

Année 2017/2018

N°

# Thèse

Pour le

## DOCTORAT EN MEDECINE

Diplôme d'État

par

**Claire CASTELLIER**

Née le 24 octobre 1989 à Rennes (35)

---

### **CARACTERISTIQUES IMMUNOPHENOTYPIQUES ET MARQUEURS D'AGRESSIVITE DES CANCERS PROSTATIQUES NEURO- ENDOCRINES A PETITES CELLULES**

---

Présentée et soutenue publiquement le 20 septembre 2018 devant un jury composé de :

Président du Jury :

Professeur Serge GUYETANT, Anatomie et Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine-Tours

Membres du Jury :

Professeur Olivier HAILLOT, Urologie, Faculté de Médecine-Tours

Professeur Claude LINASSIER, Cancérologie et Radiothérapie, Faculté de Médecine-Tours

**Directeur de thèse : Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD, Anatomie et Cytologie  
Pathologiques, Faculté de Médecine-Tours**

**UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS  
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS**

**DOYEN**

**PR. PATRICE DIOT**

**VICE-DOYEN**

Pr. Henri MARRET

**ASSESSEURS**

Pr. Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*  
Pr. Mathias BUCHLER, *Relations internationales*  
Pr. Hubert LARDY, *Moyens – relations avec l'Université*  
Pr. Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*  
Pr. François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*  
Pr. Patrick VOURC'H, *Recherche*

**SECRETAIRE GENERALE**

Mme Fanny BOBLETER

\*\*\*\*\*

**DOYENS HONORAIRES**

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

**PROFESSEURS EMERITES**

Pr. Daniel ALISON  
Pr. Catherine BARTHELEMY  
Pr. Philippe BOUGNOUX  
Pr. Pierre COSNAY  
Pr. Etienne DANQUECHIN-DORVAL  
Pr. Loïc DE LA LANDE DE CALAN  
Pr. Noël HUTEN  
Pr. Olivier LE FLOCH  
Pr. Yvon LEBRANCHU  
Pr. Elisabeth LECA  
Pr. Gérard LORETTE  
Pr. Roland QUENTIN  
Pr. Alain ROBIER  
Pr. Elie SALIBA

**PROFESSEURS HONORAIRES**

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET - J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – G. LELORD – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTRE – M. MARCHAND – C. MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – M. ROBERT – J.C. ROLLAND – D. ROYERE - A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – B. TOUMIEUX – J. WEILL

## PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

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
BARILLOT Isabelle .....	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe .....	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora .....	Pharmacologie clinique
BERNARD Anne .....	Cardiologie
BERNARD Louis .....	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BODY Gilles .....	Gynécologie et obstétrique
BONNARD Christian .....	Chirurgie infantile
BONNET-BRILHAULT Frédérique .....	Physiologie
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, mycologie
CHANTEPIE Alain .....	Pédiatrie
COLOMBAT Philippe .....	Hématologie, transfusion
CORCIA Philippe .....	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe .....	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand .....	Neurologie
DEQUIN Pierre-François .....	Thérapeutique
DESTRIEUX Christophe .....	Anatomie
DIOT Patrice .....	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague .....	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri .....	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal .....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam .....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan .....	Réanimation
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
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
GUYETANT Serge .....	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel .....	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier .....	Urologie
HALIMI Jean-Michel .....	Thérapeutique
HANKARD Régis .....	Pédiatrie
HERAULT Olivier .....	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis .....	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe .....	Biologie cellulaire
LABARTHE François .....	Pédiatrie
LAFFON Marc .....	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert .....	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd .....	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique .....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris .....	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry .....	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel .....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude .....	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent .....	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François .....	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain .....	Pneumologie
MARRET Henri .....	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel .....	Dermatologie-vénéréologie
MEREGHETTI Laurent .....	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain .....	Oto-rhino-laryngologie

MOUSSATA Driffa .....	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis .....	Rhumatologie
ODENT Thierry .....	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi .....	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna .....	Gynécologie-obstétrique
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-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean .....	Ophthalmologie
PLANTIER Laurent .....	Physiologie
QUENTIN Roland .....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
REMERAND Francis .....	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe .....	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe .....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel .....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline .....	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem .....	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab .....	Dermatologie-vénéréologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria.....	Biophysique et médecine nucléaire
SIRINELLI Dominique .....	Radiologie et imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre .....	Pédiatrie
TOUTAIN Annick .....	Génétique
VAILLANT Loïc .....	Dermato-vénéréologie
VELUT Stéphane .....	Anatomie
VOURC'H Patrick .....	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé .....	Immunologie

#### PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

---

LEBEAU Jean-Pierre  
LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

#### PROFESSEURS ASSOCIES

---

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

#### MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

---

BAKHOS David .....	Physiologie
BARBIER Louise .....	Chirurgie digestive
BERHOUE Julien .....	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERTRAND Philippe .....	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle .....	Biologie cellulaire
BLASCO Hélène .....	Biochimie et biologie moléculaire
BRUNAUT Paul .....	Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès .....	Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas .....	Cardiologie
DESOUBEAUX Guillaume .....	Parasitologie et mycologie
DOMELIER Anne-Sophie .....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DUFOUR Diane .....	Biophysique et médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie .....	Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe .....	Néphrologie
GAUDY-GRAFFIN Catherine .....	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUILLEUX Valérie .....	Immunologie
GUILLON Antoine .....	Réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie .....	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
HOARAU Cyrille .....	Immunologie
IVANES Fabrice .....	Physiologie
LE GUELLEC Chantal .....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine .....	Anatomie et cytologie pathologiques
PIVER Éric .....	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille .....	Médecine légale

ROUMY Jérôme .....	Biophysique et médecine nucléaire
TERNANT David .....	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
ZEMMOURA Ilyess .....	Neurochirurgie

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

---

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia .....	Neurosciences
BOREL Stéphanie .....	Orthophonie
DIBAO-DINA Clarisse .....	Médecine Générale
LEMOINE Maël .....	Philosophie
MONJAUZE Cécile .....	Sciences du langage - orthophonie
PATIENT Romuald .....	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile .....	Médecine Générale

## CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

---

BOUAKAZ Ayache .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
CHALON Sylvie .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
COURTY Yves .....	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
ESCOFFRE Jean-Michel .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
GILOT Philippe .....	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice .....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
GOMOT Marie .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
HEUZE-VOURCH Nathalie .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
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
MAZURIER Frédéric .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
MEUNIER Jean-Christophe .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
PAGET Christophe .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William .....	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
SI TAHAR Mustapha .....	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire .....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930

## CHARGES D'ENSEIGNEMENT

---

### ***Pour l'Ecole d'Orthophonie***

DELORE Claire .....	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie .....	Praticien Hospitalier
PERRIER Danièle .....	Orthophoniste

### ***Pour l'Ecole d'Orthoptie***

LALA Emmanuelle .....	Praticien Hospitalier
MAJZOUB Samuel .....	Praticien Hospitalier

### ***Pour l'Ethique Médicale***

BIRMELE Béatrice .....	Praticien Hospitalier
------------------------	-----------------------

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

Je vous remercie de m'avoir confié ce travail. Je vous remercie de votre rigueur, de votre disponibilité et de votre bienveillance tout au long de la rédaction de cette thèse mais également au cours de mon internat dans votre service. J'ai énormément appris à vos côtés et j'estime être privilégiée de vous avoir eu comme Professeur au cours de mon internat.

**A mon président du jury de thèse, Monsieur le Professeur Serge Guyétant,**

Vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse et je vous en remercie.  
Je vous remercie également de l'enseignement de très grande qualité dont j'ai pu bénéficier tout au long de mon internat grâce à votre rigueur et votre grande clarté.

**A Monsieur le Professeur Olivier Haillot,**

Je vous remercie sincèrement d'avoir accepté de juger mon travail. Veuillez trouver dans ce travail toute ma reconnaissance et mon profond respect.

**A Monsieur le Professeur Claude Linassier,**

Je vous remercie de me faire l'honneur de juger ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon respect le plus sincère.

**Aux médecins pathologistes du CHRU de Tours,**

Je vous remercie de m'avoir enseigné cette belle spécialité au cours de ces 5 semestres à vos côtés. Merci de votre disponibilité et de votre gentillesse. Vos conseils sont précieux ! J'ai encore tellement à apprendre de vous ...

**A l'équipe d'anapath du CH de Bourges,**

Merci de m'avoir accueilli dans votre service et de m'avoir accompagné dans mes premiers pas d'anapath !

**A l'équipe d'anapath du CH d'Orléans,**

Merci de m'avoir accueilli dans votre service et pour votre enseignement de qualité toujours dans la bonne humeur !

**A Roseline,**

Je te remercie de ton aide et de tes conseils à la réalisation de cette thèse.

**Aux équipes techniques et secrétariats d'anapath de Trousseau et de Bretonneau,**

Merci pour votre aide quotidienne, toujours avec le sourire!

**A mes anciens co-internes** devenus chefs, Elodie, Caroline, Damien et Bérengère, **à mes co-internes d'anapath**, Lila, Thibault, Matthias, Alix, Adrien et Myriam, et presque anapath, Alice, Merci pour ces moments passés en stage et en dehors et j'espère que ça va continuer !

**A Maman et Papa** , je vous remercie de m'avoir toujours poussé à donner le meilleur de moi-même. Merci également pour votre soutien sans faille pendant ces longues années d'étude. Si j'en suis là aujourd'hui, c'est grâce à vous et c'est avec une grande émotion que je présente ce travail devant vous.

**A ma grande sœur Aurélie et à Nicolas**, je vous remercie de tous vos précieux conseils et d'avoir veillé sur moi de ma première année de médecine (loin d'être facile ...) à mon arrivée chez vous pour débiter mon internat (et encore parfois maintenant ...). Merci de m'avoir conseillé de choisir cette si belle région et pour tous ces bons moments en famille à la découvrir.

**A mon grand frère Frédéric et à Klervi** , pour votre gentillesse, votre simplicité et votre humour à toute épreuve. Les instants passés à vos côtés sont toujours un régal, malheureusement trop rares ! On vous attend à la maison !

**A Arthur, Bertille, Louis et Rose**, que ce travail vous donne envie d'aller au bout de vos rêves et je serai toujours là pour vous y aider. Je suis très fière de vous.

**A Anne-Sophie**, mon amie depuis plus de 20 ans. Malgré la distance, nos différences de caractères et nos chemins divergents, nous sommes toujours autant liées que lorsque nous jouions à Astérix dans la chambre de ton petit frère ... Les souvenirs sont nombreux et j'espère qu'il y en aura encore beaucoup d'autres car cette amitié est précieuse !

**A Céline**, ma copine d'externat, ma colocataire de « M6 », mon amie que je ne vois pas assez ! Maintenant que nous sommes des « grandes », j'espère que cela va changer !

Et enfin **à Antoine**, merci d'exister ... la vie à tes côtés est un bonheur de tous les instants.



# 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 abréviations .....	15
Résumé .....	16
Abstract .....	17
I. Introduction .....	18
A. La prostate.....	18
1. Embryologie.....	18
2. Anatomie .....	18
3. Fonction.....	19
4. Histologie.....	20
B. L'adénocarcinome prostatique: quelques généralités.....	21
C. Le cancer prostatique neuro-endocrine à petites cellules.....	23
1. Epidémiologie .....	23
2. Facteurs de risque .....	24
3. Pronostic.....	24
4. Diagnostic .....	24
5. Histopathologie .....	25
6. Traitements .....	28
D. La transdifférenciation neuro-endocrine .....	28
1. Quelle est la cellule d'origine du carcinome neuro-endocrine ? .....	28
2. Les marqueurs neuro-endocrines .....	30
a) Chromogranine A-synaptophysine.....	30
b) TTF-1 ( <i>Thyroid transcription factor-1</i> ) .....	30
3. Les marqueurs de la signalisation androgénique .....	30
a) Le récepteur aux androgènes.....	30
b) NKX3.1 .....	31
c) L'antigène spécifique de la prostate-PSA .....	31
d) AR-V7 .....	32
e) ERG .....	32
4. Les marqueurs d'agressivité .....	32
a) SPINK1 ( <i>sérine protease inhibitor kasal type 1</i> ).....	33
	10

b) PTEN .....	33
c) Zeb1 ( <i>Zinc finger E-box homeobox</i> ) .....	33
II. Objectif .....	34
III. Matériels et méthodes .....	34
A. Patients et tissus .....	34
B. Tissue microarray .....	35
1. Technique .....	35
2. Construction des blocs de TMA.....	36
C. Marquages immunohistochimiques.....	36
1. Anticorps utilisés .....	38
2. Interprétation .....	38
D. Analyses statistiques .....	38
IV. Résultats .....	39
A. Caractéristiques cliniques de la population du groupe neuro-endocrine (n=15) .....	39
B. Carcinomes neuro-endocrines (n=15).....	40
1. Résultats descriptifs des marquages .....	40
2. Corrélation des marqueurs entre eux .....	41
3. Survie Globale.....	41
C. Comparaison entre composante neuro-endocrine et composante acinaire appariée (n=9) ..	43
D. Comparaison de la composante acinaire des carcinomes mixtes CRPC-NE (n=8) avec des CRPC sans différenciation NE (n=48).....	44
V. Discussion .....	48
A. Population étudiée.....	48
B. Caractéristiques de la composante neuro-endocrine .....	48
1. Expression du récepteur aux androgènes et ses gènes cibles .....	48
2. Marqueurs de différenciation neuro-endocrine .....	49
3. Corrélation des marqueurs entre eux .....	50
4. Survie globale .....	50
C. Origine commune des cellules neuro-endocrines et des cellules acinaires dans les formes mixtes.....	51
1. Expression du RA dans plus de la moitié des CNE : transdifférenciation incomplète.....	51
2. Phénotype commun au sein des deux composantes .....	51

3. Marqueurs d'agressivité : plus exprimés dans la composante neuro-endocrine .....	52
D. Comparaison du phénotype acinaire dans les CRPC avec composante NE par rapport aux CRPC sans composante NE.....	52
E. Limitations de l'étude: taille et hétérogénéité de la cohorte .....	53
F. Mécanisme de la transdifférenciation neuro-endocrine .....	53
VI. Conclusion et perspectives .....	54
Bibliographie.....	55

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1- Rapports anatomiques prostatiques-Vue postérieure-d'après Netter .....	18
Figure 2-Histologie d'une coupe sagittale de prostate. ZT = zone de transition, ZP = zone périphérique, VM = veru montanum, BNV = bandelette neuro-vasculaire .....	19
Figure 3-Score de Gleason – Schéma original (à gauche) et modifié selon l'ISUP 2014 (à droite) .....	22
Figure 4- Cytologie d'un CNE à grandes cellules (d'après Epstein, Surgical Pathology-2014) .....	26
Figure 5-Adénocarcinome prostatique neuro-endocrine de type paneth (d'après Epstein, Surgical Pathology-2014) .....	27
Figure 6-Tumeur carcinoïde (d'après Epstein, Surgical Pathology-2014) .....	28
Figure 7-Modèle schématique de l'émergence du phénotype neuro-endocrine dans la progression du cancer de prostate (d'après Terry, Frontiers in Oncology- 2014) .....	29
Figure 8-Réalisation d'un bloc de TMA.....	36
Figure 9-Réaction AG-AC avec le complexe streptavidine-biotine .....	37
Figure 10-Courbe de survie globale des patients ayant un CNE DE forme pure ou mixte.....	41
Figure 11-Courbe de survie globale des patients ayant un CNE selon l'expression de PTEN .....	42
Figure 12- Courbe de survie globale des patients ayant un CNE selon l'expression du RA .....	42
Figure 13-Courbe de survie des patients ayant un CNE selon l'expression de NKX3.1 <b>Erreur ! Signet non défini.</b>	
Figure 14- Courbe de survie globale des patients selon le Ki67.....	42
Figure 15-Aspects histologiques (x20) de la composante NE organisée en nappe de cellules et de la composante acinaire organisée en structures glandulaires.....	45
Figure 16-Aspects histologiques (x200) de la composante NE au noyau à la chromatine fine et de la composante acinaire au noyau clarifié et nucléolé.....	45
Figure 17-Marquage immunohistochimique du RA au sein de la composante neuro-endocrine en cas de transdifférenciation complète ou incomplète .....	45
Figure 18- Marquage immunohistochimique (x200) du RA au sein de la composante acinaire .....	46
Figure 19-Marquage immunohistochimique (x200) de NKX3.1 au sein de la composante NE en cas de transdifférenciation complète ou incomplète .....	46
Figure 20-Marquage immunohistochimique (x200) de NKX3.1 au sein de la composante acinaire ....	46
Figure 21-Marquage immunohistochimique (x20) de ERG au sein de la composante NE et acinaire..	47
Figure 22-Marquage immunohistochimique (x200) de la chromogranine A au sein de la composante NE et de la composante acinaire.....	47
Figure 23-Marquage immunohistochimique (x200) de TTF-1 dans la composante NE et la composante acinaire .....	47

Tableau 1-Classification proposée par l'ISUP 2014 .....	22
Tableau 2-Liste des anticorps primaires testés .....	38
Tableau 3- Caractéristiques clinico-pathologiques des patients étudiés.....	39
Tableau 4-Expression des différents marqueurs au sein de la composante neuro-endocrine.....	40
Tableau 5- Comparaison de l'expression des différents marqueurs entre composante acinaire et composante neuro-endocrine.....	43
Tableau 6- Comparaison de l'expression des marqueurs entre composante acinaire seule ou associée à une composante neuro-endocrine.....	44

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

AC: Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADK : Adénocarcinome

Ag: Antigène

ARN : Acide Ribonucléique

AR-V7 : Androgen receptor-variant 7

AURKA : Aurora Kinase A

BNV: Bandelettes Neuro-Vasculaires

CaP: Carcinome Prostatique

CNE : Carcinome neuro-endocrine

CRPC : Cancer de prostate résistant à la castration

ERG : ETS-related gene

EZH2 : Enhancer of zeste homolog 2

FISH : Fluorescence in situ hybridization

FOXA2 : Forkhead Box A2

HP1 $\alpha$  : Heterochromatin protein 1 $\alpha$

HES: Hématoxyline-Eosine-Safran

IRM: Imagerie par Résonnance Magnétique

PSA: Antigène Prostatique Spécifique

PTEN : Phosphatase and TENsin homolog mutated in multiple advanced cancers 1

RA: Récepteur aux Androgènes

REST : RE-1 silencing transcription factor

SSRM-4 : Serine/Arginine-repetitive Matrix4

TMA: Tissue Microarray

TTF-1 : Thyroid Transcription Factor 1

Zeb1 : Zinc finger E-box homeobox

## RESUME

**Introduction :** Les carcinomes neuro-endocrines (CNE) à petites cellules de la prostate sont des tumeurs rares et agressives représentant moins de 5 % des cancers prostatiques. Le cas de figure le plus fréquent est l'émergence d'un phénotype neuro-endocrine après déprivation hormonale dans les cancers résistants à la castration via un mécanisme appelé transdifférenciation neuro-endocrine, qui peut être totale ou partielle. L'objectif de cette étude multicentrique est d'analyser dans les CNE prostatiques, l'expression conjointe de marqueurs neuro-endocrines, de gènes de la signalisation androgénique et de marqueurs d'agressivité tumorale.

**Matériels et méthodes :** Nous avons étudié en immunohistochimie sur tissu microarray l'expression de marqueurs neuro-endocrines (chromogranine A, synaptophysine, TTF-1), de gènes de la signalisation androgénique (récepteur aux androgènes (RA), NKX3.1, PSA, AR-V7, ERG) et de marqueurs d'agressivité (SPINK1, PTEN, Zeb1 et Ki67). L'expression de ces marqueurs a été analysée dans 15 cas de CNE incluant 6 formes pures et 9 formes mixtes, 2 cas de novo et 13 secondaires à une déprivation androgénique. L'expression des marqueurs a été comparée à celle de 48 cas de carcinome prostatique résistant à la castration (CRPC) sans différenciation NE. Concernant les formes mixtes, l'immunophénotype du contingent neuro-endocrine a été comparé à celui du contingent adénocarcinomateux. Les tissus tumoraux proviennent de prélèvements de différents types. Les caractéristiques cliniques incluant la durée de survie ont été recueillies.

**Résultats :** Les CNE expriment, dans la totalité des cas, la chromogranine A et plus de la moitié expriment le RA et NKX3.1. La durée de survie est plus importante pour les patients dont la tumeur présente une persistance d'expression du RA. Dans les formes mixtes, ERG est exprimé de façon similaire dans les deux composantes, avec néanmoins une expression plus élevée de Zeb1 et Ki67 dans la composante neuro-endocrine. Les CRPC sans composante NE ont une prolifération plus élevée que ceux associés à une composante NE.

**Conclusion :** Ces résultats montrent que la transdifférenciation NE reste incomplète dans la moitié des cas et suggèrent une filiation entre les cellules tumorales NE et les cellules tumorales acinaires. De nouvelles études sont nécessaires pour caractériser les mécanismes moléculaires de la transdifférenciation neuro-endocrine.

**Mots-clés :** Cancer, prostate, transdifférenciation neuro-endocrine, Chromogranine A, récepteur aux androgènes, NKX3.1, ERG, SPINK1, Zeb1



## ABSTRACT

**Introduction :** Small cell neuroendocrine carcinoma of the prostate (SCPC) is a rare and aggressive disease that represents less than 5% of all prostate cancers. The most common case is the emergence of a neuroendocrine phenotype after hormonal deprivation in castration resistant cancers, following a process of neuroendocrine transdifferentiation. This multi-institutional study aims to characterize, in SCPC, the expression of neuro-endocrine, prostate specific and aggressiveness markers.

**Materials and methods :** Immunohistochemistry on tissue microarray (TMA) was used to analyze the expression of neuroendocrine (chromogranin A, synaptophysin, TTF-1), prostate specific (androgen receptor (AR), NKX3.1, PSA, AR-V7, ERG) and aggressiveness markers (SPINK1, PTEN, Zeb1, Ki67). The TMA was constructed with samples from 15 SCPC, including 6 pure neuroendocrine tumors and 9 cases admixed with an adenocarcinoma component. Thirteen cases on 15 were secondary to androgen deprivation, and their immunophenotype was compared with 48 cases of castration resistant prostate cancer (CRPC) without neuroendocrine differentiation. In the cases with admixed adenocarcinoma, the immunophenotype of both components was compared. For each patient, biological and clinical characteristics, including overall survival, were collected.

**Results :** Chromogranin A expression was found in all SCPC, and AR (together with NKX3.1) staining was observed in more than 50% of cases. Overall survival was increased in cases with persistent AR expression. In cases with admixed adenocarcinoma, ERG expression was identical in both components, whereas Zeb1 and Ki67 stainings were increased in the neuroendocrine component. The proliferation rate was higher in the cases of CRPC without neuroendocrine differentiation, compared to those with a neuroendocrine component.

**Conclusion :** These results show that the neuroendocrine transdifferentiation process is incomplete in half of cases, and suggest a filiation between neuroendocrine and acinar cancer cells. Further studies are necessary to better characterize molecular mechanisms leading to neuroendocrine transdifferentiation.

**Key words :** Cancer, prostate, neuroendocrine transdifferentiation, Chromogranin A, NKX3-1, ERG, SPINK1, Zeb1

# I. INTRODUCTION

## A. LA PROSTATE

### 1. EMBRYOLOGIE

Sous la dépendance des androgènes, l'épithélium prostatique se développe à partir d'évaginations endoblastiques de la face postérieure de l'urètre prostatique lors de la douzième semaine. Le stroma et le muscle lisse se développe à partir du mésoblaste environnant. La glande devient active à partir de la quinzième semaine et englobe à ce stade, l'urètre, l'utricule prostatique et les canaux éjaculateurs.

### 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. Elle est de consistance ferme.

La prostate est située sous la vessie, en avant de l'ampoule rectale et en arrière du pubis.

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**, bordées par les bandelettes neuro-vasculaires (BNV, riches en vaisseaux et nerfs sympathiques et parasympathiques impliqués dans l'érection) 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.

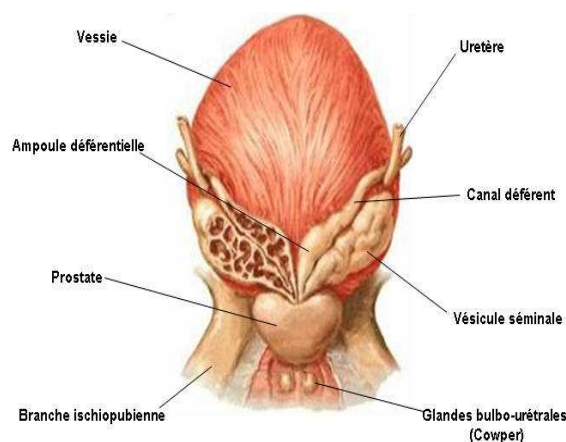


FIGURE 1- RAPPORTS ANATOMIQUES PROSTATIQUES-VUE POSTERIEURE-D'APRES NETTER

La prostate entoure le col de la vessie et l'urètre proximal (dit 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.

En 1981, McNeal établit le modèle des quatre zones constituant la prostate <sup>1</sup> :

- la **zone centrale** autour des canaux éjaculateurs
- la **zone de transition** composée de deux lobes situés latéralement par rapport à la partie proximale de l'urètre prostatique.
- la **zone périphérique** à la partie postérieure de la prostate constitue l'ensemble de l'apex.
- la **zone fibro-musculaire antérieure**, dépourvue de glande, est en continuité avec les fibres du col vésical et du sphincter strié de l'urètre.

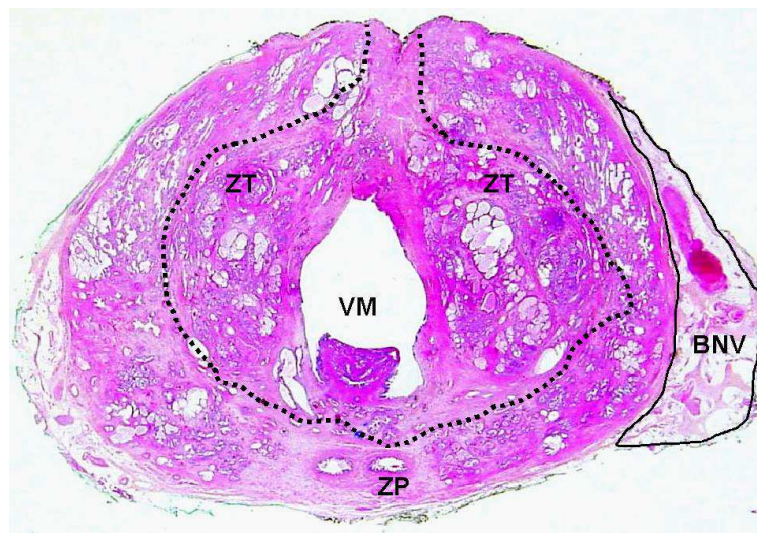


FIGURE 2-HISTOLOGIE D'UNE COUPE SAGITTALE DE PROSTATE. ZT = ZONE DE TRANSITION, ZP = ZONE PERIPHERIQUE, VM = VERU MONTANUM, BNV = BANDELETTE NEURO-VASCULAIRE

### 3. FONCTION

La prostate a pour rôle de stocker et sécréter le liquide séminal. Grâce à ses caractéristiques contractiles, elle participe à l'expulsion du sperme lors de l'éjaculation.

Les androgènes, principalement la testostérone, sont impliqués dans sa croissance et dans son développement. Ainsi la castration de l'homme adulte conduit à l'atrophie de la prostate.

Les androgènes régulent également le fonctionnement de la prostate. Sous leur influence, les cellules prostatiques sécrètent un antigène prostatique spécifique (PSA) qui permet de liquéfier le fluide gélatineux lors de l'éjaculation. Cet antigène est produit en grande quantité par les cellules carcinomateuses et donc le taux sanguin de PSA est utilisé pour le dépistage et le suivi des cancers prostatiques.

Le testicule, grâce aux cellules de Leydig, sécrète la testostérone sous le contrôle de la LH hypophysaire (hormone lutéinisante). Au sein des cellules prostatiques, la testostérone est métabolisée en di-hydrotestostérone par une enzyme, la 5-alpha-réductase. La di-hydrotestostérone est l'androgène intra-cellulaire le plus actif dans la prostate.

Les cellules neuro-endocrines sont également impliquées de manière physiologique dans le développement de la glande prostatique et le contrôle de la sécrétion via des mécanismes autocrines et paracrines<sup>2</sup>. Elles sécrètent de nombreux neuropeptides (comme la bombésine, la calcitonine, la PTH, la sérotonine et l'adrénomédulline) et des facteurs de croissance (dont le VEGF) afin de maintenir l'homéostasie<sup>3</sup>.

#### 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.

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. C'est au sein de la couche basale que l'on retrouve des cellules souches (extrêmement minoritaires), parmi les cellules basales et intermédiaires. La quasi-totalité des cellules de la couche basale n'expriment pas le récepteur 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 amylicés.
- Les **cellules neuro-endocrines**, peu nombreuses, sont dispersées entre la couche basale et la couche luminale de la glande. Elles sont difficilement observables en

coloration standard HES (Hématoxyline-Eosinophile-Safran) sauf lorsqu'elles se différencient en cellules de Paneth riches en granulations éosinophiles cytoplasmiques. C'est l'immunohistochimie qui permet de les individualiser. La positivité de la chromogranine A, de la synaptophysine et de CD56 est spécifique de la cellule neuro-endocrine. Par contre, elles n'expriment pas le RA. Le nombre de cellules neuro-endocrines varie en fonction de l'ethnie. Elles sont présentes en faible quantité chez les afro-américains, une population plus à risque de développer des cancers prostatiques<sup>4</sup>.

Le stroma est composé essentiellement de fibroblastes et de cellules musculaires lisses et est parcouru par un réseau nerveux et vasculaire.

## **B. L'ADÉNOCARCINOME PROSTATIQUE**

Le cancer de prostate est le cancer masculin le plus fréquent en France. Son incidence est de plus de 53 000 nouveaux cas estimés en 2012 (source INCa 2015). L'incidence est très faible avant 50 ans et augmente progressivement avec l'âge. L'âge moyen du diagnostic est de 70 ans. Il s'agit de la troisième cause de décès par cancer avec une tendance à la diminution et une survie à 5 ans de 80%.

Le cancer de prostate est asymptomatique. Il est suspecté devant une élévation du taux de PSA. C'est pourquoi l'Association Française d'Urologie recommande un dépistage tous les deux ans par toucher rectal (TR) couplé au dosage du PSA total chez tous les hommes de 50 à 75 ans dès lors que l'espérance de vie est supérieure à 10 ans<sup>5</sup>. Le TR est recommandé préalablement à la prescription du dosage de PSA total<sup>6</sup>. Un TR suspect est une indication de biopsies prostatiques, quelle que soit la valeur du PSA<sup>5</sup>. Le dosage sanguin du PSA est actuellement le test de référence. Le seuil de normalité varie en fonction du test utilisé. La norme la plus communément admise par les laboratoires est de moins de 4 ng/ml. L'élévation du taux de PSA n'est pas spécifique du cancer et est possible en cas d'infection prostatique notamment. Le dosage du PSA libre n'a que d'exceptionnelles indications. Il permet d'affiner l'indication de biopsies dans des cas spécifiques appréciés par l'urologue. La cinétique du PSA est utile au suivi des patients après traitement<sup>5</sup>.

Ce sont les biopsies prostatiques qui permettent d'établir un diagnostic de certitude. Elles permettent également de préciser les éléments histopronostiques utiles à la prise en charge du patient (localisation tumorale, pourcentage de cancer sur chaque biopsie, groupe pronostique, présence d'une extension extra-prostatique). Les biopsies sont réalisées par voie transrectale, guidées par une échographie endorectale. Dix à douze biopsies sont en règle réalisées permettant une cartographie précise de la glande prostatique.

Les cancers de prostate sont, dans 90 % des cas, des adénocarcinomes acinaires développés à partir des cellules luminales sécrétoires. Les adénocarcinomes prostatiques font preuve d'un grand polymorphisme architectural et cytologique de la forme bien différenciée ressemblant à une glande normale à la forme très peu différenciée. On utilise alors le score de Gleason pour déterminer le degré de différenciation. Le système de grading défini par Gleason comporte cinq grades architecturaux allant de 1 à 5.

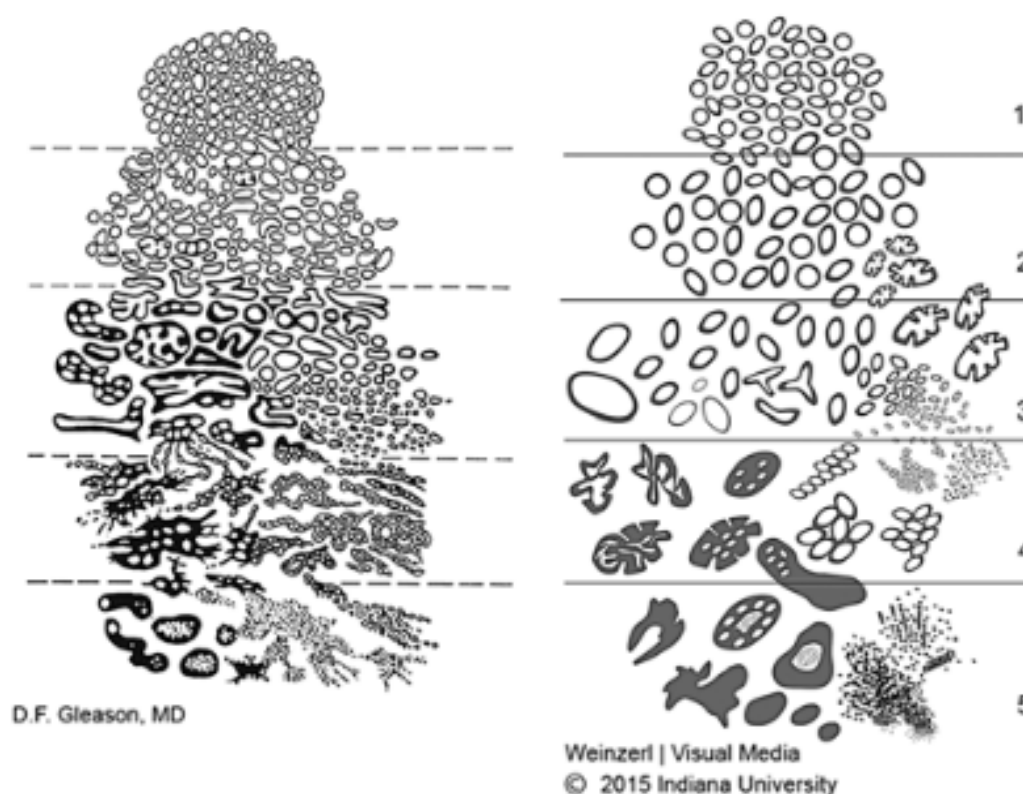


FIGURE 3-SCORE DE GLEASON – SCHEMA ORIGINAL (A GAUCHE) ET MODIFIE SELON L'ISUP 2014 (A DROITE)

On réalise ensuite la somme de deux grades (le plus agressif et le plus représenté) afin d'obtenir un score allant de 2 à 10. Les grades 1 et 2 ne sont actuellement plus utilisés, et une nouvelle classification a été proposée par l'ISUP en 2014 avec les groupes pronostiques suivants<sup>7</sup>:

TABEAU 1-CLASSIFICATION PROPOSEE PAR L'ISUP 2014

Groupe 1	Score de Gleason 6 (3+3)
Groupe 2	Score de Gleason 7 (3 majoritaire)
Groupe 3	Score de Gleason 7 (4 majoritaire)
Groupe 4	Score de Gleason 8 (4+4, 3+5 ou 5+3)
Groupe 5	Score de Gleason 9 ou 10 (4+5, 5+4 ou 5+5)

En cas de cancer cliniquement localisé, en fonction du risque défini par la classification de d'Amico (incluant le taux de PSA, le score ISUP et le stade clinique) et de l'espérance de vie du patient, les options thérapeutiques sont : la surveillance simple, la surveillance active, la prostatectomie radicale, la curiethérapie et la radiothérapie externe (associée à une hormonothérapie courte en cas de haut risque).

En cas de cancer métastatique, l'hormonothérapie de première génération est recommandée. Il ne s'agit pas d'un traitement à visée curative. L'objectif du traitement hormonal de première génération est d'inhiber la production de testostérone en utilisant des agonistes ou antagonistes de la LH-RH. Parfois des anti-androgènes sont utilisés en complément avec une action directe sur le RA.

Malgré une efficacité initiale, les tumeurs récidivent dans un délai variant de quelques mois à plusieurs années et le cancer est dit alors résistant à la castration (CPRC). Le diagnostic repose sur une augmentation du PSA sur trois dosages successifs à au moins deux semaines d'intervalle avec une testostéronémie inférieure à 0,50 ng/mL. Plusieurs mécanismes sont responsables de cette résistance. Certains sont dépendants du récepteur aux androgènes (comme l'amplification ou la phosphorylation du récepteur) et d'autres sont indépendants comme la dédifférenciation en cellules souches ou la transdifférenciation neuro-endocrine<sup>8</sup>.

Les options thérapeutiques actuelles pour les CPRC sont soit l'utilisation d'hormonothérapies de seconde génération, par inhibition de synthèse des androgènes (Acétate d'abiratérone) ou par blocage de l'activation du RA (Enzalutamide), soit un traitement par chimiothérapie type taxanes (Docétaxel)<sup>5</sup>.

## **C. LE CANCER PROSTATIQUE NEURO-ENDOCRINE A PETITES CELLULES**

Il a été décrit pour la première fois par Wenk et al en 1977<sup>9</sup>.

### **1. EPIDÉMIOLOGIE**

Le carcinome neuro-endocrine (CNE) représente 0,1 à 10 % des cancers de prostate, qu'il soit de forme pure ou mixte (c'est-à-dire associé à un contingent adénocarcinomateux). La forme mixte est la forme la plus fréquente (environ 50 à 65 % des cas)<sup>10</sup>.

Les carcinomes prostatiques neuro-endocrines d'emblée, c'est-à-dire avant toute manipulation hormonale, sont particulièrement rares et ne représentent que 1 % des cancers de la prostate<sup>11</sup>. Il n'existe donc que très peu de données dans la littérature qui ne concernent que des séries de petite taille. L'utilisation d'une base de données SEER (Surveillance, epidemiology and End results) représentant un échantillonnage de 26 % de la population américaine, a permis de mettre en évidence 309 cas de CNE *de novo* sur 510 913 cancers prostatiques soit une incidence de 1 / 1 million d'habitants /an<sup>12</sup>.

C'est l'émergence d'un phénotype neuro-endocrine après manipulation hormonale dans un contexte de cancer résistant à la castration (CRPC) qui est le plus fréquemment observé. Une série d'autopsies a montré une différenciation neuro-endocrine chez 10 à 20 % des patients décédés d'un CRPC <sup>13</sup>. Ce chiffre tend probablement à augmenter devant l'apparition de nouvelles molécules agissant sur l'axe des androgènes pouvant entraîner le phénomène de transdifférenciation neuro-endocrine. En effet, une étude récente estime que 25 % des patients traités par Acétate d'abiratérone ou Enzalutamide vont développer un CRPC de sous-type neuro-endocrine <sup>14</sup>. L'intervalle de temps rapporté entre le diagnostic initial d'adénocarcinome et celui de CRPC NE à petites cellules est en moyenne de 25 mois <sup>15</sup>.

## **2. FACTEURS DE RISQUE**

Il n'existe pas assez de cas de CNE *de novo* de prostate, c'est-à-dire sans manipulation hormonale préalable, pour individualiser des facteurs de risque <sup>12</sup>.

Concernant les CNE prostatiques post-hormonothérapie, leur nombre augmente proportionnellement à la durée d'exposition à la castration et aux nouvelles hormonothérapies <sup>10,16,17</sup>.

## **3. PRONOSTIC**

La médiane de survie de 191 patients de 1973 à 2004 selon les données de la SEER est de 19 mois.

## **4. DIAGNOSTIC**

Concernant les CNE *de novo*, lorsqu'ils sont de forme mixte, tous comme les adénocarcinomes de prostate au stade précoce, sont asymptomatiques et suspectés le plus souvent sur une élévation du taux sérique de PSA. Dans les cas très rares de CNE pur *de novo*, la palpation d'un nodule tumoral de grande taille dans un contexte de taux de PSA faible pourrait faire évoquer un CNE. En raison de la rareté de ces CNE, les marqueurs neuro-endocrines circulants ne sont pas réalisés en pratique courante. Cependant, selon la base de donnée SEER, ces CNE *de novo*, purs ou mixtes, sont dans 64% des cas métastatiques au moment du diagnostic.

La situation clinique la plus fréquente reste celle d'un patient suivi et traité par hormonothérapie et qui développe secondairement un CNE. Le diagnostic doit être évoqué devant un volume tumoral important, une résistance au traitement hormonal après un intervalle court, une progression tumorale rapide avec développement de métastases viscérales (qui sont exceptionnelles en cas d'adénocarcinomes acinaires) ou de lésions



osseuses lytiques, un taux de PSA faible et la présence de marqueurs neuro-endocrines circulants.

Il n'existe pas de traduction clinique spécifique de la sécrétion de ces CNE. Des syndromes endocriniens ont été décrits voire d'exceptionnels syndromes paranéoplasiques avec production anormale de l'hormone anti-diurétique, de l'hormone adrénocorticotrope ectopique et hypercalcémie.

## 5. HISTOPATHOLOGIE

Toutes les tumeurs neuro-endocrines de la prostate ne sont pas des cancers neuro-endocrines à petites cellules. En effet, la différenciation neuro-endocrine des cancers de prostate recouvre des entités diverses correspondant à des situations cliniques variées, faisant l'objet d'une classification remise à jour en 2014 et incluse dans l'OMS des tumeurs prostatiques en 2016 <sup>11</sup>.

### CARCINOME NEURO-ENDOCRINE À PETITES CELLULES

Le CNE prostatique ne présente pas de particularités morphologiques et immunohistochimiques propres et se base sur les mêmes critères que pour le CNE à petites cellules du poumon proposés par l'OMS en 1999.

On observe une prolifération de petites cellules au cytoplasme peu abondant et au noyau à la chromatine fine dite "poussièreuse" sans gros nucléole proéminent. Les mitoses sont nombreuses et les foyers de nécrose tumorale sont fréquents. Des variantes avec un petit nucléole, des cellules géantes ou une organisation en file indienne peuvent également être observées <sup>7</sup>.

Ces cellules expriment au moins un marqueur neuro-endocrine (chromogranine A, synaptophysine ou CD56) dans 90 % des cas <sup>15,18</sup>.

Le PSA et les autres marqueurs prostatiques peuvent être positifs dans 17 à 25 % des cas <sup>15,18</sup>.

Une expression de TTF-1 pouvant être retrouvée dans 50 % des CNE à petites cellules prostatiques, ce marqueur ne permet pas de faire la distinction entre CNE d'origine prostatique ou métastase de CNE pulmonaire <sup>19,20</sup>.

### CARCINOME NEURO-ENDOCRINE À GRANDES CELLULES

Il s'agit d'une tumeur agressive extrêmement rare, particulièrement dans sa forme pure. La plus grosse série publiée porte sur 7 cas dont un seul est une forme pure et apparemment *de novo*, les six autres correspondant à l'évolution d'un adénocarcinome traité par hormonothérapie <sup>21</sup>. Histologiquement, on observe des plages et des travées, avec un aspect palissadique en périphérie, des cellules au cytoplasme amphophile, à la chromatine

granuleuse et au nucléole proéminent. L'activité mitotique est élevée et des foyers de nécrose tumorale sont présents. Cette tumeur exprime la chromogranine A, la synaptophysine et CD56 et une positivité du PSA peut être également observée. L'index de prolifération Ki67 est supérieur à 50 %. Ce contingent peut être associé à un CNE à petites cellules ou un adénocarcinome <sup>22</sup>. A noter qu'au niveau de la prostate, les cellules neuro-endocrines tumorales ont fréquemment une morphologie intermédiaire entre les petites et les grandes cellules.

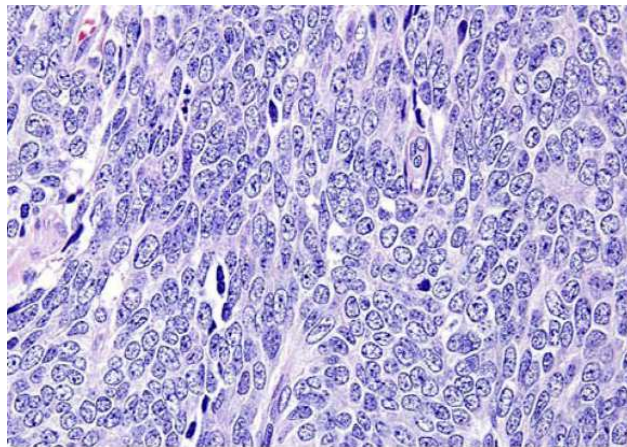


FIGURE 4- CYTOLOGIE D'UN CNE A GRANDES CELLULES (D'APRES EPSTEIN, ,AM J SURG PATHOL 2014-2014)

#### CARCINOME DE TYPE MIXTE ASSOCIANT ADÉNOCARCINOME/CARCINOME NEURO-ENDOCRINE

C'est une tumeur biphasique agressive avec deux contingents bien distincts. Le premier correspond à un adénocarcinome acinaire classique, plus rarement ductal et le second est neuro-endocrine, à petites cellules le plus souvent, parfois à grandes cellules. Le plus fréquemment, la transition entre les deux contingents est nette, parfois ils peuvent se chevaucher sans distinction évidente entre les deux. La difficulté est alors de différencier le contingent NE d'un contingent adénocarcinomateux de grade 5. Sur un compte-rendu, le score de Gleason sera calculé sur la composante adénocarcinomateuse sans prendre en compte le contingent NE et le pourcentage des deux contingents devra être apprécié.

#### ADÉNOCARCINOME PROSTATIQUE TYPIQUE AVEC CONTINGENT NEURO-ENDOCRINE

Il s'agit d'un adénocarcinome acinaire ou ductal dont la morphologie est typique. Seule l'immunohistochimie permet de mettre en évidence une différenciation neuro-endocrine <sup>23</sup>. En fonction du nombre de lames étudiées et d'anticorps utilisés, ce marquage éparé serait visible dans 10 à 100 % des cas d'adénocarcinome « standard » <sup>1, 3 24,8</sup>. Pour ces cas, le PSA est positif sur le contingent adénocarcinomateux et variable dans les cellules neuro-endocrines <sup>26</sup>. Le pronostic péjoratif de ces adénocarcinomes avec quelques cellules neuro-endocrines éparées est controversé. Certaines études le suggèrent mais avec un lien statistique insuffisant pour avoir un intérêt clinique <sup>3,27-30</sup>. De nombreuses autres études ont montré que la présence de cellules neuro-endocrines n'avait pas de répercussion sur la

survie <sup>31</sup>. Il n'est donc pas recommandé en routine d'utiliser l'immunohistochimie pour rechercher des cellules neuro-endocrines si la morphologie est typique d'un adénocarcinome acinaire de la prostate <sup>23</sup>.

#### ADÉNOCARCINOME AVEC DIFFÉRENCIATION NEURO-ENDOCRINE DE TYPE PANETH

Il correspond à un adénocarcinome classique de la prostate contenant, en nombre variable, des cellules avec un cytoplasme de grande taille contenant des granules éosinophiles (cellules de type Paneth) <sup>23</sup>. Le terme de « cellules Paneth-like » est utilisé pour décrire un sous-type de cellules neuro-endocrines éosinophiles <sup>32</sup>. Ces cellules peuvent être retrouvées de façon isolées ou organisées en glandes ou en nids au sein d'un adénocarcinome prostatique acinaire <sup>33,34</sup>. Une forme amphophile au cytoplasme moins éosinophile peut également être retrouvée. Ces deux formes expriment fortement les marqueurs neuro-endocrines à l'immunohistochimie mais pas les marqueurs prostatiques <sup>23</sup>. Le pronostic de ce sous-type est mal connu, il semble intéressant en routine de demander les marqueurs neuro-endocrines en présence de cellules de type Paneth ou amphophile <sup>23</sup>.

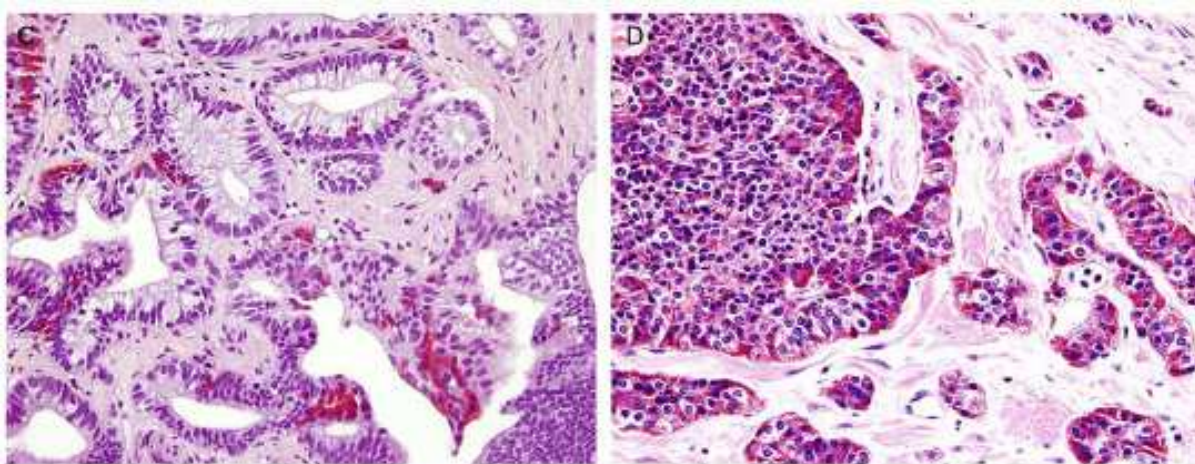


FIGURE 5-ADÉNOCARCINOME PROSTATIQUE NEURO-ENDOCRINE DE TYPE PANETH (D'APRES EPSTEIN, AM J SURG PATHOL 2014)

#### TUMEUR CARCINOÏDE

La tumeur carcinoïde est une tumeur neuro-endocrine bien différenciée que l'on retrouve au sein de la glande prostatique et dont la morphologie est identique aux tumeurs carcinoïdes d'autres organes.

Les trois critères nécessaires pour poser ce diagnostic sont : l'absence de contingent adénocarcinomateux associé, une positivité des marqueurs NE et une négativité du PSA à l'immunohistochimie, une origine prostatique et non une invasion d'une tumeur de l'urètre ou de la vessie <sup>23</sup>.

Il s'agit d'une tumeur exceptionnelle. Dans la littérature, seulement cinq cas répondaient à l'ensemble de ces critères. Bien que les données soient limitées, il semble que la tumeur carcinoïde prostatique se présente souvent à un stade localement avancé avec métastase ganglionnaire même si elle est de bon pronostic. Elle doit être gradée comme pour les tumeurs du tractus digestif avec l'index de prolifération Ki67 et le compte mitotique. Chez les patients jeunes, une néoplasie endocrinienne multiple doit être recherchée<sup>23</sup>.

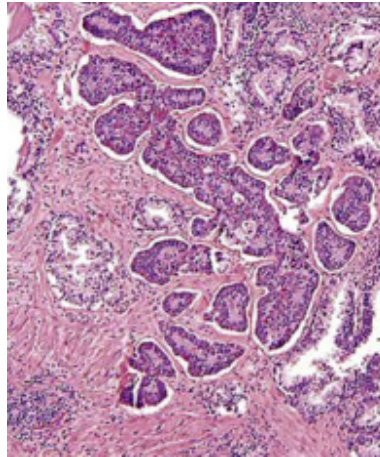


FIGURE 6-TUMEUR CARCINOÏDE (D'APRES EPSTEIN, AM J SURG PATHOL 2014)

## 6. TRAITEMENTS

Contrairement aux traitements des formes localisées, il existe une prise en charge spécifique des CNE de la prostate métastatiques. Les dernières recommandations en onco-urologie 2016-2018 du comité de cancérologie de l'association française d'urologie (CCAFU), conseillent, en cas de tumeur indifférenciée, neuro-endocrine, de métastases viscérales ou osseuses très symptomatiques ou d'un échappement rapide après hormonothérapie initiale (inférieur à un an), la réalisation d'une chimiothérapie si l'âge et l'état général le permettent. La chimiothérapie est la même que pour les CNE d'autres origines, c'est-à-dire à base de platine. En cas de non réponse, il n'existe pas de standard pour la seconde ligne de chimiothérapie<sup>5,10</sup>.

### D. LA TRANSDIFFERENCIATION NEURO-ENDOCRINE

#### 1. QUELLE EST LA CELLULE D'ORIGINE DU CARCINOME NEURO-ENDOCRINE ?

Plusieurs hypothèses sont discutées concernant la cellule d'origine du cancer neuro-endocrine de la prostate<sup>10</sup>.

L'une suggère que les cellules neuro-endocrines dérivent des cellules-souches présentes dans la couche basale des glandes prostatiques et que sous l'effet de certaines conditions



telles la « déplétion androgénique », ces cellules deviendraient malignes via des mécanismes de signalisation paracrine<sup>35-37</sup>.

Une autre hypothèse, actuellement favorisée, est celle de transdifférenciation ou transition épithélio-neuroendocrine, aussi appelée plasticité de lignée<sup>38</sup>. Sous l'influence de facteurs encore mal connus dont la déprivation hormonale, les cellules adénocarcinomeuses vont acquérir l'expression de marqueurs neuro-endocrines avec une diminution (en cas de transdifférenciation incomplète) ou une perte (en cas de transdifférenciation complète) de l'expression des marqueurs de la voie du récepteur aux androgènes.

On peut faire le parallèle avec les adénocarcinomes pulmonaires EGFR mutés qui, après traitement par un inhibiteur d'EGFR, récidivent sous forme de carcinomes neuro-endocrines à petites cellules<sup>39</sup>.

Dans des conditions de déplétion androgénique, des cellules de la lignée d'adénocarcinome de prostate (LNCaP) acquièrent, *in vitro*, un phénotype neuro-endocrine. Ce phénomène est aussi décrit *in vivo* dans des modèles tridimensionnels et de xénogreffes<sup>40</sup>.

Les adénocarcinomes et les carcinomes neuro-endocrines partageraient donc la même origine clonale<sup>41-44</sup>. Les mécanismes initiant ce processus de transdifférenciation neuro-endocrine sont mal compris mais les manipulations hormonales ainsi que les facteurs du micro-environnement tumoral comme l'hypoxie semblent impliqués.

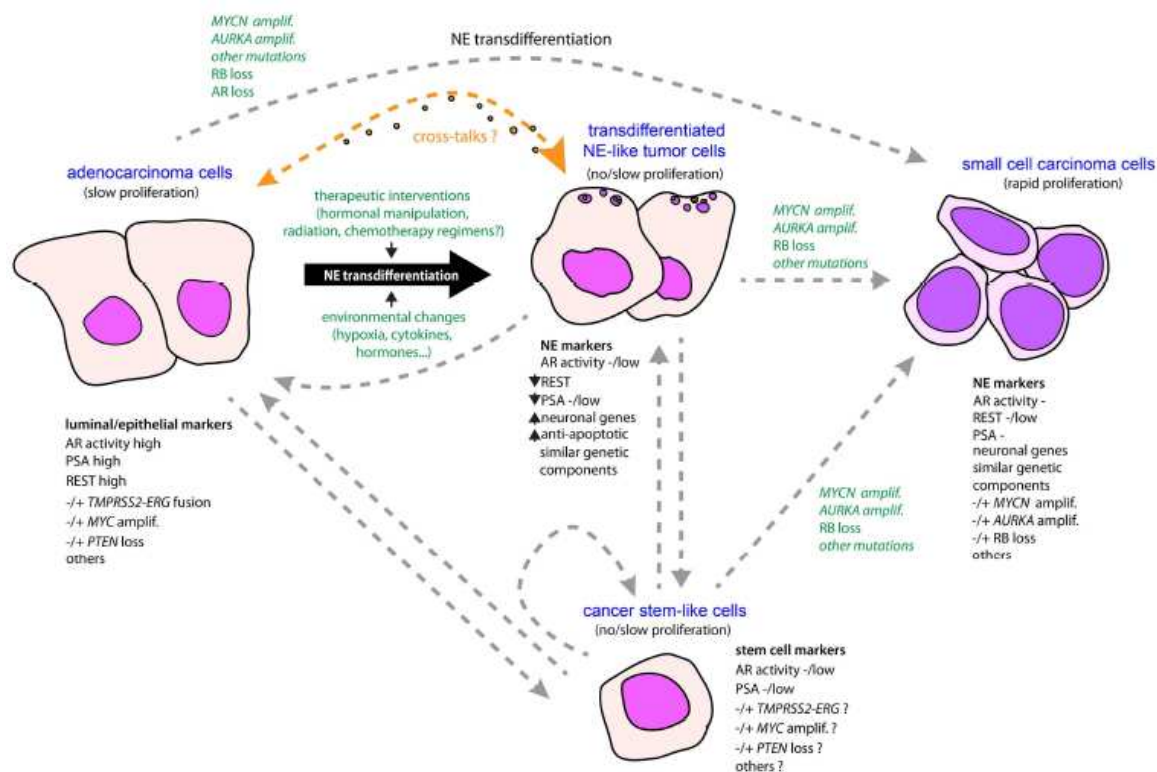


FIGURE 7-MODELE SCHEMATIQUE DE L'EMERGENCE DU PHENOTYPE NEURO-ENDOCRINE DANS LA PROGRESSION DU CANCER DE PROSTATE (D'APRES TERRY, FRONTIERS IN ONCOLOGY- 2014)

## 2. LES MARQUEURS NEURO-ENDOCRINES

### a) CHROMOGRANINE A-SYNAPTOPHYSINE

Les cancers neuro-endocrines prostatiques à petites cellules expriment, comme tous les autres CNE d'autres organes, les marqueurs neuro-endocrines : chromogranine A et synaptophysine. Il ne s'agit pas de marqueurs d'organes mais de marqueurs spécifiques de la cellule neuro-endocrine, tumorale ou non.

Les chromogranines A, B et C sont des protéines solubles qui font partie de la matrice des grains de sécrétion de la plupart des cellules neuro-endocrines. L'anticorps anti-chromogranine est très spécifique mais le marquage dépend du contenu en granules de la cellule et en cas de forme peu différenciée, la sensibilité peut être plus faible. En pratique courante, l'anticorps anti-chromogranine A est le plus utilisé.

La synaptophysine est une glycoprotéine membranaire présente dans les vésicules pré-synaptiques des neurones et dans les petites vésicules claires des cellules neuro-endocrines.

Un autre marqueur des carcinomes neuro-endocrines est le CD56 ou NCAM (*Neural cell adhesion molecule*). Il s'agit d'un marqueur membranaire, essentiellement utilisé en pathologie tumorale car non exprimé par certaines cellules neuro-endocrines normales. Il s'agit d'un marqueur sensible mais peu spécifique puisqu'il est également exprimé dans de nombreuses tumeurs non neuro-endocrines comme par exemple le cancer du poumon, du rein ou de l'ovaire.

### b) TTF-1 (THYROID TRANSCRIPTION FACTOR-1)

Le TTF-1 est une protéine qui régule la transcription des gènes spécifiques de la thyroïde et du poumon.

Les carcinomes neuro-endocrines prostatiques expriment fréquemment le TTF-1<sup>15</sup>. Un marquage positif des cellules tumorales pour le TTF1 ne doit donc pas être considéré comme un argument en faveur d'une origine pulmonaire.

## 3. LES MARQUEURS DE LA SIGNALISATION ANDROGENIQUE

### a) LE RÉCEPTEUR AUX ANDROGÈNES

Les androgènes sont des hormones stéroïdiennes qui stimulent ou contrôlent le développement et le maintien des caractères mâles chez les vertébrés, en se liant au récepteur aux androgènes. La testostérone est le principal androgène circulant, produite de façon quasi-exclusive par les cellules de Leydig du testicule et en faible quantité par la surrénale. L'action des androgènes passe essentiellement par l'activation du récepteur aux

androgènes. Après liaison avec le ligand, le récepteur initialement situé dans le cytoplasme, se dimérise et est transloqué dans le noyau. A ce niveau, il se fixe à l'ADN, et induit la transcription de gènes cibles du RA, dont le PSA.

Un des traitements du cancer de prostate est l'hormonothérapie. En effet, le cancer de prostate étant sous la dépendance des androgènes, la déprivation hormonale permet de bloquer la progression tumorale. Les trois principaux moyens d'action sont de diminuer la production de l'hormone circulante, d'inhiber la synthèse du dérivé actif (la 5-dihydro-testostérone) et de bloquer le récepteur.

En cas de transdifférenciation neuro-endocrine incomplète dans les CNE, l'expression nucléaire du RA peut être conservée, cependant de façon moins intense et plus focale.

#### **b) NKX3.1**

Le gène NKX3.1 code pour un facteur de transcription spécifique de la prostate jouant un rôle important dans le développement et la carcinogénèse<sup>45</sup>. Son expression est sous la dépendance des androgènes<sup>46</sup>. Ce gène est localisé sur le chromosome 8p21.2, région où l'on peut observer régulièrement une perte d'hétérozygotie dans les adénocarcinomes prostatiques.

En immuno-histochimie, le marquage nucléaire de NKX3.1 est un bon marqueur de l'origine prostatique. En effet, son expression est limitée aux cellules épithéliales prostatiques, ce qui en fait un bon marqueur de spécificité, notamment en cas de métastases<sup>47,48</sup>. Sa sensibilité est de l'ordre de 98,6%, plus importante que celle du PSA. Un marquage positif peut être encore présent même dans les formes peu différenciées.

En cas de transdifférenciation neuro-endocrine incomplète dans les CNE prostatiques, l'expression de NKX3.1 peut être conservée. NKX3.1 étant un gène cible du récepteur aux androgènes, l'absence d'expression du RA entraînera donc une absence d'expression de NKX3.1.

#### **c) L'ANTIGENE SPECIFIQUE DE LA PROSTATE-PSA**

L'antigène spécifique de la prostate (PSA) est une glycoprotéine sécrétée exclusivement par les cellules épithéliales prostatiques. Il est présent en concentration importante dans le liquide séminal. Il est également présent dans le sang à la concentration de l'ordre du ng/ml, soit un million de fois plus faible que sa concentration prostatique. Le PSA est un gène cible du RA, exprimé seulement quand le récepteur est suffisamment activé.

L'anticorps anti-PSA permet, lorsqu'il est positif, de préciser la nature prostatique de la tumeur, notamment en cas de métastase. Le PSA est exprimé dans le tissu prostatique

normal et dans la majorité des adénocarcinomes prostatiques. Cependant, en cas d'adénocarcinome peu différencié, ce marqueur peut être négatif. De plus, on peut observer une perte d'expression du PSA dans 10 à 20 % des métastases et après traitement par hormonothérapie. En cas de CNE, le PSA est le plus souvent non exprimé, car le RA est absent ou faiblement activé.

#### d) AR-V7

L'un des traitements de référence des CRPC sont les hormonothérapies de seconde génération. Cependant, une résistance primaire est observée dans 20 à 40 % des cas. L'un des mécanismes de cette résistance est la présence de variants d'épissage du RA dépourvus d'un domaine fonctionnel de liaison au ligand, dont le variant d'épissage AR-V7<sup>49</sup>. Ces variants sont constitutionnellement actifs car capables de s'activer seuls en l'absence de ligand.

#### e) ERG

En 2005, l'équipe de Tomlins<sup>50</sup> met en évidence des réarrangements de gènes entraînant leur fusion dans les cancers prostatiques. Le plus fréquent, présent dans 50% des adénocarcinomes de prostate est le gène de fusion TMPRSS2-ERG. ERG est un oncogène impliqué dans la prolifération, la différenciation, le développement des cellules souches, l'hématopoïèse, l'apoptose et la transformation oncogénique. L'expression de ERG consécutive à la présence du transcrit de fusion augmente le potentiel de migration et d'invasion cellulaire<sup>51</sup>. Ce gène de fusion est très spécifique car non retrouvé dans d'autres tumeurs. Le partenaire de ERG, TMPRSS2, est un gène cible du RA. L'expression de la protéine ERG nécessite d'une part la présence du gène de fusion, et d'autre part l'activation du RA. Si le gène de fusion est présent avec un RA absent ou faiblement activé, le gène de fusion sera détectable par FISH, mais ERG ne sera pas exprimé en immunohistochimie.

Les CNE à petites cellules prostatiques présentent, dans environ 50 % des cas, le gène de fusion TMPRSS2-ERG<sup>52</sup>. Cette fusion n'est pas retrouvée dans les CNE d'autres origines notamment pulmonaire. Cependant, contrairement aux adénocarcinomes prostatiques, la présence du gène de fusion n'est pas associée à l'expression de la protéine ERG en immunohistochimie, en raison d'un RA absent ou trop faiblement activé.

### 4. LES MARQUEURS D'AGRESSIVITE

Ces marqueurs témoignent de l'agressivité des adénocarcinomes prostatiques, liés ou non aux facteurs histopronostiques standards comme le stade d'extension ou le score ISUP. Ces marqueurs sont associés à des mécanismes liés au cycle et à la prolifération cellulaire, ainsi



qu'à l'invasion et la migration des cellules cancéreuses. Certains d'entre eux ont été étudiés dans les CNE de la prostate, comme le Ki67 avec un taux de prolifération élevé. L'expression des autres reste mal connue.

#### a) **SPINK1 (SÉRINE PROTEASE INHIBITOR KASAL TYPE 1)**

SPINK1 est une protéine de 56 acides aminés qui est codée par un gène sur-exprimé dans 10 % des carcinomes prostatiques de forme localisée. Sa sur-expression est mutuellement exclusive avec la présence de gènes de fusion. Dans les CRPC, on retrouve une association entre l'expression de SPINK1 et la délétion de PTEN<sup>53</sup>. L'expression de cette protéine a été associée à un mauvais pronostic dans l'adénocarcinome prostatique<sup>54</sup>.

#### b) **PTEN**

PTEN est un gène suppresseur de tumeur impliqué dans le contrôle tumoral. Il code pour une protéine qui participe à la régulation du cycle de division cellulaire en empêchant les cellules de se diviser trop rapidement et de façon incontrôlée. Pour cela, il bloque la voie pro-oncogène PI3K-AKT.

Des délétions du gène PTEN ont été observées dans environ 40 % des formes localisées de cancer de prostate et une perte de PTEN dans 35 à 58% dans les formes avancées<sup>55</sup>. Une perte d'expression de PTEN en immunohistochimie a été retrouvée dans 63 % des cas de CNE prostatique<sup>56</sup>.

#### c) **ZEB1 (ZINC FINGER E-BOX HOMEBOBOX)**

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 (TEM). La TEM est un processus biologique réversible amenant une cellule à perdre ses caractéristiques épithéliales pour acquérir un phénotype mésenchymateux. Zeb1 est le facteur de transcription clé de la TEM. Il est sous la dépendance de facteurs micro-environnementaux et d'autres facteurs de transcription de la TEM comme SNAIL<sup>57</sup>. *In vitro*, Zeb1 peut induire la TEM de cellules adénocarcinomeuses prostatiques, réprimer l'expression de l'E-cadhérine, augmenter les marqueurs mésenchymateux, et promouvoir la migration des cellules tumorales et l'invasion<sup>58</sup>. *In vivo*, l'expression de Zeb1 augmente parallèlement à la progression tumorale dans les adénocarcinomes prostatiques<sup>59</sup>.

## II. OBJECTIF

Quel est le degré de transdifférenciation neuro-endocrine dans les CNE prostatiques chez l'homme? Ce degré de transdifférenciation NE est-il associé aux marqueurs d'agressivité tumorale et/ou au pronostic? Y a-t-il une différence entre les CNE *de novo* et les CNE post-traitement ? Dans les CNE mixtes, existe-t-il une filiation entre les cellules NE et les cellules adénocarcinomeuses acinaires? Dans les CNE mixtes post-traitement, les cellules adénocarcinomeuses sont-elles différentes de celles des CRPC sans différenciation NE associée?

Notre travail a pour but, d'étudier, dans une cohorte de CNE prostatiques à petites cellules, les marqueurs neuro-endocrines, les marqueurs de la signalisation androgénique, les marqueurs d'agressivité et la survie globale en fonction de l'immunophénotype. L'objectif est également de comparer, dans les formes mixtes, l'immunophénotype des cellules tumorales NE avec celui du contingent acinaire et de comparer l'immunophénotype du contingent acinaire avec une cohorte de CRPC sans composante neuro-endocrine.

## III. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### A. PATIENTS ET TISSUS

Les carcinomes neuro-endocrines à petites cellules de prostate sont des tumeurs rares. Quinze cas ont été recensés au sein du CHRU de Tours et du CHU de Poitiers entre 2000 et 2017.

Deux groupes de patients ont été étudiés :

- Carcinome neuro-endocrine (n=15) pur ou mixte:

Neuf cas sont mixtes avec un contingent adénocarcinomeux associé. Les six autres sont de formes pures. Les échantillons tissulaires ont été obtenus à partir de résections trans-urétrales de prostate (n=11), de biopsies prostatiques (n=2), de prostatectomie radicale (n=1) et de ponction-biopsie hépatique (n=1).

Treize cas sont des carcinomes neuro-endocrines post-hormonothérapie, les deux derniers des carcinomes neuro-endocrines *de novo*.

- Groupe CRPC - adénocarcinome prostatique (= non neuro-endocrines) résistant à la castration (n=48) obtenus à partir de résections trans-urétrales de prostate.

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 au moment du diagnostic,
- Le taux de PSA (en ng/ml),
- L'évolution clinique et biologique. L'évolution clinique se traduit par une extension loco-régionale, l'apparition de métastases osseuses mais également viscérales et ganglionnaires. L'évolution biologique se base sur le taux de PSA en ng/ml.
- La durée de survie.

Lorsque nous étions dans un contexte de post-hormonothérapie, nous avons également étudié :

- Le délai entre le diagnostic d'adénocarcinome, l'instauration du traitement hormonal et la récurrence sous forme de carcinome neuro-endocrine,
- La séquence thérapeutique.

Ensuite, nous avons relu les lames afin de sélectionner les zones d'intérêts qui ont été incluses en TMA.

## **B. TISSUE MICROARRAY**

### **1. TECHNIQUE**

La technique de TMA permet d'analyser sur une seule lame un grand nombre d'échantillons 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. Le plan de disposition des carottes sur les blocs de TMA a été réalisé grâce à un logiciel (TMA designer 2). Nous avons ensuite 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 perforer dans le bloc receveur et la seconde à placer le cylindre biopsique de l'échantillon sélectionné.

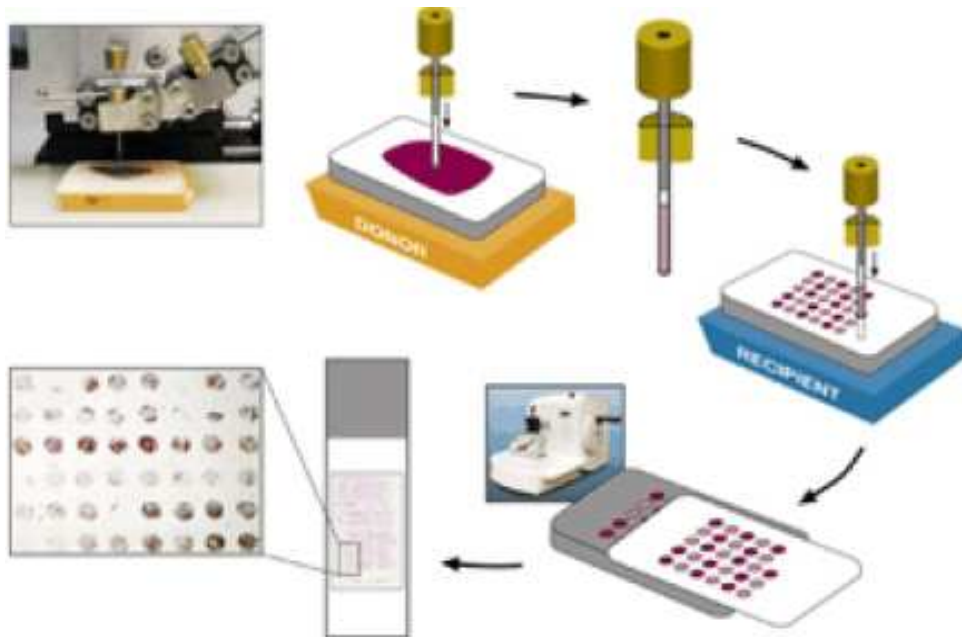


FIGURE 8-REALISATION D'UN BLOC DE TMA

## 2. CONSTRUCTION DES BLOCS DE TMA

Les blocs de TMA ont été construits à partir des prélèvements de tissus prostatiques sélectionnés. En cas de tumeur mixte (adénocarcinome et CNE), les deux composantes ont été incluses dans le TMA. Les zones d'intérêt ont été repérées par lecture des lames originelles, colorées en HES (Hématoxyline-Eosine-Safran). En fonction de la quantité de matériel disponible, de un à cinq 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 3 kg pendant une matinée. Des coupes sérieées de 3 microns ont été effectuées à partir des blocs de TMA. Un contrôle morphologique par HES a été réalisé et les autres lames utilisées pour l'étude immunohistochimique.

## C. MARQUAGES IMMUNOHISTOCHIMIQUES

Nous avons étudié en immunohistochimie, sur des tissus issus de prélèvements fixés en formol et inclus en paraffine, l'expression :

- Des marqueurs neuro-endocrines (Chromogranine A, synaptophysine, TTF1)

- Des marqueurs de signalisation androgénique (récepteur aux androgènes (RA) NKX3.1, PSA, AR-V7, ERG).
- des marqueurs d'agressivité (SPINK1, PTEN, Zeb1 et Ki67). .

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 très forte affinité de la biotine pour la streptavidine va permettre la liaison entre les AC primaires et secondaires. La DAB (diaminobenzidine), substrat chromogène de l'enzyme peroxydase produit ensuite une réaction colorée sur le site de l'Ag cible reconnu par l'AC primaire.

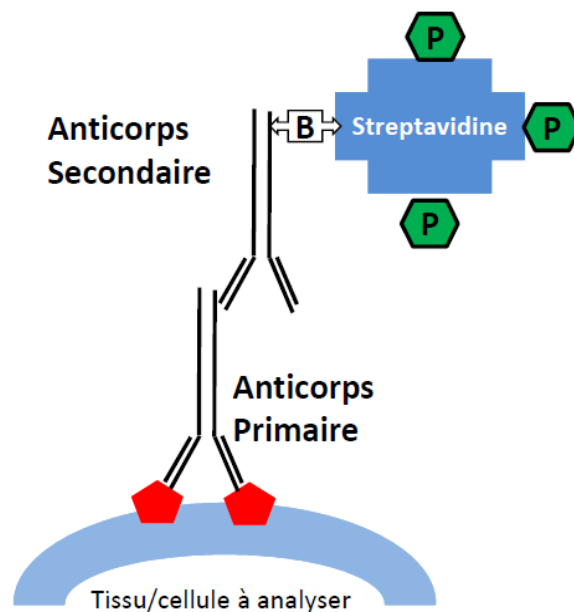


FIGURE 9-REACTION AG-AC AVEC LE COMPLEXE STREPTAVIDINE-BIOTINE

Des coupes de 3 microns ont été réalisées sur les blocs de TMA. Elles ont été 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°C, rinçage et révélation ont été réalisées avec l'automate XT Benchmark, Ventana (kit de révélation Ultraview).

## 1. ANTICORPS UTILISES

TABEAU 2-LISTE DES ANTICORPS PRIMAIRES TESTES

Anticorps	Fournisseur	Dilution	Temps d'incubation	Caractéristique immunologique
Chromogranine A	Zytomed	1/200	60 mn	AC monoclonal de souris
Synaptophysine	Zytomed	1/200	40 mn	AC polyclonal de lapin
TTF-1	Ventana	Pas de dilution	32 mn	AC monoclonal de lapin
RA	Ventana	Pas de dilution	60 mn	AC monoclonal de lapin
NKX3.1	Ventana	Pas de dilution	60 mn	AC monoclonal de lapin
PSA	Diagomics	1/250	32 mn	AC monoclonal de souris
AR-V7	Abcam	1/250	60 mn	AC monoclonal de lapin
ERG	Roche	Pas de dilution	32 mn	AC monoclonal de lapin
SPINK1	Abnova	1/1000	Overnight	AC monoclonal de souris
PTEN	Cell signaling	1/200	60 mn	AC monoclonal de lapin
Zeb1	Intachim	1/1000	60 mn	AC monoclonal de souris
Ki67	Ventana	1/25	20 mn	AC monoclonal de lapin

## 2. INTERPRÉTATION

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

L'évaluation des marquages était :

-**qualitatif** (positif ou négatif) pour : chromogranine A, synaptophysine, TTF-1, NKX3.1, PSA, AR-V7, ERG, SPINK1.

-**quantitatif** (compte du pourcentage des cellules marquées) pour : Zeb1, Ki67.

-**semi-quantitatif** (négatif, faiblement positif, fortement positif) pour : RA, PTEN.

## D. ANALYSES STATISTIQUES

La comparaison de groupes indépendants avec des variables qualitatives a été réalisée par le test du Chi<sup>2</sup>. La comparaison de 2 ou plusieurs groupes indépendants avec variables continues a été effectuée par les tests non paramétriques de Mann Whitney ou de Kruskal-Wallis. Les groupes appariés avec des variables continues ont été comparés par le test de rang de Wilcoxon. L'association de variables quantitatives entre 2 groupes a été recherchée par le test de corrélation de Spearman. L'analyse de survie univariée a été réalisée grâce au test du Log Rank.

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

Les calculs statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Statview, version 4.5, software (Abacus Concepts, Berkeley, CA).

## IV. RÉSULTATS

### A. CARACTERISTIQUES CLINIQUES DE LA POPULATION DU GROUPE NEURO-ENDOCRINE (N=15)

Pour le seul patient présentant un CNE de forme mixte *de novo*, la composante acinaire associée est de groupe 3 selon l'ISUP 2014. Le grading n'a pas été réalisé pour les autres formes mixtes puisque la différenciation n'est pas déterminable en post-thérapeutique.

Pour les CNE survenant secondairement, le délai entre le diagnostic initial et la récurrence sous forme de CNE à petites cellules varie de 21 mois à 9 ans et le délai entre l'initiation de l'hormonothérapie et la récurrence sous forme de CNE varie de 13 mois à 9 ans. Toujours pour les CNE secondaires, 8 patients ont été traités par hormonothérapie d'emblée, et 5 par hormonothérapie après premier traitement à visée curative (prostatectomie, curiethérapie, radiothérapie externe).

Tous les patients sont décédés 1 mois à 5 ans et 8 mois après le diagnostic de CNE. Un patient est décédé le jour même du diagnostic suite à un choc anaphylactique. Sur les 13 patients dont le diagnostic de CNE est secondaire à la prise d'hormonothérapie, les taux de PSA ont pu être renseignés pour 10 d'entre eux. 6 présentent une baisse de PSA entre le diagnostic d'adénocarcinome et celui de NE (3 de forme pure et 3 de forme mixte) et 4 présentent une augmentation (3 de forme mixte et 1 de forme pure).

TABEAU 3- CARACTERISTIQUES CLINICO-PATHOLOGIQUES DES PATIENTS ETUDIES

Groupes	CNE N=15		CRPC-ADK N=48
	Forme mixte N=9	Forme pure N=6	
Age médian (ans) (extrêmes)	77 (61-87)	76 (65-80)	72 (56-86)
PSA médian (ng/ml) (extrêmes)	8.34 (0,96-1288)	0.38 (0,03-10)	14 (4,2-285)

## B. CARCINOMES NEURO-ENDOCRINES (N=15)

### 1. RESULTATS DESCRIPTIFS DES MARQUAGES

Au sein du groupe neuro-endocrine, on observe que la totalité des cas expriment la chromogranine A , 50 % le TTF-1 et 1/3 des cas seulement la synaptophysine.

Concernant les marqueurs de la signalisation androgénique, 9 tumeurs expriment le RA. Tous les cas NKX3.1 positifs expriment également le RA. Tous les CNE exprimant AR-V7 expriment le RA. Le PSA n'est positif que dans 2 cas et seulement 2 cas sont positifs pour ERG.

SPINK1 est exprimé dans seulement 3 tumeurs. Près de la moitié des tumeurs présente une perte d'expression de PTEN. La médiane de Zeb1 et de l'index de prolifération Ki67 sont respectivement de 10 % et 6,5 % de cellules tumorales positives.

Les résultats sont résumés dans le tableau 4.

**TABEAU 4-EXPRESSION DES DIFFERENTS MARQUEURS AU SEIN DE LA COMPOSANTE NEURO-ENDOCRINE**

<b>Neuro-endocrines</b>	<b>Chromogranine A ( focale ou diffuse)</b>	- (N=0) + (N=15)
	<b>Synaptophysine</b>	- (N=10) + (N=5)
	<b>TTF1</b>	- (N=8) + (N=7)
<b>Signalisation androgénique</b>	<b>RA</b>	- (N=6) + (N=1) ++ (N=8)
	<b>NKX3.1</b>	- (N=7) + (N=8)
	<b>PSA</b>	- (N=13) + (N=2)
	<b>AR-V7</b>	- (N=10) + (N=5)
	<b>ERG</b>	- (N=13) + (N=2)
<b>Agressivité</b>	<b>SPINK1</b>	- (N=12) + (N=3)
	<b>PTEN</b>	Perte totale (N=4) Perte focale (N=3) Conservé (N=7)
	<b>Zeb1 (med, extrêmes)</b>	10%(0-100%)
	<b>Ki67 (med, extrêmes)</b>	6,5%(1-90%)



## 2. CORRELATION DES MARQUEURS ENTRE EUX

Les expressions de RA et PTEN sont corrélées mais de façon non significative ( $p=0.08$ ). Les 4 cas perdant l'expression de PTEN n'expriment pas le RA.

Les expressions d'AR-V7 et SPINK1 sont significativement corrélées ( $p=0.04$ ), les 3 cas exprimant SPINK1 expriment également AR-V7.

L'expression de SPINK1 n'est pas corrélée à une perte d'expression de PTEN.

## 3. SURVIE GLOBALE

Nous avons recueilli la durée de survie globale après le diagnostic de CNE pour 14 des 15 patients. La médiane de survie pour les 5 formes pures est de 5 mois et de 32 mois pour les 9 formes mixtes. De façon statistiquement significative, la durée de survie est plus importante dans le groupe de CNE de forme mixte ( $p=0.01$ ).

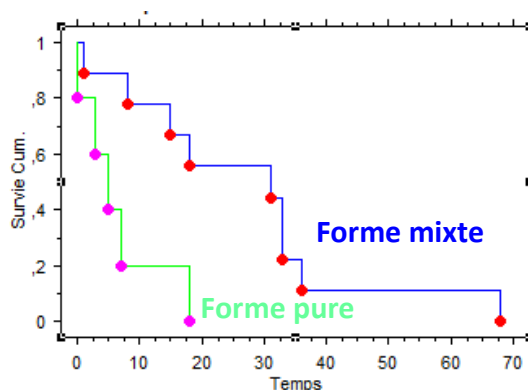
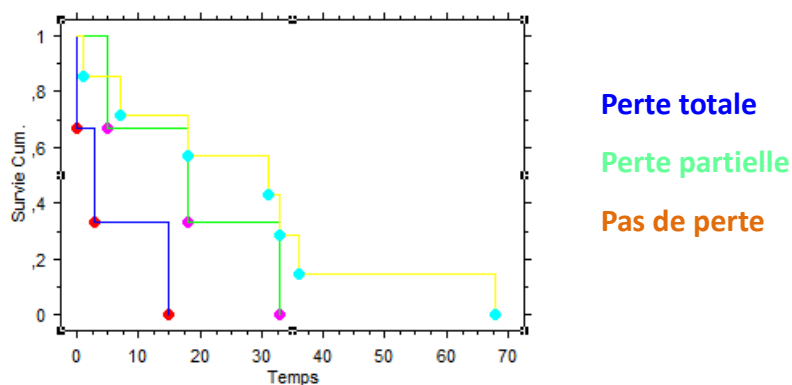


FIGURE 10-COURBE DE SURVIE GLOBALE DES PATIENTS AYANT UN CNE DE FORME PURE OU MIXTE

De plus, la survie globale est significativement augmentée en cas de conservation de l'expression de PTEN ( $p=0.04$ )



FIGUR E11-COURBE DE SURVIE DES PATIENTS AYANT UN CNE SELON L'EXPRESSION DE PTEN

L'expression du RA et de NKX3.1 au sein de la composante NE sont également associés à une survie plus longue, mais de façon non significative ( $p= 0.1$  et  $0.07$ , respectivement)

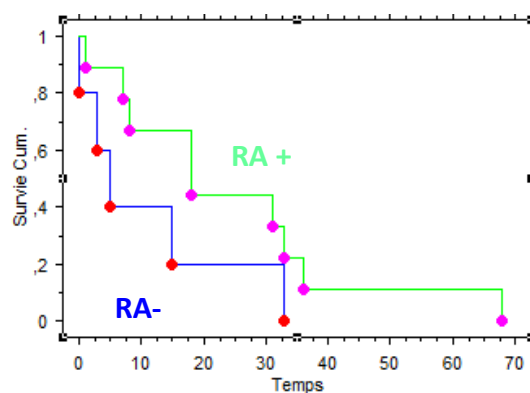


FIGURE 12-COURBE DE SURVIE GLOBALE DES PATIENTS AYANT UN CNE SELON L'EXPRESSION DU RA

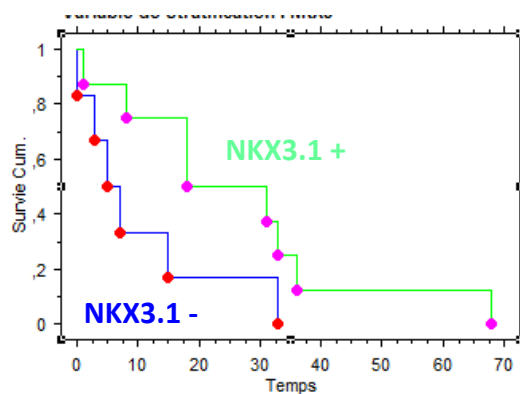


FIGURE 13- COURBE DE SURVIE GLOBALE DES PATIENTS AYANT UN CNE SELON L'EXPRESSION DE NKX3.1

De même, un taux de prolifération inférieur à la médiane est associé à une survie plus longue, mais de façon non significative ( $p=0.07$ )

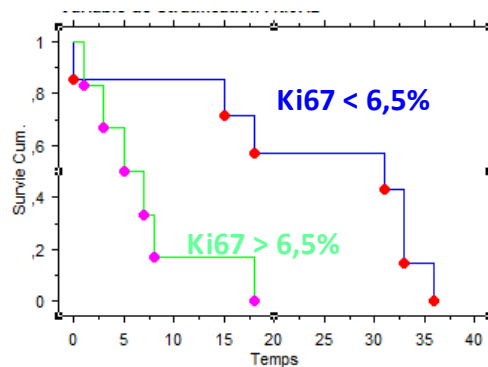


FIGURE 11- COURBE DE SURVIE GLOBALE DES PATIENTS SELON LE KI

### C. COMPARAISON ENTRE COMPOSANTE NEURO-ENDOCRINE ET COMPOSANTE ACINAIRE APPARIEE (N=9)

La chromogranine A est exprimée au sein de la composante neuro-endocrine dans tous les cas, focale dans 2 cas au sein de la composante acinaire. L'expression du RA et de NKX3.1 est perdue dans 2 cas au sein de la composante neuro-endocrine.

Pour chaque patient, l'expression de ERG est similaire dans les deux composantes. L'expression de PTEN est conservée de façon identique au sein des 2 composantes dans 4 des 9 cas. L'expression de SPINK1 est présente dans un cas au sein de ses 2 contingents.

Zeb1 et le Ki67 sont un peu plus exprimés au sein de la composante NE, mais de façon non significative ( $p=0.06$  et  $0.1$ ).

Les résultats sont résumés dans le tableau 5.

TABEAU 5- COMPARAISON DE L'EXPRESSION DES DIFFERENTS MARQUEURS ENTRE COMPOSANTE ACINAIRE ET COMPOSANTE NEURO-ENDOCRINE

Marqueurs	Composante acinaire	Composante neuro-endocrine	
<b>Chromogranine A</b>	- (N=7) + (N=2) (marquage focal)	- (N=0) + (N=9)	
<b>RA</b>	- (N=1) + (N=8)	- (N=3) + (N=6)	
<b>NKX3.1</b>	- (N=1) + (N=8)	- (N=3) + (N=6)	
<b>AR-V7</b>	- (N=6) + (N=3)	- (N=7) + (N=2)	
<b>ERG</b>	- (N=8) + (N=1)	- (N=8) + (N=1)	
<b>SPINK1</b>	- (N=6) + (N=3)	- (N=6) + (N=3)	
<b>PTEN</b>	Conservé (N=4) Perdu (N=5)	Conservé (N=5) Perdu (N=4)	
<b>Zeb1(med, extrêmes)</b>	0%(0-100%)	10%(0-100%)	$p=0.06$
<b>Ki67(med, extrêmes)</b>	1%(1-50 %)	5%(1-70%)	$p=0.1$

**D. COMPARAISON DE LA COMPOSANTE ACINAIRE DES CARCINOMES MIXTES CRPC-NE (N=8) AVEC DES CRPC SANS DIFFERENCIATION NE (N=48).**

Le RA est exprimé de façon similaire dans la composante acinaire associée à une composante neuro-endocrine et dans les adénocarcinomes résistants à la castration sans composante neuro-endocrine.

On observe une expression plus importante de SPINK1 et plus de perte de PTEN quand il existe une composante neuro-endocrine associée (p=0.02 et p=0.06 respectivement).

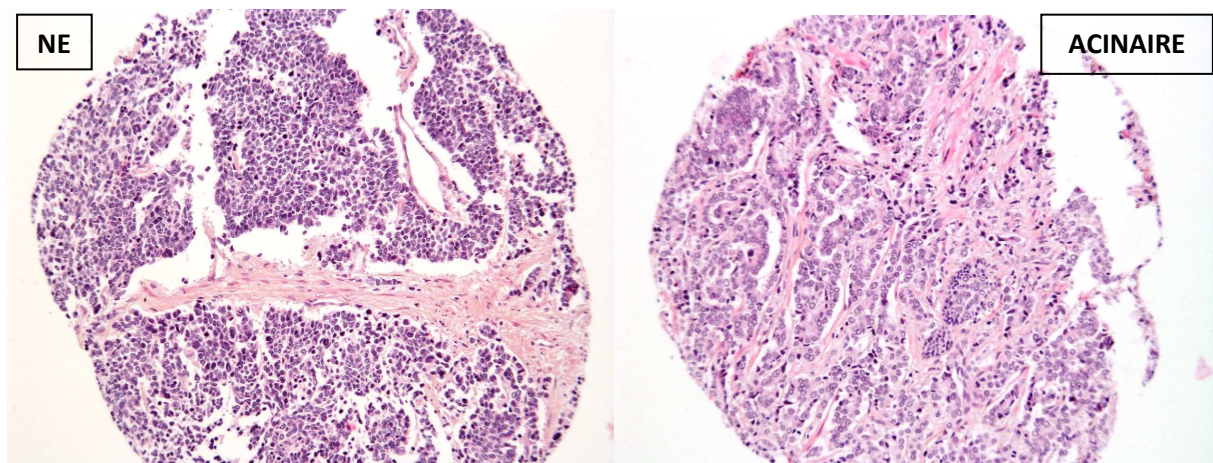
De façon statistiquement significative, on observe une expression plus importante de Zeb1 et de Ki67 dans le groupe CRPC sans NE (p=0.01 et p=0.04 respectivement).

Les résultats sont résumés dans le tableau 6.

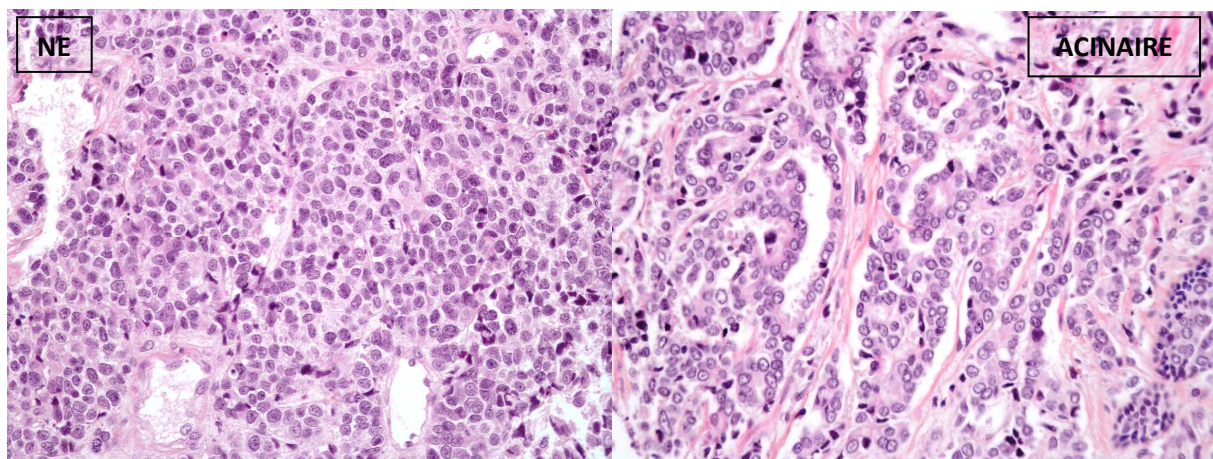
**TABEAU 6- COMPARAISON DE L'EXPRESSION DES MARQUEURS ENTRE COMPOSANTE ACINAIRE SEULE OU ASSOCIEE A UNE COMPOSANTE NEURO-ENDOCRINE**

Marqueurs	Composante acinaire associée à une composante neuro-endocrine (N=8)	Composante acinaire seule (N=48)	p
AR-V7	- (N=5) + (N=1) ++ (N=2)	- (N=30) + (N=12) ++ (N=6)	p=0.9
ERG	- (N=7) +(N=1)	- (N=32) + (N=16)	p=0.23
SPINK1	- (N=5) + (N=3)	- (N=44) + (N=4)	p=0.02
PTEN	- (N=4) + (N=4)	- (N=37) + (N=11)	p=0.06
Zeb1(med, extrêmes)	0%(0-100%)	90% (0-100%)	p=0.01
Ki67(med, extrêmes)	1%(1-50 %)	15% (1-80%)	p=0.04

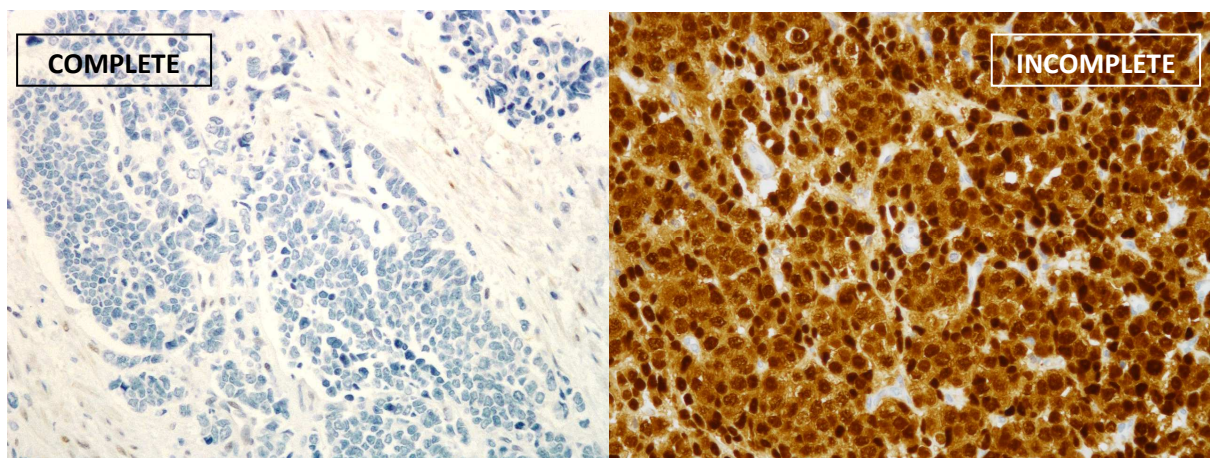




**FIGURE 12-ASPECTS HISTOLOGIQUES (X20) DE LA COMPOSANTE NE ORGANISEE EN NAPPE DE CELLULES ET DE LA COMPOSANTE ACINAIRE ORGANISEE EN STRUCTURES GLANDULAIRES**



**FIGURE 13-ASPECTS HISTOLOGIQUES (X200) DE LA COMPOSANTE NE AU NOYAU A LA CHROMATINE FINE ET DE LA COMPOSANTE ACINAIRE AU NOYAU CLARIFIE ET NUCLEOLE**



**FIGURE 14-MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE DU RA AU SEIN DE LA COMPOSANTE NEURO-ENDOCRINE EN CAS DE TRANSDIFFERENCIATION COMPLETE OU INCOMPLETE**



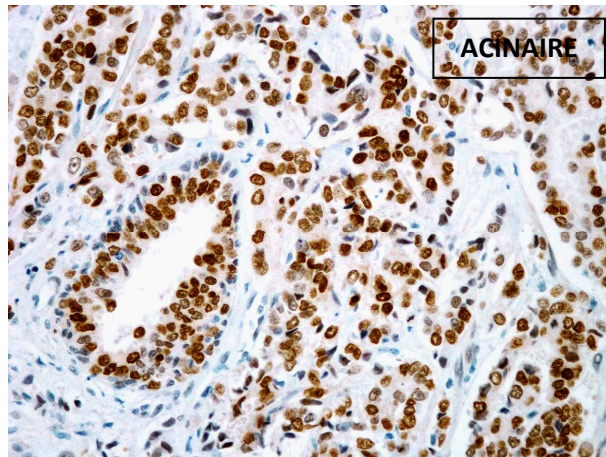


FIGURE 15- MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE (X200) DU RA AU SEIN DE LA COMPOSANTE ACINAIRE

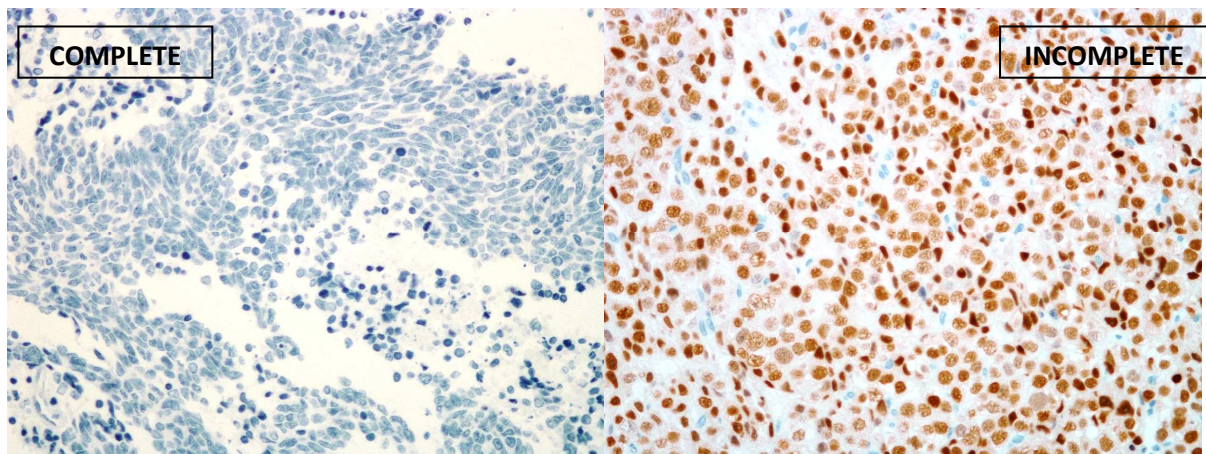


FIGURE 16-MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE (X200) DE NKX3.1 AU SEIN DE LA COMPOSANTE NE EN CAS DE TRANSDIFFERENCIATION COMPLETE OU INCOMPLETE

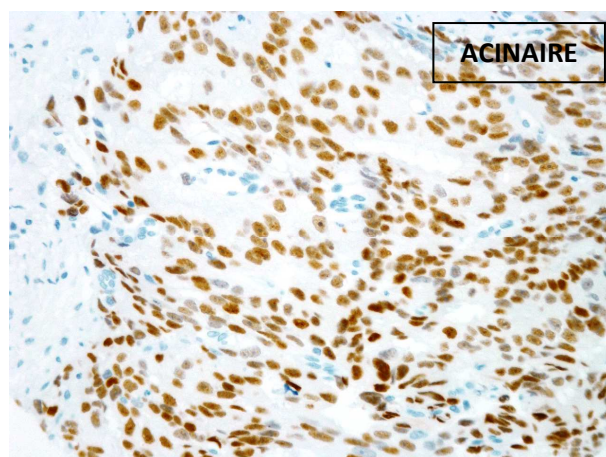


FIGURE 17-MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE (X200) DE NKX3.1 AU SEIN DE LA COMPOSANTE ACINAIRE



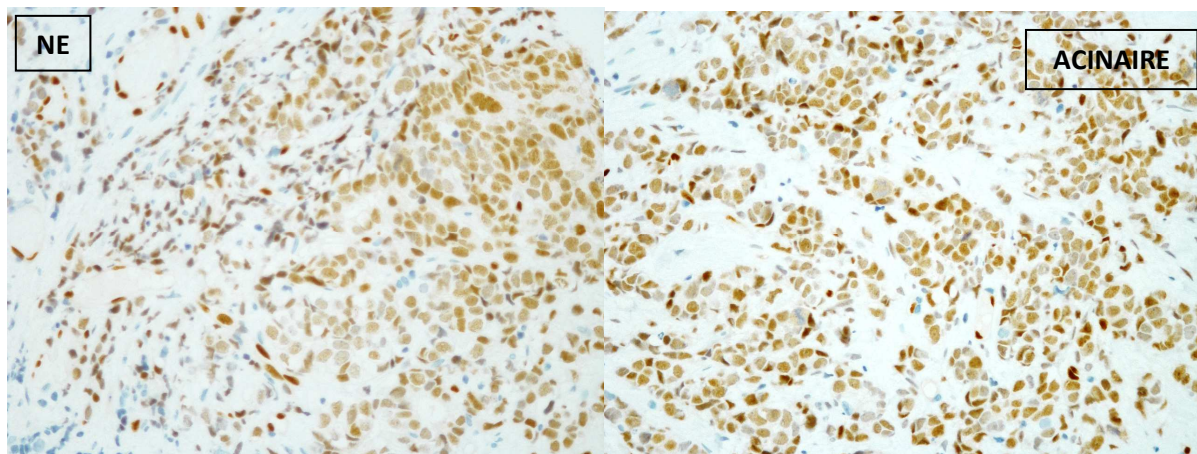


FIGURE 18-MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE (X20) DE ERG AU SEIN DE LA COMPOSANTE NE ET ACINAIRE

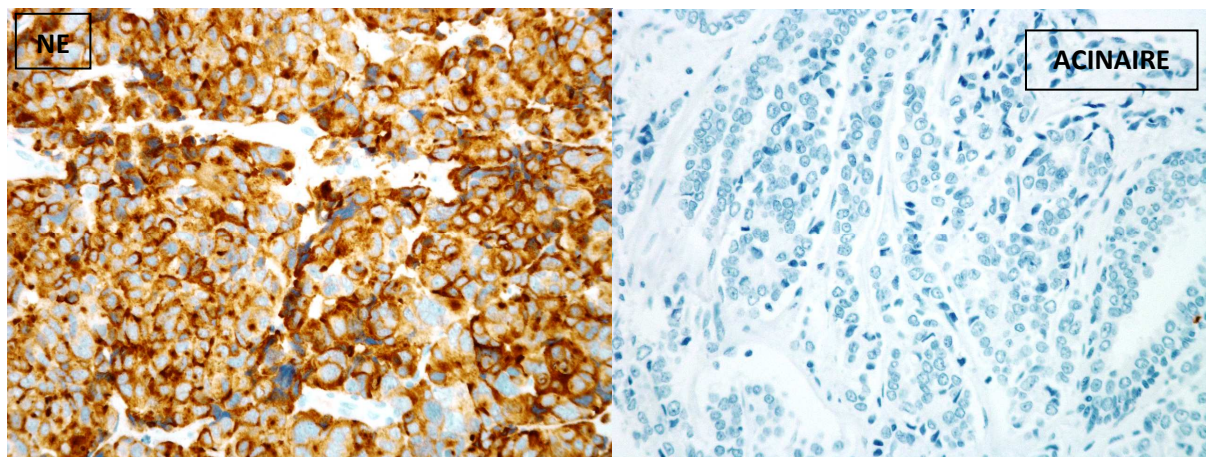


FIGURE 19-MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE (X200) DE LA CHROMOGRANINE A AU SEIN DE LA COMPOSANTE NE ET DE LA COMPOSANTE ACINAIRE

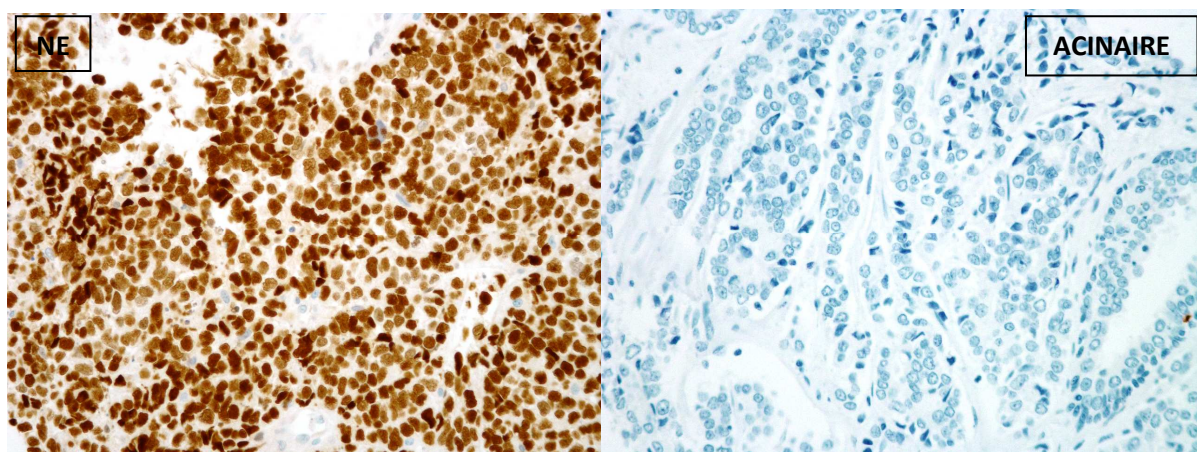


FIGURE 20-MARQUAGE IMMUNOHISTOCHIMIQUE (X200) DE TTF-1 DANS LA COMPOSANTE NE ET LA COMPOSANTE ACINAIRE

## V. DISCUSSION

### A. POPULATION ETUDIEE

Il s'agit de quinze cas de cancers de prostate avec différenciation neuro-endocrine à petites cellules provenant de deux centres (CHRU de Tours et CHU de Poitiers), diagnostiqués entre 2000 et 2017. Très peu sont neuro-endocrines d'emblée, la plupart correspondent à l'émergence d'un phénotype neuro-endocrine après traitement. Ces données sont cohérentes avec celles précédemment rapportées. Il s'agit en effet d'une tumeur rare avec une incidence de 1 % pour les cancers neuro-endocrines *de novo*, un peu plus pour les CNE post-hormonothérapie<sup>18</sup>. Dans la littérature, la majorité des articles sont des « *case report* » de un ou deux cas. Les 3 plus grandes études portaient sur 18, 27 et 95 patients<sup>18,60,15</sup>.

### B. CARACTERISTIQUES DE LA COMPOSANTE NEURO-ENDOCRINE

#### 1. EXPRESSION DU RECEPTEUR AUX ANDROGENES ET SES GENES CIBLES

Initialement, plusieurs études avaient décrit la composante NE à petites cellules prostatiques comme n'exprimant pas le RA<sup>61</sup>. C'est à partir de ces constatations que certains auteurs ont évoqué l'origine des CNE prostatiques à partir de cellules neuro-endocrines ou de cellules souches.

Dans notre étude, on observe dans plus de la moitié des cas une expression du récepteur aux androgènes au sein de la composante neuro-endocrine, soit focale et faible, soit marquée et plus diffuse. Ces résultats sont divergents de ceux rapportés dans la littérature. En effet, dans l'étude de Yao, les cellules tumorales exprimaient le RA dans 17% des cas et uniquement de façon focale et faible. Dans celle de Lotan, 27 % des CNE de prostate exprimaient le RA et 18 % exprimaient NKX3.1.

On observe également, comme dans l'étude de Lotan, une concordance entre l'expression du RA et de NKX3.1, tous les cas exprimant le RA étant également positifs pour NKX3.1. Ces résultats confirment le fait que l'expression de NKX3.1 est dépendante de l'activation du RA.

Les marqueurs de différenciation prostatique les plus utilisés sont le PSA et le PSAP (*prostate-specific acide phosphatase*). Ces deux marqueurs sont considérés comme spécifiques. Cependant, quelques cas de tumeurs des glandes salivaires<sup>62</sup>, de carcinomes mammaires ou rénaux ont été décrits comme pouvant être positifs pour ces deux anticorps de façon focale et faible. La société internationale d'uropathologie (ISUP) recommande alors d'interpréter avec méfiance tout marquage faible et focal<sup>47</sup>. De plus, la sensibilité de ces deux marqueurs décroît dans les formes peu différenciées. En effet, dans trois études distinctes, PSA et PSAP étaient exprimés par les cellules tumorales dans moins de 25% des



cas, dans 35 à 70 % des cas et dans 25 à 50 % des cas respectivement avec une négativité complète dans 5 à 13 % des cas en fonction des études <sup>63-65</sup>. Au sein des CNE prostatiques, moins de 20% ont été décrits comme exprimant le PSA <sup>15</sup>.

Il existe actuellement de nouveaux marqueurs immunohistochimiques de différenciation prostatique comme P501S, PSMA (peu sensible), NKX3.1 et le récepteur aux androgènes. Nous avons mis en évidence, dans plus de la moitié des cas de CNE, une positivité de NKX3.1 alors que le PSA n'était exprimé que dans deux cas.

NKX3.1 semble donc, en association avec le RA, être un anticorps plus sensible que le PSA pour déterminer l'origine prostatique des CNE (en cas de transdifférenciation incomplète). Le RA ne doit pas être utilisé seul car il est peu spécifique et exprimé dans de nombreuses tumeurs comme certains carcinomes mammaires ou sébacés.

## **2. MARQUEURS DE DIFFERENCIATION NEURO-ENDOCRINE**

Lorsque le diagnostic de tumeur neuro-endocrine est suspecté, l'immunohistochimie permet de confirmer la différenciation neuro-endocrine. Bien que de nombreux biomarqueurs aient été décrits, les plus utilisés et les plus fiables sont la chromogranine A et la synaptophysine. Le premier est l'anticorps le plus spécifique et le second le plus sensible, en fonction du degré de différenciation. En effet, la chromogranine A est souvent absente dans les formes peu différenciées alors que la synaptophysine doit toujours être présente mais sa positivité seule ne doit pas être suffisante pour le diagnostic <sup>66</sup>. En effet, la synaptophysine semble moins spécifique et une expression a notamment été retrouvée dans les tumeurs solides et pseudo-papillaires du pancréas <sup>67</sup> et dans les carcinomes cortico-surrénaux <sup>68</sup>.

Dans l'étude de Yao <sup>69</sup>, la chromogranine A était positive dans 61 % des cancers neuro-endocrines de prostate et la synaptophysine dans 89 % des cas. Cependant, cette dernière était également positive dans 40 % du contingent adénocarcinomateux quand il était présent. Dans notre observation, les cellules tumorales neuro-endocrines de tous les cas expriment la chromogranine A et la synaptophysine dans seulement 5 cas, sans positivité au sein du contingent adénocarcinomateux. Ces résultats divergents concernant la synaptophysine peuvent être expliqués par l'utilisation d'un anticorps différent.

Nous avons mis en évidence une expression de TTF-1 par les cellules tumorales dans plus de la moitié des CNE à petites cellules de prostate. Ces résultats sont concordants avec une étude préalable <sup>15</sup>, rapportant une expression de TTF-1 dans 52 % des cas. De ce fait, en cas de métastase de CNE de primitif inconnu, une positivité de TTF-1 ne permettra pas de confirmer l'origine pulmonaire ou thyroïdienne. En cas de localisation prostatique, le diagnostic différentiel est celui d'une métastase d'un CNE pulmonaire ; dans cette situation, les marqueurs de la signalisation androgénique permettront, s'ils sont conservés, de préciser l'origine prostatique.

Une étude récente par séquençage haut débit de l'ARN de CNE prostatiques a mis en évidence une augmentation de l'expression de FOXA2 comparativement aux adénocarcinomes prostatiques <sup>42</sup>. Park et son équipe <sup>70</sup> ont, de plus, montré une expression de l'anticorps FOXA2 dans 19 CNE prostatiques sur 20, alors que le marquage n'était positif que dans 8 cas d'adénocarcinomes prostatiques sur 143. FOXA2 pourrait donc être un marqueur supplémentaire de la différenciation neuro-endocrine des cancers de prostate.

### **3. CORRÉLATION DES MARQUEURS ENTRE EUX**

De façon significative, l'expression de SPINK1 est corrélée à l'expression du variant d'épissage AR-V7. De façon non significative, nous avons mis en évidence qu'une perte d'expression de RA était associée à une perte d'expression de PTEN. Aucune étude n'a mis en évidence de lien entre l'expression de ces différents marqueurs. Il s'agit de marqueurs d'agressivité ou de témoin de la transdifférenciation NE et leur association pourrait correspondre à l'accumulation de différentes voies de résistance à la déprivation hormonale.

Nous n'avons pas démontré de lien entre l'expression de SPINK1 et la perte de PTEN comme a pu le décrire l'équipe de Brismar <sup>53</sup> dans 59 cas de CRPC-ADK. Le rôle de SPINK1 est mal connu au sein des cancers de prostate et aurait peut être une action dans la voie PI3K-AKT régulée notamment par PTEN <sup>71</sup>.

### **4. SURVIE GLOBALE**

Au sein des adénocarcinomes prostatiques, Takeda <sup>72</sup> a mis en évidence une meilleure survie sans progression des cancers avec une expression élevée du récepteur aux androgènes comparativement à ceux ayant une expression plus faible. Ces résultats sont expliqués par une meilleure sensibilité à l'hormonothérapie des tumeurs exprimant fortement le RA.

Dans notre groupe de CNE, nous avons retrouvé une survie plus élevée en cas de tumeurs mixtes c'est-à-dire avec une composante sensible à la déprivation androgénique. De plus, la survie tendait à être plus longue en cas de transdifférenciation incomplète, c'est-à-dire quand la composante neuro-endocrine exprimait encore le récepteur aux androgènes.

Nous retrouvons également une association significative ou à la limite de la significativité entre la durée de survie et d'une part, une faible prolifération, d'autre part, une persistance de l'expression de PTEN. Ces résultats confirment l'hypothèse que, comme pour les ADK acinaires, la prolifération et la perte de PTEN sont des marqueurs d'agressivité du CNE prostatique.

## **C. ORIGINE COMMUNE DES CELLULES NEURO-ENDOCRINES ET DES CELLULES ACINAIRES DANS LES FORMES MIXTES**

L'origine de ces cancers neuro-endocrines prostatiques est largement débattue<sup>10</sup>.. Quelques études évoquent une origine commune des cellules neuro-endocrines et des cellules adénocarcinomeuses à partir de cellules souches, qui acquièrent des altérations moléculaires permettant la différenciation en l'une ou l'autre composante. De rares études évoquent quant à elles le développement de ces cancers à partir des cellules neuro-endocrines normales.

Les cas de CNE *de novo* sont extrêmement rares, de ce fait leur oncogenèse est mal connue. Le cas le plus fréquent est l'émergence d'un phénotype neuro-endocrine après déprivation hormonale et l'hypothèse largement défendue est celle de la transdifférenciation neuro-endocrine ou plasticité épithéliale. Il s'agit d'un mécanisme de résistance à la thérapie dirigée contre le récepteur aux androgènes. En effet, des études à partir de cultures cellulaires *in vitro* ou de modèles animaux suggèrent que les cellules tumorales épithéliales vont acquérir l'expression de marqueurs neuro-endocrines<sup>40</sup>. Cette transdifférenciation peut-être complète ou incomplète.

### **1. EXPRESSION DU RA DANS PLUS DE LA MOITIÉ DES CNE : TRANSDIFFÉRENCIATION INCOMPLÈTE**

L'expression du RA que nous avons observée au sein des deux composantes témoigne de l'origine prostatique des cellules neuro-endocrines. Elles possèdent donc à la fois des caractéristiques phénotypiques épithéliales et neuro-endocrines. On parle alors de transdifférenciation incomplète. Une cellule épithéliale tumorale, afin de résister à la pression de certains facteurs comme la déprivation androgénique, se transformerait progressivement en cellule neuro-endocrine en perdant progressivement son phénotype androgénique.

Cependant il semblerait qu'il ne s'agisse pas d'un mécanisme totalement linéaire mais d'une évolution clonale divergente à partir de certaines cellules tumorales adénocarcinomeuses. En effet, Beltran et son équipe<sup>42</sup>, en analysant les données de séquençage de l'exome entier de biopsies métastatiques de patients résistant à la castration (qu'ils soient de phénotype adénocarcinome ou neuro-endocrine) ont observé des similarités d'anomalies génomiques entre les 2 contingents avec de plus, des anomalies épigénétiques associées à une diminution de la signalisation du récepteur aux androgènes.

### **2. PHÉNOTYPE COMMUN AU SEIN DES DEUX COMPOSANTES**

Le gène de fusion TMPRSS2-ERG est caractéristique des carcinomes prostatiques. Il est retrouvé dans environ 50 % des adénocarcinomes prostatiques et peut être détecté par FISH

ou en immunohistochimie. Son expression dépend alors de la présence du récepteur aux androgènes. Dans notre cohorte, un cas seulement sur les neuf CNE mixtes exprime ERG, détecté à la fois dans la composante acinaire et dans la composante neuro-endocrine. Cette expression protéique de ERG dans la composante neuro-endocrine peut être expliquée par la persistance d'une activation importante du RA. On a également mis en évidence une expression quasiment identique de SPINK1 et de PTEN dans les deux composantes. Cette similarité entre les deux contingents renforce l'hypothèse d'une origine commune.

### **3. MARQUEURS D'AGRESSIVITÉ**

De façon non significative, sans doute en raison du faible effectif, Zeb1 et Ki67 semblent plus exprimés dans la composante NE que dans la composante acinaire en cas de tumeur mixte. Il s'agit de marqueurs d'agressivité témoignant d'une part, des capacités de migration (Zeb1) et d'autre part, de la prolifération cellulaire (Ki67). Ces résultats seront à conforter dans une cohorte plus importante.

Le rôle de Zeb1 a été établi dans la transition épithélio-mésenchymateuse dans de nombreuses tumeurs, en permettant à la cellule de perdre ses caractéristiques épithéliales pour acquérir un phénotype mésenchymateux. *In vitro*, dans des lignées de cellules tumorales prostatiques, Zeb1 peut induire la TEM de cellules adénocarcinomeuses<sup>58</sup> et *in vivo*, l'expression de Zeb1 augmente parallèlement à la progression tumorale<sup>59</sup>.

Dans les CNE prostatique, aucune étude n'a rapporté l'expression de Zeb1 au cours de la transdifférenciation neuro-endocrine. Par contre, que ce soit dans les CNE prostatiques ou d'autres localisations, l'acquisition d'un phénotype NE a été associée à l'induction de phénomènes de TEM, vraisemblablement par des mécanismes épigénétiques<sup>73-75</sup>.

### **D. COMPARAISON DU PHENOTYPE ACINAIRE DANS LES CRPC AVEC COMPOSANTE NE PAR RAPPORT AUX CRPC SANS COMPOSANTE NE**

L'expression de Zeb1, témoin de la TEM, et l'index de prolifération Ki67 sont des marqueurs associés à une plus grande agressivité de la tumeur. De façon étonnante, nous avons observé que l'expression de Zeb1 et de Ki67 était plus élevée dans les CRPC acinaires purs comparée à la composante acinaire des CRPC mixtes (associée à une composante neuro-endocrine). L'expression différentielle du marqueur de prolifération pourrait être expliquée par la production, par les cellules neuro-endocrines, de facteurs inhibiteurs de croissance pouvant agir sur les cellules tumorales acinaires de voisinage. En effet, une étude précédente a mis en évidence, *in vitro*, une baisse significative de la synthèse d'ADN des lignées cellulaires LNCaP, PC-3 et DU-145 lorsqu'elles étaient mises en culture en présence de cellules neuro-endocrines<sup>76</sup>.

## **E. LIMITATIONS DE L'ETUDE: TAILLE ET HETEROGENEITE DE LA COHORTE**

Le cancer prostatique neuro-endocrine à petites cellules est une entité rare. Très peu d'études avec une cohorte suffisamment importante ont pu être réalisées et la physiopathologie de cette entité reste mal connue. Seulement dix-sept cas ont été enregistrés dans deux CHU de 2000 à 2017. Deux cas ont dû être écartés devant l'insuffisance de matériel tissulaire. La petite taille de cette cohorte rend donc difficile l'interprétation de certains résultats mais l'objectif est la poursuite de l'étude avec élargissement du recrutement à d'autres centres.

L'augmentation de la taille de la cohorte permettra, d'une part d'étudier les CNE *de novo* et d'autre part, de comparer, chez un même patient, l'immunophénotype des CNE post-traitement avec celui de la tumeur initiale avant traitement.

## **F. MECANISME DE LA TRANSDIFFERENCIATION NEURO-ENDOCRINE**

Les mécanismes initiateurs de la transdifférenciation neuro-endocrine sont très mal connus. Dans le cancer de prostate NE, il a été mis en évidence une perte de fonction des gènes Rb et TP53<sup>77</sup> mais également une amplification du gène AURKA, codant pour la protéine Aurora Kinase A jouant un rôle important lors de la mitose et une amplification du proto-oncogène N-Myc<sup>78</sup>.

Plusieurs études ont suggéré que la perte de REST (*RE1 silencing transcription factor*) est le facteur clé de la transdifférenciation neuro-endocrine. REST est une protéine qui joue un rôle important dans la régulation de la neurogenèse en bloquant les gènes permettant la différenciation neuronale. Elle est fortement exprimée dans les cellules souches embryonnaires et les cellules non neuronales. Le blocage de la voie PI3K-AKT par les nouvelles thérapeutiques du cancer de prostate pourrait entraîner une dégradation de REST par le protéasome (via une phosphorylation de REST et un mécanisme d'ubiquitination). La suppression de REST permettrait alors la transdifférenciation neuro-endocrine. D'autres études ont suggéré que SRRM4 (*RNA splicing factor serine/arginine repetitive matrix 4*), dans un contexte de déprivation androgénique pourrait jouer un rôle dans l'épissage alternatif du gène REST, le rendant inactif<sup>79,80</sup>.

Une étude récente a proposé un nouveau mécanisme de transdifférenciation NE via HP1α (*Heterochromatin protein 1α*). HP1α entraînerait la formation anormale d'hétérochromatine péracentrique, ce qui favoriserait la répression de l'expression du RA et de REST, induisant un phénotype NE<sup>81</sup>.

## VI. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude a permis de mieux caractériser l'immunophénotype du carcinome neuro-endocrine à petites cellules de la prostate.

Le récepteur aux androgènes et NKX3.1 semblent être les meilleurs marqueurs de la signalisation androgénique et la chromogranine A, celui de la différenciation neuro-endocrine.

Nos résultats montrent que la transdifférenciation neuro-endocrine reste incomplète dans la moitié des cas et suggèrent une filiation entre les cellules tumorales neuro-endocrines et les cellules adénocarcinomateuses. La présence d'une composante exprimant le RA semble être associée à une survie plus longue. La déprivation hormonale, en association avec la chimiothérapie en cas de persistance même focale du RA pourrait être utile, même dans les formes pures.

L'augmentation de la taille de cette cohorte permettra par la suite d'étudier les CNE *de novo* et de comparer chez un même patient, l'immunophénotype de la tumeur initiale avant traitement et le CNE post-traitement.

De nouvelles études sont également nécessaires pour caractériser les mécanismes moléculaires de la transdifférenciation neuro-endocrine et permettre par la suite de proposer de nouvelles cibles thérapeutiques.

## BIBLIOGRAPHIE

1. McNeal JE. The zonal anatomy of the prostate. *The Prostate*. 1981; **2**:35–49.
2. Di Sant'Agnese PA. Neuroendocrine differentiation in carcinoma of the prostate. Diagnostic, prognostic and therapeutic implications. *Cancer*. 1992;**70**:254–268.
3. Abrahamsson PA. Neuroendocrine cells in tumour growth of the prostate. *Endocr. Relat. Cancer* 1999;**6**:503–519.
4. Daneshmand S. *et al.* Ethnic differences in neuroendocrine cell expression in normal human prostatic tissue. *Urology* 2005;**65**:1008–1012.
5. Rozet F. *et al.* Recommandations en onco-urologie 2016-2018 du CCAFU : Cancer de la prostate. *Prog. En Urol.* 2016;**27**:S95–S143.
6. Gosselaar C, Roobol MJ, Roemeling S & Schröder FH. The role of the digital rectal examination in subsequent screening visits in the European randomized study of screening for prostate cancer (ERSPC), Rotterdam. *Eur. Urol.* 2008;**54**:581–588.
7. Epstein JI. *et al.* The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) consensus conference on Gleason grading of prostatic carcinoma: definition of grading patterns and proposal for a new grading system. *Am. J. Surg. Pathol.* 2016; **40**:244–252.
8. Huang Y, Jiang X, Liang X & Jiang G. Molecular and cellular mechanisms of castration resistant prostate cancer. *Oncol. Lett.* 2018;**15**:6063–6076.
9. Wenk RE, Bhagavan BS, Levy R, Miller D & Weisburger W. Ectopic ACTH, prostatic oat cell carcinoma and marked hypernatremia. *Cancer* 1977;**40**:773–778.
10. Campedel L. *et al.* Le cancer de la prostate neuro-endocrine : histoire naturelle, caractéristiques moléculaires, prise en charge et perspectives. *Bull. Cancer (Paris)* 2017;**104**:789–799.

11. Fromont G. [Prostate cancer histoseminar: Update of the 2016 WHO classification - case n°6: Castration resistant prostate cancer with partial neuroendocrin differentiation]. *Ann. Pathol.* 2017;**37**:249–253.
12. Zaffuto E. *et al.* Contemporary incidence and cancer control outcomes of primary neuroendocrine prostate cancer: a SEER database analysis. *Clin. Genitourin. Cancer* 2017;**15**:e793–e800.
13. Turbat-Herrera EA. *et al.* Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinomas. A retrospective autopsy study. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1988;**112**:1100–1105.
14. Aparicio A, Logothetis CJ & Maity SN. Understanding the lethal variant of prostate cancer: power of examining extremes. *Cancer Discov.* 2011;**1**:466–468 (2011).
15. Wang W & Epstein JI. Small cell carcinoma of the prostate. A morphologic and immunohistochemical study of 95 cases. *Am. J. Surg. Pathol.* 2008;**32**:65–71.
16. Hirano D, Okada Y, Minei S, Takimoto Y & Nemoto N. Neuroendocrine differentiation in hormone refractory prostate cancer following androgen deprivation therapy. *Eur. Urol.* 2004;**45**:586–592.
17. Sasaki T. *et al.* Changes in chromogranin a serum levels during endocrine therapy in metastatic prostate cancer patients. *Eur. Urol.* 2005;**48**:224–229.
18. Yao JL . *et al.* Small cell carcinoma of the prostate: an immunohistochemical study. *Am. J. Surg. Pathol.* 2006;**30**:705–712.
19. Agoff SN. *et al.* Thyroid transcription factor-1 is expressed in extrapulmonary small cell carcinomas but not in other extrapulmonary neuroendocrine tumors. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 2000;**13**:238–242.



20. Ordóñez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in distinguishing small cell lung carcinomas from other small cell carcinomas. *Am. J. Surg. Pathol.* 2000;**24**: 1217–1223.
21. Evans AJ, Humphrey PA, Belani J, Van der Kwast TH. & Srigley JR. Large cell neuroendocrine carcinoma of prostate: a clinicopathologic summary of 7 cases of a rare manifestation of advanced prostate cancer. *Am. J. Surg. Pathol.* 2006;**30**:684–693.
22. Aparicio A. *et al.* Neuroendocrine prostate cancer xenografts with large-cell and small-cell features derived from a single patient's tumor : morphological, immunohistochemical and gene expression profiles. *The Prostate* 2011;**71**:846–856.
23. Epstein JI. *et al.* Proposed morphologic classification of prostate cancer with neuroendocrine differentiation. *Am. J. Surg. Pathol.* 2014;**38**:756–767.
24. Komiya A. *et al.* Neuroendocrine differentiation in the progression of prostate cancer. *Int. J. Urol. Off. J. Jpn. Urol. Assoc.* 2009;**16**:37–44.
25. Abrahamsson PA. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *The Prostate* 1999;**39**:135–148.
26. Cohen RJ, Gleason G & Haffejee Z. Prostate-specific antigen and prostate-specific acid phosphatase in neuroendocrine cells of prostate cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* 1992;**116**:65–66.
27. Berruti A. *et al.* Independent prognostic role of circulating chromogranin A in prostate cancer patients with hormone-refractory disease. *Endocr. Relat. Cancer* 2005;**12**:109–117.
28. Bostwick DG. *et al.* Neuroendocrine expression in node positive prostate cancer: correlation with systemic progression and patient survival. *J. Urol.* 2002;**168**:1204–1211.

29. Theodorescu D, Broder SR, Boyd JC, Mills SE & Frierson HF. Cathepsin D and chromogranin A as predictors of long term disease specific survival after radical prostatectomy for localized carcinoma of the prostate. *Cancer* 1997;**80**:2109–2119.
30. Weinstein MH, Partin AW, Veltri RW & Epstein JI. Neuroendocrine differentiation in prostate cancer: enhanced prediction of progression after radical prostatectomy. *Hum. Pathol.* 1996;**27**:683–687.
31. Jeetle SS. *et al.* Neuroendocrine differentiation does not have independent prognostic value in conservatively treated prostate cancer. *Virchows Arch. Int. J. Pathol.* 2012;**461**: 103–107.
32. Weaver MG. *et al.* Paneth cell-like change of the prostate gland. A histological, immunohistochemical and electron microscopic study. *Am. J. Surg. Pathol.* 1992;**16**:62–68.
33. Tamas EF & Epstein JI. Prognostic significance of paneth cell-like neuroendocrine differentiation in adenocarcinoma of the prostate. *Am. J. Surg. Pathol.* 2006;**30**:980–985.
34. Adlakha H & Bostwick DG. Paneth cell-like change in prostatic adenocarcinoma represents neuroendocrine differentiation: report of 30 cases. *Hum. Pathol.* 1994;**25**: 135–139.
35. Helpap B, Köllermann J. & Oehler U. Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinomas: histogenesis, biology, clinical relevance, and future therapeutical perspectives. *Urol. Int.* 1999;**62**:133–138.
36. Ishida E, Nakamura M, Shimada K, Tasaki M & Konishi N. Immunohistochemical analysis of neuroendocrine differentiation in prostate cancer. *Pathobiol. J. Immunopathol. Mol. Cell. Biol.* 2009;**76**:30–38.

37. Bonkhoff H, Stein U, Welter C. & Remberger K. Differential expression of the pS2 protein in the human prostate and prostate cancer : association with premalignant changes and neuroendocrine differentiation. *Hum. Pathol.* 1995;**26**:824–828.
38. Yuan TC, Veeramani S. & Lin MF. Neuroendocrine-like prostate cancer cells: neuroendocrine transdifferentiation of prostate adenocarcinoma cells. *Endocr. Relat. Cancer* 2007;**14**:531–547.
39. Sequist LV. *et al.* Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci. Transl. Med.* 2011;**3**:75ra26.
40. Lin D. *et al.* High fidelity patient-derived xenografts for accelerating prostate cancer discovery and drug development. *Cancer Res.* 2014;**74**:1272–1283.
41. Lotan TL. *et al.* ERG gene rearrangements are common in prostatic small cell carcinomas. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 2011;**24**:820–828.
42. Beltran H. *et al.* Divergent clonal evolution of castration-resistant neuroendocrine prostate cancer. *Nat. Med.* 2016;**22**:298–305.
43. Williamson SR. *et al.* ERG-TMPRSS2 rearrangement is shared by concurrent prostatic adenocarcinoma and prostatic small cell carcinoma and absent in small cell carcinoma of the urinary bladder: evidence supporting monoclonal origin. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 2011;**24**:1120–1127.
44. Guo CC. *et al.* TMPRSS2-ERG gene fusion in small cell carcinoma of the prostate. *Hum. Pathol.* 2011;**42**:11–17.
45. Zhang P. *et al.* Gene expression profiles in the PC-3 human prostate cancer cells induced by NKX3.1. *Mol. Biol. Rep.* 2010;**37**:1505–1512.

46. Gurel B. *et al.* NKX3.1 as a marker of prostatic origin in metastatic tumors. *Am. J. Surg. Pathol.* 2010;**34**:1097–1105.
47. Epstein JI, Egevad L, Humphrey PA, Montironi R. & Members of the ISUP Immunohistochemistry in diagnostic urologic pathology group. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference. *Am. J. Surg. Pathol.* 2014;**38**:e6–e19.
48. Conner JR. & Hornick JL. Metastatic carcinoma of unknown primary: diagnostic approach using immunohistochemistry. *Adv. Anat. Pathol.* 2015;**22**:149–167.
49. Okegawa T. *et al.* AR-V7 in circulating tumor cells cluster as a predictive biomarker of abiraterone acetate and enzalutamide treatment in castration-resistant prostate cancer patients. *The Prostate.* 2018;**78**(8):576-582.
50. Tomlins SA. *et al.* Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* 2005;**310**:644–648.
51. Tomlins SA. *et al.* Role of the TMPRSS2-ERG gene fusion in prostate cancer. *Neoplasia N. Y. N* 2008;**10**:177–188.
52. Lotan TL. *et al.* ERG gene rearrangements are common in prostatic small cell carcinomas. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 2011;**24**:820–828.
53. Bismar TA. *et al.* Interactions and relationships of PTEN, ERG, SPINK1 and AR in castration-resistant prostate cancer. *Histopathology* 2012;**60**:645–652.
54. Huang KC, Evans A, Donnelly B & Bismar TA. SPINK1 overexpression in localized prostate cancer: a rare event inversely associated with ERG expression and exclusive of homozygous PTEN deletion. *Pathol. Oncol. Res. POR* 2017;**23**:399–407.

55. Yoshimoto M. *et al.* PTEN losses exhibit heterogeneity in multifocal prostatic adenocarcinoma and are associated with higher Gleason grade. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 2013;**26**:435–447.
56. Tan HL. *et al.* Rb loss is characteristic of prostatic small cell neuroendocrine carcinoma. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 2014;**20**:890–903.
57. Lamouille S, Xu J. & Derynck R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 2014;**15**:178–196.
58. Graham TR. *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**:2479–2488.
59. Figiel S. *et al.* Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition markers in prostate cancer. *Hum. Pathol.* 2017;**61**:26–32.
60. Oesterling JE, Hauzeur CG. & Farrow GM. Small cell anaplastic carcinoma of the prostate: a clinical, pathological and immunohistological study of 27 patients. *J. Urol.* 1992;**147**: 804–807.
61. Bonkhoff H. Neuroendocrine differentiation in human prostate cancer. Morphogenesis, proliferation and androgen receptor status. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* 2001;**12 Suppl 2**:S141-144.
62. Van Krieken JH. Prostate marker immunoreactivity in salivary gland neoplasms. A rare pitfall in immunohistochemistry. *Am. J. Surg. Pathol.* 1993;**17**:410–414.
63. Svanholm H. Evaluation of commercial immunoperoxidase kits for prostatic specific antigen and prostatic specific acid phosphatase. *Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.* [A] 1986;**94**:7–12.

64. Ellis DW, Leffers S, Davies JS. & Ng AB. Multiple immunoperoxidase markers in benign hyperplasia and adenocarcinoma of the prostate. *Am. J. Clin. Pathol.* 1984;**81**:279–284.
65. Ford TF, Butcher DN, Masters JR. & Parkinson MC. Immunocytochemical localisation of prostate-specific antigen: specificity and application to clinical practice. *Br. J. Urol.* 1985;**57**:50–55.
66. Duan K. & Mete O. Algorithmic approach to neuroendocrine tumors in targeted biopsies: Practical applications of immunohistochemical markers. *Cancer Cytopathol.* 2016;**124**: 871–884.
67. Notohara K. *et al.* Solid-pseudopapillary tumor of the pancreas: immunohistochemical localization of neuroendocrine markers and CD10. *Am. J. Surg. Pathol.* 2000;**24**:1361–1371.
68. Weissferdt A, Phan A, Suster S. & Moran CA. Adrenocortical carcinoma: a comprehensive immunohistochemical study of 40 cases. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol. AIMM* 2014;**22**:24–30.
69. Yao JL. *et al.* Small cell carcinoma of the prostate: an immunohistochemical study. *Am. J. Surg. Pathol.* 2006;**30**:705–712.
70. Park JW, Lee JK, Witte ON. & Huang J. FOXA2 is a sensitive and specific marker for small cell neuroendocrine carcinoma of the prostate. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* 2017;**30**:1262–1272.
71. Flavin R. *et al.* SPINK1 Protein Expression and Prostate Cancer Progression. *Clin. Cancer Res.* 2014;**20**:4904–4911.

72. Takeda H. *et al.* Androgen receptor content of prostate carcinoma cells estimated by immunohistochemistry is related to prognosis of patients with stage D2 prostate carcinoma. *Cancer* 1996;**77**:934–940.
73. Chang YT. *et al.* REST is a crucial regulator for acquiring EMT-like and stemness phenotypes in hormone-refractory prostate cancer. *Sci. Rep.* 2017;**7**:42795.
74. Hwang W. *et al.* Expression of neuroendocrine factor VGF in lung cancer cells confers resistance to EGFR kinase inhibitors and triggers epithelial-to-mesenchymal transition. *Cancer Res.* 2017;**77**:3013–3026.
75. Ikezono Y. *et al.* Pancreatic Neuroendocrine Tumors and EMT Behavior Are Driven by the CSC Marker DCLK1. *Mol. Cancer Res. MCR* 2017;**15**:744–752.
76. Wang Q, Horiatis D. & Pinski J. Inhibitory effect of IL-6-induced neuroendocrine cells on prostate cancer cell proliferation. *The Prostate* 2004;**61**:253–259.
77. Terry S. & Beltran H. The many faces of neuroendocrine differentiation in prostate cancer progression. *Front. Oncol.* 2014;**4**:60.
78. Beltran H. *et al.* Molecular characterization of neuroendocrine prostate cancer and identification of new drug targets. *Cancer Discov.* 2011;**1**:487–495.
79. Zhang X. *et al.* SRRM4 expression and the loss of REST activity may promote the emergence of the neuroendocrine phenotype in castration-resistant prostate cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* 2015;**21**:4698–4708.
80. Li Y. *et al.* SRRM4 drives neuroendocrine transdifferentiation of prostate adenocarcinoma under androgen receptor pathway inhibition. *Eur. Urol.* 2017;**71**:68–78.
81. Ci X. *et al.* Heterochromatin protein 1 $\alpha$  mediates development and aggressiveness of neuroendocrine prostate cancer. *Cancer Res.* 2018;**78**:2691–2704.

**Vu, le Directeur de Thèse**

**Vu, le Doyen  
De la Faculté de Médecine de Tours  
Tours, le**



## CASTELLIER Claire

66 pages – 6 tableaux – 14 figures – 9 illustrations

**Résumé : Introduction :** Les carcinomes neuro-endocrines (CNE) à petites cellules de la prostate sont des tumeurs rares et agressives représentant moins de 5 % des cancers prostatiques. Le cas de figure le plus fréquent est l'émergence d'un phénotype neuro-endocrine après déprivation hormonale dans les cancers résistants à la castration via un mécanisme appelé transdifférenciation neuro-endocrine, qui peut être totale ou partielle. L'objectif de cette étude multicentrique est d'analyser dans les CNE prostatiques, l'expression conjointe de marqueurs neuro-endocrines, de gènes de la signalisation androgénique, et de marqueurs d'agressivité tumorale. **Matériels et méthodes :** Nous avons étudié en immunohistochimie sur tissu microarray l'expression des marqueurs neuro-endocrines (chromogranine A, synaptophysine, TTF1), de gènes de la signalisation androgénique (récepteur aux androgènes (RA), NKX3.1, PSA, AR-V7, ERG) et de marqueurs d'agressivité (SPINK1, PTEN, Zeb1 et Ki67). L'expression de ces marqueurs a été analysée dans 15 cas de CNE incluant 6 formes pures et 9 formes mixtes, 2 cas de novo et 13 secondaires à une déprivation androgénique. L'expression des marqueurs a été comparée à celle de 48 cas de carcinome prostatique résistant à la castration (CRPC) sans différenciation NE. Concernant les formes mixtes, l'immunophénotype du contingent neuro-endocrine a été comparé à celui du contingent adénocarcinomateux. Les caractéristiques cliniques incluant la durée de survie ont été recueillies. **Résultats :** Les CNE expriment dans la totalité des cas la chromogranine A et plus de la moitié expriment le RA et NKX3.1. La durée de survie est plus importante pour les patients dont la tumeur présente une persistance d'expression du RA. Dans les formes mixtes, ERG est exprimé de façon similaire dans les deux composantes, avec néanmoins une expression plus élevée de Zeb1 et Ki67 dans la composante neuro-endocrine. Les CRPC sans composante NE ont une prolifération plus élevée que ceux associés à une composante NE. **Conclusion :** Ces résultats montrent que la transdifférenciation NE reste incomplète dans la moitié des cas et suggèrent une filiation entre les cellules tumorales NE et les cellules tumorales acinaires. De nouvelles études sont nécessaires pour caractériser les mécanismes moléculaires de la transdifférenciation neuro-endocrine.

**Mots-clés :** Cancer, prostate, transdifférenciation neuro-endocrine, chromogranine A, récepteurs aux androgènes, NKX3-2, Zeb1

### Jury :

Président du Jury : Professeur Serge GUYETANT  
 Directeur de thèse : Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD  
 Membres du Jury : Professeur Olivier HAILLOT  
 Professeur Claude LINASSIER  
 Date de soutenance : 20 septembre 2018