

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

Université BLIDA 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme de Master

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème

Implication de la β -caténine et l'Antigène carcino-embryonnaire dans le cancer hépatocellulaire et des métastases hépatiques

Présenté par :

Mr BOUHACEINE Wassim Aymen Djihad *et* *M^{lle} HOUARI Lilya*

Soutenu le 17.07.2019

Devant le jury composé de :

| | | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|--------------------------|---------------------------------|
| <i>Mr BEN YAHIA N.</i> | <i>Maitre Assistant A.</i> | <i>UB1</i> | <i>Président</i> |
| <i>M^{me} AMOKRANE A.</i> | <i>Maitre Assistante A.</i> | <i>UB1</i> | <i>Examinatrice</i> |
| <i>M^{me} SAADI L.</i> | <i>Maitre de Conférences A.</i> | <i>UB1</i> | <i>Promotrice</i> |
| <i>Mr BAHJA A.</i> | <i>Maitre de Assistant A.</i> | <i>CHU béni -massous</i> | <i>Copromoteur¹</i> |
| <i>M^{me} AITKACI N.</i> | <i>Maitre Assistante A.</i> | <i>CPMC</i> | <i>Copromotrice²</i> |

Promotion : 2018-2019

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, louange à « Allah » le tout généreux qui nous a guidés sur le droit chemin tout au long du travail et nous a inspiré. Sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas abouti.

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer toute notre reconnaissance et remerciements à notre promotrice et le chef d'option **Dr. SAADI L.**, Maitre de Conférences A à l'université de

Blida-1 qui a fait preuve d'une grande patience. Sa confiance, ses conseils ainsi que ses orientations nous ont permis de mener à terme ce projet.

Nos plus vifs remerciements vont aussi à **Mr. BEN YAHIA N.**, Maitre-Assistant A à L'université de Blida-1, pour bien avoir présidé ce jury.

Nous remercions également **M^{me} AMOKRANE A.**, Maitre Assistante A à l'université de Blida-1, pour avoir accepté de juger notre travail.

Nos remerciements vont à l'ensemble de nos enseignants qui nous ont formés tout au long de notre cursus

Notre profond respect et remerciements s'adresse aux membres du service d'anatomopathologie, en particulier **Pr. SLIMANI**, qui nous a bien accueilli dans son service et **Dr. BAHA A.** qui a bien voulu nous aider sans oublier Hanane, Zahia et Isaa qui nous ont aidés dans la réalisation des coupes et la coloration.

Nous remercions nos parents, nos amis Imane, Amina et Ratiba et tous ceux qui nous ont aidés de près ou de loin à réaliser ce travail.

RESUME

Le carcinome hépatocellulaire représente 90% des cancers touchant le foie, organe privilégié des métastases dont les mécanismes moléculaires de l'hépatocarcinogénèse restent encore à l'heure actuelle mal connus. Dans ce cadre et afin d'étudier l'implication de deux molécules d'adhésion à savoir l'antigène carcino embryonnaire dans le processus métastatique et la β -caténine dans la carcinogénèse hépatique, des études rétrospective et prospective sont réalisées chez des patients atteints d'hépatite, de cirrhose de cancer hépatocellulaire primitif et des métastases hépatiques. L'expression des deux molécules est révélée par la technique d'immunohistochimie.

L'analyse des données de l'étude rétrospective sur 300 cas montre une prédominance masculine chez les cas de carcinome hépatocellulaire avec une fréquence maximale chez les personnes âgées (plus de 70 ans) ainsi qu'une prédominance des métastases mammaires (32%). Le carcinome hépatocellulaire bien différencié est le plus fréquent (78%). Les résultats de l'immunohistochimie réalisée sur 40 cas montrent un marquage d'intensité variable de la β -caténine dans les différents compartiments cellulaires. Ce marquage est corrélé au degré de différenciation ainsi qu'à la sévérité des cas de cirrhoses et d'hépatite virale. L'antigène carcino embryonnaire est marqué seulement dans les cellules métastatiques. Ces résultats nous laissent suggérer l'implication directe de la β -caténine dans l'hépatocarcinogénèse et de l'antigène carcino embryonnaire dans le processus métastatique, ce qui favorise l'utilisation des deux molécules dans le diagnostic différentiel, le suivi et le développement thérapeutique.

Mots clés : Antigène carcinoembryonnaire ; β -caténine ; Carcinome hépatocellulaire ; Immunohistochimie ; Métastases hépatiques.

ABSTRACT

Hepatocellular carcinoma represents 90% of cancers affecting the liver, a preferred organ for metastases whose molecular implication in hepatocarcinogenesis still misunderstood at present. In this context and in order to study the involvement of two adhesion molecules, namely carcinoembryonic antigen in the metastatic process and β -catenin in hepatic carcinogenesis, retrospective and prospective studies were carried out on patients with hepatitis, cirrhosis, Primitive hepatocellular carcinoma and hepatic metastases. The expression of the two molecules were revealed by the immunohistochemistry technique.

The analysis of the data from the retrospective study of 300 cases shows a predominance of male cases of hepatocellular carcinoma with a maximal frequency in the elderly (over 70 years) and a predominance of mammary metastases (32%). well-differentiated Hepatocellular carcinoma is the most common (78%). The results of the immunohistochemistry performed on 40 cases show a variable intensity of β -catenin in the different cellular compartments. This marking correlates with the degree of differentiation and the severity of cases of cirrhosis and viral hepatitis. The embryonic carcino antigen was only labeled in the metastatic cells. These results let us suggest the direct involvement of β -catenin in hepatocarcinogenesis and the embryonic carcino antigen in the metastatic process. This promotes the use of both molecules in differential diagnosis, follow-up and therapeutic development.

Key words: Carcinoembryonic antigen; β -catenin; Hepatocellular carcinoma; Immunohistochemistry; Liver metastases.

الملخص

يمثل سرطان الخلايا الكبدية 90% من السرطانات التي تصيب الكبد، وهو العضو الهدف لانبثاث وسريان الخلايا السرطانية حيث لا تزال آلياته الجزيئية غير مفهومة في الوقت الراهن. في هذا السياق، ومن أجل دراسة مدى مشاركة جزيئين وهما مستضد الكارسينو الجيني في العملية النقلية والبيبتاكاتينين في التسرطن الكبدي، تم إجراء دراسات استرجاعية وبائية و أخرى استشرافية على المرضى الذين يعانون من الالتهاب الكبدي و تليف الكبد و من سرطان الكبد الأولي والثانوي. يتم الكشف عن نشاط هذين الجزيئين عن طريق تقنية الكيمياء المناعية.

إن التحليل الرجعي لبيانات الدراسة على عينة متكونة من 300 حالة يفضي إلى جملة من النتائج من بينها غلبة الذكور في حالات سرطان الكبد مع أقصى قدر من التردد في كبار السن (أكثر من 70 سنة) وهيمنة الانبثاث الثديي (32%). سرطان خلايا الكبد المتميز جداً هو الأكثر شيوعاً (78%). تظهر نتائج الكيمياء المناعية التي أجريت على 40 حالة وجود "البيبتاكاتينين" في الأجزاء الخلوية المختلفة. يرتبط هذا التواجد بدرجة التمايز السرطاني ودرجة تدهور حالات التليف الكبدي والالتهاب الكبدي الفيروسي كما يتم تمييز مستضد "الكارسينو الجيني" فقط في الخلايا النقلية.

وإذا كان الأمر كذلك فإن النتائج تفضي إلى اعتبار التأثير المباشر "البيبتاكاتينين" في الإصابة بسرطان الكبد وكذا المستضد الجيني للسرطان في العملية النقلية. هذا ما يعزز استخدام كل من الجزيئات في التشخيص المميز والمتابعة والتطوير العلاجي.

الكلمات المفتاحية: مستضد الكارسينو الجيني. بيبتاكاتينين. سرطان الكبد. تقنية الكيمياء المناعية. الانبثاث الكبدي.

Liste des abréviations

ACE : Antigène carcinoembryonnaire

ADN : Acide désoxyribonucléique.

ADNc : Acide désoxyribonucléique complément

AFB1 : Aflatoxine B1.

AFP : Alpha-foetoprotéine.

AgHBs : Antigène de surface de l'hépatite B.

APC: Adenomatosis polyposis coli.

ARN: Acide ribonucléique.

ARM: Armadillo.

βTRCP: Ubiquitin ligase subunit β.

BGP : Glycoprotéine biliaire.

CCA : Cholangiocarcinome.

CEACAM : Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules.

CHC : Carcinome Hépatocellulaire.

CK1γ: Casein kinase I isoforme-γ.

CKI 1 ALPHA: Caséine kinase isoforme alpha.

C-Myc: Avian myelocytomatosis virus oncogene cellular homolog.

CRC : Cancers colorectaux.

DAB: diaminobenzidine

DR5 : Récepteur de mort 5.

DVL: Dishevelled.

EGF: Epidermal growth factor.

EMT: Epithelial–mesenchymal transition.

FOXO: Forkhead box protein O.

FZD: Frizzled.

GLUL : Glutamate-Ammonia Ligase.

GP: Glypican-3.

GPI: Glycosylphosphatidylinositol.

GSK3b: Glycogen synthase kinase 3 bêta.

H2O2: Peroxide d'hydrogène.

HBcAg : Antigène principal de l'hépatite B.

HE: Hématoxyline-éosine.

HGF : Facteur de croissance des hépatocytes.

HIER: Heat induced epitope retrieval

HIF1 α : Hypoxia-inducible factor 1 α .

hnRNP M4 : ARN nucléaire hétérogène M4.

HRP: Horse radish peroxidase.

IL-1-a : interleukine-1-a.

IL-1- β : Interleukine-1- β .

IL-6 : Interleukine-6.

IL-10 : Interleukine-10.

ICAM : InterCellular Adhesion Molecule.

IFN-y : Interféron-y.

IGF1: Insulin-like growth factor I.

ITAM: imune tyrosine activation motif.

LEF: Lymphoid enhancer-binding factor.

LRP: Low-density lipoprotein receptor-related protein.

MCP-1 : Protéine chimiotactique monocyte-1.

MEC : Matrice extracellulaire.

MESC : mouse embryonic stem cells.

MET : Transition mésenchymateux-épithéliale .

NO : Monoxyde d'azote.

OMS : Organisation mondiale de la santé.

PAF : Facteur d'activation des plaquettes.

PAX8 : Paired box gene 8.

PI3K: Phosphoinositide 3-kinase.

PKB: protéine kinase .

PSG: Glycoprotéines spécifiques à la grossesse.

ROS : Espèce d'oxygène réactif.

TTF1: Thyroid Transcription Factor-1.

TBRI : Récepteur de TGF- β de type I.

TBRI : récepteur de TGF- β de type I.

TBS-T: Tris-buffer saline solution containing tween.

TCF: T cell factor.

TGF- β : Transforming growth factor beta.

TNF : Facteur de nécrose tumorale.

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale- α .

TRAIL : Tumor-necrosis-factor related apoptosis inducing ligand.

TRS: Target Retrieval Solution.

VCAM : Vascular CAM.

VEGF: Vascular endothelial growth factor.

VHB : Virus de l'hépatite B.

VHC : Virus de l'hépatite C.

Wnt: Wg (wingless) et Int (integration site).

Liste des tableaux

| Tableau | Titre | page |
|-----------------------|---|----------|
| Tableau I : | Nombre et pourcentage des cas selon la localisation du marquage de la β -caténine et de l'ACE. | Annexe 2 |
| Tableau II : | Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans le cas d'hépatite. | Annexe 2 |
| Tableau III : | Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans le cas de cirrhose. | Annexe 2 |
| Tableau IV : | Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans les cas de CHC. | Annexe 2 |
| Tableau V : | Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans les métastases hépatiques. | Annexe 2 |
| Tableau VI : | Répartition des patients par année de recrutement. | Annexe 2 |
| Tableau VII : | Répartition des cas de CHC selon la tranche d'âge. | Annexe 2 |
| Tableau VIII : | Corrélation entre l'âge et le sexe des patients atteints de carcinome hépatocellulaire. | Annexe 2 |
| Tableau IX : | Répartition des cas de Carcinome hépatocellulaire selon l'état de différenciation cellulaire. | Annexe 2 |
| Tableau X : | Moyenne d'âge d'hommes et de femmes atteints de carcinome hépatocellulaire (2013-2017). | Annexe 2 |
| Tableau XI : | Répartition des métastases selon leur origine. | Annexe 2 |

Liste des figures

| Figure | Titre | page |
|--------------------|---|-------------|
| Figure 1 : | Foie cirrhotique | 5 |
| Figure 2 : | Image histologique et macroscopique d'une hépatite chronique virale C | 7 |
| Figure 3 : | Stéatose sévère (micro-et macro vésiculaire) chez un patient avec une hépatite chronique C infecté par VHC | 7 |
| Figure 4 : | Structure de β -caténine et domaines d'interactions protéine/protéine | 11 |
| Figure 5 : | mécanisme de la voie de signalisation Wnt | 12 |
| Figure 6 : | représentations schématiques de la structure des membres de la famille CEACAM | 15 |
| Figure 7 : | Représentation schématique des événements biologiques impliquant l'ACE dans le processus métastatique | 17 |
| Figure 8 : | illustration de la technique d'immunohistochimie indirecte et son amplification | 24 |
| Figure 9 : | Répartition des patients par année de recrutement | 26 |
| Figure 10 : | Répartition des métastases selon leur origine. | 27 |
| Figure 11 : | Répartition des cas de carcinome hépato cellulaire par sexe. | 27 |
| Figure 12 : | Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire par tranche d'âge. | 28 |
| Figure 13 : | Corrélation entre l'âge et le sexe des patients atteints de carcinome hépatocellulaire | 29 |
| Figure 14 : | Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire par l'état de différenciation cellulaire. | 30 |
| Figure 15 : | Coupe histologique d'un parenchyme hépatique bien différencié (témoin). Coloration E ; Gr : x100. | 31 |
| Figure 16 : | Coupe histologique d'un foie atteint d'hépatite virale (à partir d'une biopsie). Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b). | 31 |

| | | |
|--------------------|---|----|
| Figure 17 : | Coupe histologique d'un foie atteint d'une cirrhose (à partir d'une biopsie). Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b). | 32 |
| Figure 18 : | Coupe histologique d'un Carcinome hépatocellulaire bien différencié. Coloration HE; Gr: x200(a) et x400 (b). | 32 |
| Figure 19 : | Coupe histologique d'un carcinome hépatocellulaire moyennement différencié. Coloration HE ; Gr : x100 (a) ; x400 (b). | 33 |
| Figure 20 : | Coupe histologique d'un carcinome hépatocellulaire peu différencié. Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b). | 33 |
| Figure 21 : | Coupe histologique d'une métastase hépatique. Coloration HE ; Gr : x100 (a) ; x400 (b). | 34 |
| Figure 22 : | Coupe histologique d'une métastase hépatique avec prolifération néoplasique. Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b). | 34 |
| Figure 23 : | Coupe histologique d'une prolifération épithéliale maligne Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b). | 35 |
| Figure 24 : | Immunomarquage d'ACE dans des métastases hépatiques. Gr. : x100 (a, c, e et g) ; x400 (b, f, h, i et j). | 37 |
| Figure 25 : | Immunomarquage de la β -cathénine dans des cas d'hépatite et de cirrhose. Gr. : x100 (a, c, e et g) ; x400 (b, d, f et h). | 40 |
| Figure 26 : | Immunomarquage de la β -cathénine et ACE dans des cas de CHC. Gr : x100 (a, c, e, g) ; x400 (b, d, f et h). | 44 |
| Figure 27 : | Immunomarquage de la β -cathénine dans des métastases hépatiques. Gr. : x100 (b, d et e) ; x400 (a, c et e). | 47 |

Introduction

INTRODUCTION

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est la tumeur maligne la plus fréquente du foie. Il occupe le sixième rang parmi tous les cancers de l'Homme et représente la troisième cause de décès par néoplasie [1 et 2]. Il survient dans plus de 80% des cas sur foie cirrhotique [3 et 4] ou bien sur d'autres hépatopathies chroniques non cirrhotiques [4, 5 et 6]. Sa survenue sur un foie sain est exceptionnelle [7]. Le carcinome hépatocellulaire doit être distingué des métastases hépatiques, beaucoup plus fréquentes, qui correspondent à la localisation dans le foie d'un cancer « né » dans un autre organe (côlon, poumon, sein ...). Cette situation rend la distinction entre cancers métastatiques et primitifs difficile ce qui représente une réelle problématique pour les pathologistes [8].

La carcinogénèse hépatique est encore mal comprise à l'échelle moléculaire, et jusqu'il y a quelques années, trois grandes voies de signalisation étaient décrites : p53, RB et Wnt β -caténine [9 et 10]. La voie Wnt/beta-caténine exerce un rôle crucial dans la physiopathologie hépatique et est considérée comme une voie majeure de carcinogénèse dans les tumeurs bénignes et malignes du foie. Cette voie Wnt- β -caténine est activée dans 30 % à 40 % des cas de CHC et dans 90 % des hépatoblastomes suite à des mutations de la β -caténine, de l'Axine ou, plus rarement de l'adenomatosis polyposis coli. L'interaction des Wnts avec leurs récepteurs induit la translocation nucléaire de la β -caténine qui s'associe aux facteurs de transcription LEF/TCF et module la transcription de gènes impliqués dans l'oncogénèse (c-myc, cycline D1...) et dans la dissémination des tumeurs dans 20–35% des cas [11 et 12].

L'Antigène carcino-embryonnaire (ACE), également connu sous le nom de CEACAM5 a été décrit pour la première fois en tant qu'antigène gastro-intestinal oncofœtal [13]. Il est surexprimé dans la majorité des carcinomes y compris ceux du tractus gastro-intestinal, des systèmes respiratoire et génito-urinaire et du cancer du sein [14 et 15]. L'ACE influence le processus métastatique hépatique en protégeant les cellules cancéreuses, en circulation, de la mort cellulaire induite par l'anoïkose [16], en se liant à l'hnRNP M4 (l'ARN nucléaire hétérogène M4) qui est un récepteur des cellules de Kupffer [17, 18], ces dernières changeront le microenvironnement hépatique le rendant plus favorable à l'invasion métastatique [19 et 20].

L'objectif de ce travail est de décrire les particularités épidémiologiques et anatomopathologiques des CHC et des métastases hépatiques et de chercher la présence, l'intensité et la localisation des protéines β -caténine et ACE chez des sujets atteints d'hépatite, de cirrhose, CHC et de métastase hépatique dans l'optique d'utiliser les deux protéines dans le suivie pronostique et dans le diagnostic différentielle.

Chapitre I :

Rappels bibliographique

I.1.Carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est le type le plus majoritaire des cancers du foie primaire chez les adultes, représentant environ 90% des tous les cancers du foie [1 et 3]. Il survient généralement dans le contexte d'une lésion hépatique, étant étroitement liée à l'hépatite virale chronique (hépatite B ou C) ou à l'exposition à des toxines telles que l'alcool ou l'aflatoxine. Certaines maladies, comme l'hémochromatose et la déficience en alpha 1-antitrypsine, augmentent considérablement le risque de développer des CHC. Le syndrome métabolique et la Stéatose hépatique non alcoolique sont également de plus en plus reconnus comme des facteurs de risque pour les CHC [21].

I.1.1.Épidémiologie

Le CHC est le sixième cancer le plus répandu dans le monde, classé cinquième chez l'homme et huitième chez la femme et représente environ 5,7% de tous les nouveaux cas de cancer. Il est classé le deuxième cancer en Asie et quatrième en Afrique [22].

Chaque année, environ 1% de tous les décès dans le monde sont liés au CHC. En 2002, le nombre global de nouveaux cas chez les hommes était estimé à 442119, avec 416882 de décès dont 94% survenus dans la première année après le diagnostic. Pour les femmes, il a été estimé à 184 043 nouveaux cas globalement, dont la plupart ont eu lieu dans l'est régions d'Asie [22 et 23].

I.1.2.Étiologie

Environ 70% à 90% des patients atteints de CHC ont des antécédents de maladies chroniques du foie dont 80% à 90% sont des cirrhoses [10]. L'infection virale chronique (VHB ou VHC ou la coïnfection) est la cause la plus importante de CHC. Elle représente respectivement 57% et 23% des cas, représentant environ 80% à 85% des cas [24]. Les lésions hépatiques induites par l'alcool constituent le facteur de risque non viral le plus important. Le tabagisme est reconnu comme facteur de risque de CHC. Une Surcharge en fer, en particulier dans le contexte de l'hémochromatose héréditaire, est également un facteur de risque exogène. Une carence en u-1-antitrypsine augmente grandement le risque de développer un CHC. Il est devenu évident que l'obésité avec ses problèmes accompagnant le diabète sucré et la stéatohépatie non alcoolique, peut augmenter le risque de CHC, même sans

infection virale. Le risque d'atteinte par un CHC augmente si de multiples facteurs de risques sont présents [25 et 26].

I.1.2.1. Alcool

Aux États-Unis et en Europe du Nord, les lésions hépatiques induites par l'alcool sont l'une des principales causes de maladie chronique du foie et cirrhose [24]. Une forte consommation d'alcool chez les hommes et même une consommation modérée (deux verres ou plus par jour) chez les femmes sont associées à risque accru d'acquérir un CHC [27 et 28]

I.1.2.2. Tabac

Une association entre le tabagisme et le CHC est reconnue. Indépendamment de la consommation d'alcool ou de l'infection virale, le risque de contracter le CHC augmente avec le nombre de cigarette fumé par jour [24].

I.1.2.3. Aflatoxine B1

L'aflatoxine B1 (AFB1) est un puissant cancérigène du foie [30] produit par les moisissures *Aspergillus parasiticus* et *A. flavus*. Sous des conditions de chaleur d'humidité, ces moisissures peuvent contaminer le grain, en particulier les arachides. Une ingestion alimentaire d'un taux élevé d'aflatoxine avec une infection d'HBV augmente de 50 fois le risque de contracter un CHC. L'AFB1 est métabolisée par le cytochrome P450 en une forme réactive AFB1-5,9-oxyde qui peut causer des mutations au niveau du gène P53 [31].

I.1.2.4. Cirrhose du foie

Le principal facteur de risque clinique pour le CHC est la cirrhose du foie, indépendamment de son étiologie. Bien que la cirrhose elle-même ne soit plus considérée comme une lésion pré-maligne, mais plutôt comme un processus parallèle à la transformation maligne en cas de maladie chronique du foie [32]. La cirrhose résulte d'un processus diffus, qui se caractérise par une fibrose mutilante détruisant l'architecture normale du foie (Fig. 1) et isolant des nodules hépatocytaires dits de régénérations, se superposent à l'architecture normale du foie et entraînent ainsi une disparition de la structure normale de l'organe [33].

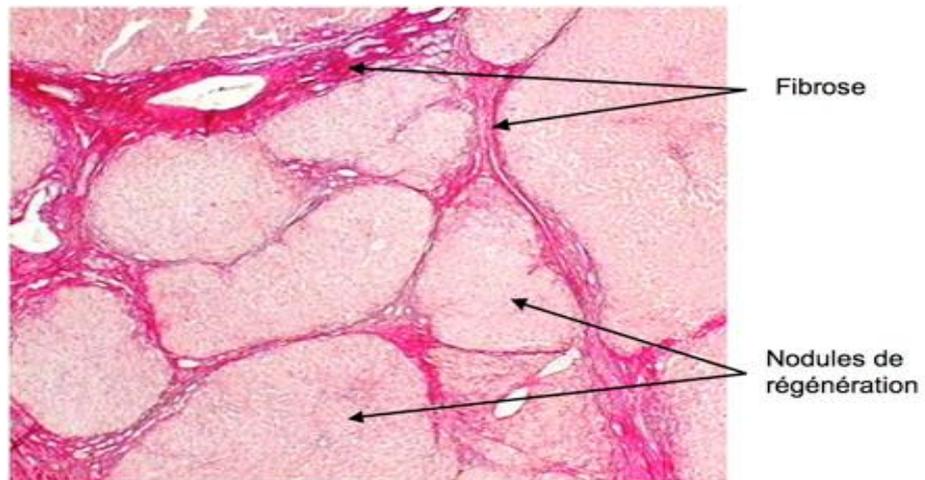


Figure 1 : coupe histologique d'un Foie cirrhotique [34]

I.1.2.5. Virus de l'hépatite B

Le Virus hépatite B (VHB) est un virus à ADN appartenant au groupe des hépadnavirus [35]. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) estime qu'environ 350 millions de personnes sont infecté de manière chronique par le VHB dans le monde entier. Le VHB est la principale cause de CHC chez la plupart des pays asiatiques, africains et latino-américains. Des études épidémiologiques montrent un lien convaincant entre l'infection chronique par le VHB et le développement du CHC [24].

I.1.2.6. Virus de l'hépatite C

Le Virus d'hépatite C (VHC) possède un génome à ARN simple brin qui code pour une seule polyprotéine consistant de 3010-3033 acides aminés. L'OMS estime qu'environ 180 millions de personnes sont infectées par le VHC dans le monde entier causant ainsi une hépatite chronique virale. Toutefois, la prévalence du VHC serait largement sous-estimée et augmenterait encore dans certains pays moins développés [24].

Le VHC est plus commun que le VHB chez les patients atteints de CHC en Europe, Japon et aux États-Unis, mais aussi dans quelques pays moins développés (par exemple, l'Égypte, la Mongolie et le Pakistan) [24] où le VHC se propage par le sang non filtré et par les injections non stériles. Le VHC peut causer une accumulation de gouttelette lipidique (stéatose) (Fig.3) dans le tissu hépatique infecté (Fig. 2) mais son implication moléculaire direct du VHC dans la pathogenèse du CHC reste encore à démontré. Le temps moyen de

l'apparition de la cirrhose après infection dans des études publiées était de 13-25 ans et le temps d'apparition d'un cancer du foie était de 17 à 31 ans [37]. Le risque de cancer du foie chez les individus atteints de cirrhose liée au VHC varie entre 1% et 7% par an [38].

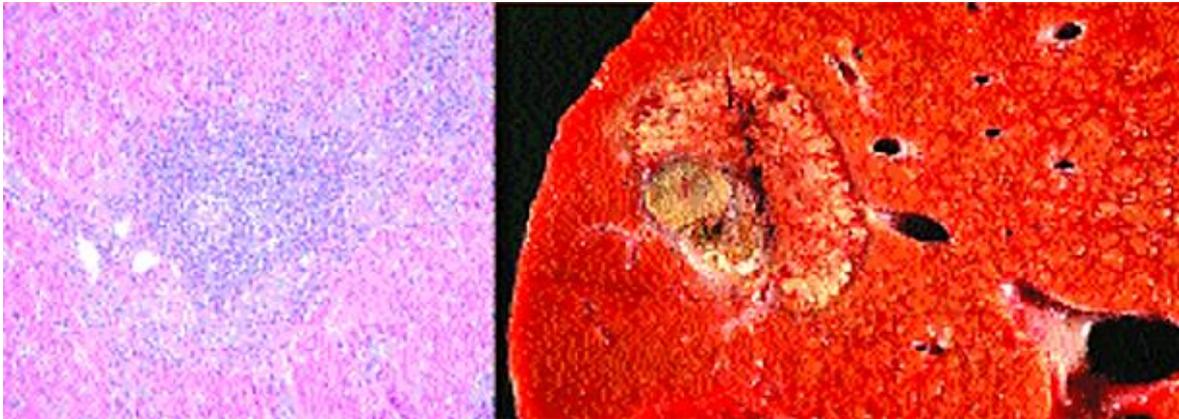


Figure 2 : Structure et macroscopique d'une hépatite chronique virale C [39].

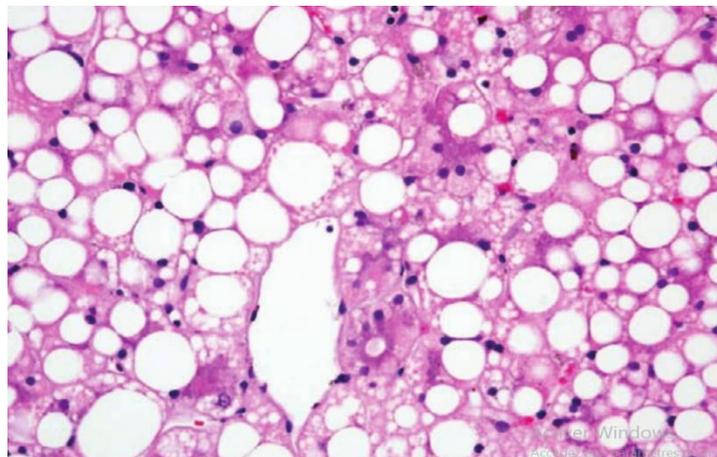


Figure 3 : Stéatose sévère (micro-et macro vésiculaire) chez un patient atteint d'une hépatite chronique C [8].

I.1.3. Histopathologie du carcinome hépatocellulaire

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est une tumeur épithéliale maligne dont les cellules tumorales ressemblent morphologiquement et fonctionnellement à des hépatocytes ayons les caractéristiques suivantes :

- ❖ Les cellules tumorales sont plus ou moins atypiques. Elles peuvent contenir des corps de Mallory, des globules hyalins, du glycogène, des graisses (cellules tumorales avec stéatose). Ces cellules peuvent également produire de la bile. La production de bile, quand elle existe est spécifique du CHC. Les cellules tumorales ne sont jamais mucosécrétantes.
- ❖ L'architecture de la prolifération tumorale reproduit celle du foie, c'est à dire une organisation en travées séparées par des sinusoides. Cependant les travées de cellules tumorales sont plus épaisses que dans du foie normal (> ou = à 3 cellules) et il existe une diminution du collagène péri-sinusoïdal. L'architecture peut également être pseudo glandulaire (formation d'acini par dilatation du canalicule biliaire) ou compacte avec des massifs de cellules tumorales sans travées, ni sinusoides.
- ❖ On peut également observer des remaniements à type de péliose (dilatation des sinusoides), d'hémorragie ou de nécrose.
- ❖ Plus le CHC ressemble à du foie normal plus il est différencié [40 et 41].

Le grade histologique d'Edmondson et Steiner classe les CHC en fonction de leur différenciation. Le grade 1 correspond à un carcinome très bien différencié, et le grade IV à un carcinome peu différencié. Actuellement, l'Organisation Mondiale de la Santé propose plutôt de classer les CHC en bien, moyennement et peu différenciés. L'intérêt du grade est discuté car dans une même tumeur, l'aspect et le grade peuvent être différents d'une zone à l'autre de la tumeur [40 et 41].

I.2.Métastase hépatique

I.2.1. Epidémiologie

Les métastases hépatiques prédominent sur le cancer primitif du foie, d'un rapport de 40: 1 en Europe et Amérique du Nord [42] et par 2,6: 1 au Japon [43]. En revanche, les tumeurs hépatiques sont plus courantes que les métastases en Asie et Afrique subsaharienne [44] en raison de l'incidence élevée de carcinome hépatocellulaire (CHC) [45et 46].

I.2.2. Etiologie

Le foie est un organe très vascularisé fournissant un environnement fertile pour le piégeage de cellules néoplasiques et qui sont arrêtées par les cellules de Kupffer dans les sinusoides [47 et 48]. Les Cirrhoses fournissent une protection relative contre l'ensemencement par des tumeurs secondaire [49]. En revanche, les stéatoses et la consommation excessive d'alcool augmente la chance de métastase [50].

I.2.3. Origine des métastases

Les tumeurs secondaires les plus fréquentes du foie sont des carcinomes suivis de mélanomes [46 et 51]. En termes de nombre absolu, les métastases les plus communes sont d'origine colorectal, mammaire et carcinomes gastriques [46]. Les lymphomes Hodgkinien et non hodgkiniens peuvent impliquer le foie chez près de 20% des patients [52]. Seulement 6% des patients atteints de sarcome peuvent avoir une métastase hépatique lors du diagnostic, mais 34% ont des métastases hépatiques à l'autopsie [53].

I.2.4. Histopathologie et diagnostic différentiel

Les néoplasmes métastatiques du foie sont généralement histologiquement similaires à leur tumeur primitive d'origine et aux métastases associées aux autres organes. Les Métastases provenant de carcinome rénal, carcinome corticosurrénale ou mélanome peut imiter le carcinome hépatocellulaire, distingué habituellement par une structure tabulaire et la présence de sinusoides [54]. Les pathologistes utilisent l'immunohistochimie pour détecter les molécules caractéristiques du foie, comme les protéines d'exportation (albumine, fibrinogène, a-1-antitrypsine), l'hépatocyte-paraffine-1 (HepPar1), l'alpha-phétoprotéine (AFP) et la protéine oncofœtal glypican-3 [55]. Cependant, l'AFP est exprimée dans une minorité seulement de CHC, et le glypican-3 n'est souvent pas positif dans les CHC bien différencié [56 et 57]. La distinction entre cholangiocarcinome et les adénocarcinomes métastatiques est beaucoup plus difficile, sinon impossible vu que le cholangiocarcinome peut prendre n'importe lequel des schémas histologiques d'une tumeur métastatique ; il est généralement tubulaire mais peut être mucineux, chevalière, papillaire, kystique ou indifférencié [58 et 59]. Alor un panel immunohistochimique est nécessaire.

Le motif le plus facile à reconnaître comme étant d'origine métastatique est celui présenté par les adénocarcinomes du côlon et du rectum qui présentent presque toujours des

glandes de taille et de forme variables, bordées de cellules en colonnes. Les métastases colorectales ont souvent des bords bien définis alors que celles des autres sites glandulaires ont tendance à être plus diffuses. Les cholangiocarcinomes expriment généralement les kératines 7 et 19 mais pas 20, alors que les carcinomes colorectaux sont généralement négatifs pour les kératines 7 et 19 et positifs pour la kératine 20 [60 et 61]. La positivité nucléaire pour CDX2 est également un marqueur d'origine gastro-intestinale [62].

Les métastases du sein peuvent être identifiées par des anticorps qui détectent les récepteurs aux œstrogènes et à la progestérone [63 et 64]. L'adénocarcinome pulmonaire métastatique est généralement positif pour TTF1. Certains carcinomes, notamment celui du rein, peut être sarcomatoïde dans sa morphologie. Les carcinomes rénaux sarcomatoïdes conservent néanmoins l'expression de PAX8 [65].

I.3. Implication de la β -caténine et de l'antigène carcino-embryonnaire dans le carcinome hépatocellulaire et les métastases hépatiques

I.3.1. β -caténine

En 1989, trois protéines furent identifiées, se trouvant dans le cytoplasme et liées à la partie C terminale de la Cadhérine, Ces protéines furent nommées Caténine alpha, bêta et gamma, nom provenant du terme signifiant chaîne en latin (Catena) et dont la fonction majeure est de lier le calcium avec diverses structures du cytosquelette. En 1992 il fut trouvé que la β -caténine présentait des similarités avec une autre protéine provenant chez la Drosophile du gène dit Armadillo (ARM).

I.3.1.1. Structure

La β -caténine est une protéine d'environ 88 kDa chez l'Homme. La structure primaire de cette protéine consiste en :

- une région N-terminale d'environ 130 acides aminés, région cruciale pour la régulation du niveau cytoplasmique de β -caténine.
- une région centrale de 550 acides aminés qui présente 12 répétitions du domaine ARM (Armadillo), assurant les interactions protéine-protéine.
- une région C-terminale de 100 acides aminés portant la fonction de transactivation (Fig. 4).

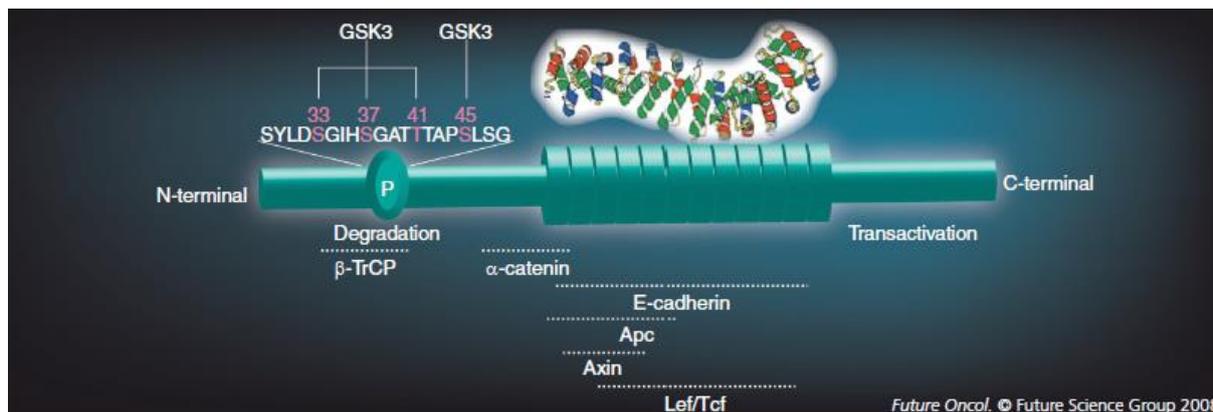


Figure 4 : Structure de β -caténine et domaines d'interactions protéine/protéine [66].

Un déséquilibre dans la structure ou les propriétés de la β -caténine entraînent souvent des pathologies et des dérégulations de croissance liées au cancer ainsi que des métastases [66].

I.3.1.2. Rôles

La β -caténine (Armado chez la drosophile) est une molécule à multiples rôles [66].

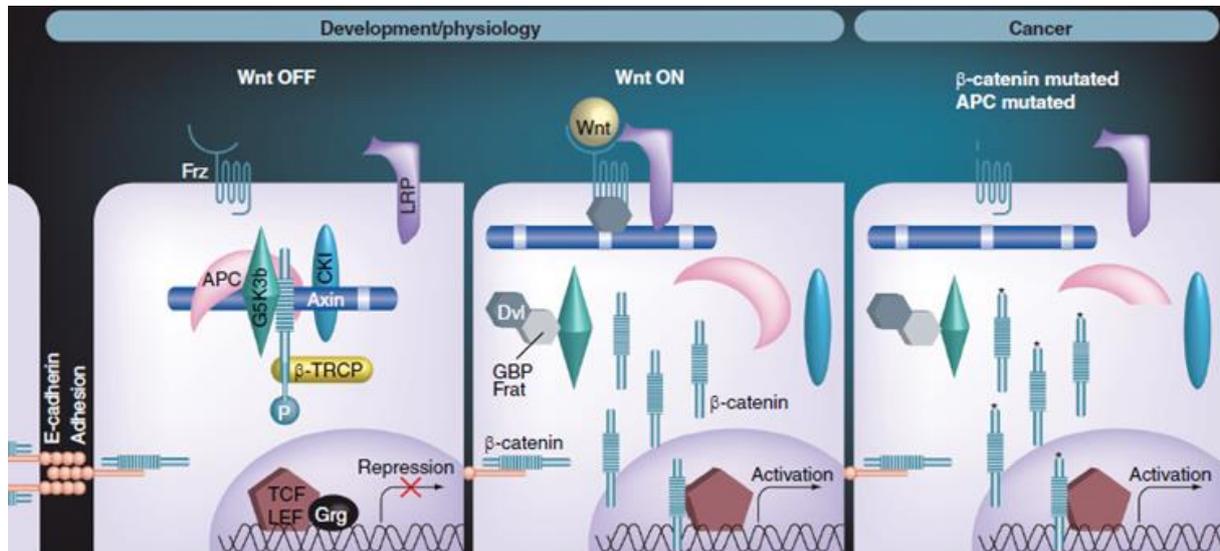
- Elle est l'une des composants structurels des jonctions adhérentes de cadhérine.
- Impliquée dans la voie de signalisation Wnt canonique où elle représente l'effecteur nucléaire clé.
- Principal effecteur responsable de transduction du signal au noyau et déclenche la transcription de gènes spécifiques de Wnt, responsables du contrôle des décisions de destin cellulaire dans de nombreuses cellules et tissus.
- Régule des processus physiologiques fondamentaux ainsi que des processus pathologiques.
- Contrôle l'embryogenèse incluant le développement hépatobiliaire et la maturation.

I.3.1.3. La voie de signalisation Wnt β -caténine

En plus de son rôle dans l'adhésion cellulaire où elle forme des jonctions en liant la Cadhérine à l'actine du cytosquelette, la β -caténine est la protéine clé de la voie de signalisation Wnt (Fig. 5). en absence du ligand Wnt, la β -caténine sera dégradé par un complexe comprenant l'AXIN l'APC la GSK3b et la caséine kinase isoform alpha (KI 1 ALPHA) d'abord par phosphorylation sur son domaine N-terminale , CK1a phosphoryle la ser 45 ensuite GSK3b phosphoryle la ser33 ,SER 37 et Thr 41, la β -caténine sera alors

reconnu par la sous unité beta TRCP de l'ubiquitine ligase E3, une fois ubiquitiné la β -caténine sera alors dégradée par le protéasome.

La voie Wnt est activée en présence du ligand Wnt (Wnt on), qui se lie au corécepteur FZD–LRP5–LRP6 qui recrute l'Axin [68] et la Dishevelled (DVL) [69 et 70], bloquant ainsi la phosphorylation de β -caténine par l'Axin et donc préviens sa dégradation [71], ce qui induit une translocation nucléaire (Fig.5).



β TRCP, E3 ubiquitin ligase subunit β TRCP; CK1 γ , casein kinase I isoform- γ ; EMT, epithelial–mesenchymal transition; FZD, Frizzled; FOXO, forkhead box protein O; HIF1 α , hypoxia-inducible factor 1 α ; LEF, lymphoidenhancer-binding factor; LRP, low-density lipoprotein receptor-related protein; TCF, T cell factor.

Figure 5 : mécanisme de la voie de signalisation Wnt [66].

Au niveau du noyau, la β -caténine ne pouvant se lier directement à l'ADN, des Co-activateurs tels que (BCL-9, Pygopus, CBP, creb binding protein, P300...) et d'autres facteurs de transcriptions dont les plus communs dans la voie Wnt β -caténine (TCF/LEF) T cell factor/lymphoidenhancer-binding factor [72], mais également hypoxia-inducible factor 1 α (HIF1 α) [73], forkhead box protein O (FOXO) [74]. Les gènes ciblés codent pour des protéines impliquées dans :

- la prolifération (MYC, cyclin D1, epidermal growth factor receptor EGF, vascular endothelial growth factor VEGF and insulin-like growth factor I IGF1).
- La dédifférenciation ou la transition epithelial–mésenchymateuse (telle que Claudin, SNAI1 and Twist).

- L'interaction a la matrice extracellulaire (metalloproteinases et fibronectine)
- l'inflammation (IL-6, IL-8 and cytochrome coxidasesubunit 2).
- le métabolisme (excitatoryaminoacid transporter 2 (GLT-1), glutamine synthetase, ornithineaminotransferase et cytochrome P450 A2) [71].

Au niveau du foie, la voie de signalisation Wnt/ β -caténine est cruciale pour divers fonctions essentiels, comme le développement hépatobiliaire, le destin cellulaire au cours du développement embryonnaire et l'auto renouvellement de cellules souches chez l'adulte l'homéostasie et la réparation [75 et 76].

I.3.1.4. Implication de la voie WN- β -caténine dans le carcinome hépatocellulaire

Comme dans d'autres cancers, les voies de signalisation qui sont propre à l'embryogénèse sont réactivées dans les pathologies hépatiques et la tumorigénèse [77 et 78]. C'est également le cas pour la voie WNT- β -caténine qui est hyperactive dans le CHC ou dans 20–35% on retrouve des mutations génétiques et/ou des activations aberrantes dans des gènes clés ayant pour rôle la régulation de cette voie [11, 23 et 79].

Par ailleurs, des études in vitro sur des cellules souches hépatique humaine cancéreuses CD133+ ont montrées que les molécules responsables de la dégradation de la β -caténine sont sous exprimées, ce qui favorise la translocation nucléaire de la β -caténine et donc la chimiorésistance et des métastases [80]. 75% des mutations activatrices de CTNNB1 sont des substitutions faux-sens qu'on retrouve dans 18.5% des CHCs. AXIN1 est mutée dans 8% des CHCs, et 30% de ces mutations sont des substitutions faux sens, et 37.5% des substitutions non-sens [81, 82 et 83].

Les CHCs liés à une hépatite C (HCV) ou non virales ont une fréquence supérieure de mutations de CTNNB1 (28% et 26%, respectivement) alors que les CHCs liés à une hépatite virale B ont une fréquence de (11%) [81], enfin la fréquence des mutations de CTNBB1 dans les CHCs liées à l'alcool est de (42%) [82 et 83]. Pour les mutations de l'AXIN1, il a été démontré qu'elles étaient plus fréquentes dans les CHCs liés au HBV (18%) comparé aux CHCs liés au HCV ou non virale (14% et 8%, respectivement) [81].

I.3.2. Antigène carcino-embryonnaire

La famille des Antigènes Carcino-Embryonnaires humains (ACE) appartenant à la superfamille des immunoglobulines (Ig) comprend de 35 gènes / pseudo-gènes (21 sont codant pour des protéines) situés sur chromosome 19 (entre q13.1-13.3) subdivisé en 2 sous-groupe les CEACAM (molécules d'adhésion cellulaire liées à un antigène carcino-embryonnaire) et PSG (glycoprotéines spécifiques à la grossesse). Ces membres du sous-groupe CEACAM sont principalement associés à la membrane cellulaire et présentent un schéma d'expression complexe dans les tissus normaux et cancéreux. Le gène CEACAM5, également connu sous le nom de CD66e, code pour la protéine, ACE [84 et 85]. Le CEACAM5 est surexprimé dans la majorité des carcinomes, y compris ceux du tractus gastro-intestinal, des systèmes respiratoire et génito-urinaire et du cancer du sein [86].

Malgré la surexpression de divers gènes de l'ACE dans des cancers très divers, il est principalement utilisé en tant que bio- marqueur sérique pour le diagnostic et le pronostic des cancers colorectaux (CRC) et dans la détection des métastases hépatiques [87].

I.3.2.1. Structure

Les CEACAM présentent un domaine variable appelé le domaine N, à la seule exception de CEACAM16 qui consiste en deux N domaines. Le domaine N est suivi soit par aucun ou par des domaines Ig de type C2 appelés A ou B. Le CEACAM5 (CEA) comprend un domaine N suivi de six domaines de type C2 (A1, B1, A2, B2, A3 et B3). Les glycoprotéines liées à la membrane sont ancrées à la surface cellulaire soit par un domaine transmembranaire tel que CEACAM5-8, soit ancrées à la membrane par une ancre de glycophosphatidyl-inositol, y compris CEACAM1, 3, 4, 19, 20 et 21. Les domaines cytoplasmiques CEACAM 19 et 20 ont des motifs d'activateur à base de tyrosine (ITAM) immuno-récepteurs (Fig. 6) [88].

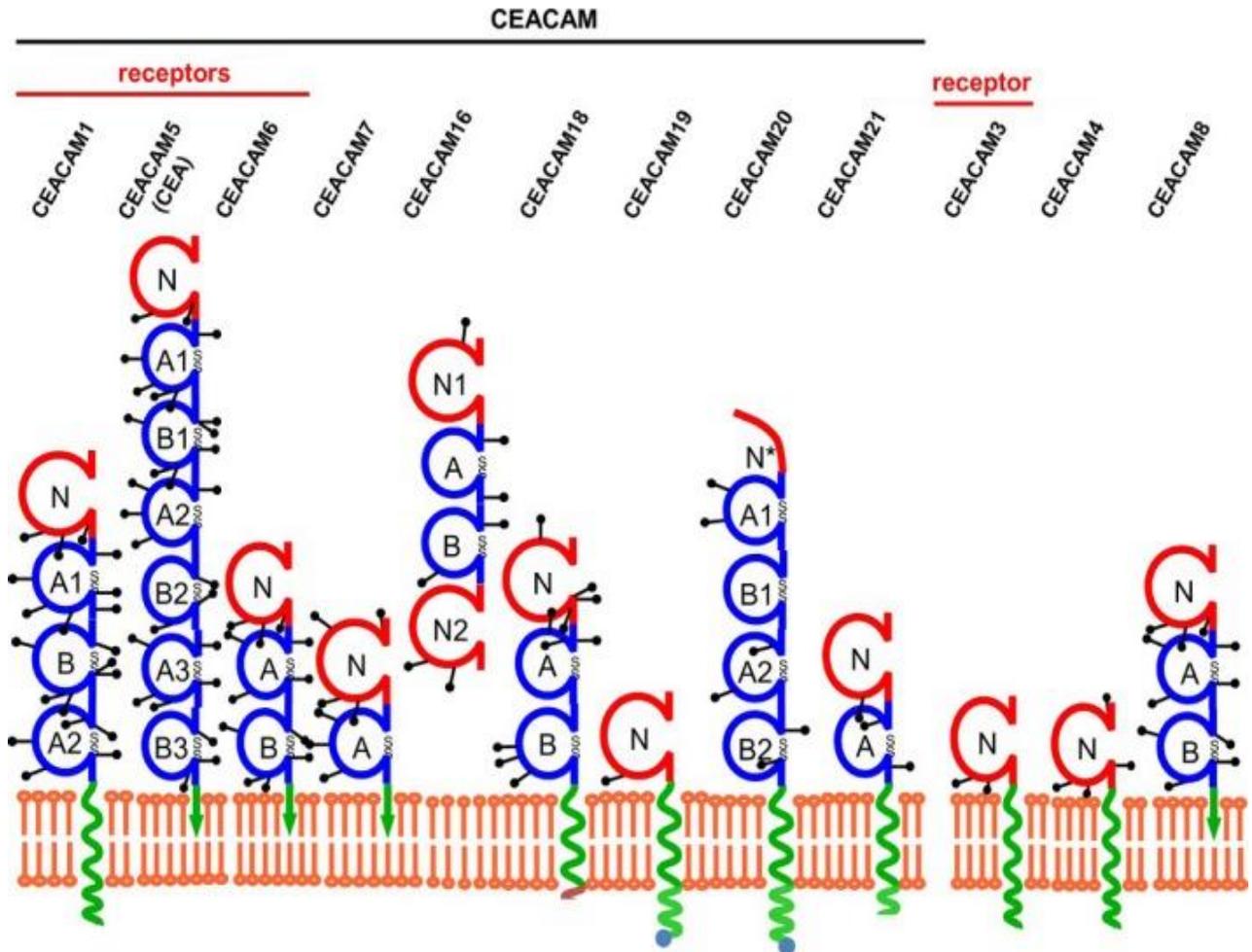


Figure 6 : représentations schématiques de la structure des membres de la famille CEACAM [88]

I.3.2.2. Rôle physiologique

Les CEACAMs montrent des modèles d'expression distincts sur différents types de cellules [22 et 90]. Certains sont exclusifs à des lignées cellulaires spécifiques, d'autres se trouvent dans des tissus divers. Certains membres de la famille jouent aussi des rôles fonctionnels dans des événements particuliers tels que l'audition dans l'oreille interne (CEACAM16) ou phagocytose de bactéries pathogènes (CEACAM3) [20 et 90].

Cependant, la plupart des CEACAM peuvent être considérés comme des modulateurs de la communication cellulaire générale. Ces protéines remplissent des fonctions diverses, l'adhésion cellulaire, la différenciation, la prolifération, et la survie, en se croisant avec d'autres récepteurs cellulaires et transmettent des signaux dans la cellule. En effet, la transduction du signal est faite par l'intermédiaire de membres distincts de la famille de

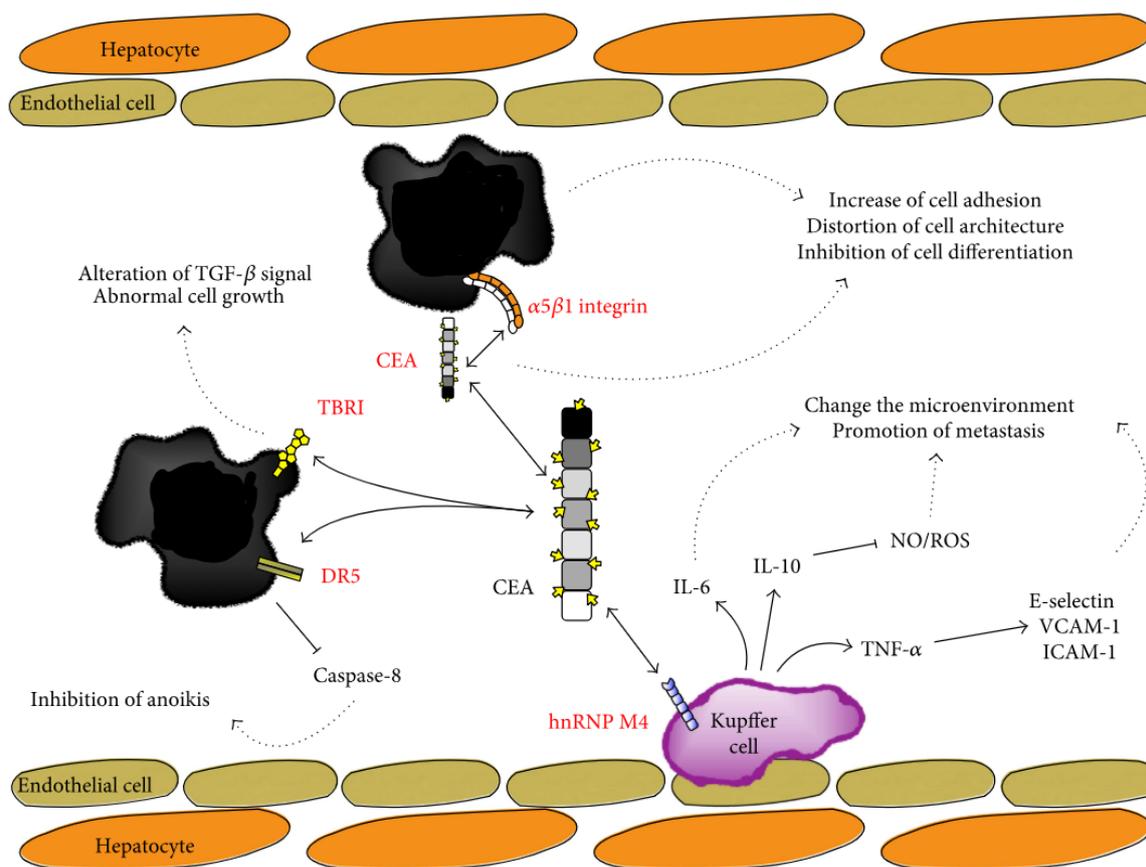
CEACAM, qui englobent un domaine cytoplasmique, telle que CEACAM3 et une variante d'épissure de CEACAM1 avec un domaine cytoplasmique long [90 et 91].

La CEACAM 5 aussi appelé CEA (anglais) ou ACE qui fait partie des CEACAM ancrées par GPI (glycosylphosphatidylinositol) soutien sa fonctionnalité en l'absence d'un domaine cytoplasmique et donc il n'y a pas de mécanisme de transduction de signal précis, néanmoins elle joue un rôle important dans l'adhérence cellulaire, l'activation de signale de survie dans d'autre cellule et peut provoquer une tolérance immunitaire via leurs interactions avec les récepteurs de cellule immunitaire [20].

I.3.2.3. Implication de l'antigène carcino-embryonnaire dans le processus métastatique

Le processus de métastase est divisé en plusieurs étapes dans lequel les cellules malignes se propagent à partir du site de l'organe tumoral d'origine pour coloniser des sites d'organes distants [92, 93 et 94]. La cascade métastatique implique des événements biologiques cellulaires très complexes. Pour métastaser, les cellules cancéreuses doivent supporter des stimuli stricts des environnements voisins et franchir une séquence d'étapes (Fig.7). Ces étapes comprennent :

- Invasion locale de cellules cancéreuses dans la matrice extracellulaire environnante (MEC) et les couches de cellules stromales.
- Intravasation dans les vaisseaux sanguins, la survie et la circulation dans les vaisseaux sanguins.
- Arrêt sur des sites d'organes distants, une extravasation dans le parenchyme de tissus distants.
- Survie initiale dans microenvironnements et réinitiation de la prolifération sur les sites métastatiques afin de générer des excroissances néoplasiques macroscopiques et détectables cliniquement [95].



DR5 :récepteur de mort 5, TBRI : récepteur de TGF- β de type I, hnRNP M4 : ARN nucléaire hétérogène M4, ICAM :InterCellular Adhesion Molecule. VCAM : Vascular CAM, NO : Monoxyde d'azot, ROS : Espèce d'oxygène réactive.

Figure 7 : Représentation schématique des événements biologiques impliquant l'ACE dans le processus métastatique [92].

Les protéines indiquées en rouges interagissent directement avec l'ACE. Les flèches en point représentent les conséquences de l'ACE sur les événements biologiques.

Théoriquement, les cellules cancéreuses en circulation issues du cancer primitif peuvent se disséminer et survivre dans une grande variété de tissus et d'organes secondaires. Cependant, des métastases n'ont été rapportées que dans un sous-ensemble limité d'organes cibles [96]. Les microenvironnements hôtes pourraient être l'un des facteurs importants et des déterminants majeurs de la survie des cellules cancéreuses dans des tissus étrangers. Les cellules cancéreuses provenant d'un organe spécifique pourraient avoir des cibles préférentielles de métastases. Les principaux organes cible des métastases de CRC sont le foie et les poumons, tandis que les principaux organes responsables des métastases médiées par le cancer du sein sont les os, les poumons, le foie et le cerveau [96 et 97]. Au cours de la métastase, les cellules cancéreuses acquièrent la capacité de modifier le microenvironnement

pour favoriser leur survie dans les organes secondaires. Les réponses inflammatoires produites par les cellules stromales adjacentes ou les macrophages recrutés par les cellules cancéreuses, sont les facteurs les plus importants pour la survie des cellules dans les tissus étrangers et les métastases ultérieures [98 et 99]. De nombreux niveaux d'expression génique liés au système immunitaire sont affectés par les métastases.

Il existe une relation directe entre la production de l'ACE et le potentiel métastatique du foie [100], vu que l'injection d'ACE à des souris avant l'injection de cellules cancéreuses faiblement métastatiques peut augmenter le potentiel métastatique des cellules injectées [101]. Le potentiel métastatique des lignées cellulaires de cancer colique peut augmenter après transfection à l'ADNc d'ACE [102]. Inversement, l'inhibition de l'expression de l'ACE peut réduire les potentiels métastatiques hépatiques de ces cellules [103]. L'ACE possède un bloc d'acides aminés de Pro-Glu-Leu-Pro-Lys (PELPK) situé en position 108–112 entre les régions charnière des domaines N et A1 de l'ACE. La séquence d'acides aminés penta-peptide PELPK est le motif de liaison de l'ACE aux cellules de Kupffer, qui est associé à l'initiation de la métastase et à la transition mésenchymateux-épithéliale (MET) des métastases hépatiques provenant de cellules CRC circulantes [17 et 104].

Les effets de l'ACE sur les métastases hépatiques incluent la survie des cellules tumorales circulantes dans les vaisseaux sanguins, l'activation des cellules de Kupffer par liaison à hnRNP M4, la protéine membranaire de Kupffer, la modification du microenvironnement hépatique, l'adhésion et la survie des cellules CRC en circulation dans le foie.

- La survie dans le sang : La plupart des cellules, à l'exception des cellules sanguines en circulation, restent à proximité des tissus. Cela permet une communication efficace entre les cellules adjacentes et la matrice extracellulaire afin de fournir des signaux essentiels pour la croissance et la survie. Lorsque les cellules se détachent de la matrice extracellulaire, elles perdent les interactions normales cellule-matrice et la polarité cellulaire. Ils peuvent subir une anocèse, un processus d'apoptose induit par le détachement de cellules dépendantes de l'ancrage des environnements environnants ou de la MEC [105]. Les métastases dans des organes secondaires distants nécessitent que les cellules tumorales surmontent la mort cellulaire induite par l'anoïkis et survivent dans les vaisseaux sanguins. La mort cellulaire induite par Anoïkis est associée à une perte de signalisation de l'adhésion cellulaire induite par les intégrines [106 et 107]. Les cellules isolées peuvent produire un ligand induisant

l'apoptose liée au facteur de nécrose tumorale (TNF) (TRAIL) [108]. L'ACE se lie au récepteur de mort DR5 [109] et inhibe la transduction du signal de mort cellulaire en aval via la séquence penta-peptide PELPK [110]. L'ACE à la surface cellulaire peut également interagir directement avec le récepteur de type I du facteur de croissance transformant β (TGF- β) (TBRI), L'interaction modifie la voie du signal TGF- β en aval et augmente la prolifération des cellules tumorales [111].

-L'activation des cellules de Kupffer : Dans la cascade métastatique, les cellules tumorales en circulation sont arrêtées au niveau d'organes distants par des macrophages issus de la différenciation des monocytes dans les tissus qui protègent les tissus parenchymateux. Les macrophages stimulent également les lymphocytes et d'autres cellules immunitaires à réagir aux agents pathogènes [112]. Les cellules de Kupffer sont des macrophages hépatiques situés dans les sinusoides hépatiques via la circulation portale. Les cellules de Kupffer font face à la lumière sinusoidale et touchent directement la circulation porte [113]. Des niveaux élevés d'ACE circulant sécrété par les cellules cancéreuses provenant du foyer cancéreux peuvent activer les fonctions des cellules de Kupffer en interagissant avec la protéine hnRNP M4 exprimée sur sa membrane jouons ainsi le rôle de récepteur de la protéine ACE [18] en créant des liaisons avec la séquence peptidique PELPK de l'ACE [17, 114].

Les principaux rôles de hnRNP sont la régulation du traitement de l'ARNm, l'épissage alternatif, la biosynthèse des microARN et le transport de l'ARNm vers le cytoplasme à partir du noyau mais pour des raisons inconnues il est exprimé au niveau membranaire [115]. Les cellules de Kupffer expriment deux variantes d'épissage de hnRNP M4. Les cellules activées induisent la surexpression de cytokines comprennent : l'interleukine- (IL-) 1-a, l'IL-1- β , l'IL-6 et l'IL-10, l'interféron- γ (IFN- γ), TGF- β ; TNF- α ; facteur d'activation des plaquettes (PAF); la protéine chimiotactique monocyte-1 (MCP-1); protéine inflammatoire des macrophages (MIP-1) [19, 116, 117]. Ce qui modifie le microenvironnement pour permettre aux cellules tumorales en circulation de survivre dans le foie [118].

D'une autre part l'IL-1- β et le TNF- α entraîne la surexpression de molécules d'adhésion cellulaire telles que ICAM-1, VCAM-1 et E-sélectine dans des cellules endothéliales, augmentant ainsi l'adhésion des cellules tumorales aux cellules endothéliales [19, 116]. L'accumulation de cellules cancéreuses dans le foie cause une augmentation des taux de ROS et NOS dans le parenchyme hépatique via les cellules immunitaires [119], cependant, Les cellules de Kupffer activées par l'ACE peuvent libérer la cytokine anti-

inflammatoire IL-10, aidant ainsi la survie des cellules tumorales en raison de l'inhibition de la régulation à la hausse du monoxyde d'azote synthèse inductible et de la production de NO et de ROS [120]. L'IL-6 sécrétée par les cellules de Kupffer activées peut favoriser la formation de métastases via le facteur de croissance des hépatocytes (HGF) [121, 122]. Une corrélation entre le niveau d'expression de l'ACE et de l'IL-6 a été rapportée dans le sérum de patients atteints de CCR [122].

-L'activation des molécules d'adhésion : L'adhésion cellule-cellule est essentielle pour leurs communications et la préservation de l'architecture tissulaires. L'ACE présente en tant que protéine d'ancrage membranaire liée au GPI fonctionne comme une molécule d'adhésion de cellule à cellule reliant les membranes des cellules épithéliales et dans le clustering cellulaire [20]. L'ACE liée au GPI affecte également l'adhésion intercellulaire par auto-interaction réciproque antiparallèle et homophile ACE-ACE ou d'ACE-CEACAM1. Pour les interactions homophiles et hétérophiles, une interaction du domaine N avec les domaines Ig variables et le domaine A3B3 de l'homologue ACE est requise [123]. Ce phénomène est une caractéristique unique de l'ACE [124]. L'ACE à la surface des cellules perturbe l'architecture tissulaire et inhibe la différenciation et l'anoïkose par l'activation avec la voie signalétique de l'intégrine $\alpha 5 \beta 1$ (récepteur principal de la MEC) [14]. Ainsi, sa Co-localisation avec l'ACE augmente la liaison des cellules à la fibronectine et active les signaux en aval via la régulation de l'activité de PI3K et de la PKB [125].

Chapitre II :

MATERIEL ET METHODES

L'objectif de notre travail est de chercher l'intérêt pronostique, diagnostique et thérapeutique de deux molécules, incriminées dans le processus pré-néoplasique, à savoir la-catéline et l'antigène carcino embryonnaire (ACE). Il s'agit des études rétrospective et prospective portant sur des cas de cancers hépatiques primitifs et secondaires confirmés histologiquement au sein du Service d'Anatomie pathologique du CHU de Béni-Messous et du Centre Pierre et Marie Curie d'Alger. L'étude s'étend sur une période de dix mois, de septembre au juin 2019.

I. MATERIEL

I.1. Matériel biologique

Quarante blocs paraffinés de biopsie et de pièces opératoires des patients atteints de cancer hépatique, de cirrhose et d'hépatite, répertoriés et archivés aux laboratoires ont fait l'objet de la présente étude.

I.2. Matériel non biologique

Une gamme de matériel non biologique est utilisée au cours de l'expérimentation. L'ensemble d'appareillage, de verrerie et de réactifs est présenté dans l'annexe 1.

II. METHODES

II.1. Etude rétrospective

L'étude rétrospective porte sur 300 cas de carcinome hépatocellulaire ou de métastases hépatiques de diverses origines ainsi que de cirrhose et de l'hépatite virale. Les cas sont répertoriés durant une période de 5 ans (2013 à 2017). Nous avons analysé les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, l'aspect anatomopathologique et le suivi des patients. Le recueil de données est réalisé à partir des dossiers cliniques des patients et des renseignements accompagnant les prélèvements. Le diagnostic a été posé par l'examen histologique. Une confirmation immunohistochimique a été réalisée par les anticorps anti β -catéline et anti ACE.

II.2. Etude prospective

L'étude prospective est basée sur l'analyse anatomopathologique de quarante cas de CHC (n=10), de métastase (n=10) d'hépatite (n=10) et de cirrhose (n=10). Cette analyse est une étape décisive dans la prise en charge d'un patient porteur d'un cancer. Cette analyse déterminante comporte plusieurs étapes :

II.2.1. Analyse macroscopique

A travers la macroscopie, la pièce opératoire est examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée par le pathologiste. L'examen permet de sélectionner les zones prélevées pour l'étude microscopique : zones lésées, zones d'aspect macroscopique sain et limites d'exérèse qui seront à la suite coupées en morceaux de petite taille et mis dans des cassettes puis dans le formol à 10% pour les fixer.

II.2.2. Analyse histologique

L'analyse histologique consiste à observer au microscope, les prélèvements afin de définir s'il s'agit d'une tumeur ou de lésions ou s'il s'agit d'une tumeur maligne. La technique est réalisée selon plusieurs étapes :

- Fixation : afin d'éviter l'autolyse, le durcissement des prélèvements, ces derniers sont fixés dans du formol pendant 24 heures environ.
- Déshydratation et imprégnation : le but de la déshydratation est d'éliminer l'eau à partir des tissus pour permettre ensuite l'imprégnation à la paraffine. Cette étape est réalisée par un automate Leica composé de 6 bacs d'éthanol avec des concentrations croissantes (50°, 60°, 70°, 80°, 90° et 100°), suivis de xylène et un mélange xylène et de paraffine pour finir avec 2 bacs de paraffine pure passant deux heures dans chaque bac.
- Inclusion et mise en bloc : les prélèvements, orientés dans des cassettes sont placés dans des moules contenant de la paraffine dissoute. Après refroidissement, les cassettes sont décollées des moules. Le bloc de paraffine est placé sur le microtome Leica.
- Confection des coupes et séchage : les blocs sont coupés en rubans avec une épaisseur de 3µm, puis étalés sur des lames propres déposées sur une plaque chauffante à 40°C. Les lames sont ensuite séchées dans une étuve réglée à 42 °C pendant une nuit.

-Déparaffinage et réhydratation : Cette étape a pour but de retirer la paraffine du tissu et la remplacer par l'eau pour permettre la pénétration des colorants. Elle consiste à passer les lames dans des bains de xylène pendant 5 minutes pour éliminer la paraffine. Cette étape est suivie par une réhydratation des coupes dans des bains d'éthanol de degrés décroissants (100°-90°-80° et 70°).

-Coloration : Les coupes sont colorées par l'hématoxyline éosine (HE) qui est une coloration dichromatique qui se compose d'un colorant nucléaire, l'hématoxyline et d'un colorant cytoplasmique, l'éosine. Les lames sont placées dans un bain d'hématéine pendant 3 minutes puis lavées deux fois à l'eau courante pendant 5 minutes. Les lames sont ensuite colorées dans un bain d'éosine pendant 1 minute puis rincées à l'eau courante puis placées dans quatre bains d'alcool croissant puis dans trois bains de xylène pour l'éclaircissement.

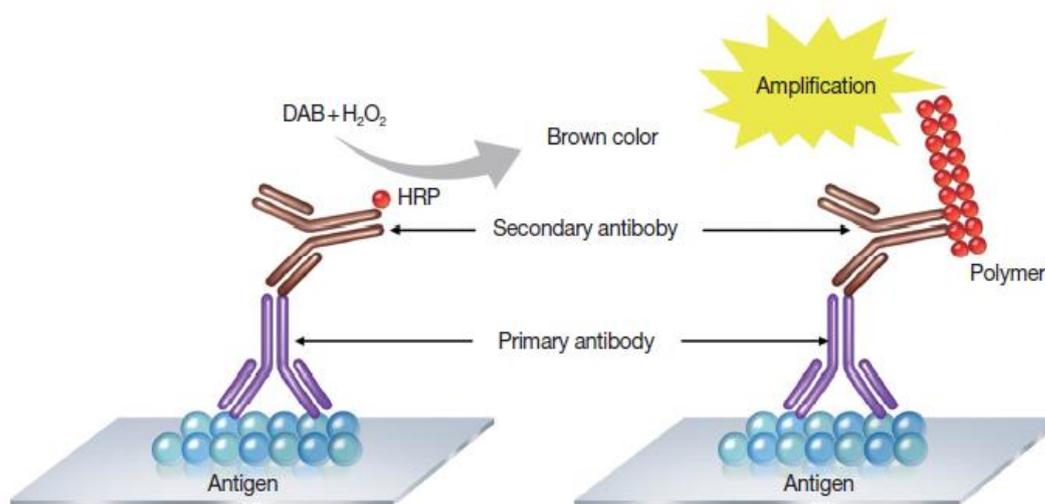
- Montage et observation : une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. Les lames sont nettoyées au xylène puis séchées à l'air et observées au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100 et x400). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un photomicroscope. Les photos sont ensuite traitées par un logiciel Leica (Asez).

Les types histologiques des cancers sont déterminés selon la classification de l'Organisation mondiale de la Santé (OMS).

II.2.3. Etude immunohistochimique

Dans certains cas, le typage des cancers est difficile sur coloration standard et le recours à l'étude immunohistochimique (IHC) s'avère indispensable pour poser le diagnostic avec certitude, d'autant plus que la conduite thérapeutique en dépend. Cette technique permet de visualiser spécifiquement la distribution et la quantité d'une certaine molécule dans le tissu, exécutée sans destruction de l'architecture histologique, en utilisant une réaction spécifique antigène anticorps [126]. Pour cela, un panel de plusieurs anticorps primaires et secondaires a été utilisé afin de mettre en évidence l'expression des molécules, β -caténine et ACE, impliquées dans le développement tumoral.

Le principe de l'IHC consiste à marquer l'anticorps lié à l'épitope à l'aide d'une enzyme. Cette dernière en présence du substrat produit des dépôts colorés indicateurs de la formation des complexes anticorps-antigènes [126].



DAB, diaminobenzidine; HRP, horseradishperoxidase

Figure 8 : Illustration de la technique d'immunohistochimie indirecte et son amplification [126].

II.2.3.1. Etapes de la technique

- Préparation des coupes histologiques : pour cette étude des lames silanisées sont sélectionnées. Le silane(SiH₄) permet de fixer la coupe histologique et lui permet de résister à la chaleur. Après marquage, les coupes fines (2 à 3 μm) sont étalées. Les lames sont ensuite séchées, déparaffinées et réhydratées.
- Démasquage des sites antigéniques : la fixation au formol induit un masquage des épitopes. Le démasquage sert à casser les liaisons formées entre les protéines lors de cette étape, rend les épitopes plus accessibles à l'anticorps et libère les sites antigéniques. Le démasquage se fait selon la technique HIER (The heat induced epitope retrieval) dans le TRS (Target Retrieval Solution) concentré à 50 fois placé dans un bain mari à 97° pendant 35 à 40 minutes.
- Refroidissement et lavage : Après le démasquage, nous laissons les lames à l'air ambiant pendant 20 minutes pour éviter le choc thermique. Les lames sont lavées avec l'eau distillée puis avec le tampon TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween concentré à 20 fois, pH7, 6). Une fois les lames sont égouttées, les coupes sont entourées avec un Dako Pen pour éviter le débordement des réactifs. Les lames sont placées dans une chambre humide.

➤ Protocole d'immunohistochimie

- Inhibition des peroxydases endogènes : En leur fournissant le substrat, les peroxydases endogènes sont bloquées afin d'éviter qu'elles ne parasitent le signal des peroxydases exogènes apportées lors de la réaction. Pour cela, l' H_2O_2 est déposé sur les lames. Celles-ci sont ensuite incubées pendant 5 minutes puis immergées dans trois bains de tampon TBS-T froid pendant 5 minutes chaque bain.
- Anticorps primaire : Après l'ajout de 100 μl de l'anticorps primaire (monoclonale) ACE ou β -caténine, les lames sont incubées à l'ombre pendant 35 minutes à température ambiante. Les lames sont ensuite lavées trois fois dans le TBS-T pendant 5 minutes chacune.
- Amplification : l'anticorps secondaire est ajouté et incubé pendant 15 à 30 minutes à température ambiante à l'abri de la lumière. Les lames sont ensuite lavées trois fois dans une solution de TBS-T pendant 5 minutes chacune.
- Révélation : la révélation est réalisée dans un mélange d'une goutte de chromogène DAB (3,3-diaminobenzidine) dans 1 ml de tampon tween pendant 2 à 3 minutes à température ambiante. Les lames sont ensuite lavées dans de l'eau distillée puis bleuies dans une solution ammoniacale (3%) puis lavées encore dans de l'eau distillée.
- Contre coloration : La contre coloration offre un contraste avec le chromogène pour une meilleure discrimination du signal cible, pour cela les lames sont trempées dans l'hématoxyline de Mayer pendant 3 min puis lavé à l'eau courante. On doit ensuite bleuir les lames dans une solution ammoniacale et lavées à l'eau distillée.
- Montage et Observation : Les lames passent dans des bains d'alcool croissant pour l'éclaircissement ensuite dans le toluène. Pour le montage, une lamelle est fixée sur chaque lame par l'Eukitt. Les lames sont séchées à l'air libre et observées au microscope photonique aux différents grossissements (x40, x100 et x400). La prise des photos est effectuée à l'aide d'un photo-microscope. Les photos sont ensuite traitées par l'ordinateur doté d'un logiciel Leica (Asez).

En général, l'interprétation des résultats est faite par le pathologiste qui rédige et signe un Compte rendu.

Chapitre III :

Résultats et discussion.

Dans ce chapitre, les résultats atteints sont présentés, sous forme de tableaux, secteurs et micrographies, interprétés et discutés selon la bibliographie.

III.1. Etude rétrospective

Cette étude descriptive s'étend sur une période de cinq ans, de 2013 à 2017, et portant sur 300 cas différents de carcinome hépatocellulaire (CHC) et de métastases de diverses origines confirmés histologiquement.

III.1.1. Répartition du nombre des patients selon l'année de recrutement

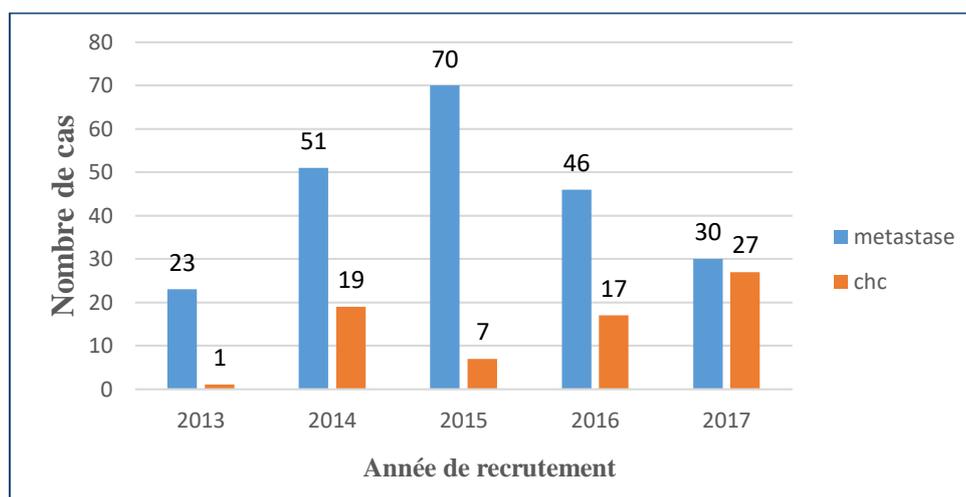


Figure 9 : Répartition de l'ensemble des cas selon l'année de recrutement.

Sur une période de cinq années, 230 cas incidents de métastases hépatiques sont diagnostiqués avec un nombre important (70 cas) au cours de l'année 2015 (Fig.9 ; tableau VI, annexe 2). Dans notre série, le nombre de métastases est nettement supérieur à celui des CHC (70 cas) avec un rapport 3,2 : 1. Ce résultat est similaire à celui distingué dans une série japonaise avec un rapport 2,6 : 1 [42] et contradictoire à d'autres études citant les tumeurs hépatiques comme étant plus courantes que les métastases en Asie et Afrique subsaharienne [43]. Les métastases, d'origine différente, sont retrouvées dans le foie qui est le site privilégié d'établissement des métastases provenant de plusieurs types de cancers, en particulier les tumeurs colorectales, mammaires et pulmonaires [127] qui ont une prévalence élevée en Algérie selon l'institut national de santé publique [128]. Des travaux récents menés par Lee et *al.* [129] suggèrent que cette localisation préférentielle serait causée par l'action pro-inflammatoire des cellules hépatiques qui crée un milieu d'accueil idéal pour l'établissement et la croissance des métastases. Sur cinq ans, l'incidence du carcinome hépatocellulaire est importante en 2017 (27/70 cas) qui est dû probablement à la sensibilisation de la population vis-à-vis du cancer rendant le diagnostic plus rapide et plus fréquent.

III.1.2. Origine des métastases

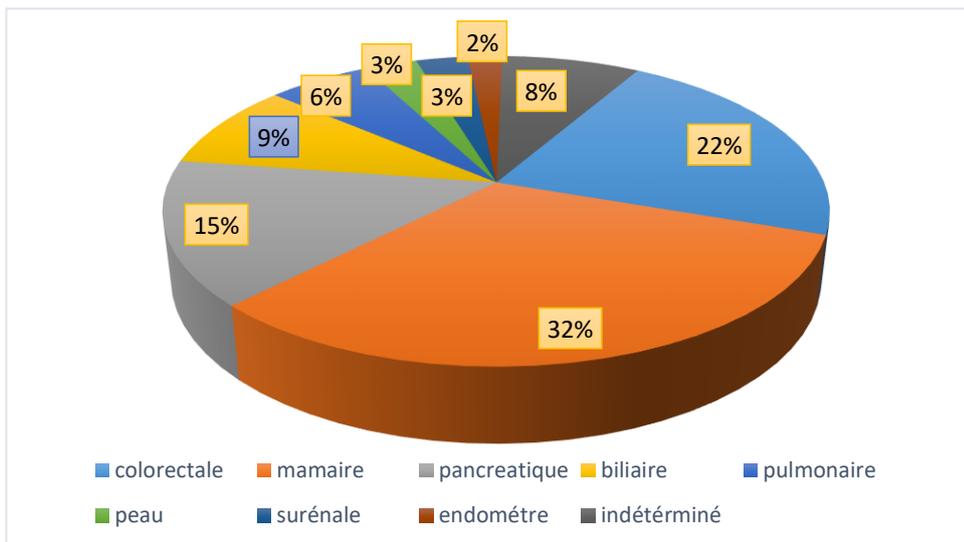


Figure 10 : Répartition des métastases selon leur origine.

Les métastases d’origine mammaire représentent 74 cas (32%) de l’ensemble des cas enregistrés. Les autres métastases sont moins fréquentes, notamment les colorectales avec 50 cas (22%) et les pancréatiques avec 35 cas (15%) (tableau XI, annexe 2). Ces résultats concordent aux données trouvés par Lee et *al.* [92], Fidler et *al.* [91] et Hess et *al.* [130]. La prédominance des métastases mammaires peut être expliquée par l’incidence très élevé du cancer du sein en Algérie [128]. Néanmoins, il faut signaler que d’autres travaux ont trouvé une prédominance des métastases colorectales dans le foie [46]. (on doit idre la rvenance des origine)

III.1.3. Analyse des données sur le carcinome hépatocellulaire

III.1.3.1. Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire par sexe

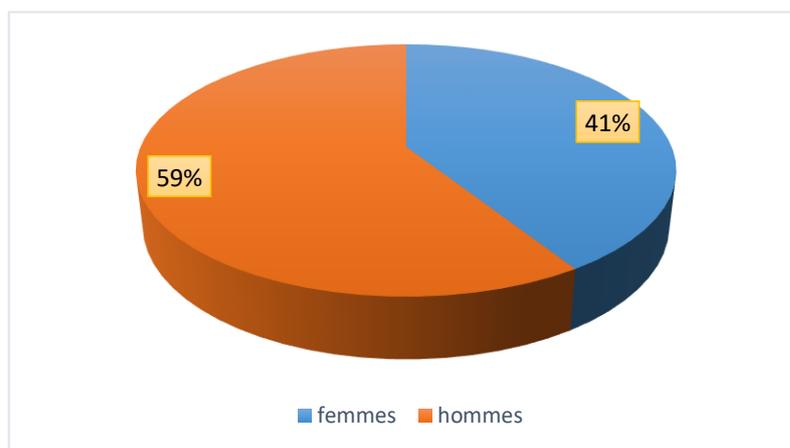


Figure 11 : Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire par sexe.

La répartition des cancers par sexe (Fig. 11 ; tableau VIII, annexe 2) montre une prédominance chez l'homme des carcinomes hépatocellulaires 41 cas (59%) par rapport aux femmes 29 cas (41%) avec un sex-ratio homme/femme de 1,43. La prédominance masculine est retrouvée dans la plupart des études nationales [131] et internationales [132, 133, 134 et 135]. Ceci s'explique probablement par la consommation excessive d'alcool et de tabac, facteurs de risque du carcinome hépatocellulaire, chez l'homme par rapport à la femme qui sont moins sujettes à ces pratiques [133]. Un autre facteur pouvant expliquer l'incidence plus élevée chez les hommes que chez les femmes est la fréquence supérieure des hépatopathies chroniques chez les hommes [136].

III.1.2.2. Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire par tranche d'âge

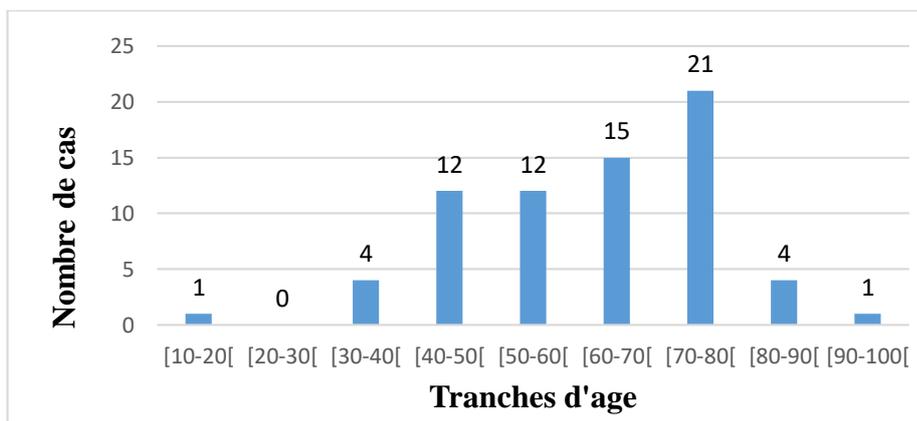


Figure 12 : Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire par tranche d'âge.

Dans notre étude (Fig. 12 ; tableau VII), l'incidence du CHC chez les patients dont l'âge est ≥ 40 ans, devient importante chez les sujets âgés (entre 70 et 80 ans) 21 cas (30%). Des résultats similaires sont rapportés par Chikhi [131].

Dans notre contexte, l'affaiblissement du système immunitaire avec l'âge, le mode de vie [132, 133] et la prévalence élevée de l'infection par l'hépatite virale B [75, 126, 134] peuvent expliquer la fréquence des CHC chez les âgés. Cependant, l'implication de ces facteurs doit être confirmée par des études épidémiologiques plus poussées à la recherche d'autres facteurs environnementaux. Par ailleurs chez les enfants, un seul cas est collecté durant les cinq ans. Le même résultat est rapporté par l'étude de Perugorria et al. [137].

III.1.2.4. Corrélation entre l'âge et le sexe des patients atteints de CHC

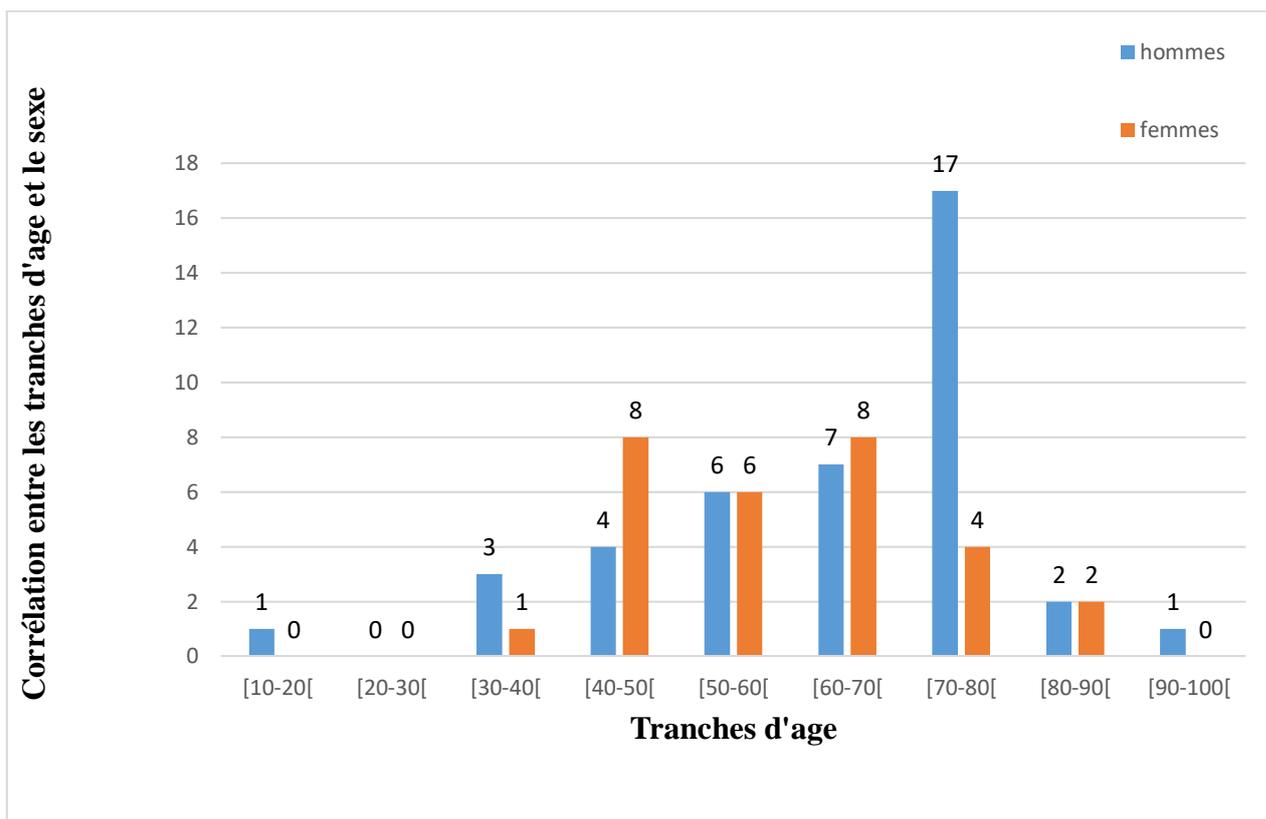


Figure 13 : Corrélation entre l'âge et le sexe des patients atteints de carcinome hépatocellulaire.

Dans notre série, l'âge moyen chez les hommes est plus élevé que chez les femmes (64 ans contre 59 ans) (Fig.13 ; tableau X, annexe 2) cela coïncide avec les données du registre des tumeurs d'Alger [128]. Nos résultats sont similaires à la plupart des séries rapportées dans la littérature [66 et 133].

Le CHC survient souvent chez le sujet âgé de plus de 60 ans et de sexe masculin [138, 139] mais peut se voir à tout âge ; même chez les jeunes de moins de vingt ans [140, 141]. Sa pathogénie n'est pas encore bien élucidée. Plusieurs facteurs de risque pathogéniques sont évoqués tels que les radiations ionisantes, l'exposition à des toxines [142] ainsi que l'adénome hépatique comme lésion précancéreuse potentielle [143].

III.1.2.3. Répartition des cas de carcinomes hépatocellulaires par le grade de différenciation

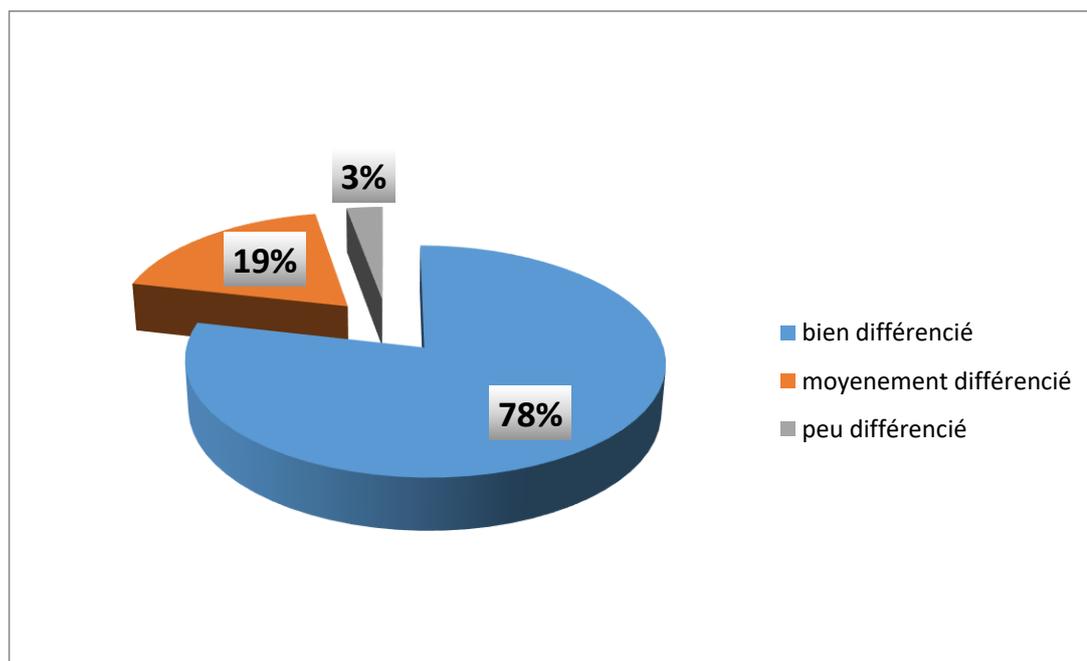


Figure 14 : Répartition des cas de carcinome hépatocellulaire par l'état de différenciation cellulaire.

Les résultats obtenus (Fig.14 ; tableau IX, annexe 2) montrent la prédominance du CHC bien différencié qui est plus fréquent (78%) dans notre série par rapport au moyennement différencié (19%) et le peu différencié (3%). Ces pourcentages concordent avec ceux de l'étude menée par Chikhi [131] sauf que ces auteurs ont marqué l'absence de cas de CHC peu différencié.

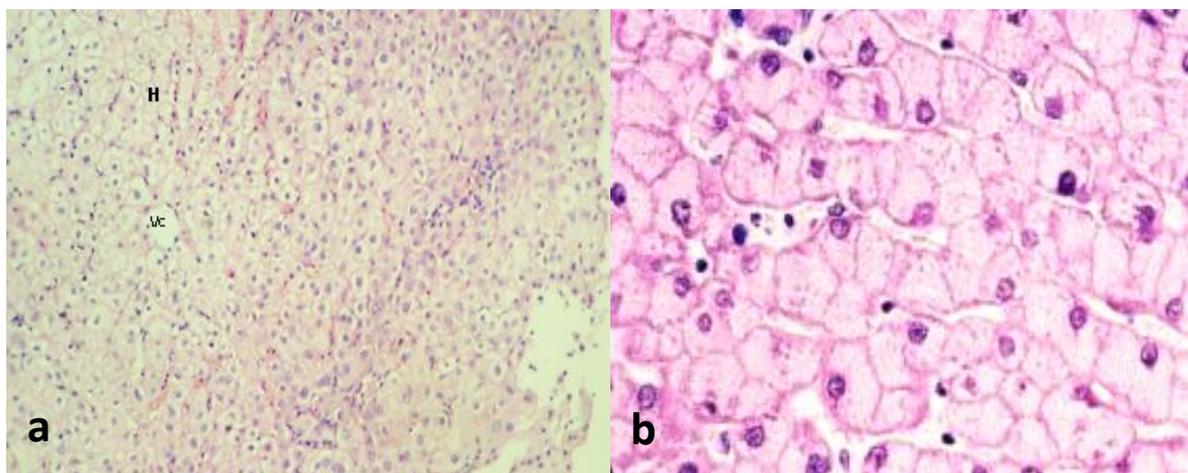
III.2. Etude prospective

L'observation des coupes histologiques et le marquage immunohistochimique réalisés sur les 40 cas d'hépatite, de cirrhose, de CHC et de métastases sont présentés sous forme de micrographies et de tableaux.

III.2.1. Etude histopathologique

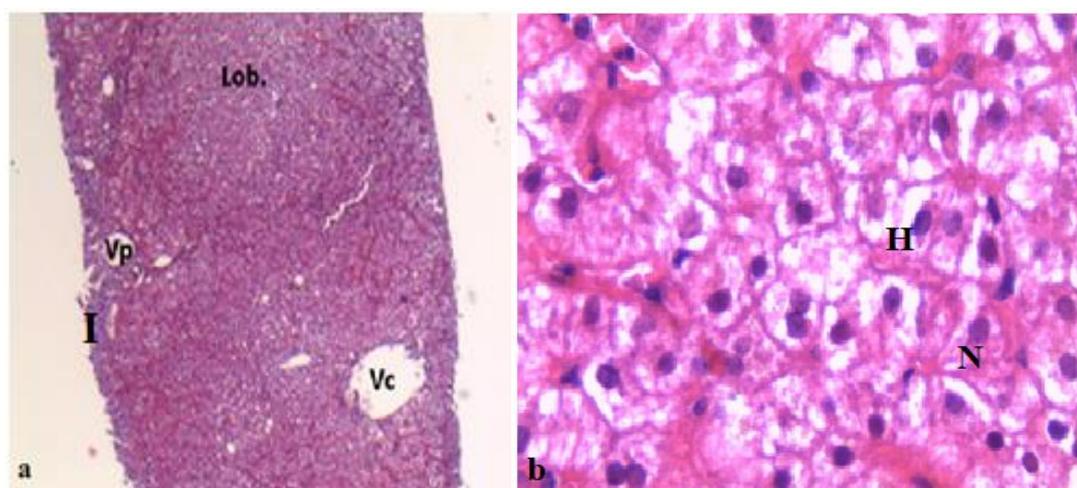
III.2.1.1. Cas d'hépatite

En comparaison avec les bien différencié (Fig. 15), le parenchyme hépatique atteint d'hépatite virale, présente une structure conservée composée de travées hépatocellulaires avec un foyer inflammatoire au niveau portal (Fig. 16 a et b).



H : Hépatocyte ; Vc : Veine Centro lobulaire.

Figure 15 : Coupe histologique d'un parenchyme hépatique sain (témoin).
Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b).

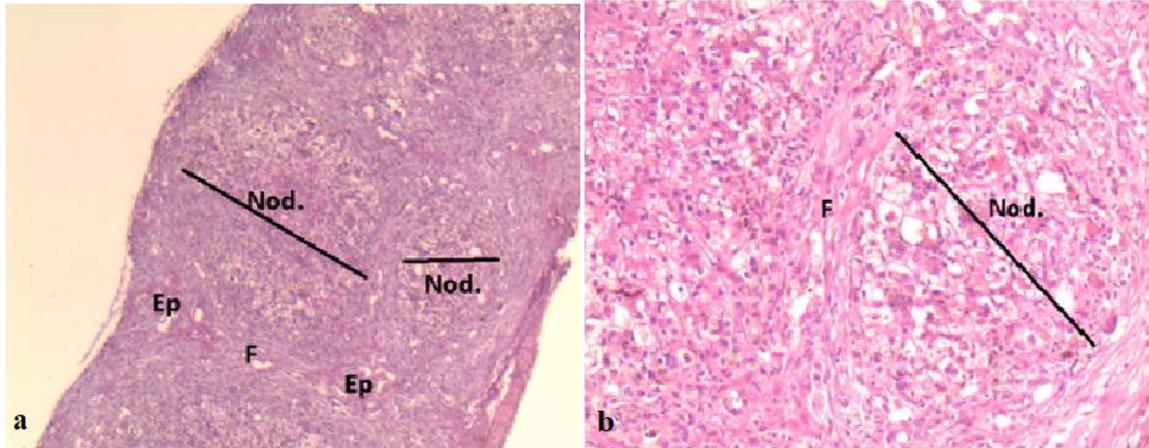


Vc : Veine centrolobulaire ; Vp veine porte ; H : Hépatocyte ; N : Noyau ; Lob. : Lobule ;
I : infiltra inflammatoire.

Figure 16 : Coupe histologique d'un foie atteint d'hépatite virale (à partir d'une biopsie).
Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b).

III.2.1.2. Cas de cirrhose

Le parenchyme hépatique atteint d'une cirrhose est caractérisé par la présence des nodules délimités par un des bondes de fibro-colagénique (Fig. 17 a et b).

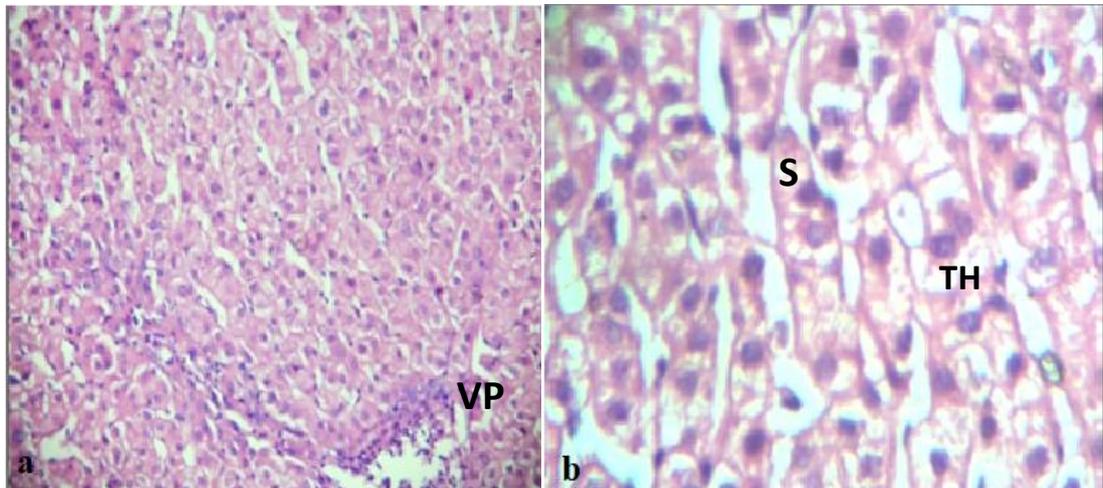


Nod. : Nodule ; Ep : espace porte ; F: fibrose

Figure 17 : Coupe histologique d'un foie atteint d'une cirrhose (à partir d'une biopsie). Coloration HE; Gr: x100 (a) ; x400 (b).

III.2.1.3. Cas de carcinome hépatocellulaire bien différencié

Le CHC bien différencié présente une architecture trabéculée et pseudo-acineuse. Les cellules tumorales sont souvent de plus petite taille que les hépatocytes normaux avec un noyau parfois élargi muni d'un petit nucléole (Fig. 18 a et b).

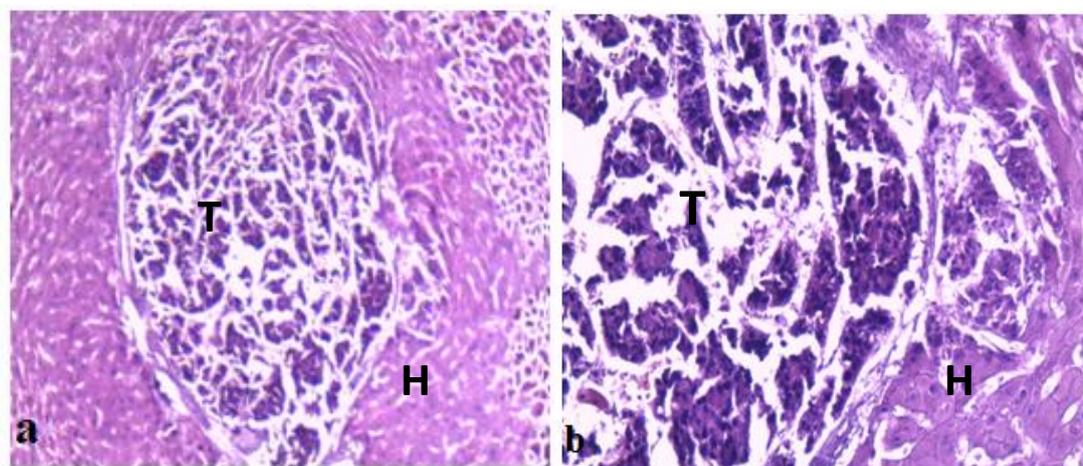


VP : veine porte ; S : sinusoïde ; TH : travée hépatocytaire

Figure 18 : Coupe histologique d'un Carcinome hépatocellulaire bien différencié. Coloration HE; Gr : x200(a) et x400 (b).

III.2.1.4. Cas de carcinome hépatocellulaire moyennement différencié

Le parenchyme hépatique siège d'un foyer de CHC est composé de travées épaisses et de structure acineuse avec des noyaux atypiques (Fig. 19 a et b).



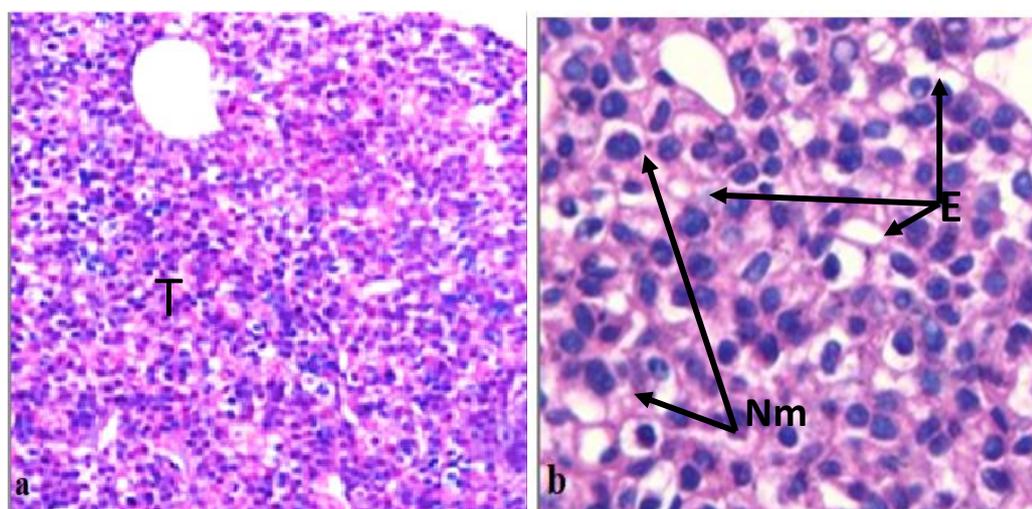
T : tumeur ; H : hépatocyte

Figure 19 : Coupe histologique d'un carcinome hépatocellulaire moyennement différencié.

Coloration HE ; Gr: x100 (a); x400 (b).

III.2.1.5. Cas de carcinome hépatocellulaire peu différencié

Le CHC peu différencié présente une architecture complètement bouleversé. Les cellules tumorales peuvent présenter plusieurs atypies nucléaires marquées (irrégularité de la taille), cytoplasmiques (éclaircissement du cytoplasme) et une grande activité mitotique (Fig. 21 a et b).



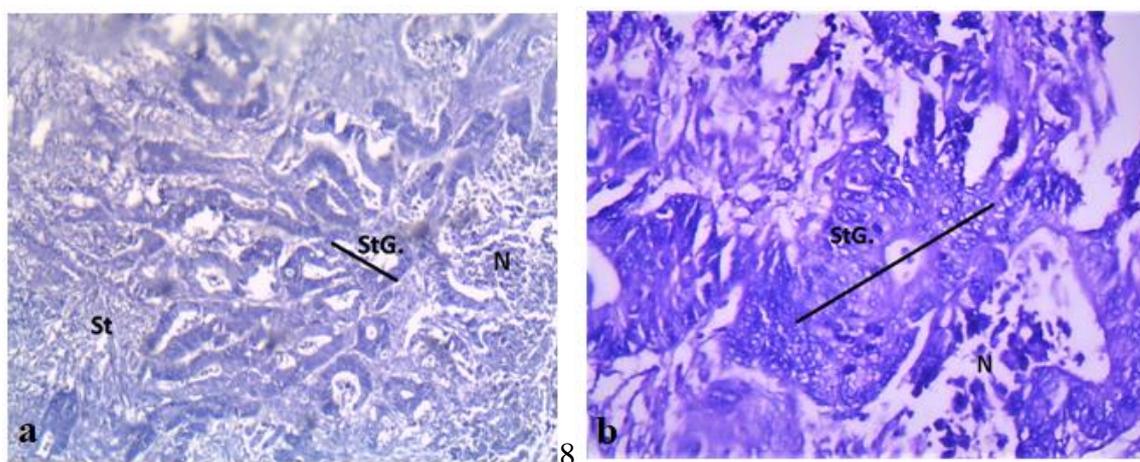
T : tumeur ; E : cytoplasme éclaircie ; Nm : noyau en mitose.

Figure 20 : Coupe histologique d'un carcinome hépatocellulaire peu différencié. Coloration

HE ; Gr : x100 (a) ; x400 (b).

III.2.1.6. Cas de métastases hépatiques

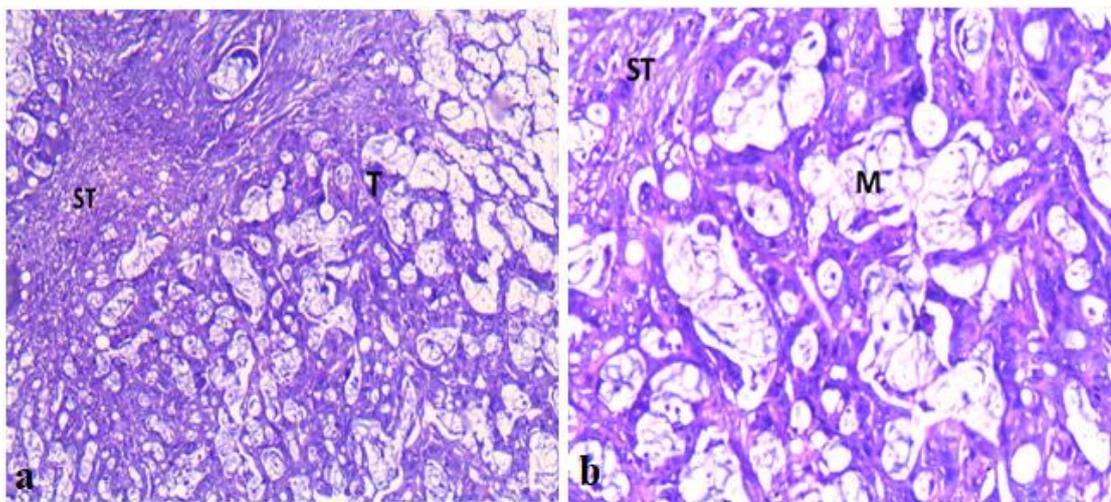
Au faible grossissement (Fig. 21 a), la structure d'une métastase hépatique présente un foyer nécrosé qui oriente souvent vers une origine digestive. La métastase présentée est caractérisée par une prolifération néoplasique maligne d'aspect glandulaire (Fig. 22 b).



StG. : structure glandulaire ; N : nécrose ; St : stroma tumorale.

Figure 21 : Coupe histologique d'une métastase hépatique. Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b).

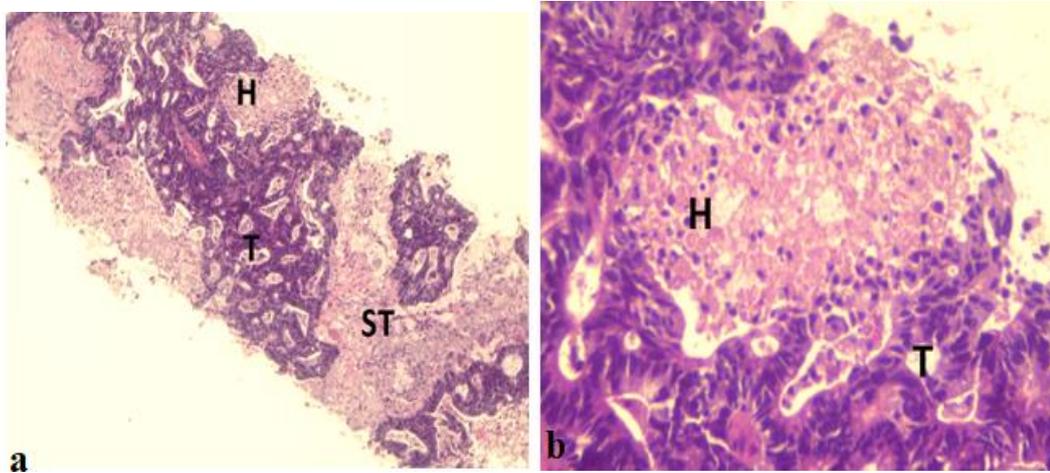
Une autre métastase hépatique montre une prolifération néoplasique épithéliale maligne faite de flaque de substance mucoïde contenant des glandes distendues tapissées par un épithélium atypique (Fig. 22 a et b).



ST : stroma tumorale ; T : tumeur ; M : substance mucoïde.

Figure 22 : Coupe histologique d'une métastase hépatique avec prolifération néoplasique. Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b).

La prolifération épithéliale maligne est agencée en structure glandulaire au sein d'un trainé fibreux avec des atypies cytonucléaires (Fig. 23 a et b).



H : hépatocyte ; ST : structure tumorale ; T : tumeur

Figure 23 : coupe histologique d'une prolifération épithéliale maligne
Coloration HE; Gr: x100 (a); x400 (b).

III.2.2. Etude immunohistochimique

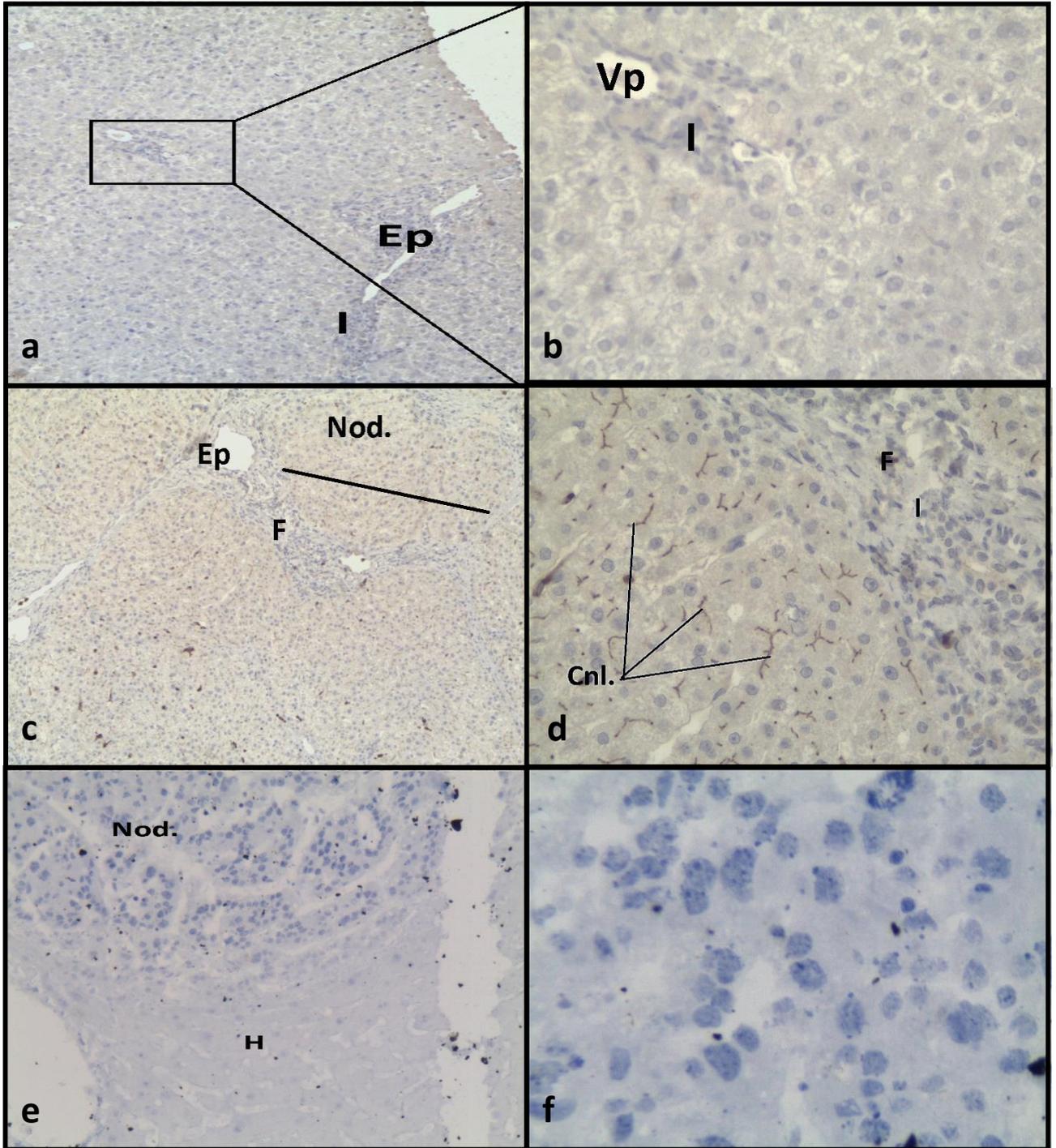
Dix cas de chaque pathologie (hépatite, cirrhose, CHC et métastases hépatiques) ont bénéficié d'un marquage, par l'immunohistochimie, de la β -caténine et l'antigène carcino-embryonnaire. Les résultats obtenus sont présentés sous forme de figures et des tableaux.

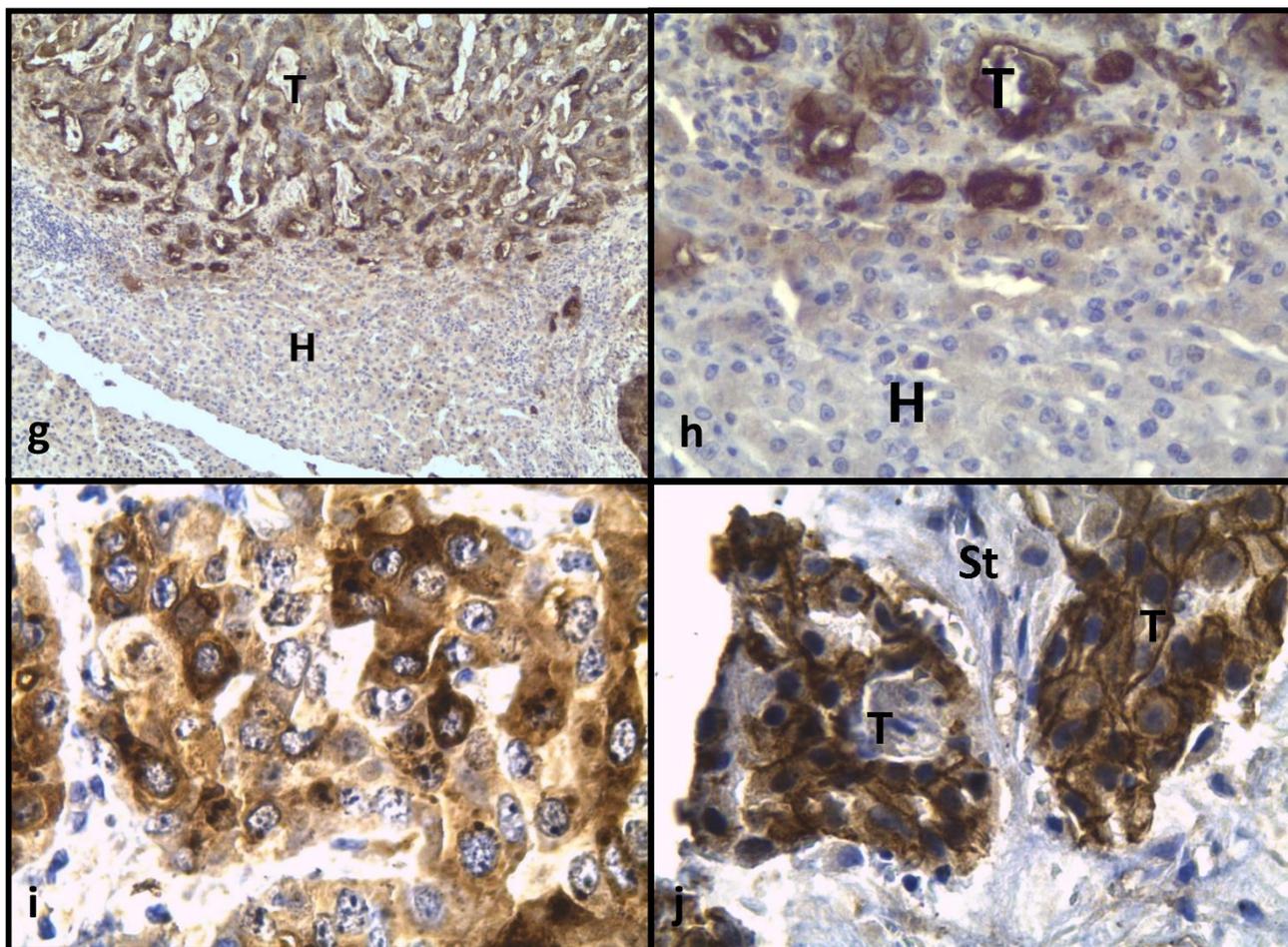
III.2.2.1. Immunomarquage de l'antigène carcino-embryonnaire

C'est la première fois que l'immunomarquage est appliqué sur des cas d'hépatite, de cirrhose et de CHC. Ces derniers montrent un marquage négatif sauf au niveau canaliculaire (Fig. 24 a, b, c, d, e et f ; tableau I, II, III et IV, annexe 2). D'après les données bibliographiques, l'ACE ne devrait pas être présent au niveau canaliculaire. Il est possible que son marquage revient à la similarité de la structure entre la molécule et la glycoprotéine biliaire excrétée dans la bile [144] ou ce cas présente un état précancéreux [8, 54].

Dans notre série, 80% des cas de métastases hépatiques présente un marquage positif d'ACE dans les cellules tumorales infiltrant le foie et un marquage négatif dans les tissus sains au voisinage (Fig. 24 g et h ; tableau I et V annexe 2). Ces résultats complètent ceux de la littérature qui décrit la présence d'ACE sauf dans certains cancers primitifs et les métastases colorectales [15, 20 et 92]. Le marquage négatif s'explique par l'absence de l'expression d'ACE dans le tissu hépatique sain contrairement à d'autre membre de sa famille telle que la CEACAM 1 [20]. La positivité est notée au niveau membranaire et cytoplasmique (Fig. 24 i). Ces résultats concordent avec ceux de Blumenthal et *al.* [15]. Dans deux autres cas, le marquage est détecté uniquement au niveau cytoplasmique (Fig. 24 h). La présence membranaire peut être expliquée par le rôle de la molécule dans l'adhésion cellulaire [90, 92 et 145] avec les intégrines et d'autres membres de la famille de CEACAM [14]. Après sa synthèse, l'ACE subit une glycosylation dans le réticulum endoplasmique pendant 1 à 2 minutes. Cette glycosylation est assurée par des groupements enzymatiques permettant l'ancrage à la membrane [146].

L'accumulation cytoplasmique d'ACE est probablement due à sa forte synthèse empêchant l'ancrage de la totalité. La possibilité d'une mutation ou d'un dysfonctionnement dans des gènes responsables de la maturation des protéines à GPI ou de la machinerie multienzymatiques pourrait expliquer la présence cytoplasmique exclusive d'ACE [147 et 148].





Couleur marron : immunomarcage

H : hépatocyte ; St : stroma tumorale T : tumeur ; H : hépatocyte ; Ep : espace porte ; Nod. : Nodule ; I : inflammation ; F : fibrose ; Cnl. : canalicule ; Vp : veine porte.

Figure 24 : Immunomarcage d'ACE dans des métastases hépatiques.

Gr. : x100 (a, c, e et g) ; x400 (b, f, h, i et j).

a, b. marquage négatif de l'Antigène Carcino Embryonnaire dans une hépatite. **c, d.** cirrhose avec un marquage canaliculaire de l'ACE. **e, f.** carcinome hépatocellulaire non marqué par l'antigène carcino embryonnaire. **g.** marquage membranaire et cytoplasmique d'un foyer métastatique infiltrant un parenchyme hépatique sain (pièce opératoire) **h.** cellule tumorale marqué au niveau membranaire et cytoplasmique membranaire infiltrant un parenchyme sain (pièce opératoire). **i.** marquage cytoplasmique d'un foyer métastatique (biopsie). **j.** marquage membranaire et cytoplasmique d'un foyer tumorale (biopsie).

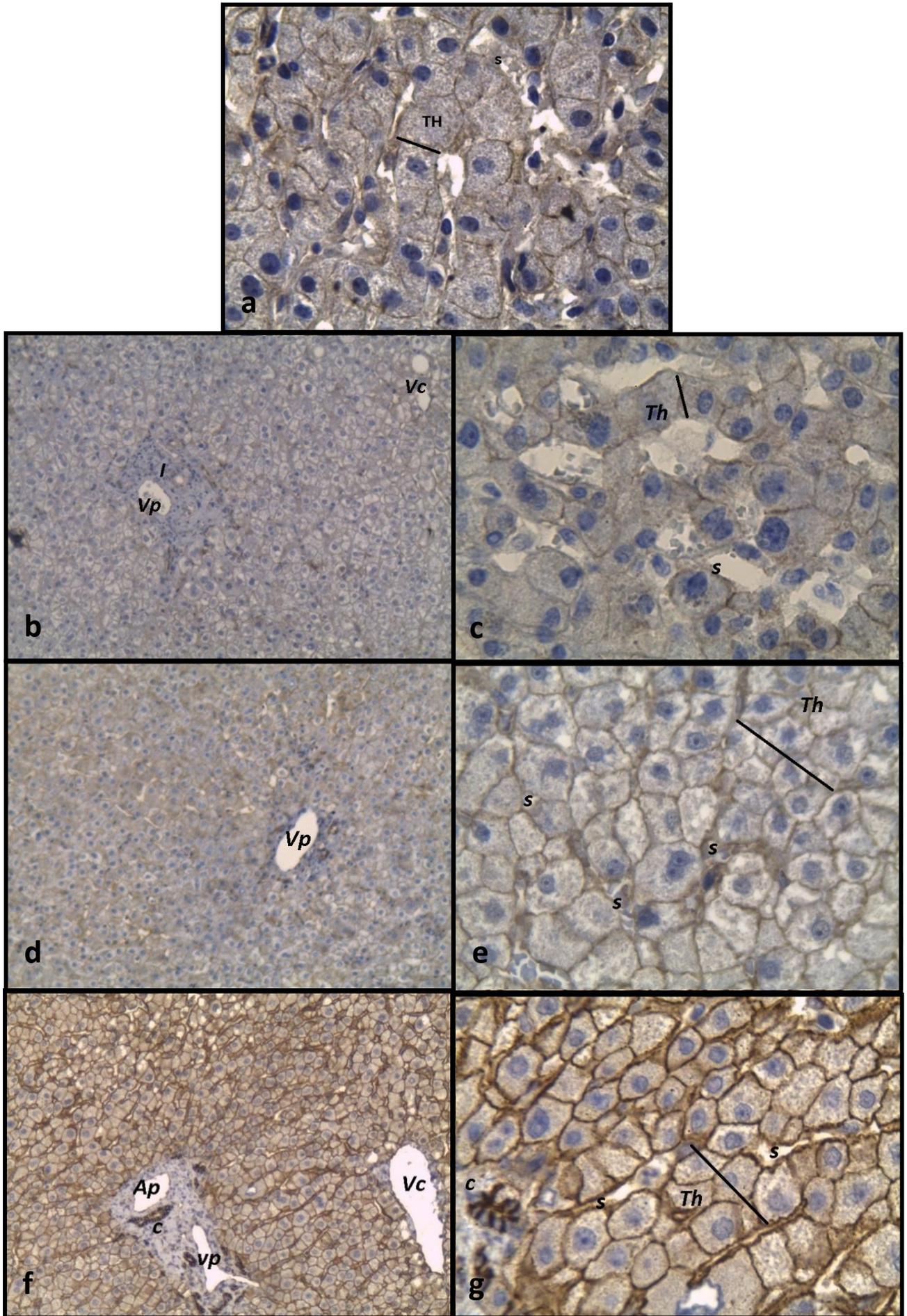
III.2.2.2. Immunomarquage de la β -caténine

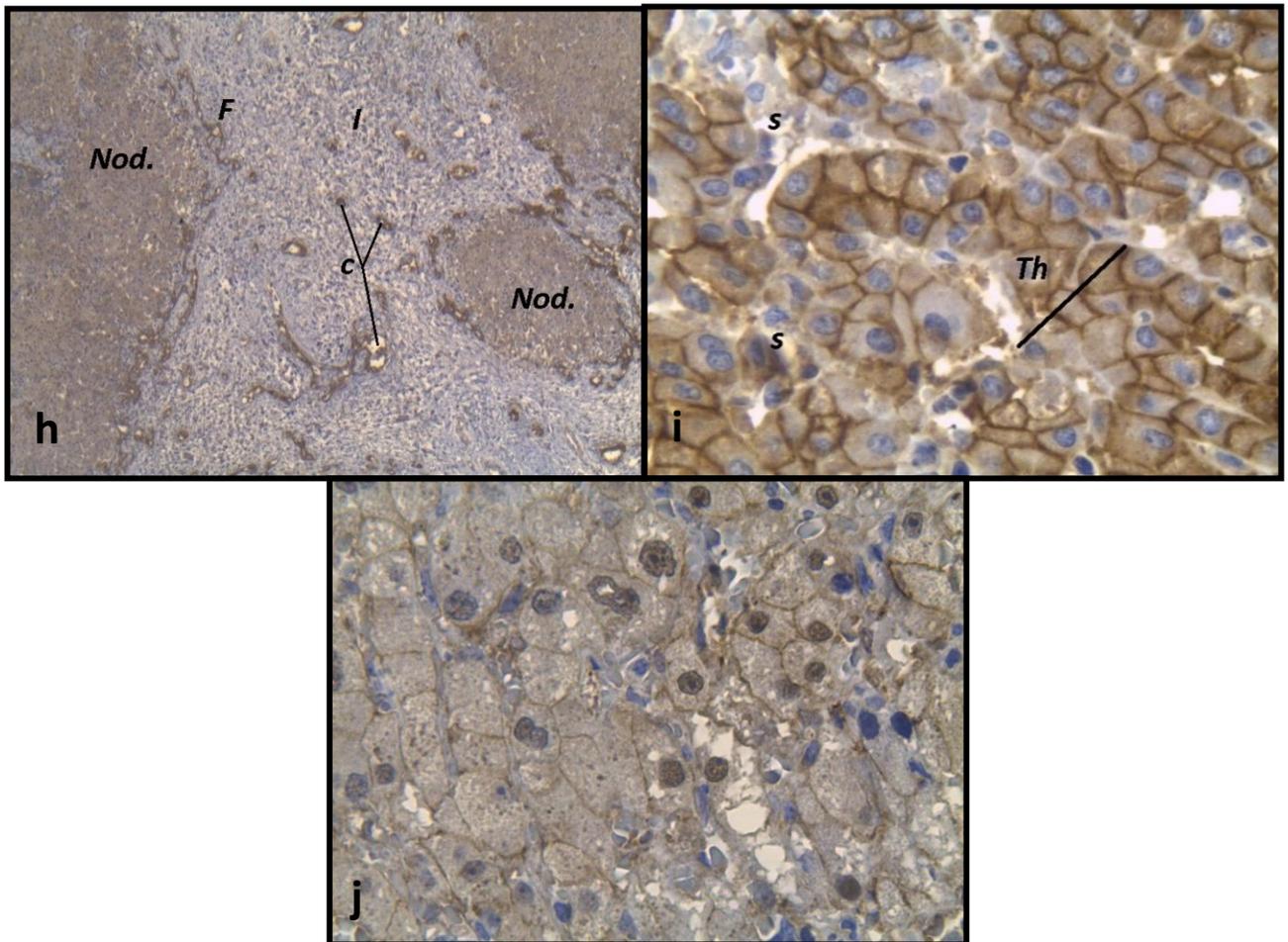
Nos résultats présentent un parenchyme sain et plusieurs « grading » selon METAVIR de cas d'hépatite (A1, A2, A3) ce qui correspond à l'augmentation de l'activité inflammatoire (annexe 2).

Tous les grades trouvés dans l'hépatite virale (n=10) présentent un marquage membranaire de la β -caténine (tableau I et III, annexe), ce marquage est relativement faible dans le stade A1 (Fig. 25 b et c) et A2 (Fig. 25 d et e) et fort dans le stade A3 (Fig. 25 f et g). La présence membranaire de la β -caténine pourrait être expliquée par son rôle cruciale dans l'adhésion cellulaire où elle forme des jonctions liant la cadhérine à l'actine du cytosquelette [1, 3,9 et 67].

L'intensité de la β -caténine membranaire est variable en fonction du grading. Ceci pourrait être expliquée d'une part, par la diminution de l'expression de E-cadhérine associée à l'hépatite virale qui induit l'accumulation de la β -caténine dans le cytoplasme comme est le cas du grading A3 (Fig. 25 c et d). D'autre part, par le caractère oncogène des virus VHB et VHC qui seraient à l'origine de l'activation de la voie canonique Wnt par mutation du gène de la β -caténine CTNNB1 [149]. La présence de macrophages faisant partie de l'infiltrat inflammatoire du foie infecté par VHB ou VHC pourrait expliquer aussi ce résultat, ces cellules semblent être une source du ligand Wnt, et participent ainsi à l'activation de la voie Wnt/ β -caténine [42]. Cette inflammation incitera une exacerbation de la voie Wnt/ β -caténine comme le démontre les résultats de l'expérience menée par berger et *al.* [42] sur des souris CTNNB1 KO.

Selon les résultats d'immunohistochimie réalisée sur des cirrhoses (n=10), le marquage de la β -caténine est répartie comme suit : quatre cas présentent un marquage membranaire, six cas présente un marquage membranaire et cytoplasmique et un cas présente un marquage membranaire, cytoplasmique et nucléaire (Fig.25 j ; tableau I et III annexe 2). Ces résultats seraient expliqués par la régulation positive de la β -caténine dans le foie cirrhogène [150 et 151]. Selon Myung et *al.* [152], la voie Wnt/ β -caténine pourrait moduler la fibrose hépatique en stimulant l'activation des cellules stellaire en fibroblastes via les cytokines et contribuent à la détérioration de l'architecture hépatique et à l'établissement de la cirrhose [150,151 et 152]. Le marquage nucléaire pourrait être un signe de dégénérescence (malignité) [15, 49] vers cas de CHC bien différencié.





T : tumeur ; I : inflammation ; TH : travée hépatocytaire ; C : canalicule ; I : inflammation ; Vp : veine porte ; F : fibrose ; Ap : artère porte , S : sinusoire ; Nod. : nodule.

Figure 25 : immunomarquage de la β -caténine dans des cas d'hépatite et de cirrhose.
Gr. : x100 (a, c, e et g) ; x400 (b, d, f, h et j).

a. Marquage membranaire faible d'un parenchyme hépatique sain par β -caténine (témoin). b, c. faible marquage membranaire de la β -caténine dans un cas d'hépatite gradée A1 selon METAVIR. d, e. marquage faible à modéré de la β -caténine au niveau membranaire dans un cas d'hépatite gradée A2 selon METAVIR. f, g. marquage membranaire fort et cytoplasmique modérée de la β -caténine dans un cas d'hépatite gradée A3 selon METAVIR h, i. cirrhose avec marquage membranaire et cytoplasmique fort de la β -caténine j. marquage nucléaire de la β -caténine.

a- Carcinome hépatocellulaire

L'immunomarquage de la β -caténine est positif dans tous les cas de CHC (n=10) (tableau I annexe 2), ces résultats concordent avec ceux d'Audard [153] et McGlynn et *al.* [134] qui décrivent l'implication et le rôle oncogène de la voie β -caténine dans ce type de cancer. Selon l'étude d'Audard [153] menée sur la glutamine synthétase, une protéine produite par le gène *GLUL* contrôlé par la β -caténine, 36% (n=190) des cas de CHC présentent un marquage positif exprimant une sensibilité de 90% et une spécificité de 98 %. Ce qui confirme l'activation de la voie Wnt/ β -caténine. Nejak-Bowen et *al.* [154] ont montré le rôle de la β -caténine chez des souris transgéniques surexprimant la ser45mutée (site de phosphorylation de la β -caténine permettant sa dégradation) par l'administration d'un carcinogène, le diéthylnitrosamine. Après six mois d'expérimentation, les souris présentent un CHC où la protéine β -caténine est régulée positivement.

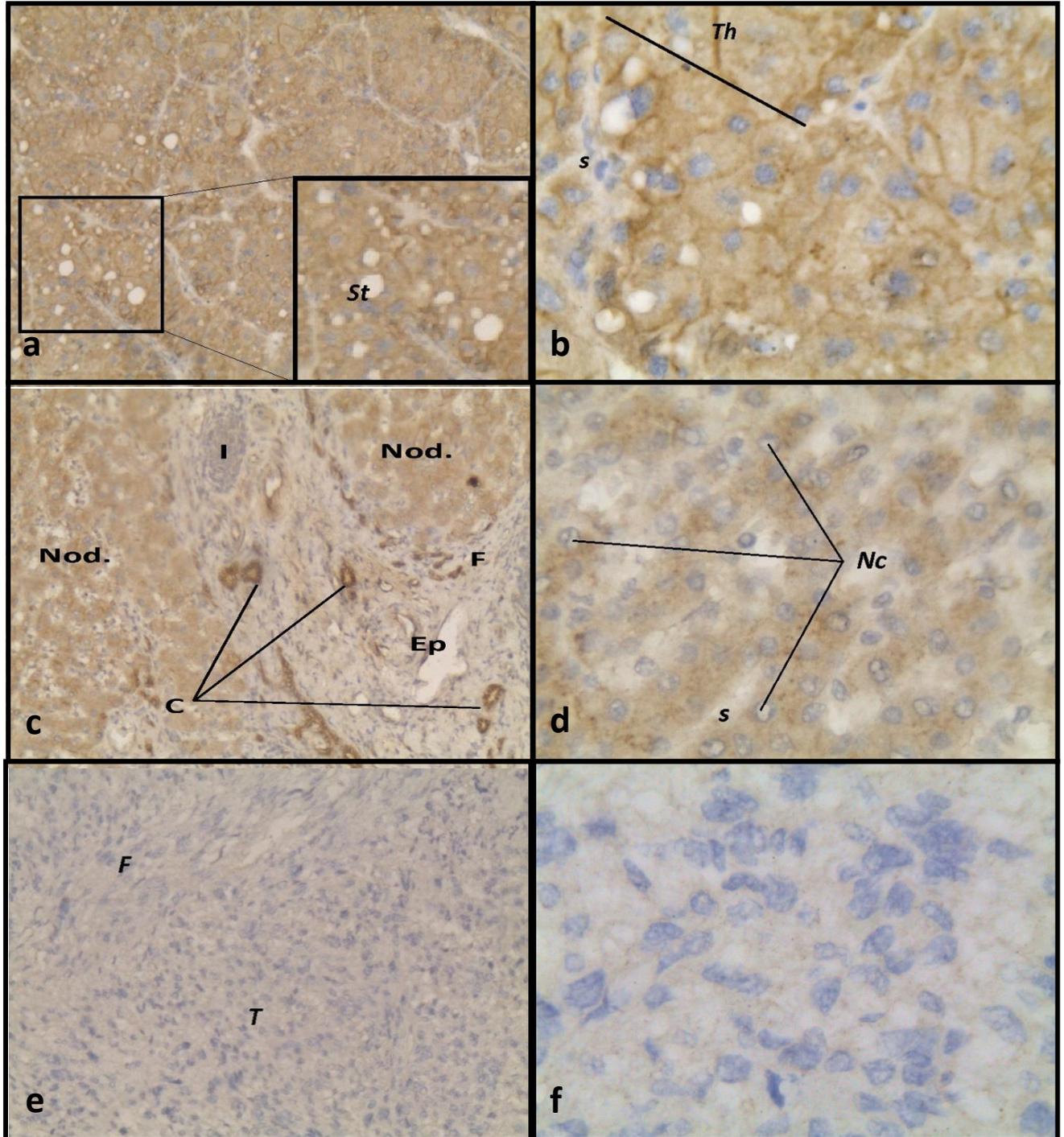
En comparaison avec le parenchyme sain où le marquage est membranaire (Fig. 26 a ; Fig. 25 a), la β -caténine est localisée dans différents compartiments selon le type de CHC. Chez les cas bien différenciés (n=4), la β -caténine est marquée au niveau de la membrane et du cytoplasme (Fig.28 a et b ; tableau IV, annexe 2). Alors que les cas moyennement différenciés (n=4) ont montré un fort marquage cytoplasmique (Fig.26 c et d ; tableau I et IV annexe 2). Par rapport au peu différencié les deux cas récoltés présentent respectivement un marquage faiblement membranaire (fig. 26 e et f ; tableau I et IV annexe 2) ou cytoplasmique (Fig.26 g et h ; tableau I et IV annexe).

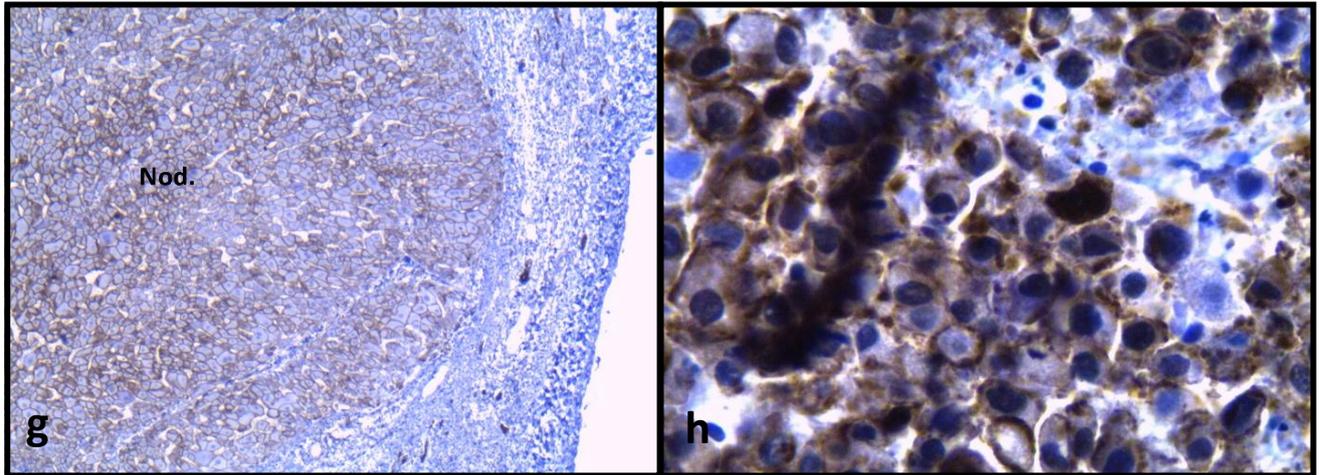
Le fort marquage membranaire pourrai être expliquée par l'élévation des taux de la β -caténine qui reviendrais soit à un état inflammatoire précancéreux [42] ou une mutation des gènes de sa dégradations tel que l'AXIN ou l'APC [83, 154, 157] pouvant être causée par le VHB ou VHC [19, 61]. Dans le même contexte, une expérience a montré que l'inactivation de l'APC dans le foie induit une augmentation et une stabilisation des taux de β -caténine [156].

Le détachement entre la β -caténine et l'E-Cadhérine [150] pourrait expliquer l'absence du marquage membranaire dans les cas moyennement différenciés. Le marquage cytoplasmique et nucléaire de la β -caténines relève d'une anomalie qui pourra être expliquée par une activation aberrante de la voie Wnt/ β -caténine [66]. La β -caténine transloque dans le noyau, servant ainsi de facteur de transcription et activant les gènes impliqués entre autres, dans la prolifération (MYC) [66,71].Des études menées par Chen et *al.*[158] ont démontré cette localisation dans 30% des adénomes hépatiques de patients.

Des mutations au niveau du gène de la β -caténine pourrait également être à l'origine de ce marquage nucléaire comme le montre l'expérience menée sur des souris transgéniques surexprimant le c-myc ou le facteur de croissance transformant bêta chez lesquelles une translocation nucléaire de la β -caténine est retrouvée dans les tumeurs hépatiques [159]. Les mutations impliquant cette translocation nucléaire peuvent également cibler les protéines de sa dégradation tels que AXIN2 et GSK3 β , ces deux protéines étant régulées négativement dans le cancer du foie humain CD133 + chez des cellules souches *in vitro* [80].

L'absence de la β -caténine dans un seul cas, dans le compartiment cytoplasmique et nucléaire dans un cas de CHC peu différencié pourrait être expliqué par le fait que la voie suivie n'est pas celle de la β -caténine. Ce qui concorde avec le modèle de Yuzugullu et *al.* [160]. Ces chercheurs ont constaté que la signalisation canonique Wnt était activée dans les Cellules bien différenciées du CHC, alors que la signalisation Wnt non canonique était activée dans les cellules en faible différenciation. Sur la base de ces résultats, les auteurs ont proposé que les deux voies Wnt soient activées ou réprimées sélectivement en fonction de la différenciation des cellules du CHC et ont une complémentarité de rôles dans l'hépatocarcinogénèse. La voie canonique Wnt contribue à l'initiation de la tumeur et la voie non canonique à la progression tumorale, ce qui expliquerait l'absence du marquage de β -caténine au niveau nucléaire dans certains cas de CHC faiblement différenciés.





Ep : espace porte ; Nod. : Nodule ; I : inflammation ; F :fibrose ; Th: travée hépatocytaire ; s : sinusoides ; c : canalicule ; St : stéatose ; Nc : noyau claire .

Figure 26 : immunomarquage de la β -caténine et ACE dans des cas de CHC.
Gr : x100 (a, c, e, g) ; x400 (b, d, f et h).

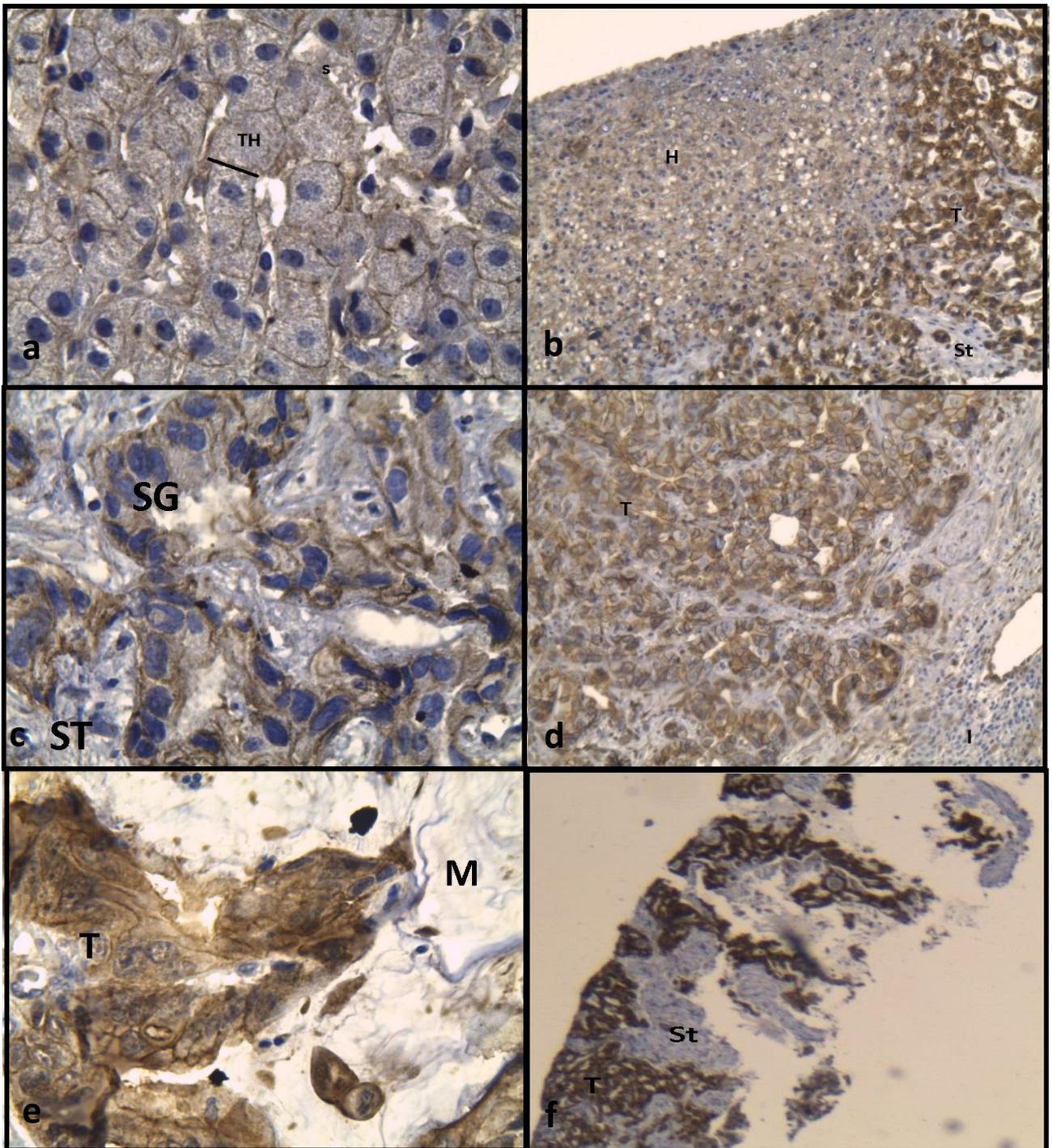
a, b. expression membranaire et cytoplasmique de la β -caténine dans un carcinome hépatocellulaire bien différencié. **c, d.** marquage cytoplasmique et canalaire de la β -caténine dans un carcinome hépatocellulaire moyennement différencié. **e, f.** marquage faiblement membranaire de la β -caténine dans un carcinome hépatocellulaire peu différencié. **g, h.** Expression cytoplasmique et nucléaire de la β -caténine dans un carcinome hépatocellulaire peu différencié.

b- Métastase hépatique

Le marquage est nettement supérieur dans le foyer tumoral hépatique (Fig. 27 b, d, e et f). Ces résultats concordent avec ceux trouvés dans la littérature [161, 162, 163 et 164] qui lient la surexpression de la β -caténine à l'état tumoral.

Les foyers métastatiques ont montré un marquage membranaire et cytoplasmique positif dans 100% des cas (Fig. 27 c et d ; tableau I et V annexe 2). Le fait que chaque cancer conserve la majorité de ses caractéristiques d'origine [15, 162] pourra expliquer le fort marquage de la β -caténine, puisqu'elle est surexprimée de manière aberrante dans plusieurs cancers y compris le cancer mammaire [166, 167 et 168], colorectale [161, 162], gastrique [169] et pulmonaire [170, 171]. Tous ces cancers font partie de notre pool d'échantillon (tableau I annexe 2).

La présence membranaire et cytoplasmique peut aussi être expliquée par l'activation de la voie ACE- β -caténine- Cadhérine [172] ce qui mène à une augmentation de l'adhésion cellulaire [173].



ST : stroma tumorale ; M : substance mucoide ; SG : structure glandulaire ; T : tumeur I : inflammation ;
TH : travée hépatocyttaire.

Figure 27 : immunomarquage de la β -caténine dans des métastases hépatiques.

Gr. : x100 (b, d et e); x400 (a, c et e).

a. Marquage membranaire faible d'un parenchyme hépatique sain par β -caténine (témoin). b. Marquage β -caténine d'un parenchyme hépatique infiltré par un foyer métastatique. c. marquage membranaire et faiblement cytoplasmique d'un foyer métastatique par β -caténine. d. Marquage β -caténine e d'un foyer métastatique. e. marquage membranaire et cytoplasmique d'un foyer métastatique par β -caténine entouré d'une substance mucoide. f. marquage intense de tissu tumorale par β -caténine.

Conclusion
et
perspectives

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

L'ensemble de ce travail nous a permis d'apporter des éléments dans l'implication de la β -caténine et l'antigène carcinoembryonnaire dans la caractérisation des carcinomes hépatocellulaires et des métastases hépatiques.

L'analyse des données épidémiologiques de 300 cas collectés sur 5 années a donné des informations importantes :

-la prévalence de métastases comparées aux CHC notamment les métastases d'origine mammaire (32%) suivie des métastases colorectales (22%).

-Une prédominance masculine chez les cas de CHC.

-Une prédominance du carcinome hépatocellulaire bien différencié (78%) par rapport aux moyennement différencié (19%) et au peu différencié (3%).

L'application d'un marquage immunohistochimique de l'ACE et de la β -caténine sur 40 cas a montré :

- une exclusivité de marquage d'ACE dans les cellules métastatiques confirmant ainsi la présence de cette molécule dans les métastases hépatiques et son absence dans le CHC.

- Une présence membranaire de la β -caténine dans (50%) des cas d'hépatite virale, (80%) des cas de cirrhoses et (70%) des CHC ce qui confirme le rôle de la protéine dans l'adhésion cellulaire, ainsi que dans 100 % des cas de métastases.

- Une présence cytoplasmique de la β -caténine dans (20%) des cas d'hépatite virale, (50%) des cas de cirrhoses et (80%) des CHC ainsi que dans 100 % des cas de métastases avec un marquage plus important dans les cas de CHC.

- Une présence nucléaire de la β -caténine dans un cas de CHC et un cas de cirrhose.

Ces résultats confirment l'implication de la voie Wnt/ β -caténine dans le processus oncogène du CHC ainsi que sa possible relation avec l'inflammation.

A l'issu de ces résultats, nous proposons l'implication de :

- l'ACE comme moyen de diagnostic différentiel entre cancers primitifs et métastatiques.
- la β -caténine dans la batterie de test immunohistochimique réalisés dans le diagnostic d'un CHC pour faciliter le travail des pathologistes dans le diagnostic.
- l'ACE et la β -caténine comme une cible thérapeutique et un moyen de pronostique.

Il serait intéressant d'approfondir cette étude sur l'implication de l'ACE dans chaque métastase, sur l'E-cadhérine pour déterminer la relation entre l'ACE et la β -caténine et la relation entre la β -caténine et l'inflammation.

Références

1. **Ntagirabiri, R., Munezero, B., Kaze, H., Ndirahisha, E., & Manirakiza, S. (2015).** Incidence du carcinome hépatocellulaire lors de l'infection chronique par le virus de l'hépatite B. *Pan African Medical Journal*, 20(1).
2. **Forner, A., Ayuso, C., Real, M. I., Sastre, J., Robles, R., Sangro, B., & Bru, C. (2009).** Diagnóstico y tratamiento del carcinoma hepatocelular. *Medicina clinica*, 132(7), 272-287.
3. **Blanc, J. F. (2017).** Carcinome hépatocellulaire: nouveautés épidémiologiques et démarche diagnostique. *Oncologie*, 19(5-6), 135-143.
4. **Renedo, F. P., de la Revilla Negro, J., & Panero, J. C. (2008).** Carcinoma hepatocelular. *Medicine-Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*, 10(12), 770-776.
5. **Pollicino, T., Vegetti, A., Saitta, C., Ferrara, F., Corradini, E., Raffa, G., & Raimondo, G. (2013).** Hepatitis B virus DNA integration in tumour tissue of a non-cirrhotic HFE-haemochromatosis patient with hepatocellular carcinoma. *Journal of hepatology*, 58(1), 190-193.
6. **Giannini, E. G., Marengo, S., Bruzzone, L., Savarino, V., Farinati, F., Del Poggio, P., & Borzio, F. (2013).** Hepatocellular carcinoma in patients without cirrhosis in Italy. *Digestive and Liver Disease*, 45(2), 164-169.
7. **Wang, Q., Luan, W., Villanueva, G. A., Rahbari, N. N., Yee, H. T., Manizate, F., & Hiotis, S. P. (2012).** Clinical prognostic variables in young patients (under 40 years) with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Journal of digestive diseases*, 13(4), 214-218.
8. **Lin, F., & Prichard, J. (2015).** *Handbook of practical immunohistochemistry: frequently asked questions.* Springer.
9. **Cong, F., Schweizer, L., & Varmus, H. (2004).** Wnt signals across the plasma membrane to activate the β -catenin pathway by forming oligomers containing its receptors, Frizzled and LRP. *Development*, 131(20), 5103-5115.
10. **Zeng, X., Tamai, K., Doble, B., Li, S., Huang, H., Habas, R., & He, X. (2005).** A dualkinasemechanism for Wnt co-receptor phosphorylation and activation. *Nature*, 438(7069), 873.
11. **Russell, J. O., & Monga, S. P. (2018).** Wnt/ β -catenin signaling in liver development, homeostasis, and pathobiology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 13, 351-378.
12. **Satoh, S., Daigo, Y., Furukawa, Y., Kato, T., Miwa, N., Nishiwaki, T., & Sasaki, Y. (2000).** AXIN1 mutations in hepatocellular carcinomas, and growth suppression in cancer cells by virus-mediated transfer of AXIN1. *Nature genetics*, 24(3), 245.
13. **Gold, P., & Freedman, S. O. (1965).** Specific carcinoembryonic antigens of the human digestive system. *Journal of Experimental Medicine*, 122(3), 467-481.

14. **Riedinger, J. M. (2010).** Intérêt des marqueurs tumoraux: quelle place pour l'ACE et le CA 15-3?. *Médecinenucléaire*, 34(1), 44-51.
15. **Blumenthal, R. D., Leon, E., Hansen, H. J., & Goldenberg, D. M. (2007).** Expression patterns of CEACAM5 and CEACAM6 in primary and metastatic cancers. *BMC cancer*, 7(1),2.
16. **Ordoñez, C., Screatton, R. A., Ilantzis, C., & Stanners, C. P. (2000).** Human carcinoembryonic antigen functions as a general inhibitor of anoikis. *Cancer research*, 60(13), 3419-3424.
17. **Gangopadhyay, A., & Thomas, P. (1996).** Processing of carcinoembryonic antigen by Kupffer cells: recognition of a penta-peptide sequence. *Archives of biochemistry and biophysics*, 334(1), 151-157.
18. **Bajenova, O. V., Zimmer, R., Stolper, E., Salisbury-Rowswell, J., Nanji, A., & Thomas, P. (2001).** Heterogeneous RNA-binding protein M4 is a receptor for carcinoembryonic antigen in Kupffer cells. *Journal of Biological Chemistry*, 276(33), 31067-31073.
19. **Kuninaka, S., Yano, T., Yokoyama, H., Fukuyama, Y., Terazaki, Y., Uehara, T., & Ichinose, Y. (2000).** Direct influences of pro-inflammatory cytokines (IL-1 β , TNF- α , IL-6) on the proliferation and cell-surface antigen expression of cancer cells. *Cytokine*, 12(1), 8-11.
20. **Beauchemin, N., & Arabzadeh, A. (2013).** Carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecules (CEACAMs) in cancer progression and metastasis. *Cancer and Metastasis Reviews*, 32(3-4), 643-671.
21. **Lambert, R. (2009).** Épidémiologie du carcinome hépatocellulaire (CHC) dans le monde. *Cancéro digest*.(vol.2 n°1).
22. **Curado, M. P., Edwards, B., Shin, H. R., Storm, H., Ferlay, J., Heanue, M., & Boyle, P. (2007).** Cancer incidence in five continents, Volume IX. IARC Press, International Agency for Research on Cancer.
23. **Ferrone, C. R., Kattan, M. W., Tomlinson, J. S., Thayer, S. P., Brennan, M. F., & Warshaw, A. L. (2005).** Validation of a postresection pancreatic adenocarcinoma nomogram for disease-specific survival. *Journal of clinical oncology: official journal of the American Society of Clinical Oncology*, 23(30), 7529.
24. **Raza, S. A., Clifford, G. M., & Franceschi, S. (2007).** Worldwide variation in the relative importance of hepatitis B and hepatitis C viruses in hepatocellular carcinoma: a systematic review. *British journal of cancer*, 96(7), 1127.
25. **El-Serag, H. B., Marrero, J. A., Rudolph, L., & Reddy, K. R. (2008).** Diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 134(6), 1752-1763.
26. **Poon, D., Anderson, B. O., Chen, L. T., Tanaka, K., Lau, W. Y., Van Cutsem, E., & Khin, M. W. (2009).** Management of hepatocellular carcinoma in Asia: consensus

- statement from the Asian Oncology Summit 2009. *The lancet oncology*, 10(11), 1111-1118.
27. Wang, F. S., Fan, J. G., Zhang, Z., Gao, B., & Wang, H. Y. (2014). The global burden of liver disease: the major impact of China. *Hepatology*, 60(6), 2099-2108.
28. Franceschi, S., Montella, M., Polesel, J., La Vecchia, C., Crispo, A., Dal Maso, L., & Trépo, C. (2006). Hepatitis viruses, alcohol, and tobacco in the etiology of hepatocellular carcinoma in Italy. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 15(4), 683-689.
29. Harir, N., Zeggai, S., Tou, A., & Yekoru, D. J. (2016). Carcinome hépatocellulaire dans l'Ouest Algérien: profil épidémiologiques et clinico-pathologiques. *Rev. méd. Madag*, 6(1), 681-685.
30. Parkin, D. M., Bray, F., Ferlay, J., & Jemal, A. (2014). Cancer in africa 2012. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 23(6), 953-966.
31. Bressac, B., Kew, M., Wands, J., & Ozturk, M. (1991). Selective G to T mutations of p53 gene in hepatocellular carcinoma from southern Africa. *Nature*, 350(6317), 429.
32. Theise, N. D. (1996). Cirrhosis and hepatocellular neoplasia: more like cousins than like parent and child. *Gastroenterology*, 111(2), 526-528.
33. Portmann, B. C. (1994). Disease of the bile duct. *Pathology of the Liver*, 435-506.
34. Baghriche, I., Turlin, B., & Deungnier, Y. **Etude anatomopathologique des cirrhoses (1996)**. Anatomopathologie des cirrhoses hépatiques et des lésions préneoplasiques. EMC (Elsevier, paris), Hépatologie, 34(7), 8-10.
35. Norder, H., Couroucé, A. M., Coursaget, P., Echevarria, J. M., Shou-Dong, L., Mushahwar, I. K., & Magnusius, L. O. (2004). Genetic diversity of hepatitis B virus strains derived worldwide: genotypes, subgenotypes, and HBsAg subtypes. *Intervirology*, 47(6), 289.
36. Chang, M. H., Chen, C. J., Lai, M. S., Hsu, H. M., Wu, T. C., Kong, M. S., & Chen, D. S. (1997). Universal hepatitis B vaccination in Taiwan and the incidence of hepatocellular carcinoma in children. *New England Journal of Medicine*, 336(26), 1855-1859.
37. Rubbia-Brandt, L., & Negro, F. (2003). Stéatose du foie lors d'hépatite chronique virale C: à la recherche du coupable: Pathologie pratique. *Médecine et Hygiène*, 61(2460), 2346-2351.
38. Liang, T. J., & Heller, T. (2004). Pathogenesis of hepatitis C—associated hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology*, 127(5), S62-S71.
39. Prati, D. (2006). Transmission of hepatitis C virus by blood transfusions and other medical procedures: a global review. *Journal of hepatology*, 45(4), 607-616.

40. **Ishak, K. G., Anthony, P. P., & Sobin, L. H. (2012).** Histological typing of tumours of the liver. Springer Science & Business Media.
41. Cours du Diplôme d'Université Faculté de Médecine Saint Antoine Dominique Wendum 7 au 11 Juin 1999
42. **Berger, A. C., Farma, J., Scott, W. J., Freedman, G., Weiner, L., Cheng, J. D., & Goldberg, M. (2005).** Complete response to neoadjuvant chemoradiotherapy in esophageal carcinoma is associated with significantly improved survival. *Journal of clinical oncology*, 23(19), 4330-4337.
43. **Pickren, J.W., Tsukada, Y., & Lane, W. (1982).** Liver metastases: analysis of autopsy data. Weiss L, Gilbert HA. Hall Medical Publishers: Boston, 2-18.
44. **Motola-Kuba, D., Zamora-Valdés, D., Uribe, M., & Méndez-Sánchez, N. (2006).** Hepatocellular carcinoma. An overview. *Annals of hepatology*, 5(1), 16-24.
45. **Craig, J.R. (1989).** Tumours of the liver and intrahepatic bile duct. Atlas of tumour pathology.
46. **French, S. W. (2008).** Metastatic patterns of cancers: results from a large autopsy study. *Arch Pathol Lab Med*, 132, 931.
47. **Bayon, L. G., Izquierdo, M. A., Sirovich, I., van Rooijen, N. I. C. O., Beelen, R. H., & Meijer, S. (1996).** Role of Kupffer cells in arresting circulating tumor cells and controlling metastatic growth in the liver. *Hepatology*, 23(5), 1224-1231.
48. **Kan, Z., Ivancev, K., Lunderquist, A., McCuskey, P. A., McCuskey, R. S., & Wallace, S. (1995).** In vivo microscopy of hepatic metastases: dynamic observation of tumor cell invasion and interaction with Kupffer cells. *Hepatology*, 21(2), 487-494
49. **Pereira-Lima, J. E., Lichtenfels, E., Barbosa, F. S., Zettler, C. G., & Kulczynski, J.M. (2003).** Prevalence study of metastases in cirrhotic livers. *Hepato-gastroenterology*, 50(53), 1490-1495.
50. **Maeda, M., Nagawa, H., Maeda, T., Koike, H., & Kasai, H. (1998).** Alcohol consumption enhances liver metastasis in colorectal carcinoma patients. *Cancer*, 83(8), 1483-1488.
51. **Singh, N., Bergman, L., Seregard, S., & Singh, A. D. (2014).** Uveal melanoma : epidemiologic aspects. In *Clinical Ophthalmic Oncology* (pp. 75-87).
52. **Jaffe, E. S. (1987, August).** Malignant lymphomas: pathology of hepatic involvement. In *Seminars in liver disease* (Vol. 7, No. 03, pp. 257-268).
53. **Jaques, D. P., Coit, D. G., Casper, E. S., & Brennan, M. F. (1995).** Hepatic metastases from soft-tissue sarcoma. *Annals of surgery*, 221(4), 392.
54. **Bosman, F. T., Carneiro, F., Hruban, R. H., & Theise, N. D. (2010).** WHO classification of tumours of the digestive system (No. Ed. 4). World Health Organization, 205-216.

55. Kakar, S., Gown, A. M., Goodman, Z. D., & Ferrell, L. D. (2007). Best practices in diagnostic immunohistochemistry: hepatocellular carcinoma versus metastatic neoplasms. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 131(11), 1648-1654.
56. Ligato, S., Mandich, D., & Cartun, R. W. (2008). Utility of glypican-3 in differentiating hepatocellular carcinoma from other primary and metastatic lesions in FNA of the liver: an immunocytochemical study. *Modern Pathology*, 21(5), 626.
57. Shafizadeh, N., Ferrell, L. D., & Kakar, S. (2008). Utility and limitations of glypican-3 expression for the diagnosis of hepatocellular carcinoma at both ends of the differentiation spectrum. *Modern Pathology*, 21(8), 1011.
58. S-Y Leong, A., Sormunen, R. T., Tsui, W. M. S., & Liew, C. T. (1998). Hep Par 1 and selected antibodies in the immunohistological distinction of hepatocellular carcinoma from cholangiocarcinoma, combined tumours and metastatic carcinoma. *Histopathology*, 33(4), 318-324.
59. Oien, K. A. (2009). Pathologic evaluation of unknown primary cancer. In *Seminars in oncology* (Vol. 36, No. 1, pp. 8-37).
60. Maeda, T., Kajiyama, K., Adachi, E., Takenaka, K., Sugimachi, K., & Tsuneyoshi, M. (1996). The expression of cytokeratins 7, 19, and 20 in primary and metastatic carcinomas of the liver. *Modern pathology: an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*, 9(9), 901-909.
61. Rullier, A., Le Bail, B., Fawaz, R., Blanc, J. F., Saric, J., & Bioulac-Sage, P. (2000). Cytokeratin 7 and 20 expression in cholangiocarcinomas varies along the biliary tract but still differs from that in colorectal carcinoma metastasis. *The American journal of surgical pathology*, 24(6), 870-876.
62. Werling, R. W., Yaziji, H., Bacchi, C. E., & Gown, A. M. (2003). CDX2, a highly sensitive and specific marker of adenocarcinomas of intestinal origin: an immunohistochemical survey of 476 primary and metastatic carcinomas. *The American journal of surgical pathology*, 27(3), 303-310.
63. Khunamornpong, S., Lerwill, M. F., Siriaunkgul, S., Suprasert, P., Pojchamarnwiputh, S., Chiangmai, W. N., & Young, R. H. (2008). Carcinoma of extrahepatic bile ducts and gallbladder metastatic to the ovary: a report of 16 cases. *International journal of gynecological pathology*, 27(3), 366-379.
64. O'Connell, F. P., Wang, H. H., & Odze, R. D. (2005). Utility of immunohistochemistry in distinguishing primary adenocarcinomas from metastatic breast carcinomas in the gastrointestinal tract. *Archives of pathology & laboratory medicine*, 129(3), 338-347.
65. Tong, G. X., Woojin, M. Y., Beaubier, N. T., Weeden, E. M., Hamele-Bena, D., Mansukhani, M. M., & O'toole, K. M. (2009). Expression of PAX8 in normal and neoplastic renal tissues: an immunohistochemical study. *Modern Pathology*, 22(9), 1218.

66. Cavard, C., Colnot, S., Audard, V., Benhamouche, S., Finzi, L., Torre, C., & Perret, C. (2008). Wnt/ β -catenin pathway in hepatocellular carcinoma pathogenesis and liver physiology.
67. Valenta, T., Hausmann, G., & Basler, K. (2012). The many faces and functions of β -catenin. *The EMBO journal*, 31(12), 2714-2736.
68. Davidson, G., Wu, W., Shen, J., Bilic, J., Fenger, U., Stanek, P., & Niehrs, C. (2005). Casein kinase 1 γ couples Wnt receptor activation to cytoplasmic signal transduction. *Nature*, 438(7069), 867.
69. Schwarz-Romond, T., Fiedler, M., Shibata, N., Butler, P. J. G., Kikuchi, A., Higuchi, Y., & Bienz, M. (2007). The DIX domain of Dishevelled confers Wnt signaling by dynamic polymerization. *Nature structural & molecular biology*, 14(6), 484.
70. Gao, C., & Chen, Y. G. (2010). Dishevelled: The hub of Wnt signaling. *Cellular signalling*, 22(5), 717-727.
71. Vlad, A., Röhrs, S., Klein-Hitpass, L., & Müller, O. (2008). The first five years of the Wnt targetome. *Cellular signalling*, 20(5), 795-802.
72. Cadigan, K. M., & Waterman, M. L. (2012). TCF/LEFs and Wnt signaling in the nucleus. *Cold Spring Harbor perspectives in biology*, 4(11).
73. Kaidi, A., Williams, A. C., & Paraskeva, C. (2007). Interaction between β -catenin and HIF-1 promotes cellular adaptation to hypoxia. *Nature cell biology*, 9(2), 210.
74. Essers, M. A., de Vries-Smits, L. M., Barker, N., Polderman, P. E., Burgering, B. M., & Korswagen, H. C. (2005). Functional interaction between β -catenin and FOXO in oxidative stress signaling. *Science*, 308(5725), 1181-1184.
75. Thompson, M. D., & Monga, S. P. (2007). WNT/ β -catenin signaling in liver health and disease. *Hepatology*, 45(5), 1298-1305.
76. Monga, S. P. (2015). β -catenin signaling and roles in liver homeostasis, injury, and tumorigenesis. *Gastroenterology*, 148(7), 1294-1310.
77. Taipale, J., & Beachy, P. A. (2001). The Hedgehog and Wnt signalling pathways in cancer. *Nature*, 411(6835), 349.
78. Kelleher, F. C., Fennelly, D., & Rafferty, M. (2006). Common critical pathways in embryogenesis and cancer. *Acta oncologica*, 45(4), 375-388.
79. Waisberg, J., & Saba, G. T. (2015). Wnt/ β -catenin pathway signaling in human hepatocellular carcinoma. *World journal of hepatology*, 7(26), 2631.
80. Chai, S., Ng, K. Y., Tong, M., Lau, E. Y., Lee, T. K., Chan, K. W., & Wong, N. (2016). Octamer 4/microRNA-1246 signaling axis drives Wnt/ β -catenin activation in liver cancer stem cells. *Hepatology*, 64(6), 2062-2076.

- 81. Ding, S. L., Yang, Z. W., Wang, J., Zhang, X. L., Chen, X. M., & Lu, F. M. (2015).** Integrative analysis of aberrant Wnt signaling in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 21(20), 6317.
- 82. Tornesello, M. L., Buonaguro, L., Tatangelo, F., Botti, G., Izzo, F., & Buonaguro, F. M. (2013).** Mutations in TP53, CTNNB1 and PIK3CA genes in hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Genomics*, 102(2), 74-83.
- 83. Schulze, K., Imbeaud, S., Letouzé, E., Alexandrov, L. B., Calderaro, J., Rebouissou, S., & Calatayud, A. L. (2015).** Exome sequencing of hepatocellular carcinomas identifies new mutational signatures and potential therapeutic targets. *Nature genetics*, 47(5), 505.
- 84. Beauchemin, N., Draber, P., Dveksler, G., Gold, P., Gray-Owen, S., Grunert, F., & Lin, S.H. (1999).** Redefined nomenclature for members of the carcinoembryonic antigen family. *Experimental cell research*, 252(2), 243.
- 85. Hammarstrom, S., Olsen, A., Teglund, S., & Baranov, V. (1998).** The nature and expression of the human CEA family. In *Cell Adhesion and Communication Mediated by the CEA Family* (pp. 20-51). CRC Press.
- 86. Hammarström, S. (1999, April).** The carcinoembryonic antigen (CEA) family: structures, suggested functions and expression in normal and malignant tissues. In *Seminars in cancer biology* (Vol. 9, No. 2, pp. 67-81). Academic Press.
- 87. Iqbal, W., Alkarim, S., Mohammed Ali, H. S. H., & Saini, K. S. (2017).** CEACAM gene family: a circuitous journey towards metastasis in breast cancer. *MOJ Immunol*, 5(4).
- 88. Rizeq, B., Zakaria, Z., & Ouhtit, A. (2018).** Towards understanding the mechanisms of actions of carcinoembryonic antigen-related cell adhesion molecule 6 in cancer progression. *Cancer science*, 109(1), 33-42.
- 89. Zebhauser, R., Kammerer, R., Eisenried, A., McLellan, A., Moore, T., & Zimmermann, W. (2005).** Identification of a novel group of evolutionarily conserved members within the rapidly diverging murine Cea family. *Genomics*, 86(5), 566-580.
- 90. Buntru, A., Roth, A., Nyffenegger-Jann, N. J., & Hauck, C. R. (2012).** HemITAM signaling by CEACAM3, a human granulocyte receptor recognizing bacterial pathogens. *Archives of biochemistry and biophysics*, 524(1), 77-83.
- 91. Gray-Owen, S. D., & Blumberg, R. S. (2006).** CEACAM1: contact-dependent control of immunity. *Nature Reviews Immunology*, 6(6), 433.
- 92. Lee, J. H., & Lee, S. W. (2017).** The roles of carcinoembryonic antigen in liver metastasis and therapeutic approaches. *Gastroenterology research and practice*.
- 93. Gupta, G. P., & Massagué, J. (2006).** Cancer metastasis: building a framework. *Cell*, 127(4), 679-695.

- 94. Steeg, P. S. (2006).** Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nature medicine*, 12(8), 895.
- 95. Valastyan, S., & Weinberg, R. A. (2011).** Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell*, 147(2), 275-292.
- 96. Fidler, I. J. (2003).** The pathogenesis of cancer metastasis: the 'seed and soil' hypothesis, revisited. *Nature Reviews Cancer*, 3(6), 453.
- 97. Nguyen, D. X., Bos, P. D., & Massagué, J. (2009).** Metastasis: from dissemination to organ specific colonization. *Nature Reviews Cancer*, 9(4), 274.
- 98. Lin, E. Y., Nguyen, A. V., Russell, R. G., & Pollard, J. W. (2001).** Colony stimulating factor 1 promotes progression of mammary tumors to malignancy. *Journal of Experimental Medicine*, 193(6), 727-740.
- 99. Auguste, P., Fallavollita, L., Wang, N., Burnier, J., Bikfalvi, A., & Brodt, P. (2007).** The host inflammatory response promotes liver metastasis by increasing tumor cell arrest and extravasation. *The American journal of pathology*, 170(5), 1781-1792.
- 100. Hatate, K., Yamashita, K., Hirai, K., Kumamoto, H., Sato, T., Ozawa, H., & Watanabe, M. (2008).** Liver metastasis of colorectal cancer by protein-tyrosine phosphatase type 4A,3 (PRL-3) is mediated through lymph node metastasis and elevated serum tumor markers such as CEA and CA19-9. *Oncology reports*, 20(4), 737-743.
- 101. Hashino, J., Fukuda, Y., Oikawa, S., Nakazato, H., & Nakanishi, T. (1994).** Metastatic potential of human colorectal carcinoma SW1222 cells transfected with cDNA encoding carcinoembryonic antigen. *Clinical & experimental metastasis*, 12(4), 324-328.
- 102. Frisch, S. M., & Screaton, R. A. (2001).** Anoikis mechanisms. *Current opinion in cell biology*, 13(5), 555-562.
- 103. Samara, R. N., Laguinge, L. M., & Jessup, J. M. (2007).** Carcinoembryonic antigen inhibits anoikis in colorectal carcinoma cells by interfering with TRAIL-R2 (DR5) signaling. *Cancer research*, 67(10), 4774-4782.
- 104. Palermo, N. Y., Thomas, P., Murphy, R. F., & Lovas, S. (2012).** Hexapeptide fragment of carcinoembryonic antigen which acts as an agonist of heterogeneous ribonucleoprotein M. *Journal of Peptide Science*, 18(4), 252-260.
- 105. Frisch, S. M., & Screaton, R. A. (2001).** Anoikis mechanisms. *Current opinion in cell biology*, 13(5), 555-562.
- 106. Paoli, P., Giannoni, E., & Chiarugi, P. (2013).** Anoikis molecular pathways and its role in cancer progression. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*, 1833(12), 3481-3498.

107. **Vachon, P. H. (2011).** Integrin signaling, cell survival, and anoikis: distinctions, differences, and differentiation. *Journal of signal transduction*, 2011.
108. **Laguinge, L. M., Samara, R. N., Wang, W., El-Deiry, W. S., Corner, G., Augenlicht, L., & Jessup, J. M. (2008).** DR5 receptor mediates anoikis in human colorectal carcinoma cell lines. *Cancer Research*, 68(3), 909-917.
109. **Samara, R. N., Laguinge, L. M., & Jessup, J. M. (2007).** Carcinoembryonic antigen inhibits anoikis in colorectal carcinoma cells by interfering with TRAIL-R2 (DR5) signaling. *Cancer research*, 67(10), 4774-4782.
110. **Lee, Y. J., Han, S. R., Kim, N. Y., Lee, S. H., Jeong, J. S., & Lee, S. W. (2012).** An RNA aptamer that binds carcinoembryonic antigen inhibits hepatic metastasis of colon cancer cells in mice. *Gastroenterology*, 143(1), 155-165.
111. **Li, Y., Cao, H., Jiao, Z., Pakala, S. B., Sirigiri, D. N. R., Li, W., & Mishra, L. (2010).** Carcinoembryonic antigen interacts with TGF- β receptor and inhibits TGF- β signaling in colorectal cancers. *Cancer research*, 70(20), 8159-8168.
112. **Ovchinnikov, D. A. (2008).** Macrophages in the embryo and beyond: much more than just giant phagocytes. *genesis*, 46(9), 447-462.
113. **Jenne, C. N., & Kubes, P. (2013).** Immune surveillance by the liver. *Nature immunology*, 14(10), 996.
114. **Zimmer, R., & Thomas, P. (2001).** Mutations in the carcinoembryonic antigen gene in colorectal cancer patients: implications on liver metastasis. *Cancer research*, 61(7), 2822-2826.
115. **Venables, J. P., Koh, C. S., Froehlich, U., Lapointe, E., Couture, S., Inkel, L., & Lucier, J. F. (2008).** Multiple and specific mRNA processing targets for the major human hnRNP proteins. *Molecular and cellular biology*, 28(19), 6033-6043.
116. **Thomas, P., Forse, R. A., & Bajenova, O. (2011).** Carcinoembryonic antigen (CEA) and its receptor hnRNP M are mediators of metastasis and the inflammatory response in the liver. *Clinical & experimental metastasis*, 28(8), 923-932.
117. **Paschos, K. A., Majeed, A. W., & Bird, N. C. (2010).** Role of Kupffer cells in the outgrowth of colorectal cancer liver metastases. *Hepatology Research*, 40(1), 83-94.
118. **Minami, S., Furui, J., & Kanematsu, T. (2001).** Role of carcinoembryonic antigen in the progression of colon cancer cells that express carbohydrate antigen. *Cancer research*, 61(6), 2732-2735.
119. **Van den Eynden, G. G., Majeed, A. W., Illemann, M., Vermeulen, P. B., Bird, N. C., Hoyer-Hansen, Brodt, P. (2013).** The multifaceted role of the microenvironment in liver metastasis: biology and clinical implications. *Cancer research*, 73(7), 2031-2043.

120. Jessup, J. M., Samara, R., Battle, P., & Laguinge, L. M. (2005). Carcinoembryonic antigen promotes tumor cell survival in liver through an IL-10-dependent pathway. *Clinical & experimental metastasis*, 21(8), 709-717.
121. Ashizawa, T., Okada, R., Suzuki, Y., Takagi, M., Yamazaki, T., Sumi, & Aoki, T. (2006). Study of interleukin-6 in the spread of colorectal cancer: the diagnostic significance of IL-6. *Acta Medica Okayama*, 60(6), 325-330.
122. Nakagoe, T., Tsuji, T., Sawai, T., Tanaka, K., Hidaka, S., Shibasaki, & Inokuchi, N. (2003). The relationship between circulating interleukin-6 and carcinoembryonic antigen in patients with colorectal cancer. *Anticancer research*, 23(4), 3561-3564.
123. Taheri, M., Saragovi, U., Fuks, A., Makkerh, J., Mort, J., & Stanners, C. P. (2000). Self recognition in the Ig superfamily Identification of precise subdomains in carcinoembryonic antigen required for intercellular adhesion. *Journal of Biological Chemistry*, 275(35), 26935-26943
124. Bonsor, D. A., Günther, S., Beadenkopf, R., Beckett, D., & Sundberg, E. J. (2015). Diverse oligomeric states of CEACAM IgV domains. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(44), 13561-13566.
125. Camacho-Leal, P., Zhai, A. B., & Stanners, C. P. (2007). A co-clustering model involving a 5B1 integrin for the biological effects of GPI-anchored human carcinoembryonic antigen (CEA). *Journal of cellular physiology*, 211(3), 791-802.
126. Kim, S. W., Roh, J., & Park, C. S. (2016). Immunohistochemistry for pathologists: protocols, pitfalls, and tips. *Journal of pathology and translational medicine*, 50(6), 411.
127. Zucman-Rossi, J., Jeannot, E., Van Nhieu, J. T., Scoazec, J. Y., Guettier, C., Rebouissou, S., & Wendum, D. (2006). Genotype-phenotype correlation in hepatocellular adenoma: new classification and relationship with HCC. *Hepatology*, 43(3), 515-524.
128. Hammoud, D., Ait Hamadouche, N., Boutekdjiret, L., Kadri, C., Khida, N., Oukaci, H., & ddouche, R. *Registre des tumeurs d'Alger source INSP 2016*.
129. Lee, J. W., Stone, M. L., Porrett, P. M., Thomas, S. K., Komar, C. A., Li, J. H., & Black, T. A. (2019). Hepatocytes direct the formation of a pro-metastatic niche in the liver. *Nature*, 567(7747), 249.
130. Hess, K. R., Varadhachary, G. R., Taylor, S. H., Wei, W., Raber, M. N., Lenzi, R., & Abbruzzese, J. L. (2006). Metastatic patterns in adenocarcinoma. *Cancer*, 106(7), 1624-1633.
131. Chikhi, Y. (2016). *Carcinomes Hepatocellulaires Caractéristiques Anatomocliniques et Evolutives (Doctoral dissertation)*.
132. Pascual, S., Herrera, I., & Irurzun, J. (2016). New advances in hepatocellular carcinoma. *World journal of hepatology*, 8(9), 421.

133. **Zhu, R. X., Seto, W. K., Lai, C. L., & Yuen, M. F. (2016).** Epidemiology of hepatocellular carcinoma in the Asia-Pacific region. *Gut and liver*, 10(3), 332.
134. **McGlynn, K. A., Petrick, J. L., & London, W. T. (2015).** Global epidemiology of hepatocellular carcinoma: an emphasis on demographic and regional variability. *Clinics in liver disease*, 19(2), 223-238.
135. **Gomes, M. A., Priolli, D. G., Tralhao, J. G., & Botelho, M. F. (2013).** Hepatocellular carcinoma: epidemiology, biology, diagnosis, and therapies. *Revista da Associação Médica Brasileira (English Edition)*, 59(5), 514-524.
136. **El-Serag, H. B., & Rudolph, K. L. (2007).** Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology*, 132(7), 2557-2576.
137. **Perugorria, M. J., Olaizola, P., Labiano, I., Esparza-Baquer, A., Marzioni, M., Marin, J. J., & Banales, J. M. (2018).** Wnt- β -catenin signalling in liver development, health and disease. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*.
138. **Martínez, Ó. N., Pena, A. M., Rodríguez, B. M., Sánchez, A. D., Rodríguez, A. C., Botella, E. R., & Ricote, G. C. (2011).** Descriptive study of hepatocellular carcinoma in noncirrhotic liver. *Gastroenterología y Hepatología*, 34(5), 322-328.
139. **Alkofer, B., Lepennec, V., & Chiche, L. (2011).** Hepatocellular cancer in the non-cirrhotic liver. *Journal of visceral surgery*, 148(1), 3-11.
140. **Tastekin, E., Usta, U., Ege, T., Kazindir, G., & Kutlu, A. K. (2012).** Cardiac metastasis of hepatocellular carcinoma in a young non-cirrhotic patient, to the left ventricle. *Annals of hepatology*, 11(3), 392-394.
141. **Thomas, D. B., Hall, A. B., & Michel, M. (2011).** Non-cirrhotic hepatocellular carcinoma in a young active duty male. *Military medicine*, 176(4), 475-476.
142. **Singh, P., Kaur, H., Lerner, R. G., Patel, R., Rafiyath, S. M., & Lamba, G. S. (2012).** Hepatocellular carcinoma in non-cirrhotic liver without evidence of iron overload in a patient with primary hemochromatosis. *Review. Journal of gastrointestinal cancer*, 43(1), 36-39.
143. **Witjes, C. D., ten Kate, F. J., van Aalten, S. M., Dwarkasing, R. S., Willemssen, F. E., Verhoef, C., & IJzermans, J. N. (2012).** Hepatocellular adenoma as a risk factor for hepatocellular carcinoma in a non-cirrhotic liver: a plea against. *Gut*, 61(11), 1645-1646.
144. **Létourneau, S., & Beauchemin, N. (1997).** Rôles des antigènes carcino-embryonnaires dans la cancérisation et la progression tumorale.
145. **Tchoupa, A. K., Schuhmacher, T., & Hauck, C. R. (2014).** Signaling by epithelial members of the CEACAM family—mucosal docking sites for pathogenic bacteria. *Cell Communication and Signaling*, 12(1), 27.
146. **Nazih, F., & Delbart, C. (1998).** Transmission du signal intracellulaire par les protéines ancrées par un glycosyl-phosphatidylinositol. *14(3)*, 275-82.
147. **Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011).** Hallmarks of cancer: the next generation. *cell*, 144(5), 646-674.

148. **Ferguson, M. A. (1991).** Lipid anchors on membrane proteins. *Current Opinion in Structural Biology*, 1(4), 522-529.
149. **Ding, S. L., Yang, Z. W., Wang, J., Zhang, X. L., Chen, X. M., & Lu, F. M. (2015).** Integrative analysis of aberrant Wnt signaling in hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 21(20), 6317.
150. **Huang, W., Ma, K., Zhang, J., Qatanani, M., Cuvillier, J., Liu, J., & Moore, D. D. (2006).** Nuclear receptor-dependent bile acid signaling is required for normal liver regeneration. *Science*, 312(5771), 233-236.
151. **Liu, Y., El-Serag, H. B., Jiao, L., Lee, J., Moore, D., Franco, L. M., & White, D. L. (2013).** WNT signaling pathway gene polymorphisms and risk of hepatic fibrosis and inflammation in HCV-infected patients. *PLoS One*, 8(12), e84407.
152. **Myung, S. J., Yoon, J. H., Gwak, G. Y., Kim, W., Lee, J. H., Kim, K. M., & Lee, H. S. (2007).** Wnt signaling enhances the activation and survival of human hepatic stellate cells. *FEBS letters*, 581(16), 2954-2958.
153. **Audard, V., Grimber, G., Elie, C., Radenen, B., Audebourg, A., Letourneur, F., & Terris, B. (2007).** Cholestasis is a marker for hepatocellular carcinomas displaying β -catenin mutations. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 212(3), 345-352.
154. **Nejak-Bowen, K. N., Thompson, M. D., Singh, S., Bowen Jr, W. C., Dar, M. J., Khillan, J., & Monga, S. P. (2010).** Accelerated liver regeneration and hepatocarcinogenesis in mice overexpressing serine-45 mutant β -catenin. *Hepatology*, 51(5), 1603-1613.
155. **Ge, W. S., Wang, Y. J., Wu, J. X., Fan, J. G., Chen, Y. W., & Zhu, L. (2014).** β -catenin is overexpressed in hepatic fibrosis and blockage of Wnt/ β -catenin signaling inhibits hepatic stellate cell activation. *Molecular medicine reports*, 9(6), 2145-2151.
156. **Colnot, S., Decaens, T., Niwa-Kawakita, M., Godard, C., Hamard, G., Kahn, A., & Perret, C. (2004).** Liver-targeted disruption of Apc in mice activates β -catenin signaling and leads to hepatocellular carcinomas. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(49), 17216-17221.
157. **Lian, Z., Liu, J., Li, L., Li, X., Clayton, M., Wu, M. C., & Feitelson, M. A. (2006).** Enhanced cell survival of Hep3B cells by the hepatitis B x antigen effector, URG11, is associated with upregulation of β -catenin. *Hepatology*, 43(3), 415-424.
158. **Chen, Y. W., Jeng, Y. M., Yeh, S. H., & Chen, P. J. (2002).** P53 gene and Wnt signaling in benign neoplasms: β -catenin mutations in hepatic adenoma but not in focal nodular hyperplasia. *Hepatology*, 36(4), 927-935.
159. **Calvisi, D. F., Factor, V. M., Loi, R., & Thorgeirsson, S. S. (2001).** Activation of β -catenin during hepatocarcinogenesis in transgenic mouse models: relationship to phenotype and tumor grade. *Cancer research*, 61(5), 2085-2091.

- 160. Yuzugullu, H., Benhaj, K., Ozturk, N., Senturk, S., Celik, E., Toyly, A., &Atabey, N. (2009).**Canonical Wnt signaling is antagonized by noncanonical Wnt5a in hepatocellular carcinoma cells. *Molecular cancer*, 8(1), 90.
- 161. Hamelin, R., & Duval, A. (2003).** β -caténine et contrôle de la prolifération des cellules intestinales normales et cancéreuses. *médecine/sciences*, 19(8-9), 788-790.
- 162. Romagnolo, B.(1997).** APC, beta-caténine et cancer: les diaboliques. *médecine/sciences*,13(67),872-3
- 163. Eguether, T. (2009).**Rôle de la protéine beta-caténine dans la prolifération du lignage mélanocytaire (Doctoral dissertation, UHP-Université Henri Poincaré).
- 164. Zhan, T., Rindtorff, N., & Boutros, M. (2017).** Wnt signaling in cancer. *Oncogene*, 36(11),1461.
- 165. Iacobuzio-Donahue, C. A., & Montgomery, E. A. (2011).** Gastrointestinal and Liver Pathology E-Book: A Volume in the Series: Foundations in Diagnostic Pathology. ElsevierHealth Sciences,626-687.
- 166. Charpin, C., Bonnier, P., Garcia, S., Andrac, L., Crebassa, B., Dorel, M., &Allasia, C (1999).** E-cadherin and beta-catenin expression in breast medullary carcinomas. *Internationaljournal of oncology*, 15(2), 285-377.
- 167. Gauchotte, G., Gauchotte, E., Bressenot, A., Verhaeghe, J. L., Guillemin, F., Leroux, A.,& Genin, P. (2011, February).**Metaplasticcarcinomas of the breast: a morphological andimmunohistochemical study. In *Annales de pathologie* (Vol. 31, No. 1, pp. 18-27).
- 168. Scoazec, J. Y. (2006, June).** Les polypes gastriques: pathologie et génétique. In *Annales de Pathologie* (Vol. 26, No. 3, pp. 173-199). Elsevier Masson.
- 169. Chilosì, M., Poletti, V., Zamò, A., Lestani, M., Montagna, L., Piccoli, P., &Cancellieri, A. (2003).**Aberrant Wnt/ β -catenin pathway activation in idiopathic pulmonary fibrosis. *TheAmerican journal of pathology*, 162(5), 1495-1502.
- 170. Mazieres, J., He, B., You, L., Xu, Z., &Jablons, D. M. (2005).** Wnt signaling in lung cancer. *Cancer letters*, 222(1), 1-10.
- 171. Christou, N., Perraud, A., Blondy, S., Jauberteau, M. O., Battu, S., &Mathonnet, M. (2017).**E-cadherin: A potential biomarker of colorectal cancer prognosis. *Oncologyletters*, 13(6), 4571-4576.
- 172. Huang, H., Fujii, H., Sankila, A., Mahler-Araujo, B. M., Matsuda, M., Cathomas, G., &Ohgaki, H. (1999).** β -catenin mutations are frequent in human hepatocellular carcinomasassociated with hepatitis C virus infection. *The American journal of pathology*, 155(6), 1795-1801.

173. **Brembeck, F. H., Rosário, M., & Birchmeier, W. (2006).** Balancing cell adhesion and Wnt signaling, the key role of β -catenin. *Current opinion in genetics & development*, 16(1), 51-59.

Annexes

Réception et enregistrement :

A leurs arrivés, les pièces opératoires sont remises au laboratoire d'anatomopathologie, où elles reçoivent un numéro d'enregistrement et une fiche comprenant les informations cliniques des patients.

Examen macroscopique :

L'examen macroscopique, partie essentielle de l'étude, où la pièce opératoire sera examinée, mesurée, pesée, palpée puis disséquée par le pathologiste afin d'étudier les caractéristiques du foyer tumoral (organisation, forme, couleur, présence d'hémorragie) et permet par la suite de sélectionner les zones à prélever pour l'étude microscopique. Les fragments sélectionnés sont ensuite mis dans des cassettes.

Matériels et appareillage :

- chambre humide.
- Cassettes d'inclusion en plastique
- Micropipettes réglables avec cônes adaptables
- Porte lames
- Buvard
- Minuterie
- Bacs et paniers à coloration
- Lames d'étalement en verre/ Lamelles, réf. ?
- Lames silanisées (Dako, S2024)
- Graveur (diamantin)
- Stylo délimitant : Dako Pen (S2002)
- Microtome (Leica, Model RM 2125)
- Plaque chauffante (Leica)
- Etuve Sakura Tj
- Bain marie
- Eukitt FSC2
- Microscope photonique Leica RM 2235
- Logiciels électroniques : Excel, (Asez, Leica)

Réactifs utilisés :

- Peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (réf.S2023).
- Hématoxyline, Eosine En Vision (réf.SM806).
- Solution TRS EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH(x50) (réf.DM828).
- Tampon de lavage EnVision™ FLEX TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween) (x20) (DM831) (réf.K8007).
- Anti-corps anti β catenine. Dako FLEX monoclonal Mouse Anti-human clone beta-catenine1
- Anti corps anti ACE, VENTANA (réf.TF3H8-1)
- Le réactif de détection Dako EnVision™ FLEX/HRP (réf.SM802).
- Le système du substrat contenu dans le kit est formé de deux composants : le produit EnVision™ FLEX DAB +chromogène (réf.DM827).
- Tompon du substrat EnVision™ FLEX (réf.SM803)
- Ammoniaque.
- Fixateur formaldéhyde a 10%.
- Ethanol à 50°,60°,70°,80°,90% et 100%.
- Paraffine liquide.
- Eau distillé et eau du robinet
- Xylène.

Mode opératoire de la coloration (HE)

Les lames utilisées sont en verre, on y inscrit le matricule du patient ainsi que la coloration

Utilisée ici est la coloration à l'hématéine éosine, pour cette coloration on suivra les étapes suivantes :

- Disposer les lames sur une plaque chauffante à 60°C et recouvrir leurs surfaces d'eau distillée.
- déparaffiner les échantillons dans un bain de xylène pendant 10 min pour que les colorants puissent y pénétré.
- la réhydratation se fait par passage dans un bain d'éthanol décroissant 100%, 90% ensuite 70 % pendant 10 min puis on réhydrate à l'eau du robinet.
- immerger les coupes dans un bac remplie d'hématéine pendant 10 min ce qui va colorer en bleu violacé les structures basophiles (noyau cellulaire).

- Rincer à l'eau courante.
- La deuxième coloration se fait à l'éosine, qui va colorer en rose les structures acidophiles (cytoplasme cellulaire).
- Rincer à l'eau courante.
- L'étape suivante est le montage, qui consiste à fixer une lamelle sur une lame (lame en verre pour la coloration HE) sur les coupes histologiques après coloration
Cette étape permet la :
 - protection mécanique des coupes
 - protection chimique des colorants
- Sécher les lames puis observer au microscope photonique équipé d'un appareil photographique.

Technique d'immunohistochimie

Détection des molécules ACE et β -caténine et déterminé leur localisation et leur taux d'expression.

Mode opératoire :

Les lames silanisées sont marquées à l'aide d'un crayon du matricule du sujet ainsi que de l'anti corps (β -catenin ou ACE). On suit les étapes suivantes :

- Disposer les lames sur une plaque chauffante et recouvrir leurs surfaces d'eau distillée.
- Réalisation de coupe histologique à partir des blocs de paraffine, de 3 μ m de d'épaisseur à l'aide du microtome.
- Les prélèvements sont étalés sur des lames silanisées sur une plaque chauffante à 40°C
- Les lames sont incubées pendant une nuit dans une étuve à 50°C
- On peut déparaffiner par 3 bain de toluène de 5 min ensuite on lave à l'éthanol décroissant 100%, 95%, 70% pendant 5 min et on lave sous l'eau de robinet.
- Rincer a l'eau distillé.
- le démasquage se fait par bain marie 35 à 40 min entre 97 à 98° dans une solution de démasquage TRS (Target Retrieval Solution).
- laisse refroidir 20 min puis on lave avec l'eau distillée et on les met dans un bain de tampon TBS-T (tris-buffer saline solution containing tween x20, PH7, 6).
- Déposer les lames sur un plateau et entourer les coupes du Dako Pen

- Recouvrir d' H_2O_2 pendant 5 min (incuber) puis plongées dans 3 bains de tampon TBS-T froid pendant 5 min.
- Ajouter l'anti corps primaire (β -caténine ou ACE) à l'aide d'une micropipette
- Incubation à 30–60 min à température ambiante.
- Lavage au BS-T 3 fois pendant 5 min.
- Ajouter l'anti corps secondaire (non spécifique) et incuber pendant 30–60 min, à température ambiante et laver 3 fois pendant 5 min au TBS-T.
- On révèle la technique avec une solution de chromogène DAB (3,3 diaminobenzidine) dont on ajoute 1 goutte dans 1 ml de tampon et lavage à l'eau distillée.
- Contre coloration à l' Hématoxyline pendant 2 à3 min, .rincer à l'eau courante.
- Immerger les lames dans un bac d'eau ammoniaquée et laver a l'eau distillée.
- Montage, séchage et observation au microscope photonique.



Figure 28 : microtome Leica.



Figure 29 : étuve



Figure 30 : plaque chauffante.



Figure 31 : bain marie.



Figure 32 : automate Leica



Figure 33 : microscope Leica..



Figure 34 : appareil de mise en blocs leica + blocs

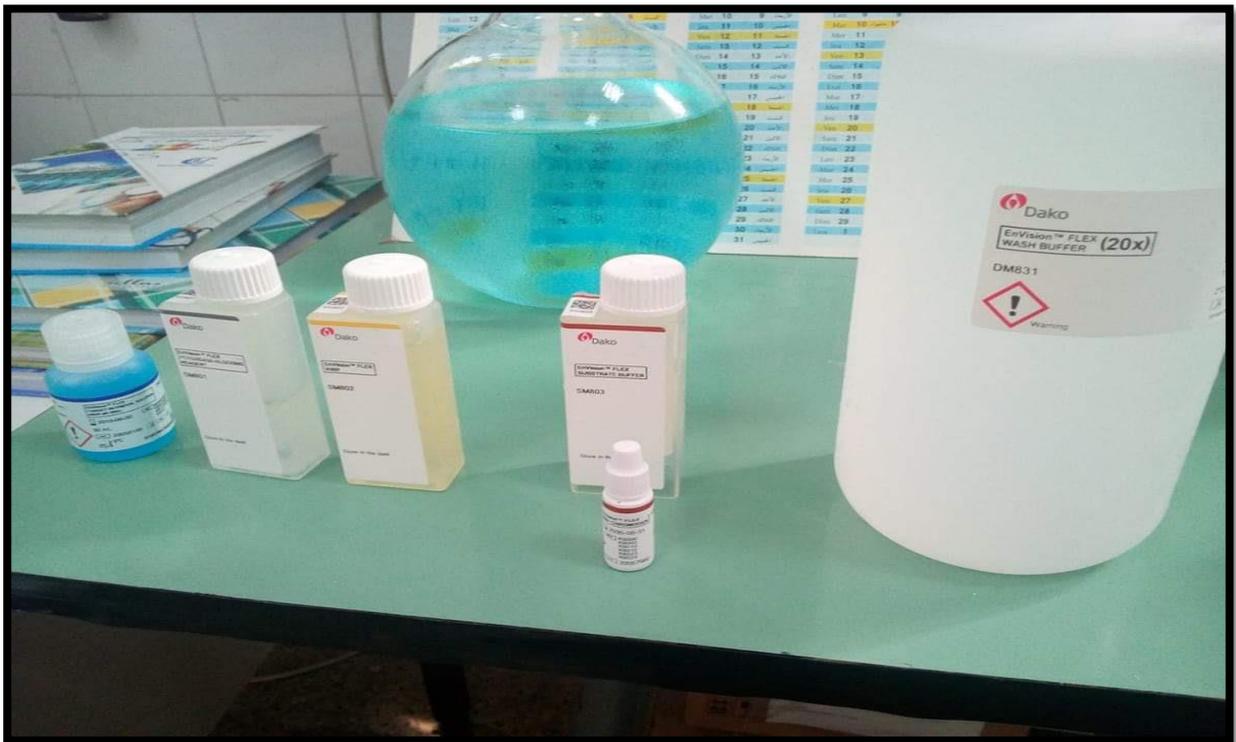


Figure 35 : kitt d'immunohistochimie



Figure 36 : chambre humide.



Figure 37 : anticorps primaire (ACE, β -Catenine).



Figure 38 : hématoxyline, éosine (EnVision).

Tableau I : Nombre et pourcentage des cas selon la localisation du marquage de la β -caténine et de l'ACE.

| | Hépatite (n=10) | Cirrhose (n=10) | CHC (n=10) | Métastase (n=10) |
|------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------|---------------------|
| β-Caténine | | | | |
| Membrane | 5(50%) | 8(80%) | 7(70%) | 10(100%) |
| Cytoplasme | 2(20%) | 5(50%) | 8(80%) | 10(100%) |
| Noyau | 0(0%) | 1(10%) | 1(10%) | 0% |
| ACE | | | | |
| Membrane | 0(0%) | 0(0%) | 0(0%) | 5(50%) |
| Cytoplasme | 0(0%) | 0(0%) | 0(0%) | 8(80%) |
| Noyau | 0(0%) | 0(0%) | 0(0%) | 0(0%) |

CHC : Carcinome Hépatocellulaire, ACE : Antigène Carcino Embryonnaire

Tableau II : Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans le cas d'hépatite.

| | β -Caténine | | | ACE |
|----|-------------------|---------------|-----------|-----|
| | membranaire | Cytoplasmique | Nucléaire | |
| A0 | +/- | - | - | - |
| A0 | +/- | - | - | - |
| A1 | +/- | - | - | - |
| A1 | +/- | - | - | - |
| A1 | +/- | - | - | - |
| A2 | + | - | - | - |
| A2 | + | - | - | - |
| A2 | + | - | - | - |
| A3 | ++ | + | - | - |
| A3 | ++ | + | - | - |

+/- : faible marquage + : présence, ++ : fort marquage, - : absence,

M : membranaire, C : cytoplasmique, N : nucléaire, ACE : Antigène Carcino Embryonnaire.

Tableau III : Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans le cas de cirrhose.

| | β -Caténine | | | ACE |
|----|-------------------|-----|---------------------|----------------|
| | M | C | N | |
| 1 | + | +/- | - | - |
| 2 | + | +/- | - | - |
| 3 | +++ | + | - | + (canalicule) |
| 4 | + | - | - | - |
| 5 | + | +/- | + (quelque cellule) | + (canalicule) |
| 6 | +++ | + | - | - |
| 7 | +++ | + | - | + (canalicule) |
| 8 | - | - | - | - |
| 9 | - | - | - | - |
| 10 | +/- | - | - | - |

+/- : faible marquage, + : présence, ++ : fort marquage, +++ : très forte fort marquage, - : absence,

M : membranaire, C : cytoplasmique, N : nucléaire, ACE : Antigène Carcino Embryonnaire.

Tableau IV : Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans les cas de CHC.

| | β -Caténine | | | ACE |
|-------------------------|---------------------|-----|---|----------------|
| | M | C | N | |
| Bien différencié | + | ++ | - | - |
| Bien différencié | + | ++ | - | - |
| Bien différencié | + (canaux biliaire) | + | - | - |
| Bien différencié | + | + | - | + (canalicule) |
| Moyennement différencié | + | +/- | - | + (canalicule) |
| Moyennement différencié | - | +/- | - | + (canalicule) |
| Moyennement différencié | - | ++ | - | - |
| Moyennement différencié | + | +/- | + | - |
| Peu différencié | +/- | - | - | + (canalicule) |
| Peu différencié | ++ | +/- | + | - |
| Cas témoins | +/- | - | - | - |

+/- : marquage faible + : présence, ++ : fort marquage, +++ : très forte fort marquage, - : absence, M :

membranaire, C : cytoplasmique, N : nucléaire, ACE : Antigène Carcino Embryonnaire.

Tableau V: Intensité et localisation du marquage immunohistochimique de la β -caténine et de l'ACE dans les métastases hépatiques.

| Cas | ACE | | | β -Caténine | | |
|------------------------------|-----|-----|---|-------------------|----|---|
| | M | C | N | M | C | N |
| Métastase gastrique | - | ++ | - | + | ++ | - |
| Métastase colorectale | ++ | +++ | - | ++ | ++ | - |
| Métastase colorectale | ++ | +++ | - | + | + | - |
| Métastase broncho-pulmonaire | + | + | - | ++ | + | - |
| Métastase mammaire | - | - | - | ++ | ++ | - |
| Métastase mammaire | - | - | - | ++ | + | - |
| Métastase broncho-pulmonaire | + | + | - | + | + | - |
| Métastase gastrique | - | +++ | | ++ | ++ | - |
| Métastase mammaire | + | + | - | + | + | - |

+ : présence, ++ : fort marquage, +++ : très forte fort marquage, - : absence,

M : membranaire, C : cytoplasmique, N : nucléaire.

Tableau V I : Répartition des patients par année de recrutement.

| Année de recrutement | CHC | Métastases |
|----------------------|-----|------------|
| 2013 | 1 | 23 |
| 2014 | 19 | 51 |
| 2015 | 7 | 70 |
| 2016 | 17 | 46 |
| 2017 | 27 | 30 |

Tableau VII: répartition des cas de CHC selon la tranche d'âge.

| Classe d'âge | Nombre d'individus |
|--------------|--------------------|
| [10-20[| 1 |
| [20-30[| 0 |
| [30-40[| 4 |
| [40-50[| 12 |
| [50-60[| 12 |
| [60-70[| 15 |
| [70-80[| 21 |
| [80-90[| 4 |
| [90-100[| 1 |

Tableau VIII : Corrélation entre l'âge et le sexe des patients atteint de carcinome hépatocellulaire.

| Classe d'âge | Hommes | Femmes | Totale individus | Sex-ratio |
|--------------|--------|--------|------------------|-----------|
| [10-20[| 1 | 0 | 1 | |
| [20-30[| 0 | 0 | 0 | |
| [30-40[| 3 | 1 | 4 | |
| [40-50[| 4 | 8 | 12 | |
| [50-60[| 6 | 6 | 12 | |
| [60-70[| 7 | 8 | 15 | |
| [70-80[| 17 | 4 | 21 | |
| [80-90[| 2 | 2 | 4 | |
| [90-100[| 1 | 0 | 1 | |
| Totale | 41 | 29 | 70 | |

Tableau IX : Répartition des cas de Carcinome hépatocellulaire selon l'état de différenciation cellulaire.

| Stade de différenciation cellulaire | Bien différencié | Moyennement différencié | Peu différencié |
|-------------------------------------|------------------|-------------------------|-----------------|
| Nombre de cas de CHC | 55 | 13 | 2 |
| Pourcentage | 78% | 19% | 3% |

Tableau X : moyenne d'âge d'hommes et de femmes atteints de carcinome hépatocellulaire (2013-2017).

| Hommes | | | | | |
|-----------------|-------|----|----|----|----|
| 14 | 50 | 56 | 64 | 73 | 77 |
| 32 | 50 | 57 | 68 | 73 | 78 |
| 37 | 54 | 58 | 70 | 74 | 78 |
| 50 | 54 | 62 | 70 | 75 | 78 |
| 50 | 56 | 62 | 71 | 75 | 79 |
| 50 | 56 | 63 | 71 | 75 | 81 |
| 93 | 56 | 64 | 72 | 76 | 85 |
| 93 | | | | | |
| Moyenne= | 64,17 | | | | |

| Femmes | | | |
|-----------------|-------|----|----|
| 33 | 48 | 60 | 69 |
| 41 | 49 | 61 | 69 |
| 43 | 50 | 62 | 75 |
| 44 | 51 | 64 | 75 |
| 47 | 56 | 64 | 75 |
| 47 | 57 | 66 | 75 |
| 48 | 57 | 68 | 81 |
| 82 | | | |
| Moyenne= | 59,20 | | |

Tableau XI : Répartition des métastases selon leur origine.

| Origine métastatique | Nombre de cas | Pourcentage |
|-----------------------------|----------------------|--------------------|
| Mammaire | 73 | 32% |
| Colorectal | 50 | 22% |
| Pancréatique | 35 | 15% |
| Biliaire | 21 | 9% |
| Pulmonaire | 14 | 6% |
| Peau | 7 | 3% |
| Surrénal | 7 | 3% |
| Endomètre | 5 | 2% |
| Origine indéterminée | 19 | 8% |

Score de METAVIR :

Le score de METAVIR est déterminé par l'analyse de l'échantillon de foie prélevé lors de la biopsie. La lettre A indique l'activité de l'hépatite, la lettre F indique le degré de Fibrose.

- A0 = pas d'activité ; A1 = activité minimale ; A2 = activité modérée ; A3 = forte activité.
- FO = pas de fibrose ; F1 = fibrose minimale ; F2 = fibrose modérée ; F3 = fibrose importante ; F4 = cirrhose.