l'apex. Elle est à l'origine de 80% des cancers,
- la zone fibro-musculaire antérieure, dépourvue de glande, est en continuité avec les fibres du col vésical et du sphincter strié de l'urètre.

Les bandelettes neurovasculaires (BNV) bordent les faces latérales. C'est dans les BNV que transitent de nombreux vaisseaux et nerfs sympathiques ou parasympathiques impliqués dans l'érection.

1.1.3. Fonction

La prostate a pour rôle de sécréter et stocker le liquide séminal. Par ces caractéristiques contractiles, elle participe à l'expulsion du sperme lors de l'éjaculation. Les androgènes, principalement la testostérone régulent le fonctionnement de la prostate. Ils sont également impliqués dans sa croissance et son développement (2). Ainsi la castration de l'homme adulte conduit à l'atrophie de la prostate. Le testicule, grâce aux cellules de Leydig, sécrète la testostérone sous le contrôle de la LH (hormone lutéinisante) hypophysaire. C'est dans les cellules prostatiques que la testostérone est métabolisée en dihydrotestostérone par une enzyme : la 5 alpha-réductase. La dihydrotestostérone est l'androgène intracellulaire le plus actif. Sous l'influence des androgènes, les cellules prostatiques sécrètent un antigène prostatique spécifique (PSA) qui permet de liquéfier le fluide gélatineux à l'éjaculation. Cet antigène est produit en grande quantité par les cellules carcinomateuses. Le taux sanguin de PSA est utilisé pour le dépistage et le suivi des cancers prostatiques.

1.1.4. Histologie

La prostate est constituée de glandes tubulo-acineuses ramifiées, dispersées dans un stroma conjonctif fibro-musculaire. Elle est cernée par une condensation de fibres musculaires lisses

réalisant la capsule. Les glandes déversent leur matériel de sécrétion dans l'urètre prostatique par l'intermédiaire de canaux. Le stroma est composé essentiellement de fibroblastes et de cellules musculaires lisses et est parcouru par un réseau nerveux et vasculaire.

L'épithélium glandulaire est composé de deux couches de cellules :

- la couche basale est constituée de cellules épithéliales, cubiques ou aplaties, parfois difficilement visibles en coloration standard. Elles expriment les cytokératines de haut poids moléculaire et la P63, ce qui permet de les identifier à l'examen immunohistochimique. Ces cellules sont hétérogènes, constituées de cellules souches (extrêmement minoritaires), de cellules basales et de cellules intermédiaires. La quasi-totalité des cellules de la couche basale n'expriment pas les récepteurs aux androgènes (RA) et donc ne sécrètent pas de PSA,
- la couche luminale est formée de cellules sécrétoires présentant un aspect variable selon le degré de stimulation androgénique (cubique ou cylindrique haut). Elles sont responsables de la sécrétion du PSA sous dépendance hormonale, car elles possèdent le RA. Le produit de sécrétion se condense parfois dans la lumière des glandes en masses amorphes : les corps amyloïdes,
- le plus, des cellules neuroendocrines, peu nombreuses, sont dispersées entre la couche basale et la couche luminale de la glande. Elles expriment les marqueurs endocriniens comme la somatostatine, la neurone spécifique enolase (NSE) et la chromogranine A, mais pas le RA. Elles agissent de façon paracrine sur la prolifération et le développement des cellules environnantes(3).

1.2. L'adénocarcinome prostatique

1.2.1. Épidémiologie

Le cancer de la prostate (CaP) est le cancer masculin le plus fréquent en France. Son incidence est de plus de 53000 nouveaux cas estimés en 2012 (source INCa 2015), loin devant les cancers du poumon et les cancers colorectaux. L'incidence est très faible avant 50 ans et augmente progressivement avec l'âge. 70% des CaP surviennent après 65 ans, l'âge moyen du diagnostic est de 70 ans. L'évolution de l'incidence des cancers de prostate peut s'expliquer en partie par l'augmentation du dépistage par dosage du PSA et le vieillissement de la population (4).

Le CaP représente la 3^{ème} cause de décès par cancer (8876/an) juste derrière le cancer colorectal (9200/an) et loin derrière le cancer du poumon (21000/an). Le taux de décès est relativement stable, avec une tendance à la diminution, et une survie à 5 ans de 80% en moyenne (source INCa 2015).

1.2.2. Facteurs de risque

L'étiologie du CaP est multifactorielle, avec vraisemblablement des interactions entre des facteurs génétiques de susceptibilité, les hormones stéroïdiennes et des déterminants environnementaux.

Les facteurs de risques génétiques

Origine ethnique : Les hommes noirs (originaires d'Afrique sub-saharienne) ont un risque plus élevé que les hommes caucasiens de développer un carcinome prostatique alors que les asiatiques ont le risque le plus faible. Chez les afro-américains, les CaP se développent à un âge plus jeune et sont plus agressifs. En France, on constate également une variation en fonction des départements : les plus forts taux d'incidence sont observés en Guadeloupe et en Martinique où la majorité de la population est d'origine africaine sub-saharienne (5).

Antécédents familiaux : Il existe des formes d'adénocarcinome prostatique à prédisposition héréditaire. Elles sont rares (<5%), caractérisées par de nombreux cas familiaux de cancers de prostate (plus de 3 cas au premier degré ou 2 cas avant 50 ans). Ces formes font rechercher une anomalie génétique et relèvent du conseil génétique (6).

Les formes familiales se définissent par au moins deux cas chez les apparentés au premier degré, et constituent environ 20% des patients atteints d'un cancer de la prostate CaP.

Les facteurs de risque environnementaux

Il a été suggéré que des facteurs alimentaires pourraient jouer un rôle dans le développement et la progression des CaP. Les études sur le sujet montrent des résultats mitigés quant à l'effet bénéfique de la consommation d'antioxydants (vitamines C, D, E et le sélénium) (7). *In vitro*, le lycopène (présent dans les tomates), réduit de manière significative la croissance des cellules tumorales mais les études réalisées chez l'homme n'ont pas permis de mettre en évidence un effet protecteur de sa consommation. Chez la souris, la curcumine

ralentit la croissance des tumeurs prostatiques et augmente la sensibilité aux chimio- et radiothérapies (8).

Les lipides présents dans le tissu adipeux (TA) (essentiellement les acides gras (AG)) reflètent la prise alimentaire passée (9). Il a été suggéré que la nature et la quantité de lipides consommés auraient une influence sur l'agressivité des cancers de prostate. La consommation d'AG saturés a été associée à un risque plus important de développer un CaP agressif (10,11). Par contre, certaines études suggèrent que la consommation d'AG polyinsaturés oméga 3 pourrait avoir un effet protecteur (11). De même, un fort taux de cholestérol sanguin est associé à un risque plus élevé de progression du cancer de prostate, le cholestérol étant impliqué dans la synthèse des stéroïdes et dans la voie de l'inflammation (11).

1.2.3. Diagnostic

Au stade précoce, le cancer de la prostate est asymptomatique et est suspecté le plus souvent sur une élévation du taux sérique de PSA. Le taux de survie chez les patients diagnostiqués précocement est très bon. C'est pourquoi l'Association Française d'Urologie recommande un dépistage annuel par toucher rectal couplé au dosage du PSA chez tous les patients de 50 à 75 ans dès lors que l'espérance de vie est supérieure à 10 ans (12).

Le PSA est une glycoprotéine sécrétée par les cellules luminales de la prostate dont le rôle normal est de fluidifier le liquide séminal. L'augmentation du taux sérique dans la grande majorité des CaP, témoigne d'une production en grande quantité de cette protéine par les cellules tumorales. Le dosage sanguin des PSA est actuellement le test de référence pour le dépistage. Le seuil de normalité du taux de PSA varie selon le test utilisé. La norme la plus communément admise par les laboratoires est inférieure à 4 ng /mL. Avec cette valeur seuil, la sensibilité du PSA pour détecter un cancer est de 70% et sa spécificité de 90% (12). En effet l'élévation du taux de PSA n'est pas spécifique du cancer. Elle peut être observée dans l'adénome et les lésions inflammatoires, c'est pourquoi certains auteurs préconisent de suivre le rapport PSA libre / PSA lié aux protéines du sérum. Le PSA libre est diminué en cas de cancer de la prostate. La vélocité du PSA est également considérée comme informative, une augmentation de 0,75 ng /mL par an fait discuter la réalisation de biopsie même si le taux reste sous 4 ng /mL (12).

La confirmation du diagnostic ne s'effectue que par les biopsies prostatiques. Les biopsies doivent être multiples et bilatérales. Elles permettent de préciser le caractère uni ou bilatéral

du cancer, le pourcentage de cancer sur chaque biopsie, le score de Gleason et une éventuelle extension extra-prostatique. Ces éléments histopronostiques sont nécessaires à la prise en charge du patient. Les biopsies sont réalisées par voie transrectale, guidées par une échographie endorectale, en utilisant une aiguille fine permettant de récupérer des carottes biopsiques. Dix à douze biopsies sont en général réalisées, permettant une cartographie précise de la glande prostatique. Les prélèvements sont ensuite adressés dans des pots séparés en vue de l'analyse anatomopathologique. Le compte rendu anatomopathologique est standardisé avec un certain nombre d'items indispensables guidant la décision thérapeutique.

1.2.4. Histopathologie

Les cancers prostatiques sont dans 90% des cas des adénocarcinomes acineux développés à partir des cellules luminales sécrétoires. Ils sont le plus souvent multifocaux et prennent naissance dans la zone périphérique (80%). Les adénocarcinomes prostatiques font preuve d'un grand polymorphisme architectural et cytologique, allant des formes très bien différenciées mimant des lésions bénignes à des formes totalement indifférenciées.

Les facteurs histopronostiques sur biopsies

- Score de Gleason :

Le score de Gleason permet de grader les cancers de la prostate selon leur différenciation (13). Il est à ce jour le plus communément utilisé pour déterminer le degré de différenciation des adénocarcinomes prostatiques. En 2005, les recommandations de l'ISUP (International Society of Urological Pathology) ont permis de mettre à jour et de modifier le score de Gleason, le rendant encore plus prédictif (14). Le score de Gleason est établi en attribuant à la tumeur un grade de 1 à 5, le grade 1 étant le plus différencié et le grade 5 le plus indifférencié (Figure 1).

Sur les biopsies, le score est obtenu par addition du grade le plus représenté et du grade le plus défavorable, alors que sur la pièce de prostatectomie, c'est la somme des deux grades les plus représentés qui est réalisée. Si un seul grade tumoral est représenté dans la tumeur, on le double. Il est recommandé de réaliser le score de Gleason biopsie par biopsie.

Le score de Gleason est un puissant élément pronostique des adénocarcinomes prostatiques, et il est corrélé au stade d'extension tumorale.

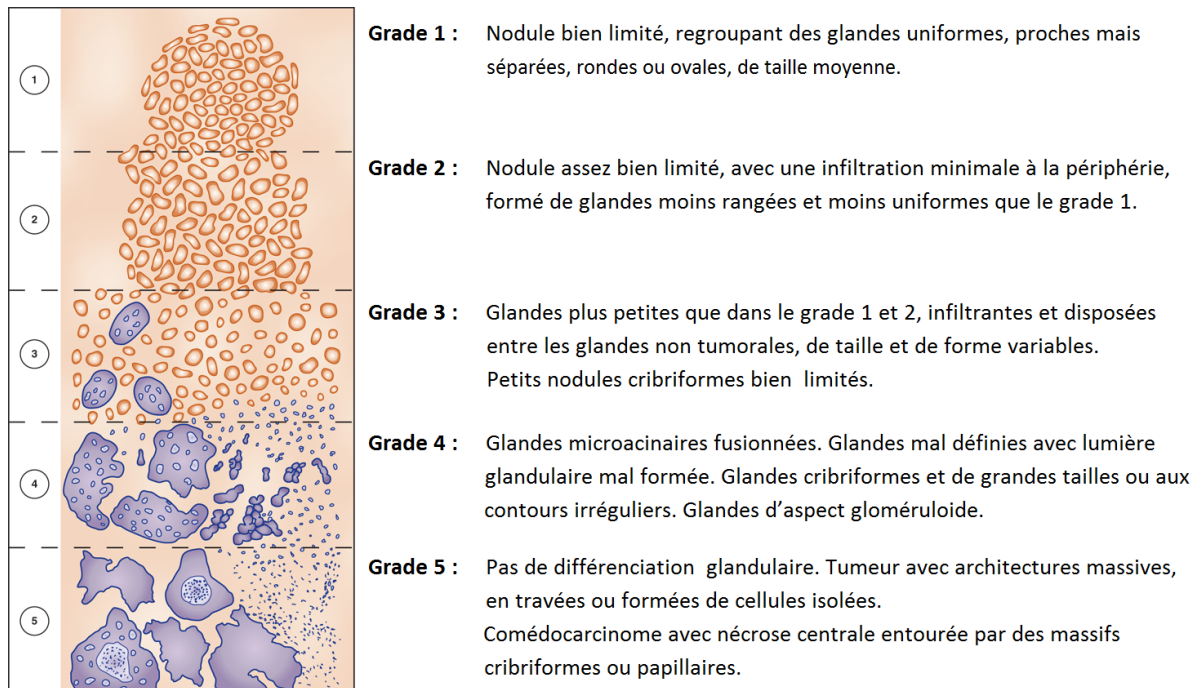


Figure 1

Système de classification de Gleason modifié (ISUP 2005)

- Infiltrations péri-nerveuses :

Pour certains auteurs, la présence d'infiltrations péri-nerveuses sur les biopsies prostatiques est un facteur prédictif d'extension extra-prostatique (15).

- Nombre de biopsies positives et pourcentage de cancer sur les biopsies :

La longueur totale de cancer sur les biopsies ainsi que le nombre de biopsies tumorales sont corrélés à une récurrence tumorale plus importante (16).

Stade clinique et évaluation par l'IRM :

Le toucher rectal permet d'apprécier le volume de la prostate, sa consistance et la régularité de ses limites. Les cancers se développent principalement au dépend de la zone périphérique postérieure et sont donc accessibles à la palpation.

L'IRM est un examen de choix pour l'évaluation de l'atteinte extra-prostatique. Elle permet de suivre avec précision le contour de la prostate et d'apprécier le dépassement capsulaire ou l'envahissement des vésicules séminales.

Classification D'Amico (17) :

Il s'agit d'une classification définissant des groupes à risque, encore largement utilisée en pratique pour les décisions thérapeutiques.

- Risque faible : PSA \leq 10 ng /mL
 Et score de Gleason \leq 6
 Et stade clinique T1c ou T2a
- Risque intermédiaire : PSA entre 11 et 20 ng /mL
 Ou score de Gleason = 7
 Ou stade clinique T2b
- Haut risque : PSA $>$ 20 ng /mL
 Ou score de Gleason de 8 à 10
 Ou stade clinique T2c

1.2.5. Traitements

Plusieurs stratégies thérapeutiques peuvent être proposées au patient à l'issue d'une réunion de concertation pluridisciplinaire. Les stratégies thérapeutiques se définissent en fonction (12):

- des caractéristiques du cancer : stade TNM et classification D'Amico pour les tumeurs localisées,
- des caractéristiques de la prostate (volume notamment),
- des caractéristiques du patient (âge, comorbidités, existence de troubles mictionnels),
- des préférences du patient (en particulier s'il existe une alternative thérapeutique au rapport risque-bénéfice équivalent).

Les traitements différés :

Deux concepts : la surveillance active et l'abstention surveillance clinique. Le principe de la surveillance active consiste à ne débiter le traitement qu'en cas de signe d'évolution de la maladie. Elle est réservée à des tumeurs localisées à faible risque d'évolution (classification D'Amico) chez des patients dont l'espérance de vie est supérieure à 10 ans et permet de retarder le traitement local par chirurgie ou radiothérapie.

L'abstention surveillance clinique consiste à différer la mise en route du traitement (hormonothérapie à visée palliative) au moment où apparaîtront des symptômes. Elle se

discute en cas de tumeur localisée (risque faible ou intermédiaire) non agressive chez un patient âgé ou présentant des comorbidités importantes (espérance de vie inférieure à 10 ans) (12).

Traitement chirurgical, prostatectomie radicale:

La prostatectomie est réservée aux cancers de la prostate à un stade localisé. La limite d'âge retenue est 75 ans, discutée selon l'état physiologique du patient et ses comorbidités. Elle est théoriquement réservée aux cancers cliniquement localisés de risque faible ou intermédiaire selon la classification D'Amico, mais actuellement un certain nombre de patients à haut risque sont aussi opérés. En cas de risque élevé (et parfois intermédiaire), la prostatectomie doit être associée à un curage ganglionnaire étendu (ilio-obturateur bilatéral et iliaque interne et externe bilatéral). Les complications comprennent l'incontinence urinaire, les dysfonctions érectiles et les sténoses de l'anastomose vésico-urétrale. Le suivi est clinique et biologique, avec des dosages réguliers du PSA.

Les facteurs histopronostiques d'évolution après chirurgie, obtenus sur pièce opératoire sont :

- Le statut des limites d'exérèse :

L'évaluation des marges sur pièce opératoire est un critère histopronostique majeur. Le taux de marges positives varie suivant les études de 11% à 38% (12,18).

Lors de l'arrivée de la pièce de prostatectomie dans le service d'anatomopathologie, la pièce est badigeonnée à l'encre de Chine permettant ainsi d'évaluer le statut des marges chirurgicales, sur lame histologique. Le statut des marges est un facteur prédictif indépendant de progression même en cas d'extension extra-prostatique ou de haut grade (Gleason ≥ 7) (18).

- Le stade de progression tumorale : pTNM sur pièce opératoire :

Le système TNM repose sur l'extension tumorale locale, ganglionnaire et métastatique. Il faut différencier le stade clinique (cTNM) du stade anatomopathologique (pTNM). Ce dernier étant plus précis mais ne peut être déterminé que sur la pièce de prostatectomie. La dernière version de la classification TNM date de 2009 (tableau 1) (12).

- Le score de Gleason :

Le score de Gleason est établi sur pièce opératoire, chaque foyer tumoral devant être scoré séparément.

Table 1
Classification TNM 2009

Maladie cliniquement localisée	
pT0	Absence de tumeur identifiée après prostatectomie totale
pT1	Tumeur non palpable ou non visible en imagerie
pT1a	<5% du tissu réséqué
pT1b	>5% du tissu réséqué
pT1c	Découverte sur une biopsie prostatique en raison d'une élévation des PSA
pT2	Tumeur limitée à la prostate
pT2a	Atteinte de la moitié d'un lobe ou moins
pT2b	Atteinte de plus de la moitié d'un lobe sans atteinte de l'autre lobe
pT2c	Atteinte des deux lobes
Extension locale	
pT3	Extension extra-prostatique
pT3a	Extension extra capsulaire uni- ou bilatérale incluant le col vésical
pT3b	Extension aux vésicules séminales uni- ou bilatérale
pT4	Tumeur fixée en atteignant d'autres structures que les vésicules séminales
Ganglions régionaux	
N0	Absence de métastase ganglionnaire régionale
N1	Atteinte ganglionnaire(s) régionale(s)
Métastases à distance	
M0	Absence de métastase à distance
M1a	Atteinte de ganglions non régionaux
M1b	Atteinte osseuse
M1c	Autres sites

La radiothérapie conformationnelle :

La radiothérapie peut-être utilisée comme traitement curatif ou en traitement adjuvant après récurrence locale post-prostatectomie. Les complications sont essentiellement les cystites ou rectites radiques (12).

La curiethérapie interstitielle :

La curiethérapie consiste en l'implantation intra-prostatique de grains d'iode radioactifs par voie transpérinéale, sous contrôle endoscopique endorectal.

Elle est réservée aux tumeurs de bas risque ou de risque intermédiaire (12).

Les traitements focaux :

Ce sont des techniques récentes dont la plupart sont encore en cours d'évaluation. Citons entre autre les ultrasons focalisés de haute intensité, la cryothérapie, la photothérapie dynamique et le laser interstitiel (12).

L'hormonothérapie :

L'hormonothérapie est le traitement de première ligne en cas de CaP métastatique. Il ne s'agit pas d'un traitement à visée curatrice. L'objectif du traitement hormonal est d'empêcher l'activation des RA : soit en inhibant la production d'hormone (testostérone) soit en agissant directement sur les RA.

Pour ce faire, il existe plusieurs solutions possibles :

- les agonistes et antagonistes de la LH-RH ciblent l'axe hypothalamo-hypophysaire et entraînent une diminution du taux de testostérone,
- les anti-androgènes ont une action directe sur les RA. Ils sont soit stéroïdiens et ont une action centrale et périphérique, soit non stéroïdiens et leur action est uniquement périphérique.

Les patients développent une résistance à la castration entre 18 mois et 3 ans après le début du traitement.

De nouvelles hormonothérapies par inhibition de synthèse des androgènes (acétate d'abiratéron), ou par blocage de l'activation des récepteurs aux androgènes (enzalutamide), sont maintenant disponibles pour les cancers en échappement thérapeutique sous anti-androgéniques « classiques » (19).

Les chimiothérapies :

En cas de cancer métastatique résistant à la castration, un traitement par chimiothérapie peut être envisagé. Son indication est indiscutable dans les formes symptomatiques. Le docétaxel est la chimiothérapie de première ligne actuellement recommandée. En cas de reprise évolutive, d'autres taxanes peuvent être utilisés (cabazitaxel) (12).

1.3. Histoire naturelle du cancer de la prostate

Dans le développement du CaP, on distingue schématiquement quatre phases évolutives :

- Le développement de lésions précancéreuses : la néoplasie intra-épithéliale prostatique (PIN). La PIN de haut grade (PINHG) équivaut au stade de carcinome in situ.
- Le stade de tumeur infiltrante localisée correspond à une disparition de l'assise basale épithéliale, avec une infiltration du microenvironnement prostatique. Cela se traduit biologiquement par l'augmentation du PSA.
- Le stade de tumeur localement avancée correspond au dépassement de la capsule et à l'infiltration du tissu adipeux péri-prostatique (TAPP).
- Le stade métastatique avec une colonisation préférentielle des ganglions lymphatiques et du tissu osseux.

Le CaP est extrêmement hétérogène dans son potentiel évolutif. Certains d'entre eux vont progresser lentement, ne nécessitant pas forcément de traitement immédiat, d'autres vont avoir un potentiel d'agressivité plus marqué avec une progression métastatique rapide (figure 2).

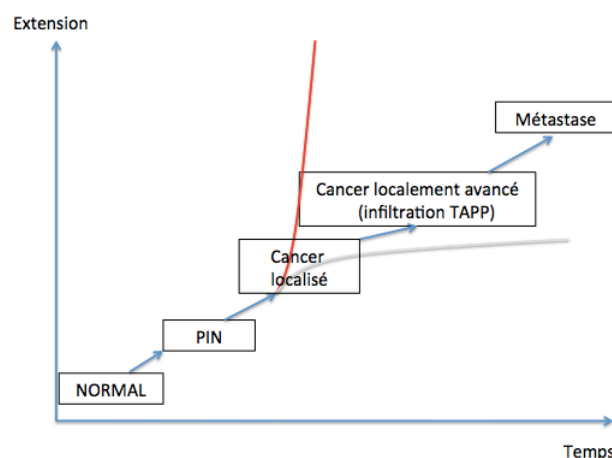


Figure 2
Phase de progression et potentiel d'agressivité
(Indolent : courbe grise, agressif : courbe rouge)

Dès la phase de cancer localement avancé, la tumeur se retrouve dans un microenvironnement adipeux : tout d'abord au contact du TAPP, puis en cas de métastase avec le TA des ganglions et de la moelle osseuse.

1.4. Tissu adipeux et cancer de la prostate

1.4.1. Fonctions du tissu adipeux

Chez l'homme, il existe deux types de TA. Le TA brun est présent en grande quantité chez le nourrisson et joue un rôle clé dans la thermogenèse. Le TA blanc constitue la principale réserve d'énergie de l'organisme (stocke l'énergie sous forme de triglycérides et la libère sous forme d'AG). Il se retrouve principalement dans les territoires sous cutanés et viscéraux. Il est constitué d'adipocytes matures mais aussi de la fraction stromal-vasculaire incluant des cellules souches pro-génitrices, des lymphocytes, des macrophages et des cellules endothéliales. Le TA assure une fonction de stockage et une fonction de sécrétion. Les AG stockés sous forme de triglycérides dans le TA reflètent la prise alimentaire passée (9). Les AG libres issus de la lipolyse sont libérés dans la circulation. Le TA synthétise également d'autres facteurs cette fois peptidiques, appelés adipokines, qui agissent soit à distance soit localement de façon autocrine ou paracrine. Ces facteurs interviennent dans le contrôle du métabolisme lipidique, dans l'angiogenèse et l'inflammation. Le TA viscéral est métaboliquement plus actif que le TA sous cutané avec une sécrétion de facteurs de croissance plus importante (20).

1.4.2. Rôle potentiel dans le développement et la progression du cancer

Depuis quelques années, certaines études suggèrent un rôle essentiel du TA dans la progression tumorale (21–23). Anatomiquement, la prostate est en contact étroit avec du tissu adipeux. Il a été suggéré que les patients ayant une forte densité de TAPP ont des cancers de la prostate plus agressifs, mais les mécanismes liant le microenvironnement adipeux et le CaP restent encore mal connus (24,25). Les études moléculaires réalisées sur le TAPP sont peu nombreuses et très récentes. Cependant, on a pu observer *in vitro* que les cellules carcinomateuses de la prostate influencent l'activité métabolique du TAPP et que le TAPP modifie l'agressivité du CaP (26–28).

Obésité :

Les hommes obèses sont plus susceptibles de développer des métastases ou de mourir de CaP par rapport aux non obèses et sont plus à risque de progression après prostatectomie radicale (29).

Adipokines et facteurs de croissance :

Le microenvironnement tumoral interagit avec les cellules tumorales de manière dynamique par la production de nombreuses protéines regroupées sous le nom d'adipokines avec soit un potentiel oncogénique comme la leptine, le VEGF (vascular endothelial growth factor), le TNF- α (tumoral necrosis factor alpha), l'interleukin-6 (Il-6), soit un potentiel protecteur comme l'adiponectine (24). La nature de la sécrétion des adipocytes varie en fonction de la localisation (TA viscéral ou TA sous-cutané) et du statut pondéral.

L'IL-6 est une cytokine qui n'est pas exclusivement sécrétée par les adipocytes mais il a été montré que dans la prostate, sa concentration est liée au taux d'adiposité. Elle intervient dans de nombreux processus comme l'apoptose, la prolifération et la différenciation tumorale. Des études *in vitro* ont montré que le TAPP mis en culture avec des cellules tumorales de la prostate augmente sa sécrétion d'adipokines, en particulier l'Il-6 (26). Un taux élevé d'Il-6 crée un environnement favorable au développement des CaP agressifs (21). La présence d'un taux plus élevé d'Il-6 peut induire la différenciation neuroendocrine, la production intra-prostatique d'androgènes et l'activation du récepteur des androgènes (30,31).

La leptine est produite essentiellement par les adipocytes. Chez les patients obèses, le taux sérique de leptine est significativement plus élevé. Il a été montré qu'un taux élevé de leptine était associé à la progression de nombreux cancers dont celui de la prostate. La leptine est capable d'activer de nombreuses voies de signalisation responsables de la prolifération tumorale (32).

Le TNF- α est un médiateur de l'inflammation sécrété entre autre par les adipocytes, qui entraîne une résistance à l'apoptose et induit la TEM (transition épithélio-mésenchymateuse) (33). Inversement, l'adiponectine semble avoir un effet protecteur. Elle module la voie de l'AMPK (AMP-activated protein kinase), agissant comme un inhibiteur endogène direct de l'inflammation, de l'angiogenèse et de la prolifération des tumeurs. On observe une réduction de la production d'adiponectine par le TAPP au contact des cellules tumorales (34).

Tissu adipeux et hormones :

Dans le TA, la testostérone est convertie en oestrogènes par l'aromatase. Les facteurs augmentant l'activité de l'aromatase sont l'âge, l'obésité, l'insuline et les gonadotropines (29). Les oestrogènes ont été associés au développement et à la progression du cancer de la prostate (35).

Facteurs lipidiques :

La communication entre les facteurs lipidiques libérés par les adipocytes et les cellules tumorales a bien été évaluée dans le cancer de l'ovaire. Les métastases du cancer de l'ovaire sont le plus souvent retrouvées dans l'épiploon, constitué de TA. En présence de cellules cancéreuses, les adipocytes libèrent significativement plus d'AG libres et de glycérol que des adipocytes en culture seuls, suggérant que les cellules cancéreuses provoquent la lipolyse des adipocytes qui agit comme pourvoyeur énergétique pour les cellules cancéreuses à leur contact (23). Dans le cancer de la prostate, seules quelques études *in vitro* ont suggéré un rôle de certains AG sur la croissance et la migration de lignées de cellules tumorales (36,37).

Au total, les études *in vitro* suggèrent fortement une communication entre le TA et les cellules tumorales, par voie endocrine ou paracrine, mais ces hypothèses n'ont jamais été vérifiées *in vivo* chez l'homme.

1.5. La transition épithélio-mésenchymateuse

La progression tumorale est induite par des phénomènes d'invasion des tissus et de migration cellulaire. Ces phénomènes sont associés à des modifications du phénotype cellulaire sous la dépendance d'un mécanisme appelé transition épithélio-mésenchymateuse. La TEM est un processus biologique réversible amenant une cellule à perdre ses caractéristiques épithéliales pour acquérir un phénotype mésenchymateux (figure 3)(38).

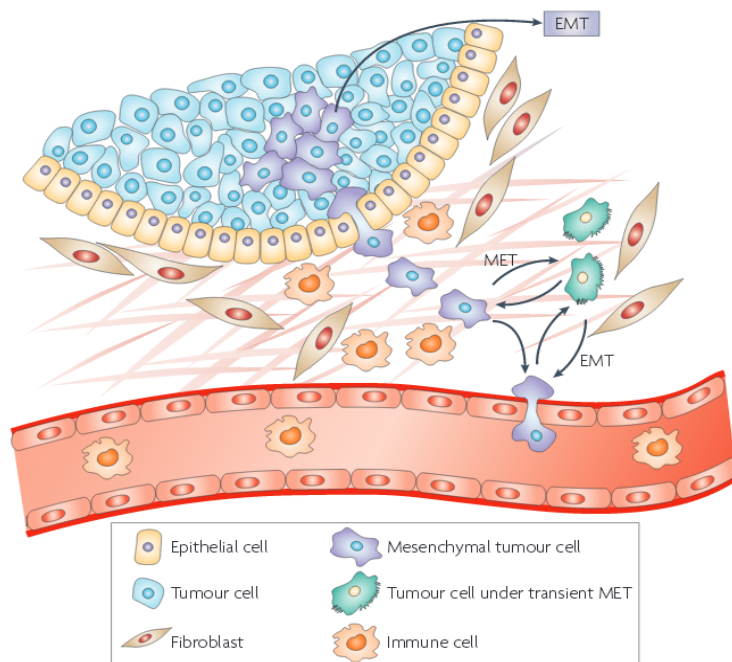


Figure 3

Induction de la transition épithélio-mésenchymateuse (d'après peinado et al)

1.5.1. Modifications cellulaires de la transition épithélio-mésenchymateuse et gènes cibles

Modification du cytosquelette :

La TEM est un processus dynamique caractérisé par la perte des jonctions intercellulaires, une perte de la polarité cellulaire, une réorganisation du cytosquelette d'actine avec formation de fibres de stress et la conversion des filaments intermédiaires d'un type épithélial (cytokératine) à un type mésenchymateux (vimentine). Ces changements phénotypiques permettent à la cellule d'augmenter ses capacités de migration et entraînent une résistance à l'apoptose. La TEM est associée à une évolution tumorale plus agressive (39).

Adhérences intercellulaires et cellules-matrice extracellulaire (MEC) :

L'E-cadhérine est la protéine impliquée dans les jonctions cellules à cellules. C'est une protéine transmembranaire activée par des liaisons Ca^{2+} . Elle se lie à l'E-cadhérine de la cellule adjacente pour permettre l'adhérence des cellules entre elles. Dans la cellule, elle interagit via son domaine carboxy-terminal avec la β -caténine. Lors de la TEM, l'expression du gène de la E-cadhérine (*Cdh1*) est diminuée au profit de la N-cadhérine (40).

Lyse de la MEC :

La progression et la migration des cellules tumorales nécessitent que les cellules se libèrent de la MEC en plus de perdre leur pouvoir d'adhésion entre elles. Les « matrix métalloprotéases » (MMPs) sont des enzymes responsables de la protéolyse, ce sont des facteurs de pro-invasion. Les MMPs sont sécrétées dans la MEC, en grande partie par les cellules stromales et en moindre mesure par les cellules tumorales. Les MMPs clivent les protéines de la MEC telles que la laminine ou le collagène, limitant leur affinité pour l'intégrine. Elles sont aussi capables de cliver la partie extracellulaire de la E-cadhérine inhibant ainsi les interactions cellules à cellules (41). La dégradation du milieu extracellulaire permet la libération de facteurs de croissance tels que TGF- β ou EGF favorisant la progression tumorale (42).

Table 2

Gènes cibles de la transition épithélio-mésenchymateuse

Marqueurs réprimés	Marqueurs surexprimés
E-cadhérine cytokératines desmoplakine	N-cadhérine vimentine fibronectine MMP2 MMP9

1.5.2. Contrôle de la transition épithélio-mésenchymateuse

Les phénomènes de TEM sont sous la dépendance de signaux extracellulaires provenant principalement du microenvironnement tumoral. Parmi les facteurs connus pour induire la TEM, on peut citer le TGF- β .

Sous l'influence de ces signaux extracellulaires, différentes voies de signalisation peuvent être activées, dont la voie SMAD, RAS/MAPK, ou PI3K/mTOR. Ces signaux extracellulaires sont également capables d'induire l'expression de certains microARN (miR) (38).

Ces voies de signalisation vont induire, au niveau du noyau, l'expression de facteurs de transcription, dont SNAIL, TWIST, SLUG, la plupart d'entre eux régulant le facteur de transcription clé de la TEM, Zeb1 (43,44). Zeb1 est un facteur de transcription à doigt de zinc qui en fonction du tissu peut agir comme un activateur ou comme un répresseur de la transcription. L'expression de Zeb1 peut être aussi régulée par certains microARN dont miR200 (45).

1.5.3. Rôle des modifications épigénétiques dans la transition épithélio-mésenchymateuse

La TEM est un phénomène réversible, ce qui implique une reprogrammation de l'expression génique et une régulation épigénétique sans modification du génome.

Le terme épigénétique est traditionnellement utilisé pour définir les mécanismes modifiant le phénotype cellulaire, sans modification de séquence du génome. Une définition plus récente implique « tous les changements dans l'expression des gènes qui sont héréditaires au cours de la mitose et/ou méiose et qui ne résultent pas de modification de la séquence d'ADN » (46). Les différents types de modifications épigénétiques sont la méthylation de l'ADN, les modifications des histones et les miR.

La régulation de l'expression des gènes cibles de la TEM semble être, du moins en partie, sous la dépendance de modifications épigénétiques.

Des études récentes ont montré que la mise sous silence du gène de la E-cadhérine est complexe et orchestrée par les enzymes modifiant les histones en entraînant la répression du promoteur de *Cdh1* (46). Des modifications épigénétiques ont été associées aux différentes phases de la TEM (figure 4).

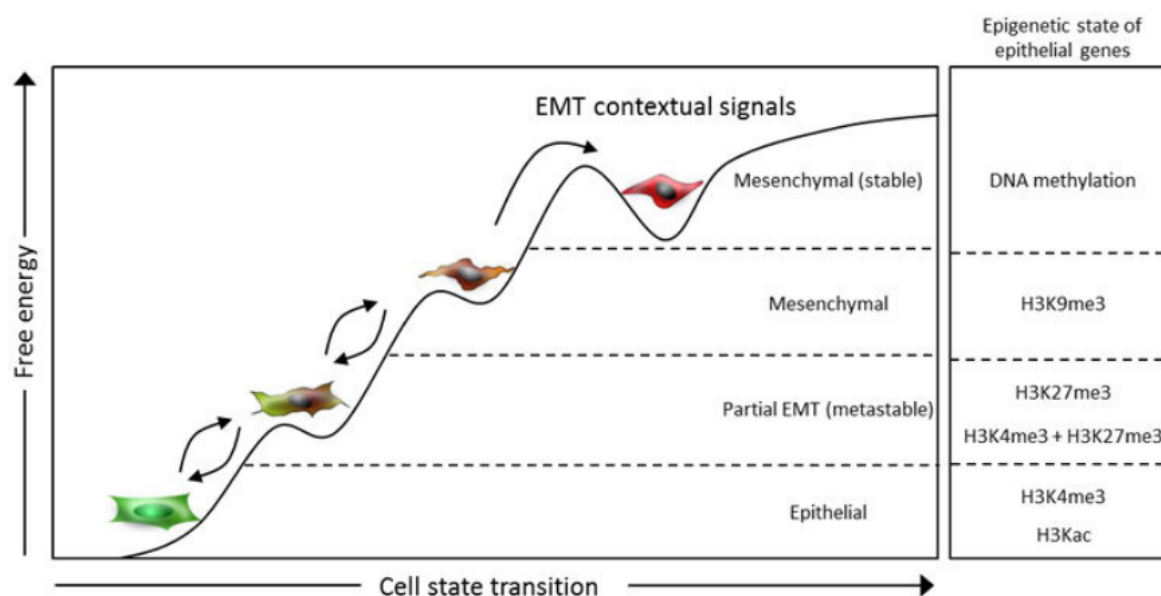


Figure 4

Modifications épigénétiques au cours des différentes étapes de la transition épithélio-mésenchymateuse (d'après Tam et al.)

1.5.3.1. Méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN s'effectue essentiellement sur les résidus cytosines (5-méthylcytosine) aux niveaux des îlots CpG. Les îlots CpG sont fréquemment retrouvés au niveau des promoteurs des gènes. Dans les cancers, l'hyperméthylation des îlots CpG des promoteurs de gènes suppresseurs de tumeur (GST) entraîne une répression transcriptionnelle de ces gènes. Dans le CaP, l'hyperméthylation ciblée des GST est observée à un stade précoce de la maladie (47,48). On observe également une perte de la méthylation des cytosines conduisant à une hypométhylation globale des cellules cancéreuses. Cela a pour conséquence une réexpression d'autres régions du génome (comme les séquences parasites et les gènes d'empreinte) et une augmentation de l'instabilité génétique. La désamination spontanée de la cytosine méthylée suivie d'une absence de réparation est souvent à l'origine de cette hypométhylation globale du génome de la cellule cancéreuse. Dans les cancers de la prostate, l'hypométhylation globale est un phénomène plus tardif, rare dans les tumeurs primitives, beaucoup plus fréquent dans les localisations métastatiques (48,49).

1.5.3.2. Modification des histones

Méthylation des histones :

La méthylation des histones touche surtout les lysines 4, 9 et 27. En fonction de la lysine méthylée, l'activité sera soit activatrice, soit répressive. La méthylation est beaucoup plus stable dans le temps que l'acétylation. La méthylation des lysines est catalysée par les méthyltransférases qui peuvent ajouter jusqu'à trois groupements méthyl sur un résidu lysine. La triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27me³) est catalysée par Enhancer of zeste homolog2 : EZH2 (polycomb lysine methyltransferase) conduisant à la répression de la transcription (50). Certains facteurs de transcription de la TEM contiennent des domaines de liaisons à l'ADN qui reconnaissent des séquences particulières de nucléotides (E-Box) sur certains gènes promoteurs. Par exemple, dans les cancers pancréatiques, SNAIL est associé au promoteur de *Cdh1* et interagit avec EZH2 et SUZ12 pour catalyser la triméthylation de H3K27 réduisant au silence la transcription du gène *Cdh1*. Un taux élevé d'EZH2 a été retrouvé dans les cancers agressifs de la prostate et cela est corrélé à la perte de l'expression de l'E-cadhérine (50).

Acétylation des histones :

L'acétylation des histones est souvent associée à une activation de la transcription. L'histone acétyltransférase (HAT) ajoute un groupement acétyl aux résidus lysines de l'histone H3, alors que les histone-désacétylases (HDACs) catalysent leur suppression. Le niveau global d'acétylation est maintenu par l'action antagoniste de ces deux enzymes. Les facteurs de transcription de la TEM, Zeb et SNAIL, recrutent les HDACs (46).

1.5.3.3. microARN

Les miR sont de petits ARN simple brin de 18 à 25 nucléotides, non codants transcrits à partir du génome dont l'expression est souvent dérégulée dans les cancers.

Les miR sont générés à partir de précurseurs dans le noyau des cellules et sont exportés dans le cytoplasme où ils rencontrent l'ARNmessenger (ARNm). Ils se lient à l'ARNm et permettent soit la dégradation soit le blocage de la traduction de celui-ci, afin de réguler l'expression des protéines cibles. Dans les tumeurs, les miR sont dérégulés entraînant l'inhibition de la synthèse de GST ou l'activation des oncogènes, faisant basculer la cellule dans le processus de carcinogénèse (51).

2. OBJECTIF

Au total, les études *in vitro* suggèrent que les phénomènes de la TEM (et les marques épigénétiques associées) ainsi que le microenvironnement adipeux pourraient être impliqués dans la migration et l'agressivité du CaP.

Notre travail a pour objectif d'étudier, « *in vivo* » chez l'homme, l'évolution des marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse et des marques épigénétiques associées, dans les différentes phases du développement et de la progression du cancer de la prostate, notamment lors du passage dans un microenvironnement adipeux.

3. MATERIELS ET METHODES

3.1. Patients et tissus

Nous avons étudié en immunohistochimie l'expression de marqueurs de la TEM sur le tissu prostatique au cours des différentes phases de progression du CaP. Ces tissus sont issus de prélèvements fixés en formol et inclus en paraffine.

Trois groupes de patients ont été étudiés :

-Groupe Prostate Normale (n=54) : tissu prostatique normal non associé au cancer, obtenu à partir de cysto-prostatectomies totales effectuées pour un cancer de la vessie,

-Groupe PINHG (n=81) : obtenu à partir de pièces de prostatectomie radicale,

-Groupe adénocarcinome prostatique (n=59) : obtenu à partir de pièces de prostatectomie radicale classées pT3 (c'est à dire envahissant le TAPP). A partir de ce groupe, deux localisations tumorales sont analysées :

- Les foyers de carcinome intra prostatique,
- Les foyers de carcinome en dépassement capsulaire au contact du TAPP.

A l'aide de la base de données anatomopathologiques du logiciel DIAMIC (Infologic-santé) et après consultation du dossier clinique des patients, nous avons recueilli les données suivantes :

- l'âge du patient,
- le score de Gleason,
- le grade tumoral le plus représenté,
- le taux de PSA préopératoire,
- l'indice de masse corporel (IMC).

Dans un second temps, nous avons relu les lames afin de sélectionner les zones d'intérêts qui ont été incluses en tissue micro-arrays (TMA).

Table 3

Caractéristiques clinico-pathologiques des patients étudiés

groupes	Normal N = 54	PIN N = 81	CaPintra N=59	CaPextra N = 59
âge médian (ans) (extrêmes)	64 (48 – 74)	62 (46 – 71)	66 (48-78)	
score de Gleason :				
≤ 6	-	-	3	
= 7			43	
≥ 8			13	
PSA médian (ng/mL) (extrêmes)	-	-	9 (2,56 – 45)	
IMC médian (kg/m ²) (extrêmes)	-	-	26,2 (18 – 34,5)	

3.2. Tissue microarray

3.2.1. Technique

La technique du TMA permet d'analyser sur une seule lame un grand nombre d'échantillon de tissus inclus en paraffine avec un même marqueur. Le bloc de TMA se construit à partir de blocs-donneurs, sur lesquels une zone d'intérêt est sélectionnée puis carottée en cylindre biopsique. Le cylindre sera ensuite inclus dans un bloc de paraffine vierge « receveur ». Le bloc receveur contient ainsi une série de cylindres prélevés sur différents patients, selon un plan précis. Pour se faire, nous avons utilisé un appareil dédié, semi-automatique, le Tissue Arrayeur *MTA Booster, Version 1.01, Alphélys*. Il est constitué de deux aiguilles à biopsie, dont le positionnement est motorisé et contrôlé par informatique. La première aiguille sert à forer le trou dans le bloc receveur et la seconde à placer le cylindre biopsique de l'échantillon sélectionné (figure 5).

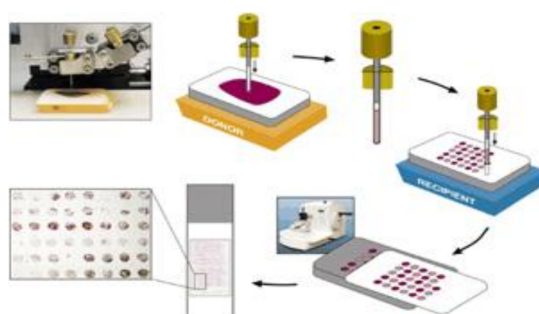


Figure 5

Réalisation d'un bloc de TMA

3.2.2. Construction des blocs de TMA

Les blocs de TMA ont été construits à partir des prélèvements de tissus prostatiques sélectionnés issus des différents groupes. Les zones d'intérêt ont été repérées par lecture des lames originelles, colorées en HES (hématoxyline-éosine-safran). Pour chaque cas, trois prélèvements des zones sélectionnées ont été réalisés sur les blocs donneurs et transférés vers le bloc receveur. Cela permet de tenir compte de l'hétérogénéité tumorale et pallier d'éventuels problèmes techniques (ciblages difficiles des petits foyers, perte de matériel à la coupe). Une fois terminé, le bloc de TMA a été placé dans une étuve à 37°C pendant une nuit, puis compressé à plat sous une charge de 3kg pendant une matinée. Des coupes sériées de 3 microns ont été effectuées à partir des blocs de TMA. Un contrôle morphologique par HES est réalisé et les autres lames sont utilisées pour l'étude immunohistochimique.

3.3. Marquages immunohistochimiques

Les techniques d'immunohistochimie permettent de mettre en évidence et de localiser un antigène (Ag) dans les cellules grâce à un anticorps (Ac) dirigé contre lui. Un Ac primaire est mis en contact avec les tissus à analyser. Cet Ac est reconnu par un Ac secondaire, lui-même lié, directement ou indirectement, à une molécule de biotine. Le système de détection composé de streptavidine et de peroxydase est ensuite appliqué sur la lame. La streptavidine est avide de la biotine, ce qui va permettre la liaison entre les Ac primaires et secondaires. La DAB (diaminobenzidine), substrat chromogène de l'enzyme peroxydase produit une réaction colorée sur le site de l'Ag cible reconnu par l'Ac primaire (figure 6).

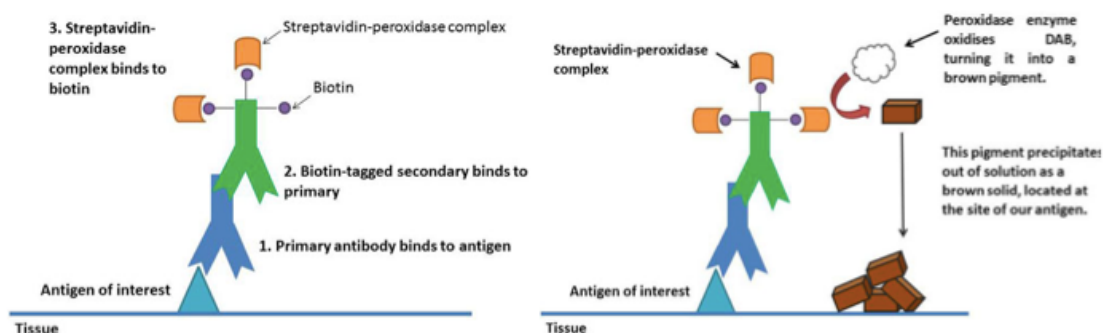


Figure 6

Système de révélation par le complexe Streptavidine-peroxydase.

Des coupes de 3 microns sont réalisées sur les blocs de TMA. Elles sont étalées sur lames blanches (*Superfrost plus*) puis séchées dans une étuve à 56°C pendant 15 minutes. Les étapes de déparaffinage, démasquage antigénique, dépôt de l'anticorps sur lame, incubation à 37°, rinçage et révélation ont été réalisées manuellement. Le kit utilisé était le *kit de révélation Dako REAL Detection System, Peroxidase/DAB+ Rabbit/mouse*.

3.3.1. Anticorps utilisés

Table 4

Liste des anticorps primaires testés

Anticorps	Fournisseur	Dilution	Temps d'incubation	Caractéristique immunologique
Vimentine	Dako	1/50	32 mn	Ac monoclonal de souris
E-Cadhérine	Invitrogen	1/50	60 mn	Ac de souris
Zeb1	Intachim	1/500	60 mn	Ac monoclonal de souris
H3K27ac	Abcan	1/100	60 mn	Ac polyclonal de lapin
EZH2	Invitrogen	1/400	30 mn	Ac de lapin
H3K27me ³	Biorbyt	1/100	60 mn	Ac polyclonal de lapin
5MC	Activ motif	1/1000	60 mn	Ac monoclonal de souris
5HMC	Activ motif	1/2000	60 mn	Ac polyclonal de lapin
Ki67	Ventana	1/25	20 mn	Ac monoclonal de lapin

3.3.2. Interprétation

La lecture des immuno-marquages a été réalisée par un lecteur expérimenté sur microscope optique, en tenant compte du spot le plus marqué pour chaque tissu.

L'évaluation des marquages était selon l'Ac utilisé :

- quantitative pour Ki67, Zeb1, H3K27ac, EZH2, H3K27me³, 5MC et 5HMC (marquage nucléaire attendu). Nous avons réalisé le compte du pourcentage de cellules marquées pour les tissus prostatiques carcinomateux,
- qualitative ou semi-quantitative pour l'E-cadhérine (marquage membranaire attendu) et la vimentine (marquage cytoplasmique attendu), et pour les autres marqueurs (EZH2, H3K27me³, Zeb1, H3K27ac, 5MC et 5HMC) dans les tissus normaux ou PINGH. Le test est

noté positif ou négatif. Le marquage est considéré comme positif qu'il soit focal ou diffus, quelle que soit son intensité.

En effet, devant les difficultés liées à l'expression du marquage immunohistochimique de Zeb1 et EZH2 dans le groupe PINHG, nous avons identifié les tissus marqués comme positifs (avec parfois un sous classement en fonction de l'intensité du marquage : + marquage faible, ++ marquage fort) et les non marqués comme négatifs pour les groupes prostate normale et PINHG.

3.4. Analyses statistiques

La comparaison des groupes avec des variables catégorielles a été réalisée par le test du χ^2 (groupes indépendants) et Fisher (groupes appariés). Les groupes avec variables continues ont été comparés par les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis et de Wilcoxon (groupes appariés). L'association de variables quantitatives a été recherchée par le test de corrélation de Spearman. Les calculs statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Statview.

La différence était retenue comme significative pour une valeur de $p < 0,05$.

4. RÉSULTATS

4.1. Expression des marqueurs aux premières étapes de progression du cancer

Devant la difficulté à effectuer un compte précis du pourcentage de cellules marquées pour Zeb1 et EZH2 dans les PINHG, les cas ont été identifiés comme marqués ou non marqués. Pour permettre la comparaison avec l'expression des marqueurs dans les foyers cancéreux intra-prostatique, nous avons également exprimé les résultats de celles-ci de manière semi-quantitative (qualitatives ordonnées).

Les résultats sont résumés dans le tableau 5 et figures 7, 8, 9.

On retrouve une augmentation significative de l'expression de Zeb1 dans les cancers invasifs par rapport aux PINHG et aux tissus normaux (ou l'expression de Zeb1 est globalement négative) ($p=0,0004$). Le marqueur de l'acétylation d'H3K27 est faiblement exprimé dans tous les cas de tissus normaux, PINHG et foyers de CaP intra prostatique. L'expression de EZH2 augmente de manière significative dans les PINHG par rapport aux glandes normales et dans les cancers invasifs par rapport aux PINHG (respectivement $p<0,0001$ et $p<0,0001$). De même, l'expression du marqueur de la tri-méthylation de l'histone H3K27 augmente de manière significative dans les PINHG par rapport aux glandes prostatiques normales et dans les cancers par rapport aux PINHG (respectivement $p=0,014$ et $p<0,0001$). Les tissus des différents groupes (prostate normale, PINHG, cancer) expriment tous la 5MC et la 5HMC.

Table 5

Expression des marqueurs au cours des différents stades évolutifs du cancer de la prostate

	Normal	PIN HG	Intra	p
Zeb1	– (n = 53) + (n = 3)	– (n = 35) + (n = 0)	– (n = 38) + (n = 12)	PIN vs Intra p = 0,0004
H3K27 ac	– (n = 0) + (n = 56)	– (n = 0) + (n = 35)	– (n = 0) + (n = 54)	
EZH2	– (n = 31) + (n = 23) ++ (n = 2)	– (n = 2) + (n = 16) ++ (n = 17)	– (n = 0) + (n = 0) ++ (n = 54)	Nl vs PIN p < 0,0001 PIN vs Intra p < 0,0001
H3K27me³	– (n = 28) + (n = 16) ++ (n = 12)	– (n = 7) + (n = 14) ++ (n = 14)	– (n = 0) + (n = 0) ++ (n = 51)	Nl vs PIN p = 0,014 PIN vs Intra p < 0,0001
5MC	– (n = 0) + (n = 56)	– (n = 0) + (n = 35)	– (n = 0) + (n = 58)	
5HMC	– (n = 0) + (n = 56)	– (n = 0) + (n = 35)	– (n = 0) + (n = 56)	

4.2. Expression des marqueurs dans les cellules tumorales en fonction de la localisation intra-prostatique et extra-prostatique

Expression des marqueurs de la TEM (EZH2, H3K27me³, Zeb1, H3K27ac, 5MC, 5HMC) et de Ki67, marqueur de prolifération :

L'expression de Zeb1 et de Ki67 est significativement augmentée en localisation extra-prostatique versus intra-prostatique (respectivement $p=0,016$ et $p=0,01$).

L'expression de la 5MC et de H3K27ac diminue de façon significative quand les cellules tumorales sont extra-prostatiques versus intra-prostatiques (respectivement $p=0,01$ et $p=0,001$).

En ce qui concerne les autres marqueurs, leur expression n'est pas significativement différente dans les cellules tumorales extra-prostatiques par rapport aux cellules tumorales intra-prostatiques.

Les résultats sont reportés dans le tableau 6 et figures 7, 8, 9 et 11.

Table 6

Expression des marqueurs en fonction de la localisation tumorale

marqueurs	Intra-P : médiane (extrêmes)	Extra-P : médiane (extrêmes)	p
EZH2	90% (40 - 100)	90% (10 - 100)	0.63
ZEB1	0% (0 - 80)	20% (0 - 100)	0.016
H3K27me³	100% (50 - 100)	100% (50 - 100)	0.180
H3K27ac	100% (30 - 100)	80% (0 - 100)	0.001
5MC	90% (60 - 100)	90% (5 - 100)	0.01
5HMC	100% (40 - 100)	100% (0 - 100)	0.21
Ki67	2,45% (0 - 38)	5,8% (1 - 26)	0.01

Expression des gènes cibles de la TEM, la vimentine et l'E-cadhérine :

La vimentine et l'E-cadhérine sont exprimées de façon focale ou diffuse. Il n'est pas observé de façon significative de perte d'expression de l'E-cadhérine ni de gain d'expression

de la vimentine en localisation extra-prostatique par rapport à la localisation intra-prostatique (figure 10).

Les résultats sont résumés dans le tableau 7.

Table 7

Expression vimentine et E-cadhérine selon la localisation tumorale

marqueurs	Intra-prostatique	Extra-prostatique	p
vimentine	– (n = 48)	– (n = 34)	0,44
	+ (n = 9)	+ (n = 10)	
E-cadhérine	+ (n = 58)	+ (n = 47)	1
	– (n = 0)	– (n = 0)	

4.3. Corrélation des marqueurs entre eux

Les expressions de Zeb1 et de H3K27ac sont significativement corrélées ($p=0,0013$), l'augmentation de l'expression de Zeb1 étant associée à une perte de l'acétylation d'H3K27.

Les expressions de EZH2 et de H3K27me³ sont significativement corrélées ($p=0,0002$), l'expression d'EZH2 étant associée à une augmentation de la méthylation d'H3K27.

4.4. Expression des marqueurs et caractéristiques anatomo-cliniques

Le score de Gleason :

Nous avons étudié la relation entre le score de Gleason et l'expression des marqueurs immunohistochimiques EZH2, H3K27me³, H3K27ac, Zeb1, 5MC et 5HMC.

Aucune association significative entre le score de Gleason et l'expression des différents marqueurs n'a été retrouvée.

Les résultats sont résumés dans le tableau 8 :

Table 8

Expression des marqueurs en fonction du score de Gleason

	EZH2 intra	p	H3K27me ³ intra	p	Zeb1 intra	p	H3K27ac intra	p	5MC	p	5HMC	p
Gl ≤ 6	+ (n = 3) – (n = 0)	0,42	+ (n = 3) – (n = 0)	0,47	+ (n = 0) – (n = 3)	0,50	+ (n = 2) – (n = 0)	0,56	+ (n = 3) – (n = 0)	0,91	+ (n = 3) – (n = 0)	0,12
Gl = 7	+ (n = 38) – (n = 0)		+ (n = 41) – (n = 0)		+ (n = 9) – (n = 27)		+ (n = 38) – (n = 0)		+ (n = 42) – (n = 0)		+ (n = 40) – (n = 0)	
Gl ≥ 8	+ (n = 13) – (n = 0)		+ (n = 11) – (n = 0)		+ (n = 3) – (n = 7)		+ (n = 13) – (n = 0)		+ (n = 13) – (n = 0)		+ (n = 13) – (n = 0)	

Le taux de PSA préopératoire :

Nous avons étudié la relation entre le taux de PSA et l'expression des marqueurs immunohistochimiques EZH2, H3K27me³, H3K27ac, Zeb1, 5MC et 5HMC.

Les résultats sont résumés dans le tableau 9 :

Table 9

Expression des marqueurs en fonction du PSA

	EZH2	H3K27me ³	ZEB1	H3K27ac	5MC	5HMC
PSA (ng/mL)	p = 0,2	p = 0,25	p = 0,008	p = 0,43	p = 0,23	p = 0,53

Seule l'expression de Zeb1 est associée de manière significative avec le taux de PSA préopératoire sérique (p = 0,008).

L'indice de masse corporelle :

Nous avons étudié la relation entre l'IMC et l'expression des marqueurs immunohistochimiques EZH2, H3K27me³, H3K27ac, Zeb1, 5MC et 5HMC.

Aucune association significative entre l'IMC et l'expression des différents marqueurs n'a été retrouvée.

Les résultats sont résumés dans le tableau 10 :

Table 10

Expression des marqueurs en fonction de l'IMC

	EZH2	H3K27me ³	ZEB1	H3K27ac	5MC	5HMC
IMC (kg/m ²)	p = 0,19	p = 0,67	p = 0,74	p = 0,73	p = 0,8	p = 0,16

4.5. Récapitulatif de l'évolution des marqueurs de la TEM au cours de la progression de l'adénocarcinome de la prostate

Table 11

Récapitulatif de l'évolution des marqueurs au cours des différentes phases de progression du CaP

	Normal à PINHG	PINHG à invasif	Extension extra-prostatique
Zeb1	-	↑	↑
H3K27ac	-	-	↓
EZH2	↑	↑	-
H3K27me ³	↑	↑	-
5MC	-	-	↓
5HMC	-	-	-

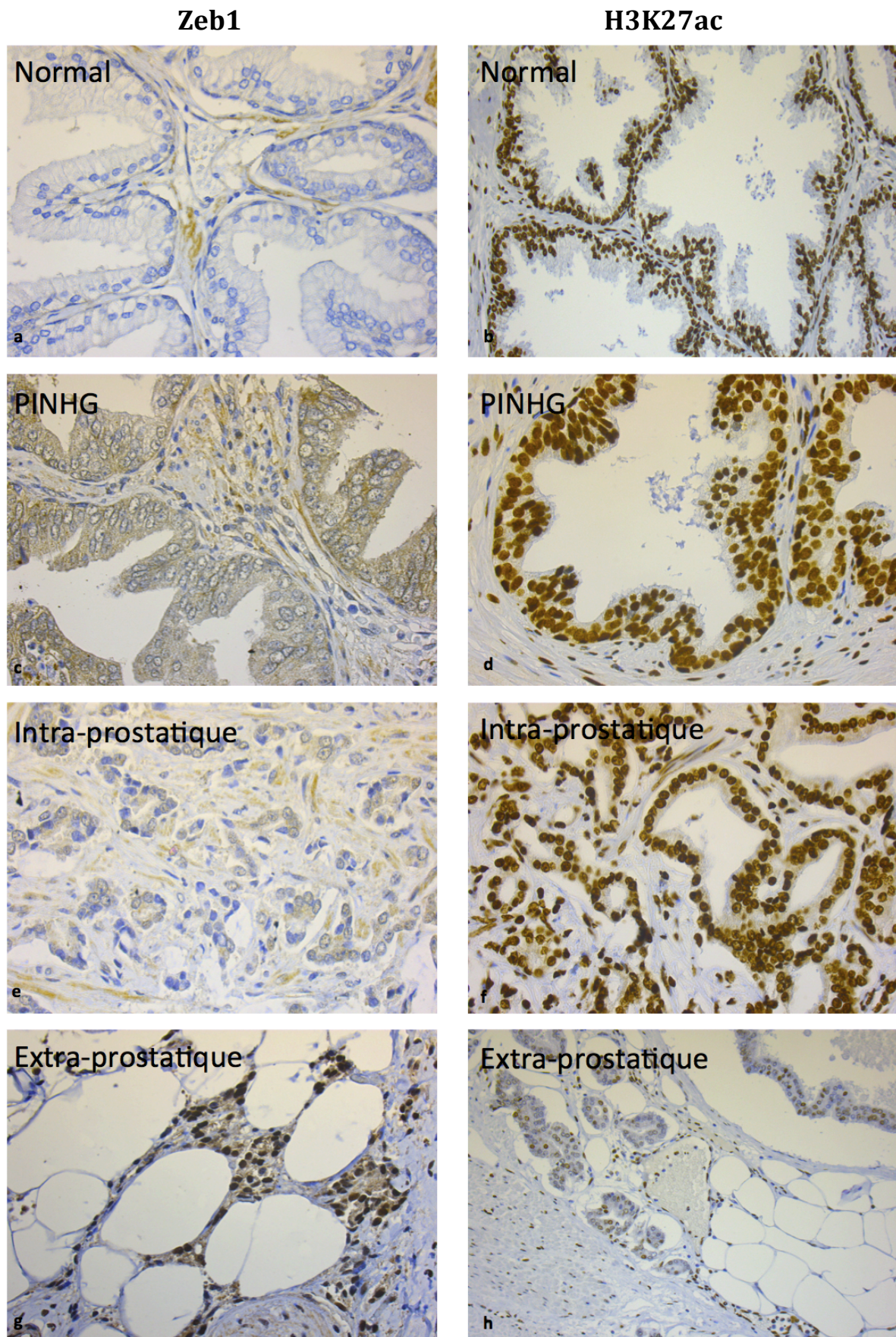


Figure 7

Marquages immunohistochimiques (x400) de Zeb1 et H3K23ac aux différentes étapes de développement du CaP. L'expression de Zeb1 débute au stade de cancer intra-prostatique dans un nombre minoritaire de cas (12/50) (la majorité des cas étant négatifs à ce stade). La marque H3K27ac est exprimée dans tous les cas de tissu prostatique normal, PINHG et CaP intra-prostatique. Au stade de CaP extra-prostatique, l'expression de Zeb1 augmente, parallèlement à une diminution de l'expression de H3K27ac.

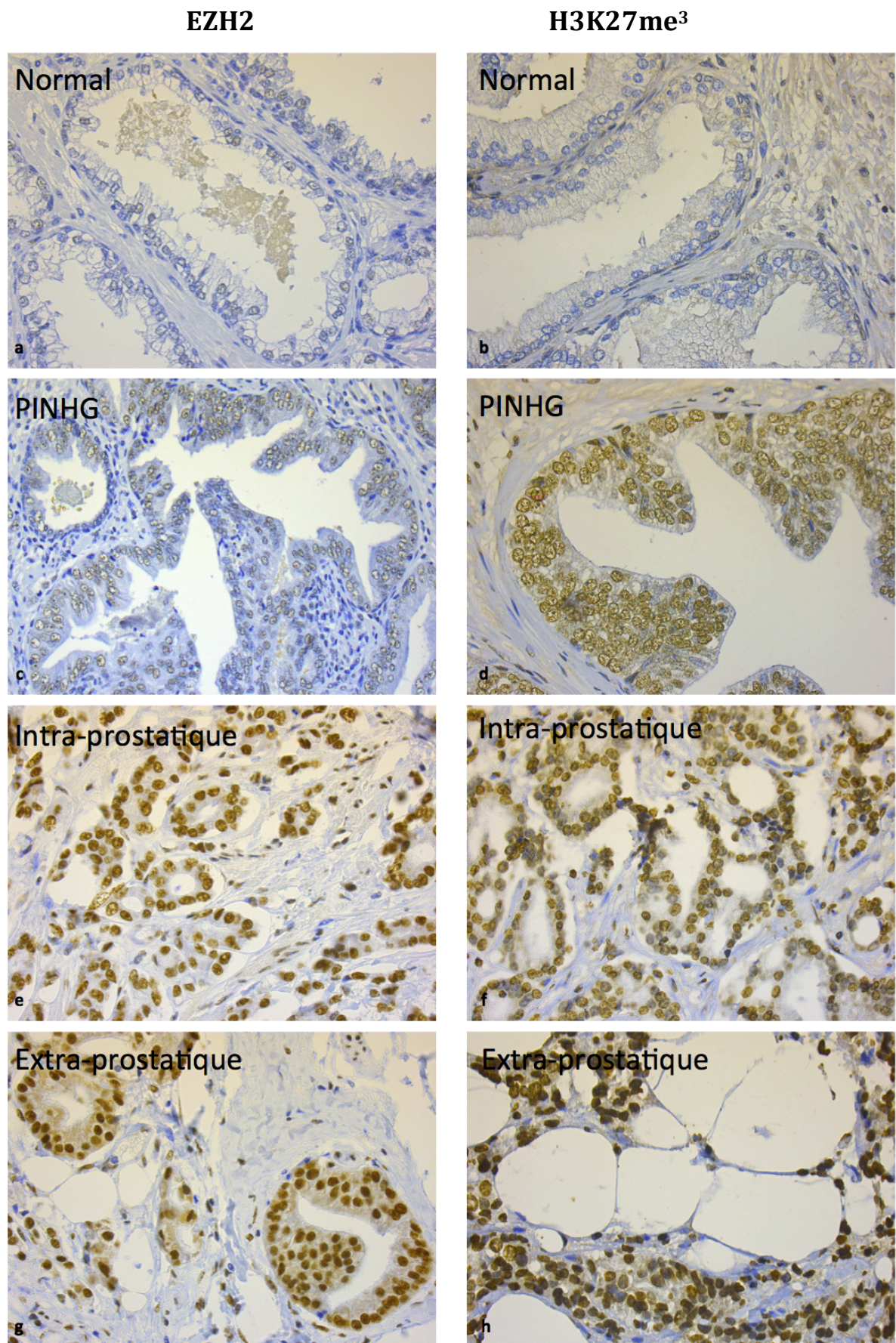


Figure 8

Marquages immunohistochimiques (x400) de EZH2 et H3K27me³ aux différentes étapes de développement du CaP. Les expressions d'EZH2 et H3K27me³ apparaissent au stade PINHG. Les deux marqueurs sont fortement exprimés aux phases ultérieures de progression.

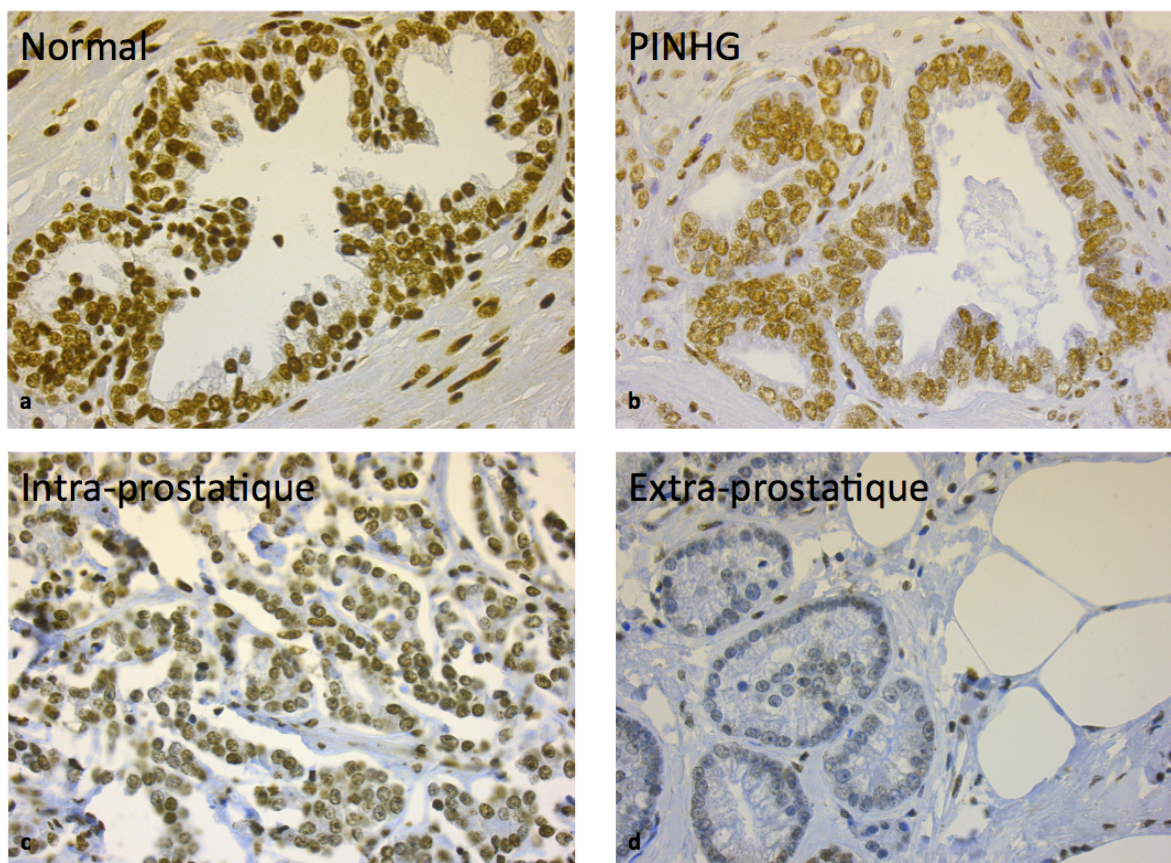


Figure 9

Marquages immunohistochimiques pour 5MC aux différentes phases de progression du CaP (x400)

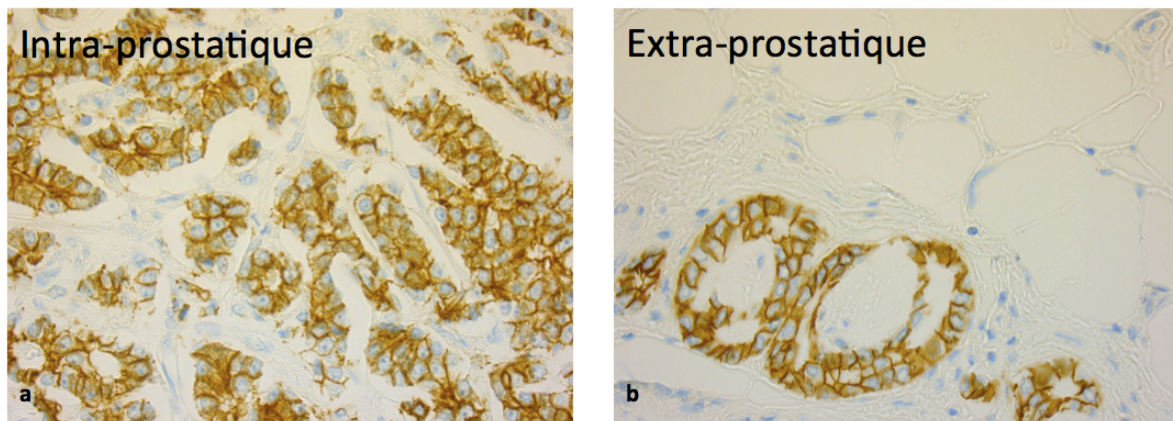


Figure 10

Absence de modification de l'expression de l'E-cadhérine dans les cellules cancéreuses extra-prostatiques par rapport aux intra-prostatiques (x400)

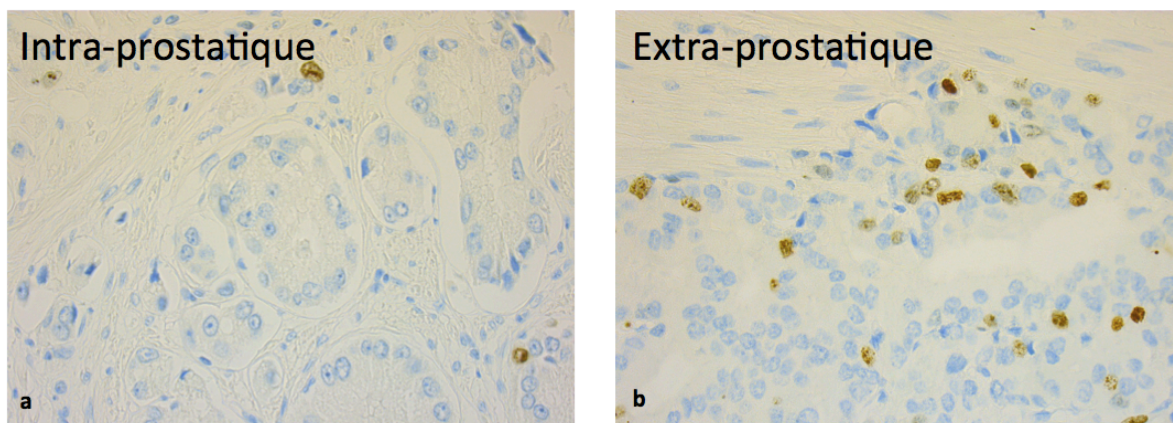


Figure 11

Augmentation de l'index de prolifération Ki67 dans les CaP extra-prostatiques par rapport aux Cap intra-prostatiques (x400)

5. DISCUSSION

La progression du cancer de la prostate est associée à des phénomènes de TEM *in vitro* (52). La TEM est activée par la convergence de multiples signaux issus du microenvironnement, qui induisent, entre autres, l'activation du facteur de transcription clé Zeb1 et l'implication de mécanismes épigénétiques comme la méthylation de l'ADN et les modifications d'histones (méthylation et l'acétylation) (46).

Lors de la progression du cancer et du passage de la tumeur au delà de la capsule (stade pT3), les cellules tumorales sont en contact direct avec le TAPP. *In vitro*, le TAPP est impliqué dans la progression des CaP (25–28,53).

Nous avons posé l'hypothèse que les étapes de la progression du CaP *in vivo* et notamment le passage au contact du microenvironnement adipeux (cancer extra-prostatique stade pT3) étaient associés à des variations des marqueurs de la TEM et des marques épigénétiques impliquées.

5.1. EZH2, Zeb1 et modifications d'histones associées

EZH2 est une méthyltransférase responsable de la triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3 (46,54,55). La méthylation de H3K27 entraîne une configuration de la chromatine la rendant peu accessible pour la transcription du gène. Elle est associée à un mauvais pronostic dans les cancers du sein et de l'ovaire (56). EZH2 a donc la capacité d'inhiber la transcription du gène cible. En 2002, *Varambally et al.* sont les premiers à montrer que l'expression d'EZH2 était augmentée dans les métastases des CaP et dans les cancers à mauvais pronostic (50).

Dans notre étude, l'expression de EZH2 est significativement associée à une augmentation de la tri-méthylation de l'histone H3K27, ce qui confirme les relations décrites dans la littérature (50,57,58).

Zeb1 est un facteur de transcription impliqué dans la TEM, connu pour réprimer l'expression de l'E-cadhérine et promouvoir la migration des cellules tumorales (59,60). Son expression n'est pas connue dans les cancers de la prostate. Zeb1 recrute les histones désacétylases (HDAC) (59,61,62). Le niveau d'acétylation des histones influence l'activité de

transcription. En effet l'acétylation décondense la chromatine et favorise son accessibilité et à l'inverse la désacétylation est associée à une répression génique. Dans notre étude, l'expression de Zeb1 est significativement inversement associée à l'acétylation de H3K27. Nos résultats sont en accord avec l'effet répressif de Zeb1 sur l'acétylation des histones.

5.2. Evolution des marqueurs aux premières étapes de la progression tumorale

Dans notre étude, les premières étapes de l'histoire naturelle du cancer de la prostate (de normal à PINHG et de PINHG au cancer invasif) sont associées à une augmentation significative de la triméthylation de H3K27 et de l'expression de l'enzyme EZH2. Nous retrouvons que l'expression de EZH2, minoritaire et faible dans le tissu prostatique normal, augmente dans le PINHG. Cela suggère que l'expression de EZH2 est un phénomène précoce au cours de l'histoire naturelle du CaP et apparaît avant le stade de cancer invasif. La méthyltransférase EZH2 et le taux de méthylation de H3K27 augmentent encore de manière significative lors du passage au stade de cancer invasif où la totalité des tumeurs montrent un marquage d'intensité forte. *Varambally et al.* ont été les premiers à évaluer l'intensité de l'expression de EZH2 en immunohistochimie, sur différents tissus prostatiques : prostate normale, PINHG, carcinome prostatique localisé et métastase de CaP. Ils ont constaté une augmentation significative de l'intensité du marquage entre le tissu prostatique normal et le cancer cliniquement localisé, mais n'ont pas décrit, contrairement à nous, d'augmentation d'expression dans les PINHG par rapport aux tissus normaux (50). Ces résultats suggéraient déjà une association entre EZH2 et les premières étapes de la progression tumorale. Plusieurs études ont montré qu'au stade de cancer localisé, une expression d'EZH2 est corrélée à un pronostic défavorable (63,64).

L'expression de Zeb1 dans la prostate est encore peu étudiée, seules des données *in vitro* sont disponibles à ce jour. Dans notre étude, l'expression du facteur de transcription Zeb1 n'apparaît qu'au stade de CaP invasif limité à la prostate et de façon minoritaire (12 cas sur 50). En parallèle, l'histone H3K27 est toujours acétylée dans la prostate normale, au stade de PINHG, et dans les cellules cancéreuses intra-prostatiques. L'expression du facteur de transcription Zeb1 semble donc apparaître à une phase plus tardive que l'expression de l'enzyme EZH2 au cours du processus tumoral.

Les expressions de la 5HMC et la 5MC nous ont permis d'évaluer la méthylation globale de l'ADN. Dans tous les cas de tissu prostatique normal, de PINHG et de cancer localisé en intra-prostatique, les marqueurs sont fortement exprimés. Ceci est en accord avec l'hypothèse que l'hypométhylation globale de l'ADN est un événement tardif dans la progression tumorale et particulièrement dans les CaP (65).

5.3. Expression des marqueurs en fonction du contact avec le TAPP

Nous n'observons pas d'augmentation de l'expression de l'enzyme EZH2 ni de l'H3K27me³ lors du dépassement capsulaire. D'autres études ont montré une expression plus intense de EZH2 dans les cancers métastatiques par rapport aux cancers localisés (50,66). Nous n'avons pas analysé de site métastatique dans notre étude et cette analyse est actuellement en cours.

Il est maintenant établi que Zeb1 a un rôle essentiel de répresseur de l'E-cadhérine dans de nombreuses tumeurs. Zeb1 est encore peu étudié dans les cancers de la prostate. *Putzke et al.* ont travaillé sur des lignées cellulaires de CaP et retrouvent une association entre l'expression de Zeb1 et la migration des cellules tumorales (67). Il n'existe pas d'étude publiée à ce jour évaluant l'expression de Zeb1 dans les cancers prostatiques humains. Nos résultats montrent que Zeb1 n'est pas exprimé avant le stade de cancer invasif et surtout que cette expression augmente de manière significativement importante lorsque la tumeur passe la capsule prostatique et arrive au contact du TAPP, en association avec une perte d'acétylation d'H3K27. Cette association entre l'expression de Zeb1 et le contact entre cellules tumorales et TAPP ne préjuge pas d'une relation de cause à effet. La localisation extra-prostatique de la cellule (et donc le contact avec le TA) pouvant être la conséquence d'une TEM induite par Zeb1. A l'inverse, il est également possible que ce soit, du moins en partie, le contact avec le TAPP qui induise l'expression de Zeb1, sous l'influence de divers facteurs du microenvironnement adipeux, facteurs solubles ou AG. Cette relation causale entre composants du microenvironnement adipeux et TEM ne pourra être précisée que par des études *in vitro*.

L'hypométhylation globale de l'ADN conduit à une instabilité génomique nécessaire à la progression tumorale. Indépendamment du type de cancer, les tumeurs présentent à la fois une hyperméthylation des îlots CpG responsable de la répression de certains GST, et une hypométhylation globale de l'ADN responsable d'une instabilité génique. Le modèle dominant de dysrégulation épigénétique dans la carcinogenèse suggère qu'en général l'hypométhylation globale est un événement précoce dans les cancers humains apparaissant dans les lésions pré-malignes ou même dans le vieillissement des tissus normaux (68). Il est toutefois admis que la prostate n'adhère pas à ce modèle général. L'hypométhylation globale de l'ADN se produit après l'hyperméthylation des îlots CpG (65). *Cho et al* ont constaté une augmentation de l'hypométhylation globale dans les métastases par rapport aux tissus prostatiques normaux et aux tumeurs cliniquement localisées. Ils ont également constaté que l'hyperméthylation des îlots CpG et l'hypométhylation globale de l'ADN sont étroitement liées même si ce lien est encore mal connu (48).

Les résultats de notre travail corroborent l'hypothèse que l'hypométhylation globale de l'ADN soit un événement tardif dans la progression du CaP. Nos résultats suggèrent que l'hypométhylation apparaît lors du passage au contact du TAPP. Le contact avec le microenvironnement adipeux pourrait donc constituer une étape clé dans les phénomènes d'hypométhylation.

Nous avons également observé une augmentation significative de l'index de prolifération Ki67 dans les zones tumorales de localisation extra-prostatique. Cela suggère que le microenvironnement adipeux puisse avoir un effet non seulement sur la TEM et la migration, mais également sur la prolifération des cellules tumorales, peut-être sous l'influence d'adipokines dont le rôle prolifératif a été démontré (69,70).

Ayant observé une augmentation de l'expression de Zeb1 en extra-prostatique, nous nous attendions à observer une diminution parallèle de l'expression de l'E-cadhérine, gène cible principal de la TEM. Or, nous n'avons pas retrouvé de diminution de l'expression de l'E-cadhérine, ni d'augmentation de l'expression de la vimentine lors du passage des cellules tumorales dans le milieu extra-prostatique. *Putske et al* ont montré que Zeb1 induit la répression de l'E-cadhérine dans les lignées de cancer prostatique mais pas dans les études *in vivo* sur xénogreffes (39).

Nos résultats suggèrent qu'*in vivo*, chez l'homme, l'association Zeb1 et répression de l'E-cadhérine n'est pas si évidente. Nous pouvons avancer plusieurs hypothèses pour

expliquer ce phénomène. Certains facteurs pourraient inactiver Zeb1, *in vivo*, comme un défaut de phosphorylation post transcriptionnelle de la protéine. La TEM étant un phénomène transitoire et réversible, il est possible que les cellules se maintiennent dans un état intermédiaire (TEM partielle) où l'expression de gènes induisant un phénotype épithélial soit concomitante avec l'expression de gène induisant un phénotype mésenchymateux. Ces hypothèses nécessitent de nouvelles études de l'expression d'autres gènes cibles de la TEM comme la N-cadhérine ou la β -caténine.

De plus, l'immunohistochimie est peut-être une technique manquant de sensibilité pour détecter des variations très minimales d'expression des marqueurs.

Nous observons donc une expression différentielle de Zeb1, Ki67 et de la méthylation de l'ADN en localisation extra-prostatique (par rapport à la localisation intra-prostatique) mais ces résultats sont variables selon les patients. La composition du tissu adipeux variant d'un patient à l'autre, il est possible que les différences inter-individuelles de composition du TAPP puissent intervenir dans la régulation de l'expression de ces marqueurs. Des études complémentaires *in vitro* seraient nécessaires pour évaluer l'action que pourraient avoir les composants individuels du TAPP (composants lipidiques, fractions solubles).

5.4. Caractéristiques anatomo-cliniques et marqueurs de la transition épithélio-mésenchymateuse

Les CaP sont pour la plupart des cancers de bon pronostic. Des disparités importantes existent cependant quand à l'agressivité et la survie des patients. Les paramètres utilisés pour évaluer le risque de progression sont le PSA, le score de Gleason et le stade TNM. De plus, l'obésité a été associée à des CaP plus agressifs et à un risque plus élevé de progression après traitement (29). Nous ne retrouvons aucune corrélation entre l'expression des marqueurs EZH2, H3K27me³, H3K27ac, 5MC, 5HMC et les facteurs anatomo-cliniques (score de Gleason, PSA et IMC). Nous avons cependant étudié un nombre de patients relativement faible, et ces corrélations devront être réitérées sur une cohorte plus importante.

Nous avons retrouvé par contre une corrélation entre l'expression de Zeb1 et le taux de PSA. Cette corrélation tend à conforter l'idée que Zeb1 est associé à la progression et l'agressivité des CaP. Des études complémentaires sont maintenant nécessaires pour évaluer l'impact pronostique de ce marqueur.

6. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude a permis de mieux caractériser les variations des marqueurs de la TEM et les modifications épigénétiques associées au cours du développement et de la progression du cancer de la prostate. Nous avons confirmé que l'expression d'EZH2, enzyme histone méthyltransférase, est un événement précoce dans l'histoire naturelle du Cap.

L'expression de Zeb1, facteur de transcription clé de la TEM est un événement plus tardif apparaissant au stade de cancer invasif avec une augmentation importante lors du passage de la tumeur au contact du TAPP. De nouvelles études sont nécessaires pour identifier les fonctions des composants du tissu adipeux dans le phénomène de TEM et permettre une meilleure compréhension des mécanismes de progression tumorale.

Les modifications épigénétiques sont des phénomènes réversibles, ce qui en fait des cibles thérapeutiques potentielles. Des thérapies épigénétiques pourraient avoir un avenir prometteur et certaines sont testées cliniquement comme les inhibiteurs des histones désacétylases (51).

BIBLIOGRAPHIE

1. McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. *The Prostate*. 1981;2(1):35-49.
2. Taichman RS, Loberg RD, Mehra R, Pienta KJ. The evolving biology and treatment of prostate cancer. *J Clin Invest*. 2007;117(9):2351-61.
3. Vashchenko N, Abrahamsson P-A. Neuroendocrine differentiation in prostate cancer: implications for new treatment modalities. *Eur Urol*. 2005;47(2):147-55.
4. Hankey BF, Feuer EJ, Clegg LX, Hayes RB, Legler JM, Prorok PC, et al. Cancer Surveillance Series: Interpreting Trends in Prostate Cancer—Part I: Evidence of the Effects of Screening in Recent Prostate Cancer Incidence, Mortality, and Survival Rates. *J Natl Cancer Inst*. 1999;91(12):1017-24.
5. Ravery V, Javerliat I, Toubanc M, Boccon-Gibod L, Delmas V, Boccon-Gibod L. [Features of prostatic cancer in French individuals of African-Caribbean origin]. *Prog Urol* 2000;10(2):231-6.
6. Cancel-Tassin G, Cussenot O. Genetic susceptibility to prostate cancer. *BJU Int*. 2005;96(9):1380-5.
7. Lin P-H, Aronson W, Freedland SJ. Nutrition, dietary interventions and prostate cancer: the latest evidence. *BMC Med*. 2015;13(1).
8. Teiten M-H, Gaascht F, Eifes S, Dicato M, Diederich M. Chemopreventive potential of curcumin in prostate cancer. *Genes Nutr*. 2010;5(1):61-74.
9. Hodson L, Skeaff CM, Fielding BA. Fatty acid composition of adipose tissue and blood in humans and its use as a biomarker of dietary intake. *Prog Lipid Res*. 2008;47(5):348-80.
10. Szymanski KM, Wheeler DC, Mucci LA. Fish consumption and prostate cancer risk: a review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(5):1223-33.
11. Bidoli E, Talamini R, Bosetti C, Negri E, Maruzzi D, Montella M, et al. Macronutrients, fatty acids, cholesterol and prostate cancer risk. *Ann Oncol*. 2005;16(1):152-7.
12. Salomon L, Bastide C, Beuzeboc P, Cormier L, Fromont G, Hennequin C, et al. [CCAFU Recommendations 2013: Prostate cancer]. *Prog Urol*. 2013;23 Suppl 2:S69-101.
13. Gleason DF. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep*. 1966;50(3):125-8.
14. Epstein JI, Allsbrook WC, Amin MB, Egevad LL, ISUP Grading Committee. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol*. 2005;29(9):1228-42.
15. D'Amico AV, Wu Y, Chen MH, Nash M, Renshaw AA, Richie JP. Perineural invasion as a predictor of biochemical outcome following radical prostatectomy for select men with clinically localized prostate cancer. *J Urol*. 2001;165(1):126-9.

16. Brimo F, Vollmer RT, Corcos J, Kotar K, Bégin LR, Humphrey PA, et al. Prognostic value of various morphometric measurements of tumour extent in prostate needle core tissue. *Histopathology*. 2008;53(2):177-83.
17. D'Amico AV, Whittington R, Malkowicz SB, Schultz D, Blank K, Broderick GA, et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA*. 16 sept 1998;280(11):969-74.
18. Yossepowitch O, Bjartell A, Eastham JA, Graefen M, Guillonneau BD, Karakiewicz PI, et al. Positive surgical margins in radical prostatectomy: outlining the problem and its long-term consequences. *Eur Urol*. 2009;55(1):87-99.
19. Ouzaid I, Ravery V, Pouessel D, Culine S. Novel agents for the therapy of castration-resistant prostate cancer: overview of pivotal studies and new strategies to come. *Prog Urol*. 2013;23(1):1-7.
20. Calle EE, Kaaks R. Overweight, obesity and cancer: epidemiological evidence and proposed mechanisms. *Nat Rev Cancer*. 2004;4(8):579-91.
21. Toren P, Venkateswaran V. Periprostatic adipose tissue and prostate cancer progression: new insights into the tumor microenvironment. *Clin Genitourin Cancer*. 2014;12(1):21-6.
22. Dirat B, Bochet L, Dabek M, Daviaud D, Dauvillier S, Majed B, et al. Cancer-Associated Adipocytes Exhibit an Activated Phenotype and Contribute to Breast Cancer Invasion. *Cancer Res*. 2011;71(7):2455-65.
23. Nieman KM, Kenny HA, Penicka CV, Ladanyi A, Buell-Gutbrod R, Zillhardt MR, et al. Adipocytes promote ovarian cancer metastasis and provide energy for rapid tumor growth. *Nat Med*. 2011;17(11):1498-503.
24. Mistry T, Digby JE, Desai KM, Randeva HS. Obesity and Prostate Cancer: A Role for Adipokines. *Eur Urol*. 2007;52(1):46-53.
25. Nieman KM, Romero IL, Van Houten B, Lengyel E. Adipose tissue and adipocytes supports tumorigenesis and metastasis. *Biochim Biophys Acta*. 2013;1831(10):1533-41.
26. Ribeiro RJT, Monteiro CPD, Cunha VFPM, Azevedo ASM, Oliveira MJ, Monteiro R, et al. Tumor Cell-educated Periprostatic Adipose Tissue Acquires an Aggressive Cancer-promoting Secretory Profile. *Cell Physiol Biochem*. 2012;29(1-2):233-40.
27. Sacca PA, Creydt VP, Choi H, Mazza ON, Fletcher SJ, Vallone VBF, et al. Human Periprostatic Adipose Tissue: its Influence on Prostate Cancer Cells. *Cell Physiol Biochem*. 2012;30(1):113-22.
28. Finley DS, Calvert VS, Inokuchi J, Lau A, Narula N, Petricoin EF, et al. Periprostatic adipose tissue as a modulator of prostate cancer aggressiveness. *J Urol*. 2009;182(4):1621-7.
29. Buschemeyer WC, Freedland SJ. Obesity and prostate cancer: epidemiology and clinical implications. *Eur Urol*. 2007;52(2):331-43.

30. Chun JY, Nadiminty N, Dutt S, Lou W, Yang JC, Kung H-J, et al. Interleukin-6 Regulates Androgen Synthesis in Prostate Cancer Cells. *Clin Cancer Res.* 2009;15(15):4815-22.
31. Culig Z. New insights into the role of interleukin-6 in human prostate cancer. *J Urol.* 2009;182(4):1255-6.
32. Chang S, Hursting SD, Contois JH, Strom SS, Yamamura Y, Babaian RJ, et al. Leptin and prostate cancer. *The Prostate.* 2001;46(1):62-7.
33. Bates RC, Mercurio AM. Tumor Necrosis Factor- α Stimulates the Epithelial-to-Mesenchymal Transition of Human Colonic Organoids. *Mol Biol Cell.* 2003;14(5):1790-800.
34. Li H, Stampfer MJ, Mucci L, Rifai N, Qiu W, Kurth T, et al. A 25-Year Prospective Study of Plasma Adiponectin and Leptin Concentrations and Prostate Cancer Risk and Survival. *Clin Chem.* 2010;56(1):34-43.
35. Bonkhoff H, Berges R. The evolving role of oestrogens and their receptors in the development and progression of prostate cancer. *Eur Urol.* 2009;55(3):533-42.
36. Brown MD, Hart C, Gazi E, Gardner P, Lockyer N, Clarke N. Influence of omega-6 PUFA arachidonic acid and bone marrow adipocytes on metastatic spread from prostate cancer. *Br J Cancer.* 2010;102(2):403-13.
37. Tawadros T, Brown MD, Hart CA, Clarke NW. Ligand-independent activation of EphA2 by arachidonic acid induces metastasis-like behaviour in prostate cancer cells. *Br J Cancer.* 2012;107(10):1737-44.
38. Lamouille S, Xu J, Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial–mesenchymal transition. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(3):178-96.
39. Putzke AP, Ventura AP, Bailey AM, Akture C, Opoku-Ansah J, Çeliktas M, et al. Metastatic Progression of Prostate Cancer and E-Cadherin. *Am J Pathol.* 2011;179(1):400-10.
40. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *Cell.* 2011;144(5):646-74.
41. Cavallaro U, Christofori G. Cell adhesion and signalling by cadherins and Ig-CAMs in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2004;4(2):118-32.
42. Yu Q, Stamenkovic I. Cell surface-localized matrix metalloproteinase-9 proteolytically activates TGF- β and promotes tumor invasion and angiogenesis. *Genes Dev.* 2000;14(2):163-76.
43. Thiery JP, Sleeman JP. Complex networks orchestrate epithelial–mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2006;7(2):131-42.
44. Peinado H, Quintanilla M, Cano A. Transforming Growth Factor β -1 Induces Snail Transcription Factor in Epithelial Cell Lines mechanisms for epithelial mesenchymal transitions. *J Biol Chem.* 2003;278(23):21113-23.

45. Christoffersen NR, Silahtaroglu A, Ørom UA, Kauppinen S, Lund AH. miR-200b mediates post-transcriptional repression of ZFH1B. *RNA*. 2007;13(8):1172-8.
46. Tam WL, Weinberg RA. The epigenetics of epithelial-mesenchymal plasticity in cancer. *Nat Med*. 2013;19(11):1438-49.
47. Sunami E, de Maat M, Vu A, Turner RR, Hoon DSB. LINE-1 Hypomethylation During Primary Colon Cancer Progression. *PLoS ONE* [Internet]. 14 avr 2011 [cité 12 mai 2015];6(4). Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3077413/>
48. Cho N-Y, Kim B-H, Choi M, Yoo E, Moon K, Cho Y-M, et al. Hypermethylation of CpG island loci and hypomethylation of LINE-1 and Alu repeats in prostate adenocarcinoma and their relationship to clinicopathological features. *J Pathol*. 2007;211(3):269-77.
49. Bedford MT, Helden PD van. Hypomethylation of DNA in Pathological Conditions of the Human Prostate. *Cancer Res*. 1987;47(20):5274-6.
50. Varambally S, Dhanasekaran SM, Zhou M, Barrette TR, Kumar-Sinha C, Sanda MG, et al. The polycomb group protein EZH2 is involved in progression of prostate cancer. *Nature*. 2002;419(6907):624-9.
51. Jerónimo C, Bastian PJ, Bjartell A, Carbone GM, Catto JWF, Clark SJ, et al. Epigenetics in prostate cancer: biologic and clinical relevance. *Eur Urol*. 2011;60(4):753-66.
52. Graham TR, Zhau HE, Odero-Marah VA, Osunkoya AO, Kimbro KS, Tighiouart M, et al. Insulin-like Growth Factor-I-Dependent Up-regulation of ZEB1 Drives Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Human Prostate Cancer Cells. *Cancer Res*. 2008;68(7):2479-88.
53. Kaneko A, Satoh Y, Tokuda Y, Fujiyama C, Udo K, Uozumi J. Effects of adipocytes on the proliferation and differentiation of prostate cancer cells in a 3-D culture model. *Int J Urol*. 2010;17(4):369-76.
54. Deb G, Thakur VS, Gupta S. Multifaceted role of EZH2 in breast and prostate tumorigenesis. *Epigenetics*. 2013;8(5):464-76.
55. McGarvey KM, Greene E, Fahrner JA, Jenuwein T, Baylin SB. DNA Methylation and Complete Transcriptional Silencing of Cancer Genes Persist after Depletion of EZH2. *Cancer Res*. 2007;67(11):5097-102.
56. Wei Y, Xia W, Zhang Z, Liu J, Wang H, Adsay NV, et al. Loss of trimethylation at lysine 27 of histone H3 is a predictor of poor outcome in breast, ovarian, and pancreatic cancers. *Mol Carcinog*. 2008;47(9):701-6.
57. Cao R, Zhang Y. The functions of E(Z)/EZH2-mediated methylation of lysine 27 in histone H3. *Curr Opin Genet Dev*. 2004;14(2):155-64.
58. Cao Q, Yu J, Dhanasekaran SM, Kim JH, Mani R-S, Tomlins SA, et al. Repression of E-cadherin by the Polycomb Group Protein EZH2 in Cancer. *Oncogene*. 2008;27(58):7274-84.

59. Peinado H, Olmeda D, Cano A. Snail, Zeb and bHLH factors in tumour progression: an alliance against the epithelial phenotype? *Nat Rev Cancer*. 2007;7(6):415-28.
60. Aigner K, Dampier B, Descovich L, Mikula M, Sultan A, Schreiber M, et al. The transcription factor ZEB1 (δ EF1) promotes tumour cell dedifferentiation by repressing master regulators of epithelial polarity. *Oncogene*. 2007;26(49):6979-88.
61. Roche J, Nasarre P, Gemmill R, Baldys A, Pontis J, Korch C, et al. Global Decrease of Histone H3K27 Acetylation in ZEB1-Induced Epithelial to Mesenchymal Transition in Lung Cancer Cells. *Cancers*. 2013;5(2):334-56.
62. Aghdassi A, Sendler M, Guenther A, Mayerle J, Behn C-O, Heidecke C-D, et al. Recruitment of histone deacetylases HDAC1 and HDAC2 by the transcriptional repressor ZEB1 downregulates E-cadherin expression in pancreatic cancer. *Gut*. 2012;61(3):439-48.
63. Hoffmann MJ, Engers R, Florl AR, Otte AP, Muller M, Schulz WA. Expression changes in EZH2, but not in BMI-1, SIRT1, DNMT1 or DNMT3B are associated with DNA methylation changes in prostate cancer. *Cancer Biol Ther*. 2007;6(9):1403-12.
64. Van Leenders GJLH, Dukers D, Hessels D, van den Kieboom SWM, Hulsbergen CA, Witjes JA, et al. Polycomb-group oncogenes EZH2, BMI1, and RING1 are overexpressed in prostate cancer with adverse pathologic and clinical features. *Eur Urol*. 2007;52(2):455-63.
65. Yegnasubramanian S, Haffner MC, Zhang Y, Gurel B, Cornish TC, Wu Z, et al. DNA hypomethylation arises later in prostate cancer progression than CpG island hypermethylation and contributes to metastatic tumor heterogeneity. *Cancer Res*. 2008;68(21):8954-67.
66. Chiam K, Ricciardelli C, Bianco-Miotto T. Epigenetic biomarkers in prostate cancer: Current and future uses. *Cancer Lett*. 2014;342(2):248-56.
67. Drake JM, Strohhahn G, Bair TB, Moreland JG, Henry MD. ZEB1 Enhances Transendothelial Migration and Represses the Epithelial Phenotype of Prostate Cancer Cells. *Mol Biol Cell*. 2009;20(8):2207-17.
68. Feinberg AP, Ohlsson R, Henikoff S. The epigenetic progenitor origin of human cancer. *Nat Rev Genet*. 2006;7(1):21-33.
69. Tokuda Y, Satoh Y, Fujiyama C, Toda S, Sugihara H, Masaki Z. Prostate cancer cell growth is modulated by adipocyte-cancer cell interaction. *BJU Int*. 2003;91(7):716-20.
70. Ribeiro R, Monteiro C, Cunha V, Oliveira MJ, Freitas M, Fraga A, et al. Human periprostatic adipose tissue promotes prostate cancer aggressiveness in vitro. *J Exp Clin Cancer Res CR*. 2012;31(1):32.

Académie d'Orléans – Tours

Université François-Rabelais

Faculté de Médecine de TOURS

VASSEUR Caroline

61 pages – 11 tableaux – 11 figures

Résumé :

Introduction : Le microenvironnement tumoral joue un rôle essentiel dans le développement du cancer prostatique (CaP). La progression tumorale est induite par des phénomènes d'invasion et de migration, sous la dépendance de la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), dont le facteur de transcription clé est Zeb1, et dont les gènes cibles sont régulés par des modifications épigénétiques. Lors de la progression du CaP, les cellules tumorales sont au contact du tissu adipeux péri-prostatique (TAPP). L'hypothèse est que le contact entre le TAPP et les cellules tumorales pourrait modifier l'expression de gènes impliqués dans la TEM. Notre but est d'étudier l'évolution de marqueurs de la TEM (dont Zeb1) et des marques épigénétiques associés dans les différentes phases de développement du CaP. **Matériels et méthodes :** Nous avons évalué en immunohistochimie sur tissu microarray l'expression de Zeb1, de l'histone méthyl transférase EZH2, des marques H3K27me3, H3K27ac, 5-méthylcytosine (5MC), 5-hydroxyméthylcytosine (5HMC) et de Ki67 (marqueur de prolifération). Trois groupes de tissus ont été analysés : prostate normale (n=54), néoplasie intra-épithéliale de haut grade (PINHG) (n=81), et CaP (n=59). Les tissus tumoraux proviennent de prostatectomies réalisées pour cancers pT3. Dans ce groupe, 2 zones tumorales sont analysées par patient : l'une en intra-prostatique et l'autre en extra-prostatique (contact avec le TAPP). Le PSA, le score de Gleason et l'indice de masse corporelle des patients ont été recueillis. **Résultats :** Dans les PINHG par rapport à la prostate normale, les expressions de EZH2 et H3K27me3 sont augmentées sans modification d'expression de Zeb1 ni d'H3K27ac. Dans les CaP (intra-prostatiques), les expressions de Zeb1, EZH2 et H3K27me3 sont augmentées, comparé aux PINHG. En localisation extraprostatique comparé à la localisation intraprostatique, les expressions de Zeb1 et de Ki67 sont augmentées, celles de H3K27ac et 5MC diminuées. Les expressions de Zeb1 et H3K27ac sont négativement corrélées, et celles d'EZH2 et de H3K27me3 sont positivement corrélées. Parmi les facteurs anatomo-cliniques, seul le PSA est significativement corrélé à l'expression de Zeb1. **Conclusion :** Ces résultats suggèrent que l'expression d'EZH2 est un évènement précoce de la progression tumorale et que la surexpression de Zeb1 associée à la perte d'H3K27ac, augmente lors du passage de la tumeur au contact du TAPP. De nouvelles études sont nécessaires pour identifier une relation de cause à effet entre le TAPP et les marqueurs de la TEM, et pour comprendre la fonction des composants du tissu adipeux dans la TEM et la progression tumorale.

Mots clés : Cancer, prostate, transition épithélio-mésenchymateuse, EZH2, Zeb1, histone, épigénétique, tissu adipeux

Jury :

Président : Monsieur le Professeur Philippe BOUGNOUX
Membres : Monsieur le Professeur Gonzague DU BOUEXIS DE PINIEUX
Monsieur le Professeur Franck BRUYERE
Madame le Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD

Date de la soutenance : 26 juin 2015