



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA -1-
FACULTE DE MEDECINE

THESE DE DOCTORAT EN SCIENCES MEDICALES

**Expression du PD-L1 dans les carcinomes
pulmonaires non à petites cellules et dans le
microenvironnement tumoral
Quel intérêt ?**

Présentée par le Docteur Rafika BENNOUI-BADREDDINE
Maitre Assistante en Anatomie Pathologique
Directrice de thèse : Professeur Wahiba OUAHIOUNE
Chef de service d'Anatomie Pathologique CHU Blida
Faculté de Médecine de Blida

Jury

Présidente : Pr Zine Charaf AMIR : Chef de Service d'Anatomie Pathologique CHU Alger
Centre. Faculté de médecine d'Alger
Membres : Pr Nacima DJENNANE: Service d'Anatomie Pathologique CHU Bab El Oued.
Faculté de médecine d'Alger
Pr Adda BOUNEDJAR: Chef de Service d'Oncologie Médicale CAC Blida.
Faculté de médecine de Blida
Pr Yacine KHELOUI: Chef de Service de Pneumologie EPH Blida. Faculté de
médecine de Blida

Année : 2020

Dédicaces

Je dédie ce travail à ma famille et à mes amis qui m'ont toujours encouragé et qui ont su m'entourer avec beaucoup d'affection durant les moments difficiles.

Je le dédie en particulier :

A la mémoire de mon père Saïd qui voulait à tout prix qu'on progresse dans notre carrière professionnelle et à la mémoire de mon beau-père Salah, qui m'a toujours encouragé dans mon parcours de résidanat. Puisse Dieu tout puissant, assurer le repos de vos âmes par sa sainte miséricorde.

A ma très chère et merveilleuse mère Laldja, tu représentes pour moi la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mon travail. Puisse Dieu t'accorder une bonne santé et une longue vie.

A mon cher époux Hamid qui a su être toujours présent pour me soutenir pendant toutes ces années, avec qui j'ai partagé les bons et les mauvais moments. Ton aide, ta générosité et ton soutien ont été pour moi une source de courage et de confiance. Que Dieu nous réunisse pour toujours et que ce travail soit témoignage de ma reconnaissance et de mon amour sincère et fidèle.

A mes adorables enfants Salah, Yasmine et Souha, merci pour votre patience et votre amour qui m'ont inspiré force et courage pour accomplir ce travail. Je vous aime et je vous souhaite tout le bonheur du monde.

A mes chers sœurs et frères particulièrement Samia et Karima, à mes nièces et neveux, je vous aime énormément.

A mes belles-sœurs, merci pour toutes vos prières et votre soutien moral.

Je tiens à travers cette modeste dédicace à vous exprimer toute mon affection et respect.

Remerciements

A l'issue de la rédaction de cette recherche, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail doctoral sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont permis de progresser dans cette phase délicate de ma carrière.

En premier lieu, je tiens à remercier :

Ma directrice de thèse

Madame le Professeur Wahiba OUAHIOUNE

Chef de service d'Anatomie Pathologique du CHU de Blida.

Je ne vous remercierai jamais assez madame, de m'avoir encadrée et encouragée et surtout pour la confiance que vous m'avez accordée qui ; grâce à elle, j'ai pu réaliser cette thèse. Merci pour vos précieux conseils et pour le temps que vous m'aviez consacré. Merci de votre exigence et de votre investissement pour nous pousser à être toujours de meilleurs pathologistes. C'est pour moi un grand privilège d'avoir pu réaliser ce travail sous votre direction. Veuillez trouver dans cette thèse le témoignage de toute ma gratitude et ma vive reconnaissance.

A la présidente du jury

Madame le Professeur Zine Charaf AMIR

Chef de service d'Anatomie Pathologique CHU d'Alger Centre. Vous m'avez fait l'honneur de présider mon jury de thèse. Votre générosité scientifique et modestie sont exemplaires.

Veuillez trouver ici le témoignage de mon plus grand respect

Aux membres du jury

Madame le Professeur Nacima DJENNANE

Professeur au service d'Anatomie Pathologique du CHU de Bab El Oued. C'est un grand honneur de vous avoir dans mon jury. Vous m'avez formé, soutenue et conseillé tout au long de mon résidanat et je vous en remercie. Votre esprit scientifique et votre humanité m'ont toujours marqué.

Veillez trouver en ce travail ma plus profonde reconnaissance et respect.

Monsieur le Professeur Adda BOUNEDJAR

Chef de service d'Oncologie Médicale CAC Blida. Merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail et de participer à mon jury de soutenance de thèse pour y apporter votre expertise dans le domaine de l'oncologie.

Veillez trouver ici l'expression de ma plus haute considération et de mon profond respect.

Monsieur le Professeur Yacine KHELOUI

Chef de Service de Pneumologie EPH Blida. C'est un immense honneur pour moi que vous faites partie de mon jury de thèse.

Je vous remercie vivement et vous assure de ma sincère gratitude et profonde estime.

A mes chères collègues et amis

Nassima, Zakia, Feriel, Asma, Noura, Ghania et Salima. Merci pour votre amitié, vous étiez toujours présentes à mes côtés pour m'écouter, m'aider et me soutenir. Que Dieu vous protège et vous procure joie et bonheur.

A ma chère amie et collègue Pr Nabila Moulai, merci pour tous vos conseils, ta disponibilité et tous vos efforts pour la réussite de la technique d'immunohistochimie. Je te souhaite une très belle carrière, tu le mérites amplement.

A mes très chères amies : Fazou et Imèn. Même si vous ne faites plus partie de notre équipe, votre place reste irremplaçable. Je vous remercie pour les bons moments qu'on a passés ensemble. Vous m'avez toujours aidé et encouragé. Que Dieu vous protège et que notre amitié reste à jamais.

A tous mes collègues pathologistes du service d'Anatomie Pathologique du CHU de Blida, merci pour votre soutien et votre encouragement.

A tous les biologistes du service particulièrement Radia et Amel, votre collaboration était précieuse pour l'aboutissement de ce travail.

Je remercie également mes collaborateurs cliniciens, le Dr Meriem Ouled Kouider et le Dr Radjaa Benkali pour leur disponibilité et leur étroite collaboration. Veuillez trouver en ce travail ma plus profonde reconnaissance.

A tous ceux ou celles qui me sont chers et que j'ai omis involontairement de citer.

A tous mes enseignants tout au long de mes études.

A tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Sommaire

I.	Introduction	19
II.	Données récentes de la littérature.....	23
1.	Définition-Généralités	24
2.	Etude épidémiologique.....	24
2.1.	Incidence du cancer pulmonaire.....	24
2.2.	Age et sexe	25
2.3.	Facteurs de risque.....	25
2.3.1.	Le tabac	25
2.3.1.1.	Le tabagisme actif	25
2.3.1.2.	Le tabagisme passif	26
2.3.2.	Le cannabis.....	26
2.3.3.	L'exposition professionnelle	26
2.3.4.	Facteurs liés à l'environnement.....	27
2.3.5.	Les habitudes alimentaires	27
2.3.6.	Rôle du terrain hormonal.....	27
2.3.7.	Pathologies respiratoires	28
2.3.7.1.	Fibrose et affections infiltrantes diffuses	28
2.3.7.2.	Autres affections respiratoires bénignes	28
2.3.8.	Susceptibilité génétique.....	28
3.	Carcinogénèse du cancer pulmonaire.....	28
3.1.	Famille ERBB	29
3.2.	KRAS et BRAF.....	31
3.3.	ALK.....	31
3.4.	ROS1 et RET.....	32
3.5.	c-Met	33
3.6.	PI3K	33
4.	Clinique et paraclinique.....	34
4.1.	Clinique	34
4.1.1.	Symptômes respiratoires	34
4.1.2.	Symptômes en rapport avec l'extension locorégionale du cancer	34
4.1.3.	Syndrome paranéoplasique.....	35
4.1.4.	Examen clinique	35
4.2.	Paraclinique	35
4.2.1.	La radiographie.....	35
4.2.2.	La tomodensitométrie thoracique avec injection.....	35
4.2.3.	Bronchoscopie	35
4.2.3.1.	Les aspects endoscopiques	36
4.2.3.2.	Les méthodes de prélèvement	36
4.2.4.	Ponction cytologique transbronchique échoguidée (EBUS).....	37
4.2.5.	Biopsies transpariétales	37
4.2.6.	La tomographie par émission de positons couplée à la tomodensitométrie (TEP-TDM)	37

4.2.7. La scintigraphie osseuse	37
4.2.8. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale	38
5. Etude anatomopathologique	38
5.1. Classification de l'OMS 2015	38
5.1.1. Historique et évolution des classifications OMS	38
5.1.2. Travail multidisciplinaire de l'IASLC/ATS/ERS	39
5.1.3. Apport de la classification OMS 2015	39
5.2. Etude macroscopique	40
5.2.1. Prise en charge des prélèvements biopsiques.....	40
5.2.2. Prise en charge macroscopique des pièces de résection chirurgicale.....	41
5.3. Etude microscopique	42
5.3.1. Les adénocarcinomes	42
5.3.1.1. Lésions pré-invasives	42
5.3.1.2. Adénocarcinome invasif et variantes	43
5.3.1.3. Implication pronostique et corrélation histomoléculaire des ADK..	50
5.3.2. Les carcinomes épidermoïdes	51
5.3.2.1. Lésions pré-invasives	51
5.3.2.2. Carcinome épidermoïde invasif et variantes	51
5.3.2.3. Profil génétique des carcinomes épidermoïdes	53
5.3.3. Carcinome à grandes cellules	53
5.3.3.1. Définition	53
5.3.3.2. Profil génétique des carcinomes à grandes cellules	54
5.3.4. Autres types histologiques rares des CPNPC.....	55
5.3.4.1. Carcinome adénoquameux.....	55
5.3.4.2. Carcinome sarcomatoïde	56
5.3.4.3. Carcinome de type lympho-épithélial	58
5.3.5. Diagnostic des CPNPC sur prélèvement biopsiques, recommandations de l'OMS 2015 et indications de l'étude immunohistochimique	58
6. Système immunitaire et cancer	63
6.1. Rappel sur l'immunité	63
6.2. Les principaux effecteurs de l'immunité anti-tumorale	63
6.2.1. Les cellules Natural killer.....	63
6.2.2. Les lymphocytes T	64
6.3. La « Théorie des 3E ».....	68
6.4. Mécanismes d'échappement des cellules tumorales au système immunitaire	69
6.4.1. Modifications intrinsèques de la cellule tumorale	69
6.4.1.1. Action sur la présentation des antigènes tumoraux	69
6.4.1.2. Résistance des cellules tumorales à l'apoptose	70
6.4.2. Création d'un microenvironnement suppresseur.....	70
A. Les cellules dendritiques	70
B. Les macrophages infiltrant les tumeurs.....	70
C. Les neutrophiles associés aux tumeurs.....	71
D. Cellules myéloïdes suppressives	71
E. Lymphocytes T régulateurs	71

6.4.3. Épuisement des lymphocytes T	72
6.5. Voie PD1/PDL1 dans le cancer	72
7. PD-L1 et le pathologiste :.....	74
7.1. Prélèvement à utiliser pour déterminer le statut PD-L1	74
7.2. Indication du testing PD-L1 dans les CPNPC.....	74
7.3. Impact de la phase pré analytique sur l'expression immunohistochimique du PD-L1	76
7.4. Evaluation du marquage.....	77
7.4.1. Dans les cellules tumorales	77
7.4.2. Dans le microenvironnement	78
7.5. Expression du PD-L1 dans les CPNPC.....	78
7.6. Facteurs pouvant influencer sur l'expression du PD-L1	78
8. Facteurs pronostiques et histopronostiques.....	79
9. Traitement	80
9.1. Stades I et II.....	80
9.2. Stades III A résécables chez des patients opérables.....	80
9.3. Formes localement avancées.....	81
9.4. Formes métastatiques - stade IV	81
9.4.1. Protocoles thérapeutiques de première ligne.....	81
9.4.2. Traitement de seconde ligne et lignes ultérieures	81
9.4.3. Tumeurs avec altération ciblable EGFR, ALK ou ROS1	83
III. Matériels et méthodes	84
1. Matériel	85
1.1. Schéma de l'étude.....	85
1.2. Population d'étude	85
1.2.2. Critères d'inclusion.....	85
1.2.3. Critères d'exclusion	85
2. Méthodes	86
2.1. Sources et recueil des données.....	86
2.2. Etude anatomopathologique	87
2.2.1. Phase préanalytique	87
2.2.2. Phase analytique	88
2.3. Analyse statistique	99
IV. Résultats	100
1. Etude descriptive des CPNPC, Profil épidémiologique	101
1.1. Répartition selon l'âge	101
1.2. Répartition selon le genre	102
1.3. Répartition selon l'exposition au tabagisme	103
1.4. Antécédents néoplasiques	107
1.5. Répartition des CPNPC selon le type de prélèvement.....	108
1.6. Répartition des sièges des sites métastatiques	109
1.7. Types de résection chirurgicale	110
1.8. Siège des CPNPC par rapport au côté pulmonaire	111
1.9. Répartition selon le stade TNM.....	112

2.	Etude anatomopathologique	114
2.1.	Répartition des CPNPC selon le type histologique	114
2.2.	Répartition des sous-types histologiques des ADK.....	116
2.3.	Répartition des sous-types histologiques des CE	118
2.4.	Pratique de l'étude IHC pour les ADK.....	120
2.5.	Etude immunohistochimique réalisée dans les CE.....	122
2.6.	Recherche de mutation de l'EGFR par biologie moléculaire.....	123
2.7.	Recherche du réarrangement ALK par étude immunohistochimique	124
3.	Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales	126
3.1.	Caractéristiques des CPNPC PD-L1+	129
3.1.1.	Répartition selon l'âge	129
3.1.2.	Répartition selon le genre.....	130
3.1.3.	Répartition des CPNPC PD-L1+ selon l'exposition au tabagisme ..	130
3.1.4.	Antécédents néoplasiques.....	131
3.1.5.	Répartition des cas PD-L1+ selon le stade TNM et l'extension de la maladie	132
3.1.6.	Répartition des cas PD-L1+ selon le type histologique	134
3.1.7.	Répartition des ADK PD-L1+ selon le sous-type histologique	134
3.1.8.	Répartition des CE PD-L1+ selon le sous-type histologique.....	135
3.1.9.	Répartition des ADK PD-L1+ selon le statut EGFR.....	136
3.1.10.	Répartition des ADK PD-L1+ selon le statut ALK.....	136
4.	Expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement tumoral.....	137
5.	Comparaison entre les deux groupes PD-L1+ et PD-L1- par analyse statistique .	139
5.1.	Exposition au tabagisme.....	139
5.2.	Type de prélèvement	140
5.3.	Extension de la maladie.....	142
5.4.	Types histologiques.....	143
5.5.	Sous types des adénocarcinomes.....	145
5.6.	Sous-type des carcinomes épidermoïdes.....	147
5.7.	Anomalies moléculaires	147
5.8.	Expression du PD-L1 en fonction du délai IHC	149
5.9.	Expression du PD-L1 et densité des TILs	150
6.	Relation entre le statut PD-L1 des CT et l'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement.....	151
7.	Expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement et densité des TILs....	154
8.	Etude du profil immunohistochimique du microenvironnement tumoral et sa relation avec l'expression du PD-L1 dans les CT, CI et la densité des TILs	155
9.	Courbe de survie	169
V.	Discussion	173
VI.	Conclusion	198
VII.	Recommandations et perspectives	201
Annexes	203

Liste des figures

Figure 1 : Mutations, amplifications et réarrangement dans les ADK.....	29
Figure 2 : Gène EGFR. Domaine tyrosine kinase exons 18 à 21.....	30
Figure 3 : Principales voies de signalisation activées par les mutations d'EGFR.....	30
Figure 4 : Schéma de la translocation EML4-ALK.....	32
Figure 5 : Voie de signalisation de ROS1.....	33
Figure 6 : Hyperplasie adénomateuse atypique.....	43
Figure 7 : ADK in-situ.....	43
Figure 8 : ADK invasif avec ses différents aspects architecturaux.....	45
Figure 9 : ADK solide comportant un aspect clair.....	46
Figure 10 : ADK solide avec contingent de cellules « en bague à chaton ».....	46
Figure 11 : La dissémination aérienne « STAS ».....	47
Figure 12 : ADK à invasion minimale.....	48
Figure 13 : ADK mucineux invasif.....	48
Figure 14 : ADK colloïde.....	49
Figure 15 : ADK de type fœtal.....	49
Figure 16 : ADK de type entérique.....	50
Figure 17 : Carcinome in-situ de la muqueuse bronchique.....	51
Figure 18 : CE et ses variantes histologiques.....	53
Figure 19 : Carcinome à grandes cellules.....	54
Figure 20 : Carcinome adénoquameux diagnostic morphologique.....	55
Figure 21 : Carcinome adénoquameux diagnostic immunohistochimique.....	56
Figure 22: Carcinome à cellules fusiformes.....	57
Figure 23 : Carcinome à cellules géantes.....	57
Figure 24 : Carcinome lympho-épithélial.....	58
Figure 25 : Algorithme décisionnel de l'OMS 2015 pour le diagnostic anatomopathologique du cancer pulmonaire sur prélèvements biopsiques.....	60
Figure 26 : IHC ALK d'un ADK pulmonaire.....	62
Figure 27 : IHC ROS1 d'un ADK pulmonaire.....	62
Figure 28 : Voies d'apoptose des cellules tumorales par les cellules NK.....	64
Figure 29 : La réponse anti-tumorale, mécanisme d'activation des Lymphocytes T.....	65
Figure 30 : Molécules de co-stimulation activatrices et inhibitrices au cours de l'activation des lymphocytes T.....	66
Figure 31 : Les différents immune checkpoint co-activateur et co-inhibiteur.....	68
Figure 32 : La théorie des 3 « E » de l'immunosurveillance.....	69
Figure 33 : Principaux mécanismes régulateurs de l'expression tumorale du PD-L1.....	73
Figure 34 : Place des tests IHC du PD-L1 dans la prise en charge des CPNPC.....	75
Figure 35 : Macroscopique d'un CPNPC de siège proximal.....	87
Figure 36 : Grading de l'intensité des CI sur les prélèvements biopsiques.....	88
Figure 37 : Grading de l'intensité des CI sur les prélèvements chirurgicaux.....	89
Figure 38 : Lame de contrôle négatif PD-L1 du kit.....	90
Figure 39 : Lame de témoins positif et négatif PD-L1 du kit.....	91
Figure 40 : Les trois spots de témoins externes utilisés dans le testing du PD-L1.....	92
Figure 41 : Expression du PD-L1 par les macrophages intra-alvéolaires.....	93
Figure 42 : Illustration de l'expression du PD-L1 dans les CT.....	93

Figure 43 : Méthode d'évaluation de l'expression du PD-L1 dans les CT	94
Figure 44 : Scoring de l'expression de PD-L1 par les CT	95
Figure 45 : Scoring de l'expression de PD-L1 par les CI, modèle d'aide au scoring, Roche Ventana.....	96
Figure 46 : Scoring de l'expression de PD-L1 par les CI, Modèle d'aide au scoring, Annales de Pathologie	96
Figure 47 : Expression du PD-L1, faux positif dans la nécrose et dans l'antracose	97
Figure 48 : Faux marquage positif, expression du PD-L1 dans les macrophages intra-alvéolaires.....	97
Figure 49 : Répartition des CPNPC selon l'âge.....	102
Figure 50 : Répartition des patients atteints de CPNPC en fonction du genre.....	103
Figure 51 : Répartition des patients atteints de CPNPC selon l'exposition au tabagisme	104
Figure 52 : Répartition de l'exposition au tabagisme selon le genre	105
Figure 53 : Répartition du type de l'exposition tabagique	106
Figure 54 : Type d'exposition tabagique chez les femmes	107
Figure 55 : Répartition des CPNPC selon les antécédents néoplasiques	108
Figure 56 : Répartition des cas selon le type de prélèvement	109
Figure 57 : Répartition des différents sièges des métastases.....	110
Figure 58 : Répartition des pièces chirurgicales selon le type de résection	111
Figure 59 : Siège des CPNPC par rapport au côté pulmonaire	112
Figure 60 : Répartition des patients atteints de CPNPC selon le stade	113
Figure 61 : Répartition des patients selon l'extension de la maladie	114
Figure 62 : Répartition des CPNPC selon le type histologique.....	115
Figure 63 : Morphologie des différents types histologiques des CPNPC	116
Figure 64 : Répartition des ADK selon le sous-type histologique	117
Figure 65 : Morphologie des sous-types des ADK	118
Figure 66 : Répartition des sous-types histologiques des CE.....	119
Figure 67 : Morphologie des variantes des CE	120
Figure 68 : Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon la morphologie de l'ADK.....	121
Figure 69 : Fréquence de réalisation de l'étude IHC au TTF1 sur trois années	122
Figure 70 : Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon le type des CE	123
Figure 71 : Fréquence de la recherche de la mutation EGFR dans les ADK.....	124
Figure 72 : Fréquence de la recherche du réarrangement ALK par étude IHC.....	125
Figure 73 : Expression du PD-L1 dans les CPNPC	127
Figure 74 : Niveau d'expression du PD-L1 dans les CT des CPNPC.....	128
Figure 75 : Expression du PD-L1 dans les CT, TPS <1%.....	128
Figure 76 : Expression du PD-L1 dans les CT, TPS compris entre 1% et 49%.....	128
Figure 77 : Expression du PD-L1 dans les CT, TPS ≥50%	129
Figure 78 : Répartition des CPNPC PD-L1+ selon l'âge.....	129
Figure 79 : Répartition des CPNPC PD-L1+ selon le genre	130
Figure 80 : Répartition des cas PD-L1+ selon l'exposition au tabagisme	131
Figure 81 : Répartition des antécédents néoplasiques chez les patients PD-L1+.....	132
Figure 82 : Répartition des CPNPC PD-L1+ selon le stade TNM.....	133
Figure 83 : Répartition des CPNPC PD-L1+ selon l'extension de la maladie.....	133
Figure 84 : Répartition des cas de PD-L1+ selon le type histologique	134
Figure 85 : Répartition des ADK PD-L1+ selon le sous-type histologique	135
Figure 86 : Répartition des CE PD-L1+ selon le sous-type histologique.....	135

Figure 87 : Répartition des ADK PD-L1+ selon le statut EGFR	136
Figure 88 : Répartition des CPNPC PD-L1+ selon le statut ALK	137
Figure 89 : Expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement tumoral	138
Figure 90 : Illustration du scoring de l'expression du PD-L1 par les CI	138
Figure 91 : Expression du PD-L1 en fonction du tabagisme.....	140
Figure 92 : Répartition des types de prélèvement dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-.	141
Figure 93 : Expression du PD-L1 dans les prélèvements biopsiques et chirurgicaux	142
Figure 94 : Extension de la maladie dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	143
Figure 95 : Illustration de l'expression du PD-L1 dans un ADK.....	144
Figure 96 : Illustration de l'expression du PD-L1 dans un CE	144
Figure 97 : Illustration de l'expression du PD-L1 dans un carcinome sarcomatoïde	145
Figure 98 : Illustration de l'expression du PD-L1, carcinome à cellules pléomorphe.....	145
Figure 99 : Illustration de l'expression du PD-L1 dans un carcinome à grandes cellules	145
Figure 100 : Répartition des sous-types d'adénocarcinome selon l'intensité du marquage ..	147
Figure 101 : ADK exprimant PD-L1 et ALK	149
Figure 102 : Délai de réalisation de l'IHC dans les deux groupes PD-L1+et PD-L1-	150
Figure 103 : Expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	152
Figure 104 : Expression du PD-L1 dans les CT et CI.	153
Figure 105 : Cas illustrant l'expression du PD-L1 dans les CT et CI.....	154
Figure 106 : Expression du PD-L1 dans les CI selon la densité des TILs	155
Figure 107 : « Flow chart » de l'étude du microenvironnement.....	156
Figure 108 : Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression du CD8 par les TILs selon les quatre scores.....	157
Figure 109 : Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression positive ou négative du CD8 par les TILs.....	158
Figure 110 : Illustration de la relation entre l'expression du PD-L1 dans les CT et l'expression du CD8 dans les TILs	159
Figure 111 : Expression du PD-L1 dans les CT selon la topographie des Tils CD8+	160
Figure 112 : Topographie des TILs exprimant CD8 par rapport à la tumeur	160
Figure 113 : Test t de Student pour l'expression du CD8 dans les deux groupes PD-L1+ et PD-L1-	161
Figure 114 : Expression du CD8 en fonction de l'expression du PD-L1 par les CI.....	162
Figure 115 : Cas illustrant l'expression du PD-L1 dans les CI et CD8 dans les TILs	162
Figure 116 : Test t de Student pour la comparaison entre l'expression du PD-1 dans les deux statuts PD-L1+ et PD-L1-	164
Figure 117 : Test t de Student pour la comparaison entre l'expression du PD-1 et l'expression du CD8 des TILs	166
Figure 118 : Expression du PD-1 dans les TILs.....	167
Figure 119 : Expression de la granzyme B dans les TILs	168
Figure 120 : Taux de survie dans les deux groupes PD-L1+ et PD-L1-	169
Figure 121 : Taux de survie dans le groupe PD-L1+ selon l'intensité du marquage	170
Figure 122 : Taux de survie selon l'expression du PD-L1 dans les CI.....	170
Figure 123 : Taux de survie selon l'expression du CD8 dans les TILs	171
Figure 124 : Taux de survie selon la combinaison PD-L1/densité TILs.....	171
Figure 125 : Taux de survie selon la combinaison PD-L1/CD8 TILs.....	172
Figure 126 : Taux de survie selon la combinaison PD-1/CD8 TILs	172

figure 127: Les 5 premières localisations des cancers chez l'homme selon le Réseau National des Registres Du Cancer d'Alger de l'année 2017	174
Figure 128 : Incidence du cancer du poumon dans le monde selon les données du Globocan 2018.....	176
Figure 129 : Mortalité par cancer du poumon dans le monde selon les données du Globocan 2018.....	176
Figure 130 : Distribution et analyse de survie globale des types de microenvironnement tumoral définies par la combinaison PD-L1 / TIL CD8 selon Lin et al.....	193
Figure 131 : Distribution et analyse de survie globale des types de microenvironnement tumoral définies par la combinaison PD-1 / TIL CD8 + selon Lin et al	194

Liste des tableaux

Tableau 1	: Répartition des CPNPC selon l'âge	101
Tableau 2	: Répartition des CPNPC en fonction du genre	102
Tableau 3	: Moyenne d'âge des CPNPC selon le genre	103
Tableau 4	: Répartition des CPNPC selon l'exposition au tabagisme	103
Tableau 5	: Répartition de l'exposition au tabagisme selon le genre	104
Tableau 6	: Type de l'exposition au tabagisme	105
Tableau 7	: Type d'exposition au tabagisme chez les femmes	106
Tableau 8	: Répartition des antécédents néoplasiques dans les CPNPC	107
Tableau 9	: Répartition des CPNPC selon le type de prélèvement	108
Tableau 10	: Répartition des sites métastatiques	109
Tableau 11	: Répartition des pièces chirurgicales selon le type de résection	110
Tableau 12	: Siège des prélèvements par rapport au côté pulmonaire	111
Tableau 13	: Répartition des CPNPC selon le stade TNM	112
Tableau 14	: Répartition des CPNPC selon l'extension de la maladie	113
Tableau 15	: Répartition des CPNPC selon le type histologique	114
Tableau 16	: Répartition des ADK selon le sous-type histologique	117
Tableau 17	: Répartition des CE selon les sous-types histologiques	119
Tableau 18	: Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon la morphologie de l'ADK	121
Tableau 19	: Fréquence de réalisation de l'étude IHC TTF1 sur trois années	122
Tableau 20	: Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon le type des CE	123
Tableau 21	: Fréquence de la recherche de la mutation EGFR dans les ADK	124
Tableau 22	: Fréquence de la recherche du réarrangement ALK par étude IHC	124
Tableau 23	: Caractéristiques anatomo-cliniques des ADK et des CE	125
Tableau 24	: Caractéristiques anatomo-cliniques des cas testés pour EGFR et ALK	126
Tableau 25	: Expression du PD-L1 dans les CT des CPNPC	127
Tableau 26	: Niveau d'expression du PD-L1 dans les CT des CPNPC	127
Tableau 27	: Moyenne d'âge des CPNPC PD-L1+	129
Tableau 28	: Répartition des antécédents néoplasiques chez les patients PD-L1+	131
Tableau 29	: Répartition des cas PD-L1+ selon le stade TNM	132
Tableau 30	: Expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement tumoral	137
Tableau 31	: Comparaison des deux groupes PD-L1+ et PD-L1- selon l'âge, le genre, les antécédents néoplasiques et le traitement néoadjuvant	139
Tableau 32	: Répartition de l'exposition tabagique dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	140
Tableau 33	: Répartition des types de prélèvement dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	141
Tableau 34	: Expression du PD-L1 dans les prélèvements biopsiques et chirurgicaux	142
Tableau 35	: Extension de la maladie dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	143
Tableau 36	: Répartition des types histologiques des CPNPC dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	144
Tableau 37	: Répartition des sous-types histologiques des ADK dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	146
Tableau 38	: Répartition des sous types d'ADK selon le TPS dans le groupe PD-L1+	146
Tableau 39	: Répartition des sous-types de CE dans les deux groupes	147
Tableau 40	: Répartition du statut EGFR dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	148
Tableau 41	: Répartition du statut ALK dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-	148

Tableau 42 : Délai de réalisation de l'IHC dans les deux groupes PD-L1+et PD-L1-	150
Tableau 43 : Expression du PD-L1 selon la densité des CI du microenvironnement	151
Tableau 44 : Répartitions des quatre types de microenvironnement en fonction de l'expression du PD-L1 et la densité des TILs	151
Tableau 45 : Expression du PD-L1 dans les CI des deux groupes PD-L1+/PD-L1-	152
Tableau 46 : Expression du PD-L1 dans les CI et CT.....	153
Tableau 47 : Expression du PD-L1 dans les CI en fonction de la densité des TILs	154
Tableau 48 : Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression du CD8 par les TILs avec les 4 scores	157
Tableau 49 : Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression positive ou négative du CD8 par les TILs.....	158
Tableau 50 : Expression du PD-L1 dans les CT selon la topographie des TILs CD8+	159
Tableau 51 : Expression du CD8 en fonction de l'expression du PD-L1 par les CI.....	161
Tableau 52 : Répartitions des quatre types de microenvironnement en fonction de l'expression du PD-L1 et le CD8 dans les TILs	162
Tableau 53 : Répartitions des quatre types de microenvironnement en fonction de l'expression du PD-1 et le CD8 dans les TILs.....	163
Tableau 54 : Caractéristiques immunophénotypiques du microenvironnement tumoral.....	163
Tableau 55 : Corrélation bivariée de l'expression du PD-L1 et du PD-1	164
Tableau 56 : Expression du PD-1 dans les TILs CD8+ en fonction de leur topographie	165
Tableau 57 : Expression du PD-1 et granzyme B selon l'expression du CD8 dans les TILs et le rapport CD4/CD8	165
Tableau 58 : Corrélation bivariée de l'expression du PD-L1 et du PD-1	166
Tableau 59 : Expression de la granzyme B selon le statut PD-1 des TILs.....	167
Tableau 60 : Analyse multivariée par régression	169
Tableau 61 : Principales localisations des cancers masculins à Alger selon le registre d'Alger de 2017	175
Tableau 62 : Principales localisations des cancers féminins à Alger selon le registre d'Alger de 2017	175
Tableau 63 : Comparaison du sexe ratio de notre série avec les autres séries	177
Tableau 64 : Proportion des différents types histologiques dans notre série et la série de Hamel et Oudjida	179
Tableau 65 : Prévalence de l'expression du PD-L1 dans les CPNPC par analyse IHC utilisant différents anticorps.....	182
Tableau 66 : Comparaison de l'expression du PD-L1 par analyse multivariée selon Gagné et al	188
Tableau 67 : Relations entre les différents points de contrôle selon He et al.....	192

Abréviations

ADK : Adénocarcinome
AI S : Adénocarcinome in-situ
ALK : Anaplastic lymphoma kinase
AMM : Autorisation de Mise sur le Marché
ATS : American Thoracic Society
BA : Bleu Alcian
BRAF : Protéine Raf Kinase de type B
CD : Cellule dendritique
CDx : Cluster de Différenciation
CDX2 : Caudal-type homeobox 2
CE : Carcinome épidermoïde
CGC : Carcinome à grandes cellules
CI : Cellules Immunitaires
CIRC : Centre International de Recherche sur le Cancer
CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CPA : Cellules Présentatrices d'Antigènes
CPNPC : Carcinome pulmonaire non à petites cellules
CPNP NOS : Carcinome pulmonaire non à petites cellules sans autre spécificité
CT : Cellules Tumorales
CTLA-4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4
CK : Cytokératine
EBUS : Ponction cytologique transbronchique échoguidée
EGF : Epidermal Growth Factor
EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor
EML4 : Echinoderm microtubule associated protein like 4
ERS : European Respiratory Society
FOXP3 : Forkhead box protein P3
FFPE : Formalin-Fixed Paraffin-Embedded
HE : Hématoxyline Eosine
HHA : Hyperplasie adénomateuse atypique
HIF : Hypoxia Inducible Factor
IASLC : International Association for the Study of Lung Cancer
IC : Intervalle de confiance
ICI : Inhibiteur des points de Contrôle de l'Immunité
IFN : Interféron
Ig : Immunoglobuline
IHC : Immunohistochimie
IL : Interleukine
IRM : Imagerie par résonance magnétique
KIR : killer Cell immunoglobulin-like receptors
KRAS : Kristen-rat Sarcoma
LT : Lymphocytes T
LTreg : Lymphocytes T régulateurs
MCI : Molécule de co-inhibition
ME : Microenvironnement
MIA : Adénocarcinome à invasion minimale
MUC2 : Mucine 2
NCR : Natural Cytotoxicity Receptors
NE : Neuroendocrine
NK : Natural Killer

OMS : Organisation Mondiale de la Santé
PAS : Acide Périodique de Schiff
p40 : Protéine 40
p63 : Protéine 63
PD1 : Programmed Death-1
PDL 1: Programmed Death Ligand 1
PI3K : Phosphatidyl Inositol 3-Kinase
PS : Performance Statu
RCP: Réunion de Concertation Pluridisciplinaire
ROS1 : c-ros oncogene 1
RR : Risque Ratio
STAS : Spread Through Air Spaces
TAM : Macrophage associés aux tumeurs
TAN : Neutrophiles associés aux tumeurs
TCR : T Cell Receptor
TDM: Tomodensitométrie
TEP-TDM: La tomographie par émission de positons couplée à la tomodensitométrie
TGFβ : Tumor Growth Factor
TILs : Lymphocytes infiltrant la tumeur
ITK : Inhibiteurs de Tyrosine Kinases
TNF : Tumor Necrosis Factor
TTF1 : Thyroïde Transcriptor Factor 1
TK : Tyrosine Kinase
VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor

I.INTRODUCTION

Les cancers pulmonaires sont au premier rang de la fréquence des cancers et représentent la principale cause de mort par cancer chez l'homme et chez la femme dans le monde^{1,2,3}.

Les carcinomes pulmonaires non à petites cellules (CPNPC) représentent les formes histologiques les plus fréquentes des cancers du poumon (environ 85 % des cas)⁴.

Depuis plusieurs années, le traitement stéréotypé du CPNPC était basé sur la chimiothérapie associée ou non à la radiothérapie. En 2004, Lynch montre que les carcinomes porteurs de mutations activatrices de l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) sont sensibles aux inhibiteurs de tyrosine kinase de l'EGFR et qu'il s'agit pour l'essentiel d'adénocarcinome⁵. Cette sensibilité permet d'obtenir d'excellentes réponses lorsque les patients sont porteurs d'une mutation activatrice, pour une toxicité inférieure à celle des chimiothérapies classiques. Ces mutations sont plus fréquentes chez les femmes, les non fumeurs et les asiatiques (près de 40% de la population asiatique⁶).

Les traitements sont depuis adaptés aux altérations moléculaires des voies de signalisation de la tumeur. En effet, les altérations géniques des cellules tumorales sont de mieux en mieux connues permettant d'optimiser la prise en charge des patients avec des traitements adaptés aux anomalies^{7,8}.

Cependant, près de la moitié des patients avec un CPNPC n'ont pas d'anomalies génétiques identifiées malgré les progrès de la génomique⁹. Ils ne peuvent donc pas bénéficier des thérapies ciblées.

D'autre part, les patients ayant reçu une thérapie ciblée suite à la découverte d'une altération moléculaire développent pour la plupart des résistances après une période plus ou moins longue de traitement¹⁰.

Tout ceci, aboutit à la nécessité de rechercher d'autres pistes thérapeutiques ciblant les points de contrôle (checkpoints) du système immunitaire qui constituent une avancée importante en oncologie^{11, 12, 13}.

En effet, il est bien admis actuellement que les tumeurs ne sont pas uniquement un amas de cellules tumorales présentant des altérations génétiques, mais, un tissu complexe contenant différents types cellulaires tumoraux et non tumoraux appartenant au microenvironnement.

La composante cellulaire de ce microenvironnement tumoral inclut des fibroblastes, des cellules vasculaires (endothéliales et péricytes) et des cellules immunitaires. Ces dernières vont soit éliminer les cellules tumorales soit favoriser leur développement.

La croissance et la diffusion tumorale sont donc les conséquences d'une interaction entre la cellule cancéreuse et son environnement représenté essentiellement par les cellules non tumorales immunitaires.

La voie PD1 (programmed death 1) / PDL1 (programmed death ligand 1), joue un rôle primordial dans la tolérance du système immunitaire vis-à-vis des cellules tumorales. En effet, l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales ou du stroma constitue l'un des mécanismes

d'échappement à l'immunosurveillance responsable de l'inhibition de la réaction immune antitumorale de l'hôte.

Le PD1 est un récepteur présent sur les lymphocytes, le PDL1 est le ligand présent sur les cellules présentatrices d'antigènes. Le PD1 et le PDL1 sont des molécules de co-inhibition, c'est-à-dire que leur interaction est à l'origine d'une diminution de la réponse immune et donc d'une tolérance du système immunitaire. Le PDL1 est fortement exprimé sur les cellules tumorales notamment du cancer bronchique non à petites cellules. Les cellules tumorales arrivent ainsi à contourner le système immunitaire.

L'inhibition de la voie PD1/PDL1 restaure l'activité du système immunitaire vis-à-vis de la cellule tumorale.

La majorité des traitements cible les molécules PD-L1(CD279) ou PD-1(CD274) exprimés par les cellules tumorales et/ou les cellules immunitaires.

Ces inhibiteurs de l'axe PD-1/PD-L1 ont montré des taux de réponses remarquables par leur durée, associée à des bénéfices sur la survie de différents types tumoraux à des stades avancés, en particulier dans le mélanome, les CPNPC, les carcinomes à cellules rénales, les carcinomes urothéliaux, les adénocarcinomes colorectaux associés à une instabilité des microsatellites et le lymphome de Hodgkin ^{14,15}.

L'utilisation de ces inhibiteurs a nettement amélioré la survie des patients atteints d'un CPNPC et cette survie est meilleure que celle obtenue avec des drogues cytotoxiques et même avec des agents moléculaires¹⁶.

La toxicité de ces traitements est relativement réduite comparativement aux effets secondaires de la chimiothérapie, de la radiothérapie et des thérapies ciblées^{17,18}. Cette toxicité est de nature auto-immune et s'observe chez 5 à 10% des patients^{19,20}.

L'utilisation de biomarqueurs prédictifs pour l'identification des patients bénéficiant de ces traitements est un enjeu important pour la décision thérapeutique^{21,22}.

L'expression de PD-L1 évaluée par immunohistochimie constitue actuellement le biomarqueur prédictif le plus étudié et celui qui est utilisé en vue de l'inclusion des patients dans des essais cliniques^{17,21,23}.

Une expression de PD-L1 est identifiée dans 19 à 100 % des CPNPC, en fonction de la technique utilisée ²⁴.

Les résultats des différentes études mettent en évidence, en dehors des carcinomes épidermoïdes pulmonaires traités par Nivolumab, des taux de réponse, une survie sans progression et une survie globale plus élevés chez les patients dont la tumeur est positive pour PD-L1 en utilisant les tests compagnons en immunohistochimie¹².

Cependant, certains patients exprimant le PD-L1 répondent peu au traitement et même parmi les patients dont la tumeur n'exprimait pas ou peu le PD-L1, une proportion significative (5 à 20 %) peut bénéficier de réponses thérapeutiques parfois longues.¹¹

L'hétérogénéité tumorale spatiale et temporelle est probablement un facteur important pouvant expliquer ces observations^{25,26}. Ces études ont utilisé pour la détermination du statut PD-L1 des échantillons de nature très variable - biopsies ou pièces opératoires- issus de la tumeur primitive ou de localisations métastatiques variées. Par ailleurs, les prélèvements tissulaires pouvaient avoir été collectés à différents moments de l'histoire de la maladie, au diagnostic ou après plusieurs lignées de traitements.

Ainsi, la réalisation d'un test immunohistochimique pour PD-L1 pourrait être associée dans son interprétation à d'autres paramètres biologiques et anatomo-pathologiques, et intégrée au contexte clinique propre à chaque patient en prenant en compte l'histoire de sa maladie et les traitements pouvant lui être proposés²⁷.

En effet, il serait plus intéressant d'évaluer le niveau global d'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales mais aussi dans les cellules de l'immunité; l'expression isolée sur les cellules tumorales, même très forte, n'ayant pas la même signification biologique qu'une expression sur les cellules tumorales et immunitaires.

Il serait aussi intéressant d'étudier le profil clinique, histologique et moléculaire des tumeurs exprimant le PD-L1 et de rechercher une possible influence de certains facteurs sur cette expression dans les cellules tumorales notamment :

- La proportion des lymphocytes cytotoxiques CD8 dans le microenvironnement tumoral ;
- Le type et sous-type histologiques des CPNPC ;
- La présence d'altérations génomiques associées ;
- Les antécédents médicaux des patients (chimio et radiothérapie ainsi qu'une thérapie ciblée),
- Les habitudes tabagiques des patients.

Plusieurs études basées sur les caractéristiques cliniques, histologiques, et moléculaires des CPNPC PD-L1+ ont été réalisées et les résultats sont divergents.

Quant à la valeur pronostique de l'expression de PD-L1, elle est controversée²⁸. Elle a été associée dans certaines études à un bon pronostic, dans d'autres à un pronostic défavorable, en particulier aux stades avancés²⁹.

II.DONNEES RECENTES DE LA LITTERATURE

1. Définition/généralités

Le cancer broncho-pulmonaire est défini par l'ensemble des proliférations tumorales malignes développées au sein du parenchyme pulmonaire et dominées par les carcinomes.

Les carcinomes sont divisés sur le plan pratique en carcinomes à petites cellules et en carcinomes non à petites cellules qui sont de loin les plus fréquents. Parmi ces derniers, on distingue trois types histologiques représentés essentiellement par:

- L'adénocarcinome (ADK)
- Le carcinome épidermoïde (CE)
- Le carcinome à grandes cellules (CGC)

Ces dernières années ont vu une modification épidémiologique avec une prédominance des adénocarcinomes et une augmentation de l'incidence des cancers broncho-pulmonaires chez la femme et chez les sujets non fumeurs même si le tabac reste le principal facteur de risque des cancers du poumon.

Les trois quarts des patients atteints de CPNPC sont diagnostiqués à un stade localement avancé ou métastatique, non opérable et le diagnostic est donc le plus souvent établi sur des prélèvements biopsiques de petite taille et/ ou prélèvements cytologiques.

La classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) dans sa dernière édition de 2015 a consacré pour la première fois un chapitre au diagnostic des carcinomes broncho-pulmonaires sur les prélèvements biopsiques et cytologiques. Dans ce chapitre il a été établi un algorithme décisionnel avec une nouvelle terminologie.

Le but de cet algorithme est de guider les pathologistes dans leur démarche diagnostique afin d'aboutir à un diagnostic fiable et très précis sachant que la prise en charge de ce type de cancer dépend étroitement du type histologique. D'autre part, cet algorithme permet de préserver au maximum le matériel tumoral pour une éventuelle étude de biologie moléculaire ainsi qu'une recherche d'expression immunohistochimique du PD-L1.

En effet, ces dernières années ont vu une importante révolution dans la prise en charge des cancers pulmonaires, notamment les CPNPC, depuis l'introduction du traitement antiangiogénique à base du Pemetrexed pour les carcinomes non épidermoïdes jusqu'à la découverte des anomalies moléculaires dont certaines sont sensibles à des thérapies ciblées et tout dernièrement l'introduction de l'immunothérapie dont les résultats sont très prometteurs.

Tous ces progrès ont permis d'améliorer le pronostic du cancer du poumon en prolongeant la survie des malades tout en assurant une bonne qualité de vie.

2. Etude épidémiologique

2.1. Incidence

Le cancer du poumon et celui du sein chez la femme, sont les principaux cancers dans le monde en terme de nombre de nouveaux cas selon les derniers chiffres du Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) publiés en septembre 2018 sur la base des données du GLOBOCAN 2018.¹ Ces dernières estiment à environ 2,1 millions le nombre de

diagnostic de chacun de ces cancers en 2018, qui représentent environ 11,6 % du fardeau total de l'incidence du cancer. Le cancer du poumon est selon la même source, responsable du plus grand nombre de décès (1,8 million de décès, ou 18,4 % du total). Il représente la 1^{ère} cause de décès par cancer chez les hommes (22,0 %, soit environ un décès sur cinq), et la 2^{ème} cause de décès par cancer chez les femmes (13,8 %)¹.

Le cancer du poumon constitue aussi la principale cause de décès par cancer chez les femmes dans 28 pays¹.

Chez nous, et selon les données du Réseau National Des Registres Du Cancer de l'année 2017, l'incidence brute chez les hommes est de 13.5/100000 hommes³⁰.

Selon le registre des tumeurs d'Alger de l'année 2017, l'incidence standardisée du cancer pulmonaire est de 27,2 pour les hommes, et 5,3 pour les femmes³¹.

2.2. Age et sexe

Le cancer du poumon est le cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes (14,5 % du total des cancers chez les hommes et 8,4 % chez les femmes)¹. C'est en Amérique du Nord, en Europe du Nord et de l'Ouest (notamment au Danemark et aux Pays-Bas), en Chine, en Australie et en Nouvelle-Zélande que l'on observe les taux d'incidence les plus élevés chez les femmes ; la Hongrie venant en tête de liste¹.

L'incidence augmente proportionnellement avec l'âge aussi bien chez l'homme que chez la femme, alors qu'il reste rare chez le sujet jeune avant 30 ans³².

La moyenne d'âge pour le cancer du poumon chez les hommes est de 59 ans ; les patients âgés de moins de 50 ans représentent 18,3% des cas¹,³.

L'âge médian au moment du diagnostic varie selon les pays et le niveau de vie. Il se situe actuellement à 70 ans aux Etats-Unis et deux tiers des patients ont au moins 65 ans au moment du diagnostic³²-³⁴.

2.3. Facteurs de risque

2.3.1. Le tabac

2.3.1.1. Le tabagisme actif

Il est clairement démontré que le tabac reste la principale cause du cancer bronchique avec une relation dose effet. Le rôle du tabagisme est maintenant connu depuis plus de 60 ans. La quantité de tabac et la durée du tabagisme sont les principaux éléments en relation avec ce cancer et la notion de « paquets-année » tient compte de ces deux paramètres, même si la durée a un impact beaucoup plus important que la quantité fumée par jour³²,³⁴.

La fumée du tabac contient plus de 4000 substances chimiques dont au moins 50 sont cancérigènes et sont responsables de 80% des cancers bronchiques³⁵.

Les fumeurs ont 11 fois plus de risque de développer un cancer du poumon par rapport aux non-fumeurs³⁵. Enfin, l'arrêt du tabac après un cancer du poumon améliore le pronostic de survie à 5 ans et diminue le risque de récurrence et le risque de développer un second cancer³⁶.

2.3.1.2. Le tabagisme passif

Le tabagisme passif a été reconnu comme cancérigène certain pour le poumon en 2004 par le CIRC.

Il est lié à l'inhalation de manière involontaire de la fumée dégagée par un fumeur. Il a été démontré qu'une personne en situation de tabagisme passif voit son risque de développer un cancer du poumon augmenté de 26% par rapport à un non-fumeur³⁷.

On oppose au « courant principal », qui correspond à la fumée du tabac inhalée directement par le fumeur ; le « courant latéral », ou secondaire, qui correspond à la fumée produite par une cigarette se consumant seule, en l'absence d'aspiration du fumeur. Le courant « tertiaire » correspond à la fumée exhalée par le fumeur.

Le tabagisme passif résulte pour environ 85 % de l'inhalation de la fumée provenant du courant latéral et pour 15 % du courant tertiaire³⁷.

Le courant latéral est beaucoup plus riche en produits nocifs de combustion incomplète ainsi qu'en substances cancérigènes : goudrons, benzo (a) pyrène (deux fois plus concentrées dans le courant latéral que dans le courant principal), nitrosamines (taux jusqu'à 4 fois plus élevé pour certaines d'entre elles)³⁵.

La reconnaissance du rôle cancérigène du courant secondaire ou tertiaire de la fumée de cigarette a été un facteur prédominant et majeur pour interdire la cigarette dans les lieux publics et sur les lieux de travail, et a contribué de ce fait à la réduction du tabagisme actif et passif.

2.3.2. Le cannabis

Les études portant sur la consommation de cannabis sont contradictoires et la toxicité respiratoire de la fumée de cannabis est moins bien démontrée. La consommation est souvent couplée à un tabagisme³².

À quantité égale, les compositions gazeuse et particulaire de la fumée de marijuana pure et de tabac pur sont relativement comparables, hormis la présence de cannabinoïdes pour l'un et de nicotine pour l'autre.

D'autre part, la technique d'inhalation d'un joint de cannabis diffère de celle d'une cigarette de tabac, avec globalement des particules de plus gros diamètre, un volume inspiré augmenté de plus de 2/3, une profondeur d'inhalation de plus de 1/3, une rétention de fumée multipliée par 3 à 4, notamment pour le CO et les goudrons³⁸. Finalement, la quantité inhalée et retenue est multipliée par un facteur 3 à 4. On peut donc estimer grossièrement qu'un joint de marijuana pur fumé équivaut à 3 voire 4 cigarettes de tabac³⁸.

2.3.3. L'exposition professionnelle

Les facteurs professionnels interviennent dans près de 30 % des cas et doivent être systématiquement recherchés³⁹.

L'amiante est la principale étiologie. C'est un cancérigène bronchique bien connu. On estime que 20 à 40 % des travailleurs dans le monde ont été exposés durant leur vie professionnelle à des fibres d'amiante et que 100 000 personnes meurent chaque année de cancers liés à l'amiante³².

La survenue de cancers bronchiques est caractérisée par une longue période de latence de l'ordre de 20 ans. Le risque de cancer bronchique est corrélé à l'intensité de l'exposition.

D'autres causes sont connues : silice, uranium, nickel, chrome, radiations ionisantes, etc⁴⁰. Les causes professionnelles doivent être systématiquement recherchées, par un interrogatoire soigneux.

2.3.4. Facteurs liés à l'environnement

Plusieurs études semblent montrer un risque accru de cancer bronchique en cas d'exposition aux vapeurs diesel. Deux revues ont repris des études robustes avec un suivi de plus de 20 ans. Les résultats sont discordants, peu concluants et justifient de nouvelles études avec des suivis suffisants⁴¹.

La peinture est classée par le CIRC comme carcinogène humain pour le cancer bronchique et le cancer de la vessie⁴⁰.

Le radon est un gaz radioactif incolore et inodore, naturellement présent dans l'environnement. Il est libéré dans l'air lors de la désintégration naturelle de l'uranium dans le sol et la pierre et pénètre dans l'organisme principalement avec l'air inhalé. Le risque de cancer bronchique augmente de façon linéaire avec l'exposition au radon, indépendamment du tabagisme³³.

2.3.5. Les habitudes alimentaires

Différentes études épidémiologiques ont montré une association entre régime alimentaire riche en fruits et légumes verts, aliments riches en bêta-carotène (précurseur de la vitamine A) et diminution du risque de cancer. Les flavonoïdes qui sont des antioxydants, auraient un effet protecteur³².

2.3.6. Rôle du terrain hormonal

L'expression en IHC des récepteurs aux œstrogènes a été mise en évidence sur des cellules tumorales bronchiques notamment chez les femmes⁴². Les œstrogènes pourraient jouer le rôle de promoteurs tumoraux au travers d'un mécanisme médié par les récepteurs. Ils peuvent également altérer l'activation métabolique des carcinogènes du tabac³².

Une étude beaucoup plus récente a démontré que le traitement hormonal substitutif de la ménopause serait responsable d'une augmentation significative de l'incidence des cancers bronchiques chez la femme lorsque la durée de la prise d'œstrogènes et de progestatifs excède dix ans⁴³.

2.3.7. Pathologies respiratoires

Plusieurs affections respiratoires ont été associées à une augmentation du risque de cancer broncho-pulmonaire :

2.3.7.1. Fibrose et affections infiltrantes diffuses

L'incidence du cancer bronchique parmi les sujets atteints d'une fibrose interstitielle diffuse est multipliée par 8,25⁴⁴. D'autres résultats confirment une association entre la fibrose alvéolaire idiopathique et le cancer du poumon, sans que cette relation ne soit causale. Le taux élevé de tabagisme et les preuves que les fumeurs se présentent plus tôt que les non-fumeurs pour des soins médicaux suggèrent que le tabagisme pourrait confondre cette association⁴⁵.

2.3.7.2. Autres affections respiratoires bénignes

L'existence d'une bronchite chronique obstructive est un facteur de risque du cancer bronchique. Le risque relatif, tenant compte de la consommation tabagique cumulée et de l'âge, varie de 2,5 à près de 5, dépendant du degré d'obstruction bronchique⁴⁰.

Un antécédent de tuberculose est associé au cancer bronchique après prise en compte des habitudes tabagiques. Le risque croît avec l'ancienneté de la tuberculose⁴⁰.

2.3.8. Susceptibilité génétique

Tous les fumeurs ne développeront pas de cancer bronchique au cours de leur existence, faisant poser la question d'une susceptibilité individuelle aux agents carcinogènes génétiquement transmise. Les données les plus avancées concernent l'impact des variations interindividuelles dans la capacité de métaboliser les carcinogènes de la fumée de cigarette³².

3. Carcinogénèse du cancer pulmonaire

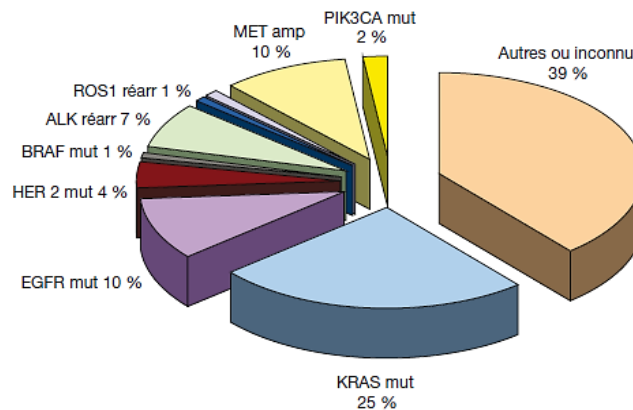
L'apparition d'un cancer résulte d'une accumulation séquentielle d'altérations génétiques et épigénétiques qui pour la plupart, sont dues aux agents carcinogènes du tabac. La présence de certaines d'entre elles (pertes d'allèle et méthylation) s'observe déjà au sein de l'épithélium bronchique normal, hyperplasique ou en métaplasie malpighienne des fumeurs ainsi qu'au niveau de l'épithélium alvéolaire, avant même l'apparition d'authentiques lésions dysplasiques⁴⁶. Ceci suggère donc que leur apparition précède celle des lésions histologiques. Ces anomalies affectent plus particulièrement des gènes impliqués dans la régulation du cycle cellulaire tels que les oncogènes qui favorisent la croissance cellulaire, les gènes suppresseurs de tumeur qui inhibent cette croissance et les gènes régulant la mort cellulaire programmée ou apoptose. Ainsi environ 50 gènes suppresseurs de tumeurs et plus de 100 oncogènes ont été identifiés.⁴⁷

Ces anomalies cumulatives sont également distribuées à l'ensemble de l'arbre bronchique : notion de « champ de cancérisation ».

Cependant, environ 10 % des cancers du poumon chez les hommes et 20 % chez les femmes surviennent chez des non-fumeurs. Ils correspondent surtout à des ADK et s'observent plus volontiers chez les femmes, notamment en Asie^{48,49}.

Ces tumeurs présentent une carcinogenèse à part, souvent marquée par l'association d'une mutation, une translocation ou une amplification activatrice d'un oncogène (**Figure 1**).

Ces oncogènes activent des voies de signalisation stimulant la croissance cellulaire et la résistance à l'apoptose des cellules tumorales uniquement, si bien que lorsqu'une protéine oncogénique est ciblée par une substance inhibitrice, seules les cellules malignes meurent, épargnant les cellules normales^{48,50,51}.



*Figure 1: Mutations, amplifications et réarrangement dans les adénocarcinomes
D'après Lantuejoul et al⁵²*

3.1. Famille ERBB

Le groupe des récepteurs de type tyrosine kinase (TK) intègre plus de 50 récepteurs de surface cellulaire dont les prototypes sont les membres de la famille ERBB : Récepteur de l'Epidermal Growth Factor (ERBB1, HER1), ERBB2 (HER2, Neu), ERBB3 (HER3) et ERBB4 (HER4). Ces récepteurs comportent un domaine extracellulaire se liant aux ligands, un domaine transmembranaire et un domaine intracytoplasmique à activité TK, ainsi qu'un segment C-terminal de régulation. Les ligands qui activent ces récepteurs sont principalement l'Epidermal Growth Factor (EGF), le transforming growth factor α (TGF α) et l'amphiréguline^{50,53}.

- **EGFR**

L'EGFR est un récepteur transmembranaire à activité TK dont l'activation dépend, en situation normale, de la fixation de son ligand. Cette activation déclenche différentes voies de signalisation qui contrôlent l'apoptose, la prolifération et la migration^{52,54}. La majorité des mutations de l'EGFR entraînent une activation constitutionnelle du récepteur, indépendante de la présence du ligand.

Ces mutations dites « oncogéniques » sont retrouvées dans les exons 18 à 21 qui codent pour le domaine TK du récepteur (**Figure 2**). Deux types de mutation représentent 85 à 90% des mutations décrites : délétion dans l'exon 19 et substitution L858R dans l'exon 21^{54,55}.

II DONNEES RECENTES DE LA LITTERATURE

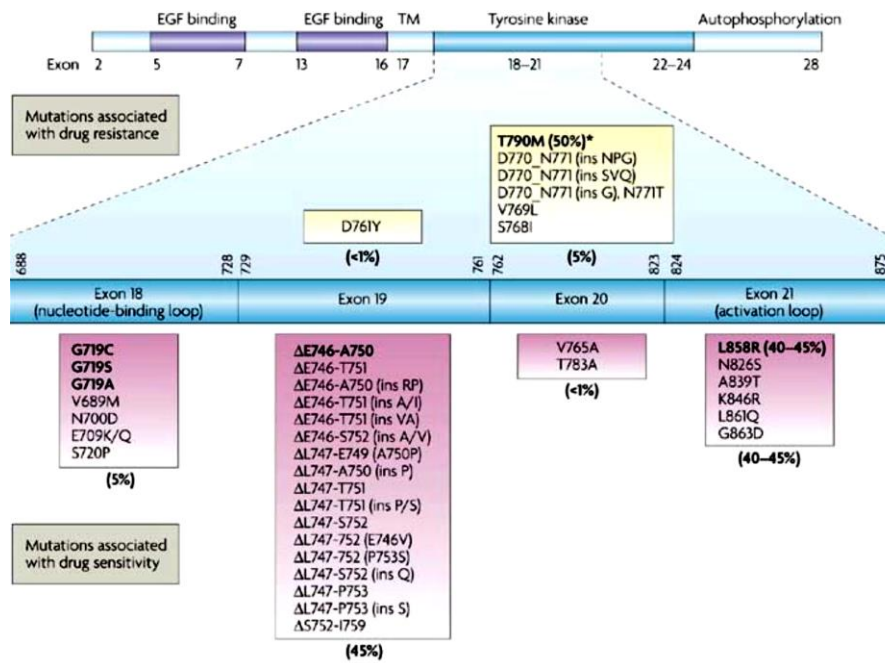


Figure 2: Gène EGFR: bras court du chromosome 7
Mutations: Domaine tyrosine kinase exons 18 à 21
D'après Sharma et al⁵⁴

Elles confèrent aux cellules des propriétés tumorales : prolifération, invasion, néo-angiogenèse et échappement à l'apoptose (Figure 3). Ces mutations ont été mises en évidence en 2004. Elles concernent environ 10% des ADK pulmonaires. Elles sont plus volontiers présentes chez les patients porteurs d'un ADK, les non-fumeurs, les femmes et dans les populations asiatiques⁵⁶.

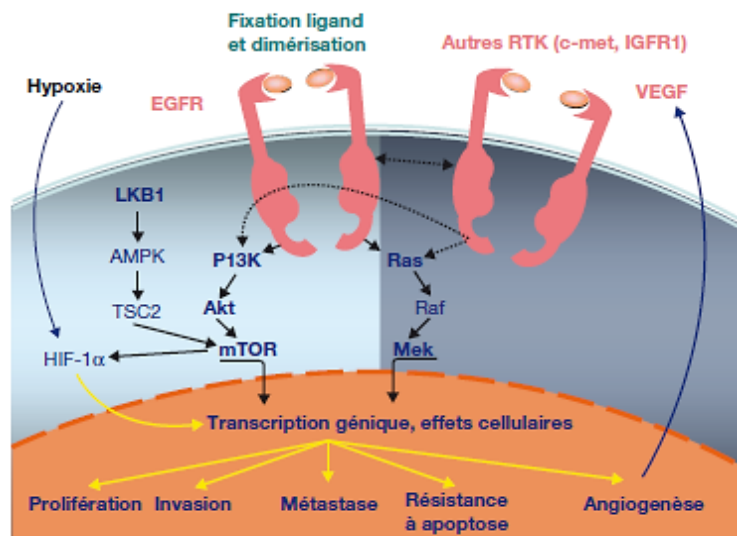


Figure 3 : Principales voies de signalisation activées par les mutations d'EGFR
D'après Lantuejoul et al⁵²

Cependant, en raison du manque de sensibilité de ces critères cliniques l'INCa (Institut National du Cancer) recommande la recherche de ces mutations chez tout patient présentant un CPNPC non épidermoïde.

Le développement des inhibiteurs de tyrosine kinases (ITK) de l'EGFR a initialement été marqué par deux molécules : le Gefitinib et l'Erlotinib. Ces molécules, administrées par voie orale, agissent en bloquant spécifiquement, mais de façon réversible, l'activité TK de l'EGFR. Sous la pression thérapeutique des ITK de l'EGFR, il apparaît des phénomènes de résistance au cours desquels la mutation activatrice initiale de l'EGFR reste présente^{57,58}.

Les mutations des autres membres de la famille ERBB–HER2 et HER4 sont plus rares. Les mutations de HER2 (mutation de l'exon 20) surviennent, comme pour EGFR, de préférence chez les femmes asiatiques non fumeuses et confèrent une sensibilité au Trastuzumab et aux pan-inhibiteurs EGFR/Her2⁵².

3.2. KRAS et BRAF

KRAS, membre de la famille des petites protéines G, se situe en aval de l'EGFR. Les mutations de KRAS ont été mises en évidence pour la première fois en 1982⁵⁹. Les mutations de cet oncogène KRAS dans le CPNPC ont été initialement décrites quasi exclusivement dans les ADK (25% de ces tumeurs), chez des patients fortement exposés au tabac. Les mutations KRAS sont associées à une résistance primaire aux ITK de l'EGFR⁶⁰. Celle-ci est due à l'activation de la voie de signalisation en aval de la cible de ces ITK. Actuellement aucun traitement ciblant les mutations KRAS n'a obtenu une autorisation de mise sur le marché (AMM)⁵⁹.

Les mutations de BRAF concernent 1 à 4% des CPNPC. Elles se situent sur les exons 11 et 15 du domaine kinase. Elles sont associées à une augmentation de l'activité kinase⁶¹. Différentes mutations ont été décrites : mutation V600E (30.8%), G469A (23.1%) et K601E (15.4%)⁶¹. Dans l'étude de Kinno et al, toutes les tumeurs présentant la mutation BRAF V600E ne présentaient aucune autre mutation (EGFR, KRAS, ALK) alors que certaines mutations BRAF non V600E étaient associées à une mutation de l'EGFR^{48,61}. Dans l'étude de Marchetti et al, la mutation BRAF V600E était plus fréquemment retrouvée chez des femmes et dans le sous-type histologique agressif micropapillaire. Cette mutation était associée avec un pronostic péjoratif. Dans d'autres études, les mutations BRAF étaient préférentiellement retrouvées dans les ADK et chez les fumeurs. Ces mutations confèrent une sensibilité aux inhibiteurs de MEK^{48,61–63}.

3.3.ALK

L'existence d'un réarrangement d'ALK (Anaplastic lymphoma kinase) avec EML4 (Echinoderm microtubule associated protein like 4), dû à l'inversion du chromosome 2, a été décrite pour la première fois en 2007⁶⁴.

Cette altération résulte d'une inversion au niveau du bras court du chromosome 2 et d'une fusion de la région codant pour la TK ALK avec différentes portions N-terminales plus ou moins tronquées du gène EML4^{64,65} (**Figure 4**).

II DONNEES RECENTES DE LA LITTERATURE

Ce réarrangement est retrouvé chez environ 5 à 7% des ADK bronchiques. Dans la grande majorité des cas, ces anomalies sont exclusives : la translocation EML4-ALK est exceptionnellement associée à une mutation KRAS ou à une mutation EGFR. Ce réarrangement est retrouvé préférentiellement chez les patients jeunes (environ 50 ans), chez les ADK, dans les populations asiatiques et chez les non fumeurs ou anciens fumeurs^{64,66}.

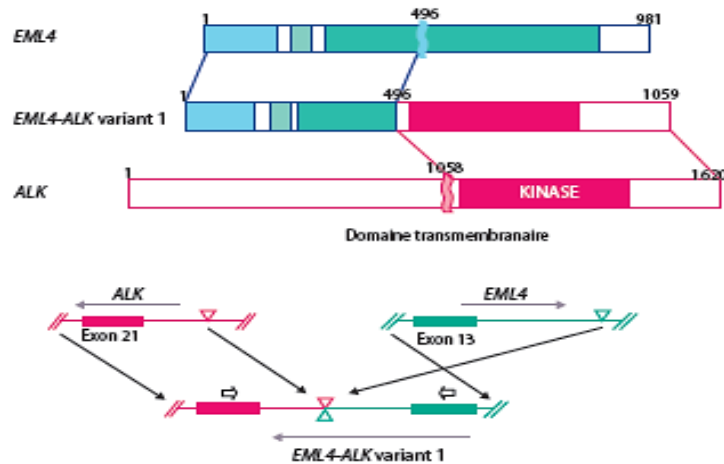


Figure 4 : Schéma de la translocation EML4-ALK, illustrant l'inversion de la partie aminotermine d'EML4 et sa fusion avec la partie du gène ALK codant pour le domaine tyrosine kinase.

D'après Lantuejoul et al⁶⁵

Actuellement, la recherche d'un réarrangement du gène ALK se fait par technique d'immunohistochimie (IHC)⁶⁷.

Cette anomalie est ciblée par le Crizotinib, inhibiteur compétitif et sélectif de l'ATP du domaine TK d'ALK avec des réponses spectaculaires. Comme pour les ITK de l'EGFR l'efficacité du Crizotinib est invariablement limitée par le développement de résistance⁶⁸.

3.4.ROS1 et RET

ROS1 (c-Ros oncogene 1) est un récepteur à activité TK de la famille des récepteurs à l'insuline. La fusion de ROS1 avec un partenaire de translocation entraîne l'activation constitutive de l'activité kinase (**Figure 5**). Ce réarrangement est retrouvé chez environ 1 à 2% des CPNPC^{69,70}.

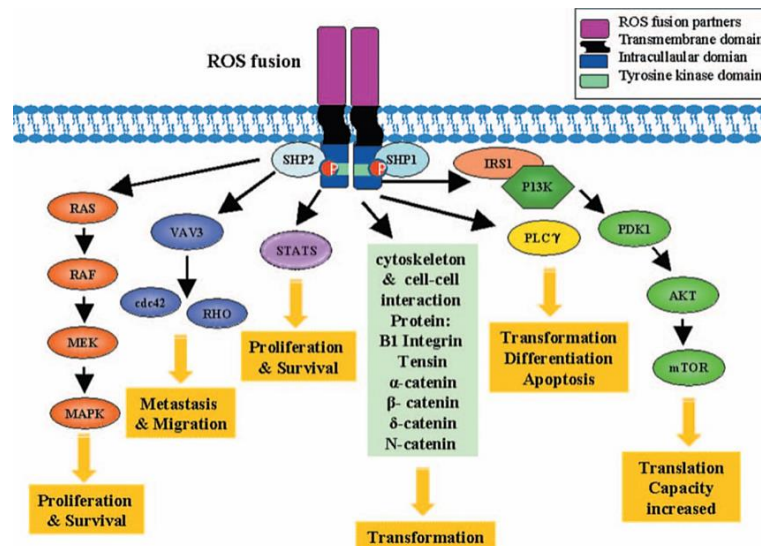


Figure 5 : Voie de signalisation de ROS1 réarrangé
D'après Chin et al⁶⁹

La mise en évidence des réarrangements ROS1 dans les cellules tumorales peut être effectuée par IHC grâce à un anticorps monoclonal, le D4D6 (Cell Signaling Technology)⁷¹.

Un autre type de réarrangement, touchant le gène RET (ret proto-oncogène, situé en 10q11.2) et codant lui aussi pour un récepteur TK a également été identifié. Ce réarrangement est présent dans 0,9 % des CPNPC et 1,2 % des ADK⁷².

Les tumeurs pulmonaires ROS1 ou RET réarrangées surviennent chez des patients jeunes, non ou petits fumeurs, porteurs d'un ADK, avec un profil tout à fait similaire à ceux des patients présentant une mutation du gène EGFR ou un réarrangement du gène ALK, et ces mutations/réarrangements sont mutuellement exclusives⁷². Le Crizotinib permet d'obtenir des réponses partielles sur les tumeurs ROS1 transloquées. Ceci s'explique probablement par la proximité phylogénétique de ROS1 et ALK. Des résistances au Crizotinib apparaissent aussi sous traitement⁵².

3.5. c-Met

La phosphorylation de c-Met est associée, pour certains auteurs à la survenue de métastases cérébrales⁷³. Elle est aussi associée à une progression rapide des CPNPC sous ITK anti-EGFR et à une résistance de novo à ces traitements. Cette résistance, en lien avec une amplification de Met, représenterait 20 % des résistances acquises aux ITK anti-EGFR⁷⁴.

3.6. PI3K

Les PI3K sont des lipide-kinases hétérodimériques composées de sous-unités catalytiques et régulatrices. L'amplification PIK3CA a été détectée dans 37% des CE et 5% des ADK, tandis que des mutations PIK3CA ont été retrouvées dans 9% des CE et 0% des ADK⁷⁵.

Les mutations ou amplifications du PI3K ne semblent pas exclusives avec celles d'EGFR et de KRAS, puisqu'on observe une association avec les mutations de l'EGFR dans 12 % des CPNPC et avec celles de KRAS dans 40 %⁵².

4. Clinique et paraclinique

4.1. Clinique

Plus de $\frac{3}{4}$ des cancers pulmonaires sont diagnostiqués à un stade localement avancé ou métastatique (non opérables)^{4,32,33,40,76}.

Les symptômes révélateurs du cancer pulmonaire ne sont pas spécifiques et ils n'apparaissent que lorsque des organes centraux (bronches ou vaisseaux) ou périphériques (paroi) sont touchés, ou en cas de métastase(s).

Tout symptôme fonctionnel respiratoire, quelle que soit sa gravité, quelle que soit sa nature, doit attirer l'attention chez un sujet tabagique de plus de 40 ans. Ces symptômes sont présents dans 60% des cas.

4.1.1. Symptômes respiratoires

-La toux : souvent révélatrice. Classiquement sèche et quinteuse, rebelle au traitement, de survenue récente (<2 mois) ou de modification récente, souvent négligée chez un fumeur dont la toux est habituelle.

-Expectoration hémoptoïque.

-Bronchorrhée.

-La dyspnée est rarement révélatrice. En cas d'obstruction d'un gros tronc, elle peut s'associer à un « wheezing », sifflement localisé.

-Tableau d'infection respiratoire basse (pneumonie ou bronchite).

- Douleurs thoraciques de siège variable ; elles sont fixes, tenaces et peuvent être au 1^{er} plan dans certaines localisations (apex). Elles peuvent témoigner d'un envahissement pariétal, ou d'une pleurésie satellite de la tumeur.

4.1.2. Symptômes en rapport avec l'extension locorégionale du cancer

-Les pleurésies (uni ou bilatérales) : elles sont secondaires à l'envahissement de la plèvre viscérale.

- La dysphonie : témoigne généralement d'une paralysie récurrentielle gauche liée à une compression par une adénopathie du nerf récurrent gauche qui passe sous la crosse de l'aorte dans la fenêtre aorto-pulmonaire.

- Syndrome cave supérieur survenant en cas d'envahissement ou de destruction des structures lymphatiques du médiastin supérieur par le processus néoplasique.

4.1.3. Syndrome paranéoplasique

Plusieurs syndromes paranéoplasiques sont associés aux cancers du poumon : sécrétion inappropriée de l'hormone antidiurétique, hypercalcémie, gynécomastie et syndrome de Cushing, ainsi que plusieurs syndromes neurologiques, notamment le syndrome de Lambert-Eaton, une dégénérescence cérébelleuse, des neuropathies périphériques et la démence.

4.1.4. Examen clinique

L'examen clinique a pour objectifs de faire un bilan de l'état général à l'aide de différents moyens tels que l'indice de Karnofsky ou le Performance Status (PS). Il permet aussi d'identifier les antécédents médicaux, ainsi que les facteurs de risque notamment le tabac.

4.2. Paraclinique

4.2.1. La radiographie (face + profil)

Est l'examen initial d'imagerie, devant tout signe d'appel chez un fumeur de 40 ans et plus, qui permet d'envisager l'hypothèse d'un cancer broncho-pulmonaire. Les images à projection hilare ou juxta-hilaire sont les plus caractéristiques :

-Les opacités dont la limite externe, irrégulière est la seule visible.

-Les opacités systématisées rétractiles (atélectasies) : traduisent un trouble de ventilation sur sténose/obstruction bronchique proximale.

4.2.2. La tomодensitométrie (TDM) thoracique avec injection

Est un outil de base pour la stadification T et N des cancers bronchiques et doit idéalement être réalisée avant l'endoscopie bronchique (elle en augmente le rendement en permettant une orientation topographique des prélèvements). Elle donne des précisions sur la lésion primitive, sa topographie, sa localisation hilare, centrale ou périphérique, son caractère systématisé, rétractile ou non rétractile, ses rapports avec les structures avoisinantes de la paroi thoracique, de la plèvre ou du médiastin.

4.2.3. Bronchoscopie

Il s'agit d'un examen capital, puisqu'il permet de visualiser les lésions et de faire les prélèvements afin de préciser le type histologique de la tumeur. Cet examen est simple et reproductible.

La bronchoscopie est systématique en cas de cancer localisé ou localement avancé, même si elle ne permet pas d'obtenir le diagnostic, elle est utile pour évaluer l'extension endobronchique et de s'assurer de l'absence d'un cancer synchrone radio occulte.

Par contre, en cas de cancer métastatique, la bronchoscopie n'est pas systématique. Si le diagnostic est obtenu facilement avec un matériel de bonne qualité par ponction pleurale ou biopsie d'une métastase cutanée par exemple, il n'est pas nécessaire d'imposer la bronchoscopie si cela ne change pas la prise en charge. Néanmoins, la bronchoscopie reste la modalité diagnostique la plus utilisée.

4.2.3.1. Les aspects endoscopiques

- Aspect végétant.
- Aspect infiltrant (sténose en virole ou en entonnoir).
- Gros bourgeon endoluminal dont la surface est fréquemment nécrotique et hémorragique.
- Aspect de compression extrinsèque.

L'endoscopie bronchique peut être sans anomalies dans les tumeurs périphériques. De nombreuses études ont montré la sensibilité des biopsies endobronchiques pour le diagnostic (43 à 93% selon les études) et l'association de biopsies à un brossage et aspiration bronchique augmente la rentabilité diagnostique de la bronchoscopie⁷⁷.

4.2.3.2. Les méthodes de prélèvement

- **La cytologie bronchique :** Les prélèvements cytologiques sont de réalisation simple, peu coûteux et leurs résultats sont obtenus rapidement. Les méthodes d'immunocytochimie, de biologie moléculaire, de cytogénétique ou de microscopie électronique sont réalisables sur ce type de prélèvement. La principale limite de l'examen cytologique est, dans certains cas, la faible quantité des cellules, pouvant empêcher la réalisation de tous les examens. Le traitement des échantillons doit être rapide (dans l'heure qui suit le prélèvement pour les échantillons non fixés). L'examen cytologique intéresse les prélèvements effectués par :
 - **Aspiration:** Pour l'aspiration le pneumologue va introduire 5 à 10 cc d'une solution saline au cours d'une endoscopie. Le canal de l'endoscope est relié à un système d'aspiration sur lequel est monté un flacon piège qui permet le recueil des aspirations dirigées.
 - **Brossage :** Pour le brossage, il faut introduire une brosse dans le canal de l'endoscope. Les brossages étant réalisés directement sur la muqueuse, sous contrôle de la vue. L'association systématique des prélèvements cytologiques aux biopsies effectuées au cours d'une seule fibroscopie bronchique a été largement publiée. Toutes les études ont démontré une augmentation significative de la sensibilité diagnostique du fait de cette association⁷⁸.
 - **La biopsie bronchique :** Compte tenu de l'évolution thérapeutique de ces dernières années en cancérologie thoracique, notamment dans les CPNPC, il est nécessaire de réaliser plusieurs prélèvements biopsiques. Les analyses en biologie moléculaire et IHC requièrent en effet une quantité suffisante de tissu analysable. Il est admis que 5 biopsies minimum sont nécessaires avant la réalisation de brossage / aspiration / ponction à l'aiguille⁷⁷.

Il est nécessaire aussi d'effectuer les biopsies à la base d'implantation du bourgeon tumoral et d'éviter les zones de nécrose. La carène est biopsiée systématiquement. Il est recommandé de séparer les fragments dans des flacons différents selon les sites prélevés⁷⁷.

4.2.4. Ponction cytologique transbronchique échoguidée (EBUS)

Les ponctions transbronchiques sont effectuées soit dans un but diagnostique de tumeurs périphériques ou de ganglions médiastinaux, soit dans la stadification d'un carcinome bronchique suspect de métastases ganglionnaires intrathoraciques. Elles sont réalisées soit sous fibroscopie standard, à l'aveugle, soit sous contrôle échographique à l'aide d'un échoendoscope. Les prélèvements, de nature cytologique, sont effectués par des aiguilles 21 ou 22G, en aspiration⁷⁸.

L'EBUS est une technique de prélèvement peu invasive qui prend la place dorénavant de la médiastinoscopie en première intention. Dans un nombre élevé de cas, ce prélèvement sera seul réalisé lors du diagnostic initial. Cette ponction sera transbronchique ou trans-œsophagienne en fonction de la localisation de l'aire ganglionnaire à prélever. Le résultat anatomopathologique va conditionner la prise en charge thérapeutique et notamment aider à poser l'indication chirurgicale dans les CPNPC.

Dans l'établissement du stade du cancer pulmonaire, l'EBUS est la technique de prélèvement recommandée en première intention. L'European Expert Group recommande au moins 4 ponctions transbronchiques à l'aiguille⁷⁹.

4.2.5. Biopsies transpariétales

Cette technique est indiquée dans l'exploration diagnostique d'un nodule parenchymateux supérieur à 10 mm, de siège périphérique. La technique à utiliser est la technique coaxiale (une seule traversée de la plèvre), il est nécessaire de réaliser 2 à 3 prélèvements avec une aiguille de calibre 18-20 G. Cet examen présente une sensibilité de 90 % et une spécificité de 97 %⁸⁰.

4.2.6. La tomographie par émission de positons couplée à la tomодensitométrie (TEP-TDM) :

Est un examen primordial dans le CPNPC, elle intervient à tous les stades de la prise en charge: diagnostic initial, bilan d'extension ganglionnaire locorégional et bilan d'extension à distance. Cet examen a une plus grande spécificité et sensibilité que le scanner pour dépister les extensions ganglionnaires, même s'il existe des faux positifs et négatifs⁸¹. Elle doit être réalisée chez les patients potentiellement opérables et pour les patients relevant d'une radiothérapie curative. C'est pour la détection des localisations surrenaliennes que la TEP est la plus performante. En effet, les anomalies surrenaliennes suspectées en TDM peuvent être caractérisées grâce à la TEP-TDM⁸². Cet examen permet aussi de détecter la récurrence après chirurgie, chimiothérapie ou radiothérapie de manière plus précoce et plus fiable que la TDM.

4.2.7. La scintigraphie osseuse :

Est un examen systématiquement réalisé dans le cadre du bilan d'extension des cancers broncho-pulmonaires car 20 à 40 % des patients présentent des métastases osseuses au moment du diagnostic ou au cours de l'évolution⁸³. La scintigraphie détecte les métastases osseuses plus précocement que les radiographies conventionnelles (2-18 mois avant). Classiquement, on considère que sa sensibilité est bonne surtout pour les métastases

ostéocondensantes, mais que sa spécificité est médiocre pour le diagnostic des métastases osseuses ostéolytiques⁸³.

4.2.8. L'imagerie par résonance magnétique (IRM) cérébrale :

Il est recommandé d'effectuer une IRM cérébrale dans le bilan pré-thérapeutique des cancers pulmonaires car ces derniers sont à l'origine de 40–50 % de toutes les métastases cérébrales. La sensibilité de l'IRM est supérieure à celle du scanner cérébral notamment pour les lésions de moins de 5mm⁸⁴.

5. Etude anatomopathologique

5.1. Classification de l'OMS 2015 (Annexe 5)

5.1.1. Historique et évolution des classifications OMS

La classification de l'OMS est une classification pathologique et génétique destinée à être acceptée et utilisée à travers le monde. Cette classification procure les critères standards pour le diagnostic pathologique, la pratique clinique, les registres des cancers, les études épidémiologiques, les essais cliniques et la recherche sur le cancer.

Les anciennes classifications de l'OMS des cancers pulmonaires à savoir celles des années 1967, 1981 et 1999 ont été mises au point par des pathologistes pour les pathologistes. La classification de l'OMS de 1967 se basait sur la coloration standard de l'HE (Hématéine Eosine), celle de 1981 sur l'HE et la coloration des mucines, et celle de 1999 sur l'HE, les colorations spéciales, la microscopie électronique (ME) et l'IHC. A cette époque la seule possibilité thérapeutique pour les cancers pulmonaires était représentée par la chimiothérapie associée ou non à la radiothérapie et le pathologiste pouvait donc presque se contenter de séparer les tumeurs en carcinome à petites cellules et non à petites cellules.

L'édition de 2004 est la première classification à avoir tenu compte des données cliniques et génétiques. Cependant, elle a été établie sur pièce opératoire et ne pouvait donc être appliquée sur un matériel biopsique ou cytologique de plus en plus petit et précieux. De plus la notion de classification histomoléculaire des cancers pulmonaires est apparue dans l'édition de 2004, qui a coïncidé avec la première publication des mutations de l'EGFR dans les ADK, conférant à ces tumeurs mutées une sensibilité aux inhibiteurs de la tyrosine kinase. Depuis, de nouveaux médicaments ont fait leur apparition, certains recommandés dans les ADK comme le prémetrexed, mais, contre-indiqué dans les carcinomes malpighiens du fait du risque hémorragique. Ceci implique donc pour les pathologistes l'obligation de bien distinguer adénocarcinome et carcinome malpighien notamment sur prélèvements biopsiques ou cytologiques, qui représentent 80 % des prélèvements. Tout cela a conduit à la nécessité d'établir une nouvelle classification histomoléculaire des cancers pulmonaires en 2015⁸⁵.

Cette classification a pris le parti d'intégrer de nouvelles recommandations sur la gestion des petits prélèvements et sur les terminologies à adopter sur biopsies et prélèvements cytologiques. Elle recommande aussi de limiter autant que possible le diagnostic de carcinome à grandes cellules, peu informatif pour les cliniciens et vis-à-vis des indications de testing moléculaire. Elle a pour objectif d'aider les pathologistes à mieux sous-typé les tumeurs et recommande l'utilisation sur biopsies et sur pièces opératoires d'un panel limité

d'anticorps. Cette nouvelle classification s'est beaucoup inspirée concernant les ADK et les terminologies sur petits prélèvements, du travail multidisciplinaire, effectué sous l'égide de l'International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC), l'American Thoracic Society (ATS) et l'European Respiratory Society (ERS) en 2011.

5.1.2. Travail multidisciplinaire de l'IASLC/ATS/ERS

L'approche pluridisciplinaire de l'IASLC /ATS/ERS impliquant des cliniciens, des radiologues et des pathologistes a établi des recommandations diagnostiques sur petits prélèvements et a servi de base à la rédaction d'un nouveau chapitre dans l'OMS 2015 consacré à la classification sur biopsies et cytologie⁸⁶. Elle a également proposé un remembrement des adénocarcinomes qui s'appuyait sur plusieurs constats :

- Signature moléculaire des ADK : Depuis 2004, les principales anomalies moléculaires ont été décrites dans les ADK et certaines d'entre elles sont corrélées à des aspects morphologiques particuliers et à des pronostics variables. Or, la majorité des ADK diagnostiqués sur pièce opératoire ces dernières années étaient classés dans la catégorie des ADK mixtes, ce qui ne permettait pas de dégager des sous-groupes pronostiques.
- Carcinome bronchiolo-alvéolaire : L'approche pluridisciplinaire a permis de souligner les difficultés suscitées par le terme de carcinome bronchiolo-alvéolaire qui n'avait pas le même sens pour les cliniciens, les radiologues et les pathologistes. En outre, ce terme rassemblait dans un même groupe deux entités tumorales (mucineux et non mucineux) de pronostic très différent avec une forme mucineuse beaucoup plus péjorative. Ce terme était donc destiné à disparaître de la classification.
- Carcinomes lépidiques : En ce qui concerne les lésions d'architecture lépidique, certaines publications ont fait état d'un profil évolutif très favorable pour les carcinomes d'architecture lépidique à contingent infiltrant minime. Le pronostic était similaire à celui des lésions strictement in situ. Il restait à créer cette nouvelle entité et à la regrouper avec le carcinome in situ.

5.1.3. Apport de la classification OMS 2015

La classification de l'OMS 2015 est une classification destinée aux pathologistes et aussi aux cliniciens et radiologues. Elle a été conçue pour répondre aux nouvelles exigences dans la prise en charge du cancer broncho-pulmonaire. Elle comporte de nombreux changements en comparaison à celle de 2004, les plus importants sont:

- L'intégration des données des analyses génétiques et moléculaires.
- L'utilisation de l'IHC préconisée sur petits prélèvements cytologiques et biopsiques assortie de nouvelles terminologies et recommandations à utiliser, avec établissement d'un algorithme décisionnel. Les anticorps validés par cette classification sont le TTF1 et Napsine A pour les ADK et p40, p63 et CK5/6 pour les CE (utiliser un seul marqueur pour chaque type histologique).

- Le démembrement de la catégorie des carcinomes à grandes cellules grâce à l'utilisation de l'IHC sur pièces opératoires.
- En ce qui concerne les ADK, il est recommandé d'appliquer la nouvelle classification des adénocarcinomes proposée en 2011 par l'IASLC/ATS/ERS :
 - ✓ Le terme de carcinome bronchiolo-alvéolaire est abandonné au profit de celui d'ADK lépidique avec une définition précise de l'ADK in-situ.
 - ✓ Est définie une nouvelle entité, l'ADK avec invasion minime.
 - ✓ Les ADK invasifs sont classés en fonction du contingent architectural prédominant, les différents contingents architecturaux étant renseignés par incrément de 5 %.
 - ✓ Le terme d'«ADK invasif mucineux » remplace celui de « carcinome mucineux bronchiolo-alvéolaire » car il s'agit de tumeurs très souvent invasives, sauf s'il existe des éléments formels pour un ADK in situ mucineux ou avec invasion minime.
- Les sous-types à cellules claires ou rhabdoïdes sont supprimés ainsi que celui de cystadénocarcinome mucineux, inclus dans la catégorie des ADK colloïdes.
- Les carcinomes basaloïdes sont intégrés dans la catégorie des carcinomes malpighiens comme variante de mauvais pronostic.
- Regroupement des tumeurs neuroendocrines dans une seule famille comportant les carcinomes neuroendocrines à grandes cellules et les carcinomes à petites cellules comme tumeurs de haut grade de malignité et les tumeurs carcinoïdes.

5.2. Etude macroscopique

5.2.1. Prise en charge des prélèvements biopsiques « Gestion du matériel biopsique »

Idéalement, les prélèvements présumés tumoraux feront l'objet d'un protocole technique particulier. En effet, ces prélèvements seront de préférence inclus séparément dans plusieurs cassettes. Le bloc contenant le prélèvement est ensuite entamé prudemment avec réalisation de niveaux de coupes dont une partie est colorée pour la morphologie et les autres seront gardés non colorés, en réserve pour éventuelle étude IHC, histochimique voire de biologie moléculaire. Ce type de protocole permet de prévenir l'utilisation répétée du bloc pour les différentes techniques (recoupes), à l'origine d'une perte du matériel.

Les niveaux de coupes étalés ou les copeaux non étalés sont conservés et leur stockage doit se faire au froid (réfrigérateur ou chambre froide) et au mieux à l'abri de la lumière pour ne pas compromettre leur utilisation ultérieure⁸⁷.

5.2.2. Prise en charge macroscopique des pièces de résection chirurgicale

La majeure partie des pièces d'exérèse pulmonaires concerne des lobectomies ou parfois des bilobectomies à droite. Les pneumonectomies sont de moins en moins pratiquées en raison de leur morbidité et mortalité importantes.

La fixation est une étape importante et capitale, elle doit être effectuée par instillation endobronchique de formol à l'aide d'un cathéter permettant de pénétrer dans les bronches segmentaires jusqu'à restitution du volume pulmonaire et expansion complète du lobe avec aspect lisse et convexe de la surface pleurale. La pièce est ensuite immergée dans une quantité suffisante de formol dans un récipient adéquat. Pour éviter qu'elle flotte et pour une meilleure fixation, il est conseillé d'alourdir la pièce opératoire fixée avec du papier absorbant imbibé de formol. La durée de la fixation doit être de 24 heures au minimum⁸⁸.

L'examen macroscopique débute toujours par une inspection et une palpation méticuleuse de la pièce. En effet, la palpation du poumon est un geste capital souvent plus informatif que sa visualisation.

➤ Orientation (Annexe 2)

Les pièces de pneumonectomie ne posent pas de problème d'orientation.

Les pièces de lobectomie sont parfois difficiles à orienter en raison de déformations liées à la tumeur.

Les lobes inférieurs sont aisément orientables grâce à leur base diaphragmatique de forme concave.

Les lobes supérieurs présentent souvent un dôme convexe et des territoires de dystrophie bulleuse.

Pour les lobes supérieurs gauches, la pointe de la lingula est toujours orientée en bas et en avant.

Le lobe moyen, qu'il soit isolé ou dans une bilobectomie, pointe toujours en bas et en avant.

➤ Ganglions

Les ganglions proximaux (hilaires) doivent être soigneusement recherchés sur la pièce de résection où ils seront identifiables le long des axes bronchiques et jusque sous la plèvre par leur couleur noire liée à l'antracose.

➤ Dissection des pièces

Elle s'effectue en fonction de la localisation de la tumeur :

❖ Tumeur de siège central

A partir de la face hilare, on effectue des coupes successives antéro-postérieures, en feuillets le long des repères métalliques introduits dans les axes bronchiques. Cette méthode de

dissection permet de voir les rapports entre la tumeur et les bronches de division bronchique et de repérer les ganglions péribronchiques.

❖ Tumeur de siège périphérique

On peut la disséquer de la même manière qu'une tumeur proximale ou bien l'aborder par la face externe pleurale et effectuer des coupes de la tumeur selon un axe perpendiculaire à la surface pleurale permettant de mieux évaluer la distance entre la tumeur et la plèvre.

La description macroscopique doit tenir compte de la taille de la tumeur, son aspect (coloration consistance) et les remaniements présents.

❖ Prélèvements indispensables

- **Tranches de section chirurgicale** : vasculaires et bronchiques

- **Ganglions du hile** : en totalité

- **Tumeur**

❖ Prélèvements en fonction de la taille

On réalise tout d'abord un échantillonnage de la tumeur qui comprend une inclusion en totalité de la tumeur si elle mesure 3 cm ou moins, pour s'assurer de la correcte classification s'il s'agit d'un adénocarcinome in situ ou avec invasion minimale ; et 1 bloc par cm avec un minimum de 3 blocs lorsqu'elle mesure plus de 3 cm⁸⁸.

❖ Prélèvement en fonction du siège de la tumeur

Siège proximal : tumeur + bronche et tumeur + parenchyme

Siège distal : tumeur + plèvre adjacente et tumeur + parenchyme. La zone d'ombilication pleurale doit être systématiquement prélevée en totalité. Ne pas oublier de repalper soigneusement la totalité de la pièce sur les tranches de section afin de repérer une éventuelle autre lésion tumorale dans le parenchyme pulmonaire.

Le parenchyme à distance est aussi prélevé à raison d'un bloc par segment⁸⁸.

5.3. Etude microscopique

5.3.1. Adénocarcinomes

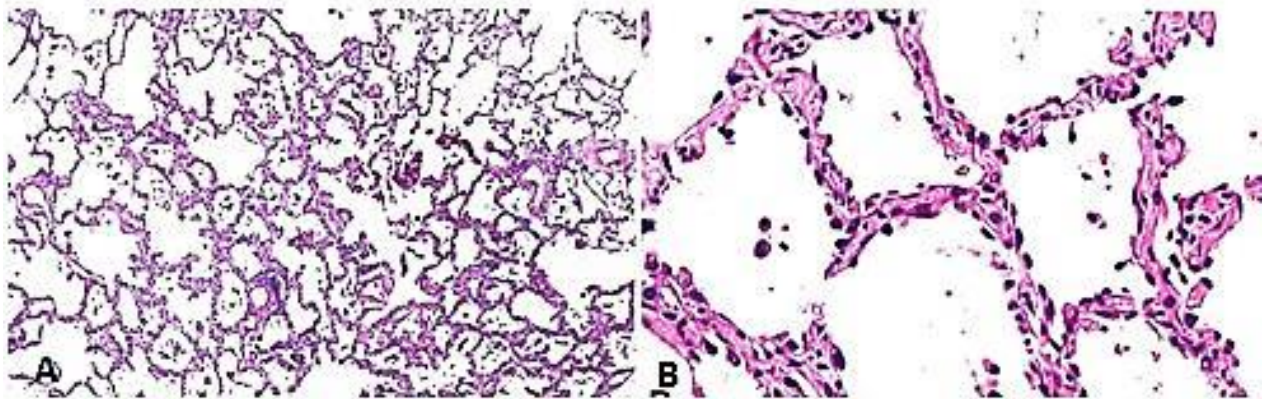
5.3.1.1. Lésions pré-invasives: adénocarcinome in-situ et hyperplasie adénomateuse atypique

Ces lésions font partie d'un même continuum et se caractérisent par la présence d'une image en verre dépoli en imagerie et par une prolifération strictement lépidique le long des cloisons alvéolaires.

➤ L'hyperplasie adénomateuse atypique (HAA)

Il s'agit d'une lésion localisée mesurant classiquement moins de 0,5 cm ; elle est faite de cellules alvéolaires peu atypiques, colonisant les parois alvéolaires mais séparées entre elles

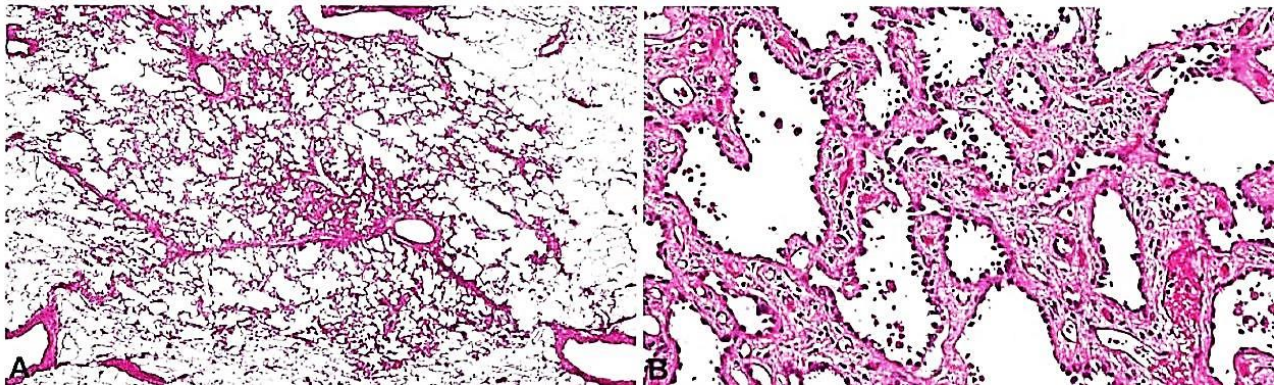
par des espaces ou « gaps » (**Figure 6**). La division en haut grade et bas grade n'a pas montré son intérêt et aujourd'hui on ne grade plus ces lésions⁴.



*Figure 6 : Hyperplasie adénomateuse atypique : A : faible grossissement, architecture lépidique, B : fort grossissement, présence de « gaps »
Image de Travis et al OMS 2015⁴*

➤ L'adénocarcinome in situ (AIS)

Il s'agit d'une tumeur dont la taille est inférieure ou égale à 3 cm ; c'est une lésion solitaire, lépidique pure, et les cloisons sont classiquement épaissies mais respectées, et tapissées d'une prolifération de pneumocytes de type II ou de cellules de Clara, présentant des atypies modérées (**Figure 7**). Il n'existe pas d'invasion stromale, vasculaire ou pleurale et il n'y a pas de dissémination endoalvéolaire⁴.



*Figure 7 : Adénocarcinome in-situ, A : faible grossissement : architecture lépidique, B : fort grossissement : cloisons épaissies, absence d'infiltration stromale
Image de Travis et al OMS 2015⁴*

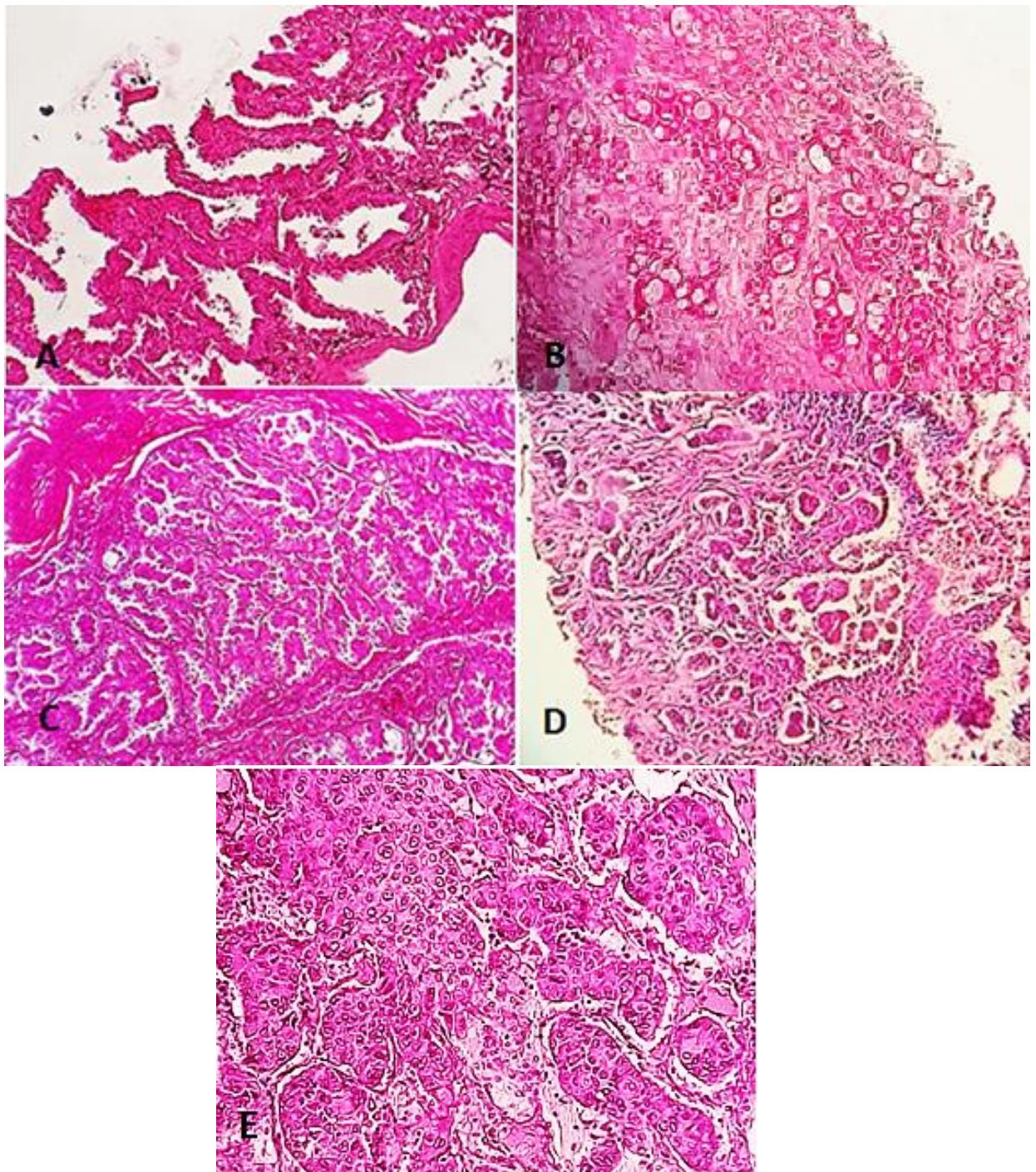
5.3.1.2. Adénocarcinome invasif et variantes

Les ADK invasifs sont des tumeurs épithéliales malignes à différenciation glandulaire, c'est-à-dire formant des papilles ou des micropapilles, des glandes, ou disposées selon un mode lépidique ou sécrétant des mucines (mieux visibles par coloration spéciale). Sont également assimilés aux ADK les carcinomes à grandes cellules d'architecture solide ne sécrétant pas de mucines mais exprimant le TTF1 en IHC.

Les ADK pulmonaires associent très souvent plusieurs aspects architecturaux (ADK mixte de l'ancienne classification de l'OMS 2004). L'architecture prédominante doit être décrite. Si plusieurs contingents sont notés ; situation la plus fréquente ; ils doivent être évalués respectivement par incrément de 5 %.

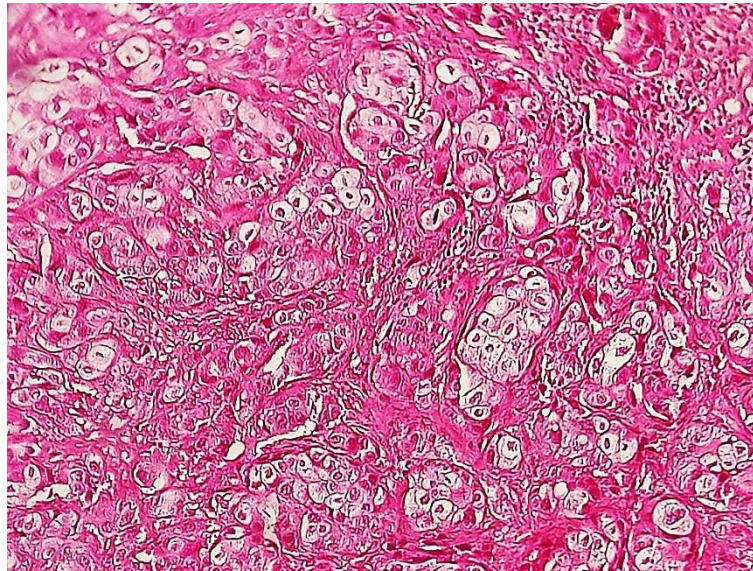
La classification de l'OMS 2015 ne reconnaît pas les termes de bien, moyennement ou peu différenciés qui ne doivent pas être employés car ne reposant sur aucune définition à l'heure actuelle^{89,90}.

- ❖ **ADK d'architecture lépидique** : Correspond à une prolifération tumorale de cellules pneumocytaires non mucipares (pneumocytes de type II ou cellules de Clara) colonisant les parois alvéolaires et remplaçant de proche en proche les cellules normales sans modifier ni envahir la paroi alvéolaire (**Figure 8A**).
- ❖ **ADK d'architecture acinaire** : Les cellules tumorales forment des glandes ou des acini ou encore des massifs cribriformes (**Figure 8B**).
- ❖ **ADK d'architecture papillaire** : Est composé de cellules tumorales revêtant des axes conjonctivo-vasculaires (**Figure 8C**). Il est parfois difficile de différencier cette architecture d'un adénocarcinome lépидique.
- ❖ **ADK d'architecture micropapillaire** : Correspond à une prolifération de cellules tumorales formant des amas ou touffes sans axes fibrovasculaires (**Figure 8D**). Ces amas peuvent être raccordées à la paroi alvéolaire ou détachés ; les cellules sont généralement petites et cubiques et peuvent aussi former des structures en anneaux avec lumière centrale, flottant dans les lumières alvéolaires. Ce contingent est souvent responsable d'embolies intravasculaires et peut s'accompagner de psammomes.
- ❖ **ADK d'architecture solide** : Est composé de cellules ovalaires ou polygonales, formant des massifs ou des plages, sans différenciation glandulaire (**Figure 8E**). Si les colorations des mucines neutres et acides, PAS (Acide périodique de Schiff) diastase, BA (Bleu Alcian) ou Mucicarmin, mettent en évidence plus de 5 vacuoles intra cytoplasmiques de mucines par champ au grossissement 40 sur deux champs, ou bien il existe une expression d'un des deux marqueurs pneumocytaires (TTF1 ou Napsine A) cela constitue la preuve de la nature glandulaire de ce carcinome^{4,91}.

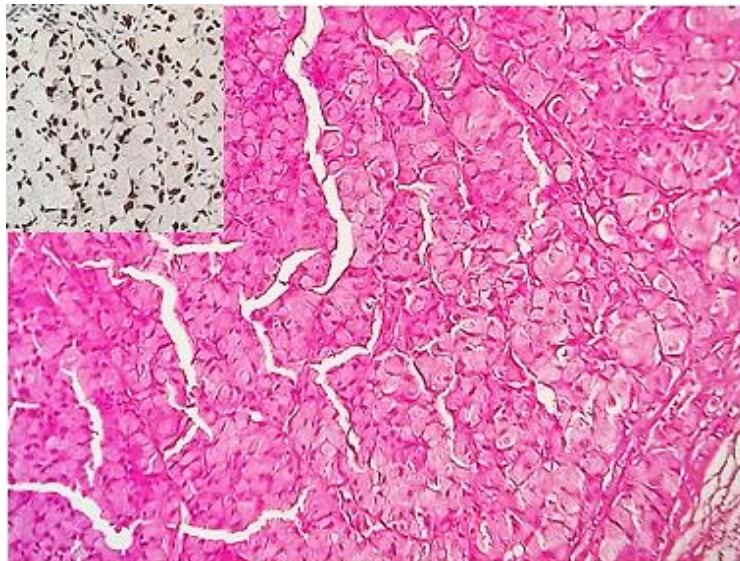


*Figure 8 : Adénocarcinome invasif avec ses différents aspects architecturaux, A : lépidique, B : acinaire et cribriforme, C : papillaire, D : micropapillaire, E : solide
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida*

Les anciens sous-types à cellules claires (**Figure 9**) et en bague à chaton (**Figure 10**) de la classification de 2004 ont été supprimés (car sans implication pronostique). Néanmoins, leur présence au sein de la prolifération doit être mentionnée dans les comptes rendus afin d'orienter vers l'origine pulmonaire en cas de survenue d'une métastase au cours de l'évolution de la maladie cancéreuse.

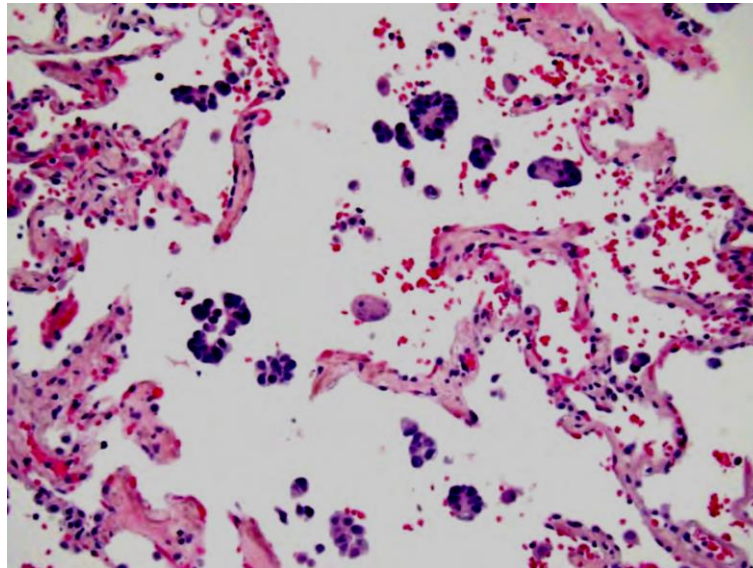


*Figure 9 : Adénocarcinome solide comportant un aspect clair des cellules
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida*



*Figure 10 : Adénocarcinome solide avec contingent de cellules « en bague à chaton »
En haut et à gauche expression en IHC du TTF1
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida*

La dissémination aérienne ou spread through air spaces (STAS) correspond à une extension des cellules tumorales dans les espaces alvéolaires et concerne préférentiellement les contingents micropapillaires, solides ou des amas de cellules isolées. Elle se voit en périphérie des tumeurs (**Figure 11**). Sa présence est un facteur de mauvais pronostic et fait courir un risque accru de récurrence pour les adénocarcinomes de stade I de résection limitée^{92,93}.



*Figure 11: STAS, amas de cellules tumorales au sein des espaces alvéolaires
Image d' E Brambilla⁹⁴*

Les ADK invasifs pulmonaires comportent aussi des variantes qui sont moins fréquentes, il s'agit de :

✓ **L'adénocarcinome avec invasion minime (MIA)**

L'ADK avec invasion minime est un petit adénocarcinome de moins de 3 cm, généralement isolé, qui présente une architecture lépidique et un foyer d'invasion inférieur ou égal à 5 mm^{4,91,95}. Il est généralement non mucineux mais peut être mucineux. Il est donc le plus souvent composé d'une prolifération de pneumocytes de type II ou de cellules de Clara tumorales, revêtant les parois alvéolaires. Le foyer d'invasion est composé de cellules tumorales présentant souvent un aspect cytologique différent et suscitant une stroma réaction myofibroblastique ; le foyer d'invasion peut aussi se présenter sous la forme d'un foyer d'architecture acinaire, papillaire, micropapillaire, ou solide (**Figure 12**).

Son pronostic est excellent rejoignant celui d'un ADK in-situ lorsqu'il est complètement réséqué^{4,91,94,95}.

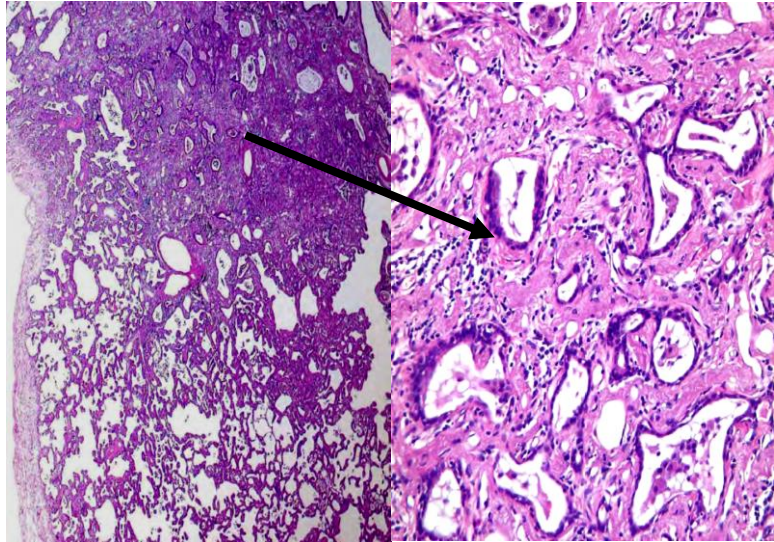


Figure 12 : ADK à invasion minimale, architecture lépidique avec présence d'une zone d'invasion (flèche) d'architecture acinaire.

Image d'E Brambilla⁹⁴

✓ L'adénocarcinome invasif mucineux :

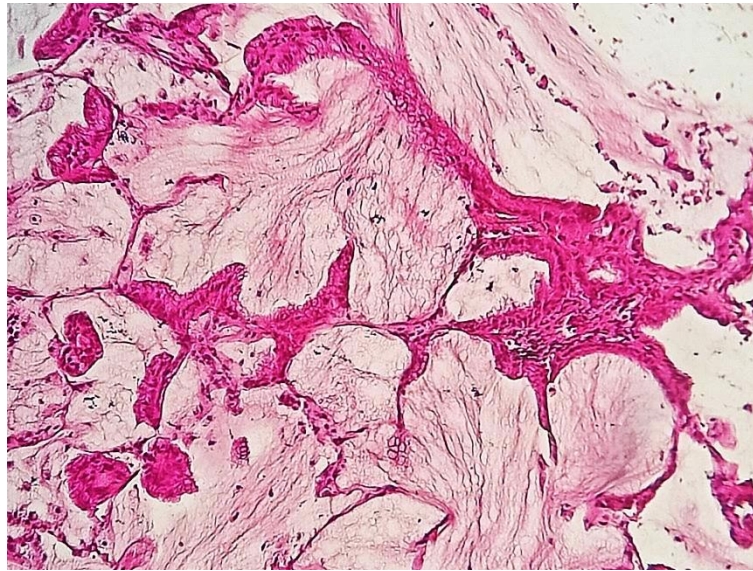
Il s'agit d'un ADK constitué de cellules mucipares et d'architecture acinaire, papillaire, micropapillaire ou lépidique. Les noyaux des cellules tumorales mucipares sont souvent en situation basale et peu atypiques. Les alvéoles des alentours sont volontiers remplis de mucus (**Figure 13**). Sur le plan radiologique, ces ADK peuvent être étendus à un ou plusieurs lobes et se présenter sous la forme de condensations. Sur le plan IHC, ils sont CK7 et CK20 positifs, et souvent TTF1 et Napsine A négatifs. Ils doivent cependant être différenciés des métastases d'ADK mucineux du pancréas, du colon ou de l'ovaire, essentiellement sur la base de la confrontation anatomo-radio-clinique^{4,95,96}.



*Figure 13 : Adénocarcinome mucineux invasif, cellules tumorales de type mucipare
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida*

✓ L'adénocarcinome colloïde

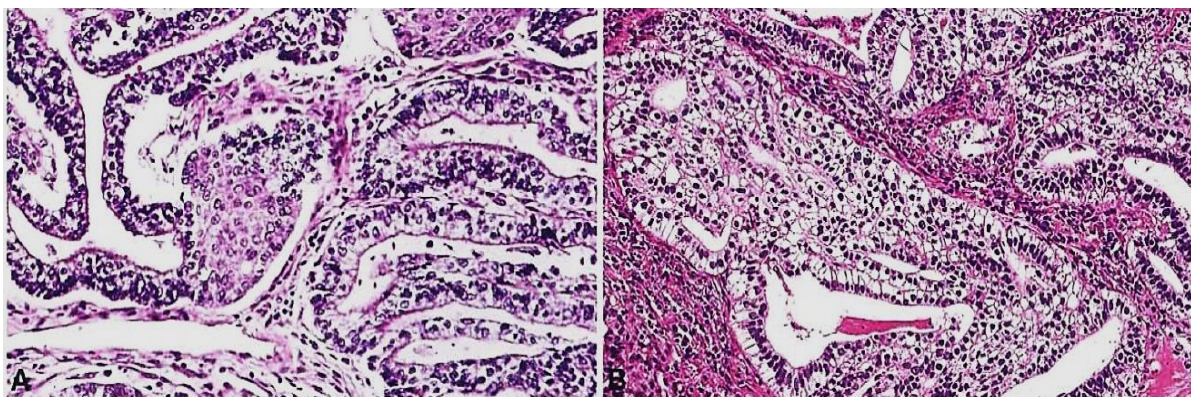
Les ADK colloïdes (anciennement cystadénocarcinome mucineux) sont constitués de vastes flaques de mucus comblant les lumières alvéolaires avec quelques foyers de cellules malignes mucipares tapissant les parois alvéolaires sur un mode lépidique (**Figure 14**). Ces ADK pulmonaires primitifs expriment la CK20, MUC2 et CDX2 et expriment très souvent faiblement TTF1 et CK7⁴. Il faut, là encore, exclure une métastase d'un ADK digestif, pancréatique, ovarien ou mammaire⁹⁶.



*Figure 14 : Adénocarcinome colloïde, large plage de mucine comportant des structures tumorales
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida*

✓ L'adénocarcinome fœtal

L'ADK de type fœtal est un ADK ressemblant au poumon fœtal. Les bas grades sont d'architecture typique tandis que les hauts grades associent souvent d'autres contingents mais ont au moins 50 % de type fœtal (**Figure 15**).



*Figure 15 : Adénocarcinome de type fœtal A : bas grade, architecture glandulaire simple avec présence de morules, B : haut grade, architecture plus complexe
Image de Travis et al OMS 2015⁴*

Les ADK fœtaux de bas grade surviennent chez des sujets aux alentours de 40 ans, souvent des femmes et peu fumeuses, à la différence des hauts grades observés plus volontiers chez des hommes fumeurs et plus âgés. Sur le plan histologique, les ADK fœtaux forment des structures glandulaires complexes, faites de cellules plutôt cylindriques, au cytoplasme clair riche en glycogène. Elles sont peu atypiques et forment des morules. Le stroma est souvent myxoïde.

Les ADK de haut grade présentent des atypies cytologiques, une absence de morules, de la nécrose et comportent souvent d'autres contingents adénocarcinomeux classiques. Ils expriment souvent le TTF1 mais pas les récepteurs hormonaux ni le PAX8 (diagnostic différentiel avec les adénocarcinomes métastatiques endométriaux).

Sur le plan génétique, les bas grades sont CTNNB1 mutés et expriment la bêta-caténine⁹⁷.

✓ L'adénocarcinome de type entérique

Il s'agit d'un ADK pulmonaire primitif ressemblant aux adénocarcinomes de type lieberkuhnien du colon. Plus de 50 % de ce contingent intestinal est exigé pour poser ce diagnostic. Ce dernier n'est en fait retenu qu'après avoir éliminé tout ADK colorectal primitif. Sur le plan histopathologique, il est d'architecture acinaire, cribriforme, ou tubulo-papillaire et composé de cellules tumorales cylindriques au cytoplasme éosinophile et au noyau à chromatine vésiculaire (**Figure 16**). Sur le plan IHC, cet ADK exprime le CDX2, la CK 20 mais est souvent CK7 et TTF1 négatifs⁴.

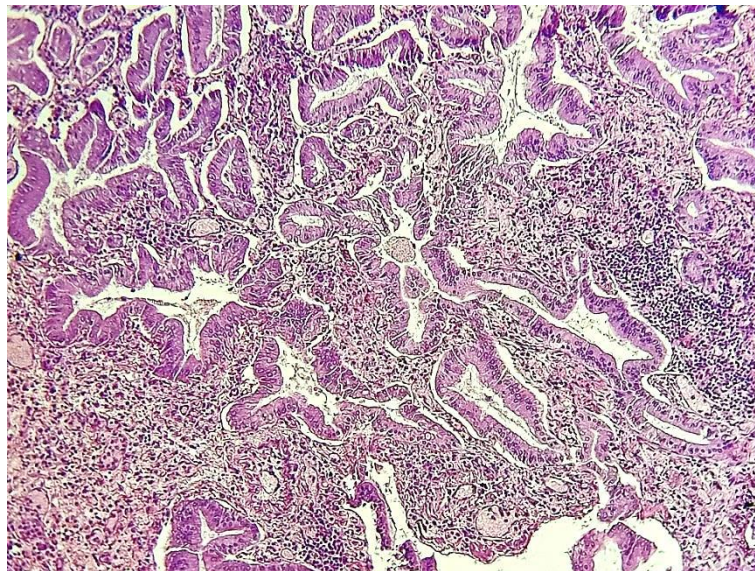


Figure 16 : Adénocarcinome de type entérique, structures glandulaires tapissées d'un épithélium cylindrique haut de type intestinal

Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida

5.3.1.3. Implication pronostique et corrélation histomoléculaire des adénocarcinomes

De nombreuses études ont démontré la valeur pronostique et la bonne corrélation entre les sous-types histologiques des ADK pulmonaires et le profil moléculaire^{98,99}.

Ainsi, on considère que l'ADK lépidique est de bon pronostic, l'acinaire et le papillaire sont de pronostic intermédiaire. La morphologie solide et micropapillaire sont de mauvais pronostic⁸⁵.

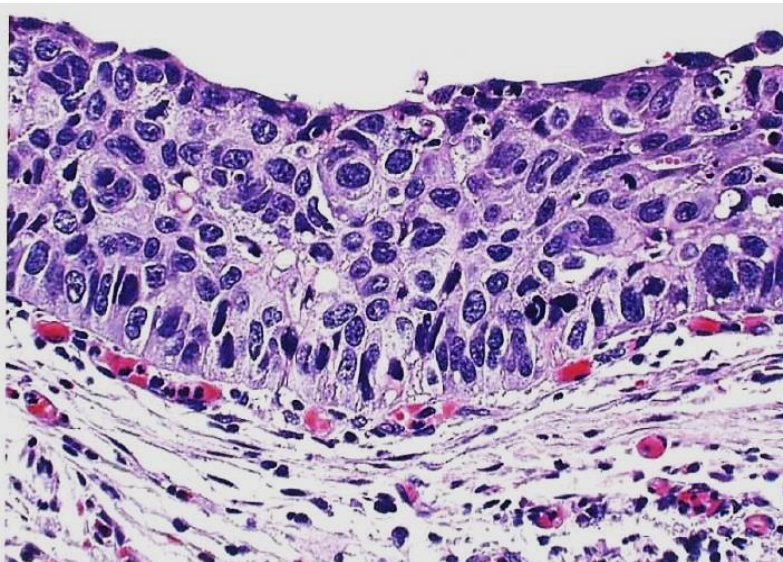
De même, l'existence d'un aspect cribriforme au sein d'un ADK acinaire constitue un élément de mauvais pronostic¹⁰⁰.

L'ADK lépidique et l'ADK papillaire sont plus volontiers associés à l'existence de mutations activatrices d'EGFR, sensibles aux molécules d'inhibiteurs de tyrosine kinase de l'EGFR. La variante micropapillaire et les ADK papillaires peuvent présenter des mutations de BRAF. Ces mutations qui intéressent environ 5% de l'ensemble des ADK, peuvent intéresser jusqu'à 20% des adénocarcinomes micropapillaires. Les ADK acinaires et solides présentent de manière plus fréquente que d'autres, des réarrangements des gènes ALK et ROS1^{91,95,98}.

5.3.2. Les carcinomes épidermoïdes

5.3.2.1. Lésions pré-invasives

De façon quasi superposable à la classification de 2004, la nouvelle version de 2015 conserve les mêmes lésions précancéreuses des carcinomes malpighiens que sont la dysplasie légère, modérée et sévère et le carcinome in situ. Toutes ces lésions associent des signes de dysplasie de degrés variables qui intéressent l'épithélium bronchique métaplasique (**Figure 17**).



*Figure 17 : Carcinome in-situ de la muqueuse bronchique
Image de Travis et al OMS 2015⁴*

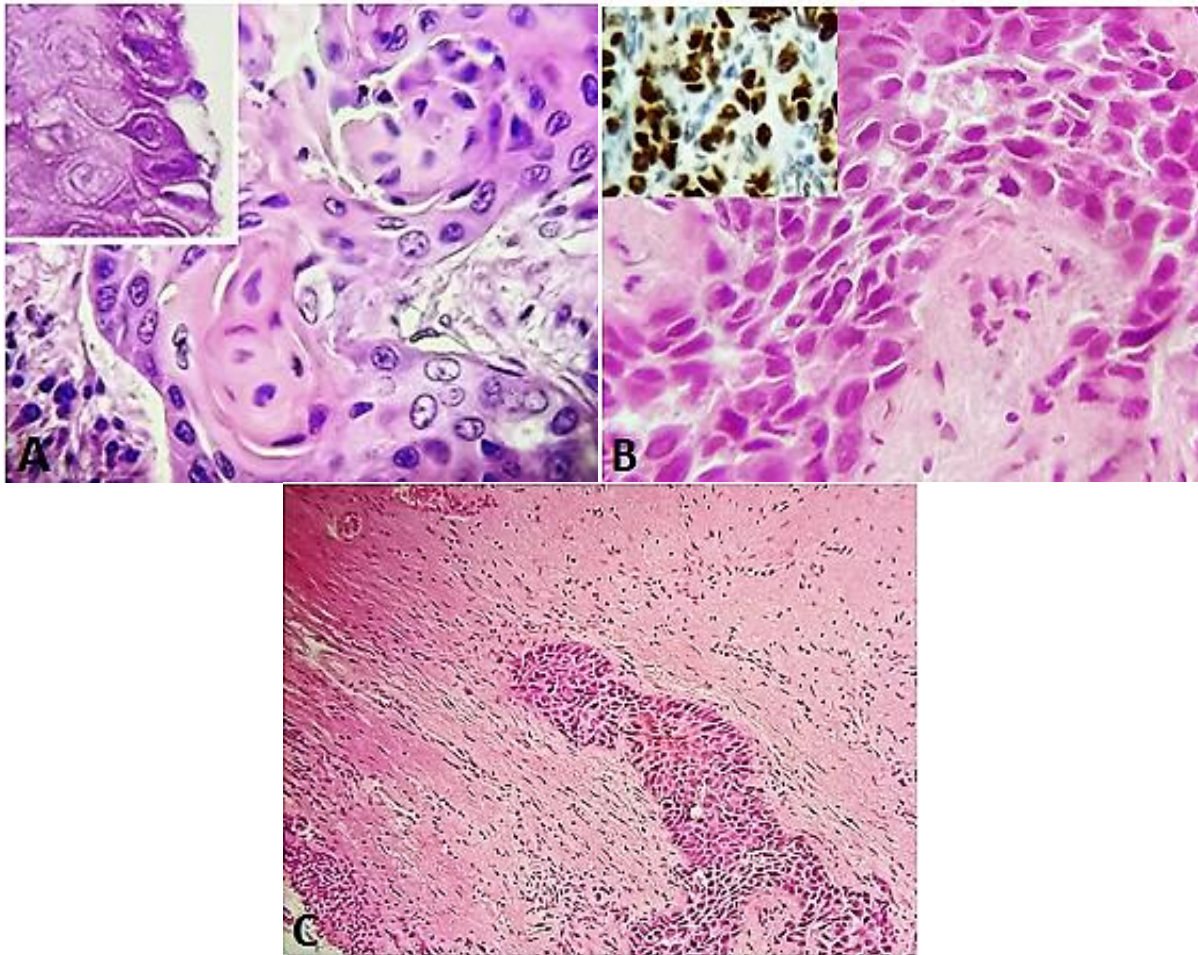
Il s'agit d'un continuum morphologique avec une accumulation séquentielle d'anomalies moléculaires liée à l'exposition chronique à un aérocontaminant comme le tabac^{4,101}.

5.3.2.2. Carcinome épidermoïde invasif et variantes

Le CE est une tumeur maligne épithéliale présentant des signes de différenciation malpighienne à type de ponts d'union intercellulaire et/ou de synthèse de kératine (formation de globes cornés)^{4,101,102}.

Dans la dernière classification de l'OMS 2015, la classe des CE infiltrants ne comporte plus que 3 variantes :

- **Le CE bien différencié** : correspond à la forme bien différenciée avec production de kératine et/ou présence de jonctions intercellulaires (**Figure 18A**).
- **Le CE peu différencié** : correspond à la forme peu différenciée. La fréquence de cette variante, bien que non précisée, apparaît plus élevée dans le poumon que dans les localisations ORL et cervico-utérine où les CE sont volontiers bien différenciés, avec une kératine abondante¹⁰². C'est donc dans cette variante que l'étude IHC aura toute son importance afin de classer précisément la tumeur et ne pas méconnaître un ADK solide ou même un carcinome à grandes cellules. Cette étude IHC montre une forte expression des marqueurs de différenciation malpighienne : P40, P63 et CK5/6 et une absence d'expression du TTF1 (**Figure 18B**). L'OMS recommande d'utiliser la p40 qui, est la plus spécifique. En effet, la p63 et surtout la CK5/6 peuvent aussi être positives bien que faiblement, dans les ADK^{4,102}.
- **Le CE basaloïde** : il s'agit d'une tumeur peu différenciée, constituée de cellules basophiles de petite taille avec une architecture lobulée, un agencement palissadique en périphérie (**Figure 18C**) et une kératinisation centrale ou abrupte à l'emporte-pièce, parfois difficile à mettre en évidence. L'indexe mitotique est très élevé et la nécrose est fréquente, de type comédocarcinomateux. L'étude IHC montre une très forte expression de la p40 ou de la p63 et de la CK5/6 et la négativité du TTF1 et des marqueurs neuroendocrines (NE) : CD56, chromogranine et synaptophysine. En effet, la morphologie des CE basaloïdes peut imiter de façon troublante celle des carcinomes neuroendocrines de haut grade dont le traitement est différent^{101,102}.



*Figure 18 : Carcinome épidermoïde A : forme bien différenciée avec pont d'union en haut. B : forme peu différenciée avec expression en IHC de la p40 en haut, C : forme basaloïde
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida*

5.3.2.3. Profil génétique des carcinomes épidermoïdes

Les CE comportent un niveau très élevé d'altérations génomiques (mutations en particulier) supérieur aux autres classes de CPNPC. Toutefois, depuis la classification OMS de 2004, il n'a pas été mis en évidence de biomarqueurs prédictifs d'une réponse tumorale à un traitement spécifique¹⁰².

Les études génomiques ont montré des altérations moléculaires plus spécifiques des CE¹⁰³: TP53, NFE2L2, PI3KCA, KEAP1, DDR2 ainsi que des mutations rares de l'EGFR différentes de celles des adénocarcinomes (L861Q) et des amplifications de gènes : CCND1, SOX2, FGFR1, CCNE, MYCL1, ou des délétions géniques : CDKN2A. Si les mutations activatrices de l'EGFR ou les réarrangements d'ALK sont exceptionnels, ces altérations doivent être recherchées chez des patients non ou petits fumeurs avec diagnostic de CE afin qu'ils bénéficient d'une thérapie ciblée.

5.3.3. Carcinome à grandes cellules

5.3.3.1. Définition

Selon les recommandations de la classification OMS de 2015, le diagnostic d'un CGC ne

peut être porté que sur pièce opératoire. Cette tumeur réalise des massifs pleins, composés de cellules tumorales de grande taille, au cytoplasme souvent abondant, éosinophile parfois clarifié, et au noyau arrondi, nucléolé. Par définition, il n'y a pas de différenciation malpighienne (absence de ponts d'union intercellulaire et de globes cornés), neuroendocrine (absence d'architecture organoïde), ni glandulaire (absence de structure acinaire, papillaire ou micropapillaire, absence de production de mucines avec négativité des colorations histochimiques) (**Figure 19**). L'analyse immunophénotypique ne révèle aucune positivité vis-à-vis du TTF1 ou de la protéine P40. En fait, c'est un diagnostic « d'exclusion »^{96,98}

Mais dans tous les cas, il faut toujours exclure la possibilité d'une métastase d'un cancer non épithélial (mélanome, lymphome, sarcome), ou d'un carcinome primitif extra-pulmonaire, et ce, par une étude IHC adaptée. La métastase est, en effet, possible même si le patient est fumeur et le nodule pulmonaire est unique.

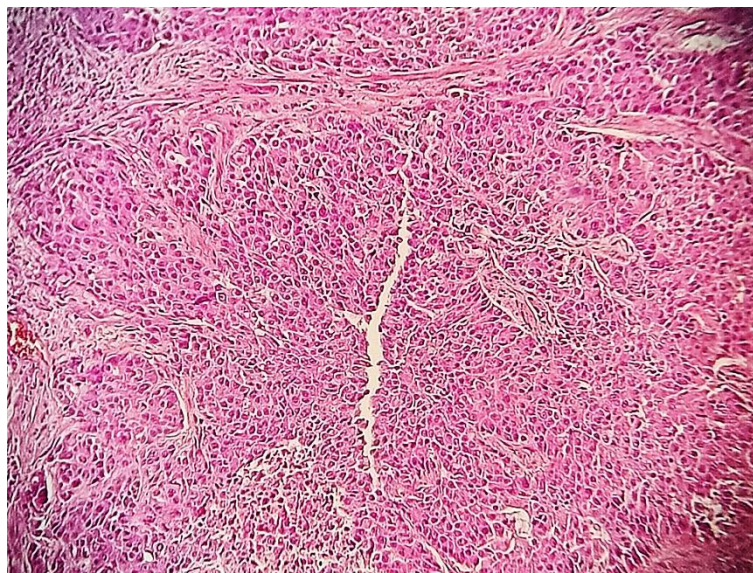


Figure 19 : Carcinome à grandes cellules ; prolifération tumorale d'architecture solide sans différenciation glandulaire ou malpighienne.

Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida

Différence entre un carcinome à grandes cellules et un carcinome non à petites cellules de type NOS « not otherwise specified »

Le diagnostic de CPNPC-NOS n'est porté que sur des prélèvements de petite taille biopsiques ou cytologiques. Dans le territoire intéressé par la biopsie ou la ponction, il n'y a aucun signe morphologique ou IHC de différenciation épidermoïde ou glandulaire mais il est possible, qu'ailleurs, dans la tumeur, ces signes soient présents. De ce fait, les CPNPC-NOS doivent bénéficier d'une recherche de mutations génétiques afin de leur proposer une thérapie ciblée¹⁰⁴.

5.3.3.2. Profil génétique des carcinomes à grandes cellules

Ces carcinomes ont des profils génétiques extrêmement hétérogènes. En effet, certains ont des profils génétiques similaires à ceux des ADK avec des mutations de KRAS, d'EGFR et de

BRAF et des réarrangements d'ALK. D'autres, au contraire, ont des profils génétiques similaires à ceux des CE avec des mutations de P53 et une amplification de FGFR1 ou bien encore un profil génétique similaire à celui des carcinomes NE de haut grade avec des mutations de RB1 et des amplifications de FOX2¹⁰².

Les formes de carcinomes broncho-pulmonaires avec un profil IHC nul reste donc dans cette classe de tumeur qui est considérée comme un cadre d'attente en prévision de l'identification de nouveaux marqueurs biologiques ou moléculaires.

5.3.4. Autres types histologiques rares des CPNPC

5.3.4.1. Carcinome adénosquameux

C'est un carcinome associant un contingent épidermoïde et un contingent adénocarcinomateux, chacun d'entre eux représentant au moins 10 % de la surface tumorale. Le diagnostic ne peut être établi de façon certaine que sur du matériel de résection chirurgicale et il ne peut être que suggéré sur des biopsies. Les deux contingents doivent montrer une différenciation histologique évidente¹⁰¹ (**Figure 20**).

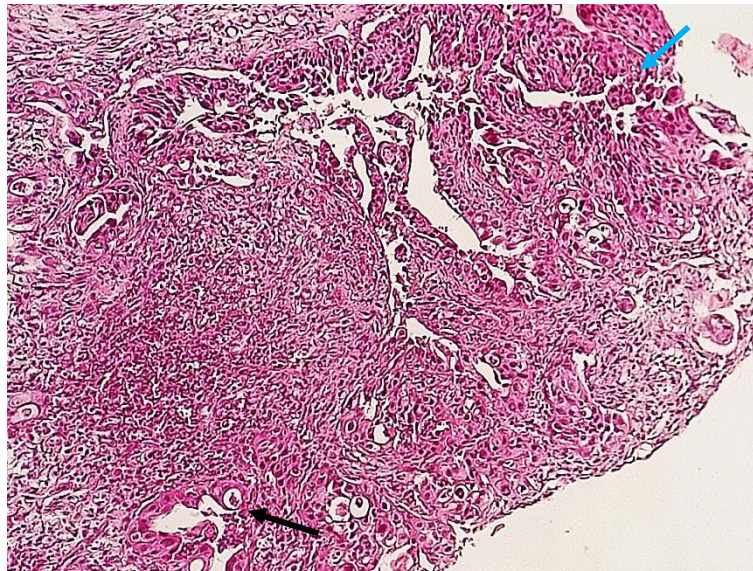
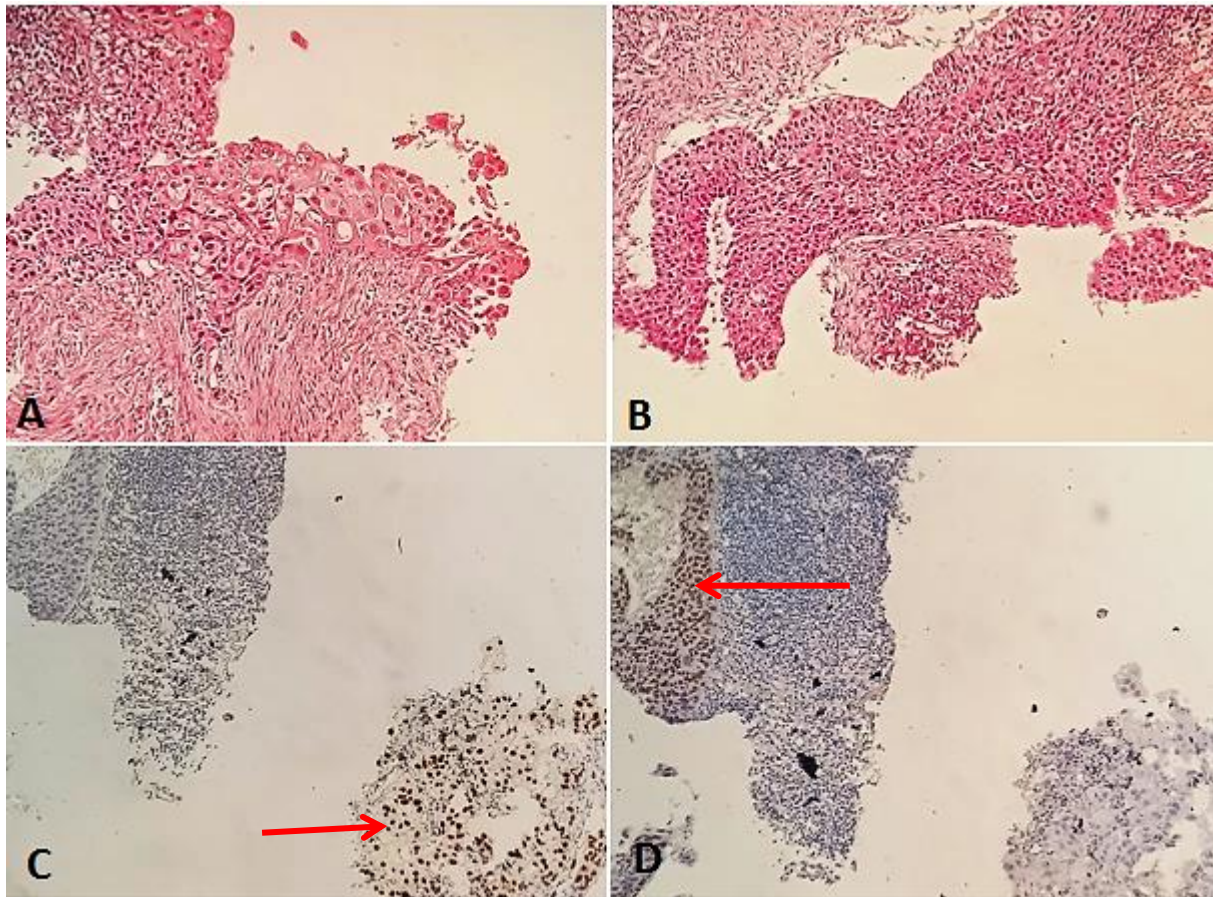


Figure 20 : Carcinome adénosquameux ; les deux composantes : glandulaire (flèche noire) et malpighienne (flèche bleue) sont bien différenciées.

Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida

Si l'un des deux contingents est peu différencié, d'architecture solide, son identification comme CE ou ADK avec les anticorps p40 et TTF1 ne doit prêter à aucune ambiguïté (**Figure 21**).



*Figure 21 : Carcinome adénoquameux. A : à l'HE, la composante glandulaire est peu différenciée. B : contingent épidermoïde. C : expression du TTF1 en IHC dans la composante glandulaire uniquement (flèche). D : expression de la p40 en IHC par la composante malpighienne (flèche).
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie pathologique CHU Frantz Fanon Blida*

Le profil moléculaire de cette tumeur est le reflet des deux composantes (mutations EGFR, KRAS, réarrangements ALK, ROS1 et amplification FGFR1) avec des réponses aux thérapies ciblées favorables rapportées en cas de mutations activatrices de la composante adénocarcinomeuse.

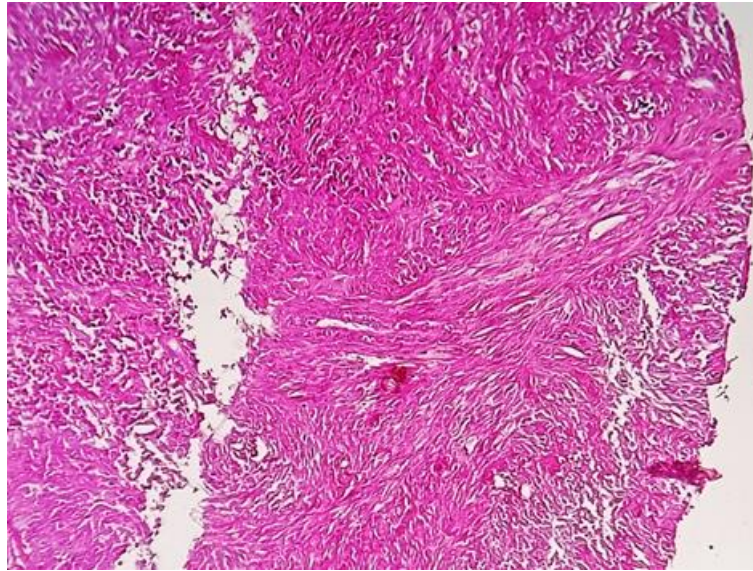
5.3.4.2. Carcinome sarcomatoïde

Le carcinome sarcomatoïde du poumon réunit cinq sous-types^{105,106} :

- **Le carcinome à cellules fusiformes** : composé majoritairement de cellules fusiformes (Figure 22)
- **Le carcinome à cellules géantes** : composé majoritairement de cellules géantes (Figure 23)
- **Le carcinome pléomorphe** : représente 70 à 80 % des carcinomes sarcomatoïdes, il est défini par l'association d'un contingent pseudo sarcomateux (à cellules fusiformes ou à cellules géantes) devant représenter au moins 10 % et d'un contingent carcinomeuseux. Le contingent épithélial le plus fréquent est de type adénocarcinome mais il peut-être à grandes cellules ou bien épidermoïde (le moins fréquent). Le

carcinome pléomorphe correspond aussi à un carcinome associant un contingent à cellules fusiformes à des cellules géantes en proportion variable.

- **Le carcinosarcome** : rare, est défini par l'association d'un contingent sarcomateux hétérologue et d'un contingent carcinomateux. Le contingent épithélial le plus fréquent est de type épidermoïde, puis adénocarcinome.
- **Le pneumoblastome** : extrêmement rare ; il associe un contingent d'adénocarcinome de type foetal à un stroma mésenchymateux primitif. Des foyers de différenciation mésenchymateuse spécifique peuvent exister.



*Figure 22 : Carcinome à cellules fusiformes ; prolifération composée de cellules fusiformes.
Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie Pathologique CHU Frantz Fanon Blida*

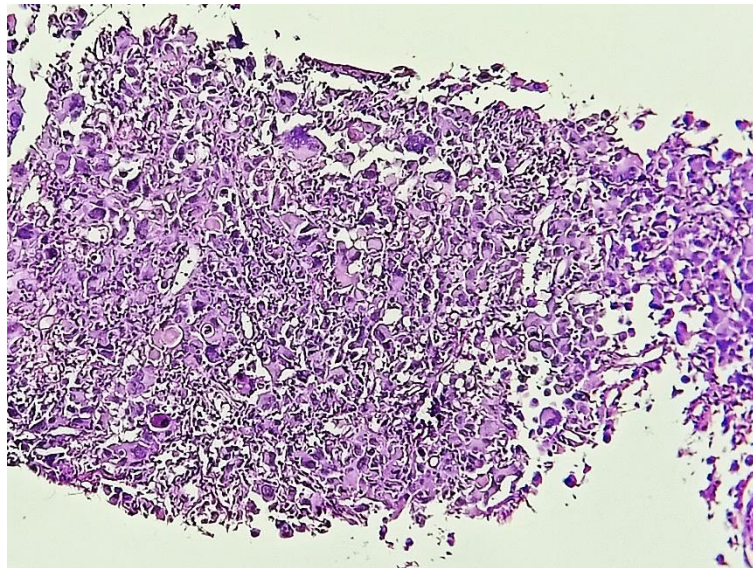


Figure 23 : Carcinome à cellules géantes ; prolifération composée majoritairement de cellules géantes pléomorphes.

Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie Pathologique CHU Frantz Fanon Blida

Dans la nouvelle classification OMS 2015, les types pléomorphes, à cellules fusiformes et à cellules géantes sont regroupés dans une même entité et sont considérés comme sous types des CPNPC. Les entités de carcinosarcome et de pneumoblastome ou blastome pulmonaire sont clairement séparées⁴.

Le profil moléculaire le plus fréquent dans les carcinomes sarcomatoïdes du poumon reste la mutation de KRAS. Située sur le codon 12 de l'exon 2, elle a été retrouvée dans 3 à 38 % des cas évalués dans trois séries différentes, suivie par les mutations de PIK3CA (8 %), probablement toutes deux liées à l'intoxication tabagique^{107,108}.

5.3.4.3. Carcinome de type lympho-épithélial

Le carcinome lympho-épithélial est un type rare des CPNPC similaire à celui du nasopharynx. Il correspond à une prolifération tumorale indifférenciée où les cellules tumorales sont de taille moyenne ou grande. Elles sont d'aspect syncytial, regroupées en amas et en cordons mal limités et entourées d'un important stroma lymphoïde fait de petits lymphocytes réguliers (**Figure 24**). Le noyau est irrégulier, le plus souvent vésiculeux, contenant un nucléole éosinophile proéminent¹⁰⁹. Les cellules tumorales expriment la CK AE1/AE3, CK5/6, p40 et p63 suggérant une même origine que le CE. Les lymphocytes du stroma correspondent à une mixture de lymphocytes T CD3+, et B CD20+. La présence de l'EBER1 dans le noyau des cellules tumorales, l'expression du LMP1 et la présence de lymphocytes T CD8+ suggère le rôle de l'EBV dans la pathogénie de ce type de carcinome^{4,109}.

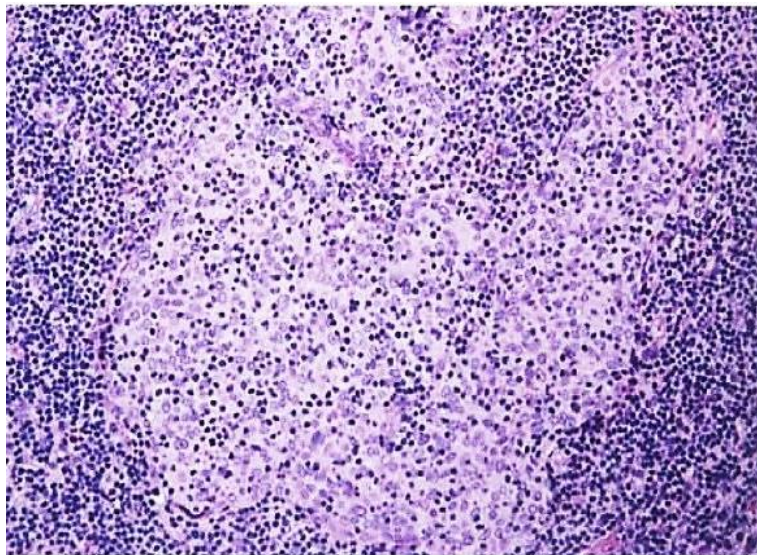


Figure 24 : Carcinome lympho-épithélial ; important stroma lymphoïde entourant un lobule tumoral

Image de Travis et al OMS 2015⁴

5.3.5. Diagnostic des CPNPC sur prélèvements biopsiques, recommandations de la classification OMS 2015 et indications de l'étude IHC

Sur prélèvement biopsique, l'analyse morphologique permet de déterminer l'architecture générale de la prolifération. Dans le cadre des CPNPC, et en appliquant l'algorithme décisionnel de l'OMS 2015 (**Figure 25**), 4 situations sont possibles :

- **1^{ère} situation** : présence de ponts d'union ou/et d'une kératinisation qui permet de poser le diagnostic d'un carcinome épidermoïde bien différencié.
- **2^{ème} situation** : présence d'une différenciation glandulaire (lépидique, acinaire, papillaire et micropapillaire) et/ou d'une mucosécrétion qui permet de poser le diagnostic d'un adénocarcinome.
- **3^{ème} situation** : présence d'une différenciation à la fois épidermoïde et glandulaire, dans ce cas le diagnostic d'un carcinome adénosquameux est fortement suspecté ; le diagnostic de certitude est porté uniquement sur pièce opératoire.
- **4^{ème} situation** : prolifération tumorale d'architecture solide sans différenciation malpighienne ni glandulaire. Si les colorations des mucines neutres et acides (PAS diastase, BA) mettent en évidence plus de 5 vacuoles intra cytoplasmiques de mucines par champ au grossissement 40 et sur deux champs, cela constitue une preuve de la nature glandulaire de ce carcinome et le diagnostic porté dans ce cas est celui d'un ADK solide. Si ces colorations sont négatives, le recours à une étude IHC sera nécessaire. L'OMS recommande, dans cette situation, d'utiliser uniquement deux anticorps : un marqueur de différenciation glandulaire TTF1 ou la Napsine A et un marqueur de différenciation malpighienne P40 qui est la plus sensible et la plus spécifique, P63 ou la cytokératine 5/6.

En fonction du résultat obtenu avec ces deux marqueurs, plusieurs diagnostics sont possibles :

- Si la tumeur est de phénotype TTF1+/P40-, le diagnostic porté est celui d'un CPNPC en faveur d'un adénocarcinome solide sur la base de l'IHC
- Si la tumeur est de phénotype TTF1-/P40+, le diagnostic porté est celui d'un CPNPC en faveur d'un carcinome épidermoïde peu différencié sur la base de l'IHC
- Si la tumeur est de phénotype TTF1+/P40+ dans deux populations différentes de cellules tumorales, le diagnostic porté est celui d'un CPNPC avec suspicion d'un carcinome adénosquameux
- Si la tumeur est de phénotype TTF1+/P40+ dans la même population de cellules tumorales, le diagnostic porté est celui d'un CPNPC de type NOS avec phénotype discordant.
- Si la tumeur est de phénotype TTF1-/P40-, le diagnostic porté est celui d'un CPNPC de type NOS qui est l'équivalent du carcinome à grandes cellules sur pièce opératoire.

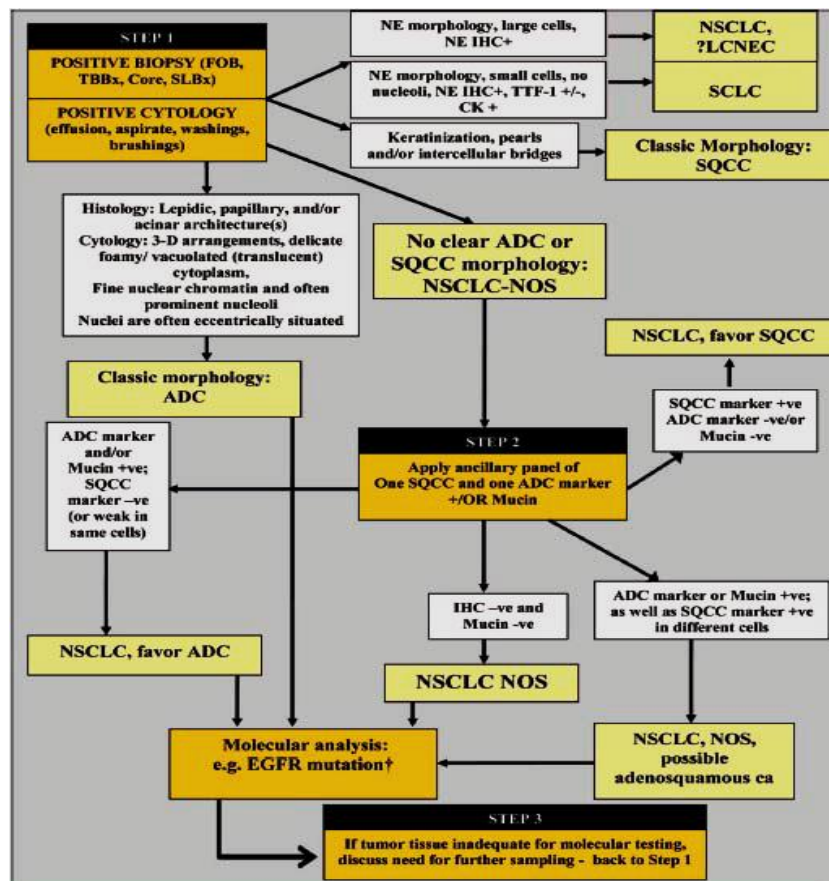


Figure 25 : Algorithme décisionnel de l'OMS 2015 pour les prélèvements biopsiques
D'après Travis et al OMS 2015⁴

Sur ces prélèvements biopsiques, l'OMS recommande :

- De ne pas utiliser le terme de carcinome à grandes cellules et le remplacer par le terme de CPNPC de type NOS.
- D'utiliser le moins possible le terme de CPNPC de type NOS qui reste une source de confusion pour les cliniciens.
- Ne pas utiliser le terme d'ADK in situ, ce dernier correspond à une prolifération de morphologie purement lépidique dont la taille est inférieure ou égale à 3cm. Son diagnostic ne peut être porté que sur pièce opératoire après avoir éliminé la présence d'une composante invasive.
- Les marqueurs NE ne sont réalisés que si la tumeur présente une morphologie neuroendocrine. En effet, près de 20% des CPNPC peuvent exprimer de façon faible et hétérogène les marqueurs NE.

Sur les prélèvements biopsiques, et dans le but de préserver au maximum le matériel tumoral, les indications de l'IHC doivent être restreintes et sont actuellement bien précises selon l'algorithme décisionnel de l'OMS 2015¹¹⁰.

L'IHC est indiquée en cas de :

- Morphologie non contributive : la tumeur est dans ce cas d'architecture solide, sans mucosécrétion, ou bien le prélèvement est exigu ou écrasé. Dans ce cas, l'immunomarquage utilise uniquement deux anticorps : TTF1 pour l'ADK et p40 pour le CE (situation 4). La CK7 n'a pas d'utilité, puisque 30% des CE du poumon expriment cette cytokératine¹⁰².
- Doute sur l'origine primitive ou secondaire : dans ce cas, l'immunomarquage est indispensable et sera guidé selon le contexte et les antécédents des patients. En cas de primitif inconnu, les deux anticorps qui ont le plus de valeur sont la CK7 et CK20¹¹¹.
- Suspicion de tumeur neuroendocrine : comme déjà précisé, les recommandations de l'OMS sont d'utiliser ces marqueurs que lorsqu'une morphologie neuroendocrine est suspectée.

Quant à l'IHC à visée théranostique, elle occupe aujourd'hui une place primordiale dans la prise en charge des cancers broncho-pulmonaires. Il s'agit de l'IHC anti ALK et anti ROS1 qui est indiquée pour tous les ADK et parfois les CE dans des contextes particuliers (sujets jeunes peu ou non fumeurs), et l'IHC anti PDL-1 dans le cadre de l'immunothérapie qui est indiquée pour tous les types histologiques de CPNPC.

Pour le réarrangement ALK, deux anticorps sensibles et spécifiques sont disponibles. Il s'agit des clones D5F3 et 5A4.

Le clone 5A4 est un anticorps monoclonal de souris (Abcam, Clinisciences, Novocastra) et le clone D5F3 (CD246), est un anticorps monoclonal de lapin distribué sous forme concentrée (Cell Signaling) ou prédiluée (Ventana-Roche)^{67,112}. Le marquage obtenu est granuleux, de localisation cytoplasmique (**Figure 26**). L'anticorps 5A4 donne habituellement un signal d'intensité plus faible que l'anticorps D5F3.

Les clones ALK1 et SP8 sont classiquement utilisés pour le diagnostic du statut ALK des lymphomes anaplasiques à grandes cellules et des tumeurs myofibroblastiques inflammatoires^{113,114}.

Le test ALK D5F3 a été approuvé par la FDA et par plusieurs autres autorités réglementaires dans le monde, comme test de diagnostic ALK, suggérant un algorithme de sélection des patients basé sur un résultat IHC définitif (positif ou négatif) quelque soit l'anticorps utilisé.⁷¹

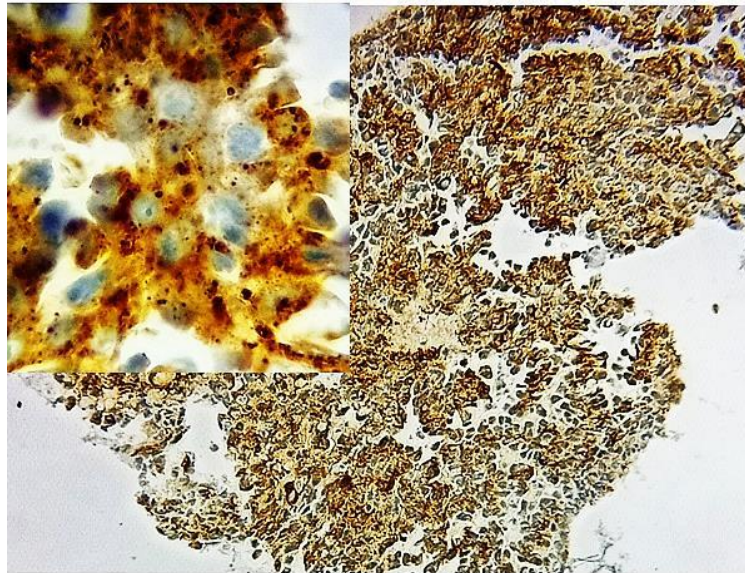


Figure 26 : IHC d'un adénocarcinome pulmonaire : expression cytoplasmique granulaire, avec l'anticorps D5F3

Microphotographie Dr R.BENNOUI, Service d'Anatomie Pathologique CHU Frantz Fanon Blida

Pour le ROS1, l'IHC utilisant l'anticorps monoclonal D4D6 (marquage cytoplasmique granulaire) constitue un moyen de screening des patients, puisque tous les résultats positifs doivent être suivis d'une confirmation en FISH^{71,115}. L'immunomarquage ROS1 donne un marquage cytoplasmique granulaire, modéré à intense, diffus, avec quelques rares cas présentant un renforcement membranaire (**Figure 27**).

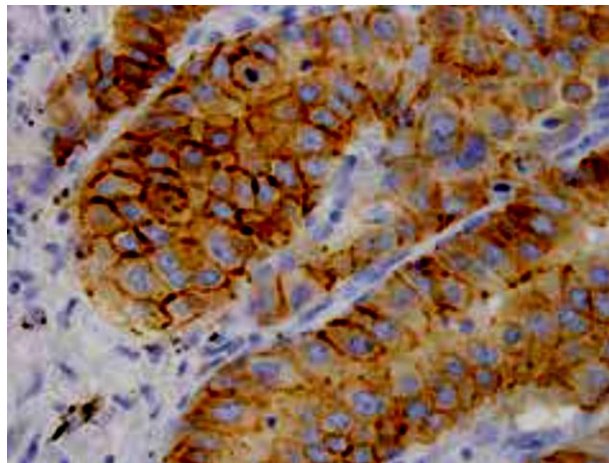


Figure 27 : IHC d'un adénocarcinome pulmonaire : expression cytoplasmique granulaire avec renforcement membranaire, anticorps D4D6

Image Tsao et al⁷¹

Les performances en termes de sensibilité et spécificité du clone D4D6 par comparaison avec la FISH démontrent l'intérêt de l'approche par IHC pour un screening efficace des tumeurs ROS1 réarrangées¹¹³. L'IHC du PD-L1 sera détaillée dans les chapitres suivants.

6. Système immunitaire et cancer

6.1. Rappel sur l'immunité

L'immunité innée représente la partie du système immunitaire capable d'être mise en route immédiatement pour défendre l'hôte. On retrouve notamment la barrière physique de la peau, les polynucléaires neutrophiles, les macrophages et les cellules dendritiques capables de phagocytose. En complément de cette immunité innée, figure l'immunité adaptative capable de s'adapter aux agents extérieurs afin de défendre le plus efficacement l'hôte. Cette partie de l'immunité repose sur les lymphocytes T et B¹¹⁶.

L'activation de l'immunité adaptative passe d'abord par les cellules présentatrices d'antigènes CPA (cellules dendritiques, macrophages) qui vont phagocyter l'agent exogène et le présenter aux lymphocytes T. Ceci sera à l'origine de la cascade de la réponse immunitaire vis-à-vis d'un agent exogène (production d'anticorps, cytotoxicité. . .). La relation entre la CPA et le lymphocyte T est donc un passage obligatoire pour la réponse immunitaire adaptative^{13,116,117}.

6.2. Les principaux effecteurs de l'immunité anti-tumorale

6.2.1. Les cellules Natural killer

Les cellules Natural killer (NK) ou naturelles tueuses sont des lymphocytes très particuliers : non T (CD3-), non B (CD19-), exprimant le CD56 et le CD16 ; ces lymphocytes ont un effet cytotoxique puissant par sécrétion de cytokines et relargage de granules cytotoxiques, granzymes et perforines essentiellement¹¹⁸.

Les NK représentent le composant essentiel de l'immunité innée. Ils sont capables d'éliminer des cellules anormales (tumorales ou infectées) sans sensibilisation préalable. Leur activation est régulée par une balance entre signaux activateurs et inhibiteurs provenant de l'engagement de différents récepteurs présents à leur surface^{119,120}.

En effet, les cellules NK expriment à leur surface des récepteurs inhibiteurs, tels que les killer cell immunoglobulin-like receptors (KIR). Ces récepteurs détectent la présence de molécules de classe I du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) sur les cellules cibles et inhibent ainsi l'activation des cellules NK. Les cellules saines expriment des molécules du CMH de classe I à leur surface et sont ainsi protégées de la lyse par les cellules NK^{121,122}.

Des récepteurs activateurs sont également exprimés à la surface des cellules NK. Parmi eux, on retrouve NKG2D, les natural cytotoxicity receptors (NCR) et le CD16. Le récepteur NKG2D ainsi que les NCR se lient à des molécules exprimées par des cellules infectées ou transformées. Le CD16 se fixe à la portion Fc des immunoglobulines (Ig) et permet l'activation des cellules NK via un processus de cytotoxicité dépendante des anticorps¹²¹.

Une fois activées, les cellules NK peuvent lyser les cellules tumorales (par les voies Perforine/Granzyme, Fas-FasL, TRAIL) ou bien proliférer et produire des cytokines (IFN γ , GM-CSF, TNF α) et des chimiokines (CCL3, CCL4, CCL5.....). Les cytokines et chimiokines produites peuvent participer au recrutement et à l'activation d'autres cellules immunitaires (**Figure 28**)^{119,123}.

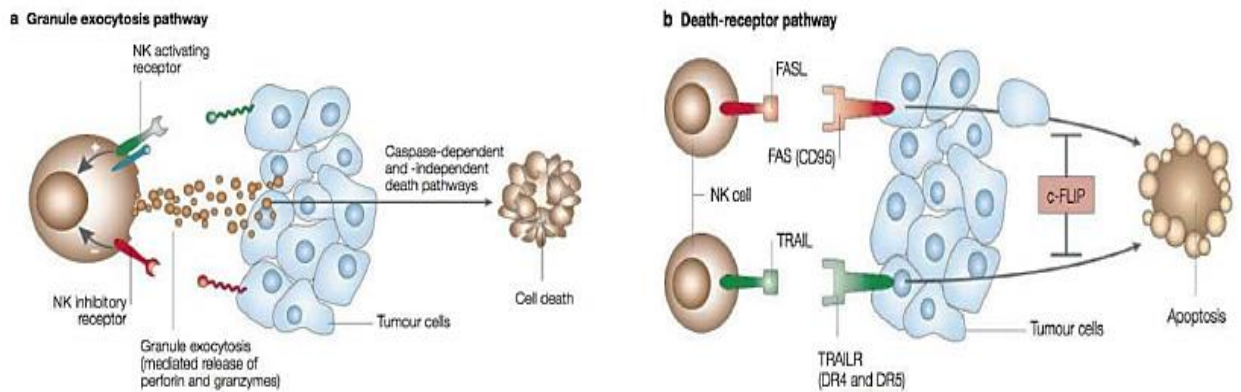


Figure 28 : Voies d'apoptose des cellules tumorales par les cellules NK.

a- Lyse via l'exocytose de granules cytotoxiques.

b- Lyse directe via le couple récepteur/ligand de la famille des TNF.

D'après Berzins et al ¹²³.

6.2.2. Les lymphocytes T

Les lymphocytes T (LT) appartiennent au système immunitaire adaptatif et constituent l'autre population majeure de l'immunité anti-tumorale.

L'activation des LT ne se fait pas directement par la reconnaissance de l'antigène exprimé par la cellule tumorale. En effet, les LT naïfs (n'exprimant pas de chimiokines) recirculent uniquement au sein des organes lymphoïdes secondaires comme les ganglions lymphatiques ou la rate. Ils ne peuvent donc pas interagir avec les cellules tumorales au sein des tissus périphériques.

Ce sont les cellules dendritiques (CD) qui vont jouer un rôle majeur dans l'activation des lymphocytes. Les CD sont des cellules présentatrices d'antigène (CPA), professionnelles, constituant un groupe de cellules très hétérogènes notamment concernant leur statut de différenciation. Les CD immatures sont des cellules sentinelles, disséminées dans la plupart des tissus et notamment des tumeurs qui ont une forte aptitude aux mécanismes d'endocytose et de phagocytose^{119,120,124}.

Au sein de la tumeur, elles vont internaliser les antigènes exogènes provenant des corps apoptotiques des cellules tumorales. Ces derniers sont issus de la mort des cellules tumorales par action des cellules du système immunitaire inné (type NK) et des facteurs de stress cellulaire induisant des dommages cellulaires.

Ces dommages cellulaires sont également responsables de la libération de signaux de danger comme les protéines de « shock » thermiques qui vont induire la maturation des CD et l'acquisition de molécules chimiokines qui vont entraîner leur migration vers le ganglion drainant^{13,125}. C'est à ce moment que l'activation des LT se fait (**Figure 29**).

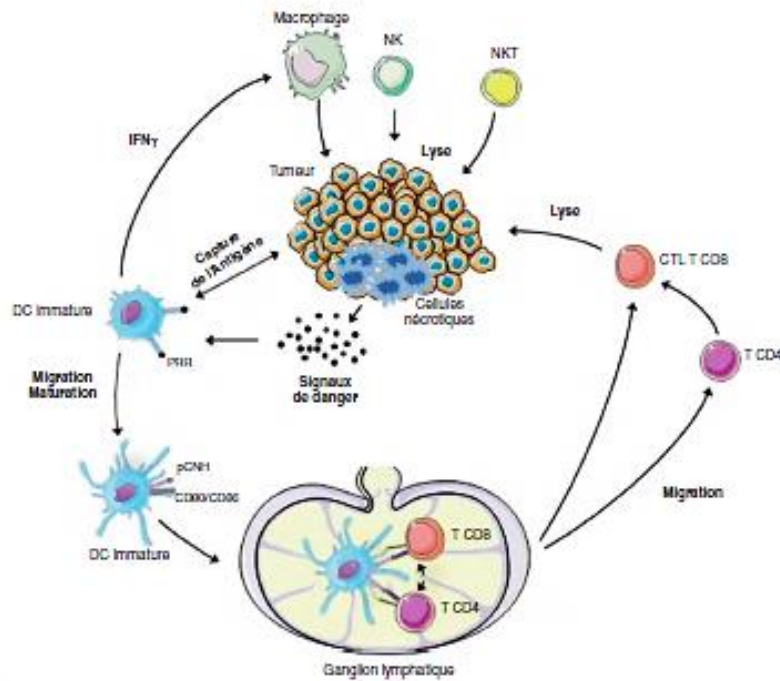


Figure 29 : La réponse anti-tumorale, mécanisme d'activation des Lymphocytes T
D'après Leduc et al²⁹

Les CD possèdent 2 grandes voies de dégradation de l'antigène¹²⁴ :

- La voie endosomale conduit à la dégradation des antigènes exogènes et à la présentation des fragments peptides par les molécules de CMH classe II. Ces fragments vont être reconnus par les LT CD4.
- La voie cytosolique va quant à elle, permettre la dégradation des antigènes endogènes et à la présentation des fragments peptides par les molécules de CMH classe I. Ces fragments vont être reconnus par les LT CD8.

Les LT ainsi activés vont acquérir de nouveaux profils d'expression de récepteurs aux chimiokines qui va leur permettre de migrer au sein du site de la tumeur.

➤ Lyse des cellules tumorales

-Les LT CD4 sont capables d'une activité cytotoxique directe (via leur reconnaissance antigénique médiée par le CMH de type II) ou indirecte (en favorisant la production d'anticorps ou la persistance de la réponse lymphocytaire T CD8) contre la cellule tumorale. Différentes populations de LT CD4 sont décrites et caractérisées par leur capacité de sécrétion de cytokines qui vont réguler leur propre différenciation mais aussi agir sur les autres cellules de l'immunité selon un effet dit « auxiliaire » ou « helper »^{116,119}.

-Les LT CD8 sont les principales cellules T cytotoxiques. Ces lymphocytes utilisent deux voies principales pour tuer les cellules tumorales¹²⁶ :

- La première voie, dite perforine/granzyme, fait appel à un ensemble de molécules et à une cascade d'événements qui conduisent à l'apoptose (ou mort cellulaire programmée) de la cellule tumorale. La perforine sécrétée par les LT CD8 crée des pores à la surface de la cellule cible et permet la pénétration d'enzymes, en particulier les granzymes, qui clivent en aval d'autres molécules, les caspases, et induisent l'apoptose.
- La deuxième voie implique une interaction entre des ligands (exprimés par les LT CD8) et leurs récepteurs (exprimés par les cellules tumorales) appartenant à la famille des tumor necrosis factor — tumor necrosis factor receptor (TNF-TNFR) tels que Fas-FasL ou TRAIL-DR5. Ces interactions conduisent à une cascade d'événements intracellulaires qui aboutit à l'apoptose de la cellule tumorale.

Enfin, les LT CD8 libèrent des cytokines telles que le TNF et l'interféron- γ (IFN- γ) qui ont une action cytotoxique lorsqu'elles sont libérées à proximité des cellules cibles.

Cependant, l'activation des LT est contrebalancée par des mécanismes de régulation négative reposant sur l'augmentation de l'expression des molécules de co-inhibition (MCI) après leur activation (CTLA-4, PD-1, Tim-3, Lag3, . . .)^{13,117}.

Ces MCI ne sont pas retrouvées sur les LT au repos (**Figure 30**).

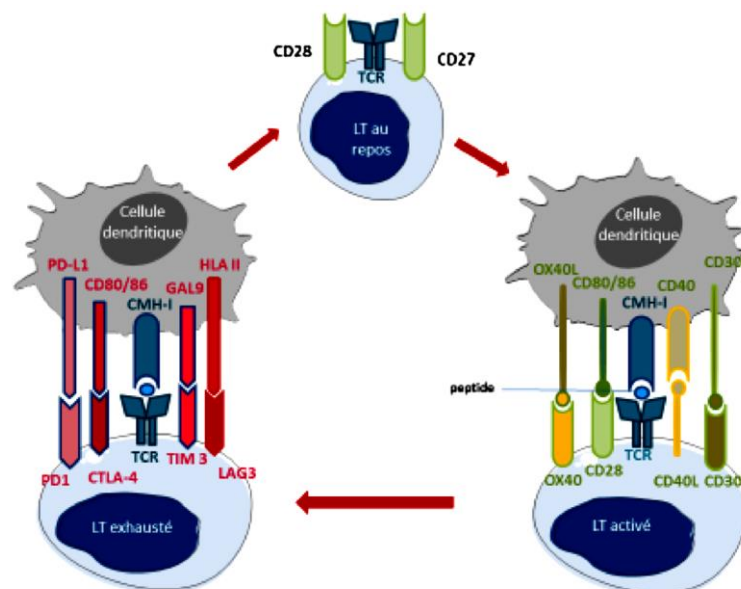


Figure 30 : Molécules de co-stimulation activatrices et inhibitrices au cours de l'activation des LT. Au repos, le LT exprime des molécules de co-stimulation activatrices (CD28, CD27). Au cours de l'activation lymphocytaire, d'autres molécules de co-stimulation activatrices puis inhibitrices vont être exprimées. Les molécules de co-stimulation inhibitrices permettent le retour à l'homéostasie des LT

D'après Granier et al¹¹⁷

Physiologiquement, ces molécules inhibitrices permettent d'éviter un emballement de la réponse immunitaire par rétrocontrôle négatif. Leur présence permet d'induire une tolérance

périphérique (dans le cas de la grossesse par exemple, il a été démontré que le placenta exprimait certaines de ces molécules : PD-L1) et de lutter contre les risques d'auto-immunité.

En absence de persistance de l'antigène, l'expression des MCI diminue et est transitoire. En revanche, au cours d'une stimulation antigénique chronique, comme une infection virale chronique ou les cancers, il existe une persistance d'expression de ces molécules par les LT^{13,117}.

Cette expression entraîne une perte de fonctionnalité de ces cellules et leur confère un état dit d'anergie, d'épuisement ou d'exhaustion. Les LT peuvent co-exprimer plusieurs molécules de co-inhibition entraînant différents niveaux de dysfonctionnement, comme la perte de leurs fonctions effectrices ou de leur capacité à induire des LT mémoires^{12,116,122}.

Les molécules de co-stimulation ou co-inhibition appartiennent à deux grandes familles de récepteurs-ligands composées de nombreuses molécules activatrices ou inhibitrices¹¹⁶:

- La super famille des immunoglobulines qui comprend la famille des B7-CD28 composée de molécules à activité stimulatrice (CD80-CD86/CD28, ICOSL/ICOS) et inhibitrice (CD80-CD86/CTLA-4, PD-L1-PD-L2/PD-1) et d'autres molécules à activité inhibitrice comme TIM3, TIGIT et LAG3. Cette famille est caractérisée par sa structure type immunoglobuline, domaine décrit à l'origine sur les anticorps composés d'un domaine extracellulaire de la super famille des immunoglobulines (IgV) et un domaine cytoplasmique pouvant contenir deux motifs tyrosine particuliers : un motif tyrosine-based inhibitory motif (ITIM) qui transduit un signal inhibiteur et un motif immuno receptor tyrosine-based switch motif (ITSM) associé à un signal d'adaptation.
- La super famille des TNF-récepteur qui a une action principalement co-stimulatrice (OX40L-OX40, CD40/CD40L, GITRL/GITR, HEVM, CD30L-CD30, 4-1BBL/4-1BB). Elle active d'autres voies de signalisation : activant la survie (voies Bcl-2, Bcl-X par exemple), l'inflammation ou pouvant activer des récepteurs de mort cellulaire.

Ces régulateurs clés de l'activation des LT, de la tolérance ou de leur inhibition sont présents à la surface des LT et sur d'autres cellules immunitaires¹¹⁶. Leurs ligands peuvent être présents sur de nombreux types cellulaires, en premier lieu les cellules présentatrices d'antigène (CPA) (**Figure 31**).

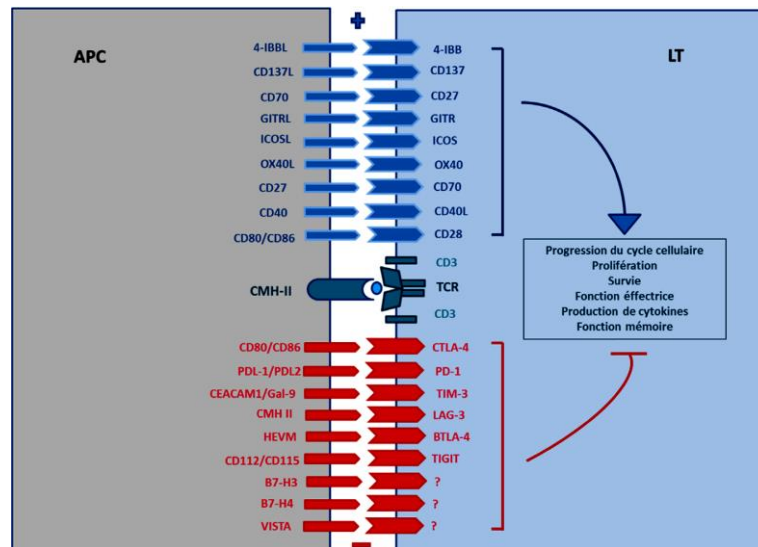


Figure 31 : Les différents immune checkpoint co-activateur (bleu) et co-inhibiteur (rouge) identifiés
D'après Granier et al ¹¹⁷

L'expression de ces récepteurs varie au cours de la réponse immunitaire. Certains interviennent dans la phase d'initiation précoce de la réponse immunitaire dit de « priming » des LT au sein des organes lymphoïdes comme co-activateur (CD28, CD137, CD27, OX40) ou comme co-inhibiteur (CTLA-4). D'autres vont intervenir au sein des tissus périphériques dans la tumeur comme co-activateur (CD137, CD27, OX40) ou comme co-inhibiteur (PD-1, LAG3, . . .). Leurs modulations sont des nouveaux axes thérapeutiques majeurs pour le traitement du cancer, des maladies auto-immunes, de maladies infectieuses ou du rejet de greffe.

6.3.La « Théorie des 3^E »

De nombreuses études expérimentales et épidémiologiques ont permis de démontrer que le système immunitaire était important dans le contrôle du développement tumoral et ont appuyé le concept d'immuno-surveillance anti-tumorale selon lequel le système immunitaire pouvait reconnaître et éliminer des cellules tumorales naissantes.

La théorie de l'immuno-surveillance a récemment évolué vers la théorie de l'« immunoediting » ou théorie des « 3^E » (**Figure 32**). Cette théorie, proposée par R. Schreiber, suppose que l'interaction entre le système immunitaire et la tumeur évolue en 3 phases : une phase d'élimination, puis d'équilibre et enfin d'échappement^{122,127-129}.

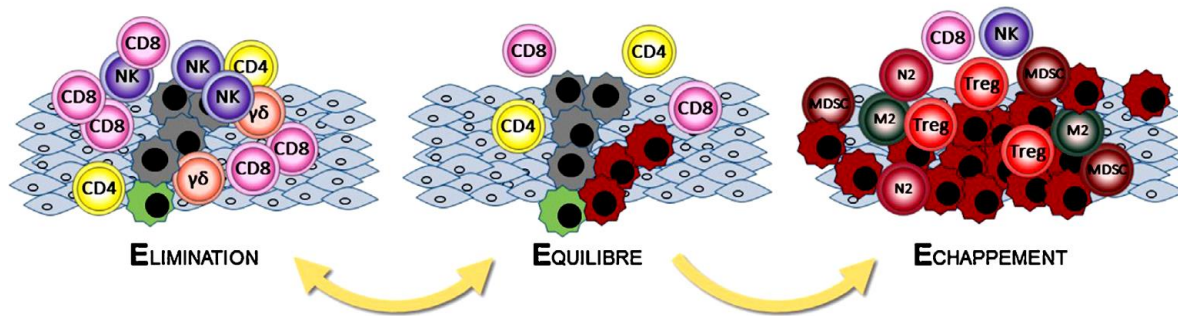


Figure 32 : La théorie constituant les 3 « E » de l'immunosurveillance
D'après Dunn et al.¹²⁷

La première phase ou phase d'élimination consiste en la détection et l'élimination des cellules tumorales par les effecteurs de l'immunité innée et adaptative dont les principaux effecteurs ont été évoqués précédemment. Les cellules tumorales peuvent alors être totalement ou partiellement éliminées.

Si toutes les cellules tumorales ne sont pas complètement lysées, une deuxième phase intervient : c'est la phase d'équilibre, lors de laquelle, l'équilibre est maintenu entre les cellules tumorales restantes et le système immunitaire. Le système immunitaire va, en effet, contrôler les cellules tumorales, sans parvenir à les détruire. Elles vont alors se trouver dans un état de dormance.

Une pression immunitaire va s'exercer sur ces cellules tumorales. Il en résulte une sélection de clones tumoraux qui vont avoir la capacité d'échapper au contrôle de l'immunité. Ceci aboutit à la troisième phase : la phase d'échappement. Durant cette phase, les cellules tumorales ont acquis des propriétés leur permettant de se rendre invisible au système immunitaire¹¹⁶.

6.4.Mécanismes d'échappement des cellules tumorales au système immunitaire

6.4.1. Modifications intrinsèques de la cellule tumorale

6.4.1.1.Action sur la présentation des antigènes tumoraux

Un des mécanismes les plus importants est la diminution voir l'absence complète d'expression des molécules de CMH de classe I (et éventuellement de classe II) à la surface des cellules tumorales avec pour conséquence une diminution de la présentation des antigènes tumoraux conduisant à une absence de reconnaissance de la cellule tumorale par les LT CD8. Les mécanismes moléculaires responsables de ces anomalies sont nombreux : les délétions partielles ou totales ou des mutations ponctuelles des gènes de CMH de classe I ; des anomalies du gène ou de la synthèse de la β2-microglobuline ou des molécules TAP^{122,130}. Toutes ces altérations aboutissent à une perte totale ou partielle des capacités de présentation antigénique par les cellules tumorales.

6.4.1.2. Résistance des cellules tumorales à l'apoptose

Les cellules tumorales peuvent s'échapper à la mort du fait de la perte ou de la diminution de Fas. De plus, elles peuvent sur-exprimer des molécules anti-apoptotiques (Bcl-2, c-Flip) ce qui va les protéger de la lyse par les LT CD8. L'activité apoptotique induite par TRAIL est également souvent inhibée par les cellules tumorales suite à de nombreuses mutations ou perte d'expression de gènes impliqués dans la cascade des caspases^{13,131}.

6.4.2. Création d'un microenvironnement suppresseur

Les cellules tumorales peuvent également favoriser le développement d'un microenvironnement suppresseur, c'est-à-dire empêchant le développement d'une réponse immunitaire efficace. Ainsi, elles peuvent produire des cytokines immunosuppressives telles que le TGF β , l'IL-10, le VEGF, l'IDO qui peuvent inhiber l'activation des effecteurs de l'immunité anti-tumorale¹¹⁶.

Les tumeurs peuvent également favoriser le recrutement ou la différenciation de cellules suppressives d'origine myéloïde (dendritiques, macrophages, cellules myéloïdes suppressives, neutrophiles) ou lymphoïde (lymphocytes T régulateurs) dans le microenvironnement tumoral¹¹⁹.

A. Les cellules dendritiques (CD)

Les tumeurs peuvent agir sur les CD soit en modulant leur maturation (par blocage de la maturation) soit en induisant la différenciation des CD régulatrices. Ce blocage de maturation est associé à la production de différents facteurs par la tumeur (VEGF, IL-10, TGF β). Ce phénotype immature est associé à une altération des fonctions de présentation d'antigènes et de la capacité à activer les lymphocytes T spécifiques d'antigènes tumoraux, ce qui résulte en une anergie des LT^{116,122,127}. Ces CD immatures de par l'expression de TGF β peuvent également induire la différenciation de lymphocytes T régulateurs (LTreg). D'autre part, les tumeurs peuvent induire l'accumulation de CD régulatrices possédant des propriétés immunosuppressives. Les CD régulatrices peuvent inhiber l'activation des LT via l'expression de molécules régulatrices telles que PD-L1. Elles peuvent aussi produire des facteurs suppresseurs comme l'arginase qui dégrade les acides aminés essentiels pour la survie des LT dans le microenvironnement tumoral^{122,125,131}.

B. Les macrophages infiltrant les tumeurs (TAM)

Le microenvironnement influence la polarisation des macrophages en macrophages de type M1 et M2. Les macrophages de type M1 jouent un rôle clé dans le contrôle des infections, et produisent des cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , TNF α , IL-6) et de fortes quantités d'IL-12. Les macrophages de type M2 ont des propriétés immunosuppressives. Ils sont caractérisés par une forte production d'IL-10 mais une faible production d'IL-12^{119,132,133}.

Ces macrophages de type M2 sont, quant à eux, impliqués dans la résolution de l'inflammation, la cicatrisation, l'angiogenèse et le remodelage tissulaire. Au cours de l'évolution de la tumeur, les TAM vont basculer d'une polarisation au départ de type M1 vers une polarisation de type M2-like. Ils présentent alors des propriétés immunosuppressives en

particulier d'inhibition des effecteurs de l'immunité via la production de molécules immunosuppressives et l'expression de PD-L1¹³⁴.

C. Les neutrophiles associés aux tumeurs (TAN)

Les premières cellules arrivant sur le site inflammatoire sont les neutrophiles. On les retrouve au sein du microenvironnement tumoral, mais leur rôle reste débattu. Il semble en effet que ces neutrophiles infiltrant la tumeur (TAN) puissent avoir un rôle, soit anti-tumoral, soit pro-tumoral. Ceci a mené à une classification de type N1 et N2 en miroir avec la classification des macrophages^{122,135}.

Les neutrophiles de type N1 sont caractérisés par une activité cytotoxique et des capacités immunostimulantes telles que la production de cytokines en particulier du TNF α . Les neutrophiles de type N2 ont un rôle pro-tumoral de par leur capacité à produire des réactifs oxygénés (ROS), des dérivés d'oxyde nitrique (NO)¹³⁵. Les neutrophiles de type N2 peuvent également influencer le microenvironnement tumoral et en particulier la vascularisation de la tumeur grâce à la production de facteurs pro-angiogéniques comme le VEGF¹³⁵. Le TGF β produit par la tumeur pourrait permettre de passer d'un phénotype de type N1 à un phénotype de type N2¹³⁶.

L'association entre l'infiltration des tumeurs par les neutrophiles et le pronostic des patients est sujette à controverse mais semble liée au type de tumeur. Chez les patients atteints de cancer du poumon à un stade précoce, l'infiltration de la tumeur par les neutrophiles est associée à un bon pronostic^{134,135}.

D. Cellules myéloïdes suppressives

Ces cellules regroupent des progéniteurs myéloïdes et des cellules immatures d'origine myéloïde. Chez l'homme, elles sont caractérisées par l'expression du marqueur myéloïde CD33, l'absence de marqueur de lignée¹¹³ et l'absence ou la faible expression de molécule du CMH de classe II¹¹⁹. Ces cellules ont la capacité d'inhiber les LT CD8 via la déplétion des nutriments nécessaires aux LT, et la génération d'un stress oxydatif par l'expression de NADPH oxydase et de NO synthase inductible¹³⁷. Les cellules myéloïdes suppressives peuvent également bloquer l'activation des cellules NK via l'expression à leur membrane de TGF β . D'autre part, elles ont la capacité d'induire la différenciation de LT régulateurs en induisant une conversion de LT CD4+ conventionnels en LT régulateurs¹³⁷.

E. Lymphocytes T régulateurs

Les lymphocytes T régulateurs (LT reg) contrôlent les LT auto-réactifs empêchant ainsi le développement de maladies auto-immunes. En présence d'une tumeur, ces LT reg s'accumulent en particulier au sein de la tumeur. Ils sont caractérisés par l'expression du CD4, CD25 et du facteur de transcription Foxp3¹³⁸.

Ces cellules ont un rôle majeur dans l'immunosuppression induite par les tumeurs. Elles peuvent inhiber la réponse immunitaire anti-tumorale par différents mécanismes : inhiber les cellules présentatrices d'antigènes en particulier les CD via l'expression du CTLA-4, sécrétion de cytokines immunosuppressives telles que l'IL-10, le TGF β , ou l'IL-35,

l'expression de perforine et granzyme, la consommation d'IL-2 par le CD25 exprimé à leur surface permettent aux LT reg d'inhiber l'activation des LT CD8¹³⁹.

6.4.3. Epuisement des lymphocytes T

Au cours du développement du cancer, le système immunitaire va peu à peu s'épuiser et les LT CD8+ notamment ne vont plus être capables de lyser les cellules tumorales. On peut distinguer différents niveaux d'épuisement tels que l'anergie et l'exhaustion¹⁴⁰.

L'anergie est un état de non réponse des LT (CD4 et CD8) qui résulte de l'engagement du complexe CMH-peptide-RcT en l'absence de molécules de co-stimulation. Cela se traduit par l'incapacité des LT à proliférer et à exercer des fonctions cytotoxiques. De même, les CD au sein du microenvironnement deviennent tolérogènes car elles expriment un phénotype de cellules immatures (exprimant de faible niveau de co-stimulation), ce qui conduit également à l'anergie des lymphocytes T^{116,122}.

La stimulation chronique des LT CD8+ par l'antigène tumoral conduit quant à elle à leur épuisement (exhaustion), lequel se traduit également par une perte des fonctions cytotoxiques et de sécrétion de cytokines. De même, de nombreux éléments au sein du microenvironnement tumoral vont conduire à l'épuisement des LT : persistance de l'antigène, des cellules et des facteurs immuno-suppressifs, tels que les LT reg, les cytokines (IL-10, TGFβ, VEGF)^{13,125}.

L'épuisement des LT CD8+ est accompagné d'une forte expression de molécules inhibitrices exprimées à leur surface telles que PD-1 et CTLA-4. Il a été démontré que cette expression est associée à des stades d'épuisement de plus en plus avancés¹¹⁶.

6.5. Voie PD1/PDL1 dans le cancer

Le récepteur PD-1 ou CD279, est un membre de la famille B7-CD28. Il s'agit d'un récepteur de co-inhibition exprimé à la surface cellulaire des LT, lymphocytes B, monocytes et cellules NK. Il est absent sur les LT naïfs, et est induit à la surface des LT après l'engagement du TCR^{12,27}. Ce récepteur possède 2 ligands : PDL1 (aussi appelé B7-H1 ou CD274) et PDL2 (aussi appelé B7-DC ou CD273). Ces 2 ligands ont un domaine extracellulaire et un court domaine intracellulaire¹²².

PD-L1 est le ligand principal de PD-1, car il est beaucoup plus représenté que PD-L2¹². A l'état physiologique, PD-L1 est exprimé par les lymphocytes activés (T, B, NK), les macrophages, les cellules dendritiques et les mastocytes mais également sur une grande variété de cellules non immunitaires incluant les cellules trophoblastiques du placenta, les cellules endothéliales, les cellules des îlots pancréatiques, le muscle, les hépatocytes, les épithéliums, les cellules souches mésenchymateuses^{27,141}.

Dans le contexte de cancer, l'expression de PD-L1 par les cellules tumorales ou du stroma constitue l'un des mécanismes d'échappement à l'immunosurveillance responsable de l'inhibition de la réaction immune antitumorale de l'hôte et de l'anergie voire de l'élimination des LT effecteurs infiltrant la tumeur^{12,27}.

Trois mécanismes principaux ont été identifiés comme régulateurs de l'expression tumorale de PD-L1¹³¹ (Figure 33) :

- Un mécanisme adaptatif : l'expression de PD-L1 étant physiologiquement inducible en présence d'IFN γ , lui-même sécrété par les LT activés et les NK activés. Des cytokines comme l'IL-2 peuvent également induire son expression. L'expression de PD-L1 dans ce contexte correspond à un mécanisme d'adaptation secondaire des tumeurs à la réaction immunitaire anti tumorale et constitue aussi bien un marqueur de l'activation de l'immunité adaptative qu'un mécanisme de résistance à cette dernière.
- Un mécanisme oncogénique, l'expression de PD-L1 pouvant être secondaire à des événements oncogéniques intracellulaires comme l'activation de la voie de signalisation (p13K-AKT), des altérations chromosomiques et des amplifications de gènes entraînant l'expression intrinsèque de PD-L1 par les cellules tumorales. L'expression de PD-L1 correspond alors à un mécanisme de résistance à l'immuno-surveillance mise en place par la cellule tumorale et serait alors associée à un mauvais pronostic.
- Un mécanisme secondaire à l'hypoxie, il peut également être induit à la surface de cellules immunosuppressives par l'HIF (HypoxiaInducible Factor), molécule intervenant dans la vascularisation tumorale, elle-même induite par l'absence d'oxygène.

Ces mécanismes d'expression peuvent également co-exister.

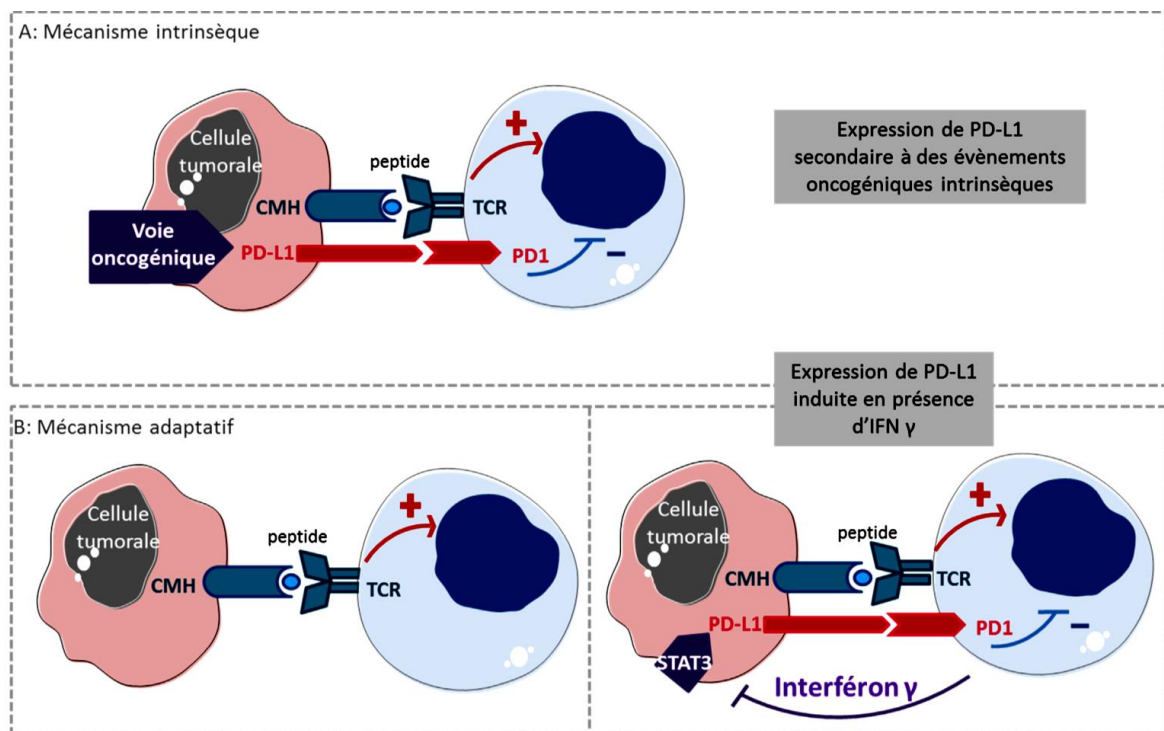


Figure 33 : Principaux mécanismes régulateurs de l'expression tumorale du PD-L1
D'après Granier et al¹¹⁷

Le rôle majeur de la voie PD1/PDL1 dans la résistance des cellules tumorales au système immunitaire a fait de cette voie une piste thérapeutique privilégiée. En effet l'inhibition de l'interaction entre PD-1 et PD-L1 peut stimuler l'action des lymphocytes T in vitro et déclencher leur activité antitumorale¹⁷.

7. PD-L1 et le pathologiste

7.1. Prélèvement à utiliser pour déterminer le statut PD-L1

L'expression de PD-L1 peut être testée sur biopsie (bronchique ou transpariétale) ou sur prélèvement chirurgical ou même à partir d'un prélèvement cytologique après confection d'un cytobloc^{28,142-145}. Elle peut être évaluée sur la tumeur principale ou le site métastatique et lors de l'évolution métastatique ou de la récurrence^{146,147}.

L'expression de PD-L1 est souvent hétérogène et peut être modulée par certains traitements^{16,148}. Pour cela, un nouveau prélèvement tumoral peut être demandé par le clinicien pour une nouvelle évaluation de l'expression de PD-L1, en particulier si le premier prélèvement était négatif. Il est préférable de privilégier le prélèvement le plus récent par rapport à la décision d'administrer le traitement, et celui renfermant la plus grande quantité de cellules tumorales analysables^{142,149}.

La qualité et la quantité du matériel obtenu devront être prises en compte dans l'analyse du résultat en particulier le nombre de cellules tumorales qui doit être supérieur à 100 cellules évaluables^{142,150}.

Le risque de faux négatif lié à l'hétérogénéité de l'expression du PD-L1 concerne les prélèvements biopsiques. Ce risque n'est pas retrouvé sur les pièces opératoires où l'expression est le plus souvent homogène entre les différents blocs tumoraux^{25,26}.

Cependant, si l'évaluation de l'expression du PD-L1 doit être appréciée sur les cellules immunitaires, il est préférable de choisir un bloc contenant le plus de cellules inflammatoires et visualisant de préférence l'interface tumeur et tissu sain.

Il existe également une hétérogénéité d'expression entre site tumoral primitif et métastases avec en moyenne 75 % de concordance entre les différents prélèvements¹⁴⁶.

Enfin les traitements de chimiothérapie et de radiothérapie pourraient modifier l'expression de PD-L1, avec des conclusions variables selon les études et une concordance globale de 67 % entre les prélèvements réalisés avant ou après chimiothérapie¹⁵¹⁻¹⁵³.

Les inhibiteurs de tyrosine kinase pourraient diminuer l'expression de PD-L1 des tumeurs EGFR mutées^{154,155}.

7.2. Indication du testing PD-L1 dans les CPNPC

Le test PD-L1 doit être réalisé systématiquement dès le diagnostic de CPNPC localement avancé ou métastatique sans attendre la prescription du clinicien, afin de permettre une prise en charge rapide du patient¹⁵⁶.

L'utilisation rationnelle des prélèvements de petite taille est souhaitable en favorisant l'inclusion des fragments dans plusieurs cassettes et en réalisant d'emblée plusieurs lames blanches pour ne pas avoir à dégrossir à nouveau le bloc (se référer au chapitre prise en charge des prélèvements biopsiques et gestion du matériel biopsique).

Il faut notamment prévoir un nombre suffisant de lames pour l'IHC diagnostique et thérapeutique (ALK, ROS1 et PDL1) et la technique d'hybridation in situ FISH (pour ROS1), tout en conservant du matériel pour la biologie moléculaire s'il s'agit d'un CPNPC non épidermoïde.

La **Figure 34** résume la place du test IHC PDL-1 dans les algorithmes diagnostiques et thérapeutiques des CPNPC selon les recommandations du groupe PATTERN de pathologie thoracique 2018.

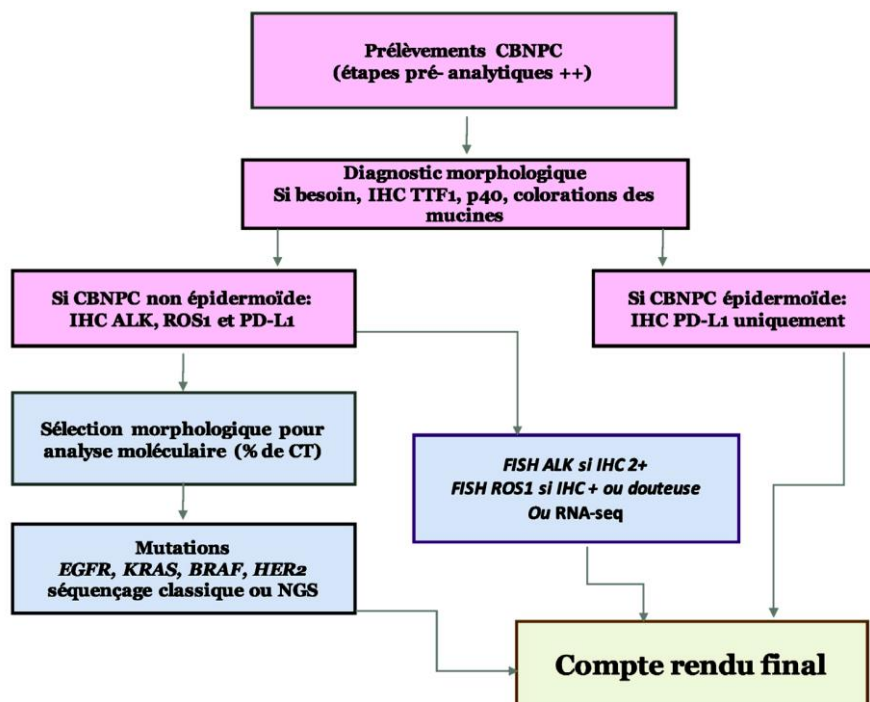


Figure 34 :Place des tests immunohistochimiques PD-L1 dans la prise en charge des cancers du poumon non à petites cellules :recommandations par le groupe PATTERN de pathologistes thoraciques¹⁵⁶

Comme déjà précisé, un minimum de 100 cellules tumorales analysables est recommandé. Cependant, il est possible de réaliser un test PD-L1 si le nombre est inférieur à 100 en émettant des réserves concernant la représentativité du prélèvement.

Selon les études, 95 % des biopsies sont adéquates pour le test PD-L1 avec des résultats comparables entre biopsies et pièces opératoires si elles comportent plus de 100 cellules tumorales¹⁴³.

7.3. Impact de la phase pré-analytique sur l'expression immunohistochimique du PD-L1

La durée de fixation présente un impact significatif sur le marquage en IHC. Une fixation par l'alcool-formol-acide acétique (AFA) altère de manière significative les épitopes de PD-L1 reconnus par plusieurs anticorps. Les prélèvements doivent être fixés dans le formol neutre tamponné à 10 % durant 6 à 48 heures, en utilisant un volume de fixateur suffisant¹⁵⁶.

En effet, une analyse préliminaire utilisant l'anticorps anti PD-L1 SP142 montre que le niveau d'expression de PD-L1 est très sensible à des temps de fixation inférieurs à 6 h et à des temps longs de fixation, en particulier supérieurs à 48 h^{16,28}.

L'utilisation d'une paraffine à point de fusion bas (inférieur à 60°C idéalement 55-58°C) est recommandée¹⁵⁷.

D'une manière générale, la décalcification des échantillons tissulaires est à éviter le plus possible car elle est souvent délétère pour les techniques complémentaires (IHC, ISH, biologie moléculaire) du fait de l'altération des acides nucléiques et des protéines qu'elle induit. Pour cette raison, il est recommandé de ne pas utiliser les échantillons décalcifiés pour évaluer le statut PD-L1. Si une décalcification s'avère nécessaire, il est préférable d'utiliser l'EDTA à 10 % (chélateur de calcium) afin de limiter l'impact sur les techniques d'IHC.

Le délai entre la coupe et la fixation ainsi que les conditions de conservation des lames blanches peuvent aussi influencer l'expression immunohistochimique. Il est recommandé d'effectuer le marquage PD-L1 sur des coupes fraîchement coupées ou au moins ne datant pas de plus de 6 mois. Il n'existe pas d'étude ayant évalué spécifiquement l'impact de la durée et des modalités de conservation des lames sur le marquage PD-L1 mais dans les guides d'interprétation des différents tests, un délai maximum de conservation de 2 mois pour le test SP142 (Ventana PD-L1 SP142 Assay, Ventana Medical Systems Inc.), de 4 mois pour le test 28-8 PharmDx (Agilent Technologies/Dako) et de 6 mois pour le test 22C3 Pharm Dx (Agilent Technologies/Dako) est recommandé¹⁵⁸.

Il faut privilégier un délai de conservation des lames, le plus court possible, d'une semaine par exemple, compatible avec l'initiation des techniques IHC, FISH ou de biologie moléculaire.

Comme pour le reste des marqueurs à visée théranostique, il est recommandé de valider régulièrement la technique d'IHC du PD-L1. Il est conseillé d'effectuer un bilan régulier du nombre de cas négatifs, faiblement positifs ou fortement positifs afin de s'assurer que¹⁵⁶ :

- le nombre de tumeurs testées avec moins de 1 % de CT marquées n'excède pas 50 % de l'ensemble des prélèvements,
- et que le nombre de tumeurs avec plus de 50 % de CT marquées représente au moins 20 % des tumeurs testées.

Les échantillons qui serviront de témoins externes doivent avoir été pris en charge selon les mêmes conditions pré-analytiques que les échantillons testés. Afin de s'assurer de la reproductibilité de la technique d'IHC, des fragments de témoins externes positif et négatif

doivent être inclus sur chaque lame. Si cela n'est pas possible, il faut prévoir une lame de témoins externes au cours de chaque cycle de marquage.

Les témoins externes permettent de contrôler l'intensité du marquage et de détecter des variations éventuelles de la sensibilité du test.

Des blocs témoins peuvent être faits avec de l'amygdale normale ou avec des tumeurs déjà testées ayant montré une expression variable du PD-L1 et traitées dans les mêmes conditions que les échantillons à tester. Idéalement, les témoins doivent être coupés en même temps que le prélèvement à tester. La date de coupe devra être indiquée sur la lame.

Le tissu placentaire (cellules trophoblastiques) est à éviter comme témoin positif externe en raison d'un très haut niveau d'expression du PD-L1, qui ne permet pas de détecter les faibles niveaux d'expression et donc un manque de spécificité du test IHC.

7.4. Evaluation du marquage

Avant toute interprétation, il est nécessaire de vérifier sur coloration standard HE la qualité (représentativité) du prélèvement ainsi que la quantité des cellules tumorales. En effet, une nécrose abondante qui peut générer un bruit de fond, des artefacts d'écrasement ou des effets de bordures liés au séchage, une fixation défectueuse ou une décalcification doivent être mentionnés et pris en compte pour l'interprétation. De même, une quantité de cellules tumorales inférieure à 100 doit être mentionnée et doit faire émettre des réserves sur la représentativité du prélèvement, voire conduire à considérer le prélèvement comme non adéquat pour la détermination du statut PD-L1.

L'interprétation du marquage PD-L1 des témoins internes et externes est requise aussi avant toute analyse. Le témoin positif externe permet de contrôler le protocole de l'étude IHC. Si le témoin externe positif est faiblement marqué ou négatif, la lame ne doit pas être interprétée. Quant au témoin négatif, il permet de s'assurer qu'il n'y a pas de marquage non spécifique de type bruit de fond ou marquage cytoplasmique.

Les témoins internes exprimant PD-L1 sont les cellules dendritiques et macrophages ainsi que certains sous-types de LT et B. Si ces cellules ne sont pas présentes sur le prélèvement, il est nécessaire de se référer au témoin externe.

7.4.1. Evaluation du marquage dans les cellules tumorales

Un marquage membranaire linéaire, complet ou non et quelle qu'en soit l'intensité, doit être pris en compte pour déterminer le pourcentage de cellules tumorales exprimant PD-L1^{158,159}.

L'analyse au faible grossissement ($\times 2$ ou $\times 4$) permet d'apprécier un marquage intense, et d'évaluer sa distribution homogène ou hétérogène sur la coupe. Les zones peu ou pas marquées à faible grossissement doivent être examinées à fort grossissement ($\times 10$ à 40) pour ne pas méconnaître un marquage membranaire incomplet et/ou de faible intensité.

7.4.2. Evaluation du marquage dans le microenvironnement

Les populations cellulaires du microenvironnement peuvent exprimer PD-L1. L'évaluation du niveau d'expression de PD-L1 au sein de la composante immunitaire se fait d'une façon «globale» sans discernement des différentes populations cellulaires (lymphocytes, cellules NK, CD, macrophages, polynucléaires neutrophiles ou éosinophiles, mastocytes) et seuls les macrophages intra-alvéolaires sont exclus¹⁶.

Les études récentes montrent qu'une réponse thérapeutique à certains anti-PD-L1 pourrait être corrélée au niveau d'expression de PD-L1 sur la composante immunitaire. Dans ce contexte, une étude montre que l'association d'une forte expression de PD-L1 sur les cellules tumorales et d'une faible expression de PD-L1 sur les cellules immunitaires serait de mauvais pronostic^{16,160}.

D'autres études ont exploré l'association entre l'expression du CD8 dans la population lymphocytaire avec une réponse au traitement et suggèrent que l'abondance de ces lymphocytes CD8 + est un facteur prédictif d'une bonne réponse^{19,161-163}.

7.5. Expression de PD-L1 dans les CPNPC

Une expression de PDL1 est identifiée dans 19 à 100 % des CPNPC selon les études, en fonction de la technique et les clones utilisés et des seuils adoptés¹⁶⁴.

En fait, ces différentes études ont utilisé des méthodologies très différentes, variant selon les caractéristiques cliniques des patients (stades tumoraux, localisations, traitements), le type d'échantillons étudiés (biopsies ou pièces opératoires, site primitif ou métastatique), les anticorps primaires utilisés, les méthodes d'évaluation et les seuils de positivité considérés. Cette hétérogénéité méthodologique peut expliquer des résultats discordants concernant l'association aux paramètres cliniques, histologiques et moléculaires^{21,165}.

Pour la voie PD1/ PD-L2, des données limitées publiées suggèrent que l'expression du PD-L2 peut influencer la réponse au traitement avec le Pemprolizumab et peut aussi expliquer quelques réponses positives de patients qui sont PD-L1 négatif¹⁶⁶.

7.6. Facteurs pouvant influencer sur l'expression du PD-L1

La réponse immunitaire anti-tumorale de manière générale et en particulier l'expression de PD-L1 peuvent être modulées par les chimiothérapies cytotoxiques, la radiothérapie ou les thérapies ciblées^{167,168}.

Les données sont à l'heure actuelle limitées et il n'est pas déterminé si la valeur prédictive de ce marqueur est la même sur un échantillon de tumeur « naïve » de tout traitement ou après modulation du microenvironnement tumoral par ces différents types de traitements.

L'association entre l'expression de PD-L1 et les principaux types histologiques de CPNPC (en particulier adénocarcinomes et carcinomes épidermoïdes) est variable selon les études, sans qu'une association manifeste ne soit observée²¹.

Il a été décrit un taux particulièrement élevé d'expression dans certains sous-types rares, comme les carcinomes sarcomatoïdes et les carcinomes de type lympho-épithélial¹⁶⁹⁻¹⁷².

Les études les plus récentes, en particulier ayant utilisé les anticorps développés dans le cadre des tests compagnons, ont trouvé une association entre l'expression de PD-L1, un antécédent de tabagisme, la présence de mutations activatrices du gène KRAS, une charge mutationnelle élevée et la présence de lymphocytes infiltrant les tumeurs. Ces différents paramètres sont associés entre eux et caractérisent un groupe de tumeurs agressives pour lesquelles peu d'altérations moléculaires correspondent à des cibles thérapeutiques^{19,21,173}.

L'efficacité des traitements ciblant PD-1 et PD-L1 dépend donc aussi très probablement, d'autres paramètres liés à la tumeur et à la réponse immunitaire, type histologique, altérations moléculaires, charge mutationnelle, infiltrats immunitaires spécifiques et d'autres facteurs qui pourraient être évalués en combinaison avec l'expression du PD-L1.

8. Facteurs pronostiques et histopronostiques du CPNPC

Le cancer du poumon est de mauvais pronostic. La précocité du diagnostic et la prise en charge chirurgicale de ce cancer demeurent le meilleur gage de curabilité.

La stadification du CPNPC est le facteur pronostique le plus objectif et le plus reproductible. Celui-ci prend en compte les éléments repris dans la classification TNM 8^{ème} édition : la taille de la tumeur (T), l'infiltration ganglionnaire lymphatique locorégionale (N) ainsi que la présence éventuelle de métastase (s) (M) (Annexes 6 et 7).

Outre le stade, les principaux facteurs cliniques pronostiques sont le PS et, dans une moindre mesure, l'âge, le genre ainsi que l'histoire tabagique.

Le PS serait le deuxième facteur pronostique le plus reproductible¹⁷⁴. Il évalue l'état clinique du patient ainsi que sa capacité à réaliser les activités quotidiennes.

L'âge, en particulier dans les stades avancés (notamment lorsqu'une chirurgie est contre-indiquée), constitue également un facteur pronostique péjoratif indépendant.

D'autre part, les femmes atteintes d'un CPNPC ont une survie globalement supérieure à celle des hommes atteints du même cancer, le sexe est donc considéré comme un facteur pronostique assez fiable¹⁷⁵.

Le tabac représente un facteur de mauvais pronostic indépendant, y compris après une chirurgie de résection. Outre son effet carcinogène connu, le tabac engendre de nombreuses comorbidités telles que la broncho-pneumopathie chronique obstructive (BPCO) ou les complications cardio-vasculaires, aggravant le pronostic¹⁷⁶⁻¹⁷⁸.

Il a été démontré que l'anémie, la leucocytose ainsi que la thrombocytose sont trois facteurs pronostiques influençant négativement la survie, aussi bien dans les stades avancés que dans les stades précoces. La constatation d'une anomalie combinée de ces trois lignées sanguines suggérerait une agressivité tumorale majorée et, donc, un pronostic péjoratif, y compris dans les stades précoces^{179,180}.

Il en est de même pour le taux sérique élevé des LDH qui est corrélé à un mauvais pronostic et à une résistance à la chimiothérapie et à la radiothérapie^{181,182}.

Certaines études suggèrent que les cellules d'un CPNPC sont capables de sécréter de l'IL-6, cytokine nécessaire à la synthèse de la CRP¹⁸³. Ce paramètre sanguin a été étudié chez des patients opérés et serait un facteur pronostique indépendant au sein des stades I et II. En effet, l'élévation de la CRP serait associée à un volume tumoral important (stade pT élevé) ainsi qu'à la présence d'embolies vasculaires¹⁸⁴.

Le type et le sous type histologiques seraient aussi des facteurs pronostiques indépendants, sans cependant être parfaitement reproductibles.

Le carcinome épidermoïde semble être un facteur favorable, notamment dans les stades IIIA¹⁷⁸. Néanmoins, la variante basaloïde du CE est, comme déjà citée, de mauvais pronostic.

Par ailleurs, la nouvelle classification des ADK proposée par l'IASLC, l'ATS et l'ERS et adoptée par la classification de l'OMS 2015 a un impact pronostic (se référer au chapitre : Implication pronostique et corrélation histomoléculaire des adénocarcinomes).

Les carcinomes sarcomatoïdes sont de mauvais pronostic^{105,106} contrairement au carcinome de type lympho-épithélial qui a, d'une façon globale, un pronostic meilleur que celui des CPNPC^{4,109}.

L'infiltration vasculaire et/ou lymphatique est considérée pour certains comme un facteur pronostique péjoratif en termes de rechute ou de décès^{185,186}.

Certains facteurs pronostiques sont souvent discutés dans la littérature, mais leur implication clinique demeure à préciser. Parmi eux figurent notamment le statut p53, les mutations KRAS et ALK, la surexpression de Ki67 ou encore l'expression d'EGFR, de VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) et de BCL-2.

9. Traitement

Le traitement du CPNPC dépend du stade de la maladie⁸¹ :

9.1. Stades I et II

- Patients opérables : La chirurgie d'exérèse doit être complète comportant un curage ganglionnaire complet. La lobectomie reste le standard.

La chimiothérapie post-opératoire systématique est indiquée chez tous les patients en bon état physique et physiologique pour les stades pII et pIII.

- Patients inopérables du fait d'une exploration fonctionnelle respiratoire médiocre ou porteurs de co-morbidité : Si l'état général du patient le permet, une radiothérapie à visée curative est recommandée.

9.2. Stades III A résécables chez des patients opérables

Deux attitudes peuvent être proposées :

- Chirurgie d'exérèse avec un curage ganglionnaire médiastinal complet, précédée de 2 à 4 cycles de chimiothérapie à base de Cisplatine, si l'état général du patient le permet et en l'absence de contre-indication.
- Chirurgie première avec chimiothérapie post-opératoire

Les dossiers doivent être discutés en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP).

En cas d'exérèse incomplète, une radiothérapie post-opératoire doit être systématiquement discutée.

9.3. Formes localement avancées (stades IIIA, IIIB, IIIC)

L'attitude thérapeutique dépend de la possibilité d'une résection complète de la tumeur.

Les stades IIIB et IIIC sont pour la plupart jugés inopérables.

Les limites de la résécabilité concernent les stades IIIA, en fonction de l'envahissement ganglionnaire homolatéral (N2).

Pour les stades IIIA non résécables, IIIB et IIIC ou patients non médicalement opérables, il y a lieu de réaliser une association de chimiothérapie et de radiothérapie si l'état du patient le permet.

9.4. Formes métastatiques - stade IV

La chimiothérapie permet d'augmenter la durée de vie et d'augmenter la qualité de vie.

Une recherche d'altérations moléculaires doit systématiquement être demandée si suffisamment de tissu a pu être obtenu pour le diagnostic.

9.4.1. Protocoles thérapeutiques de première ligne (en l'absence d'altération ciblable EGFR, ALK ou ROS1)

- En cas de positivité du PDL1 supérieure ou égale à 50 % et en absence d'altération ciblable (EGFR, ALK ou ROS1) l'utilisation du Pembrolizumab, 200 mg dose totale et unique, toutes les 3 semaines est recommandée.
- En cas de PDL1 < 50 % ou de contre-indication au Pembrolizumab, une chimiothérapie est indiquée associant le Pemetrexed pour les carcinomes non épidermoïdes.

9.4.2. Traitement de seconde ligne et ligne(s) ultérieure(s)

Il est recommandé de proposer un traitement de seconde ligne, dont la nature dépendra des molécules utilisées auparavant, du PS et de l'histologie :

- **Carcinomes épidermoïdes en 2^{ème} ligne et ligne(s) ultérieure(s)**
- **Patients traités par immunothérapie en 1^{ère} ligne :** Après immunothérapie en première ligne, il est recommandé d'utiliser les protocoles de chimiothérapie à base de sels de platine. Hors essai clinique, il n'est actuellement pas recommandé de proposer

une nouvelle immunothérapie en 2^{ème} ligne et plus chez des patients ayant déjà reçu une.

- **Patients n'ayant pas reçu d'immunothérapie en 1^{ère} ligne :** Il n'y a actuellement aucun argument scientifique solide pour privilégier une molécule d'immunothérapie par rapport à une autre :
 - Le Nivolumab a démontré une meilleure survie que le Docetaxel en 2^{ème} et 3^{ème} ligne des CE quel que soit le statut PDL1
 - Le Pembrolizumab a démontré aussi une supériorité par rapport au Docetaxel pour les patients dont le taux de PDL1 $\geq 1\%$.
- **Carcinomes non-épidermoïdes en 2^{ème} ligne et ligne(s) ultérieure(s)**
 - **Patients traités par immunothérapie en 1^{ère} ligne :** Après immunothérapie en première ligne, il est recommandé d'utiliser les protocoles de chimiothérapie à base de sels de platine. Hors essai clinique, il n'est actuellement pas recommandé de proposer une nouvelle immunothérapie en 2^{ème} ligne et plus chez des patients ayant déjà reçue une.
 - **Patients n'ayant pas reçu d'immunothérapie en 1^{ère} ligne :** Il n'y a actuellement aucun argument scientifique pour privilégier une molécule d'immunothérapie par rapport à une autre :
 - Le Nivolumab a démontré une survie globale supérieure au Docetaxel ; les patients n'étant pas sélectionnés sur le niveau du PDL1.
 - Le Pembrolizumab a démontré aussi une supériorité par rapport au Docetaxel pour les patients dont la tumeur exprimait le PDL1 à plus de 1%.

Les protocoles recommandés en première ligne dans les CBNPC non-épidermoïdes métastatiques, PS 0 ou 1, en l'absence d'altération ciblable (EGFR, ALK, ROS1) :

➤ **Si PDL1 $\geq 50\%$:**

- Pembrolizumab 200mg IV (dose unique) J1-22
- Platine (Cisplatine 75 mg/m² ou Carboplatine)
- Pemetrexed (500 mg/m²) – Pembrolizumab 200mg IV (dose unique) J1-22 ; suivie d'une maintenance par Pemetrexed et Pembrolizumab aux même doses jusque 35 cycles, ou progression, ou toxicité inacceptable.

➤ **Si PDL1 < 50% :**

- Platine (cisplatine 75 mg/m² ou Carboplatine)
- Pemetrexed (500 mg/m²) – Pembrolizumab 200mg IV (dose unique) J1-22 pour 4 cycles ; suivie d'une maintenance par Pemetrexed et Pembrolizumab aux même doses jusque 35 cycles, ou progression, ou toxicité inacceptable.

Protocoles recommandés en première ligne dans les CBNPC épidermoïdes métastatiques, PS 0 ou 1, en l'absence d'altération ciblable (EGFR, ALK, ROS1)

➤ Si PDL1 \geq 50% :

- Pembrolizumab 200mg IV (dose unique) J1-22

- Carboplatine, Paclitaxel (200mg/m²), et Pembrolizumab 200mg IV (dose unique) J1/J22 suivi d'une maintenance par Pembrolizumab seul à la même dose jusque 35 cycles, ou progression, ou toxicité inacceptable.

➤ Si PDL1 < 50% :

- Pembrolizumab 200mg IV (dose unique), Carboplatine, Paclitaxel (200mg/m²) J1/J22 suivi d'une poursuite du Pembrolizumab à la même dose jusque 35 cycles, ou progression, ou toxicité inacceptable.

9.4.3. Tumeurs avec altération ciblable EGFR, ALK ou ROS1

Il est recommandé de vérifier la négativité de ces altérations oncogéniques avant de débiter une immunothérapie. En effet, il a été démontré que l'utilisation d'une immunothérapie en 1^{ère} ligne chez un patient présentant une altération de l'EGFR, ALK, ou ROS1 est délétère, même chez ceux dont la tumeur exprime fortement PDL1.

Il est à noter qu'en cas de positivité d'un biomarqueur obtenu au cours d'une 1^{ère} ligne de chimiothérapie, il est recommandé de poursuivre la ligne débutée comme recommandé (jusqu'à 4 à 6 cycles selon la réponse et la toxicité). La thérapie ciblée peut être débutée en traitement d'entretien en cas de contrôle de la maladie ou en 2^{ème} ligne après progression.

➤ Tumeur avec mutation activatrice de l'EGFR

En cas de mutation activatrice de l'EGFR, il est recommandé de proposer un traitement de 1^{ère} ligne par ITK (Inhibiteur des Tyrosines Kinases) anti-EGFR.

Les ITK de 1^{ère} génération Erlotinib, ou Gefitinib et seconde générations Afatinib ont démontré une efficacité supérieure à la chimiothérapie en 1^{ère} ligne en termes de taux de réponse et de survie sans progression.

➤ Tumeur avec réarrangement d'ALK

Le Crizotinib et le Ceritinib avaient démontré leur supériorité comparés à la chimiothérapie en 1^{ère} ligne des CPNPC ALK+. Bien que ces deux molécules disposent d'une AMM dans cette indication, l'Alectinib doit leur être préférée. En effet, cette dernière molécule a démontré une efficacité supérieure au Crizotinib en 1^{ère} ligne en termes de taux de survie sans événement à 12 mois et particulièrement dans le contrôle des métastases cérébrales connues, ou même dans le délai d'apparition de ce type de métastases.

➤ Réarrangements de ROS1

Le Crizotinib a une AMM dès la 1^{ère} ligne en cas de réarrangement de ROS1

III.MATERIEL ET METHODES

Les objectifs de ce travail sont :

Objectif principal :

Évaluer l'expression du PD-L1 en immunohistochimie dans les cellules tumorales et dans les cellules immunitaires du microenvironnement tumoral des carcinomes pulmonaires non à petites cellules.

Objectifs secondaires :

- 1- Comparer l'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales avec les différents types et sous types histologiques du CPNPC
- 2- Rechercher une éventuelle influence de certains facteurs : tabagisme, traitement néoadjuvant, anomalies moléculaires et autres sur l'expression du PD-L1 en IHC.

1. Matériel :

1.1. Schéma de l'étude :

Il s'agit d'une étude descriptive à visée analytique portant sur 332 cas de CPNPC colligés au service d'anatomie pathologique du CHU de Blida sur une période de 36 mois (du 1^{er} Janvier 2017 au 31 Décembre 2019).

1.2. Population d'étude :

1.2.1. Définition : Patients atteints d'un CPNPC diagnostiqué sur des prélèvements de biopsies bronchiques, transthoraciques et de résection chirurgicale ainsi que des prélèvements de différents sites métastatiques accessibles.

1.2.2. Critères d'inclusion : CPNPC diagnostiqués selon la classification de l'OMS 2015 et correspondant aux :

- Adénocarcinomes
- Carcinomes épidermoïdes
- CPNPC de type NOS
- Carcinomes à grandes cellules
- Carcinomes adénosquameux
- Carcinomes sarcomatoïdes

Les prélèvements doivent contenir plus de 100 cellules tumorales analysables.

1.2.3. Critères d'exclusion :

Les tumeurs neuroendocrines pulmonaires (tumeurs carcinoïdes et carcinome neuroendocrine à grandes cellules) ont été exclues.

2. Méthodes :

2.1. Sources et recueil des données

➤ Données cliniques :

Les données cliniques ont été recueillies à partir des fiches de demande d'examen anatomopathologique pré-établies comportant les renseignements cliniques et paracliniques des patients (Annexe 3), complétées pour quelques cas de dossiers cliniques des patients. Les renseignements suivants ont été recueillis :

- Nom et prénom
- Âge et sexe
- Habitudes tabagiques
- Antécédents pathologiques d'une néoplasie
- Traitement néoadjuvant
- Type et siège des prélèvements
- Stade/TNM
- Délai de réalisation de l'étude IHC au PD-L1

Les prélèvements ont été adressés pour la plupart du service de Pneumologie de l'EPH de BLIDA, ainsi que du service d'oncologie du Centre de lutte contre le cancer de Blida. Les autres sources sont représentées par : Médéa, Djelfa, Chlef et le secteur privé. Les pièces de résection chirurgicale ont été adressées du service de chirurgie thoracique du CHU Bab El Oued.

➤ Données anatomopathologiques : les paramètres histopathologiques suivants ont été évalués (Annexe 4) :

- Types et sous types histologiques des CPNPC
- Etude immunohistochimique à visée diagnostique (TTF1 et P40)
- Recherche de mutation de l'EGFR
- Recherche d'un réarrangement ALK
- Densité des TILs du microenvironnement
- Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales et dans les cellules immunitaires
- Expression du CD8 et CD4 dans les TILs et la topographie des TILs CD8+
- Expression du PD-1 dans les TILs
- Expression de la granzyme B dans les TILs

➤ Recueil des données de survie :

Les données sur la survie ont été recueillies des dossiers cliniques ou de l'appel direct des patients. Le calcul de la survie globale s'est basé sur l'intervalle entre la date de dépôt du prélèvement dans notre service et la date des dernières nouvelles ou du décès.

2.2. Etude anatomopathologique :

2.2.1. Phase préanalytique :

➤ Etude macroscopique :

Nos prélèvements sont représentés par des biopsies ou des résections chirurgicales. Ils étaient tous fixés au formol neutre à 10%. La durée de fixation était de 24 heures pour les prélèvements biopsiques et 48 heures pour les pièces chirurgicales.

Les biopsies ont été comptées, mesurées puis incluses, pour certains cas, dans deux cassettes ou plus lorsque leur nombre était supérieur à 2 afin de mieux exploiter le matériel tumoral.

Les pièces opératoires ont fait l'objet d'une étude macroscopique détaillée. Elles étaient d'abord orientées, puis mesurées et bien palpées.

Les tranches de section bronchiques et vasculaires ont été prélevées et incluses en totalité de même que les ganglions périhilaires.

La dissection a été faite après introduction d'un repère métallique dans l'axe bronchique avec réalisation de coupes successives en feuillets antéro-postérieurs (**Figure 35**). La tumeur a été ensuite mesurée et bien décrite puis prélevée, en totalité si elle mesurait 3 cm ou moins. Si sa taille était > 3cm, un bloc par cm était réalisé avec un minimum de 3 blocs dont au moins un comportait le parenchyme pulmonaire adjacent.

Pour les tumeurs périphériques, un prélèvement tumeur avec plèvre a été réalisé.

Pour les tumeurs centrales, un prélèvement tumeur avec bronche a été réalisé.

Enfin, des prélèvements sur le parenchyme sain à distance de la tumeur ont été réalisés.



Figure35 : Macroscopique d'un CPNPC de siège proximal, aspect blanchâtre avec remaniements nécrotiques

➤ Etape technique :

Après l'étape macroscopique, les prélèvements subissaient une déshydratation à l'automate d'une durée de 24 heures puis enrobage en paraffine suivie par la coupe au microtome à 3 μ , étalement sur lame et enfin la coloration standard à l'Hématéine Eosine (HE).

2.2.2. Phase analytique :

• Etude histopathologique :

Le diagnostic anatomopathologique des CPNPC a été établi selon la classification de l'OMS de 2015 en appliquant l'algorithme décisionnel pour les prélèvements biopsiques. Tous les cas testés au PD-L1 comportaient plus de 100 cellules tumorales analysables. La densité des TILs a été estimée selon son intensité (**Figure 36, 37**) :

1 : Légère : TILs faibles ou absents au grossissement x20

2 : Modérée : TILs présents au grossissement x20

3 : Intense : TILs présents au grossissement x10

En raison de la difficulté de distinguer entre le stroma tumoral et le parenchyme ganglionnaire préexistant, la densité des TILs n'a pas été évaluée dans les métastases ganglionnaires.

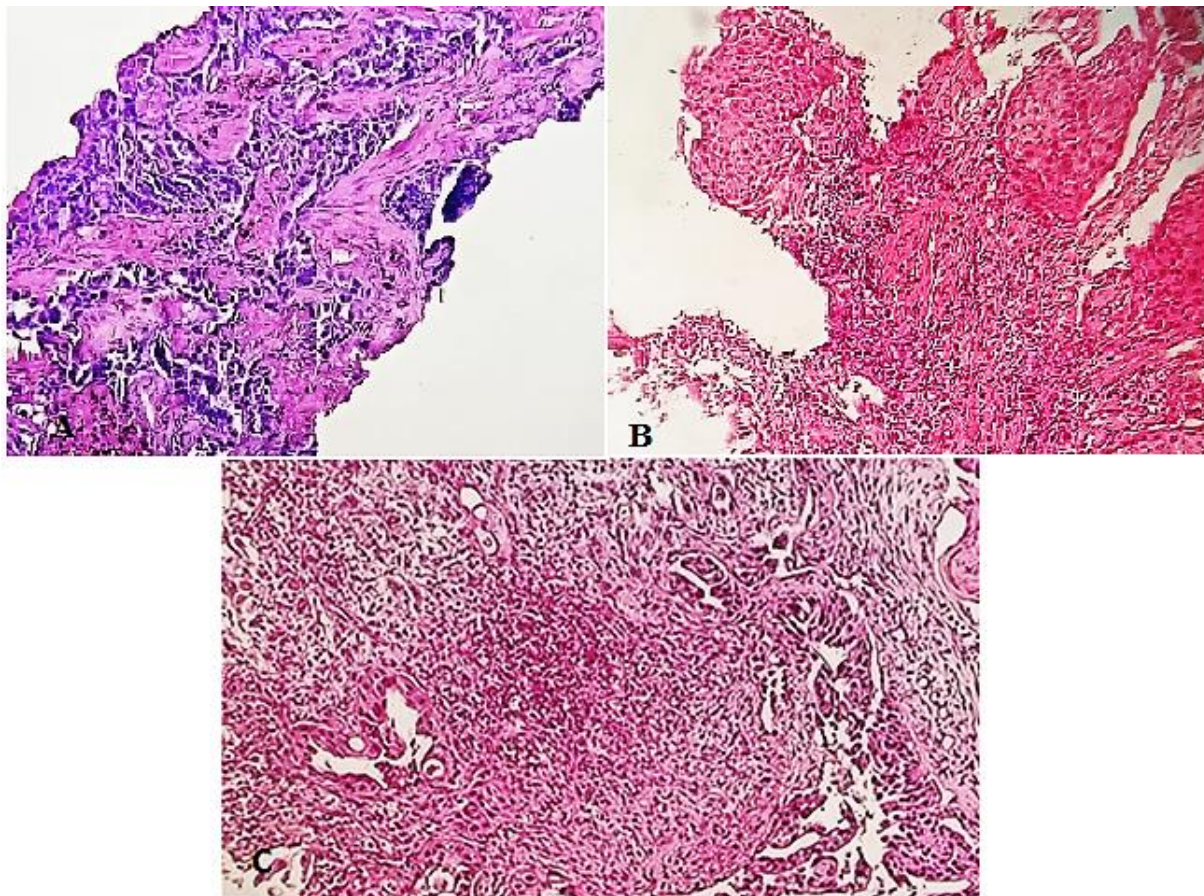


Figure 36: Grading de l'intensité des TILs sur les prélèvements biopsiques. A : léger, B : modéré, C : intense.

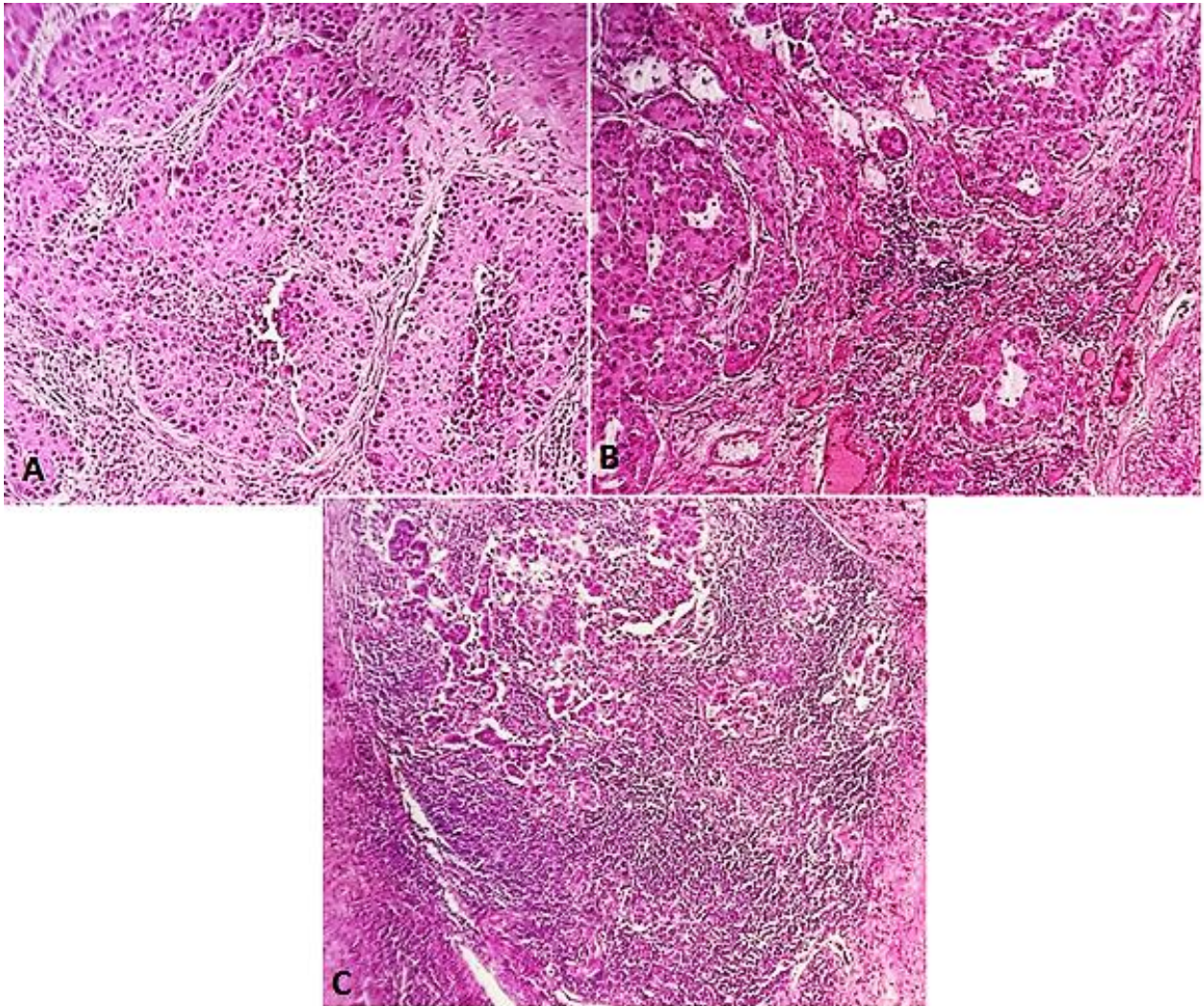


Figure 37: Grading de l'intensité des TILs sur les prélèvements chirurgicaux. A : léger, B : modéré, C : intense.

- **Etude immunohistochimique :**

Principe :

L'immunohistochimie est une technique permettant de détecter et de localiser des protéines à partir de coupes histologiques selon le principe d'une réaction antigène-anticorps. L'analyse immunohistochimique a été réalisée sur les lames blanches fraîches de 3 micromètres.

Anticorps utilisés :

- **PD-L1 :**

Le clone que nous avons utilisé est le 22C3.

Il a été prouvé par des études que ce clone peut être utilisé avec succès sur la plate-forme Ventana Benchmark après adaptation du protocole^{187,188}

III MATERIEL ET METHODES

Nous avons réalisé le testing du PD-L1 sur automate Benchmarck Ultra Ventana en utilisant des réactifs standards fournis par le fabricant. Après étape de déparaffinage (72°C) et l'application d'une solution de démasquage (CC1 léger), les lames déparaffinées sont incubées avec l'anticorps primaire pendant 40 min. Le système de révélation utilisé était l'optiview HRP multimer pendant 12 mn et optiview amplification pendant 12 mn.

→ **Témoins externes :**

En plus des lames témoins de lignées cellulaires fournies dans le kit et utilisées dans chaque cycle, trois spots de témoins externes du service sont utilisés sur chaque lame dont deux positifs (amygdale et un CPNPC positif intense déjà testé) et un négatif (CPNPC négatif déjà testé) (**Figure 38, 39, 40**)

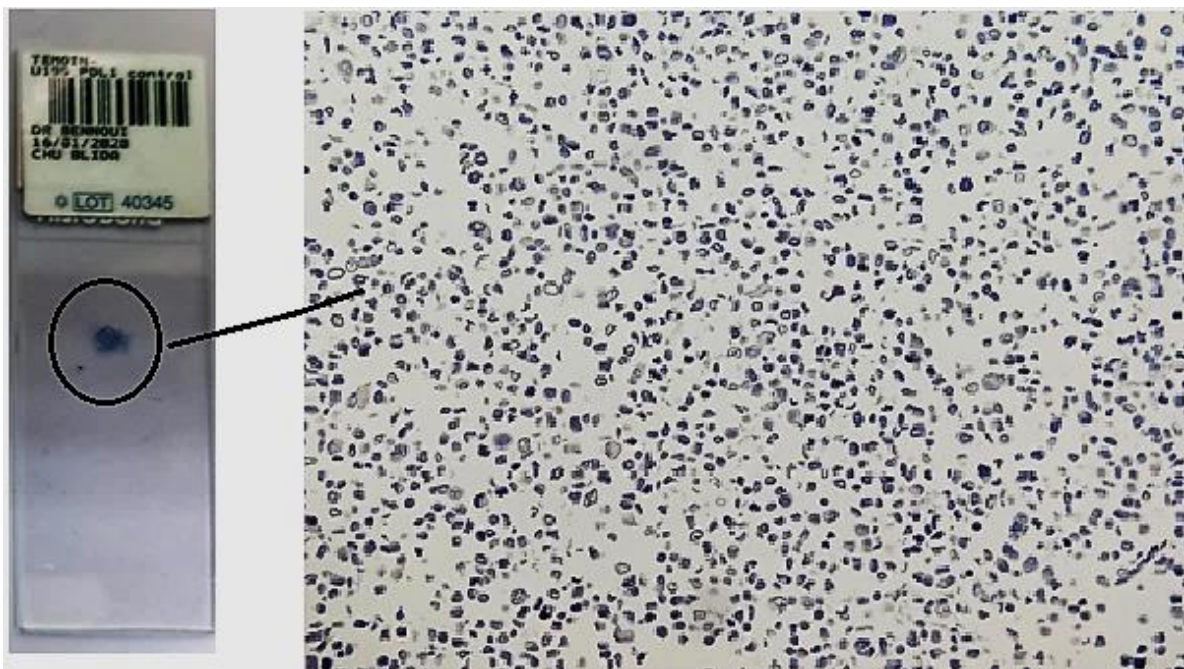


Figure 38: lame de contrôle négatif fournie dans le kit testé dans chaque cycle

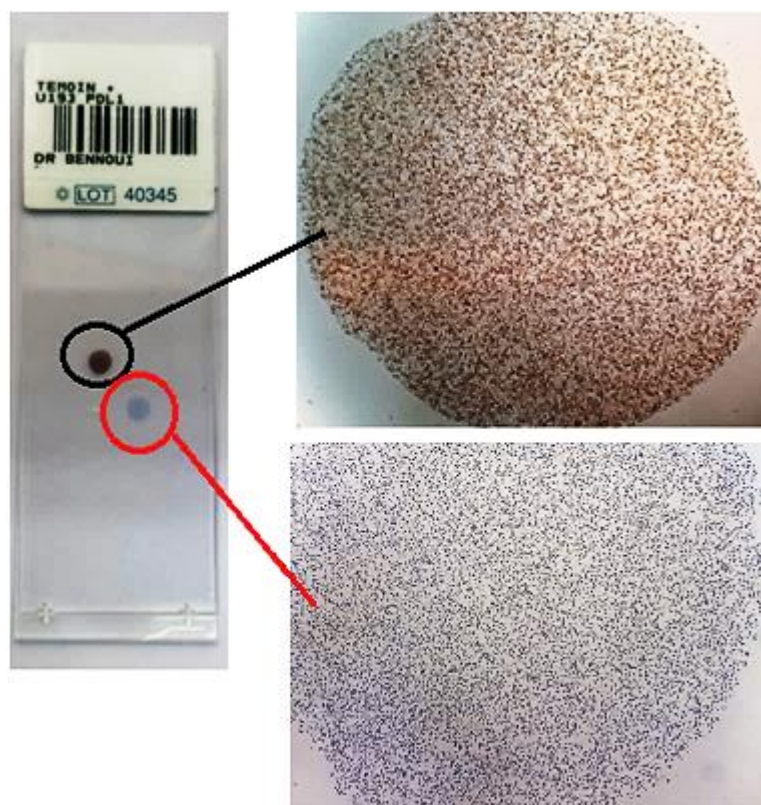


Figure 39: lame de témoins positif et négatif fournie dans le kit et testé dans chaque cycle

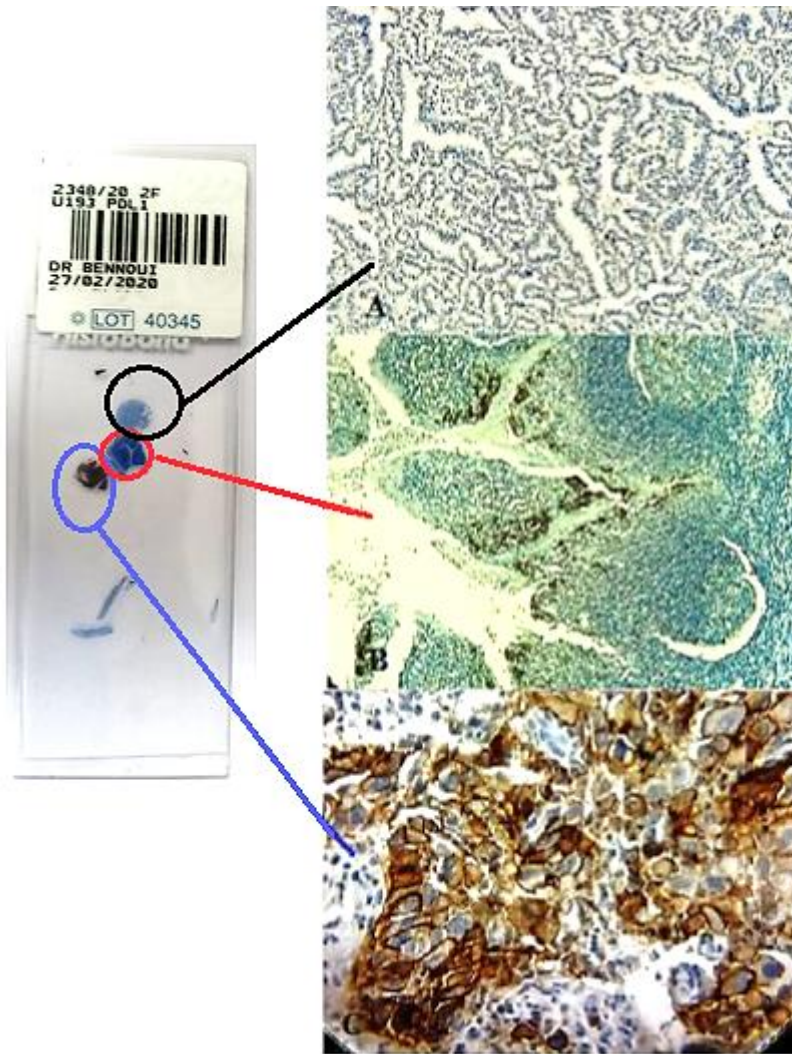


Figure 40: Trois spots de témoins externes utilisés sur chaque lame testée. A : adénocarcinome pulmonaire déjà testé utilisé comme témoin négatif. B : parenchyme amygdalien utilisé comme témoin positif. C : adénocarcinome pulmonaire déjà testé utilisé comme témoin positif

→ **Témoin interne :**

Le témoin interne correspondait aux macrophages intra alvéolaires qui cependant n'étaient pas toujours présents dans les biopsies pulmonaires et étaient pratiquement absents dans les biopsies bronchiques (**Figure 41**).

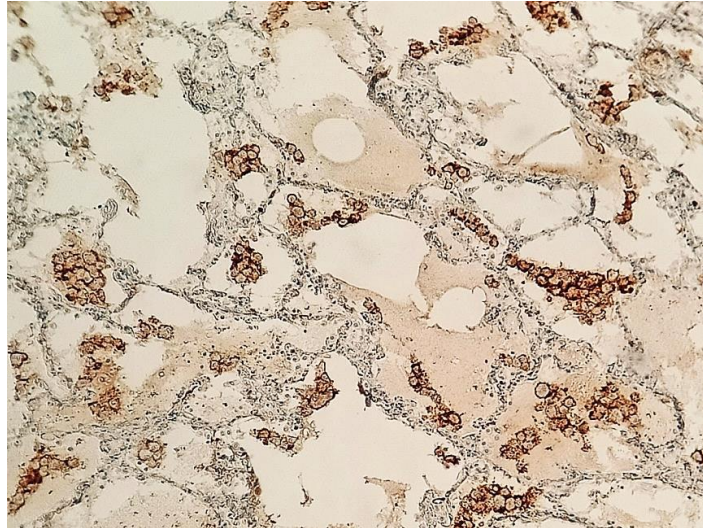


Figure 41: Macrophages intra-alvéolaires marqués par le PD-L1

Interprétation du marquage :

→ **Dans les cellules tumorales (CT) :** Est considéré comme positif tout marquage membranaire linéaire ou granulaire complet ou partiel, quelle que soit son intensité (**Figure 42**). Le marquage cytoplasmique n'était pas inclus dans l'évaluation.

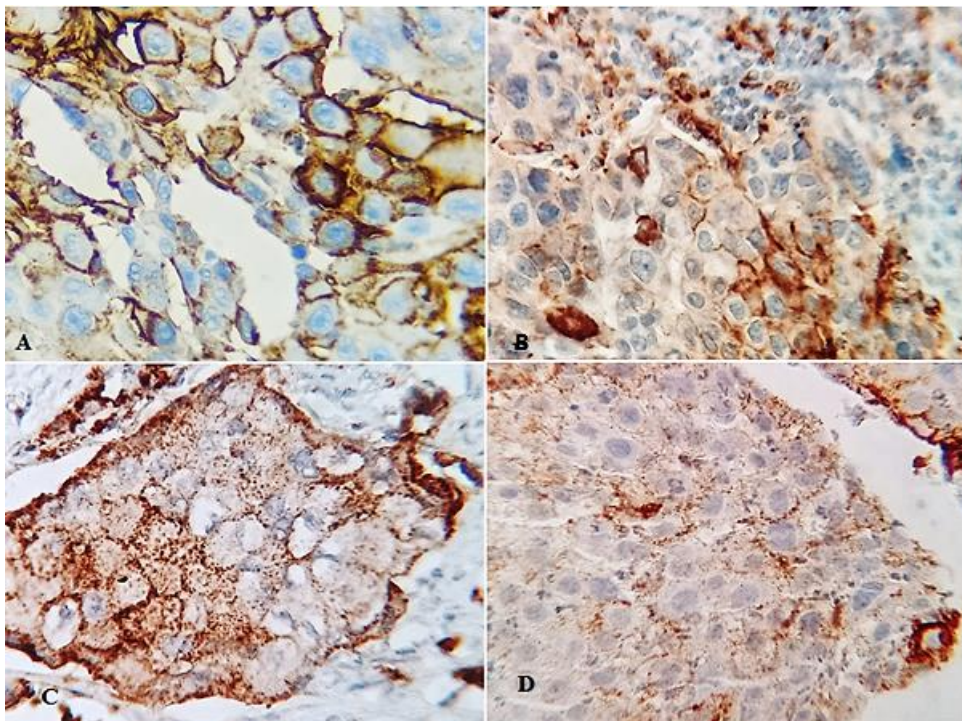
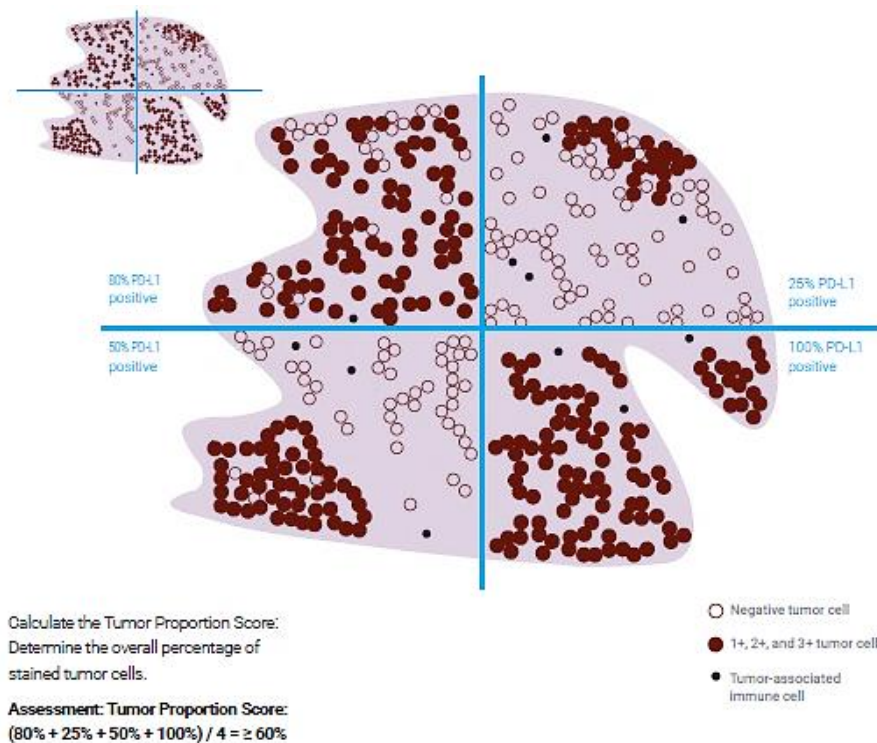


Figure 42: Expression du PD-L1 dans les CT. A : marquage linéaire complet et intense. B : marquage linéaire incomplet et intense. C : marquage granulaire complet et intense. D : marquage granulaire incomplet et modéré

Différentes techniques sont proposées pour évaluer l'expression du PD-L1. La méthode d'évaluation qui a été adoptée dans notre service consistait à diviser la prolifération tumorale

en plusieurs champs. Pour chacun de ces derniers, un pourcentage de cellules tumorales positives (Tumor Proportion Score ou TPS) a été estimé. Le TPS était obtenu par calcul du rapport des cellules tumorales positives sur toutes les cellules tumorales dans le champ estimé. La proportion de cellules tumorales exprimant PD-L1 a été déterminée sur l'ensemble des CT présentes sur la coupe histologique.

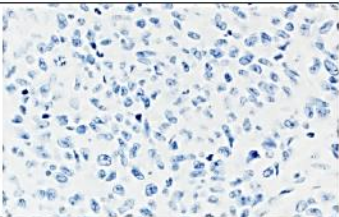
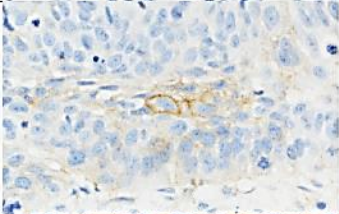
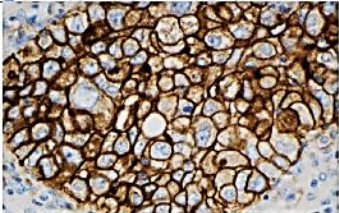
Le pourcentage global de l'expression du PD-L1 était obtenu en additionnant le TPS de chaque champ divisé ensuite sur le nombre total des champs (**Figure 43**).



*Figure 43: Méthode d'évaluation de l'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales
Illustration du manuel d'interprétation de l' anticorps 22C3 ¹⁸⁹*

Le cut off de l'expression positive du PD-L1 était fixé à 1%. Nous avons adopté la méthode de scoring du manuel d'interprétation du 22C3 ¹⁸⁹. Un score <1% a été considéré négatif, un TPS compris entre 1% et 49% comme expression positive faible et un TPS $\geq 50\%$ comme expression intense (**Figure 44**).

Table 1: TPS Expression Levels and Staining Characteristics

Expression Level	TPS	Staining Pattern	
No PD-L1 Expression	< 1%	Partial or complete cell membrane staining (≥ 1+) in < 1% of viable tumor cells	
PD-L1 Expression	1–49%	Partial or complete cell membrane staining (≥ 1+) in ≥ 1–49% of viable tumor cells	
High PD-L1 Expression	≥ 50%	Partial or complete cell membrane staining (≥ 1+) in ≥ 50% of viable tumor cells	

*Figure 44: Scoring de l'expression de PD-L1 par les CT. Modèle de scoring.
D'après le manuel d'interprétation de Dako 22C3¹⁸⁹*

→ **Dans les cellules immunitaires du microenvironnement :**

L'expression dans les CI du microenvironnement tumoral a été évaluée d'une façon globale, sans discernement des différentes populations cellulaires (lymphocytes, cellules dendritiques, macrophages, polynucléaires neutrophiles ou éosinophiles, mastocytes).

L'expression du PD-L1 dans les CI a été évaluée selon la méthodologie du scoring des CI élaborée pour l'anticorps SP142¹⁹⁰ (**Figure 45, 46**).

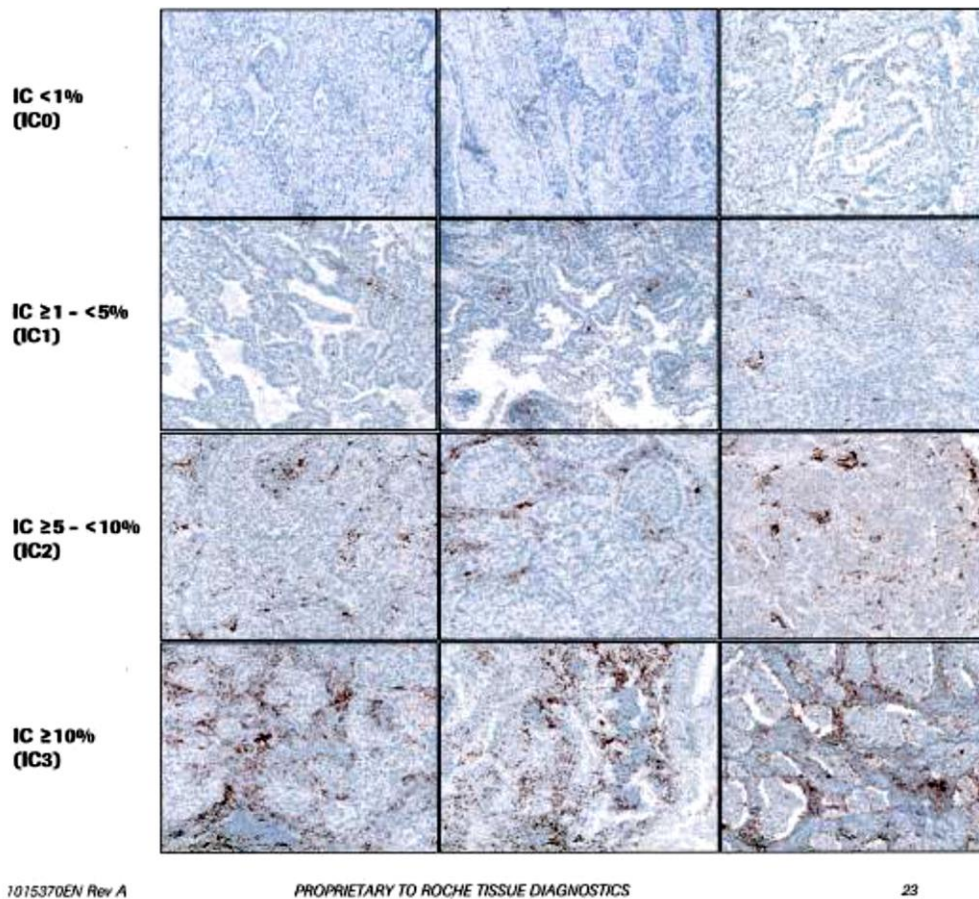


Figure 45 : Scoring de l'expression de PD-L1 par les CI. Modèle d'aide au scoring.
D'après Roche Ventana¹⁹⁰

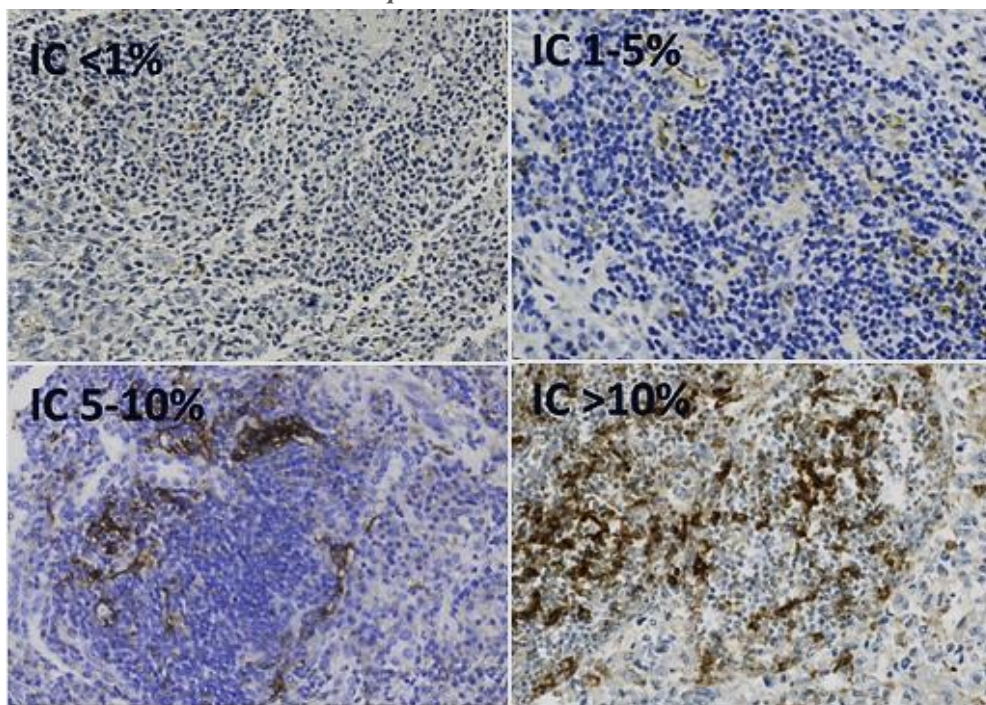


Figure 46: Scoring de l'expression de PD-L1 par les cellules immunitaires. Modèle d'aide au scoring.
D'après Roussel et al, Annales de Pathologie¹⁹¹

III MATERIEL ET METHODES

Dans l'évaluation immunohistochimique du marquage, ont été exclus :

- Le marquage de la nécrose, et les artéfacts de marquage liés à l'hémossidérine et à l'antracose (**Figure 47**).
- Les cellules immunitaires intra-vasculaires ainsi que les macrophages intra-alvéolaires (**Figure 48**).

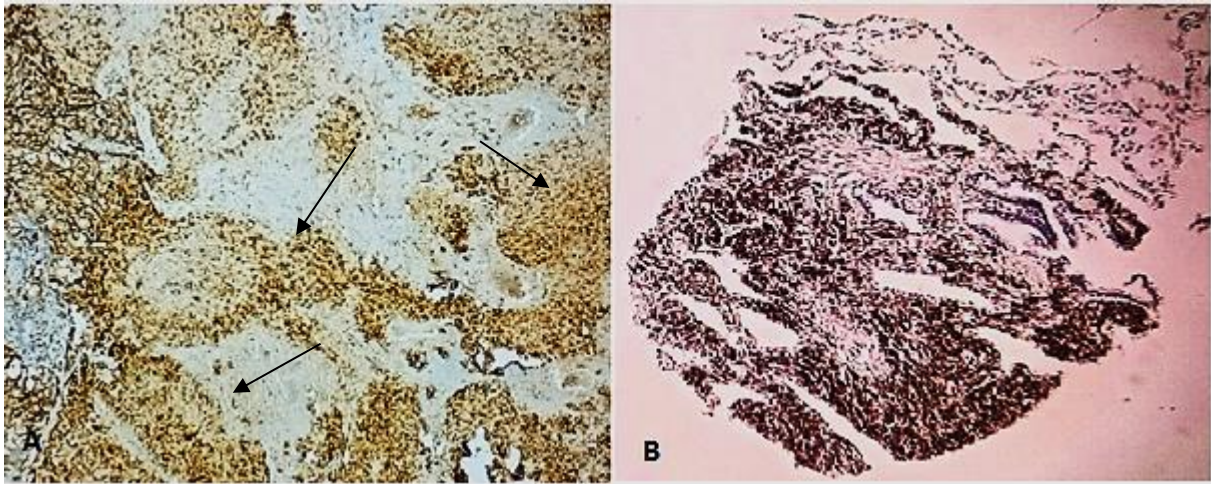


Figure 47: Expression du PD-L1, faux positif. A : dans la nécrose tumorale (flèches). B : dans l'antracose.

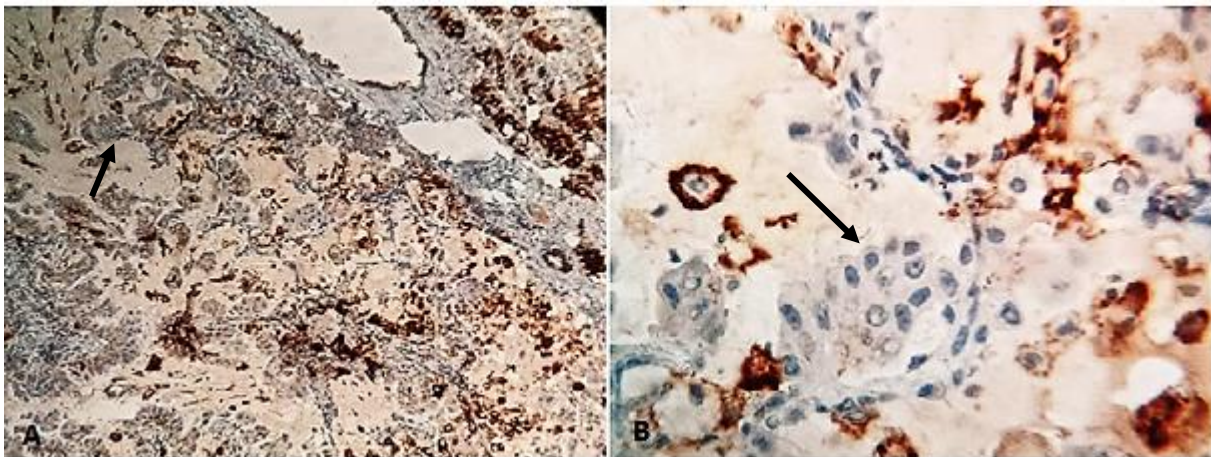


Figure 48: Faux marquage positif, expression du PD-L1 dans les macrophages, les cellules tumorales (flèche) sont négatives. A : faible grossissement. B : fort grossissement.

- **TTF1** : le clone que nous avons utilisé est le SPT41, en technique automatisée (automate Leica BOND III). Le TTF1 couplé à la P40 a été réalisé en cas de CPNPC de morphologie solide (selon les recommandations de l'OMS 2015). Il a été aussi utilisé en cas de doute sur l'origine primitive de la tumeur et pour quelques cas sur demande des cliniciens. Deux témoins externes positif (parenchyme thyroïdien) et négatif (parenchyme hépatique) ont été utilisés sur chaque lame. L'expression était nucléaire, d'intensité variable. Du fait de l'absence d'un cut-off pour le TTF1, on a

considéré que la présence de cinq noyaux ou plus marqués de façon modérée ou intense dans la prolifération tumorale était suffisante pour considérer l'expression comme positive.

- **P40** : le clone que nous avons utilisé est le BC28 en technique automatisée (automate Leica BOND III ou Benchmarck Ultra Ventana). La P40 couplée au TTF1 a été réalisée en cas de CPNPC de morphologie solide selon les recommandations de l'OMS 2015. Deux témoins externes : positif intense (parenchyme prostatique) et positif modéré (parenchyme placentaire) ont été utilisés sur chaque lame. L'expression était nucléaire, devant être intense et diffuse pour porter le diagnostic d'un carcinome épidermoïde.
- **D5F3** de Ventana était l'anticorps que nous avons utilisé pour la recherche d'un réarrangement ALK. La technique était complètement automatisée (automate Benchmarck Ultra de Ventana) avec un résultat binaire positif ou négatif.

Nous avons étudié le profil IHC des TILs du ME par l'évaluation de l'expression des marqueurs : CD8, PD1, granzyme B ainsi que le rapport CD4/CD8.

-Pour l'anticorps CD8 : nous avons utilisé le clone 4B11 en technique manuelle et automatisée. Pour l'interprétation du marquage, nous avons apprécié le pourcentage des TILs CD8+. Nous avons utilisé ensuite le même scoring que celui utilisé pour l'expression de PD-L1 par les CI (04 scores). Un marquage <1% était considéré comme négatif et un marquage $\geq 1\%$ était considéré comme positif. La topographie des TILs CD8+ par rapport à la tumeur a été également appréciée : à l'interface ou en intra-tumorale.

-Pour le PD-1, nous avons utilisé le clone NAT 105 en technique automatisée. Pour l'interprétation du marquage, nous avons apprécié le pourcentage des TILs marqués avec un seuil de positivité fixé à 5%¹⁹².

-Pour le CD4, nous avons utilisé le clone 4B12 en technique manuelle. Nous avons d'abord apprécié le pourcentage des TILs marqués puis calculé le rapport CD4/CD8.

-Pour la granzyme B, nous avons utilisé le clone GrB-7 en technique manuelle. Son expression a été estimée, selon 3 niveaux : 0 (non détectable), + (faible), 2+ (modéré) et 3+ (fort)¹⁹³.

Comparaison entre les deux groupes PD-L1+ et PD-L1- par analyse statistique : La variable cible était l'expression du PD-L1 en IHC avec deux modalités : PD-L1 positif ou négatif. Les facteurs étudiés sont :

- L'âge
- Le sexe
- L'exposition au tabagisme
- Les antécédents carcinologiques
- Traitement néoadjuvant
- Le type de prélèvement
- L'extension de la maladie

- La date de réalisation de l'étude immunohistochimique
- Le type histologique
- Les sous-types histologiques des ADK et des CE
- Les anomalies moléculaires : mutation EGFR et réarrangement ALK
- La densité des TILs dans le microenvironnement
- L'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement
- L'immunophénotype du microenvironnement tumoral par l'étude de l'expression du CD8 dans les TILs et leur topographie, l'expression du PD-1, le rapport CD4/CD8 et l'expression de la granzyme B

2.3. Analyse statistique :

Nous avons estimé les effectifs et le pourcentage pour les variables qualitatives, et les moyennes et les écarts-types, pour les variables quantitatives.

Le test (t) de Student été utilisé pour comparer deux moyennes et le test de khi-deux (X²) et le test exact de Fisher ont été utilisés pour comparer deux pourcentages. Le risque ratio (RR) accompagné de son intervalle de confiance (IC) a été calculé pour certaines variables qui présentaient un lien statistiquement significatif.

Le test de corrélation de Pearson a été utilisé pour rechercher une corrélation entre deux variables quantitatives.

L'analyse multivariée par régression logistique dichotomique a été réalisée en utilisant la procédure de pas à pas descendant.

Les taux et les courbes de survie ont été calculés par la méthode de Kaplan –Meier avec le test du Log Rank.

Le risque d'erreur α était fixé à 5%.

L'analyse des données a été réalisée par l'utilisation du logiciel SPSS version 23.

IV.RESULTATS

Du 1^{er} Janvier 2017 au 31 Décembre 2019, 637 cas de cancers pulmonaires ont été diagnostiqués au sein du service d'Anatomie Pathologique du CHU de Blida dont :

- 493 cas (77,39%) de CPNPC,
- 53 cas (8,32%) de CPC,
- 37 cas (5,80%) de métastases,
- 35 cas (5,49%) de tumeurs neuroendocrines (10 carcinomes neuroendocrines à grandes cellules et 25 tumeurs carcinoïdes)
- 19 cas (2,98%) correspondant à d'autres cancers : 4 carcinomes adénoïdes kystiques, 9 sarcomes et 6 lymphomes.

353 de CPNPC ont été testés au PD-L1 dont nous avons retenu **332 cas** pour notre étude (21 étaient revenus non contributifs).

140 cas n'ont pas été testés, par non disponibilité des blocs : 88 cas (32 blocs communiqués restitués aux malades, 56 blocs remis aux patients pour la recherche d'une mutation EGFR dans un autre service) et 52 cas correspondaient à des blocs épuisés et/ou de mauvaise qualité ne permettant pas une analyse immunohistochimique.

1. Etude descriptive des CPNPC, Profil épidémiologique :

1.1. Répartition selon l'âge :

La moyenne d'âge au moment du diagnostic tous sexes confondus était de 63,77. Les extrêmes d'âge étaient de 30 ans et 92 ans (**Tableau 1, Figure 49**).

Tableau 1 : Répartition des CPNPC selon l'âge

Moyenne		63,77
Médiane		65,00
Mode		67
Ecart type		11,749
Minimum		30
Maximum		92
Percentile	25	57,00
	50	65,00
	75	72,00

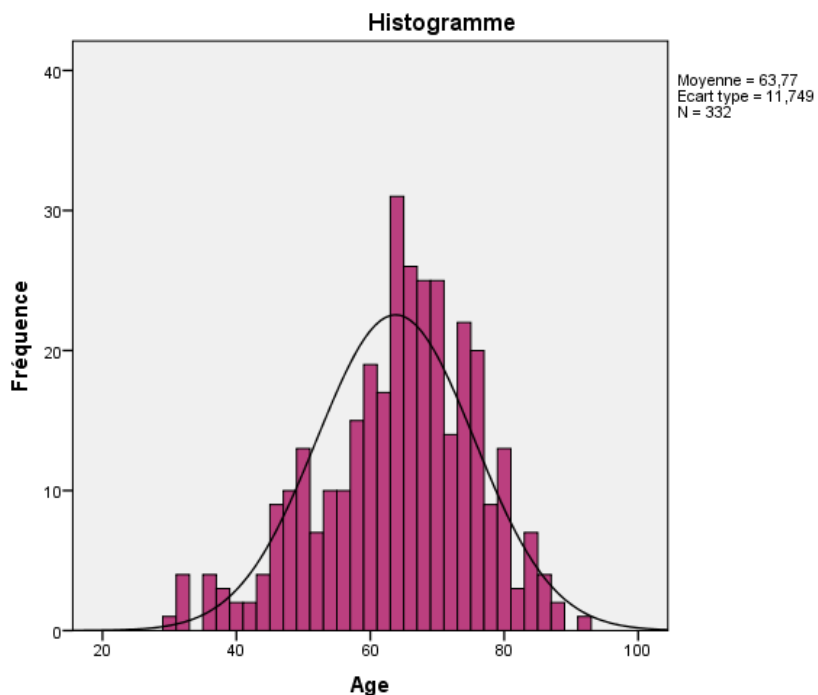


Figure 49: Répartition des CPNPC selon l'âge

1.2. Répartition selon le genre :

Nos patients étaient répartis en 265 hommes (79,8%) et 67 femmes (20,2%) avec un Sex-ratio = 3,95 (Tableau 2, Figure 50).

Tableau 2 : Répartition des patients atteints d'un CPNPC en fonction du genre

Genre	Effectif	Pourcentage
Hommes	265	79,8
Femmes	67	20,2
Total	332	100,0

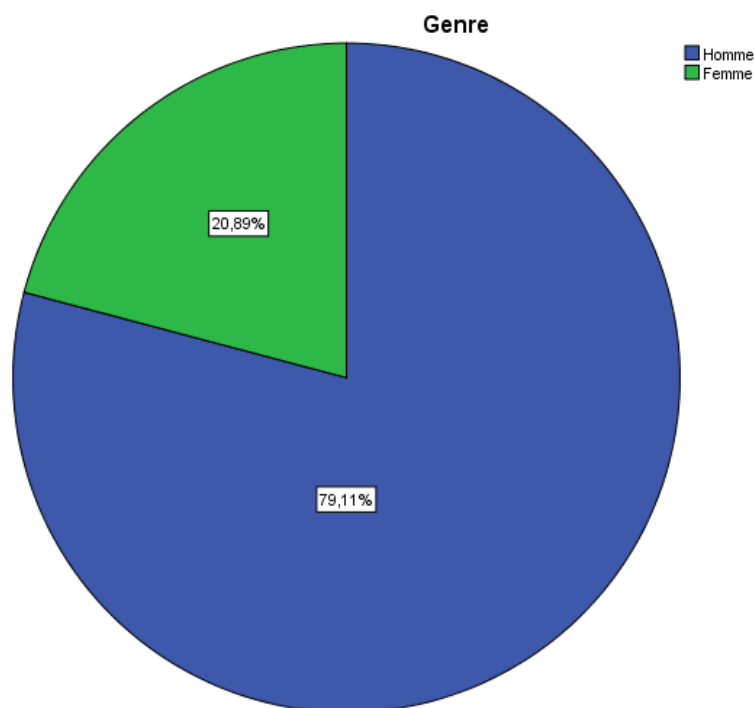


Figure 50 : Répartition des patients atteints de CPNPC en fonction du genre

La moyenne d'âge chez les hommes au moment du diagnostic était de $63,82 \pm 11,72$ ans, et chez les femmes de $63,60 \pm 11,94$ ans (**Tableau 3**).

Tableau 3 : Moyenne d'âge dans les CPNPC selon le genre

Genre	Moyenne	Effectif	Ecart-type
Hommes	63,82	265	11,722
Femmes	63,60	67	11,941
Total	63,77	332	11,749

1.3. Répartition selon l'exposition au tabagisme :

242 patients ont été exposés au tabac, soit 72,9 % et 67 n'ont pas été exposés, soit 20,2%. Le statut tabagique n'a pas été défini chez 23 patients soit 6,9% (**Figure 51, Tableau 4**).

Tableau 4 : Répartition des patients atteints d'un CPNPC selon l'exposition au tabagisme

	Effectif	Pourcentage
Exposés	242	72,9
Non exposés	67	20,2
Non précisé	23	6,9
Total	332	100,0

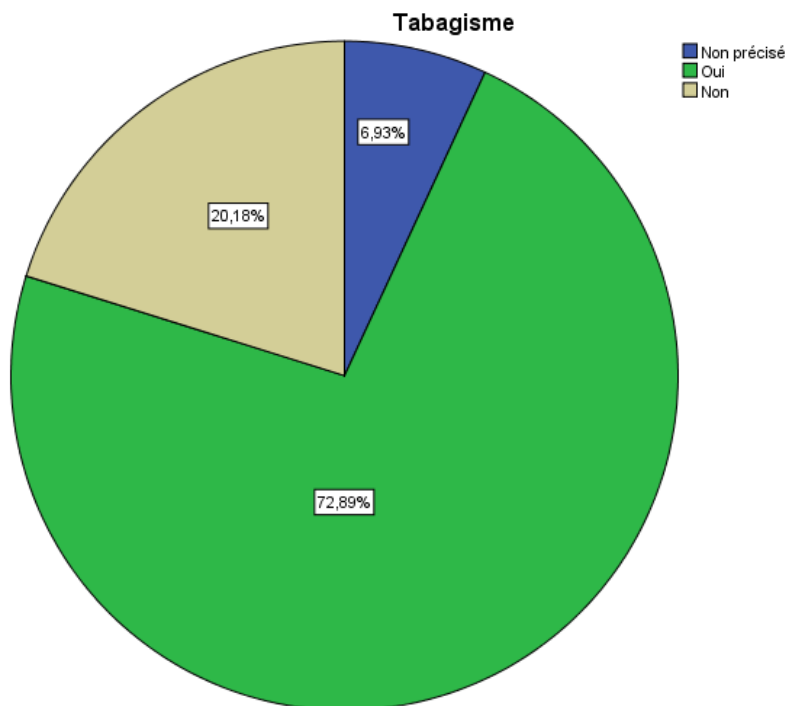


Figure 51 : Répartition des patients atteints de CPNPC selon l'exposition au tabagisme

Parmi les 242 exposés au tabagisme, 226 (93,4%) étaient des hommes et 16 (6,6%) étaient des femmes (**Tableau 5, Figure 52**).

Tableau 5 : Répartition de l'exposition au tabagisme selon le genre

	Effectif	Pourcentage
Hommes	226	93,4
Femmes	16	6,6
Total	242	100,0

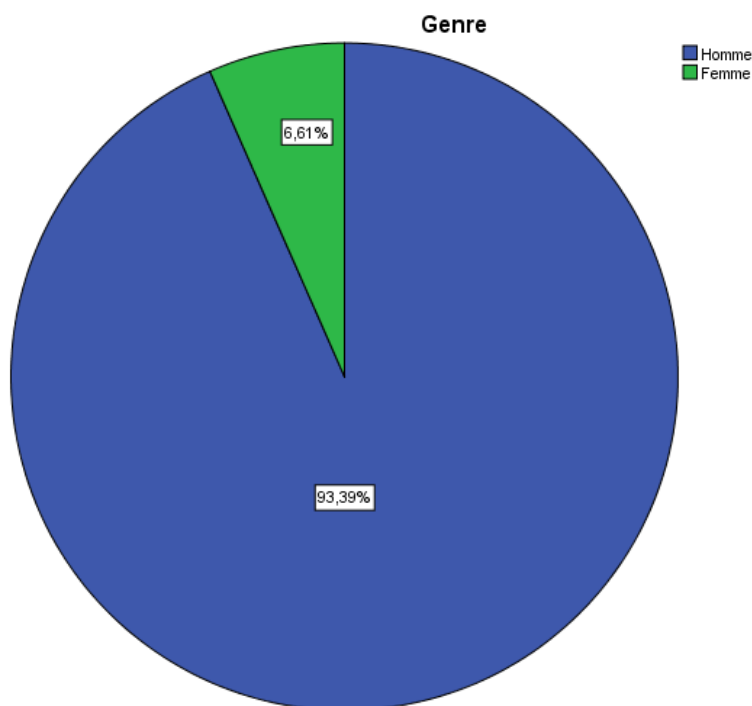


Figure 52 : Répartition de l'exposition au tabagisme selon le genre

Concernant le type de tabagisme, il était de type actif chez 170 patients soit 70,2% et de type passif chez 14 patients soit 5,8%. Ce type n'a pas été précisé chez 58 patients soit 24,0%. (Tableau 6, Figure 53).

Tableau 6 : Type de l'exposition au tabagisme

	Effectif	Pourcentage
Tabagisme actif	170	70,2
Tabagisme passif	14	5,8
Non précisé	58	24,0
Total	242	100,0

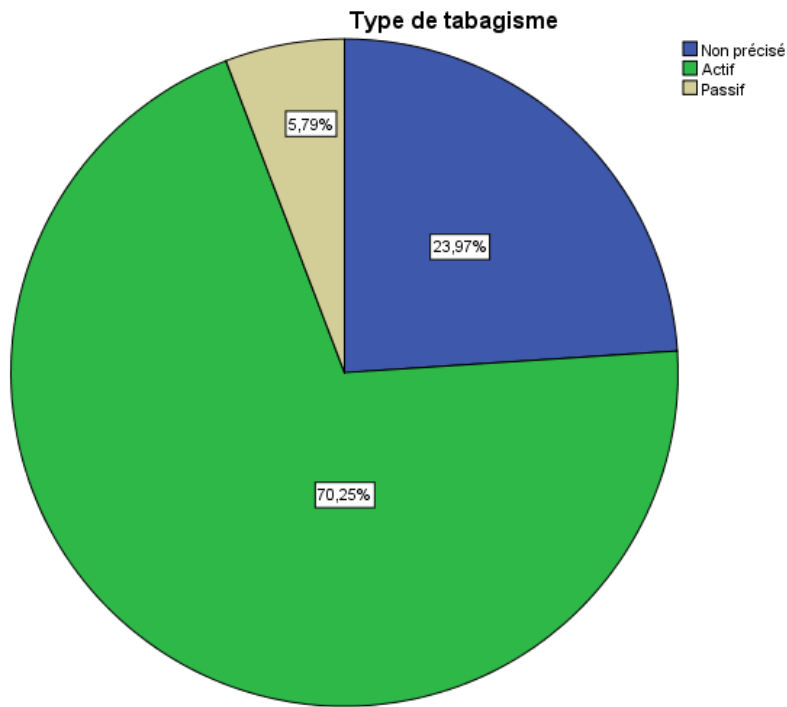


Figure 53: Répartition du type de l'exposition tabagique

Parmi 226 hommes exposés au tabagisme, le type de tabagisme n'a pas été précisé chez 58 patients soit 25,9%. Pour les 168 cas (74,1%) où il a été précisé, il était dans 100% des cas de type actif.

Le type d'exposition tabagique a été précisé chez les 16 femmes, 02 étaient des fumeuses actives, soit 12,5% et 14 ont été exposées au tabagisme passif soit 87,5% (**Tableau 7, Figure 54**).

Tableau 7 : Type d'exposition au tabagisme chez les femmes

	Effectif	Pourcentage
Tabagisme actif	02	12,5
Tabagisme passif	14	87,5
Total	16	100,0

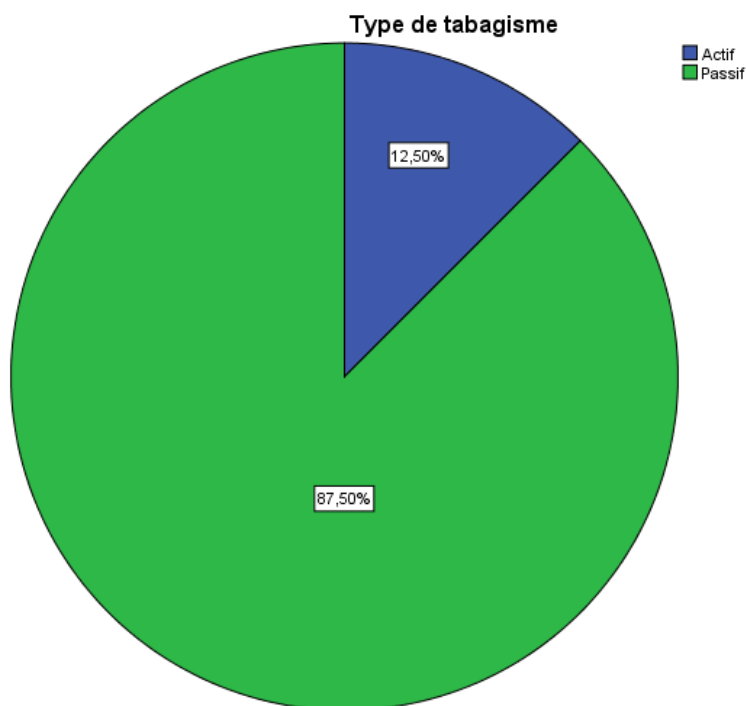


Figure 54: Type d'exposition tabagique chez les femmes

1.4. Antécédents néoplasiques :

220 de nos patients (66,3%) n'avaient pas d'antécédents de néoplasie, 16 patients (4,8%) en avaient et pour 96 patients (28,9%) les antécédents n'ont pas été précisés (**Tableau 8, Figure 55**).

Tableau 8 : Répartition des antécédents néoplasiques dans les CPNPC

	Effectif	Pourcentage
Non précisés	96	28,9
Sans antécédents	220	66,3
Avec antécédents	16	4,8
Total	332	100
Type de néoplasie connu		
Poumon	4	25,0
Thyroïde	4	25,0
Vessie	3	18,75
Larynx	1	6,25
Testicule	1	6,25
Pancréas	1	6,25
Sein	1	6,25
Ganglioneurome	1	6,25
Total	16	100

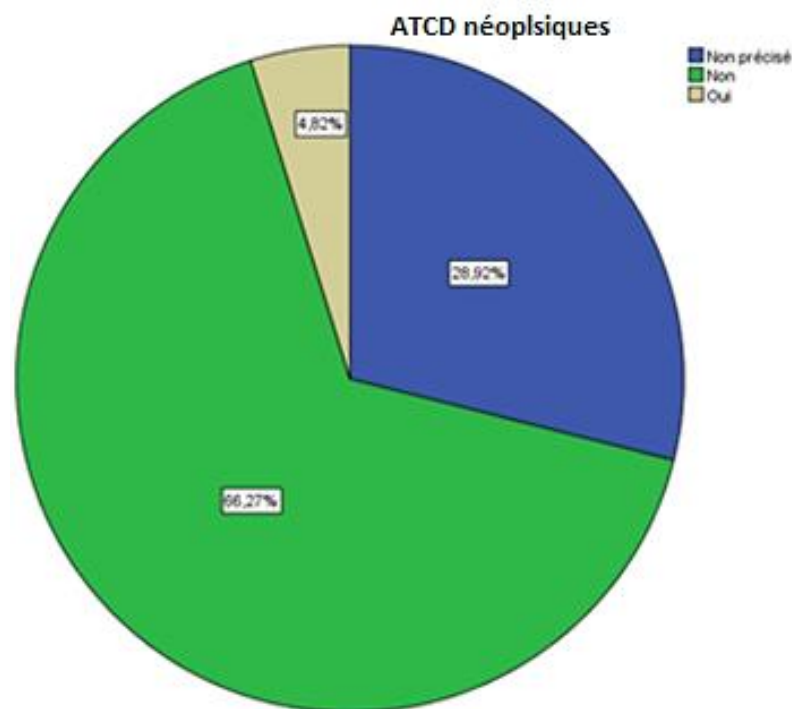


Figure 55 : Répartition des CPNPC selon les antécédents néoplasiques

1.5. Répartition des CPNPC selon le type de prélèvement :

151 de nos prélèvements correspondaient à des biopsies transpariétales, soit 45,5% ; 80 correspondaient à des biopsies bronchiques soit 24,1% ; 51 étaient des pièces de résection chirurgicale soit 15,4% ; 42 correspondaient à des biopsies de site métastatiques soit 12,7% ; et 8 correspondaient à des biopsies chirurgicales, soit 2,4% (**Tableau 9, Figure 56**).

Tableau 9: Répartition des CPNPC selon le type de prélèvement

	Effectif	Pourcentage
BTP	151	45,5
Bx bronchiques	80	24,1
Pièces opératoires	51	15,4
Sites métastatiques	42	12,7
Bx chirurgicales	8	2,4
Total	332	100,0

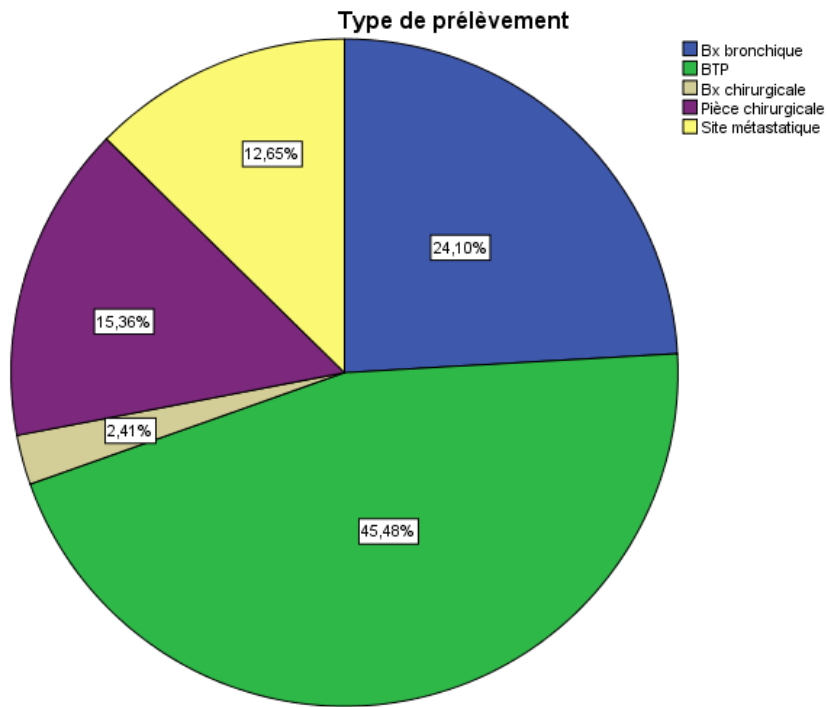


Figure 56: Répartition des CPNPC selon le type de prélèvement

1.6. Répartition des sièges des sites métastatiques :

Parmi les 42 sites métastatiques, 17 étaient de siège pleural soit 40,5% ; 15 de siège ganglionnaire soit 35,7% ; 3 de siège osseux soit 7,1% ; 3 de siège pariétal (02 thoraciques et 01 abdominale) soit 7,1% ; 02 hépatiques soit 4,8% ; 01 médullaire soit 2,4% et 01 péritonéal soit 2,4% (Tableau 10, Figure 57)

Tableau 10 : Répartition des sites métastatiques

	Effectif	Pourcentage
Plèvre	17	40,5
Ganglion	15	35,7
Os	3	7,1
Paroi	3	7,1
Foie	2	4,8
Médullaire	1	2,4
Péritoine	1	2,4
Total	42	100,0

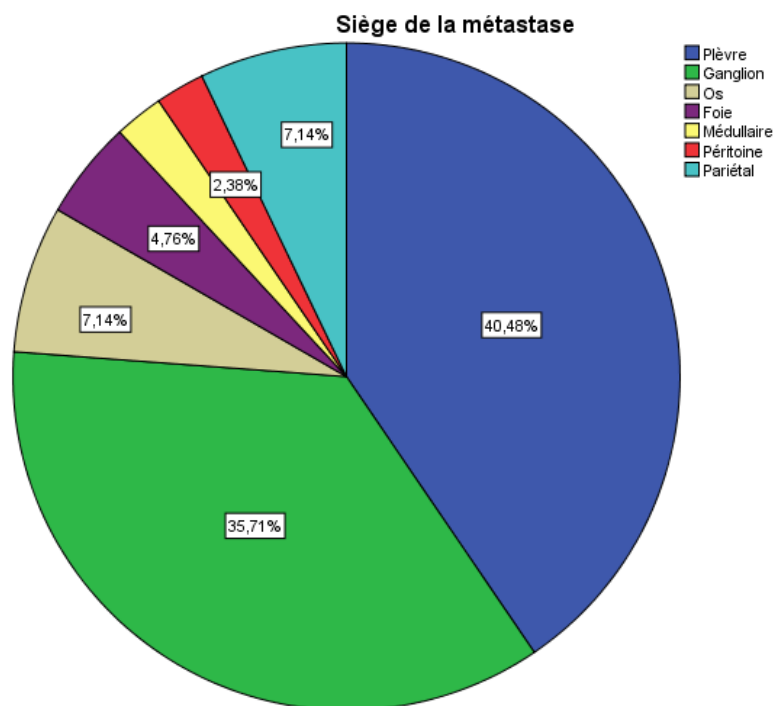


Figure 57 : Répartition des différents sièges des métastases

1.7. Types de résection chirurgicale :

Parmi les 51 pièces de résection chirurgicale, 34 correspondaient à des lobectomies soit 66,7% ; 10 à des pneumonectomies soit 19,6% ; 4 à des bilobectomies soit 7,8% et 3 à des Wedges soit 5,9% (Tableau 11, Figure 58).

Tableau 11 : Répartition des pièces chirurgicales selon le type de résection

	Effectif	Pourcentage
Lobectomie	34	66,7
Pneumonectomie	10	19,6
Bilobectomie	4	7,8
Wedge	3	5,9
Total	51	100,0

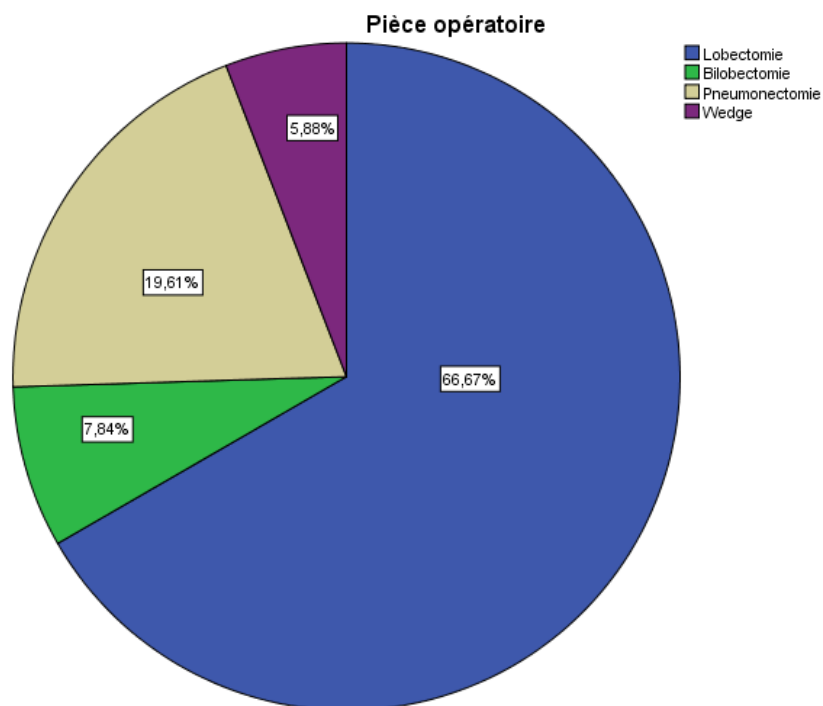


Figure 58: Répartition des pièces chirurgicales selon le type de résection

1.8. Sièges des CPNPC par rapport au côté pulmonaire :

162 cas des CPNPC de notre série étaient de siège pulmonaire droit soit 48,8% ; 111 de siège gauche soit 33,4% et pour 59 cas soit 17,8%, le siège n'a pas été précisé (**Tableau 12, Figure 59**).

Tableau 12 : Sièges des prélèvements par rapport au côté pulmonaire

	Effectif	Pourcentage
Poumon droit	162	48,8
Poumon gauche	111	33,4
Non précisé	59	17,8
Total	332	100,0

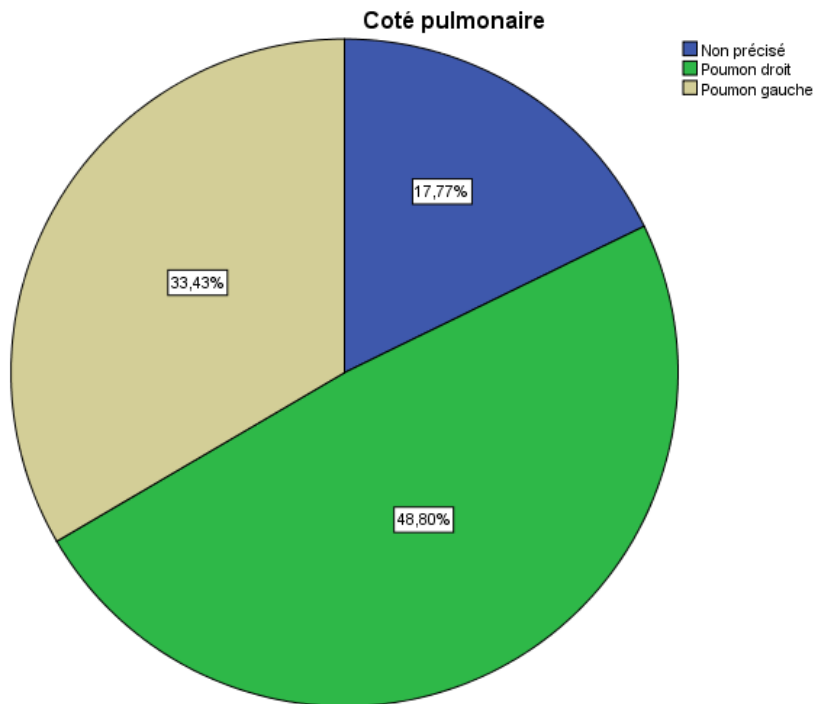


Figure 59: Sièges des prélèvements par rapport au côté pulmonaire

1.9. Répartition selon le stade TNM :

133 parmi les patients étaient de stade IV soit 66,2% ; 16 de stade IIIA soit 8% ; 15 de stade IIIB soit 7,5% ; 13 de stade IIB soit 6,5% ; 8 de stade IB soit 4% ; 8 de stade IIA soit 4% ; 5 de stade IA soit 2,5% et 3 de stade IIIC soit 1,5%. Pour 91 cas soit 31,2%, le stade n'a pas été précisé (Tableau 13, Figure 60).

Tableau 13 : Répartition des patients atteints de CPNPC selon le stade TNM

	Effectif	Pourcentage
Stade IA	5	1,5
Stade IB	8	2,4
Stade IIA	9	2,7
Stade IIB	19	5,7
Stade IIIA	21	6,3
Stade IIIB	16	4,8
Stade IIIC	3	0,9
Stade IV	147	44,3
Non précisé	104	31,3
Total	332	100,0

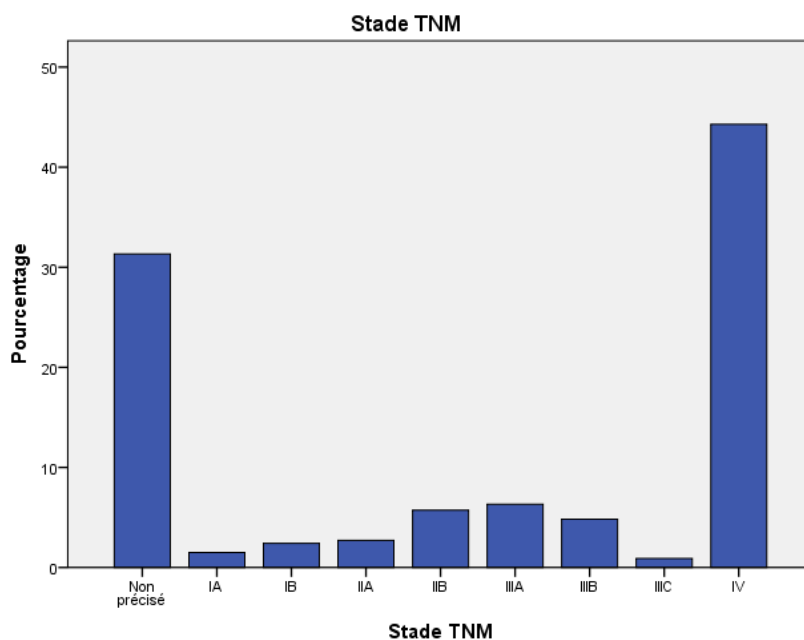


Figure 60: Répartition des patients atteints de CPNPC selon le stade

Parmi les 228 patients pour lesquels le stade a été précisé, 41 étaient au stade local soit 18%, et 187 à un stade localement avancé ou métastatique soit 82% (**Tableau 14, Figure 61**).

Tableau 14: Répartition des patients selon l'extension de la maladie

Stade	Effectif	Pourcentage
Local	41	18,0
Localement avancé/métastatique	187	82,0
Total	228	100,0

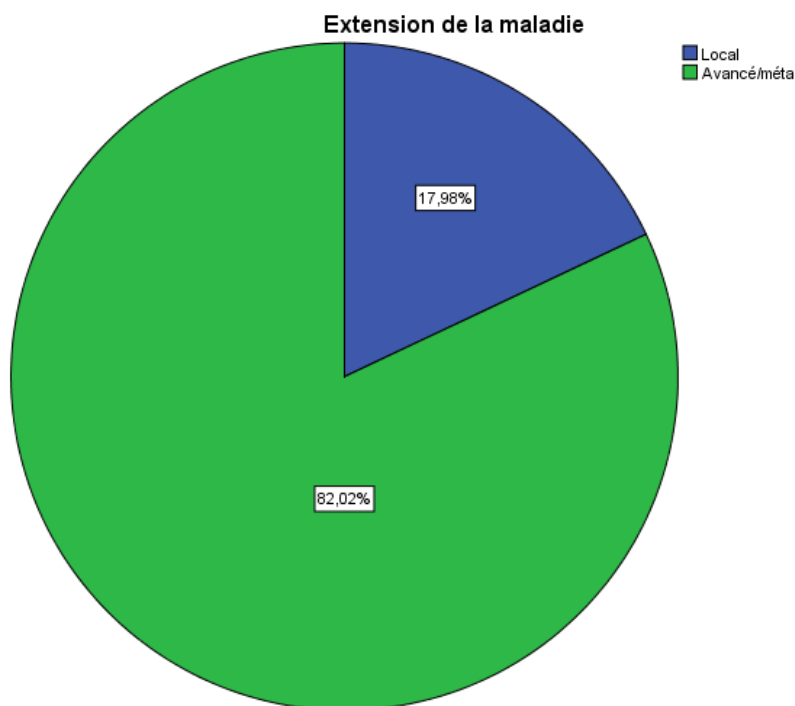


Figure 61: Répartition des patients selon l'extension de la maladie

2. Etude anatomopathologique :

2.1. Répartition des CPNPC selon le type histologique :

238 des CPNPC correspondaient à des ADK soit 71,7% ; 67 à des CE soit 20,2% ; 13 à des CPNPC de type NOS soit 3,9% ; 8 à des CGC soit 2,4% ; 3 à des carcinomes adénoquameux soit 0,9% et 3 à des carcinomes sarcomatoïdes soit 0,9% (**Tableau 15, Figure 62**).

Tableau 15 : Répartition des CPNPC selon le type histologique

	Effectif	Pourcentage
ADK	238	71,7
CE	67	20,2
CPNPC NOS	13	3,9
CGC	8	2,4
Adénoquameux	3	0,9
Sarcomatoïde	3	0,9
Total	332	100,0

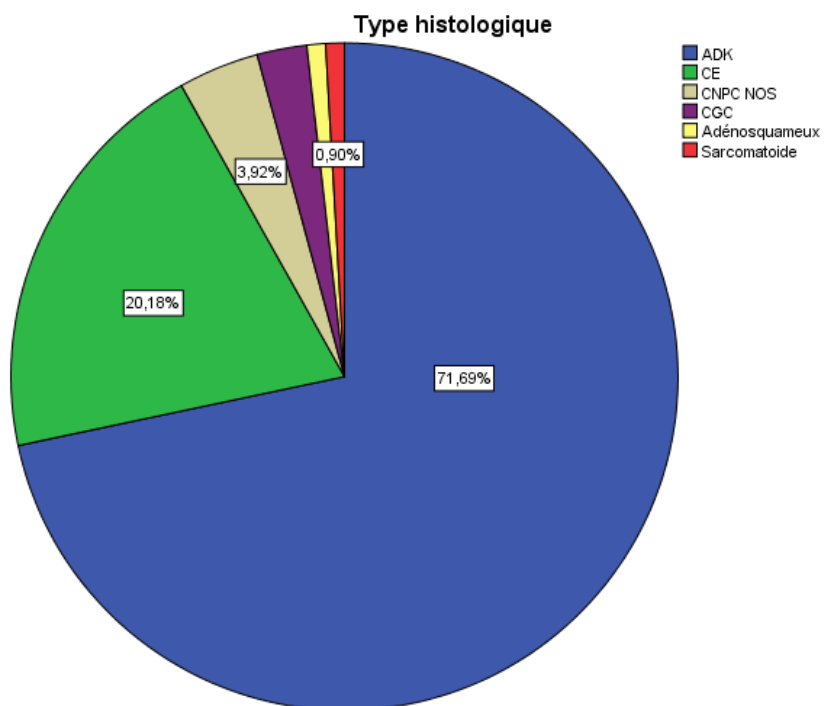


Figure 62: Répartition des CPNPC selon le type histologique

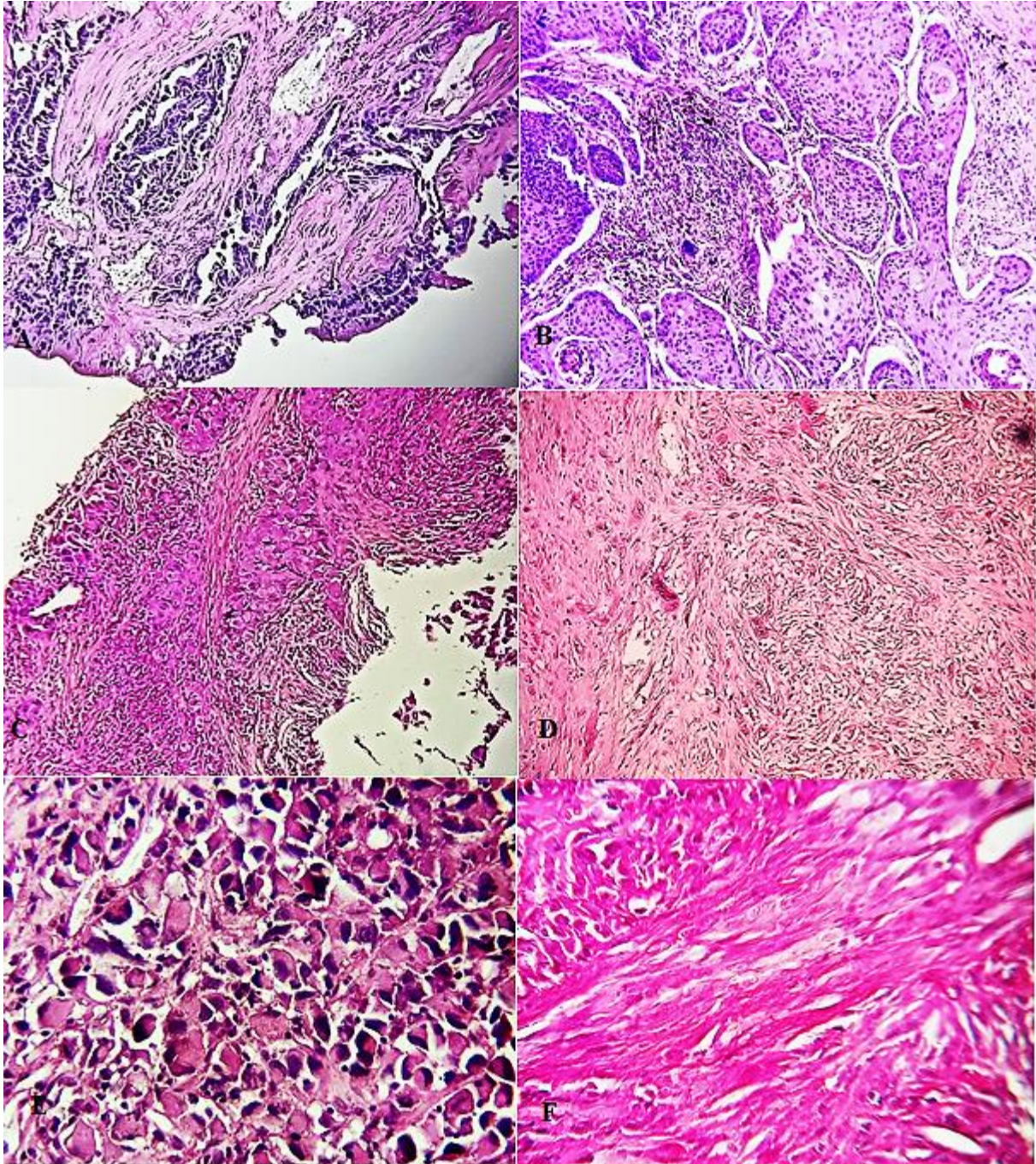


Figure 63: Les différents types histologiques des CPNPC. A : adénocarcinome, B : carcinome épidermoïde, C : carcinome à grandes cellules, D : carcinome à cellules pléomorphes, E : carcinome à cellules géantes, F : carcinome à cellules fusiformes

2.2. Répartition des sous-types histologiques des adénocarcinomes :

La morphologie des ADK pulmonaires n'a pas été précisée dans les sites métastatiques (41 cas soit 17,2%). 197 soit 82,8% des ADK étaient de siège pulmonaire pour lesquels la ou les patterns prédominants (02 au maximum) ont été appréciés. 61 cas étaient de morphologie acinaire et solide soit 31% ; 38 cas étaient de morphologie acinaire soit 19,3% ; 31 cas étaient de morphologie solide soit 15,7% ; 24 cas étaient de morphologie lépidique et acinaire soit 12,2% ; 23 cas étaient de morphologie papillaire et micropapillaire soit 11,7% et 20 cas

étaient de morphologie solide et cribriforme soit 10,2%. Les contingents mucineux, à cellules en bagues à chaton et entérique étaient présents dans certains cas mais non prédominants. (Tableau 16, Figure 64).

Tableau 16 : Répartition des adénocarcinomes selon le sous-type histologique

	Effectif	Pourcentage
Acinaire et solide	61	31,0
Acinaire	38	19,3
Solide	31	15,7
Lépidique et acinaire	24	12,2
Papillaire et micropap	23	11,7
Solide et cribriforme	20	10,2
Total	197	100,0

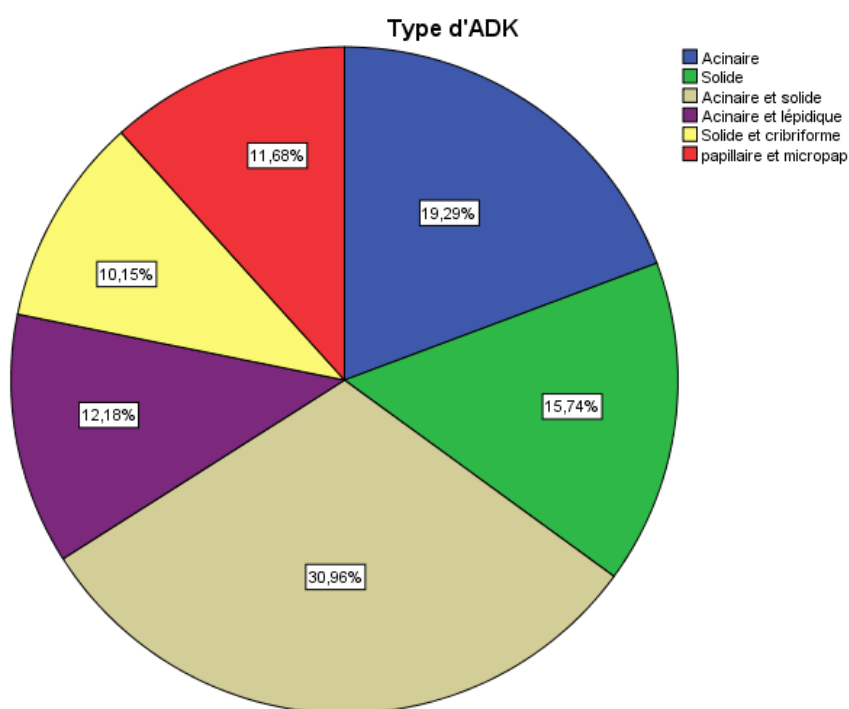


Figure 64: Répartition des adénocarcinomes selon le sous-type histologique

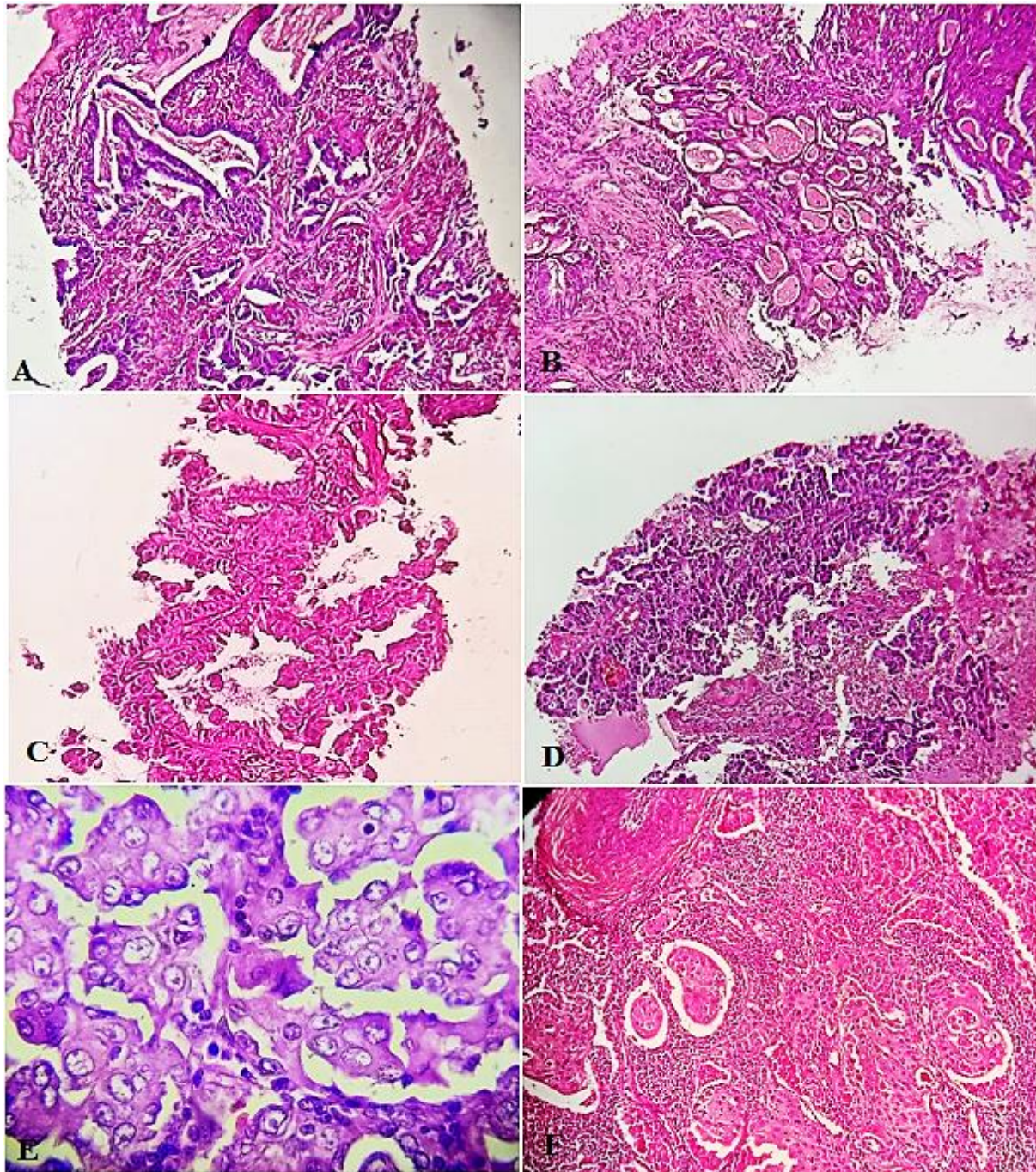


Figure 65: Sous-types des adénocarcinomes : A : acinaire, B : cribriforme, C : lépidique, D : papillaire, E : micropapillaire, F : solide

2.3. Répartition des sous-types histologiques des carcinomes épidermoïdes :

Parmi les 67 CE, 35 étaient de forme bien différenciée soit 52,2% ; 30 étaient de forme peu différenciée soit 44,8%, et 2 étaient de type basaloïde soit 3,0% (**Tableau 17, Figure 66**).

Tableau 17 : Répartition des sous-types histologiques des carcinomes épidermoïdes

	Effectif	Pourcentage
Bien différencié	35	52,2
Peu différencié	30	44,8
basaloïde	2	3,0
Total	67	100,0

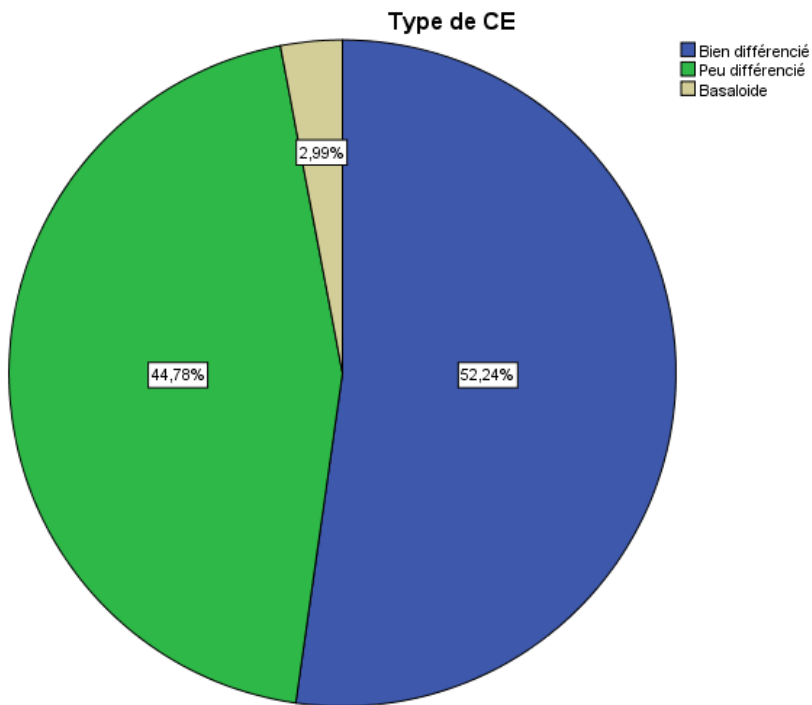


Figure 66: Répartition des sous-types histologiques des carcinomes épidermoïdes

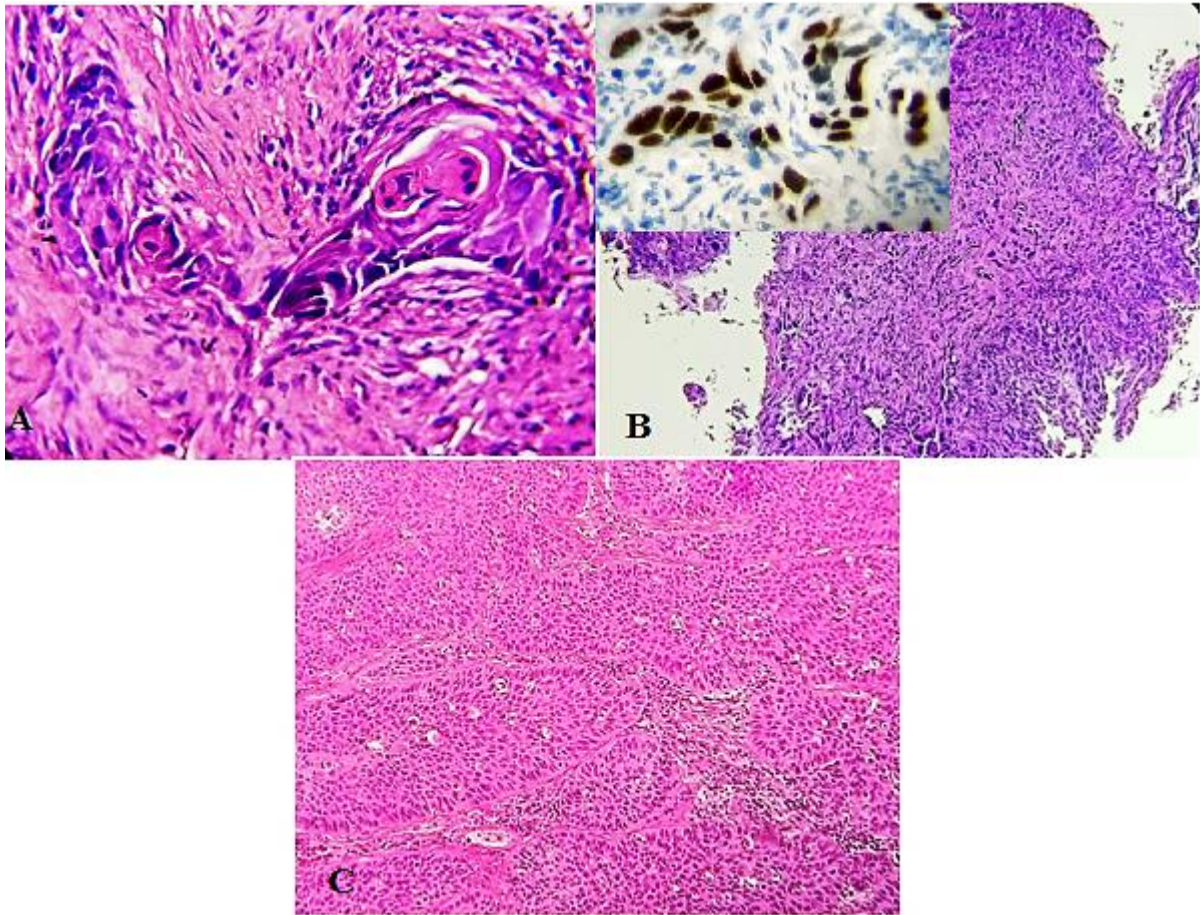


Figure 67: Variantes des carcinomes épidermoïdes. A : forme bien différenciée, B : forme peu différenciée avec expression de la P40 en haut, C : forme basaloïde

2.4. Etude immunohistochimique des adénocarcinomes :

Pour les 197 cas d'ADK pulmonaire de siège primitif, une étude IHC a été réalisée pour 106 cas soit 53,8% et n'a pas été réalisée pour 91 cas soit 46,2%. L'indication de l'IHC était fonction de la morphologie de l'ADK (**Tableau 18, Figure 68**).

Tableau 18: Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon la morphologie de l'adénocarcinome

Morphologie	IHC au TTF1		Total
	Faite	Non faite	
Acinaire (n)	19	19	38
%	50,0	50,0	100
Solide (n)	31	0	31
%	100	0	100
Acinaire/ solide (n)	34	27	61
%	55,7	44,3	100
Lépidique/acinaire (n)	7	17	24
%	29,2	70,8	100
Solide/cribriforme (n)	6	14	20
%	30,0	70,0	100
Papillaire/micropapillaire (n)	9	14	23
%	39,1	60,9	100
Total	106	91	197
%	53,8	46,2	100

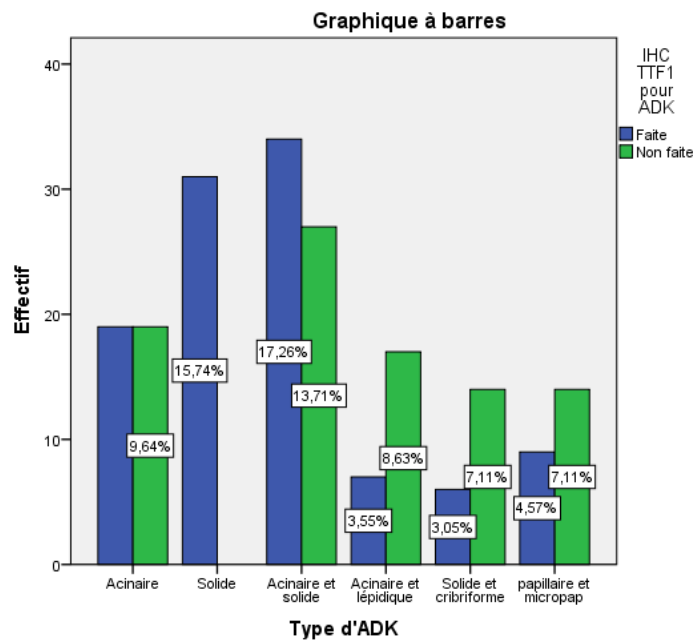


Figure 68: Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon la morphologie de l'adénocarcinome

IV RESULTATS

Parmi les 197 ADK pulmonaires primitifs, 167 (84,77%) étaient de morphologie non solide, pour lesquels, le recours à l'étude IHC utilisant TTF1 a été comparé sur les 3 années (**tableau 19, Figure 69**).

Tableau 19 : Fréquence de réalisation de l'étude IHC TTF1 sur les trois années

Années	IHC au TTF1		Total
	Faite	Non faite	
2017 (n)	28	8	36
%	77,8	22,2	100
2018(n)	17	33	50
%	34,0	66,0	100
2019 (n)	30	51	81
%	37,0	63,0	100
Total	75	92	167
%	44,9	55,1	100

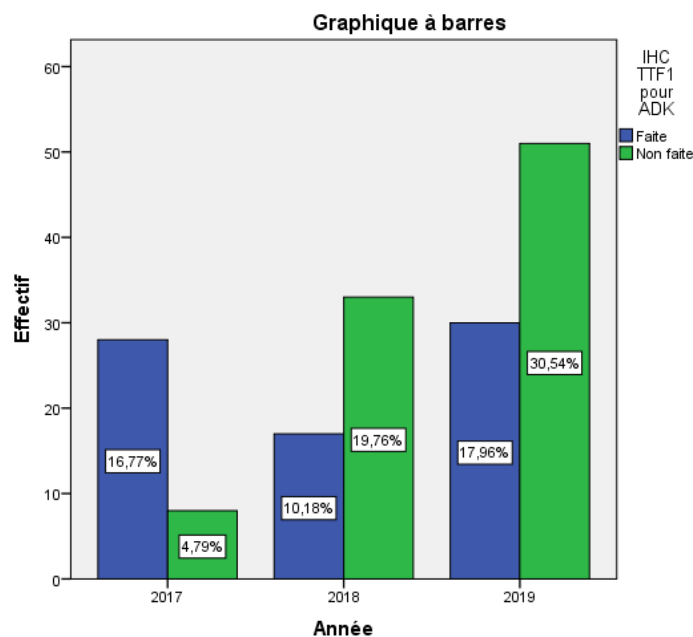


Figure 69 : Fréquence de réalisation de l'étude IHC au TTF1 sur les trois années

2.5. Etude immunohistochimique réalisée dans les carcinomes épidermoïdes :

L'étude immunohistochimique a été réalisée dans 32 cas parmi les 67 cas des CE soit 47,8%. (**Tableau 20, Figure 70**).

Tableau 20 : Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon le type des carcinomes épidermoïdes

Sous-type CE	IHC P40		Total
	Faite	Non faite	
CE bien différencié (n)	0	35	35
%	0	100	100
CE peu différencié (n)	30	0	30
%	100	0	100
CE type basaloïde (n)	0	2	2
%	0	100	100
Total	30	37	67
%	44,8	52,2	100

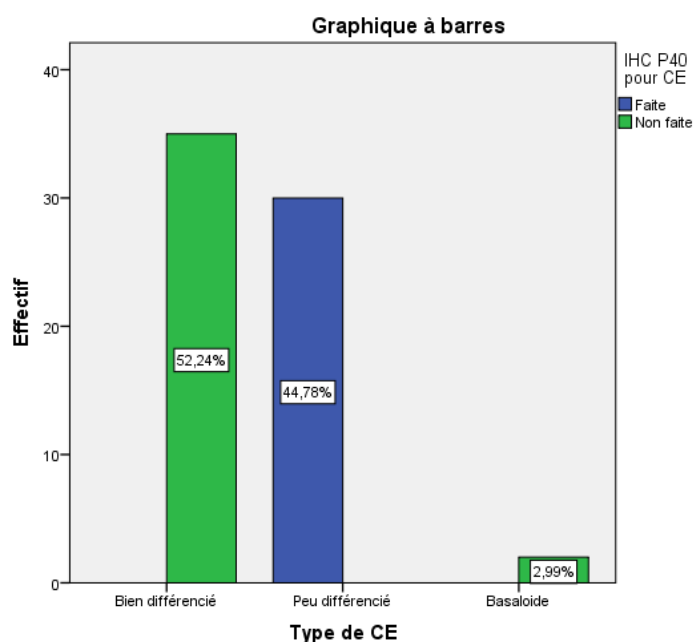


Figure 70: Fréquence de réalisation de l'étude IHC selon le type des carcinomes épidermoïdes

2.6. Recherche de mutation de l'EGFR par biologie moléculaire :

La recherche d'une mutation de l'EGFR a été réalisée au CHU Mustapha d'Alger pour 52 cas de CPNPC de notre série soit 15,7%, parmi eux 16 étaient invalides soit 30,8%, 10 cas étaient positifs soit 19,2% et 26 étaient négatifs soit 50,0% (Tableau 21, Figure 71).

Tableau 21 : Recherche de la mutation de l'EGFR dans les adénocarcinomes

	Effectif	Pourcentage
Mutation EGFR+	10	19,2
Mutation EGFR-	26	50,0
Invalide	16	30,8
Total	52	100

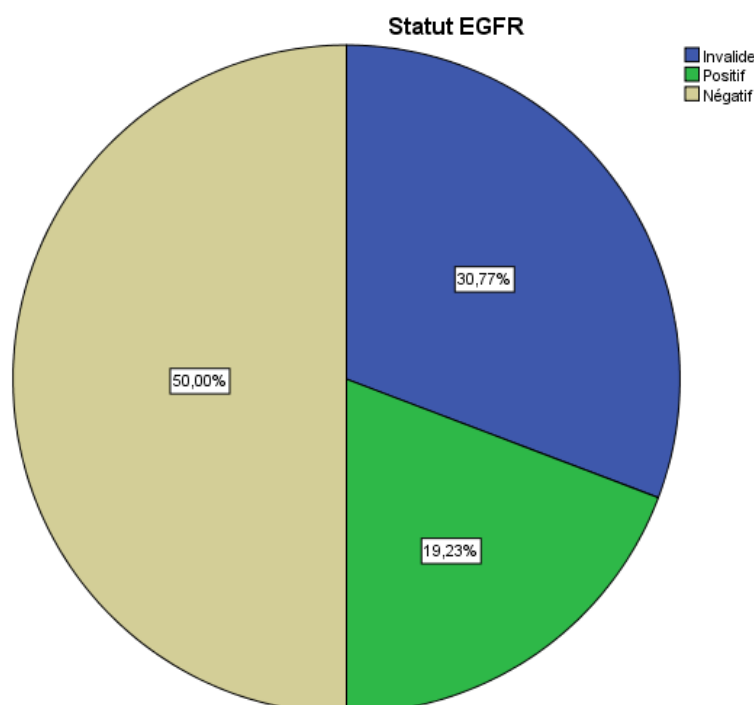


Figure 71: Recherche de la mutation de l'EGFR dans les adénocarcinomes

2.7. Recherche du réarrangement ALK par étude immunohistochimique :

Une recherche d'un réarrangement ALK par étude immunohistochimique a été réalisée pour 49 cas soit 14,8%, parmi eux 3 carcinomes adénoquameux et 46ADK. Un réarrangement ALK était retrouvé dans 3 cas d'ADK soit 6,1%. Les 3 cas de carcinomes adénoquameux étaient tous négatifs (Tableau 22, Figure 72).

Tableau 22 : Recherche du réarrangement ALK par étude immunohistochimique

	Effectif	Pourcentage
Réarrangement ALK+	3	6,1
Réarrangement ALK-	46	93,3
Total	49	100

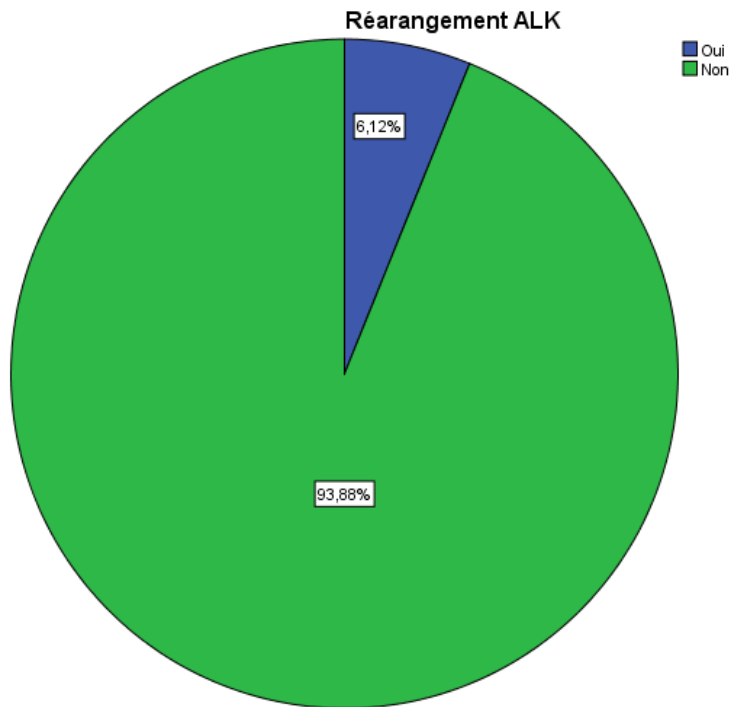


Figure 72 : Recherche du réarrangement ALK par étude immunohistochimique

Analyse statistique :

L'analyse statistique a été appliquée pour mettre en évidence un lien statistiquement significatif entre les deux types histologiques les plus fréquents qui sont l'ADK et le CE. Au terme de cette analyse, un lien statistiquement significatif a été retrouvé entre ces deux types histologiques dans l'âge, le genre et l'exposition tabagique (**Tableau 23**).

Tableau 23: caractéristiques anatomocliniques des adénocarcinomes et des carcinomes épidermoïdes

Caractéristiques	ADK	CE	p
Moyenne d'âge	62,32 +/- 12,02	68,63 +/- 9,75	0,000
Genre			
Homme	177 (73,1%)	65(26,9%)	0,000
Femme	61 (96,8%)	2 (3,2%)	
Exposition au tabagisme			
Oui	166(74,4%)	57(25,6%)	0,005
Non	57 (93,4%)	4 (6,6%)	

Il n'y avait pas de lien statistiquement significatif entre l'âge, le genre, les sous types d'adénocarcinome et l'extension de la maladie avec les statuts EGFR et ALK, $p > 0,05$. Le

IV RESULTATS

statut EGFR était statistiquement lié au tabagisme (**p=0,02**) mais il n'y avait pas de lien statistiquement significatif entre le tabagisme et le statut ALK ($p>0,05$) (**Tableau 24**).

Tableau 24 : Caractéristiques anatomocliniques des CPNPC testés pour EGFR et ALK

Caractéristiques	EGFR		p	ALK		p
	Positif	Négatif		Positif	Négatif	
Moyenne d'âge	65,00+/- 13,75	63,19+/- 11,15	0,6	49,67+/- 14,57	63,09+/- 12,63	0,08
Genre						
Homme	7(25,9%)	20(74,1%)	0,6	1(3,0%)	32(97,0%)	0,1
Femme	3(33,3%)	6(66,7%)		2(12,5%)	14(87,5%)	
Exposition tabagique						
Oui	3(13,6%)	19(86,4%)	0,02	1(4,5%)	21(95,5%)	0,5
Non	6(46,2%)	7(53,8%)		2(9,1%)	20(90,9%)	
Types histologiques						
ADK				3(100%)	43(93,5%)	0,6
Adénosquameux				0(0%)	3(6,5%)	
Types d'ADK						
Acinaire	0(0%)	3(100%)	0,8	1(9,1%)	10(90,9%)	0,9
Solide	1(50%)	1(50%)		0(0%)	2(100%)	
Acinaire/solide	1(20,0%)	4(80,0%)		1(8,3%)	11(91,7%)	
Acinaire/lépidique	1(33,3%)	2(66,7%)		0(0%)	6(100%)	
Solide/cribriforme	1(20,0%)	4(80,0%)		0(0%)	4(100%)	
Papillaire/micropapillaire	2(28,6%)	5(71,4%)		0(0%)	5(100%)	
Stade maladie						
Local	0(0%)	3(100%)	0,5	0(0%)	4(100%)	0,5
Avancé/métastatique	8(33,3%)	16(66,7%)		3(9,7%)	28(90,3%)	

3. Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales :

Parmi les 332 cas des CPNPC, 155 cas étaient positifs ($\geq 1\%$) soit 46,7% et 177 étaient négatifs (TPS $< 1\%$) soit 53,3%. La prévalence du PD-L1 dans notre série était de 46,7% (**Tableau 25, Figure 73**).

IV RESULTATS

Concernant le niveau d'expression du PD-L1, 86 avaient une expression faible (TPS entre 1-49%) soit 25,9% et 69 avaient une expression forte ($\geq 50\%$) soit 20,8% (**Tableau 26, Figure 74**).

Tableau 25 : Expression du PD-L1 dans les CT des CPNPC, évaluation du TPS

	Effectif	Pourcentage
TPS <1%	177	53,3
TPS $\geq 1\%$	155	46,7
Total	332	100

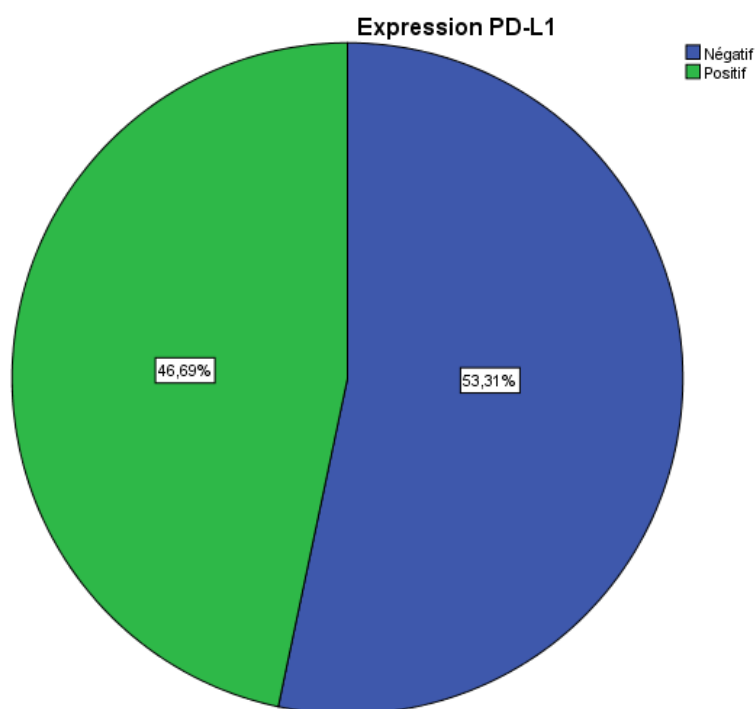


Figure 73: Expression du PD-L1 dans les CPNPC

Tableau 26: Niveau d'expression du PD-L1 dans les CT des CPNPC

	Effectif	Pourcentage
TPS <1%	177	53,3
TPS 1-49%	86	25,9
TPS $\geq 50\%$	69	20,8
Total	332	100

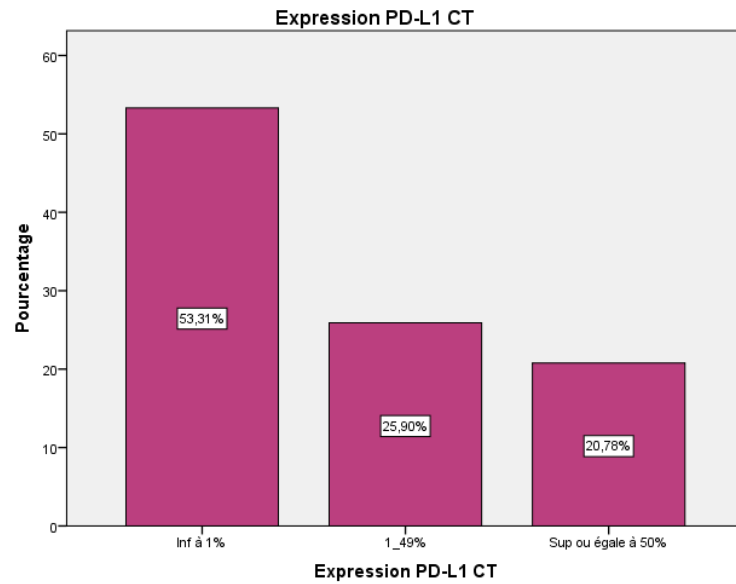


Figure 74: Niveau d'expression du PD-L1 dans les CT des CPNPC

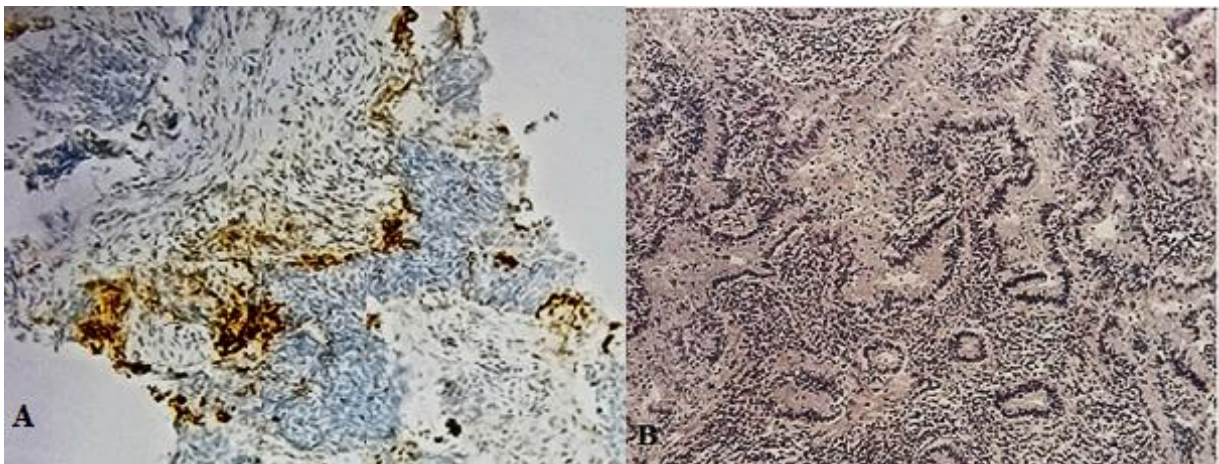


Figure 75 : TPS=0 (<1%) A : prélèvement biopsique, B : prélèvement chirurgical

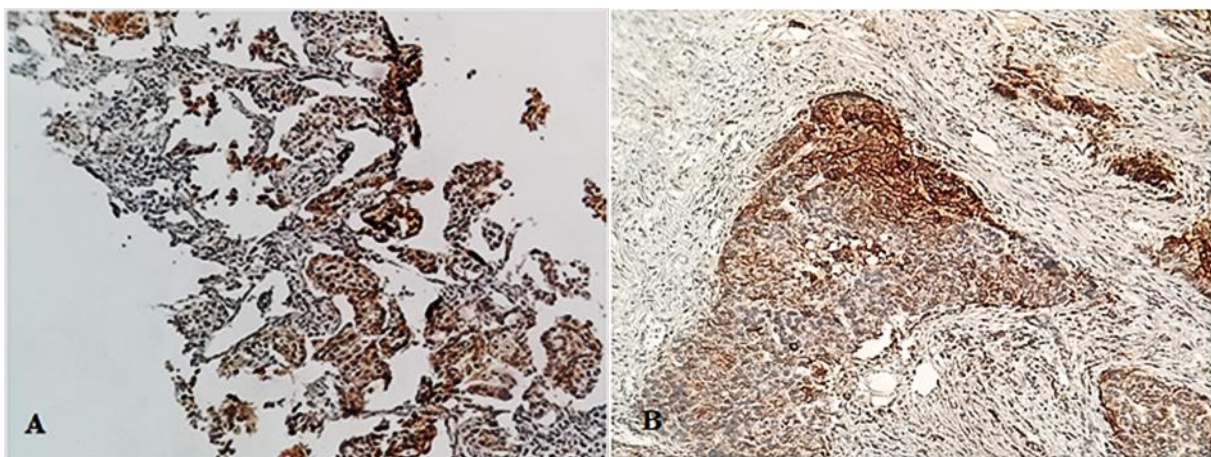


Figure 76 : TPS compris entre 1% et 49% A : prélèvement biopsique TPS= 25%, B : prélèvement chirurgical TPS=40%

**

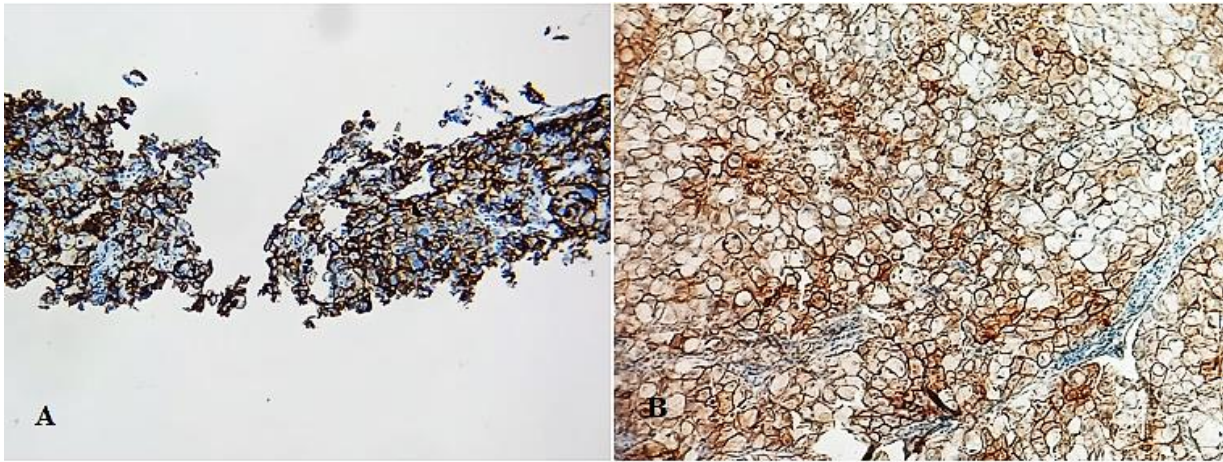


Figure 77 : TPS≥50% A : prélèvement biopsique, TPS= 95%, B : prélèvement chirurgical, TPS= 84%

3.1. Caractéristiques des CPNPC PD-L1+ :

3.1.1. Répartition selon l'âge :

La moyenne d'âge au moment du diagnostic chez les patients PD-L1+ tous sexes confondus était de 63,02. Les extrêmes d'âge étaient de 31 ans et 92 ans (Tableau 27, Figure 78).

Tableau 27: Moyenne d'âge des CPNPC PD-L1+

Moyenne	63,02
Médiane	64,00
Mode	64
Ecart type	12,596
Minimum	31
Maximum	92

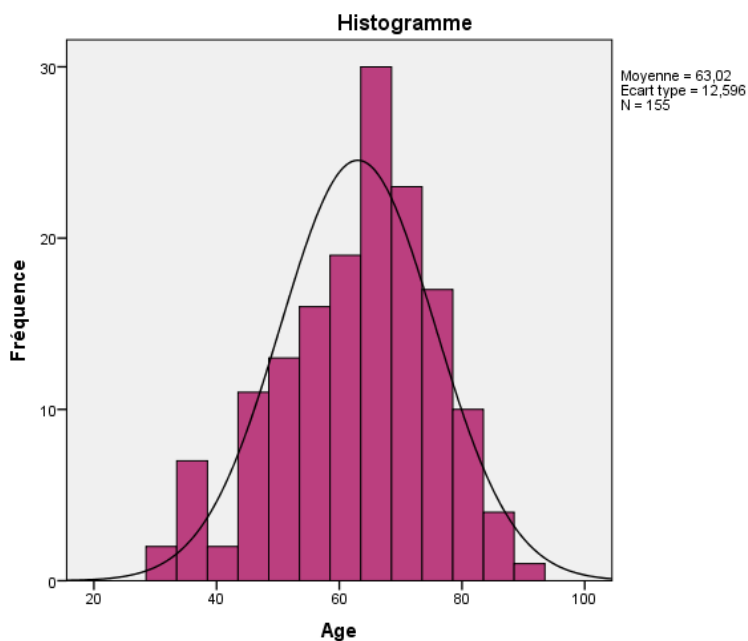


Figure 78: Répartition des CPNPC PD-L1+ selon l'âge

3.1.2. Répartition selon le genre :

Parmi les 155 patients PD-L1+, 119 étaient des hommes soit 76,8% et 36 étaient des femmes soit 23,2%. Le Sex-ratio était de 3,3 (**Figure 79**).

La moyenne d'âge était de 63,15 +/- 12,49 chez les hommes et 63,49 +/- 12,86 chez les femmes.

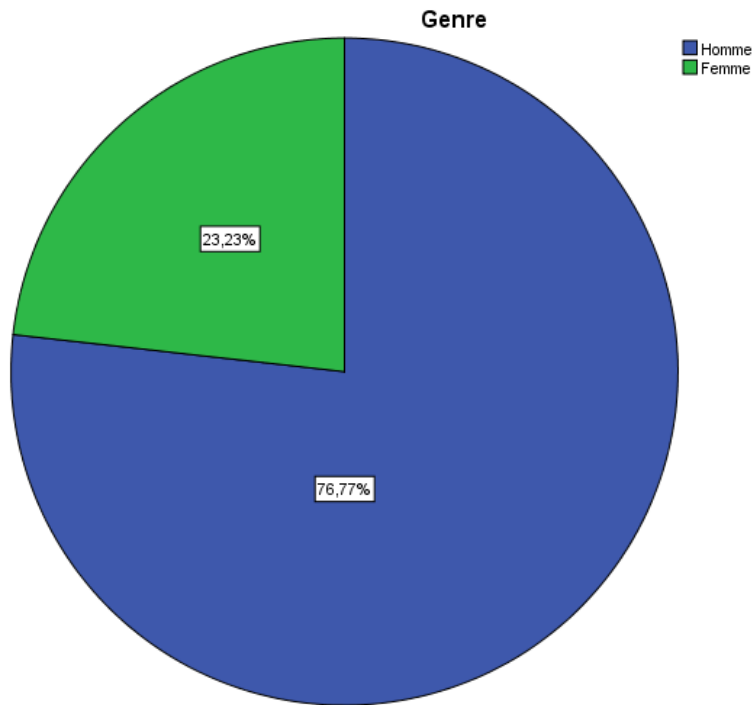


Figure 79: Répartition des CPNPC PD-L1+ selon le genre

3.1.3. Répartition des CPNPC PD-L1+ selon l'exposition au tabagisme :

Parmi les 155 cas PD-L1+, 106 patients ont été exposés au tabagisme soit 68,4%, 40 patients n'ont pas été exposés soit 25,8% et pour 9 patients soit 5,8%, cette notion n'a pas été précisée (**Figure 80**). L'exposition était liée au tabagisme actif dans 78 cas soit 73,6% et dans 6 cas soit 5,7% au tabagisme passif. Le type d'exposition tabagique n'a pas été précisé pour 22 cas soit 20,8%.

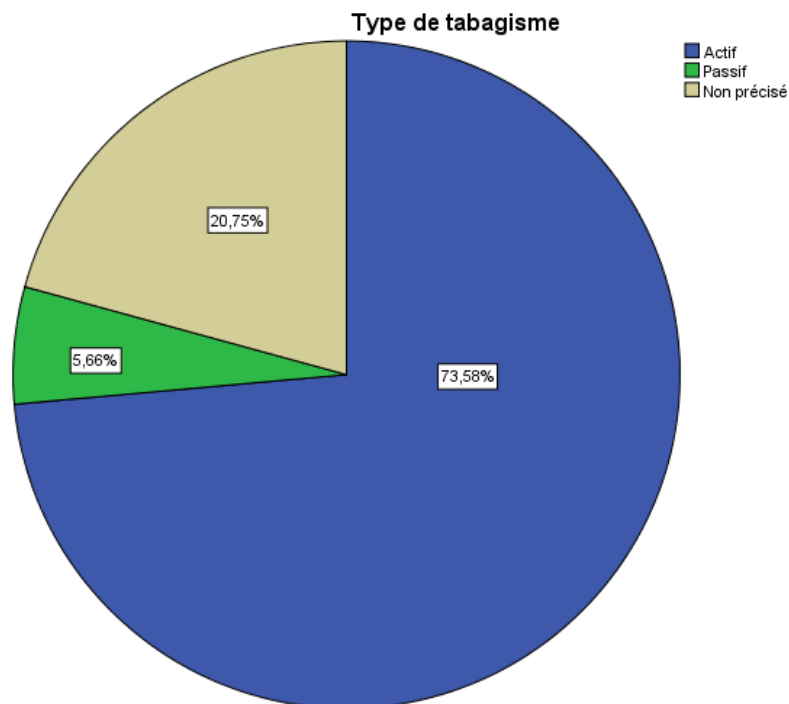


Figure 80: Répartition des cas PD-L1+ selon l'exposition au tabagisme

3.1.4. Antécédents néoplasiques :

103 patients (66,5%) PD-L1+ n'avaient pas d'antécédents de néoplasie, 7 patients (4,5%) en avaient à type de : poumon (2 cas, soit 28,57%), thyroïde (2 cas, soit 28,57%), vessie (1 cas, soit 14,28%), testicule (1cas, soit 14,28%) et sein (1 cas, soit 14,28%). Pour 45 patients (29,0%) les antécédents n'ont pas été précisés (**Tableau 28, Figure 81**).

Tableau 28 : Répartition des antécédents néoplasiques chez les patients PD-L1+

	Effectif	Pourcentage
Sans antécédent	103	66,5
Non précisé	45	29,0
Avec antécédent	7	4,5
Total	155	100

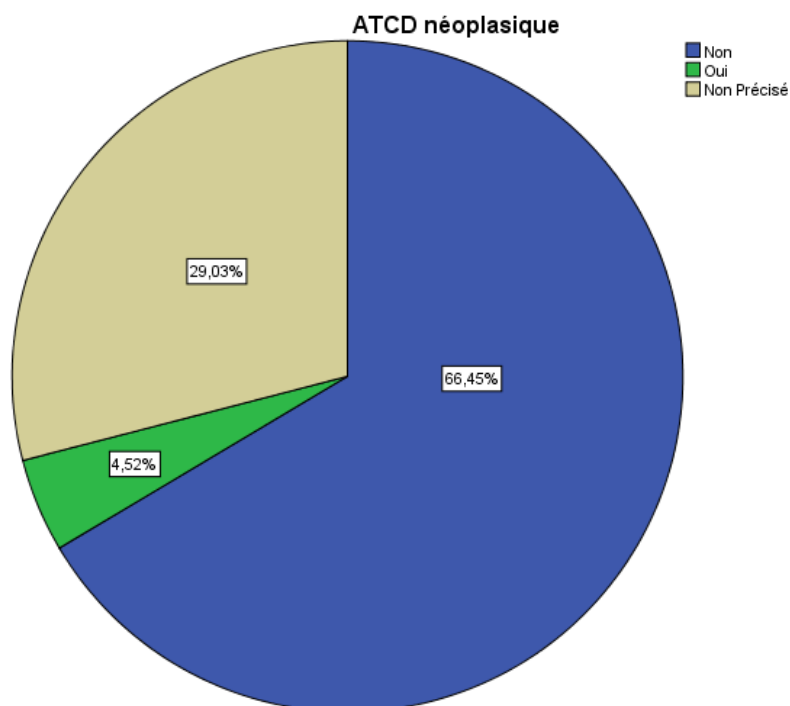


Figure 81 : Répartition des antécédents néoplasiques chez les patients PD-L1+

3.1.5. Répartition des cas PD-L1+ selon le stade TNM et l'extension de la maladie:

74 patients étaient au stade IV soit 47,7%, 8 patients au stade IIIB soit 5,2%, 7 au stade IIIA soit 4,5%, 4 au stade IB soit 2,6%, 4 au stade IIB soit 2,6%, 2 au stade IIA soit 1,3% et 1 cas au stade IIIC soit 0,6%. Pour 55 cas soit 35,5%, le stade n'a pas été précisé. (Tableau 29, Figure 82).

Tableau 29 : Répartition des cas PD-L1 + selon le stade TNM

Stade TNM	Effectif	Pourcentage
IV	74	47,7
IIIB	8	5,2
IIIA	7	4,5
IB	4	2,6
IIB	4	2,6
IIA	2	1,3
IIIC	1	0,6
Non précisé	55	35,5
Total	155	100

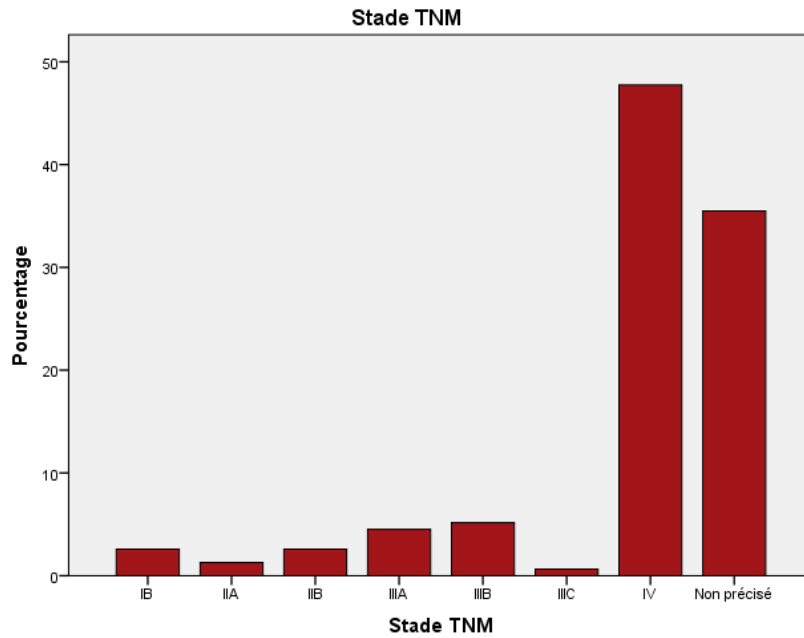


Figure 82 : Répartition des CPNPC PD-L1+ selon le stade TNM

10 cas étaient à un stade local soit 10,0% et 90 cas étaient à un stade localement avancé ou métastatique soit 90,0% (Figure 83).

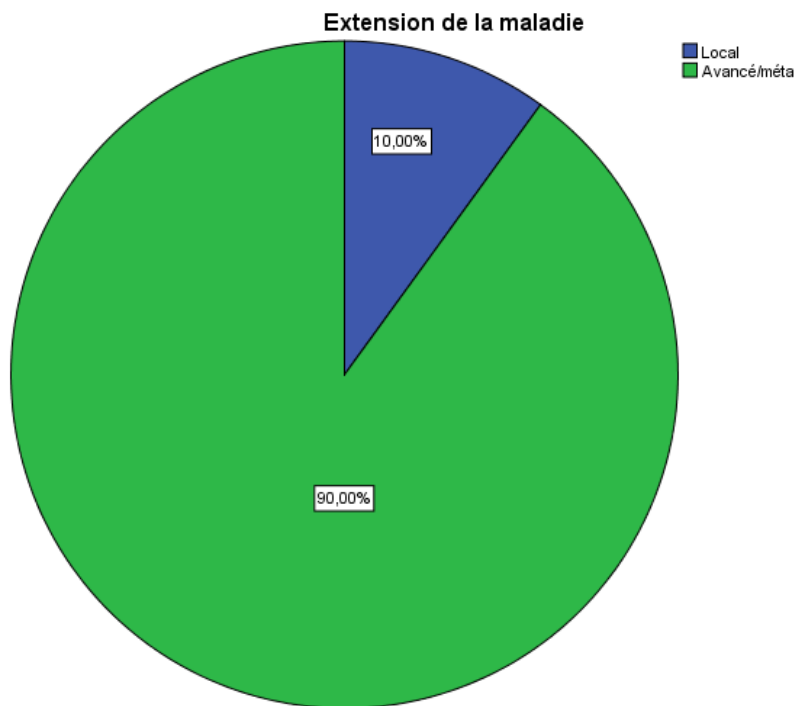


Figure 83 : Répartition des CPNPC PD-L1+ selon l'extension de la maladie

3.1.6. Répartition des cas PD-L1+ selon le type histologique :

Parmi les 155 cas de CPNPC PD-L1+, 116 cas correspondaient à des ADK soit 74,8% ; 29 cas à des CE soit 18,7% ; 5 cas à des CPNPC de type NOS soit 3,2% ; 3 cas à des CGC soit 1,9% et 2 cas à des carcinomes sarcomatoïdes soit 1,3% (**Figure 84**).

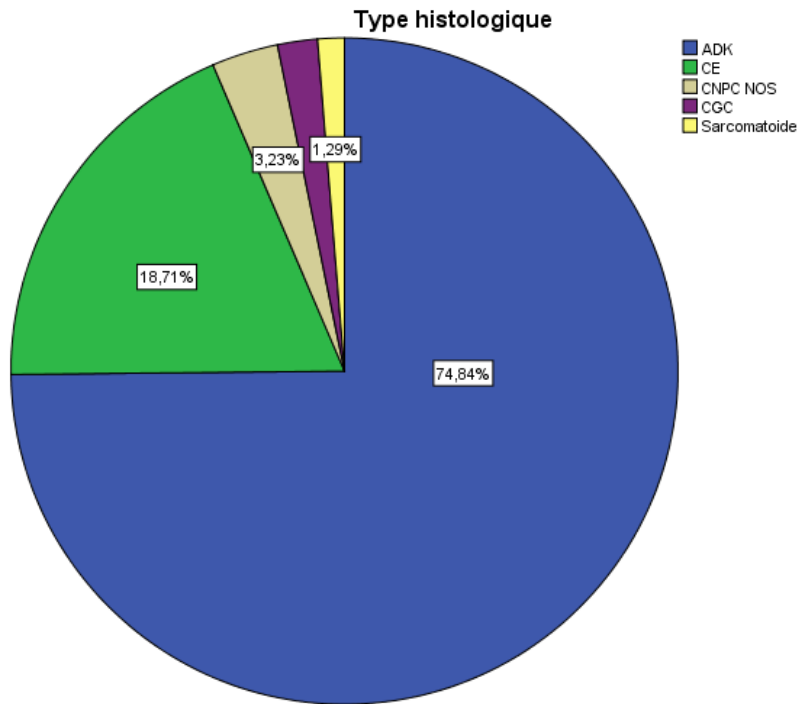


Figure 84: Répartition des cas de PD-L1+ selon le type histologique

3.1.7. Répartition des adénocarcinomes PD-L1+ selon le sous-type histologique des ADK :

Parmi les 116 cas d'ADK PD-L1+, 18 cas (15,51%) étaient de siège extra-pulmonaire et 98 cas (63,2%) étaient de siège pulmonaire dont la ou les architectures prédominantes ont été précisées : acinaire 12 cas (12,2%), solide 19 cas (19,4%), acinaire et solide 36 cas (36,7%), lépidique et acinaire 10 (10,2%), solide et cribriforme 10 cas (10,2%), papillaire et micropapillaire 11 (11,2%) (**Figure 85**).

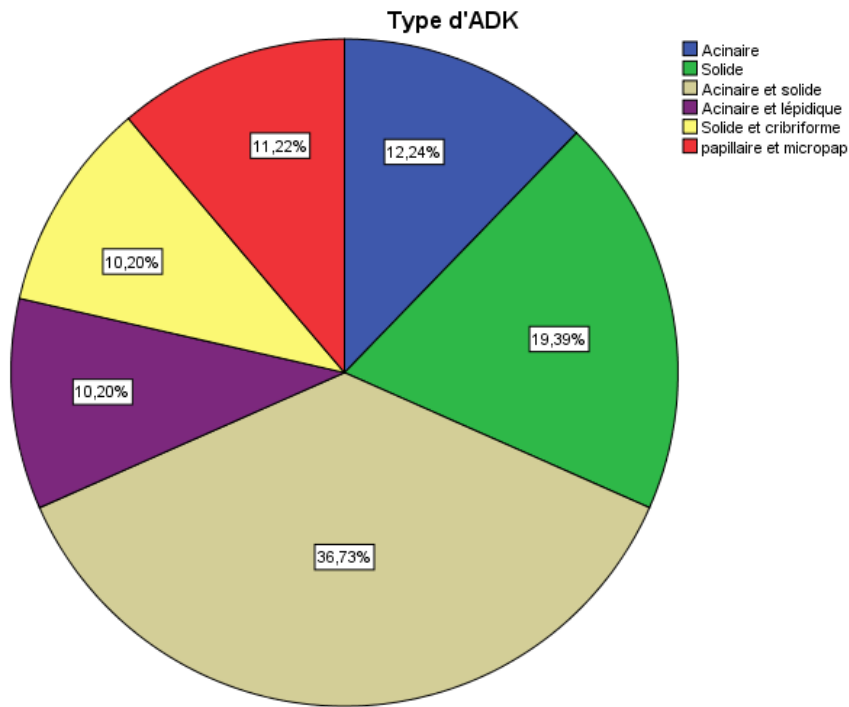


Figure 85: Répartition des adénocarcinomes PD-L1+ selon les sous-types histologiques

3.1.8. Répartition des carcinomes épidermoïdes PD-L1+ selon le sous-type histologique:

Parmi les 29 CE PD-L1+, 16 (55,2%) étaient de type bien différencié, 12(41,4%) de type peu différencié et 1(3,4%) de type basaloïde (**Figure 86**).

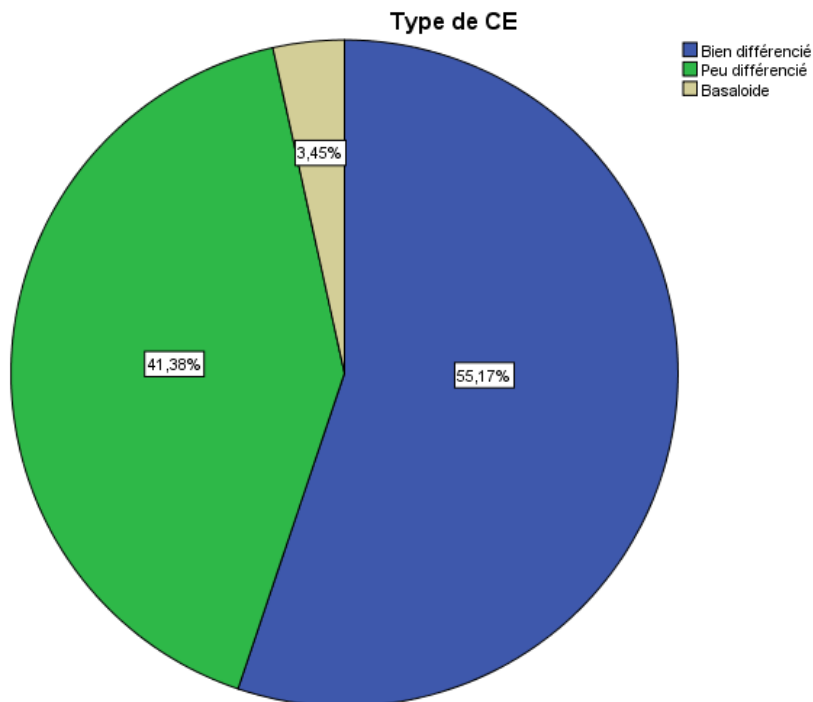


Figure 86 : Répartition des carcinomes épidermoïdes PD-L1+ selon le sous-type

3.1.9. Répartition des adénocarcinomes PD-L1+ selon le statut EGFR :

Parmi les 155cas de CPNPC PD-L1+, 26 ont été testés pour la recherche d’une mutation EGFR soit 16,8% dont 8 étaient invalides soit 30,8% ; 6 étaient revenus positifs soit 23,1% et 12 négatifs soit 46,2% (**Figure 87**).

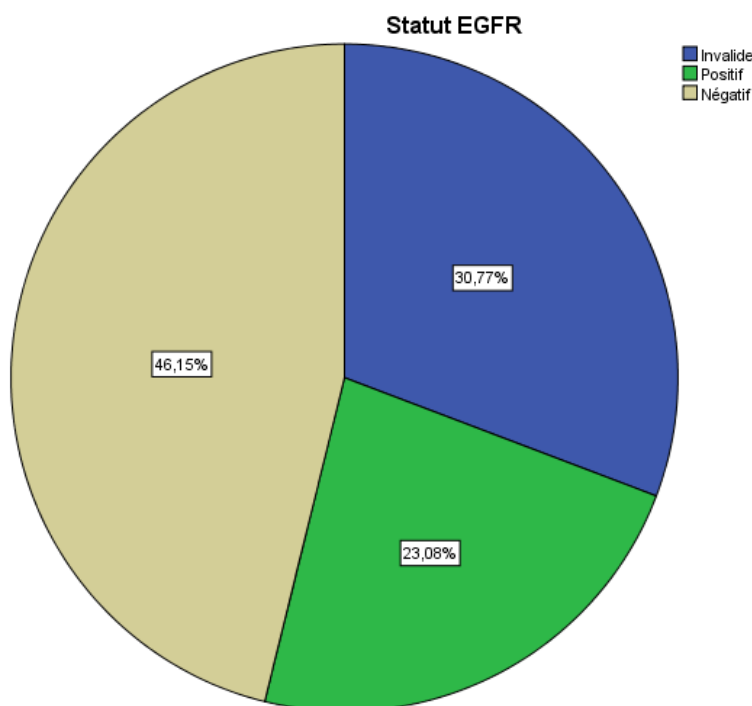


Figure 87: Répartition des adénocarcinomes PD-L1+ selon le statut EGFR

3.1.10. Répartition des adénocarcinomes PD-L1+ selon le statut ALK :

Parmi les 116 cas d’ADK PD-L1+, 34 (21,9%) ont été testés par étude immunohistochimique à la recherche d’un réarrangement ALK dont 2 cas (5,9%) étaient revenus positifs, et 32 cas (94,1%) négatifs (**Figure 88**).

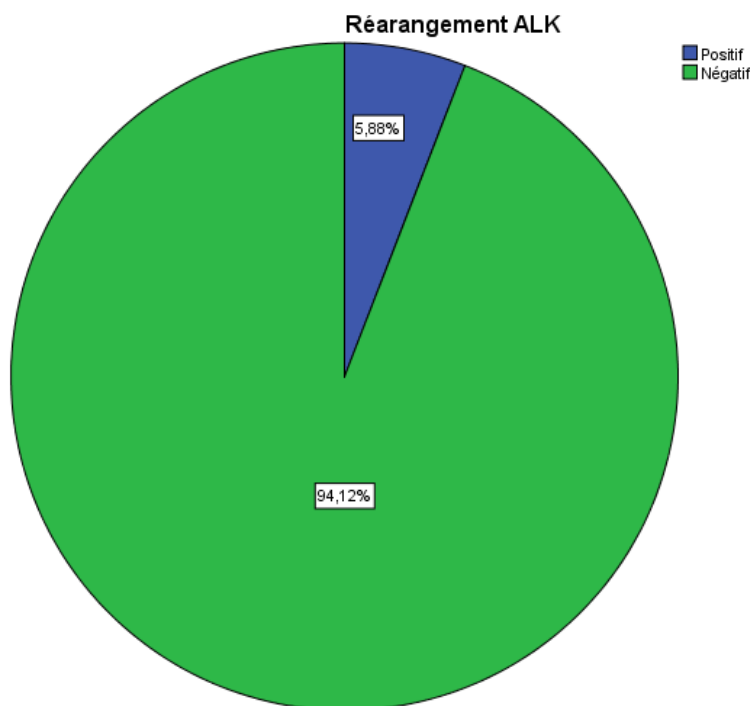


Figure 88: Répartition des CPNPC PD-L1+ selon le statut ALK

4. Expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement tumoral:

L'expression du PD-L1 dans les CI a été évaluée de façon globale dans toutes les cellules immunitaires du microenvironnement. Seuls les macrophages intra-alvéolaires ont été exclus de l'interprétation.

En utilisant les 04 scores d'évaluation de l'expression du PD-L1 dans les CI, 177 cas de CPNPC soit 53,3% avaient une expression <1% ; 94 cas soit 28,3% avaient une expression $\geq 1\%$ et < 5% ; 51 cas soit 15,4% avaient une expression $\geq 5\%$ et <10% et 10 cas soit 3,0% avaient une expression $\geq 10\%$ (**Tableau 30, Figure 89**).

Tableau 30 : Expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement tumoral

	Effectif	Pourcentage
<1%	177	53,3
$\geq 1\%$, et <5%	94	28,3
$\geq 5\%$ et <10%	51	15,4
$\geq 10\%$	10	3,0
Total	332	100

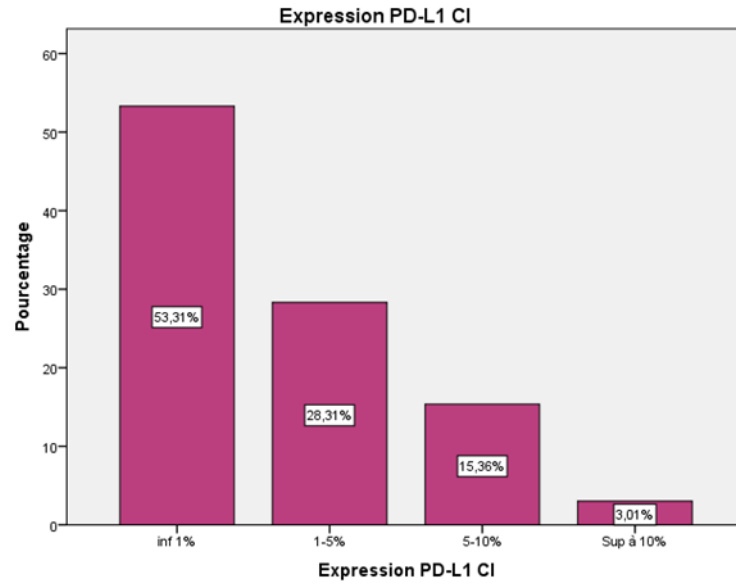


Figure 89: Expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement tumoral

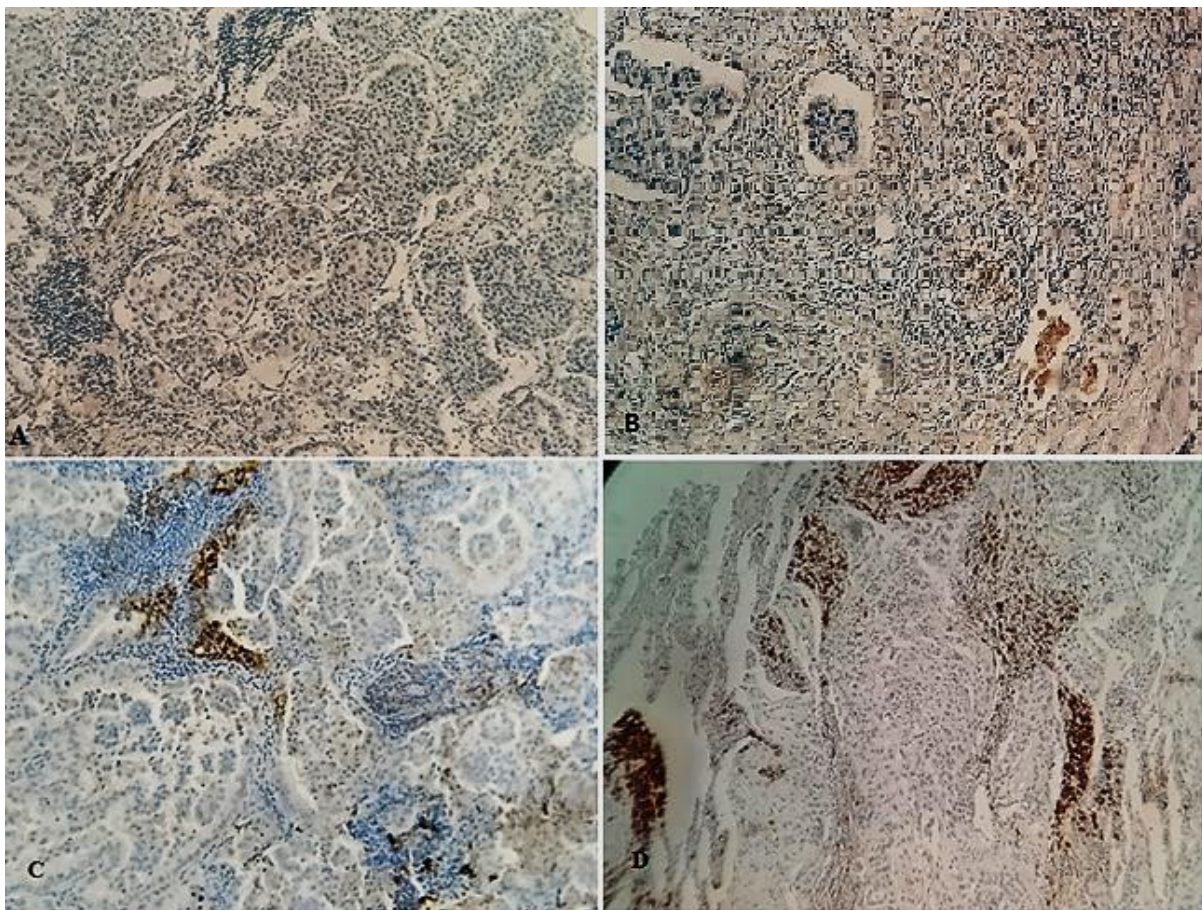


Figure 90 : Scoring de l'expression du PD-L1 par les CI.

A : 0,2% (<1%) score 1, B : 3% (>1% et ≤5%) score 2, C : 8% (>5% et ≤10%) score 3, D : 15% (≥10%) score 4.

5. Comparaison entre les deux groupes PD-L1+ et PD-L1- par analyse statistique :

Dans les cellules tumorales, et afin de comparer les deux groupes PD-L1+ et PD-L1-, une analyse bivariée a été réalisée entre ces deux groupes par le test X^2 pour les variables qualitatives (comparaison des pourcentages), et le test de Student pour comparer des moyennes (variables quantitatives).

La variable cible était donc l'expression du PD-L1 en IHC avec deux modalités : positif ou négatif.

Au terme de l'analyse bivariée, nos résultats n'ont pas montré un lien statistiquement significatif entre les deux groupes PD-L1+ et PD-L1- pour les paramètres : âge ($p=0,2$), genre ($p=0,3$), les antécédents de néoplasie ($p=0,8$) et traitement néoadjuvant ($p=0,5$) (**Tableau 31**)

Tableau 31 : Comparaison des deux groupes PD-L1+ et PD-L1- selon l'âge, le genre les antécédents néoplasiques et le traitement néoadjuvant

	PD-L1+	PD-L1-	p
Age	63,02+/- 12,59	64,43+/-19,94	0,2
Genre			
Homme	119(76,8%)	146 (82,5%)	0,2
femme	36(23,2)	31 (17,5%)	
ATCD néoplasique			
Non	103 (93,6%)	117 (92,9%)	1
Oui	7 (6,4%)	9 (7,1%)	
TRT néoadjuvant			
Oui	4(2,6%)	7(4,0%)	0,5
Non	151(97,4%)	170(96,0%)	

5.1. Exposition au tabagisme :

Dans le groupe PD-L1+ 106 (72,6%) étaient exposés au tabagisme et 40 cas (27,4%) non exposés. Dans le groupe PD-L1-, 136 cas (83,4%) étaient exposés au tabagisme et 27 cas (16,6%) étaient non exposés, $p=0,02$ (**Tableau 32, Figure 91**). Le RR calculé était égal à 1,9 (IC : 1,09 - 3,29).

Tableau 32 : Répartition de l'exposition tabagique dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

		Exposition tabagique		Total
		Oui	Non	
PD-L1+	Effectif	106	40	146
	%	72,6	27,4	100
PD-L1-	Effectif	136	27	163
	%	83,4	16,6	100
Total	Effectif	242	67	309
	%	78,3	21,7	100

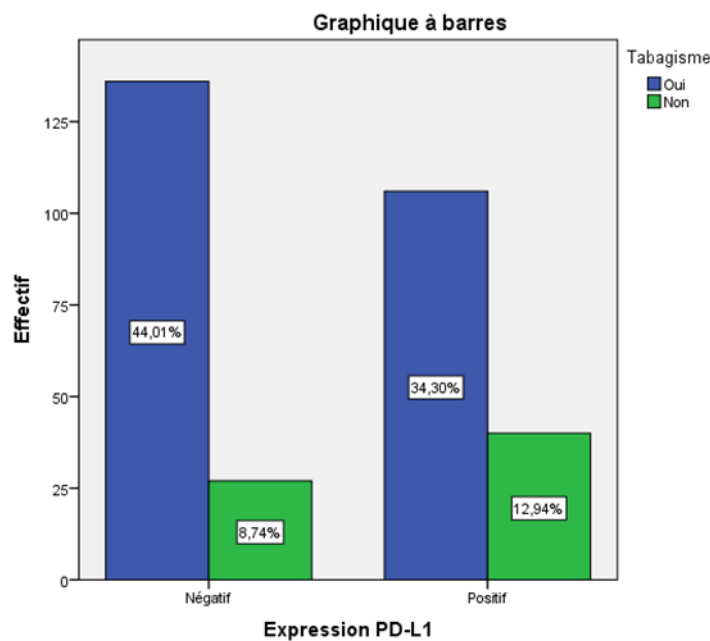


Figure 91 : Expression du PD-L1 en fonction du tabagisme

Il n'y avait pas de relation statistiquement significative entre l'expression du PD-L1 et le type d'exposition au tabagisme, actif ou passif, $p=0,8$.

5.2. Type de prélèvement :

Dans le groupe PD-L1+, le type des prélèvements était réparti comme suit : 33 biopsies bronchiques (21,3%), 87 BTP (56,1%), 4 biopsies chirurgicales (2,6%), 15 pièces chirurgicales (9,7%), 16 biopsies de site métastatique (10,3%).

Dans le groupe PD-L1-, le type des prélèvements était réparti comme suit : 47 biopsies bronchiques (26,6%), 64 BTP (36,2%), 4 biopsies chirurgicales (2,3%), 36 pièces chirurgicales (20,3%), 26 biopsies de site métastatique (14,7%) (**Tableau 33, Figure 92**).

La relation était statistiquement significative, $p=0,003$.

Tableau 33 : Répartition des types de prélèvement dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

	Type de prélèvement					Total
	Bx bronchique	BTP	Bx chirurgicale	Pièce opératoire	Site métastatique	
PD-L1+ Effectifs	33	87	4	15	16	155
%	21,3	56,1	2,6	9,7	10,3	100
PD-L1- Effectifs	47	64	4	36	26	177
%	26,6	36,2	2,3	20,3	14,7	100
Total	80	151	8	51	42	332
%	24,1	45,5	2,4	15,4	12,7	100

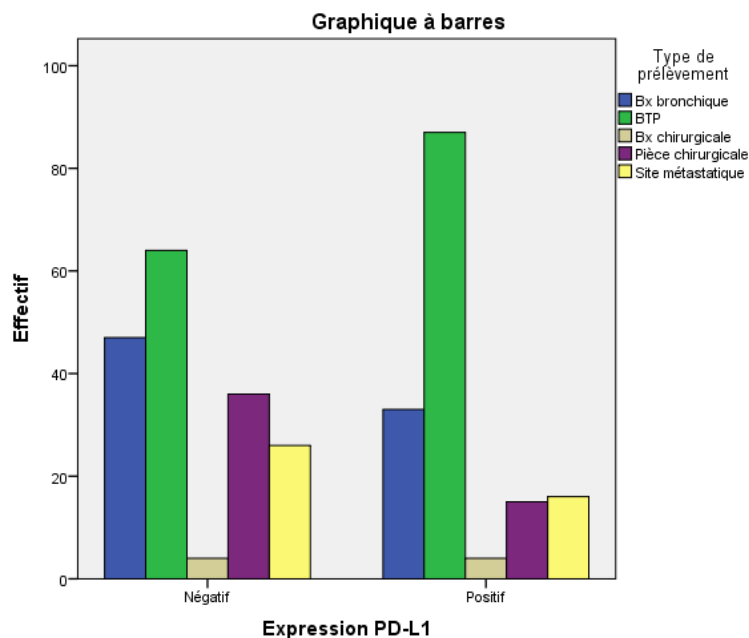


Figure 92: Répartition des types de prélèvement dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

Afin de mieux identifier la relation entre l'expression du PD-L1 et les différents types de prélèvements, ces derniers ont été regroupés en 2 catégories : prélèvements biopsiques et prélèvements chirurgicaux.

L'analyse statistique avait montré l'existence d'un lien statistiquement significatif entre l'expression du PD-L1 dans ces deux types de prélèvement (après regroupement), **p=0,03** (Tableau 34, Figure 93). Le RR calculé était de 0,5 (IC : 0,2 - 0,9).

Tableau 34 : Expression du PD-L1 dans les deux types de prélèvement

		Nature prélèvement		Total
		Biopsique	chirurgical	
PD-L1+	Effectif	135	20	155
	%	87,1	12,9	100
PD-L1-	Effectif	138	39	177
	%	78,0	22,0	100
Total	Effectif	273	59	332
	%	82,2	17,8	100

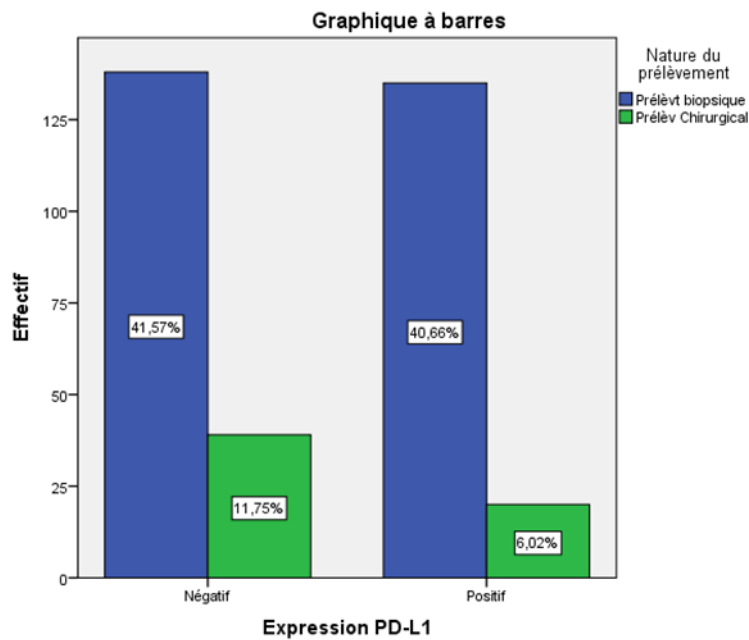


Figure 93: Expression du PD-L1 en fonction du type de prélèvement

5.3. Extension de la maladie:

Dans le groupe PD-L1+ 10 patients étaient à un stade local (9,9%) et 91 patients étaient à un stade localement avancé ou métastatique. Dans le groupe PD-L1-, 31 patients étaient à un stade local (24,4%) et 96 patients étaient à un stade avancé ou métastatique, **p=0,009** (Tableau 35, Figure 94). Le RR calculé était de 2,8 (IC : 1,33 - 6,20).

Tableau 35: Répartition des stades TNM « locales et localement avancés/métastatiques » dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

		Stade		Total
		Local	Avancé/ méta	
PD-L1+	Effectif	10	90	100
	%	10,0	90,0	100
PD-L1-	Effectif	31	97	127
	%	24,2	75,8	100
Total	Effectif	41	187	228
	%	18,0	82,0	100

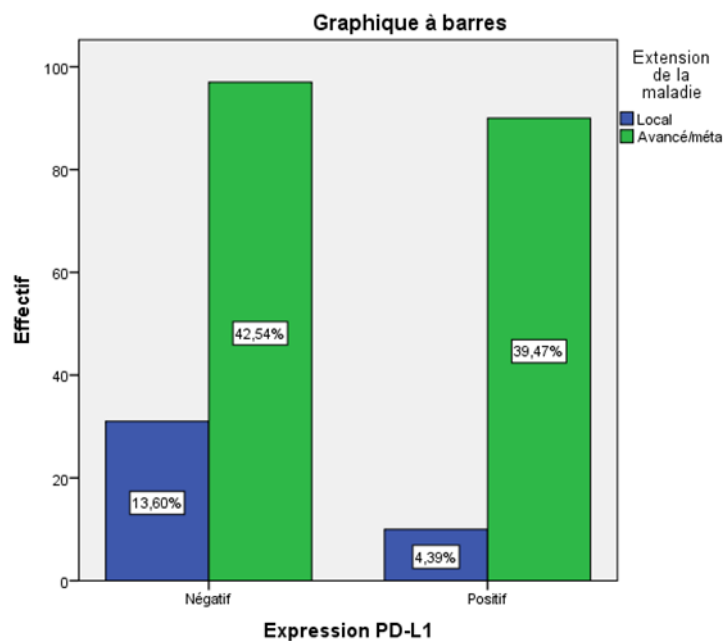


Figure 94: Extension de la maladie dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

5.4. Types histologiques :

Dans le groupe PD-L1+, la répartition des types histologiques des CPNPC était comme suit : 116 (74,8%) ADK, 29 (18,7%) de CE, 5(3,2%) CPNPC de type NOS, 3 (1,9%) CGC, 2 (1,3%) carcinomes sarcomatoïdes. Dans le groupe PD-L1-, la répartition était : 122 (68,9%) d'ADK, 38 (21,5%) de CE, 8 (4,5%) de CPNPC NOS, 5 (2,8%) de CGC, 3 (1,7%) carcinomes adénosquameux, 1 (0,6%) de carcinomes sarcomatoïdes (**Tableau 36**). Il n'y avait pas de lien statistiquement significatif entre les deux groupes quant à la répartition des types histologiques des CPNPC, **p=0,5**.

Tableau 36 : Répartition des types histologiques des CPNPC dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

	Types histologique						Total
	ADK	CE	CNPC NOS	CGC	Adéno-squameux	Sarco-matoïde	
PD-L1+ Effectifs	116	29	5	3	0	2	155
%	74,8	18,7	3,2	1,9	0	1,3	100
PD-L1- Effectifs	122	38	8	5	3	1	177
%	68,9	21,5	4,5	2,8	1,7	0,6	100
Total	238	67	13	8	3	3	332
	71,7	20,2	3,9	2,4	0,9	0,9	100

Exemples de quelques types histologiques exprimant le PD-L1 :

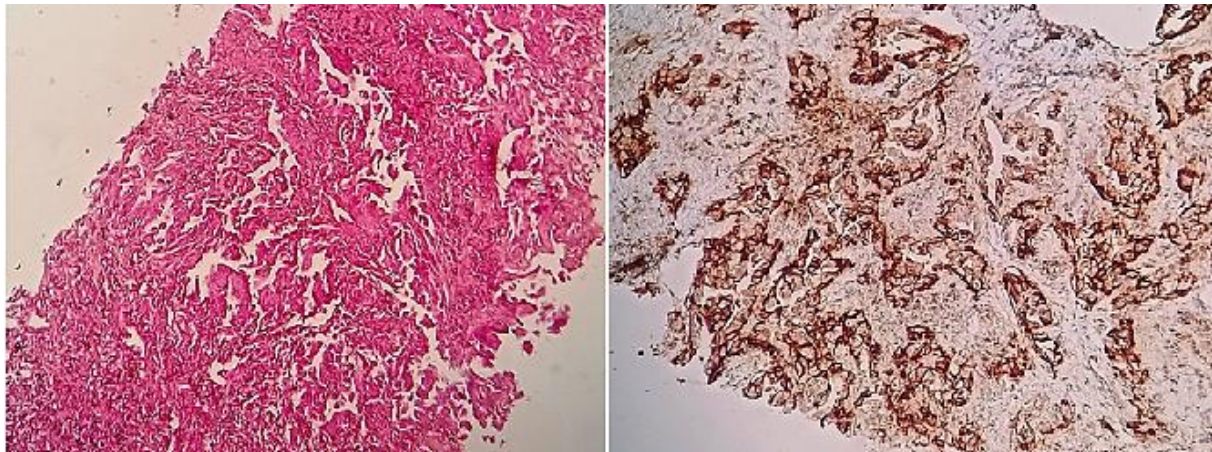


Figure 95: Adénocarcinome, A : HE, B : expression du PD-L1, TPS=72% (≥50%)

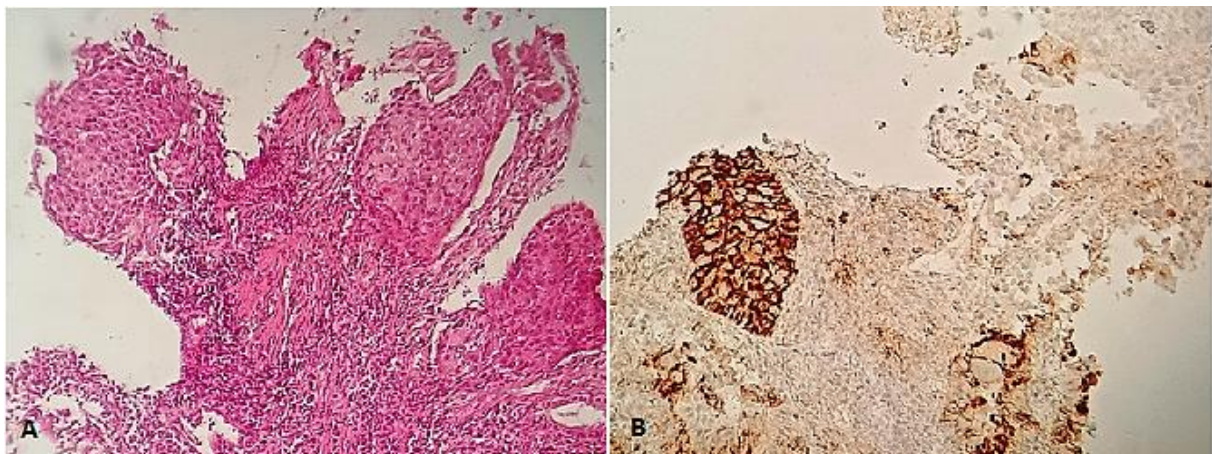


Figure 96 : Carcinome épidermoïde, A : HE, B : expression du PD-L1, TPS= 44% (entre 1 et 49%)

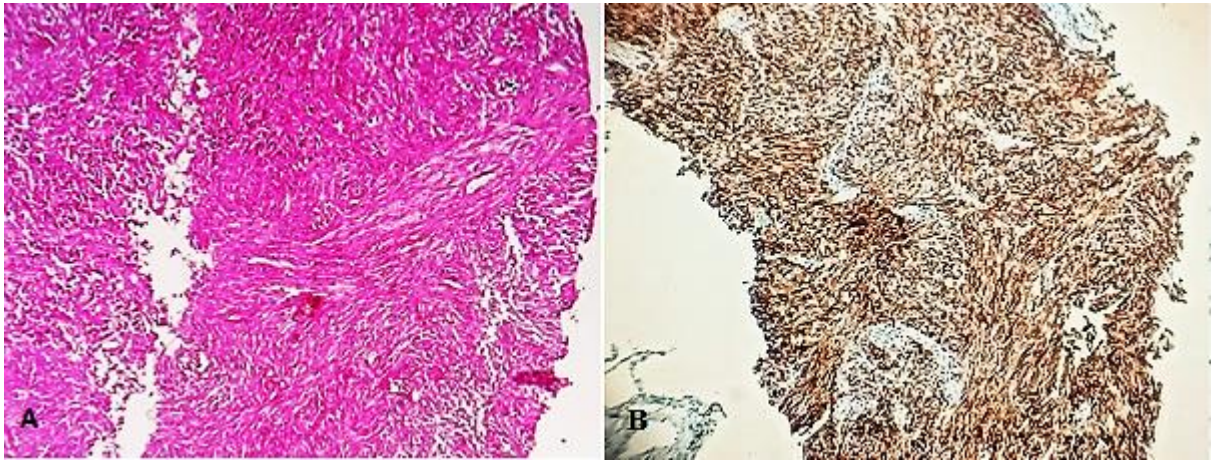


Figure 97 : Carcinome sarcomatoïde, A : HE, B : expression du PD-L1, TPS=90% ($\geq 50\%$)

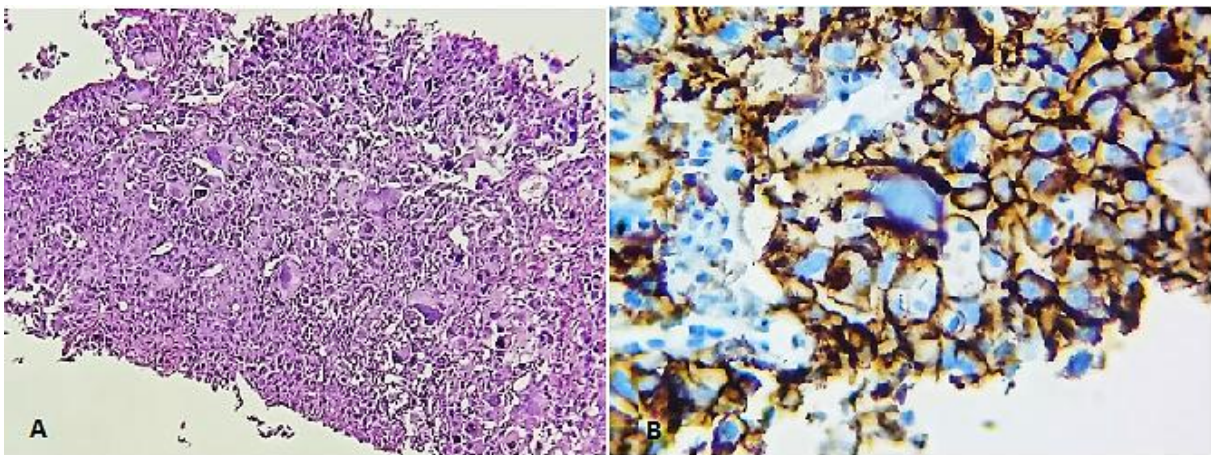


Figure 98 : Carcinome à cellules pléomorphe, A : HE, B : expression du PD-L1, TPS=100($\geq 50\%$)

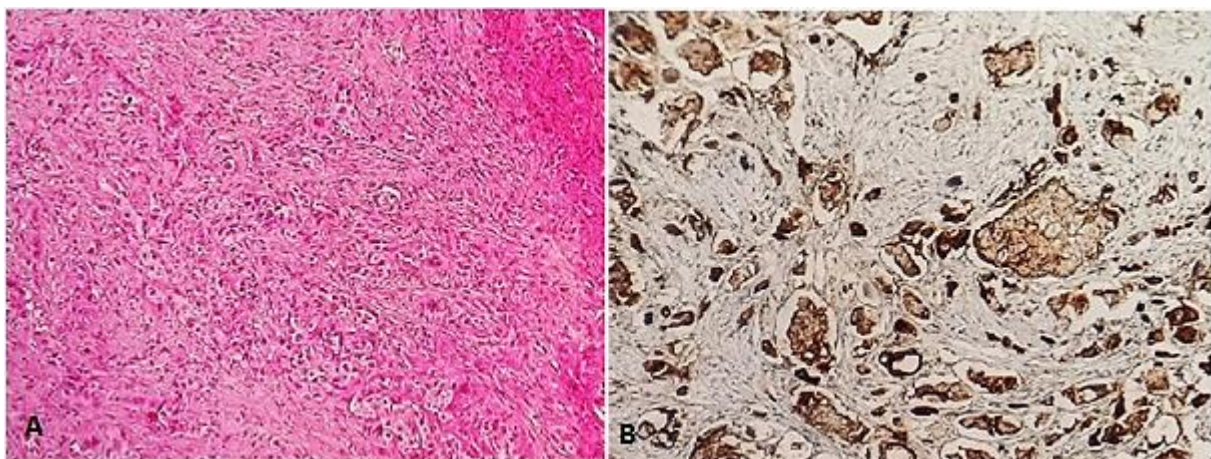


Figure 99: Carcinome à grandes cellules, A : HE, B : PD-L1 expression du PD-L1, TPS= 69% ($\geq 50\%$)

5.5. Sous types des adénocarcinomes :

Dans le groupe PD-L1+, la répartition des sous-types histologiques des ADK était comme suit : acinaire 12 cas (12,2%), solide 19cas (19,4%), acinaire et solide 36 cas (36,7%),

IV RESULTATS

lépidoïde et acinaire 10 cas (10,2%), solide et cribriforme 10 cas (10,2%), papillaire et micropapillaire 11 cas (11,2%).

Dans le groupe PD-L1-, la répartition était comme suit : acinaire 26 cas (26,3%), solide 11 cas (11,1%), acinaire et solide 26 cas (26,3%), lépidoïde et acinaire 14 cas (14,1%), solide et cribriforme 10 cas (10,1%), papillaire et micropapillaire 12 cas (12,1%) (**Tableau 37**).

Il n'y avait pas de relation statistiquement significative entre l'expression du PD-L1 et ces différents sous types, $p=0,08$.

Tableau 37 : Répartition des sous-types histologiques des adénocarcinomes dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

TPS	Sous-types histologiques						Total
	Acinaire	Solide	Acinaire/ solide	Lépidoïde / acinaire	Solide/ cribriforme	Papillaire/ micropap	
PD-L1+	12	19	36	10	10	11	98
Effectifs	12,2	19,4	36,7	10,2	10,2	11,2	100
%							
PD-L1-	26	11	26	14	10	12	99
Effectifs	26,3	11,1	26,3	14,1	10,1	12,1	100
%							
Total	38	30	62	24	20	23	197
%	19,3	15,2	31,5	12,2	10,2	11,7	100

Cependant, dans le groupe PD-L1+, une relation statistiquement significative entre ces sous-types d'adénocarcinome et l'intensité du marquage (1-49% et $\geq 50\%$) était retrouvée, $p=0,02$ (**Tableau 38, Figure 100**).

Tableau 38 : Répartition des sous types d'adénocarcinome selon le TPS dans le groupe PD-L1+

TPS	Sous-types des ADK						Total
	Acinaire	Solide	Acinaire/ solide	Lépidoïde /acinaire	Solide/ cribriforme	Papillaire/ micropap	
1-49%							
Effectifs	8	6	16	8	4	9	51
%	15,7	11,8	31,4	15,7	7,8	17,6	100
$\geq 50\%$							
Effectifs	4	13	20	2	6	2	47
%	8,5	27,7	42,6	4,3	12,8	4,3	100
Total	12	19	36	10	10	11	98
%	12,2	19,4	36,7	10,2	10,2	11,2	100

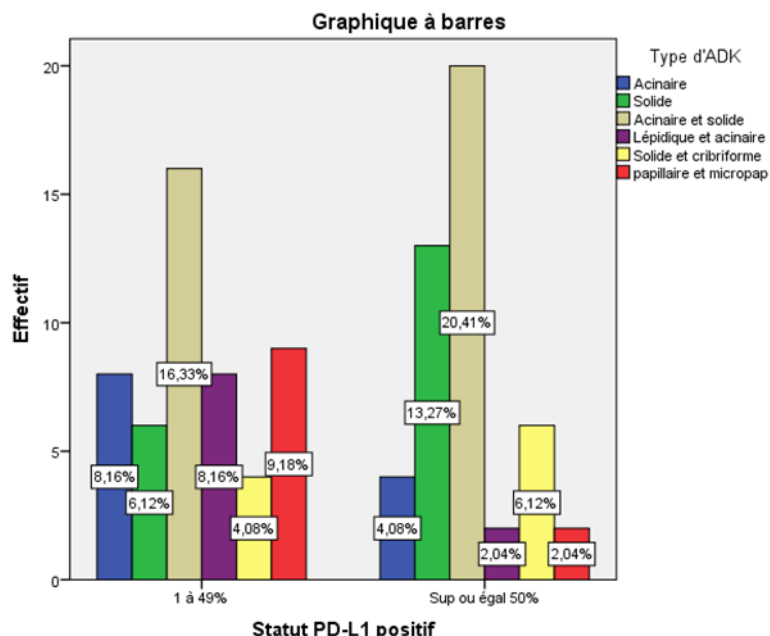


Figure 100: Répartition des sous-types d'adénocarcinome selon le TPS dans le groupe PD-L1+

5.6. Sous-type des carcinomes épidermoïdes :

Dans le groupe PD-L1+, la répartition des sous-types des CE était comme suit : 16 cas (55,2%) de type bien différencié, 12 cas (41,4%) peu différenciés, 1 cas (3,4%) de type basaloïde. Dans le groupe PD-L1- 19 cas (50,0%) de type bien différencié, 18 cas (47,4%) de type peu différencié et 1 cas (2,6%) de type basaloïde (**Tableau 39**). Il n'y avait pas de lien significatif entre l'expression du PD-L1 et les sous types des CE, **p=0,9**.

Tableau 39 : Répartition des sous-types de carcinome épidermoïde dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

		Type des carcinomes épidermoïdes			Total
		Bien	Peu	Basaloïde	
		différencié	différencié		
PD-L1+	Effectif	16	12	1	29
	%	55,2	41,4	3,4	100
PD-L1-	Effectif	19	18	1	38
	%	50,0	47,4	2,6	100
Total	Effectif	35	30	2	67
	%	52,2	44,8	3,0	100

5.7. Anomalies moléculaires :

➤ **Pour la mutation EGFR :** Dans le groupe PD-L1+, 6 cas (33,3%) étaient positifs et 12 cas (66,7%) négatifs. Dans le groupe PD-L1-, 4 cas (22,2%) étaient positifs et 14 cas (77,8%) négatifs (**Tableau 40**). Il n'y avait pas de relation statistiquement significative entre les deux groupes, **p=0,7**.

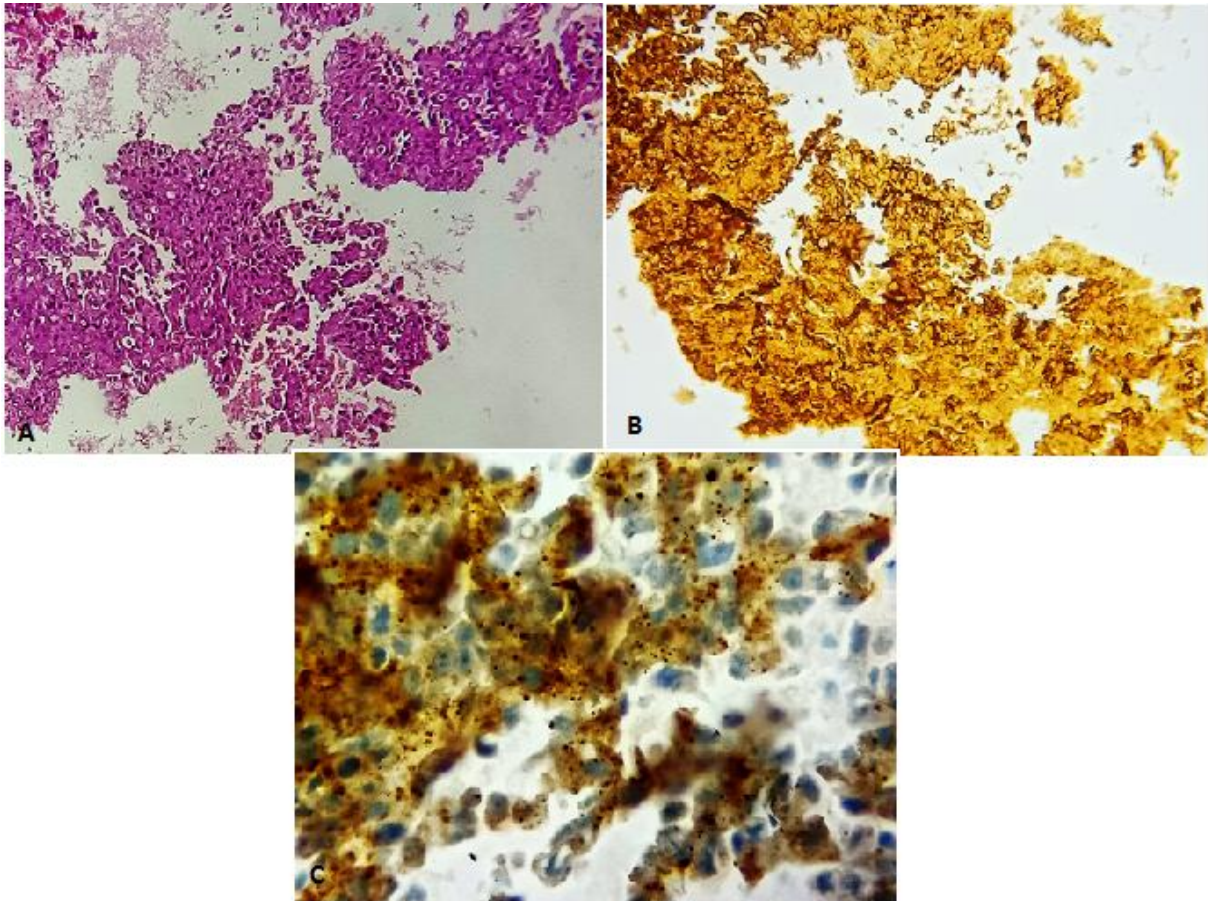
Tableau 40 : Répartition du statut EGFR dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

		Mutation EGFR		Total
		Positive	Négative	
PD-L1+	Effectif	6	12	18
	%	33,3	66,7	100
PD-L1-	Effectif	4	14	18
	%	22,2	77,8	100
Total	Effectif	10	26	36
	%	27,8	72,2	100

- **Pour le réarrangement ALK :** Dans le groupe PD-L1+, 2 cas (5,9%) étaient positifs et 32 cas (94,1%) négatifs. Pour le groupe PD-L1-, 1 cas (6,7%) était positif et 14 cas (93,3%) étaient négatifs. Il n'y avait pas là aussi de lien statistiquement significatif entre les deux groupes, **p=1 (Tableau 41)**.

Tableau 41 : Répartition du statut ALK dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

		Réarrangement ALK		Total
		Positif	Négatif	
PD-L1+	Effectif	2	32	34
	%	5,9	94,1	100
PD-L1-	Effectif	1	14	15
	%	6,7	93,3	100
Total	Effectif	3	46	49
	%	6,1	93,9	100



*Figure 101 : Adénocarcinome exprimant PD-L1 et ALK. A: HE. B: PD-L1, TPS= 92%
C: ALK positif, expression granulaire cytoplasmique, anticorps D5F3*

5.8. Expression du PD-L1 en fonction du délai IHC:

Le délai de la réalisation de l'étude IHC correspond au temps écoulé entre la réception du prélèvement au service d'anatomie pathologique et la réalisation de l'étude IHC évaluant l'expression du PD-L1. Le délai médian de conservation des prélèvements était de 2,13 mois avec une variabilité de 17 jours à 41,7 mois. Ce délai a été partagé en deux groupes : ≤ 6 mois et > 6 mois. Dans le groupe PD-L1+, l'IHC de 117 cas (75,5%) a été réalisée dans un délai ≤ 6 mois et 38 cas (24,5%) dans un délai > 6 mois. Dans le groupe PD-L1-, 101 cas (57,1%) ont été réalisés dans un délai ≤ 6 mois et 76 cas (42,9%) dans un délai > 6 mois (**Tableau 42, Figure 102**).

Le lien entre le délai de l'étude IHC et l'expression du PD-L1 était significatif, **p=0,000**.

Le RR calculé était égal à 0,4 (IC : 0,26 - 0,69).

Tableau 42 : Délai de réalisation de l'IHC dans les deux groupes PD-L1+et PD-L1-

Expression PD-L1		Délai en mois		Total
		≤6 mois	>6 mois	
Positive	Effectif	117	38	155
	%	75,5	24,5	100
Négative	Effectif	101	76	177
	%	57,1	42,9	100
Total	Effectif	218	114	332
	%	65,7	34,3	100

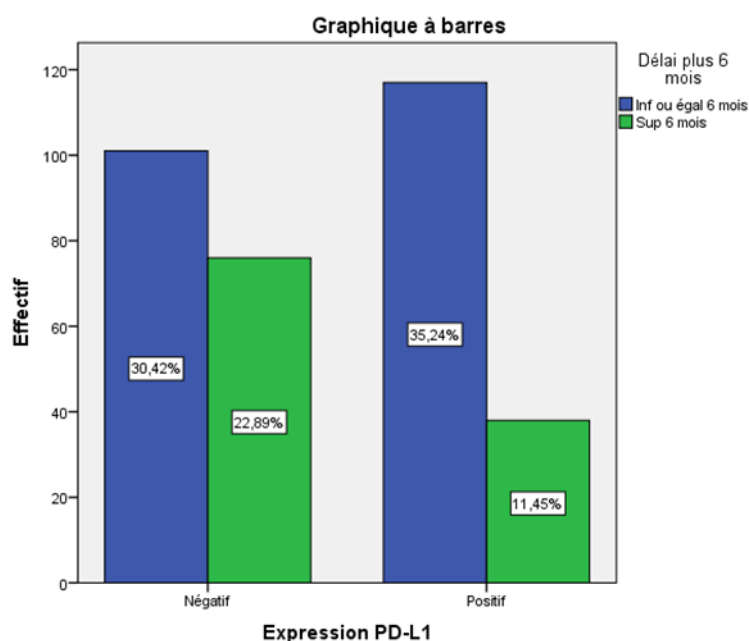


Figure 102: Délai de réalisation de l'IHC dans les deux groupes PD-L1+et PD-L1-

5.9. Expression du PD-L1 et densité des TILs :

Il n'y avait pas de relation statistiquement significative entre l'expression du PD-L1 dans les CT et la densité des TILs $p=0,2$ (Tableau43).

Tableau43 : Expression du PD-L1 selon la densité des TILs du microenvironnement

PD-L1 CT		Densité des TILs				Total
		Non évaluée	Faible	modérée	Intense	
PD-L1+	Effectif	7	41	93	14	155
	%	4,5	26,5	60,0	9,0	100
PD-L1-	Effectif	8	61	99	9	177
	%	4,5	34,5	55,9	5,1	100
Total	Effectif	15	102	192	23	332
	%	4,5	30,7	57,8	6,9	100

La répartition en 4 types de microenvironnement en fonction de l'expression du PD-L1 et la densité des TILs est représentée dans le tableau 44 (les métastases ganglionnaires ont été exclues, TILs + regroupent l'intensité modérée et intense, TILs – correspondent à l'intensité faible).

Tableau 44 : Répartitions des quatre types de microenvironnement en fonction de l'expression du PD-L1 et la densité des TILs

PD-L1/TILs	Fréquence	Pourcentage
PDL1-/TILs-	61	19,2
PDL1-/TILs+	108	34,1
PDL1+/TILs-	41	12,9
PDL1+/TILs+	107	33,8
Total	317	100

6. Relation entre le statut PD-L1 des CT et l'expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement:

Dans le groupe PD-L1+, la répartition du marquage du PD-L1 dans les CI selon les quatre scores était comme suit : 62 cas (40,0%) de score <1%, 51 cas (32,9%) entre 1 et 5%, 35 cas (22,6%) entre 5 et 10%, 7 cas (4,5%) >10%. Dans le groupe PD-L1-, la répartition était : 115 cas (65,0%) <1%, 43 cas (24,3%) entre 1 et 5%, 16 cas (9,0%) entre 5 et 10% et 3 cas (1,7%) >10% (Tableau 45, Figure 103).

La relation entre l'expression du PD-L1 dans les CI et cellules tumorales était statistiquement significative, **p=0,000**.

Tableau 45 : Expression du PD-L1 dans les CI des deux groupes PD-L1+/PD-L1-

		Expression PD-L1 dans les CI				Total
		<1%	≥1% et <5%	≥ 5 et <10%	≥10%	
PD-L1+	Effectif	62	55	35	7	155
	%	40,0	32,9	22,6	4,5	100
PD-L1-	Effectif	115	43	16	3	177
	%	65,0	24,3	9,0	1,7	100
Total	Effectif	177	94	51	10	332
	%	53,3	28,3	15,4	3,0	100

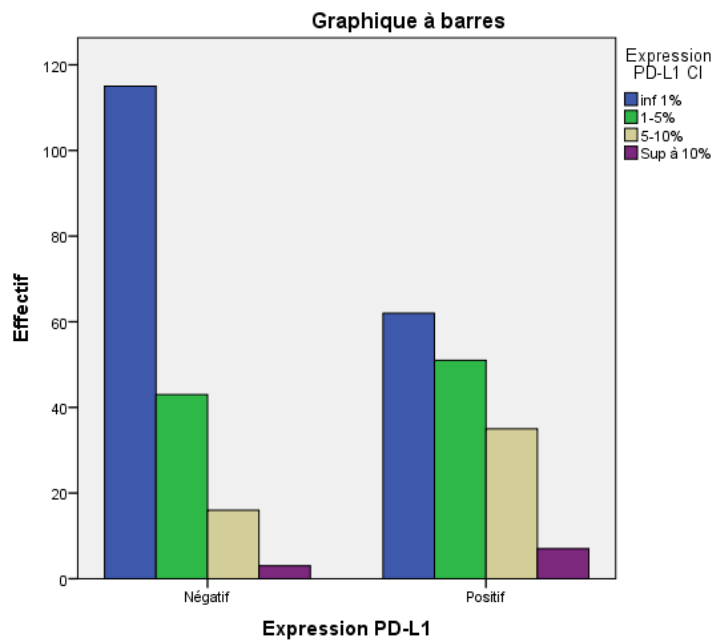


Figure 103 : Expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement dans les deux groupes PD-L1+/PD-L1-

Afin d'éviter la présence de sous-groupes de faible effectif gênant une analyse statistique cohérente et la difficulté à mettre en évidence une proportionnalité, nous avons gardé seulement deux groupes d'expression du PD-L1 dans les CI en fonction de la présence ou non de marquage.

Une relation statistiquement significative a été également retrouvée entre l'expression de PD-L1 par les CT et les CI, **p=0,000** (Tableau 46, Figure 104).

Le RR était égal à 2,7 (IC : 1,78 - 4,34).

Tableau 46 : Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales et immunitaires

	PD-L1 CI		Total
	Positive	Négative	
PD-L1 +	93	62	155
%	60,0	40,0	100
PD-L1 -	62	115	177
%	35,0	65,0	100
Total (n)	155	177	332
%	46,7	53,3	100

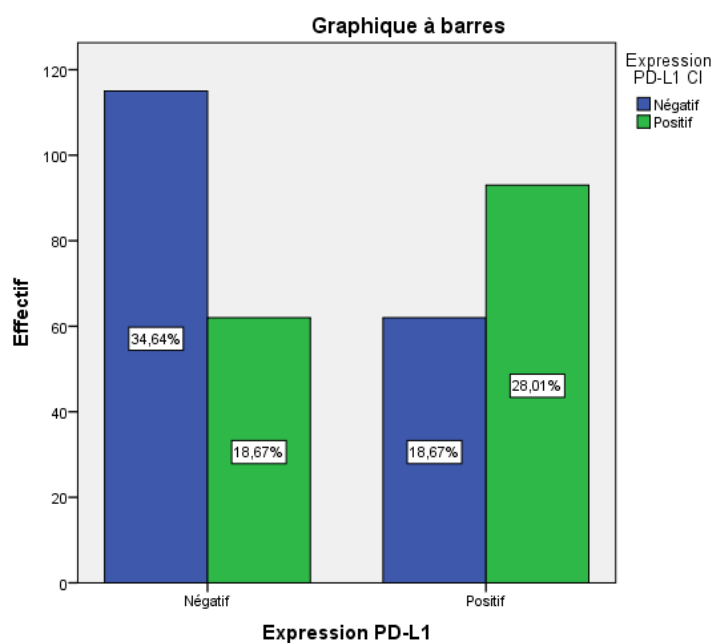


Figure 104 : Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales et immunitaires

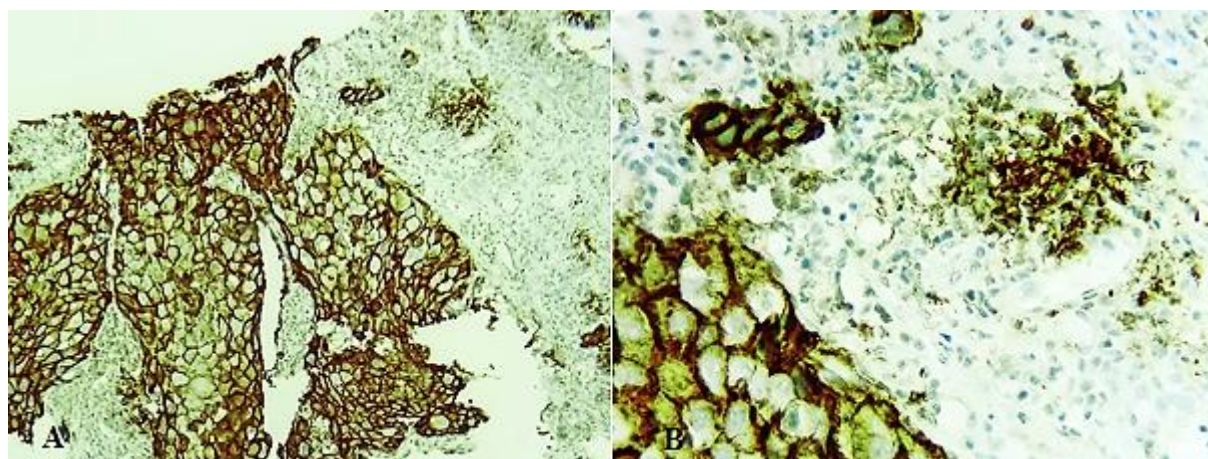


Figure 105: Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales et immunitaires. A : faible grossissement, B : fort grossissement

7. Expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement et densité des TILs :

Une relation statistiquement significative a été retrouvée entre l'expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement et la densité des TILs, $p=0,000$ (Tableau 47, Figure 106).

Tableau 47 : Expression du PD-L1 dans les CI en fonction de la densité des TILs

		Densité des TILs				Total
		Non évaluée	Faible	modérée	Intense	
PD-L1 CI+	Effectif	9	19	113	14	155
	%	5,8	12,3	72,9	9,0	100
PD-L1 CI-	Effectif	6	83	79	9	177
	%	3,4	46,9	44,6	5,1	100
Total	Effectif	15	102	192	23	332
	%	4,5	30,7	75,8	6,9	100

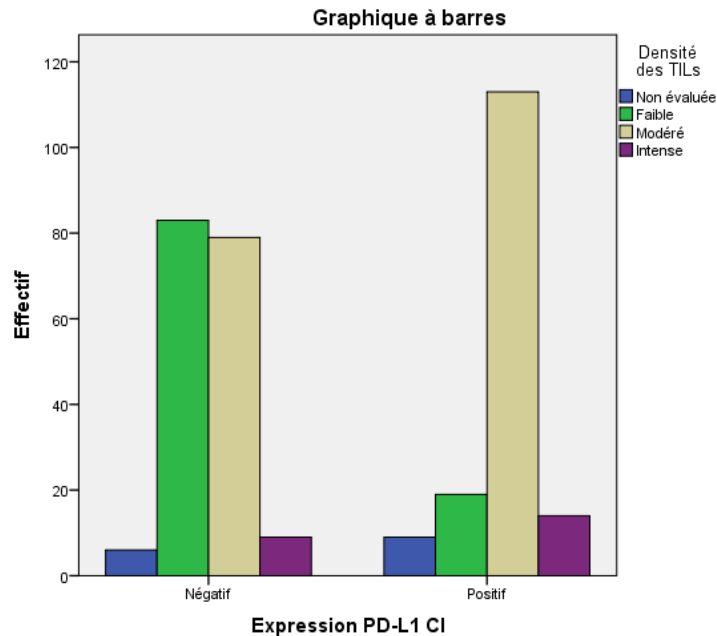


Figure 106: Expression du PD-L1 dans les CI en fonction de la densité des TILs

8. Etude du profil immunohistochimique du microenvironnement tumoral et sa relation avec l'expression du PD-L1 dans les CT, CI et la densité des TILs :

Nous avons étudié l'immunophénotype du microenvironnement en comparant l'expression du CD8, PD-1, le rapport CD4/CD8 et l'expression de la granzyme B dans les TILs avec l'expression du PD-L1 dans les CT et les CI ainsi qu'à la densité des TILs.

En raison de la perte tissulaire dans les prélèvements biopsiques (biopsies pleurales et bronchiques surtout) ainsi que la non disponibilité de certains blocs (blocs communiqués repris par les patients ou des blocs remis aux patients pour la recherche d'une mutation EGFR dans un autre service), l'évaluation immunohistochimique n'a pas été réalisée pour tous les cas. Nous avons d'abord évalué l'expression du CD8, par la suite l'expression du PD-1, puis granzyme B et en dernier le CD4 (**Figure 107**).

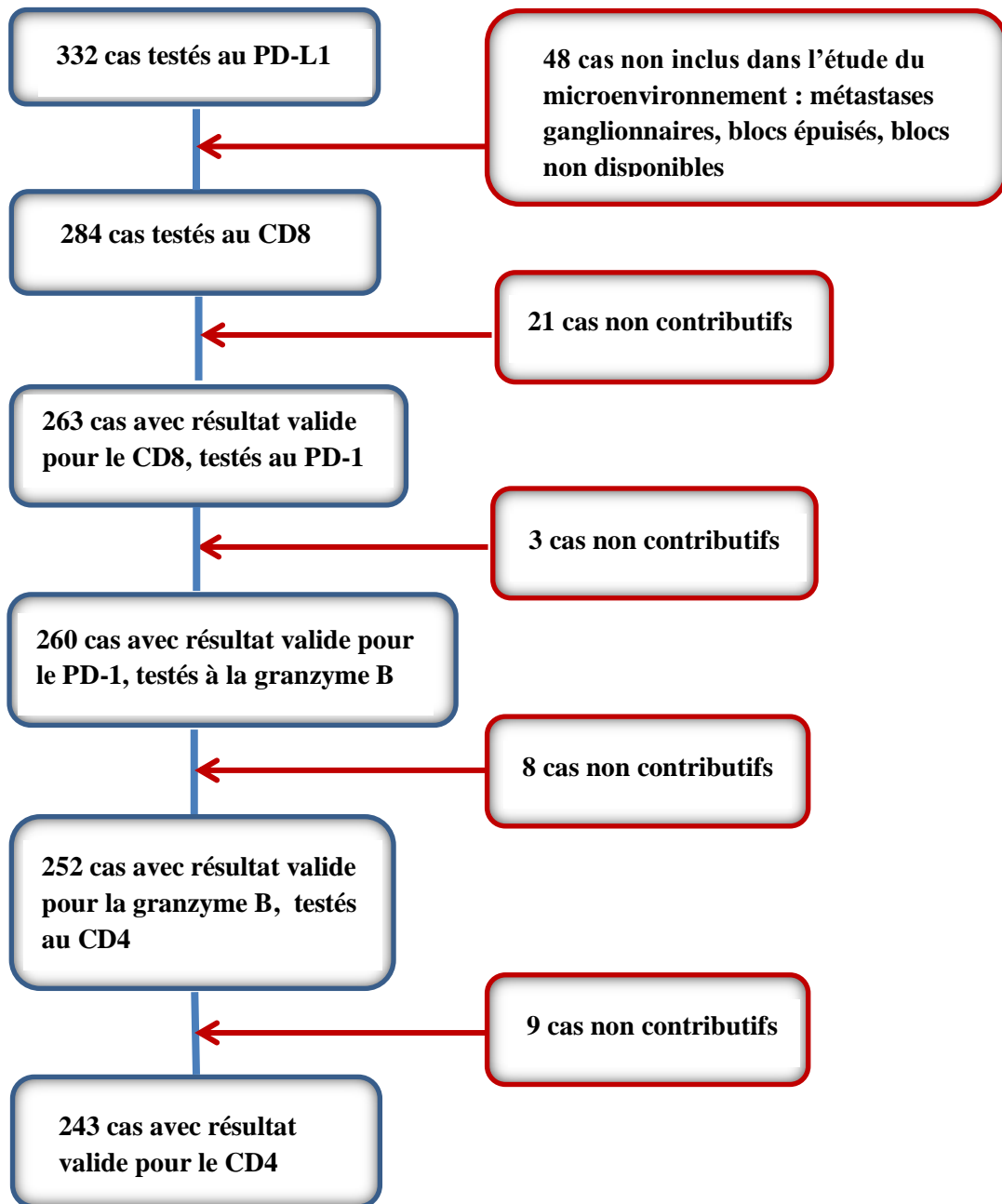


Figure107 : « Flow chart » de l'étude du microenvironnement

Il existait une relation statistiquement significative entre le pourcentage de CT PD-L1+ et la présence de TILs CD8+ avec une tendance à l'augmentation, $p=0,000$ (Tableau 48, Figure 108).

Tableau 48: Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression du CD8 par les TILs avec les 4 scores

		Expression du CD8				Total
		<1%	≥1% et<5%	≥5%et<10%	≥10%	
PD-L1+	Effectif	11	49	25	45	130
	%	8,5	37,7	19,2	34,6	100
PD-L1-	Effectif	31	56	25	21	133
	%	23,3	42,1	18,8	15,8	100
Total	Effectif	42	105	50	66	263
	%	16,0	39,9	19,0	25,1	100

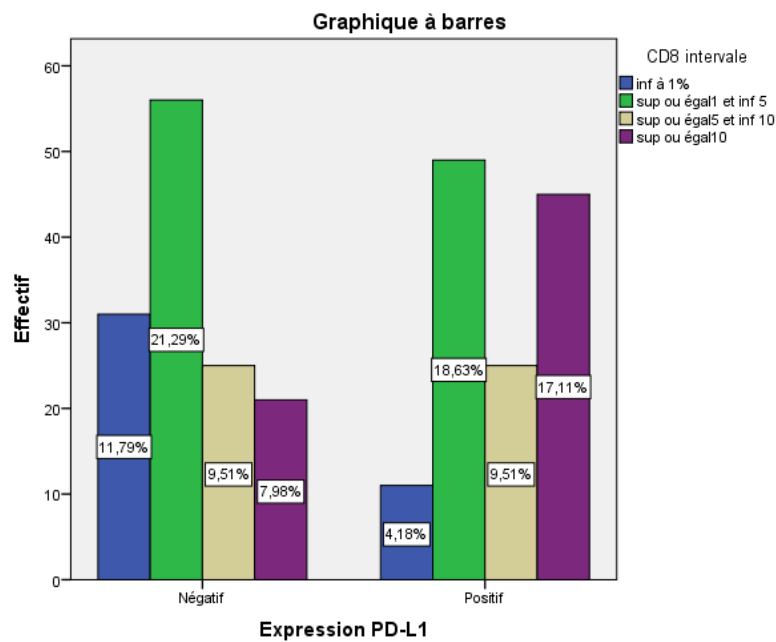


Figure108 : Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression du CD8 par les TILs avec les 4 scores

Afin de mieux étudier la relation entre l'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales et l'expression du CD8 par les TILs, nous avons gardé seulement deux groupes d'expression du CD8 en fonction de la présence ou non de marquage (résultat positif ou négatif). Une relation statistiquement significative a été également notée, **p= 0,001** avec RR=3,28 (IC : 1,57 - 6,87) (Figure 109, Tableau49).

Tableau 49: Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression positive ou négative du CD8 par les TILs

		Expression CD8		Total
		Oui	Non	
PD-L1+	Effectif	119	11	130
	%	91,5	8,5	100
PD-L1-	Effectif	102	31	133
	%	76,7	23,3	100
Total	Effectif	221	42	263
	%	84,0	16,0	100

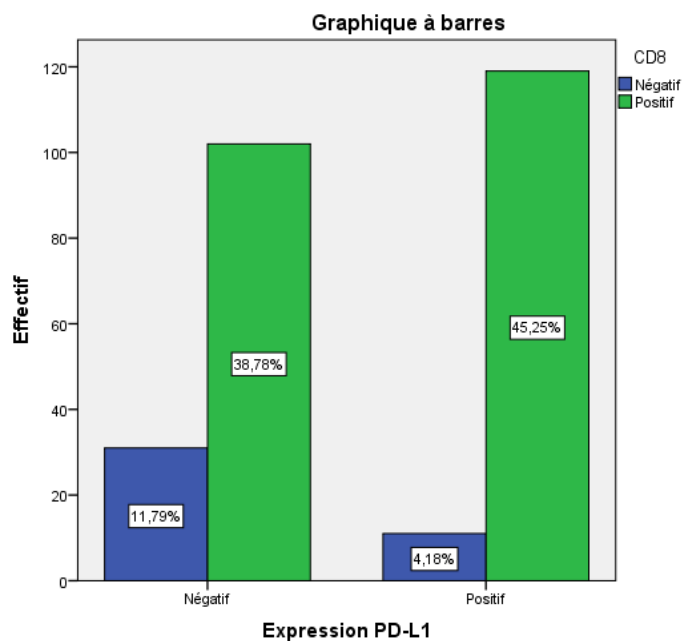


Figure109: Relation entre l'expression de PD-L1 par les CT et l'expression positive ou négative du CD8 par les TILs

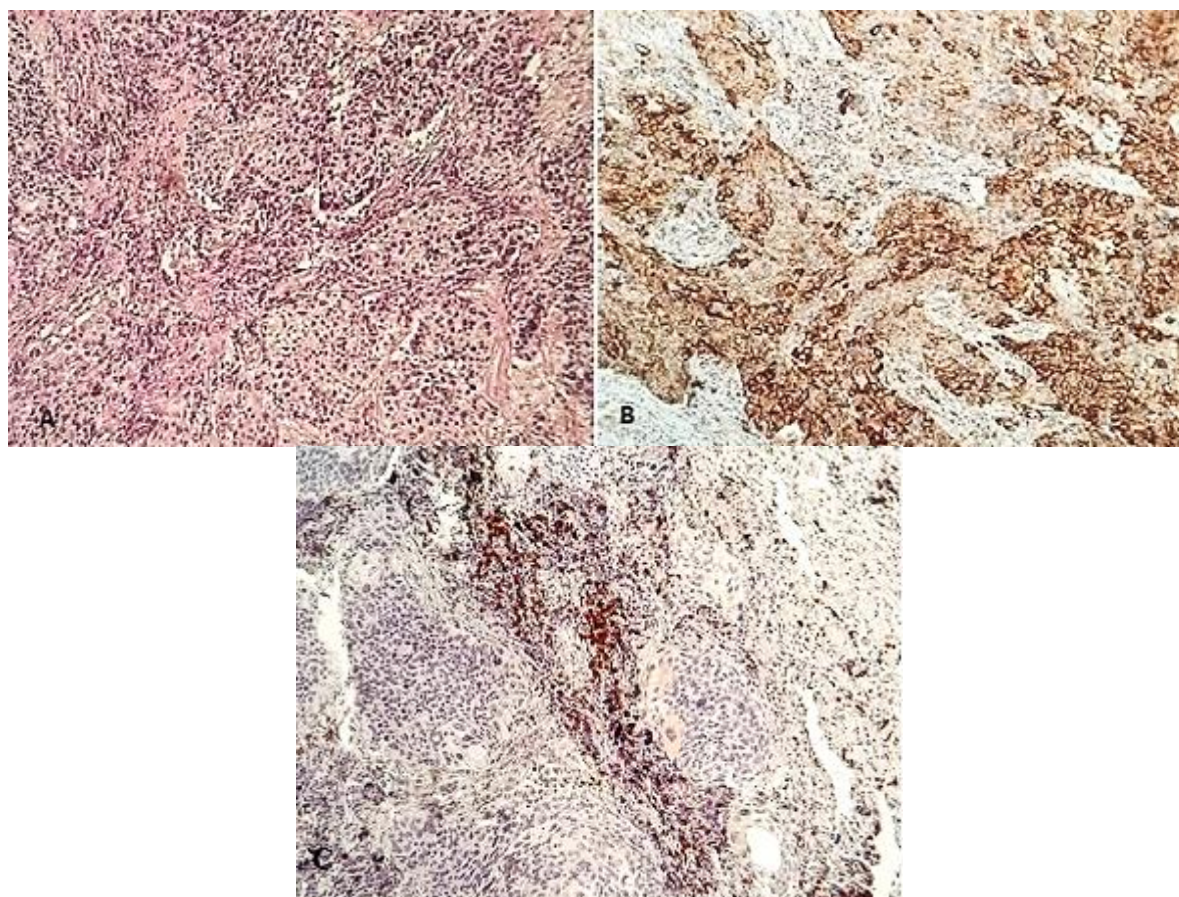


Figure 110: Illustration de la relation entre l'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales et l'expression du CD8 dans les TILs. A : HE. B : expression du PD-L1 dans les cellules tumorales (TPS= 70%). C : expression du CD8 dans les TILs

Nous avons mis en évidence une relation statistiquement significative entre la topographie des TILs CD8+ (au niveau de l'interface stroma-tumeur ou en intra tumoral) et l'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales, **p=0,000** avec un RR =3,73 (IC : 1,86 7,46) (**Tableau 50, Figure 111**).

Tableau 50: Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales en fonction de la topographie des TILs CD8+

		Siège du marquage		Total
		Interface	Intra-tumoral	
PD-L1+	Effectif	77	42	119
	%	64,7	35,3	100
PD-L1-	Effectif	89	13	102
	%	87,3	12,7	100
Total	Effectif	166	55	221
	%	75,1	24,9	100

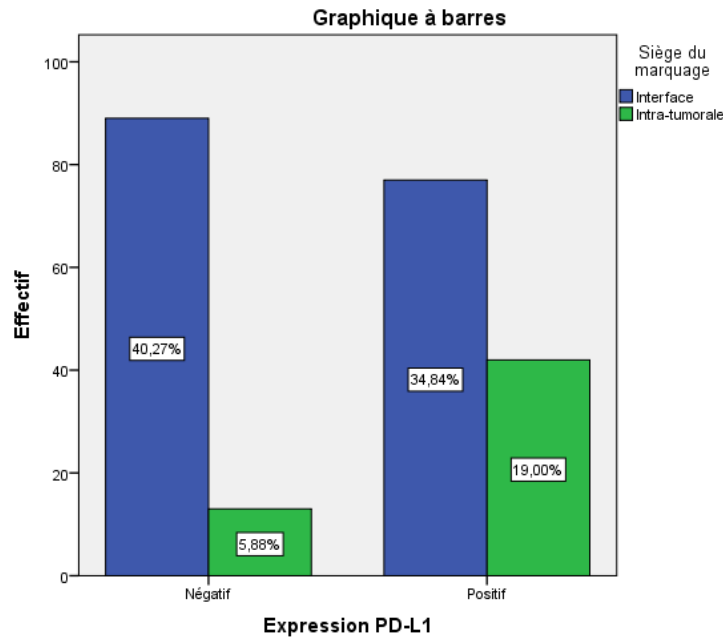


Figure 111: Expression du PD-L1 dans les cellules tumorales en fonction de la topographie des TILs CD8+

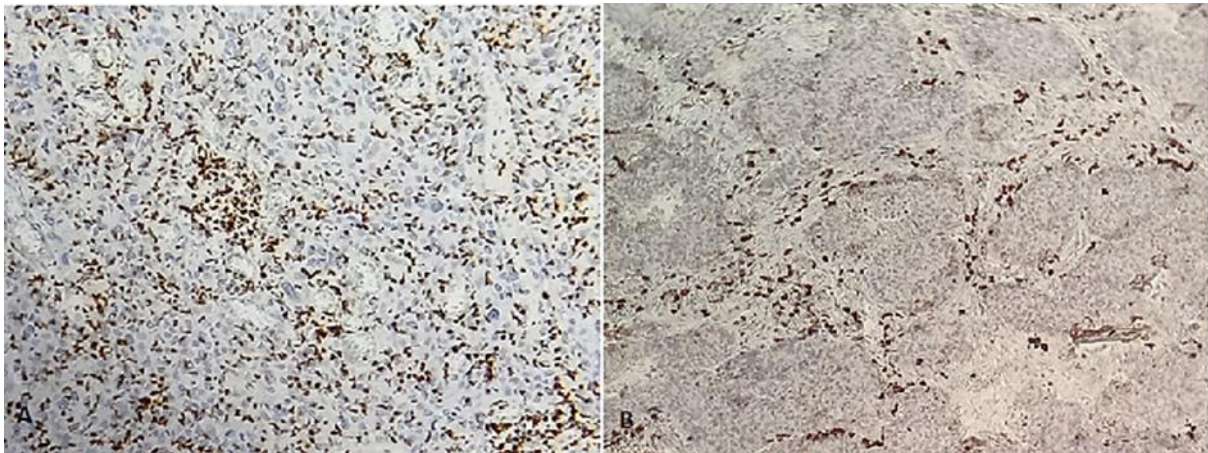


Figure 112 : Topographie des TILs exprimant CD8 par rapport à la tumeur. A : topographie intra-tumorale, B : topographie péri-tumorale en « interface »

Le test t de Student avait montré une différence statistiquement significative entre les deux groupes PD-L1+ et PD-L1- dans l'expression du CD8, $p < 0,0001$ (Figure 113).

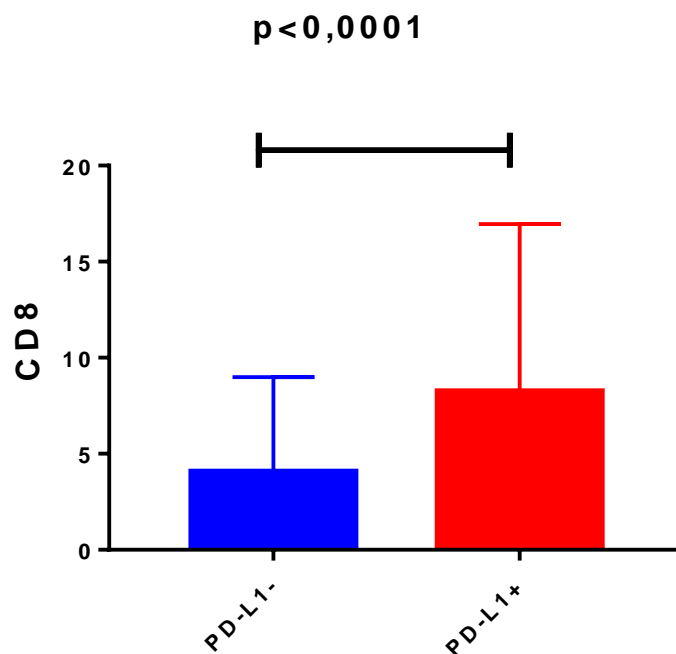


Figure 113 : Test t de Student pour l'expression du CD8 dans les deux groupes PD-L1+ et PD-L1-

Une relation statistiquement significative a été notée aussi entre l'expression du PD-L1 dans les CI et l'expression du CD8, $p=0,04$ avec un RR= 2,05 (IC : 1,01 - 4,16) (Tableau 51, Figure 114).

Tableau 51 : Expression du CD8 en fonction de l'expression du PD-L1 par les CI

		Expression CD8		Total
		Oui	Non	
Positif	Effectif	106	13	119
	%	89,1	10,9	100
Négatif	Effectif	115	29	144
	%	79,9	20,1	100
Total	Effectif	221	42	263
	%	84,0	16,0	100

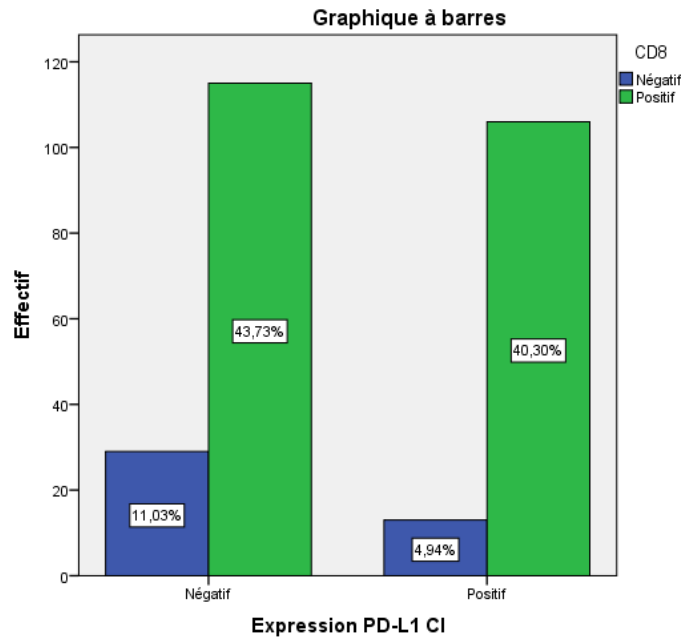


Figure114 : Expression du CD8 en fonction de l'expression du PD-L1 par les CI

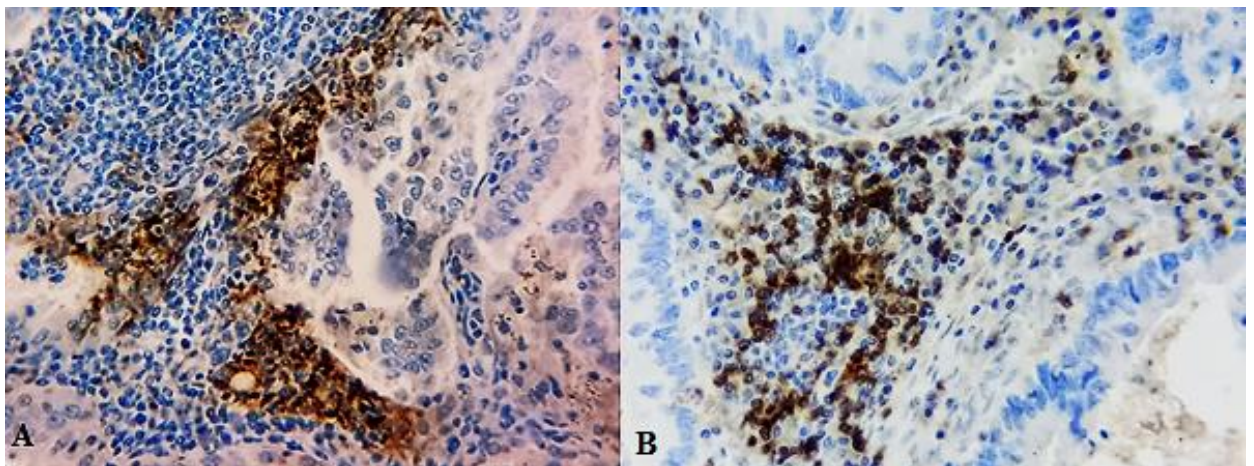


Figure115 : Cas illustrant l'expression du PD-L1 dans les CI (A) et CD8 dans les TILs (B)

Afin de mieux caractériser le microenvironnement tumoral, nous l'avons réparti en quatre groupes en fonction de l'expression du PD-L1 et le CD8 dans les TILs (**Tableau 52**) et en fonction de l'expression du PD-1 et le CD8 dans les TILs (**Tableau 53**).

Tableau 52 : Répartitions des quatre types de microenvironnement en fonction de l'expression du PD-L1 et le CD8 dans les TILs

PD-L1/CD8	Fréquence	Pourcentage
PD-L1-/CD8-	31	11,8
PD-L1-/CD8+	102	38,8
PD-L1+/CD8-	11	4,2
PD-L1+/CD8+	119	45,2
Total	263	100

IV RESULTATS

Tableau 53 : Répartitions des quatre types de microenvironnement en fonction de l'expression du PD-1 et le CD8 dans les TILs

PD-1/CD8	Fréquence	Pourcentage
PD-1-/CD8-	32	12,3
PD-1-/CD8+	130	50,0
PD-1+/CD8-	10	3,8
PD-1+/CD8+	88	33,8
Total	260	100

Nous avons comparé l'expression du PD-1, le rapport CD4/CD8 et l'expression du granzyme B dans les TILs avec l'expression du PD-L1 dans les CT et les CI ainsi qu'à la densité des TILs (**Tableau 54**). Une relation statistiquement significative a été notée entre :

- L'expression du PD-L1 dans les CT et l'expression du PD-1 dans les TILs (**p=0,000**),
- L'expression du PD-L1 dans les CI et l'expression du PD-1 dans les TILs (**p=0,000**)
- L'expression du PD-1 dans les TILs et l'intensité des TILs (**p= 0,008**).

Tableau 54 : Caractéristiques immunophénotypiques du microenvironnement tumoral

Paramètres et nombre de cas testés	PD-L1 CT		p	PD-L1 CI		p	Densité TILs			p
	PDL1+	PDL1-		PDL1+	PDL1-		Faible	modérée	intense	
PD-1 (n=260)										
Positif (n)	70	28	0,000	60	38	0,000	22	62	14	0,008
%	71,4%	28,6%		61,2%	38,8%		22,4%	63,3%	14,3%	
Négatif (n)	60	102		59	103		60	93	9	
%	37,0%	63,0%		36,4%	63,6%		37,0%	57,4%	5,6%	
CD4/CD8 (n=243)										
≤1 (n)	85	71	0,05	70	86	0,5	57	88	11	0,2
%	54,5%	45,5%		44,9%	55,1%		36,5%	56,1%	7,1%	
>1(n)	36	51		36	51		25	52	10	
%	41,4%	58,6%		41,4%	58,6%		28,7%	59,8%	11,5%	
Granzyme B (n=252)										
Faible (n)	83	82	0,6	75	90	0,8	55	95	15	0,5
%	50,3%	49,7%		45,5%	54,5%		33,3%	57,6%	9,1%	
Modéré(n)	38	38		33	43		24	48	4	
%	50,0%	50,0%		43,4%	56,6%		31,6%	63,2%	5,3%	
Fort(n)	4	7		4	7		2	7	2	
%	36,4%	63,6%		36,4%	63,6%		18,2%	63,6%	18,2%	

Le test de Pearson avait montré une relation significative entre l'expression du PD-L1 et l'expression du PD-1 avec une corrélation positive (**r=0,4 p=0, 000, tableau 55**).

Tableau 55: Corrélation bivariée de l'expression du PD-L1 et du PD-1

Corrélations			
		Pourcentage PD-L1	PD1
Pourcentage PD-L1	Corrélation de Pearson	1	,422**
	Sig. (bilatérale)		,000
	N	332	260
PD1	Corrélation de Pearson	,422**	1
	Sig. (bilatérale)	,000	
	N	260	260

** . La corrélation est significative au niveau 0,01 (bilatéral)

Le test t de Student avait montré une différence statistiquement significative entre les deux groupes PD-L1+ et PD-L1- dans l'expression du PD-1, $p < 0,0001$ (Figure 116).

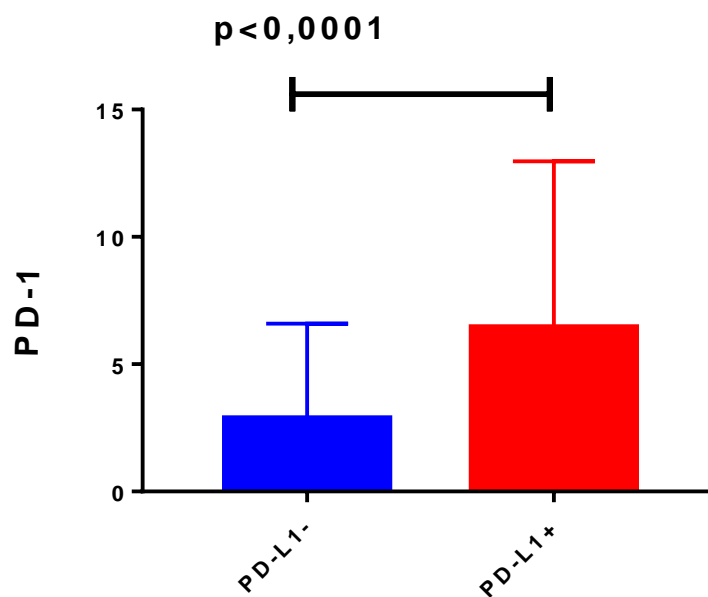


Figure 116 : Test t de Student pour la comparaison entre l'expression du PD-1 dans les deux statuts PD-L1+ et PD-L1-

IV RESULTATS

Une relation statistiquement significative a été retrouvée entre l'expression du PD-1 et la topographie des TILs CD8+, **p=0,03 (Tableau56)**.

Tableau 56: Expression du PD-1 dans les TILs CD8+ en fonction de leur topographie

Statut PD-1		Siège du marquage		Total
		Interface	Intra-tumorale	
Négatif	Effectif	104	26	130
	%	80,0	20,0	
Positif	Effectif	59	29	88
	%	67,0	33,0	100,0
Total	Effectif	163	55	218
	%	74,8	25,2	100,0

Nous avons comparé l'expression du PD-1 et granzyme B avec l'expression du CD8 dans les TILs et le rapport CD4/CD8 (**Tableau 57**). Nous avons montré une relation statistiquement significative entre :

- L'expression du PD-1 et CD8 (**p=0,04**)
- L'expression du PD-1 et le rapport CD4/CD8 (**p=0,01**)
- Granzyme B et rapport CD4/CD8, (**p=0,02**).

Tableau 57 : Expression du PD-1 et granzyme B selon l'expression du CD8 dans les TILs et le rapport CD4/CD8

Paramètres	CD8		Total	p	CD4/CD8		Total	p
	Positif	Négatif			≤1	>1		
PD-1			260				238	
Positif	88(89,8%)	10(10,2%)	98	0,04	67(72,8%)	25(27,2%)	92	0,01
Négatif	130(80,2%)	32(19,8%)	162		84(57,5%)	62(42,5%)	146	
Granzyme B			251				211	
Faible	138(84,1%)	26(15,9%)	164	0,9	100(66,2%)	52(33,8%)	151	0,02
Modéré	64(84,2%)	12(15,8%)	76		47(67,1%)	23(32,9%)	70	
Intense	9(81,8%)	2(18,2%)	11		3(27,3%)	8(72,7%)	11	

Le test de corrélation de Pearson a montré également une relation significative entre l'expression du PD-1 et le CD8 avec une corrélation positive (**r=0,3 p=0,000, tableau 58**)

Tableau 58 : Corrélation bivariée de l'expression du PD-1 et du CD8

		Corrélations	
		PD1	CD8 pourcentage
PD1	Corrélation de Pearson	1	,311**
	Sig. (bilatérale)		,000
	N	260	260
CD8 pourcentage	Corrélation de Pearson	,311**	1
	Sig. (bilatérale)	,000	
	N	260	260

** . La corrélation est significative au niveau 0,01 (bilatéral).

Le test t de Student avait montré une différence statistiquement significative entre l'expression du PD-1 et le statut CD8 des TILs, $p=0,0003$ (Figure 117).

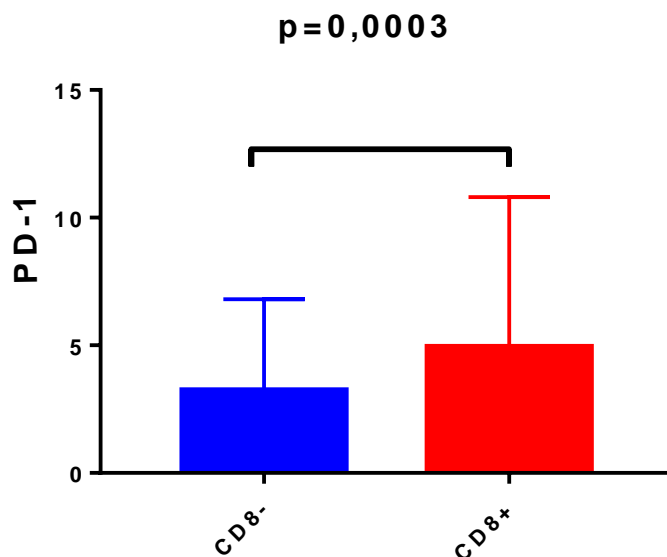


Figure 117 : Test t de Student pour la comparaison entre l'expression du PD-1 et l'expression du CD8 des TILs

Nous avons comparé l'expression du PD-1 dans les TILs et l'expression de la granzyme B (Tableau 59), une relation significative était retrouvée, $p= 0,01$.

Tableau 59 : Expression de la granzyme B selon le statut PD-1 des TILs

	Granzyme B	PD-1		Total
		Positif	Négatif	
Faible	Effectif	71	91	162
	%	43,8	56,2	100
Modéré	Effectif	21	54	75
	%	28,0	72,0	100
Fort	Effectif	1	10	11
	%	9,1	90,9	100
Total	Effectif	93	155	248
	%	37,5	62,5	100

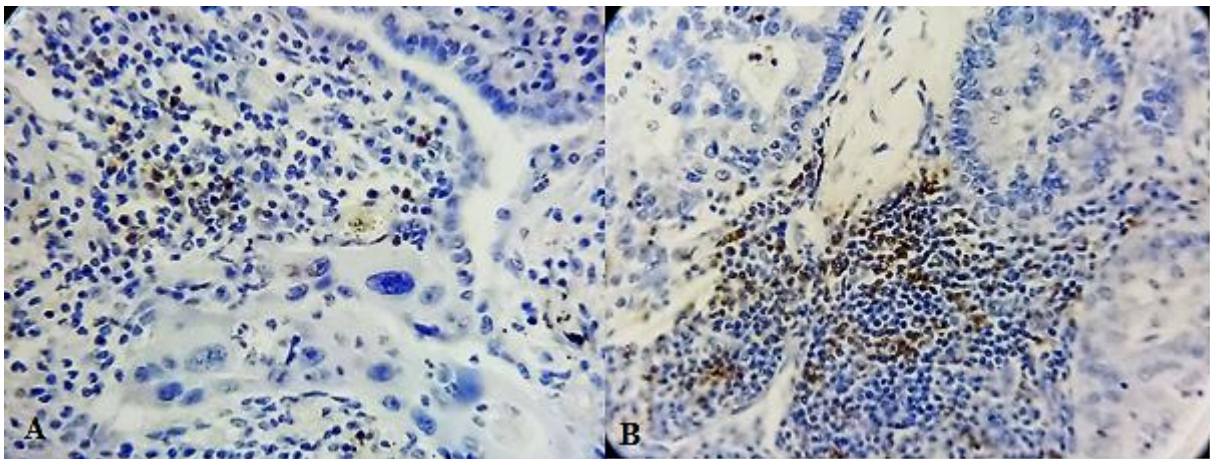


Figure 118: Expression du PD-1 dans les TILs. A : <5%, B : ≥5%

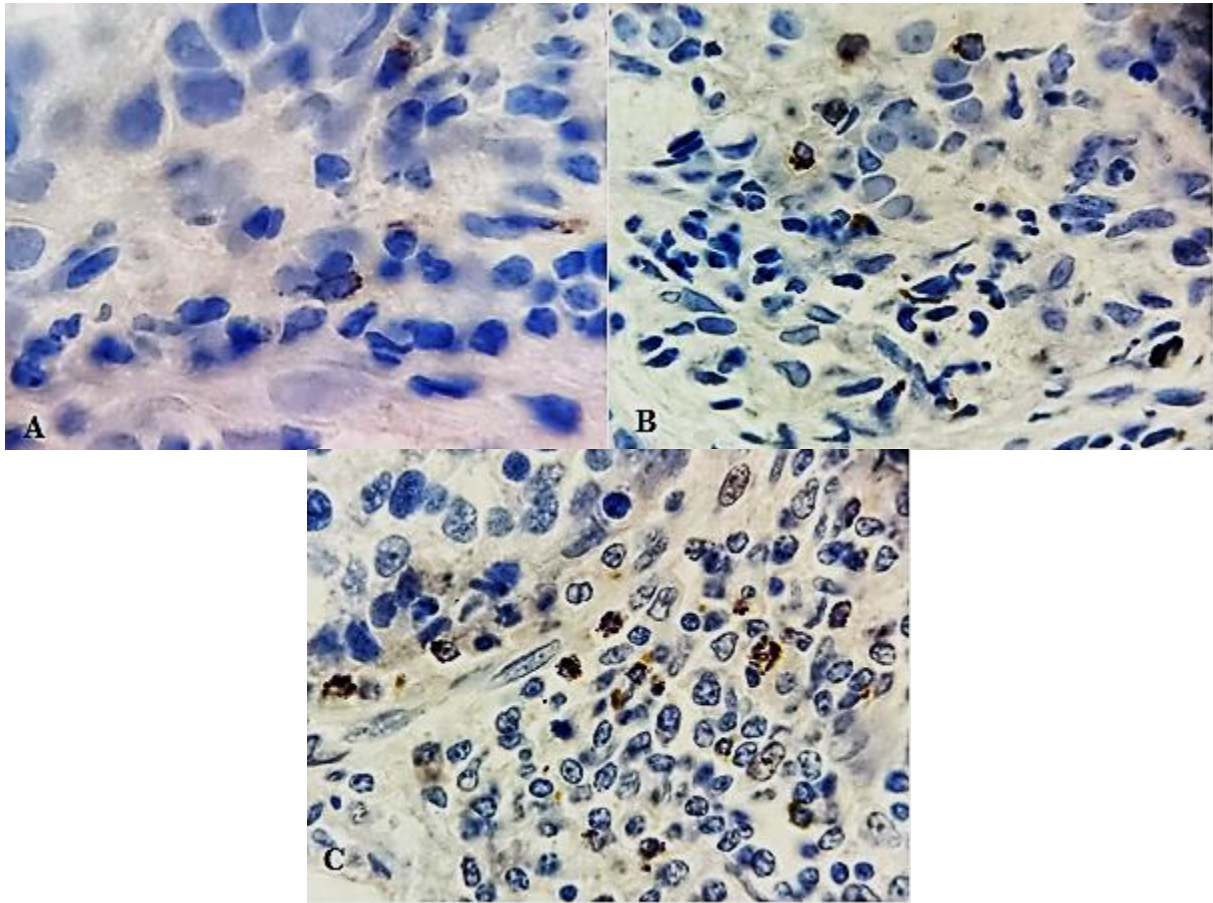


Figure 119 : Expression de la granzyme B dans les TILs. A : faible, B : modéré, C : intense

Analyse multivariée par régression logistique :

Les variables associées à la variable dépendante (l'expression du PD-L1) dont la valeur du p était significative ($<0,05$) ont fait l'objet d'une analyse multivariée par régression logistique dichotomique qui a utilisé la procédure de pas à pas descendant.

Le modèle final, a retenu trois variables qui sont : l'expression du PD-L1 dans les CI ($p=0,007$), l'expression du PD-1 dans les TILs ($p=0,001$) et l'extension de la maladie ($p=0,006$) (Tableau 60).

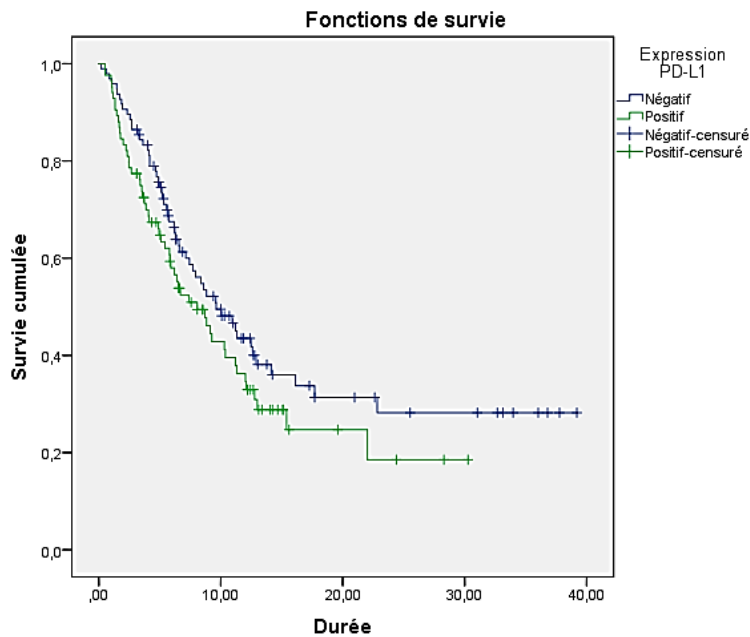
Tableau 60 : Analyse multivariée par régression

Paramètres	Expression PD-L1 (Positive/négative)					
	Analyse bivariée			Analyse multivariée		
	p	RR	IC à 95%	p	RR	IC à 95%
Expression PD-L1 dans les CI Positive/négative	0,000	2,7	1,7 - 4,3	0,007	2,6	1,2 – 5,2
Expression PD-1 Positive/négative	0,000	4,2	2,4 – 7,3	0,001	3,2	1,5 – 6,7
Extension de la maladie Locale/avancée ou métastatique	0,009	2,8	1,33 - 6,20	0,006	3,9	1,4 – 10,2
CD8 Positive/négative	0,000	3,73	1,86 7,46	0,05	2,72	0,9- 7,6
Tabagisme Oui/non	0,02	1,9	1,09 - 3,29	0,1	1,9	0,8 – 4,5
Nature du prélèvement Biopsique/chirurgicale	0,03	0,5	0,2 - 0,9	0,3	0,6	0,2 – 1,5
Délai de l'étude IHC ≤6mois >6mois	0,000	0,4	0,26 - 0,69	0,8	0,9	0,4 – 1,9

9. Courbe de survie :

Il n’existait pas de différence de survie globale statistiquement significative entre les deux groupes d’expression de PD-L1 par les CT (test du log-rank, **p=0,2**).

(Figure 120). La médiane de survie dans le groupe PD-L1+ était de 8,07 mois et dans le groupe PD-L1- elle était de 9,6 mois.



Log Rank (Mantel-Cox) = 0.2

Figure 120 : Taux de survie dans les deux groupes PD-L1+ et PD-L1-

L'analyse de la courbe de survie dans le groupe PD-L1+ n'avait pas montré aussi de différence significative entre une expression faible et une expression forte du PD-L1 ($p=0,2$) (**Figure 121**). La médiane de survie était de 8,7 mois en cas d'une expression faible (1 à 49%) et elle était de 7,3 en cas d'une expression forte ($\geq 50\%$).

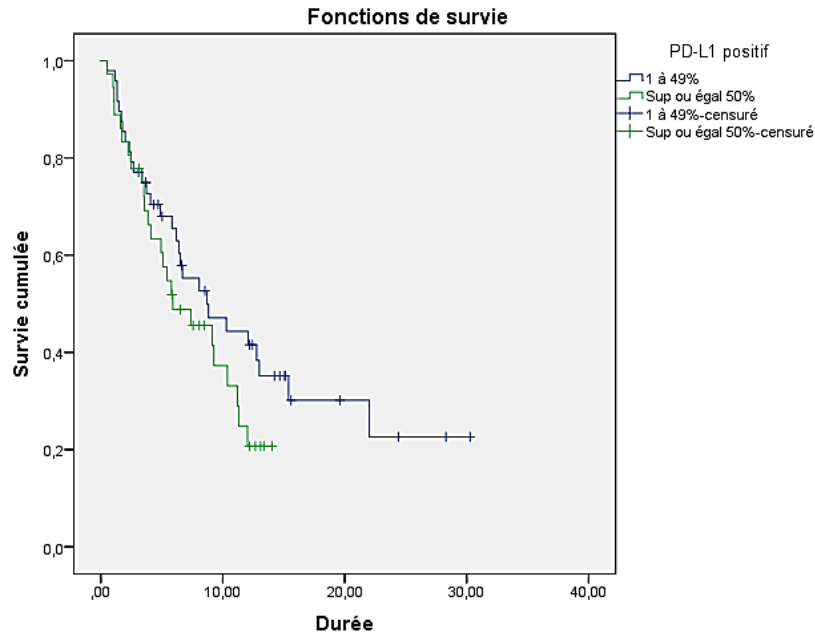


Figure 121: Taux de survie dans le groupe PD-L1+ selon l'intensité du marquage

L'analyse de la courbe de survie n'avait pas montré aussi de différence significative dans l'expression du PD-L1 par les cellules immunitaires du microenvironnement ($p=0,8$).

La médiane de survie était de 9,2 mois en cas d'une expression positive et elle était de 7,7 mois en cas d'une expression négative (**Figure 122**).

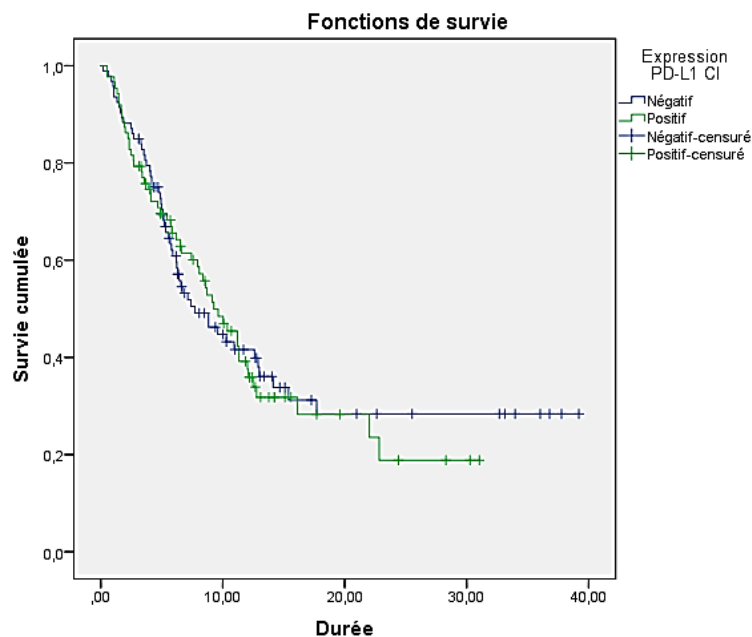
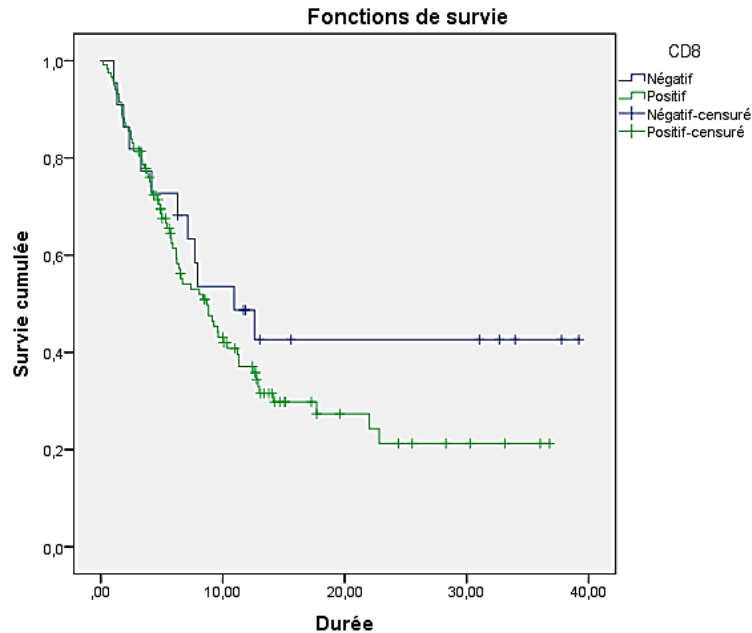


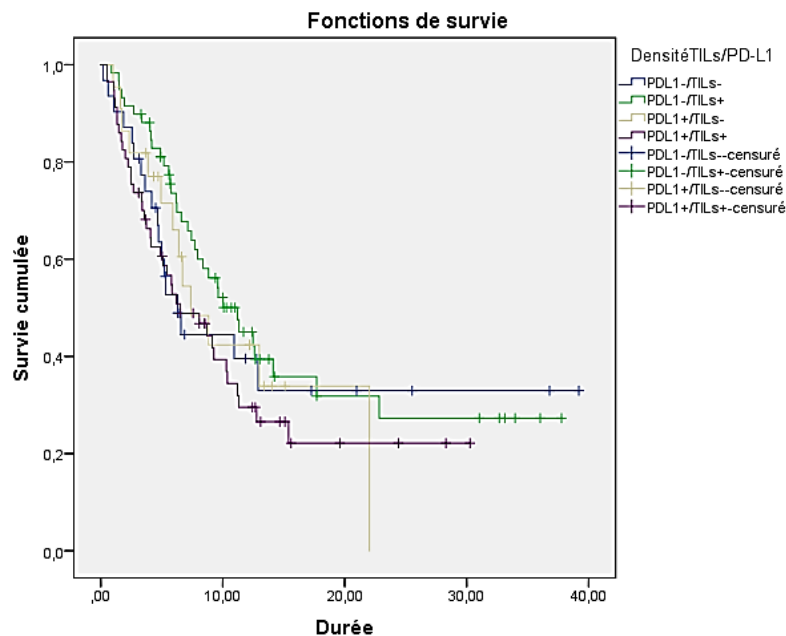
Figure 122: Taux de survie selon l'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires

La différence de survie globale observée n'était pas statistiquement significative entre les tumeurs présentant ou non des TILs CD8+ ($p=0,9$) (**Figure 123**). La médiane de survie était de 10,9 mois en cas d'expression négative et elle était de 8,7 mois en cas d'expression positive. Il n'y avait pas aussi de différence significative dans la survie selon la combinaison PD-L1/ densité TILs ($p= 0,3$) (**Figure 124**). La médiane de survie la plus élevée était obtenue en cas de combinaison PD-L1-/TILs+ (11,2 mois). De même, la combinaison PD-L1/TILs CD8 n'avait pas montré de différence significative ($p=0,2$) (**Figure 125**) ni même la combinaison PD-1/TILs CD8 ($p=0,1$) (**Figure 126**).



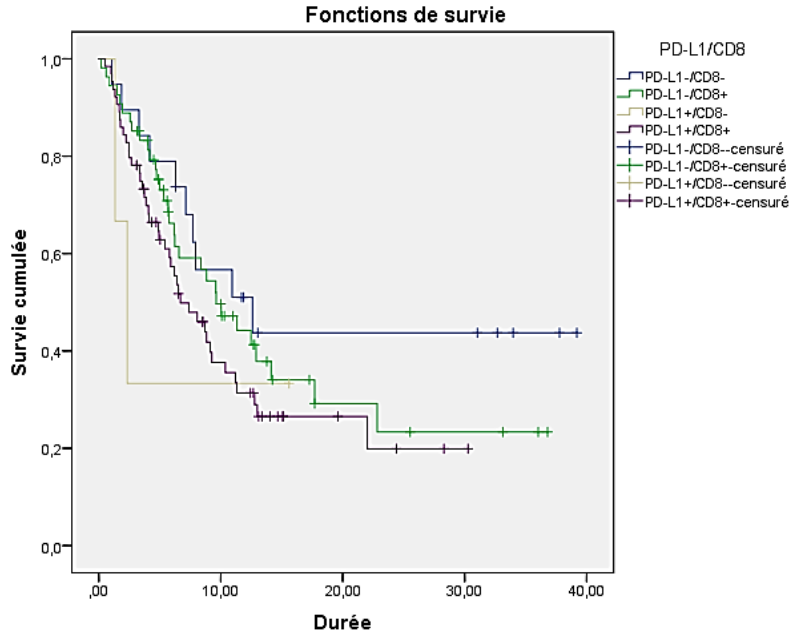
Log Rank (Mantel-Cox) =0,9

Figure 123: Taux de survie selon l'expression du CD8 dans les TILs



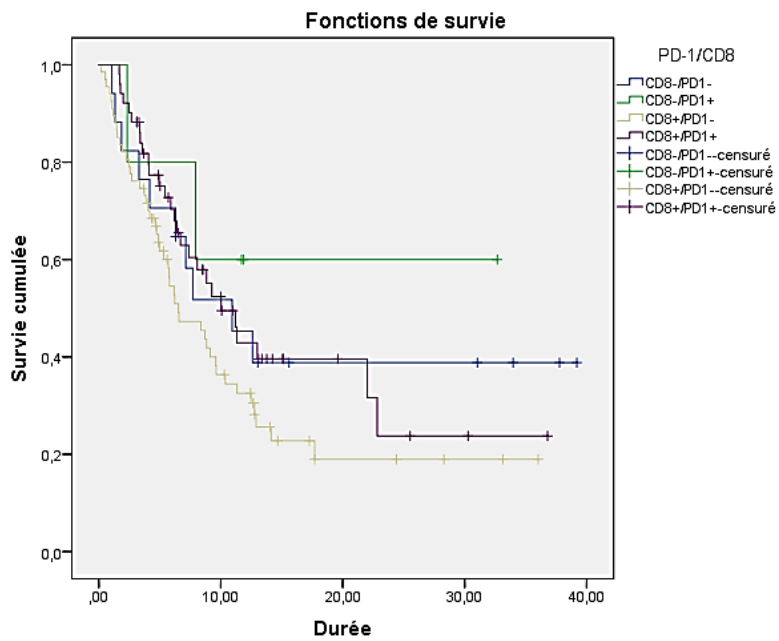
Log Rank (Mantel-Cox) =0,9

Figure 124: Taux de survie selon la combinaison PD-L1/densité TILs



Log Rank (Mantel-Cox) $p=0,1$

Figure 125: Taux de survie selon la combinaison PD-L1/CD8 TILs



Log Rank (Mantel-Cox) $p=0,2$

Figure 126: Taux de survie selon la combinaison PD-1/CD8 TILs

V.DISCUSSION

Trois thèses sur le cancer du poumon ont été réalisées chez nous : celle de Fisah¹⁹⁴ qui a étudié l'aspect épidémiologique des cancers broncho-pulmonaires dans une période qui s'est étalé de 2000 à 2004, celle de Hamel¹⁹⁵ qui a étudié l'aspect épidémiologique et anatomopathologique d'une série hospitalière de cancers broncho-pulmonaire dans une période qui s'est étalé de 1993 à 2000 et enfin, celle d'Oudjida¹⁹⁶ qui a étudié l'aspect épidémiologique, anatomopathologique ainsi que les altérations moléculaires des carcinomes broncho-pulmonaires non à petites cellules dans une période qui s'est étalé de 2011 à 2015.

Concernant notre travail, nous avons consacré la 1^{ère} partie à l'étude du profil épidémiologique, anatomopathologique, immunohistochimique et moléculaire des CPNPC. Dans la 2^{ème} partie, nous avons évalué la prévalence de l'expression du PD-L1 et étudié les facteurs susceptibles d'influencer la positivité du statut PD-L1 ainsi que le rôle de la composante immunitaire du microenvironnement tumoral dans cette expression.

Résultats épidémiologiques :

Dans notre série, et durant les 3 dernières années (de 2017 à 2019), la fréquence du CPNPC parmi les autres cancers du poumon était de 77,39%. C'est en effet ; comme partout dans le monde, l'entité anatomoclinique prédominante dans le cancer du poumon. Dans la série de Hamel, la fréquence était de 86,8%¹⁹⁵.

L'incidence du cancer du poumon ne cesse d'augmenter dans tout le monde et même chez nous. Il est classé en effet en 2^{ème} position chez les hommes après le cancer colorectal selon les données du Réseau National Des Registres Du Cancer de l'année 2017³⁰ (**Figure 127**) et selon le registre de cancer d'Alger 2017³¹, il est classé en 3^{ème} position après le cancer colorectal et prostate chez l'homme (**Tableau 61**) et en 9^{ème} position chez les femmes (**Tableau 62**).

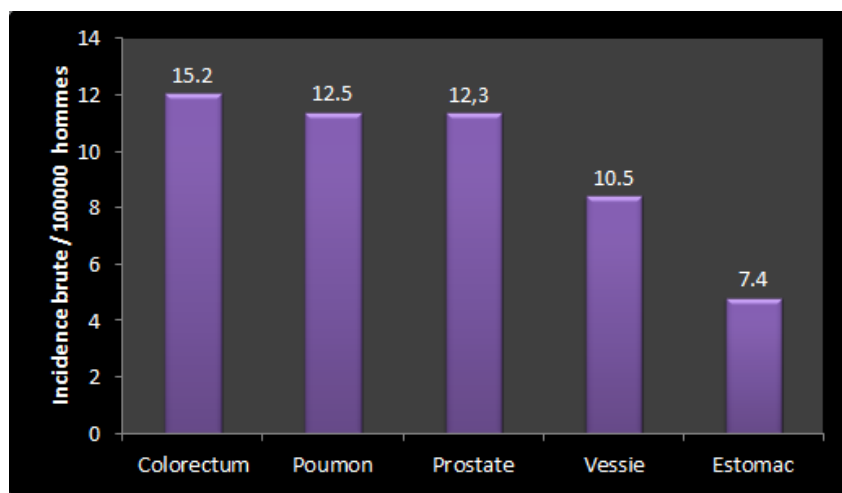


Figure 127: Les 5 premières localisations des cancers chez l'homme selon le Réseau National des Registres Du Cancer de l'année 2017³⁰

Tableau 61:Principales localisations des cancers masculins à Alger selon le registre d'Alger de 2017³¹

Localisations	Effectifs	Fréquence Relative (%)	Incidence brute	Incidence standardisée
Colon-rectum	586	16,5	31,9	32,5
Prostate	504	14.2	27.5	28.2
Poumon	472	13.3	25.8	27.2
Vessie	374	10.5	20.4	20.3
Estomac	174	4.9	9.5	9.8
Système hématopoïétique	168	4.7	9.2	9.7
Peau	116	3.3	6.3	5.9
Cerveau	110	3.1	6	6.1
Ganglions lymphatiques	108	3	5.9	6.3
Pancréas	102	2.9	5.6	5.6

Tableau 62:Principales localisations des cancers féminins à Alger selon le registre d'Alger de 2017³¹

Localisations	Effectifs	fréquence relative(%)	Incidence brute	Incidence standard
Sein	1605	38,4	88,4	82,2
Colon-rectum	484	11.6	26.7	25.6
Thyroïde	381	9.1	21	18.7
Col utérin	155	3.7	8.5	8.1
Ovaire	152	3.6	8.4	8.3
Estomac	138	3.3	7.6	7
Système hématopoïétique	119	2.8	6.5	6.5
Ganglion lymphatique	97	2.3	5.3	5.1
Poumon	96	2.3	5.3	5.3
Corps utérin	93	2.2	5.1	5

A l'échelle mondiale : La nouvelle version de la base de données en ligne du centre international de recherche sur le cancer Globocan 2018 indique que le cancer bronchique est le cancer le plus fréquent dans le monde avec environ 2093876 nouveaux cas, soit 11,6% au total en terme d'incidence et la première cause de décès par cancer avec environ 1 761 007 de décès , soit 18,4% au total¹(Figure 128, 129).

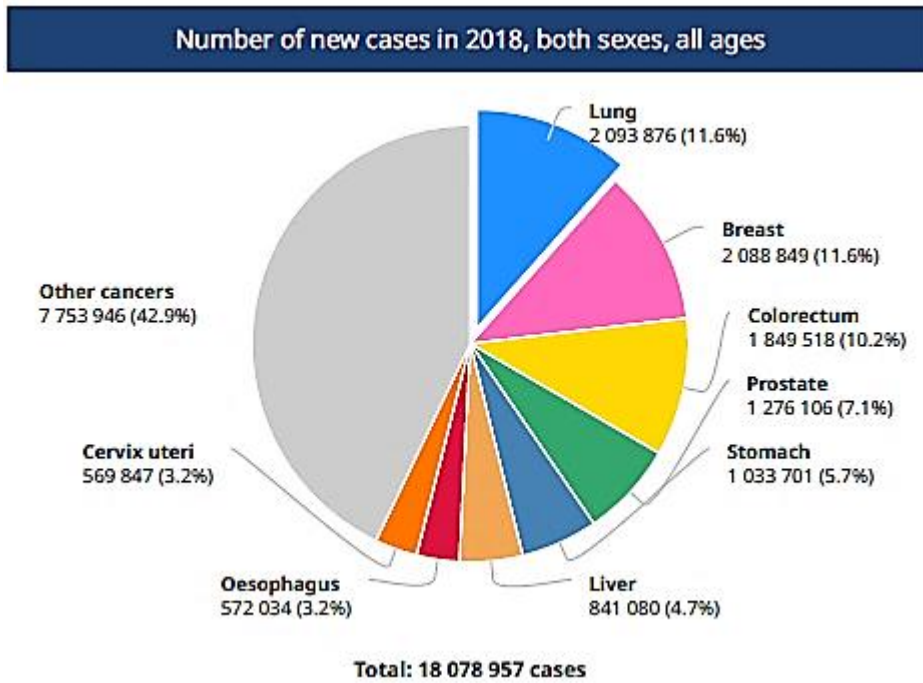


Figure 128: Incidence du cancer du poumon dans le monde selon les données du Globocan 2018¹

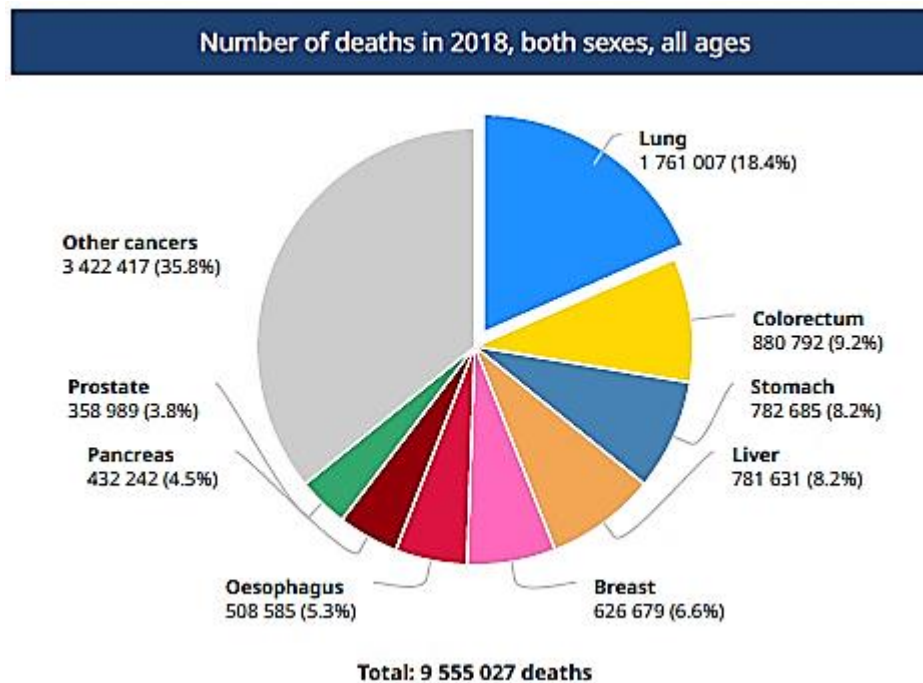


Figure 129: Mortalité par cancer du poumon dans le monde selon les données du Globocan 2018¹

Au Maroc Oriental, le cancer du poumon est le premier cancer chez l'homme en termes d'incidence représentant 19% de l'ensemble des cancers¹⁹⁷

Dans les données épidémiologiques des pays du Maghreb Central durant l'année 2017 publiées en 2019 dans le Journal de la Science Tunisienne des Sciences médicales « La Tunisie Médicale »¹⁹⁸, le cancer pulmonaire était le premier cancer en terme de mortalité,

indépendamment de l'âge et du sexe, suivi par le cancer colorectal en Tunisie et le cancer du sein en Algérie et au Maroc. Ces trois cancers resteront en 2040 ; selon la même source, les plus importants en termes de taux de mortalité avec le cancer pulmonaire en tête de liste en Tunisie et au Maroc et des taux de mortalité respectifs de 30 et 16/100000.

La moyenne d'âge du CPNPC dans notre série était de 63,77. Elle est proche de celles de Fissah, de Hamel et d'Oudjida (61 ans, 60 ans et 61 ans respectivement). Les extrêmes d'âge étaient de 30 ans et 92 ans. La moyenne d'âge dans notre série était presque identique dans les deux sexes (63,82 chez les hommes et 63,60 chez les femmes).

On note une nette prédominance masculine avec un sex-ratio de 3,95. La prédominance masculine était manifeste dans les trois autres séries, cependant le sex-ratio était plus élevé par rapport à notre série (**Tableau 63**). Ceci témoigne d'une augmentation progressive de la fréquence du CPNPC chez les femmes en rapport avec une exposition plus importante de ces dernières au tabagisme.

Tableau 63: Comparaison du sex-ratio de notre série avec les autres séries

Auteur	Année	Hommes	Femmes	Total	Sex-ratio
Notre série	2017-2019	265(79,8%)	67(20,2%)	332	3,95
Oudjida	2011-2015	285(84%)	54(16%)	339	5,3
Fissah	2000-2004	317(89,54%)	37(10,54%)	354	8,5*
Hamel	1993-2000	778 (89,1%)	95 (10,9%)	873	8,18*

**Sex-ratio calculé pour tous les cancers pulmonaires primitifs*

Dans notre série, 72,9% des patients étaient exposés au tabagisme et dans 70,2%, il s'agissait d'un tabagisme de type actif.

Le tabagisme était dans 100% des cas de type actif chez les hommes et il était de type passif pour la majorité des femmes (87,5%).

Le tabagisme est en effet le principal facteur de risque du cancer du poumon et la prédominance masculine de ce cancer est liée en grande partie au fait que les hommes fument plus que les femmes. Ces dernières sont en revanche exposées aux conséquences néfastes du tabagisme passif notamment lorsque le conjoint est tabagique.

Dans notre série 82,2% (plus des $\frac{3}{4}$) de nos prélèvements correspondaient à des échantillons biopsiques, les biopsies transpariétales étaient le type prédominant (45,5%). Les pièces chirurgicales représentaient 17,8% de nos prélèvements et les lobectomies étaient le type prédominant (66,7%).

Dans la série de Hamel, 46,4% des prélèvements correspondaient à des pièces opératoires. Pour la série d'Oudjida, tous les prélèvements étaient représentés par des échantillons biopsiques qui étaient essentiellement de type bronchique.

Le type de prélèvement dépend en fait du recrutement des services d'anatomie pathologique et de la proximité des services de chirurgie thoracique. Le diagnostic anatomopathologique dépend étroitement du type de prélèvement mais aussi du nombre et de la qualité de ce dernier. Les biopsies transpariétales permettent dans la plupart du temps d'obtenir des prélèvements de bonne qualité permettant ainsi d'établir un diagnostic précis et de réaliser si nécessaire une étude IHC à visée diagnostique et théranostique.

Les biopsies bronchiques sont systématiques en cas de cancer périphérique localisé ou localement avancé, même si elles ne permettent pas d'obtenir le diagnostic, elles restent obligatoires afin d'évaluer l'extension endobronchique et de s'assurer de l'absence d'un cancer synchrone radio occulte. Mais contrairement aux biopsies transpariétales, elles ramènent des fragments plus superficiels et nécessitent donc une gestion très rigoureuse.

Les prélèvements des sites métastatiques représentaient dans notre série 12,7% et correspondaient dans 40,5% des localisations pleurales et 35,7% des cas à des localisations ganglionnaires.

Notons aussi que dans notre série le poumon droit était plus touché que le poumon gauche (48,8% contre 33,4%).

Le diagnostic du cancer pulmonaire est fait à un stade localement avancé ou métastatique dans plus de 80% des cas^{16,85,156}. Ceci a été constaté dans notre série où 82% de nos patients étaient à un stade avancé ou métastatique au moment du diagnostic et 18% seulement étaient à un stade local. Le stade IV était le prédominant 44,3%.

Dans la série de Hamel, 31,5% des patients étaient au stade IIIA, ceci s'explique par le fait que la majorité de ses cas correspondaient à des pièces chirurgicales appartenant à des malades opérables et donc à un stade local.

Dans la série d'Oudjida, qui était représentée uniquement par des échantillons biopsiques, 78% de ses patients étaient diagnostiqués à un stade localement avancé ou métastatique.

Le type histologique prédominant dans notre série était l'ADK qui représentait 71,7% des cas suivi du CE qui représentait 20,2% des cas. Le CGC qui a été diagnostiqué dans 100% des cas sur les pièces de résection chirurgicales représentait 2,4% et le CPNPC de type NOS qui a été diagnostiqué dans 100% des cas sur des prélèvements biopsiques représentaient 3,9% de la série. Les autres types étaient rares.

L'ADK était aussi le type histologique prédominant dans la série de Hamel et Oudjida suivi du CE. Cependant, et comme cela a été déjà constaté dans le travail d'Oudjida, nous avons remarqué une augmentation croissante de l'ADK dans les trois séries au profit d'une diminution du CE. Cette augmentation peut être rattachée d'une part au changement du type des cigarettes qui sont composées de particules de plus en plus fines pouvant atteindre les parties distales de l'arbre bronchique et d'autre part à l'utilisation de l'étude IHC dans le diagnostic des tumeurs solides du poumon. Ces dernières étaient longtemps diagnostiquées comme des CE peu différenciés sur la base de la morphologie. L'utilisation systématique de l'IHC pour ce type de tumeur a permis de mieux les typer et les classer dans la plupart du

temps dans la rubrique des ADK solides. La proportion des autres types histologiques était comparable dans les trois séries (**Tableau 64**).

Tableau 64: Proportion des différents types histologiques dans notre série et la série de Hamel et Oudjida

Types histologiques	Série de Hamel 1993-2000	Série d'Oudjida 2011-2014	Notre série 2017-2019
Adénocarcinome	43%	51%	71,7%
Carcinome épidermoïde	30%	28%	20,2%
Carcinome à grandes cellules	7%	0%*	2,4%
CNPC NOS	/**	1%	3,9%
Carcinome adénoquameux	3%	2%	0,9%
Carcinome sarcomatoïde	1%	0,8%	0,9%

* le carcinome à grandes cellules représentait 0% dans la série d'Oudjida car elle ne comportait pas de pièces chirurgicales, **La série de Hamel a été faite en appliquant la classification OMS 1999 qui ne comportait pas la même définition que celle de l'OMS 2015

Le CPNPC de type NOS qui correspond à une tumeur solide sans différenciation glandulaire ni malpighienne et qui n'exprime pas les deux marqueurs TTF1 et P40 en IHC représentait une proportion faible dans notre série. Les recommandations de l'OMS 2015 sont d'utiliser le moins possible le terme de CPNPC de type NOS qui reste une source de confusion pour les cliniciens^{4,79,94,96}.

L'analyse bivariée a montré un lien significatif dans la moyenne d'âge, le genre et l'exposition tabagique entre l'ADK et le CE.

La moyenne d'âge était légèrement plus élevée dans le CE par rapport à l'ADK (68,63 contre 62,32, **p=0,000**).

La prédominance féminine était manifeste dans les ADK avec 96,8% contre 3,2% dans les CE (**p=0,000**).

L'exposition tabagique était plus importante dans les CE (74,4% contre 25,6% dans les ADK, **p=0,005**).

Dans les ADK pulmonaires, et selon les recommandations de l'OMS 2015, la ou les architectures présentes doivent être décrites. Sur pièce opératoire, il faudra préciser en

pourcentage toutes les architectures rencontrées en précisant celle qui est prédominante. En effet, les termes bien, moyennement et peu différenciés ne sont pas reconnus par l'OMS⁸⁹, et chaque morphologie est corrélée à un pronostic et à une altération moléculaire qui lui est souvent associée.

Dans notre série, la morphologie la plus fréquente était acinaire et solide représentant 31% des cas suivie de la forme acinaire pure qui représentait 19,3%. Dans la série de Hamel, la forme mixte (associant plusieurs architectures) était la forme prédominante représentant 33,5% suivie de la forme acinaire qui représentait 20% des cas. Dans la série d'Oudjida, c'est la forme acinaire qui était la prédominante (70%) suivie de la forme solide.

Plusieurs études étrangères ont été publiées dans lesquelles les ADK pulmonaires ont été classés selon la morphologie prédominante en appliquant la classification de l'IASLC 2011 et celle de l'OMS 2015. Les résultats de ces études ne sont pas tous concordants. Par exemple dans une étude cohorte rétrospective publiée en 2017 par T. Zombori et al, portant sur 261 ADK diagnostiqués sur pièces chirurgicales chez des patients de stade I, la morphologie solide était la prédominante (36,5%) suivie de la forme acinaire (20,7%)¹⁹⁹. Dans celle de K.Tsuta et al publiée en 2013 portant sur 904 ADK pulmonaires, la morphologie papillaire était la prédominante (37,4%) suivie par la morphologie lépidique (15,1%)²⁰⁰.

Même si les résultats de ces différentes études étaient différents concernant la morphologie prédominante de l'ADK, la corrélation pronostique était identique avec un meilleur pronostic pour l'aspect lépidique contrairement aux aspects solide et micropapillaire qui étaient associés à un mauvais pronostic^{199,200}.

Pour la pratique de l'étude IHC dans les ADK, nous avons appliqué progressivement les recommandations de l'OMS 2015 pour que nos collègues cliniciens puissent s'adapter avec ces dernières. En effet, les indications de l'étude IHC dans les CPNPC sont limitées et ne concernent que les tumeurs solides ne présentant aucune différenciation glandulaire ou malpighienne morphologiquement évidentes ou bien les patients dont la présentation clinique et morphologique fait suspecter une origine secondaire.

Dans notre série, le recours à cette étude a nettement diminué depuis 2017 passant de 77,8% durant cette année à 37% en 2019 pour les ADK de morphologie non solide. En effet, le diagnostic d'un ADK de morphologie solide doit être porté uniquement sur preuve immunohistochimique et/ou positivité des colorations des mucines.

Pour les CE, le sous-type bien différencié était prédominant dans notre série représentant 52,2% des sous types. Pour cette forme l'étude immunohistochimique n'a pas été réalisée dans 100% des cas, son diagnostic est en effet basé uniquement sur la morphologie. La forme peu différenciée par contre nécessite une preuve immunohistochimique à fin d'éliminer formellement un ADK solide surtout dans sa forme pseudo-squameuse. Cette forme représente 44,8% des CE de notre série et a été diagnostiqué dans 100% des cas après réalisation d'une étude IHC. La forme basaloïde comme décrit dans la littérature est la forme la plus rare, elle représentait 3% dans notre série.

La recherche de la mutation EGFR par biologie moléculaire a été faite au niveau du CHU Mustapha pour 52 cas de CPNPC. Le résultat était valide pour 36 cas, 10 cas étaient revenus positifs. La fréquence de la mutation EGFR était donc de 19,2%. Cette fréquence est proche de celle d'Oudjida qui était de 21,6% et même de celles rapportées dans 02 séries marocaines d'El Ghissassi²⁰¹ et d'Errihani et al²⁰² publiées en 2013 qui étaient de 21%. Elle est plus élevée à celle observée dans une étude faite chez 67 afro-américains qui était de 13,9%²⁰³. Une étude évaluant la fréquence des mutations EGFR sur une série plus large d'ADK à Alger est en cours de publication. Cette étude permettra de mieux évaluer cette fréquence chez nous.

La fréquence du réarrangement ALK dans notre série était de 6,1%, elle a été évaluée dans 3 carcinomes adénocarcinomes et 46 ADK. Notre fréquence était plus élevée par rapport à celle d'Oudjida qui était de 4,7%, sachant que dans sa série et par faute de matériel tumoral qui a été épuisé lors de l'étude de biologie moléculaire, 10 cas seulement ont été testés pour l'ALK. Dans la série de T Takahashi⁶⁴ publiée en 2009, portant sur 313 échantillons de CPNPC, la fréquence du réarrangement ALK était de 1,6%. Une fréquence plus élevée a été retrouvée dans une série chinoise portant sur 103 patients atteints de CPNPC où la recherche du réarrangement du gène ALK par séquençage PCR a montré une fréquence de 11,6%²⁰⁴

Dans notre série, nous avons montré l'existence d'un lien statistiquement significatif entre le statut EGFR et le tabagisme (**p=0,02**) avec un faible pourcentage de cas exposés au tabagisme et EGFR muté (13,6% contre 46,2% de cas EGFR+ et non exposés au tabac).

Il n'y avait pas de lien significatif entre le statut EGFR et l'âge, le genre, les sous-types d'adénocarcinomes et l'extension de la maladie. Il en est de même pour le réarrangement du gène ALK ($p>0,05$).

Dans l'étude d'Oudjida, il y avait une relation significative entre la mutation EGFR et le genre et le tabagisme : les mutations étaient plus fréquentes chez les femmes (**p=0,04**) et chez les non fumeurs (**p=0,03**). Pour le réarrangement ALK, il s'agissait d'un seul cas qui était un homme de 41 ans non fumeur atteint d'un ADK.

Expression du PD-L1 dans les CPNPC :

Dans notre série, le seuil de positivité de l'expression du PD-L1 était fixé à 1%. La prévalence du PD-L1 était donc de 46,7%.

Nos résultats étaient conformes aux recommandations du groupe PATTERN de pathologistes thoraciques concernant le testing du PD-L1^{156,205}. En effet, le nombre de tumeurs testées avec moins de 1 % n'a pas trop excédé 50% (53,3%) et le nombre de tumeurs avec plus de 50 % de CT marquées représente au moins 20 % (20,8%) des tumeurs testées.

L'expression du PD-L1 dans les CPNPC varie de 24 à 60% selon les études¹⁶⁵. Nos résultats ont été comparés avec d'autres études, les anticorps utilisés ont été indiqués pour chacune (**Tableau 65**).

Tableau 65: Prévalence de l'expression du PD-L1 dans les CPNPC par analyse IHC utilisant différents anticorps

Auteur	Taille de l'échantillon	Anticorps	Cut off	Prévalence PD-L1
Notre série	332	22C3 (Dako)	≥1%	46,7%
			1-49%	25,9%
			≥50%	20,8 %
Jazieh et al ²⁰⁶	200	22C3 (Dako)	≥1%	48%
			1-49%	30%
			≥50%	18%
Holmes et al ²⁰⁷	425	SP263 (Ventana)	≥1%	67,8%
			1-49%	40,3%
			≥50%	27,5%
Garon et al ²⁰⁸	824	22C3 (Dako)	≥1%	61%
			≥50%	23%
Herbst et al ²⁰⁹	2222	22C3 (Dako)	≥1%	66%
			1-49%	38%
			≥50%	28%
Brahmer et al ²¹⁰	225	28-8 (Dako)	≥1%	53%
			≥5%	36%
			≥10%	31%
Herbst et al ²¹¹	184	SP142(Ventana)	≥5%	24%
Spira et al ²¹²	287	SP142(Ventana)	1-5%	68%
			5-10%	37%
			≥10%	16%
Borghaei et al ²¹³	231	28-8 (Dako)	≥1%	54%
			≥5%	40%
			≥10%	36%
Rizvi et al ²¹⁴	117	28-8 (Dako)	≥1%	59%
			≥5%	33%
			≥10%	33%
Gettinger et al ²¹⁵	68	28-8 (Dako)	≥50%	49%
Tang et al ²¹⁶	56	E1L3N	5%	57,1%

Les anticorps utilisés pour la détection du PD-L1 ne sont pas les mêmes selon les essais et peu de données comparatives sont disponibles concernant les caractéristiques intrinsèques de ces anticorps. Ces derniers sont dirigés contre des épitopes différents de la protéine (intra ou extracellulaire) et ont des performances différentes en termes d'affinité. Mc Laughlin et al²¹⁷ ont comparé les performances en IHC de 3 anticorps, dont deux ciblant le domaine intracellulaire du PD-L1 (anticorps E1L3N et SP142), et un ciblant le domaine extracellulaire (anticorps E1J2J). Les résultats ont montré une variabilité importante entre les méthodes, même lors de la comparaison des performances des deux anticorps dirigés contre le domaine intracellulaire (E1L3N et SP142).

D'autres études ont comparé aussi des anticorps utilisés comme test compagnants pour certains médicaments. Il s'agit des clones SP263 (associé au Durvalumab), 22C3 (associé au Pembrolizumab), 28-8 (associé au Nivolumab) et SP142 (associé à l'Atezolizumab).

Ces études ont montré que les anticorps 22C3, 28.8 et SP263 ; qui sont dirigés contre le domaine extracellulaire du PD-L1, ont des performances similaires sur le marquage des cellules tumorales dans les CPNPC alors que le SP142 en révèle un pourcentage inférieur^{188,218,219}. La spécificité de ce dernier anticorps pour le domaine intracellulaire pourrait expliquer ces différences de performance.

Par ailleurs, et selon Patel et Kurzrock²²⁰, un marquage diffus pourrait correspondre à l'expression constitutive du PD-L1 du fait d'une voie de signalisation oncogénique, expression qui est moins souvent associée à un infiltrat inflammatoire. Inversement, un marquage focal pourrait correspondre à une zone de réaction immunitaire induisant l'expression du PD-L1 à ce niveau, en réaction à un infiltrat lymphocytaire producteur de cytokines, ce qui pourrait avoir une meilleure valeur prédictive d'une réponse thérapeutique.

L'intensité de marquage acceptée diffère aussi selon les méthodes. Ainsi, par exemple pour le Nivolumab et le Pembrolizumab, une faible intensité de marquage suffit à considérer le statut positif. Par contre, pour l'Atezolizumab, il faut au moins une intensité de marquage modérée pour définir la positivité. De plus, les seuils de positivité varient selon les études de 1 à 50%, ce qui participe certainement aux importantes variations de prévalence du PD-L1 rapportées selon les études pour un même type tumoral.

Ces nombreux facteurs de variabilité méthodologique peuvent donc expliquer les résultats discordants observés concernant le statut PD-L1.

Dans notre série, la moyenne d'âge au moment du diagnostic chez les patients PD-L1 + tous sexes confondus était de 63,23 avec des extrêmes d'âge allant de 31 ans à 92 ans. Le Sex-ratio était de 3,4. La moyenne d'âge était presque identique chez les hommes et chez les femmes (63,15 et 63,49 respectivement).

Nous n'avons pas retrouvé de relation statistiquement significative entre l'expression du PD-L1 et l'âge ou le genre. Le même résultat a été obtenu dans différents travaux étudiant l'expression du PDL1 et les caractéristiques clinicopathologiques où l'âge et le sexe n'étaient pas des facteurs associés au statut PDL1^{142,207,221-224}. Jin et al²²⁵ ont montré cependant dans leur étude une relation significative entre l'expression intense du PD-L1 et le sexe féminin

dans les adénocarcinomes. L'étude de Jazieh et al²⁰⁶, a étudié l'expression du PD-L1 chez les patients atteints de CPNPC dans la population arabe incluant des patients algériens et saoudiens et a révélé une corrélation avec certaines variables démographiques, telles que le sexe féminin et le fait d'être saoudien versus algérien.

Nous avons montré un lien statistiquement significatif entre l'expression du PD-L1 et le tabagisme (**p=0,01, RR=1,9**). Dans 72,6% des cas PD-L1+, les patients étaient exposés au tabagisme. Plusieurs études ont montré aussi ce lien^{138,214,217,218,219}. Des résultats contradictoires ont été rapportés dans l'étude de Ilie et al²²⁷, et dans la méta-analyse de Pan et al²²⁸, ne retrouvant aucune association avec le tabagisme.

Huynh et al²²⁴ ont émis une hypothèse qu'une charge mutationnelle élevée observée souvent chez les fumeurs induit la production de multiples néoantigènes qui déclenchent un afflux de cellules T cytotoxiques et une expression du PD-L1 sur la tumeur ou les cellules immunitaires du microenvironnement des ADK pulmonaires, en particulier dans ceux avec mutation KRAS.

D'autre part, les rapports sur les essais de phase précoce avec un traitement par le Pembrolizumab ont montré des taux de réponse objective beaucoup plus élevés chez les fumeurs (23 à 42%) que chez les non fumeurs (0 à 10%)²²⁹. De plus, Rizvi et al²³⁰ ont récemment montré une association de bénéfices cliniques durables avec amélioration de la survie sans progression lors du traitement anti-PD-1 lorsqu'il existe une charge mutationnelle élevée avec signature moléculaire du tabagisme.

Dans notre étude, la positivité du PD-L1 n'était pas influencée par les antécédents néoplasiques. Il en est de même pour le traitement néoadjuvant. Notre résultat est peut-être altéré par la faible proportion des patients avec des antécédents néoplasiques soit 4,8% et ceux ayant reçu un traitement néoadjuvant avant le testing du PD-L1 soit 3,31% seulement. Aussi, la comparaison aurait été plus intéressante si elle était faite sur des échantillons appartenant aux mêmes patients avant et après administration d'un traitement néoadjuvant, ce que nous n'avons pas pu obtenir dans notre série. D'autre part, nous n'avons pas pu étudier l'impact de la thérapie ciblée sur l'expression du PD-L1 car aucun de nos patients n'a reçu cette thérapie avant le testing PD-L1.

La chimiothérapie induit souvent une lymphopénie transitoire, ce qui a conduit à penser pendant longtemps que les chimiothérapies provoquent une immunosuppression potentielle et exercent un impact négatif sur l'immunosurveillance du cancer. Cependant, de nombreux travaux ont montré l'importance de l'immunité dans l'efficacité des chimiothérapies. En effet, les agents chimiothérapeutiques peuvent restaurer ou même augmenter l'expression des antigènes tumoraux, augmentant ainsi la susceptibilité des cellules tumorales à la lyse par les effecteurs immuns. L'étude du microenvironnement tumoral soumis à la chimiothérapie a permis d'émettre l'hypothèse que l'expression du PDL1 peut être modifiée au cours des différents traitements à visée anti tumorale. Les effets de la chimiothérapie sur l'expression du PD-L1 ont déjà été étudiés dans les cellules cancéreuses du sein. Zhang et al²³¹ ont rapporté que des agents cytotoxiques pouvaient induire l'expression du PD-L1 dans les cellules cancéreuses du sein, ce qui conduisait à une apoptose des cellules T médiée par PD-L1. Au

contraire, Ghebeh et al²³² ont révélé une régulation à la baisse de l'expression du PD-L1 dépendante de la Doxorubicine. Dans le cancer du poumon, les résultats publiés sont divergents. En effet, dans l'étude de Rojko¹⁵³ et Sheng et al²³³, il a été démontré que la chimiothérapie diminue l'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales, et une réévaluation du statut PD-L1 était nécessaire pour l'indication d'un traitement par inhibiteur des points de contrôle immunitaire. Le résultat était contraire dans l'étude de Boothman et al²²¹ qui ont démontré que la chimiothérapie avant l'échantillonnage était associée à une augmentation significative de la prévalence de l'expression du PD-L1. Dans la phase I du Pembrolizumab pour le cancer bronchique, l'expression du PD-L1 ne différait pas ; quel que soit le seuil de positivité retenu ; entre les patients n'ayant reçu aucun traitement ou déjà prétraités (50% et 43,9% pour un seuil de positivité fixé à 50% des cellules tumorales)²⁰⁸. Ces résultats divergents sont probablement attribués à l'hétérogénéité entre les différents cancers et agents cytotoxiques administrés. Il est à noter enfin que les cellules cancéreuses avec une expression élevée du PD-L1 peuvent présenter un potentiel plus agressif, ce qui confère une meilleure sensibilité aux agents cytotoxiques²³³ et que l'expression du PD-L1 pourrait être modifiée par la radiothérapie²³⁴ et les thérapies ciblées²³⁵.

Aucune relation statistiquement significative n'a été mise en évidence entre l'expression du PD-L1 par les CT et les types histologiques des CPNPC. Le même résultat était obtenu dans plusieurs études comparant la prévalence du PD-L1 dans les ADK et les CE^{142,165,221,236}. Dans la cohorte poumon de l'étude de phase I du Pembrolizumab (Keynote-001)²⁰⁸ la fréquence de positivité du PD-L1 était proche pour les CE et non-épidermoïdes (respectivement 32% et 36%, pour un seuil de positivité à 50% des cellules tumorales), et le taux de réponse était plus important pour les CE (23,5%) par rapport aux carcinomes non épidermoïdes (18,7%).

Le type sarcomatoïde est associé dans la littérature à une forte expression du PD-L1¹⁷¹. La sous-représentation de ce type histologique dans notre série (3 cas uniquement) explique que nous n'avions pas eu de relation significative. Cependant, il est à noter que parmi nos 3 cas de ce type histologique, 02 étaient PD-L1+.

Par ailleurs, les 03 carcinomes adénosquameux de notre série étaient tous PD-L1-, mais là aussi, ce type était sous représenté dans notre série.

Une différence significative était observée entre la morphologie de l'ADK et l'intensité du marquage en cas d'expression positive (**p=0,04**). La morphologie solide (considérée comme de mauvais pronostic) est associée à une forte expression (12% en cas de marquage faible et 21,7% en cas d'expression forte). En revanche, la morphologie lépidique (contingent considéré comme de bon pronostic) est associée à une expression faible du PD-L1 (16% contre 6,5% en cas d'expression forte). Ce lien a été également démontré par Jin et al²²⁵ dans leur étude où une expression forte du PD-L1 était retrouvée dans les ADK solides et micropapillaires et aussi par Garcia et al²³⁷ qui ont démontré que les sous-types lépidiques, acinaires et mucineux avaient principalement une expression <1% du PD-L1, et le sous-type solide avait des niveaux élevés d'expression du PD-L1.

Ce résultat constitue un élément impliquant l'expression du PD-L1 comme facteur de mauvais pronostic. En outre, pour évaluer l'expression du PD-L1 sur un échantillon chirurgical et

devant un ADK associant plusieurs morphologies, le contingent solide et/ou micropapillaire sont à privilégier pour le testing afin d'avoir un plus haut niveau d'expression.

Les carcinomes pulmonaires mutés EGFR ou réarrangés ALK sont, le plus souvent, associés à une absence de tabagisme et donc potentiellement à une charge mutationnelle plus faible. Ces tumeurs dites « froides » correspondraient à celles présentant une addiction oncogénique, candidates aux thérapies ciblées et ne surexprimeraient pas généralement PD-L1. Dans notre série il n'y avait pas de relation significative entre l'expression du PD-L1 et la présence d'une mutation EGFR ou réarrangement ALK ($p > 0,05$) bien que nous constatons que 2 parmi les 3 cas ALK réarrangé de notre série étaient PD-L1+ et que le nombre de cas PD-L1+ et EGFR+ était inférieur à celui des cas PD-L1+ et EGFR- (33,3% et 66,7% respectivement). Les résultats des études sont divergents : Gagné et al ont conclu dans leur étude à une probabilité trois fois faible d'une mutation EGFR en cas d'expression de plus de 50% du PD-L1 et à une probabilité plus élevée d'un réarrangement ALK pour le même score¹⁴². Tang et al avaient montré dans leur étude qu'une expression élevée du PD-L1 était associée à la présence d'une mutation EGFR dans l'ADK pulmonaire avancé ($p = 0,06$)¹⁵⁵. Dans l'étude de Boothman et al²²¹, l'expression du PD-L1 était associée à un statut EGFR négatif sans qu'il y ait un lien statistiquement significatif. Yoneshima et al²²² ainsi que Rangachari et al²²³ ont montré dans leur étude que les mutations EGFR et les réarrangements ALK sont tous deux faibles en cas d'expression élevée du PD-L1. Holmes et al²⁰⁷ ont démontré quant à eux que des taux d'expression plus bas du PD-L1 étaient plus fréquemment trouvés dans les ADK EGFR mutant par rapport aux tumeurs de type EGFR sauvage.

Une relation entre le taux de mutations génétiques lié à l'instabilité génomique et l'expression du PD-L1 a été également décrite²³⁸. De plus, une association entre charge mutationnelle et réponse aux inhibiteurs des immune checkpoints a été observée dans différents essais, notamment par Rizvi et al²³⁹ dans l'essai du Pembrolizumab dans le cancer bronchique. Une des hypothèses concernant cette relation, est que le degré de mutagenèse pourrait refléter l'immunogénicité de la tumeur, car chaque mutation peut être à l'origine d'un néoantigène, théoriquement non exprimé par l'organisme et susceptible d'être reconnu par les LT et de déclencher une réaction immunitaire antitumorale.

Nous avons montré une relation significative entre l'expression du PD-L1 par les cellules tumorales et le stade de la maladie ($p = 0,008$). 90,5% des cas de PD-L1+ étaient à un stade localement avancé ou métastatique contre 9,5% de stade local. Le même résultat a été obtenu dans la plupart des études comme celle de Kerr et al²³⁶ et dans la grande méta-analyse de Zhang et al²⁴⁰ impliquant 11444 patients dans 47 études soutenant cette corrélation, où des taux plus élevés d'expression PD-L1 étaient positivement corrélés avec le stade et le grade de la tumeur. Ceci est un autre critère permettant de considérer l'expression du PD-L1 comme facteur de mauvais pronostic. Une relation significative a été aussi retrouvée entre l'expression du PD-L1 et le type de prélèvement. En effet, le pourcentage de positivité du PD-L1 était plus élevé dans les prélèvements biopsiques par rapport aux prélèvements chirurgicaux ($p = 0,02$, $RR = 0,5$). Un résultat identique a été retrouvé dans l'étude de Jin et al, où une expression forte du PD-L1 a été observée dans 29,3% des prélèvements biopsiques de CPNPC et 9,7% de résection chirurgicale²²⁵. Dans l'étude de Gagné et al, une relation

significative a été aussi notée entre les différents types de prélèvements et l'expression du PD-L1, les cytoblocs avaient le pourcentage le plus élevé de la positivité¹⁴², le même résultat a été obtenu dans l'étude de Holmes et al²⁰⁷.

Cette différence dans l'expression du PD-L1 peut être liée au fait que les prélèvements biopsiques appartiennent dans la majorité des cas à des patients au stade localement avancé ou métastatique et que les spécimens de résection appartiennent à des patients opérables et représentent donc un stade précoce de la tumeur. Ce résultat renforce l'influence du stade de la maladie sur l'expression du PD-L1.

L'expression du PDL1 dépend également de la qualité de l'échantillon tumoral et du site de prélèvement, les caractéristiques biologiques de la tumeur primaire peuvent être en effet modifiées au niveau des ganglions ou des métastases et la notion d'hétérogénéité tumorale touche donc également l'expression du PDL1. Afin de mieux caractériser cette hétérogénéité tumorale, il serait intéressant d'étudier l'expression du PDL1 chez un même individu dans les cellules tumorales de la lésion primaire et les cellules tumorales des différentes lésions secondaires. Dans leur série de CE du poumon, Kim et al²⁴¹ ont montré qu'il existait des phénomènes de conversion d'expression du PDL1 positive (dans 10,8% des cas) et négative (dans 18,9% des cas) entre la lésion primaire et les métastases. L'expression du PDL1 était maintenue dans 70,3% des cas. Dans notre étude, nous n'avons pas pu étudier ce paramètre car aucun de nos patients n'a bénéficié d'un prélèvement du site métastatique et de la tumeur primitive en même temps.

L'ancienneté de l'échantillon a été incriminée comme facteur pouvant détériorer l'expression du PD-L1 en IHC, quand elle est supérieure à 6 mois²⁴². C'est pourquoi dans certains essais du Pembrolizumab, un prélèvement récent voire une éventuelle rebiopsie étaient demandés.

Le délai médian de conservation de nos prélèvements était de 2,13 mois avec une variabilité de 17 jours à 41,7 mois. Le délai de réalisation de l'IHC PD-L1 était significativement lié à l'expression du PD-L1 avec une diminution du pourcentage d'expression quand ce délai dépasse 6mois (**p=0,003**). En effet, L'expression du PD-L1 est identifiée dans 75,5% des prélèvements de moins de 6 mois et dans 24,5% des prélèvements plus anciens.

Plusieurs études publiées ont montré le même résultat que notre étude :

Giunchi et al²⁴³ ont décrit que l'ancienneté du prélèvement influençait le marquage du PD-L1 en IHC avec diminution de l'expression dans des échantillons datant de plus d'un an. Midha et al²⁴⁴, Calles et al²²⁶ ont montré quant à eux, que les échantillons de plus de 03 ans étaient moins susceptibles d'avoir une expression positive du PD-L1 par rapport à des échantillons récents. Boothman et al²²¹ ont montré la même différence en comparant des échantillons de plus et moins de 03 mois. Gagné et al¹⁴² ont comparé l'expression du PD-L1 dans des échantillons de moins d'un mois, 1 à 12 mois, 12 à 36 mois et plus de 36 mois et le pourcentage d'expression du PD-L1 le plus élevé a été observé lorsque le délai était inférieur à 1mois. Dans cette même étude, et dans l'analyse multivariée, seul le délai inférieur à 1 mois avait une valeur significative dans l'expression du PD-L1 (**Tableau 66**). Enfin, Jong Ho Cho

et al¹⁴⁹ ont observé une discordance de 33% entre les échantillons de CPNPC appartenant aux mêmes patients mais prélevés à différents moments .

Tableau 66 : Comparaison de l'expression du PD-L1 (les deux scores moins de 1% et 1% à 49%) avec les caractéristiques clinicopathologiques par analyse multivariée, Gagné et al¹⁴²

	OR	p Value	
Age	1.01	0.227	
Women (Ref)	1.00		
Men	0.90	0.484	
Primary lung tumor (Ref)	1.00		
Lymph node metastasis	0.90	0.639	
Distance metastasis	1.09	0.659	
FFPE Block age >36 mo (Ref)	1.00		
FFPE Block age 12–36 mo	1.98	0.112	
FFPE Block age 1–12 mo	1.95	0.103	
FFPE Block age <1 mo	2.25	0.042	
Cell block (Ref)	1.00		
Biopsy	1.08	0.713	
Surgery	1.11	0.720	
1–100 tumor cells (Ref)	1.00		
>100 tumor cells	1.63	0.062	
ALK rearrangement	1.83	0.489	
EGFR mutation	1.04	0.869	

Plusieurs facteurs sont connus pour altérer l'immunoréactivité des tissus fixés au formol et enrobés de paraffine (FFPE). En effet, l'antigénicité de la protéine PD-L1 peut se dégrader avec le temps dans un bloc tissulaire et probablement plus rapidement dans des lames de tissu non colorées en raison d'une exposition accrue du tissu à l'environnement. De ce fait, les conditions de stockage telles que la lumière, la température et l'humidité peuvent jouer un rôle dans la perte de l'expression du PD-L1^{165,245} et doivent être donc pris en compte en cas d'expression négative.

PD-L1 est bien connu en tant que biomarqueur pour l'évasion immunitaire dans le microenvironnement tumoral et supposé être associé en théorie à un pronostic moins favorable pour les tumeurs malignes. En effet, l'inhibition du P-D1 et du PD-L1 prolonge la survie chez des patients présentant un CPNPC avancé, surtout quand l'expression du PD-L1 est présente. L'expression du PD-L1 pourrait alors être un facteur pronostic. Cependant, et en pratique l'implication pronostique du PD-L1 est controversée²⁴⁶.

Dans l'étude de Chen et al²⁴⁷, un total de 6488 patients de 25 études ont été inclus pour rechercher la valeur pronostique de l'expression du PD-L1 dans les ADK pulmonaires

réséqués. Les résultats suggéraient qu'une expression élevée du PD-L1 était associée à une survie globale et sans progression plus courtes.

Koh et al²⁴⁸ ont rapporté le même résultat dans leur étude qui montrait que l'expression du PDL1 est associé à un mauvais pronostic et à une survie sans progression plus courte chez des patients ayant bénéficié d'une résection chirurgicale pour des ADK, chez des patients homogènes en terme d'âge, de sexe, d'histologie et de traitement. Ma et al²⁴⁹ dans une méta-analyse menée comprenant 25 études de 11 pays et contenant 5861 patients atteint de CPNPC ont conclu que l'expression du PD-L1 était un facteur pronostique lié à une mauvaise survie.

Cependant, une autre méta-analyse menée comprenant 11 études avec 12 cohortes composées de 1 653 patients atteints de CPNPC, le rôle de l'expression du PD-L1 dans la prédiction de la survie globale n'a pas été démontré²⁵⁰. Dans notre étude, il n'y avait pas de différences significatives de survie globale selon l'expression du PD- L1 dans les CT et les CI bien qu'une expression positive élevée du PD- L1 dans les CT ait montré une tendance non significative pour une diminution dans le taux de survie (log-rang $p=0,2$). La médiane de survie dans le groupe PD-L1+ était de 8,7 mois et dans le groupe PD-L1- elle était de 9,6 mois.

Expression du PD-L1 et microenvironnement tumoral :

La nature complexe et dynamique du microenvironnement tumoral suggère que ses différents composants peuvent jouer un rôle important dans le développement et l'évolution de la maladie cancéreuse et aussi dans la sélection des patients répondeurs à l'immunothérapie. En effet, le degré d'infiltration des TILs dans le microenvironnement tumoral est corrélé avec les résultats cliniques des thérapies anti-PD-1 / PD-L1²⁵¹.

Dans notre étude, l'expression du PD-L1 dans les CI du microenvironnement a été évaluée de façon globale. Dans un peu plus de la moitié des cas (53,3%), cette expression était négative. Il existait une relation significative entre l'expression du PD-L1 par les CT et les CI ($p<0,001$). Lorsque les CT étaient PD-L1+, 58,7% des CI avaient un score positif avec augmentation proportionnelle.

Cette relation pourrait faire douter d'un marquage négatif des CT sur une biopsie où les CI expriment fortement le PD-L1.

Quant au rôle pronostique de l'expression du PD-L1 dans les CI, une étude avait démontré que l'association d'une forte expression du PD-L1 sur les CT et d'une faible expression de PD-L1 sur les CI était de mauvais pronostic²⁵². Dans notre étude, nous n'avons pas montré de relation significative entre l'expression du PD-L1 dans les CI et la survie globale ($p=0,8$). La moyenne de survie était de 9,2 mois en cas d'une expression positive et elle était de 7,7 mois en cas d'une expression négative.

Nous avons montré aussi que la densité des TILs était significativement liée à l'expression du PD-L1 dans les CI ($p=0,000$). En effet, une expression positive du PD-L1 dans les CI était associée dans 72,9% des cas à une densité modérée des CI du microenvironnement et dans 12,3% des cas à une densité faible. En revanche, nous n'avons pas retrouvé de relation

statistiquement significative entre et l'expression du PD-L1 dans les CT et la densité des TILs ($P=0,08$) bien que nous avons constaté qu'en cas de statut PD-L1+ dans les CT, la densité des TILs était modérée dans 60% des cas et faible dans 26,5% des cas.

Des études préliminaires avaient proposé une classification des tumeurs en quatre catégories en fonction de la présence ou de l'absence de TILs et des niveaux d'expression de PD-L1 : type I: TILs + et PD- L1 +; type II: TILs- et PD-L1-; type III: TILs - et PD- L1+, type IV: TILs+ et PD-L1- et ont étudié leur différence du point de vue des caractéristiques génomiques ainsi que les résultats cliniques²⁵³⁻²⁵⁵.

En se référant à cette classification du microenvironnement selon la densité des TILs, les 4 types étaient représentés comme suit dans notre série (en considérant que la densité faible correspond au statut négatif et la densité modérée et intense au statut positif): le type I (TILS+/PD-L1+): 33,8%, le type II (TILS-/PD-L1-) :19,2%, le type III (TILS-/PD-L1+) : 12,9% et le type IV (TILS+/PD-L1-) : 34,1%.

Il a été rapporté que les patients présentant des environnements tumoraux de type I répondent largement aux inhibiteurs des points de contrôle²⁵⁵. Les patients atteints de tumeurs de type I sont les plus susceptibles de bénéficier d'une inhibition anti-PD-1 / PD-L1 à agent unique, car ces tumeurs présentent des preuves de cellules lymphocytaires intra-tumorales préexistantes qui sont désactivées par l'engagement PD-L1.

Pour l'immunothérapie, étant donné le manque d'infiltrats de cellules lymphocytaire préexistants, le type II de microenvironnement n'est pas susceptible de recevoir un traitement par blocage de point de contrôle à agent unique mais plutôt une thérapie combinée qui peut amener d'abord les cellules T dans les tumeurs et éviter ensuite qu'elles ne soient désactivées. La combinaison de l'antigène 4 associé aux lymphocytes T anti-cytotoxiques (CTLA-4) et de l'anti-PD-1, serait envisagée dans cette situation.

Le type III peut se produire lorsque PD-L1 est exprimé de manière constitutive sur des CT par des voies de signalisation oncogéniques. En effet, sans TILs dans la tumeur, le blocage de PD-1 / PD-L1 entraînera peu probablement une réponse des LT aux tumeurs, soulignant que la positivité de PD-L1 seule ne peut pas être considérée comme un facteur prédictif de réponse à une thérapie anti-PD-1 / PD-L1. Des thérapies combinées qui peuvent amener les cellules T dans les tumeurs et ensuite éviter qu'elles ne soient désactivées, comme la combinaison d'anti-CTLA-4 et d'anti-PD-1, seraient également envisagées chez les patients atteints de tumeurs de type III²⁵⁶.

Dans les tumeurs de type IV aucune résistance adaptative évidente n'est présente. Ces tumeurs seront considérées comme d'autres récepteurs de points de contrôle non PD-1 / PD-L1 ou des voies immunosuppressives et des stratégies effectrices non lymphocytaires. Il a été démontré que 26,4% des échantillons de tumeurs de type IV abritent des mutations EGFR et peuvent donc bénéficier d'une thérapie anti- EGFR²⁵⁶.

Nous n'avons pas noté une influence de l'association PD-L1/densité des TILs sur la survie globale ($p=0,3$) bien que nous avons constaté que la médiane de survie la plus élevée était obtenue en cas de combinaison PD-L1-/TILs+ (11,2 mois).

De nombreuses études ont tenté aussi de découvrir la signification clinique d'une telle classification du microenvironnement sur la base du PD-L1 et les TILs^{255,256}, mais les résultats obtenus n'étaient pas cohérents les uns avec les autres, ce qui peut être dû à notre avis d'une part aux divers anticorps utilisés et méthodes de détection utilisés ainsi qu'aux valeurs d'expression positive adoptées dans l'évaluation du statut PD-L1 et d'autre part au fait que cette catégorisation du microenvironnement tumoral ne tenait pas compte du phénotype des TILs. Parmi toutes les populations du microenvironnement analysées, les LT, en particulier des LT CD8 + sont les plus importants à étudier²⁵⁷.

Dans notre étude, nous avons évalué l'expression du CD8 dans le microenvironnement et nous avons mis en évidence une relation statistiquement significative entre l'expression de PD-L1 par les CT et la densité des TILs CD8+ (**p=0,01**). Plusieurs études ont démontré aussi cette relation²⁵⁸⁻²⁶¹. De même, l'expression du PD-L1 dans les CT était statistiquement liée à la topographie des TILs CD8+. En effet, en cas d'un statut PD-L1+, les TILs CD8+ avaient une topographie en interface dans 64,7% des cas et une topographie intra-tumorale dans 35,3 % des cas uniquement.

Les TILs CD8 + pourraient produire de l'IFN- γ et induire l'expression du PD-L1 dans différentes tumeurs solides, ces dernières vont ensuite supprimer la réponse immunitaire active en inhibant les fonctions effectrices des LT. Ceci renforce le concept de tumeurs « inflammatoires » exprimant PD-L1 et présentant un environnement tumoral inflammatoire CD8+ qui seraient plus sensibles aux immunothérapies contrairement aux tumeurs non « inflammatoires ». Quant à la valeur pronostique de l'expression du CD8, nous n'avons pas retrouvé dans notre étude une différence dans la survie globale en fonction du statut CD8 des TILs (p=0,9). Sur ce point aussi, les résultats sont controversés. En effet, certaines études ont démontré qu'une densité élevée des TILs CD8+ dans le microenvironnement était associée à une meilleure survie²⁶²⁻²⁶⁴ en raison de leur fonction suppressive dans les tumeurs, alors que d'autres études cliniques n'ont pas observé de signification de survie importante²⁶⁵. Il serait donc plus intéressant d'associer à l'étude de l'expression du CD8, l'évaluation du niveau d'expression du PD-1, qui joue un rôle majeur dans l'échappement immunitaire. Dans l'ensemble, les résultats de plusieurs travaux soulignent la nécessité de définir le statut d'expression du PD-1 sur les TILs pour mieux évaluer le statut immunitaire^{24,266,267}.

Dans notre étude, nous avons montré une relation statistiquement significative entre l'expression du PD-L1 dans les CT et le PD-1 (**p<0,001**) avec corrélation positive (**r=0,4 p=0,000**). Le test t de Student avait montré aussi une relation statistiquement significative dans l'expression du PD-1 dans les deux groupes PD-L1+ et PD-L1- (**p<0,0001**). Plusieurs études ont démontré aussi cette relation^{248,266,268-271}. De même, nous avons retrouvé une relation statistiquement significative entre l'expression du PD-1 et la densité des TILs (**p=0,008**). Lorsque la densité des TILs était forte, PD-1 était positif dans 14,3% des cas et négatif dans 5,6% des cas.

Nos résultats sont semblables à ceux retrouvés dans l'étude de He et al²⁷¹, qui a comparé l'expression du PD-1 avec l'expression du PD-L1 dans les CT et avec l'intensité des TILs bien que les seuils de positivité utilisés ne sont pas les mêmes (**Tableau 67**).

Tableau 67 : Relations entre les différents points de contrôle, He et al260²⁷¹

Characteristic	PD-L1 expression on tumor cells, n (%)			TILs, n (%)		
	<50%	≥50%	P	<30%	≥30%	P
PD-1 expression on TILs, n(%)						
<8%	70 (88.6%)	9 (11.4%)	0.026	52 (65.8%)	27 (34.2%)	<0.001
≥8%	44 (73.3%)	16 (26.7%)		11 (18.3%)	49 (81.7%)	
PD-L1 expression on tumor cells, n (%)						
<50%				52 (45.6%)	62 (54.4%)	1.000
≥50%				11 (44.0%)	14 (56.0%)	

Dans l'étude de Mazzaschi et al²⁷², il a été démontré que la faible expression du PD-1 dans les lymphocytes cytotoxiques infiltrant les tumeurs confère un microenvironnement immunitaire privilégié et représente un potentiel pronostique et prédictif indépendant dans le CPNPC. Il a été démontré aussi que l'interaction entre PD-1 / PD-L1 et TILs a une influence importante sur le microenvironnement immunitaire dans son ensemble et une classification basée sur la combinaison PD-1 / PD-L1 et les TILs CD8+ pourrait mieux stratifier les patients. Les cellules T PD-1 + sont en fait considérées comme fonctionnellement épuisées plutôt qu'activées en raison d'une exposition antigénique chronique et persistante due au microenvironnement tumoral, ce qui suggère que le rapport des TILs PD-1 + / CD8 + pourrait refléter une cytotoxicité atténuée des lymphocytes T CD8 + contre les tumeurs. Ainsi, en théorie, les patients avec TILs CD8 + élevés et une expression PD-1 / PD-L1 élevée peuvent bénéficier de la thérapie anti-PD-1 / PD-L1 la plus efficace, car dans ce cas, le statut d'échappement immunitaire pourrait s'inverser au maximum.

Comme pour la densité des TILs, et en vue d'une analyse plus approfondie du microenvironnement immunitaire des CPNPC, nous avons partagé le microenvironnement tumoral en 4 types cette fois-ci en fonction de l'expression du PD-L1, PD-1 et CD8 :

Type I : PD-1 / PD-L1 négatifs et TILs CD8 -

Type II : PD-1 / PD-L1 positifs et TILs CD8-

Type III : PD-1 / PD-L1 négatifs et TILs CD8 +

Type IV : PD-1 / PD-L1 positifs et TILs CD8 +

Dans la combinaison PD-L1/ TILs CD8 c'était le type PD-L1+/CD8+ qui était prédominant (45,2%), quant à la combinaison PD-1/CD8, c'était l'association PD-1-/CD8+ qui était prédominante (50,6%).

En comparant la survie globale dans ces différents groupes, nous n'avons pas retrouvé de relation statistiquement significative ($p > 0,05$), bien que nous avons remarqué que la survie dans l'association PD-L1-/CD8+ était meilleure que celle obtenue dans l'association PD-L1+/CD8+ (9,7 mois contre 6,7mois).

V DISCUSSION

Dans l'étude de Lin et al ²⁶⁸, et afin de déterminer si le microenvironnement immunitaires avait un impact différent sur les résultats cliniques, une classification en quatre types de microenvironnement immunitaire tumoral a été proposée selon la densité des TILs CD8 + et les niveaux d'expression du PD-L / PD-L1. Cette étude a été réalisée sur la base des données de séquençage du transcriptome, ce qui a permis d'éviter les biais qui s'associent à l'étude immunohistochimique (différences dans le choix de l'anticorps primaire, la valeur seuil de positivité, etc.).

La comparaison entre ces quatre groupes a montré une différence significative dans la survie globale pour les CPNPC et les ADK (**Figure 130, 131**). La meilleure survie a été obtenue chez les patients présentant un type III (TILs CD 8+ élevés et une faible expression PD-1 / PD-L1) ce qui est proche de notre résultat, tandis que le type II (TILs CD8 + faibles et PD-1 / PD-L1 élevé) a montré la survie la plus courte.

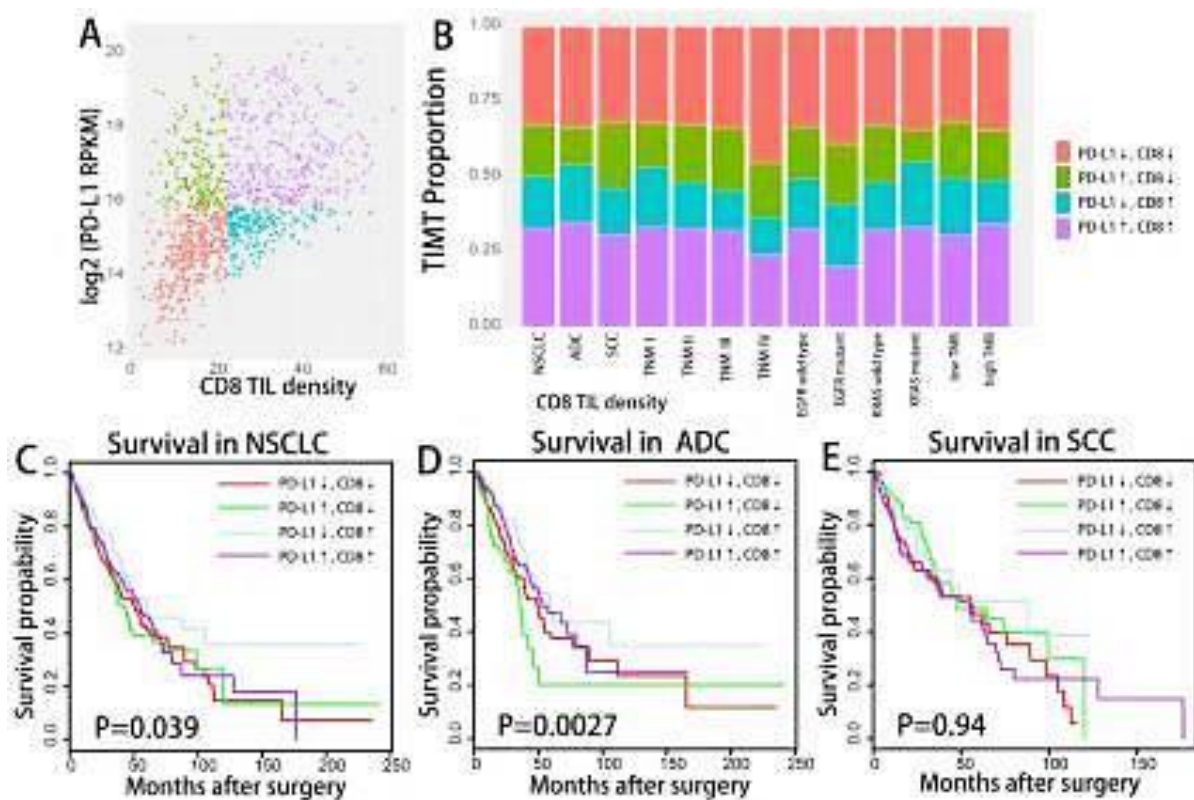


Figure 130 : Distribution et analyse de survie globale des types de microenvironnement tumoral définies par la combinaison PD-L1 / TIL CD8 + ²⁶⁸.

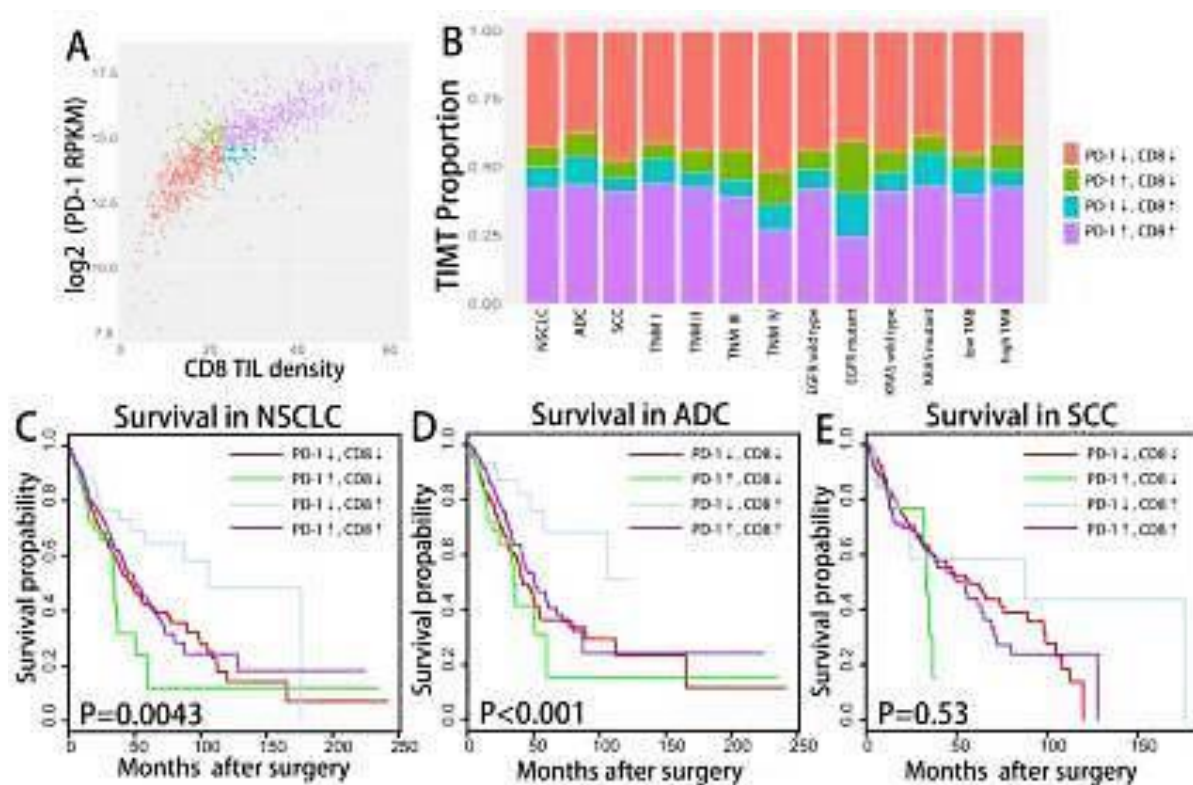


Figure 131 : Distribution et analyse de survie globale des types de microenvironnement tumoral définies par la combinaison PD-1 / TIL CD8 +²⁶⁸

Dans cette même étude, les patients avec des TILs CD8 élevés et une expression PD-1 /PD-L1 élevée avaient une survie similaire à celle des patients avec des TILs CD8 faible, ce qui indique la fonction de suppression immunitaire prédominante de PD-1 / PD-L1 dans le microenvironnement avec des TILs élevés.

Nous avons comparé aussi l'expression du PD-1 avec l'expression du PD-L1 dans les CI, la densité des TILs, l'expression du CD8, le rapport CD4/CD8 et la granzyme B.

L'expression du PD-1 était statistiquement liée à l'expression du PD-L1 dans les CI ainsi qu'à l'expression du CD8 dans les TILs avec augmentation proportionnelle. En effet lorsque le PD-L1 était positif dans les CI, PD-1 était exprimé par les TILs dans 61,2% des cas et lorsque les TILs étaient CD8+, ils étaient PD-1+ aussi dans 89,8% des cas. Le test de Pearson avait montré une corrélation positive entre l'expression du PD-1 et CD8 ($r=0,3$ $p=0,000$) et le test t de Student avait montré aussi une différence significative dans l'expression du PD-1 selon le statut CD8 des TILs (positifs et négatif) ($p=0,0003$).

Quant à la topographie des TILs CD8+, nous avons montré de façon statistiquement significative qu'en cas de statut PD-1 +, 67,0% des TILs avaient une topographie en interface et dans 33,0% des cas, ils avaient une topographie intra tumorale.

De plus, nous avons retrouvé une relation statistiquement significative entre le rapport CD4/CD8 et l'expression du PD-1. En effet, lorsque ce rapport était ≤ 1 le PD-1 était positif dans 72,8%, alors que lorsqu'il était > 1 , le PD-1 était positif dans seulement 27,2% des cas.

Ce qui peut nous faire suggérer que le principal sous-ensemble de cellules immunitaires infiltrant les tumeurs et exprimant PD-1 était CD8 + plutôt que les cellules T CD4 +.

En effet, les lymphocytes T CD4 + et CD8 + sont les principaux types de lymphocytes dans l'immunité à médiation cellulaire et jouent un rôle central dans les réponses immunitaires anti-tumorale.

Le changement dans le rapport CD4 + / CD8 + des TILs dans différents cancers peut être dû à la diminution des lymphocytes T CD4 + et / ou à l'augmentation des lymphocytes T CD8 + et ce changement dans les proportions peut avoir des retentissements sur le profil évolutif des tumeurs. Par exemple, il a été démontré dans une étude qu'une diminution des proportions de cellules T CD4 + infiltrant les tumeurs avec des rapports CD4 + / CD8 + inversés était fortement corrélée à une croissance tumorale rapide et à des métastases ganglionnaires dans le carcinome cervical, en revanche, un rapport CD4 + / CD8 + élevé en raison du pourcentage élevé de cellules CD4 + dans les tumeurs a été corrélé avec des métastases ganglionnaires et une survie réduite des patients dans les cancers du sein, du rein, de l'œsophage et aussi des carcinomes à petites cellules du poumon²⁷³.

Pour évaluer la fonction effectrice des cellules T CD8 +, nous avons étudié l'expression de la granzyme B dans les TILs. Les granzymes sont en effet connues pour être fortement exprimées dans les cellules T CD8 + différenciées en phase terminale²⁷⁴. Jusqu'à présent, 11 membres de la famille des granzymes ont été identifiés chez l'homme. Avec la granzyme A, la granzyme B est l'une des granzymes les plus abondantes. Par conséquent la cytotoxicité médiée par ce type de granzyme a été intensivement étudiée²⁷⁵.

Mais les preuves impliquant les granzymes comme facteur de protection contre la formation de tumeurs ont été relativement rares, car ; en expérimentation, les souris dépourvues de granzymes restent généralement exemptes de cancer²⁷⁵.

Kontani et al²⁷⁶ ont démontré cependant dans leur étude que le nombre de cellules positives pour la granzyme B est réduit dans les TILs des patients atteints d'un cancer du sein et du poumon présentant des métastases ganglionnaires. De plus, Prizment et al¹⁹³ ont observé une corrélation inverse du stade de la maladie avec les scores des lymphocytes cytotoxiques et de la granzyme B dans les cancers colorectaux.

Dans notre étude, il n'y avait pas de relation statistiquement significative entre l'expression de la granzyme B et l'expression du PD-L1 dans les CT ($p=0,6$), l'expression du PD-L1 dans les CI ($p=0,8$), la densité des TILs ($p=0,5$) et le CD8 ($p=0,9$). Cependant, nous avons noté une relation statistiquement significative entre l'expression de la granzyme B et le rapport CD4/CD8 ($p=0,02$). En effet, une forte expression de la granzyme B était notée dans 72,7% des cas lorsque ce rapport était >1 et dans seulement 27,3% des cas lorsqu'il était ≤ 1 . Nous avons montré aussi une relation significative entre l'expression du PD-1 et l'expression de la granzyme B ($p=0,01$) avec une forte expression observée dans 90,9% lorsque les TILs n'exprimaient pas PD-1 et dans seulement 9,1% des cas lorsque les TILs étaient PD-1+.

Nos résultats suggèrent qu'une diminution de la fonction cytotoxique témoignée par une faible proportion de TILs exprimant fortement la granzyme B concerne plutôt les LT CD8+

qui sont aussi PD-1+. En revanche, une forte expression de la granzyme B concerne une sous population de TILs CD4+ et PD-1-.

En effet, les LT CD8+ qui sont les principales cellules T cytotoxiques induisent l'apoptose de la cellule tumorale par la voie perforine/granzyme^{117,119}. L'expression du PD-1 par ces cellules traduit qu'elles sont fonctionnellement épuisées après avoir été activées¹¹⁷ et la diminution de la sécrétion de la granzyme B par ces cellules pourrait donc refléter leur cytotoxicité atténuée.

Quant aux lymphocytes T CD4+ ou lymphocytes auxiliaires, leur principale fonction est la différenciation des lymphocytes T CD8+ en cellules mémoires. Ces lymphocytes peuvent en fait se différencier en plusieurs sous-populations dont les principales de fonction effectrice sont les Th1, Th2 et Th17. Ces derniers produisent des types distincts de cytokines exerçant des fonctions différentes dans le système immunitaire²⁷⁷.

Une autre sous population des lymphocytes T CD4+ sont les T reg dont la fonction est de contrôler les LT cytotoxiques CD8+ et inhiber leur activation¹¹⁷. Ce sont donc des cellules suppressives.

Les lymphocytes Treg sont caractérisés par l'expression du CD4, CD25, et du facteur de transcription FOXP3. Les Treg incluent les Treg naturels générés dans le thymus et les Treg induits qui se différencient à partir des lymphocytes T CD4+ conventionnels sous la stimulation antigénique en présence de facteurs tels que le TGFβ et l'acide rétinoïque²⁷⁷.

Ces cellules ont un rôle majeur dans l'immunosuppression induite par les tumeurs par différents mécanismes, parmi eux la sécrétion de cytokines immunosuppressives (IL-10, TGFβ), et l'expression de perforine et granzyme.

Les LTreg conservent alors leur fonction cytotoxique ce qui pourrait expliquer qu'une expression forte de la granzyme B soit observée dans la population de LT CD4+. Cependant, cette hypothèse doit être confirmée par une meilleure caractérisation de ces LTreg et ce par la recherche de l'expression du CD25 et surtout du facteur de transcription FOXP3 qui caractérisent cette population.

En somme, nos résultats sur l'étude du microenvironnement tumoral ont montré qu'une expression du PD-L1 dans les CT était corrélée à une expression positive dans les CI, et que le statut PD-L1 positif aussi bien dans les CT que les CI était corrélé à une augmentation de la densité des TILs (non significatif pour les CT) et à une expression du CD8 et du PD-1 dans ces TILs.

Nos résultats ont montré aussi que le PD-1 était plus exprimé par les TILs CD8+ qui étaient surtout de topographie en interface et dont la proportion avec une expression forte de la granzyme B était faible témoignant d'une diminution de leur fonction effectrice. En revanche, les TILs CD4+ exprimaient moins le PD-1 et conservaient leur fonction cytotoxique puisque l'expression forte de la granzyme B était notée dans 72,7% des cas lorsque le rapport CD4/CD8 était supérieur à 1.

Enfin, et dans le résultat final de l'analyse multivariée par régression logistique, nous avons retenu trois facteurs qui sont en relation avec l'expression du PD-L1 :

- ✓ L'expression du PD-L1 dans les CI (**p=0,007**),
- ✓ L'expression du PD-1 dans les TILs (**p=0,001**)
- ✓ L'extension de la maladie (**p=0,006**)

Les points forts de notre étude sont :

Il s'agit de la première étude menée chez nous pour évaluer la prévalence de l'expression du PD-L1 dans les CPNPC et explorer les facteurs cliniques, histopathologiques et moléculaires associés au statut PD-L1.

Les résultats de cette étude peuvent aider à faciliter la compréhension de la relation entre l'expression du PD-L1 et le microenvironnement tumoral, ce qui permettra à l'avenir de mieux stratifier les patients candidats à une immunothérapie.

La taille de notre échantillon était représentative ayant intéressé aussi bien des prélèvements biopsiques que chirurgicaux.

Les limites sont:

Plus de patients de sexe masculin et de stade IV

Les données moléculaires n'étaient pas disponibles pour une grande partie de nos patients

La durée de suivi des patients était moyenne avec nombre important des perdus de vue ce qui pouvait avoir une influence sur nos résultats concernant la survie.

VI.CONCLUSION

La place des tests théranostiques dans la prise en charge thérapeutique des CPNPC a nettement évolué et l'anatomopathologiste occupe aujourd'hui une place primordiale dans cette prise en charge. Le test PD-L1 doit être réalisé de manière systématique dès le diagnostic de CPNPC sans attendre la prescription du clinicien, afin de permettre une prise en charge rapide du patient.

L'interprétation de l'expression de PD-L1 devient donc un exercice de routine pour l'anatomopathologiste. Cette interprétation présente de nombreux points délicats tels que son hétérogénéité, ses faux positifs, et surtout ses faux négatifs. Ainsi, et à l'heure actuelle, il semble difficile de sélectionner les patients uniquement en fonction du statut PD-L1, au risque d'exclure des patients qui pourraient avoir un bénéfice au traitement, ce qui constitue une réelle perte de chance sachant qu'ils n'ont ; pour la plupart d'entre eux ; que peu voire pas, d'alternative thérapeutique.

Le but principal de ce travail était d'abord d'évaluer la prévalence de l'expression du PD-L1 dans les CPNPC, puis de rechercher les facteurs susceptibles d'influencer le statut PD-L1 ainsi que sa relation avec le microenvironnement.

La prévalence du PD-L1 dans notre série était comparable à plusieurs études, et nos résultats étaient conformes aux recommandations internationales.

Dans notre travail, nous avons mis en évidence une relation statistiquement significative entre l'expression du PD-L1 et le tabagisme, le type de prélèvement, le délai de la réalisation de l'étude IHC, l'extension de la maladie, l'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement et l'expression du CD8 et PD-1 dans les TILs. Cependant, dans l'analyse multivariée par régression logistique seuls l'extension de la maladie, l'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires et le statut PD-1 ont persisté comme facteurs associés significativement avec l'expression du PD-L1.

Bien que nous n'ayons pas démontré un rôle pronostique du PD-L1 par l'absence de son influence sur la survie globale, nous avons constaté qu'une expression forte du PD-L1 était liée significativement aux adénocarcinomes de type solides qui sont de mauvais pronostic. De plus nous avons observé une association significative entre le statut PD-L1 positif et une maladie avancée ou métastatique, ce qui nous a permis de suggérer que l'expression du PD-L1 était un facteur de mauvais pronostic.

Dans notre étude et par l'étude du microenvironnement tumoral, nous avons prouvé par nos résultats que le cancer du poumon est un cancer immunogène. En effet, nous avons démontré que l'expression du PD-L1 dans les CI et les CT augmente avec la densité des TILs du microenvironnement (même si la relation n'était pas significative pour l'expression du PD-L1 dans les CT), que l'expression du PD-1 et l'expression du PD-L1 étaient positivement corrélées entre elles et que les TILs CD8+ étaient majoritairement PD-1+ et ont une activité cytotoxique diminuée contrairement aux TILs CD4+. Fait intéressant, nous avons montré de manière significative que les TILs CD8+ de topographie intra tumorale exprimaient moins PD-L1 et PD-1 que ceux de topographie en interface.

Nous avons montré aussi que l'association PD-L1+/CD8+ ; qui est la plus susceptible à donner de meilleurs résultats à l'immunothérapie, était la prédominante dans notre série. Ces résultats pourront d'une part aider à mieux sélectionner les candidats à l'immunothérapie, et d'autre part à une meilleure prédiction de la réponse à cette thérapie.

Enfin, et en comparant nos résultats avec d'autres études, nous avons constaté une incohérence des résultats de ces études entre elles concernant les corrélations entre les paramètres clinicopathologiques et l'expression du PD-L1 dans les cellules tumorales des CPNPC. Cette incohérence est sûrement attribuable à des différences de taille de cohorte, à un recrutement déséquilibré des sous-types histopathologiques et à des tests immunohistochimiques ou des méthodologies d'interprétation des données différents. Par conséquent, une analyse plus détaillée de l'expression du PD-L1 dans une cohorte avec un profil histologique et un stade de maladie uniformément répartis est importante afin de mieux définir les facteurs pouvant influencer sur l'expression immunohistochimique du PD-L1 qui demeure jusqu'à ce jour, malgré les controverses, le biomarqueur le plus associé à la réponse à l'immunothérapie.

VII.RECOMMENDATIONS ET PERSPECTIVES

Au terme de notre étude, nos recommandations sont :

- D'optimiser la gestion des prélèvements biopsiques qui représentent plus de 80 % des prélèvements des cancers pulmonaires et qui sont souvent représentés par des échantillons de petite taille. L'idéal sera de séparer ces prélèvements biopsiques dans des cassettes différentes.
- Eviter les niveaux de coupe et le recours excessif à l'immunomarquage dont les indications sont actuellement bien définies.
- Utiliser la terminologie de la classification de l'OMS 2015 pour les prélèvements biopsiques
- En cas de recours à l'analyse immunohistochimique, limiter les anticorps en utilisant le TTF1 et la P40 qui sont les deux anticorps les plus recommandés pour le typage des tumeurs solides du poumon
- Rechercher l'expression immunohistochimique de l'ALK, ROS1 et du PD-L1 ainsi que le testing EGFR pour tous les CPNPC dès le diagnostic
- Pour le testing du PD-L1, privilégier dans les ADK les patterns solide et micropapillaire dans le choix des lames à tester
- En cas de statut PD-L1 négatif sur prélèvement biopsiques, prendre en considération l'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement.
- Devant un statut PD-L1 négatif testé sur des échantillons de CPNPC datant de plus de 6 mois, il est préférable de refaire un autre testing sur des prélèvements plus récents.
- Evaluer le rapport PD-L1+/ TILs CD8 + en vue d'une prédiction de l'efficacité de l'immunothérapie notamment pour les patients susceptibles de développer des effets secondaires
- Assurer un dialogue permanent entre les pathologistes, les médecins préleveurs et les médecins traitants en vue d'une meilleure prise en charge des patients.

Nos perspectives sont :

- De comparer nos résultats avec la réponse après immunothérapie.
- De lancer une plateforme de biologie moléculaire dans notre service afin de mieux étudier le profil moléculaire des patients atteints de cancer pulmonaire et de le comparer avec l'expression du PD-L1.

ANNEXES

Annexe 1

Rappels

1- Embryologique

L'appareil respiratoire apparaît vers la 4ème semaine de la vie intra-utérine sous forme d'un prolongement de l'endoblaste de l'intestin antérieur appelé bourgeon laryngo-trachéal. La portion moyenne du bourgeon donne naissance à la trachée. La portion distale se divise en deux bourgeons pulmonaires qui se développent pour former les bronches et les poumons. Après le 6ème mois de vie intra-utérine, les alvéoles se forment. Les muscles lisses, le cartilage et les tissus conjonctifs des cavités pleurales prennent naissance du mésoblaste.

2-Anatomique

L'appareil respiratoire se divise en deux parties séparées par le pharynx: les voies aériennes supérieures et l'appareil broncho-pulmonaire.

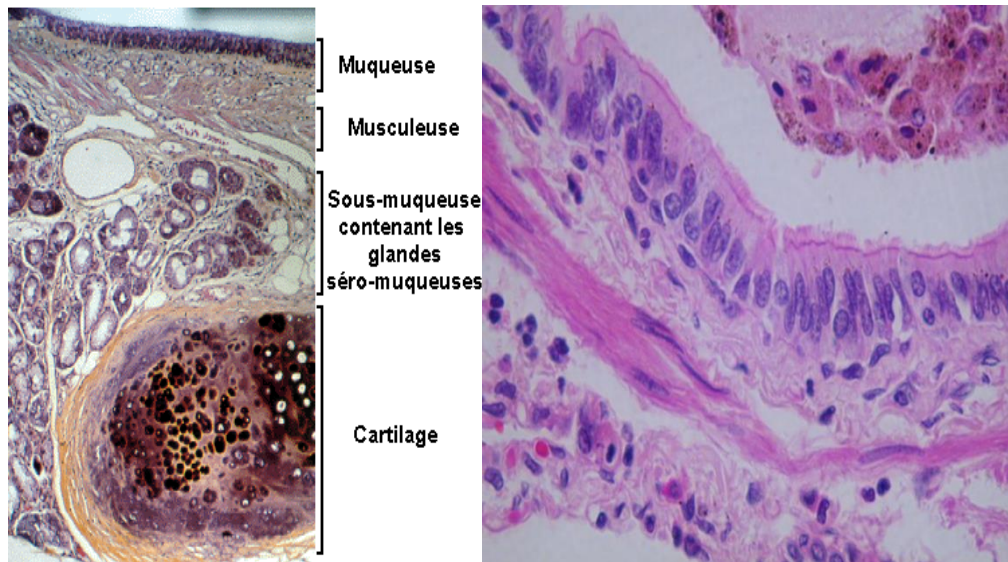
Les voies aériennes supérieures comprennent une série de cavités communicantes: le nez, les sinus, le rhinopharynx.

L'appareil broncho-pulmonaire commence par le larynx, et se continue par la trachée dans le thorax, pour se diviser en deux bronches primaires ou principales. Ces dernières se divisent en branchements (une vingtaine) pour se terminer dans les alvéoles. Les poumons sont situés latéralement dans la cavité thoracique, séparés par le médiastin. Ils reposent sur le diaphragme qui délimite la cavité abdominale supérieure. Les poumons sont des structures rose-grisâtres, très résistantes et élastiques. Ils sont séparés des organes intra thoraciques par une séreuse, la plèvre, qui permet leur glissement lors des mouvements respiratoires. Chaque poumon est constitué de lobes (deux gauches et trois droits) séparés par des scissures. Au niveau des hiles, les structures bronchiques et vasculaires pénètrent dans le tissu pulmonaire, et s'effectue la réflexion de la séreuse pleurale.

3-Histologique

Trachée et bronches extra et intra-lobulaires: la paroi présente 3 couches:

- 1- une muqueuse faite d'un épithélium de type respiratoire pseudo stratifié comportant des cellules cylindriques ciliées et des cellules caliciformes à pole ouvert. Le chorion est fibro-élastique.
- 2- une sous-muqueuse comportant des pièces de cartilage hyalin
- 3- une adventice fibro-adipeuse



Les bronchioles sont composées:

- D'un épithélium respiratoire unistratifié fait essentiellement de cellules ciliées et quelques cellules caliciformes

-Un chorion conjonctivo-élastique avec une musculeuse bien développée : muscle de Reissessen.

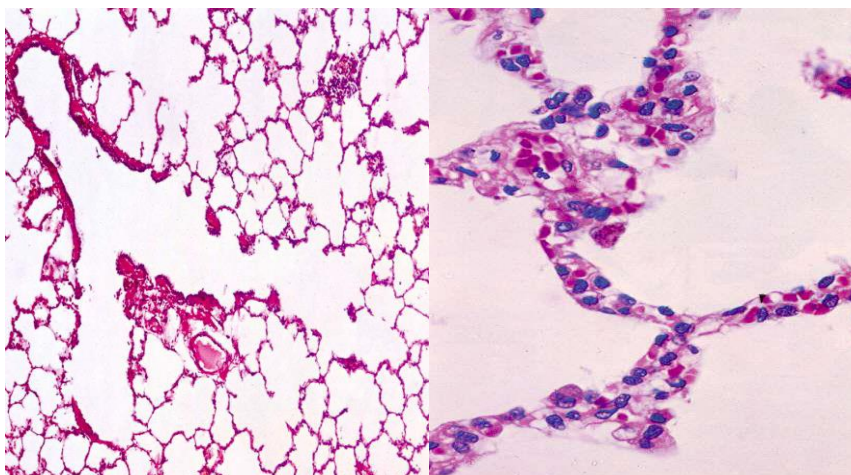
Les glandes et le cartilage sont absents.

La partie distale terminale des voies de conduction est la bronchiole terminale. Cette dernière se divise en ramifications courtes appelées: bronchioles respiratoires du fait que leur paroi contient des alvéoles.

La bronchiole terminale possède un revêtement cylindrique cilié dépourvu de cellules caliciformes et comporte de rares cellules non ciliées appelées cellules de Clara. Ces dernières forment le type cellulaire principal de l'épithélium des bronchioles respiratoires.

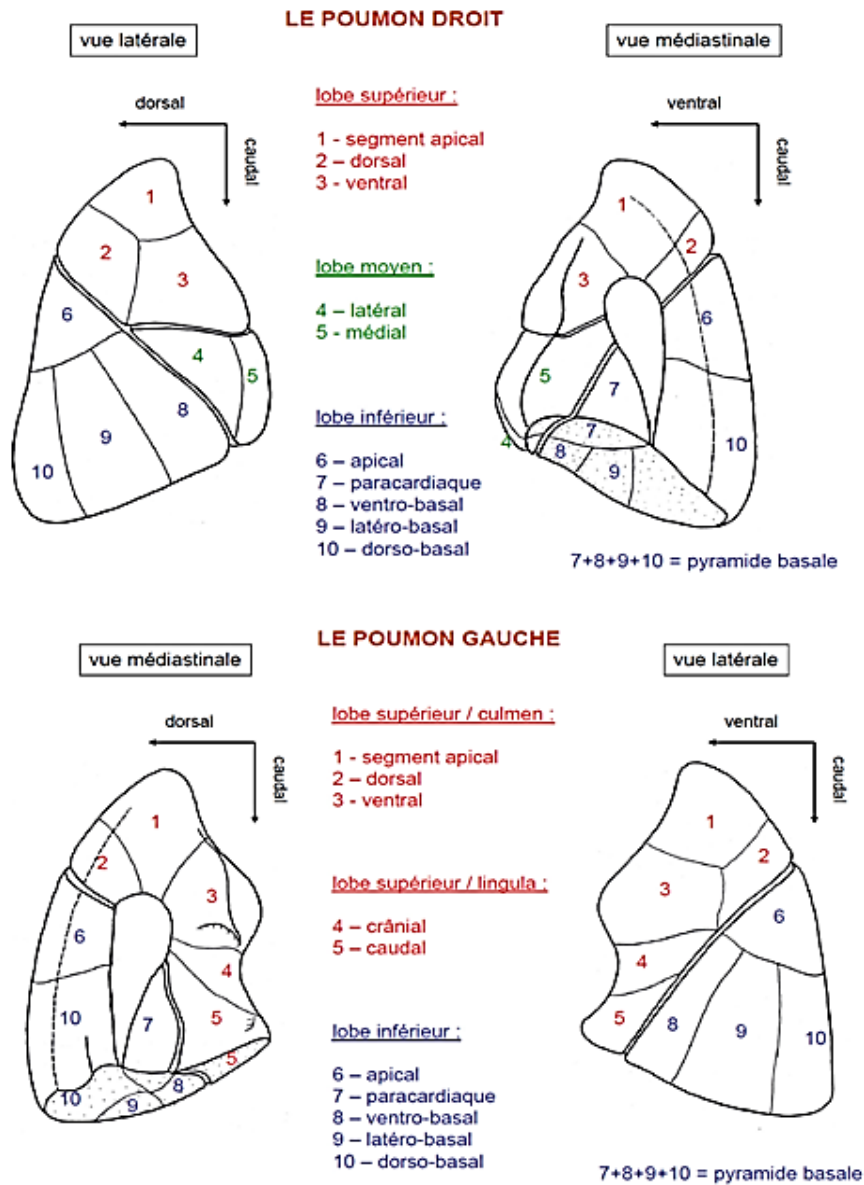
La paroi alvéolaire :

Elle est formée d'un épithélium composé de deux types de cellules : les pneumocytes de type I:simple cellule de revêtement et de type II cellules sécrétrices à l'origine du surfactant.



Annexe 2

Représentation schématique des poumons



Annexe 3

CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE BLIDA
SERVICE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE
PR W. OUAHIOUNE

Fiche d'examen anatomo-pathologique
Prélèvements du poumon

Nom : Prénom: Sexe : H F
 Nom de jeune fille : N° de dossier |_|_|_|_|_|_|_|
 Age : N° d'examen |_|_|_|_|_|
 Hôpital/clinique : Préleveur:

Date du prélèvement : |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|_| Bloc communiqué N°.....

Service : Résultat :.....
 RCP : non oui Date : |_|_|/|_|_|/|_|_|_|_|_|

RENSEIGNEMENTS CLINIQUES :

Tabagisme : oui paquets/année non BPCO
 Exposition professionnelle à des aéro-contaminants : oui non
 Symptômes :
 Antécédents carcinologiques :

Cancer pulmonaire : non oui (à préciser).....
 Autre cancer : non oui (à préciser).....

Traitements antérieurs : chirurgie pour cancer chimiothérapie néoadjuvante

radiothérapie néoadjuvante

Type de prélèvement :
 Prélèvement biopsique :
 Bx bronchique Bx chirurgicale Bx transpariétale
 Autre (site métastatique).....

Prélèvement chirurgical :
 Pneumectomie Lobectomie Bi lobectomie
 Segmentectomie Résection atypique (wedge)

Siège du prélèvement :
 Pulmonaire : droit gauche

Aspect radiologique : Taille de la Tm :

Rapports de la Tm :

ADP : non oui

Epanchement pleural associé : non oui

TNM :

Recherche de mutation génétique : non oui

A préciser :

Thérapie ciblée : non oui

Annexe 4

Fiche des paramètres cliniques, histologiques et IHC étudiés

N°	Item	Code
1	Identifiant :	
2	Nom :	
3	Prénom :	
4	Age (Année) :	
5	Genre : (1) Masculin (2) Féminin	
6	Date prélèvement :	
7	Tabagisme : (1) oui (2) Non (3) Indéterminé	
8	Type de tabagisme : (1) Actif (2) Passif	
9	Antécédents carcinologiques : (1) Non (2) Oui	
10	Type de cancer connu : (1) Poumon (2) Sein (3) Digestif (4) Autre	
11	Traitement néoadjuvant : (1) Non (2) Oui	
12	Type de prélèvement : (1) Bx bronchique (2) BTP (3) Bx chirurgicale (4) Pièce chirurgicale (5) Site métastatique (6) BC	
13	Siège de la métastase : (1) Plèvre (2) Ganglion (3) Os (4) Foie (5) Autre	
14	Pièces opératoires : (1) Lobectomie (2) Bilobectomie (3) Pneumonectomie (4) Wedge	
15	Siège du prélèvement : Poumon droit (1) Poumon gauche (2)	
16	Stade TNM : (1) IA (2) IB (3) IIA (4) IIB (5) IIIA (6) IIIB (7) IIIC (8) IV	
17	Date du dernier contrôle :	
18	Date d'un décès éventuel :	
19	Recherche de mutation : (1) Non (2) Oui	
20	Mutation EGFR : (1) Oui (2) Non (3) Invalide	
21	Réarrangement ALK : (1) Oui (2) Non	
22	Type histologique : (1)ADK (2) CE (3) NOS (4) CGC (5) Adénosquameux (6)Sarcomatoïde	
23	Types ADK : (1) Acinaire (2) Acinaire et solide (3) Solide (4) Lépidique et acinaire (5) Solide et cribriforme (6) Papill et micropap	
26	Types CE : (1) Bien différencié (2) Peu différencié (3) Basaloïde	
27	IHC TTF1 pour ADK : (1) Faite (2) Non faite	
28	IHC P4O pour CE : (1) Faite (2) Non faite	
29	Date de l'IHC PD-L1 :	
30	Densité des CI : (0) Non évaluée (1)Faible (2) Modérée (3) Intense	
31	Expression du PD-L1 dans les CT : (1) <1% (2) 1-49% (3) ≥50%	
32	Expression du PD-L1 dans le microenvironnement : (1) <1% (2) 1-5% (3) 5-10% (4) ≥10%	
33	Marquage au CD8 : (1) <1% (2) 1-5% (3) 5-10% (4) ≥10%	
34	Marquage PD-1 : (1) <5% (2) ≥5%	
35	Granzyme B : (1) Faible (2) Modérée (3) Intense	
36	CD4/CD8 : (1) ≤1 (2) >1	

Annexe 5

WHO Classification of tumours of the lung^{a,b}

Epithelial Tumours		Papillomas	
Adenocarcinoma	8140/3	Squamous cell papilloma	8052/0
Lepidic adenocarcinoma	8250/3*	Exophytic	8052/0
Acinar adenocarcinoma	8551/3*	Inverted	8053/0
Papillary adenocarcinoma	8260/3	Glandular papilloma	8260/0
Micropapillary adenocarcinoma	8265/3	Mixed squamous cell and glandular papilloma	8560/0
Solid adenocarcinoma	8230/3	Adenomas	
Invasive mucinous adenocarcinoma	8253/3*	Sclerosing pneumocytoma	8832/0
Mixed invasive mucinous and non-mucinous adenocarcinoma	8254/3*	Alveolar adenoma	8251/0
Colloid adenocarcinoma	8480/3	Papillary adenoma	8260/0
Fetal adenocarcinoma	8333/3	Mucinous cystadenoma	8470/0
Enteric adenocarcinoma	8144/3	Mucous gland adenoma	8480/0
Minimally invasive adenocarcinoma		Mesenchymal tumours	
Non-mucinous	8250/2*	Pulmonary hamartoma	8992/0
Mucinous	8257/3*	Chondroma	9220/0
Preinvasive lesions		PEComatous tumours	
Atypical adenomatous hyperplasia	8250/0*	Clear cell tumour	8005/0
Adenocarcinoma in situ		Lymphangioloiomatosis	9174/1
Non-mucinous	8410/2	PEComa, benign	8714/0
Mucinous	8253/2	Congenital peribronchial myofibroblastic tumour	8827/1
Squamous cell carcinoma	8070/3	Diffuse pulmonary lymphangiomatosis	
Keratinizing squamous cell carcinoma	8071/3	Inflammatory myofibroblastic tumour	8825/1
Non-keratinizing squamous cell carcinoma	8072/3	Epithelioid haemangioendothelioma	9133/3
Basaloid squamous cell carcinoma	8083/3	Pleuropulmonary blastoma	8973/3
Preinvasive lesion		Synovial sarcoma	9040/3
Squamous cell carcinoma in situ	8070/2	Pulmonary artery intimal sarcoma	9137/3
Neuroendocrine Tumours		Pulmonary myxoid sarcoma with EWSR1-CREB1 translocation	8842/3*
Small cell carcinoma	8041/3	Myoepithelial tumours	
Combined small cell carcinoma	8045/3	Myoepithelioma	8982/0
Large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Myoepithelial carcinoma	8982/3
Combined large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Lymphohistiocytic tumours	
Carcinoid tumours		Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	9699/3
Typical carcinoid tumour	8240/3	Diffuse large B-cell lymphoma	9680/3
Atypical carcinoid tumour	8249/3	Lymphomatoid granulomatosis	9766/1
Preinvasive lesion		Intravascular large B-cell lymphoma	9680/3
Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia	8040/0*	Pulmonary Langerhans cell histiocytosis	9751/1
Large cell carcinoma	8012/3	Erdheim-Chester disease	9750/1
Adenosquamous carcinoma	8560/3	Tumours of ectopic origin	
Sarcomatoid carcinoma	8033/3	Germ cell tumours	
Pleomorphic carcinoma	8022/3	Teratoma mature	9080/0
Spindle cell carcinoma	8032/3	Teratoma immature	9080/1
Giant cell carcinoma	8031/3	Intrapulmonary thymoma	8580/3
Carcinosarcoma	8980/3	Melanoma	8720/3
Pulmonary blastoma	8972/3	Meningioma, NOS	9530/0
Other and unclassified carcinomas		Metastatic tumours	
Lymphoepithelioma-like carcinoma	8082/3		
NUT carcinoma	8023/3*		
Salivary gland-type tumours			
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3		
Adenoid cystic carcinoma	8200/3		
Epithelial-myoepithelial carcinoma	8562/3		
Pleomorphic adenoma	8940/0		

Annexe 6

Chaines ganglionnaires médiastino-pulmonaires

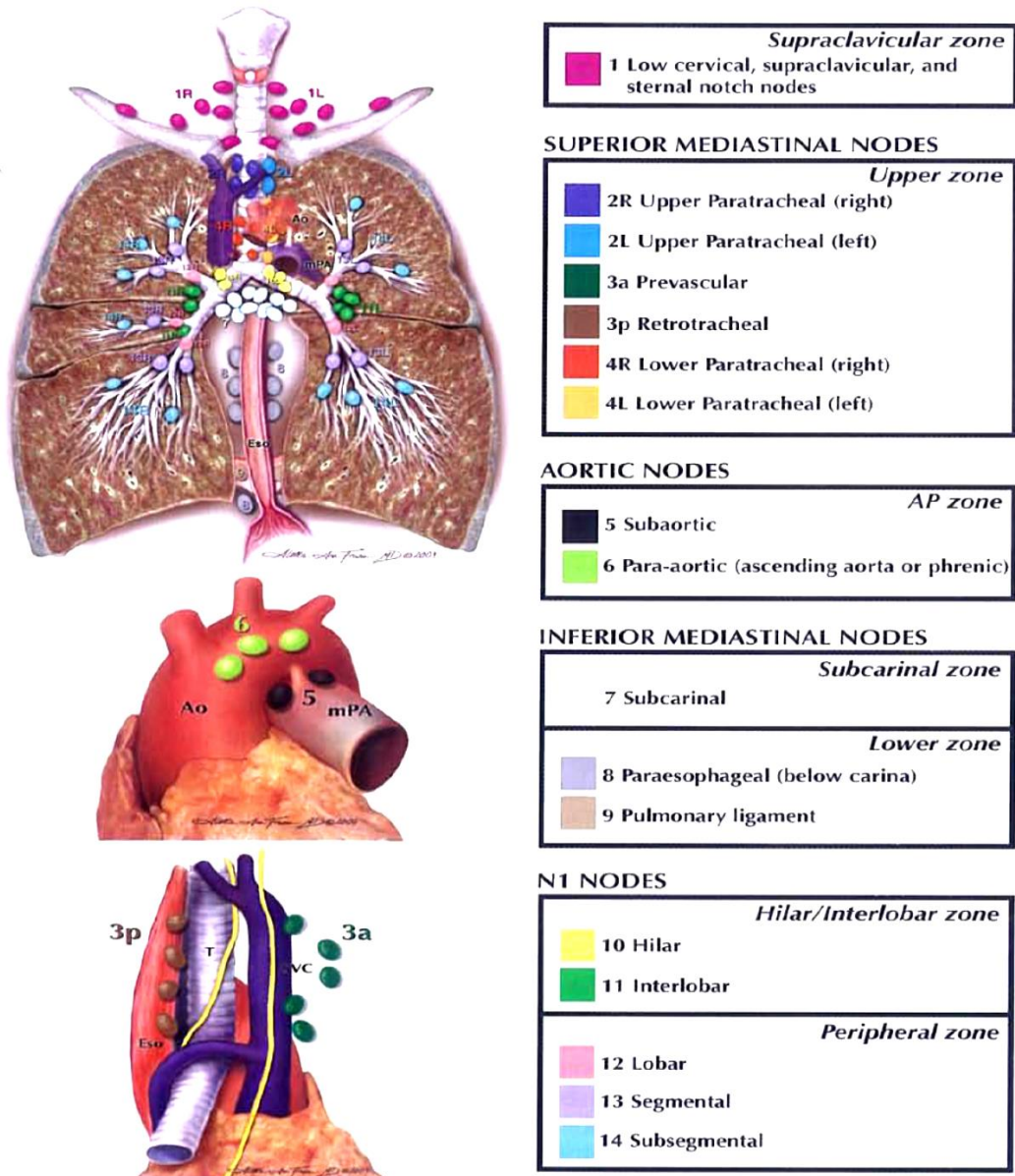


Fig. 1.01 The International Association for the Study of Lung Cancer (IASLC) lymph node map, including the proposed grouping of lymph node stations into zones for the purpose of prognostic analysis. Ao, aorta; AP, aortopulmonary; Eso, oesophagus; mPA, main pulmonary artery; SVC, superior vena cava; T, trachea. Reproduced from Rusch VW et al.

Annexe 7

CLASSIFICATION TNM 8^{ème} EDITION

	Tx	Tumeur primaire non connue ou tumeur prouvée par la présence de cellules malignes dans les sécrétions broncho-pulmonaires mais non visible aux examens radiologiques et endoscopiques.
	T0	Absence de tumeur identifiable.
	Tis	Carcinome <i>in situ</i> .
T - Tumeur	T1	Tumeur de 3 cm ou moins dans ses plus grandes dimensions, entourée par du poumon ou de la plèvre viscérale, sans évidence d'invasion plus proximale que les bronches lobaires à la bronchoscopie (c'est-à-dire pas dans les bronches souches).
	T1a(mi)	Adénocarcinome minimalement-invasif
	T1a	≤ 1cm
	T1b	> 1 cm et ≤ 2 cm
	T1c	> 2 cm et ≤ 3 cm
	T2	Tumeur de plus de 3 cm, mais de 5 cm ou moins, avec quelconque des éléments suivants : -envahissement d'une bronche souche quelle que soit sa distance par rapport à la carène mais sans envahissement de la carène, -envahissement de la plèvre viscérale, -existence d'une atelectasie ou pneumonie obstructive s'étendant à la région hilare ((sub)lobaire ou pulmonaire)
	T2a	> 3 cm mais ≤ 4 cm
	T2b	> 4 cm mais ≤ 5 cm
	T3	Tumeur de plus de 5 cm et de 7 cm ou moins, ou associée à un(des) nodule(s) tumoral(aux) distinct(s) et dans le même lobe, ou ayant au moins l'un des caractères invasifs suivants : -atteinte de la paroi thoracique (incluant les tumeurs du sommet), -atteinte du nerf phrénique, -atteinte de la plèvre pariétale ou du péricarde.
	T4	Tumeur de plus de 7 cm ou associée à un(des) nodule(s) pulmonaire(s) distinct(s) comportant un envahissement quelconque parmi les suivants : -médiastin, -cœur ou gros vaisseaux, -trachée, -diaphragme, -nerf récurrent, -oesophage, -corps vertébraux, -carène, -nodules tumoraux séparés dans deux lobes différents du même poumon.
N - Adénopathies	Nx	Envahissement locorégional inconnu.
	N0	Absence de métastase dans les ganglions lymphatiques régionaux.
	N1	Métastases ganglionnaires péri-bronchiques homolatérales et/ou hilaires homolatérales incluant une extension directe.
	N2	Métastases dans les ganglions médiastinaux homolatéraux ou dans les ganglions sous-carénaux
	N3	Métastases ganglionnaires médiastinales controlatérales ou hilaires controlatérales ou scaléniques, sus-claviculaires homo- ou controlatérales.
Métastases	M0	Pas de métastase à distance.
	M1	Existence de métastases :
	M1a	Nodules tumoraux séparés dans un lobe controlatéral, ou nodules pleuraux ou pleurésie maligne ou péricardite maligne
	M1b	1 seule métastase dans un seul site métastatique
	M1c	Plusieurs métastases dans un seul site ou plusieurs sites atteints

Annexe 8

CLASSIFICATION PAR STADE

Carcinome occulte	Tx N0 M0	Stade IIIA	T1,2 N2, M0
Stade 0	Tis N0 M0		T3 N1 M0
Stade IA-1	T1a(mi) N0 M0		T4 N0,1 M0
	T1a N0 M0	Stade IIIB	T1,2 N3 M0
Stade IA-2	T1b N0 M0		T3,4 N2 M0
Stade IA-3	T1c N0 M0	Stade IIIC	T3,4 N 3 M0
Stade IB	T2a N0 M0	Stade IV-A	Tout M1a
Stade IIA	T2b N0 M0		Tout M1b
Stade IIB	T1,2 N1 M0	Stade IV-B	Tout M1c
	T3 N0 M0		

	N0	N1	N2	N3	M1a-b Tout N	M1c Tout N
T1a	IA-1	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T1b	IA-2	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T1c	IA-3	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T2a	IB	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB	IV-A	IV-B
T3	IIB	IIIA	IIIB	IIIC	IV-A	IV-B
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIC	IV-A	IV-B

BIBLIOGRAPHIE

Bibliographie:

1. Global Cancer Observatory. Published 2018. Accessed December 23, 2019. <http://gco.iarc.fr/>
2. Malvezzi M, Bertuccio P, Rosso T, et al. European cancer mortality predictions for the year 2015: does lung cancer have the highest death rate in EU women? *Annals of Oncology*. 2015;26(4):779-786. doi:10.1093/annonc/mdv001
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*. 2016;66(1):7-30. doi:10.3322/caac.21332
4. Travis WD, Weltgesundheitsorganisation, International Agency for Research on Cancer, eds. *WHO Classification of Tumours of Lung, Pleura, Thymus and Heart: ... Reflects the Views of a Working Group That Convened for a Consensus and Editorial Meeting at the International Agency for Research on Cancer, Lyon, April 24 - 26, 2014*. 4. ed. International Agency for Research on Cancer; 2015.
5. Lynch TJ, Okimoto RA, Supko JG, Settleman J. Activating Mutations in the Epidermal Growth Factor Receptor Underlying Responsiveness of Non-Small-Cell Lung Cancer to Gefitinib. *The New England Journal of Medicine*. Published online 2004:11.
6. Mazières J. Épidémiologie du cancer bronchique : des considérations générales à l'aspect moléculaire. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2014;6(4):305-310. doi:10.1016/S1877-1203(14)70583-X
7. Cooper WA, Lam DCL, O'Toole SA, Minna JD. Molecular biology of lung cancer. *J Thorac Dis*. 2013;5(Suppl 5):S479-S490. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.03
8. Cardarella S, Johnson BE. The Impact of Genomic Changes on Treatment of Lung Cancer. *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;188(7):770-775. doi:10.1164/rccm.201305-0843PP
9. Chan BA, Hughes BGM. Targeted therapy for non-small cell lung cancer: current standards and the promise of the future. *Transl Lung Cancer Res*. 2015;4(1):36-54. doi:10.3978/j.issn.2218-6751.2014.05.01
10. Gazdar AF. Activating and resistance mutations of EGFR in non-small-cell lung cancer: role in clinical response to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene*. 2009;28(1):S24-S31. doi:10.1038/onc.2009.198
11. Anagnostou VK, Brahmer JR. Cancer Immunotherapy: A Future Paradigm Shift in the Treatment of Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;21(5):976-984. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-1187
12. Guilleminault L, Carmier D, Heuzé-Vourc'h N, Diot P, Pichon E. Immunothérapie dans le cancer bronchique non à petites cellules : inhibition de la voie PD1/PDL1. *Revue de Pneumologie Clinique*. 2015;71(1):44-56. doi:10.1016/j.pneumo.2014.11.004
13. Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science*. 2015;348(6230):56-61. doi:10.1126/science.aaa8172

14. Soria J-C, Marabelle A, Brahmer JR, Gettinger S. Immune Checkpoint Modulation for Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 2015;21(10):2256-2262. doi:10.1158/1078-0432.CCR-14-2959
15. Herbst RS, Soria J-C, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature.* 2014;515(7528):563-567. doi:10.1038/nature14011
16. Ilie M, Hofman V, Dietel M, Soria J-C, Hofman P. Assessment of the PD-L1 status by immunohistochemistry: challenges and perspectives for therapeutic strategies in lung cancer patients. *Virchows Arch.* 2016;468(5):511-525. doi:10.1007/s00428-016-1910-4
17. Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQM, et al. Safety and Activity of Anti-PD-L1 Antibody in Patients with Advanced Cancer. *New England Journal of Medicine.* 2012;366(26):2455-2465. doi:10.1056/NEJMoa1200694
18. Jia M, Feng W, Kang S, et al. Evaluation of the efficacy and safety of anti-PD-1 and anti-PD-L1 antibody in the treatment of non-small cell lung cancer (NSCLC): a meta-analysis. *J Thorac Dis.* 2015;7(3):455-461. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.02.06
19. Chae YK, Pan A, Davis AA, et al. Biomarkers for PD-1/PD-L1 Blockade Therapy in Non-Small-cell Lung Cancer: Is PD-L1 Expression a Good Marker for Patient Selection? *Clinical Lung Cancer.* 2016;17(5):350-361. doi:10.1016/j.clcc.2016.03.011
20. Naidoo J, Page DB, Li BT, et al. Toxicities of the anti-PD-1 and anti-PD-L1 immune checkpoint antibodies. *Ann Oncol.* Published online September 14, 2015:mdv383. doi:10.1093/annonc/mdv383
21. Adam J, Planchard D, Marabelle A, Soria J-C, Scoazec J-Y, Lantuéjoul S. Évaluation de l'expression de PD-L1 en immunohistochimie : un biomarqueur émergent dans les carcinomes pulmonaires non à petites cellules. *Annales de Pathologie.* 2016;36(1):94-102. doi:10.1016/j.annpat.2015.11.004
22. Kerr KM, Nicolson MC. Non-Small Cell Lung Cancer, PD-L1, and the Pathologist. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 2016;140(3):249-254. doi:10.5858/arpa.2015-0303-SA
23. Kerr KM, Hirsch FR. Programmed Death Ligand-1 Immunohistochemistry: Friend or Foe? *Archives of Pathology & Laboratory Medicine.* 2016;140(4):326-331. doi:10.5858/arpa.2015-0522-SA
24. Konishi J, Yamazaki K, Azuma M, Kinoshita I, Dosaka-Akita H, Nishimura M. B7-H1 Expression on Non-Small Cell Lung Cancer Cells and Its Relationship with Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Their PD-1 Expression. *Clin Cancer Res.* 2004;10(15):5094-5100. doi:10.1158/1078-0432.CCR-04-0428
25. Munari E, Zamboni G, Lunardi G, et al. PD-L1 Expression Heterogeneity in Non-Small Cell Lung Cancer: Defining Criteria for Harmonization between Biopsy Specimens and Whole Sections. *Journal of Thoracic Oncology.* 2018;13(8):1113-1120. doi:10.1016/j.jtho.2018.04.017

26. Rehman JA, Han G, Carvajal-Hausdorf DE, et al. Quantitative and pathologist-read comparison of the heterogeneity of programmed death-ligand 1 (PD-L1) expression in non-small cell lung cancer. *Modern Pathology*. 2017;30(3):340-349. doi:10.1038/modpathol.2016.186
27. He J, Hu Y, Hu M, Li B. Development of PD-1/PD-L1 Pathway in Tumor Immune Microenvironment and Treatment for Non-Small Cell Lung Cancer. *Scientific Reports*. 2015;5(1):1-9. doi:10.1038/srep13110
28. Hofman V, Ilie M, Long E, et al. Enjeux et limites actuelles de l'évaluation du statut de PD-L1 par immunohistochimie sur des biopsies bronchiques. *Bulletin du Cancer*. 2016;103(4):368-380. doi:10.1016/j.bulcan.2016.01.014
29. Leduc C. Les avancées de l'immunothérapie dans les cancers bronchiques non à petites cellules. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2012;4(6):667-672. doi:10.1016/S1877-1203(12)70320-8
30. Z. Ahmed-Fouatih, D. Hammouda, M. Hamdi-Cherif. Réseau National Des Registres Du Cancer Données Issues Des Trois Réseaux Régionaux Des Registres Du Cancer 2017; Ministère de la Santé, de la Population et de la Réforme Hospitalière.
31. Hammouda PD. Registre des Tumeurs de la wilaya d'Alger. Published online 2017. Institut National de Santé Publique .
32. Quoix E, Lemarié E. Épidémiologie du cancer bronchique primitif : aspects classiques et nouveautés. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2011;28(8):1048-1058. doi:10.1016/j.rmr.2010.12.015
33. Locatelli-Sanchez M, Couraud S, Souquet P-J. Épidémiologie du cancer bronchique : données actuelles. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2015;7(4):285-289. doi:10.1016/S1877-1203(16)30009-X
34. Guérin S, Hill C. L'épidémiologie des cancers en France en 2010 : comparaison avec les États-Unis. *Bulletin du Cancer*. 2010;97(1):47-54. doi:10.1684/bdc.2010.1013
35. Peiffer G, Underner M, Perriot J. Les effets respiratoires du tabagisme. *Revue de Pneumologie Clinique*. 2018;74(3):133-144. doi:10.1016/j.pneumo.2018.04.009
36. Jayes L, Haslam PL, Gratziau CG, et al. SmokeHaz: systematic reviews and meta-analyses of the effects of smoking on respiratory health. *Chest*. 2016;150(1):164-179.
37. Wirth N, Bohadana A, Spinosa A, Martinet Y. Les pathologies respiratoires liées au tabagisme passif. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2009;26(6):667-678. doi:10.1016/S0761-8425(09)74696-0
38. Urban T, Hureauux J. Cannabis et poumon. Ce que l'on sait et tout ce que l'on ne sait pas. *Revue de Pneumologie Clinique*. 2017;73(6):283-289. doi:10.1016/j.pneumo.2017.08.013
39. Boffetta P, Autier P, Boniol M, et al. An Estimate of Cancers Attributable to Occupational Exposures in France. *Journal of Occupational and Environmental Medicine*. 2010;52(4):399-406. doi:10.1097/JOM.0b013e3181d5e355

40. Thiberville L, Paris C. Épidémiologie et facteurs de risque des cancers bronchiques primitifs. *EMC - Pneumologie*. 2004;1(1):7-18. doi:10.1016/j.emcpn.2003.10.002
41. Gamble JF, Nicolich MJ, Boffetta P. Lung cancer and diesel exhaust: an updated critical review of the occupational epidemiology literature. *Critical Reviews in Toxicology*. 2012;42(7):549-598. doi:10.3109/10408444.2012.690725
42. Siegfried JM. Women and lung cancer: does oestrogen play a role? *The Lancet Oncology*. 2001;2(8):506-513. doi:10.1016/S1470-2045(01)00457-0
43. Slatore CG, Chien JW, Au DH, Satia JA, White E. Lung Cancer and Hormone Replacement Therapy: Association in the Vitamins and Lifestyle Study. *J Clin Oncol*. 2010;28(9):1540-1546. doi:10.1200/JCO.2009.25.9739
44. Lung Cancer and Cryptogenic Fibrosing Alveolitis | A Population-based Cohort Study | American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. Accessed April 2, 2020. <https://www.atsjournals.org/doi/full/10.1164/ajrccm.161.1.9906062>
45. Harris JM, Johnston IDA, Rudd R, Taylor AJN, Cullinan P. Cryptogenic fibrosing alveolitis and lung cancer: the BTS study. *Thorax*. 2010;65(1):70-76. doi:10.1136/thx.2009.121962
46. Woenckhaus M, Klein-Hitpass L, Grepmeier U, et al. Smoking and cancer-related gene expression in bronchial epithelium and non-small-cell lung cancers. *The Journal of Pathology*. 2006;210(2):192-204. doi:10.1002/path.2039
47. Mascaux C. La cancérogénèse. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2016;8(5):319-324. doi:10.1016/S1877-1203(16)30120-3
48. Swanton C, Govindan R. Clinical Implications of Genomic Discoveries in Lung Cancer. Longo DL, ed. *N Engl J Med*. 2016;374(19):1864-1873. doi:10.1056/NEJMra1504688
49. Auliac J-B. Les cancers du poumon avec une mutation oncogénique : une prise en charge de plus en plus spécifique. *Oncologie*. 2016;18(6):371-375. doi:10.1007/s10269-016-2639-z
50. Devarakonda S, Morgensztern D, Govindan R. Genomic alterations in lung adenocarcinoma. *The Lancet Oncology*. 2015;16(7):e342-e351. doi:10.1016/S1470-2045(15)00077-7
51. Lantuejoul S, Mescam-Mancini L, Burrioni B, McLeer-Florin A. Actualités en pathologie moléculaire dans les cancers du poumon non à petites cellules. *Oncologie*. 2012;14(9):530-537. doi:10.1007/s10269-012-2206-1
52. Lantuejoul S, Mescam-Mancini L, Burrioni B, McLeer-Florin A. Actualités en pathologie moléculaire dans les cancers du poumon non à petites cellules. *Oncologie*. 2012;14(9):530-537. doi:10.1007/s10269-012-2206-1
53. Wang Z. ErbB Receptors and Cancer. *Methods Mol Biol*. 2017;1652:3-35. doi:10.1007/978-1-4939-7219-7_1

54. Sharma SV, Bell DW, Settleman J, Haber DA. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat Rev Cancer*. 2007;7(3):169-181. doi:10.1038/nrc2088
55. Shigematsu H, Gazdar AF. Somatic mutations of epidermal growth factor receptor signaling pathway in lung cancers. *International Journal of Cancer*. 2006;118(2):257-262. doi:10.1002/ijc.21496
56. Cooper WA, O'Toole S, Boyer M, Horvath L, Mahar A. What's new in non-small cell lung cancer for pathologists the importance of accurate subtyping, EGFR mutations and ALK rearrangements. *Pathology*. 2011;43(2):103-115. doi:10.1097/PAT.0b013e328342629d
57. Hamard C, Ruppert A-M, Lavole A, et al. Actualités sur les thérapies ciblées dans les cancers bronchiques non à petites cellules, hors immunothérapie. *Annales de Pathologie*. 2016;36(1):63-72. doi:10.1016/j.annpat.2015.11.002
58. Andrews Wright NM, Goss GD. Third-generation epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors for the treatment of non-small cell lung cancer. *Transl Lung Cancer Res*. 2019;8(Suppl 3):S247-S264. doi:10.21037/tlcr.2019.06.01
59. Riely GJ, Marks J, Pao W. KRAS Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer. *Proc Am Thorac Soc*. 2009;6(2):201-205. doi:10.1513/pats.200809-107LC
60. Karachaliou N, Mayo C, Costa C, et al. KRAS Mutations in Lung Cancer. *Clinical Lung Cancer*. 2013;14(3):205-214. doi:10.1016/j.clcc.2012.09.007
61. Cardarella S, Ogino A, Nishino M, et al. Clinical, Pathologic, and Biologic Features Associated with BRAF Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(16):4532-4540. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-0657
62. Paik PK, Arcila ME, Fara M, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. *Journal of clinical oncology*. 2011;29(15):2046.
63. Marchetti A, Felicioni L, Malatesta S, et al. Clinical features and outcome of patients with non-small-cell lung cancer harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol*. 2011;29(26):3574-3579.
64. Takahashi T, Sonobe M, Kobayashi M, et al. Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer with EML4-ALK Fusion Gene. *Ann Surg Oncol*. 2010;17(3):889-897. doi:10.1245/s10434-009-0808-7
65. Lantuejoul S, Mescam-Mancini L, McLeer-Florin A. Réarrangements du gène ALK dans les cancers du poumon non à petites cellules. Published online 2012:4.
66. Shaw AT, Engelman JA. ALK in Lung Cancer: Past, Present, and Future. *JCO*. 2013;31(8):1105-1111. doi:10.1200/JCO.2012.44.5353
67. Martine Antoine, Jean-François Côté¹, Anita Rodenas¹, Karima Mouslim¹, Isabelle Brochériou¹. ALK et immunohistochimie dans le carcinome broncho-pulmonaire. *Bulletin de la Division Française de l'AIP*. 2013;(n°57).

68. Kim S, Kim TM, Kim D-W, et al. Heterogeneity of Genetic Changes Associated with Acquired Crizotinib Resistance in ALK-Rearranged Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2013;8(4):415-422. doi:10.1097/JTO.0b013e318283dcc0
69. Chin LP, Soo RA, Soong R, Ou S-HI. Targeting ROS1 with Anaplastic Lymphoma Kinase Inhibitors: A Promising Therapeutic Strategy for a Newly Defined Molecular Subset of Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2012;7(11):1625-1630. doi:10.1097/JTO.0b013e31826baf83
70. Büttner R, Gosney JR, Skov BG, et al. Programmed Death-Ligand 1 Immunohistochemistry Testing: A Review of Analytical Assays and Clinical Implementation in Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO*. 2017;35(34):3867-3876. doi:10.1200/JCO.2017.74.7642
71. Tsao et al. - 2016 - IASLC atlas of ALK and ROS1 testing in lung cancer.pdf. Accessed February 21, 2020. https://www.iaslc.org/Portals/0/alk-ros1_atlas_low-res.pdf?ver=2019-06-06-153958-060
72. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med*. 2012;18(3):378-381. doi:10.1038/nm.2658
73. Benedettini E, Sholl LM, Peyton M, et al. Met Activation in Non-Small Cell Lung Cancer Is Associated with de Novo Resistance to EGFR Inhibitors and the Development of Brain Metastasis. *The American Journal of Pathology*. 2010;177(1):415-423. doi:10.2353/ajpath.2010.090863
74. Tanizaki J, Okamoto I, Sakai K, Nakagawa K. Differential roles of trans-phosphorylated EGFR, HER2, HER3, and RET as heterodimerisation partners of MET in lung cancer with MET amplification. *Br J Cancer*. 2011;105(6):807-813. doi:10.1038/bjc.2011.322
75. Spoerke JM, O'Brien C, Huw L, et al. Phosphoinositide 3-Kinase (PI3K) Pathway Alterations Are Associated with Histologic Subtypes and Are Predictive of Sensitivity to PI3K Inhibitors in Lung Cancer Preclinical Models. *Clin Cancer Res*. 2012;18(24):6771-6783. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-2347
76. Defosse G, Le Guyader-Peyrou S, Uhry Z, et al. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018. *Synthèse Saint-Maurice: Santé Publique France*. Published online 2019.
77. Gérinière L, Thibonnier L et le comité de rédaction des référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique. Référentiel Endoscopie bronchique diagnostique et thérapeutique en oncologie thoracique : actualisation 2017. Published online 2017. <http://espacecancer.sante-ra.fr/Pages/referentiels.aspx>
78. Fleury-Feith J, Bernaudin J-F. Les examens cytologiques en cancérologie bronchopulmonaire. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2011;28(2):254-265. doi:10.1016/j.rmr.2010.12.004
79. Dietel M, Bubendorf L, Dingemans A-MC, et al. Diagnostic procedures for non-small-cell lung cancer (NSCLC): recommendations of the European Expert Group. *Thorax*. 2016;71(2):177-184. doi:10.1136/thoraxjnl-2014-206677

80. Gounant V, Pluvy J, Cazes A, et al. Comment optimiser le diagnostic histo-pathologique du cancer du poumon ? *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2018;10(3):228-235. doi:10.1016/S1877-1203(18)30015-6
81. Pr. Sébastien Couraud, Pr. Virginie Westeel – Dr. Florence Ranchon, Dr. Anne-Claire Toffart - Pr. Pierre-Jean Souquet. Cancer bronchique non à petites cellules. Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique 16^{ème} édition. Accessed September 30, 2020.
82. Soumia F, Leila A, Mohamed R, Laila H, Mustapha E. Intérêt de la TEP-TDM dans le cancer broncho-pulmonaire primitif non à petite cellule. *Pan Afr Med J*. 2017;28. doi:10.11604/pamj.2017.28.289.13130
83. Kuchuk M, Kuchuk I, Sabri E, Hutton B, Clemons M, Wheatley-Price P. The incidence and clinical impact of bone metastases in non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2015;89(2):197-202. doi:10.1016/j.lungcan.2015.04.007
84. Blibech H, Moatemri Z, Dabboussi S, et al. Métastases cérébrales du cancer du poumon : facteurs pronostiques. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2017;34:A83. doi:10.1016/j.rmr.2016.10.179
85. Travis WD, Brambilla E, Nicholson AG, et al. The 2015 World Health Organization Classification of Lung Tumors: Impact of Genetic, Clinical and Radiologic Advances Since the 2004 Classification. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(9):1243-1260. doi:10.1097/JTO.0000000000000630
86. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society International Multidisciplinary Classification of Lung Adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(2):42.
87. Danel C, Roussel J, Fabre A. Le rôle de l'anatomopathologiste en oncologie thoracique : classification, gestion des prélèvements. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2013;5(5):325-330. doi:10.1016/S1877-1203(13)70422-1
88. Mansuet-Lupo A, Filaire M, Chaffanjon P, et al. Recommandations SFP pour la prise en charge macroscopique des pièces de résections de tumeurs pulmonaires. *Annales de Pathologie*. 2019;39(6):425-432. doi:10.1016/j.annpat.2019.05.008
89. Yoshizawa A, Motoi N, Riely GJ, et al. Impact of proposed IASLC/ATS/ERS classification of lung adenocarcinoma: prognostic subgroups and implications for further revision of staging based on analysis of 514 stage I cases. *Modern Pathology*. 2011;24(5):653-664. doi:10.1038/modpathol.2010.232
90. Russell PA, Barnett SA, Walkiewicz M, et al. Correlation of Mutation Status and Survival with Predominant Histologic Subtype According to the New IASLC/ATS/ERS Lung Adenocarcinoma Classification in Stage III (N2) Patients. *Journal of Thoracic Oncology*. 2013;8(4):461-468. doi:10.1097/JTO.0b013e3182828fb8
91. Isabelle Rouquette-Lassalle. Classification histo-moléculaire des adénocarcinomes pulmonaires. *Bulletin de la Division Française de l'Académie Internationale de Pathologie*. 2015;(61):15-21.

92. Warth A, Muley T, Kossakowski CA, et al. Prognostic Impact of Intra-alveolar Tumor Spread in Pulmonary Adenocarcinoma. doi:info:doi/10.1097/PAS.0000000000000409
93. Kadota K, Nitadori J, Sima CS, et al. Tumor Spread through Air Spaces is an Important Pattern of Invasion and Impacts the Frequency and Location of Recurrences after Limited Resection for Small Stage I Lung Adenocarcinomas. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(5):806-814. doi:10.1097/JTO.0000000000000486
94. Brambilla E. Classification OMS 2015 des tumeurs pulmonaires : Changements de paradigme. :76.
95. Antoine M, Moroch J, Kebir F, et al. Classification histomoléculaire des cancers pulmonaires. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2018;10(3):236-247. doi:10.1016/S1877-1203(18)30016-8
96. Travis WD, Brambilla E, Noguchi M, et al. Diagnosis of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology: Implications of the 2011 International Association for the Study of Lung Cancer/American Thoracic Society/European Respiratory Society Classification. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2012;137(5):668-684. doi:10.5858/arpa.2012-0263-RA
97. Zhang J, Sun J, Liang X-L, Lu J-L, Luo Y-F, Liang Z-Y. Differences between low and high grade fetal adenocarcinoma of the lung: a clinicopathological and molecular study. *J Thorac Dis*. 2017;9(7):2071-2078. doi:10.21037/jtd.2017.07.14
98. Larsen et Minna - 2011 - Molecular Biology of Lung Cancer Clinical Implica.pdf. Accessed November 23, 2019. [https://www.chestmed.theclinics.com/article/S0272-5231\(11\)00078-5/pdf](https://www.chestmed.theclinics.com/article/S0272-5231(11)00078-5/pdf)
99. Travis WD, Brambilla E, Riely GJ. New Pathologic Classification of Lung Cancer: Relevance for Clinical Practice and Clinical Trials. *JCO*. 2013;31(8):992-1001. doi:10.1200/JCO.2012.46.9270
100. Kadota K, Yeh Y-C, Sima CS, et al. The cribriform pattern identifies a subset of acinar predominant tumors with poor prognosis in patients with stage I lung adenocarcinoma: a conceptual proposal to classify cribriform predominant tumors as a distinct histologic subtype. *Modern Pathology*. 2014;27(5):690-700. doi:10.1038/modpathol.2013.188
101. Vignaud J-M. Carcinomes épidermoïde, basaloïde et adénosquameux pulmonaires. *Annales de Pathologie*. 2016;36(1):15-23. doi:10.1016/j.annpat.2015.11.011
102. Claire Danel, Aurélie Sannier, Aurélie Cazes. Carcinomes épidermoïdes et carcinomes à grandes cellules du poumon. Quoi de nouveau? *Bulletin AIP*. 2015;(61):22-29.
103. Govindan R, Hammerman PS, Hayes DN, Wilkerson MD, Baylin S, Meyerson M. Comprehensive genomic characterization of squamous cell carcinoma of the lung. *JCO*. 2012;30(15_suppl):7006-7006. doi:10.1200/jco.2012.30.15_suppl.7006
104. Travis WD, Rekhtman N. Pathological Diagnosis and Classification of Lung Cancer in Small Biopsies and Cytology: Strategic Management of Tissue for Molecular Testing. *Semin Respir Crit Care Med*. 2011;32(1):22-31. doi:10.1055/s-0031-1272866

105. Antoine M, Vieira T, Fallet V, et al. Carcinomes sarcomatoïdes pulmonaires. *Annales de Pathologie*. 2016;36(1):44-54. doi:10.1016/j.annpat.2015.11.007
106. Vieira T, Duruisseaux M, Ruppert A-M, Cadranet J, Antoine M, Wislez M. Carcinomes sarcomatoïdes pulmonaires. *Bulletin du Cancer*. 2012;99(10):995-1001. doi:10.1684/bdc.2012.1619
107. Pelosi G, Scarpa A, Manzotti M, et al. K-ras gene mutational analysis supports a monoclonal origin of biphasic pleomorphic carcinoma of the lung. *Mod Pathol*. 2004;17(5):538-546. doi:10.1038/modpathol.3800058
108. Jiang X, Liu Y, Chen C, et al. The value of biomarkers in patients with sarcomatoid carcinoma of the lung: molecular analysis of 33 cases. *Clin Lung Cancer*. 2012;13(4):288-296. doi:10.1016/j.clcc.2011.11.004
109. Copin M-C. Carcinome à grandes cellules, carcinome lymphoepithelioma-like, carcinome NUT. *Annales de Pathologie*. 2016;36(1):24-33. doi:10.1016/j.annpat.2015.11.006
110. Koh J, Go H, Kim M-Y, Jeon YK, Chung J-H, Chung DH. A comprehensive immunohistochemistry algorithm for the histological subtyping of small biopsies obtained from non-small cell lung cancers. *Histopathology*. 2014;65(6):868-878. doi:10.1111/his.12507
111. Montezuma D, Azevedo R, Lopes P, Vieira R, Cunha AL, Henrique R. A panel of four immunohistochemical markers (CK7, CK20, TTF-1, and p63) allows accurate diagnosis of primary and metastatic lung carcinoma on biopsy specimens. *Virchows Arch*. 2013;463(6):749-754. doi:10.1007/s00428-013-1488-z
112. Kheng YC, Walsh K, Williams L, Wallace WA, Harrison DJ, Oniscu A. ALK immunohistochemistry is highly sensitive and specific for the detection of ALK translocated lung adenocarcinomas: lessons from an audit of lung cancer molecular testing. *JOURNAL OF THE ROYAL COLLEGE OF PHYSICIANS OF EDINBURGH*. 2018;48(1):20-24.
113. Ilie M, Hofman V, Hofman P. Intérêt de l'immunohistochimie à visée théranostique dans les carcinomes bronchiques non à petites cellules : applications et limites actuelles. *Revue Francophone des Laboratoires*. 2015;2015(468):37-47. doi:10.1016/S1773-035X(15)72786-3
114. Leighl NB, Rekhtman N, Biermann WA, et al. Molecular Testing for Selection of Patients With Lung Cancer for Epidermal Growth Factor Receptor and Anaplastic Lymphoma Kinase Tyrosine Kinase Inhibitors: American Society of Clinical Oncology Endorsement of the College of American Pathologists/International Association for the Study of Lung Cancer/Association for Molecular Pathology Guideline. *J Clin Oncol*. 2014;32(32):3673-3679. doi:10.1200/JCO.2014.57.3055
115. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, et al. Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch*. 2016;469(5):489-503. doi:10.1007/s00428-016-2000-3

116. Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer Immunoediting: Integrating Immunity's Roles in Cancer Suppression and Promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-1570. doi:10.1126/science.1203486
117. Granier C, Soumelis V, Mandavit M, et al. Les « immune checkpoints », comment ça marche. *Annales de Pathologie*. 2017;37(1):18-28. doi:10.1016/j.annpat.2016.12.007
118. Vivier E, Artis D, Colonna M, et al. Innate Lymphoid Cells: 10 Years On. *Cell*. 2018;174(5):1054-1066. doi:10.1016/j.cell.2018.07.017
119. Ruppert A-M, Rozensztajn N, Viera T, et al. Cancer bronchique et inflammation. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2015;7(4):554-563. doi:10.1016/S1877-1203(16)30040-4
120. Artis D, Spits H. The biology of innate lymphoid cells. *Nature*. 2015;517(7534):293-301. doi:10.1038/nature14189
121. Morvan MG, Lanier LL. NK cells and cancer: you can teach innate cells new tricks. *Nature Reviews Cancer*. 2016;16(1):7-19. doi:10.1038/nrc.2015.5
122. Benzaquen J, Marquette C-H, Glaichenhaus N, Leroy S, Hofman P, Ilié M. Rationnel biologique de l'immunothérapie des cancers. *Revue des Maladies Respiratoires*. 2018;35(2):206-222. doi:10.1016/j.rmr.2017.11.008
123. Berzins SP, Smyth MJ, Baxter AG. Presumed guilty: natural killer T cell defects and human disease. *Nature Reviews Immunology*. 2011;11(2):131-142. doi:10.1038/nri2904
124. Steinman RM. Decisions About Dendritic Cells: Past, Present, and Future. *Annual Review of Immunology*. 2012;30(1):1-22. doi:10.1146/annurev-immunol-100311-102839
125. Caux C. Immunothérapie : les checkpoints. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités*. 2016;8(5):387-398. doi:10.1016/S1877-1203(16)30128-8
126. Terme M, Tanchot C. Système immunitaire et tumeurs. *Annales de Pathologie*. 2017;37(1):11-17. doi:10.1016/j.annpat.2016.12.004
127. Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H, Old LJ, Schreiber RD. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nature Immunology*. 2002;3(11):991-998. doi:10.1038/ni1102-991
128. Dunn GP, Old LJ, Schreiber RD. The Three Es of Cancer Immunoediting. *Annual Review of Immunology*. 2004;22(1):329-360. doi:10.1146/annurev.immunol.22.012703.104803
129. Fridman WH. Historique de l'immunothérapie. Changement de paradigme ? *Bulletin du Cancer*. 2016;103:S122-S126. doi:10.1016/S0007-4551(16)30368-X
130. Hicklin DJ, Wang Z, Arienti F, Rivoltini L, Parmiani G, Ferrone S. beta2-Microglobulin mutations, HLA class I antigen loss, and tumor progression in melanoma. *J Clin Invest*. 1998;101(12):2720-2729. doi:10.1172/JCI498

131. Terme M, Tanchot C. Système immunitaire et tumeurs. *Annales de Pathologie*. 2017;37(1):11-17. doi:10.1016/j.annpat.2016.12.004
132. Lievens LA, Bezemer K, Aerts JGJV, Hegmans JPJJ. Tumor-associated macrophages in thoracic malignancies. *Lung Cancer*. 2013;80(3):256-262. doi:10.1016/j.lungcan.2013.02.017
133. Hao N-B, Lü M-H, Fan Y-H, Cao Y-L, Zhang Z-R, Yang S-M. Macrophages in tumor microenvironments and the progression of tumors. *Clinical and Developmental Immunology*. 2012;2012.
134. Galdiero MR, Bonavita E, Barajon I, Garlanda C, Mantovani A, Jaillon S. Tumor associated macrophages and neutrophils in cancer. *Immunobiology*. 2013;218(11):1402-1410. doi:10.1016/j.imbio.2013.06.003
135. Treffers LW, Hiemstra IH, Kuijpers TW, Berg TK van den, Matlung HL. Neutrophils in cancer. *Immunological Reviews*. 2016;273(1):312-328. doi:10.1111/imr.12444
136. Fridlender ZG, Sun J, Kim S, et al. Polarization of Tumor-Associated Neutrophil Phenotype by TGF- β : "N1" versus "N2" TAN. *Cancer Cell*. 2009;16(3):183-194. doi:10.1016/j.ccr.2009.06.017
137. Kumar V, Patel S, Tcyganov E, Gabrilovich DI. The Nature of Myeloid-Derived Suppressor Cells in the Tumor Microenvironment. *Trends in Immunology*. 2016;37(3):208-220. doi:10.1016/j.it.2016.01.004
138. Mougiakakos D, Choudhury A, Lladser A, Kiessling R, Johansson CC. Chapter 3 - Regulatory T Cells in Cancer. In: Vande Woude GF, Klein G, eds. *Advances in Cancer Research*. Vol 107. Academic Press; 2010:57-117. doi:10.1016/S0065-230X(10)07003-X
139. Tanchot C, Terme M, Pere H, et al. Tumor-Infiltrating Regulatory T Cells: Phenotype, Role, Mechanism of Expansion In Situ and Clinical Significance. *Cancer Microenvironment*. 2013;6(2):147-157. doi:10.1007/s12307-012-0122-y
140. Schietinger A, Greenberg PD. Tolerance and exhaustion: defining mechanisms of T cell dysfunction. *Trends in Immunology*. 2014;35(2):51-60. doi:10.1016/j.it.2013.10.001
141. Duruisseaux M, Rouquette I, Adam J, et al. Efficacité des inhibiteurs du checkpoint immunitaire PD-1/PD-L1 et testing PD-L1 dans les cancers thoraciques. *Annales de Pathologie*. 2017;37(1):61-78. doi:10.1016/j.annpat.2016.12.009
142. Gagné A, Wang E, Bastien N, et al. Impact of Specimen Characteristics on PD-L1 Testing in Non-Small Cell Lung Cancer: Validation of the IASLC PD-L1 Testing Recommendations. *J Thorac Oncol*. 2019;14(12):2062-2070. doi:10.1016/j.jtho.2019.08.2503
143. Heymann JJ, Bulman WA, Swinarski D, et al. PD-L1 expression in non-small cell lung carcinoma: Comparison among cytology, small biopsy, and surgical resection specimens. *Cancer Cytopathology*. 2017;125(12):896-907. doi:10.1002/cncy.21937

144. Sakata KK, Midthun DE, Mullon JJ, et al. Comparison of Programmed Death Ligand-1 Immunohistochemical Staining Between Endobronchial Ultrasound Transbronchial Needle Aspiration and Resected Lung Cancer Specimens. *Chest*. 2018;154(4):827-837. doi:10.1016/j.chest.2018.07.017
145. Stoy SP, Rosen L, Mueller J, Murgu S. Programmed death-ligand 1 testing of lung cancer cytology specimens obtained with bronchoscopy. *Cancer Cytopathology*. 2018;126(2):122-128. doi:10.1002/cncy.21941
146. Kim S, Koh J, Kwon D, et al. Comparative analysis of PD-L1 expression between primary and metastatic pulmonary adenocarcinomas. *European Journal of Cancer*. 2017;75:141-149. doi:10.1016/j.ejca.2017.01.004
147. Wang H, Agulnik J, Kasymjanova G, et al. The metastatic site does not influence PD-L1 expression in advanced non-small cell lung carcinoma. *Lung Cancer*. 2019;132:36-38. doi:10.1016/j.lungcan.2019.04.009
148. McLaughlin J, Han G, Schalper KA, et al. Quantitative Assessment of the Heterogeneity of PD-L1 Expression in Non-Small-Cell Lung Cancer. *JAMA Oncol*. 2016;2(1):46-54. doi:10.1001/jamaoncol.2015.3638
149. Cho JH, Sorensen SF, Choi Y-L, et al. Programmed Death Ligand 1 Expression in Paired Non-Small Cell Lung Cancer Tumor Samples. *Clinical Lung Cancer*. 2017;18(6):e473-e479. doi:10.1016/j.clcc.2017.04.008
150. Naito T, Udagawa H, Sato J, et al. A Minimum Of 100 Tumor Cells in a Single Biopsy Sample Is Required to Assess Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Predicting Patient Response to Nivolumab Treatment in Nonsquamous Non-Small Cell Lung Carcinoma. *J Thorac Oncol*. 2019;14(10):1818-1827. doi:10.1016/j.jtho.2019.06.019
151. Sheng J, Fang W, Yu J, et al. Expression of programmed death ligand-1 on tumor cells varies pre and post chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Scientific Reports*. 2016;6(1):1-10. doi:10.1038/srep20090
152. Haratake N, Toyokawa G, Tagawa T, et al. Positive Conversion of PD-L1 Expression After Treatments with Chemotherapy and Nivolumab. *Anticancer Res*. 2017;37(10):5713-5717.
153. Rojkó L, Reiniger L, Téglási V, et al. Chemotherapy treatment is associated with altered PD-L1 expression in lung cancer patients. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2018;144(7):1219-1226. doi:10.1007/s00432-018-2642-4
154. Lin K, Cheng J, Yang T, Li Y, Zhu B. EGFR-TKI down-regulates PD-L1 in EGFR mutant NSCLC through inhibiting NF- κ B. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2015;463(1):95-101. doi:10.1016/j.bbrc.2015.05.030
155. Tang Y, Fang W, Zhang Y, et al. The association between PD-L1 and EGFR status and the prognostic value of PD-L1 in advanced non-small cell lung cancer patients treated with EGFR-TKIs. *Oncotarget*. 2015;6(16):14209-14219.

156. Lantuejoul S, Adam J, Girard N, et al. Tests immunohistochimiques PD-L1 dans les cancers du poumon non à petites cellules : recommandations par le groupe PATTERN de pathologistes thoraciques. *Annales de Pathologie*. 2018;38(2):110-125. doi:10.1016/j.annpat.2018.01.007
157. Aisner DL, Rumery MD, Merrick DT, et al. Do More With Less: Tips and Techniques for Maximizing Small Biopsy and Cytology Specimens for Molecular and Ancillary Testing: The University of Colorado Experience. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2016;140(11):1206-1220. doi:10.5858/arpa.2016-0156-RA
158. MING SOUND TSAO, MD, FRCPCKEITH M. KERR, MB CHB, FRCPATH, FRCPESANJA DACIC, MD, PHDYASUSHI YATABE, MD, PHDFRED R. HIRSCH, MD, PHD. pdl1 guide interprétation . Published April 2017. Accessed April 6, 2020.
159. PD-L1 IHC 22C3 pharmDx Interpretation Manual, NSCLC. :76.
160. Parra ER, Behrens C, Rodriguez-Canales J, et al. Abstract 4256: High programmed cell death ligand 1 expression and low immune infiltrate score correlate with worse outcome in patients with lung adenocarcinoma. *Cancer Res*. 2015;75(15 Supplement):4256-4256. doi:10.1158/1538-7445.AM2015-4256
161. Festino L, Botti G, Lorigan P, et al. Cancer Treatment with Anti-PD-1/PD-L1 Agents: Is PD-L1 Expression a Biomarker for Patient Selection? *Drugs*. 2016;76(9):925-945. doi:10.1007/s40265-016-0588-x
162. Bansal P, Osman D, Gan GN, Simon GR, Bumber Y. Recent Advances in Immunotherapy in Metastatic NSCLC. *Front Oncol*. 2016;6. doi:10.3389/fonc.2016.00239
163. Tokito T, Azuma K, Kawahara A, et al. Predictive relevance of PD-L1 expression combined with CD8+ TIL density in stage III non-small cell lung cancer patients receiving concurrent chemoradiotherapy. *European Journal of Cancer*. 2016;55:7-14. doi:10.1016/j.ejca.2015.11.020
164. Kerr KM, Tsao M-S, Nicholson AG, Yatabe Y, Wistuba II, Hirsch FR. Programmed Death-Ligand 1 Immunohistochemistry in Lung Cancer: In what state is this art? *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(7):985-989. doi:10.1097/JTO.0000000000000526
165. Yu H, Boyle TA, Zhou C, Rimm DL, Hirsch FR. PD-L1 Expression in Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2016;11(7):964-975. doi:10.1016/j.jtho.2016.04.014
166. Takamori S, Takada K, Toyokawa G, et al. PD-L2 Expression as a Potential Predictive Biomarker for the Response to Anti-PD-1 Drugs in Patients with Non-small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res*. 2018;38(10):5897-5901. doi:10.21873/anticancer.12933
167. Immune-based mechanisms of cytotoxic chemotherapy: implications for the design of novel and rationale-based combined treatments against cancer | Cell Death & Differentiation. Accessed April 6, 2020. <https://www.nature.com/articles/cdd201367>
168. Ngiow SF, McArthur GA, Smyth MJ. Radiotherapy Complements Immune Checkpoint Blockade. *Cancer Cell*. 2015;27(4):437-438. doi:10.1016/j.ccell.2015.03.015

169. Kim S, Kim M-Y, Koh J, et al. Programmed death-1 ligand 1 and 2 are highly expressed in pleomorphic carcinomas of the lung: Comparison of sarcomatous and carcinomatous areas. *European Journal of Cancer*. 2015;51(17):2698-2707. doi:10.1016/j.ejca.2015.08.013
170. Velcheti V, Rimm DL, Schalper KA. Sarcomatoid Lung Carcinomas Show High Levels of Programmed Death Ligand-1 (PD-L1). *Journal of Thoracic Oncology*. 2013;8(6):803-805. doi:10.1097/JTO.0b013e318292be18
171. Vieira T, Antoine M, Hamard C, et al. Sarcomatoid lung carcinomas show high levels of programmed death ligand-1 (PD-L1) and strong immune-cell infiltration by TCD3 cells and macrophages. *Lung Cancer*. 2016;98:51-58. doi:10.1016/j.lungcan.2016.05.013
172. Chang Y-L, Yang C-Y, Lin M-W, Wu C-T, Yang P-C. PD-L1 is highly expressed in lung lymphoepithelioma-like carcinoma: A potential rationale for immunotherapy. *Lung Cancer*. 2015;88(3):254-259. doi:10.1016/j.lungcan.2015.03.017
173. Scheel AH, Ansén S, Schultheis AM, et al. PD-L1 expression in non-small cell lung cancer: Correlations with genetic alterations. *Oncology*. 2016;5(5):e1131379. doi:10.1080/2162402X.2015.1131379
174. Paesmans M. Prognostic and predictive factors for lung cancer. *Breathe*. 2012;9(2):112-121. doi:10.1183/20734735.006911
175. Nakamura H, Ando K, Shinmyo T, et al. Female Gender Is an Independent Prognostic Factor in Non-small-cell Lung Cancer: A Meta-analysis. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*. 2011;17(5):469-480. doi:10.5761/atcs.oa.10.01637
176. Maeda R, Yoshida J, Ishii G, Hishida T, Nishimura M, Nagai K. The Prognostic Impact of Cigarette Smoking on Patients with Non-small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(4):735-742. doi:10.1097/JTO.0b013e318208e963
177. Bryant A, Cerfolio RJ. Differences in Epidemiology, Histology, and Survival Between Cigarette Smokers and Never-Smokers Who Develop Non-small Cell Lung Cancer. *Chest*. 2007;132(1):185-192. doi:10.1378/chest.07-0442
178. Kawaguchi T, Takada M, Kubo A, et al. Performance Status and Smoking Status Are Independent Favorable Prognostic Factors for Survival in Non-small Cell Lung Cancer: A Comprehensive Analysis of 26,957 Patients with NSCLC. *Journal of Thoracic Oncology*. 2010;5(5):620-630. doi:10.1097/JTO.0b013e3181d2dcd9
179. Tomita M, Shimizu T, Hara M, Ayabe T, Onitsuka T. Preoperative Leukocytosis, Anemia and Thrombocytosis Are Associated with Poor Survival in Non-small Cell Lung Cancer. *Anticancer Res*. 2009;29(7):2687-2690.
180. Holgersson G, Sandelin M, Hoyer E, et al. Swedish lung cancer radiation study group: the prognostic value of anaemia, thrombocytosis and leukocytosis at time of diagnosis in patients with non-small cell lung cancer. *Med Oncol*. 2012;29(5):3176-3182. doi:10.1007/s12032-012-0247-3
181. Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Sivridis E, et al. Lactate dehydrogenase-5 (LDH-5) overexpression in non-small-cell lung cancer tissues is linked to tumour hypoxia,

- angiogenic factor production and poor prognosis. *British Journal of Cancer*. 2003;89(5):877-885. doi:10.1038/sj.bjc.6601205
182. Chen Y, Zhang H, Xu A, et al. Elevation of serum l-lactate dehydrogenase B correlated with the clinical stage of lung cancer. *Lung Cancer*. 2006;54(1):95-102. doi:10.1016/j.lungcan.2006.06.014
183. Haura EB, Livingston S, Coppola D. Autocrine Interleukin-6/Interleukin-6 Receptor Stimulation in Non-Small-Cell Lung Cancer. *Clinical Lung Cancer*. 2006;7(4):273-275. doi:10.3816/CLC.2006.n.006
184. Alifano M, Mansuet-Lupo A, Lococo F, et al. Systemic Inflammation, Nutritional Status and Tumor Immune Microenvironment Determine Outcome of Resected Non-Small Cell Lung Cancer. *PLoS One*. 2014;9(9). doi:10.1371/journal.pone.0106914
185. Wang J, Chen J, Chen X, Wang B, Li K, Bi J. Blood Vessel Invasion as a Strong Independent Prognostic Indicator in Non-Small Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One*. 2011;6(12). doi:10.1371/journal.pone.0028844
186. Mollberg NM, Bennette C, Howell E, Backhus L, Devine B, Ferguson MK. Lymphovascular Invasion as a Prognostic Indicator in Stage I Non-Small Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *The Annals of Thoracic Surgery*. 2014;97(3):965-971. doi:10.1016/j.athoracsur.2013.11.002
187. Neuman T, London M, Kania-almog J, et al. A Harmonization Study for the Use of 22C3 PD-L1 Immunohistochemical Staining on Ventana's Platform. *Journal of Thoracic Oncology*. 2016;11(11):1863-1868. doi:10.1016/j.jtho.2016.08.146
188. Hirsch FR, McElhinny A, Stanforth D, et al. PD-L1 Immunohistochemistry Assays for Lung Cancer: Results from Phase 1 of the Blueprint PD-L1 IHC Assay Comparison Project. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(2):208-222. doi:10.1016/j.jtho.2016.11.2228
189. 29158_pd-11-ihc-22C3-pharmdx-nsclc-interpretation-manual.pdf. Accessed February 26, 2020. https://www.agilent.com/cs/library/usermanuals/public/29158_pd-11-ihc-22C3-pharmdx-nsclc-interpretation-manual.pdf
190. Roche. VENTANA PD-L1 (SP142) IHC Assay. Staining of Non-small Cell Lung Cancer Universal Training. Assessment guide.
191. Roussel H, Gibault L, Verkarre V, Lantuejoul S, Badoual C. Quizz : à vos scores ! *Annales de Pathologie*. 2017;37(1):7-10. doi:10.1016/j.annpat.2016.12.014
192. Schmidt LH, Kümmel A, Görlich D, et al. PD-1 and PD-L1 Expression in NSCLC Indicate a Favorable Prognosis in Defined Subgroups. *PLOS ONE*. 2015;10(8):e0136023. doi:10.1371/journal.pone.0136023
193. Prizment AE, Vierkant RA, Smyrk TC, et al. Cytotoxic T Cells and Granzyme B Associated with Improved Colorectal Cancer Survival in a Prospective Cohort of Older Women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2017;26(4):622-631. doi:10.1158/1055-9965.EPI-16-0641

194. A, Fissah. Le cancer bronchique dans un service spécialisé d'Alger, aspects épidémiologiques et caractéristiques cliniques. Thèse de doctorant en médecine; faculté de médecine d'Alger, 2006. Published online 2006.
195. N, Hamel Mazouni. Cancer du poumon en Algérie, étude anatomo-clinique. Thèse de doctorat en médecine, faculté de médecine d'Alger, 2003. Published online 2003.
196. F, Oudjida. Les altérations moléculaires dans les carcinomes broncho-pulmonaires non à petites cellules, 2015. Published online 2015.
197. Elidrissi Errahhali M, Elidrissi Errahhali M, Ouarzane M, Boulouiz R, Bellaoui M. Cancer incidence in eastern Morocco: cancer patterns and incidence trends, 2005-2012. *BMC Cancer*. 2017;17(1):587. doi:10.1186/s12885-017-3597-6
198. Ahmed Ben Abdelaziz, Sarra Melki, Sarra Nouira, Asma Ben Abdelaziz, Mohamed Khelil. Article médicale Tunisie, Tumeurs du poumon- Tumeurs du sein- Tumeurs colorectales Incidence Prévalence Charge globale de morbidité – Tunisie – Algérie- Maroc. *La Tunisie Médicale* - 2019 ; Vol 97 (n°06) : 739-770. Accessed July 22, 2020. <https://www.latunisiemedicale.com/article-medicale-tunisie.php?article=3587>
199. Zombori T, Furák J, Nyári T, Cserni G, Tiszlavicz L. Evaluation of grading systems in stage I lung adenocarcinomas: a retrospective cohort study. *Journal of Clinical Pathology*. 2018;71(2):135-140. doi:10.1136/jclinpath-2016-204302
200. Tsuta K, Kawago M, Inoue E, et al. The utility of the proposed IASLC/ATS/ERS lung adenocarcinoma subtypes for disease prognosis and correlation of driver gene alterations. *Lung Cancer*. 2013;81(3):371-376. doi:10.1016/j.lungcan.2013.06.012
201. EL GHISSASSI S. La mutation EGFR dans l'adénocarcinome pulmonaire: caractéristiques de la population marocaine à travers une étude prospective. Published online 2013.
202. Errihani H, Inrhaoun H, Boukir A, et al. Frequency and Type of Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Moroccan Patients with Lung Adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2013;8(9):1212-1214. doi:10.1097/JTO.0b013e31829f6b4a
203. Cote ML, Haddad R, Edwards DJ, et al. Frequency and Type of Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in African Americans with Non-small Cell Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2011;6(3):627-630. doi:10.1097/JTO.0b013e31820a0ec0
204. Zhang X, Zhang S, Yang X, et al. Fusion of EML4 and ALK is associated with development of lung adenocarcinomas lacking EGFR and KRAS mutations and is correlated with ALK expression. *Mol Cancer*. 2010;9(1):188. doi:10.1186/1476-4598-9-188
205. Lantuejoul S, Damotte D, Hofman V, Adam J. Programmed death ligand 1 immunohistochemistry in non-small cell lung carcinoma. *J Thorac Dis*. 2019;11(Suppl 1):S89-S101. doi:10.21037/jtd.2018.12.103
206. Jazieh AR, Bounedjar A, Bamefleh H, et al. Expression of Immune Response Markers in Arab Patients With Lung Cancer. *JCO Global Oncology*. 2020;(6):1218-1224. doi:10.1200/GO.20.00107

207. Holmes M, Mahar A, Lum T, Kao S, Cooper WA. Real-world programmed death-ligand 1 prevalence rates in non-small cell lung cancer: correlation with clinicopathological features and tumour mutation status. *J Clin Pathol*. Published online June 23, 2020. doi:10.1136/jclinpath-2020-206709
208. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa1501824>. doi:10.1056/NEJMoa1501824
209. Herbst RS, Baas P, Kim D-W, et al. Pembrolizumab versus docetaxel for previously treated, PD-L1-positive, advanced non-small-cell lung cancer (KEYNOTE-010): a randomised controlled trial. *The Lancet*. 2016;387(10027):1540-1550. doi:10.1016/S0140-6736(15)01281-7
210. Brahmer J, Reckamp KL, Baas P, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Squamous-Cell Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(2):123-135. doi:10.1056/NEJMoa1504627
211. Herbst RS, Soria J-C, Kowanetz M, et al. Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*. 2014;515(7528):563-567. doi:10.1038/nature14011
212. Spira AI, Park K, Mazières J, et al. Efficacy, safety and predictive biomarker results from a randomized phase II study comparing MPDL3280A vs docetaxel in 2L/3L NSCLC (POPLAR). *JCO*. 2015;33(15_suppl):8010-8010. doi:10.1200/jco.2015.33.15_suppl.8010
213. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus Docetaxel in Advanced Nonsquamous Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;373(17):1627-1639. doi:10.1056/NEJMoa1507643
214. Rizvi NA, Mazières J, Planchard D, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): a phase 2, single-arm trial. *The Lancet Oncology*. 2015;16(3):257-265. doi:10.1016/S1470-2045(15)70054-9
215. Gettinger SN, Horn L, Gandhi L, et al. Overall Survival and Long-Term Safety of Nivolumab (Anti–Programmed Death 1 Antibody, BMS-936558, ONO-4538) in Patients With Previously Treated Advanced Non–Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol*. 2015;33(18):2004-2012. doi:10.1200/JCO.2014.58.3708
216. Tang Y, Fang W, Zhang Y, et al. The association between PD-L1 and EGFR status and the prognostic value of PD-L1 in advanced non-small cell lung cancer patients treated with EGFR-TKIs. *Oncotarget*. 2015;6(16):14209-14219.
217. McLaughlin J, Schalper KA, Carvajal-Hausdorf DE, et al. Abstract 1310: Programmed death ligand-1 (PD-L1) heterogeneity in non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer Res*. 2015;75(15 Supplement):1310-1310. doi:10.1158/1538-7445.AM2015-1310
218. Scheel AH, Dietel M, Heukamp LC, et al. Harmonized PD-L1 immunohistochemistry for pulmonary squamous-cell and adenocarcinomas. *Modern Pathology*. 2016;29(10):1165-1172. doi:10.1038/modpathol.2016.117

219. Hendry S, Byrne DJ, Wright GM, et al. Comparison of Four PD-L1 Immunohistochemical Assays in Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2018;13(3):367-376. doi:10.1016/j.jtho.2017.11.112
220. Patel SP, Kurzrock R. PD-L1 Expression as a Predictive Biomarker in Cancer Immunotherapy. *Mol Cancer Ther*. 2015;14(4):847-856. doi:10.1158/1535-7163.MCT-14-0983
221. Boothman A-M, Scott M, Ratcliffe M, et al. Impact of Patient Characteristics, Prior Therapy, and Sample Type on Tumor Cell Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Patients with Advanced NSCLC Screened for the ATLANTIC Study. *Journal of Thoracic Oncology*. 2019;14(8):1390-1399. doi:10.1016/j.jtho.2019.04.025
222. Yoneshima Y, Ijichi K, Anai S, et al. PD-L1 expression in lung adenocarcinoma harboring EGFR mutations or ALK rearrangements. *Lung Cancer*. 2018;118:36-40. doi:10.1016/j.lungcan.2018.01.024
223. Rangachari D, VanderLaan PA, Shea M, et al. Correlation between Classic Driver Oncogene Mutations in EGFR, ALK, or ROS1 and 22C3–PD-L1 $\geq 50\%$ Expression in Lung Adenocarcinoma. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(5):878-883. doi:10.1016/j.jtho.2016.12.026
224. Huynh TG, Morales-Oyarvide V, Campo MJ, et al. Programmed Cell Death Ligand 1 Expression in Resected Lung Adenocarcinomas: Association with Immune Microenvironment. *Journal of Thoracic Oncology*. 2016;11(11):1869-1878. doi:10.1016/j.jtho.2016.08.134
225. Jin Y, Shen X, Pan Y, et al. Correlation between PD-L1 expression and clinicopathological characteristics of non-small cell lung cancer: A real-world study of a large Chinese cohort. *J Thorac Dis*. 2019;11(11):4591-4601. doi:10.21037/jtd.2019.10.80
226. Calles A, Liao X, Sholl LM, et al. Expression of PD-1 and Its Ligands, PD-L1 and PD-L2, in Smokers and Never Smokers with KRAS-Mutant Lung Cancer. *Journal of Thoracic Oncology*. 2015;10(12):1726-1735. doi:10.1097/JTO.0000000000000687
227. Ilie M, Long-Mira E, Bence C, et al. Comparative study of the PD-L1 status between surgically resected specimens and matched biopsies of NSCLC patients reveal major discordances: a potential issue for anti-PD-L1 therapeutic strategies. *Annals of Oncology*. 2016;27(1):147-153. doi:10.1093/annonc/mdv489
228. Pan Z-K, Ye F, Wu X, An H-X, Wu J-X. Clinicopathological and prognostic significance of programmed cell death ligand1 (PD-L1) expression in patients with non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *J Thorac Dis*. 2015;7(3):462-470. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2015.02.13
229. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the Treatment of Non–Small-Cell Lung Cancer. *N Engl J Med*. 2015;372(21):2018-2028. doi:10.1056/NEJMoa1501824
230. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non–small cell lung cancer. *Science*. 2015;348(6230):124-128. doi:10.1126/science.aaa1348

231. Zhang P, Su D-M, Liang M, Fu J. Chemopreventive agents induce programmed death-1-ligand 1 (PD-L1) surface expression in breast cancer cells and promote PD-L1-mediated T cell apoptosis. *Molecular Immunology*. 2008;45(5):1470-1476. doi:10.1016/j.molimm.2007.08.013
232. Ghebeh H, Lehe C, Barhoush E, et al. Doxorubicin downregulates cell surface B7-H1 expression and upregulates its nuclear expression in breast cancer cells: role of B7-H1 as an anti-apoptotic molecule. *Breast Cancer Res*. 2010;12(4):R48. doi:10.1186/bcr2605
233. Sheng J, Fang W, Yu J, et al. Expression of programmed death ligand-1 on tumor cells varies pre and post chemotherapy in non-small cell lung cancer. *Scientific Reports*. 2016;6(1):20090. doi:10.1038/srep20090
234. Ngiew SF, McArthur GA, Smyth MJ. Radiotherapy Complements Immune Checkpoint Blockade. *Cancer Cell*. 2015;27(4):437-438. doi:10.1016/j.ccell.2015.03.015
235. Jiang X, Zhou J, Giobbie-Hurder A, Wargo J, Hodi FS. The Activation of MAPK in Melanoma Cells Resistant to BRAF Inhibition Promotes PD-L1 Expression That Is Reversible by MEK and PI3K Inhibition. *Clin Cancer Res*. 2013;19(3):598-609. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-2731
236. Kerr KM, Thunnissen E, Dafni U, et al. A retrospective cohort study of PD-L1 prevalence, molecular associations and clinical outcomes in patients with NSCLC: Results from the European Thoracic Oncology Platform (ETOP) Lungscape Project. *Lung Cancer*. 2019;131:95-103. doi:10.1016/j.lungcan.2019.03.012
237. García A, Recondo G, Greco M, et al. Correlation between PD-L1 expression (clones 28-8 and SP263) and histopathology in lung adenocarcinoma. *Heliyon*. 2020;6(6):e04117. doi:10.1016/j.heliyon.2020.e04117
238. Chen DS, Irving BA, Hodi FS. Molecular pathways: next-generation immunotherapy--inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1. *Clin Cancer Res*. 2012;18(24):6580-6587. doi:10.1158/1078-0432.CCR-12-1362
239. Rizvi NA, Hellmann MD, Snyder A, et al. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. 2015;348(6230):124-128. doi:10.1126/science.aaa1348
240. Zhang M, Li G, Wang Y, et al. PD-L1 expression in lung cancer and its correlation with driver mutations: a meta-analysis. *Scientific Reports*. 2017;7(1):10255. doi:10.1038/s41598-017-10925-7
241. Kim M-Y, Koh J, Kim S, Go H, Jeon YK, Chung DH. Clinicopathological analysis of PD-L1 and PD-L2 expression in pulmonary squamous cell carcinoma: Comparison with tumor-infiltrating T cells and the status of oncogenic drivers. *Lung Cancer*. 2015;88(1):24-33. doi:10.1016/j.lungcan.2015.01.016
242. Kefford R, Ribas A, Hamid O, et al. Clinical efficacy and correlation with tumor PD-L1 expression in patients (pts) with melanoma (MEL) treated with the anti-PD-1 monoclonal antibody MK-3475. *JCO*. 2014;32(15_suppl):3005-3005. doi:10.1200/jco.2014.32.15_suppl.3005

243. Giunchi F, Degiovanni A, Daddi N, et al. Fading With Time of PD-L1 Immunoreactivity in Non-Small Cells Lung Cancer Tissues: A Methodological Study. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology*. 2018;26(7):489-494. doi:10.1097/PAI.0000000000000458
244. Midha A, Sharpe A, Scott M, et al. PD-L1 expression in advanced NSCLC: Primary lesions versus metastatic sites and impact of sample age. *JCO*. 2016;34(15_suppl):3025-3025. doi:10.1200/JCO.2016.34.15_suppl.3025
245. Xie R, Chung J-Y, Ylaya K, et al. Factors Influencing the Degradation of Archival Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue Sections: *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. Published online February 10, 2011. doi:10.1369/0022155411398488
246. Mino-Kenudson M. Programmed cell death ligand-1 (PD-L1) expression by immunohistochemistry: could it be predictive and/or prognostic in non-small cell lung cancer? *Cancer Biol Med*. 2016;13(2):157-170. doi:10.20892/j.issn.2095-3941.2016.0009
247. Chen D, Mao Y, Ding Q, et al. Prognostic implications of programmed death ligand 1 expression in resected lung adenocarcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Cardiothorac Surg*. Published online June 26, 2020. doi:10.1093/ejcts/ezaa172
248. Koh J, Go H, Keam B, et al. Clinicopathologic analysis of programmed cell death-1 and programmed cell death-ligand 1 and 2 expressions in pulmonary adenocarcinoma: comparison with histology and driver oncogenic alteration status. *Mod Pathol*. 2015;28(9):1154-1166. doi:10.1038/modpathol.2015.63
249. Ma G, Deng Y, Jiang H, Li W, Wu Q, Zhou Q. The prognostic role of programmed cell death-ligand 1 expression in non-small cell lung cancer patients: An updated meta-analysis. *Clinica Chimica Acta*. 2018;482:101-107. doi:10.1016/j.cca.2018.03.038
250. Zhong A, Xing Y, Pan X, Shi M, Xu H. Prognostic value of programmed cell death-ligand 1 expression in patients with non-small-cell lung cancer: evidence from an updated meta-analysis. *Oncotargets Ther*. 2015;8:3595-3601. doi:10.2147/OTT.S91469
251. Wu S-P, Liao R-Q, Tu H-Y, et al. Stromal PD-L1-Positive Regulatory T cells and PD-1-Positive CD8-Positive T cells Define the Response of Different Subsets of Non-Small Cell Lung Cancer to PD-1/PD-L1 Blockade Immunotherapy. *J Thorac Oncol*. 2018;13(4):521-532. doi:10.1016/j.jtho.2017.11.132
252. Abstract 4256: High programmed cell death ligand 1 expression and low immune infiltrate score correlate with worse outcome in patients with lung adenocarcinoma | CancerResearch. Accessed July 5, 2020. https://cancerres.aacrjournals.org/content/75/15_Supplement/4256.short
253. Ock C-Y, Keam B, Kim S, et al. Pan-Cancer Immunogenomic Perspective on the Tumor Microenvironment Based on PD-L1 and CD8 T-Cell Infiltration. *Clin Cancer Res*. 2016;22(9):2261-2270. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-2834
254. Mw T, Sf N, A R, Mj S. Classifying Cancers Based on T-cell Infiltration and PD-L1. *Cancer research*. doi:10.1158/0008-5472.CAN-15-0255

255. Lin G, Fan X, Zhu W, et al. Prognostic significance of PD-L1 expression and tumor infiltrating lymphocyte in surgically resectable non-small cell lung cancer. *Oncotarget*. 2017;8(48):83986-83994. doi:10.18632/oncotarget.20233
256. Cui S, Dong L, Qian J, Ye L, Jiang L. Classifying Non-Small Cell Lung Cancer by Status of Programmed Cell Death Ligand 1 and Tumor-Infiltrating Lymphocytes on Tumor Cells. *J Cancer*. 2018;9(1):129-134. doi:10.7150/jca.21842
257. Bindea G, Mlecnik B, Tosolini M, et al. Spatiotemporal dynamics of intratumoral immune cells reveal the immune landscape in human cancer. *Immunity*. 2013;39(4):782-795. doi:10.1016/j.immuni.2013.10.003
258. Conde E, Caminoa A, Dominguez C, et al. Aligning digital CD8+ scoring and targeted next-generation sequencing with programmed death ligand 1 expression: a pragmatic approach in early-stage squamous cell lung carcinoma. *Histopathology*. 2018;72(2):270-284. doi:10.1111/his.13346
259. Kim M-Y, Koh J, Kim S, Go H, Jeon YK, Chung DH. Clinicopathological analysis of PD-L1 and PD-L2 expression in pulmonary squamous cell carcinoma: Comparison with tumor-infiltrating T cells and the status of oncogenic drivers. *Lung Cancer*. 2015;88(1):24-33. doi:10.1016/j.lungcan.2015.01.016
260. Uruga H, Bozkurtlar E, Huynh TG, et al. Programmed Cell Death Ligand (PD-L1) Expression in Stage II and III Lung Adenocarcinomas and Nodal Metastases. *Journal of Thoracic Oncology*. 2017;12(3):458-466. doi:10.1016/j.jtho.2016.10.015
261. Hao J, Wang H, Song L, et al. Infiltration of CD8+ FOXP3+ T cells, CD8+ T cells, and FOXP3+ T cells in non-small cell lung cancer microenvironment. *Int J Clin Exp Pathol*. 2020;13(5):880-888.
262. Tokito T, Azuma K, Kawahara A, et al. Predictive relevance of PD-L1 expression combined with CD8+ TIL density in stage III non-small cell lung cancer patients receiving concurrent chemoradiotherapy. *European Journal of Cancer*. 2016;55:7-14. doi:10.1016/j.ejca.2015.11.020
263. Rashed HE, Abdelrahman AE, Abdelgawad M, Balata S, Shabrawy ME. Prognostic Significance of Programmed Cell Death Ligand 1 (PD-L1), CD8+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes and p53 in Non-Small Cell Lung Cancer: An Immunohistochemical Study. *Turk Patoloji Derg*. 2017;1(1):211-222. doi:10.5146/tjpath.2017.01398
264. Yang H, Shi J, Lin D, et al. Prognostic value of PD-L1 expression in combination with CD8+ TILs density in patients with surgically resected non-small cell lung cancer. *Cancer Med*. 2017;7(1):32-45. doi:10.1002/cam4.1243
265. Enwere EK, Kornaga EN, Dean M, et al. Expression of PD-L1 and presence of CD8-positive T cells in pre-treatment specimens of locally advanced cervical cancer. *Mod Pathol*. 2017;30(4):577-586. doi:10.1038/modpathol.2016.221
266. Taube JM, Klein A, Brahmer JR, et al. Association of PD-1, PD-1 Ligands, and Other Features of the Tumor Immune Microenvironment with Response to Anti-PD-1 Therapy. *Clin Cancer Res*. 2014;20(19):5064-5074. doi:10.1158/1078-0432.CCR-13-3271

267. Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, et al. Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood*. 2009;114(8):1537-1544. doi:10.1182/blood-2008-12-195792
268. Lin Z, Gu J, Cui X, et al. Deciphering Microenvironment of NSCLC based on CD8+ TIL Density and PD-1/PD-L1 Expression. *J Cancer*. 2019;10(1):211-222. doi:10.7150/jca.26444
269. del C. Monroig-Bosque P, Driver B, Morales-Rosado JA, et al. Correlation Between Programmed Death Receptor-1 Expression in Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Programmed Death Ligand-1 Expression in Non-Small Cell Lung Carcinoma. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. 2018;142(11):1388-1393. doi:10.5858/arpa.2017-0516-OA
270. D'Incecco A, Andreozzi M, Ludovini V, et al. PD-1 and PD-L1 expression in molecularly selected non-small-cell lung cancer patients. *British Journal of Cancer*. 2015;112(1):95-102. doi:10.1038/bjc.2014.555
271. He Y, Rozeboom L, Rivard CJ, et al. PD-1, PD-L1 Protein Expression in Non-Small Cell Lung Cancer and Their Relationship with Tumor-Infiltrating Lymphocytes. *Med Sci Monit*. 2017;23:1208-1216. doi:10.12659/msm.899909
272. Mazzaschi G, Madeddu D, Falco A, et al. Low PD-1 Expression in Cytotoxic CD8+ Tumor-Infiltrating Lymphocytes Confers an Immune-Privileged Tissue Microenvironment in NSCLC with a Prognostic and Predictive Value. *Clin Cancer Res*. 2018;24(2):407-419. doi:10.1158/1078-0432.CCR-17-2156
273. Riazi Rad F, Ajdary S, Omranipour R, Alimohammadian MH, M. Hassan Z. Comparative Analysis of CD4+ and CD8+ T Cells in Tumor Tissues, Lymph Nodes and the Peripheral Blood from Patients with Breast Cancer. *Iran Biomed J*. 2015;19(1):35-44. doi:10.6091/ibj.1289.2014
274. Barry M, Bleackley RC. Cytotoxic T lymphocytes: all roads lead to death. *Nat Rev Immunol*. 2002;2(6):401-409. doi:10.1038/nri819
275. Cullen SP, Brunet M, Martin SJ. Granzymes in cancer and immunity. *Cell Death & Differentiation*. 2010;17(4):616-623. doi:10.1038/cdd.2009.206
276. Kontani K, Sawai S, Hanaoka J, Tezuka N, Inoue S, Fujino S. Involvement of granzyme B and perforin in suppressing nodal metastasis of cancer cells in breast and lung cancers. *Eur J Surg Oncol*. 2001;27(2):180-186. doi:10.1053/ejso.2000.1060
277. Bailey SR, Nelson MH, Himes RA, Li Z, Mehrotra S, Paulos CM. Th17 Cells in Cancer: The Ultimate Identity Crisis. *Front Immunol*. 2014;5. doi:10.3389/fimmu.2014.00276

RESUME

Résumé :

Le cancer du poumon est un cancer fréquent et de mauvais pronostic. Les inhibiteurs de l'axe PD-1/PD-L1 ont marqué une révolution de la prise en charge thérapeutique du cancer bronchique en oncologie. Le biomarqueur le plus étudié actuellement pour sélectionner les patients candidats à l'immunothérapie est l'expression immunohistochimique du PD-L1 mais avec des résultats discordants. La prévalence de l'expression du PD-L1 a été évaluée dans une cohorte de 332 patients atteints de CPNPC et les données cliniques, histologiques, moléculaires et immunohistochimiques ainsi que le phénotype du microenvironnement tumoral ont été analysées à la recherche de facteurs associés au statut PD-L1 dans les cellules tumorales. La prévalence de l'expression du PD-L1 était de 46,7% avec un cut-off fixé à 1%. Le statut PD-L1 était associé significativement au tabagisme, le type de prélèvement, le stade de la maladie, le délai de la réalisation de l'étude immunohistochimique, l'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires du microenvironnement, l'expression du CD8 et l'expression du PD-1 dans les TILs. Néanmoins, en analyse multivariée, seule l'extension de la maladie, l'expression du PD-L1 dans les cellules immunitaires et l'expression du PD-1 étaient statistiquement liés au statut PD-L1. Les adénocarcinomes solides étaient associés à une forte expression du PD-L1 ($\geq 50\%$). L'âge, le sexe, les antécédents néoplasiques, le traitement néoadjuvant ainsi que les types histologiques des CPNPC et les statuts EGFR et ALK n'influençaient pas le statut PD-L1. Bien que la survie globale n'était pas influencée par l'expression du PD-L1, un statut PD-L1 positif associé à une maladie localement avancé ou métastatique, avec une moyenne de survie diminuée par rapport à celle observée en cas d'un statut PD-L1 négatif et une association d'une forte expression avec les adénocarcinomes de type solide nous ont fait suggérer que le PD-L1 est un facteur de mauvais pronostic.

Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'évaluer les facteurs cliniques, histologiques et immunohistochimiques en association avec l'évaluation du statut PD-L1, afin de prendre en compte leur impact.

Mots clés : CPNPC, PD-L1, microenvironnement, CD8, PD-1.

Abstract:

Lung cancer is one of the most common cancer with a poor prognosis. Inhibitors of the PD-1 / PD-L1 axis have marked a revolution in the therapeutic management of bronchial cancer in oncology. Currently, the most studied biomarker to select patients for immunotherapy, is the immunohistochemical expression of PD-L1, but with discordant results. The prevalence of PD-L1 expression has been assessed in a cohort of 332 patients with NSCLC and clinical, histological, molecular and immunohistochemical data as well as the phenotype of the tumor microenvironment have been analyzed, looking for factors associated with tumor cells' PDL1 status . The prevalence of PD-L1 expression was 46.7% with a cut-off set at 1%. PD-L1 status was significantly associated with smoking, type of sample, stage of disease, the time to perform the immunohistochemical study, PD-L1 expression in immune cells in the microenvironment, CD8 and PD-1 expression in TILs. However, in multivariate analysis, only disease extension, PD-L1 expression in immune cells and PD-1 expression were statistically related to PD-L1 status. Solid adenocarcinomas were associated with high expression of PD-L1 ($\geq 50\%$). Age, gender, neoplastic history, neoadjuvant therapy, and histologic types of NSCLC and EGFR and ALK status did not influence PD-L1 status. Although, overall survival was not influenced by the expression of PD-L1, a positive PD-L1 status associated with locally advanced or metastatic disease, with an average survival decreased compared to that observed in the event of a negative PD-L1 status and a strong associated expression with solid-type adenocarcinomas led us to suggest that PD-L1 is a poor prognosis factor. These results highlight the need to assess clinical, histological and immunohistochemical factors in association with the assessment of PD-L1 status, in order to take into account their impact.

Key words: NSCLC, PD-L1, microenvironment, CD8, PD-1.