

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
UNIVERSITÉ DE SAAD DAHLAB BLIDA-1



FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Département De Biologie et Physiologie Cellulaire

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

MEMOIRE DE MASTER EN BIOLOGIE

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Chef d'option : Dr. SAADI L.

THEME

**Etude de l'infiltrat inflammatoire et de l'expression de PD-L1 dans
une série du cancer du sein chez l'homme**

Présenté par

AISSANI Billel

HAMRI Sofiane

Soutenu publiquement le 30/06/2018. Devant le jury composé de :

M^{me} GUESSAIBIA N.	Maitre de Conférences B	USDB1	Présidente
M^{me} BENAZOUZ F.	Maitre Assistante A	USDB1	Examinatrice
M^{me} KOCHKAR A.	Maitre de Conférences A	CPMC	Promotrice
M^{me} AISSANI-EL FERTAS R.	Maitre de Conférences B	USDB1	Co-promotrice

Promotion 2017/2018

Le présent mémoire n'aurait pas vu le jour sans l'aide bienveillante, la compréhension et le dévouement de certaines personnes qui, par leur présence et leurs conseils, nous ont soutenus.

Ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans l'aide et l'encadrement exceptionnel de notre promotrice : **M^{me} KOUCHKAR A.** Maître de Conférences A (CPMC). Nous la remercions pour nous avoir ouvert les portes du laboratoire d'anatomopathologie dans lequel elle travaille, en nous proposant un thème très intéressant. Nous avons été très touchés par votre modestie, votre patience, et pour tout le temps que vous nous avez consacré. Vos précieuses directives, la qualité de votre suivi, votre rigueur et votre disponibilité durant toute la période de notre stage, ont été d'une grande aide dans la préparation de ce mémoire.

Nos remerciements s'adressent aussi à notre co-promoteur : **M^{me} AISSANI-EL FERTAS R.** Maître de Conférences B (USDB-FSB/USTHB), pour son aide à trouver un lieu de stage et à rédiger ce manuscrit. Nous la remercions pour sa patience, pour tout le temps qu'elle nous a consacré et particulièrement pour son soutien moral et ses encouragements tout au long de notre cursus.

Nous voudrions remercier les membres de jury, pour l'honneur qu'ils nous ont fait d'avoir acceptés de lire et d'examiner ce travail.

Nos remerciements vont, plus particulièrement, à **M^{me} GUESSAIBIA N.** Maître de Conférence B (USDB1), pour nous avoir si bien formés et nous avoir transmis son savoir, pour nous avoir prodigué tous les moyens nécessaires au bon déroulement de notre cursus. Nous avons tant appris grâce à vous. Veuillez trouver ici notre profonde gratitude.

Nous tenons aussi à remercier **M^{me} BENAZOUZ F.** Maître Assistante A (USDB1), d'avoir accepté d'examiner ce travail, nous comptons sur vos remarques sans doute enrichissantes.

Enfin, nous n'oublions pas de remercier l'ensemble du personnel du laboratoire qui nous ont accueilli de la meilleure des façons et qui nous ont aidés à réaliser ce travail, spécifiquement **Dr. GHRIB N.** Résidente en médecine (CPMC). Nous remercions aussi **Mr. GUEADIOURA A.** Maître de Conférence B (USDB1) et **Mme. EDDAIKRA A.** Maître de Conférence B, qui nous ont aidés dans l'analyse statistique, et tous les professeurs qui nous ont enseignés au cours de notre cursus universitaire.

Je dédie ce travail :

A mes très chers parents

A mon frère

A mes sœurs et leurs enfants

Et à mes amis.

Billel.

Je dédie cet humble travail :

A mes chers et respectueux parents.

A mon petit Père.

*A toute ma famille pour l'amour et le respect qu'ils m'ont
toujours accordé.*

Et à mes chers amis.

Sofiane

Les lymphocytes infiltrant les tumeurs (TIL) ou l'infiltrat inflammatoire, jouent un rôle clé dans les études biologiques et cliniques du cancer. La présence de TIL est connue pour être un marqueur pronostique et prédictif de la réponse thérapeutique pour plusieurs tumeurs, y compris le cancer du sein. L'expression de PD-L1 a également été étudiée comme biomarqueur pour la réponse à une thérapie innovante, dite d'inhibition de point de contrôle, afin de stimuler la réponse du système immunitaire contre les tumeurs. Seule une faible proportion d'homme développe un cancer du sein et, donc, fait l'objet de peu d'études de recherche.

Nous avons réalisé une étude rétrospective, dont le but est d'étudier le type de corrélation entre les niveaux d'infiltration des TILs, l'expression de PD-L1 et les paramètres clinico-pathologiques. Les niveaux des TILs ont été évalués à partir de coupes colorées à l'hématoxyline/éosine des tumeurs mammaires mâles, archivées au laboratoire d'anatomopathologie, et l'expression de PD-L1 a été appréciée par immunohistochimie sur des lames marquées avec un anticorps anti-PD-L1. La corrélation entre les TILs, l'expression de PD-L1 et les paramètres clinico-pathologiques a été calculée en utilisant le test exact de Fisher et l'analyse de correspondance multiple (MCA). L'analyse n'a pas montré de corrélation nette entre les TILs, l'expression de PD-L1 et les paramètres cliniques, sauf pour PD-L1, le grade SBR et la taille tumorale. Les résultats ont également montré que le cancer du sein masculin est peu immunogène.

Nos résultats indiquent qu'un groupe de patients pourrait probablement bénéficier de l'immunothérapie qui cible la molécule immunosuppressive PD-L1.

Mots clefs: TIL, cancer du sein, PD-L1, immunohistochimie.

تلعب الخلايا اللمفاوية المرتشحة بالورم (TIL: Tumour Infiltrating Lymphocytes) دورا مهما في الدراسات البيولوجية والسريرية للسرطان. وجود TIL معروف بكونه مؤشر تكهنى للإستجابة العلاجية للعديد من الأورام، بما فيها سرطان الثدي. التعبير عن الجزيء PD-L1 درس أيضا كمؤشر حيوي للإستجابة لعلاج جديد يسمى "تعطيل نقطة المراقبة" لتحفيز استجابة الجهاز المناعي ضد الأورام. نسبة صغيرة فقط من الذكور تصاب بسرطان الثدي، وبالتالي، هو محل القليل من الدراسات البحثية.

لقد قمنا بدراسة رجعية، حيث الهدف هو دراسة نوع الإقتران بين مستويات ترشح TIL, التعبير عن PD-L1 ومعايير الباثولوجيا السريرية. مستويات TIL تم تقييمها عن طريق مقاطع ورمية من الثدي الذكوري ملونة بالهيماتوكسيلين واللايوزين, حصل عليها من أرشيف مخبر التشريح الباطني, أما التعبير عن PD-L1 فتم عن طريق Immunohistochemistry على مقاطع ورمية مؤشرة بجسم مضاد لل PD-L1. دراسة الإقتران بين TIL, PD-L1, ومعايير الباثولوجيا السريرية أجريت بواسطة Fisher's exact test, وتحليل التوافقات المتعددة (MCA: Multiple Correspondence Analysis). لم تظهر هذه التحليل الإحصائية اقتران واضح بين TIL, التعبير عن PD-L1 ومعايير الباثولوجيا السريرية، ما عدى بين التعبير عن PD-L1 ودرجة SBR الورم وحجم الورم. أظهرت النتائج أيضا ان سرطان الثدي عند الذكور فقير مناعيا.

نتائج دراستنا تشير أن مجموعة من مرضى سرطان الثدي الذكور يحتمل ان يستفيدوا من العلاج المناعي الذي يستهدف الجزيء مثبط المناعة PD-L1.

كلمات مفتاحية: TIL، سرطان الثدي، PD-L1, Immunohistochemistry

Tumor infiltrating lymphocytes (TIL) or inflammatory infiltrate play a key role in biological and clinical studies of cancer. The presence of TIL is known to be a prognostic and predictive biomarker for the therapeutic response for several tumours, including breast cancer. The expression of PD-L1 has also been studied as a biomarker for the response to an innovative therapy, called: “Checkpoint blockade” to unleash the immune system response against tumours. Only a small proportion of men develop breast cancer and, therefore, are the subject of few research studies.

We performed a retrospective study, the purpose of which is to study the type of correlation between infiltration levels of TILs, the expression of PD-L1 and clinical-pathological parameters. TIL levels were evaluated from hematoxylin / eosin stained sections of male mammary tumours, archived at the pathology laboratory, and PD-L1 expression was assessed by immunohistochemistry on slides labelled with an anti-PD-L1 antibody. The correlation between TILs, PD-L1 expression, and clinico-pathological parameters was calculated using the Fisher exact test and the Multiple Correspondence Analysis (MCA). The analysis did not show a clear correlation between TILs, PD-L1 expression and clinical parameters, except for PD-L1, SBR grade and tumor size. The results also showed that male breast cancer is poorly immunogenic.

Our results indicate that a group of patients could probably benefit from immunotherapy that targets the immunosuppressive molecule PD-L1.

Key words: TIL, breast cancer, PD-L1, immune system, immunohistochemistry

Sommaire

Introduction	1
Rappels Bibliographiques.....	3
I. Anatomie du sein	4
I. 1. Configuration externe	4
I. 2. Le sein chez la femme	5
I. 3. Le sein chez l'homme	5
I. 4. Histologie de la glande	5
II. Cancer du sein	7
II. 1. Épidémiologie du cancer du sein	7
II. 2. Facteurs de risque	8
III. Classification du cancer du sein	10
III. 1. Classification histologique	10
III. 2. Classification moléculaire du cancer du sein	12
III. 3. Facteurs pronostics	13
IV. Stroma tumoral et l'infiltrat inflammatoire	17
IV.1 Stroma tumoral.....	17
IV.2 Infiltrat inflammatoire	17
V. Immunologie du cancer	18
V.1 Immunosurveillance	19
V.2 Immunoediting	20
IV. 3. Inflammation et phénotype inflammatoire du cancer	24
Matériel & Méthodes	25
I. Matériel	26
I. 1. Matériel biologique	26
I. 2. Matériel non biologique	26
II. Méthodes	26
II. 1. Lecture des lames HE	27
II. 2. Révélation des protéines PDL-1 par immunohistochimie	28
III. Analyse statique	32
Résultats	34
I. Caractéristiques générales de la population	35
I. 1. Répartition des patients selon l'âge	35
I. 2. Antécédents personnels	35
I. 3. Antécédents familiaux	36
I. 4. Répartition des patients selon le type de prélèvement	36

I. 6. Répartition des patients selon le grade SBR	37
I. 7. Répartition des patients selon le type histologique	37
I. 8. Répartition des patients selon l'atteinte ganglionnaires	41
I. 9. Répartition des patients selon les récepteurs hormonaux	42
I. 10. Répartition selon la classification moléculaire	42
II. Étude de l'infiltrat inflammatoire	43
II.1. Etude du marqueur PD-L1	46
III. Lien entre le statut de l'infiltrat inflammatoire et l'expression de PD-L1 avec les différents paramètres clinico-pathologiques	49
III. 1. Lien entre la présence de l'infiltrat inflammatoire et les différents paramètres clinico-pathologiques	49
III. 4. Lien entre l'expression de PD-L1 et les différents paramètres clinico-pathologiques	52
Discussion	56
Conclusion Et Perspective	63
Références Bibliographiques	65
Annexes	i
Annexe 1	ii
Annexe 2	v

Listes des figures

Figure 1 : Anatomie de la poitrine masculine 6

Figure 2 : Représentation schématique des différents types de cellules immunitaires et leur distribution au sein du foyer tumoral 17

Figure 3: L’initiation de la réponse immunitaire anti-tumorale et les trois phases de l’immuno-editing..... 21

Figure 4 : Signalisation du l’axe PD-1/PD-L1 22

Figure 5 : Carcinome mixte (canaulaire et micropapillaire) 27

Figure 6 : le principe de l’immunohistochemie sur Ventana 31

Figure 7 : Immuno-marquage à l’aide de l’anticorps anti-PD-L1, Témoin (Amygdales) 32

Figure 8 : Distribution des patients selon les tranches d’âge. 35

Figure 9 : Répartition des patients selon le grade SBR..... 37

Figure 10 : Distribution des 29 cas selon les types histologiques. 38

Figure 11 : Carcinome canalaire infiltrant 39

Figure 12 : Carcinome mixte (canaulaire et micropapillaire) 39

Figure 13 : Carcinome apocrine infiltrant, cellules de grandes tailles à cytoplasme eosinophile 40

Figure 14 : Carcinome lobulaire infiltrant 40

Figure 15 : Carcinome papillaire..... 41

Figure 16 : Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire. 42

Figure 17 : Répartition des niveaux de l’infiltrat inflammatoire des patients..... 43

Figure 18 : Infiltrat inflammatoire 0-10% (niveau 1) 44

Figure 19 : Infiltrat inflammatoire 10-25% (niveau 2) 44

Figure 20 : Infiltrat inflammatoire 25-50% (niveau 3) 45

Figure 21 : Infiltrat inflammatoire 50% (niveau 4)..... 45

Figure 22 : Distribution de l’expression de PDL-1 positif/négatif chez les 15 cas..... 46

Figure 23 : Immuno-marquage à l’aide de l’anticorps anti-PD-L1, Témoin 46

Figure 24 : Immuno-marquage à l’aide de l’anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé entre 0 et 10%..... 47

Figure 25 : Immuno-marquage à l’aide de l’anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé entre 10 et 25%..... 47

Figure 26 : Immuno-marquage à l’aide de l’anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé à 25 et 50 %..... 48

Figure 27 : Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé à > 50%..... 48

Figure 28 : Les résultats de l'analyse ACM entre le statut de l'infiltrat et les différents paramètres clinico-pathologiques..... 51

Figure 29 : Représentation 3D de l'expression de PD-L1 en fonction des différentes tailles cliniques. 54

Figure 30 : Représentation 3D de l'expression de PD-L1 en fonction des différents grades SBR 54

Figure 31 : Les résultats de l'analyse ACM entre l'expression de PD-L1 et les différents paramètres clinico-pathologiques..... 55

Figures annexes

Figure 1 : Système de score Allred iv

Figure 2 : Microscope photonique Zeiss x

Figure 3 : VENTANA BenchMark ULTRA..... x

Figure 4 : Kit de détection Ventana ultraview universal dab..... x

Figure 5 : Anticorps Anti PD-L1 (E1L3N®) x

Figure 6 : Kit de détection Ventana ultraview universal dab..... x

Liste des Tableaux :

Tableau I: Facteurs de risque pour le cancer du sein masculin	10
Tableau II : Les différents mécanismes d'évasion utilisés par les cellules tumorales.	23
Tableau III: Méthode de lecture des lames.	27
Tableau IV : Répartition des patients selon les antécédents personnels.....	36
Tableau V : Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux de cancer du sein. ...	36
Tableau VI : Répartition des patients selon le type de prélèvement.....	36
Tableau VII : Répartition des patients selon la taille de la tumeur.	37
Tableau VIII : Répartition des patients selon l'atteinte ganglionnaires.	41
Tableau IX : Répartition des patients selon leurs récepteurs hormonaux.	42
Tableau X : Fréquences de l'infiltrat inflammatoire avec les différents paramètres clinico-pathologiques.	50
Tableau XI : Fréquences de l'expression de PD-L1 avec les différents paramètres clinico-pathologiques.	53

Tableaux annexes

Tableau I : Classification TNM du cancer du sein.	ii
Tableau II : Comparaison des grades histopronostiques EE et SBR.....	iv
Tableau III : Évaluation normalisée des TILs en tant que biomarqueur dans les sections H&E	v
Tableau IV : Caractéristiques de l'anticorps PD-L1 E1L3N utilisé.....	viii
Tableau V : Les différents paramètres et modalité	ix

CCL/CXCL : Chémiokine

CD : Cluster de Différenciation

CMH : Complexe Majeur d'Histocompatibilité

CTLA-4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4.

CHEK2 : Checkpoint kinase 2

DAB : 3'-Diaminobenzidine.

E E : Grade Elston et Ellis

EGF : Epidermal Growth Factor

FISH : Hybridation in situ en fluorescence

FAS : First Apoptosis Signal.

HER : Human epidermal growth factor receptor

H&E : Hématoxyline et éosine

IFN : Interferon.

IHC : Immunohistochimie.

Ki67 : antigen identified by monoclonal antibody Ki-67

LTC: Lymphocyte T Cytotoxique.

NK: Natural Killer.

N⁻ : Absence d'atteinte ganglionnaire.

N⁺: Présence d'atteinte ganglionnaire.

PAMP : Pathogen Associated Molecular Patterns

PALB2 : Partner and localizer of BRCA2.

PD-L1: Programed cell Death receptor – Ligand 1.

RE : récepteur d'oestrogène

RP : récepteur de progesterone

SBR: Scarff-Bloom-Richardson..

SEER : Programme surveillance, épidémiologie et résultats finaux

TCR: T Cell Receptor.

Th: T helper.

TILs: Tumour Infiltrating Lymphocytes.

TNF: Tumour Necrosis Factor.

TRAIL: TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand

- **Les lymphocytes infiltrant la tumeur ou l'infiltrat inflammatoire :** Cellules immunitaires mononucléaires, comprennent les différents types des lymphocytes, les macrophages et les cellules dendritiques (Savas et al., 2016).
- **Néo-antigènes :** Sont des peptides issus d'une mutation non-synonyme conduisant à un nouvel antigène, unique à la cellule tumorale, pas un auto-antigène (Savas et al., 2016).
- **Immuno-editing :** Est un processus qui dépend de l'antigénicité tumorale, ce qui entraîne soit le rejet de la tumeur (phase d'élimination), le contrôle immunitaire de la croissance résiduelle des cellules tumorales (équilibre) ou l'évasion tumorale du contrôle immunitaire (évasion) (Lussier et Schreiber, 2016).
- **Lames silanisées :** Ce sont des lames à surface adhérente sur lesquelles on étale le silane produit qui empêchent le découlement des tissus étalés sur les lames.
- **Curage ganglionnaire :** Le curage ganglionnaire est une intervention pratiquée pour enlever une région ganglionnaire. On pratique cette intervention pour retirer des ganglions lymphatiques qui contiennent des cellules cancéreuses et d'autres ganglions lymphatiques lorsqu'il y a un risque élevé que le cancer s'y propage. Ce type d'intervention porte aussi le nom de lymphadénectomie.
- **Points de contrôle immunitaire :** Les points de contrôle immunitaires sont des régulateurs négatifs du système immunitaire, qui jouent un rôle essentiel dans le maintien de la tolérance du soi, la prévention de l'auto-immunité et la protection des tissus contre les dommages collatéraux immuns (Abbas et al., 2017).
- **Le traitement adjuvant :** Peu inclure la chimiothérapie, l'hormonothérapie, la radiothérapie ou la thérapie immunologique. En général, une combinaison de ces différentes options est administrée. L'objectif du traitement adjuvant est de détruire les cellules cancéreuses résiduelles qui circulent dans le corps, les empêchant ainsi de se loger dans les organes et de créer des métastases à distance (Savas et al., 2016).

Introduction

Le cancer est la première cause de décès dans le monde après les maladies cardiovasculaires (**Ritchie et Roser, 2018**). Il résulte d'une prolifération incontrôlée d'un clone cellulaire qui conduit à la formation d'une masse tumorale et la dissémination dans d'autres organes pour former des tumeurs secondaires ou métastases (**Kumar et al., 2017**).

Le cancer du sein est l'un des cancers les plus fréquents chez la femme, près de 1,7 million de nouveaux cas sont diagnostiqués à l'échelle mondiale dont 6571 nouveaux cas enregistrés en Algérie en 2012 (**Terki et al., 2015**). Ce qui est moins discuté dans ce contexte, c'est la part de l'homme représentant environ 1% des cancers du sein. En Algérie, en 2012, 54 cas d'un effectif total de 6625 cas de cancer du sein étaient des hommes (**Terki et al., 2015**).

Le système immunitaire joue un rôle clef contre la survenue du cancer, il implique une panoplie de cellules et de molécules, qui surveillent et éliminent les cellules cancéreuses. Cependant, avec l'évolution et l'accumulation de mutations, il arrive que les cellules tumorales échappent à cette surveillance par des mécanismes tel que l'expression d'un ligand appelé PD-L1, ce qui rend ces cellules plus agressives (**Murphy et Weaver, 2017**). Les cliniciens ont pensé à évaluer l'infiltrat des cellules immunitaires et le marqueur pronostic PD-L1 et de les corréler avec les paramètres clinico-pathologiques. A partir de cette notion, les chercheurs et les cliniciens ont développés ce qu'on appelle « le grade immunologique », pour évaluer la puissance de la réponse immunitaire anti-tumorale représenté par l'infiltration des cellules immunitaires dans le foyer tumoral (**Salgado et al., 2015**).

Les différentes corrélations entre l'infiltrat inflammatoire et les sous-classes moléculaires du cancer du sein chez la femme sont bien établies, et la normalisation de l'utilisation de PD-L1 est en cours d'études. Cependant, tout est encore à faire concernant le cancer du sein chez l'homme, et les études à venir nous permettront, tout comme chez la femme, de savoir si l'infiltrat inflammatoire et l'expression du PD-L1 ont une corrélation avec les différents paramètres clinico-pathologiques.

Pour tenter de répondre à cette question, ne serait-ce que dévoiler modestement un aspect de cette liaison, il nous a été proposé une étude originale et inédite en Algérie. En effet, nous avons réalisé une étude rétrospective concernant le cancer du sein chez l'homme, en évaluant le pourcentage de l'infiltrat lymphocytaire, l'expression de PD-L1 et leur relation avec différents paramètres clinico pathologiques.

Rappels
Bibliographiques

I. Anatomie du sein :

Les seins occupent la partie antéro-supérieure du thorax, de part et d'autre du sternum en avant des muscles pectoraux, au regard de l'espace compris entre la 3^{ème} et la 7^{ème} côte, le mamelon se situant au niveau de la 9^{ème} vertèbre dorsale.

Les seins renferment la glande mammaire, glande exocrine tubulo-alvéolaire composée, responsable de la production de lait (**Catala et al., 2008**). La glande mammaire est constituée d'environ quinze unités glandulaires indépendantes, les lobes mammaires, divisés en lobules par des cloisons conjonctives. Les lobes comportent un système de galactophores qui se terminent par un canal unique débouchant au niveau du mamelon.

I. 1. Configuration externe :

La glande mammaire se développe dans le tissu cellulaire sous-cutané de la paroi antérolatérale du thorax et comporte 3 zones (**Garbay, 1991**) :

- La zone périphérique :

La peau est dans son ensemble lisse et souple ; elle est fine, mobile et glisse facilement sur la glande ; elle se plisse en donnant de nombreux et fins sillons ; glabre chez la femme et l'enfant, elle est revêtue d'un système pileux plus ou moins abondant chez l'homme surtout près de la ligne médiane. Le revêtement cutané est typique avec tous ses éléments constitutifs. Sous ce plan cutané existe un pannicule adipeux plus ou moins développé.

- L'aréole :

C'est un disque assez régulier de 40 à 50 mm de diamètre entourant la base du mamelon avec lequel elle se continue. Elle est pigmentée, de coloration brunâtre, doublée à sa face profonde par le muscle de l'aréole, elle renferme des glandes sudoripares et des glandes sébacées qui font saillie à sa face extérieure constituant les tubercules de Morgagni.

- Le mamelon :

Il est placé au centre de l'aréole et forme une surélévation cylindrique. De même coloration brunâtre que l'aréole, il présente à son extrémité une série de petits orifices correspondant à la terminaison des canaux galactophores. Sa face profonde, comme celle de l'aréole, est doublée par des fibres musculaires lisses constituant le muscle mamillaire dont la contraction est à

l'origine du thélotisme ou érection du mamelon. Peu développé chez l'homme et chez la jeune fille, il s'allonge chez la femme en particulier au cours de la grossesse.

I. 2. Le sein chez la femme :

La glande mammaire se développe dès le début de la puberté et constitue une masse de tissu glandulaire de coloration blanc bleuâtre, de forme grossièrement circulaire située à la face antérieure de la partie externe du muscle grand pectoral (**Dilhuydy et al., 2001**). Elle présente :

- Une face postérieure sensiblement plane.
- Une face antérieure convexe, irrégulière, présentant une série de crêtes plus ou moins marquées.
- Une circonférence, très irrégulière, émettant des prolongements dont un seul est constant.

I. 3. Le sein chez l'homme :

La glande se réduit à un petit amas glandulaire de coloration blanc grisâtre, de forme discoïde située immédiatement en arrière de l'aréole. De consistance fibreuse, elle a néanmoins la même structure histologique que la glande adulte et reste susceptible de présenter les mêmes lésions pathologiques. Chez l'homme normal, la glande mammaire est de type infantile ; elle comporte quelques canaux galactophores très fins, peu ramifiés (**El Ouahli, 2012**) (**Figure 1**).

I. 4. Histologie de la glande :

Le sein comporte d'avant en arrière le tégument, le tissu conjonctif sous-cutané, le corps mammaire, renfermant la glande mammaire puis un tissu conjonctif lâche permettant au corps mammaire discoïde de glisser en arrière sur le plan musculaire du grand pectoral (**Catala et al., 2008**). La glande mammaire est formée, d'une part par des tubes glandulaires ou galactophores, bordés d'une double couche cellulaire ; interne (cellules épithéliales cylindriques ou cylindro-cubiques) et externe (cellules myoépithéliales). Le tout est entouré de la membrane basale.

D'autre part, la glande mammaire est constituée de tissu conjonctif. Ce tissu au moment de la puberté se différencie en deux tissus :

- Le tissu interstitiel banal qui constitue le support des lobes comportant de nombreux adipocytes.
- Le tissu conjonctif lâche intra-lobulaire ou tissu palléal. La plaque aréolo-mamelonnaire est tapissée par un épiderme plus ou moins pigmenté. Le derme sous-jacent comporte des annexes cutanées, un réseau lymphatique bien développé et de nombreux faisceaux musculaires lisses (Dilhuydy *et al.*, 2001).

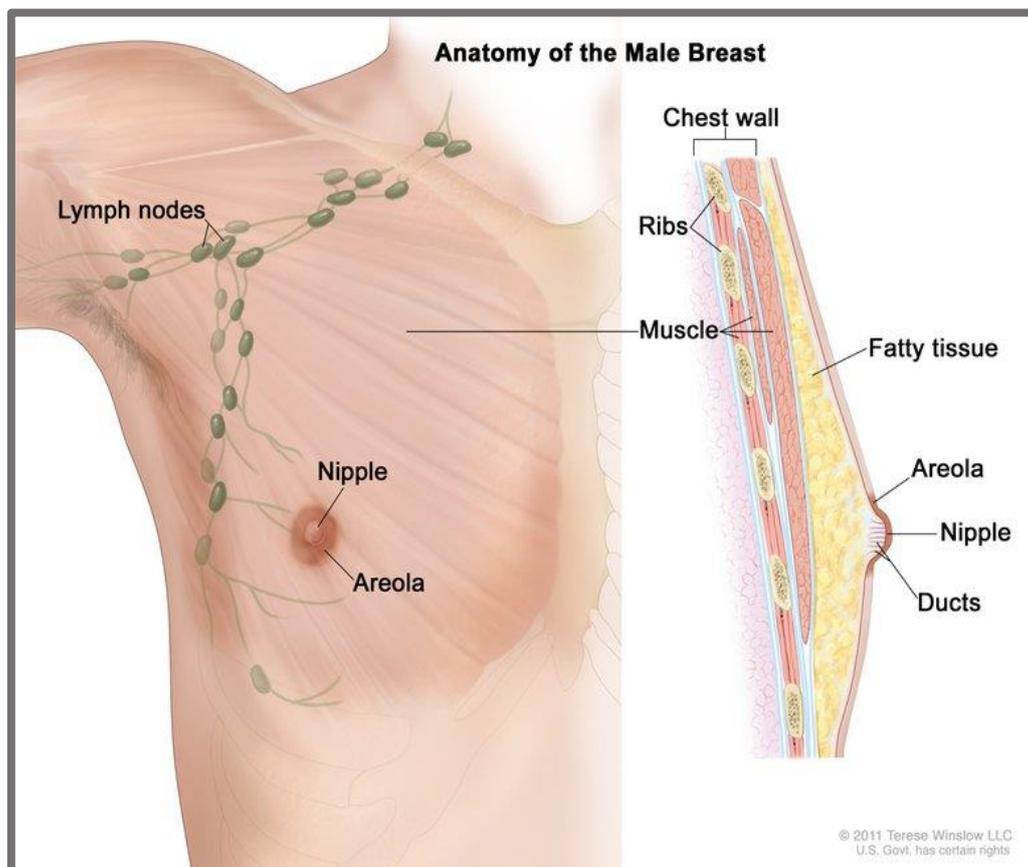


Figure 1 : Anatomie de la poitrine masculine. Le mamelon et l'aréole sont visibles à l'extérieur de la poitrine. Les ganglions lymphatiques, les tissus adipeux, les canaux et d'autres parties de l'intérieur du sein sont également représentés. (Winslow, 2012)

II. Cancer du sein :

Le cancer est le résultat d'une prolifération anarchique aboutissant à la formation d'une masse tumorale qui s'attaque aux tissus sains environnants. Cette masse tumorale peut migrer à distance et coloniser d'autres tissus donnant naissance à des métastases, conduisant ainsi à la mort du sujet hôte (**Perez-Ponce, 2009**).

Le cancer du sein est une maladie très hétérogène, il n'existe pas un type de cancer du sein, mais plusieurs aux caractéristiques différentes (**Parisotto, 2011**). La grande majorité des cancers mammaires naissent au niveau des cellules épithéliales. Ils sont appelés carcinomes, et prennent rarement naissance à partir des éléments conjonctifs de la glande mammaire, appelés sarcomes (**Parisotto, 2011**).

L'apparition de métastases constitue l'une des complications majeures du cancer du sein (**Gallet, 2006**), caractérisées par un tropisme pulmonaire, hépatique, cérébral et osseux (**Vanhecke, 2008**).

II. 1. Épidémiologie du cancer du sein

L'incidence du Cancer du sein masculin varie considérablement selon les régions géographiques et les groupes ethniques et est en corrélation avec l'incidence du cancer du sein féminin dans le monde (**Kreiter et al., 2014**). En effet, la variation mondiale du cancer du sein masculin ressemble à celle du cancer du sein féminin, avec des taux plus élevés en Amérique du Nord, en Europe, en Afrique et des taux plus faibles en Asie (**Kreiter et al., 2014**).

L'apparition du cancer du sein chez les hommes a lieu vers l'âge de 60, soit environ 10 ans de plus que chez les femmes. Dans la base de données du SEER (Les données du programme de Surveillance, Epidémiologie et Résultats), les âges médians au diagnostic étaient respectivement de 68 et 61 ans chez les hommes et les femmes. Les différences dans les taux d'incidence et les tendances temporelles entre les hommes et les femmes peuvent refléter des différences liées au sexe dans les facteurs de risque et / ou différents mécanismes pathogéniques sous-jacents. D'un autre côté, la corrélation entre les incidences masculines et féminines du cancer du sein indique l'existence de facteurs de risque communs pour le cancer du sein dans les deux sexes (**Speirs et Shaaban, 2009**).

En Algérie, l'incidence brute du cancer du sein était évaluée à 50,8 pour 100 000 femmes en 2006 ; chez l'homme, ou cette localisation reste très rare, l'incidence brute était de 1,1 pour 100 000 hommes. (Terki et al., 2015) .

II. 2. Facteurs de risque

Les facteurs de risque liés au cancer du sein comprennent le sexe, l'âge, les facteurs génétiques, hormonaux et environnementaux (**Tableau 1**).

✓ **Le sexe :**

Il est à noter que 99% des cancers du sein touchent les femmes (**Kreiter et al., 2014**), il est moins fréquent chez l'homme (**Kreiter et al., 2014**), il représente moins de 1% de tous les cancers du sein (**Kreiter et al., 2014**).

✓ **Age :**

La fréquence relative du cancer du sein augmente avec l'âge, on estime que l'âge médian au diagnostic du cancer du sein chez les hommes est de 67 ans. Les taux les plus élevés de maladie métastatique au moment du diagnostic ont été rapportés en l'Afrique du Nord (**Fentiman, 2011**).

✓ **Facteur génétique :**

Il existe des gènes de prédispositions majeures comme BRCA1 ou BRCA2, localisées respectivement sur les chromosomes 17 et 13 et qui représentent de 10% des cancers du sein dits familiaux. De plus, les gènes *CHEK2* et *PALB2* (**Falchetti et al., 2008**), tous deux fonctionnellement apparentés à *BRCA1* et *BRCA2* dans les voies de réparation de l'ADN, jouent également un rôle dans la susceptibilité au cancer du sein masculin. Un certain nombre de Polymorphismes mononucléotidiques (SNP) sont indiqués comme étant des allèles de faible pénétrance dans la prédisposition génétique au cancer du sein masculin (**Ottini et Capalbo, 2017**).

✓ **Facteurs hormonaux :**

La cancer du sein masculin est reconnue comme étant une malignité hormono-dépendante, et elle est largement acceptée comme une maladie entraînée par les œstrogènes, spécifiquement liée à l'hyperoestrogénie (**Falchetti et al., 2008**). Les troubles cliniques associés à un rapport œstrogène / androgène déséquilibré qui entraînent une exposition anormale aux œstrogènes représentent un risque majeur. Les hommes atteints du syndrome de Klinefelter, une maladie congénitale caractérisée par un caryotype 47 XXY et des niveaux élevés d'œstrogènes et de faibles niveaux de testostérone, ont été augmentés de 20 à 50 fois le risque de cancer du sein masculin (**Brinton et al., 2015**). D'autres affections médicales liées à des hormones endogènes altérées comme le diabète, l'orchite, la cryptorchidie et la gynécomastie peuvent avoir une influence sur le risque de cancer du sein masculin (**Brinton, 2011**).

En outre, la maladie du foie, conduisant à l'hyperoestrogénie, est apparue comme un prédicteur significatif du risque de cancer du sein masculin, en particulier chez les hommes noirs (**Brinton, 2011**). Des conditions augmentant l'exposition aux œstrogènes ou diminuant l'exposition aux androgènes, telles que l'utilisation à long terme d'antiandrogènes et d'œstrogènes dans le traitement du cancer de la prostate, l'administration exogène d'œstrogènes aux transsexuels ou l'abus de stéroïdes pour des performances physiques ont également été impliqués comme étant des facteurs causatifs du cancer du sein masculin (**Coard et McCartney, 2004 ; Karamanakos et al., 2004**). Des risques élevés de cancer du sein masculin ont également été associés à d'autres conditions associées à des hormones endogènes altérés, avec l'association la plus cohérente étant observée avec l'obésité (**Popovic et Popovic, 2016**). L'obésité est associée à un risque accru de cancer du sein féminin post-ménopausique, vraisemblablement par la conversion périphérique des androgènes en œstrogènes. Chez les hommes, l'obésité est associée à la fois à une diminution des niveaux de testostérone et de globuline liant les hormones sexuelles, ainsi qu'une augmentation des taux d'œstrogènes (**Ferzoco et Ruddy, 2016**), conduisant ainsi à une plus grande biodisponibilité des œstrogènes.

✓ **Facteurs environnementaux et mode de vie :**

Les rayonnements ionisants, l'exposition professionnelle à la chaleur et le rayonnement électromagnétique ont été considérés comme des cofacteurs causaux possibles dans l'étiologie du cancer du sein masculin (**Fawcett et al., 2002**). Des indices supplémentaires de l'importance potentielle d'autres expositions professionnelles proviennent d'études montrant des risques

élevés de cancer du sein chez les hommes exposés aux hydrocarbures aromatiques polycycliques Certains facteurs liés au mode de vie ont également été impliqués dans l'étiologie, y compris l'exposition à l'alcool et au tabac, bien que les résultats aient varié d'une enquête à l'autre (**Fentiman, 2011**).

Tableau I: Facteurs de risque pour le cancer du sein masculin. (**Ottini et Capalbo (2017)**).

Facteurs de risque	Génétiques	Hormonaux	Environnementaux
Bien établi	Antécédents familiaux de cancer du sein	Augmentation de l'exposition aux œstrogènes	Radiation
	<i>BRCA1/BRCA2</i>	Déficiencia en testosterona	
	Syndrome de Klinefelter's	Maladie testiculaire	
Possible	<i>CHEK2</i>	Obésité	Chaleur
	<i>PALB2</i>	Diabètes	Champs électromagnétiques
	SNPs	Domages au foie	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
Soupçonnée	Syndrome de Cowden	Gynécomastie	Alcool
	Syndrome de Lynch		Tabac

III. Classification du cancer du sein :

III. 1. Classification histologique :

✓ Le carcinome canalaire infiltrant :

Il représente 70 à 80% des cancers du sein diagnostiqués, il peut avoir trois types architecturaux : bien différencié avec des structures tubulaires prédominantes, moyennement différencié et indifférencié avec absence de structure glandulaire (**Lecomte, 2009**).

✓ Le carcinome lobulaire infiltrant :

Il représente 5% des cancers mammaires, il a une tendance à la bilatéralité et à la multicentricité, il se caractérise par des cellules tumorales régulières, disposés en file indienne infiltrant le tissu mammaire sans le désorganiser (**Lecomte, 2009**).

✓ **Le carcinome apocrine :**

Le carcinome apocrine du sein est un cancer du sein primitif rare caractérisé par une morphologie apocrine, un profil de récepteur d'œstrogène négatif et un récepteur d'androgène positif avec une surexpression fréquente de la protéine Her-2 / neu (~ 30%) (**Vranic et al., 2017**) .

✓ **Carcinome micropapillaire infiltrant :**

Le carcinome micropapillaire infiltrant du sein est une variété rare de carcinomes canauxaux invasifs caractérisée par un aspect histologique unique et une incidence extrêmement élevée de métastases ganglionnaires lymphatiques (95 %). Les carcinomes avec un aspect histologique de CMI montrent une invasion massive en nids épithéliaux entourés d'un espace clair au sein d'un stroma fibreux (**Bekarsabein et al., 2010**).

✓ **Carcinome papillaire infiltrant :**

Le carcinome papillaire du sein constitue 0,5% à 1% de tous les cancers du sein. Il peut être localisé ou diffus. En comparaison avec le carcinome papillaire intracystique, le carcinome papillaire solide est présenté par la production de mucine présentant des caractéristiques neuroendocriniennes, et est généralement multinodulaire (**Ingle et al., 2016**).

✓ **Carcinome métaplasique :**

Selon l'Organisation mondiale de la Santé (OMS), le carcinome métaplasique est un groupe hétérogène de tumeurs constituées, soit d'un seul contingent, soit de deux. Ces contingents peuvent être d'aspect fusiforme ou épidermoïde (**Marangoni et al., 2007**).

✓ **Autre tumeurs malignes :**

Elles représentent moins de 1% de toutes les tumeurs malignes du sein, comportant les sarcomes phyllodes, les sarcomes mésoenchymateux, les angiosarcomes, les lymphomes malins non hodgkiniens primitifs du sein (Lecomte, 2009).

III. 2. Classification moléculaire du cancer du sein

De nouvelles technologies d'analyse moléculaire des tumeurs, comme la technique des puces à ADN, ont permis d'étudier à grande échelle leur profil d'expression génique ; ce qui a contribué à identifier différents sous-types moléculaires de cancer du sein (Gisselbrecht *et al.*, 2008), le profil luminal, HER2, normal like, basal.

✓ **Profil luminal :**

Il concerne les patientes ayant une réceptivité hormonale importante et exprimant les cytokératines lumineuses 8, 18 et 19 et le gène *GATA3*. Il est scindé en deux catégories A et B (Namer *et al.*, 2011). Les tumeurs lumineuses A sont des tumeurs exprimant les récepteurs hormonaux très hormonosensibles, faiblement proliférantes, pouvant bénéficier d'une hormonothérapie seule (Namer *et al.*, 2011). Pour le sous-groupe luminal B, les récepteurs hormonaux ont un score Allred (Figure 1, Annexe I) de positivité plus faible, un index de prolifération élevé (Ki67), et présentent des amplifications ou des mutations de certains gènes comme P53 (Namer *et al.*, 2011), ces tumeurs lumineuses B doivent bénéficier d'une hormonothérapie et d'une chimiothérapie.

✓ **Profil HER2**

Dans ce profil, les tumeurs surexpriment HER (Robert, 2006), en raison de son amplification génique, et ce type de tumeurs présentent une expression négative aux récepteurs hormonaux. les patients dont leurs tumeurs appartiennent au profil HER2 bénéficient du traitement ciblé trastuzumab, qui est un anticorps monoclonal humanisé recombinant, dirigé contre le récepteur HER2

✓ **Profil Triple négatif :**

C'est une tumeur n'exprimant ni les récepteurs hormonaux RE et RP ni HER, elle est dite triple négative, certaines expriment une partie des marqueurs basaux soit des cytokératines 5/6, 17 EGFR, C-kit et sont en général mutée pour P53 (Namer *et al.*, 2011). Des traitements pour les tumeurs basal-like sont en cours de test comme les anti-angiogéniques ou les traitements ciblant le récepteur de l'EGF appelé aussi HER1.

III. 3. Facteurs pronostics :

III. 3.1 Facteur clinique :

La classification TNM est une classification clinique qui évalue la taille de la tumeur (T), la palpation d'un ou de plusieurs ganglions suspects ou envahis (N) et la présence clinique de métastases (M) (Mignotte, 2011) (Tableau I, Annexe I). D'une façon générale, on associe à ces trois lettres des chiffres dont la valeur augmente avec la gravité. Ces chiffres varient de 0 à 4 pour le T, de 0 à 3 pour le N, et 0 ou 1 pour le M (Puddu et Tafforeau, 2005).

III. 3. 2. Facteurs anatomopathologiques :

✓ **Statut histologique des ganglions axillaires**

Le statut ganglionnaire axillaire est un des facteurs pronostics le plus important dans la prise en charge des cancers du sein, ayant un rôle pronostic capital (Coutant *et al.*, 2009). Il est le facteur le plus puissant, prédictif de survenue de métastase, il est corrélé à un pronostic défavorable (Carter *et al.*, 1989) car la survie décroît en fonction de l'augmentation du nombre des ganglions axillaires envahis. Apprécier le statut ganglionnaire repose sur l'analyse anatomopathologique. Il faut un minimum de dix ganglions prélevés dans le curage ganglionnaire (Hassani *et al.*, 2009).

✓ **Tailles de la tumeur :**

Il est établi que la taille de la tumeur représente un élément pronostic fondamental, le risque métastatique croît de façon linéaire avec elle. Plus la taille tumorale est importante, plus le pronostic est défavorable (Lecomte, 2009). On retrouve 66% de survie à 10 ans pour une tumeur comprise entre 20 à 50 mm de diamètre contre 79% pour une tumeur moins de 10 mm (Mignotte, 2011). Ce facteur intervient aussi dans le choix du traitement locorégional,

mastectomie ou tumorectomie et dans le choix de la chimiothérapie néoajuvante pour les tumeurs de plus de 3 cm.

✓ **Types histologiques de la tumeur :**

Le type histologique est un facteur pronostic important pour le cancer du sein. Certains types particuliers de carcinomes mammaires, tubulaire et mucoïde, comportent un meilleur pronostic que les formes les plus fréquentes, canalaire et lobulaire (Stevens et Lowe, 1997).

✓ **Grade histopathologique de la tumeur :**

Il existe deux grades histopronostiques : le grade de Scarff-Bloom et Richardson (SBR) ou le grade Elston et Ellis (EE). Ils comprennent trois grades I, II ou III, obtenus par l'addition de trois critères : architecture, atypies cytonucléaires et nombre de mitoses. Les trois critères sont cotés de 1 à 3. La définition des grades est la même pour le SBR et l'EE (Tableau II, annexe I):

- Score total de 3, 4 ou 5 : grade I ;

- Score total de 6 ou 7 : grade II ;

- Score total de 8 ou plus : grade III.

✓ **Compte mitotique :**

Le compte des mitoses a une valeur déterminante dans le diagnostic (Stevens et Lowe, 1997), c'est l'un des importants facteurs pronostiques et prédictifs (Buhmeida et al., 2011), qui augurent de la réponse aux thérapies anticancéreuses systématiques (Medri et al., 2003). D'après Baal et al, la sélection des figures de mitose est selon trois critères : l'absence d'enveloppe nucléaire, extensions chevelues du matériel nucléaire et finalement, le cytoplasme est pourpre ou bleuté de dimensions supérieures à celle du cytoplasme d'une cellule interphasique. Un grand nombre de mitoses est associé à une probabilité plus élevée de développer des métastases distantes et a une survie plus courte (Medri et al., 2003).

✓ **Les embolés vasculaires pr tumoraux :**

Les cellules tumorales se fixent a la paroi des capillaires à faible flux sanguin, et forment des agrégats ou embolés cellulaires, leur comptage doit être réalisé en périphérie des tumeurs sans apport de l'immunohistochimie (IHC). La présence d'embolés vasculaires est un facteur pronostique reconnu en particulier pour les patients N- , et c'est un facteur indépendant pour prédire les rechutes métastatique et la survie globale, concernant les patients N+, c'est facteur indépendant pour la prédiction des récidives locales (**Hassani et al., 2009**), la présence d'embolés vasculaires ou lymphatiques est de mauvais pronostic (**Garbin et al., 1994**).

III. 3. 3. Facteurs biologique :

✓ **Récepteur hormonaux :**

Les cellules mammaires sont hormono-dépendantes, les cellules tumorales expriment ces récepteurs ou perdent cette expression. Les récepteurs hormonaux sont de deux types, les récepteurs d'œstrogènes (RE), et les récepteurs de la progestérone (RP) (**Hachana, 2009**). La présence de RE et de RP permet de prédire la réponse aux traitements hormonaux (**Puddu et Tafforeau, 2005**). Ainsi la réponse à l'hormonothérapie est de 50 à 60% pour les tumeurs RE+ contre 80% pour les tumeurs RE+ et RP+ (**Osborne et al., 1980**). Il existe plusieurs méthodes de dosage de ces récepteurs, mais la technique de référence est l'immunohistochimie (**Hachana, 2009**).

✓ **Récepteur du facteur de croissance épidermique humain (HER, HER2-neu et ErB2)**

HER2 est un facteur pronostic et prédictif important dans le cancer du sein, il est surexprimé dans environ 15-20% des cancers du sein invasifs (**Shah et Chen, 2011**). HER2-neu est un récepteur transmembranaire de type tyrosine kinase, stimulé par le facteur de croissance épidermique (EGF) , régulant la croissance et la division des cellules normales (**Bronchud et al., 2000**). Il est impliqué dans la tumorig nese mammaire et intervient dans la croissance agressive de la tumeur et sa métastase (**Korkaya et al., 2008**). HER2-neu appartient à la famille des récepteurs du facteur de croissance épidermique, il est codé par le gène *c-erbB2* localisé en 17q21(**Popescu et al., 1989**). L'évaluation du statut HER-2 par immunohistochimie (IHC) est pratiqu e sur tous les cas de cancer du sein invasif. La technique d'hybridation fluorescente in situ (FISH) est considérée comme la technique de référence pour la détection de

l'amplification du gène HER-2 pour les cas équivoques en IHC (score 2+) (**Akhdar et al., 2011**).

✓ **Le marqueur de prolifération Ki67 :**

L'antigène Ki67, est une protéine nucléaire Il est présent pendant toutes les phases actives du cycle cellulaire (G1, S, G2 et M), mais absent dans la phase (G0). Dans les phases ultérieures de la mitose (pendant l'anaphase et la télophase), une forte diminution des niveaux de Ki67 se produit. L'expression de la protéine Ki67 est associée à l'activité proliférative des populations cellulaires intrinsèques dans les tumeurs malignes, permettant de l'utiliser comme marqueur de l'agressivité tumorale (**Li et al., 2015**). L'évaluation du pourcentage de cellules marquées par IHC est donc un marqueur de la prolifération et aussi un facteur de mauvais pronostic (**Urruticochea et al., 2005**)

✓ **La protéine P53 :**

La phosphoprotéine P53 issue du gène suppresseur de tumeur *P53* joue un rôle important dans les mécanismes de contrôle de la progression du cycle cellulaire, de la réparation de l'ADN, de la survie ou de l'induction de la mort cellulaire (**Raymond, 2009**). Elle confère aussi une sensibilité des cellules cancéreuses à la radio-hormonothérapie. La P53 est devenue une cible des médicaments anticancéreux, qui l'activent dans les cellules cancéreuses pour les tuer ou l'inactivent temporairement dans les cellules normales afin de les protéger de la radio-hormonothérapie (**Wang et Sun, 2010**). Le gène de la P53 est situé sur le bras court du chromosome 17 (17p13) (**Biddles, 2005**), l'inactivation mutationnelle de ce gardien du génome est l'événement le plus fréquemment trouvé dans plus de 50% des cancers humains (**Wang et Sun, 2010**).

IV. Stroma tumoral et l'infiltrat inflammatoire:

IV.1 Stroma tumoral:

Toutes les tumeurs, bénignes et malignes, ont deux composants fondamentaux: (1) le parenchyme, constitué de cellules néoplasiques ou transformées, et (2) le soutien, le stroma non-néoplasique, formé de tissu conjonctif, vaisseaux sanguins, et les cellules inflammatoires. Le stroma est crucial à la croissance tumorale, en assurant un apport sanguin continu et en fournissant un support pour la croissance des cellules parenchymateuses. Il a été évoqué des interactions entre les cellules du stroma et les cellules néoplasiques qui influenceraient la croissance tumorale (**Kumar et al., 2017**).

IV.2 Infiltrat inflammatoire:

Les lymphocytes infiltrant les tumeurs (TILs) sont des cellules immunitaires mononucléaires qui comportent un mélange complexe de différents sous-types lymphocytaires, dominés par les lymphocytes T. Les proportions en lymphocytes B, NK et macrophages sont moins importantes. Toutes ces cellules infiltrant les tissus tumoraux ont été décrits dans la plupart des tumeurs solides, notamment le cancer du sein, le cancer du côlon, le cancer du col de l'utérus, le mélanome et le cancer du poumon (**Hendry et al., 2017; Savas et al., 2016**) (**Figure 2**).

Des études cliniques sur le cancer, rapportent que la fréquence des TILs est corrélée à une régression tumorale. Le type de cellules infiltrantes peut avoir plus de pouvoir pronostique que

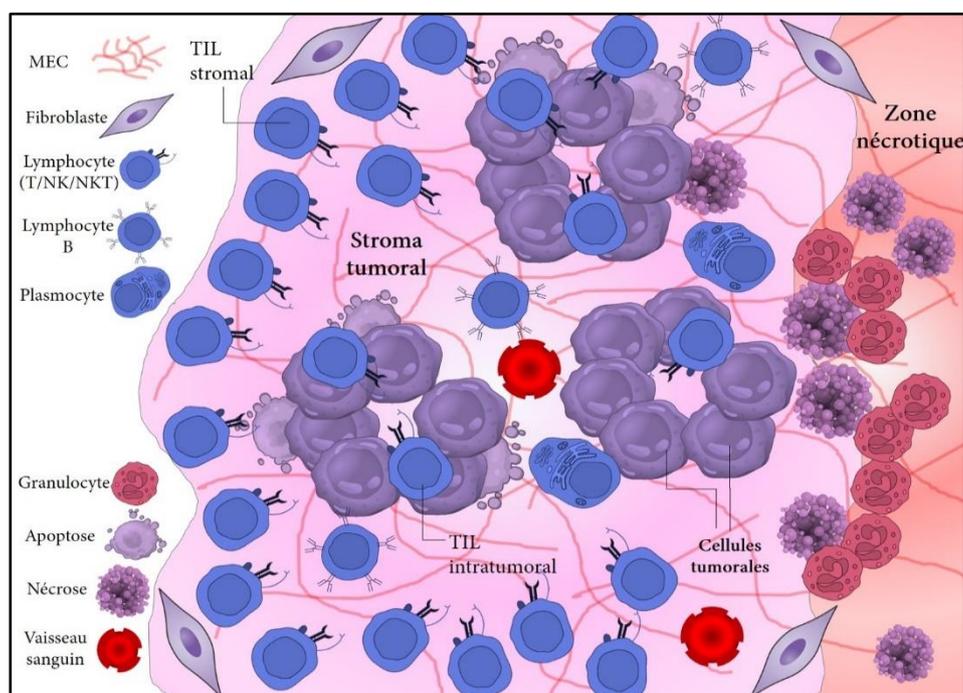


Figure 2 : Représentation schématique des différents types de cellules immunitaires et leur distribution au sein du foyer tumoral. TIL: Tumeur Infiltrating Lymphocytes, MEC: Matrice Extra-Cellulaire, NK: Natural Killer (Schéma original).

la classification anatomopathologique de la tumeur en question. En général, une fréquence élevée de cellules T CD8+, et parfois un rapport élevé de LTC (Lymphocyte T Cytotoxique), T reg (T régulateur) ou Th1 (T helper 1), Th2 (T helper 2) est associée à une survie accrue (**Thorsson et al., 2018; Owen et al., 2013**). Dans les TILs, nous retrouvons les TILs du compartiment stromal et les TILs intratumoraux. Ces derniers s'infiltrent au cœur ou dans les « nids » des cellules tumorales avec lesquelles ils sont en contact direct.

V. Immunologie du cancer :

Plusieurs études ont prouvé que le système immunitaire jouait un rôle clé dans la biologie du cancer et qu'il conditionnerait les résultats thérapeutiques. Le système immunitaire élimine les cellules cancéreuses les plus immunogènes mais entraîne aussi l'émergence de cellules cancéreuses moins immunogènes capables d'échapper à cette réponse.

Un problème majeur se pose concernant le cancer est que le système immunitaire a des difficultés considérables à développer des réponses immunitaires robustes et / ou durables contre de telles entités. En effet, la majorité des cancers surviennent tard dans la vie alors que les agents infectieux constituent une menace dès la naissance, cet état de fait justifie une meilleure reconnaissance du non-soi par notre système immunitaire comparé au soi altéré (**Enzler et al., 2003**). L'infection est une pression sélective beaucoup plus puissante, du point de vue génétique, que le cancer, car ce dernier ne nous empêche généralement pas d'assurer la livraison réussie de nos gènes à la génération suivante. Il est donc compréhensible que notre système immunitaire ait évolué pour se concentrer davantage sur l'infection que sur la mutation comme une menace à notre survie à long terme (**Delves et al., 2017**).

Parce que les tumeurs sont autonomes et ne sont généralement pas associées à des agents infectieux, les cellules cancéreuses possèdent peu de PAMP, molécules à l'origine de l'activation d'une réaction immunitaire robuste. Ainsi, bien que les processus mutationnels associés au développement du cancer génèrent fréquemment des néoantigènes qui, en principe, peuvent déclencher l'activation des lymphocytes T, en pratique ces réponses sont fortement atténuées en raison des mécanismes de tolérance centrale et périphérique qui visent à diminuer le risque auto-immun (**Delves et al., 2017**).

Cette notion d'immunodéficience, relative à un manque de PAMPs, molécules fournissant des « signaux de danger » et déclenchant des réponses immunitaires, fut renforcée par des études rapportant des résultats probants. En effet, on suppose généralement que le microbiote humain détermine le seuil de la réponse immunitaire, agissant ainsi comme un adjuvant (**Routy**

et al., 2017). Un travail récent fournit une indication indirecte en faveur de l'hypothèse selon laquelle les antigènes associés aux tumeurs qui déterminent le pronostic à long terme des patients atteints de cancer sont ceux qui ressemblent à des peptides infectieux d'origine pathogène (plutôt qu'allergènes ou apparentés au soi) (**Balachandran et al., 2017**). Par conséquent, une hypothèse spéculative, mais non prouvée, postulerait que les réactivités croisées entre les antigènes microbiens et les antigènes associés à la tumeur pourraient fortifier les réponses immunitaires antinéoplasiques (**Kroemer et Zitvogel, 2018**).

V.1 Immunosurveillance :

Les cellules de l'organisme sont maintenues sous une surveillance immunologique continue, de sorte qu'un soi altéré avec un potentiel néoplasique puisse être identifié et éliminé bien avant qu'il ne devienne cliniquement apparent (**Schreiber et al., 2011; Burnet, 1957**). La réponse anti-tumorale est initiée par les cellules NK (Natural Killer) qui reconnaissent des molécules de stress associées au MIC-A sur les cellules néoplasiques (cancéreuses) par leur récepteur activateur NKG2D. En absence de CMH de classe I (CMH I) à la surface des cellules néoplasiques, les NK sont activées et éliminent ces cellules du soi altérées par cytotoxicité ou *via* leur liaison aux ligands TRAIL et au récepteur FASR exprimés par les cellules néoplasiques. Les cellules NKT (appelées aussi NKT invariants) contribuent dans la réponse anti-tumorale majoritairement par la sécrétion de cytokines suite à la reconnaissance des antigènes glycolipidiques chargés sur le CD1d sur les cellules cancéreuses par le TCR semi-invariant (**Owen et al., 2013**). Les NK jouent un rôle majeur dans l'immunité anti-tumorale par le recrutement des cellules dendritiques spécifiques dites « conventionnelles » (CDc1 BATF3), *via* la sécrétion de l'interféron de type I et les chimiokines CCL5 et XCL1 (**Böttcher et al., 2018**). Ces dernières, captent les antigènes tumoraux dans le foyer tumoral et sous l'effet de la stimulation cytokiniques et des signaux de danger (filaments d'actine...), subissent une maturation et migrent vers le ganglion drainant la tumeur pour présenter les néoantigènes *via* le CMH I aux T CD 8⁺ naïfs (**Spranger et Gajewski, 2018; Broz et al., 2014; Ahrens et al., 2012**). Les lymphocytes T CD8⁺ activé se différencie en lymphocytes T Cytotoxiques (LTC) qui migrent vers le microenvironnement tumoral enflammé. Cette migration est dépendante de la réponse du récepteurs CXCR3 aux chimiokines CXCL9 et CXCL10. Les LTC éliminent les cellules cancéreuses par cytotoxicité et induisent l'apoptose (**Mikucki et al., 2015**). Les lymphocytes Th 1 et les macrophages M1 contribuent aussi à cette réponse par la sécrétion du TNF- α , l'interféron de type 1 et 2 respectivement (**Teng et al., 2015**) (**Figure 2**).

V.2 Immunoediting:

Au cours des années 90, les résultats de nombreuses études utilisant des modèles animaux de cancer induits chimiquement, ont permis aux chercheurs dans ce domaine de constater que les tumeurs qui se développent dans un environnement immunodéficient sont plus immunogènes (tumeurs non éditées) que celles qui apparaissent dans un environnement immunocompétent (tumeurs éditées). Ces observations ont conduit à l'idée que le système immunitaire exerce une influence dynamique sur le cancer, en inhibant les cellules tumorales mais aussi en les modelant dans un processus de sélection darwinien: celles qui survivent échappent facilement à la réponse immunitaire et ont un avantage de survie. L'hypothèse qui résume ces observations est appelée : « Immunoediting ». Les trois phases actuellement proposées dans le concept d'immunoediting sont l'élimination, l'équilibre et l'échappement (Mittal et al., 2014).

V. 2. 1. Elimination :

La première phase, l'élimination, est la vision traditionnelle du système immunitaire en tant qu'acteur majeur dans l'identification et la destruction des cellules cancéreuses nouvellement formées qui sont les plus immunogènes (Teng et al., 2015).

V.2.2 Equilibre :

L'équilibre est la deuxième phase proposée, caractérisée par un état d'équilibre entre la destruction et la survie d'un petit nombre de cellules néoplasiques qui sont moins immunogènes et subissent des processus mutationnels. De nombreuses données cliniques suggèrent maintenant que la phase 2 peut se poursuivre jusqu'à des dizaines d'années après l'apparition d'une tumeur. Cependant, identifier les cellules transformées résiduelles et les cibler au cours de cette fenêtre est difficile à cause de la « résistance adaptative » subit par ces cellules (Owen et al., 2013; Wilkie et Hahnfeldt, 2013).

V. 2. 3. Echappement :

L'échappement (ou l'évasion) est la phase finale de l'immunoediting, elle débute lorsque les cellules tumorales résiduelles les plus agressives et les moins immunogènes commencent à se développer et à se propager. La plupart des études de recherche fondamentale ont porté sur le rôle du système immunitaire dans la phase d'élimination, où les processus innés et adaptatifs qui identifient et ciblent les cellules transformées pour la destruction, finissent par donner un « coup-de-main » à la tumeur et prépareront parfois le terrain pour les phases d'équilibre et d'échappement (Owen et al., 2013) (Figure 3). Les cellules cancéreuses utilisent diverses

stratégies d'échappement au système immunitaire et établissent des points de contrôle immunitaires (Immune checkpoints) (**Tableau II**).

✓ **Exploitation des ligands inhibiteurs:**

Les cellules tumorales détournent les voies physiologiques utilisées par l'organisme pour maintenir la tolérance ou limiter la réponse immunitaire, telle que la voie du CTLA-4 et du PD-1/PD-L1. Les lymphocytes T régulateurs (T reg) qu'on retrouve dans le MET peuvent inhiber les LTC *via* l'interaction de leur CTLA-4 avec les molécules de costimulation CD80/86 exprimées par les CPA. Les CD peuvent aussi inhiber la différenciation des CTL en exprimant le CTLA-4 à la place du CD80/86 et les LTC eux-mêmes peuvent exprimer le CTLA-4 (**Abbas et al., 2017; Delves et al., 2017**). En outre, les cellules tumorales peuvent inhiber les LTC directement par l'expression du PD-L1, ligand du récepteur PD-1, qu'on retrouve chez les LTC. Le PD-L1 est exprimé aussi chez les lymphocytes T et B, les CD, les macrophages et d'autres cellules non-immunitaires (**Sharpe et Pauken, 2018**). La signalisation de PD-L1/PD-1 inhibe

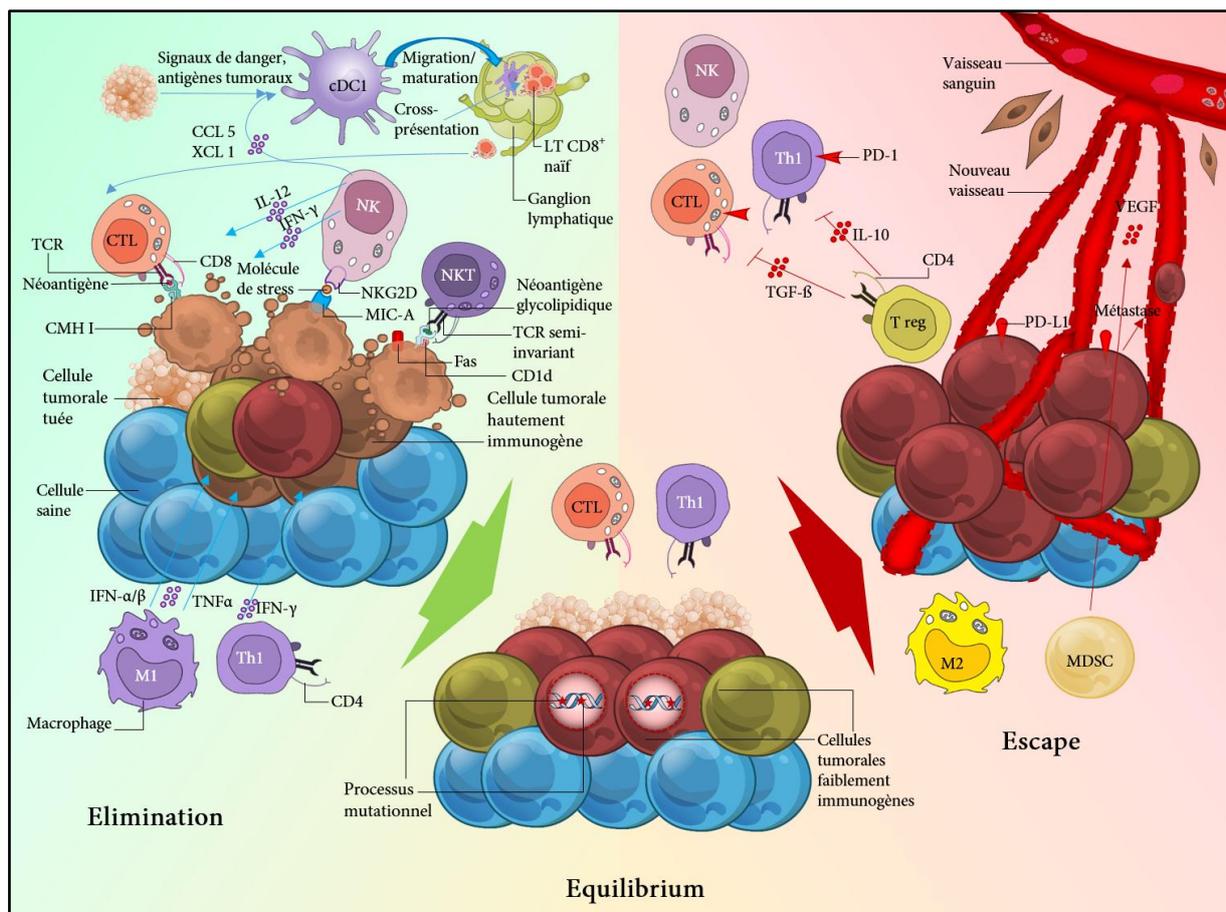


Figure 3: L'initiation de la réponse immunitaire anti-tumorale et les trois phases de l'immuno-editing. cDC1: Cellule dendritique conventionnelle de type, Th: T helper, T reg: T régulateur, CTL: Cellule T Cytotoxique, PD-1: Programmed cell Death receptor-1, MDSC: Myeloid Derived Suppresseur Cells, VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, TGF- β : Transforming Growth Factor- β (Schéma original).

l'activation et les fonctions effectrices des LTC *via* la molécule SHP2 (protéine tyrosine phosphatase). Cette dernière antagonise la signalisation des complexes formés par le TCR et le CD28, nécessaires à l'activation, la prolifération et la différenciation des lymphocytes T (Sharpe et Pauken, 2018) (Figure 4). L'oncogène *myc* régule positivement le PD-L1 (Casey et al., 2016) et les cellules tumorales le stabilisent par glycosylation (C. W. Li et al., 2016). Les IFN de type 1 et 2 stimulent l'expression de PD-L1 ce qui soutient le concept de « la résistance adaptative » dans les tumeurs (Sharpe et Pauken, 2018). En général, l'axe de PD-1/PD-L1 est une cible thérapeutique idéale.

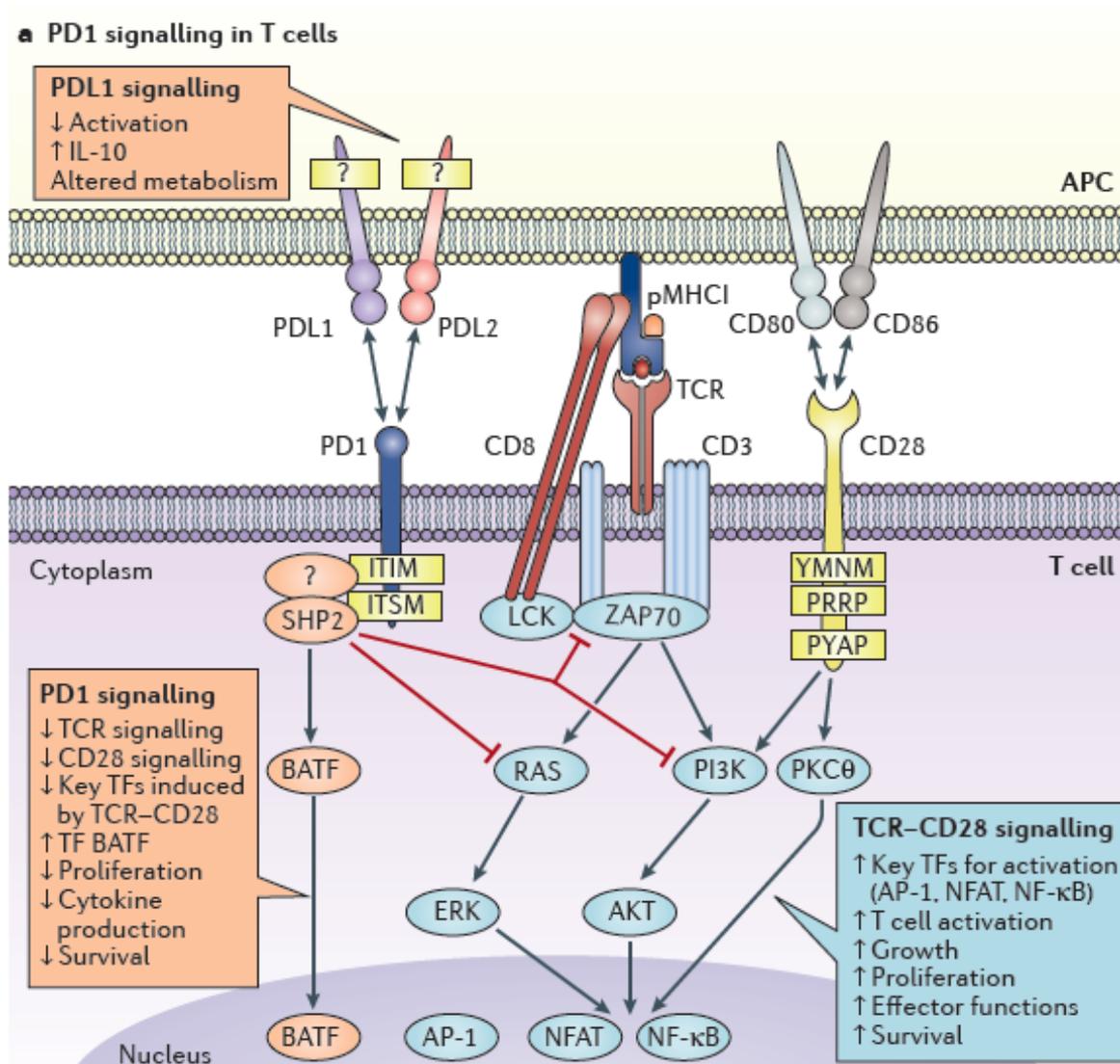


Figure 4 : Signalisation du l'axe PD-1/PD-L1. (Sharp et al., 2018).

Tableau II : Les différents mécanismes d'évasion utilisés par les cellules tumorales.

Mécanisme	Effecteurs
de l'expression du CMH I et la diminution de la charge mutationnelle	Les Mutations ou la répression épigénétique du loci du CMH I, la voie de l'expression des antigènes tumoraux ou les protéines de la signalisation interféronique (Dupage et al., 2012; Gajewski et al., 2011; Dunn et al., 2006; Kaplan et al., 1998).
Recrutement des cellules immuno-modulatrices et la manipulation des cellules du stroma :	Le recrutement des T reg, MDSC, les macrophages M2 et Th2 (Abbas et al., 2017).
	La manipulation des fibroblastes pour jouer un rôle immunosuppresseur (Lakins et al., 2018).
	Les mutations des gènes suppresseurs de la tumeur diminuent le recrutement des cellules dendritiques et les NK (Spranger et al., 2015; Iannello et al., 2013).
Sécrétion des cytokines immunosuppressives	TGF- β , IL-10, IL-4, VEGF et prostaglandine E2 (Böttcher et al., 2018; Delves et al., 2017).
Manipulation du métabolisme des cellules effectrices:	Déplétion des acides aminés par des enzymes cataboliques telles que: IDO1, TDO et l'arginase (Delves et al., 2017; Munn, 2006).
	Le catabolisme de l'ATP (immunostimulateur) en adénosine (immunosuppresseur) par les ectoenzymes CD39 et CD73 (Molinier-Frenkel et Castellano, 2017).
	La sécrétion de la lactate qui va diminuer le pH et créer un environnement acide qui va entraver les fonctions effectrices des LTC (Fischer et al., 2007).
	La nécrose des cellules tumorales libère le potassium qui peut inhiber les LT effecteurs et induit les Treg (Eil et al., 2016).

IDO1: Indoleamine 2,3-dioxygenase 1, TDO: Tryptophan 2,3-dioxygenase,

IV. 3. Inflammation et phénotype inflammatoire du cancer :

L'inflammation influence le développement d'une tumeur à tous les niveaux ; l'initiation, la progression, les métastases et la réponse au traitement anti-cancer (**Coussens et al., 2013; Hanahan et Coussens, 2012**). En effet, l'inflammation est associée au stress oxydatif et à la libération d'espèces réactives de l'oxygène (comme les radicaux hydroxyles), d'espèces azotées (comme l'oxyde nitrique) qui causent des dommages à l'ADN et des mutations (**Canli et al., 2017; Qian et Pollard, 2010; Landers et al., 2002**). En outre, les cellules immunitaires sécrètent des facteurs de croissance comme certaines cytokines et fournissent donc aux cellules cancéreuses des signaux mitotiques (**Grivennikov et Karin, 2010; Yu et al., 2009**). De plus, les cellules immunitaires sécrètent également des médiateurs angiogéniques comme le VEGF et stimulent l'angiogenèse et les métastases (**Kitamura et al., 2015**).

Une étude récente décrit une analyse immunogénétique approfondie de plus de 10 000 tumeurs comprenant 33 différents types de cancer. Cette étude établit des « sous-types immunitaires » à la tumeur où nous retrouvons : cicatrisant, IFN- γ dominant, inflammatoire, appauvri en lymphocyte, immunologiquement silencieux et TGF- β dominant. Ces classes sont caractérisées par des différences de signatures de macrophages ou de lymphocytes, rapport Th1/Th2, l'étendue de l'hétérogénéité intratumorale, l'aneuploïdie, les aberrations somatiques, l'étendue de la charge néoantigène, la prolifération cellulaire globale, l'expression des gènes immunomodulateurs et pronostic (**Thorsson et al., 2018**).

Matériel
&
Méthodes

Matériels et méthodes

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomie pathologique du centre Pierre et Marie Curie (CPMC) d'Alger, durant une période de 5 mois, du 1 février au 15 juin 2018.

Il s'agit d'une étude rétrospective établie sur 29 patients hommes, atteints du cancer du sein, et sélectionnés après une étude de leurs comptes rendus anatomopathologiques et de leurs dossiers cliniques. Les patients ont été diagnostiqués entre l'année 2016 et 2017.

Notre étude avait pour objectif d'analyser le stroma tumoral d'une série de cancer du sein chez l'homme. L'étude était morphologique, la coloration hématoxyline éosine (HE) nous a permis d'apprécier le pourcentage des cellules inflammatoires lymphoïdes et leurs distributions au sein de la tumeur. L'Immunohistochimie nous a permis de visualiser les interactions entre l'infiltrat inflammatoire et l'expression de PD-L1. Ces données ont été corrélées aux différents paramètres clinico-pathologiques.

I. Matériel

I. 1. Matériel biologique :

Une base de données (Excel) contenant les informations cliniques et histologiques (Age, taille de la tumeur, son type histologique, le grade SBR, le nombre de ganglions atteints, les récepteurs hormonaux et l'HER2, etc.) des 29 patients a été créée à partir des données archivées au niveau du service d'anatomie pathologique du centre de Pierre et Marie Curie d'Alger.

L'appréciation de l'infiltrat est effectuée à partir des lames colorées en hématoxyline éosine récupérées de l'archive de l'hôpital. Concernant l'immunohistochimie (IHC), les blocs paraffinés qui sont obtenus de l'archive de l'hôpital sont issus à la fois des biopsies et des pièces opératoires.

I. 2. Matériel non biologique :

La réalisation de notre étude a nécessité l'utilisation d'une variété d'appareillage et de réactifs. L'ensemble du matériel est illustré dans la partie **annexe 2**.

II. Méthodes :

Une analyse histopathologique des lames colorées à l'hématoxyline-éosine (HE) **annexe 2**, issues des archives du service, a été réalisée afin d'apprécier le pourcentage de l'infiltrat inflammatoire au sein du stroma tumoral selon les recommandations de Savas et *al.* en 2016 (**Annexe 2, Tableau III**).

II. 1. Lecture des lames HE :

Quatre fourchettes ont été utilisés pour la lecture de des lames HE : de 0 à 10%, entre 10 et 25 %, entre 25 et 50 % et supérieur à 50% (**Tableau III, Figure 5**).

Tableau III: Méthode de lecture des lames. (Tableau original).

Score d'infiltrat inflammatoire	Evaluation de l'infiltrat
Niveau I de 0 à 10%	-
Niveau II de 10 et 25 %	+
Niveau III 25 et 50 %	+
Niveau IV >50 %	+



Figure 5 : Carcinome mixte (canaulaire et micropapillaire), HE (Gx400).
(Photo originale).

II. 2. Révélation des protéines PDL-1 par immunohistochimie :

L'immunohistochimie (IHC) est une technique biologique largement utilisée qui combine l'anatomie, la physiologie, l'immunologie et la biochimie. Développé à partir de la réaction de liaison antigène-anticorps, l'immunohistochimie peut être considérée comme une méthode qui visualise la distribution et la localisation de l'antigène spécifique ou des composants cellulaires dans des tissus séparés, ou des coupes de tissus. Comparé à d'autres bio-techniques basées sur la réaction antigène-anticorps, comme l'immunoprécipitation, ou le western-blot, l'immunohistochimie fournit des informations in situ qui promettent un résultat expérimental plus convaincant (**“Immunohistochemistry (IHC) Principle,”**). Les principaux composants d'une expérience complète d'immunohistochimie :

- 1- l'anticorps primaire se lie à l'antigène spécifique ;
- 2- Le complexe anticorps-antigène est formé par incubation avec un anticorps secondaire, conjugué à une enzyme ;
- 3- Avec la présence de substrat et de chromogène, l'enzyme catalyse pour générer des dépôts colorés aux sites de liaison anticorps-antigène.

La révélation des protéines PD-L1 sur les coupes tissulaires tumorales est réalisée par la technique d'immunohistochimie sur BenchMark Ultra® (*Ventana*) (**Figure 3**). Le kit de révélation utilisé pour cette réaction dans l'automate est l'«UltraViewUniversal DAB Detection Kit» », ce dernier est composé de tous les réactifs nécessaires à la réaction d'immunohistochimie en dehors de l'anticorps primaire. Dans ce kit, la révélation des protéines recherchées est de type enzymatique par l'action de la Peroxydase du Raifort (HRP- *Horse Radish Peroxydase*).

L'automate BenchMark Ultra® (*Ventana*), permettant la révélation des protéines par immunohistochimie, est composé de trois zones principales :

- Le sous-ensemble de coloration composé de 30 tiroirs à lames et du carrousel de réactifs contenant le kit de révélation (*UltraView*) ainsi que l'anticorps primaire.
- Le sous ensemble des fluides composés des réactifs dits « consommables », utilisés pour toutes les réactions.
- Le sous-ensemble de déchet où l'automate élimine les sous-produits de ses opérations.

L'anticorps primaire utilisé pour la révélation des protéines PDL-1, est un anticorps anti PD-L1 « clone E1L3N » (CellSignaling Technologies, Danvers, MA). Ce clone est un anticorps monoclonale, produit à partir de l'immunisation de lapins avec un peptide synthétique correspondant à des résidus à proximité de l'extrémité C-terminale de la protéine PDL-1 humaine (Smith *et al.*, 2016).

Pour chacun des blocs paraffinés sélectionnés nous avons fait une coupe colorée pour l'analyse morphologique, puis des coupes d'une épaisseur de 4 µm montées sur lames silanisées pour la réalisation de l'immunohistochimie.

La réaction d'immunohistochimie dans sa globalité se compose de plusieurs étapes (**Figure 6**) :

- **Préparation des lames**

- Silanisation des lames** : Les lames sont mises dans un bac qui contient une solution de silane(SiH₄) diluée à 7% (7ml de silane/100ml d'acétone) pendant 2 à 3 min.

- Un rinçage est réalisé dans un autre bac contenant de l'acétone, puis un second rinçage à l'eau distillée.

- Le séchage e fait à température ambiante et à l'abri de la poussière.

- **Coupe microscopique** : À l'aide d'un microtome, des coupes microscopiques de 4µm d'épaisseur ont été réalisées sur des blocs inclus en paraffine.

- **Étalement sur lame** : Les prélèvements sont étalés sur des lames silanisées dans un bain Marie qui contient de l'eau chauffée à 40°C

- **Graver les lames** : Le numéro du bloc et l'anticorps utilisé sont mentionnés sur la lame à l'aide d'un crayon

- **Incubation** : Les lames sont incubées dans une étuve à 37°C pendant une nuit

- **Coloration immunohistochimique des lames avec l'automate BenchMark Ultra®.**

La coloration immunohistochimique des lames avec l'automate se fait en plusieurs étapes, résumées dans ce qui suit :

- Le déparaffinage du tissu et la réhydratation par l'action simultanée de la chaleur à 75°C et d'une solution détergente (EZ Prep, Ventana) pendant 8 mn.

- Le démasquage antigénique permettant aux antigènes de retrouver leur conformation Protéique initiale et les rendant accessibles aux anticorps, par incubation de la lame dans un Tampon contenant de l'EDTA, appelé «*Cell Conditionner 1*» (CCI).

La révélation de la réaction se fait, aussi, à l'aide du kit de détection «UltraView Universal DAB Detection Kit» (Ventana), réalisée par dépôts successifs de ces réactifs. Nous retrouvons les étapes suivantes :

- L'«Ultraview Inhibitor», solution contenant du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), est déposée Sur la coupe afin de bloquer les peroxydases endogènes qui pourraient parasiter le signal des Peroxydases (exogènes) apportées lors de la réaction. Jouant le rôle de substrat de l'enzyme, l'H₂O₂ va être consommé par les enzymes endogènes qui seront alors inactives.

- L'anticorps primaire anti-PDL-1, préalablement dilué dans le «Antibody diluent» (Ventana) au 1/200^{ème}, sont déposés sur les lames. Ils seront incubés 1 heure à une température ambiante. Si la protéine recherchée est présente sur la coupe, les anticorps vont alors s'y complexer.

- La solution appelée «Ultraview Multimères Ig», contenant un anticorps secondaire () couplé à la peroxydase du Raifort (HRP), ainsi que d'un bloqueur de protéines non spécifiques, est ensuite ajoutée. L'Anticorps secondaire couplé à la peroxydase va donc spécifiquement se fixer au fragment constant de l'anticorps primaire.

- Le substrat de l'enzyme, («Ultraview H₂O₂») et le chromogène («Ultraview DAB Chromogen») vont être déposés sur la coupe, révélant par la formation d'un précipité rougeâtre la présence de la protéine recherchée.

- La contre-coloration est réalisée à l'aide de l'hématoxyline (pendant 8 minutes). Elle est associée à une poste contre coloration, de 8 minutes en utilisant une solution de Bluing Reagent, comportant du carbonate de lithium et du carbonate de sodium, conférant une coloration bleue claire aux cellules non marquées.

- Les lames sont alors sorties de l'automate, lavées à l'eau savonneuse, déshydratées dans des bains d'alcool successifs (70%, 90% et 100%) puis placées dans du xylène. les coupes seront alors protégées par des lamelles collées.

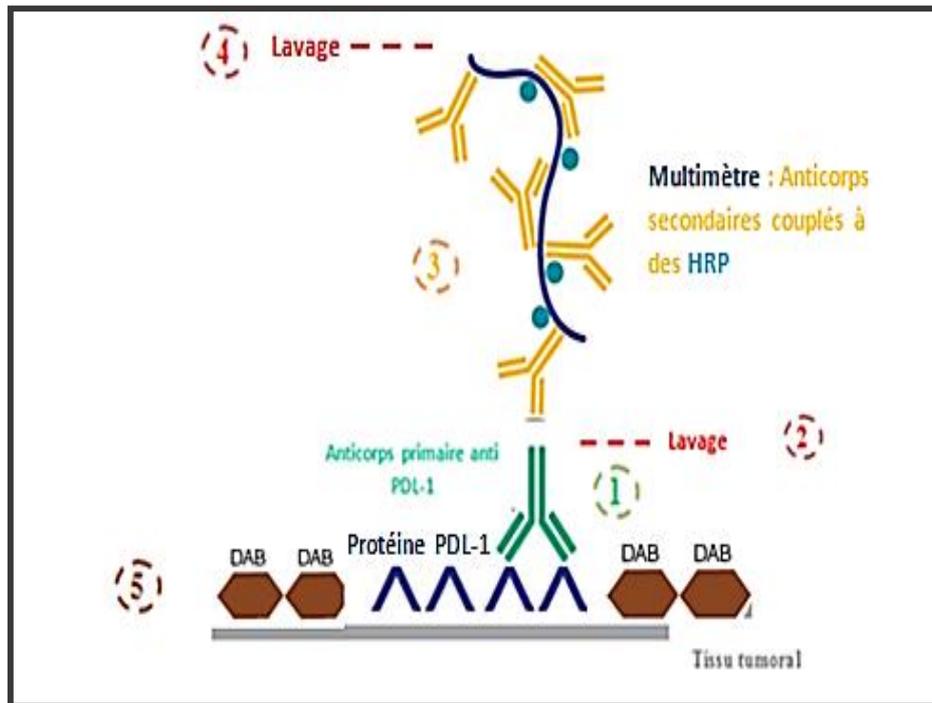


Figure 6 : le principe de l'immunohistochemie sur Ventana

- **Lectures des lames :**

La quantification du marquage sur les tissus est faite par un anatomopathologiste du service CPMC, qui évalue le marquage des cellules tumorales et immunitaire au microscope optique à différents grossissements (x10, x20 et x40). Un témoin positif, correspondant à une coupe d'amygdales dont on sait qu'elle exprime la protéine recherchée, est ajouté à la série de lames des patients. Si ce témoin n'est pas coloré, la série ne peut être lue.

Le clone PDL-1 exige comme un témoin positif le placenta ou les amygdales. Le rôle de ce contrôle positif est de confirmer que les étapes de la méthode ont été correctement établies ; il nous permet aussi de vérifier la qualité des réactifs utilisés.

Concernant les lectures des lames marquées à l'anticorps anti PDL-1, on estime que le fait qu'il y'a une positivité que ça soit, cellules inflammatoires ou cellule tumorales ou bien cellule inflammatoire et cellule tumorale, on considère ça comme « positive » et on apprécie le pourcentage.

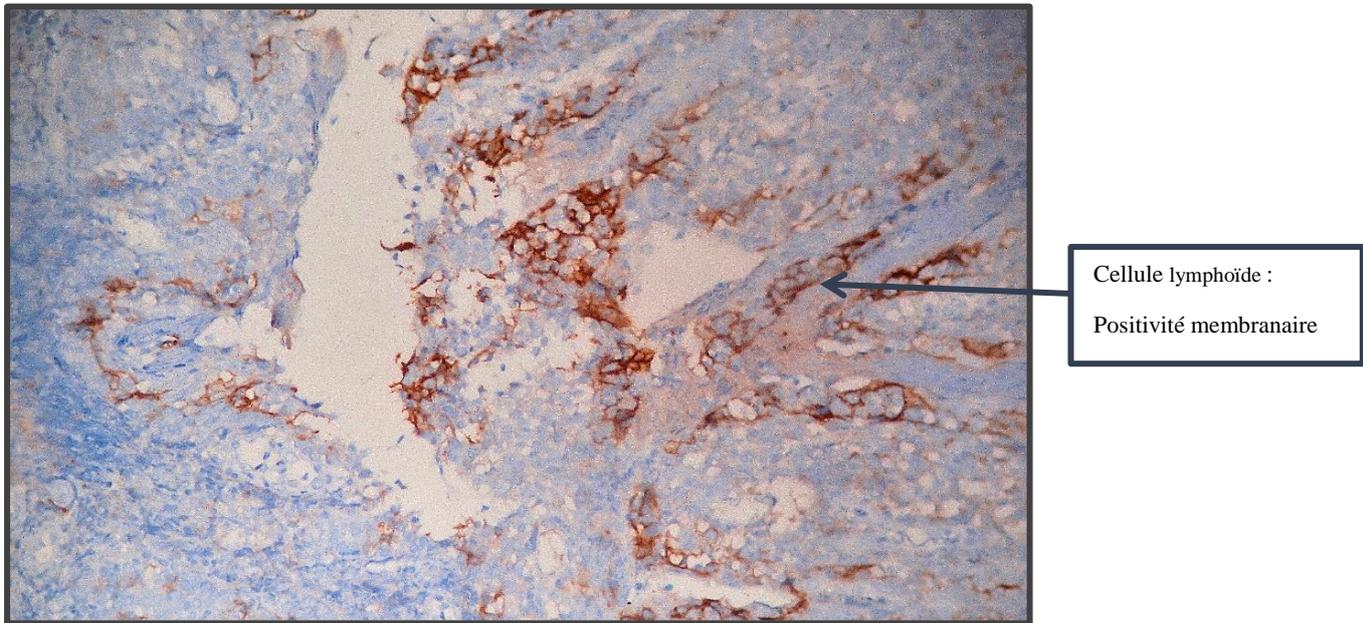


Figure 7 : Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-PD-L1, Témoin (Amygdales) (Gx400). (Photo originale).

III. Analyse statique :

L'analyse statistique a été établie sur Excel 2016 (Microsoft) ainsi que sur XLSTAT 2014 (Addinsoft). Nous avons essayé de mettre en évidence, les multiples associations caractérisant les variables liées au cancer du sein, ainsi que les liens complexes qui les unissent. Nos variables étaient en principe qualitatives.

Nous avons opté pour une analyse multidimensionnelle, l'analyse des correspondances multiples (ACM) qui est une extension de l'analyse factorielle discriminante (AFD) lorsque nous disposons de plus de 2 variables nominales (ou ordinales), ce qui est le cas de notre étude basée sur les mesures de plusieurs variables à 2 ou plusieurs modalités (**tableau V annexe**).

Cette technique permet d'analyser et de décrire graphiquement, et de manière synthétique, des grandes tables de contingences et ainsi, nous permet de visualiser dans notre cas les interactions entre l'infiltrat inflammatoire, l'expression de PD-L1 et les différents paramètres clinico-pathologiques.

Nous avons travaillé avec 2 échantillons composés de 20 et 15 individus pour lesquelles les mesures d'un grand nombre de variables ont été déterminées. Ces variables sont :

Résultats

I. Caractéristiques générales de la population :

I. 1. Répartition des patients selon l'âge :

L'étude de 29 cas de cancer du sein chez l'homme nous a permis de définir les différents paramètres cliniques et anatomopathologiques, représentés dans la **figure 8**.

L'âge des patients variait entre 33 et 81 ans avec une moyenne d'âge de 61 ans et une médiane de 62 ans.

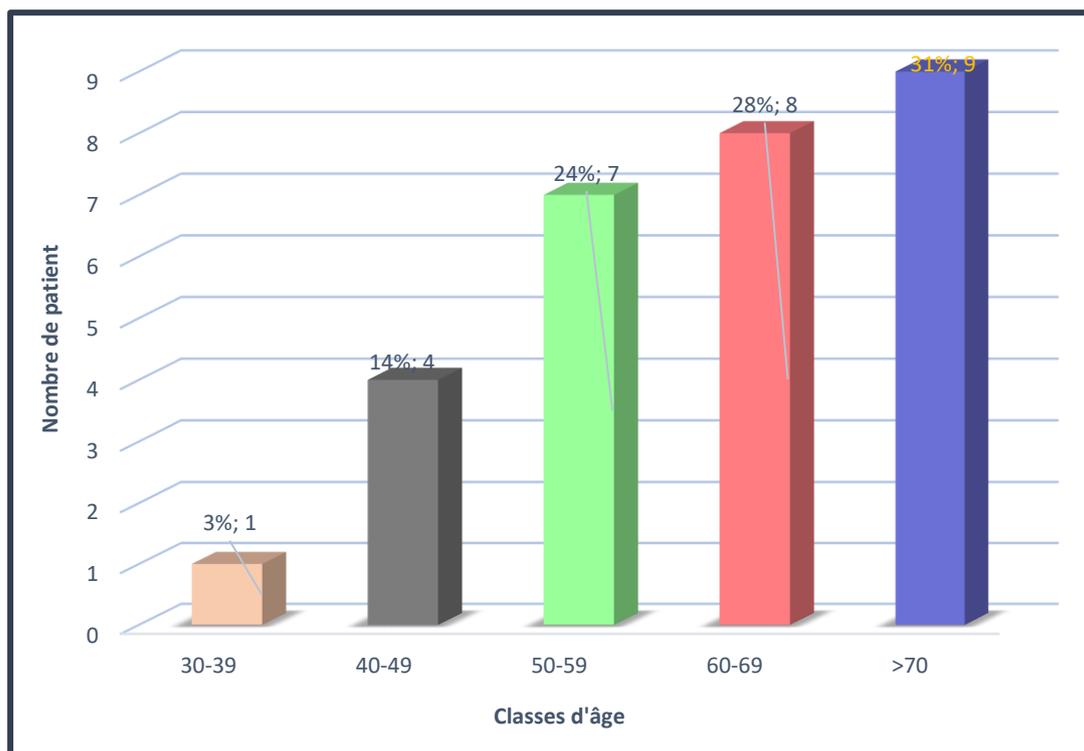


Figure 8 : Distribution des patients selon les tranches d'âge.

I. 2. Antécédents personnels :

Notre étude a révélé qu'environ 55,17% des cas avaient des antécédents de pathologies chroniques telles que le diabète, l'asthme et l'hypertension artérielle. Le reste, soit 17,24% n'avait pas d'antécédents personnels (**Tableau IV**).

Tableau IV : Répartition des patients selon les antécédents personnels.

Type d'antécédent	Effectifs n=29 (%)
Oui	16 (55,17%)
Non	5 (17,24%)
Inconnue	8 (27,59%)

I. 3. Antécédents familiaux :

Notre étude montre que seuls 6,9% des hommes avaient des antécédents familiaux de cancer du sein, diagnostiqué chez une sœur (**Tableau V**).

Tableau V : Répartition des patients selon leurs antécédents familiaux de cancer du sein.

Antécédents familiaux	Effectifs n=29
Oui	2 (6,90%)
Non	24 (82,76%)
Inconnu	3 (12,5%)

I. 4. Répartition des patients selon le type de prélèvement :

Parmi les 29 cas diagnostiqués du cancer du sein, la majorité des prélèvements (75,86%) étaient effectuées sur des pièces de mastectomie (**Tableau VI**).

Tableau VI : Répartition des patients selon le type de prélèvement.

Type de prélèvement	Effectif n=29 (%)
Microbiopsie	4 (13,80%)
Mastectomie curage	22 (75,86%)
Tumorectomie	3 (10,34%)

I. 5. Répartition des patients selon la taille de la tumeur :

En ce qui concerne la taille tumorale, nous avons classé les cas selon la taille T de la classification TNM. La majorité des cas correspondaient à des T2, soit 16 cas (59,26%). Les

T1 étaient au nombre de 7 (25,93%) et les T3 au nombre de 4 (14,81%). La taille moyenne obtenue pour la série étudiée était de 34 mm (**Tableau VII**).

Tableau VII : Répartition des patients selon la taille de la tumeur.

Taille de la tumeur :		Nombre de cas	Le pourcentage %
		n=27	
T1 ≤20 mm		7	25,93%
T2 : 20 – 50 mm		16	59,26%
T3 > 50 mm		4	14,81%

I. 6. Répartition des patients selon le grade SBR :

Nous avons comptabilisé 21 cas de grade II SBR (75%) la plupart étant des carcinomes canauxaux infiltrants (9 cas) et 7 cas de grade III (25%) (**Figure 9**).

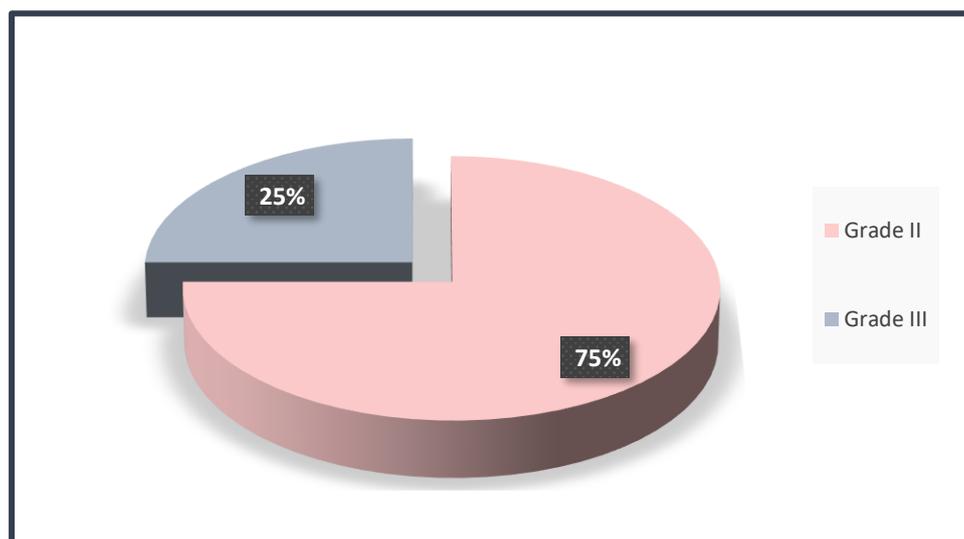


Figure 9 : Répartition des patients selon le grade SBR.

I. 7. Répartition des patients selon le type histologique :

Les 29 cas, objets de notre étude, ont été classés selon la classification histologique de l'Organisation Mondiale de la Santé (**OMS, 2012**). L'étude des types histologiques a mis en évidence (**Figure 10**) :

- 14 cas de carcinomes canauxaux infiltrants (CCI) représentant 48% des cas soit la majorité.
- 7 carcinomes mixtes représentant (C mixte) 24% des cas.

- 2 carcinomes lobulaires infiltrant (CLI) représentant 7% des cas.
- 2 carcinomes apocrines représentant (C apocrine) 7% des cas.
- Un carcinome papillaire infiltrant (CPI) représentant 4% des cas.
- Un carcinome in situ représentant (CIS) 4% des cas.
- Un carcinome métaplasique (C métaplasique) représentant 3% des cas.
- Un carcinome micropapillaire (C micropapillaire) représentant 3% des cas

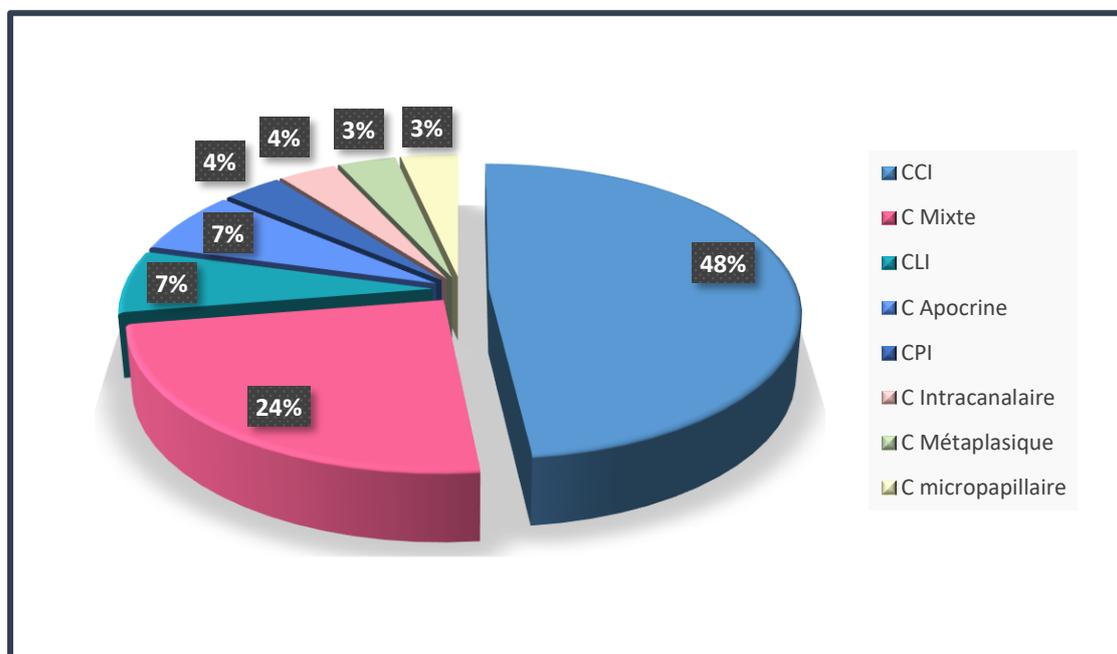


Figure 10 : Distribution des 29 cas selon les types histologiques.

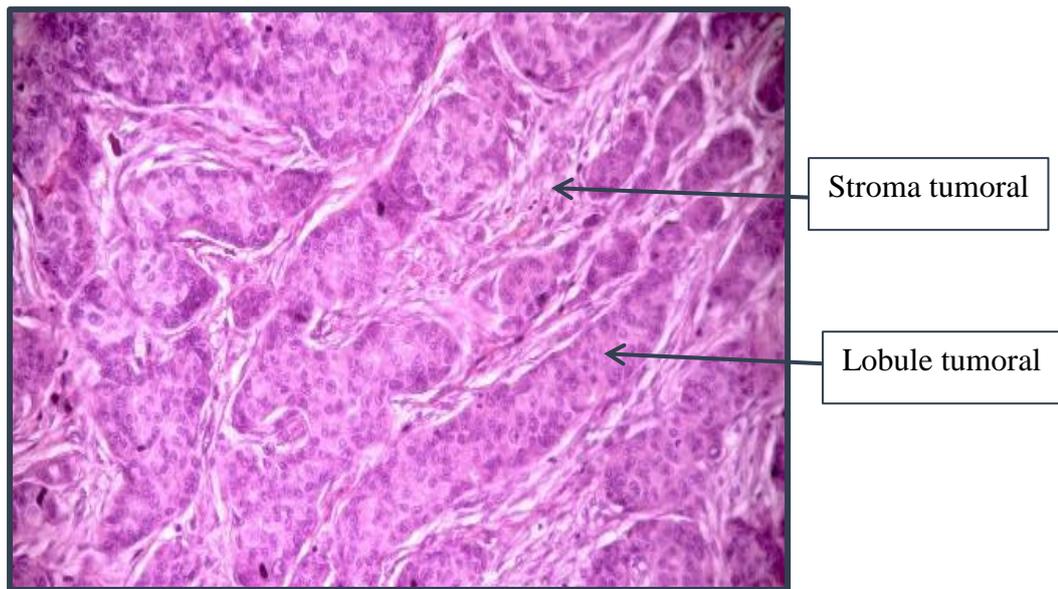


Figure 11 : Carcinome canalaire infiltrant, HE (Gx400).

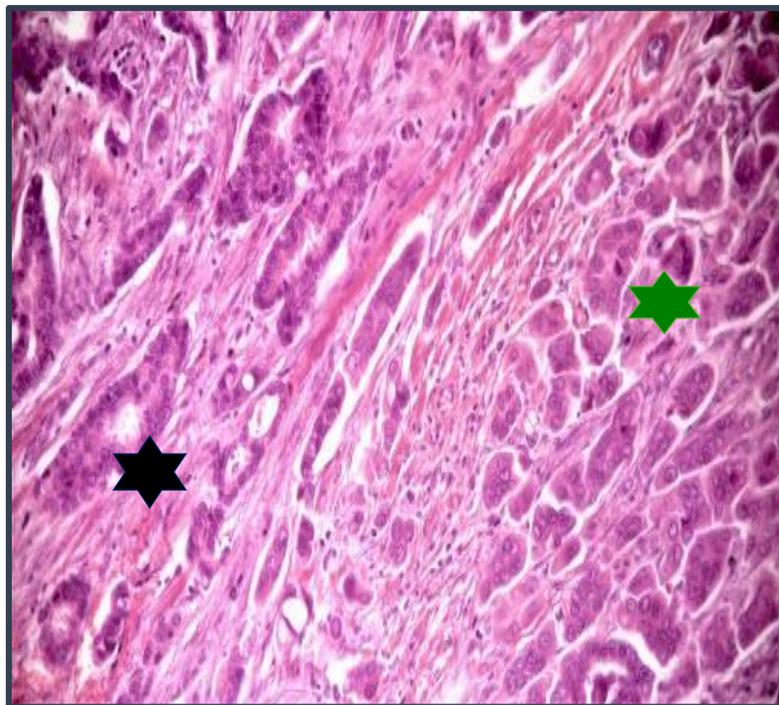


Figure 12 : Carcinome mixte (canalaire et micropapillaire), HE (Gx400). ★ Zone du carcinome canalaire ★ zone du carcinome micropapillaire

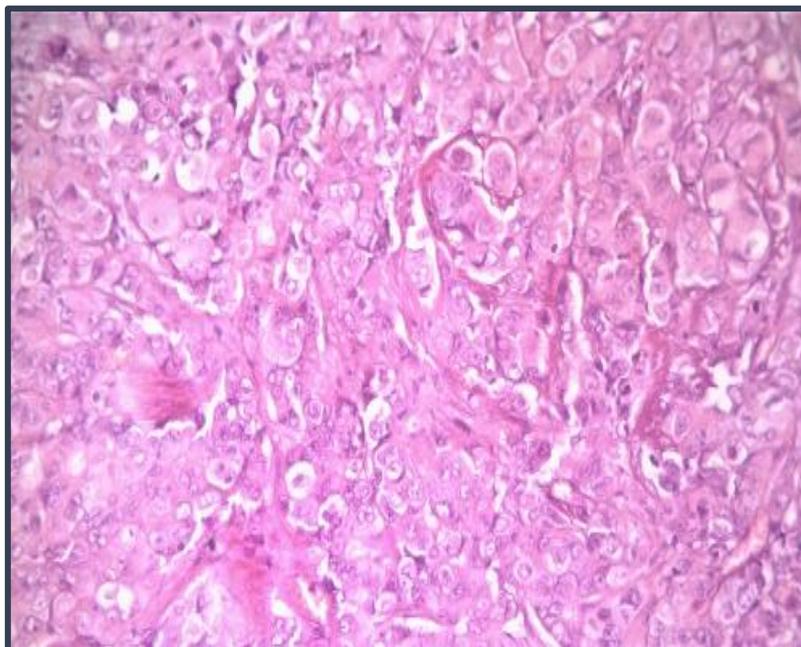
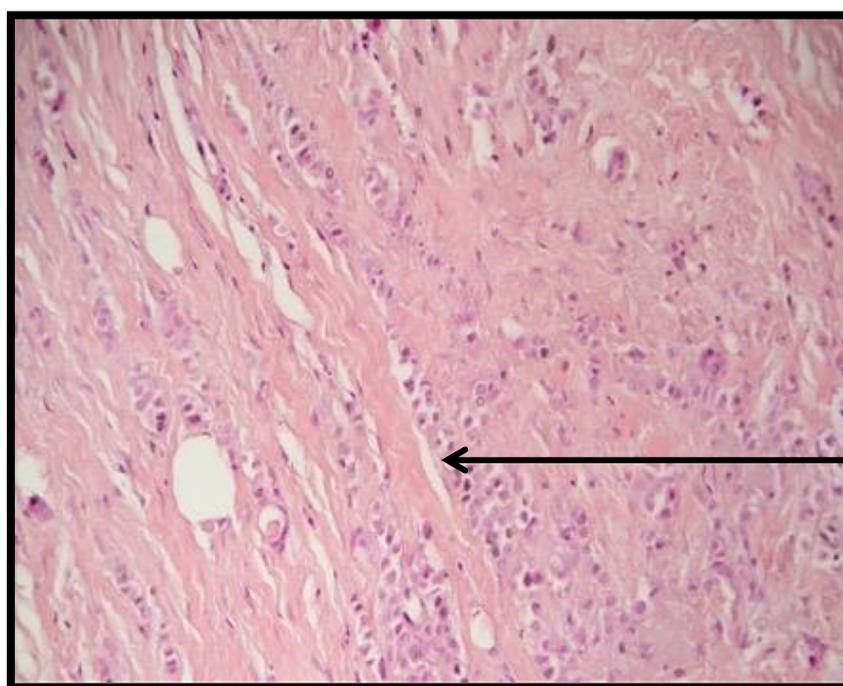


Figure 13 : Carcinome apocrine infiltrant, cellules de grandes tailles à cytoplasme eosinophile HE (Gx400).



Fine travée de
cellules tumorales

Figure 14 : Carcinome lobulaire infiltrant, HE (Gx400).

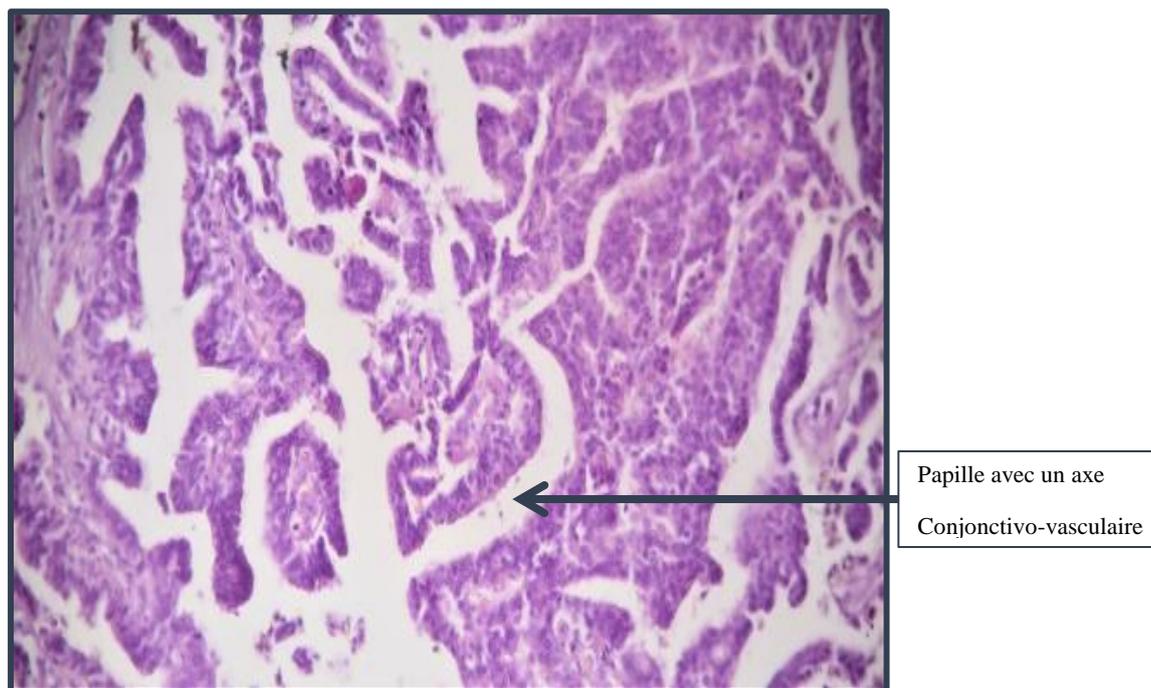


Figure 15 : Carcinome papillaire, HE (Gx400)

I. 8. Répartition des patients selon l’atteinte ganglionnaires :

Le principal caractère pris en compte pour prédire l’agressivité et l’évolution d’un cancer est l’atteinte ganglionnaire locorégionale, et qui constitue le mode métastatique le plus fréquent. Le stade N a été évalué chez la plupart de nos patients. 16 patients présentaient des métastases ganglionnaires (N+) soit un pourcentage de 72,73%. Nous avons constaté l’absence de métastases ganglionnaires (N-) chez 6 patients, soit un pourcentage de 27,27%. Nous n’avons pas d’informations relatives à ce paramètre concernant 7 cas (**Tableau VIII**).

Tableau VIII : Répartition des patients selon l’atteinte ganglionnaires.

		Nombre de cas	Le pourcentage %
Atteinte ganglionnaire :		n=22	
N+		16	72,73%
N-		6	27,27%

I. 9. Répartition des patients selon les récepteurs hormonaux :

La majorité des cas étudiés (93,10%) étaient positifs pour les récepteurs hormonaux (R. œstrogène, R. progestérone) (**Tableau IX**).

Tableau IX : Répartition des patients selon leurs récepteurs hormonaux.

Récepteurs hormonaux	Effectifs n=28
Rh+	27 (93,10%)
Rh-	1 (3,45%)

I. 10. Répartition selon la classification moléculaire :

La répartition des tumeurs selon la classification moléculaire dans notre série, montre que le profil luminal B caractérisait la majorité des cas soit 70% (16 cas), le profil luminal A était retrouvé chez 26% des cas (6 cas) alors que le triple négative (TNBC) n'a concerné que 3% des cas (un seul cas) (**Figure 16**).

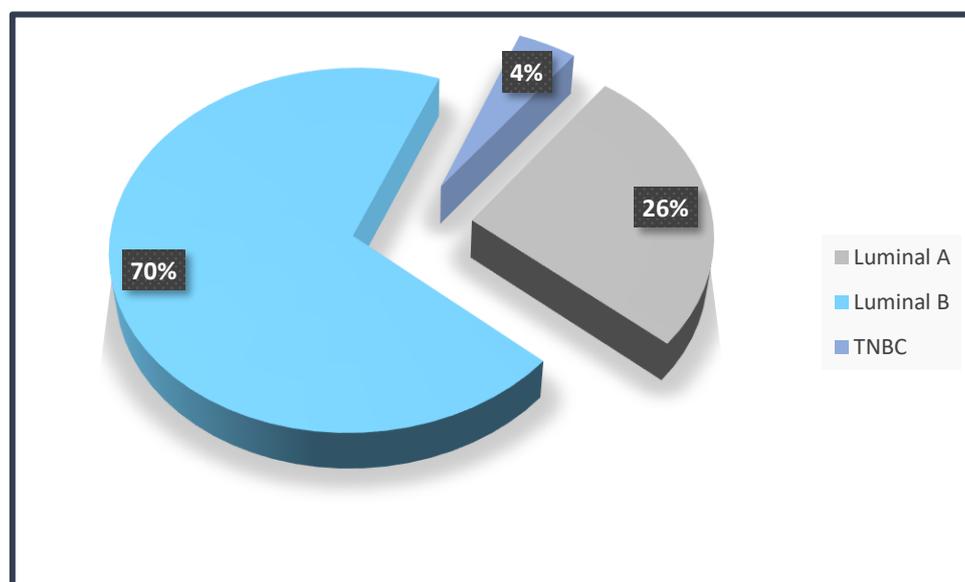


Figure 16 : Répartition des tumeurs selon la classification moléculaire.

II. Étude de l'infiltrat inflammatoire :

L'étude de l'infiltrat inflammatoire nous a permis d'apprécier et de quantifier de manière semi quantitative sa distribution en quatre niveaux, comme mentionné dans la partie matériel et méthodes. En excluant les carcinomes *in situ* et les cas sans lames, les résultats obtenus pour cette étude n'ont concerné que 20 cas. Ces résultats sont illustrés dans la **figure 17** et montrent que la majorité des patients, soit 13 cas (65%) présentaient une infiltration de niveau I (**Figure 18**). Les niveaux II (**Figure 19**), III (**Figure 20**) et IV (**Figure 21**) représentaient 25%, 5% et 5% des patients respectivement.

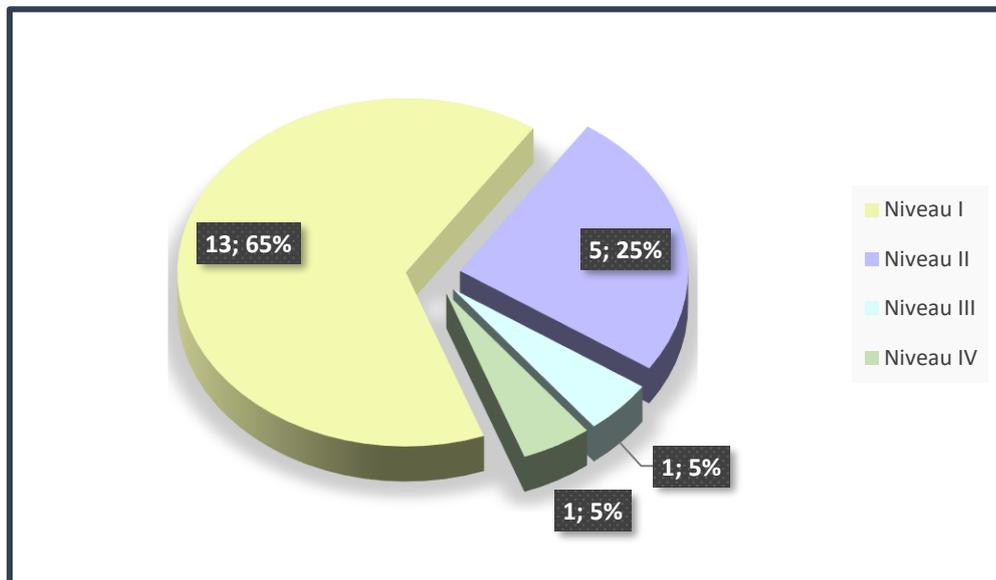
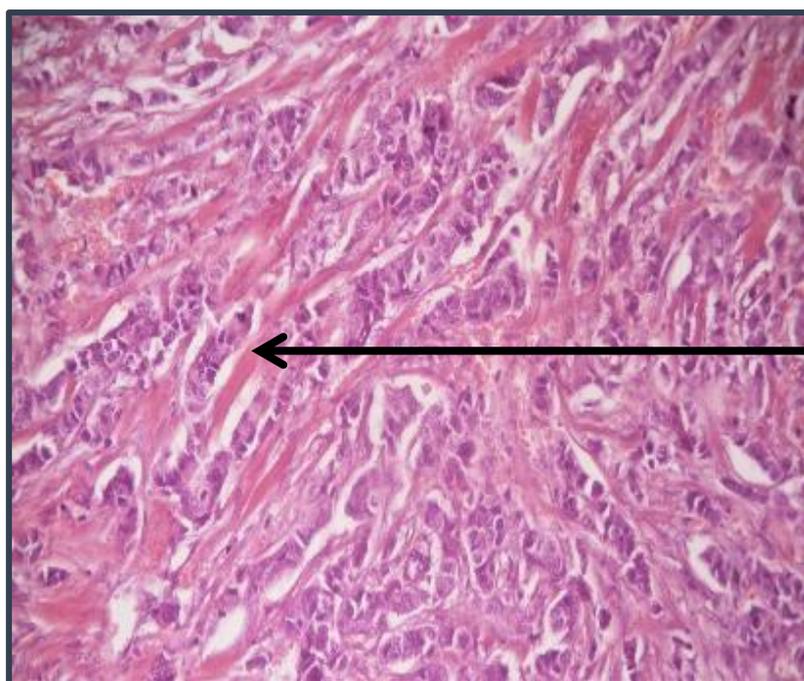


Figure 17 : Répartition des niveaux de l'infiltrat inflammatoire des patients.



Stroma fibreux
acellulaire

Figure 18 : Infiltrat inflammatoire 0-10% (niveau 1), HE (Gx400).

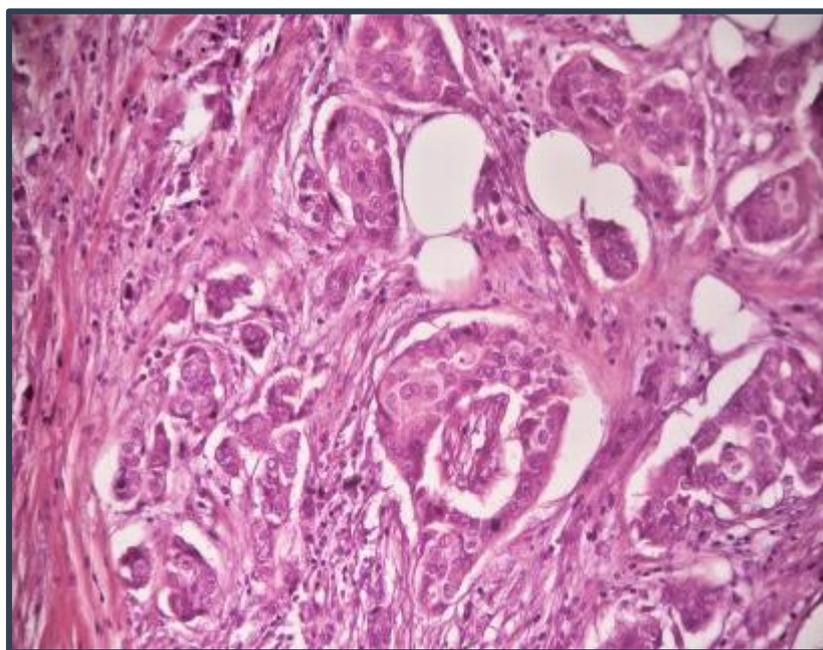


Figure 19 : Infiltrat inflammatoire 10-25% (niveau 2), HE (Gx400).

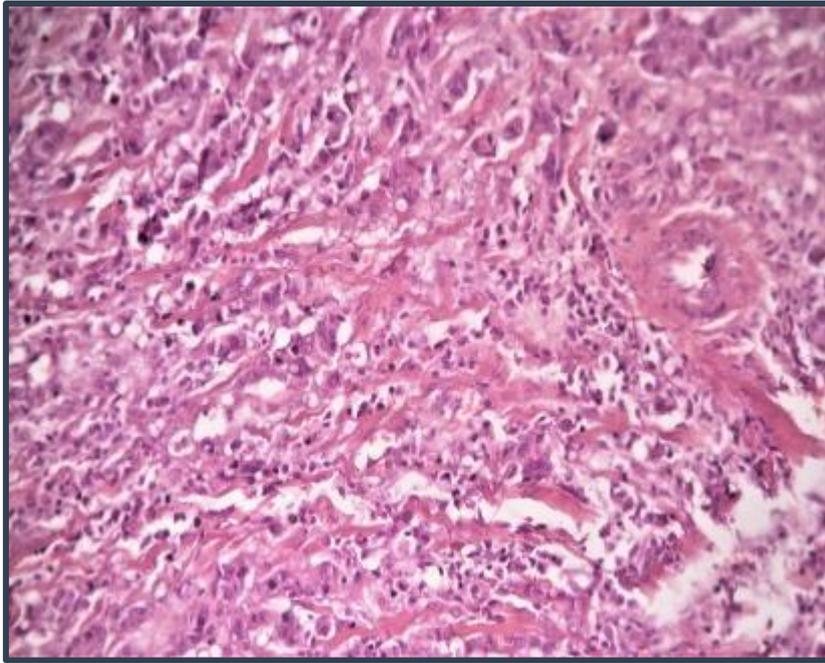
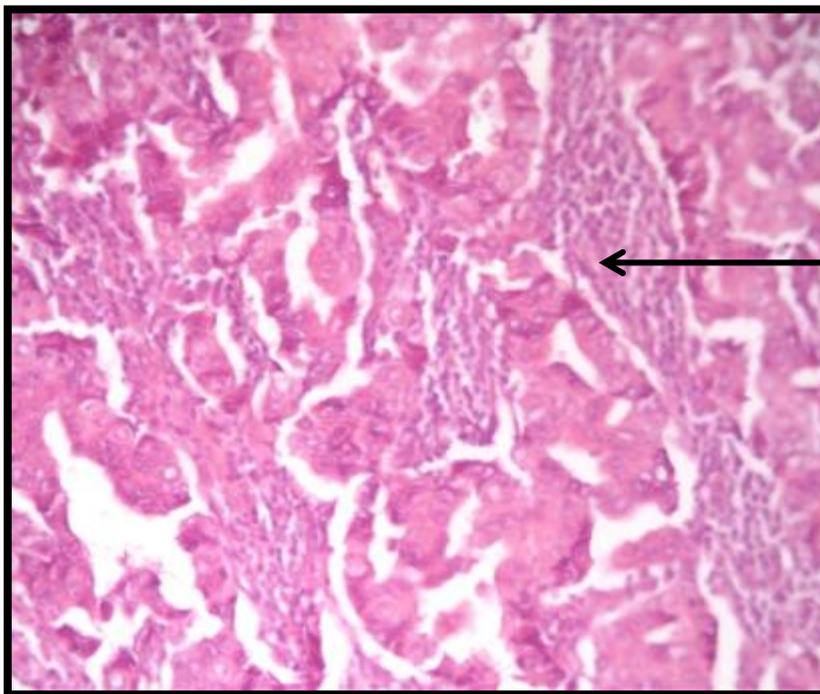


Figure 20 : Infiltrat inflammatoire 25-50% (niveau 3), HE (Gx400).



Infiltrat lymphoïde
Intense

Figure 21 : Infiltrat inflammatoire 50% (niveau 4), HE (Gx400).

II.1. Etude du marqueur PD-L1 :

A cause de l'épuisement de l'anticorps primaire au laboratoire, nous n'avons pu rechercher le marqueur PDL-1 que pour 15 patients parmi les 20 cas étudiés pour l'infiltrat inflammatoire. Seul 27% (n=4) d'entre eux étaient positif à ce marqueur (**Figure 23-27**).

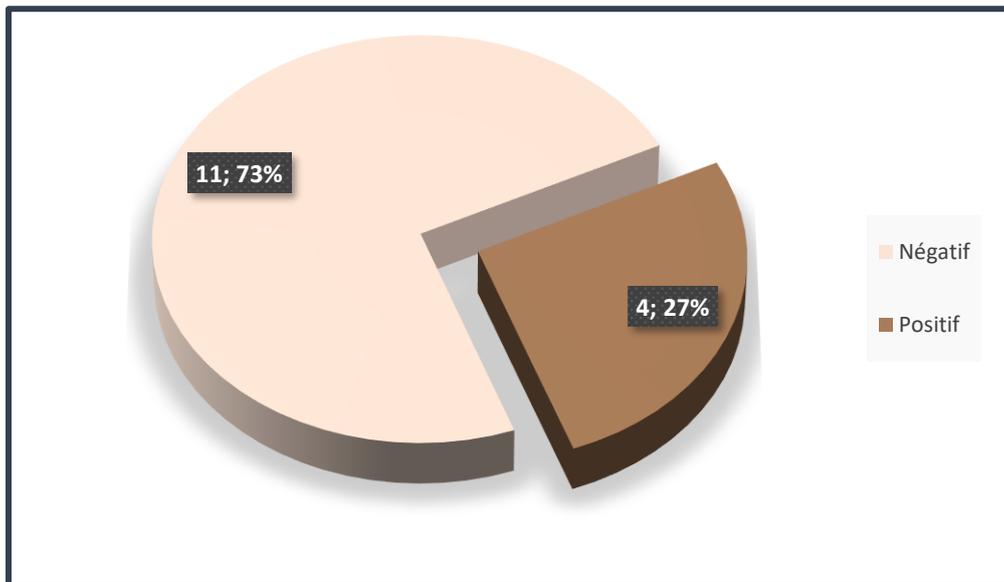


Figure 22 : Distribution de l'expression de PDL-1 positif/négatif chez les 15 cas.

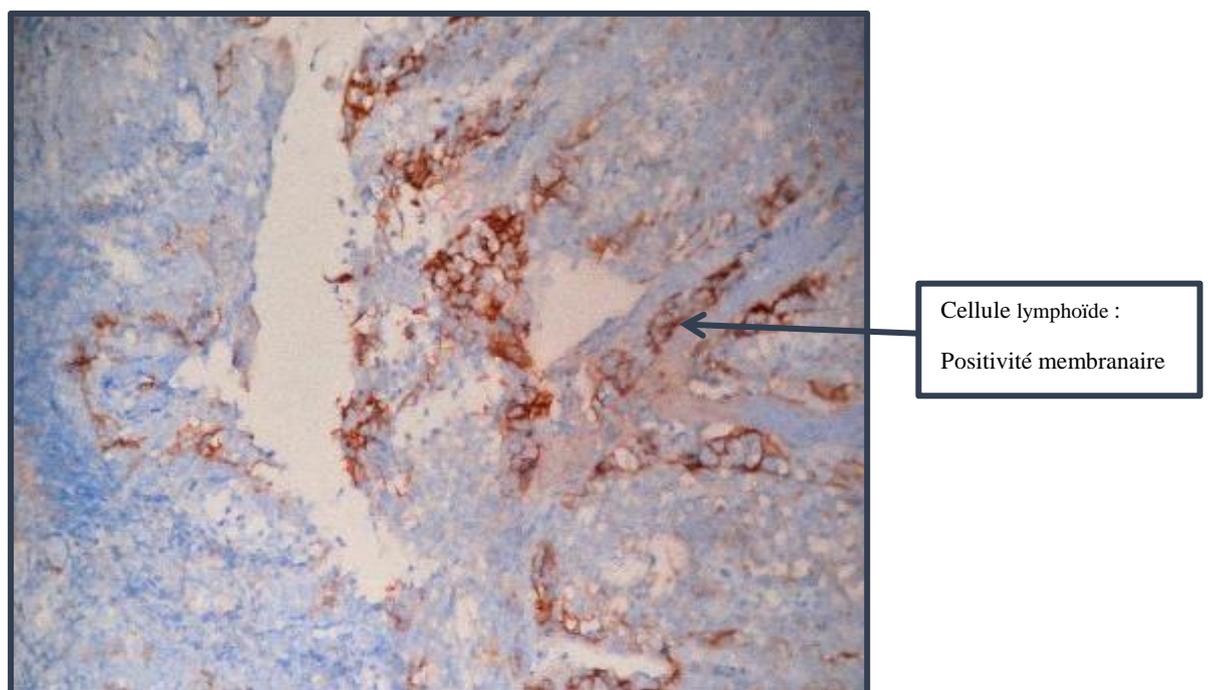


Figure 23 : Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-PD-L1, Témoin (Gx400).

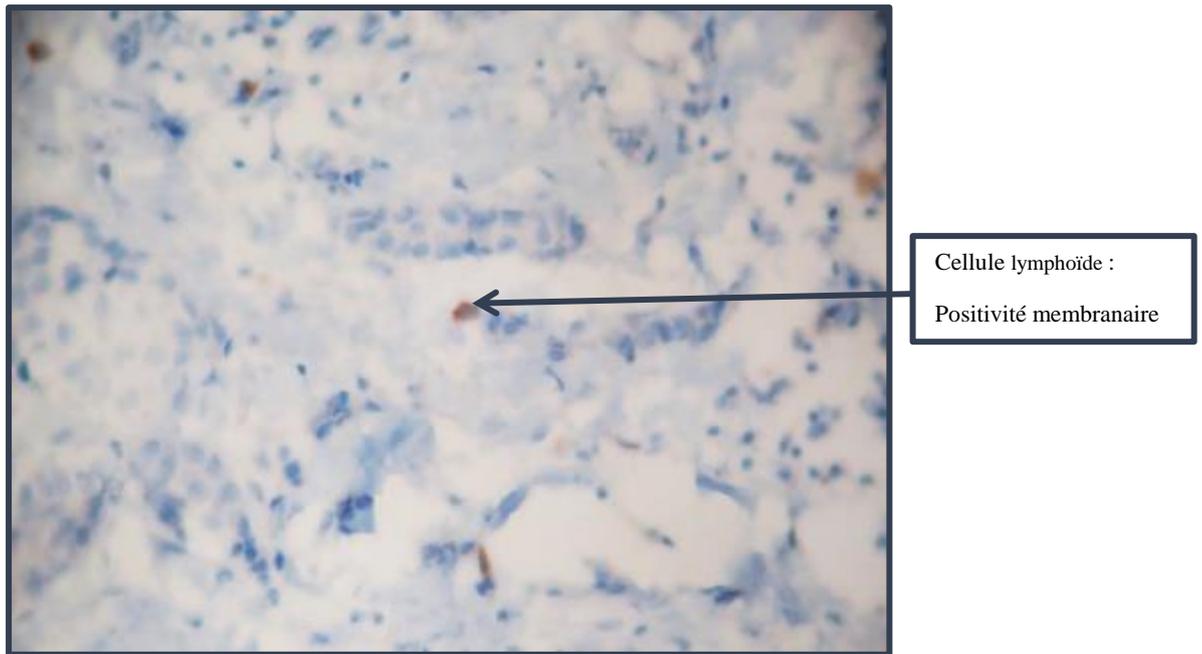


Figure 24 : Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé entre 0 et 10% (Gx400).

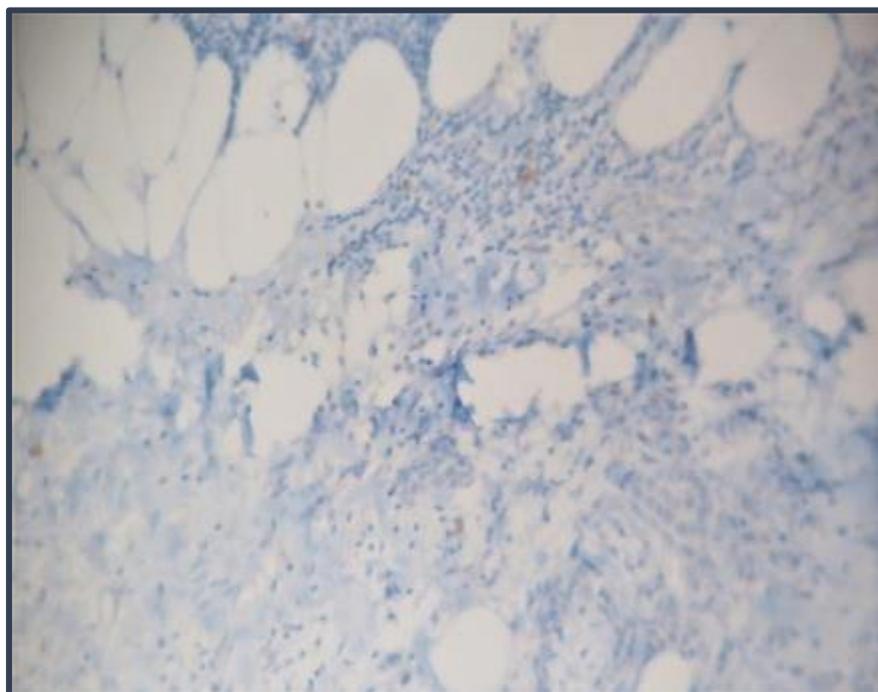


Figure 25 : Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé entre 10 et 25% (Gx400).

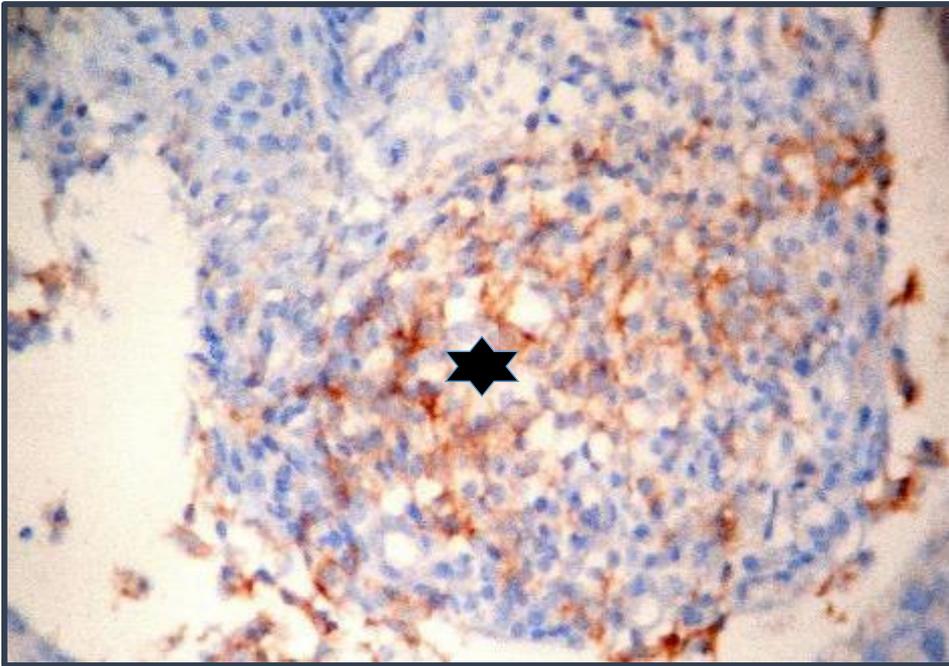
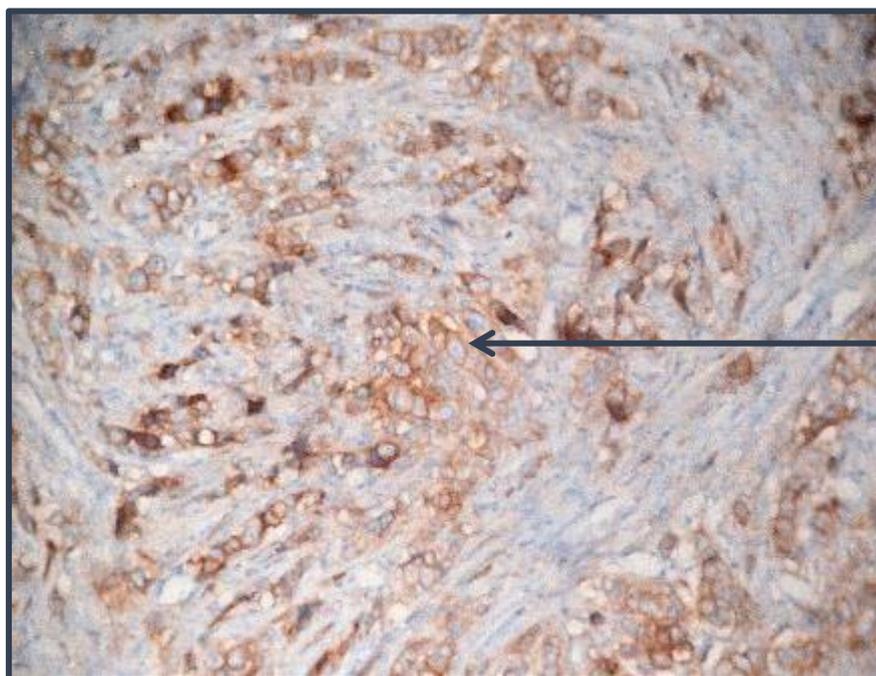


Figure 26 : Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé à 25 et 50 %, ★ amas lymphoïde aux cellules marquées (Gx400).



Cellules tumorales:
Positivité membranaire

Figure 27 : Immuno-marquage à l'aide de l'anticorps anti-PD-L1, pourcentage estimé à > 50% (Gx400).

III. Lien entre le statut de l'infiltrat inflammatoire et l'expression de PD-L1 avec les différents paramètres clinico-pathologiques :

Comme nous l'avons précisé plus haut, l'étude de l'infiltrat inflammatoire a été réalisée pour 20 cas, en excluant les carcinomes *in situ* et les cas sans lames. Sur ces 20 cas, seuls 15 ont été analysés pour le PD-L1, à cause du manque de l'anticorps primaire. Le même principe a été suivi pour le reste des paramètres. Tous les tests ont été réalisés avec le test exact de Fisher et les résultats sont montrés dans les **tableau X et XI**.

Les **figures 28 et 30** sont des représentations graphiques multidimensionnelles réalisées *via* l'analyse des correspondances multiples ou « ACM ». Celle-ci nous permet de visualiser les interactions entre l'infiltrat inflammatoire, l'expression de PD-L1 et les différents paramètres clinico-pathologique : âge, atteinte ganglionnaire (Ag), taille clinique (Tc), type histologique (Th), grade SBR (G), récepteurs hormonaux (Rh) et la classification moléculaire (Cm).

III. 1. Lien entre la présence de l'infiltrat inflammatoire et les différents paramètres clinico-pathologiques :

Pour pouvoir faire une étude statistique et pour étudier le lien entre l'infiltrat inflammatoire et les différents paramètres clinico-pathologiques, nous avons considéré le **pourcentage d'infiltrat 0-10%** comme étant négatif et les autres pourcentages (10-25/25-50/50%) comme étant positif. Nous avons attribué à l'âge des valeurs : **inférieur et supérieur à 60 ans**.

Les types histologiques ont été divisés en trois groupes : **carcinome canalaire infiltrant** (CCI), **carcinome mixte** (C mixte : carcinome canalaire infiltrant + cribriforme ; carcinome canalaire infiltrant + carcinome lobulaire infiltrant) et **autres** (carcinomes lobulaires infiltrant, carcinomes apocrines, carcinome papillaire infiltrant, carcinome intracanalairic, carcinome métaplasique carcinome micropapillaire).

D'après les tests statistiques que nous avons réalisés, aucun lien n'a été retrouvé entre l'infiltrat inflammatoire et les différents paramètres clinico-pathologiques, comme le montrent les différentes valeurs *p* mentionnées dans le **Tableau X**.

Tableau X : Fréquences de l'infiltrat inflammatoire avec les différents paramètres clinico-pathologiques.

Age (n=20)	Effectif	Infiltrat – (%)	Infiltrat + (%)	P value
<60	10	5 (50%)	5 (50%)	0,3498
>60	10	8 (80%)	2 (20%)	
Atteinte ganglionnaire (n=16)				
N-	4	3 (75%)	1 (25%)	1,0000
N+	12	7 (58,33%)	5 (41,67%)	
Taille clinique (n=19)				
T1	5	4 (80%)	1 (20%)	0,8035
T2	12	7 (58,33%)	5 (41,67%)	
T3	2	1 (50%)	1 (50%)	
Type histologique (n=20)				
CCI	8	6 (75%)	2 (25%)	0,8483
C Mixte	7	4 (57%)	3 (29%)	
Autres	5	3 (60%)	2 (20%)	
Grade SBR (n=20)				
G II	13	9 (69,23%)	4 (30,77%)	0,6514
G III	7	4 (57,14%)	3 (42,86%)	
Récepteurs hormonaux (n=19)				
Rh-	1	0	1 (100%)	0,3684
Rh+	18	13 (68,42%)	5 (26,32%)	
Classification moléculaire (n=19)				
Luminal A	3	2 (75%)	1 (25%)	0,7020
Luminal B	15	10 (66,67%)	5 (33,33%)	
TNBC	1	0	1 (100%)	

* : une *p* value significative (≤ 0.05)

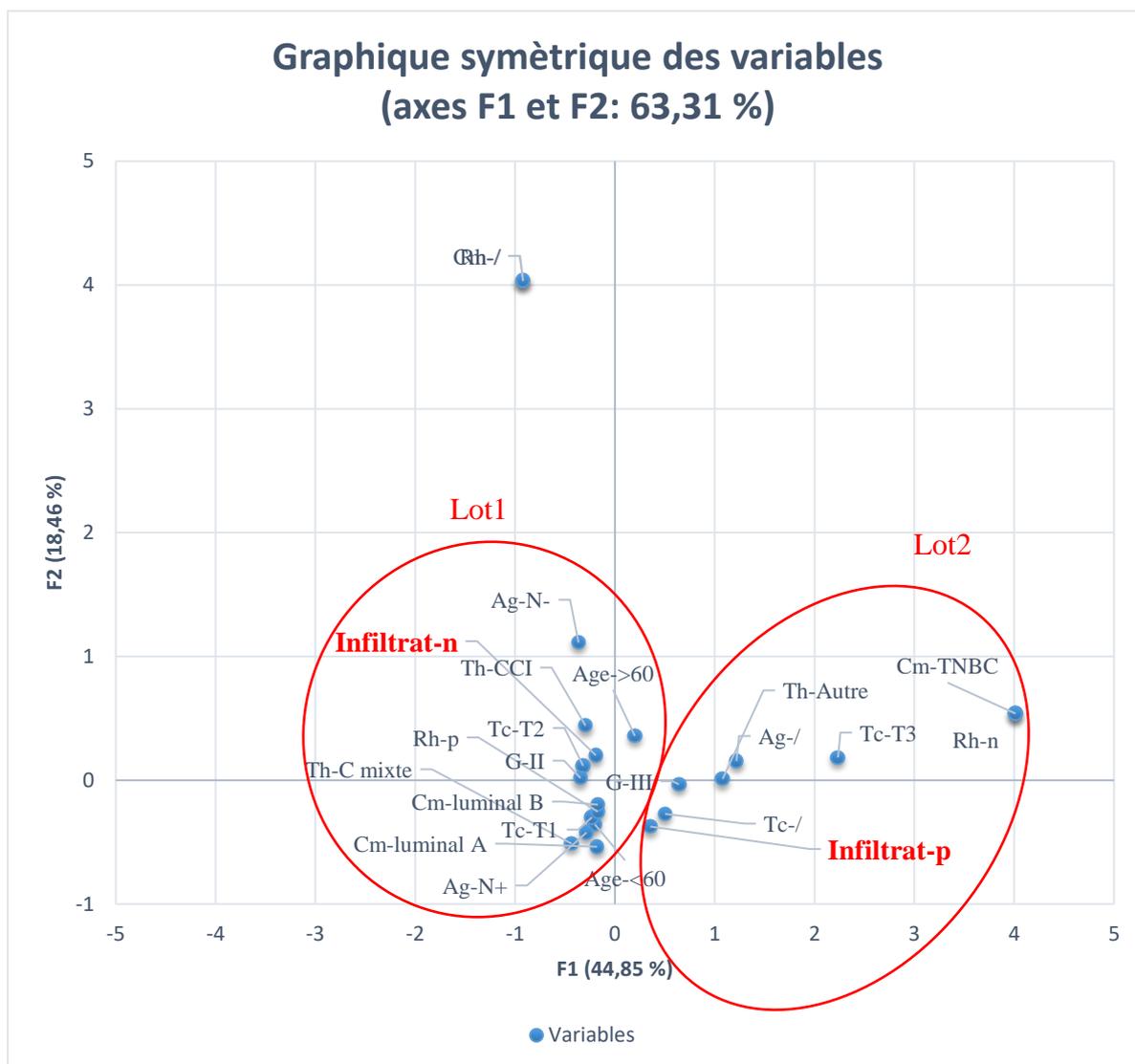


Figure 28 : Les résultats de l'analyse ACM entre le statut de l'infiltrat et les différents paramètres clinico-pathologiques.

Le nuage de points regroupé dans le lot1 de la **figure 28**, légèrement centré par rapport aux axes F1 et F2, montre que l'absence de l'infiltrat est associée avec les types histologiques CCI et carcinome mixte, les tailles tumorales T1, T2, la positivité des récepteurs hormonaux et la classification moléculaire luminal A et B. L'absence de l'infiltrat n'était pas spécifique à un grade SBR, à un statut ganglionnaire ou une catégorie d'âge. Le lot2 situé au centre de l'axe F1, à droite de l'axe F2 montre que la présence de l'infiltrat est associée avec le type histologique de la classe « autre », la taille clinique T3, les récepteurs hormonaux négatifs et la classification moléculaire TNBC.

III. 4. Lien entre l'expression de PD-L1 et les différents paramètres clinico-pathologiques :

Le lien statistique entre l'expression de PD-L1 et les différents paramètres était établi seulement pour la taille clinique et le grade SBR avec des p values de 0,0330 et 0,0037 ($\alpha=0,05$) respectivement. L'expression de PD-L1 est dépendante de la taille clinique et le grade SBR (**Tableau XI, Figures 29 et 30**).

Concernant les résultats de l'analyse des correspondances multiples, le lot1 situé légèrement au centre de l'axe F1 et F2 dans la **figure 31**, montre que l'expression négative du PD-L1 est associée avec les types histologiques CCI et carcinome mixte, le grade SBR II, la taille clinique T2 et T1, les récepteurs hormonaux positifs et la classification moléculaire luminal A et B. L'expression de PD-L1 n'était pas associée spécifiquement à un statut d'infiltrat, à un statut ganglionnaire ou une catégorie d'âge. Le lot2 situé à droite du l'axe F2 au centre du l'axe F1 montre que l'expression positive de PD-L1 est associé avec le grade SBR III, la taille clinique T3, les types histologiques classés « autre », les récepteurs hormonaux négatifs et la classification moléculaire TNBC.

Fait intéressant, les résultats trouvés par l'ACM représentés dans la **figure 31** confirment ceux trouvés par le test exact de Fisher concernant le lien entre l'expression de PD-L1, la taille clinique et le grade SBR.

Tableau XI : Fréquences de l'expression de PD-L1 avec les différents paramètres clinico-pathologiques.

Age (n=15)	Effectif	PD-L1 – (%)	PD-L1 + (%)	P value
<60	7	6 (85,71%)	1 (14,29%)	0,5692
>60	8	5 (62,50%)	3 (37,50%)	
Atteinte ganglionnaire (n=13)				0,4231
N-	2	1 (50%)	1 (50%)	
N+	11	9 (81,82%)	2 (18,18%)	
Taille clinique (n=15)				0,0051*
T1	4	2 (50%)	2 (50%)	
T2	9	9 (100%)	0	
T3	2	0	2 (100%)	
Type histologique (n=15)				0,3333
CCI	5	4 (80%)	1 (20%)	
C Mixte	7	6 (85,71%)	1 (14,29%)	
Autres	3	1 (33,33%)	2 (66,67%)	
Grade SBR (n=15)				0,0037*
G II	10	10 (100%)	0	
G III	5	1 (20%)	4 (80%)	
Récepteurs hormonaux (n=15)				0,2667
Rh-	1	0	1 (100%)	
Rh+	14	11 (78,57%)	3 (21,43%)	
Classification moléculaire (n=15)				0,3956
Luminal A	3	3 (100%)	0	
Luminal B	11	8 (72,73%)	3 (27,27%)	
TNBC	1	0	1	
Infiltrat inflammatoire (n=15)				1,0000
Infiltrat -	10	7 (70%)	3 (30%)	
Infiltrat +	5	4 (80%)	1 (20%)	

* : une p value significative (≤ 0.05)

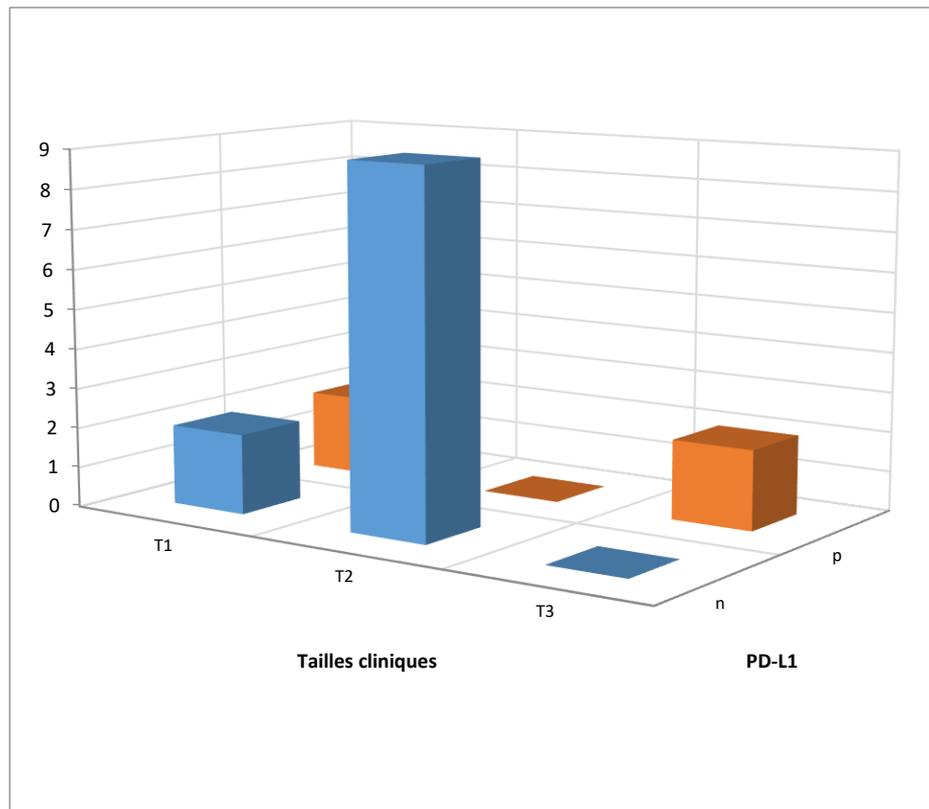


Figure 29 : Représentation 3D de l'expression de PD-L1 en fonction des différentes tailles cliniques.

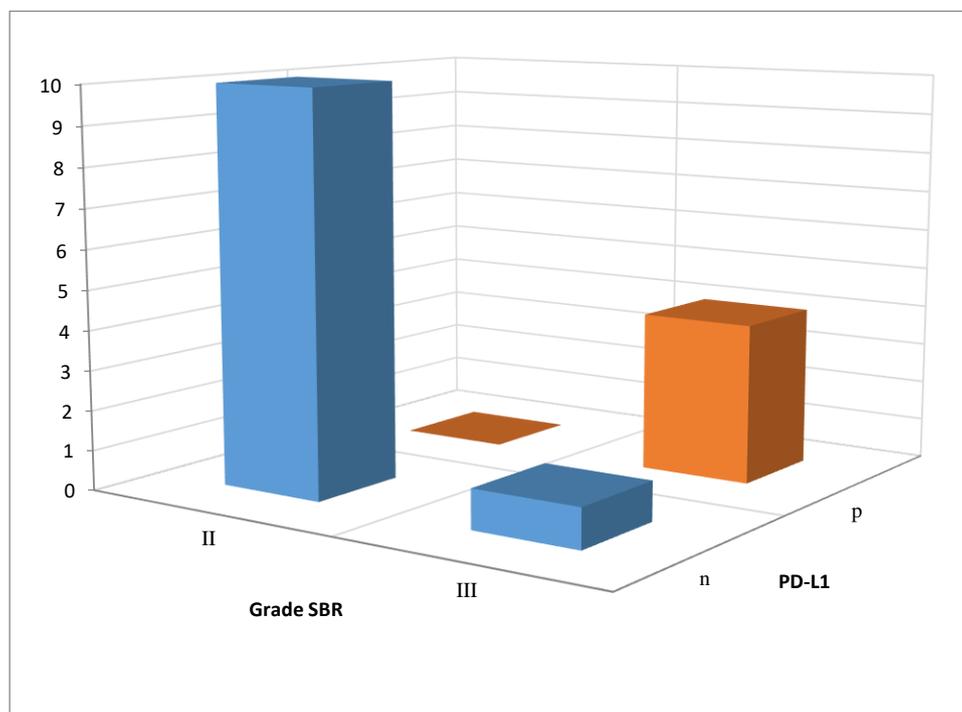


Figure 30 : Représentation 3D de l'expression de PD-L1 en fonction des différents grades SBR.

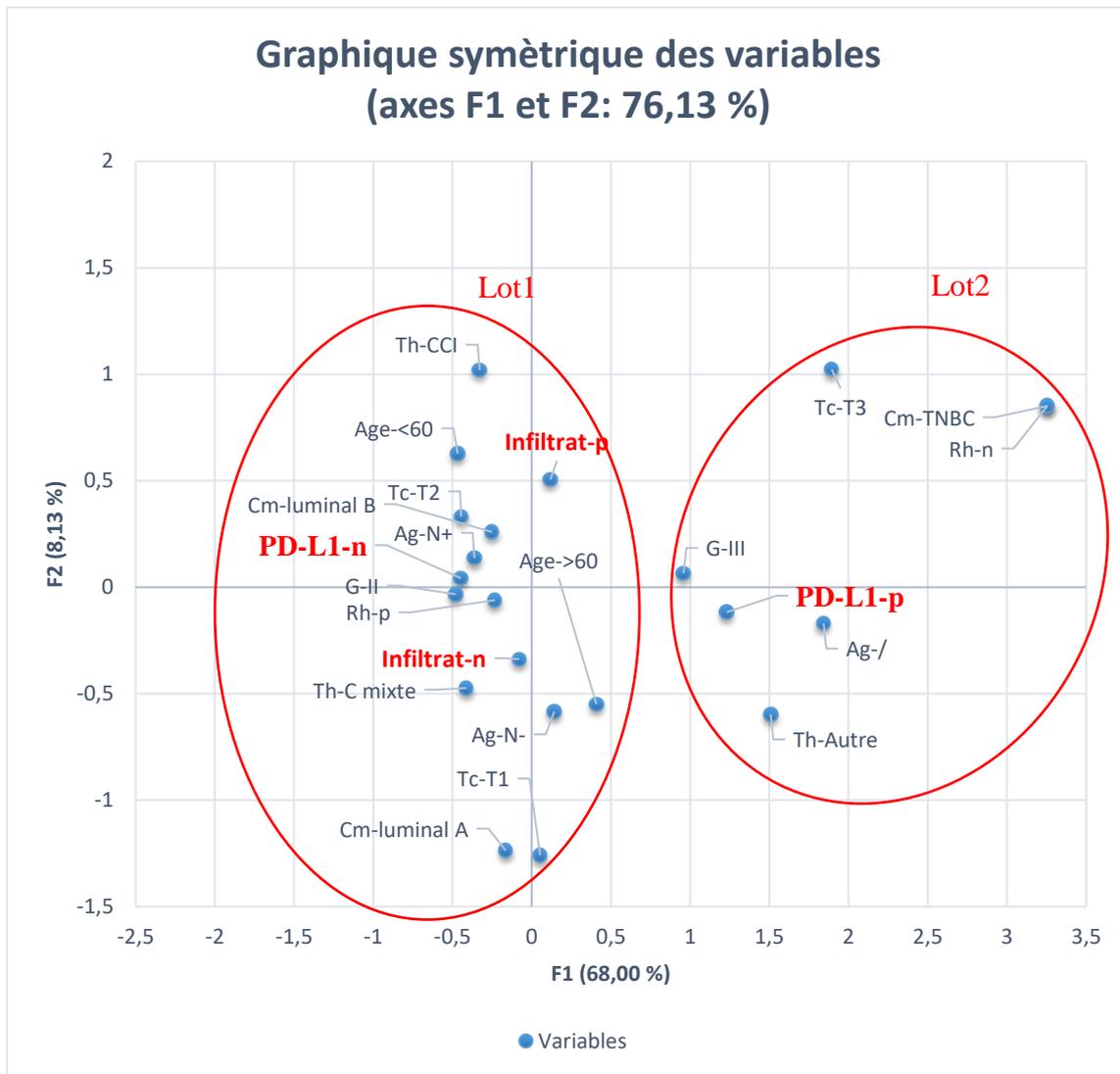


Figure 31 : Les résultats de l'analyse ACM entre l'expression de PD-L1 et les différents paramètres clinico-pathologiques.

Discussion

De nombreux travaux de recherche ont évalué les caractéristiques de l'infiltrat lymphocytaire au sein des tumeurs (TILs). De l'approche la plus simple (lames H&E) à la plus élaborée (biologie moléculaire), en passant par l'immunohistochimie, l'identification des sous-populations lymphocytaires, au sein de la tumeur, est déterminante dans l'évaluation de la réponse au traitement et du pronostic vital (**Hendry et al., 2017**).

Dans le cancer du sein, les TILs ont une valeur pronostique chez les sous-classes HER2-positif et triple-négatif (**Kraus et al., 2012**). Cependant, ces études n'incluaient pas les cohortes masculines, probablement du fait d'un effectif réduit.

Notre étude avait pour principal objectif de rechercher d'éventuelles corrélations entre l'infiltrat inflammatoire et le marqueur PD-L1 avec les différents paramètres clinico-pathologiques, concernant une série de cas de cancer du sein chez l'homme. Les informations relatives aux paramètres clinico-pathologiques ont été obtenus suite à l'analyse des fiches des patients, archivées au laboratoire d'anatomopathologie au Centre Pierre et Marie Curie d'Alger.

De façon générale, notre étude a révélé qu'il n'y avait pas de corrélation claire entre les TILs et différents paramètres clinico-pathologiques. Par ailleurs, nos résultats indiquent que l'expression du marqueur PD-L1 est corrélée avec le grade et la taille de la tumeur.

Les résultats de notre étude étaient compatibles avec la notion de l'augmentation du risque du cancer du sein chez l'homme avec l'âge. De nombreuses études ont observé le même état de fait, tels que rapporté en Turquie, en Egypte, à Singapour, au Maroc et en Chine (**Selcukbiricik et al., 2013**; **El-Beshbeshi et Abo-Elnaga, 2012**; **Teo, Tan, et Yong, 2012**; **Bourhafour et al., 2011**; **Liu, Tong, He, et Zhang, 2011**; **Zhou et al., 2010**). La médiane d'âge dans notre étude était similaire à celles rapportée par **Selcukbiricik et al. (2013)** et **Bourhafour et al. (2011)**. L'incidence du cancer du sein masculin suivrait, alors, un modèle d'âge non influencé par l'origine ethnique ou la localisation géographique. On a trouvé que la majorité des cas qui ont un âge supérieur à 60 étaient négatifs pour l'infiltrat inflammatoire, cela pourrait être dû aux mécanismes associés au vieillissement (**Castelo-Branco et Soveral, 2014**). En effet, la plus grande sensibilité aux infections, aux tumeurs, aux maladies autoimmunes et la moins bonne réponse vaccinale sont les caractéristiques de la réponse immunitaire du sujet âgé. Cette tranche de population en pleine expansion, présente une plus grande fréquence de comorbidités, qui sont autant de facteurs aggravants de la déficience de la réponse immunitaire identifiée sous le vocable d'immunosénescence. L'étude de nombreux paramètres immunitaires a permis

d'identifier comme facteurs prédictifs de vieillissement du système immunitaire une plus grande fréquence de lymphocytes T CD8+CD28-, une faible réponse proliférative et un rapport CD4/CD8 bas (**Poli et al., 2016**). Un défaut de l'immunosurveillance anti-tumorale lié à l'âge pourrait expliquer la survenue de certains cancers (**Zhang et al., 2003**).

Dans notre étude, la majorité des cas correspondait à une taille tumorale T2 (16 ; 59,93%). Ces résultats corroborent ceux de **Klein et al. (2011)**, où la taille T2 caractérisait 42.5% de la population étudiée et représentée par 4220 patients. Des résultats similaires ont été rapportés par **Soliman et al. (2016)**. L'analyse ACM a révélé une association entre l'infiltrat négatif avec la taille tumorale T1 et T2, tandis que l'infiltrat positif était associé à une taille tumorale T3.

Le récepteur PD-1 est exprimé par les cellules T épuisées (exhausted T cells) au cours des infections chroniques. Après sa liaison à son ligand PD-L1, exprimé par les cellules immunitaires et non-immunitaires de l'hôte, il induit l'inactivation ou bloque la différenciation des cellules T en cellules effectrices. Les cellules tumorales utilisent ce mécanisme pour échapper à la surveillance du système immunitaire (**Sharpe et Pauken, 2018**). Dans notre étude, nous avons constaté une corrélation significative entre l'expression négative de PD-L1 et la taille tumorale T2, alors que l'expression positive était associée à la taille T3. Cela pourrait être expliqué par le principe de l'« immuno-editing ». Durant la phase d'équilibre, les cellules tumorales qui ont été préalablement sélectionnées positivement par l'action du système immunitaire, acquièrent grâce à des mutations aléatoires, des caractéristiques immuno-invasives (expression du ligand de PD-1) et prolifératives importante, influençant positivement la taille tumorale.

Le grade II est le grade dominant dans la majorité des études de la littérature (**Rakha et al., 2010; Ménard et al., 1999; Aaltomaa et al., 1992**), il est présent chez 55 % des patients soit 696 dans l'étude de **Le Doussal et al. (1989)** et chez 76.9% dans l'étude de **Soliman et al. (2016)**. Nos résultats concordent avec ces derniers, puisque le grade SBR II était présent chez 75% de nos patients. Une corrélation statistiquement significative a été établie entre le grade SBR III et l'expression de PD-L1. Cela pourrait être expliqué par le fait que les tumeurs de haut grade ont une instabilité génétique plus développée, et cela est associée à une régulation positive de PD-L1 (**Mills et al., 2017**). Cette observation, suggère qu'une partie des patients pourrait probablement bénéficier d'une thérapie adjuvante, ciblant les PD-L1, et ce en bloquant leur activité pro-tumorale. Ceci aurait pour conséquence la stimulation de la réponse immunitaire anti-tumorale.

Dans notre étude, le type histologique majoritaire et largement dominant était le carcinome canalaire infiltrant (CCI) retrouvé dans 48% des cas (14 patients). Ce résultat est similaire à ceux de **Sanguinetti et al. (2016)** et de **Soliman et al. (2016)**, qui ont constaté le CCI chez 90% et 92.3% des patients respectivement. La prédominance des CCI pourrait être expliquée par le fait que les lobules mammaires des hommes ne se sont pas complètement formés (**Sanguinetti et al., 2016**). L'analyse ACM a révélé une association entre l'infiltrat négatif et les types histologiques CCI et carcinome mixte. Les autres carcinomes étaient associés à un infiltrat positif. Le mécanisme qui pourrait expliquer l'association entre le CCI et l'infiltrat négatif, implique que les cellules tumorales dans le CCI régulent positivement le facteur de transcription FOXP3 facteur de transcription spécifique à la sous population des LT régulateurs (Treg). Ces cellules et par un effet anti-inflammatoire réguleraient négativement le recrutement des TILs au sein de la tumeur (**Lal et al., 2013**). **Kristensen et al.** ont analysé l'expression de 500 gènes dans le CCI montrant que la signature de la signalisation de l'IL4 était la plus forte (**Kristensen et al., 2012**), sachant que l'IL4 a un effet pro-tumoral (**De Visser, Eichten et Coussens, 2006**).

Concernant la positivité aux ganglions dans notre série (22 ; 72,73%), nos résultats semblent être différents de ceux retrouvée dans la littérature, tels que ceux de **Maraz et al. (2014)** (25; 48%), **Flynn et al. (2008)** (76; 49%) et **Gentilini et al. (2007)** (32; 19%). Cette observation pourrait être liée à des particularités spécifiques à notre population. La liaison entre le statut ganglionnaire, l'infiltrat inflammatoire et l'expression de PD-L1 n'était pas statistiquement significative.

Le cancer du sein masculin a tendance à être positif aux récepteurs hormonaux. Notre étude confirme cette observation (28; 93,10%), tout comme **Andres et al., (2014)** et **Cutuli et al. (2010)** (98 ; 82% et 419; 86% respectivement). Fait intéressant, **Andres et al. (2014)** ont trouvé que les niveaux d'expression génique des récepteurs ER et PR étaient plus élevés chez les hommes que chez les femmes. L'analyse ACM a révélé une association entre la présence de l'infiltrat et la négativité des récepteurs hormonaux (et vice versa entre l'absence de l'infiltrat et la positivité des récepteurs hormonaux) chez les hommes de notre étude. Ceci pourrait être expliqué par le fait que les triples négatifs féminins ont un infiltrat inflammatoire plus important que les sous-classes luminales (**Loi et al., 2014**). En effet, l'inactivation de *BRCA1/2* est un événement fréquent dans les triples négatifs, ce qui augmente l'instabilité génétique (**Popova et al., 2012**). Dans les tumeurs solides, l'instabilité génétique renforce la charge mutationnelle par la génération des néoantigènes, et la chance qu'un néoantigène soit reconnu par les

lymphocytes T. Par conséquent, plus de lymphocytes vont se diviser et s'infiltrer dans la tumeur (**Le et al., 2017**).

Notre étude ne correspond à aucune de celles faites au cours des neuf dernières années concernant la classification moléculaire. En effet, **Abreu et al. (2016)**, **Inwald et al. (2015)**, **Nilsson et al. (2013)**, **Schildhaus et al. (2013)**, **Shaaban et al. (2012)**; **Kornegoor et al. (2011)**, rapportent une prédominance du luminal A avec des pourcentages de 89%, 48%, 87%, 58%, 98%, 75% et 83% respectivement, alors qu'il n'a concerné que 26% des cas dans notre étude. De plus, aucun cas de sur-expression de HER2 n'a été enregistré dans notre série, tout comme le signalent les études citées plus haut (excepté pour **Abreu et al. (2016)** et **Inwald et al. (2015)**). Le triple négatif était faiblement représenté dans notre étude, tout comme le rapportent **Kornegoor et al. (2011)** (4%). Cependant, l'analyse ACM a montré que la sous-classe luminale (A et B) était associée à l'infiltrat négatif. Dans un modèle murin du cancer du sein, **Zhang et al. (2015)** ont trouvé que la sous-classe luminale régule positivement un chimiokine (CCL5), impliqué dans la polarisation des lymphocytes naifs en T helpers 2 (Th2) protumoraux. Les Th2 sont connus pour être impliqués dans le remodelage de la matrice extracellulaire et l'expulsion des cellules immunitaires effectrices (telles que les Th1, NK, macrophages M1 et les cellules dendritiques conventionnelles) (**Lussier et Schreiber, 2016**), ce qui pourrait expliquer l'infiltrat négatif ou faible dans cette sous-classe.

Nous avons suspecté une faible immunogénicité des tumeurs mammaires des hommes de nos cas, du fait du niveau faible de l'infiltrat inflammatoire au sein du foyer tumoral (13; 65% avaient un niveau I d'infiltrat). Cela pourrait être expliqué par les propriétés intrinsèques du cancer du sein chez l'homme, liées à des mécanismes épigénétiques. Ces derniers comprennent des modifications chimiques dans l'ADN, les protéines histones et les micro ARN (**Dawson et Kouzarides, 2012**). Les micro ARN (miR) sont des ARN non-codants qui bloquent la traduction ou induisent la dégradation des ARN messagers (ARNm), par un mécanisme lié à leur complémentarité avec la région 3'UTR (non traduite) de ARNm (**Dawson et Kouzarides, 2012**). Parmi les rares études sur le cancer du sein masculin ayant étudié les mécanismes épigénétiques, celle de **Lehmann et al. (2010)** est très pertinente. Lehmann et ses collaborateurs ont analysé l'expression de 319 miRNA dans 9 tumeurs du sein chez l'homme et dans les cellules épithéliales de 15 cas de gynécomastie chez l'homme. Parmi les miRNA identifiés, nous retrouvons miR-21 et miR-183 ayant des fonctions immuno-modulatrices. miR-21 et miR-183 sont régulés positivement dans le cancer du sein masculin (et autres cancers), ils régulent négativement la signalisation des effecteurs de l'immunité innée et positivement la

différenciation des TAM (Tumor Associated Macrophages) (**Guo et al., 2017 ; Feng et al., 2017**).

Notre étude a révélé une faible expression du PD-L1 en générale, ce qui est compatible avec le cancer du sein chez la femme. Cependant, ce marqueur n'était pas lié statistiquement au statut de l'infiltrat ce qui est contradictoire avec la littérature concernant les femme (**Ali et al., 2015**). D'autres études sont nécessaires pour statuer sur ce cas.

Dans la médecine moderne, la recherche d'un biomarqueur qui pourrait prédire la réponse à une thérapie est une requête indispensable pour améliorer le rapport cout-efficacité. L'immunothérapie spécifique à l'axe PD-L1/PD-1, cible les patients répondants à différents critères principalement l'expression de ces biomarqueurs. Cette sélection se doit d'être précise, sachant que son cout est estimé à 1 million de dollars par an pour un seul patient (**Andrews, 2015**).

Actuellement, aucun biomarqueur éprouvé n'est disponible pour prédire avec précision si un patient bénéficiera d'inhibiteurs du point de contrôle immunitaire (**Savas et al., 2016**). L'étude des biomarqueurs potentiels du microenvironnement immunitaire dans plusieurs types de tumeurs traités avec l'anticorps anti-PD-L1 MPDL3280A (anticorps monoclonal conçu, entièrement humanisé, de l'isotype IgG1 contre la protéine PD-L1) a montré qu'une réponse favorable au traitement est habituellement corrélée avec une expression élevée de PD-L1 mesurée par IHC (l'anticorps utilisé dans l'IHC était monoclonal de lapin clone SP142, Ventana, Tucson, AZ) en particulier sur les cellules immunitaires infiltrantes (TILs) mais aussi sur les cellules tumorales (**Herbst et al., 2014**). Seulement trois patients (femmes) atteints d'un cancer du sein ont été inclus dans cette analyse, et les résultats sont disponibles uniquement pour un patient qui n'avait aucun infiltrat immunitaire au départ, qui ne répondait pas au traitement avec MPDL3280A et qui n'avait aucun infiltrat immunitaire dans une biopsie prise à la progression de la maladie. Les données pour les autres tumeurs solides évaluées dans cette étude indiquent que l'expression de PD-L1 sur les TILs intratumoraux semble prédire de meilleures réponses à l'agent anti-PD-L1, suggérant que le principal mécanisme d'action pour le blocage des points de contrôle est la réactivation d'une immunité antitumorale préexistante (**Herbst et al., 2014**).

Par ailleurs, aucune normalisation n'a été atablée pour l'évaluation de l'expression de PD-L1 par IHC pour le cancer du sein. Dans notre étude, on a utilisé l'anticorps monoclonal clone « E1L3N » (Cell Signaling Technologies, Danvers, MA) et apprécier l'expression de PD-L1

sur les cellules tumorales ou les cellules inflammatoires d'une façon combinée. On a considéré des niveaux d'expression lors de l'appréciation (0-10, 10-25, 25-50 et 50). **Ali et al., (2015)** cités plus haut, ont utilisé le même anticorps, mais ont apprécié l'expression de PD-L1 sur les cellules tumorales et les cellules inflammatoires de façon séparée. L'appréciation a été faite comme suit : 0, $\leq 1\%$ de cellules positives ; 1, 1% -5% de cellules positives ; 2, 5% -10% de cellules positives et 3, $\geq 10\%$ de cellules positives. **Hou et al. (2018)** ont utilisé le clone SP263 (lapin; Ventana Medical Systems, Inc, Tucson, AZ), et ont évalué l'infiltrat pour les cellules tumorales et les cellules inflammatoires, en considérant une expression positive de PD-L1 parmi les cellules tumorales définie comme toute coloration membranaire chez 1% des cellules. Pour les cellules immunitaires, un minimum d'environ 10% de cellules avec la colocalisation PD-L1 a été considéré comme positif.

Notre étude réalisée sur le cancer du sein masculin est la première de son type en Algérie et au moins au nord de l'Afrique (Dans la limite de nos recherches bibliographiques). Malgré les différents obstacles que nous avons rencontrés durant notre stage, liés à la technicité ou à l'aspect administratif (petit effectif, pénurie des réactifs, mauvaise récolte ou perte des données liées des patients), nous avons pu avoir un aperçu sur les caractéristiques cliniques et immunologiques de ce type de cancer, rarement étudié dans le monde, particulièrement en Algérie.

Conclusion

Et

Perspective

Les lymphocytes infiltrants les tumeurs est un sujet de recherche prometteur pour la biologie et la clinique du cancer. Quel que soit l'approche utilisée, l'évaluation des TILs dans le foyer tumoral et leur corrélation avec les paramètres cliniques est devenue une routine de recherche indiquant le pronostic clinique pour plusieurs types de cancers.

Dans certaines classes du cancer du sein chez la femme, les TILs ont une valeur pronostic. Le cancer du sein chez l'homme est faiblement étudié. Dans la limite de notre recherche bibliographique, nous avons mené la première étude de ce type, concernant les TILs dans le cancer du sein chez l'homme.

Selon les résultats des tests statistiques, nous n'avons pas trouvé de corrélation claire entre l'infiltrat inflammatoire et les paramètres cliniques. Par contre, l'expression de PD-L1 était corrélée avec le grade et la taille de la tumeur.

Ces résultats suggéraient qu'une partie des patients hommes avec un cancer du sein pourraient bénéficier d'une thérapie innovante qui bloque la molécule PD-L1 et son effet immunosuppresseur. D'autres études sont nécessaires afin de préciser la relation fonctionnelle entre les différents paramètres clinico-pathologiques, biologiques et moléculaires que nous avons analysés. L'étude des mécanismes immunologiques relatifs au concept « immuno-editing » dans le cancer du sein chez l'homme serait très pertinente et permettrait, d'une part, de enrichir l'aspect fondamental de la biologie des tumeurs, d'autre part contribuerait au développement de thérapie personnalisées.

Les travaux futurs devraient inclure un plus grand nombre de patients, étudier l'expression d'autres protéines comme les CD4, CD8, CD45, CD56 et utiliser des tests statistiques solides pour parvenir à des conclusions convaincantes.

Références
Bibliographiques

- Aaltomaa, S., Lipponen, P., Eskelinen, M., Kosma, V.-M., Marin, S., Alhava, E., & Syrjänen, K. (1992). Lymphocyte infiltrates as a prognostic variable in female breast cancer. *European Journal of Cancer*, 28, 859–864.
- Abbas, A. K., Lichtman, A. H., & Pillai, S. (2017). Immunity to Tumors. In *Cellular and Molecular Immunology* (9th ed., pp. 397–414). Philadelphia: ELSEVIER.
- Abreu, M. H., Afonso, N., Abreu, P. H., Menezes, F., Lopes, P., Henrique, R., ... Lopes, C. (2016). Male breast cancer: Looking for better prognostic subgroups. *Breast*, 26, 18–24.
- Ahrens, S., Zelenay, S., Sancho, D., Hanč, P., Kjær, S., Feest, C., ... Schulz, O. (2012). F-Actin Is an Evolutionarily Conserved Damage-Associated Molecular Pattern Recognized by DNGR-1, a Receptor for Dead Cells. *Immunity*, 36, 635–645.
- Akhdar, A., Bronsard, M., Lemieux, R., & Geha, S. (2011). Détermination de l'amplification de l'oncogène HER-2 dans le cancer du sein invasif par hybridation chromogénique in situ double couleur (dc-CISH): étude comparative avec l'hybridation fluorescente in situ (FISH). In *Annales de pathologie* (Vol. 31, pp. 472–479).
- Ali, H. R., Glont, S. E., Blows, F. M., Provenzano, E., Dawson, S. J., Liu, B., ... Caldas, C. (2015). PD-L1 protein expression in breast cancer is rare, enriched in basal-like tumours and associated with infiltrating lymphocytes. *Annals of Oncology*, 26, 1488–1493.
- Andres, S. A., Smolenkova, I. A., & Wittliff, J. L. (2014). Gender-associated expression of tumor markers and a small gene set in breast carcinoma. *Breast*, 23, 226–233.
- Andrews, A. (2015). Treating with Checkpoint Inhibitors—Figure \$1 Million per Patient. *American Health & Drug Benefits*, 8, 9.
- Balachandran, V. P., Luksza, M., Zhao, J. N., Makarov, V., Moral, J. A., Remark, R., ... Leach, S. D. (2017). Identification of unique neoantigen qualities in long-term survivors of pancreatic cancer. *Nature*, 551, S12–S16.
- Bekarsabein, S., El Khannoussi, B., Harakat, A., Albouzidy, A., Rimani, M., & Labraimi, A. (2010). Adénocarcinome micropapillaire invasif du sein: entité agressive peu connue Invasive micropapillary carcinoma of the breast: an under-recognized aggressive entity. *Oncologie*, 12, 54–57.
- Biddles, S. (2005). In Swan E (ed) Colorectal Cancer. *London, Whurr*.
- Böttcher, J. P., Bonavita, E., Chakravarty, P., Blees, H., Cabeza-Cabrerizo, M., Sammicheli, S., ... Reis e Sousa, C. (2018). NK Cells Stimulate Recruitment of cDC1 into the Tumor Microenvironment Promoting Cancer Immune Control. *Cell*, 172, 1022–1028.e14.
- Bourhafour, M., Belbaraka, R., Souadka, A., M'Rabti, H., Tijami, F., & Errihani, H. (2011). Male breast cancer: A report of 127 cases at a Moroccan institution. *BMC Research Notes*, 4. doi:10.1186/1756-0500-4-219
- Brinton, L. A. (2011). Breast cancer risk among patients with Klinefelter syndrome. *Acta Paediatrica*, 100, 814–818.
- Brinton, L. A., Key, T. J., Kolonel, L. N., Michels, K. B., Sesso, H. D., Ursin, G., ... others. (2015). Prediagnostic sex steroid hormones in relation to male breast cancer risk. *Journal of Clinical Oncology*, 33, 2041.
- Bronchud, M. H., Foote, M. A., Giaccone, G., Olopade, O., & Workman, P. (2000).

Principles of molecular oncology (Vol. 2). Springer.

- Broz, M. L., Binnewies, M., Boldajipour, B., Nelson, A. E., Pollack, J. L., Erle, D. J., ... Krummel, M. F. (2014). Dissecting the Tumor Myeloid Compartment Reveals Rare Activating Antigen-Presenting Cells Critical for T Cell Immunity. *Cancer Cell*, 26, 638–652.
- Buhmeida, A., Al-Maghrabi, J., Merdad, A., Al-Thubaity, F., Chaudhary, A., Gari, M., ... Al-Qahtani, M. (2011). Prognostic value of mitotic counts in breast cancer of Saudi Arabian patients. *Anticancer Research*, 31, 97–103.
- Burnet, M. (1957). Cancer—a biological approach. 3. Viruses associated with neoplastic conditions. *British Medical Journal*, 1, 841–847.
- Canli, Ö., Nicolas, A. M., Gupta, J., Finkelmeier, F., Goncharova, O., Pesic, M., ... Greten, F. R. (2017). Myeloid Cell-Derived Reactive Oxygen Species Induce Epithelial Mutagenesis. *Cancer Cell*, 32, 869–883.e5.
- Carter, C. L., Allen, C., & Henson, D. E. (1989). Relation of tumor size, lymph node status, and survival in 24,740 breast cancer cases. *Cancer*, 63, 181–187.
- Casey, S. C., Tong, L., Li, Y., Do, R., Walz, S., Fitzgerald, K. N., ... Felsher, D. W. (2016). MYC regulates the antitumor immune response through CD47 and PD-L1. *Science*, 352, 227–231.
- Castelo-Branco, C., & Soveral, I. (2014). The immune system and aging: a review. *Gynecological Endocrinology*, 30, 16–22.
- Catala Martin, André Jean-Michel, Katsanis Georges, P. J. (2008). Université Pierre et Marie Curie Histologie : organes , systèmes et appareils.
- Coard, K., & McCartney, T. (2004). Bilateral synchronous carcinoma of the male breast in a patient receiving estrogen therapy for carcinoma of the prostate: cause or coincidence? *Southern Medical Journal*, 97, 308–310.
- Coussens, L. M., Zitvogel, L., & Palucka, A. K. (2013). Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: A magic bullet? *Science*.
- Coutant, C., Rouzier, R., Olivier, C., Bezu, C., Marpeau, O., Delpech, Y., ... Daraoui, E. (2009). Modèles prédictifs d'invasion des ganglions non sentinelles en cas de métastases des ganglions sentinelles dans le cancer du sein. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 37, 160–166.
- Cutuli, B., Le-Nir, C. C.-S., Serin, D., Kirova, Y., Gaci, Z., Lemanski, C., ... Belkacemi, Y. (2010). Male breast cancer. Evolution of treatment and prognostic factors. Analysis of 489 cases. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 73, 246–254.
- Dawson, M. A., & Kouzarides, T. (2012). Cancer epigenetics: From mechanism to therapy. *Cell*.
- De Visser, K. E., Eichten, A., & Coussens, L. M. (2006). Paradoxical roles of the immune system during cancer development. *Nature Reviews Cancer*.
- Delves, P. J., Martin, S. J., Burton, D. R., & Roitt, I. M. (2017). Tumor immunology. In *Roitt's Essential Immunology* (13th ed., pp. 459–495). Chichester, West Sussex; Hoboken, [NJ]: John Wiley & Sons.

- Dilhuydy, J. M., Bussi eres, E., & Romestaing, P. (2001). La radioth erapie du sein et de la paroi thoracique: les volumes   traiter. *Cancer/Radioth erapie*, 5, 550–559.
- Dunn, G. P., Koebel, C. M., & Schreiber, R. D. (2006). Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nature Reviews Immunology*.
- Dupage, M., Mazumdar, C., Schmidt, L. M., Cheung, A. F., & Jacks, T. (2012). Expression of tumour-specific antigens underlies cancer immunoediting. *Nature*, 482, 405–409.
- Eil, R., Vodnala, S. K., Clever, D., Klebanoff, C. A., Sukumar, M., Pan, J. H., ... Restifo, N. P. (2016). Ionic immune suppression within the tumour microenvironment limits T cell effector function. *Nature*, 537, 539–543.
- El-Beshbeshi, W., & Abo-Elnaga, E. M. (2012). Male breast cancer: 10-year experience at mansoura university hospital in egypt. *Cancer Biology & Medicine*, 9, 23–8.
- El Ouahli, N. (2012). *Evolution sarcomateuse d'une tumeur phyllode du sein*. Universit  Mohammed V - Souissi de Rabat.
- Enzler, T., Gillessen, S., Manis, J. P., Ferguson, D., Fleming, J., Alt, F. W., ... Dranoff, G. (2003). Deficiencies of GM-CSF and Interferon γ Link Inflammation and Cancer. *The Journal of Experimental Medicine*, 197, 1213–1219.
- Falchetti, M., Lupi, R., Rizzolo, P., Ceccarelli, K., Zanna, I., Cal , V., ... others. (2008). BRCA1/BRCA2 rearrangements and CHEK2 common mutations are infrequent in Italian male breast cancer cases. *Breast Cancer Research and Treatment*, 110, 161–167.
- Fawcett, D. W., Jensch, R. P., Salzmann, J.-L., & Bloom, W. (2002). *Histologie: l'essentiel*. Maloine.
- Feng, N., Zhou, Z., Li, Y., Zhao, L., Xue, Z., Lu, R., & Jia, K. (2017). Enterovirus 71-induced has-miR-21 contributes to evasion of host immune system by targeting MyD88 and IRAK1. *Virus Research*, 237, 27–36.
- Fentiman, I. (2011). *Male breast cancer*. *Aging Male* (Vol. 14). doi:10.3109/13685538.2010.535048
- Ferzoco, R. M., & Ruddy, K. J. (2016). The Epidemiology of Male Breast Cancer. *Current Oncology Reports*.
- Fischer, K., Hoffmann, P., Voelkl, S., Meidenbauer, N., Ammer, J., Edinger, M., ... Kreutz, M. (2007). Inhibitory effect of tumor cell-derived lactic acid on human T cells. *Blood*, 109, 3812–3819.
- Flynn, L. W., Park, J., Patil, S. M., III, H. S. C., & Port, E. R. (2008). Sentinel Lymph Node Biopsy Is Successful and Accurate in Male Breast Carcinoma. *Journal of the American College of Surgeons*, 206, 616–621.
- Gajewski, T. F., Fuertes, M., Spaapen, R., Zheng, Y., & Kline, J. (2011). Molecular profiling to identify relevant immune resistance mechanisms in the tumor microenvironment. *Current Opinion in Immunology*.
- Gallet, M. (2006). *Influence des cellules d'adénocarcinome mammaire sur la résorption osseuse et l'apoptose des ostéoclastes matures: rôle potentiel du M-CSF dans l'ostéolyse tumorale in vitro*. Paris 7.
- Garbay, J. R. (1991). Anatomie du sein et de la région axillaire. *Cancer Du Sein: Chirurgie*

Diagnostique Curatrice et Reconstructrice. Paris: McGraw-Hill, 6–24.

- Garbin, O., Hummel, M., Camus, E., & Dellenbach, P. (1994). Actinomyose pelvienne: intérêt du diagnostic préopératoire: à propos d'un cas. *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de La Reproduction*, 23, 395–401.
- Gentilini, O., Chagas, E., Zurrída, S., Intra, M., De Cicco, C., Gatti, G., ... Veronesi, U. (2007). Sentinel lymph node biopsy in male patients with early breast cancer. *The Oncologist*, 12, 512–515.
- Gisselbrecht, S., & others. (2008). *Histoire de la thérapie ciblée en cancérologie*. John Libbey Eurotext.
- Grivennikov, S. I., & Karin, M. (2010). Dangerous liaisons: STAT3 and NF- κ B collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine and Growth Factor Reviews*, 21, 11–19.
- Guo, J., Wang, W., Liu, Y., He, H., Zhang, C., Chen, C., & Luo, Y. (2017). Abstract 4632: Exosome-mediated transfer of miR-183-5p from tumor cells to macrophages contributes to regulate TAMs phenotypes and promote tumor progression and metastasis. *Cancer Research*, 77, 4632 LP-4632.
- Hachana, M. R. (2009). *Contribution à l'étude de l'implication des virus et évaluation de leur valeur pronostique dans le cancer du sein de la femme dans la région du centre tunisien*. Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques CHU Farhat Hached de Sousse, Sousse, Tunisie.
- Hanahan, D., & Coussens, L. M. (2012). Accessories to the Crime: Functions of Cells Recruited to the Tumor Microenvironment. *Cancer Cell*.
- Hassani, H., Demuynck, F., Auquier, F., Merviel, P., & Le Blanche, A. F. (2009). sénologie-Cancer du sein sur tissu mammaire ectopique: à propos d'un cas. *Journal de Radiologie*, 90, 1089–1091.
- Hendry, S., Salgado, R., Gevaert, T., Russell, P. A., John, T., Thapa, B., ... Fox, S. B. (2017). Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immunology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in Melanoma, Gastrointestinal Tract Carcinom. *Advances in Anatomic Pathology*.
- Herbst, R. S., Soria, J. C., Kowanetz, M., Fine, G. D., Hamid, O., Gordon, M. S., ... Hodi, F. S. (2014). Predictive correlates of response to the anti-PD-L1 antibody MPDL3280A in cancer patients. *Nature*, 515, 563–567.
- Hou, Y., Nitta, H., Wei, L., Banks, P. M., Parwani, A. V., & Li, Z. (2018). Evaluation of Immune Reaction and PD-L1 Expression Using Multiplex Immunohistochemistry in HER2-Positive Breast Cancer: The Association With Response to Anti-HER2 Neoadjuvant Therapy. *Clinical Breast Cancer*, 18, e237–e244.
- Iannello, A., Thompson, T. W., Ardolino, M., Lowe, S. W., & Raulet, D. H. (2013). p53-dependent chemokine production by senescent tumor cells supports NKG2D-dependent tumor elimination by natural killer cells. *The Journal of Experimental Medicine*, 210, 2057–2069.
- Immunohistochemistry (IHC) Principle. (n.d.). Retrieved June 4, 2018, from <http://www.immunohistochemistry.us/IHC-principle.html>

- Ingle, S. B., Murdeshwar, H. G., & Siddiqui, S. (2016). Papillary carcinoma of breast: Minireview. *World Journal of Clinical Cases*, 4, 20.
- Inwald, E. C., Koller, M., Klinkhammer-Schalke, M., Zeman, F., Hofstädter, F., Gerstenhauer, M., ... Ortmann, O. (2015). 4-IHC classification of breast cancer subtypes in a large cohort of a clinical cancer registry: use in clinical routine for therapeutic decisions and its effect on survival. *Breast Cancer Research and Treatment*, 153, 647–658.
- J.Y., T., P.H., T., & W.S., Y. (2012). Male breast cancer in Singapore: 15 years of experience at a single tertiary institution. *Annals of the Academy of Medicine Singapore*, 41, 247–251.
- Kaplan, D. H., Shankaran, V., Dighe, A. S., Stockert, E., Aguet, M., Old, L. J., & Schreiber, R. D. (1998). Demonstration of an interferon γ -dependent tumor surveillance system in immunocompetent mice. *Immunology*, 95, 7556–7561.
- KARAMANAKOS, P., MITSIADES, C. S., LEMBESSIS, P., KONTOS, M., TRAFALIS, D., & KOUTSILIERIS, M. (2004). Male breast adenocarcinoma in a prostate cancer patient following prolonged anti-androgen monotherapy. *Anticancer Research*, 24, 1077–1082.
- Kitamura, T., Qian, B. Z., & Pollard, J. W. (2015). Immune cell promotion of metastasis. *Nature Reviews Immunology*.
- Klein, J., Ji, M., Rea, N. K., & Stoodt, G. (2011). Differences in male breast cancer stage, tumor size at diagnosis, and survival rate between metropolitan and nonmetropolitan regions. *American Journal of Men's Health*, 5, 430–437.
- Korkaya, H., Paulson, A., Iovino, F., & Wicha, M. S. (2008). HER2 regulates the mammary stem/progenitor cell population driving tumorigenesis and invasion. *Oncogene*, 27, 6120.
- Kornegoor, R., Verschuur-Maes, A. H. J., Buerger, H., Hogenes, M. C. H., de Bruin, P. C., Oudejans, J. J., ... van Diest, P. J. (2011). Molecular subtyping of male breast cancer by immunohistochemistry. *Modern Pathology*, 25, 398.
- Kraus, J. a, Beriwal, S., Dabbs, D. J., Ahrendt, G. M., McGuire, K. P., Johnson, R. R., ... Bhargava, R. (2012). Predictors of pathologic complete response after standard neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast carcinoma. *Applied Immunohistochemistry & Molecular Morphology : AIMM / Official Publication of the Society for Applied Immunohistochemistry*, 20, 334–9.
- Kreiter, E., Richardson, A., Potter, J., & Yasui, Y. (2014). Breast cancer: trends in international incidence in men and women. *British Journal of Cancer*, 110, 1891.
- Kristensen, V. N., Vaske, C. J., Ursini-Siegel, J., Van Loo, P., Nordgard, S. H., Sachidanandam, R., ... Borresen-Dale, A.-L. (2012). Integrated molecular profiles of invasive breast tumors and ductal carcinoma in situ (DCIS) reveal differential vascular and interleukin signaling. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109, 2802–2807.
- Kroemer, G., & Zitvogel, L. (2018). The breakthrough of the microbiota. *Nature Reviews Immunology*, 18, 87.
- Kumar, V., Abbas, A. K. ., & Aster, J. (2017). Neoplasia. In *Robbins Basic Pathology* (10th ed., pp. 189–190). Philadelphia: ELSEVIER.

- Lakins, M. A., Ghorani, E., Munir, H., Martins, C. P., & Shields, J. D. (2018). Cancer-associated fibroblasts induce antigen-specific deletion of CD8⁺ T Cells to protect tumour cells. *Nature Communications*, 9, 948.
- Lal, A., Chan, L., Devries, S., Chin, K., Scott, G. K., Benz, C. C., ... Hwang, E. S. (2013). FOXP3-positive regulatory T lymphocytes and epithelial FOXP3 expression in synchronous normal, ductal carcinoma in situ, and invasive cancer of the breast. *Breast Cancer Res Treat*, 139, 381–390.
- Landers, C. J., Cohavy, O., Misra, R., Yang, H., Lin, Y. C., Braun, J., & Targan, S. R. (2002). Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology*, 123, 689–699.
- Le, D. T., Durham, J. N., Smith, K. N., Wang, H., Bartlett, B. R., Aulakh, L. K., ... Diaz, L. A. (2017). Mismatch-repair deficiency predicts response of solid tumors to PD-1 blockade. *Science*. Retrieved from <http://science.sciencemag.org/content/early/2017/06/07/science.aan6733.abstract>
- Le Doussal, V., Tubiana-Hulin, M., Friedman, S., Hacene, K., Spyrtos, F., & Brunet, M. (1989). Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson (SBR). An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer*, 64, 1914–1921.
- Lecomte, J. (2009a). *Effets des ligands de PPAR sur la voie de signalisation des oestrogènes dans les cellules cancéreuses mammaires*. Nancy 1.
- Lecomte, J. (2009b). *Effets des ligands de PPAR γ sur la voie de signalisation des oestrogènes dans les cellules cancéreuses mammaires*. Nancy 1.
- Lehmann, U., Streichert, T., Otto, B., Albat, C., Hasemeier, B., Christgen, H., ... Länger, F. (2010). Identification of differentially expressed microRNAs in human male breast cancer. *BMC Cancer*, 10, 109.
- Li, C. W., Lim, S. O., Xia, W., Lee, H. H., Chan, L. C., Kuo, C. W., ... Hung, M. C. (2016). Glycosylation and stabilization of programmed death ligand-1 suppresses T-cell activity. *Nature Communications*, 7. doi:10.1038/ncomms12632
- Li, L. T. A. O., Jiang, G., Chen, Q., & Zheng, J. U. N. N. (2015). Ki67 is a promising molecular target in the diagnosis of cancer (Review), 1566–1572.
- Liu, T., Tong, Z., He, L., & Zhang, L. (2011). Clinicopathological characteristics and survival analysis of 87 male breast cancer cases. *Breast Care*, 6, 446–451.
- Loi, S., Michiels, S., Salgado, R., Sirtaine, N., Jose, V., Fumagalli, D., ... Sotiriou, C. (2014). Tumor infiltrating lymphocytes are prognostic in triple negative breast cancer and predictive for trastuzumab benefit in early breast cancer: results from the FinHER trial. *Annals of Oncology*, 25, 1544–1550.
- Lussier, D. M., & Schreiber, R. D. (2016). Cancer Immunosurveillance: Immunoediting A2 - Ratcliffe, Michael J.H. BT - Encyclopedia of Immunobiology (pp. 396–405). Oxford: Academic Press.
- Marangoni, E., Vincent-Salomon, A., Auger, N., Degeorges, A., Assayag, F., de Cremoux, P., ... others. (2007). A new model of patient tumor-derived breast cancer xenografts for preclinical assays. *Clinical Cancer Research*, 13, 3989–3998.

- Maraz, R., Boross, G., Pap-Szekeres, J., Marko, L., Rajtar, M., Ambrozay, E., ... Cserni, G. (2014). The role of sentinel node biopsy in male breast cancer. *Breast Cancer*.
- Medri, L., Volpi, A., Nanni, O., Vecci, A. M., Mangia, A., Schittulli, F., ... others. (2003). Prognostic relevance of mitotic activity in patients with node-negative breast cancer. *Modern Pathology*, *16*, 1067.
- Ménard, S., Casalini, P., Tomasic, G., Pilotti, S., Cascinelli, N., Bufalino, R., ... Colnaghi, M. I. (1999). Pathobiologic identification of two distinct breast carcinoma subsets with diverging clinical behaviors. *Breast Cancer Research and Treatment*, *55*, 167–175.
- Mignotte, H. (2011). *Maladies du sein*. Elsevier Masson.
- Mikucki, M. E., Fisher, D. T., Matsuzaki, J., Skitzki, J. J., Gaulin, N. B., Muhitch, J. B., ... Evans, S. S. (2015). Non-redundant requirement for CXCR3 signalling during tumoricidal T-cell trafficking across tumour vascular checkpoints. *Nature Communications*, *6*. doi:10.1038/ncomms8458
- Mills, A. M., Dill, E. A., Moskaluk, C. A., Dziegielewski, J., Bullock, T. N., & Dillon, P. M. (2017). The Relationship Between Mismatch Repair Deficiency and PD-L1 Expression in Breast Carcinoma. *The American Journal of Surgical Pathology*. doi:10.1097/PAS.0000000000000949
- Mittal, D., Gubin, M. M., Schreiber, R. D., & Smyth, M. J. (2014). New insights into cancer immunoediting and its three component phases-elimination, equilibrium and escape. *Current Opinion in Immunology*.
- Molinier-Frenkel, V., & Castellano, F. (2017). Immunosuppressive enzymes in the tumor microenvironment. *FEBS Letters*.
- Munn, D. H. (2006). Tumor immune evasion mediated by IDO. *Update on Cancer Therapeutics*.
- Murphy, K., & Weaver, C. (2017). Manipulation of the Immune Response. In *Janeway's immunobiology* (9th ed., pp. 716–729). New York: Garland Science.
- Namer, Héry, M., Spielmann, M., & Gligorov, J. (2011). *Cancer du sein en situation métastatique: Compte-rendu du 1er Cours supérieur francophone de cancérologie Saint-Paul de Vence-Nice, 07-09 Janvier 2010*. Springer Science & Business Media.
- Nilsson, C., Johansson, I., Ahlin, C., Thorstenson, S., Amini, R.-M., Holmqvist, M., ... Fjällskog, M.-L. (2013). Molecular subtyping of male breast cancer using alternative definitions and its prognostic impact. *Acta Oncologica (Stockholm, Sweden)*, *52*, 102–9.
- Osborne, C. K., Yochmowitz, M. G., Knight III, W. A., & McGuire, W. L. (1980). The value of estrogen and progesterone receptors in the treatment of breast cancer. *Cancer*, *46*, 2884–2888.
- Ottini, L., & Capalbo, C. (2017). Breast Cancer. doi:10.1007/978-3-319-48848-6
- Owen, J. A., Punt, J., & Stranford, S. A. (2013). Cancer and the Immune System. In *KUBY Immunology* (7th ed., pp. 627–649). New York: W. H. Freeman and Company.
- Parisotto, M. (2011). Rôle de la synthèse de l'acide rétinolique dans le contrôle de la prolifération et de la différenciation des cellules épithéliales mammaires.
- Perez-Ponce, H. (2009). *CORRELATION ENTRE LES PERFORMANCES PHYSIQUES*

MESUREES DES DETECTEURS ET LA QUALITE DIAGNOSTIQUE DE L'IMAGE EN MAMMOGRAPHIE NUMERIQUE. Université Henri Poincaré-Nancy I.

- Popescu, N. C., King, C. R., & Kraus, M. H. (1989). Localization of the human erbB-2 gene on normal and rearranged chromosomes 17 to bands q12--21.32. *Genomics*, 4, 362–366.
- Popova, T., Manié, E., Rieunier, G., Caux-Moncoutier, V., Tirapo, C., Dubois, T., ... Stern, M.-H. (2012). Ploidy and Large-Scale Genomic Instability Consistently Identify Basal-like Breast Carcinomas with \geq BRCA1/2 \leq Inactivation. *Cancer Research*, 72, 5454 LP-5462.
- Popovic, D. S., & Popovic, L. S. (2016). Obesity and breast cancer: Association even more relevant in males? *European Journal of Internal Medicine*, 29, e11--e12.
- Puddu, M., & Tafforeau, J. (2005). Opportunité du dépistage du cancer du sein chez les femmes de 40 à 49 ans. Etat des connaissances et données disponibles pour le développement d'une politique de santé en Belgique. IPH/EPI Reports Nr. 2005-001.
- Qian, B.-Z., & Pollard, J. W. (2010). Macrophage Diversity Enhances Tumor Progression and Metastasis. *Cell*, 141, 39–51.
- Rakha, E. A., Reis-Filho, J. S., Baehner, F., Dabbs, D. J., Decker, T., Eusebi, V., ... others. (2010). Breast cancer prognostic classification in the molecular era: the role of histological grade. *Breast Cancer Research*, 12, 207.
- Raymond, É. (2009). *Le concept de cible en cancérologie*. John Libbey Eurotext.
- Ritchie, H., & Roser, M. (2018). Causes of Death. Retrieved May 26, 2018, from <https://ourworldindata.org/causes-of-death>
- Robert, J. (2006). *Cent ans d'innovations diagnostiques et thérapeutiques en cancérologie: centenaire de la Société française du cancer*. John Libbey Eurotext.
- Routy, B., Le Chatelier, E., Derosa, L., Duong, C. P. M., Alou, M. T., Daillère, R., ... Zitvogel, L. (2017). Gut microbiome influences efficacy of PD-1–based immunotherapy against epithelial tumors. *Science*. Retrieved from <http://science.sciencemag.org/content/early/2017/11/01/science.aan3706.abstract>
- Salgado, R., Denkert, C., Demaria, S., Sirtaine, N., Klauschen, F., Pruneri, G., ... Loi, S. (2015). The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILS) in breast cancer: Recommendations by an International TILS Working Group 2014. *Annals of Oncology*.
- Sanguinetti, A., Polistena, A., Lucchini, R., Monacelli, M., Galasse, S., Avenia, S., ... others. (2016). Male breast cancer, clinical presentation, diagnosis and treatment: Twenty years of experience in our Breast Unit. *International Journal of Surgery Case Reports*, 20, 8–11.
- Savas, P., Salgado, R., Denkert, C., Sotiriou, C., Darcy, P. K., Smyth, M. J., & Loi, S. (2016). Clinical relevance of host immunity in breast cancer: From TILs to the clinic. *Nature Reviews Clinical Oncology*.
- Schildhaus, H. U., Schroeder, L., Merkelbach-Bruse, S., Binot, E., Buttner, R., Kuhn, W., & Rudlowski, C. (2013). Therapeutic strategies in male breast cancer: clinical implications of chromosome 17 gene alterations and molecular subtypes. *Breast*, 22, 1066–1071.
- Schreiber, R. D., Old, L. J., & Smyth, M. J. (2011). Cancer immunoediting: Integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*.

- Selcukbiricik, F., Tural, D., Aydoğan, F., Beşe, N., Büyükcinal, E., & Serdengeçti, S. (2013). Male breast cancer: 37-year data study at a single experience center in Turkey. *Journal of Breast Cancer, 16*, 60–65.
- Shaaban, A. M., Ball, G. R., Brannan, R. A., Cserni, G., Di Benedetto, A., Dent, J., ... Speirs, V. (2012). A comparative biomarker study of 514 matched cases of male and female breast cancer reveals gender-specific biological differences. *Breast Cancer Research and Treatment, 133*, 949–958.
- Shah, S., & Chen, B. (2011). Testing for HER2 in breast cancer: a continuing evolution. *Pathology Research International, 2011*.
- Sharpe, A. H., & Pauken, K. E. (2018). The diverse functions of the PD1 inhibitory pathway. *Nature Reviews Immunology*.
- Soliman, M., & Hetnał, M. (2016). Male breast cancer: a clinicopathological study of an Egyptian population (Alexandria experience). *Contemporary Oncology, 20*, 335.
- Speirs, V., & Shaaban, A. M. (2009). The rising incidence of male breast cancer. *Breast Cancer Research and Treatment, 115*, 429–430.
- Spranger, S., Bao, R., & Gajewski, T. F. (2015). Melanoma-intrinsic β -catenin signalling prevents anti-tumour immunity. *Nature, 523*, 231–235.
- Spranger, S., & Gajewski, T. F. (2018). Impact of oncogenic pathways on evasion of antitumour immune responses. *Nature Reviews Cancer*.
- Stevens, A., & Lowe, J. (1997). *Anatomie pathologique générale et spéciale*. De Boeck Supérieur.
- Teng, M. W. L., Galon, J., Fridman, W.-H., & Smyth, M. J. (2015). From mice to humans: developments in cancer immunoediting. *The Journal of Clinical Investigation, 125*, 3338–3346.
- Teo, J. Y., Tan, P. H., & Yong, W. S. (2012). Male breast cancer in Singapore: 15 years of experience at a single tertiary institution. *Annals of the Academy of Medicine Singapore*.
- Terki, N., Djekkoun, R., Lankar, A., Rekaï, K., Tou, A., & Bouzid, K. (2015). Incidence annuelle du cancer du sein dans la population algérienne diagnostiquée au niveau des centres de référence d'anatomopathologie en Algérie. *LE FASCICULE DE LA SANTÉ, 7–16*.
- Thorsson, V., Gibbs, D. L., Brown, S. D., Wolf, D., Bortone, D. S., Ou Yang, T.-H., ... Shmulevich, Ilya. (2018). The Immune Landscape of Cancer. *Immunity, 48*, 812–830.e14.
- Urruticoechea, A., Smith, I. E., & Dowsett, M. (2005). Proliferation marker Ki-67 in early breast cancer. *Journal of Clinical Oncology, 23*, 7212–7220.
- Vanhecke, E. (2008). *Expression et effets biologiques des neurotrophines dans le cancer du sein*. Lille 1.
- Vranic, S., Feldman, R., & Gatalica, Z. (2017). Apocrine carcinoma of the breast: A brief update on the molecular features and targetable biomarkers. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences, 17*, 9.
- Wang, Z., & Sun, Y. (2010). Targeting p53 for novel anticancer therapy. *Translational*

Oncology, 3, 1–12.

Wilkie, K. P., & Hahnfeldt, P. (2013). Mathematical models of immune-induced cancer dormancy and the emergence of immune evasion. *Interface Focus*, 3, 20130010–20130010.

Yu, H., Pardoll, D., & Jove, R. (2009). STATs in cancer inflammation and immunity: A leading role for STAT3. *Nature Reviews Cancer*.

Zhang, Q., Qin, J., Zhong, L., Gong, L., Zhang, B., Zhang, Y., & Gao, W. Q. (2015). CCL5-Mediated Th2 Immune Polarization Promotes Metastasis in Luminal Breast Cancer. *Cancer Research*, 75, 4312–4321.

Zhou, F.-F., Xia, L.-P., Guo, G.-F., Wang, X., Yuan, Z.-Y., Zhang, B., & Wang, F. (2010). Changes in therapeutic strategies in Chinese male patients with breast cancer: 40 years of experience in a single institute. *The Breast*, 19, 450–455.

Annexes

Annexe 1

Tableau I : Classification TNM du cancer du sein. (UICC 2010)

Tumeur primitive T	
Tx	la tumeur primitive ne peut pas être évaluée
T0	la tumeur primitive n'est pas palpable -Tis : carcinome <i>in situ</i> -Tis (DCIS) : carcinome canalaire <i>in situ</i> -Tis (CLIS) : carcinome lobulaire <i>in situ</i> -Tis (Paget) : maladie de Paget du mamelon sans tumeur sous-jacente · NB : la maladie de Paget associée à une tumeur est classée en fonction de la taille de la tumeur
T1	tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension
T1mic	Micro-invasion ≤ 1 mm dans sa plus grande dimension -T1a : 1 mm < tumeur ≤ 5 mm dans sa plus grande dimension -T1b : 5 mm < tumeur ≤ 1 cm dans sa plus grande dimension -T1c : 1 cm < tumeur ≤ 2 cm dans sa plus grande dimension
T2	2 cm < tumeur ≤ 5 cm dans sa plus grande dimension
T3	tumeur > 5 cm dans sa plus grande dimension
T4	tumeur, quelle que soit sa taille, avec une extension directe soit à la paroi thoracique (a), soit à la peau (b) -T4a : extension à la paroi thoracique en excluant le muscle pectoral -T4b : œdème (y compris peau d'orange) ou ulcération de la peau du sein, ou nodules de perméation situés sur la peau du même sein -T4c : T4a + T4b -T4d : cancer inflammatoire

Ganglions lymphatiques régionaux pN	
Nx	l'envahissement des ganglions lymphatiques régionaux ne peut pas être évalué (par exemple déjà enlevés chirurgicalement ou non disponibles pour l'analyse anatomopathologique du fait de l'absence d'évidement)
N0	absence d'envahissement ganglionnaire régional histologique et absence d'examen complémentaire à la recherche de cellules tumorales isolées
N1mi	micrométastases > 0,2 mm et ≤ 2 mm
N1	Envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires ou/et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique -N1a : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires -N1b : envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique -N1c : envahissement de 1 à 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique (pN1a + pN1b)

Tableau 1 : Classification TNM du cancer du sein. (UICC 2010). Suite.

Ganglions lymphatiques régionaux pN	
N2	<p>Envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire.</p> <p>-N2a : envahissement de 4 à 9 ganglions axillaires avec au moins un amas cellulaire > 2 mm. -N2b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects, en l'absence d'envahissement ganglionnaire axillaire. envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires ou envahissement des ganglions sous claviculaires (niveau III axillaire) ou envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique ou envahissement des ganglions sus-claviculaires homolatéraux.</p>
N3	<p>-N3a : envahissement d'au moins 10 ganglions axillaires (avec au moins un amas cellulaire > 2 mm) ou envahissement des ganglions sous-claviculaires. -N3b : envahissement des ganglions mammaires internes homolatéraux suspects avec envahissement ganglionnaire axillaire ou envahissement de plus de 3 ganglions axillaires et envahissement des ganglions de la CMI détecté sur ganglion sentinelle sans signe clinique -N3c : envahissement des ganglions sus-claviculaires homolatéraux.</p>
Métastases à distance (M)	
Mx	Renseignements insuffisants pour classer les métastases à distance
M0	Absence de métastases à distance
M1	Présence de métastase(s) à distance

Tableau II : Comparaison des grades histopronostiques EE et SBR

	EE	SBR
Formation de glandes (architecture)	> 75 %	score 1
	10 à 75 %	Score 2
	< 10 %	Score 3
Pléiomorphisme (nucléaire)	léger	Score 1
	Modéré	Score 2
	Marqué	Score 3
Nombre de mitoses	Score de 1 à 3 (nombre dépendant du modèle de microscope)	A l'objectif x 40
	0 à 1	Score 1
	2	Score 2
	3 ou plus	Score 3

Le score Allred :

Le score Allred est une méthode qui est utilisée pour noter les signaux d'immunocoloration pour les récepteurs d'estrogènes et les récepteurs de progestérones. Un score de proportion (SP) est attribué et représente la proportion estimée des cellules tumorales positives sur la lame (plage, 0-5). Un score d'intensité (SI) est attribué et estime l'intensité de coloration moyenne des cellules tumorales positives (plage, 0-3). Les PS et IS sont ajoutés pour obtenir un score total (TS) (plage, 0-8).

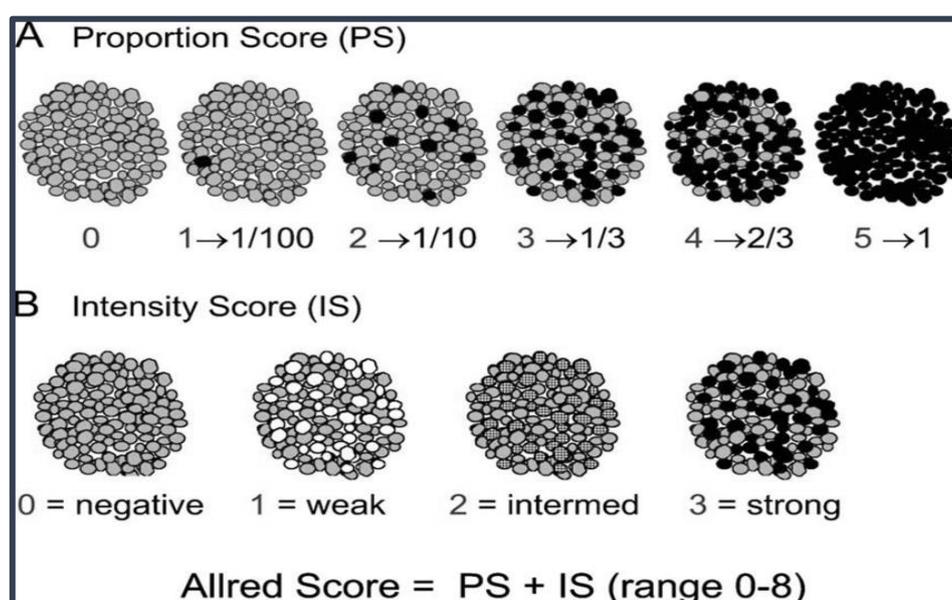


Figure 1 : Système de score Allred.

Annexe 2

Technique histopathologique :

Tableau III : Évaluation normalisée des TILs en tant que biomarqueur dans les sections H&E (Savas et al., 2016)

Paramètre	Recommandation
Sélection de la zone de la tumeur	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Évaluer seulement les cellules immunitaires dans la marge de la tumeur, ne pas inclure l'infiltrat immunitaire autour du carcinome canalaire in situ ou du tissu normal à côté de la tumeur ✓ Ne pas se concentrer sur le bord invasif, mais inclure le bord invasif dans l'évaluation globale ✓ Ne pas se concentrer sur les points chauds, mais fournir une évaluation globale des TIL ✓ Ne pas inclure de nécrose ou de grandes zones fibreuses dans le centre tumoral
Type de cellule immunitaire	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Évaluer tous les lymphocytes mononucléaires et les plasmocytes ✓ Ne pas inclure les granulocytes dans les zones nécrotiques
Localisation des cellules immunitaires	<ul style="list-style-type: none"> ✓ TILs stromaux: dans le tissu fibrotique entre les nids de cellules tumorales ✓ TILs intratumoraux: infiltrant directement le nid de cellules tumorales, en contact direct avec les cellules tumorales ✓ Les TILs stromaux et intratumoraux doivent être évalués séparément et déclarés semi-quantitativement en pourcentage de la surface totale occupée par l'infiltrat.

• **Réception et enregistrement :**

Les pièces opératoires (mastectomie et tumorectomie), sont remises au laboratoire d'anatomie pathologique, où elles reçoivent un numéro d'enregistrement et une fiche recueillant les informations cliniques des patients.

• **Examen macroscopique :**

Les pièces opératoires sont étudiées puis découpées par l'anatomopathologiste afin d'arriver à étudier les caractéristiques du foyer tumoral (organisation, forme, couleur, présence d'hémorragie). Ce dernier est mesuré en trois dimensions : on prend en considération sa couleur, son organisation (nodule ou autre). Des fragments sont prélevés des différentes zones de la tumeur, et sont déposés dans des cassettes.

La fixation : Consiste à plonger la pièce ou les cassettes confectionnées dans du formol dilué à 10% afin de préserver les structures tissulaires et empêcher leur nécrose

La déshydratation : Elle est faite par un automate, ce dernier contient douze bacs de formol, quatre d'alcool de concentrations croissantes, quatre de xylènes et trois de paraffine. Les cassettes des échantillons prélevés sont déposées dans le premier bac de formol, puis vont être transférées d'un bac à l'autre automatiquement.

L'inclusion : Elle est en deux temps, premièrement l'imprégnation qui permet l'entrée de la paraffine dans les tissus pr élevés. Deuxièmement la confection des blocs : consiste à mettre l'échantillon inclus dans un moule, verser la paraffine liquide et remettre la cassette sur l'échantillon du tissu couvert de paraffine ; puis ce moule est mis sur une plaque refroidie afin de permettre la solidification de la paraffine. Après refroidissement, on procède au dé moulage, on obtient alors un bloc de paraffine contenant l'échantillon du tissu.

Microtomie ou coupe : Après refroidissement des blocs, on procède au découpage. Dans un premier temps, on dégrossit jusqu'à arriver à voir tout le tissu inclus, puis l'on procède à la confection des rubans de paraffine de 3 à 4 p. Ces derniers sont étalés dans un bain marie pour dissoudre la paraffine, on récupère les rubans avec les lames (sans oublier de graver le numéro d'enregistrement sur les lames). Puis vient le séchage, ces lames sont mises dans l'étuve à 60°C pendant 20 min pour favoriser l'adhésion de ces rubans sur les lames.

La coloration de routine HE « Hématoxyline éosine » et ses étapes : L'Hématoxyline est préparée par le fournisseur et l'éosine par le personnel du laboratoire, la coloration est faite par un automate de coloration qui contient 27 bacs où les lames vont séjourner une minute dans chacun d'eux avant d'être transférées au suivant.

- Le déparaffinage : Pour le déparaffinage, il y a six bacs de xylène.
- La réhydratation : Quatre bacs d'alcool de concentration décroissante dont deux contenant de l'alcool absolu et deux bacs d'alcool à 95°, deux bacs d'eau.
- La coloration : Se fait dans trois bacs d'Hématoxyline consécutifs.
- Rinçage : Dans deux bacs d'eau.
- Coloration à l'éosine dans un bac suivie d'un rinçage dans un bac d'eau.
- La déshydratation : Quatre bacs d'alcool croissant, dont deux contenant de l'alcool absolu.
- L'éclaircissement : Dans quatre bacs de xylène.
- Le montage : Consiste à couvrir l'échantillon sur les lames par une lamelle afin d'avoir une meilleure conservation, pour ce faire, on utilise une colle (Eukitt) qui est soluble dans le xylène.

• **Examen microscopique**

L'examen microscopique se fait par la lecture des lames issues de la coloration de routine à l'aide d'un microscope photonique.

• **Matériels et appareillage :**

- Lames silanisées / Lamelles, réf. S2024.
- Agitateur.
- Appareil de circulation automatique (Leica TP1020)
- Appareil d'inclusion en paraffine (Leica Microsystems, modèle EG 1160, D-69226 Nussloch)
- Automate de coloration HE
- Bacs en verre avec panier en verre
- Bain marie
- Balance de précision
- Cassettes en plastique
- Chambre humide
- Etuves thermostatées
- Station de déshydratation (Leica ST4040)

- Micropipettes réglables avec cônes adaptables (10-100pl)
- Microtome (Leica, Model RM2125)
- Microscope photonique Zeiss
- Minuteur
- Station de déshydratation. (Leica ST4040)
- Portes lames
- Réfrigérateur
- Stylo délimitant : DAKO Pen (code 52002)
- Graveur (diamantin).

Tableau IV : Caractéristiques de l'anticorps PD-L1 E1L3N utilisé (Tableau original).

Anticorps	AC/Clone	Type	Fournisseur	Référence	Dilution	Marquage
PDL-1	E1L3N	Rabbit mAb anti- human	cell signaling Technology	#13684	1/200 60 min	Membranaire

Tableau V : Les différents paramètres et modalité

Paramètres	Modalités
-La classe d'âge	Inférieur à 60 ans (<60) et supérieur à 60 ans (>60)
-Le type histologique avec trois modalités : -	Carcinome canalaire infiltrant (Th-CCI) Carcinome mixte (Th-C mixte) et Autre (Th-Autre)
-La taille clinique avec trois modalités :	T1 (Tc-T1) ; T2 (Tc-T2) ; T3 (Tc-T2)
-La classification moléculaire	Luminal A (Cm-luminal A) Luminal B (Cm-luminal A) TNBC (Cm-TNBC)
-L'infiltrat inflammatoire	Négatif (infiltrat-n) Positif (infiltrat-p)
-L'atteinte ganglionnaire	Négative (Ag-N-) Positive (Ag-N+)
-Le marquage à l'anti-PD-L1	Négatif (PD-L1-n) Positif (PD-L1-p)
-Le grade	Grade II (G-II) Grade III (G-III)
-Les récepteurs hormonaux	Positif (Rh-p) Négatif (Rh-n)



Figure 2 : Microscope photonique Zeiss.



Figure 3 : VENTANA BenchMark ULTRA



Figure 4 : Kit de détection Ventana ultraview universal dab.

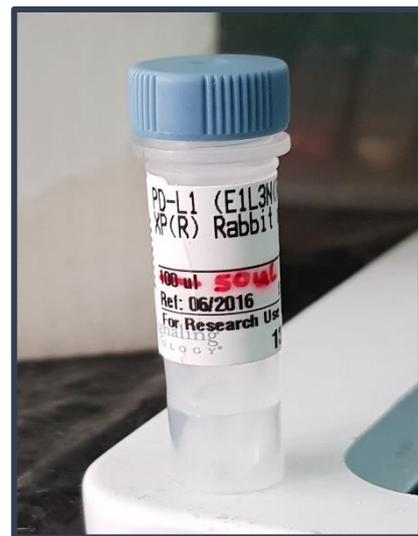


Figure 5 : Anticorps Anti PD-L1 (E1L3N®)



Figure 4 : Kit de détection Ventana ultraview universal dab.