Université de Poitiers
Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2022

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement
le 28 septembre, 2022 à Poitiers
par Mme Fatoumata BARRY

Rôle de la voie Hippo dans les cancers du sein avec métastases cérébrales

COMPOSITION DU JURY

Président : Monsieur le Professeur Jean-Michel GOUJON

Membres :
- Madame la Professeure Lucie KARAYAN TAPON
- Monsieur le Professeur Nicolas ISAMBERT
- Monsieur le Docteur Olivier RENAUD

Directeur de thèse : Madame la Professeure Lucie KARAYAN TAPON

Université de Poitiers
Faculté de Médecine et Pharmacie

ANNEE 2022

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement
le 28 septembre, 2022 à Poitiers
par Mme Fatoumata BARRY

Rôle de la voie Hippo dans les cancers du sein avec métastases cérébrales

COMPOSITION DU JURY

Président : Monsieur le Professeur Jean-Michel GOUJON

Membres :
- Madame la Professeure Lucie KARAYAN TAPON
- Monsieur le Professeur Nicolas ISAMBERT
- Monsieur le Docteur Olivier RENAUD

Directeur de thèse : Madame la Professeure Lucie KARAYAN TAPON

UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

Le Doyen,

Année universitaire 2021 - 2022

LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE

Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- BOULETI Claire, cardiologie
- BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUCOA Christophe, bactériologie-virologie
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- COUDROY Rémi, médecine intensive-réanimation
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie
- DROUOT Xavier, physiologie
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRASCA Denis, anesthésiologie-réanimation
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GILBERT Brigitte, génétique
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
- ISAMBERT Nicolas, cancérologie
- JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique t cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et de réadaptation **(en disponibilité)**
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie viscérale et digestive **(retraite au 01/01/2022)**
- LECLERE Franck, chirurgie plastique, reconstructrice
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- MACCHI Laurent, hématologie
- MCHEIK Jiad, chirurgie infantile
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MIGEOT Virginie, santé publique
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, médecine d'urgence
- NEAU Jean-Philippe, neurologie
- ORIOT Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie
- PERAULT-POCHAT Marie-Christine, pharmacologie clinique
- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOARD Philippe, neurochirurgie
- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- SAULNIER Pierre-Jean, thérapeutique
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- SILVAIN Christine, hépato-gastro- entérologie
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie
- THILLE Arnaud, médecine intensive-réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- WAGER Michel, neurochirurgie
- XAVIER Jean, pédopsychiatrie

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY Marion, santé publique
- ALLAIN Géraldine, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail **(en détachement)**
- BILAN Frédéric, génétique
- BOISSON Matthieu, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- CAYSSIALS Emilie, hématologie
- CREMNITER Julie, bactériologie-virologie
- DIAZ Véronique, physiologie
- FROUIN Eric, anatomie et cytologie pathologiques
- GACHON Bertrand, gynécologie-obstétrique
- GARCIA Magali, bactériologie-virologie
- GUENEZAN Jérémy, médecine d'urgence
- JAVAUGUE Vincent, néphrologie **(en mission 1an a/c du 12/07/2021)**
- JUTANT Etienne-Marie, pneumologie
- KERFORNE Thomas, anesthésiologie-réanimation et médecine péri-opératoire
- LAFAY-CHEBASSIER Claire, pharmacologie clinique
- LIUU Evelyne, gériatrie
- MARTIN Mickaël, médecine interne
- PALAZZO Paola, neurologie (**en dispo 3 ans à/c du 01/07/2020**)
- PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie
- PICHON Maxime, bactériologie-virologie
- SAPANET Michel, médecine légale
- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

Professeur des universités

- PELLERIN Luc, biochimie et biologie moléculaire

Professeur des universités de médecine générale

- BINDER Philippe

Bât. D1 - 6 rue de la Milétrie – TSA 51115 - 86073 POITIERS CEDEX 9 - France
☎05.49.45.43.43 - 🖷 05.49.45.43.05

Professeur associé des universités des disciplines médicales

- FRAT Jean-Pierre, médecine intensive-réanimation

Maître de Conférences associé des universités des disciplines médicales

- HARIKA-GERMANEAU Ghina, psychiatrie d'adultes

Professeurs associés de médecine générale

- ARCHAMBAULT Pierrick
- BIRAULT François
- FRECHE Bernard
- MIGNOT Stéphanie
- PARTHENAY Pascal
- VALETTE Thierry

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

- AUDIER Pascal
- BRABANT Yann
- JEDAT Vincent

Enseignant d'Anglais

- DEBAIL Didier, professeur certifié

Professeurs émérites

- GIL Roger, neurologie (08/2023)
- GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion (08/2023)
- HERPIN Daniel, cardiologie (08/2023)
- MARECHAUD Richard, médecine interne (24/11/2023)
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire (08/2022)
- ROBERT René, médecine intensive-réanimation (30/11/2024)
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (08/2023)
- TOUCHARD Guy, néphrologie (08/2023)

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie
- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ALLAL Joseph, thérapeutique (ex-émérite)
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOTCatherine, hématologie – transfusion
- BONTOUX Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CARRETIER Michel, chirurgie viscérale et digestive (ex-émérite)
- CASTEL Olivier, bactériologie-virologie ; hygiène
- CASTETS Monique, bactériologie -virologie – hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, cancérologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- DORE Bertrand, urologie (ex-émérite)
- EUGENE Michel, physiologie (ex-émérite)
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GOMES DA CUNHA José, médecine générale (ex-émérite)
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- GUILLET Gérard, dermatologie
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (ex-émérite)
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire (ex-émérite)
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (ex-émérite)
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- PAQUEREAU Joël, physiologie
- POINTREAU Philippe, biochimie
- POURRAT Olivier, médecine interne (ex-émérite)
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- TOURANI Jean-Marc, cancérologie
- VANDERMARCQ Guy, radiologie et imagerie médicale

Bât. D1 - 6 rue de la Milétrie – TSA 51115 - 86073 POITIERS CEDEX 9 - France
☎05.49.45.43.43 - 🖷 05.49.45.43.05

REMERCIEMENTS

A mon Président de thèse, monsieur le Professeur Jean-Michel GOUJON
C'est pour moi un grand honneur de vous avoir comme président de ce jury. Je vous remercie pour votre accueil bienveillant au sein du service, pour votre enseignement de l'anatomie et cytologie pathologiques, pour votre aide, disponibilité et soutien durant tout mon internat. Merci pour votre bonne humeur. Veuillez trouver ici ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

A ma directrice de thèse, madame la Professeure Lucie KARAYAN-TAPON
Je vous remercie de m'avoir proposé ce sujet de thèse, et pour votre encadrement dans ce travail. Merci pour votre accueil dans votre service et pour votre enseignement de la cancérologie biologique. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect et de ma reconnaissance.

Aux membres du jury, monsieur le Professeur Nicolas ISAMBERT
Vous me faites l'honneur de juger ce travail et je vous en remercie. Veuillez trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance et de mon respect.

monsieur le Docteur Olivier RENAUD
Merci d'avoir accepté de juger ce travail, merci pour ta bienveillance, ta bonne humeur au sein du service, pour ton enseignement et ta confiance. Trouve ici le témoignage de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

A la plateforme d'histopathologie TMB core de l'hôpital Pellegrin, à Bordeaux.
Merci à Alban et à Nathalie de m'avoir formée avec patience aux TMAS, pour permettre la réalisation de ce projet.

Au service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Poitiers,
A Céline, Caroline, Serge, Eric, Yusuf, Auriane, merci de m'avoir transmis votre savoir durant cet internat. Ce fut un réel plaisir d'apprendre à vos côtés durant ces semestres. Merci à l'équipe technique et aux secrétaires.

A l'ensemble de l'équipe du registre des cancers à l'UFR de Poitiers,
Plus particulièrement au Pr INGRAND, et au Dr DEFOSSEZ , merci pour votre accueil dans ce service.

Au service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CH de La Rochelle,
A Marie-Luce, Jean-François, Mercédès. Je vous remercie de votre enseignement. Merci à l'équipe technique et aux secrétaires.

Au service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHR de Niort,
Merci à Karine, Raluca, Rony, Johan et Cynthia pour votre enseignement et votre gentillesse. Merci aux techniciennes et secrétaires.

À l'ensemble de l'équipe médicale et technique du service de cancérologie biologique du CHU de Poitiers,
Plus particulièrement à Claire pour son enseignement de la pathologie moléculaire, à Amandine pour son aide dans ce travail. Merci à Pierre Olivier et Pierre pour leur grande aide et pour leur disponibilité tout au long de ce projet.

Au service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Saint Antoine à Paris,

Plus particulièrement au Pr Dominique Wendum, merci pour votre aide dans ce travail, pour votre disponibilité et pour votre accueil dans ce service. Merci au Dr CERVERA, Dr HOYEAU, au Pr SVRCEK, et au Dr LEROUX pour votre enseignement de la pathologie digestive.
Merci au Dr DURIEZ pour votre enseignement de la dermatopathologie.
Merci à l'équipe technique et aux secrétaires.

A mes co internes,
Merci à Kahina, Antonio, Hugo, Mickael, Brice, Yacine, Pierre, Yvan, Agathe, Laurence et aux plus jeunes, Baptiste, Damien, Guillaume. Merci à mes cointernes parisiens, Franck, Louis, Yu, Diana et Constance. Ce fut un vrai plaisir de travailler avec vous.

A ma famille, à mes amis.

INTRODUCTION **12**

GENERALITES **14**

I- Cancer du sein 14
1. Epidémiologie 14
2. Pathogenèse 14
3. Histopathologie 16
3.1 Type histologique 17
3.2 Grade histologique 19
3.3 Immunohistochimie 21
3.4 Modèles de réponse stromale et microenvironnement tumoral 22
4. Principales difficultées rencontrées 23
5. Pathologie moléculaire, classification intrinsèque des sous types 24
6. Pronostic et prédiction 24
6.1 Marqueurs pronostiques/prédictifs standards requis 24
6.2 Marqueurs pronostiques/prédictifs supplémentaires 25

II- Voie de signalisation hippo 27
1. Historique 27
2. Composants de la voie hippo 28
3. Propriétés biologiques de YAP/TAZ 30
4. Signalisation, régulation de la voie hippo dans le cancer 31
5. Diaphonie avec d'autres voies de signalisation 33

III - Rôle de la voie hippo dans le cancer du sein 34
1. YAP TAZ et autres composants 34
2. Rôle clinique, pronostique 35
3. Rôle dans les différents sous types de cancer du sein 35
4. Rôle des composants de la voie Hippo dans les métastases du cancer du sein 36

OBJECTIFS **36**

MÉTHODE **37**

I- Sélection des patients 37
1. Critères d'inclusion 37
1.1. Cancers du sein avec métastases cérébrales 37
1.2. Cancer du sein sans métastases cérébrales 37
2. Critères d'exclusion 37

II- Données recueillies 38
1. Données recueillies pour les cancers du sein avec métastases cérébrales 38
2. Données recueillies pour les cancer du sein métastatiques, sans métastases cérébrales 39

III- Méthode d'évaluation histopathologique et immunologique 39
1.Tissue MicroArrays "TMA" 39
2. Etude immunohistochimique 40

2.1 Technique 40

ANALYSE STATISTIQUES 45

RÉSULTATS 46

I- Caractéristiques des populations 46
1. Caractéristique tumeur primitive du sein 48
2. Caractéristiques métastases 48

II- Etude immunohistochimique sur TMA : description des immunomarquages YAP 50

III- Résultats YAP 51
1. Localisation de YAP et caractéristiques histologiques 51
2. Localisation de YAP et caractéristiques cliniques 54
3. Impact de YAP sur le pronostic (survie) 54
4. Résultats dans le sous groupe avec métastases cérébrales 54
5. Résultats dans le sous groupe sans métastases cérébrales 57

IV- Etude immunohistochimique sur TMA : description des immunomarquages TAZ 58

V- Résultats TAZ 60
1. Localisation de TAZ et caractéristiques histologiques 60
2. Localisation de TAZ et les caractéristiques cliniques 63
3. Impact de TAZ sur le pronostic (survie) 63
4. Résultats dans le sous groupe avec métastases cérébrales 64
5. Résultats dans le sous groupe métastatiques sans métastases cérébrales 67

VI- Tissu cérébral 68

DISCUSSION 70

I- Principaux résultats de l'étude 70

II- Comparaison avec les données de la littérature 71

III- Forces et limites 75

IV- Perspectives 77

CONCLUSION 79

BIBLIOGRAPHIE 80

ANNEXES 84

RÉSUMÉ 96

LISTE DES ABREVIATIONS

ASCO : American Society of Clinical Oncology

CAF : Fibroblastes associés au cancer

CAP : Collège of american pathologist

CCIS : Carcinome canalaire in situ

CHC : Carcinome hépatocellulaire

CSI : Carcinome du sein infiltrant

CTGF : Facteur de croissance du tissu conjonctif

EGFR : Récepteurs du facteur de croissance épidermique

ER : Récepteur aux oestrogènes

ESME : Epidémio- Stratégie Médico-Economique

HER2 : Human épidermal growth factor receptor 2

IHC : Immunohistochimie

NST : Type non spécifique, no spécial type

PDL1 : Programmed cell Death protein 1

PR : Récepteur à la progestérone

RA : Récepteur aux androgènes

RE : Récepteur aux oestrogènes

RP : Récepteur à la progestérone

SBR : Scarff- Bloom et Richardson

SNC : Système nerveux central

TAZ : Tafazzin

TILS : Lymphocytes infiltrant la tumeur

TNBC : Cancer du sein triple négatif, Triple negative breast cancer,

TNM : Tumeur-Gangion(s)-Node(s)- Métastase(s)

TSM : Taux d'incidence standardisé Monde

YAP : Yes-associated protein

INTRODUCTION

Environ 20 % des patients atteints de cancer développeront des métastases cérébrales, (les primitifs les plus fréquents sont le cancer du poumon, le cancer du sein, le cancer colorectal et le mélanome). Par ordre de fréquence, le cancer du sein est le deuxième à métastaser au niveau du système nerveux central, l'incidence est estimée à 5-20 % (Achrol et al., 2019) (1). Dans une évaluation rétrospective de 2019 de la cohorte du cancer du sein métastatique du programme de recherche en cours sur la stratégie épidémiologique et l'économie médicale (ESME), le risque de développer une métastase cérébrale est estimé à 25 % chez les patientes atteintes d'un cancer du sein avancé, avec un temps médian d'apparition de 2 à 3 ans après le diagnostic initial de cancer du sein (2).

L'incidence des cancers du sein métastatiques cérébral a augmenté au cours des dernières années, à la suite de l'amélioration des taux de survie des patients (en particulier ceux du sous-type HER2 +), et à une détection accrue de la maladie métastatique grâce à des techniques d'imagerie avancées (2).

Les principaux sites métastatiques du cancer du sein sont les poumons, le cerveau, le foie et les os ; la plupart des études ont intéressé les métastases cérébrales et osseuses. (3) Stephen Paget (chirurgien anglais) avait suggéré il y a plus d'un siècle qu'une cellule tumorale métastatique (appelée la graine, *the seed* en anglais) ne ciblait pas les tissus de manière aléatoire, mais qu'elle devait avoir une affinité ou une compatibilité accrue pour ce tissu (appelé le sol, *the soil*) (4). Cette hypothèse du « *seed and soil* » reposait sur l'observation que des patientes atteintes de cancer du sein développent de manière non aléatoire des tumeurs secondaires dans des tissus cibles spécifiques.

Il a été démontré que les cancers du sein avec des métastases cérébrales étaient associées à un jeune âge, à une négativité du RE, à des métastases pulmonaires antérieures, à une surexpression de HER-2, à une surexpression d'EGFR et à un sous-type basal (5), tandis que les cancers du sein avec des métastases osseuses ont été associés à un grade histologique inférieur, la positivité du RE, la négativité du RP (6). En conséquence, des sites métastatiques spécifiques sont associés à des caractéristiques distinctes dans le cancer du sein métastatique (7).

À ce jour, le manque de traitements efficaces pour les métastases cérébrales constitue un défi majeur. Il existe deux facteurs limitants : la limitation de l'accès aux médicaments systémiques par plusieurs barrières dans le système nerveux central (SNC), et les différences de caractéristiques moléculaires, ainsi que de microenvironnement entre les métastases cérébrales et les lésions primitives. Par conséquent, la recherche sur les mécanismes physiologiques des métastases cérébrales est d'une grande importance pour trouver des cibles médicamenteuses. La survenue de métastases est un processus dynamique. Dans un premier temps, les cellules cancéreuses se développent localement puis pénètrent dans les vaisseaux sanguins et lymphatiques voisins, traversent les vaisseaux pour envahir à distance plusieurs organes (Chaffer et Weinberg, 2011 ; Valastyan et Weinberg, 2011). Les cellules métastatiques localisées au cerveau doivent acquérir certaines caractéristiques pour échapper à l'apoptose, migrer vers le cerveau, franchir la barrière hémato-encéphalique et être capables de survivre et de se développer dans le cerveau (1).

Plusieurs études ont démontré que les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique cérébral ont une progression rapide de la maladie et un mauvais pronostic (Martin et al., 2017 ; Kuksis et al., 2021). Afin d'améliorer encore l'efficacité du traitement, de nouvelles cibles médicamenteuses doivent être dévoilées (8). La voie Hippo joue un rôle indéniablement important dans le cancer du sein, sur la base de preuves convergentes provenant d'enquêtes cliniques et expérimentales. Ainsi, les composants de la voie Hippo peuvent servir de biomarqueurs prédictifs et de cibles thérapeutiques pour le traitement du cancer du sein (9).

La relation entre l'expression de YAP/TAZ et les différents sous-types histomoléculaires de cancer du sein (RE+, HER2 + et triple négatif) reste encore incertaine, différents sous-types présentent, différents niveaux d'expression de YAP/TAZ.

De plus, il a été suggéré que YAP est capable de fonctionner comme un oncogène ou un gène suppresseur de tumeur.

La dérégulation de la voie de signalisation Hippo semble également conférer une chimiorésistance accrue aux cellules cancéreuses.

GENERALITES

I- Cancer du sein

1. Epidémiologie

On estime à 58 459 le nombre de nouveaux cas de cancer du sein chez la femme en France en 2018. Le cancer du sein est le cancer le plus fréquent chez la femme. Le taux d'incidence standardisé Monde (TSM) est de 99,9 cas pour 100 000 personnes années. Avec 12 146 décès estimés en 2018, le cancer du sein est au premier rang des décès par cancer chez la femme. Le taux de mortalité standardisé (TSM) est de 14,0 pour 100 000. Les âges médians au diagnostic et au décès en 2018 sont respectivement de 63 et 74 ans (10).

2. Pathogenèse

Plusieurs modèles linéaires d'initiation, de transformation et de progression du cancer du sein ont été décrits. Le modèle RE-positif comprend la métaplasie cylindrique atypique, l'hyperplasie canalaire atypique et le carcinome canalaire RE-positif in situ (CCIS), comme précurseurs non obligatoires du cancer du sein invasif et métastatique. Le modèle RE-négatif comprend le CCIS RE-négatif et l'adénose microglandulaire comme précurseurs des cancers RE-négatifs (11).

Au niveau moléculaire, plusieurs études ont montré que le cancer du sein est sous la dépendance de deux voies moléculaires de progression divergentes, principalement liées aux récepteurs hormonaux. Les données moléculaires ont également démontré que les cancers du sein RE-positif et RE-négatif sont des maladies fondamentalement distinctes.

La première voie (la voie RE-positive) est caractérisée par des gains de 1q, une perte de 16q, une amplification peu fréquente de 17q12 et un profil d'expression génique qui est principalement constitué de gènes associés au phénotype RE-positif. Ces lésions expriment les récepteurs hormonaux, sont négatives pour HER2 et l'expression de marqueurs basaux, et ont des caryotypes diploïdes ou quasi-diploïdes relativement simples. En général, cette voie se caractérise par des lésions néoplasiques principalement de grade faible à intermédiaire, en plus d'un petit sous-ensemble (~ 9 %) de tumeurs de haut grade morphologiquement définies.

La deuxième voie, désignée voie RE-négative, est le plus souvent caractérisée par une perte de 13q, un gain de la région chromosomique 11q13, une amplification de 17q12, et un profil d'expression génique composé de gènes associés à la prolifération cellulaire et aux processus du cycle cellulaire. Cette voie se caractérise principalement par des tumeurs de grade intermédiaire et de haut grade morphologiquement définies (12).

Les mutations *PIK3CA* se produisent couramment dans les deux voies (RE négative et positive). Les mutations *TP53* sont fréquentes dans la voie RE-négative (13). Les données publiées suggèrent également que la progression d'une tumeur de bas grade vers une tumeur de haut grade peut survenir préférentiellement dans les cancers du sein du phénotype luminal (14).

Les cancers du sein RE-négatifs comprennent à la fois les groupes HER2-positif et HER2-négatif. Dans ces groupes, les tumeurs sont pour la plupart de haut grade, génétiquement instables et pour la plupart aneuploïdes. Dans le groupe RE-négatif, HER2-positif, les mutations *PIK3CA et TP53* sont également très fréquentes, en plus de l'amplification 17q12.

Les cancers du sein RE-négatif et HER2-négatif ont une activité proliférative élevée, une réaction inflammatoire significative, un phénotype de type basal et mésenchymateux, et un déficit en recombinaison homologue.

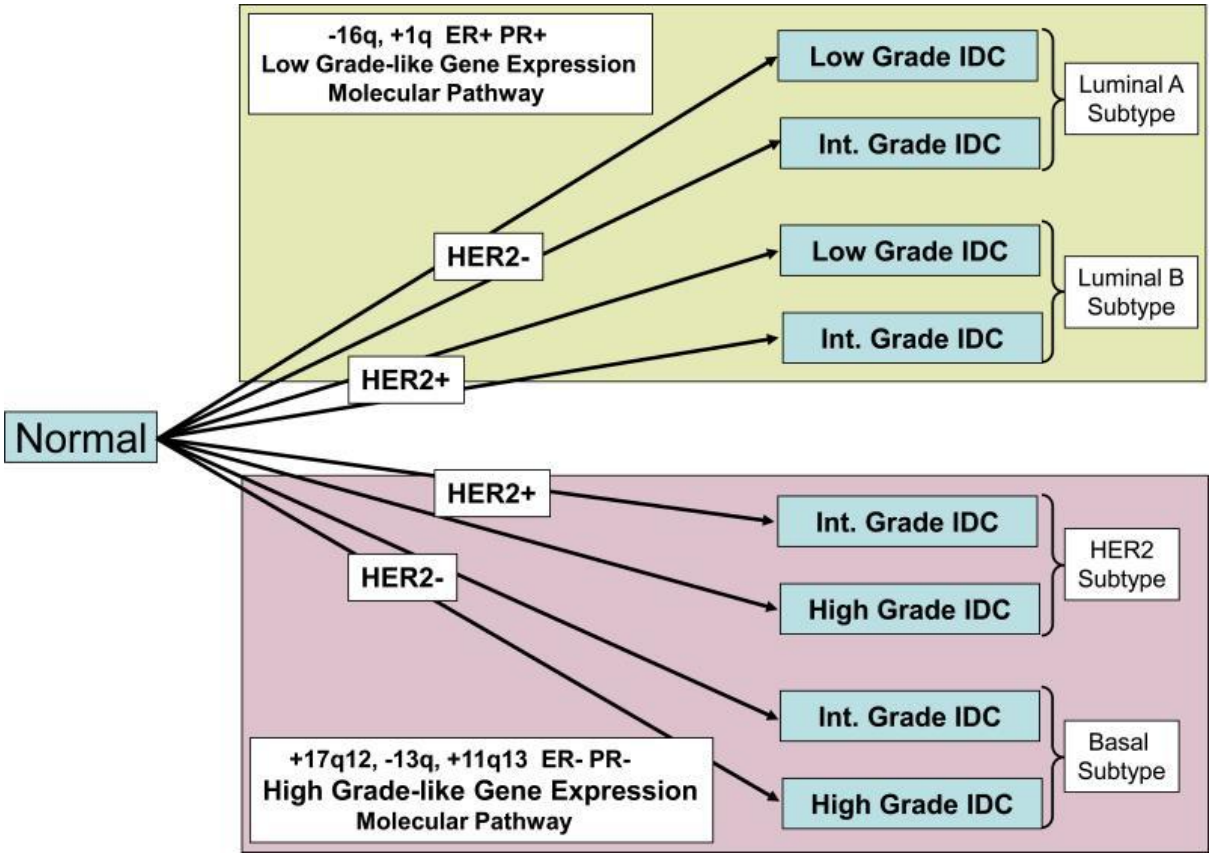


Figure 1 : classification moléculaire du cancer canalaire invasif du sein. Les données génétiques et d'expression génique classent les carcinomes canalaires invasifs en deux voies moléculaires biologiques et clinicopathologiques distinctes. d'après (15).

3. Histopathologie

Le cancer du sein présente une grande diversité architecturale et morphologique. Quatre paramètres histologiques sont décrits pour caractériser davantage la biologie : (1) Le sous-type histologique ; (2) le grade Nottingham ; (3) la présence ou l'absence d'emboles vasculaires (Figure 2) ; et (4) un composant in situ associé. D'autres caractéristiques importantes dans la classification comprennent la taille de la tumeur, la distance aux marges, les modifications du stroma et les lymphocytes infiltrant la tumeur (TILS).

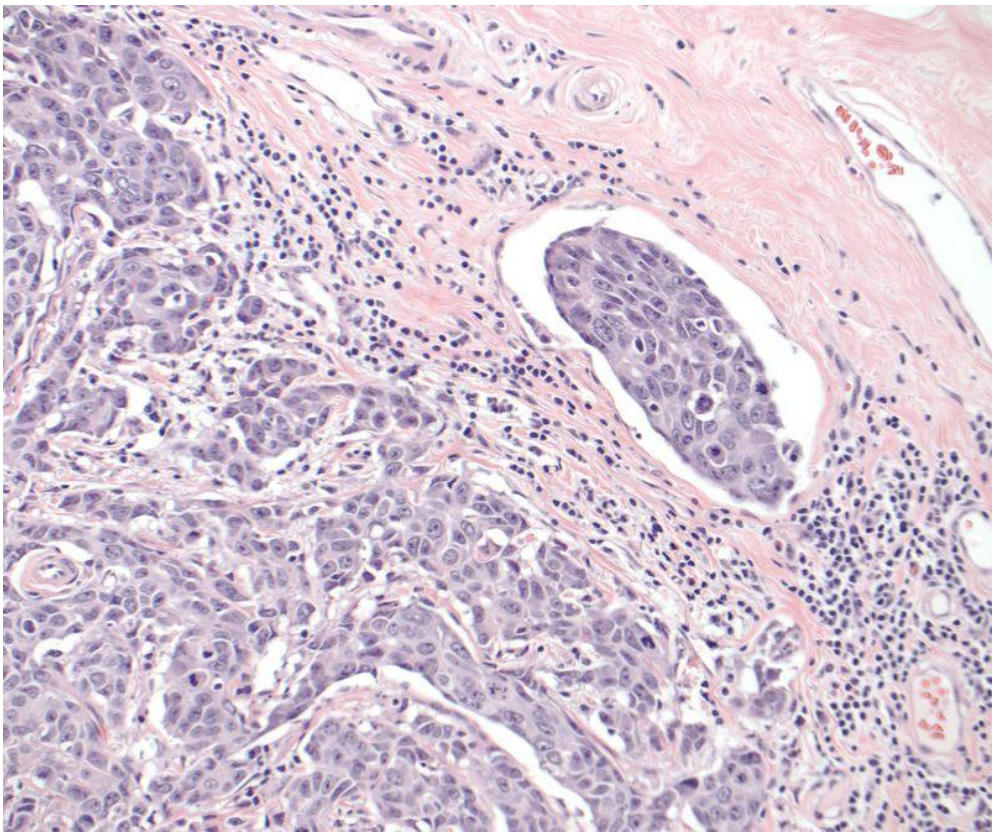


Figure 2 : emboles lymphatiques d'après (16).

3.1 Type histologique

Les cancers du sein présentant un profil histologique particulier, dans ≥ 90 % de la tumeur, sont désignés comme des tumeurs de type spécial pur, comme les carcinomes lobulaires, mucineux et tubulaires. Les tumeurs dépourvues de ces caractéristiques spécifiques sont désignées comme des carcinomes invasifs NST, qui représentent la majorité des cas (Figure 3, 4, 5).

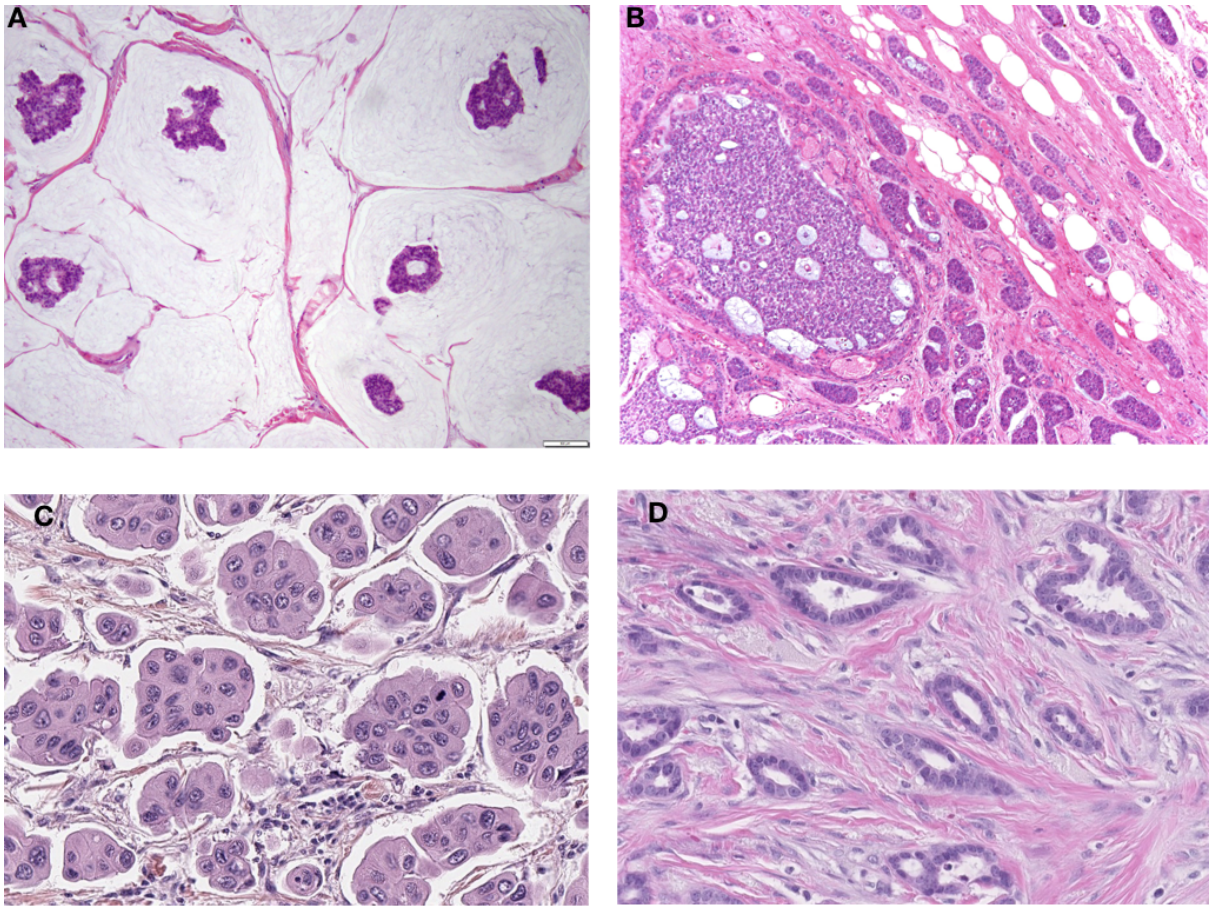


Figure 3 : carcinomes spéciaux : A carcinome mucineux. B carcinome adénoide kystique. C Carcinome micropapillaire D carcinome tubuleux. d'après (16).

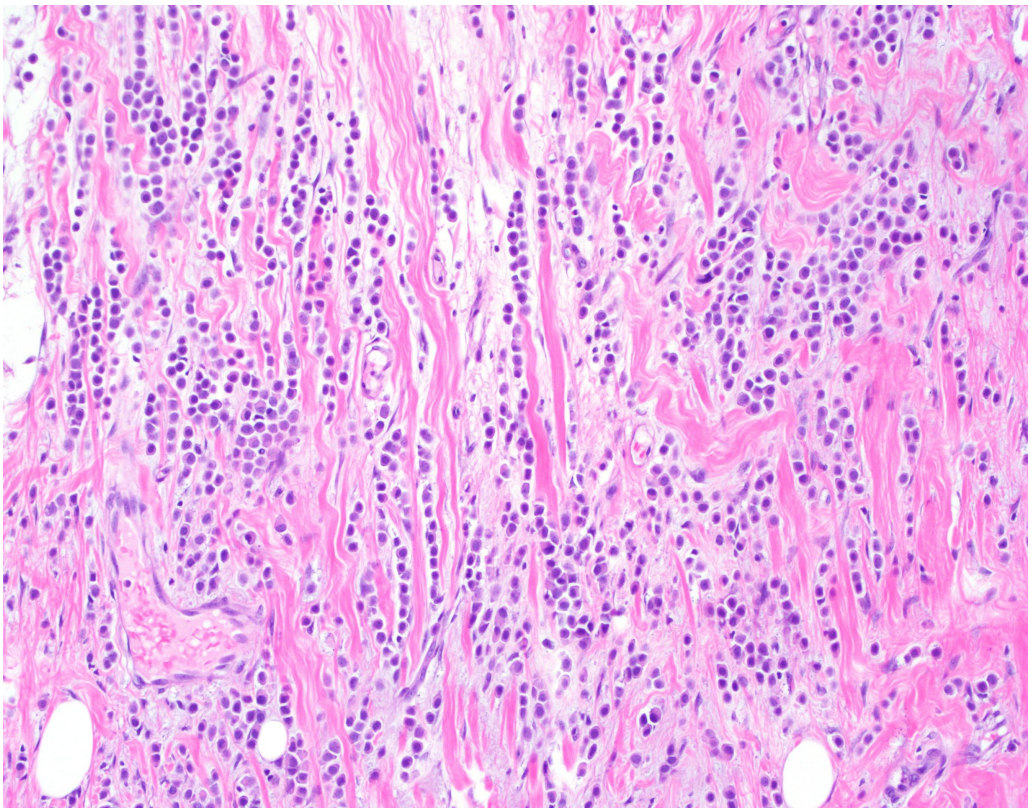


Figure 4 : carcinome lobulaire d’après (16).

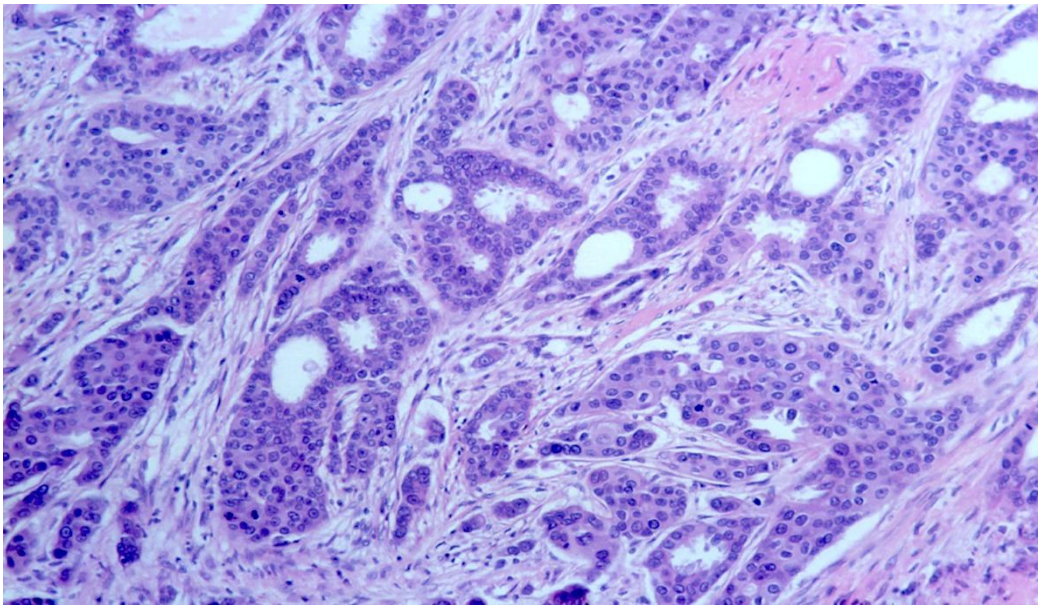


Figure 5 : carcinome canalaire (NST) d’après (16).

3.2 Grade histologique

Trois paramètres morphologiques sont évalués : la différenciation glandulaire, le pléomorphisme nucléaire et le nombre de mitoses. Un système de notation numérique de 1 à 3 est utilisé :

La différenciation glandulaire est évaluée sur toute la surface tumorale à faible grossissement. Des seuils de 75 % et de 10 % de la zone glandulaire/tumeur sont utilisés pour déterminer le score (Figure 6).

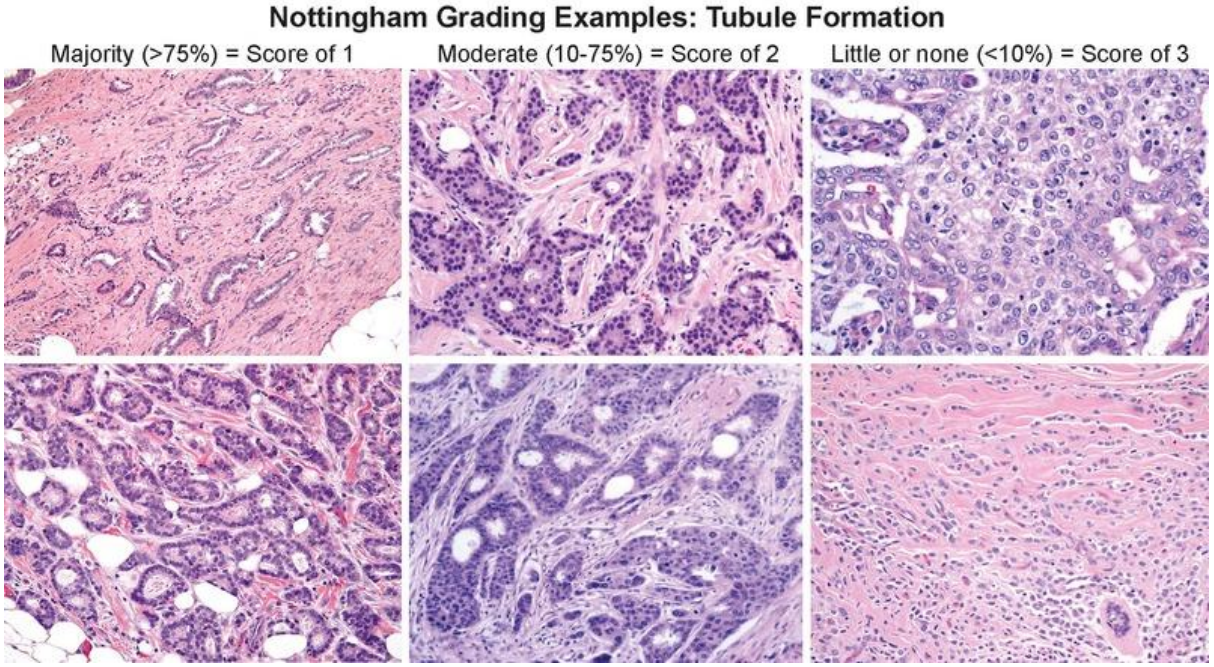


Figure 6 : grade de Nottingham du carcinome invasif du sein : score de différenciation glandulaire d'après (16).

Le pléomorphisme nucléaire est évalué selon la taille et la forme des noyaux des cellules épithéliales normales dans le tissu mammaire adjacent. Les noyaux de score 1 sont de taille très similaire aux noyaux de cellules épithéliales bénignes préexistantes (< 1,5 fois la taille), et ils présentent un pléomorphisme minimal, un motif de chromatine uniforme et des nucléoles qui ne sont pas visibles ou très discrets. Les noyaux de score 2 sont plus gros (1,5 à 2 fois la taille des noyaux de cellules épithéliales bénignes), avec un pléomorphisme léger à modéré et des nucléoles visibles mais petits et discrets. Les noyaux de score 3 sont (> 2 fois la taille des noyaux de cellules épithéliales bénignes), avec une chromatine vésiculaire. L'évaluation du pléomorphisme nucléaire se fait à l'objectif x 40.

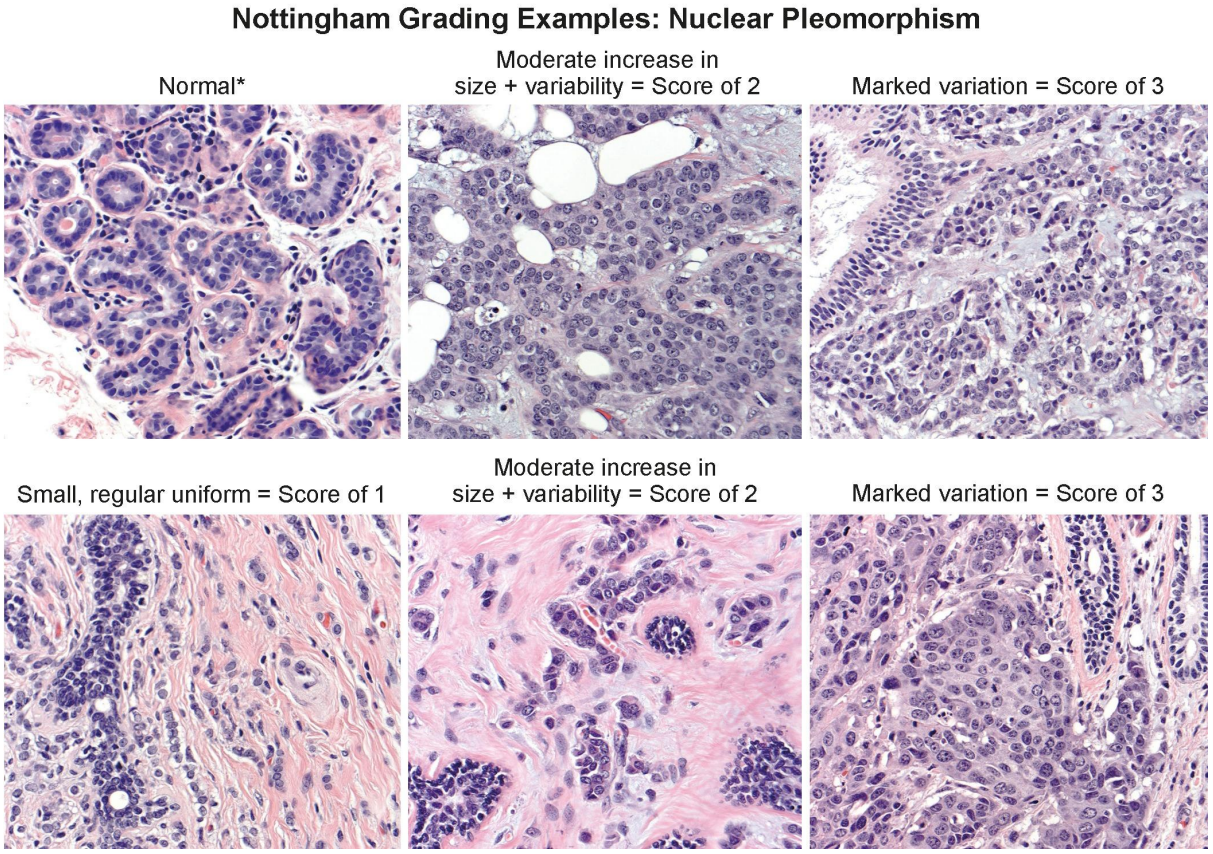


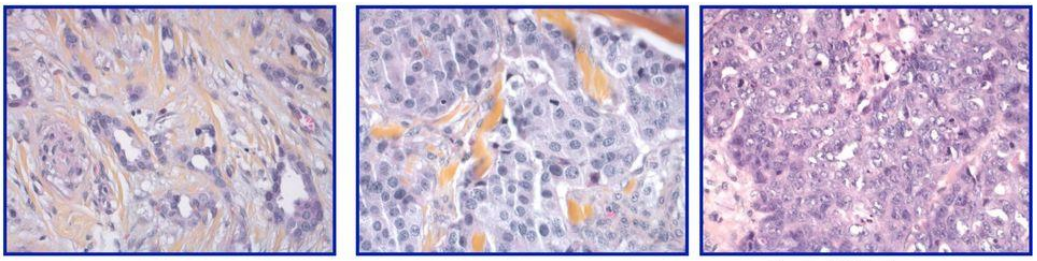
Figure 7 : grade de Nottingham du carcinome invasif du sein : score de pléomorphisme nucléaire, d'après (16).

Pour l'évaluation de l'activité mitotique, le microscope utilisé doit être calibré en mesurant le diamètre du champ, à haute puissance (objectif 40×). Le compte s'effectue sur 10 champs consécutifs. La notation est effectuée sur la zone présentant la fréquence la plus élevée de figures mitotiques. Le score varie de 1 à 3.

Les trois valeurs sont additionnées pour produire un score de 3 à 9, auquel les grades sont attribués comme suit : 3 à 5 points = grade 1, bien différencié ; 6-7 points = grade 2, modérément différencié ; et 8-9 points = grade 3, peu différencié. Aux fins de l'assurance qualité, il est recommandé de déclarer les éléments de score individuels en plus de la note calculée (Figure 6, 7).

Grade histologique de Elston et Ellis

Trois paramètres:	Score
Différenciation (1-3)	Grade I : score 3 à 5
Pléomorphisme nucléaire (1-3)	Grade II: score de 6 à 7
Mitoses : compte sur 10 champs consécutifs (1-3)	Grade III: score 8 et 9



Grade I 39 % Grade II: 41% Grade III 30%

Figure 8 : grade de Nottingham du carcinome invasif du sein d'après (16).

3.3 Immunohistochimie

Récepteurs hormonaux : l'expression nucléaire du RE doit être évaluée pour déterminer le caractère hormono sensible de la tumeur, pour prédire le bénéfice clinique de l'hormonothérapie et de son utilisation dans divers algorithmes de traitement clinique pour les cancers RE positifs par rapport aux cancers RE négatifs. L'expression du RP a tendance à varier plus que l'expression du RE, ce qui contribue à expliquer l'efficacité du RP pour stratifier davantage les cas RE positifs en catégories pronostiques (17).

Les recommandations 2010 de l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) / College of American Pathologists (CAP) pour les tests immunohistochimiques de RE et de la RP dans le cancer du sein indiquent que les cancers du sein avec 1% de cellules, et avec une faible intensité de coloration RE devraient être considéré comme positif, en raison des preuves d'un bénéfice potentiel de l'hormonothérapie. La mise à jour 2019 de ces recommandations a maintenu ce seuil. Cependant, les cancers invasifs avec 1 à 10 % de positivité du RE doivent être considérés comme un RE faiblement positif. Les données limitées suggèrent un bénéfice possible de l'hormonothérapie. Cependant, ce groupe est considéré comme hétérogène, et le comportement biologique des cancers RE faiblement positifs, est proche des cancers RE-négatifs.

HER2 : HER2 est membre d'une famille de récepteurs de facteurs de croissance, comprenant également EGFR (HER1), ERBB3 (HER3) et ERBB4 (HER4), qui régulent la prolifération, le développement et la survie des cellules normales. HER2 est situé à la surface des cellules à de faibles niveaux dans l'épithélium mammaire normal. Dans 10 à 20 % des cancers du sein infiltrants, le gène ERBB2 (HER2) est amplifié, entraînant une surexpression de la protéine HER2 à la surface cellulaire. Cette surexpression de protéine conditionne le caractère agressif, en raison de l'augmentation de la prolifération du cancer, de la motilité cellulaire et de l'angiogenèse. Le test HER2 est requis sur tout nouveau cancer du sein infiltrant, car les cas positifs peuvent être traités avec des thérapies ciblées HER2 en plus de la chimiothérapie, avec des augmentations significatives de la survie. La surexpression de la protéine HER2 peut être évaluée par immunohistochimie, ou l' amplification ERBB2 peut être identifiée par hybridation in situ. Parce que l'immunohistochimie est facilement disponible, à moindre coût, de nombreux laboratoires utilisent l'immunohistochimie comme premier test effectué ; en cas de résultat équivoque (coloration 2+), l' amplification ERBB2 doit être identifiée par hybridation in situ (soit en interne, soit dans un laboratoire de référence). La comparaison de l'intensité de la coloration avec les contrôles négatifs (0-1+) et positifs (3+) doit servir de référence pour les mesures d'intensité.

3.4 Modèles de réponse stromale et microenvironnement tumoral

L'infiltrat immunitaire dans les tumeurs est appelé TIL. Les TILS sont des cellules lymphoïdes mononucléées infiltrant la tumeur et son stroma ; ils reflètent la réponse immunitaire de l'hôte contre les cellules tumorales. L'étendue des TILS dans le Cancer du sein infiltrant gagne en importance en tant que marqueur pronostique, avec un nombre élevé de TILS associé à un meilleur résultat et à une meilleure réponse au traitement néoadjuvant dans les carcinomes du sein triple-négatifs et HER2-positifs (18).

Pour quantifier les TILS, il est recommandé de suivre les recommandations du consensus international (19). Les TILS doivent être comptés dans le stroma entre les zones de carcinome, et toutes les cellules mononucléées (lymphocytes et plasmocytes) doivent être incluses. Les cellules de carcinome ne doivent pas être comptées dans la surface totale évaluée. Les agrégats folliculaires péritumoraux et les structures lymphoïdes tertiaires avec des centres germinatifs indiquent une réponse immunitaire active, mais ils ne doivent pas être inclus dans l'évaluation de la TIL stromale. La quantification de la TIL doit être rapportée en pourcentage, un score moyen basé sur le tissu disponible analysé (19). Par exemple, 80 % de TILS stromaux signifie que 80 % de la zone stromale présente un infiltrat mononucléaire dense. Le comptage automatisé est en plein développement.

4. Principales difficultées rencontrées

Le cancer du sein infiltrant doit être différencié du carcinome in situ et des lésions infiltrantes bénignes telles que les lésions sclérosantes et l'adénose microglandulaire. Bien que la plupart des CSI aient un schéma de croissance infiltrant, certains peuvent imiter des lésions in situ, telles que le CCIS. Les lésions sclérosantes bénignes telles que l'adénose sclérosante et la cicatrice radiaire peuvent imiter une lésion invasive. Les IHC des cellules myoépithéliales sont essentielles pour distinguer ces lésions (les lésions invasives sont dépourvues de cellules myoépithéliales à leur périphérie) (16).

Les lésions mammaires rares qui peuvent imiter le cancer du sein infiltrant primitif comprennent l'adénose microglandulaire (qui peut imiter un cancer invasif bien différencié) et le mélanome et lymphome primitif du sein (qui peuvent imiter un cancer du sein peu différencié). Des difficultés de diagnostic peuvent également être rencontrées avec une tumeur phyllode maligne (en particulier lorsque la lésion est dépourvue de zones épithéliales caractéristiques de la tumeur phyllode), un sarcome mammaire primitif SAI et un angiosarcome mammaire primitif ou secondaire (les sous-types épithélioïdes étant un imitateur problématique du carcinome) (16).

Le cancer du sein infiltrant doit également être distingué des carcinomes cutanés primitifs ou métastatiques, comme le carcinome épidermoïde (diagnostic différentiel avec le carcinome épidermoïde métaplasique du sein), les carcinomes annexiels de la peau et le mélanome cutané. Rarement, il peut être nécessaire de distinguer les carcinomes mammaires primitifs ressemblant aux glandes salivaires, des carcinomes métastatiques des glandes salivaires, en particulier s'il existe des antécédents cliniques de carcinome des glandes salivaires de type similaire (16).

5. Pathologie moléculaire, classification intrinsèque des sous types

Il existe quatre sous-types intrinsèques majeurs de cancer du sein (luminal A, luminal B, HER2-enrichi et basal-like), ainsi qu'un groupe mammaire normal (13). D'autres sous-types rares, tels que la classe claudine faible, qui comprend principalement des tumeurs triples négatives et de mauvais pronostic, ont également été ajoutés. Une sous-classification des principaux sous-types a également été tentée, y compris les sous-types enrichis en HER2 et triple-négatifs (Figure 9).

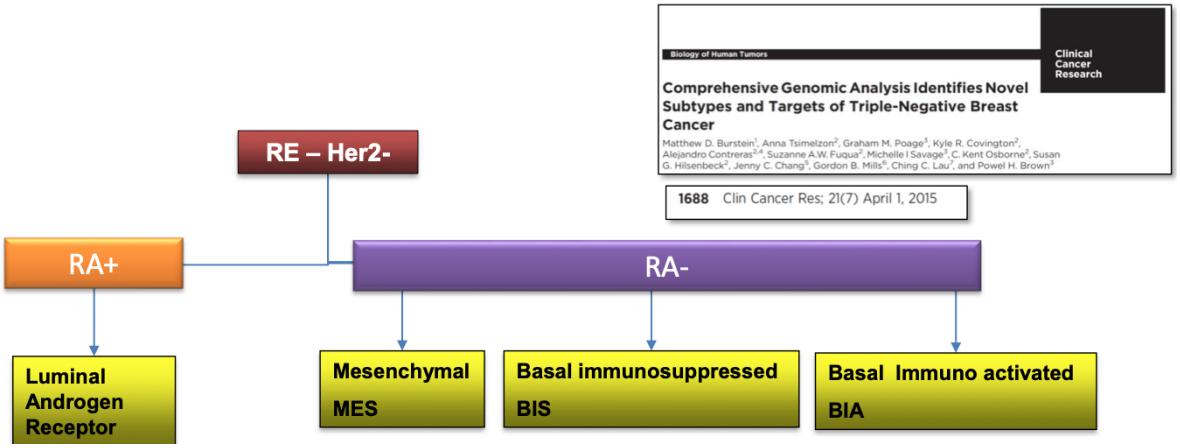


Figure 9 : hétérogénéité génétique des cancers du sein Triple négatif d'après (20).

6. Pronostic et prédiction

6.1 Marqueurs pronostiques/prédictifs standards requis

Récepteurs hormonaux et statut HER2 : le statut des récepteurs hormonaux (RE et RP) et le statut HER2 des cellules cancer du sein infiltrant sont reconnus comme des facteurs prédictifs et pronostiques indispensables pour la prise de décision thérapeutique.

6.2 Marqueurs pronostiques/prédictifs supplémentaires

Marqueur de prolifération / Ki-67 : L'index de prolifération Ki-67 n'est pas universellement utilisé ou officiellement recommandé, en raison d'un manque de consensus international sur les valeurs de notation et de seuil (21), ainsi que d'un manque potentiel de reproductibilité. Néanmoins, il pourrait avoir une valeur clinique (s'il est disponible et noté avec précision) en tant que complément au grade pour déterminer le pronostic et le bénéfice potentiel de la chimiothérapie (22). Les cancers RE-négatif étant très prolifératifs (indice de prolifération Ki-67 : 30-100 %), ils se développent plus rapidement et sont plus souvent traités par chimiothérapie. Les cancers RE-positifs ont un profil de prolifération plus large, avec des formes hautement proliferatives corrélées à un comportement plus agressif, bien que la plupart des cas aient un indice de prolifération Ki-67 < 20 %. Un seuil de 14 % ou 15 % a été proposé pour aider à discriminer les cas susceptibles d'être corrélés avec le sous-type moléculaire luminal B plus agressif (indice de prolifération Ki-67 ≥ 14 % ou 15 %) versus le sous-type luminal A moins agressif (Ki -67 indice de prolifération < 14 % ou 15 %) (23). Cependant, ce seuil n'a pas été validé dans le but de prédire la réponse à la chimiothérapie. Des tests d'expression génique basés sur un panel qui sont largement axés sur la prolifération, tels que le score de récurrence de 21 gènes , ont été validés à cette fin dans les cancers RE-positifs.

Statut de RA : des données récentes ont montré que l'expression de RA par immunohistochimie (24) et des niveaux élevés d'ARNm RA par analyse génétique groupée, sont associés à une meilleure survie sans maladie et à une meilleure survie globale chez les patientes atteintes d'un cancer du sein à un stade précoce. Cependant, la fonction de RA dans les cancers du sein RE-positifs et RE-négatifs semble être complexe, et les données sur RA en tant que prédicteur de la réponse aux thérapies ciblées hormonaux/androgènes sont actuellement rares et toujours à l'étude (25). Par conséquent, le test RA n'est actuellement pas effectué comme pratique standard sur tous les cas de cancer du sein, bien qu'il puisse être demandé dans certains contextes cliniques.

Évaluation de la réponse au traitement néoadjuvant : l'obtention d'une réponse histopathologique complète après traitement néoadjuvant est hautement pronostique pour les cancers du sein HER2 positifs et triples négatifs. L'indice de charge résiduelle du cancer peut être utilisé pour établir des classes de risque associées à la récidive dans les cas de maladie résiduelle. Les paramètres à quantifier et à rapporter, ainsi qu'un calculateur, sont disponibles en ligne [University of Texas MD Anderson Cancer Center]. Houston (TX) (figure 10).

	Oncotype DX	Endopredict	Mammaprint	Prosigna
Manufacturer	Genomic Health	Sividon (distribution by Myriad)	Agendia	NanoString Technologies
Assay	21 gene recurrence score	11 gene assay	70 gene assay	50 gene assay (PAM 50, ROR score)
Tissue	FFPE	FFPE	FFPE (technical validation of original fresh-frozen tissue assay)	FFPE
Method	Quantitative RT-PCR	Quantitative RT-PCR	RNA microarray	nCounter Technology
Laboratory	Centralised (USA)	Decentralised	Centralised (Netherlands)	Decentralised
Registration or accreditation	Clinical Laboratory Improvement Amendment, College of American Pathologists	CE-Mark	FDA (In Vitro Diagnostic Multivariate Index Assay)	FDA (510k), CE-Mark
Determination of molecular subtype	No	No	Yes (using Blueprint)	Yes (not reported in USA)
Prognostic information (outcome)	Yes	Yes	Yes	Yes
Risk groups	Low, intermediate, high	Low vs high	Low vs high	Low, intermediate, high
Predictive information (response to adjuvant chemotherapy)	Yes	No data so far	Yes	No data so far
Evidence-based test indication	pN0-1, ER-positive, endocrine therapy	pN0-1, ER-positive, HER2-negative, endocrine therapy	pN0-1	pN0-1, ER-positive, HER2-negative, endocrine therapy, postmenopausal
Retrospective clinical validation*	NSABP B14 and B20; TransATAC; ECOG 9127; SWOG 8814	ABCSG 6 and 8; TransATAC	Multicentre	ABCSG 8; TransATAC; MA.21
Prospective clinical trials	WSG-Plan B (3198 patients); WSG ADAPT (around 5000 patients); TAILORx (pN0; 10 253 patients); RxPONDER (pN1; around 9000 patients)	TUM (DI unicentre study, 167 patients)	MINDACT (BIG; WSG for Germany; 6693 patients); WSG PRIME (DI study; 34 centres; 452 patients)	Several European DI studies: WSG (11 centres, 200 patients); GEICAM; French multicentre study

FFPE=formalin-fixed, paraffin-embedded. FDA=Food and Drug Administration. ER=oestrogen receptor. DI=decision impact. *Cohort for translational research only, a subgroup of total study collective.

Table 1: **Commonly used multigene assays for risk assessment in early breast cancer**

Harbeck & Gnant Lancet 2017;389:1134

Figure 10 : les signatures moléculaires pour le pronostic des cancers du sein luminaux d'après (26).

Lymphocytes infiltrant la tumeur : voir ci dessus.

II- Voie de signalisation hippo

1. Historique

La voie de signalisation Hippo a été découverte chez les mouches de la drosophile dans les années 1990 par le criblage génétique, qui est utilisé pour afficher des mutations qui montrent une croissance tissulaire excessive (27). L'étude de la voie de signalisation Hippo a commencé avec la découverte du gène *Wts* chez Drosophila melanogaster en 1994 avec l'homologue humain du gène *Wts* découvert peu après. Des études ultérieures dans ce domaine ont révélé la structure complète de la voie Hippo, y compris les composants actifs en amont, la cascade de kinases centrales et les effecteurs transcriptionnels en aval.

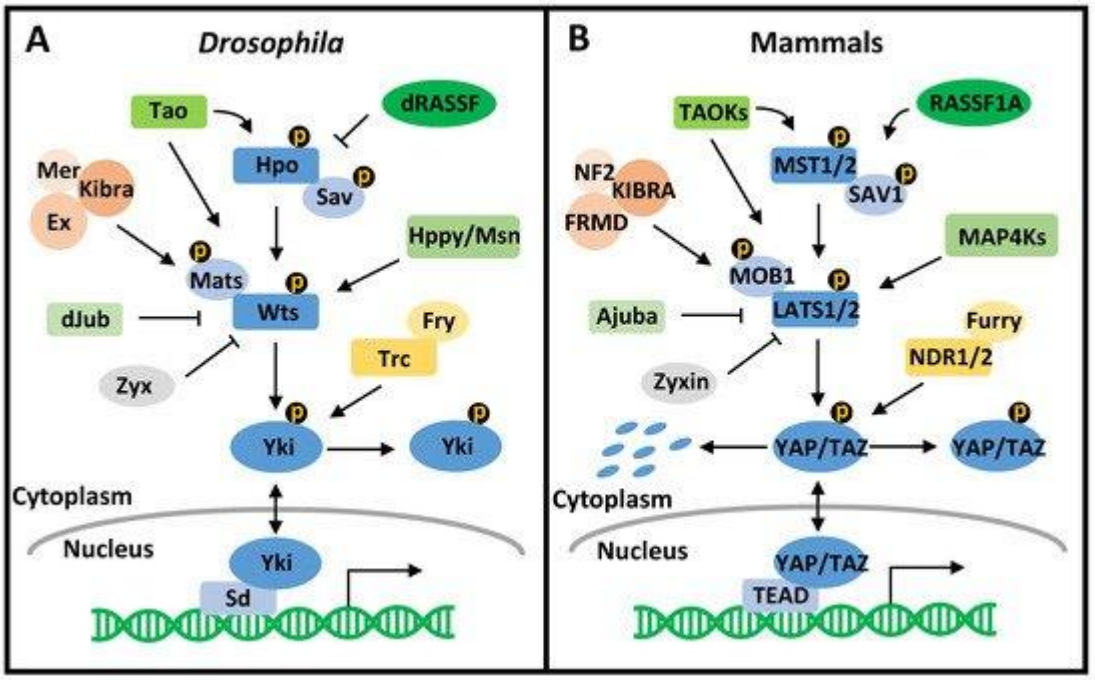


Figure 11 : la voie Hippo chez la Drosophile et Mammifères d'après (28).

2. Composants de la voie hippo

Chez les mammifères, la voie hippo se compose de quatre composants de base qui fonctionnent par phosphorylation : la kinase de type 20 stérile (MST) , les kinases suppresseurs de grandes tumeurs (LATS), les protéines d'échafaudage Salvador homologue 1 (SAV1) et Mps, une protéine activatrice de kinase Binder 1 (MOB1). MST1/2, SAV1, LATS1/2 et Mob1 sont chacun activés par phosphorylation pour former des composés qui transmettent des signaux apoptotiques. MST1/2 et LATS1/2 sont des protéines kinases à sérine/tyrosine, tandis que SAV1 et Mob1 agissent comme des activateurs de protéines. YAP et TAZ sont les principaux co-activateurs de transcription de la voie de signalisation Hippo. Les régulateurs en amont de la voie de signalisation Hippo et les deux molécules de cascade de base (LATS1 et MST1) se sont avérés fonctionner comme des gènes suppresseurs de tumeurs (9).

MST1/2 et LATS1/2, sont deux kinases qui phosphorylent les facteurs de cotranscription YAP1 et TAZ. SAV1 est un médiateur qui facilite la proximité de MST1/2 et LATS1/2, favorisant ainsi la phosphorylation. MOB1A et MOB1B sont des molécules adaptatrices supplémentaires qui favorisent l'activité de la kinase LATS1/2. La cascade active de l'hippo kinase entraîne une phosphorylation médiée par LATS1/2 à S127 et S381 pour YAP1 et S89 et S311 pour TAZ. Les formes phosphorylées de YAP1 et TAZ provoquent une rétention cytoplasmique via leur liaison à 14-3-3. En fin de compte, pYAP et pTAZ subissent une dégradation protéasomale via la fonction du complexe SCF. En revanche, les formes non phosphorylées de YAP1 et TAZ restent dans les noyaux et régulent leur fonction via les facteurs de transcription TEAD (29).

La voie de signalisation Hippo est une voie hautement conservée au cours de l'évolution et fonctionne principalement pour réguler la prolifération cellulaire, l'homéostasie tissulaire et la taille des organes (9).

La régulation de la voie Hippo n'est pas statique dans l'état ON ou OFF, mais plutôt dynamique. YAP/TAZ subit une phosphorylation et une déphosphorylation constantes et rapides (figure 12) . Des études récentes sur des cellules de drosophile et de mammifère utilisant le traçage de cellules vivantes ont montré que YAP effectue un trafic rapide entre le cytoplasme et le noyau.

L'altération de la signalisation Hippo influence la phosphorylation de YAP, d'où les taux relatifs de YAP dans le cytoplasme et dans le noyau (30).

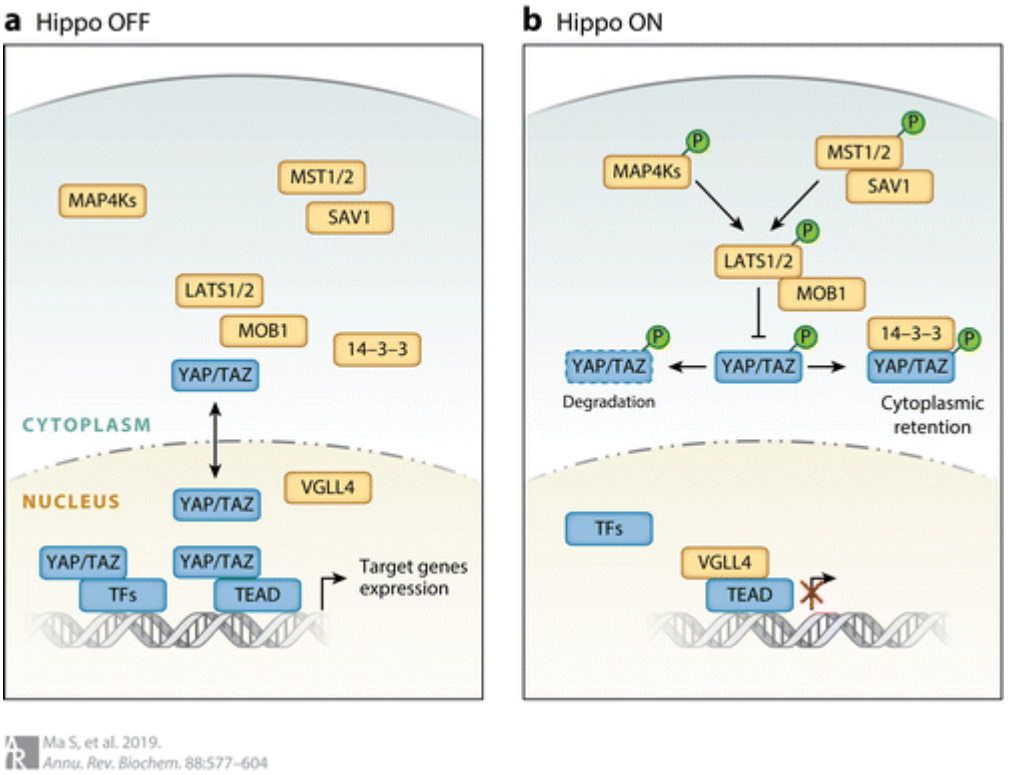


Figure 12 : composants centraux de la voie Hippo dans les cellules de mammifères. L'activité de la voie Hippo contrôle la localisation dynamique de YAP/TAZ entre le noyau et le cytoplasme. (a) Lorsque la voie Hippo est désactivée, YAP / TAZ sont déphosphorylés et s'accumulent dans le noyau, où ils se lient aux TEAD et éventuellement à d'autres facteurs de transcription (TF) pour induire la transcription génique. (b) Lorsque la voie Hippo est activée, les kinases LATS actives phosphorylent YAP / TAZ, entraînant leur liaison à 14–3–3 et leur rétention cytoplasmique ainsi que leur dégradation. Le VGLL4 entre en compétition avec YAP/TAZ pour se lier à TEAD et réprime l'expression du gène cible. D'après (30).

3. Propriétés biologiques de YAP/TAZ

YAP/TAZ renforcent plusieurs caractéristiques clées des cellules cancéreuses (Hanahan et Weinberg, 2011). l'activation soutenue de YAP/TAZ favorise une prolifération cellulaire aberrante (Camargo et al., 2007, Chan et al., 2008, Dong et al., 2007, Zhao et al., 2007). Les mécanismes de cette réponse n'ont été explorés que récemment dans les cellules cancéreuses, mettant en évidence un vaste programme transcriptionnel lié à la progression du cycle cellulaire en aval de YAP/TAZ (Kapoor et al., 2014, Zanconato et al., 2015). Ce programme comprend l'activation de facteurs impliqués dans la réplication, la synthèse et la réparation de l'ADN, le contrôle des cyclines pour l'entrée en phase S et l'achèvement de la mitose. Notamment, YAP/TAZ peut indirectement renforcer leur contrôle sur le cycle cellulaire en induisant d'autres facteurs de transcription proto-oncogènes, tels que c-Myc (Zanconato et al., 2015) (31).

Les cellules cancéreuses présentent généralement une résistance accrue à la mort cellulaire. YAP/TAZ régulent positivement la transcription des membres de la famille Bcl2 (Rosenbluh et al., 2012), supprimant ainsi la voie de l'apoptose induite par les mitochondries (31).

YAP1 stimule la prolifération des cellules souches cancéreuses et la transition épithéliale-mésenchymateuse (31).

YAP/TAZ influencent la composition chimique, physique et cellulaire du microenvironnement tumoral. Il existe des interactions, en constante évolution, entre les cellules cancéreuses et les cellules normales du stroma tumoral (Bissell et Hines, 2011). Dans les cellules épithéliales, YAP/TAZ favorisent la sécrétion d'AREG (un facteur de croissance de type EGF), de protéines de la matrice cellulaires telles que Cyr61 et CTGF (également connues pour induire l'angiogenèse) (Piccolo et al., 2014), et de chimioattractants pour les lymphocytes T suppresseurs de cellules myéloïdes favorisant l'installation de la tolérance immunitaire (Wang et al., 2016). Dans les fibroblastes associés au cancer (CAF), YAP/TAZ favorisent la production d'interleukines inflammatoires et la synthèse d'une matrice extracellulaire rigide qui, étant un inducteur principal en amont de YAP/TAZ (Halder et al., 2012), se nourrit à son tour des CAF et des cellules épithéliales pour auto-entretenir l'activité YAP/TAZ (Calvo et al., 2013) (31).

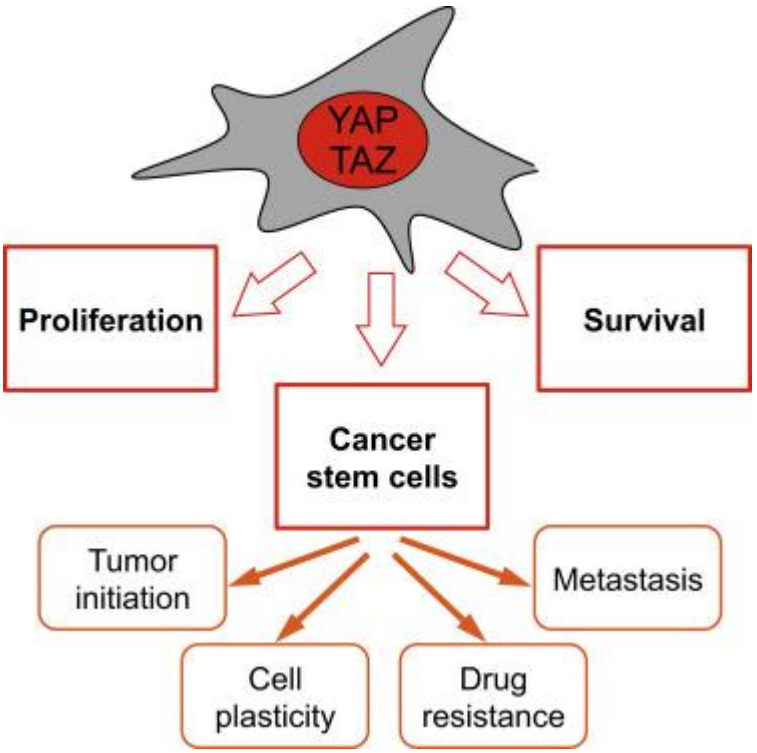


Figure 13 : fonctions de YAP/TAZ dans les cellules cancéreuses, d'après (31).

4. Signalisation, régulation de la voie hippo dans le cancer

La voie de signalisation Hippo est présente de manière ubiquitaire chez les mammifères et son activité est strictement régulée. L'activation de la voie hippo est déclenchée par l'inhibition du contact et le stress induit par le substrat qui se produisent lorsque la densité cellulaire atteint un certain seuil (9).

Les composants en amont et en aval interagissent de manière directe. Des études ultérieures ont depuis révélé la nature beaucoup plus complexe de la voie Hippo, et MST1/2 s'est avéré ne pas être le seul activateur de LATS1/2. De plus, les membres de la famille MAP4K MAP4K1/2/3 et MAP4K4/6/7 ont récemment été identifiés comme fonctionnant en parallèle avec MST1/2 pour activer LATS1/2 (9).

LATS1/2 phosphoryle les sites YAP S127 et TAZ S89, créant des sites de liaison pour les interactions avec la protéine 14-3-3, conduisant à l'ubiquitinylation et à la dégradation du cytoplasme YAP/TAZ, annulant ainsi leurs fonctions de co-activateurs de la transcription. De plus, GSK3 phosphoryle également TAZ et l'induit à l'ubiquitine ligase SCF (β-TrCP) E3, conduisant à l'ubiquitinylation et à la dégradation de TAZ. En revanche, lorsque YAP et TAZ ne sont pas phosphorylées, elles s'accumulent dans le noyau en agissant comme des gènes co-répresseurs transcriptionnels qui favorisent l'expression de gènes liés à la prolifération cellulaire. Par conséquent, il a été démontré que la voie Hippo régule négativement l'activité de YAP/TAZ en déclenchant une cascade de phosphorylation. La voie Hippo fonctionne finalement pour réguler la croissance cellulaire et inhiber la tumorigenèse (9).

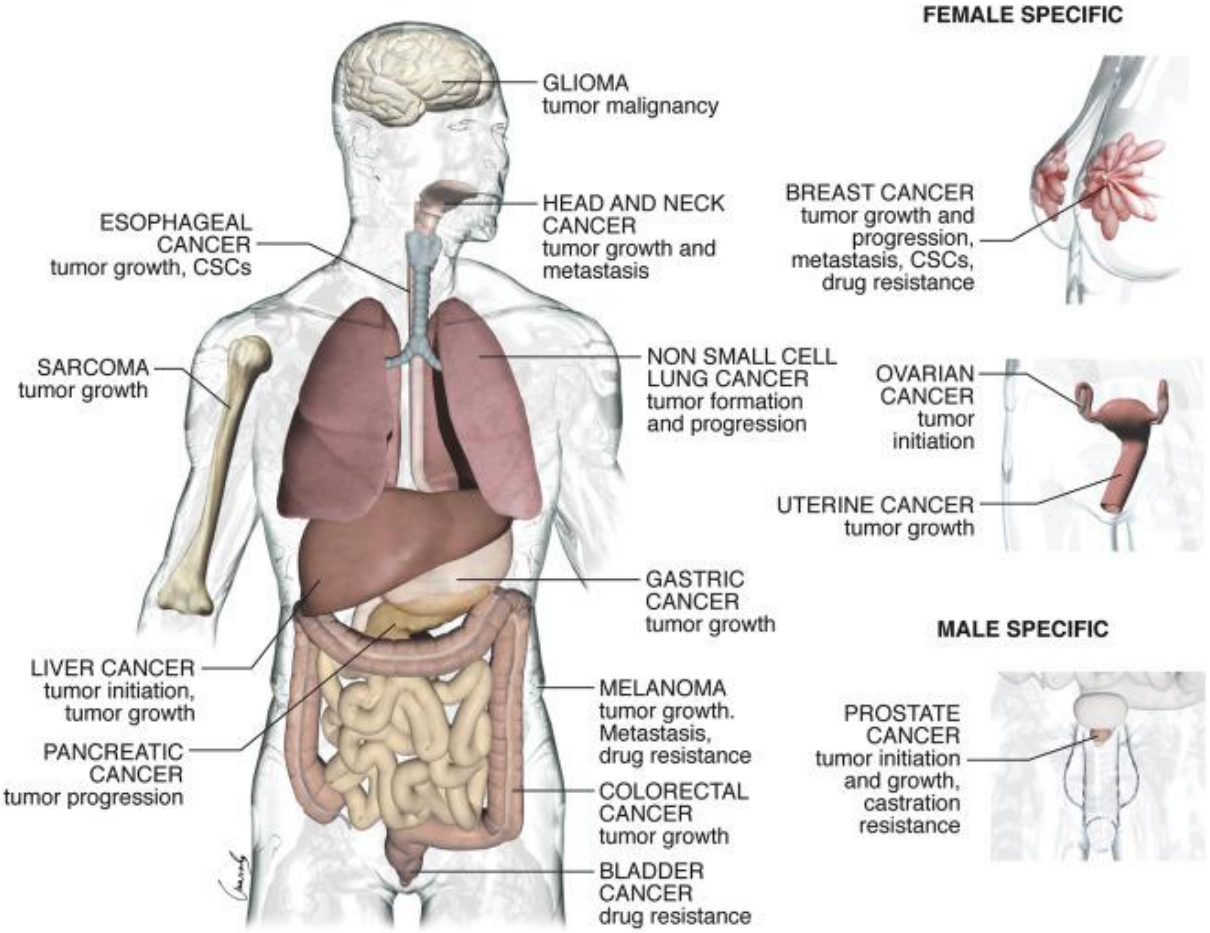


Figure 14 : la dérégulation de la voie hippo est courante dans de nombreux cancers d'après (31)

Le complexe facteur de transcription YAP/TAZ-TEAD représente une cible commune de la transformation oncogénique. L'amplification du locus du gène *YAP* a été signalée à des fréquences variables dans un large éventail de cancer tels que les médulloblastomes, les carcinomes épidermoïdes, les carcinomes du poumon, du pancréas, de l'œsophage, du foie et de la glande mammaire (Fernandez-L et al., 2009,Dai et al., 2003, Snijders et al., 2005, Bashyam et al., 2005, Imoto et al., 2001, Zender et al., 2006,Overholtzer et al., 2006) (Figure 14).

Une étude sur les types de cancers solides les plus courants a révélé une surexpression répandue et fréquente de YAP dans les carcinomes pulmonaires, ovariens, pancréatiques, colorectaux, hépatocellulaires et prostatiques (Dong et al., 2007,Steinhardt et al., 2008), et YAP s'est avéré être un marqueur pronostique indépendant pour la survie sans maladie et la survie globale des patients atteints de CHC (Xu et al., 2009). Une étude sur l'expression de la protéine TAZ dans plusieurs types de tumeurs n'est pas disponible à l'heure actuelle. Dans une étude portant sur les tumeurs mammaires, la surexpression de TAZ a été détectée dans 21 % des cancers du sein primitifs (Chan et al., 2008) (32).

5. Diaphonie avec d'autres voies de signalisation

La voie Wnt classique, ainsi que les mutations et la stabilité accrue de la beta-caténine jouent un rôle important dans la formation de certains cancers. La voie de signalisation Hippo peut s'opposer à la voie de signalisation WnT, conduisant à la combinaison directe des co-activateurs transcriptionnels YAP/TAZ et de la beta-caténine, permettant ainsi à la voie Hippo de jouer un rôle important dans la régulation de la localisation nucléaire de la beta caténine.

mTOR régule la prolifération, la survie, l'invasion et la métastase des cellules tumorales en activant la kinase ribosomique. La voie PI3K-Akt-mTOR jouerait un rôle clé dans la résistance à la chimiothérapie. *PTEN* régule négativement la voie PI3K-Akt, qui permet la localisation nucléaire de YAP. La surexpression de YAP peut également augmenter la phosphorylation d'Akt. La surexpression de YAP conduit à la régulation à la hausse des microARN (en particulier la famille miR-29a/b/c), qui à son tour cible *PTEN*. YAP-TEAD est capable de se lier au promoteur de miR-29c pour favoriser la transcription. Étant donné que miR-29a et miR-29b peuvent être reconnus et liés à TEAD, YAP semble réguler *PTEN* en régulant directement la famille miR-29. Par conséquent, *PTEN* est un médiateur clé de YAP dans la régulation de mTOR (33).

PD-L1, une molécule de point de contrôle immunitaire, a été récemment identifiée comme une cible transcriptionnelle de la voie de signalisation Hippo. Des études ont montré que TAZ régule positivement l'expression de PD-L1 en se liant au promoteur PD-L1 via la famille de facteurs de transcription TEAD, perturbant ainsi la fonction des cellules lymphocytaires T (9).

III - Rôle de la voie hippo dans le cancer du sein

1. YAP TAZ et autres composants

La surexpression de YAP favorise plusieurs processus de tumorigenèse et de métastase dans les cellules du cancer du sein, y compris la prolifération, la transformation, la migration et l'invasion cellulaire. Des études antérieures ont rapporté que la surexpression de YAP dans les cellules épithéliales mammaires humaines non transformées, induit une transition épithéliale-mésenchymateuse, une suppression de l'apoptose, une prolifération indépendante du facteur de croissance et une croissance indépendante de l'ancrage sur gélose molle (34).

En outre, les rôles suppresseurs de tumeur divergents de YAP ont également été reconnus, ce qui pourrait s'expliquer par de nombreuses raisons. YAP existe sous deux isoformes principales (YAP1 et YAP2) qui peuvent avoir leurs propres cibles transcriptionnelles. Par conséquent, les niveaux relatifs de ces deux isoformes pourraient décider si YAP agit comme un suppresseur de tumeur ou non dans les cellules du cancer du sein. De plus, YAP1 peut se déplacer vers le noyau et s'associer au suppresseur de tumeur *p73*, entraînant l'apoptose par activation transcriptionnelle du gène pro-apoptotique *puma*. Une autre explication du rôle suppresseur de tumeur de YAP est que l'activité TAZ/YAP dérégulée dans les cellules du cancer du sein induit une réponse de surveillance immunitaire anti-tumorigène, conduisant finalement à l'éradication des cellules tumorales, de sorte que les cellules du cancer du sein doivent restreindre l'activité du YAP en conséquence (34).

La surexpression de TAZ dans les cellules mammaires non tumorigènes MCF10A à faible expression conduit à l'acquisition d'une morphologie fibroblastique et augmente le pouvoir migratoire et invasif. Des études récentes montrent que TAZ est nécessaire pour maintenir l'auto-renouvellement, les capacités d'initiation tumorale et l'activité métastatique dans les cellules souches du cancer du sein (34).

YAP/TAZ agissent en tant qu'acteurs centraux de plusieurs caractéristiques associées au cancer. Toutes ces fonctions reposent sur leur interaction avec les facteurs de transcription TEAD. Les complexes TAZ/YAP-TEAD favorisent directement l'expression de nombreux facteurs oncogènes qui contribuent à la progression de du cancer, tels que l'inducteur angiogénique riche en cystéine 61 (CYR61) et le facteur de croissance du tissu conjonctif (CTGF) (34).

2. Rôle clinique, pronostique

Dans les données cliniques de 99 patients avec un cancer du sein , des niveaux d'expression élevés de TAZ ont été associés à une survie sans maladie plus courte en analyse multivariée, indiquant ainsi que TAZ peut représenter un nouveau facteur pronostique négatif indépendant (8).

Des études indiquent une plus grande expression de l'ARNm YAP1 dans les tissus de cancer du sein, que dans les tissus mammaires normaux, et une corrélation négative avec la survie des patients (27).

La dérégulation de la voie de signalisation Hippo semblent également conférer une chimiorésistance accrue aux cellules cancéreuses. Les cellules souches du cancer du sein cultivées in vitro présentent des propriétés chimiorésistantes accrues et un potentiel migratoire accru par rapport aux cellules différenciées du cancer du sein non tumorales (9).

3. Rôle dans les différents sous types de cancer du sein

Des niveaux élevés de facteurs de cotranscription YAP1 et TAZ sont rapportés dans le cancer du sein luminal A et luminal B, Her2+ et triple négatif. YAP1 a des rôles différents parmi les différents sous-types de cancer du sein (29).

Chez les patients positifs pour le récepteur des œstrogènes (RE+), YAP1 est négativement corrélé avec la prolifération et le grade histologique. D'autre part, chez les patients récepteurs aux œstrogènes négatifs (RE–), l'expression de YAP1 était corrélée à la prolifération mesurée par Ki67 (29).

Dans le cancer du sein triple négatif, l'oncogène *MYC* est surexprimé. Dans les cellules du cancer du sein , *MYC* a réprimé YAP1 et TAZ. D'autres expériences ont montré que la dérégulation de *MYC* supprimait l'activité du facteur de transcription TEAD (29).

Par ailleurs, YAP1 serait aussi exprimé de manière abondante dans les cancers du sein triple négatif. YAP1 et son régulateur en amont Aurora kinase A se localisent principalement dans le noyau des cellules du cancer du sein triple négatif (29). YAP serait indispensable pour la croissance des cellules du cancer du sein triple négatif en culture (35).

4. Rôle des composants de la voie Hippo dans les métastases du cancer du sein

Une voie Hippo dysfonctionnelle favorise les métastases du cancer du sein par le biais de plusieurs mécanismes (9).

L'expression de YAP peut varier selon le site métastatique. Les niveaux d'expression de YAP nucléaire et de phospho-YAP étaient plus élevés dans les tissus métastatiques osseux et cérébrales, tandis que les niveaux d'expression de YAP cytoplasmique et de phospho-YAP étaient plus élevés dans les métastases hépatiques et pulmonaires. Ces différences spécifiques au site métastatique dans l'expression de YAP ont plusieurs explications potentielles. En effet, le cancer du sein métastatique est connu pour présenter des caractéristiques immunohistochimiques distinctes selon le site métastatique. Un autre mécanisme possible est les différences de microenvironnement au niveau du site métastatique (7).

Bartucci et al ont constaté que l'expression nucléaire de TAZ dans les métastases osseuses était significativement élevée, par rapport à son expression cytoplasmique dans les tumeurs primaires. De plus, le microenvironnement hypoxique présent dans la moelle osseuse est très propice à l'infiltration tumorale. Les états hypoxiques sont caractérisés par la présence de facteur inductible par l'hypoxie (HIF)-1α. Bendinelli et al ont rapporté que HIF-1α interagit avec TAZ pour stimuler les métastases osseuses du cancer du sein dans un microenvironnement hypoxique (9).

OBJECTIFS

Ainsi, de nombreux biomarqueurs diagnostiques et pronostiques intéressant différentes voies de signalisation, comme précisé dans le chapitre précédent, ont été mis en évidence. Nous avons retenu un panel de 2 biomarqueurs (YAP et TAZ) pertinents dans la littérature, dans le cancer du sein métastatique, ayant un rôle pronostique et thérapeutique, avec une analyse accessible par immunohistochimie pour étudier la voie Hippo. Malgré l'avènement de nouvelles thérapeutiques, les métastases cérébrales dans le cancer du sein représentent toujours un tournant très péjoratif en termes de survie dans la maladie. Nous cherchons à actualiser les connaissances sur les patientes avec cancer du sein métastatiques cérébrales pour mieux les identifier, pour prédire leur pronostic et pour rechercher de nouvelles cibles thérapeutiques.

L'objectif principal est d'étudier les associations entre l' expression des anticorps YAP1 et de TAZ et les caractéristiques histologiques, cliniques et les taux de survie , dans le tissu mammaire primitif, chez des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique cérébrale .

Par ailleurs, nous avons également étudié ces associations dans le tissu mammaire primitif des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique (sans métastases cérébrales).

L'expression de YAP1 et de TAZ a également été évaluée dans le tissu cérébral.

MÉTHODE

I- Sélection des patients

Il s'agit d'une étude rétrospective et monocentrique.Le recueil des données a été effectué dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Poitiers, à partir des logiciels de gestion du laboratoire Apix® et Da Vinci®.

1. Critères d'inclusion

1.1. Cancers du sein avec métastases cérébrales

Les dossiers de cancer du sein avec métastases cérébrales ou méningite carcinomateuse diagnostiquées entre le 01 janvier 2009 et le 31/12/2019 au CHU de Poitiers ont été retenus pour cette étude. Cependant le statut vivant ou mort a été effectué jusqu'à la date de point (11 avril 2022).

1.2. Cancer du sein sans métastases cérébrales

Les dossiers anatomopathologiques de cancer du sein, avec métastases (sans métastases cérébrales), biopsiées ou opérées entre le 01 janvier 2009 et le 31/12/2019 dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Poitiers ont été retenus pour cette étude. Cependant le statut vivant ou mort a été effectué jusqu'à la date de point (11 avril 2022).

2. Critères d'exclusion

Les cas où le bloc de tissu mammaire n'était pas disponible sauf si le tissu cérébral était présent.

- Les cas où les lames d'HES n'étaient pas disponibles.
- Les cas où le bloc était épuisé et ne comportait plus de tissu pathologique.

II- Données recueillies

Pour chaque dossier, nous avons recueilli les données cliniques à l'aide du logiciel Télémaque® (dossier patient informatisé du CHU de Poitiers).

1. Données recueillies pour les cancers du sein avec métastases cérébrales

Age au diagnostic du cancer du sein
Genre (homme ou femme)
Caractéristiques et traitement d'une tumeur primitive du sein

- Histologie tumeur du sein
- Grade SBR
- Présence d'emboles
- Stade TNM
- Classification moléculaire

- Chirurgie mammaire, Radiothérapie locale, Chimiothérapie adjuvante/néoadjuvante, hormonothérapie, thérapie ciblée anti-Her2 adjuvante.

Traitements systémiques au stade métastatique (avant métastases cérébrales)

Réalisation d'une biopsie au cours du suivi avec localisation et classification moléculaire de la biopsie.

Les caractéristiques et traitements de métastases cérébrales

- Age moyen au diagnostic de l'atteinte cérébral
- Délai de survenue de l'atteinte cérébrale
- Nombre de métastases
- Méningite carcinomateuse
- Taille moyenne de la plus grande lésion si mesurable
- Contrôle de la maladie extra-cérébrale au diagnostic
- Imagerie au diagnostic
- Symptomatologie des métastases cérébrales
- PS au diagnostic
- Corticothérapie dans les 3 mois, traitement anti-épileptique dans les 3 mois, chirurgie cérébrale, exérèse complète.
- Anatomopathologie /comparaison avec la tumeur initiale
  Radiothérapie cérébrale au cours du suivi, chimiothérapie / hormonothérapie au diagnostic des métastases cérébrales, utilisation d'un thérapie ciblée anti-Her2 au diagnostic
- Délai moyen de la rechute cérébrale si présente
- Nombre moyen de lignes de traitement systémique reçu aux dernières nouvelles

Statut aux dernières nouvelles

2. Données recueillies pour les cancer du sein métastatiques, sans métastases cérébrales

Age au diagnostic
Genre (homme ou femme)
Histologie de la tumeur du sein

- Grade
- Emboles
- TNM
- Classification moléculaire

Métastases synchrones (localisation)
Métastases métachrones (localisation)
Le statut aux dernières nouvelles

III- Méthode d'évaluation histopathologique et immunologique

1.Tissue MicroArrays "TMA"

La technique du TMA consiste à l'inclusion dans un bloc « receveur» de paraffine de plusieurs carottes biopsiques prélevées à partir de différents blocs « donneurs » permettant d'analyser sur une seule lame de nombreux échantillons. L'intérêt du TMA dans cette étude était de standardiser la méthode immunohistochimique afin d'améliorer la comparabilité tout en assurant une consommation minimale de tissus et de réactifs.

La préparation des blocs donneurs a consisté à sélectionner, sur les lames colorées par l'H.E.S, des zones d'intérêts qui ont été ensuite repérées sur le bloc correspondant. La préparation a été effectuée par une pathologiste junior (Fatoumata Barry).

La construction du TMA a été effectuée à l'aide d'un tissu Arrayer MiniCore® 3e génération. Il simplifie largement les opérations pour l'utilisateur, et élimine les facteurs d'usure et de désalignement classiquement observées dans d'autres approches techniques. Elle facilite l'automatisation et la précision pour la construction de tissue arrays de haute densité et sur des carottes de petit diamètre. Le carrousel du MiniCore® peut contenir jusqu'à 7 blocs de donneurs et un bloc receveur. Les aiguilles donneur et receveur sont combinées en une seule aiguille coaxiale . La calibration à l'aide des cales de profondeur, (La cale receveur de 3 millimètres est à utiliser avec la cale donneur de 2 millimètres) assure que les échantillons donneurs, auront la même longueur et par conséquent un maximum de lames produites avec tous les spots présents.

EasyTMACreator est un logiciel conçu pour faciliter et informatiser la conception des tissue Arrays depuis la définition des grilles, taille de spot (1000 µm de diamètre) et espacement (1700 µm), jusqu'au calcul automatique des positions micrométrées des spots. MiniCoreControlStation exploite le fichier généré par EasyTMACreator pour positionner en X et en Y, automatiquement l'aiguille au-dessus du bloc. Ainsi selon une matrice préétablie sur EasyTMACreator, il a donc été réalisé dans un bloc de paraffine vierge receveur, à un point précis déterminé selon l'abscisse et l'ordonnée, le forage d'une carotte de paraffine, qui a ensuite été retirée, puis il a été prélevé dans le bloc donneur une carotte biopsique en regard d'une des zones d'intérêt sélectionnées. Cette carotte a ensuite été insérée dans le puits libre du bloc receveur préalablement réalisé.

Onze blocs de TMA ont été constitués selon ce processus:

- TMA 1 (2 blocs) : tissu cérébral métastatique avec le tissu mammaire primitif correspondant (si disponible).
- TMA 2 (5 blocs) : tissu mammaire (cancer du sein avec métastases cérébrales).
- TMA 3 (4 blocs) : tissu mammaire (cancer du sein sans métastases cérébrales).
- Pour chaque tumeur, les échantillons tissulaires intéressaient 3 carottes de tissu tumoral .

Le bloc receveur a ensuite été coupé sur un microtome standard. Un contrôle morphologique était réalisé à l'aide d'une coloration H.E.S. (figure 15, 16).

2. Etude immunohistochimique

2.1 Technique

Des coupes de 4 µm ont été réalisées au microtome puis étalées à l'eau distillée sur des lames Klinipath® (référence : KP PLUS). La technique immunohistochimique a été automatisée pour l'anticorps anti-YAP1(automate BenchMark Ultra®, Ventana Medical Systems, Tucson, AZ, USA) permettant une meilleure reproductibilité. L'anticorps anti-YAP1 utilisé dans cette étude reconnaît les niveaux endogéniques de la protéine YAP totale (nucléaire et cytoplasmique). Les caractéristiques techniques pour l'anticorps anti-YAP1 sont résumées dans le **tableau 1.**

Anticorps	Espèce hôte	Fournisseur	Référence	Clone	Démasquage antigénique	Dilution	Temps d'incubation
YAP 1	Lapin	Cell Signaling Technology	14074	D8H1X	Citrate	1/400	Toute la nuit

Tableau 1 : anticorps anti-YAP et conditions de pré-traitement.

Pour l'anticorps anti-TAZ, la technique immunohistochimique a été manuelle. Les lames de TMA ont été d'abord déparaffinées par immersion dans une solution de toluène , puis réhydratées progressivement dans des bains successifs d'alcool de concentration décroissante (100 %, 95 %, 90 %, 70%, 50 %, 30%) puis rincées dans de l'eau. Le démasquage des sites antigéniques a été réalisé par chauffage à 95° pendant 40 min dans un tampon de citrate de sodium à ph 6. Les peroxydases endogènes ont été bloquées avec une solution H2O2 à 0,3 % pendant 30 min. Le blocage des sites antigéniques non-spécifiques a été réalisé avec un tampon PBS 1X contenant 0,3 % de Triton X 100 et 3 % de BSA. Les anticorps primaires ont été incubés pendant une nuit à 4°C dilués dans PBS 1X avec 1 % de BSA. Après 3 rinçages de 10 min avec du tampon PBS 1 X, l'anticorps secondaire biotinylé a été incubé sur les lames pendant 2h à température ambiante. Une amplification du signal a été effectuée à l'aide du kit Vectastain ABC HRP suivie de la révélation avec de la DAB(Vector Laboratories, Burlingame EU). Après, une contre-coloration des noyaux avec de l'hématoxyline, les lames ont finalement été déshydratées et montées avec un milieu de montage permanent DEPEX (Sigma-Aldrich).

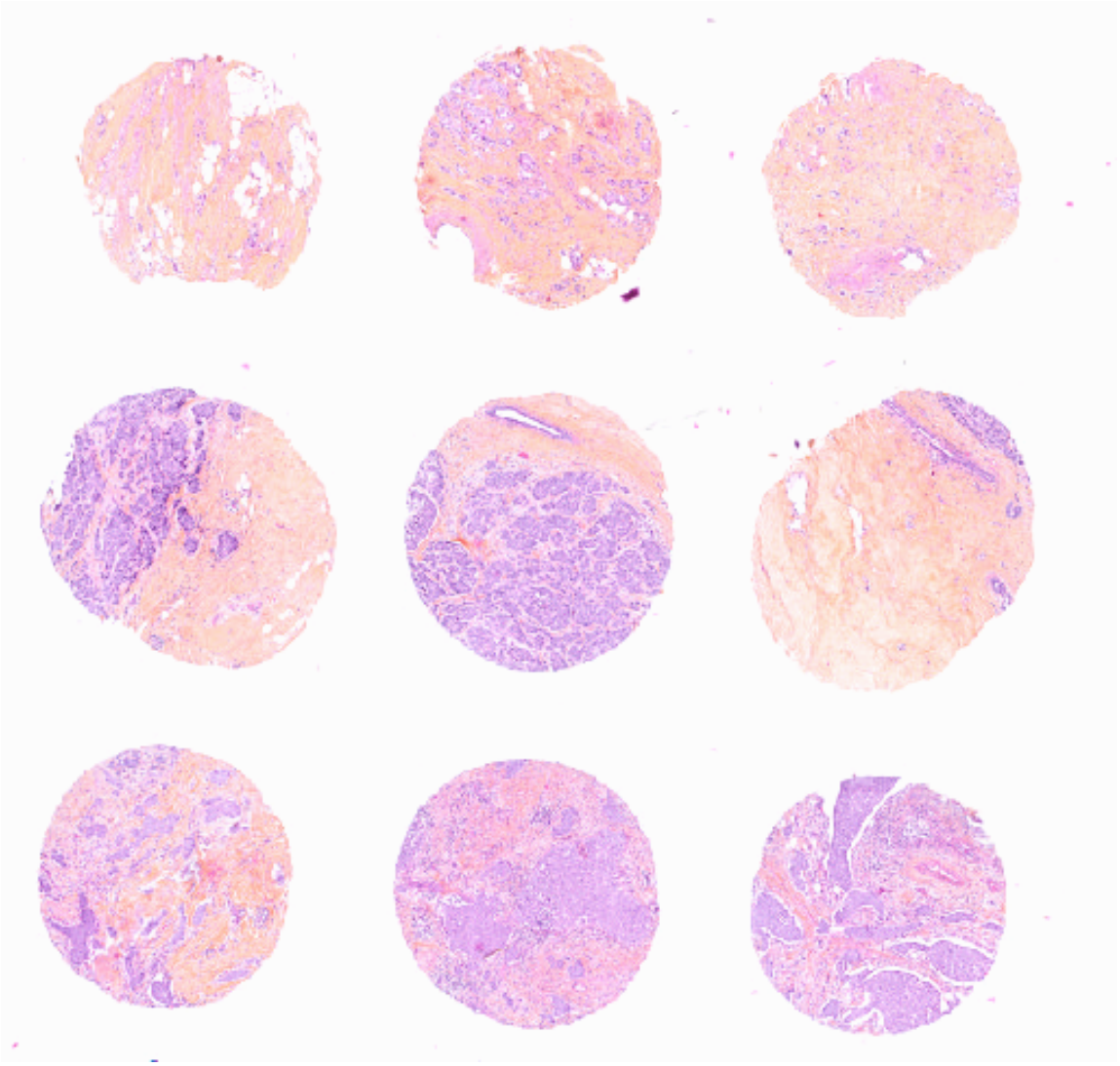


Figure 15 : TMA de tissu mammaire avec carcinomes canalaires infiltrants, chez 3 trois patientes (HES X 100).

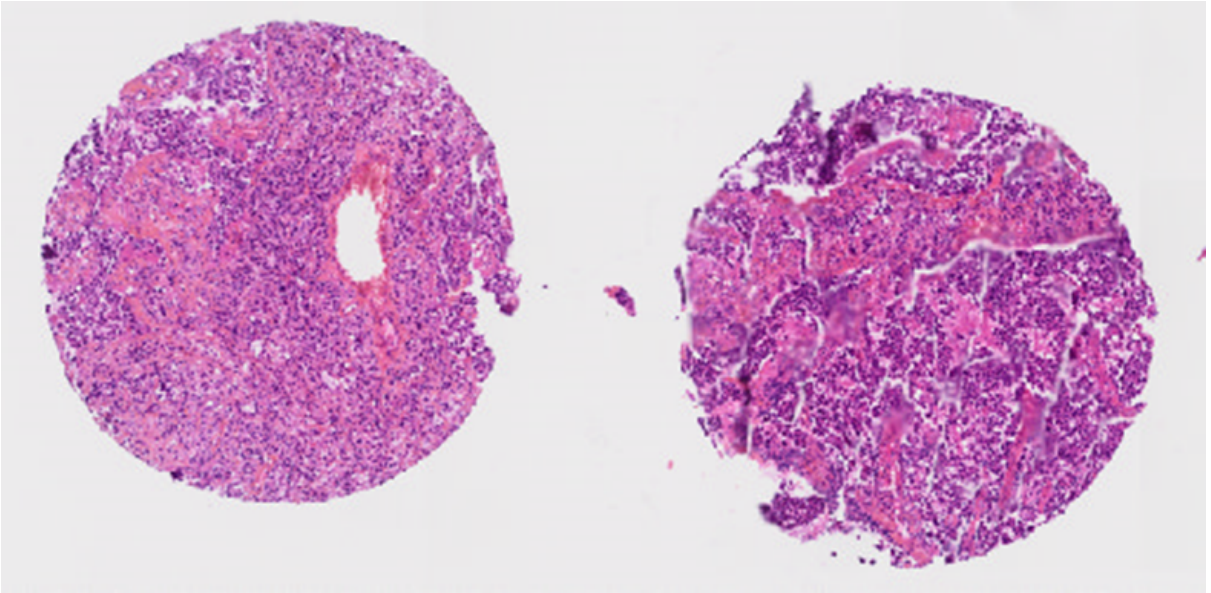


Figure 16 : TMA de tissu cérébral chez deux patientes (HES x 200).

2.2 Interprétation

Pour chaque marqueur, l'expression d'un témoin interne était vérifiée sur le tissu non tumoral. Pour les anticorps qui n'avaient pas de témoin interne, un témoin externe a été ajouté sur chaque lame de TMA. Dans le cadre de cette étude, seuls les spots ayant intéressé le tissu tumoral ont été analysés.

Nous avons relevé l'intensité de marquage et/ ou le pourcentage de cellules marquées et la localisation nucléaire ou cytoplasmique pour chaque patiente. Nous avons donc évalué l'expression de YAP et TAZ en se basant sur la localisation nucléaire vs cytoplasmique/ non exprimé, pour classer les cellules comme expresseurs YAP/TAZ négatifs ou positifs. Nous avons aussi utilisé un score combiné (intensité x pourcentage). Il a été calculé pour chaque échantillon de tissu en multipliant le score d'intensité de coloration (0, négatif ; 1, faible ; 2, modéré ; 3, forte coloration) par le pourcentage de cellules marquées positivement (0, 0 ; 1, < 10% ; 2, de 10 à 50 % et 3 ; > 50%). Ensuite, chaque cas a été noté comme positif ou négatif en utilisant la médiane, comme valeur seuil (figure 17,18).

Résultat non interprétable : cette catégorie concernait les cas où l'un des immunomarquages ci-dessus était non interprétable, soit par absence de tissu tumoral sur le spot de TMA, soit par décollement du spot.

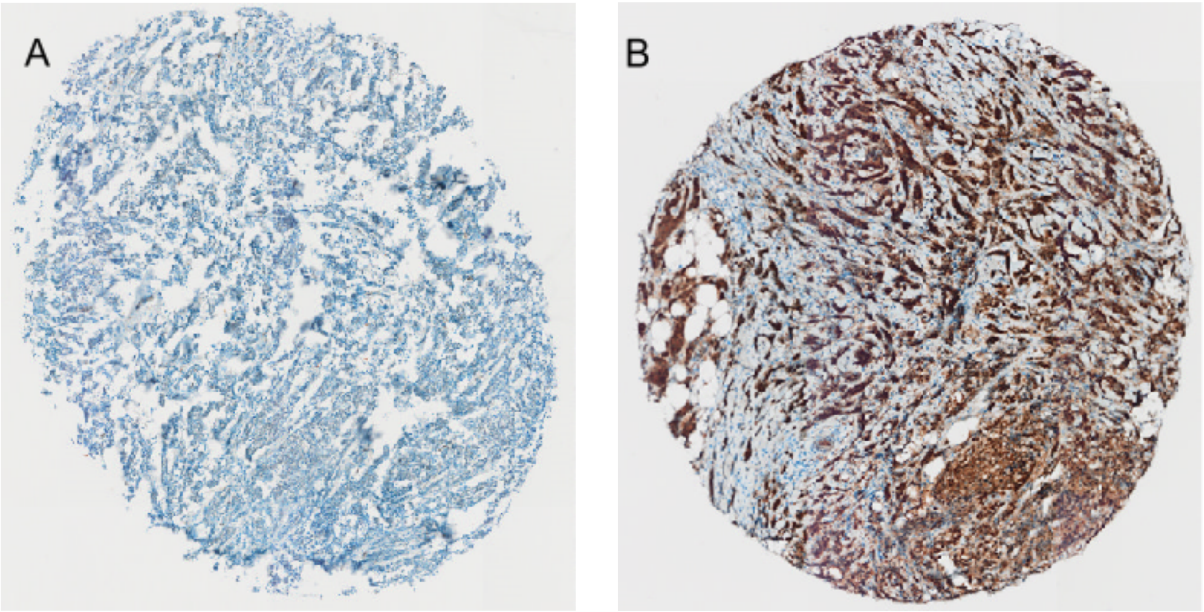


Figure 17 : expression de YAP dans le tissu mammaire: A. Absence d'expression. B. Expression nucléaire ; 3+ ; > à 50 %. (X 200).

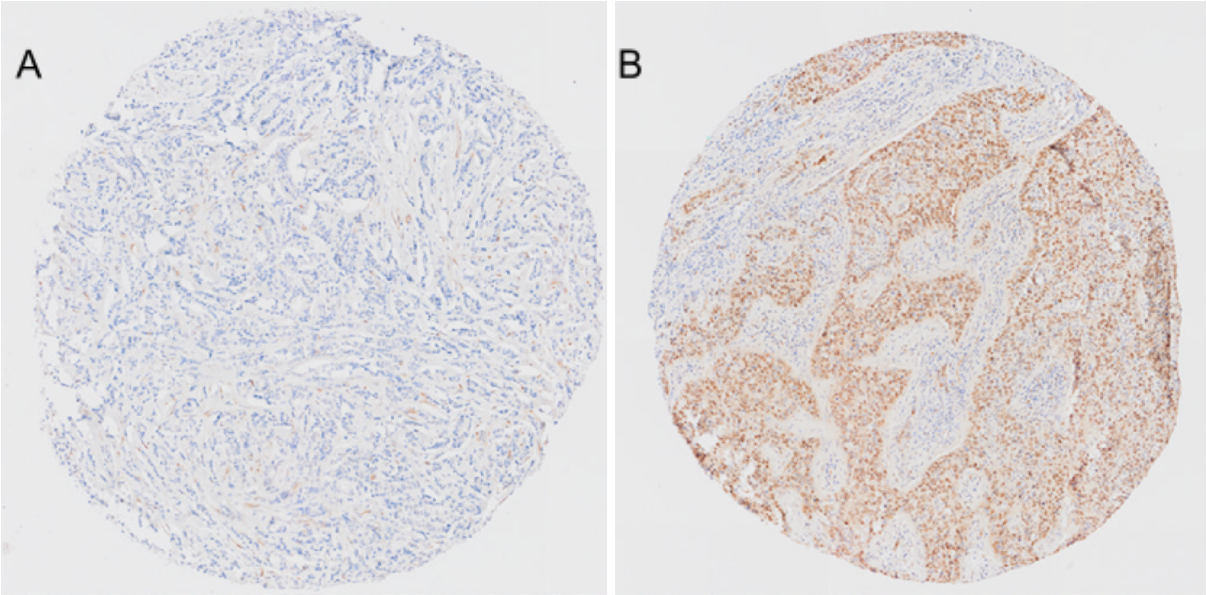


Figure 18 : expression de TAZ dans le tissu mammaire: A. Absence d'expression de TAZ. B. Expression nucléaire; 3+; > à 50 %. (X 200).

ANALYSE STATISTIQUES

Des analyses descriptives ont été conduites sur les variables d'intérêt dans notre population d'étude (n = 175), puis dans le groupe de patientes avec métastases cérébrales (n=99) et dans le groupe de patientes sans métastases cérébrales (n=76). La moyenne et l'écart-type ont été calculés pour les variables quantitatives. Et afin de décrire les variables qualitatives, nous avons calculé des pourcentages.

Des tests de normalité de Shapiro-Wilk ont été réalisés sur les données quantitatives. Tous les tests de normalité étaient significatifs, par conséquent, des tests non paramétriques ont été mis en œuvre. Afin de comparer les moyennes entre différents types de groupes, nous avons effectué des tests de Kruskal Wallis et de Mann-Whitney. Lorsque les données étaient appariées, des tests de Wilcoxon ont été mis en œuvre.

Afin de vérifier la relation linéaire entre les données quantitatives, des analyses corrélationnelles ont été réalisées. Ainsi des coefficients de corrélation de Spearman ont été calculés.

Enfin, afin de tester la relation entre deux variables qualitatives, des tests du Chi2 ont été effectués.

La survie a été estimée par la méthode de Kaplan-Meier et comparée avec le test de log-rank.

Les statistiques ont été réalisées à l'aide des logiciels GraphPad Prism 6 (GraphPad Software, La Jolla, EU) et SPSS (IBM, Armonk EU). Les résultats avec une p-valeur inférieures ou égales à 0,05 ont été considérés comme statistiquement significatifs.

RÉSULTATS

I- Caractéristiques des populations

L'évolution des effectifs est décrite dans le diagramme de flux (figure 19 et figure 20)

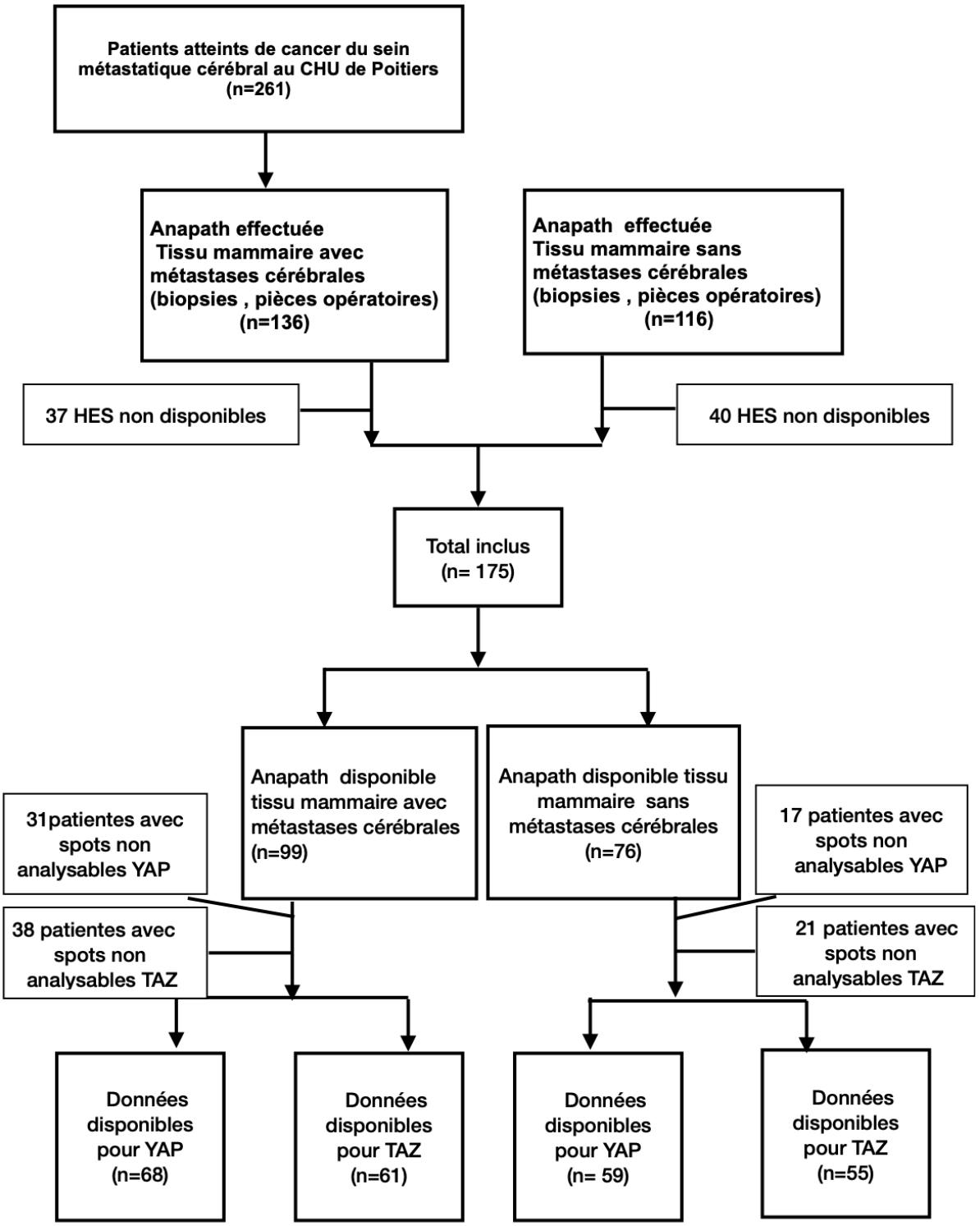


Figure 19 : diagramme de flux (tissu mammaire primitif).

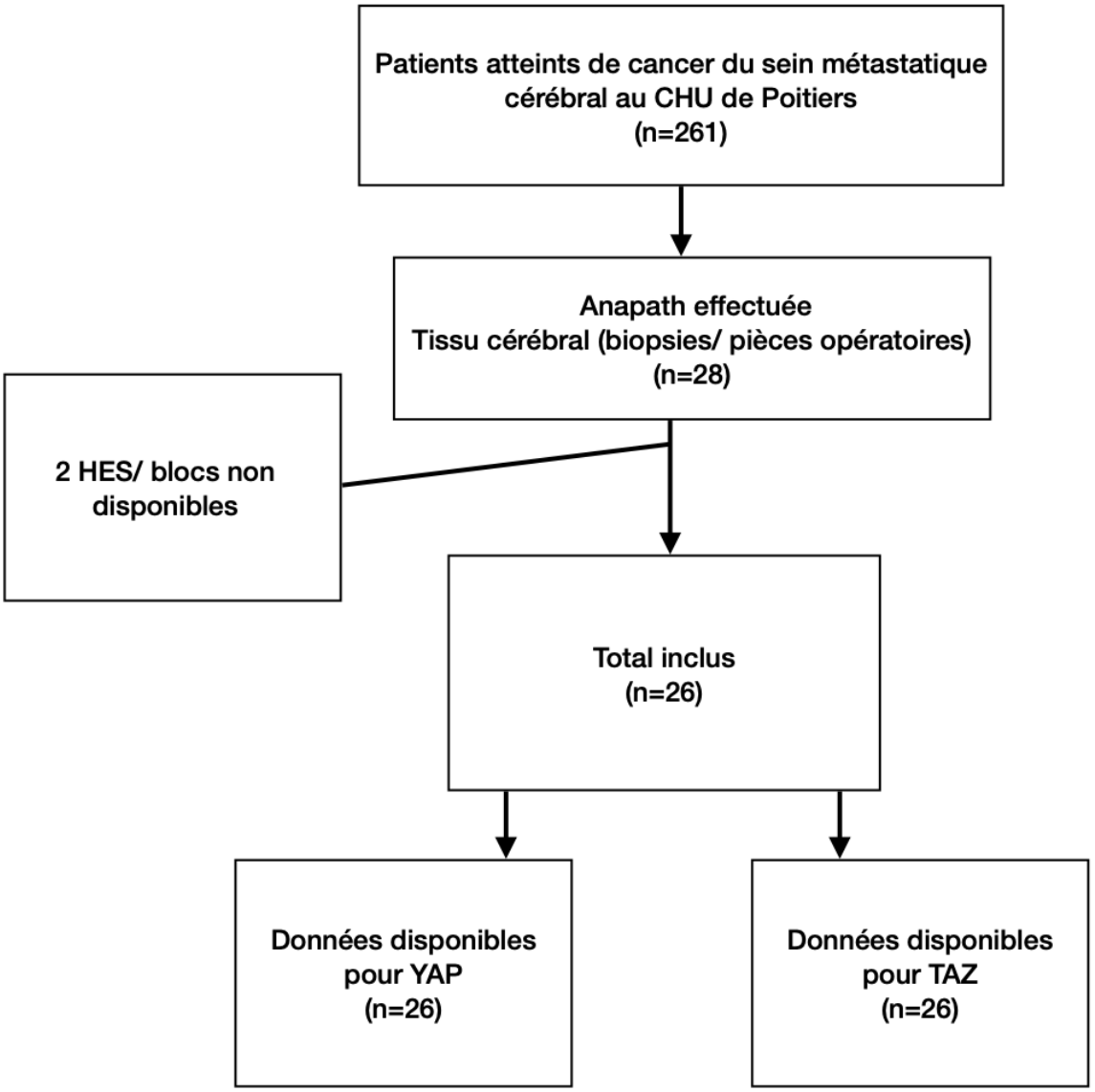


Figure 20 : diagramme de flux (tissu cérébral métastatique).

1. Caractéristique tumeur primitive du sein

Parmi les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique cérébral au CHU de Poitiers, 136 patientes ont eu une anapath du primitif mammaire. Les lames d'HES étaient disponibles pour 99 patientes.

Parmi les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique (sans métastase cérébral) au CHU de Poitiers, 117 patientes ont eu une anapath du primitif mammaire. Les lames d'HES étaient disponibles pour 76 patientes.

Ainsi la cohorte de notre étude était constituée d'une population de 175 patientes.

Les 99 patientes atteintes d'un cancer du sein avec métastases cérébrales avaient un âge moyen au diagnostic de 52,6 ans (intervalle : 29,5-88,2 ans). Les 76 patientes sans métastases cérébrales avaient un âge moyen de 58,9 ans (intervalle 30 à 98,34 ans).

Les patientes avec métastases cérébrales avaient 86,9 % de carcinomes infiltrants de type non spécifique, 5,1 % de carcinomes lobulaires infiltrant. Les patientes sans métastases cérébrales avaient 71,1 % de carcinomes infiltrants de type non spécifique, et 15,8 % de carcinomes lobulaires infiltrants. Pour le type histologique, il n'existait pas de différence significative entre les deux groupes (tableau).

Il n'y avait pas de différence significative au niveau du grade entre les deux groupes . Au niveau du stade TNM au diagnostic, il y avait 37,4 % de stade IV, chez les patientes avec métastases cérébrales tandis que les patientes sans métastases cérébrales avaient 52,6 % de stade IV.

Chez les patientes atteintes d'un cancer du sein avec métastases cérébrales, 21,3% étaient de type basal like/ triple négatif , 16,1 % étaient de type HER2+. Il y avait une majorité (47,5%) de type RH+/ HER2- . Les patientes sans métastases cérébrales avaient 7,9% de basal like/triple négatif, 3,9 % étaient de type HER2+, et une majorité (79 %) de type RH+/ HER2-.

2. Caractéristiques métastases

Au diagnostic de l'atteinte métastatique, les patientes atteintes d'un cancer du sein avec métastases cérébrales avaient un âge moyen de 65,3 ans avec des valeurs extrêmes allant de 46,4-77,2 ans. Les patientes sans métastases cérébrales avaient un âge moyen de 61, 3 ans avec des valeurs extrêmes allant de 30-98,3 ans.

Le délai de survenue de l'atteinte métastatique, après le diagnostic,était de 4,3 ans pour les patientes avec métastases cérébrales (délai de survenue de la métastase cérébrale) et de 2,5 ans pour les patientes sans métastases cérébrales.

Le 11 avril 2022, 86,9 % des patientes avec métastases cérébrales étaient décédées tandis que 48,7% patientes sans métastases cérébrales étaient décédées.

Caractéristiques	Patientes avec métastases cérébrales (N=99)	Patientes sans métastases cérébrales (N= 76)	P
Données démographiques			
Age au diagnostic de cancer du sein (années)			**0,0324**
Moyen	52,6	58,9	
Extrêmes	29,5-88,2	30,0-98,3	
Genre			
Femme	99 (100)	76 (100)	
Homme			
Caractéristiques histomoléculaires de la tumeur primitive du sein			
Histologie tumeur du sein –n (%)			**0,0299**
Carcinome infiltrant type NST	86 (86,9)	54 (71,1)	
Carcinome lobulaire infiltrant	5 (5,1)	12 (15,8)	
Carcinome mixte	6 (6,0)	6 (7,9)	
Autre	2 (3,0)	4 (5,2)	
Grade SBR (%) –n (%)			NS
I	6 (6,1)	8 (10,5)	
II	42 (42,4)	42 (55,3)	
III	45 (45,5)	23 (30,3)	
Inconnu	6 (6,0)	3 (3,9)	
Stade TNM (%) –n (%)			**0,0402**
I	13 (13,1)	3 (3,9)	
II	20 (20,2)	16 (21,1)	
III	26 (26,3)	13 (17,1)	
IV	37 (37,4)	40 (52,6)	
Inconnu	3 (3,0)	4 (5,3)	
Classification -n (%)			**<0,001**
Basal like / Triple négatif	21 (21,3)	6 (7,9)	
RH+ et HER2-	47 (47,5)	60 (79)	
RH+ et HER2+	13 (13,1)	7 (9,2)	
RH- et HER2-	5 (16,1)	3 (3,9)	
IHC incomplet/Inconnu	3 (3,0)	0 (0)	
Caractéristiques métastases			
Age moyen au diagnostic de l'atteinte métastatique (années)			
Moyen	65,3	61,3	
Extrêmes	46,4-77,2	30-98,3	
Délai de survenue de l'atteinte métastatique (années)			**< 0,001**
Moyen	4,3	2,5	
Extrêmes	0-28,1	0-14,5	
Statut aux dernières nouvelles 11/04/2022 -n (%)			**< 0,001**
Décédé	86 (86,9)	37 (48,7)	
Vivant	12 (12,1)	35 (46,0)	
Perdu de vue	1 (1)	4 (5,3)	

Tableau 2 : caractéristiques démographiques, histologiques et biologiques des patientes à l'inclusion.

II- Etude immunohistochimique sur TMA : description des immunomarquages YAP

Les données (immunohistochimiques) étaient disponibles pour 127 patientes. Au niveau du tissu mammaire pour YAP, il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre la localisation de YAP dans les deux populations (avec métastases cérébrales et sans métastases cérébrales) (p= 0,3865) (Figure 21).

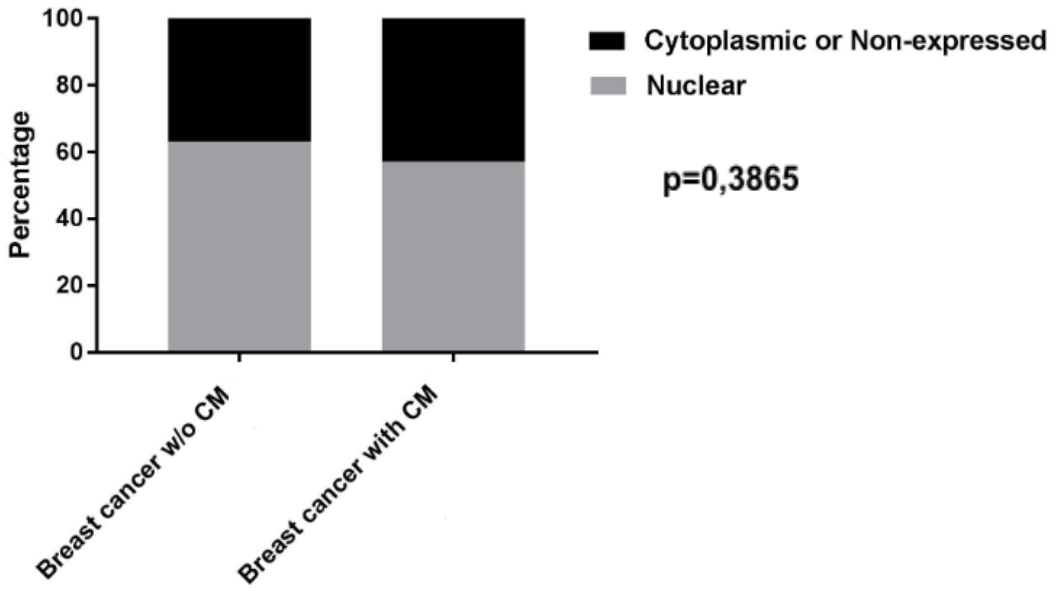


Figure 21 : expression de YAP dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales et dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales.

Une association statistiquement significative a été mise en évidence entre la localisation de YAP et le type de tissu (p <0,0001). L'expression nucléaire de YAP était était plus basse dans le tissu cérébral (31 %). (Figure 22).

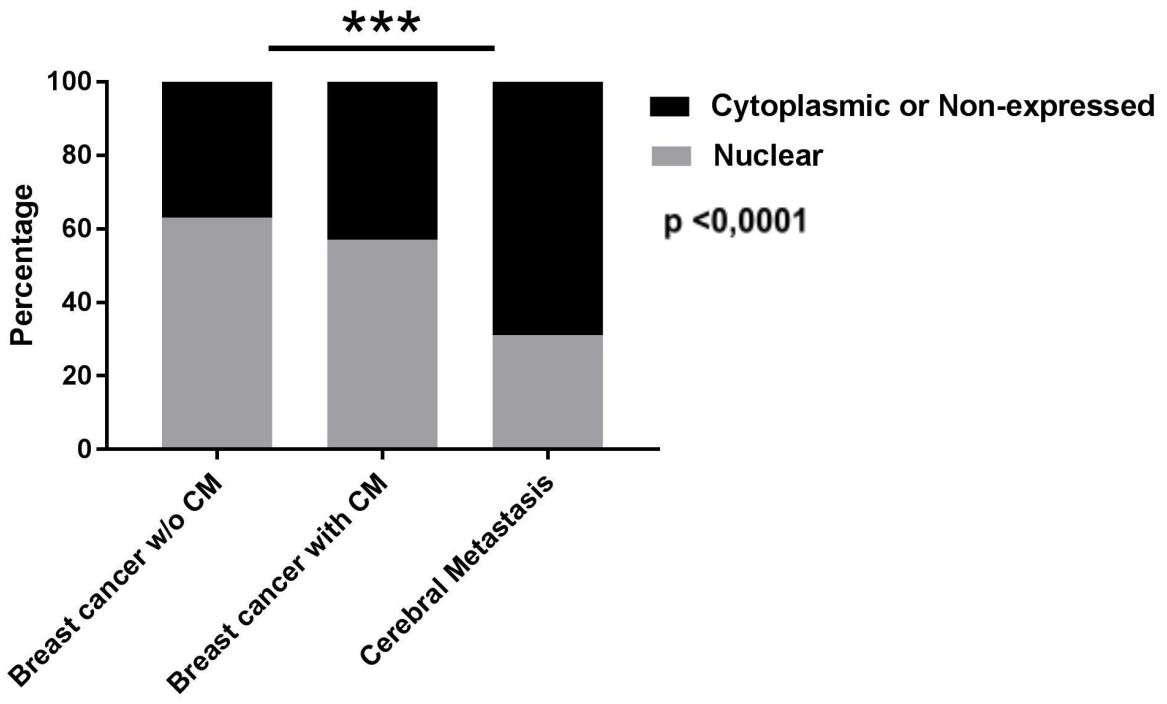


Figure 22 : comparaison de l'expression de YAP dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales, dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales, et dans le tissu cérébral.

III- Résultats YAP

1. Localisation de YAP et caractéristiques histologiques

L'expression nucléaire de YAP était significativement plus fréquente chez les patientes avec un statut RE- que celles avec un statut RE+ (71% versus 57%, respectivement, p= 0.0392). (Figure 23).

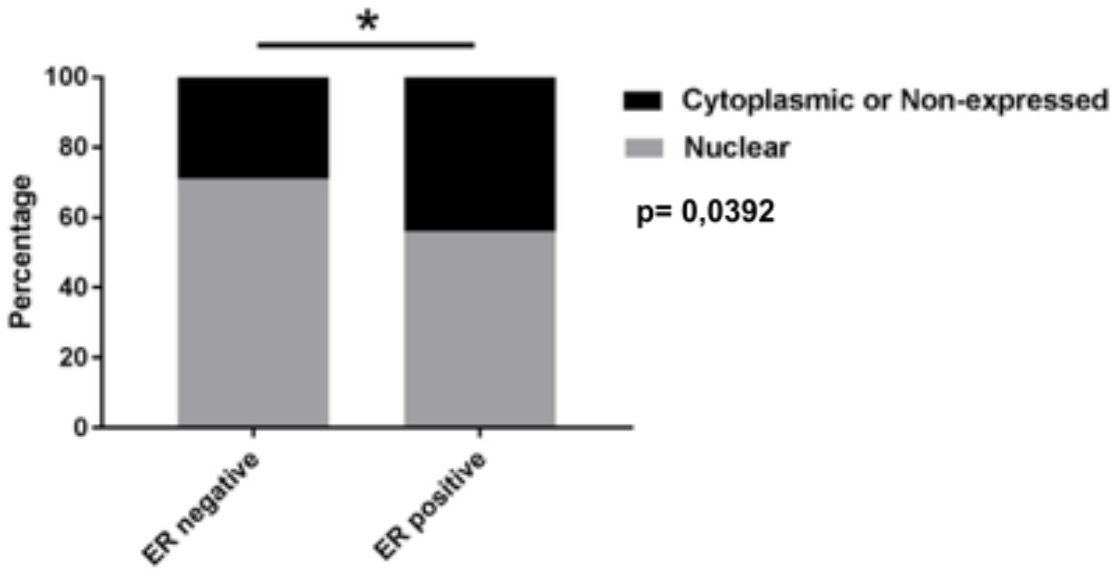


Figure 23 : localisation de YAP selon le statut hormonal RE.

Une association statistiquement significative a été mise en évidence entre la localisation de YAP et le grade (p= 0,0156). La localisation nucléaire était plus fréquente dans les grade II (68%) et III (51%) versus 50 % dans le grade I. (Figure 24).

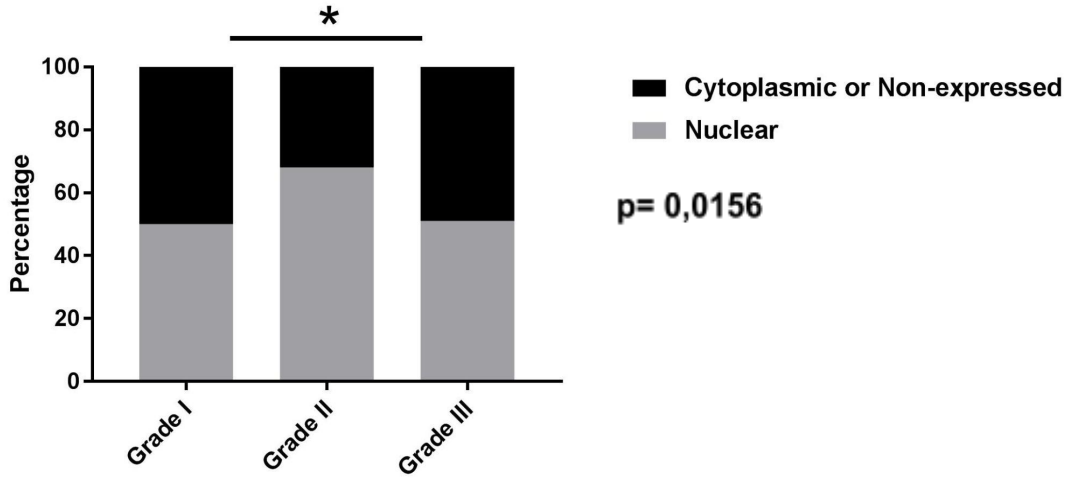


Figure 24 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon le grade au diagnostic

Une association statistiquement significative a été mise en évidence entre la localisation de YAP et le stade (L'expression nucléaire était plus fréquente chez les stades IV (69 %). (Figure 25).

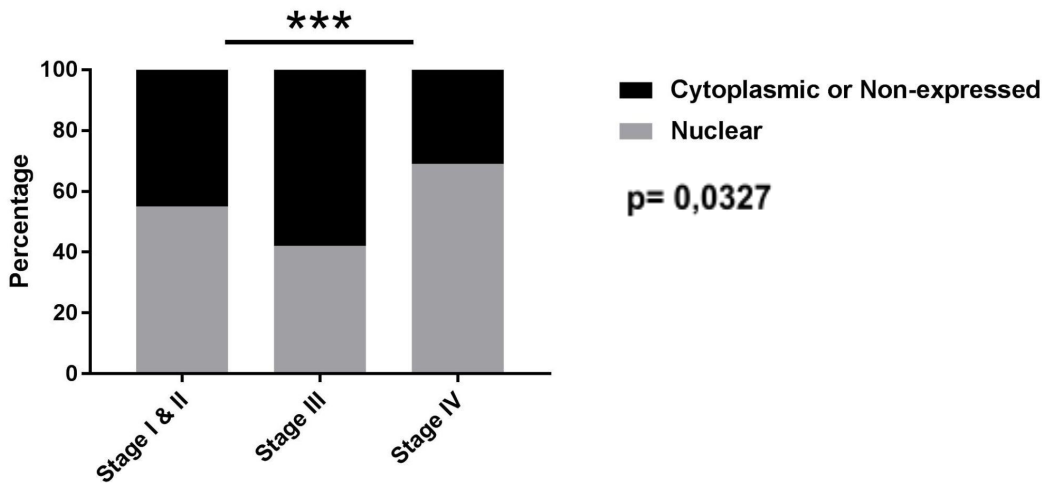


Figure 25 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon le stade initial au diagnostic.

Il existe une association statistiquement significative entre la classification moléculaire et la localisation de YAP (p= 0,0414). L'expression nucléaire était plus fréquente dans la population triple négative (74 %). (Figure 26).

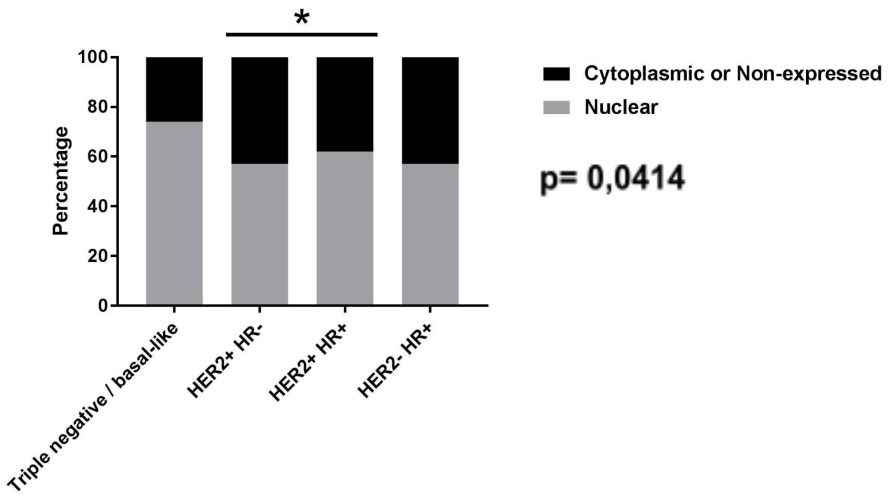


Figure 26 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon la classification moléculaire.

2. Localisation de YAP et caractéristiques cliniques

L'âge au diagnostic, n'était pas significativement associé à la localisation de YAP, de même que le statut vivant ou mort à la date de point.

3. Impact de YAP sur le pronostic (survie)

La comparaison des courbes de survie ne montre pas de différence significative entre la survie chez le groupe de patientes exprimant YAP en nucléaire et celles du groupe YAP cytoplasmique/ non exprimé. (p= 0,166) (Figure 27).

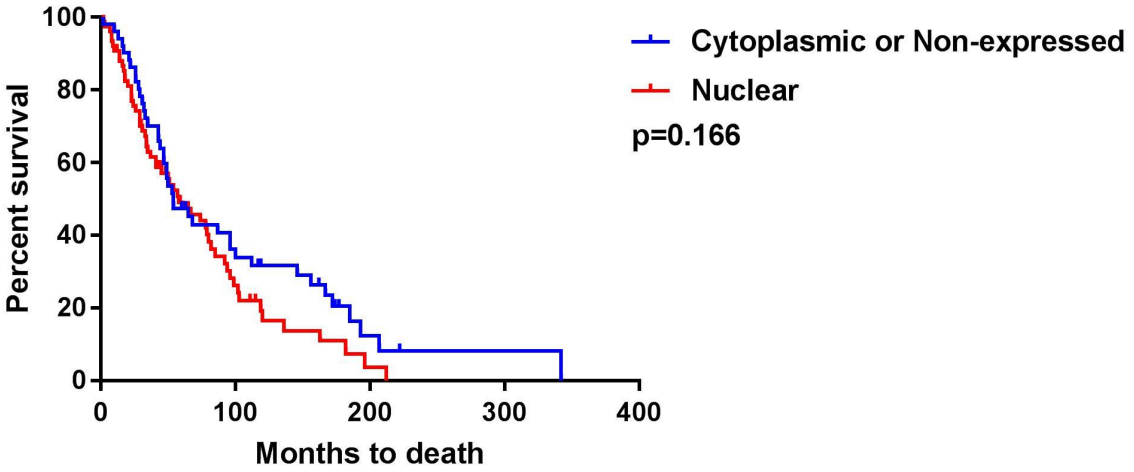


Figure 27 : courbes de Kaplan Meier représentant la survie globale selon la localisation de YAP chez les patientes avec cancer du sein métastatique.

4. Résultats dans le sous groupe avec métastases cérébrales

Nous avons étudié dans les différents sous-groupes la localisation de YAP selon le stade au diagnostic et la classification moléculaire.

Il existe une relation statistiquement significative entre le stade au diagnostic et la localisation de YAP. (p< 0,0001). L'expression nucléaire de YAP était plus fréquente chez les stades IV au diagnostic (77 %). (Figure 28).

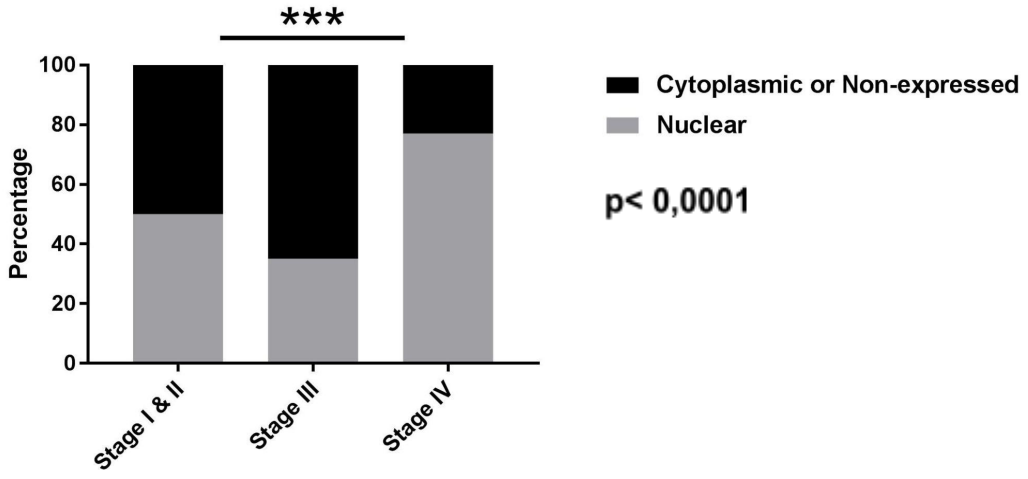


Figure 28 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales , selon le stade initial au diagnostic

Il existe un lien statistiquement significatif entre la classification moléculaire et la localisation de YAP.(p< 0,0001). L'expression nucléaire de YAP était plus fréquente dans le sous groupe moléculaire triple négative / basal like (76 %). (Figure 29).

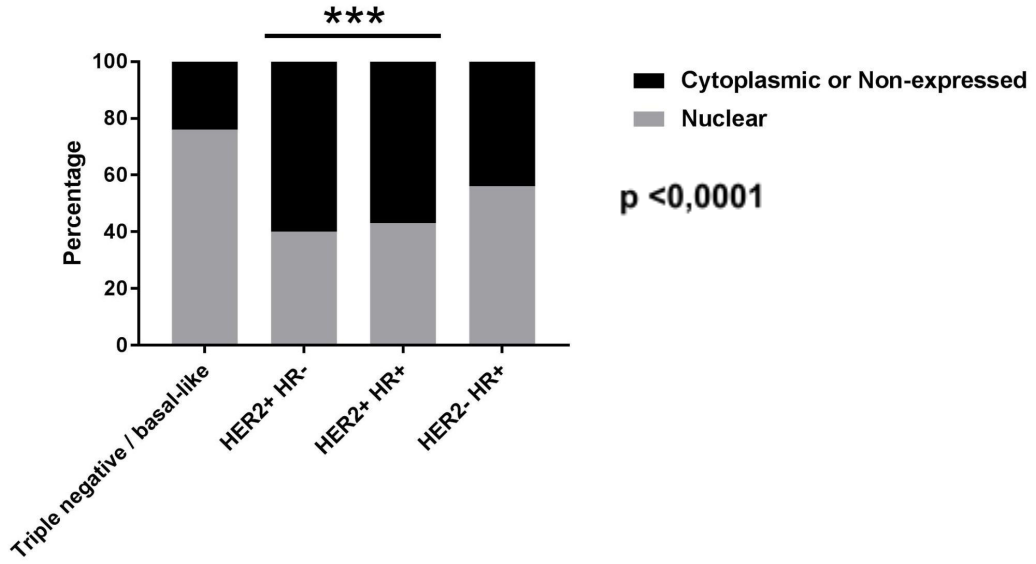


Figure 29 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales selon la classification moléculaire.

Il existe une association statistiquement significative entre la localisation de YAP et le délai entre le primitif et la métastase cérébrales avec le test de mann et Whitney. (p <0,0102). (Figure 30).

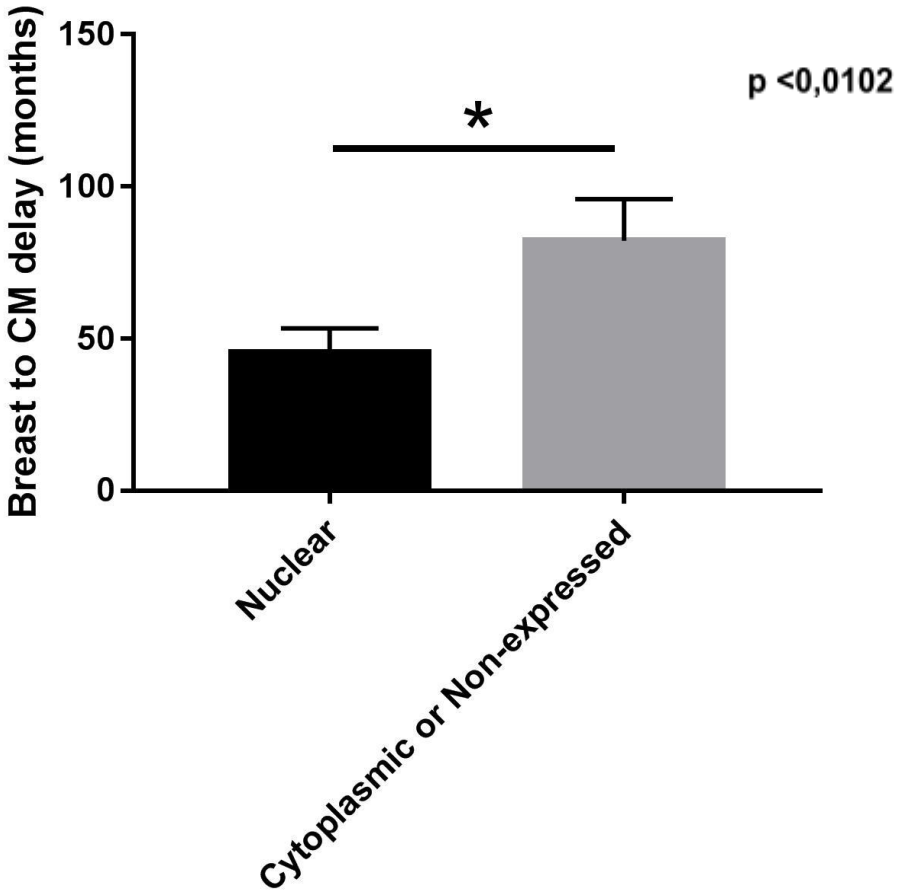


Figure 30 : délai entre le primitif et la métastase cérébrale en fonction localisation de YAP.

Il existe un lien statistiquement significatif entre le caractère synchrone ou métachrone de la métastase cérébrale et la localisation de YAP. L'expression nucléaire de YAP était plus fréquente dans le groupe synchrone. (p <0,0001). (Figure 31).

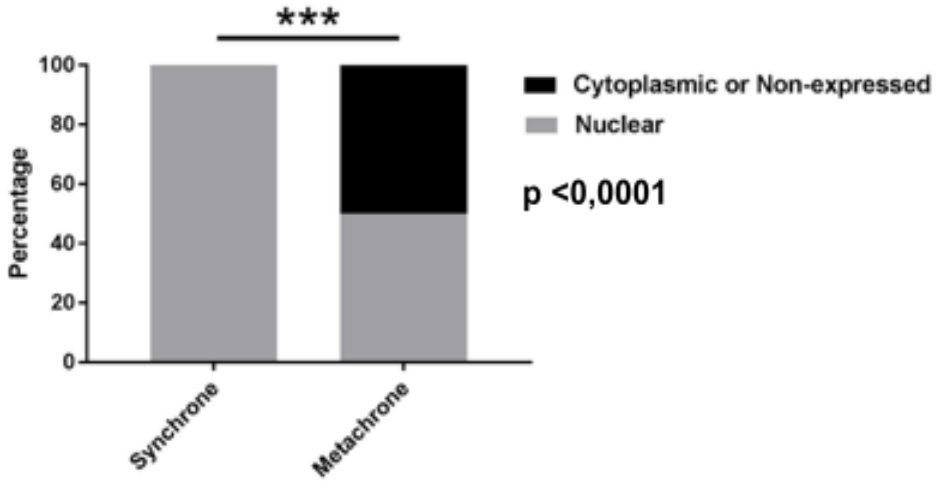


Figure 31 : expression de YAP en fonction du caractère synchrone ou métachrone de la métastase cérébrale.

5. Résultats dans le sous groupe sans métastases cérébrales

Le stade au diagnostic , n'était pas significativement associé à la localisation de YAP. (p= 0,406). (Figure 32).

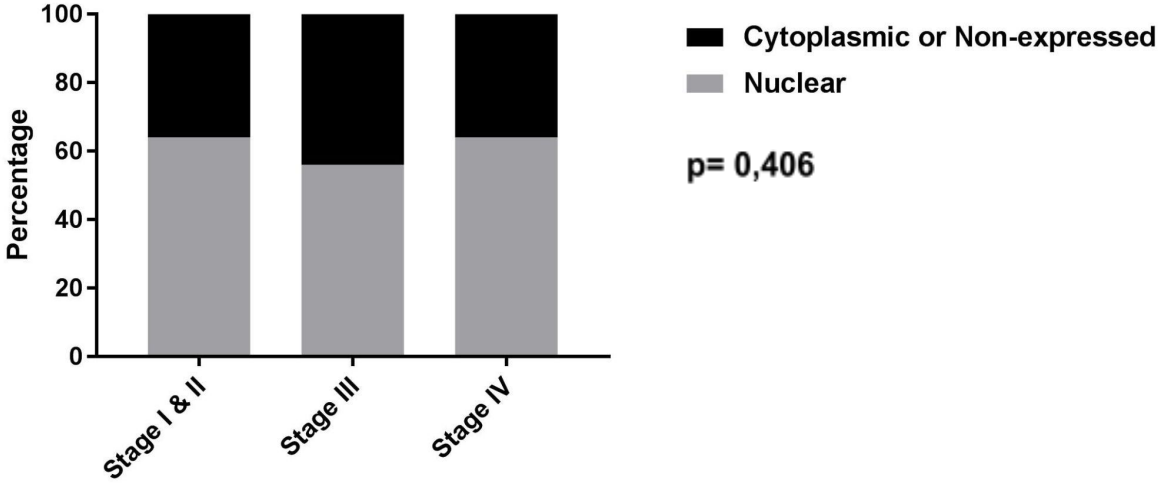


Figure 32 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales , selon le stade initial au diagnostic.

Il existe un lien statistiquement significatif entre la classification moléculaire et la localisation de YAP.

L'expression nucléaire de YAP était plus fréquente dans le sous groupe moléculaire HER2+ (100%). (Figure 33).

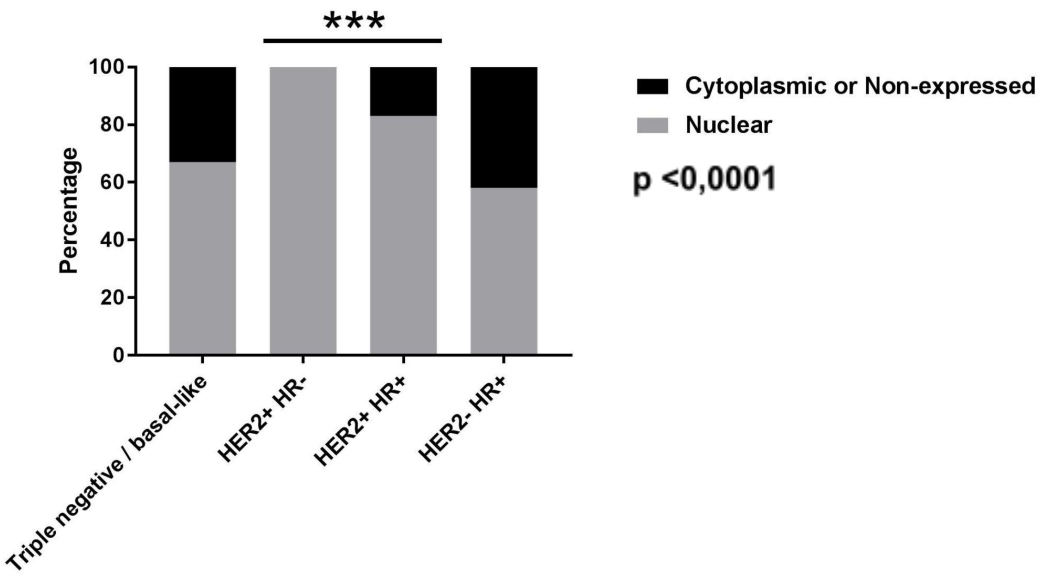


Figure 33 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales selon la classification moléculaire.

IV- Etude immunohistochimique sur TMA : description des immunomarquages TAZ

Les données (immunohistochimiques) étaient disponibles pour 116 patientes.

Au niveau du tissu mammaire pour TAZ, il n'y avait pas de différence statistiquement significative au niveau de l'expression nucléaire de TAZ dans les deux populations (avec et sans métastases cérébrales). (p= 0,479). (Figure 34).

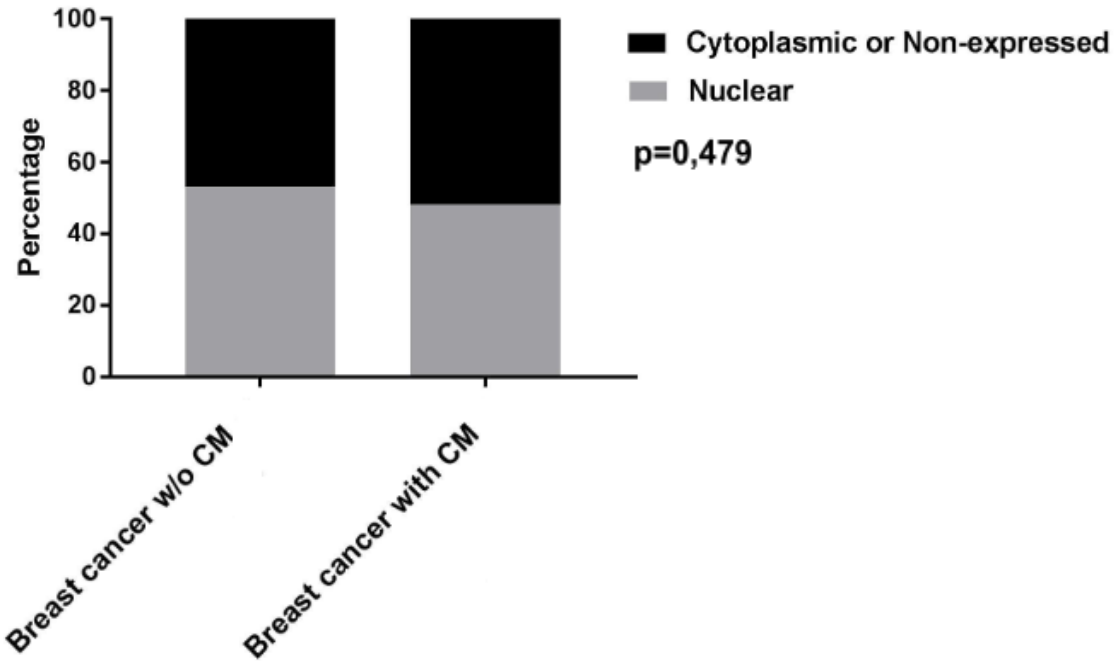


Figure 34 : expression de TAZ dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales et dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales.

Au niveau du tissu mammaire pour TAZ, il n'y avait pas de différence statistiquement significative au niveau de l'expression nucléaire de TAZ dans les deux populations (avec et sans métastases cérébrales), ni avec le tissu cérébral. (Figure 35).

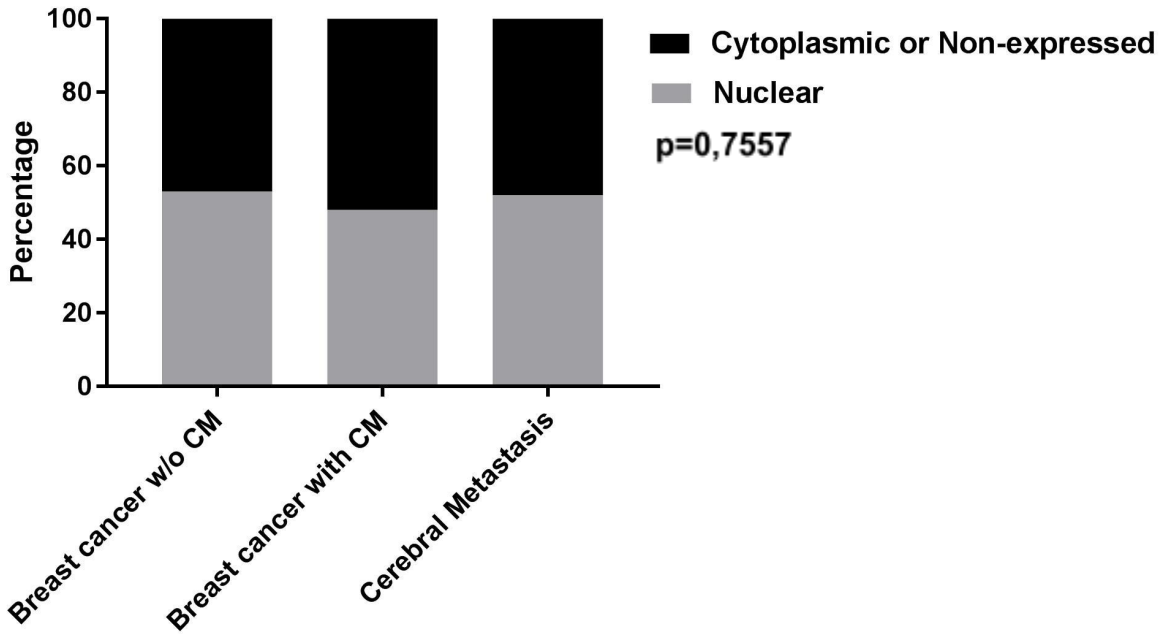


Figure 35 : comparaison de l'expression de TAZ dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales, dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales, et dans le tissu cérébral.

V- Résultats TAZ

1. Localisation de TAZ et caractéristiques histologiques

L'expression nucléaire de TAZ était significativement plus fréquente chez les patientes avec un statut RE- que celles avec un statut RE+ (79% versus 40 %, respectivement, p <0.0001) (Figure 36).

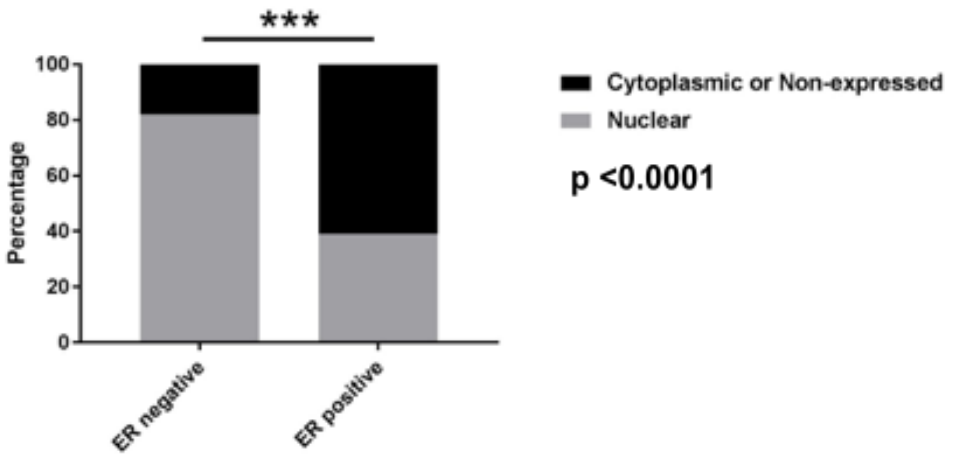


Figure 36: expression de TAZ selon le statut hormonal RE dans l'ensemble des deux populations.

L'expression nucléaire de TAZ était significativement plus fréquente chez les patientes avec un statut RP- que celles avec un statut RP+ (61% versus 42 %, respectivement, (Figure 37).

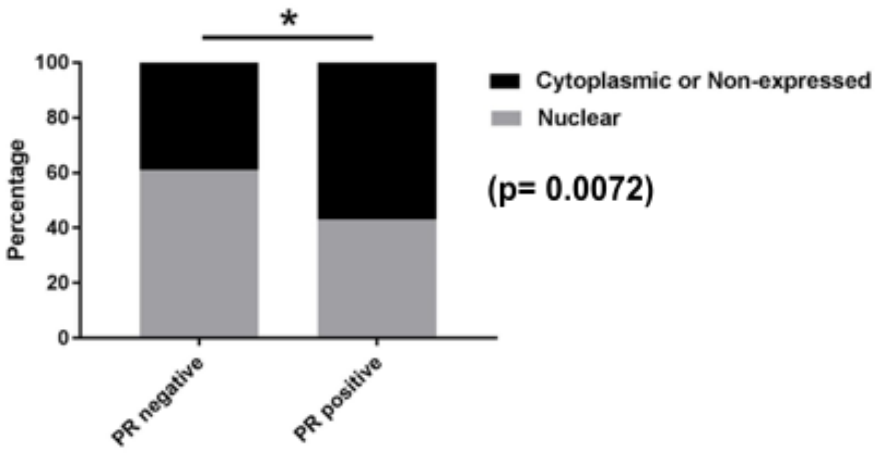


Figure 37 : Expression de TAZ selon le statut hormonal RP dans l'ensemble des deux populations.

L'expression nucléaire de TAZ était significativement plus fréquente chez les patientes avec un statut HER2 +que celles avec un statut HER2- (67% versus 48%, respectivement, p= 0.0066). (Figure 38).

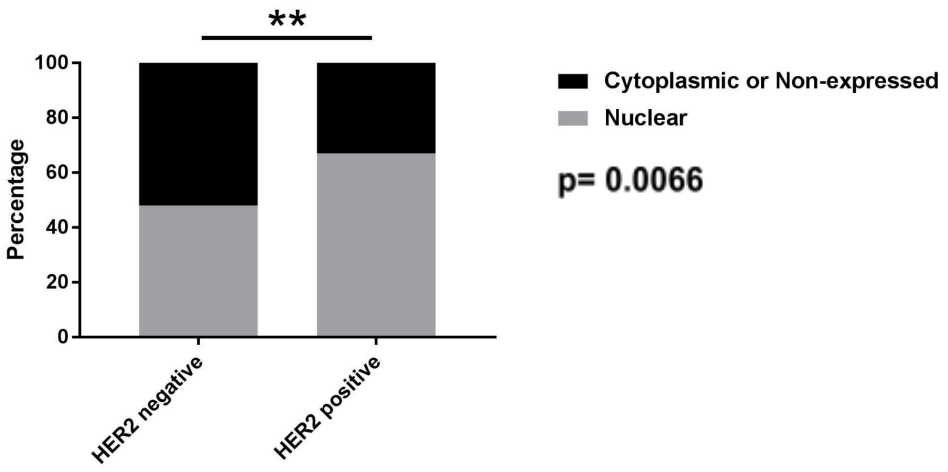


Figure 38 : expression de TAZ selon le statut hormonal HER2 dans l'ensemble des deux populations.

Une association statistiquement significative a été mise en évidence entre la localisation de TAZ et le grade (p= 0,0262). L'expression nucléaire était la plus élevée chez les grades III (60 %). (Figure 39).

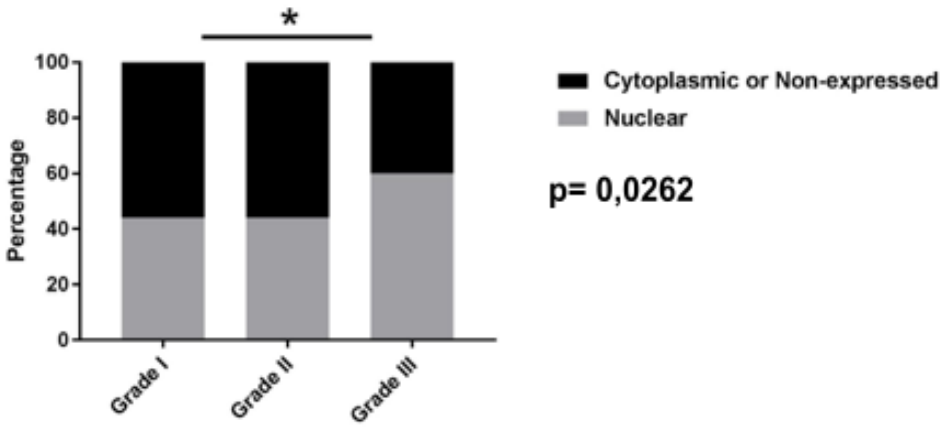


Figure 39 : expression de TAZ selon le grade histologique dans l'ensemble des deux populations.

Le stade au diagnostic, n'était pas significativement associé à la localisation de TAZ. (p= 0,1249) (Figure 40).

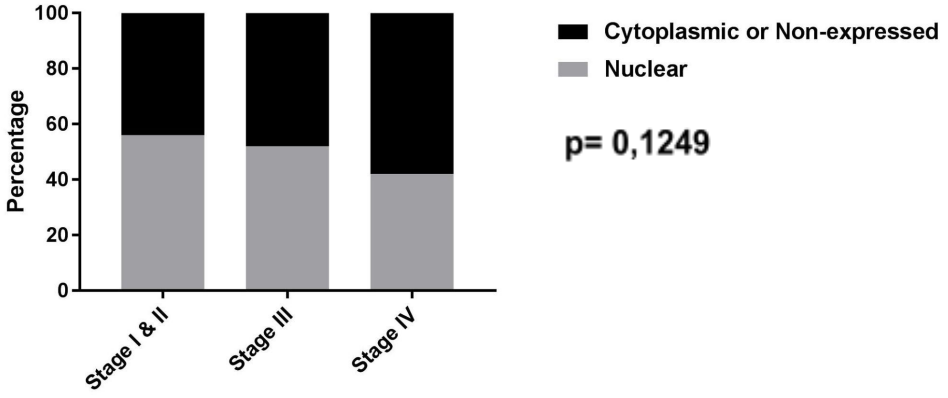


Figure 40 : expression de TAZ selon le stade initial au diagnostic dans l'ensemble des deux populations.

Une association statistiquement significative a été mise en évidence entre la localisation de TAZ et la classification moléculaire (p <0,0001). L'expression nucléaire était plus fréquente chez les triples négatifs (79%). (Figure 41).

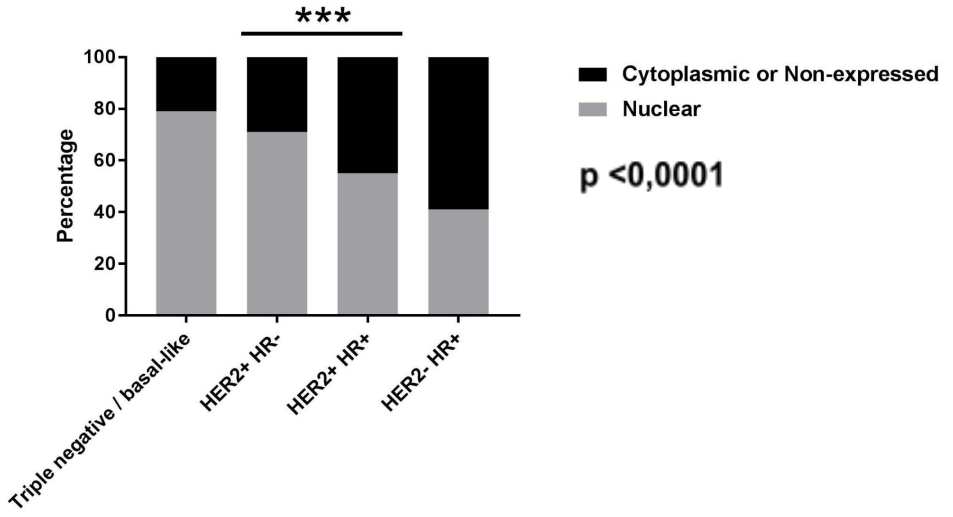


Figure 41 : expression de TAZ selon la classification moléculaire dans l'ensemble des deux populations

2. Localisation de TAZ et les caractéristiques cliniques

L'âge au diagnostic, n'était pas significativement associé à la localisation de TAZ, de même que le statut vivant ou mort à la date de point.

3. Impact de TAZ sur le pronostic (survie)

La comparaison des courbes de survie ne montre pas de différence significative entre la survie chez les patientes exprimant TAZ en nucléaire et celles du groupe cytoplasmique ou non exprimé (Figure 42).

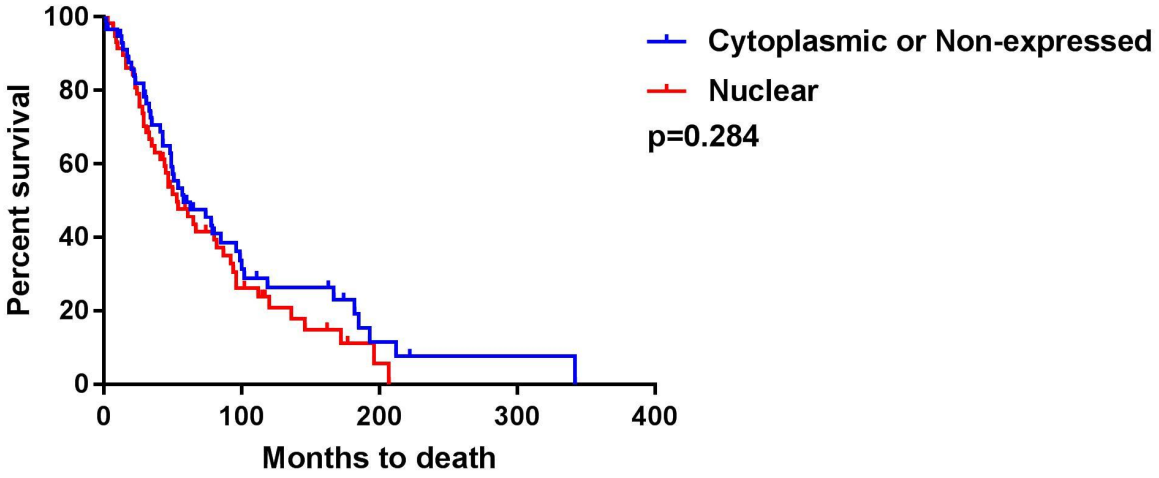


Figure 42 : courbes de Kaplan Meier représentant la survie globale selon la localisation de TAZ chez les patientes avec cancer du sein métastatique.

4. Résultats dans le sous groupe avec métastases cérébrales

Le stade au diagnostic , n'était pas significativement associé à la localisation de TAZ. (p=0,3886). (Figure 43).

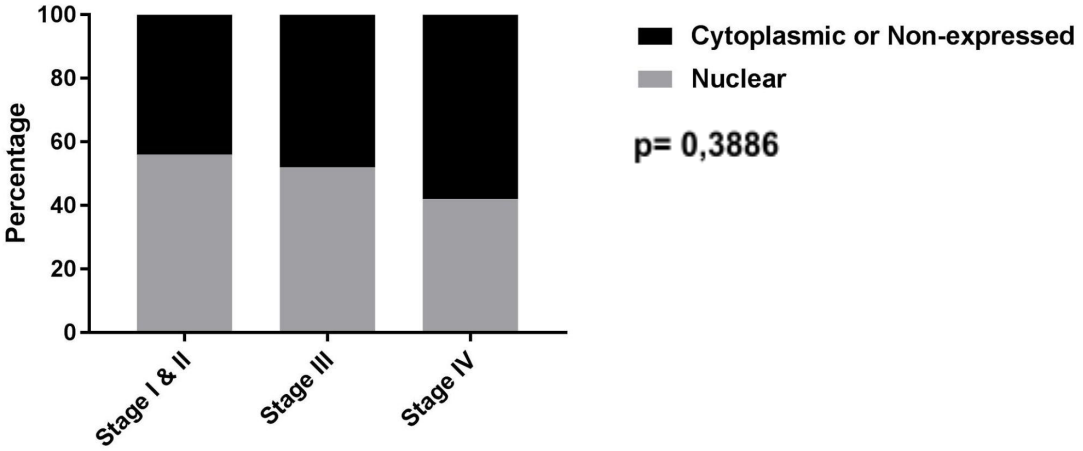


Figure 43 : expression de TAZ selon le stade initial au diagnostic dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales.

Il existe un lien statistiquement significatif entre la classification moléculaire et la localisation de TAZ (p <0,0001). L'expression nucléaire de TAZ était plus fréquente dans le sous groupe moléculaire HER2+ (80%). (Figure 44).

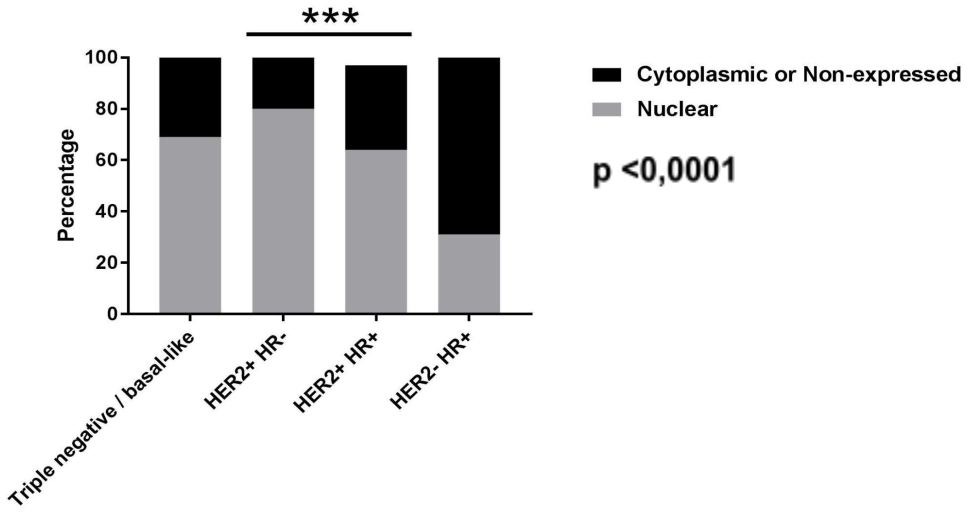


Figure 44 : expression de TAZ selon la classification moléculaire au diagnostic dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales.

Il n'existe pas de lien statistiquement significatif entre le délai entre le primitif mammaire et la métastase cérébrale et la localisation de TAZ. (p= 0,3263). (Figure 45).

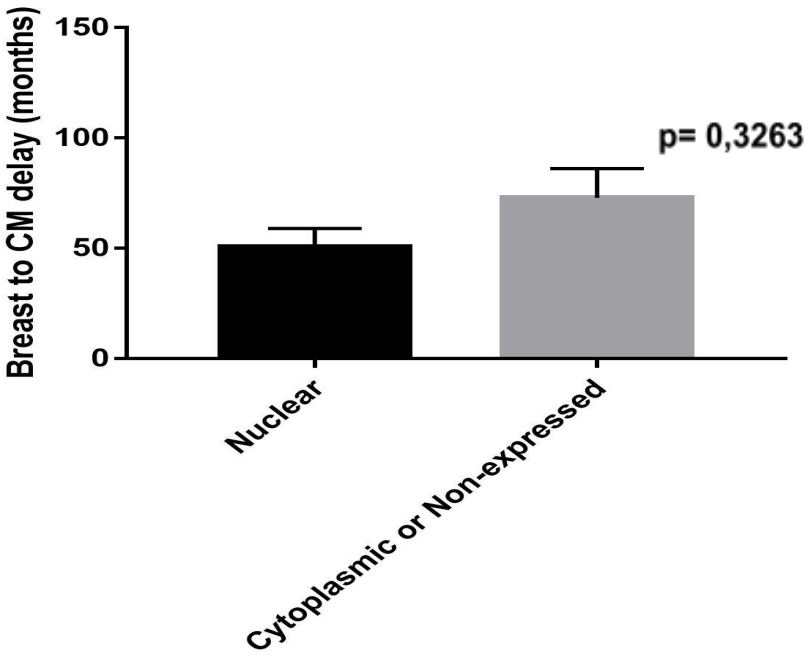


Figure 45 : délai entre le primitif et la métastase cérébrale en fonction de la localisation de TAZ.

Il n'existe pas de lien statistiquement significatif entre le caractère synchrone ou métachrone de la métastase cérébrale et la localisation de TAZ. (p= 0,1196). (Figure 46).

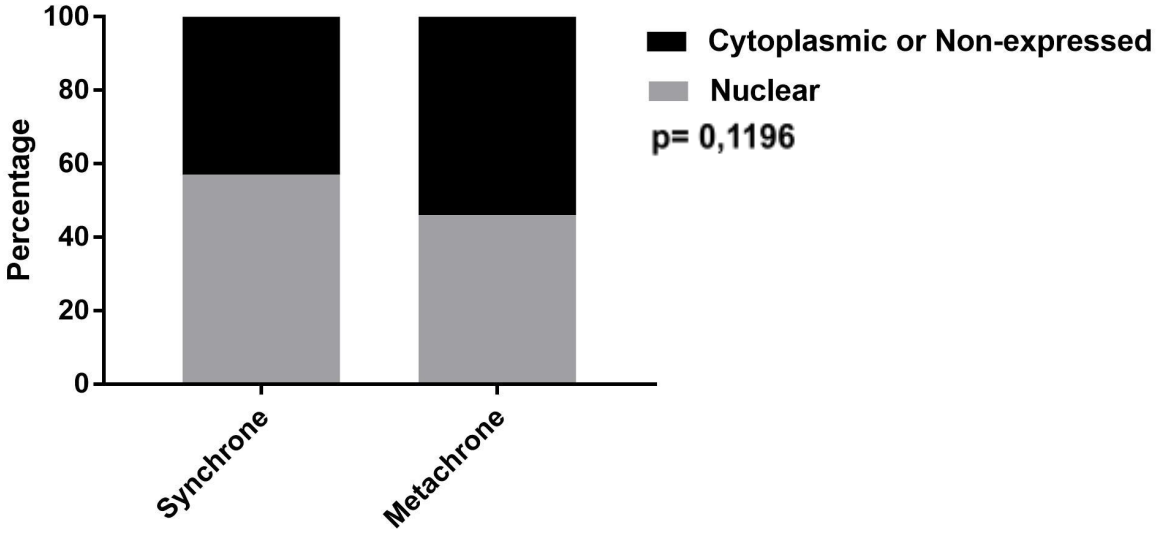


Figure 46 : expression de TAZ en fonction du caractère synchrone ou métachrone de la métastase cérébrale.

5. Résultats dans le sous groupe métastatiques sans métastases cérébrales

Il existe une relation statistiquement significative entre le stade au diagnostic et la localisation de TAZ. (p= 0,0201). L'expression nucléaire de TAZ était la plus basse chez les stades IV au diagnostic (77 %). (Figure 47).

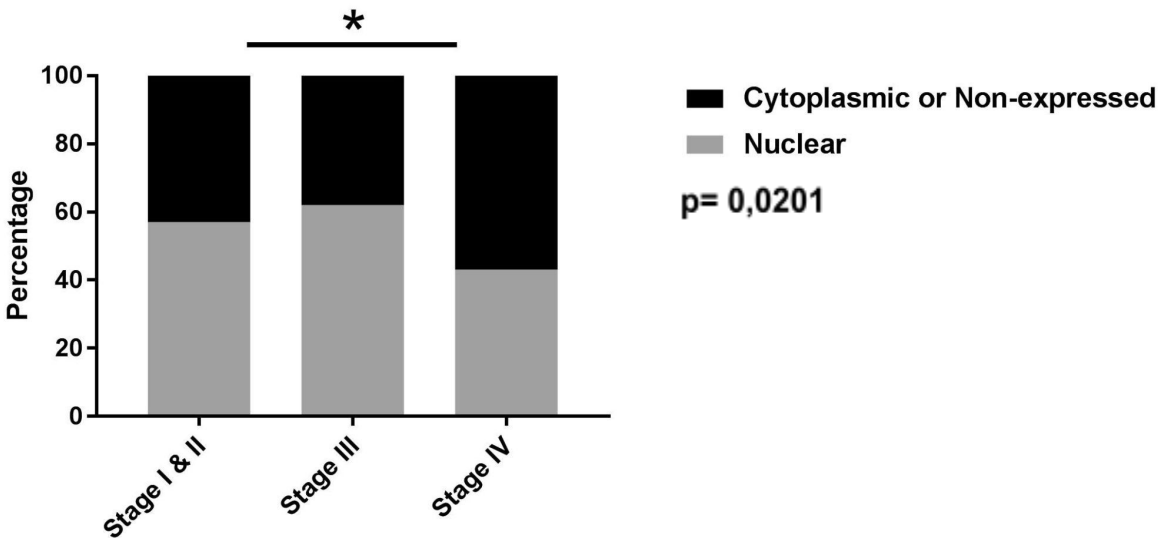


Figure 47 : expression de TAZ selon le stade initial au diagnostic dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales.

Il existe un lien statistiquement significatif entre la classification moléculaire et la localisation de TAZ. (p <0,0001). Il y avait une expression plus fréquente de TAZ dans le sous groupe triple négatif/ basal like (100 %). (Figure 48).

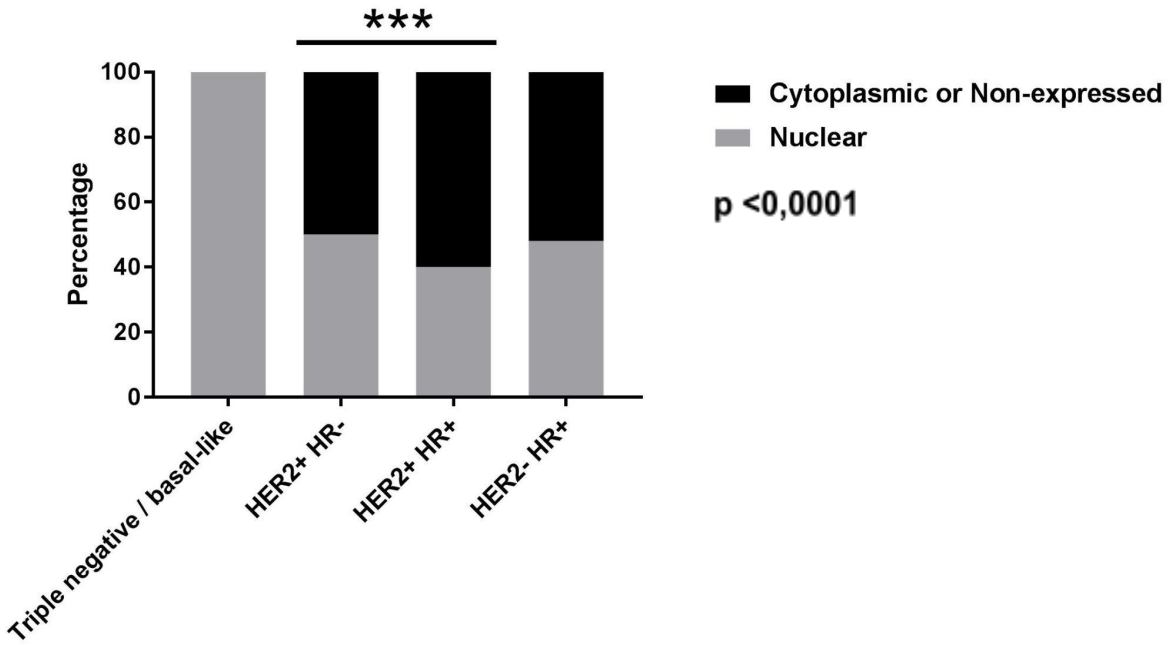


Figure 48 : expression de TAZ selon la classification moléculaire au diagnostic dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales.

VI- Tissu cérébral

Le nombre de sites métastatiques cérébraux, de la taille de la métastase cérébrale, de la présence d'une méningite carcinomateuse n'étaient pas significativement associés à la localisation de YAP ou de TAZ.

L'expression nucléaire de YAP était significativement plus fréquente dans le tissu cérébral que dans le tissu mammaire apparié (43 % versus 0 %, respectivement, (p <0,0001). (Figure 49). Les données étaient disponibles pour 7 patientes sur 9.

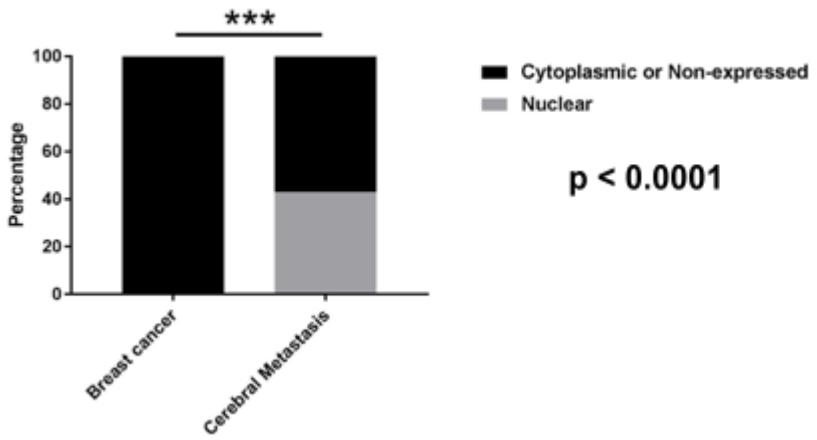


Figure 49 : comparaison de l'expression de YAP dans le tissu mammaire primitif apparié au tissu cérébral métastatique.

Le type de tissu (mammaire versus cérébral), n'était pas significativement associé à la localisation de TAZ (p= 0,0637). (Figure 50). Les données étaient disponibles pour 8 patientes sur 9.

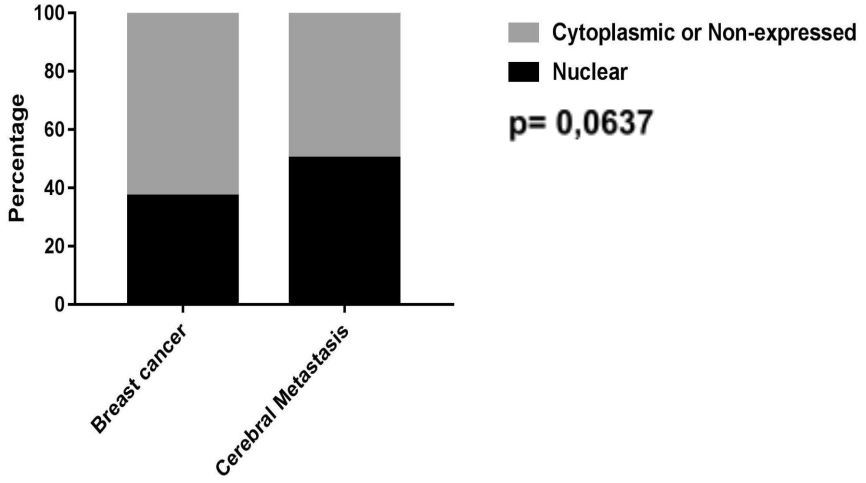


Figure 50 : comparaison de l'expression de TAZ dans le tissu mammaire primitif apparié au tissu cérébral métastatique.

DISCUSSION

I- Principaux résultats de l'étude

Notre étude avait pour objectif principal d'étudier les associations entre l'expression des protéines YAP1, TAZ et les caractéristiques histologiques, cliniques et les taux de survie, dans le tissu mammaire primitif, des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique cérébrale.

1. YAP

La présente étude montre dans l'ensemble des deux populations, que l'expression nucléaire de YAP présentait une association statistiquement significative avec le statut RE. La localisation nucléaire était plus fréquente dans la population RE- par rapport à la population RE+ (p= 0,0392). La localisation nucléaire était plus fréquente dans les grade II et III (p= 0,0156). L'expression nucléaire était plus fréquente chez les stades IV au diagnostic (p= 0,0327) et chez les triples négatifs/ basal like (p= 0,0414).

Ensuite dans le sous groupe avec métastases cérébrales, l'expression nucléaire de YAP était plus fréquente chez les stades IV au diagnostic (p <0,0001) et dans le sous groupe moléculaire triple négatif / basal like (p <0,0001). Une expression nucléaire de YAP était plus fréquemment statistiquement associée à une métastase cérébrale synchrone (p <0,0001). Il existait une association statistiquement significative entre la localisation nucléaire de YAP et le délai entre le primitif et la métastase cérébrale (p <0,0102). Le délai d'apparition de la métastase cérébral est plus court si YAP est nucléaire.

Enfin dans le sous groupe sans métastases cérébrales. L'expression nucléaire de YAP était plus fréquente dans le sous groupe moléculaire HER2+ (p < 0,0001).

2. TAZ

La présente étude montre dans l'ensemble des deux populations que l'expression nucléaire de TAZ présentait une association statistiquement significative avec le statut RE, RP et HER2. L'expression nucléaire était plus fréquente dans la population RE- par rapport à la population RE+(p< 0,0001). L'expression nucléaire était plus fréquente dans la population RP- par rapport à la population RP+(p=0,0072). L'expression nucléaire était plus fréquente dans la population HER2 + par rapport à la population HER2- (p= 0,0066). L'expression nucléaire était plus fréquente chez les grades III (p= 0,0262) et les triples négatifs (p< 0,0001).

Ensuite dans le sous groupe avec métastases cérébrales. Il y avait une expression plus fréquente de TAZ dans le sous groupe HER2 + (p< 0,0001).

Enfin dans le sous groupe sans métastases cérébrales. Il y avait une expression plus fréquente de TAZ dans le sous groupe triple négative (p< 0,0001).

3. Tissu cérébral

L'expression nucléaire de YAP, était plus fréquente dans le tissu cérébral métastatique apparié que dans le tissu mammaire primitif.

II- Comparaison avec les données de la littérature

1. Caractéristiques de la population de l'étude

Notre cohorte de patientes avec métastases cérébrales a des caractéristiques cliniques et histologiques similaires avec la cohorte de patientes traitées pour un cancer du sein avec métastases cérébrales, au CHU de Poitiers et avec d'autres études (cohorte ESME). Les femmes de notre cohorte avaient en moyenne 52,6 ans , avec des tumeurs primitives mammaires principalement de grade intermédiaire ou haut, et de stade IV dans presque un tiers des cas. La plupart des cancers du sein étaient de type NST (86,9 %) dans notre étude.

Par ailleurs, la distribution des sous-types moléculaires des tumeurs primitives était cohérente avec les résultats de cette étude: prédominance des tumeurs RH+/HER2- (47,5 %), la proportion de patientes triples négatives était similaire (21,3%).

Les patientes avec métastases cérébrales de notre série avaient un âge moyen de diagnostic plus précoce, que dans la population sans métastases cérébrales. Chez les patientes atteintes d'un cancer du sein avec métastases cérébrales, il y avait plus de cancer du sein de type Basal like ou triple négatif et de surexpression de HER2, que dans la population sans métastases cérébrales. Nos données s'accordent avec celle d'une précédente étude : les cancers du sein avec métastases cérébrales étaient plus susceptibles d'avoir moins de 50 ans et étaient plus susceptibles d'être négatifs pour les récepteurs aux œstrogènes, et d'exprimer HER2 et de haut grade (5). Cependant, nous n'avons pas trouvé de différence significative au niveau du grade dans les deux populations.

Au niveau du stade TNM au diagnostic, il y avait moins de stade IV (37,4 %) dans la population avec métastases cérébrales, versus (52,6 %) chez les patientes sans métastases cérébrales. Les patientes avec métastases cérébrales avaient un délai plus tardif pour l'apparition de la métastase cérébrale. Les patientes avec métastases cérébrales avaient plus de décès à la date de point.

Enfin, il y avait moins de carcinome lobulaire infiltrant (5,1 %) dans la population avec métastases cérébrales versus (15,8 %) dans la population sans métastases cérébrales. (Rosen, 2001 ; Ellis et al., 2003) montrent que les cancers lobulaires sont souvent multifocaux, et qu'ils ont un profil métastatique distinct des carcinomes canalaires infiltrant (ils métastasent souvent sur les séreuses, le tractus gastro-intestinal et les organes gynécologiques). Cela pourrait expliquer leur fréquence élevée dans notre population métastatique sans métastases cérébrales.

2. Expression de YAP

La signalisation Hippo favorise l'apparition de métastase du cancer du sein, et ses éléments centraux jouent un rôle important dans l'invasion des cellules tumorales à l'intérieur ou à l'extérieur du tissu mammaire (29). Ces résultats sont concordants avec ceux de notre étude, Il existait en effet un taux nucléaire élevé de Yap dans les stade IV au diagnostic.

Toutefois, très peu d'études ont étudié l'expression de YAP selon le grade histologique, une étude a démontré une expression élevée de YAP (nucléaire et cytoplasmique) associée à un bas grade, contrairement à la nôtre (36).

Nous avons analysé l'expression de YAP dans des sous-types moléculaires distincts de cancer du sein métastatique. Dans une étude précédente, l'expression totale de YAP (nucléaire et cytoplasmique) dans le cancer du sein de sous-type HER2 + et de sous-type triple négatif était d'environ 35 % et 50 %, respectivement (37). Dans notre étude nous avons retrouvé une expression nucléaire de 57% dans le sous type HER2+ et 74 % dans le sous type triple négatif.

Certaines études ont montré que l'expression de la protéine YAP était positivement associée au sous-type TNBC chez les patients et dans les lignées cellulaires (37). Hassan et al ont rapporté une régulation positive significative de l'ARNm de YAP1 dans le sous-type Basal/Claudin-low par rapport aux sous-types HER2, Lum A, et Lum B. Nos résultats sont concordants avec ceux de cette étude.

L'expression totale de YAP dans les tissus du cancer du sein de sous-type luminal dans d'autres études était de (46 % et 59,3 %).(37) (38). Nous avons retrouvé une expression de 57 % dans la catégorie luminal A et de 62 % dans le type luminal B.

Une étude a mis en évidence un lien intéressant entre la transcription de la plupart des composants Hippo et la négativité RE dans les cancers du sein (39). Nos résultats sont en accord avec ceux de cette étude, il y avait une expression nucléaire très élevée de Yap dans la population RE-.

En général, des systèmes de notation ont été utilisés pour détecter de manière semi-quantitative (intensité, pourcentage et localisation), la protéine YAP dans des tissus, ce qui a conduit à des résultats variés dans différentes études. Nous avons donc évalué l'expression de YAP en se basant sur la localisation nucléaire vs cytoplasmique/ non exprimé, pour classer les cellules comme expresseurs YAP négatifs ou positifs. Nous avons aussi utilisé un score combiné (intensité X pourcentage). Il a été calculé pour chaque échantillon de tissu en multipliant le score d'intensité de coloration (0, négatif ; 1, faible ; 2, modéré ; 3, forte coloration) par le pourcentage de cellules colorées positivement (0 ; 1, < 10 ; 2, de 10 à 50 et 3 ; > 50). Ensuite, chaque cas a été noté comme positif ou négatif en utilisant la médiane (4) comme valeur seuil. C'est le critère le plus impartial pour l'analyse des données, selon une étude précédente (40). Ces différents systèmes de notation peuvent expliquer une partie des discordances avec les autres études. Une étude récente a identifié que la localisation nucléaire de YAP1 est une forme activée de YAP1, nous avons choisi d'interpréter les résultats en tenant compte surtout de la localisation (41).

Actuellement, le rôle de YAP1 dans le cancer du sein reste controversé. Par exemple, Lehn et al ont rapporté que l'expression de YAP1 (l'expression de YAP1 a été évalué avec l'intensité globale comme absente, faible, intermédiaire ou forte)est inversement corrélée avec le grade histologique et la prolifération tumorale, et que de faibles taux d'ARNm YAP1 sont associés à une diminution de la survie sans récidive et à la résistance au tamoxifène, dans le cancer du sein du sous-type A luminal (42). Dans une étude, la perte d'expression de YAP était associée à la négativité du récepteur des œstrogènes α (ERα) et du récepteur de la progestérone (PR) dans le cancer du sein, suggérant que YAP pourrait également fonctionner comme un suppresseur de tumeur (36).

Kim et al. ont évalué l'expression de YAP et de YAP phosphorylé dans chacun des sous-types moléculaires du cancer du sein et ont découvert que l'expression nucléaire de YAP était associée à une survie plus courte. Cependant, dans une étude précédente, l'expression nucléaire de YAP dans l'analyse multivariée n'avait pas de signification statistique (43).

Dans notre étude, la comparaison des courbes de survie ne montre pas de différence significative entre la survie chez le groupe de patientes exprimant YAP en nucléaire et celles du groupe YAP cytoplasmique/ non exprimé.

En outre, certains ont rapporté que YAP1 favorise la prolifération cellulaire, la tumorigenèse, la résistance aux médicaments, et qu'il est associé à la mutation TP53, à la négativité RE et à une mauvaise survie (44).

Toutes ces données semblent suggérer que YAP pourrait être un marqueur pertinent en immunohistochimie, pour caractériser les patientes avec un cancer du sein métastatique dans leur profil histomoléculaire ainsi que dans leur comportement tumoral.

Notre étude est une des seules à s'intéresser spécifiquement à la population avec métastases cérébrales , l'expression nucléaire de YAP était aussi plus élevée chez les stades IV au diagnostic et chez les triples négatives/ basal like. L'expression nucléaire de YAP était associée à une métastase synchrone au diagnostic (stade IV). Il est intéressant de noter que nous avons retrouvé que l'expression nucléaire de YAP était statistiquement associée à une métastase cérébrale synchrone au diagnostic. Cela suggère que YAP pourrait être un marqueur immunohistochimique intéressant pour les patientes avec un cancer du sein métastatique cérébral.

Une étude a également analysé la fréquence d'expression de YAP dans les tissus primaires et récurrents appariés. L'expression de YAP totale était significativement plus faible dans les tissus récurrents que dans les tissus appariés du cancer du sein primaire (37). Nous avons retrouvé une expression moins fréquente de YAP dans le tissu cérébral par rapport au tissu mammaire métastatique cérébral non apparié. Mais dans le tissu cérébral apparié l'expression nucléaire de YAP était plus fréquente. Toutefois, nous avions un faible nombre de patients (n=7).

3. Expression de TAZ

YAP et TAZ peuvent partager des fonctions similaires ou qui se chevauchent.

Dans le cancer du sein, TAZ semble être l'effecteur Hippo pertinent, car l'expression de la protéine TAZ mais pas YAP semble être modulée dans les lignées cellulaires du cancer du sein (Chan *et al* . 2008). Dans cette étude, aucune association évidente entre les niveaux d'expression de YAP et le caractère invasif des cellules cancéreuses du sein, alors que l'expression de TAZ est beaucoup plus élevée dans les lignées cellulaires de cancer du sein plus invasives. En effet, TAZ est nécessaire pour maintenir les capacités d'auto-renouvellement et d'initiation de tumeurs dans les cellules souches du cancer du sein (Cordenonsi *et al* . 2011), et c'est un médiateur central de la capacité métastatique de ces cellules souches (Bartucci *et al* . 2014). Dans notre étude, il semblerait que TAZ et YAP soient régulés indépendamment, YAP était à la fois nucléaire et cytoplasmique tandis que TAZ était nucléaire ou non exprimé.

Notre étude a montré que l'expression nucléaire de TAZ était plus élevée dans les tumeurs de grade III. La protéine TAZ est fortement exprimée dans les tumeurs de grade 3 par rapport aux tumeurs de grade 1 survenant chez des souris immunodéprimées injectées avec des cellules de la lignée cellulaire MFC10A, ce qui montre que TAZ est nécessaire pour l'auto-renouvellement et l'initiation tumorale des cellules du cancer du sein (45). D'autres études sur le cancer du sein ont confirmé que les tumeurs TAZ positives sont associées à un grade 3 (45).

Comme notre étude, des études ont montré que la localisation nucléaire de TAZ est associée au cancer du sein triple négatif. TAZ est préférentiellement surexprimée dans les cancer du sein hautement invasifs, dont la plupart appartiennent aux lignées cellulaires TNBC (Diaz Martin et al). De plus, il a été rapporté que la surexpression de TAZ induisait l'activation de la signalisation de l'EGFR, et l'un des ligands de l'EGFR, l'amphiréguline (AREG), est une cible de TAZ. AREG fonctionne d'une manière autonome pour médier la croissance indépendante de l'EGF et le comportement malin des cellules épithéliales mammaires . Ces études suggèrent que l'expression élevée de TAZ pourrait être l'une des raisons pour lesquelles le TNBC n'était pas sensible aux inhibiteurs de l'EGFR (46).

L'analyse immunohistochimique de l'expression de TAZ dans 640 échantillons de carcinome mammaire invasif comprenant des tumeurs positives aux récepteurs d'œstrogène et de progestérone (ER+/PR+), HER2-positives et triple négatives (TN) a suggéré que l'expression de TAZ était significativement associée au phénotype TN (60,5 % TAZ-positif, P <0,001). De même, d'autres études ont rapporté une expression élevée de TAZ dans le cancer du sein HER2-positif, luminal B et TN (9).

Ainsi, TAZ apparaît comme un marqueur immunohistochimique pertinent pour caractériser les patientes avec un cancer du sein métastatique dans leur profil histomoléculaire, ainsi que dans leur comportement tumoral.

Dans le sous groupe avec métastases cérébrales, il y avait une expression plus élevée de TAZ dans le sous groupe moléculaire HER 2 +. Ces données semblent suggérer que TAZ pourrait être un marqueur intéressant chez les patientes atteintes d' un cancer du sein avec métastases cérébrales HER2 + .

III- Forces et limites

Notre étude présente plusieurs forces.

Notre cohorte était représentative de la population générale de métastases cérébrales et ne présentait pas de biais de sélection majeur.

Nous avons donc utilisé la technique TMA dans notre étude. L'utilisation de cette technique pour étudier l'expression de YAP et de TAZ est un point fort de notre étude. Cette méthode avantageuse garantit l'analyse homogène et synchrone de différents échantillons de tissus sous conditions uniformes. Elle permet l'analyse d'un très grand nombre de tumeurs à la fois, avec un minimum de dommages sur les blocs de tissus d'origine . Contrairement à l'immunohistochimie conventionnelle, la TMA permet un haut niveau de normalisation pour l'immunohistochimie car tous les échantillons de tumeurs sont prétraités et colorés sous, exactement les mêmes conditions.

Cette étude est l'une des plus complètes à notre connaissance, nous avons étudié à la fois l'expression de YAP et de TAZ dans le tissu mammaire primitif et dans le tissu cérébral métastatique. De plus, nous avons étudié l'expression de Yap et de TAZ selon le type histologique, le grade, le stade au diagnostic et la classification moléculaire. Enfin un autre point fort de notre étude est qu'elle est une des rares à avoir analysé l'expression dans deux populations différentes.

Notre étude a plusieurs limites. Il s'agissait d'abord d'une étude rétrospective. D'autre part, les deux populations étaient métastatiques, donc homogènes, ce qui a pu limiter certains résultats. Les blocs absents au CHU et le peu de métastases cérébrales biopsiées ou opérées, ne nous ont pas permis de faire une étude appariée (tissu mammaire primitif, tissu métastatique cérébral), représentative, même si elle est statistiquement significative. Deuxièmement, les spot décollés, ne nous ont pas permis d'avoir des résultats immunohistochimiques pour toutes les patientes incluses. Troisièmement, l'immunohistochimie des lames TMA peut sous-estimer le taux de positivité YAP1/TAZ par rapport à la lecture de la lame entière.

Contrairement aux études précédentes, notre étude n'est pas parvenue à mettre en évidence une association entre l'expression/localisation de YAP/TAZ et la survie globale des patientes atteintes d'un cancer du sein. Nous n'avons pas observé de lien statistiquement significatif entre l'expression/localisation de YAP/TAZ et la survie globale malgré qu'il y ait une tendance. Nous pensons que cela est dû à un biais de sélection (spots manquants).

Contrairement à notre étude, d'autres publications rapportent que l'activation de la TAZ améliore le potentiel métastatique des cellules souches du cancer du sein et des cancers du sein triple négatifs par différents mécanismes (8).

Nous n'avons pas mis en évidence de différence statistiquement significative pour l'expression de YAP et de TAZ dans les tissus mammaires, avec l'âge, les sous-types histologiques de cancer du sein. Cela est en accord avec de nombreuses études.

Dans le tissu cérébral, aucune association statistiquement significative, concernant l'expression nucléaire de YAP et de TAZ n'a été retrouvée au niveau du nombre de sites métastatiques cérébraux, de la taille de la métastase cérébrale, de la présence d'une méningite carcinomateuse.

IV- Perspectives

1. Vers des nouveaux marqueurs histomoléculaires ?

Notre étude a mis en évidence une surexpression de YAP et de TAZ dans les sous-groupes triples négatifs/ basal-like. Les protéines YAP et TAZ ont été exprimées différemment selon les sous-types moléculaires du cancer du sein.

Ainsi l'étude de YAP et de TAZ chez ces patientes pourrait conduire à une détermination plus précise du sous groupe moléculaire, en particulier le sous type triple négatif.

Une étude a étudié la classification de TNBC spécifiquement basée sur les signatures immunitaires à l'aide du profilage immunogénomique. Ces résultats montrent que TNBC pourrait être classé en trois sous-types stables : immunité élevée, immunité moyenne et immunité faible. Le sous-type immunity High TNBC, a été enrichi non seulement en signatures immunitaires, mais aussi en de nombreuses voies associées au cancer, y compris l'apoptose, la signalisation du calcium, la signalisation MAPK, la signalisation PI3K-Akt et la signalisation RAS. En revanche, le sous-type Immunity Low TNBC a été appauvri dans les signatures immunitaires, mais enrichi en signalisation Hippo, (47).

Notre étude a mis en évidence une expression plus fréquente de YAP dans les grade II et III et de TAZ dans les grade III dans l'ensemble des deux populations. De plus, l'expression nucléaire de YAP était associée à une métastase synchrone au diagnostic (stade IV). Nous suggérons aussi qu'ils puissent être utilisés comme marqueurs d'agressivité histologiques dans l'ensemble de la population métastatique.

Il est intéressant de noter que dans la population avec métastase cérébrale, l'expression nucléaire de YAP était associée à une métastase cérébrale synchrone au diagnostic.

Si aucun cut-off n'a pu être déterminé par notre analyse, il serait intéressant d'étudier la faisabilité d'un score, pour pourvoir l'appliquer en routine, afin d'orienter les différentes classes moléculaires et pour évoquer une tendance des tumeurs à présenter des paramètres histologiques péjoratifs.

Toutefois, il serait intéressant de regarder l'expression de YAP et de TAZ dans une population non métastatique.

2. Thérapeutique en développement

Grâce à sa diaphonie avec d'autres voies de signalisation oncogènes et processus biologiques, YAP et TAZ sont des cibles médicamenteuses prometteuses dans le cancer du sein métastatique.

Contrairement au cancer du sein de type récepteurs hormonaux positifs ou de type HER2 , il existe actuellement des cibles thérapeutiques limitées pour le cancer du sein triple négatif. YAP TAZ pourrait être l'un des candidats de cible thérapeutique potentielle.

Le cancer du sein triple négatif (TNBC) est défini par l'absence d'expression de RE, RP et HER2 par immunohistochimie, ce qui entraîne des options thérapeutiques ciblées limitées. Il s'agit d'un groupe hétérogène de tumeurs avec des facteurs moléculaires et des pronostics différents. En fonction des profils d'expression génique, une classification du TNBC dans les quatre sous-types spécifiques à la tumeur suivants (TNBC type-4) a été développée : basal-like 1 et basal-like 2 (qui diffèrent par la réponse immunitaire), mésenchymateux et luminal RA. Ces sous-types présentent des profils histopronostiques de survie distincts et une sensibilité à la chimiothérapie néoadjuvante. La combinaison d'analyses de profilage d'ARN et d'ADN produit également quatre sous-types distincts : RA luminal, mésenchymateux, immunodéprimé de type basal et immunoactivé de type basal. Chaque sous-type présente des cibles spécifiques pour le traitement (par exemple RA et la mucine de surface cellulaire EMA (MUC1) dans le sous-type RA luminal) et un pronostic différent (par exemple, le sous-type immuno-activé de type basal a un meilleur pronostic que le sous-type immunodéprimé de type basal) (16).

L'inhibiteur de la kinase SRC dasatinib est capable d'inhiber la localisation et la stabilisation nucléaires de YAP1 en réduisant la phosphorylation de YAP1 médiée par Yes.Un essai de phase II a examiné l'efficacité et l'innocuité du dasatinib en monothérapie chez des patients non sélectionnés atteints d'un cancer du sein triple négatif avancé. Cependant, le résultat a montré que l'effet du dasatinib en monothérapie est assez limité. Des études ont montré que le taxol peut également inactiver TAZ/YAP en activant CDK1. (48) Il a été rapporté que la protéine 4 contenant du bromodomaine (BRD4), une protéine de liaison à la chromatine, est capable de réguler l'activité transcriptionnelle de YAP/TAZ. Un puissant inhibiteur de BRD4 nommé BAY1238097 a été testé dans des lignées cellulaires humaines TNBC et a montré un effet antitumoral satisfaisant, qui pourrait offrir de nouvelles perspectives sur le traitement des patients TNBC par modulation de YAP/TAZ. (49) Aucun agent ciblant Hippo n'a encore été approuvé pour une utilisation clinique pour le cancer du sein, donc pour découvrir leurs doses et leurs stratégies de combinaison, nous avons encore un long chemin à parcourir (34).

La recherche de nouvelles cibles médicamenteuses constitue un enjeu fondamental pour traiter efficacement, en particulier dans le cancer du sein avec métastases cérébrales. Nos données semblent suggérer que YAP pourrait être une cible thérapeutique intéressante chez les patientes avec métastases cérébrales en particulier les triples négatives. TAZ pourrait être une cible thérapeutique intéressante chez les patientes avec métastases cérébrales HER2 +.

CONCLUSION

Notre étude est, à notre connaissance, la première à analyser à la fois l'expression de YAP1 et de TAZ dans une cohorte de cancer du sein métastatique. Les protéines YAP et TAZ ont été exprimées différemment selon les sous-types moléculaires du cancer du sein.

Nos données suggèrent que chez ces patients, l'utilisation de YAP et TAZ comme marqueur pertinent pour orienter la classification moléculaire (ils seraient faiblement exprimés chez les patientes RH + et plus élevé chez les triples négatifs).

Une expression nucléaire de YAP et de TAZ serait associée à des caractéristiques histologiques agressives : YAP serait associé à un grade II/ III et à un stade IV au diagnostic. De plus, dans le sous groupe avec métastases cérébrales, une expression nucléaire de YAP serait associée à une métastase cérébrale synchrone.

Une expression nucléaire TAZ serait associée à un grade III au diagnostic.

YAP et TAZ pourraient être des candidats de cible thérapeutique chez les cancers du sein métastatiques.

Il est nécessaire de réaliser des études complémentaires avec des cohortes de plus grand effectif afin de confirmer nos résultats.

BIBLIOGRAPHIE

1. Liu B, Zhang X. **Metabolic Reprogramming Underlying Brain Metastasis of Breast Cancer**.Frontiers in Molecular Biosciences. 2022 [cité 7 sept 2022];8. Disponible sur: https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmolb.2021.791927/full.

2. Bailleux C, Eberst L, Bachelot T. **Treatment strategies for breast cancer brain metastases**. Br J Cancer. 2021;124 :142–55.

3. Weil RJ, Palmieri DC, Bronder JL, Stark AM, Steeg PS. **Breast Cancer Metastasis to the Central Nervous System**. Am J Pathol. 2005;167: 913–20.

4. Provot S. **Contrôle de la croissance et de la dissémination tumorales par le microenvironnement - Certitudes et hypothèses émergentes.** médecine/sciences. 2014 ;30 :366–71.

5. Hicks DG, Short SM, Prescott NL, Tarr SM, Coleman KA, Yoder BJ, et al. **Breast cancers with brain metastases are more likely to be estrogen receptor negative, express the basal cytokeratin CK5/6, and overexpress HER2 or EGFR.** Am J Surg Pathol. 2006; 30 :1097–104.

6. Wei B, Wang J, Bourne P, Yang Q, Hicks D, Bu H, et al. **Bone metastasis is strongly associated with estrogen receptor-positive/progesterone receptor-negative breast carcinomas.** Hum Pathol. 2008;39:1809–15.

7. Kim HM, Jung WH, Koo JS. **Expression of Yes-associated protein (YAP) in metastatic breast cancer**. Int J Clin Exp Pathol. 2015;8 :11248–57.

8. Bartucci M, Dattilo R, Moriconi C, Pagliuca A, Mottolese M, Federici G, et al. T**AZ is required for metastatic activity and chemoresistance of breast cancer stem cells.** Oncogene. 2015 ; 34 : 681–90.

9. Changran Wei, Wang Y, Li X. **The role of Hippo signal pathway in breast cancer metastasis**. OncoTargets Ther. 2018; 11:2185–93.

10. Rapport - Volume 1 - **Tumeurs solides - Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018** - juillet 2019 - Ref : RATSINCNAT19.

11. Bombonati A, Sgroi DC. T**he molecular pathology of breast cancer progression.** J Pathol. 2011;223 : 307–17.

12. Lopez-Garcia MA, Geyer FC, Lacroix-Triki M, Marchió C, Reis-Filho JS. **Breast cancer precursors revisited: molecular features and progression pathways.** Histopathology. 2010; 57 :171–92.

13. Cancer Genome Atlas Network. **Comprehensive molecular portraits of human breast tumours**. Nature. 2012 ;49 : 61–70.

14. Natrajan R, Lambros MBK, Geyer FC, Marchio C, Tan DSP, Vatcheva R, et al. L**oss of 16q in high grade breast cancer is associated with estrogen receptor status: Evidence for progression in tumors with a luminal phenotype? Genes Chromosomes Cancer**. 2009 ;48 :351–65.

15. Sgroi DC. **Preinvasive breast cancer**. Annu Rev Pathol. 2010;5:193–221.

16. Rakha EA, Allison KH, Ellis IO, Horii R. **World Health Organization: classification of breast tumors. Invasive breast carcinoma : general overview.** 2019; 2 : 82-01.

17. Kurozumi S, Matsumoto H, Hayashi Y, Tozuka K, Inoue K, Horiguchi J, et al. **Power of PgR expression as a prognostic factor for ER-positive/HER2-negative breast cancer patients at intermediate risk classified by the Ki67 labeling index.** BMC Cancer. 2017;17 :354.

18. Salgado R, Denkert C, Campbell C, Savas P, Nuciforo P, Nucifero P, et al. **Tumor-Infiltrating Lymphocytes and Associations With Pathological Complete Response and Event-Free Survival in HER2-Positive Early-Stage Breast Cancer Treated With Lapatinib and Trastuzumab: A Secondary Analysis of the NeoALTTO Trial**. JAMA Oncol. 2015;1:448–54.

19. Salgado R, Denkert C, Demaria S, Sirtaine N, Klauschen F, Pruneri G, et al. **The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014.** Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol. 2015 ;26 :259–71.

20. Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, Covington KR, Contreras A, Fuqua SAW, et al. **Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer.** Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2015 ;21:1688–98.

21. Dowsett M, Nielsen TO, A'Hern R, Bartlett J, Coombes RC, Cuzick J, et al. **Assessment of Ki67 in breast cancer: recommendations from the International Ki67 in Breast Cancer working group.** J Natl Cancer Inst. 2011;103:1656–64.

22. Regan MM, Francis PA, Pagani O, Fleming GF, Walley BA, Viale G, et al. **Absolute Benefit of Adjuvant Endocrine Therapies for Premenopausal Women With Hormone Receptor-Positive, Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Early Breast Cancer:** TEXT and SOFT Trials. J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol. 2016 ;34 :2221–31.

23. Soliman NA, Yussif SM. **Ki-67 as a prognostic marker according to breast cancer molecular subtype.** Cancer Biol Med. 2016;13:496–504.

24. Bozovic-Spasojevic I, Zardavas D, Brohée S, Ameye L, Fumagalli D, Ades F, et al. **The Prognostic Role of Androgen Receptor in Patients with Early-Stage Breast Cancer: A Meta-analysis of Clinical and Gene Expression Data.** Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res. 2017 ; 23 :2702–12.

25. Giovannelli P, Di Donato M, Galasso G, Di Zazzo E, Bilancio A, Migliaccio A. **The Androgen Receptor in Breast Cancer.** Front Endocrinol. 2018; 9 :492.

26. **Harbeck N, Gnant M. Breast cancer.** The Lancet. 2017 Mar 18;389(10074):1134–50.

27. Guo L, Chen Y, Luo J, Zheng J, Shao G. **YAP1 overexpression is associated with poor prognosis of breast cancer patients and induces breast cancer cell growth by inhibiting PTEN.** FEBS Open Bio. 2019;9 :437–45.

28. Xiao Y, Dong J. **The Hippo Signaling Pathway in Cancer: A Cell Cycle Perspective. Cancers. 2021;**13:6214.

29. Anastasios Kyriazoglou, Liontos M, Zakopoulou R, Kaparelou M, Tsiara A, Papatheodoridi AM, et al. **The Role of the Hippo Pathway in Breast Cancer Carcinogenesis, Prognosis, and Treatment:** A Systematic Review. Breast Care. 2021;16 :6–15.

30. Ma S, Meng Z, Chen R, Guan KL. **The Hippo Pathway: Biology and Pathophysiology. Annu Rev Biochem.** 2019;88 :577–604.

31. Zanconato F, Meng Z, Chen R, Guan KL. **YAP/TAZ at the Roots of Cancer. Cancer Cell.** 2016 ;29 :783–803.

32. Pan D. **The Hippo Signaling Pathway in Development and Cancer. Dev Cell**. 2010;19 :491–505.

33. Zhao W, Wang M, Cai M, Zhang C, Qiu Y, Wang X, et al. Transcriptional co-activators YAP/TAZ: **Potential therapeutic targets for metastatic breast cancer.** Biomed Pharmacother. 2021;133:110956.

34. Wu L, Yang X. **Targeting the Hippo Pathway for Breast Cancer Therapy.** Cancers. 2018 ;10 :422.

35. Chang SS, Yamaguchi H, Xia W, Lim SO, Khotskaya Y, Wu Y, et al. **Aurora A kinase activates YAP signaling in triple-negative breast cancer.** Oncogene. 2017;36:1265–75.

36. Tufail R, Jorda M, Zhao W, Reis I, Nawaz Z. **Loss of Yes-associated protein (YAP) expression is associated with estrogen and progesterone receptors negativity in invasive breast carcinomas.** Breast Cancer Res Treat. 2012;131:743–50.

37. Ding N, Huang T, Yuan J, Mao J, Duan Y, Liao W, et al. **Yes-associated protein expression in paired primary and local recurrent breast cancer and its clinical significance.** Curr Probl Cancer. 2019 1;43 : 429–37.

38. Cao L, Sun PL, Yao M, Jia M, Gao H. **Expression of YES-associated protein (YAP) and its clinical significance in breast cancer tissues.** Hum Pathol. 2017 t;68:166–74.

39. Yousefi H, Delavar MR, Piroozian F, Baghi M, Nguyen K, Cheng T, et al. **Hippo signaling pathway: A comprehensive gene expression profile analysis in breast cancer.** Biomed Pharmacother. 2022 ;151:113144.

40. Altman DG, Lausen B, Sauerbrei W, Schumacher M. **Dangers of Using "Optimal" Cutpoints in the Evaluation of Prognostic Factors.** JNCI J Natl Cancer Inst. 1994 ;86(11):829–35.

41. **Genome-wide association between YAP/TAZ/TEAD and AP-1 at enhancers drives oncogenic growth.**Nature Cell Biology.

42. Lehn S, Tobin NP, Sims AH, Stål O, Jirström K, Axelson H, et al. **Decreased expression of Yes-associated protein is associated with outcome in the luminal A breast cancer subgroup and with an impaired tamoxifen response.** BMC Cancer. 2014 ;14:119.

43. Cha YJ, Bae SJ, Kim D, Ahn SG, Jeong J, Koo JS, et al. **High Nuclear Expression of Yes-Associated Protein 1 Correlates With Metastasis in Patients With Breast Cancer.** Front Oncol. 2021;11:82.

44. Zhao B, Lei QY, Guan KL. **The Hippo-YAP pathway: new connections between regulation of organ size and cancer.** Curr Opin Cell Biol. 2008 Dec;20(6):638–46.

45. Cordenonsi M, Zanconato F, Azzolin L, Forcato M, Rosato A, Frasson C, et al. **The Hippo Transducer TAZ Confers Cancer Stem Cell-Related Traits on Breast Cancer Cells. Cell.** 2011;147:759–72.

46. Guo L, Zheng J, Zhang J, Wang H, Shao G, Teng L. **Knockdown of TAZ modifies triple-negative breast cancer cell sensitivity to EGFR inhibitors by regulating YAP expression**. Oncol Rep. 2016 1;36 :729–36.

47. He Y, Jiang Z, Chen C, Wang X. **Classification of triple-negative breast cancers based on Immunogenomic profiling.** Journal of Experimental & Clinical Cancer Research.2018;37:327.

48. Zhao Y, Yang X. **Regulation of sensitivity of tumor cells to antitubulin drugs by Cdk1-TAZ signalling**. Oncotarget. 2015;6 :21906–17.

49. Zanconato F, Battilana G, Forcato M, Filippi L, Azzolin L, Manfrin A, et al. **Transcriptional addiction in cancer cells is mediated by YAP/TAZ through BRD4**. Nat Med. 2018 ;24 :1599–610.

ANNEXES

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé	p= 0,0001
Cancer du sein sans MC	63	37	
Cancer du sein avec MC	57	43	
Métastase cérébrale	31	69	

Tableau 3 : comparaison de l'expression de YAP dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales, dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales, et dans le tissu cérébral.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé	p= 0,0392
RE -	71	29	
RE +	57	43	

Tableau 4 : localisation de YAP selon le statut hormonal RE.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé	p= 0,0156
Grade I	50	50	
Grade II	68	50	
Grade III	51	49	

Tableau 5 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon le grade au diagnostic.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé	p= 0,0327
Stade I & II	55	45	
Stade III	42	58	
Stade IV	69	31	

Tableau 6 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon le stade au diagnostic.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p= 0,0414
Triple négative / basal-like	74	26
HER2+ RH-	57	43
HER2+ RH+	62	38
HER2- RH+	57	43

Tableau 7 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon la classification moléculaire.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p <0,0001
Stade I & II	50	50
Stade III	35	65
Stade IV	77	23

Tableau 8 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon le stade au diagnostic chez les patientes avec métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p <0,0001
Triple négative / basal-like	76	24
HER2+ RH-	40	60
HER2+ RH+	43	57
HER2- RH+	56	44

Tableau 9 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon la classification moléculaire chez les patientes avec métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p < 0,0001
Synchrone	100	0
Métachrone	52	48

Tableau 10 : expression de YAP en fonction du caractère synchrone ou métachrone de la métastase cérébrale.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p= 0,406
Stade I & II	64	36
Stade III	56	44
Stade IV	64	36

Tableau 11 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon le stade au diagnostic chez les patientes sans métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé p <0,0001
Triple négative / basal-like	67	33
HER2+ RH-	100	0
HER2+ RH+	83	17
HER2- RH+	58	42

Tableau 12 : expression nucléaire de YAP dans le tissu mammaire selon la classification moléculaire chez les patientes sans métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé p= 0,7557
Cancer du sein sans MC	53	47
Cancer du sein avec MC	48	52
Métastase cérébrale	52	48

Tableau 13 : comparaison de l'expression de TAZ dans le tissu mammaire avec métastases cérébrales, dans le tissu mammaire sans métastases cérébrales, et dans le tissu cérébral.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p <0,0001
RE -	79	21
RE +	40	60

Tableau 14 : localisation de TAZ selon le statut hormonal RE.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p= 0,0072
RP-	61	39
RP+	42	58

Tableau 15 : localisation de TAZ selon le statut hormonal RP.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé p= 0,0066
HER2 -	48	52
HER2+	67	33

Tableau 16: localisation de TAZ selon le statut HER2.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p= 0,0262
Grade I	44	56
Grade II	43	57
Grade III	60	40

Tableau 17 : localisation de TAZ selon le grade.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p= 0,1249
Stade I & II	56	44
Stade III	52	48
Stade IV	42	58

Tableau 18 : localisation de TAZ selon le stade au diagnostic.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé p <0,0001
Triple négative / basal-like	79	21
HER2+ RH-	71	29
HER2+ RH+	55	45
HER2- RH+	41	59

Tableau 19 : localisation de TAZ selon la classification moléculaire.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé p= 0,3886
Stade I & II	55	45
Stade III	47	53
Stade IV	51	59

Tableau 20 : expression nucléaire de TAZ dans le tissu mammaire selon le stade au diagnostic chez les patientes avec métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé p <0,0001
Triple négative / basal-like	69	31
HER2+ RH-	80	20
HER2+ RH+	64	33
HER2- RH+	31	69

Tableau 21 : expression nucléaire de TAZ dans le tissu mammaire selon la classification moléculaire chez les patientes avec métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique ou Non-exprimé
Synchrone	57	43
Métachrone	46	54

Tableau 22 : expression de TAZ en fonction du caractère synchrone ou métachrone de la métastase cérébrale.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé p= 0,1196
Stade I & II	57	43
Stade III	62	38
Stade IV	43	57

Tableau 23 : expression nucléaire de TAZ dans le tissu mammaire selon le stade initial au diagnostic chez les patientes sans métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé p <0,0001
Triple négative / basal-like	100	0
HER2+ RH-	50	50
HER2+ RH+	40	60
HER2- RH+	48	52

Tableau 24 : localisation de TAZ dans le tissu mammaire selon la classification moléculaire chez les patientes sans métastases cérébrales.

	Nucléaire	Cytoplasmique or Non-exprimé	p < 0,0001
Cancer du sein	0	100	
Métastase cérébrale	43	57	

Tableau 25 : localisation de YAP dans le tissu mammaire et cérébral apparié

	Nucléaire	Cytoplasmic or Non-exprimé	p= 0,0637
Cancer du sein	37	63	
Métastase cérébrale	50	50	

Tableau 26 : localisation de TAZ dans le tissu mammaire et cérébral apparié.

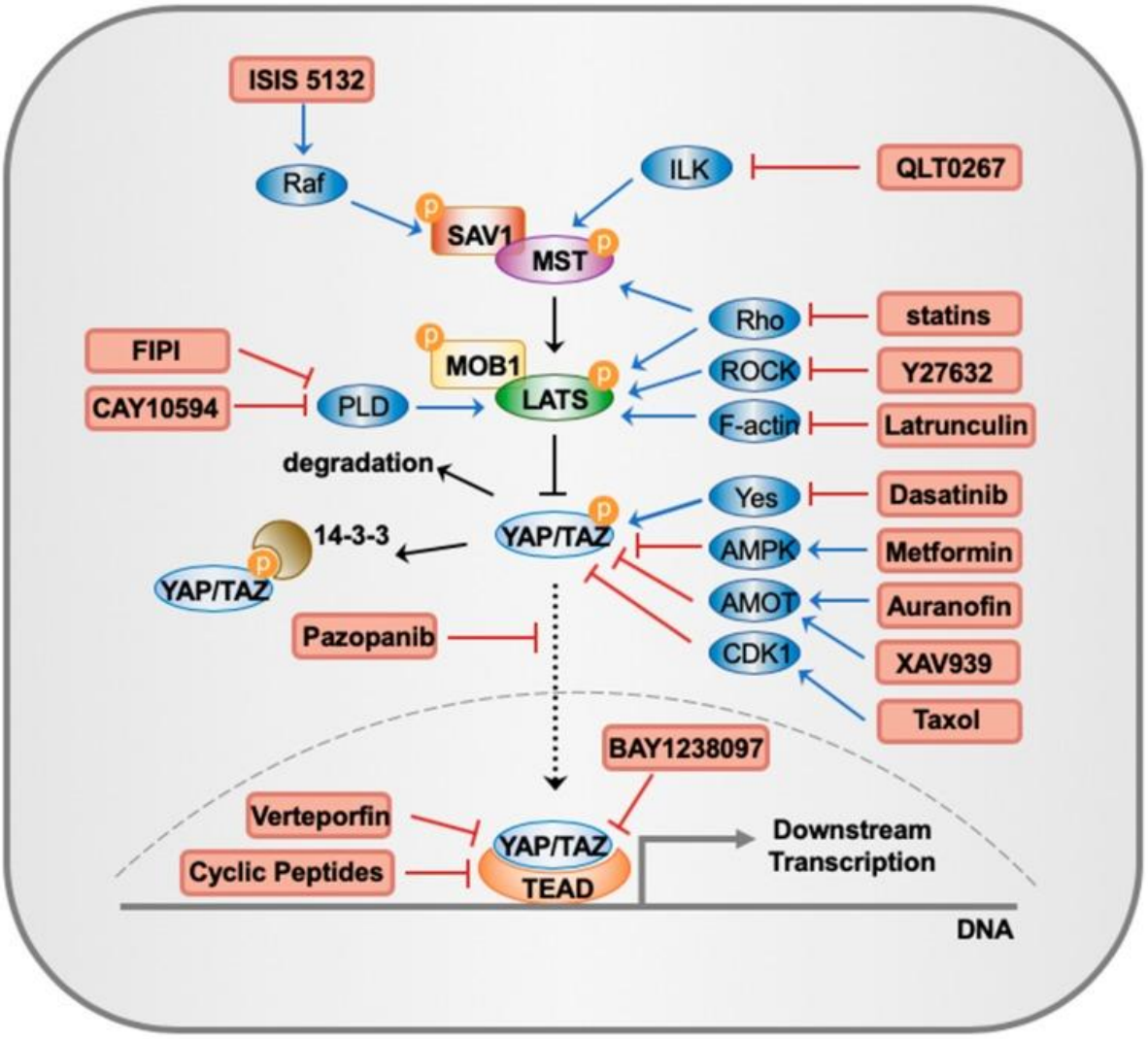


Figure 51 : principaux composants de la voie Hippo et des inhibiteurs actuels ciblant Hippo.

RÉSUMÉ

CONTEXTE : L'incidence des cancers du sein métastatique cérébral a augmenté au cours des dernières années. À ce jour, le manque de traitements efficaces pour les métastases cérébrales constitue un défi majeur. Les composants de la voie Hippo peuvent servir de biomarqueurs prédictifs et de cibles thérapeutiques pour le traitement du cancer du sein. La relation entre l'expression de YAP/TAZ et différents sous-types histomoléculaires de cancer du sein reste encore incertaine. De plus, il a été suggéré que YAP est capable de fonctionner comme un oncogène ou un gène suppresseur de tumeur. La dérégulation de la voie de signalisation Hippo semble également conférer une chimiorésistance accrue aux cellules cancéreuses. L'objectif principal de l'étude était d'étudier les associations entre l' expression des anticorps YAP1 et de TAZ et les caractéristiques histologiques, cliniques et les taux de survie, dans le tissu mammaire primitif, chez des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique cérébrale.

MÉTHODES : Nous avons mené une étude rétrospective et monocentrique. Les dossiers de cancer du sein avec métastases cérébrales diagnostiquées entre le 01 janvier 2009 et le 31/12/2019 au CHU de Poitiers, ont été retenus pour cette étude. Les dossiers anatomopathologiques de cancer du sein, avec métastases (sans métastases cérébrales) biopsiées ou opérées entre le 01 janvier 2009 et le 31/12/2019 dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Poitiers, ont été retenus pour cette étude. Nous avons utilisé la technique TMA pour étudier l'expression de YAP et de TAZ.

RESULTATS : Au total, 175 patients ont été inclus. La présente étude montre dans l'ensemble des deux populations, que la localisation nucléaire de YAP était plus fréquente dans la population RE- (p= 0,0392), les grade II et III (p= 0,0156), chez les stades IV au diagnostic (p= 0,0327) et chez les triples négatifs/ basal like (p= 0,0414). Dans le sous groupe avec métastases cérébrales, l'expression nucléaire de YAP était plus fréquente chez les stades IV au diagnostic (p< 0,0001) et dans le sous groupe moléculaire triple négatif / basal like (p< 0,0001). Une expression nucléaire de YAP était plus fréquemment associée à une métastase cérébrale synchrone (p< 0,0001). L'expression nucléaire de TAZ était plus fréquente dans la population RE- (p< 0,0001), RP- (p=0,0072) et HER2 +(p=0,0066), chez les grades III (p= 0,0262) et les triples négatifs (p< 0,0001). Dans le sous groupe avec métastases cérébrales, il y avait une expression plus fréquente de TAZ dans le sous groupe HER2 + (p< 0,0001).

CONCLUSIONS : Notre étude est, à notre connaissance, la première à analyser à la fois l'expression de YAP1 et de TAZ dans une cohorte de cancer du sein métastatique. Nos données suggèrent que chez ces patients, l'utilisation de YAP et TAZ comme marqueur pertinent pour orienter la classification moléculaire. Une expression nucléaire de YAP et de TAZ serait associée à des caractéristiques histologiques agressives : YAP serait associé à un grade II/ III et à un stade IV au diagnostic. De plus, dans le sous groupe avec métastases cérébrales, une expression nucléaire de YAP serait associée à une métastase cérébrale synchrone . Une expression nucléaire de TAZ serait associée à un grade III au diagnostic. YAP et TAZ pourraient être des candidats de cible thérapeutique chez les cancers du sein métastatiques. Il est nécessaire de réaliser des études complémentaires avec des cohortes de plus grand effectif afin de confirmer nos résultats.

Mots clés : cancer du sein métastatique, métastase cérébrale, YAP, TAZ, survie, caractéristiques clinicohistologiques, TMA, Immunohistochimie.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette école, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !

RÉSUMÉ

CONTEXTE : L'incidence des cancers du sein métastatique cérébral a augmenté au cours des dernières années. À ce jour, le manque de traitements efficaces pour les métastases cérébrales constitue un défi majeur. Les composants de la voie Hippo peuvent servir de biomarqueurs prédictifs et de cibles thérapeutiques pour le traitement du cancer du sein. La relation entre l'expression de YAP/TAZ et différents sous-types histomoléculaires de cancer du sein reste encore incertaine. De plus, il a été suggéré que YAP est capable de fonctionner comme un oncogène ou un gène suppresseur de tumeur. La dérégulation de la voie de signalisation Hippo semble également conférer une chimiorésistance accrue aux cellules cancéreuses. L'objectif principal de l'étude était d'étudier les associations entre l' expression des anticorps YAP1 et de TAZ et les caractéristiques histologiques, cliniques et les taux de survie, dans le tissu mammaire primitif, chez des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique cérébrale.

MÉTHODES : Nous avons mené une étude rétrospective et monocentrique. Les dossiers de cancer du sein avec métastases cérébrales diagnostiquées entre le 01 janvier 2009 et le 31/12/2019 au CHU de Poitiers, ont été retenus pour cette étude. Les dossiers anatomopathologiques de cancer du sein, avec métastases (sans métastases cérébrales) biopsiées ou opérées entre le 01 janvier 2009 et le 31/12/2019 dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Poitiers, ont été retenus pour cette étude. Nous avons utilisé la technique TMA pour étudier l'expression de YAP et de TAZ.

RESULTATS : Au total, 175 patients ont été inclus. La présente étude montre dans l'ensemble des deux populations, que la localisation nucléaire de YAP était plus fréquente dans la population RE- (p= 0,0392), les grade II et III (p= 0,0156), chez les stades IV au diagnostic (p= 0,0327) et chez les triples négatifs/ basal like (p= 0,0414). Dans le sous groupe avec métastases cérébrales, l'expression nucléaire de YAP était plus fréquente chez les stades IV au diagnostic (p< 0,0001) et dans le sous groupe moléculaire triple négatif / basal like (p< 0,0001). Une expression nucléaire de YAP était plus fréquemment associée à une métastase cérébrale synchrone (p< 0,0001). L'expression nucléaire de TAZ était plus fréquente dans la population RE- (p< 0,0001), RP- (p=0,0072) et HER2 +(p=0,0066), chez les grades III (p= 0,0262) et les triples négatifs (p< 0,0001). Dans le sous groupe avec métastases cérébrales, il y avait une expression plus fréquente de TAZ dans le sous groupe HER2 + (p< 0,0001).

CONCLUSIONS : Notre étude est, à notre connaissance, la première à analyser à la fois l'expression de YAP1 et de TAZ dans une cohorte de cancer du sein métastatique. Nos données suggèrent que chez ces patients, l'utilisation de YAP et TAZ comme marqueur pertinent pour orienter la classification moléculaire. Une expression nucléaire de YAP et de TAZ serait associée à des caractéristiques histologiques agressives : YAP serait associé à un grade II/ III et à un stade IV au diagnostic. De plus, dans le sous groupe avec métastases cérébrales, une expression nucléaire de YAP serait associée à une métastase cérébrale synchrone . Une expression nucléaire de TAZ serait associée à un grade III au diagnostic. YAP et TAZ pourraient être des candidats de cible thérapeutique chez les cancers du sein métastatiques. Il est nécessaire de réaliser des études complémentaires avec des cohortes de plus grand effectif afin de confirmer nos résultats.

Mots clés : cancer du sein métastatique, métastase cérébrale, YAP, TAZ, survie, caractéristiques clinicohistologiques, TMA, Immunohistochimie.