

Les journées scientifiques de L'Institut Servier

19^e colloque 2019

**Les révolutions thérapeutiques en cancérologie :
comment les intégrer ?**

**La sélection des patients en cancérologie : le point de vue
du pathologiste, avec l'exemple du cancer colorectal**

Frédéric Bibeau

Service d'Anatomie Pathologique, CHU de Caen
UNICAEN, Normandie Université, Caen, France

Abstract

L'anatomie pathologique permet de sélectionner les patients candidats à la chimiothérapie adjuvante dans les cancers colorectaux (CCR) non métastatiques, en s'appuyant essentiellement sur la classification pTNM. Cependant cette sélection est imparfaite et doit être plus performante grâce aux améliorations possibles de la classification TNM et à la validation de marqueurs morphologiques émergents tels que le tumor budding, les clusters peu différenciés, le stroma et la réponse immune. Dans ce cadre on peut aussi espérer un apport de la pathologie numérique et de l'intelligence artificielle pour déterminer ces marqueurs de façon rapide et standardisée. En situation métastatique, cette sélection s'appuie en grande partie sur des marqueurs moléculaires, qui peuvent s'inscrire dans des algorithmes décisionnels pour une détermination rationnelle. Pour l'ensemble de ces éléments, une approche intégrative conjuguant des facteurs issus de la morphologie, de la biologie moléculaire et des biopsies liquides, représente très probablement une voie d'avenir.

L'anatomie pathologique, spécialité incontournable dans la prise en charge des cancers, correspond à l'analyse des lésions tissulaires entraînées par les maladies. Répondant aux exigences de l'oncologie moderne, cette discipline morphologique s'est progressivement enrichie de moyens d'investigations complémentaires tels que l'immunohistochimie et l'hybridation *in situ*, puis s'est interfacée avec la biologie moléculaire, en exploitant notamment les acides nucléiques issus des blocs fixés et inclus en paraffine. L'apport de l'anatomie pathologique s'étend ainsi sur un large spectre : diagnostic précis des tumeurs malignes, détermination de nombreux facteurs histopronostiques dont la classification pTNM,^[1] recherche d'altérations protéiques témoignant de processus pathologiques et d'anomalies moléculaires. Les informations obtenues peuvent également être prédictives d'une réponse ou d'une résistance à un traitement donné, systémique ou ciblé.

Cependant la stratification des patients tant sur le plan pronostique que prédictif doit s'affiner. Cette meilleure sélection peut s'appuyer sur une évolution des paramètres sus-cités (classification pTNM, marqueurs moléculaires...) et sur une approche dite intégrative, se traduisant par l'utilisation combinée et rationnelle de différents facteurs. Par ailleurs, l'exploitation plus précise de la présentation histologique des tumeurs offre l'opportunité de revisiter la « morphologie » : la tumeur, son architecture, son stroma et son micro-environnement immunitaire peuvent ainsi bénéficier de l'apport de l'intelligence artificielle pour être captés de façon synergique et délivrer une analyse prenant en considération des composants cellulaires jusqu'ici insuffisamment exploités. La place de l'anatomie pathologique dans la sélection des patients et dans le cadre de la médecine dite de précision est ici abordée de façon synthétique dans le domaine des cancers colorectaux (CCR) non métastatiques.

SÉLECTION DES PATIENTS ATTEINTS DE CANCER COLORECTAL NON MÉTASTATIQUE

Au sein des CCR de stade II, c'est à dire sans ganglions régionaux métastatiques, la majeure partie des patients (80 %) est guérie par la chirurgie. La chimiothérapie est seulement bénéfique pour 5 % des patients et environ 15 % d'entre eux rechutent malgré un traitement adjuvant. Pour les patients atteints de CCR de stade III, définis par la présence de ganglions régionaux métastatiques, la fenêtre thérapeutique est également très réduite : la majorité des patients (60 %) bénéficient de la chirurgie seule, 20 % d'entre eux d'une chimiothérapie et le taux de rechute est de 20 %.

Un des rôles du pathologiste consiste actuellement à déterminer correctement les facteurs histopronostiques conventionnels mais aussi à identifier des marqueurs supplémentaires, pour mieux sélectionner les patients bénéficiant réellement d'un traitement adjuvant.

FACTEURS CONVENTIONNELS ACTUELLEMENT UTILISÉS POUR LA STRATIFICATION PRONOSTIQUE DES PATIENTS

Classification pTNM

La classification communément utilisée pour l'approche des facteurs histopronostiques utiles à la thérapeutique est la classification pTNM.^[1] Dans le CCR, on distingue très schématiquement les stades II sans ganglions régionaux métastatiques, des stades III caractérisés par la présence de ganglions régionaux métastatiques, quelle que soit l'extension dans la paroi.^[1] L'invasion de la séreuse, paramètre histologique susceptible de changer le pronostic et le type de traitement, est un élément morphologique important dont l'analyse précise est indispensable. Sa détermination peut s'avérer difficile dans certaines situations, à l'origine de possibles sous-estimations.^[2]

Les ganglions lymphatiques régionaux représentent un élément important à prendre en considération. Auparavant, seul le constat d'un ou de plusieurs ganglions positifs entraînait une chimiothérapie adjuvante, le plus souvent par FOLFOX pour une durée de 6 mois. Actuellement cette démarche a changé : les patients sont définis comme étant à faible ou haut risque de récurrence en fonction du nombre de ganglions envahis et

du stade pT (pT1-3 et N1 : bas risque, pT4 et/ou N2 : haut risque). Cette approche peut modifier la durée de chimiothérapie, ce qui revêt une importance capitale en termes de neurotoxicité. Celle-ci est en effet liée à la durée de l'exposition à l'oxaliplatine.

Par ailleurs l'étude de phase III randomisée IROCAS actuellement en cours, teste l'intérêt, en terme de survie, d'une intensification de la chimiothérapie en comparant l'efficacité d'un traitement par FOLFIRINOX (oxaliplatine, acide folinique, irinotécan et 5-fluorouracile) à celle du FOLFOX (oxaliplatine, acide folinique et 5-fluorouracile) en situation adjuvante chez des patients ayant un cancer du côlon de stade III, à envahissement ganglionnaire élevé (N2).^[3] Ceci souligne l'importance de la détermination rigoureuse du stade pTNM.

Dans la dernière classification pTNM, les dépôts tumoraux qualifiés de N1c correspondent à des dépôts sans ganglions lymphatiques conjointement envahis.^[1] Lorsque les dépôts tumoraux sont associés à des ganglions lymphatiques positifs, le risque de récurrence métastatique au niveau péritonéal, pulmonaire et hépatique, est majoré.^[4] À l'heure actuelle, ce facteur est largement sous-employé et il paraît logique que la classification pTNM intègre à plus long terme ce paramètre morphologique pour améliorer la stratification des patients sur le plan pronostique. L'étude de Delattre et al a récemment analysé l'impact des dépôts tumoraux dans l'essai IDEA (*International Duration Evaluation of Adjuvant Chemotherapy*), comparant des durées de 3 et 6 mois de chimiothérapie adjuvante par FOLFOX ou CAPOX dans des cancers de stade III.^[5,6] Il ressort de cette étude rétrospective que les dépôts tumoraux sont d'importants facteurs pronostiques indépendants de survie sans maladie chez les patients atteints de CCR de stade III.^[6] Ils pourraient être intégrés comme facteur modulant la durée de la chimiothérapie adjuvante. L'ensemble de ces données souligne ainsi l'importance de la classification pTNM dans la stratification des patients atteints de CCR, pour les traitements actuels et futurs.

Autres facteurs histopronostiques

L'existence d'embolies veineuses est aussi un paramètre morphologique important à déterminer et représente un facteur de mauvais pronostic. Il est utilisé pour identifier, dans les CCR de stade II, les patients à plus haut risque de récurrence, pour lesquels une chimiothérapie adjuvante pourrait être discutée en réunion de concertation pluridisciplinaire. Cependant ce facteur histopronostique est sous-estimé dans 30% des cas.^[7] Les infiltrations péri-nerveuses représentent également un facteur de mauvais pronostic dans les CCR de stade II, pouvant faire discuter une chimiothérapie adjuvante après concertation multidisciplinaire.^[7]

Dans les CCR de stade II, la détermination du risque de récurrence s'appuie aussi sur le grade. Ce dernier se module en fonction du statut d'instabilité microsatellitaire (IMS). Ainsi chez les patients présentant des tumeurs de haut grade avec IMS, le pronostic s'avère meilleur que chez les patients présentant des tumeurs de haut grade sans IMS. Ces différences sont à imputer à l'environnement immunitaire favorable associé à l'IMS, permettant à l'hôte de se défendre vis à vis de la tumeur. Il faut souligner que l'IMS doit être déterminée de façon rigoureuse, par des centres experts. Certaines études ont en effet observé l'existence d'un taux non négligeable de faux-positifs (≈10 %) concernant essentiellement la biologie moléculaire.^[8] Cette constatation souligne l'importance d'un contrôle de qualité dans l'utilisation des biomarqueurs.

MARQUEURS ÉMERGENTS

Marqueurs immunohistochimiques et moléculaires

La stratification des patients pourrait s'appuyer sur l'utilisation d'autres marqueurs simples par immunohistochimie et/ou biologie moléculaire tel que *BRAF*. Dans ce cadre, une étude de Toon et al.^[9] a permis d'objectiver un meilleur pronostic chez les patients avec IMS, *BRAF* – ou +, comparativement aux patients non IMS *BRAF* +, par immunomarquage. *CDX2* est un autre marqueur prometteur analysable par immunohistochimie.^[10] Sa perte est associée à un mauvais pronostic. Ce marqueur qui fait l'objet d'un regain d'intérêt, pourrait également intégrer cette stratification pronostique relativement simple et peu coûteuse.

La classification moléculaire CMS (*Consensus Molecular Subgroup*) comporte quatre groupes (CMS1 à CMS4) de pronostics distincts.^[11] Le groupe CMS1 « immun » présente un phénotype IMS+, est associé à une meilleure médiane de survie sans récurrence (SSR) au sein des quatre groupes, mais présente la médiane de survie après récurrence (SAR) la plus défavorable. Le groupe CMS2, aussi dénommé « canonique », se caractérise par une SSR intermédiaire, mais des survies globales et après récurrence qui sont les plus élevées des quatre groupes. Le groupe CMS3 qualifié de « métabolique » comporte des SSR, des survies globales (SG) et des SAR intermédiaires. Le groupe CMS4 comporte les SSR et les SG les plus faibles des quatre groupes et une SAR intermédiaire. Cependant cette classification CMS, bien que séduisante, n'est actuellement pas applicable à la pratique clinique.^[11]

Marqueurs histologiques du front d'invasion: *tumor budding*, clusters peu différenciés et stroma

Parmi les marqueurs morphologiques intéressants on peut citer le bourgeonnement tumoral (*tumor budding*) qui correspond à la présence de cellules tumorales isolées au front d'invasion, souvent considérée comme la première étape du processus métastatique.^[12] Certaines études ont montré que la présence de ce bourgeonnement était liée à un mauvais pronostic dans le CCR de stade II.^[12] Des études internationales ont proposé une classification de ce paramètre morphologique pour une meilleure reproductibilité.^[13] Néanmoins, bien qu'actuellement mentionné comme facteur pronostique additionnel dans la classification TNM, le *tumor budding* n'est pas pris en compte pour la stratification des patients en matière de chimiothérapie adjuvante.

Les amas peu différenciés ou *poorly differentiated clusters* (PDC) correspondent à une autre caractéristique des cellules tumorales présentes au front d'invasion.^[14] Ce sont des groupements de cellules tumorales, plus nombreuses que celles observées dans le bourgeonnement tumoral (plus de 5 cellules tumorales pour les PDC versus cellules isolées ou moins de 5 cellules pour le bourgeonnement tumoral). Les PDC sont associés à un mauvais pronostic. Cependant ils n'ont pas encore été validés pour une utilisation en situation adjuvante.^[14]

Le stroma fibreux qui accompagne la tumeur dans certains cas, constitue également un facteur pronostique émergent qui pourrait permettre de mieux sélectionner les patients. Les CCR non métastatiques qui s'accompagnent d'une forte composante stromale, ont un moins bon pronostic que ceux qui n'ont pas cette caractéristique. Pour évaluer ce facteur de façon reproductible et rigoureuse et asseoir sa validation, plusieurs programmes ont été développés. Il est ainsi actuellement proposé la réalisation d'une cohorte prospective et multicentrique^[15] ainsi qu'un programme de formation dédié à l'évaluation du stroma (watchstroma.com),^[16] développé et mis en ligne par l'Université de Leiden.

Il faut souligner que les caractéristiques morphologiques des tumeurs sont souvent le reflet des altérations moléculaires sous-jacentes. Dans ce cadre il paraît logique de développer des corrélations entre phénotype et génotype. Pour aller plus loin sur le plan morphologique et mieux évaluer les marqueurs validés ou émergents, il serait intéressant d'utiliser l'intelligence artificielle et le concept d'apprentissage qui lui est associé. Cette démarche permettrait, par compagnonnage avec l'ordinateur, d'apprendre à reconnaître les zones d'intérêt (*tumor budding*, PDC, stroma, réponse immune...) et de les utiliser de façon standardisée et rapide en pratique clinique. On peut imaginer à long terme des algorithmes intégrant des biomarqueurs morphologiques, à la fois au plan pronostique et prédictif.

Marqueurs du microenvironnement immunitaire

En dehors des facteurs morphologiques liés à la tumeur, des facteurs liés à l'hôte présentent un rôle pronostique. Ainsi le système immunitaire a une influence sur le contrôle des tumeurs.^[17] Lorsque la tumeur s'accompagne d'un infiltrat lymphocytaire adaptatif et protecteur, le pronostic des CCR localisés est meilleur, avec moins d'embolus vasculaires, moins d'infiltrations péri-nerveuses, moins de ganglions lymphatiques métastatiques et *in fine*, moins de récurrences.

Différentes méthodes sont proposées pour évaluer cette réaction immune inflammatoire, telles que le test Immunoscore[®].^[18] Cependant elles n'ont pas encore été validées pour la pratique clinique. Ces méthodes permettraient peut-être de mieux définir la place de la chimiothérapie chez les patients atteints de CCR de stade II et III.

Citons également les structures lymphoïdes tertiaires, témoins morphologiques d'une immunité adaptative et associées à un bon pronostic. Ces structures sont aussi facilement visibles morphologiquement ou par multiplexage immunohistochimique, mais ne sont pas non plus prises en considération actuellement dans la pratique clinique.

SÉLECTION DES PATIENTS ATTEINTS DE CANCER COLORECTAL MÉTASTATIQUE

Au stade métastatique, les sites tumoraux ne sont pas toujours histologiquement documentés. Ceci est lié à la non-opérabilité des sites métastatiques et à l'histoire naturelle de la maladie permettant de rattacher le plus souvent la maladie métastatique à un primitif colorectal. Certains cas particuliers nécessitent cependant l'obtention d'une biopsie pour s'assurer du diagnostic. Le pathologiste est essentiellement sollicité pour déterminer des anomalies moléculaires et ce le plus souvent à partir de la tumeur primitive histologiquement documentée. Il existe en effet dans la majorité des cas, une concordance des anomalies moléculaires entre la tumeur primitive et le site métastatique. Les anomalies moléculaires les plus souvent recherchées sont l'instabilité microsatellitaire et les statuts *RAS* et *BRAF*. D'autres sont plus rarement déterminées, telles que l'amplification d'*HER2*, les translocations de *NTRK*, *ALK* et *ROS*.^[19] Ces dernières pourraient faire l'objet d'un criblage par immunohistochimie et hybridation *in situ*, mais l'algorithme décisionnel à utiliser pour la sélection des patients reste à définir.

Au plan morphologique, les sites métastatiques réséqués après traitement préopératoire, notamment hépatiques, peuvent fournir des paramètres utiles au plan pronostique. Il est ainsi maintenant établi que l'interface entre la métastase et le foie sain est un facteur important.^[20] Dans ce cadre il a été noté qu'une interface desmoplastique est associée à un meilleur pronostic.

La réponse histologique des métastases réséquées des CCR n'est pas utilisée en pratique. Cependant il est possible qu'elle le devienne, notamment à l'ère de l'immunothérapie, à l'instar du mélanome.^[21] Une réponse histologique complète se traduit ainsi par un excellent pronostic indiquant potentiellement la simple nécessité d'une surveillance et non celle d'un traitement d'entretien.^[21] Dans le cancer du poumon, en situation néo-adjuvante, une réponse histologique majeure est souvent associée à un environnement immunitaire adaptatif, suggérant une évolution favorable.^[22] L'ensemble de ces données est à prendre en considération dans les futurs essais de cancérologie digestive.

CONCLUSION

Il est possible de sélectionner les patients atteints de cancers colorectaux non métastatiques par des critères morphologiques simples mais qui doivent être déterminés avec rigueur. Dans ce cadre, il est essentiel de respecter les paramètres fondamentaux tels que la classification pTNM qu'il faut néanmoins faire évoluer. Une approche intégrative conjuguant des facteurs issus de la morphologie, de la biologie moléculaire et des biopsies liquides, représente aussi une voie d'avenir. De même, la pathologie digitale et l'intelligence artificielle permettront de mieux utiliser les marqueurs morphologiques émergents et de « voir ce que l'œil ne voit pas ».^[23]

RÉFÉRENCES (Les références soulignées renvoient aux abstracts correspondants sur PubMed)

1. Sobin LH, Gospodarowicz MK, Wittekind C (2017). TNM Classification of Malignant Tumours, 8th edn. Wiley-Blackwell: New York.
2. Frankel WL, Jin M. Serosal surfaces, mucin pools, and deposits, oh my: challenges in staging colorectal carcinoma. *Mod Pathol* 2015; 28 Suppl 1:S95-108.
3. Bennouna J, André T, Campion L, Hiret S, Miglianico L, Mineur L, et al. Rationale and design of the IROCAS study: multicenter, international, randomized Phase 3 trial comparing adjuvant modified (m) FOLFIRINOX to mFOLFOX6 in patients with high-risk stage III (pT4 and/or N2) colon cancer-A UNICANCER GI-PRODIGE Trial. *Clin Colorectal Cancer* 2019; 18:e69-e73.
4. Nagtegaal ID, Krijn N, Huguenin N, Marshall HC, Sugihara K, et al. Tumor deposits in colorectal cancer: improving the value of modern staging - A systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol* 2017; 35:1119-1127.
5. André T, Vernerey D, Mineur L, Bennouna J, Desrame J, Faroux R, et al. Three versus 6 months of oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy for patients with stage III colon cancer: disease-free survival results from a randomized, open-label, International Duration Evaluation of Adjuvant (IDEA) France, Phase III Trial. *J Clin Oncol* 2018; 36:1469-1477.
6. Delattre JF, Cohen R, Henriques J, Falcoz A, Emile JF, Fratte S, et al. Prognostic value of tumor deposits for disease free survival in patients with stage III colon cancer: A post hoc analysis of IDEA France phase III trial (PRODIGE-GERCOR). *J Clin Oncol* 2020; Mar 13:JC01901960.
7. Nagtegaal ID. Current concepts of colorectal cancer resection pathology. *Histopathology* 2015; 66:102-111.
8. Cohen R, Hain E, Buhard O, Guilloux A, Bardier A, Kaci R, et al. Association of primary resistance to immune checkpoint inhibitors in metastatic colorectal cancer with misdiagnosis of microsatellite instability or mismatch repair deficiency status. *JAMA Oncol* 2019; 5:551-555.
9. Toon CW, Chou A, DeSilva K, Chan J, Patterson J, Clarkson A, et al. BRAFV600E immunohistochemistry in conjunction with mismatch repair status predicts survival in patients with colorectal cancer. *Mod Pathol* 2014; 27:644-650.
10. Dalerba P, Sahoo D, Paik S, Guo X, Yothers G, Song N, et al. CDX2 as a prognostic biomarker in stage II and stage III colon cancer. *N Engl J Med* 2016; 374: 211-222.
11. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Sonesson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. *PLoS Nat Med* 2015; 21:1350-1356.
12. Wang LM, Kevans D, Mulcahy H, O'Sullivan J, Fennelly D, Hyland J, O'Donoghue D, Sheahan K. Tumor budding is a strong and reproducible prognostic marker in T3N0 colorectal cancer. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:134-141.
13. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol* 2017; 30:1299-1311.
14. Konishi T, Shimada Y, Lee LH, Cavalcanti MS, Hsu M, Smith JJ, et al. Poorly differentiated clusters predict colon cancer recurrence: an in-depth comparative analysis of invasive-front prognostic markers. *Am J Surg Pathol* 2018; 42:705-714.
15. Smit M, van Pelt G, Roodvoets A, Meershoek-Klein Kranenbarg E, Putter H, Tollenaar R, et al. Uniform noting for international application of the tumor-stroma ratio as an easy diagnostic tool: protocol for a multicenter prospective cohort study. *JMIR Res Protoc* 2019; 8:e13464.
16. UNITED E-learning. <http://watchstroma.com/the-stroma-research/>. Last accessed 9 April 2020.
17. Galon J, Fridman WH, Pagès F. The adaptive immunologic microenvironment in colorectal cancer: a novel perspective. *Cancer Res* 2007; 67:1883-1886.
18. Pagès F, Mlecnik B, Marliot F, Bindea G, Ou FS, Bifulco C, et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet* 2018; 391:2128-2139.
19. Sepulveda AR, Hamilton SR, Allegra CJ, Grody W, Cushman-Vokoun AM, Funkhouser WK et al. Molecular biomarkers for the evaluation of colorectal cancer: guideline from the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and American Society of Clinical Oncology. *Arch Pathol Lab Med* 2017; 141(5):625-657.

20. [Eefsen RL, Vermeulen PB, Christensen IJ, Laerum OD, Mogensen MB, Rolff HC, et al. Growth pattern of colorectal liver metastasis as a marker of recurrence risk. Clin Exp Metastasis 2015; 32:369-381.](#)
 21. [Tetzlaff MT, Messina JL, Stein JE, Xu X, Amaria RN, Blank CU, et al. Pathological assessment of resection specimens after neoadjuvant therapy for metastatic melanoma. Ann Oncol 2018; 29:1861-1868.](#)
 22. [Cottrell TR, Thompson ED, Forde PM, Stein JE, Duffield AS, Anagnostou V, et al. Pathologic features of response to neoadjuvant anti-PD-1 in resected non-small-cell lung carcinoma: a proposal for quantitative immune-related pathologic response criteria \(irPRC\). Ann Oncol 2018; 29:1853-1860.](#)
 23. [Kather JN, Pearson AT, Halama N, Jäger D, Krause J, Loosen SH, et al. Deep learning can predict microsatellite instability directly from histology in gastrointestinal cancer. Nat Med 2019; 25:1054-1056.](#)
-