



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2020

Thèse N° 161

**Expression de la protéine PDL-1 en
immunohistochimie dans les cancers broncho-
pulmonaire non à petite cellules**

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 18/09/2020

PAR

Mlle . ACILA HANDA

Née le 10 décembre 1993 A SAFI

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS

Cancer broncho-pulmonaire -Immunohistochimie-PDL-1-ALK-FISH

JURY

Mme.	L.AMRO Professeur de Pneumologie-phtisiologie	PRESIDENT
Mme.	H.RAIS Professeur d'anatomie pathologie	RAPPORTEUR
Mme.	M.KHOUCHANI Professeur de Radiothérapie	JUGES
M.	A.FAKHRI Professeur d'Histologie- embyologie cytogénétique	
M.	Y.MSOUGUER Professeur de chirurgie thoracique	

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale.

Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948



**LISTE DES
PROFESSEURS**



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires

: Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen

: Pr. Mohammed BOUSKRAOUI

Vice doyen à la Recherche et la Coopération

: Pr. Mohamed AMINE

Vice doyen aux Affaires Pédagogiques

: Pr. Redouane EL FEZZAZI

Secrétaire Générale

: Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato- orthopédie	FAKHIR Bouchra	Gynécologie- obstétrique
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie- réanimation	FINECH Benasser	Chirurgie - générale
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FOURAJI Karima	Chirurgie pédiatrique
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie- obstétrique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ABOUSSAIR Nistrine	Génétique	GHOUNDALE Omar	Urologie
ADALI Imane	Psychiatrie	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
ADERDOUR Lahcen	Oto- rhino- laryngologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HAROU Karam	Gynécologie- obstétrique
AGHOUTANE EI Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	JALAL Hicham	Radiologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KAMILI EI Ouafi EI Aouni	Chirurgie pédiatrique
AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie- réanimation
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHATOURI Ali	Cardiologie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
ALAOUI Mustapha	Chirurgie- vasculaire péripherique	KISSANI Najib	Neurologie
AMAL Said	Dermatologie	KOULALI IDRISSE Khalid	Traumato- orthopédie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino-laryngologie	KRIET Mohamed	Ophtalmologie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	LAKMACHI Mohamed Amine	Urologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie -Virologie	LAOUAD Inass	Néphrologie

ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique	LOUHAB Nisrine	Neurologie
ASRI Fatima	Psychiatrie	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie - générale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie
BASSIR Ahlam	Gynécologie- obstétrique	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BELKHOUE Ahlam	Rhumatologie	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et Plastique	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BENELKHAÏAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MOUFID Kamal	Urologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUAITY Brahim	Oto-rhino- laryngologie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo- phtisiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BOUGHALEM Mohamed	Anesthésie - réanimation	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie- obstétrique	NARJISS Youssef	Chirurgie générale
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	NEJMI Hicham	Anesthésie- réanimation
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	NIAMANE Radouane	Rhumatologie
BOURRAHOUE Aïcha	Pédiatrie	NOURI Hassan	Oto rhino laryngologie
BOURROUS Monir	Pédiatrie	OUALI IDRISSE Mariem	Radiologie
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie pédiatrique
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie	QACIF Hassan	Médecine interne
CHAKOUR Mohamed	Hématologie Biologique	QAMOUSS Youssef	Anesthésie- réanimation
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	RABBANI Khalid	Chirurgie générale
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	RADA Nouredine	Pédiatrie
CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAJI Abdelaziz	Oto-rhino-laryngologie

DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino- laryngologie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie- réanimation	SAIDI Halim	Traumato- orthopédie
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Anesthésie- réanimation
EL BARNI Rachid	Chirurgie- générale	SAMLANI Zouhour	Gastro- entérologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SARF Ismail	Urologie
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SORAA Nabila	Microbiologie – Virologie
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SOUMMANI Abderraouf	Gynécologie- obstétrique
EL HAOURY Hanane	Traumato- orthopédie	TASSI Noura	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TAZI Mohamed Illias	Hématologie- clinique
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie	YOUNOUS Said	Anesthésie- réanimation
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie – virologie
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Médecine interne
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies	ZIADI Amra	Anesthésie – réanimation
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Microbiologie
ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne	ZYANI Mohammed	Médecine interne
FADILI Wafaa	Néphrologie		

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo facial	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie – Embryologie – Cytogénétique
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
AISSAOUI Younes	Anesthésie – réanimation	KADDOURI Said	Médecine interne
AIT BATAHAR Salma	Pneumo- phtisiologie	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
ALJ Soumaya	Radiologie	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
ATMANE El Mehdi	Radiologie	MARGAD Omar	Traumatologie – orthopédie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale

BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo- phtisiologie	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BENALI Abdeslam	Psychiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	RBAIBI Aziz	Cardiologie
CHRAA Mohamed	Physiologie	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation
EL HAOUATI Rachid	Chirurgie Cardiovasculaire	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
EL MEZOUARI EI Moustafa	Parasitologie Mycologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
FAKHRI Anass	Histologie- embyologie cytogénétique	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
GHAZI Mirieme	Rhumatologie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	ELOUARDI Youssef	Anesthésie réanimation
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	ELQATNI Mohamed	Médecine interne
AIT ERRAMI Adil	Gastro-entérologie	ESSADI Ismail	Oncologie Médicale
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	FDIL Naima	Chimie de Coordination Bioorganique
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique
AMINE Abdellah	Cardiologie	GHOZLANI Imad	Rhumatologie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	HAJJI Fouad	Urologie
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	HAMMI Salah Eddine	Médecine interne
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	Hammoune Nabil	Radiologie
AZIZ Zakaria	Stomatologie et chirurgie maxillo faciale	JALLAL Hamid	Cardiologie

BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
BELARBI Marouane	Néphrologie	LAHLIMI Fatima Ezzahra	Hématologie clinique
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	LAHMINE Widad	Pédiatrie
BELGHMAIDI Sarah	OPhtalmologie	LALYA Issam	Radiothérapie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie – Réanimation	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
BELLASRI Salah	Radiologie	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale
BENANTAR Lamia	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie – Virologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie – Orthopédie	NASSIH Houda	Pédiatrie
BOUTAKIOUTE Badr	Radiologie	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	NYA Fouad	Chirurgie Cardio – Vasculaire
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
CHETTATI Mariam	Néphrologie	OUMERZOUK Jawad	Neurologie
DAMI Abdallah	Médecine Légale	RAISSI Abderrahim	Hématologie clinique
DOUIREK Fouzia	Anesthésie–réanimation	REBAHI Houssam	Anesthésie – Réanimation
EL- AKHIRI Mohammed	Oto- rhino- laryngologie	RHARRASSI Isam	Anatomie–patologique
EL AMIRI My Ahmed	Chimie de Coordination bio-organique	SAOUAB Rachida	Radiologie
EL FADLI Mohammed	Oncologie médicale	SAYAGH Sanae	Hématologie
EL FAKIRI Karima	Pédiatrie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
EL HAKKOUNI Awatif	Parasitologie mycologie	TAMZAOURTE Mouna	Gastro – entérologie
EL HAMZAOUI Hamza	Anesthésie réanimation	WARDA Karima	Microbiologie
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	ZBITOU Mohamed Anas	Cardiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio-vasculaire

LISTE ARRÊTÉE LE 24/09/2019



DÉDICACES



*«Soyons reconnaissants aux personnes qui nous donnent du bonheur,
elles sont les charmants jardiniers par qui nos âmes sont fleuries»*

Marcel Proust.



*Je me dois d'avouer pleinement ma reconnaissance à toutes les personnes
qui m'ont soutenue durant mon parcours et qui ont su me hisser vers le
haut pour atteindre mon objectif. C'est avec amour, respect et gratitude
que je leur dédie cette thèse ...*

الله

{اللهم لك الحمد كما ينبغي لجلال وجهك وعظيم
سلطانك}

A MON TRÈS CHER PAPA:
Mr. Abdelmoula HANDA

L'homme de ma vie, et a qui je dois toute ma vie .

Mon abri ... mon refuge ... mon école

Tu as fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Aucun mot ne saurait exprimer mon amour et ma considération pour ta personne, pour les sacrifices que tu as consentis pour mon éducation, mon instruction et mon bien être.

Ton honnêteté, ta droiture, ton ardeur au travail et tes grandes qualités humaines sont pour moi un exemple à suivre.

Tu as toujours eu les bons mots pour les bonnes situations, le sage de la famille, derrière ton aspect ferme se cache un cœur d'or.

Tu m'as appris que la famille est la priorité, tu m'as appris une voie de vie, que j'applique et appliquerais toujours.

Ce modeste travail est une occasion pour t'exprimer mon profond amour et ma grande gratitude.

Mon formidable Papa, tu es un excellent laboureur, et j'espère être une récolte honorable. Que dieu te garde, te donne longue vie et te récompense pour tout ce que tu as fait pour moi .

A MON ADORABLE MAMAN:

Mme. KHADIJA ELMKADMI

Que serait ma vie sans toi maman ?

Nourrie par tes qualités et enseignements, je ne peux qu'être heureuse.

Tu m'as toujours comblé d'amour, de tendresse et d'affection. Tu es la lumière qui jaillit dans mes jours et mes nuits.

Tu as usé de ta santé par tant de sacrifices... j'en suis reconnaissant.

Tes prières, tes encouragements et tes câlins ont été pour moi d'un grand soutien moral au long de mes études.

Une vie entière ne suffirait à te rendre cet amour et dévotion.

Ce modeste travail paraît bien dérisoire pour traduire une reconnaissance infinie envers une mère aussi merveilleuse dont je suis fier d'être le fils.

Puisse Dieu tout puissant, t'accorder longévité et bonne santé. Je t'aime plus que tu ne peux l'imaginer.

A MON FRÈRE MAROUANE HANDA

Le meilleur frère qu'on puisse avoir, tu es le petit et le grand frère à la fois.

Nous sommes complices, complémentaires et solidaires même si tu refuses de l'admettre ;) Tu m'as toujours été d'une incroyable aide, parfois sans que tu ne le saches réellement.

Je te dédie ce travail, et te dédie toutes mes années d'efforts, j'espère avoir été un bon exemple pour toi, tu apprends de mes erreurs et j'apprends des tiennes.

T'avoir a toujours été pour moi une responsabilité mais surtout une chance. Que notre amour fraternel dure le temps d'une vie petit frère.

Je te vois grandir, et je suis extrêmement fière de toi, à ton tour aujourd'hui d'être fier de moi : je deviens médecin.

Je t'adore.

A mon très cher frère Nassim

Pour toute l'ambiance dont tu m'as entouré, pour toute la spontanéité et ton élan chaleureux. Je ne saurai traduire sur du papier l'affection que j'ai pour toi, je n'oublierai jamais ces merveilleux moments passés ensemble. Intelligent que tu es, Je t'exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

Mon affection et ma tendresse envers toi ne peuvent être exprimées ni traduites par ces quelques mots imparfait. Que Dieu te garde et te procure la santé et longévité.

Je t'adore mon petit bout choux.

A la mémoire mon grand-père maternel

*Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai éprouvé et continue
d'éprouver à votre égard.*

Puissent votre âme reposent en paix.

*Que Dieu, le tout puissant, vous couvre de sa sainte miséricorde et vous
accueille dans son éternel paradis.*

A ma chère grand-mère maternelle

*Vous êtes le soleil de notre famille, vous avez un cœur en joyau et avez
toujours été une source d'affection. Nous vous aimons tous, et pensons
toujours à vous, aujourd'hui et à jamais. C'est grâce à dieu puis à vous et à
vos prières que nous sommes aujourd'hui ce que nous sommes. J'espère que
vous êtes fières de moi et de toute notre famille.*

A mes chères tantes paternelles Aïcha et Mina

*Je vous dédie cette thèse pour vos attentions particulières, vos prières et
votre amour inconditionnel. Merci pour tout et que Dieu vous donne
bonne santé et longue vie parmi nous.*

A tous les membres de ma famille petits et grands

*Je vous dédie tous ce travail pour votre soutien, amour et
encouragements.*

*Vous trouvez dans ce travail, l'expression de mon amour en vous
souhaitant beaucoup de bonheur.*

A mes amies d'amours Kenza Lamouassni, Sara Jabar et Nabila Hadad

*Vous qui étiez toujours quelque part à mes côtés, Vous qui me soufflez des
mots d'espoir et d'amour et de tendresse, Vous qui me donnez à chaque
fois le courage de continuer mon chemin, C'est par vos actes et vos paroles
Par vos regards et vos sourires, Que j'ai pu traverser ce long chemin, Et
tenir jusqu'au bout, mes chères, aussi aimantes qu'aimables, Je vous offre
ce travail.*

A mon amie de vie Aziza Nejmeddine :

Amie d'enfance, nous avons grandi ensemble et continuons de grandir, et de partager de bons moments ensemble. Nous sommes complices à notre manière, avons partagé des joies et des maux, tu me manques tellement. Notre amitié a résisté aux temps et distance, qu'elle dure le temps d'une vie, pour le meilleur et pour le pire.

A Mon amie et sœur Ilhame Belaarbía

À la mémoire de tous les moments de bonheur et de faux rires qu'on a partagés.

*À la mémoire de toutes les folies que nous avons fait. En souvenir des moments difficiles que nous avons pu surmonter.
Je te dédie ce travail. to that friend who became family.*

Amon Mentor Dr. Soukaina ELASRI:

J'ai beaucoup appris à tes côtés depuis mon premier jour à la faculté et j'apprends toujours. Tu représente pour l'amie fidèle, la personne honnête qui m'a toujours épaulée. T'es à mes yeux le modèle du bon médecin.

A MES CHÈRS AMIS :A.NEDDAM , M. HADIRI, A. HAFDI, H. LAZRAK, B. OUMELOUL, K. LEMOUASSNI, M. TOUGANI, A. JABAR, A. KAOUIA, M. RAQUEBA, S. CHAMSI.

Je vous dédie ce travail et vous souhaite beaucoup de succès dans votre vie personnelle et professionnelle, tout le bonheur du monde à vous mes amis.

A DOCTEUR IMANE BOUGEGUENA :

À l'amie, la sœur et l'encadrante que vous êtes je vous dédie ce travail qui est également le votre merci infiniment pour les nuits blanches que vous m'avez dédié.

Milles merci.

A tous les étudiants en médecine et les futurs medecins.

Vous avez eu la chance d'être là de traiter et de soigner ce qui est le plus précieux de cette planète L'HUMAIN .

Vous avez la chance de pratiquer le plus beau et le plus noble métier du monde, rappelez vous que c'est un chemin long , dure et très difficile mais qui vaut pleinement le coups .

Soyez humain avec vos patients et traiter les comme v



REMERCIEMENTS



**A NOTRE MAITRE ET PRESIDENTE DE THESE : MME.
AMROULAMVAE PROFESSEUR ET CHEF DE SERVICE DE
RADIOTHERAPIE AU CHU MOHAMMED VI DE MARRAKECH.**

Vous m'avez fait l'honneur d'accepter de présider le jury de ma thèse. Je vous remercie pour votre enseignement et je vous suis très reconnaissants de bien vouloir porter intérêt à ce travail. Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable, votre charisme et vos qualités humaines font de vous un grand professeur et m'inspirent une grande admiration. Veuillez trouver ici, professeur, l'expression de mes sincères remerciements et de ma haute considération.

**A MON MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE PROFESSEUR RAIS
HANANE**

Je vous suis très reconnaissante d'avoir acceptée de diriger ce travail de thèse et de m'avoir permis de le mener à bien. Je vous remercie pour la confiance que vous m'avez accordée en accueillant dans votre département une thésarde sans expérience en immunohistochimie et m'accorder la chance d'effectuer un stage au sien de votre service afin de bien mener ce travail.

Merci d'avoir fait sortir la force en moi tout au long de mon parcours et surtout durant ce travail, grace a vous j'ai appris que y'a pas d'autres choix que d'être forte et continuer jusqu'au bout.

Merci également de m'avoir transmis vos connaissances et partager votre expérience tout au long de mes années d'études et plus particulièrement pendant cette année de thèse. Votre savoir, votre intégrité et vos qualités humaines font de vous un modèle que je veux ou plutôt que j'espère atteindre un jour.

**A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE PROFESSEUR MOUNA
KHOUCHANNI**

Je suis infiniment sensible à l'honneur que vous me faites en acceptant de siéger parmi mon jury de thèse. J'ai bénéficié au cours de mes études de votre enseignement clair et précis. Votre gentillesse, vos qualités humaines et votre modestie n'ont rien d'égal que votre compétence.

Veuillez trouver ici, cher Maître, le témoignage de ma grande estime et de mon sincère reconnaissance.

A NOTRE MAITRE PROFESSEUR VASSINE MSOUGAR

Je vous remercie de m'avoir honoré par votre présence. Je vous remercie pour votre enseignement et je vous suis très reconnaissant de bien vouloir porter intérêt à ce travail. Vous avez accepté aimablement de juger cette thèse. Veuillez accepter, cher maître, dans ce travail l'assurance de mon estime et de ma profonde reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE : PROFESSEUR A. FAKHRI

Je vous remercie d'avoir accepté mon invitation en tant que membre de jury à cette thèse. Je vous remercie de votre enseignement et je vous suis très reconnaissant de bien vouloir porter intérêt à ce travail. Votre présence, le temps et l'attention que vous m'avez accordé à lire ce travail sont un honneur pour moi. Veuillez accepter, professeur, mes sincères remerciements et mon profond respect

Mr. Aymen ISMAILI

**Resident au service d'anatomie pathologique au CHU Mohammed VI
Marrakech**

Nous vous remercions pour la gentillesse et la spontanéité avec lesquelles vous avez bien voulu diriger ce travail.

Nous avons eu le grand plaisir de travailler sous vos conseils, et avons trouvé auprès de vous le conseiller et le guide.

Vous nous avez reçu en toute circonstance avec sympathie et bienveillance.

Votre compétence, votre dynamisme, votre rigueur et vos qualités humaines et professionnelles ont suscité en nous une grande admiration et un profond respect.

Nous voudrions être dignes de la confiance que vous nous avez accordée et vous prions de trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance et profonde gratitude.

Mille merci pour votre encadrement de qualité et votre disponibilité.

A Dr. Sellami Souad

Un remerciement spécial à vous pour les efforts immenses que vous avez fournis pour la réalisation de ce travail. Vous étiez toujours disponibles et présents depuis le premier jour de l'élaboration de ce travail,

Merci d'avoir accepté dans votre service d'immunohistochimie un thésard sans expérience en immunohistochimie.

Merci de m'avoir accordée la chance d'apprendre à vos côtés et d'être disponible à tous moments pour la réalisation de ce travail qui vous doit énormément.

Je vous exprime ma haute considération et mon profond respect

*A TOUTE L'EQUIPE DU SERVICE D'ANATOMIE
PATHOLOGIQUE DU CHU MED VI
MARRAKECH:*

Je suis reconnaissant de l'aide apportée tout au long de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de mes sentiments les plus distingués.



ABRÉVIATIONS



Liste des abréviations

AMM	: Autorisation de Mise sur le Marché
ALK	: Anaplastic Lymphoma Kinase
APC	: Cellules présentatrices d'antigène
CBP	: Cancer bronchique pulmonaire
CBNPC	: Cancer bronchique non à petites cellules
CBPC	: Cancer bronchique à petites cellules
CMH	: Complexe Majeur d'histocompatibilité
CTL	: Lymphocytes T cytotoxique
CTLA4	: Cytotoxic T lymphocyte antigen 4
DAB	: 3,3'-Diaminobenzidine
DC	: Cellules dendritiques
EGFR	: Epidermal Growth Factor Receptor
FISH	: Fluorescence in situ hybridization
IHC	: Immunohistochimie
HE	: Hématéine éosine
ITK	: Inhibiteur de Tyrosine Kinase
LAG3	: Lymphocyte activation gene 3 protein, connu comme CD223
Lth	: Lymphocytes T helper
LT	: Lymphocyte T
MDSC	: Cellules suppressives dérivées des myéloïdes
MICA	: MHC class I polypeptide-related sequence A

NK : Natural killer

PD-1 : Récepteur de mort cellulaire programmé-1

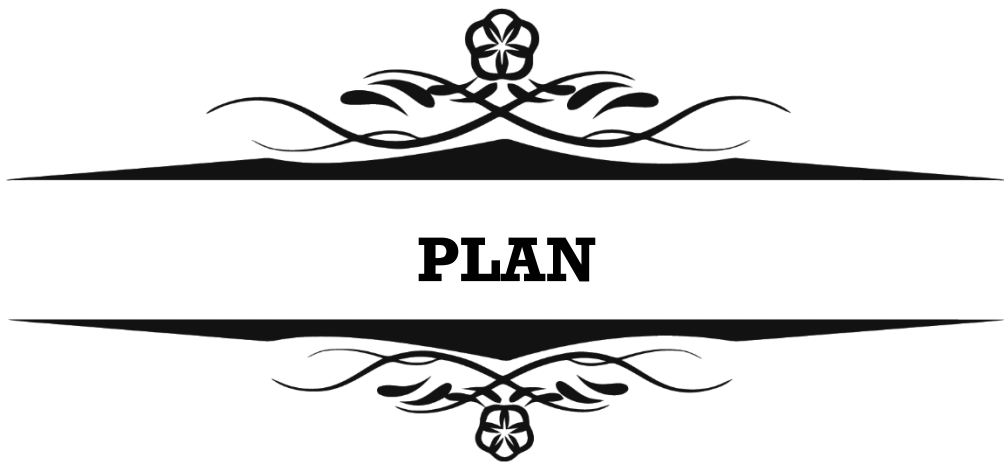
PD-L1 : Ligand de mort cellulaire programmée-1

RCP : Réunion de Concertation Pluridisciplinaire mn

TCR : Récepteurs des cellules T

TILs : Lymphocytes infiltrant les tumeurs

TPS : Score de la proportion tumorale



INTRODUCTION	1
MATERIELS ET METHODES	4
I. Type d'étude et patients	5
• Type et durée d'étude	5
• Patients étudiés	5
• Sources de données	6
• Les paramètres recueillis	6
• Méthode d'analyse des données	6
• Difficultés rencontrées	6
II. METHODES D'ETUDES	7
1. Circuit du prélèvement tissulaire destiné à l'étude ALK et PDL-1	7
2. Protocole d'IHC pour la révélation de l'expression de PDL1	17
3. Détermination de l'expression de l'anticorps anti PDL1	18
4. Protocole pour la révélation du statut ALK (Anaplastic lymphoma kinase)	21
III. Compte-rendu anatomopathologiques :	24
RESULTATS	28
I. Caractéristiques clinico-pathologiques des cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules	29
1. L'âge	29
2. Le sexe	29
3. Prevenance des prélèvements tissulaires	30
4. Le type de prélèvement tissulaire	30
5. Site du prélèvement	31
6. Le type histologique selon l'OMS 2015	31
II. Etude immuno-histochimique des cancers broncho-pulmonaire non à petites cellules	35
1. Statut d'expression de l'Ac anti protéine PDL1 dans notre série	35
2. Statut d'expression de l'anticorps anti-ALK dans notre série	41
III. Comparaison des facteurs clinico-pathologiques et l'expression de l'anticorps anti PD-L1	46
1. La répartition des différents score TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon l'âge	46
2. Répartition des différents scores TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon le sexe	46
3. La répartition des différents scores TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon le type histologique	46
IV. Comparaison des facteurs clinico-pathologiques et l'expression de l'anticorps anti ALK	47
1. La répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon l'âge	47
2. Répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon le sexe	47
3. Répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon le type	48

histologique	
V. Corrélation entre le score TPS de l'expression de la PD-L1 et les cas ALK réarrangés	48
DISCUSSION	49
I. Généralités	50
II. l'étude histologique	50
1. Classification histologique du cancer broncho-pulmonaire (OMS 2015)	50
2. Classification des CBPNPC (TNM, 8ème édition)	54
3. Classification pTNM des cancers broncho-pulmonaire (8ème édition)	54
III. Immunothérapie	59
1. Généralités	59
2. Immunosurveillance et Evasion tumorale	61
3. Immunothérapie anti-PD1 / PD-L1	62
4. Ré arrangement du gène Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) :	68
IV. Aspects épidémiologique	72
1. Place du cancer broncho-pulmonaire	72
2. Âge	72
3. Sexe	74
4. Type histologique	76
V. Le profil de l'expression de l'acticorps anti-PD-L1 et l'anticorprs anti-ALK	77
1. Statut d'expression de l'Ac anti PD-L1	77
2. Scoring de l'anti corps anti PD-L1 basé sur TPS :	77
3. L'expression de l'anticorps anti ALK :	80
CONCLUSION	81
RECOMMANDATIONS	83
ANNXES	85
RESUMES	87
BIBLIOGRAPHIE	91



INTRODUCTION



Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Les cancers broncho-pulmonaires (CBP) sont définis comme l'ensemble des proliférations tumorales malignes primitives ou secondaires développées au dépend du poumon. Les CBP primitifs sont scindés en carcinomes à petites cellules (CPC) et en carcinomes bronchiques non à petites cellules (CBNPC). Ces derniers sont les plus fréquents, et représentent environ 85% de tous les cancers broncho-pulmonaires [1].

Le diagnostic des CBNPC se fait le plus souvent à un stade tardif, localement avancé ou métastatique, ce qui explique que le matériel d'étude reçu au service d'anatomie-pathologique est souvent sous forme de biopsies.

Le diagnostic anatomopathologique du CBP repose sur l'étude morphologique, complétée par une étude immunohistochimique pour étayer le diagnostic et fournir les éléments à but pronostique et théranostique par la mise en évidence de l'expression des anticorps anti-PD-L1 et anti-ALK ainsi que par une étude moléculaire basé notamment sur la recherche de mutations EGFR [2].

La PD-L1 est une protéine transmembranaire exprimée à la surface des cellules nucléées.

Le récepteur de mort cellulaire programmée PD-1 est une molécule de co-stimulation exprimée par les lymphocytes T activés ; son engagement avec son ligand PD-L1 déclenche un signal inhibant transitoirement ou définitivement les capacités cytotoxiques des lymphocytes T CD8+. L'interaction PD1/PD-L1 est d'abord un mécanisme physiologique visant à réduire l'auto-immunité mais lorsque PD-L1 est exprimé par les cellules tumorales, cette interaction leur permet d'échapper à la surveillance immunitaire en inhibant l'activation des lymphocytes T cytotoxiques [3].

Ces dernières années, l'immunothérapie a modifié les normes de traitement des patients atteints de CBNPC à un stade avancé. Les inhibiteurs de points de contrôles immunitaires (check-points), en particulier (PD-L1), sont apparus comme de nouvelles stratégies prometteuses de traitement du CBNPC, démontrant ainsi de meilleurs résultats par rapport à la chimiothérapie en terme d'efficacité [4].

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Le gène ALK (Anaplastic Lymphoma Kinase) est situé sur le bras court du chromosome 2 et code pour un récepteur membranaire à activité tyrosine kinase. Le réarrangement du gène

ALK dans les CBNPC est le plus souvent un réarrangement intrachromosomique avec un autre gène, le plus fréquemment EML4 (Echinoderm Microtubule Associated Protein Like 4).

Cette anomalie moléculaire est observée dans environ 5 % des adénocarcinomes pulmonaires primitifs. Le crizotinib, inhibiteur de la tyrosine kinase ALK, a montré une activité clinique significative dans le traitement des CBNPC avec réarrangement ALK et est actuellement entré en routine clinique. Les méthodes de détection du réarrangement ALK sont immunohistochimiques ou moléculaires par technique d'hybridation in-situ fluorescente (FISH) [5].

Ce travail a pour objectif d'étudier l'expression de PDL1 et ALK dans les CBNPC et leur corrélation avec les différents facteurs pronostiques et thérapeutiques impliqués dans les CBNPC tout en mettant le point sur les impératifs techniques en immunohistochimie et en FISH afin d'optimiser le rendement des biopsies et améliorer la prise en charge des patients.



**MATÉRIEL ET
MÉTHODES**



I. Type d'étude et patients :

1. Type et durée d'étude :

Il s'agit d'une étude descriptive transversale menée au service d'Anatomo-pathologie du CHU Mohammed VI de Marrakech portant sur une période de 18 mois allant du septembre 2017 au 31 janvier 2020.

2. Patients étudiés :

Le matériel d'étude a consisté en des **prélèvements tissulaires** parvenus au laboratoire à l'état frais ou fixé au Formol (biopsie tumeur primitive ou le site métastatique ou récidive ou pièce opératoire de lobectomie ou de pneumectomie) et en des **blocs tissulaires enrobés en paraffine** émanant du secteur libéral ou du secteur public.

a) Critères d'inclusion :

- Patients présentant un CBPNPC confirmé à l'étude anatomo-pathologique.
- Prélèvements tissulaires internes au CHU de Mohammed VI de Marrakech et externes reçus de laboratoires d'anatomie-pathologique du secteur public et du secteur libéral.

b) Critères d'exclusion :

- Tumeurs pulmonaires autres que les CBPNPC.
- Altérations tissulaires : retard de fixation du matériel tumoral, congélation.
- Épuisement du matériel tumoral
- Nécrose tumorale extensive sans cellules tumorales viables.

3. Sources de données :

Les renseignements cliniques, histopathologiques, immunohistochimiques et de biologie moléculaire ont été recueillis en consultant les données relatives à chaque dossier à partir des fiches de demandes d'examens anatomo-pathologiques archivées, et à partir d'une requête via le logiciel DIAMIC du service d'anatomie-pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech.

4. Les paramètres recueillis :

Les paramètres suivants ont été recueillis grâce à une fiche d'exploitation : ANNEXES.

- ❖ La date de prélèvement ;
- ❖ L'âge ;
- ❖ Le sexe ;
- ❖ La localisation de la tumeur : poumon, bronche, plèvre, médiastin, métastase ;
- ❖ La nature du prélèvement : biopsie ou pièce opératoire ;
- ❖ La recherche du profil d'expression anticorps anti-PDL1, et anticorps Anti-ALK

5. Méthode d'analyse des données :

Les données ont été recueillies manuellement sous forme de tableau Excel, puis elles ont été saisies et traitées sur Excel.

6. Difficultés rencontrées :

Les principaux problèmes rencontrés ont été :

- L'absence de renseignements cliniques sur les bons de demande d'examen anatomo-pathologique.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

- La non-conformité des prélèvements liés aux aléas de la phase pré-analytique (mauvaise fixation).
- L'épuisement du matériel tumoral secondaire au multiples niveaux de coupes réalisés pour les examens morphologiques, immunohistochimiques et de biologie moléculaires (Hématéine-éosine HE, Ac anti P40, TTF1)

II. Méthodes d'études :

1. Circuit du prélèvement tissulaire destiné à l'étude ALK et PDL-1

1.1 Schéma général :

Un circuit standard est traversé par les prélèvements reçus au sein du service d'anatomie-pathologique du CHU Mohammed VI de Marrakech pour l'obtention d'un résultat histologique, immunohistochimique ou moléculaire des cancers broncho-pulmonaire non à petites cellules.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules



Figure 1: Processus et circuit de réalisation du diagnostic d'un cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules au sein du service d'anatomie pathologique, CHU Med VI Marrakech

1.2 Etude Immunohistochimique utilisant l'anticorps anti-PD-L1 et anticorps anti-ALK : Les

1.2.1 impératifs de la technique immunohistochimique :

a) La fixation :

La phase pré-analytique conditionne la qualité de la technique immunohistochimique et donc la détection des protéines par IHC. C'est pour cela que ces étapes doivent être contrôlées et maîtrisées, en particulier par le personnel en charge de la fixation.

Il est recommandé de réduire le plus possible la durée d'ischémie froide des prélèvements. L'ischémie froide est définie comme le temps écoulé entre le moment où le prélèvement tissulaire est extrait du corps humain et sa mise au contact du fixateur. Généralement pour les pièces opératoires un retard de fixation supérieur à 1 heure diminue de manière significative la détection de marqueurs immunohistochimiques. Pour les biopsies, il faut fixer le prélèvement immédiatement dans le fixateur (délai de quelques minutes).

Le meilleur fixateur recommandé est le formol tamponné à 4%.

Les prélèvements doivent être fixés durant 6 heures pour les biopsies et jusqu'à 48h pour les pièces opératoires, en utilisant un volume de fixateur suffisant.



Figure 2 : Formol tamponné à 4%

Un autre paramètre important à prendre en considération est l'inclusion en paraffine. L'utilisation d'une paraffine à point de fusion bas (inférieur à 60°C) est recommandée.

b) La gestion du matériel tumoral :

L'évaluation de la qualité de la préservation du tissu et de sa fixation et de la quantité de cellules tumorales viables sur la coloration standard Hématéine éosine (HE) est une étape préalable indispensable à toute interprétation. La sélection tumorale par le pathologiste vise à fournir un nombre suffisant de cellules tumorales sur le fragment sélectionné afin d'éliminer les zones non tumorales qui peuvent augmenter le bruit de fond ou masquer des mutations. L'utilisation rationnelle du prélèvement tissulaire biopsique est souhaitable en favorisant l'inclusion des fragments dans plusieurs cassettes et en réalisant d'emblée plusieurs lames blanches (coupes de paraffine de 3 μm à 5 μm) pour ne pas avoir à dégrossir à nouveau le bloc et épuiser le matériel tissulaire. Il faut prévoir un nombre suffisant de lames blanches pour réaliser les techniques complémentaires : immunohistochimie et éventuellement biologie moléculaire.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules



Figure 3 : Essuyage du microtome et de la pince par DNA lytique,décontamination

Service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

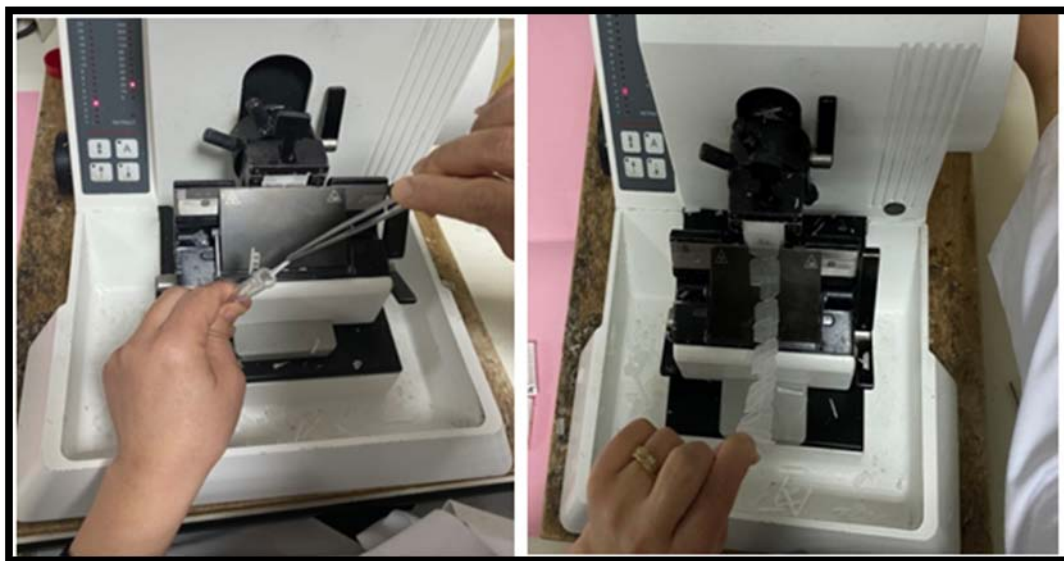


Figure 4 : Réalisation de coupes et rubans des prélèvements à étudier.

Service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech



Figure 5 : Étalement des coupes réalisées posées sur lames puis sur plaque chauffante

Service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

Il faut prévoir 8 lames blanches :

- ✓ Une lame d'un niveau (HE) pour sélection tumorale : permet de réaliser la sélection tumorale (% des cellules tumorales infiltrantes viables)
- ✓ Deux lames d'un niveau (Panel P40, TTF1) plus au moins CK7 et CK20 : panels immunohistochimiques afin de confirmer l'origine histologique et le type histologique si doute.
- ✓ Une lame de 3 niveaux pour EGFR : recherche de mutation EGFR (étude moléculaire).
- ✓ Une lame d'un seul niveau PDL1 : afin de mettre en évidence l'expression de l'anticorps anti PD-L1.
- ✓ Deux lames d'un niveau ALK : afin de mettre en évidence l'expression de l'anticorps anti- ALK et pour compléter par une technique FISH si nécessaire.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

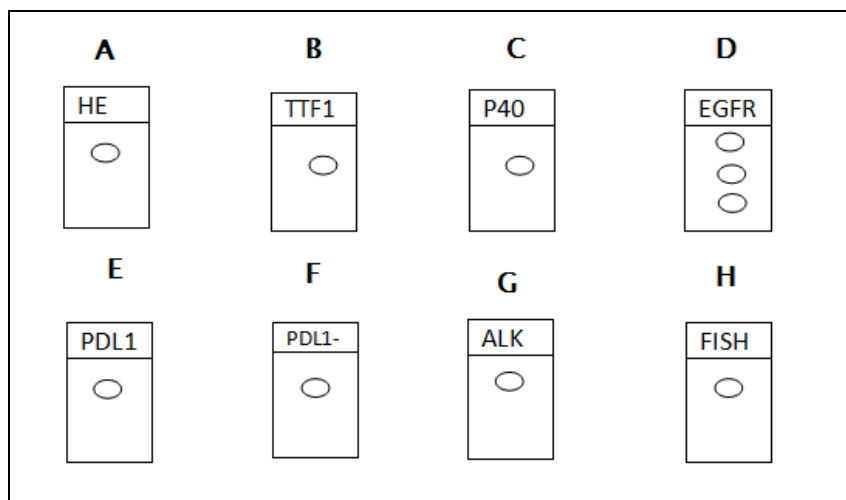


Fig6 . Les différentes lames blanches

- A . Une lame d'un niveau (HE) pour sélection tumorale
- B.C Deux lames d'un niveau (Panel P40, TTF1) pour type histologique
- D. Une lame de 3 niveaux pour étude EGFR par biologie moléculaire
- E.F Deux lames d'un niveau pour l'anticorps anti-PDL1
- G.H Deux lames d'un niveau pour étude ALK par immunohistochimie ou par FISH si résultat équivoque en immunohistochimie.

1.3 Étapes techniques de l'étude immunohistochimique

- a) **Incubation** : les lames ont été incubées toute une nuit dans l'étuve à 37°C.
- b) **Déparaffinage et démasquage** : les lames ont été prétraitées par ébullition pendant 20 min dans un Bain marie automatique (PTlink) dans un tampon de démasquage (pH 6, Dako) à une température de 98°C. Cette opération va nous permettre de débarrasser le tissu de la paraffine, de le réhydrater et enfin de démasquer les antigènes.

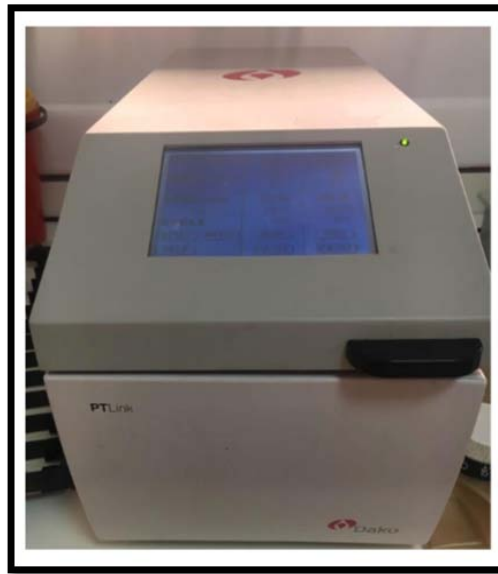


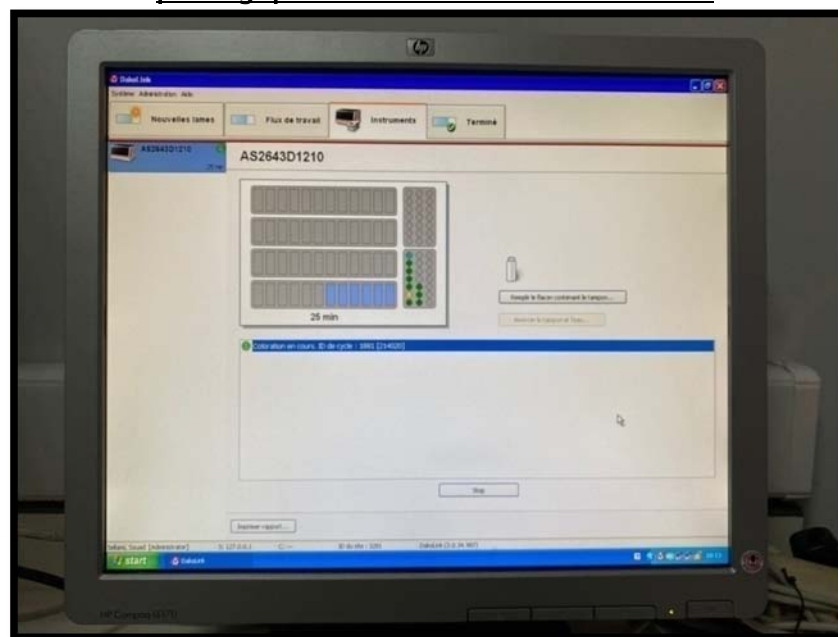
Figure6: Appareil de prétraitement PTLink, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

- c) **Méthode d'immunopéroxydase** : utilisée pour visualiser les anticorps fixés, avec comme chromogène le 3,3'- Diaminobenzidine (DAB) de Dako.
- d) **Les lames ont été disposées dans l'automate Autostainer** :
- Dépôt et incubation avec l'anticorps anti-PD-L1 ou avec l'anticorps anti-ALK.
 - Dépôt et incubation avec l'anticorps secondaire (HRP).
 - Dépôt et incubation avec le chromogène DAB brun.
 - Dépôt d'un produit « Enhancer » pour intensifier le marquage immunohistochimique si présent.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules



- **Figure 7 : Appareil d'immunohistochimie AutostainerLink48 de Dako, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech**



- **Figure8: Logiciel de traçabilité de la technique immunohistochimique, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech**

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

e) Contre-coloration et montage :

- Dépôt de l'Hématéine de Mayer pour contre colorer en bleu les noyaux.
- Hors de l'automate, on réalise une déshydratation et montage entre lame et lamelle.

L'appareil AutostainerLinker (Dako) a permis d'effectuer la technique immunohistochimique (IHC) automatisée. Ceci pour évaluer l'expression membranaire des cellules tumorales infiltrantes de l'anticorps anti PDL-1 et de l'anticorps anti ALK. L'automatisation de la technique permet d'optimiser au maximum et d'avoir une paillasse de qualité.

Cette technique immunohistochimique est soumise au contrôle qualité de l'UK NEQAS (Service national externe d'évaluation de la qualité du Royaume-Uni).



- **Figure 9: Blocs et coupes de tissus fixés et inclus en paraffine : cas du cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules.**

Tableau I: Marqueurs utilisés en technique immunohistochimique

Marqueurs	fabriquant	Clone	Expression
PDL1	Dako	22C3	Membranaire
ALK	SA4	Abcan	Cytoplasmique

2. Protocole d'IHC pour la révélation de l'expression de PDL1

Pour la recherche de l'expression de l'AC anti PD-L1 dans le cancer du Poumon, nous avons utilisé un Kit validé, commercialisé par Dako(Kit PD-L1 IHC 22C3 PharmaDx anticorps monoclonal antiPD-L1 clone 22C3 avec système de visualisation EnVision FLEX). Ce Kit contient tous les réactifs (prêt à l'emploi) nécessaires pour la technique classique d'immunohistochimie. Le kit contient aussi des lames témoins comprenant des lignées cellulaires positives à l'anticorps anti PDL-1 et des lignées cellulaires négatives à l'anticorps anti PDL-1.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Tableau II : Protocole d'immunohistochimie pour la révélation de l'expression de l'anticorps anti PDL1.

Anticorps primaire	Prétraitement	Dilution De l'anticorps	Temps d'incubation de l'anticorps anti PDL1	Réactif de visualisation de l'anticorps anti PDL1	Temps d'incubation HRP	Révélation du complexe AG-AC
Anti-PDL-1	Tampon concentré (x50) PH6 Couleur rose	Prêt à l'emploi Dako	30 min	Polymère HRP conjugué Dako	20 min	Dab (kit Dako)

3. Détermination de l'expression de l'anticorps anti PDL1 :

a) Les témoins interne et externe

L'interprétation du marquage de l'anticorps anti-PDL1 nécessite des témoins internes et externes avant toute analyse. Les témoins positifs externes permettent de contrôler que le protocole d'immunohistochimie offre la sensibilité requise, on utilise généralement le tissu amygdalien ou placentaire. Si le témoin positif externe n'est pas ou insuffisamment marqué, la lame ne doit pas être interprétée. Les témoins internes exprimant PD-L1 sont les cellules dendritiques et macrophages ainsi que certains sous-types de lymphocytes T et B [6].

Le témoin externe négatif permet de s'assurer qu'il n'y a pas de marquage non spécifique de type bruit de fond ou marquage cytoplasmique. On utilise généralement le tissu tumoral du patient.

b) L'expression de l'anticorps anti PDL-1 :

Un marquage membranaire linéaire, complet ou non et quelle qu'en soit l'intensité, doit être pris en compte pour déterminer le pourcentage de cellules tumorales exprimant PD-L1. Différentes techniques sont proposées pour aider à résoudre le problème de l'hétérogénéité tumorale, surtout sur des pièces opératoires. Il est possible[6]:

- Soit d'évaluer le pourcentage de zones fortement marquées (3+ d'intensité) visibles dès

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

le faible grossissement, de zones moyennement marquées (2+) et de zones faiblement marquées (1+) visibles seulement à fort grossissement, et les additionner pour obtenir un pourcentage total de cellules marquées.

- Soit d'évaluer les zones de pourcentages de positivité identique et les additionner.

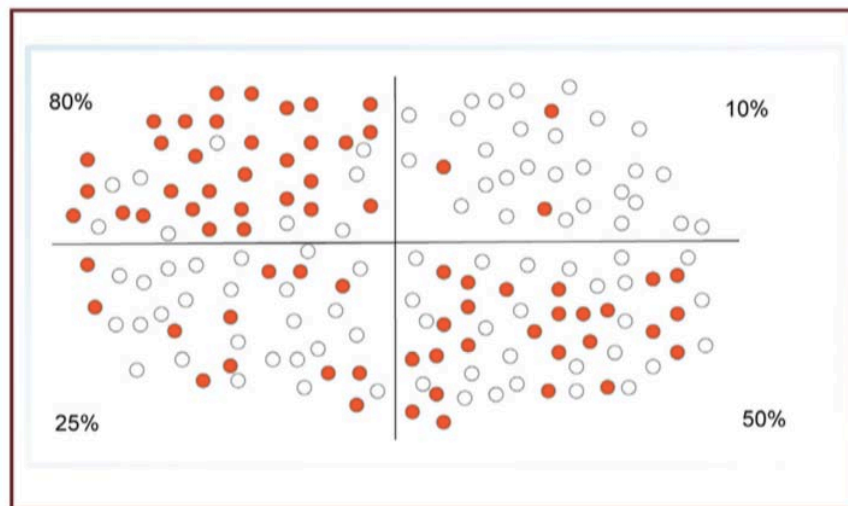


Figure 10: Exemple de méthode permettant de quantifier l'expression de PD-L1 [6]. On peut ainsi déterminer à faible grossissement des zones équivalentes mais présentant des pourcentages de positivité différents et faire ensuite la moyenne de ces pourcentages. Dans l'exemple ci-contre, le % de cellules tumorales marquées est $(80 + 10 + 25 + 50) : 4 \sim 40 \%$.

L'expression de la protéine PD-L1 est déterminée à l'aide du score de la proportion de tumeurs (TPS), qui correspond au pourcentage de cellules tumorales présentant un marquage partiel ou complet membranaire [6].

L'interprétation est scorié selon le tableau suivant :

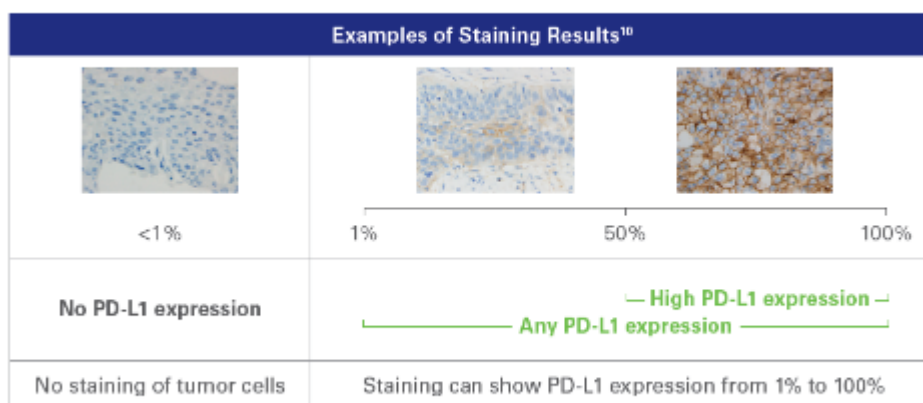
Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Tableau III: Interprétation de l'immunohistochimie de PD-L1

Score de la Proportion de Tumeurs (TPS)			
Niveau d'expression du PD-L1	TPS < 1%	TPS = 1 - 49%	TPS ≥ 50%
Etat d'expression du PD-L1	Absence d'expression de PD-L1	Expression de PD-L1	Expression élevée de PD-L1

Ces états d'expression conditionnent la prise en charge thérapeutique.

PD-L1 expression level is measured using the tumor proportion score (TPS), the percentage of tumor cells staining for PD-L1 (0% to 100%)^{9,10}



Stains are at 40x magnification. Reproduced with permission of Dako Denmark A/S, a subsidiary of Agilent Technologies, Inc., Santa Clara, California, USA. All rights reserved.

Figure 11: Différents niveaux d'expression PD-L1 [7].

4. Protocole pour la révélation du statut ALK (Anaplastic lymphoma kinase):

4.1 Détermination du statut ALK par immunohistochimie :

La détermination du statut ALK repose sur la mise en évidence de l'expression de l'anticorps anti-ALK par technique immunohistochimique en premier lieu. Cette technique détecte l'expression de la protéine sous forme d'un marquage cytoplasmique granuleux [8].

Il existe plusieurs anticorps anti-ALK. Tous ne sont pas adaptés au screening des cancers du poumon. Les clones 5A4 et D5F3 sont validés dans la littérature et sont utilisables sur toutes les plateformes [8].

L'utilisation du clone D5F3 avec le kit de détection Optiview® et le kit d'amplification Optiview® (kit Ventana® IVD) donne accès à un test entièrement automatisé, mais est réservée aux structures équipées d'une plateforme Ventana®. Ce test très sensible, classé IVD (in vitro diagnostic), permet une évaluation binaire reproductible de la coloration (statut positif ou négatif). Dans les cas positifs, avec les clones D5F3 et 5A4, le marquage est habituellement observé dans la grande majorité ou la totalité des cellules tumorales.

Le résultat est donné sous forme de score, schématiquement [8]:

- Un test ALK de score 3+ (intensité forte) : suffit pour indiquer une thérapie ciblée.
- Un test de score 2+ ou 1+ : nécessite de rechercher un réarrangement d'ALK par technique FISH avant la mise en route d'un traitement.
- Un test négatif en IHC : ne nécessite pas de contrôle FISH et il n'y a pas d'indication de traitement ciblé.
- Parfois un test FISH peut être réalisé à la demande des cliniciens sur des cas particuliers.

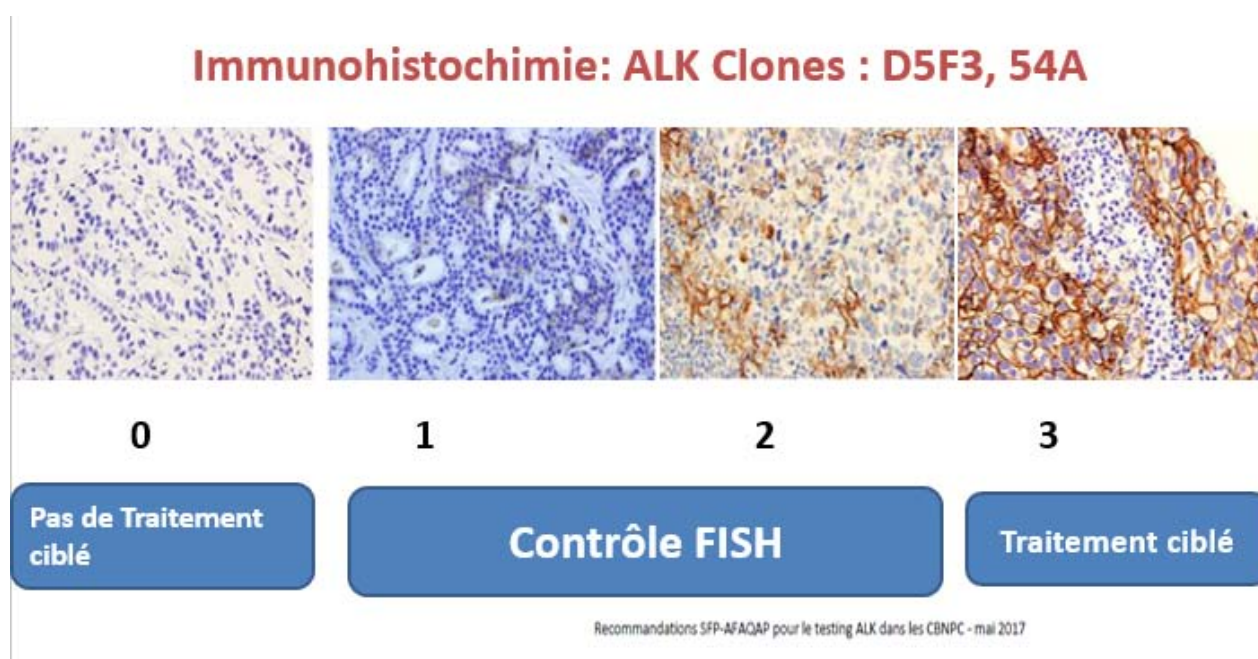


Figure 12 : les différents stade d’expression d’ALK positif par technique immunohistochimie

4.2 Détermination du statut ALK par FISH

La technique FISH est utilisée pour la validation des tests IHC positifs et plusieurs études ont démontrés la bonne concordance entre ces deux tests [6].

La technique de FISH utilise habituellement des sondes de break-apart ou split qui permettent de certifier la présence d’un réarrangement mais sans identifier le gène partenaire.

Le principe de la FISH Break Apart est l’utilisation de sondes fluorescentes de couleurs différentes encadrant la région 2p23 contenant ALK : une sonde verte et une sonde rouge qui s’hybrident de part et d’autre du point de cassure situé dans l’exon 20 du domaine kinase d’ALK. En l’absence de réarrangement : les deux sondes apparaissent comme étant accolées l’une à l’autre. En cas de réarrangement, les sondes apparaissent comme étant séparées l’une de l’autre quel que soit le partenaire d’ALK. Le risque de faux-positif est d’environ 5 %.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

La technique de FISH ne peut être interprétée que sur un prélèvement comportant un nombre suffisant de cellules tumorales (100 noyaux intacts). Le seuil de positivité préconisé est de 15% de cellules réarrangées [8].

Etapes de la technique FISH:

- a) Récupérer la lame blanche préalablement réalisé et destinée à l'étude
- b) Déparaffinage : sous hotte, 4 bains de xylène
- c) Digestion enzymatique à la pepsine : pour favoriser l'accès de la sonde au noyau, +/- 10mn à 37°C puis arrêt par lavages
- d) Dénaturation : pour rompre les liaisons covalentes des deux brins d'ADN, Bain-Marie ou au micro-ondes (température de 100°C) puis lavages 2 à 3mn à température ambiante
- e) Déshydratation : éviter la dilution de la sonde, bains d'alcool croissants, séchage 20 minutes à l'air
- f) Application de la sonde : déposer 10 μ l par lame, poser une lamelle, sceller à la colle autour de la lamelle
- g) Hybridation : 15 à 20h à 37° ou 45°C sur plaque chauffante, étuve ou Hybridizer
- h) Interprétation des résultats au microscope à fluorescence



Figure 13 : Application de la sonde Break Apart, service d'anatomie-pathologique CHU MOHAMMED VI MARRAKECH



Figure 14 : Hybridation de la sonde sur Hybridizer, service d'anatomie-pathologique CHU MOHAMMED VI MARRAKECH

III. Compte-rendu anatomopathologiques :

Pour harmoniser la réponse et les comptes rendu d'anatomie-pathologique et afin d'améliorer la communication entre cliniciens, chirurgiens, anatomo-pathologistes et thérapeutes, des comptes rendus types standards ont été élaborés, incluant tous les paramètres nécessaires à la prise en charge du patient.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

IMMUNOHISTOCHIMIE

Renseignements cliniques :

COMPTE RENDU PD-L1

Immunohistochimie préalable :

Anticorps	Anti-CK7	Anti-CK20	TTF1 / Napsine	P40/P63
Expression				

Technique immunohistochimique automatisée : par autostainer Link 48 Dako

Test utilisé : Kit PD-L1 IHC 22C3 pharmDx anticorps monoclonal antiPD-L1 clone 22C3 avec système de visualisation EnVision FLEX

Score de la Proportion de Tumeurs (TPS)

Niveau d'expression de la PD-L1	TPS < 1%	TPS = 1-49%	TPS ≥ 50%
Etat d'expression de la PD-L	Absence d'expression de PD-L1	Expression de PD-L1	Expression élevée de PD-L1

RESULTAT

Lame de contrôle PD-L1 IHC 22C3 pharmDx :

Lignée NCI-H226 exprimant la protéine PD-L1	Positive
Lignée MCF-7 n'exprimant pas la protéine PD-L1	Négative

Nombre de cellules tumorales étudiées :

Lame de contrôle négatif :

Tissu tumoral traité par anticorps monoclonal de souris (IgG) de contrôle dans une solution tampon, contenant une protéine stabilisante et 0.015mol/L d'Azide de Sodium	Négatif
---	---------

Lame du tissu tumoral à tester :

Niveau d'expression de la PD-L1	TPS :
Etat d'expression de la PD-L	

Figure 15: compte-rendu type PDL-1, service d'anatomie-pathologique CHU MOHAMMED VI

MARRAKECH

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules


Ministère de la Santé CHU Mohammed VI Hôpital ARRAZI Service d'Anatomie Pathologique MARRAKECH		وزارة الصحة المركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس مستشفى السراي مصلحة التشريح المرضي - مراكش
Examen n° [REDACTED]		
MR [REDACTED] Age : [REDACTED] Destinataire : [REDACTED] Service : LES [REDACTED]		IP : [REDACTED] Sexe : M Reçu le : [REDACTED] Répondu le : [REDACTED]
<u>IMMUNOHISTOCHEMIE</u>		
-L'étude immunohistochimique par immunoperoxydase (Technique automatisée: Dako Autostainer link 48) après restauration antigénique au bain marie montre :		
- Une expression cytoplasmique forte et diffuse des cellules tumorales de l'anticorps anti-ALK (Clone 5A4. Thermo).		
Conclusion : Aspect morphologique et immunohistochimique d'une prolifération carcinomateuse peu différenciée et infiltrante exprimant l'anticorps anti-ALK (Clone 5A4. Thermo).		

Figure 16 : compte-rendu type ALK, service d'anatomie-pathologique CHU MOHAMMED VI

Ministère de la Santé
CHU Mohammed VI Hôpital ARRAZI
Service d'Anatomie Pathologique
MARRAKECH



وزارة الصحة
المركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس
مستشفى الرازي
مصاحبة التشريح المرضي - مراكش

Examen n°

FISH ALK

Renseignements cliniques :

Réf :

TECHNIQUE : HYBRIDATION IN SITU EN FLUORESCENCE FISH).

SONDE UTILISEE: ALK BREAK APART PROBE (2p23.1-p23.2). REF Z-2124-200.ZYTOVISION

INTERPRETATION: GENE ALK TRANSLOQUE : PLUS DE 15% DES CELLULES TUMORALES REARANGEES.

RESULTAT : 0 % DES CELLULES TUMORALES REARANGEES ALK.

Figure 17 : Compte rendu type FISH, service d'anatomie-pathologique CHU MOHAMMED

VI



RESULTATS



I. Caractéristiques clinico-pathologiques des cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules :

Nous avons recueilli 111 cas de cancers broncho-pulmonaire non à petites cellules pour lesquels une recherche de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 a été réalisée.

Sur les 111 cas, l'étude immunohistochimique n'était pas concluante chez 6 patients en raison d'une mauvaise fixation dans 2 cas, un problème d'épuisement du matériel tumoral dans 4 cas .

1. L'âge :

L'âge moyen était de 60,67 ans avec des extrêmes allant de 28 à 91 ans. 75,70 % de nos patients étaient âgées > de 55 ans.

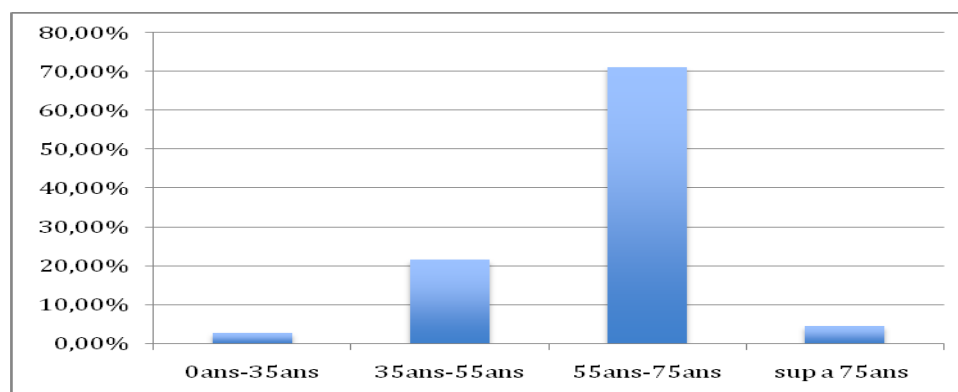


Figure 18: Répartition des patients en fonction de l'âge.

2. Le sexe :

Dans notre échantillon de cancer broncho-pulmonaires non à petites cellules, 89 patients étaient de sexe masculin. Le sexe ratio était de 4,04.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Tableau V : La répartition des cas de cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules selon le sexe

sexe	Fréquence	Pourcentage (%)
Femme	22	19,8%
Homme	89	80,2%

3. Prevenance des prélèvements tissulaires :

La majorité des prélèvements étudiés était des blocs communiqués avec un pourcentage de 73.80% (82 cas). Pour le reste des prélèvements 26.20% (29 cas) l'étude histopathologique a été réalisée au sein de notre structure (Etude interne).

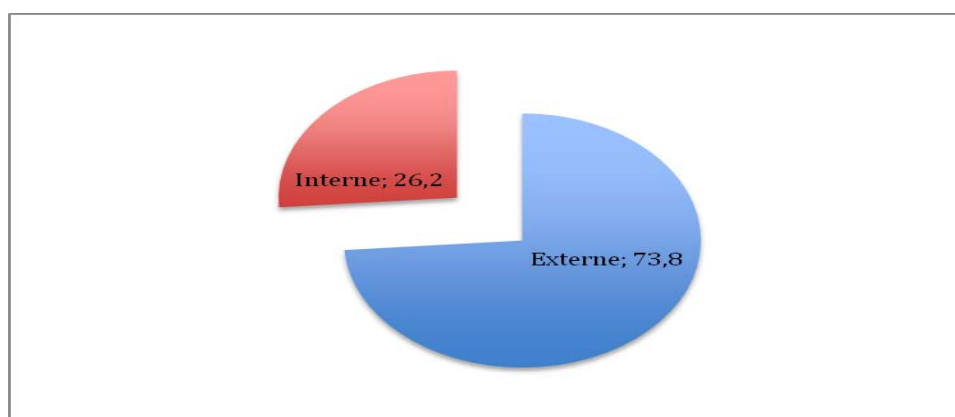


Figure 19: La répartition des cancers broncho-pulmonaires selon le lieu de l'étude histopathologique

4. Le type de prélèvement tissulaire :

Dans notre étude, 99,09% soit 110 cas des prélèvements étaient des biopsies pulmonaires bronchiques ou des localisations métastatiques. Le reste des prélèvements étaient des pièces opératoires, représenté par une lobectomie pulmonaire.

Tableau IV: La répartition des cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules selon le type de prélèvements anatomopathologiques

Le type de prélèvement	Fréquence	Pourcentage (%)
Biopsie	110	99,09%
Pièce opératoire	01	0,91%

5. Site du prélèvement :

Sur l'ensemble des cas recueillis, le nombre de cas de cancer primitif représentait 106 cas repartis en localisation pulmonaire 74 des cas (66,7%), localisation bronchique avec 32 cas 28,8%. Tandis que les cancers secondaires représentent 17 cas, 9 siégeant au niveau pleurale (8,1%), 3 cas au niveau médiastinale (2,7%) et 5 cas (4,5%) par d'autres localisations .

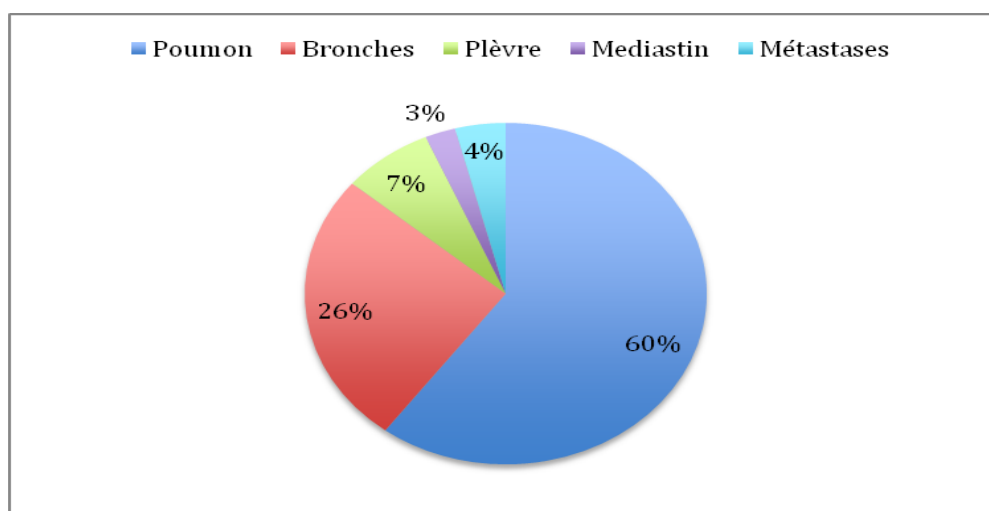


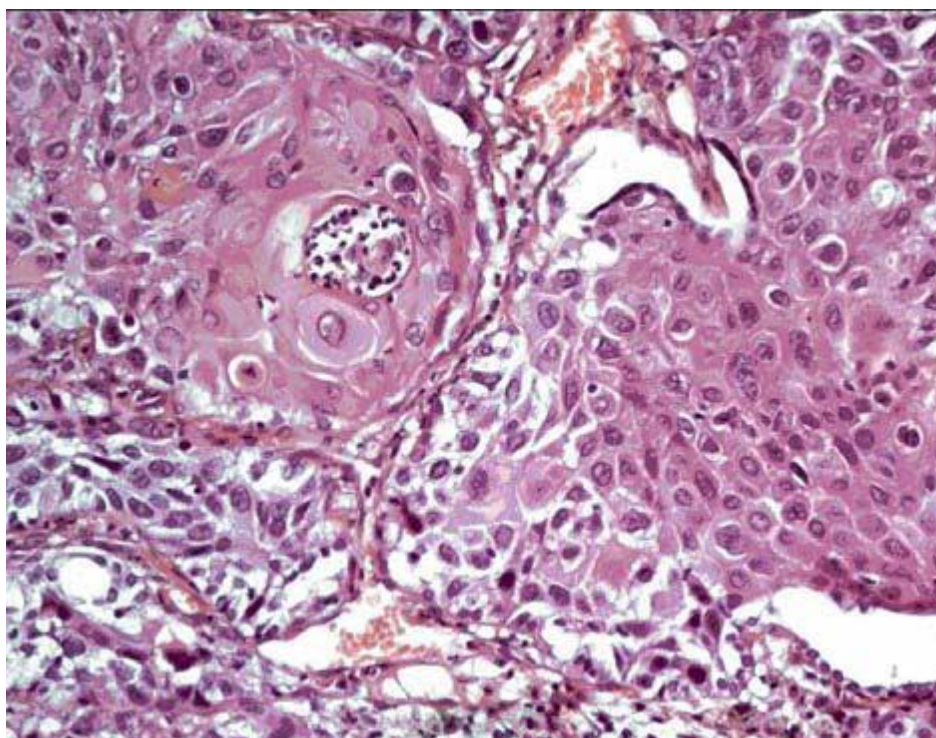
Figure 20 : Siège de prélèvement pour la recherche de l'expression de la PDL1 en immunohistochimie.

6. Le type histologique selon l'OMS 2015 :

Les CBPNPCse présentaient sous forme d'adénocarcinome dans 75,7% des cas (84 cas), suivi des carcinomes épidermoïdes qui représentent 21,6% (24 cas) et des CBPNPC sans autre indication dans 2,7% (3 cas) .

Tableau VI : Les différents aspects microscopiques du cancer broncho-pulmonaire dans notre série.

Aspect Microscopique	Le nombre	Pourcentage
Adénocarcinome	84	75,7%
Carcinomes épidermoïdes	24	21,6%
CBNPC sans autres indications	3	2,7%



**Figure20 :Photo de lame colorée selon le protocole standard d'Hématoxyline Eosine d'un carcinome épidermoïde moyennement différencié et infiltrant ,service d'anatomie-pathologique
CHU Mohammed VI Marrakech**

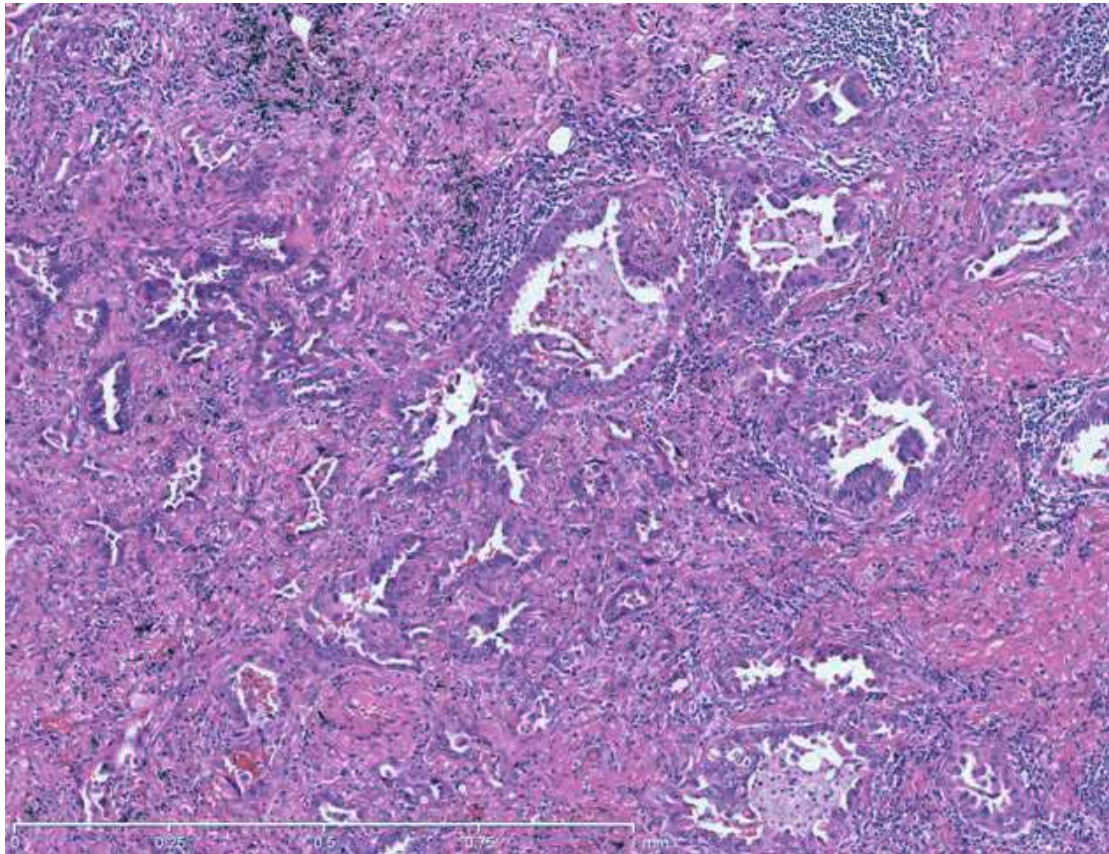


Figure 21 :Photo de lame colorée selon le protocole standard d'hématoxyline Eosine d'un adénocarcinome myennement différencié et infiltrant, service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

II. Etude immuno-histochimique des cancers broncho-pulmonaire non à petites cellules :

1. Statut d'expression de l'Ac anti protéine PDL1 dans notre série :

L'expression de la protéine PD-L1 est déterminée à l'aide du score de la proportion de tumeurs (TPS), qui correspond au pourcentage de cellules tumorales présentant un marquage partiel ou complet de la membrane. Elle est dite positive si elle est supérieure à 1% .

a. La fréquence de l'expression de l'anticorps anti PD-L1 :

L'expression de l'anticorps anti PD-L1 était positive dans 48 cas, soit 49% de la totalité.

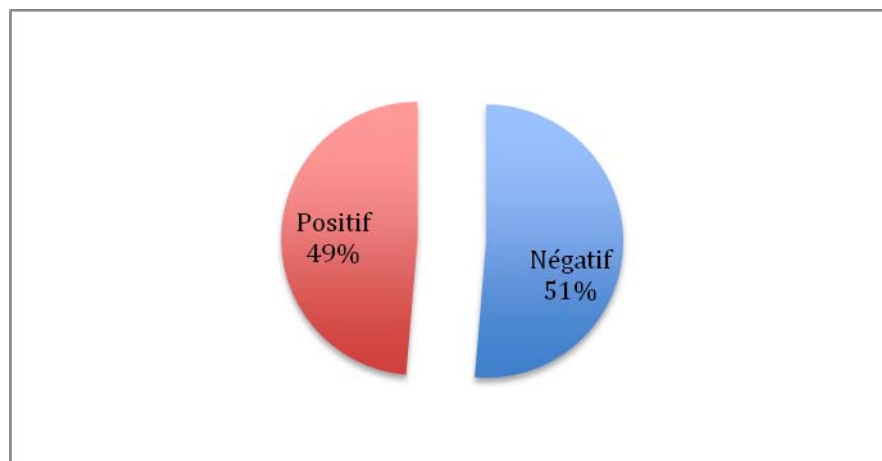


Figure 22 : Etude de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 dans notre série .

b. Scoring du PD-L1:

Parmi les 106 cas de cancers broncho-pulmonaires infiltrant exprimant l'anticorps anti PD-L1, la majorité avait un score inférieur à 1% .

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Tableau VII: Répartitions des patients en fonction de l'expression du profil PD-L1

Score de la proportion de la tumeur (TPS)	Le nombre	Pourcentage
Inférieure à 1 %	57	51,4%
Compris entre 1% et 49%	27	25,8%
Supérieure à ou égale 50%	24	22,9%

Dans notre étude la majorité des cas 57cas soit 51,4% présentaient une absence d'expression al'anticorps anti PD-L1 représentaientpar TPS<1%. Pour le reste des cas jugéspositifs, 27 cas soit 25,8 % présentaient une expression modérée de anticorps anti PD-L 1 définie par une valeur de TPS= 1-49%, tant dis que le reste de nos patients positifs 24cas soit 22,9% présentaient une forte expression de PD-L1 identifié avec valeur de TPS≥50% .

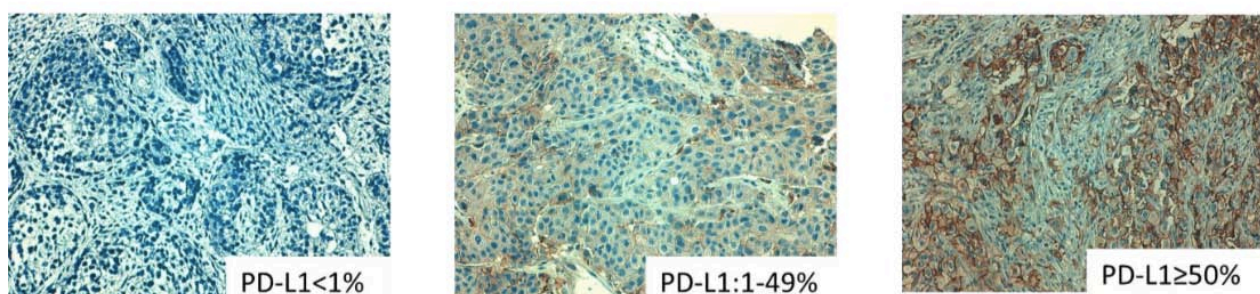


Figure 23 : Profils de l'expression immunohistochimique selon le niveau d'expression du PD-L1 service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

1.1 Les différents pourcentage de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 dans notre série :

Le pourcentage de l'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans les cancers broncho-pulmonaires était réparti de la manière suivante :

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Tableau VIII : La répartition des différents scores de la proportion de tumeurs TPS dans notre série :

Le % de l'expression cellulaire	Fréquence
0%	3
Inférieur à 1%	54
2%	2
3%	3
5%	2
10%	3
15%	2
20%	3
25%	2
30%	3
45%	3
50%	4
60%	3
65%	3
70%	2
75%	5
80%	4
85%	4
TOTAL	105

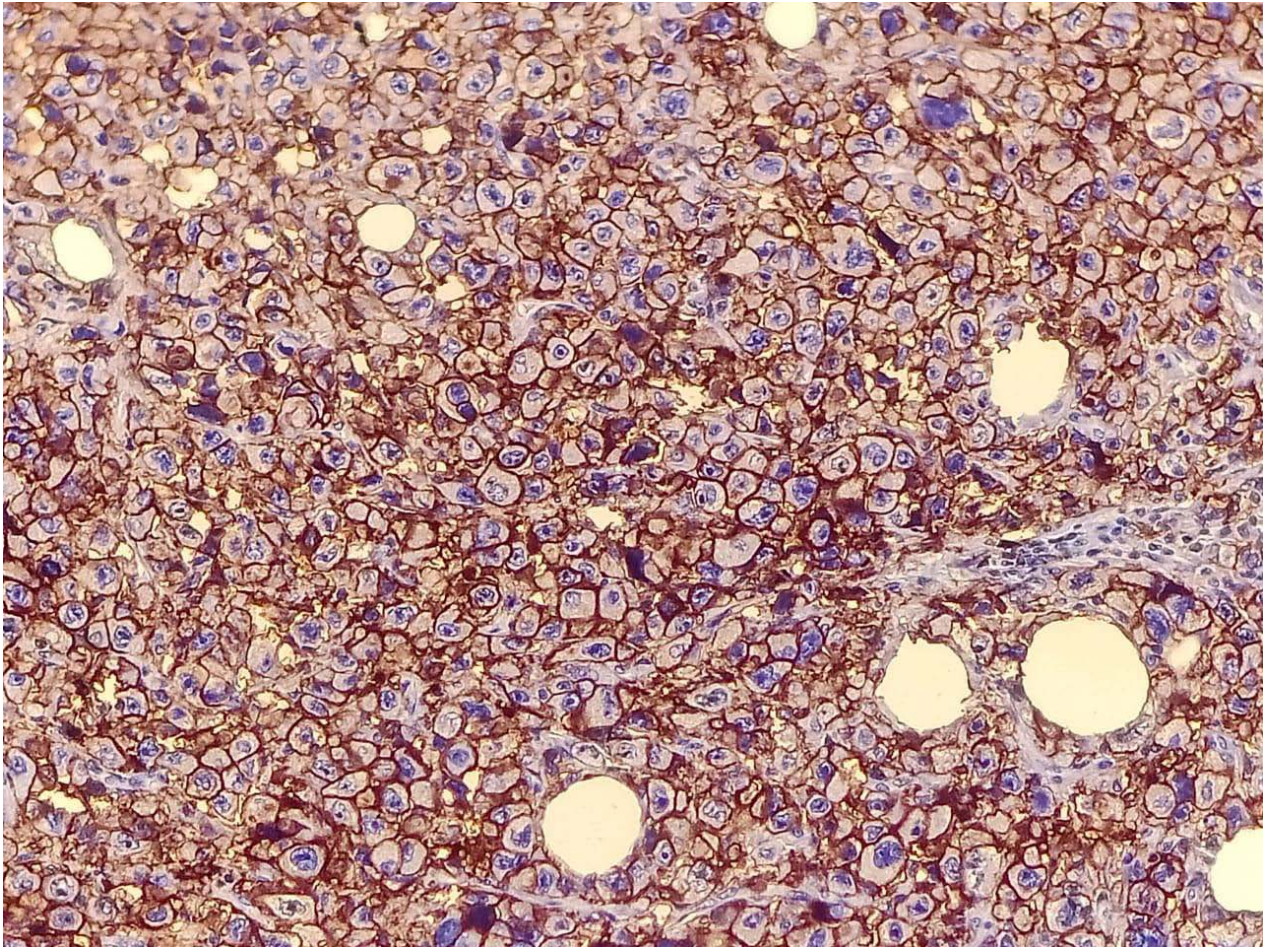


Figure 24 :Photo de lame avec une forte expression de l'anticorps anti PD-L1 avec un TPS de 95% service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

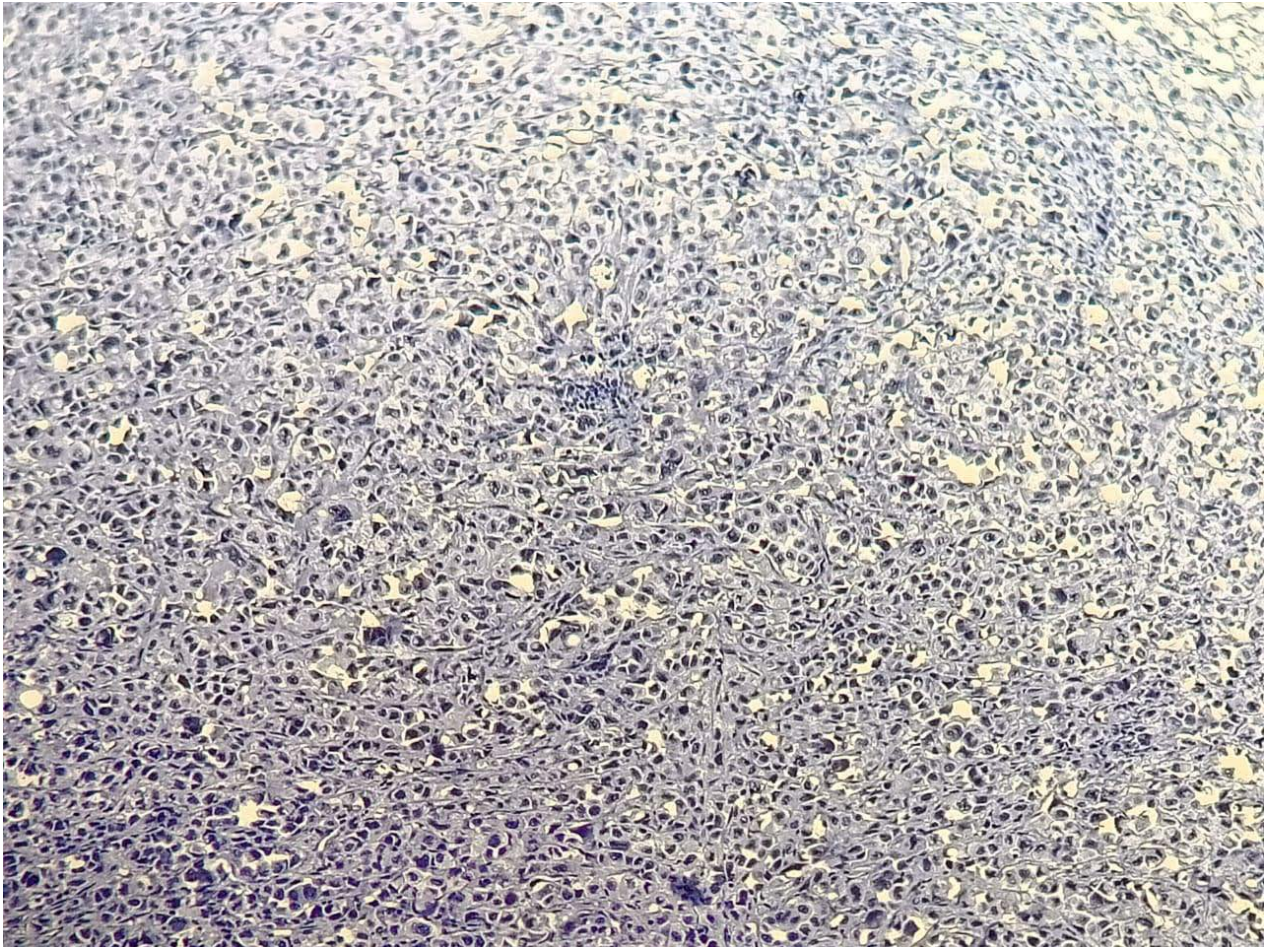
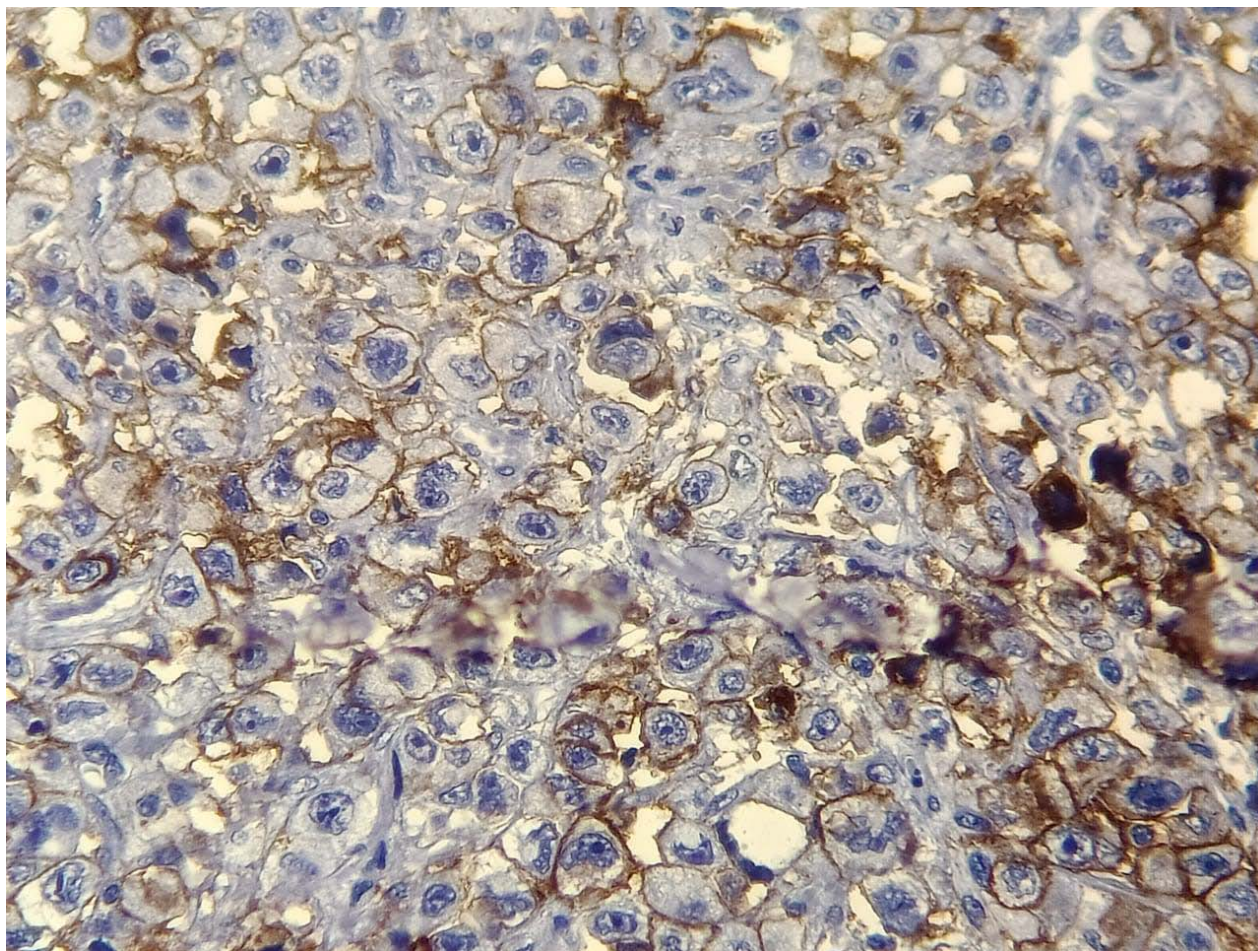


Figure 25 : Photo de lame n'exprimant pas l'anticorps anti PD-L1 ,TPS inférieur à 1% service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules



**Figure 26 : Photo de lame avec une expression de l'anticorps anti PD-L1 avec un TPS de 35%
service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech**

2. Statut d'expression de l'anticorps anti-ALK dans notre série :

❖ La fréquence d'expression de l'anticorps anti-ALK :

L'expression de l'anticorps anti-ALK était positifs dans 3 cas, soit 2,9% de la totalité.

Tableau IX: la fréquence d'expression de l'anticorps anti-ALK dans notre série

	Score	Fréquence	Pourcentage
ALK négatif	0	102	97,1%
ALK positif	1	0	0
ALK positif	2	1	0,96%
ALK positif	3	2	1,93%

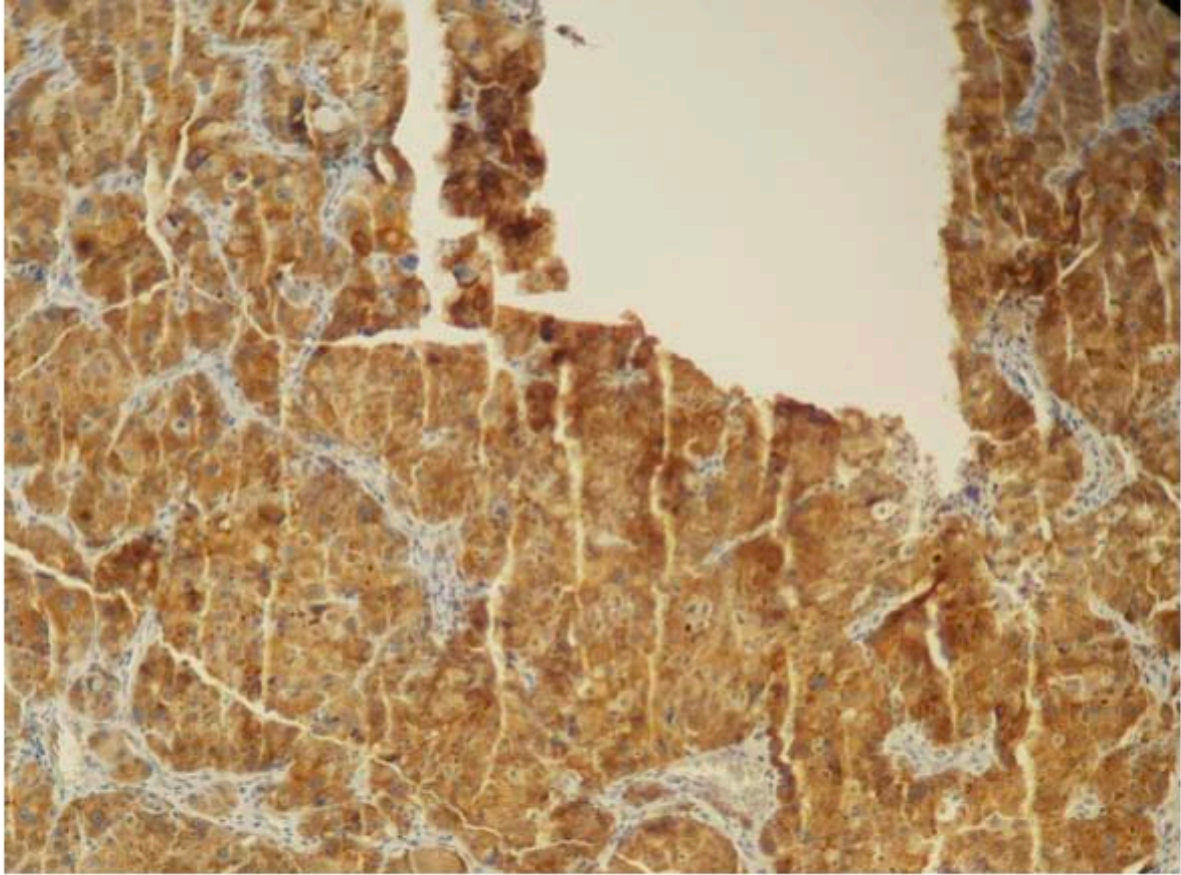


Figure 27 : Expression cytoplasmique granulaire intense des cellules carcinomateuses infiltrantes de l'anticorps anti -ALK (score 3+), Service d'anatomie-pathologie CHU Mohammed VI Marrakech

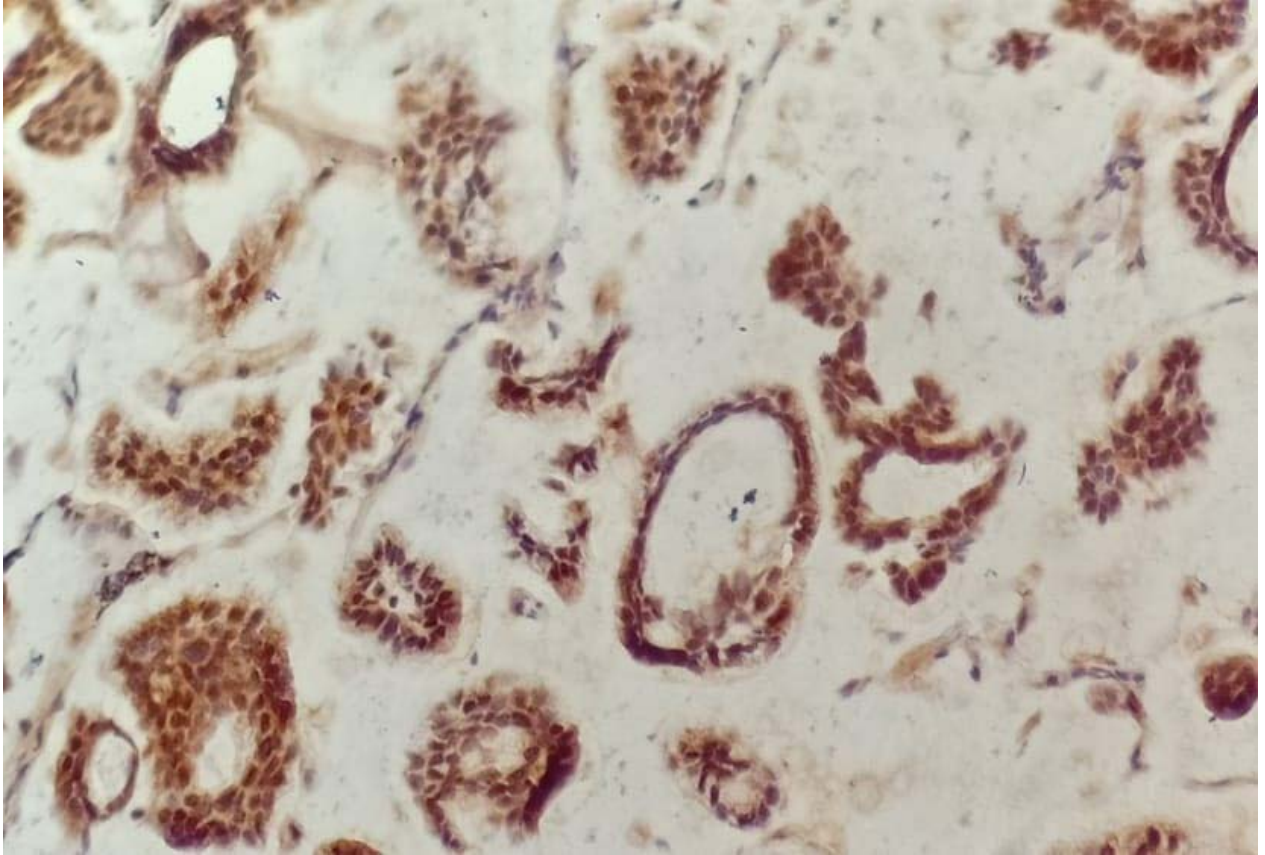


Figure 28 : Expression cytoplasmique granulaire intense des cellules carcinomateuses infiltrantes de l'anticorps anti-ALK (score 2+), Service d'anatomie-pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Répartition des cas de cancer broncho-pulmonaire a ALK positif selon les résultats de l'immunohistochimie et de l'hybridation in situ :

- Sur les 3 cas de notre série présentant une expression de l'anticorps anti ALK :
- Le score était de 2+chez un seul patient chez qui on a eu recours a la technique FISH qui a objectivé une absence de translocation chromosomique du gène ALK
- Le score était de 3+ dans les deux autres cas

Tableau X :Répartition des cas de cancer broncho-pulmonaire a ALK positif selon les résultats de l'immunohistochimie et de l'hybridation in situ

Score ALK	Pourcentage	Effectif	FISH
2+	0,96	1	Absence de translocation chromosomique du gène ALK
3+	1,93	2	

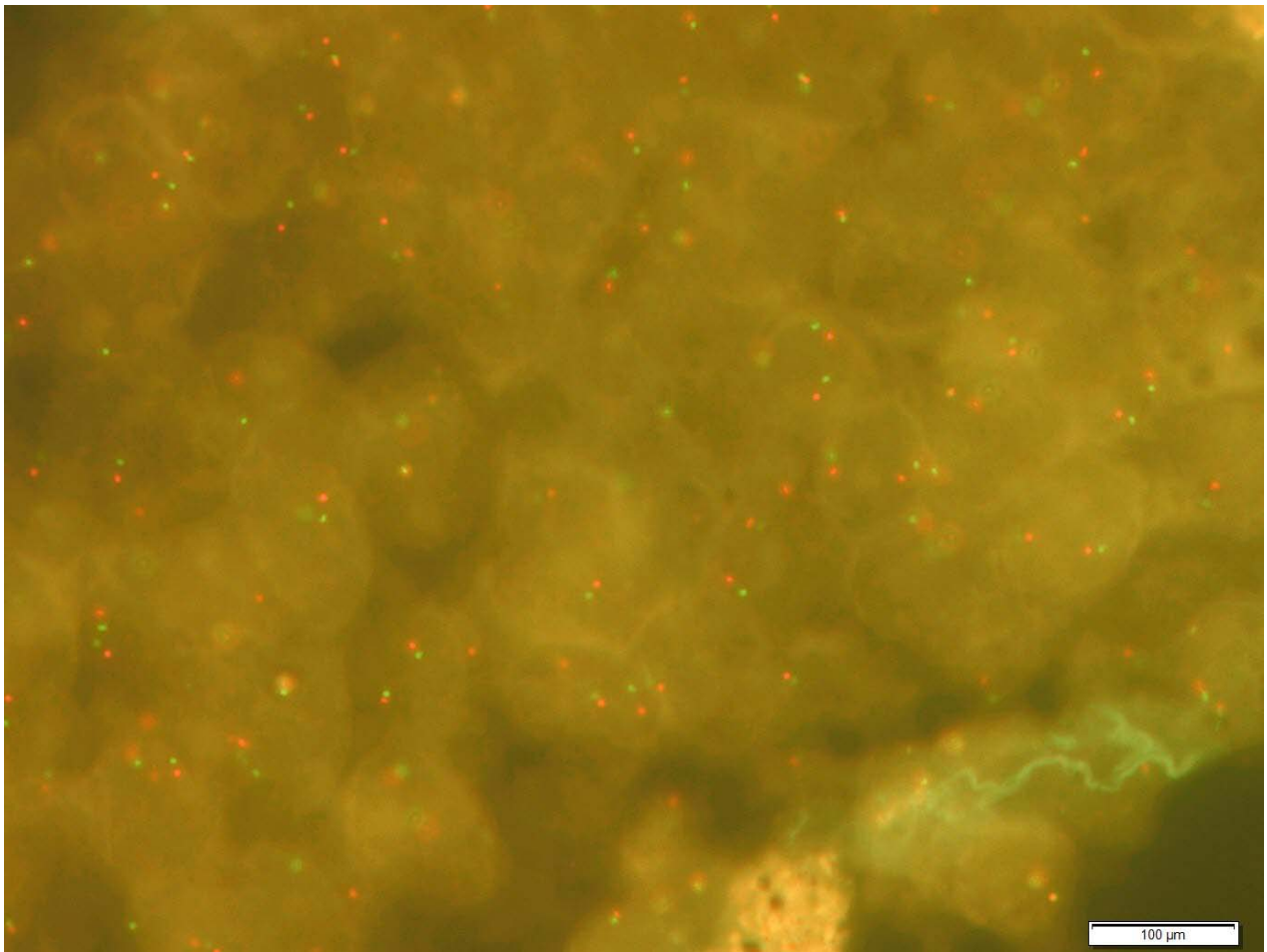


Figure 29 : Fiche ALK (sonde break-apart)montrant une séparation (ou split) des deux spots marquées en rouge et en vert (situées de part et d'autre du point de cassure localisé dans l'exon 20 du domaine kinase d'ALK) et temoignant un réarrangement du gène ALK , Service d'anatomie pathologique CHU Mohammed VI Marrakech

III. Comparaison des facteurs clinico-pathologiques et l'expression de l'anticorps anti PD-L1 :

1. La répartition des différents score TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon l'âge :

Les patients avec une expression de PD-L1 négative étaient les plus jeunes avec une moyenne d'âge de 60,57 ans, en comparaison avec les patients avec une forte expression de PD-L1 qui avaient la plus grande moyenne d'âge de 59,97 ans.

Tableau XI : L'âge moyen des score TPS d'expressions de l'anticorps anti PD-L1 :

	Absence d'expression PD-L1	Expression modéré de PD-L1	Expression élevé PD-L1
Age moyen (an)	60,57	59,44	59,64

2. Répartition des différents scores TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon le sexe:

Tableau XII: Répartition des différents score TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon le sexe:

Sexe	Absence d'expression PD-L1	Expression modéré de PD-L1	Expression élevé PD-L1
Homme	45	20	18
Femme	12	4	6

3. La répartition des différents scores TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon le type histologique :

Tableau XIII: Répartition des différents score TPS d'expression de l'anticorps anti PD-L1 selon le type histologique

Niveau d'expression PD-L1	Absence d'expression PDL1 (N,%)	Expression modérée de PDL1 (N,%)	Expression élevée PDL1 (N,%)
Adénocarcinome	52 ; 65%	10 ; 12,5%	18 ; 22,5%
Carcinomes épidermoïde	5 ; 19,2%	13 ; 50%	8 ; 30,8%
CBPNC sans autres indications	0 ; 0%	2 ; 66,66%	1 ; 33,34%

IV. Comparaison des facteurs clinico-pathologiques et l'expression de l'anticorps anti ALK:

1. La répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon l'âge :

La moyenne d'âge des patients avec une expression de l'anticorps anti ALK positive était de 66,33%, tandis que la moyenne d'âge des patients avec une expression de l'anticorps anti ALK négatif était de 59,7% .

Tableau XIV: Répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon l'âge :

	Absence d'expression ALK	Présence d'expression ALK positif
Moyenne d'âge An	59,7	60,33

2. Répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon le sexe:

Tableau XV: Répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon le sexe:

Sexe	Absence d'expression ALK	Présence d'expression ALK positif
Homme	81	2
Femme	21	1

3. Répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon le type histologique :

Tableau XVI : Répartition de l'expression de l'anticorps anti ALK selon le type histologique

Type Histologique	Absence d'expression ALK	Présence d'expression ALK positif
Adénocarcinome	84	0
Carcinome épidermoïde	22	2
CBNPC sans autres indications	2	1

V. Corrélation entre le score TPS de l'expression de la PD-L1 et les cas ALK réarrangés :

Sur les 3 cas présentant un statut ALK positif, l'expression de l'anticorps anti PD-L1 à étaient répartis comme suit :

Tableau XVII: Répartition des profils ALK positif de notre série en fonction du score TPS de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1

Présence d'expression ALK	Cas 1	Cas 2	Cas 3
Etat d'expression de la PD-L1	Expression élevée	Expression de la PD-L1	Absence d'expression de PD-L1
Niveau d'expression de la PD-L1	80%	5%	Inferieur a 1%



DISCUSSION



I. Généralités :

La classification OMS des tumeurs pulmonaires, de la plèvre, du thymus et du cœur a été publiée en 2015. Elle intègre diagnostic sur petits prélèvements biopsiques ou cytologiques, et recommande l'utilisation de l'immunohistochimie y compris sur pièces opératoires. Elle tient compte des avancées considérables de ces dernières années dans la génétique des cancers du poumon, certaines anomalies comme les mutations du gène EGFR ou réarrangements des gènes ALK ou ROS1 ayant des implications directes dans la prise en charge thérapeutique des patients grâce à la prescription de nouvelles thérapies ciblées [10].

II. l'étude histologique :

1. Classification histologique du cancer broncho-pulmonaire (OMS 2015)

Le cancer de poumon est classé en deux principaux groupes histologiques : le cancer bronchique à petites cellules (CPC, 15% de tous les cancers du poumon) et le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC, 85% de tous les cancers du poumon).

Les carcinomes à petites cellules représentent 15% des cancers du poumon. Ils surviennent principalement au centre d'une grande bronche et sont hautement invasifs et hautement métastatiques [11].

Les CBNPC sont généralement subdivisés en deux grandes catégories : adénocarcinome et carcinome épidermoïde. La caractérisation histomorphologique, immunohistochimique et moléculaire précise du CBNPC sont des paramètres importants dans l'évaluation pronostique et donc dans les décisions thérapeutiques [12].

WHO classification of tumours of the lung^{a,b}

Epithelial tumours		Papillomas	
Adenocarcinoma	8140/3	Squamous cell papilloma	8052/0
Lepidic adenocarcinoma	8250/3*	Exophytic	8052/0
Acinar adenocarcinoma	8551/3*	Inverted	8053/0
Papillary adenocarcinoma	8260/3	Glandular papilloma	8260/0
Micropapillary adenocarcinoma	8265/3	Mixed squamous cell and glandular papilloma	8560/0
Solid adenocarcinoma	8230/3	Adenomas	
Invasive mucinous adenocarcinoma	8253/3*	Sclerosing pneumocytoma	8832/0
Mixed invasive mucinous and non-mucinous adenocarcinoma	8254/3*	Alveolar adenoma	8251/0
Colloid adenocarcinoma	8480/3	Papillary adenoma	8260/0
Fetal adenocarcinoma	8333/3	Mucinous cystadenoma	8470/0
Enteric adenocarcinoma	8144/3	Mucous gland adenoma	8480/0
Minimally invasive adenocarcinoma		Mesenchymal tumours	
Non-mucinous	8250/2*	Pulmonary hamartoma	8992/0
Mucinous	8257/3*	Chondroma	9220/0
Preinvasive lesions		PEComatous tumours	
Atypical adenomatous hyperplasia	8250/0*	Lymphangiomyomatosis	9174/1
Adenocarcinoma in situ	8140/2	PEComa, benign	8714/0
Non-mucinous	8410/2	Clear cell tumour	8005/0
Mucinous	8253/2	PEComa, malignant	8714/3
Squamous cell carcinoma	8070/3	Congenital peribronchial myofibroblastic tumour	8827/1
Keratinizing squamous cell carcinoma	8071/3	Diffuse pulmonary lymphangiomatosis	
Non-keratinizing squamous cell carcinoma	8072/3	Inflammatory myofibroblastic tumour	8825/1
Basaloid squamous cell carcinoma	8083/3	Epithelioid haemangi endothelioma	9133/3
Preinvasive lesion		Pleuropulmonary blastoma	8973/3
Squamous cell carcinoma in situ	8070/2	Synovial sarcoma	9040/3
Neuroendocrine tumours		Pulmonary artery intimal sarcoma	9137/3
Small cell carcinoma	8041/3	Pulmonary myxoid sarcoma with <i>EWSR1-CREB1</i> translocation	8842/3*
Combined small cell carcinoma	8045/3	Myoepithelial tumours	
Large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Myoepithelioma	8982/0
Combined large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3	Myoepithelial carcinoma	8982/3
Carcinoid tumours		Lymphohistiocytic tumours	
Typical carcinoid	8240/3	Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	9699/3
Atypical carcinoid	8249/3	Diffuse large B-cell lymphoma	9680/3
Preinvasive lesion		Lymphomatoid granulomatosis	9766/1
Diffuse idiopathic pulmonary neuroendocrine cell hyperplasia	8040/0*	Intravascular large B-cell lymphoma	9712/3
Large cell carcinoma	8012/3	Pulmonary Langerhans cell histiocytosis	9751/1
Adenosquamous carcinoma	8560/3	Erdheim-Chester disease	9750/1
Pleomorphic carcinoma	8022/3	Tumours of ectopic origin	
Spindle cell carcinoma	8032/3	Germ cell tumours	
Giant cell carcinoma	8031/3	Teratoma, mature	9080/0
Carcinosarcoma	8980/3	Teratoma, immature	9080/1
Pulmonary blastoma	8972/3	Intrapulmonary thymoma	8580/3
Other and unclassified carcinomas		Melanoma	8720/3
Lymphoepithelioma-like carcinoma	8082/3	Meningioma, NOS	9530/0
NUT carcinoma	8023/3*	Metastatic tumours	
Salivary gland-type tumours			
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3		
Adenoid cystic carcinoma	8200/3		
Epithelial-myoepithelial carcinoma	8562/3		
Pleomorphic adenoma	8940/0		

Figure 30 :Classification Histologique des carcinomes pulmonaires selon OMS 2015 [11].

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

La nouvelle classification du cancer du poumon fait en 2015 a intégré de nouvelles recommandations sur les terminologies à adopter sur biopsies et prélèvements cytologiques. Elle a également recommandé de limiter le diagnostic de carcinome à grandes cellules, peu informatif pour les cliniciens et vis-à-vis des indications de testing moléculaire. Elle a pour objectif d'aider les pathologistes à mieux sous-typé les tumeurs et recommande l'utilisation sur biopsies et sur pièces opératoires d'un panel d'immunomarquages, basé essentiellement sur l'utilisation des anticorps anti-TTF1 et anti-P40 [13].

Le P40 et le facteur de transcription thyroïdien (TTF1) sont respectivement les deux meilleurs marqueurs du carcinome épidermoïde et d'adénocarcinome [13].

Les carcinomes épidermoïdes apparaissent généralement au centre des poumons, ils débutent généralement au niveau des bronches souches et de leurs principales branches de division, sur une zone épithéliale modifiée par une métaplasie malpighienne et ils sont parfois périphériques [11,13]. En pratique devant un CBNPC, il sera étudié l'expression de TTF1, spécifique des adénocarcinomes (95 %) et celle de la p40 fortement spécifique des carcinomes épidermoïdes (98 %) [12].

Les adénocarcinomes ont tendance à se produire dans des zones périphériques apparaissant dans les petites voies respiratoires, ils prennent naissance dans les cellules pulmonaires qui fabriquent le mucus, mais ils peuvent être localisés au centre d'une bronche principale et tendent à reproduire la structure d'un épithélium glandulaire [10].

Au cours de ces dernières années, l'incidence des adénocarcinomes a considérablement augmenté et plus de 40 % des carcinomes non à petites cellules pulmonaires sont des adénocarcinomes. Le TTF-1 et la NapsinA sont exprimés dans plus de 85% des cas d'adénocarcinome du poumon et servent comme marqueurs de différenciation d'adénocarcinome [10, 11].

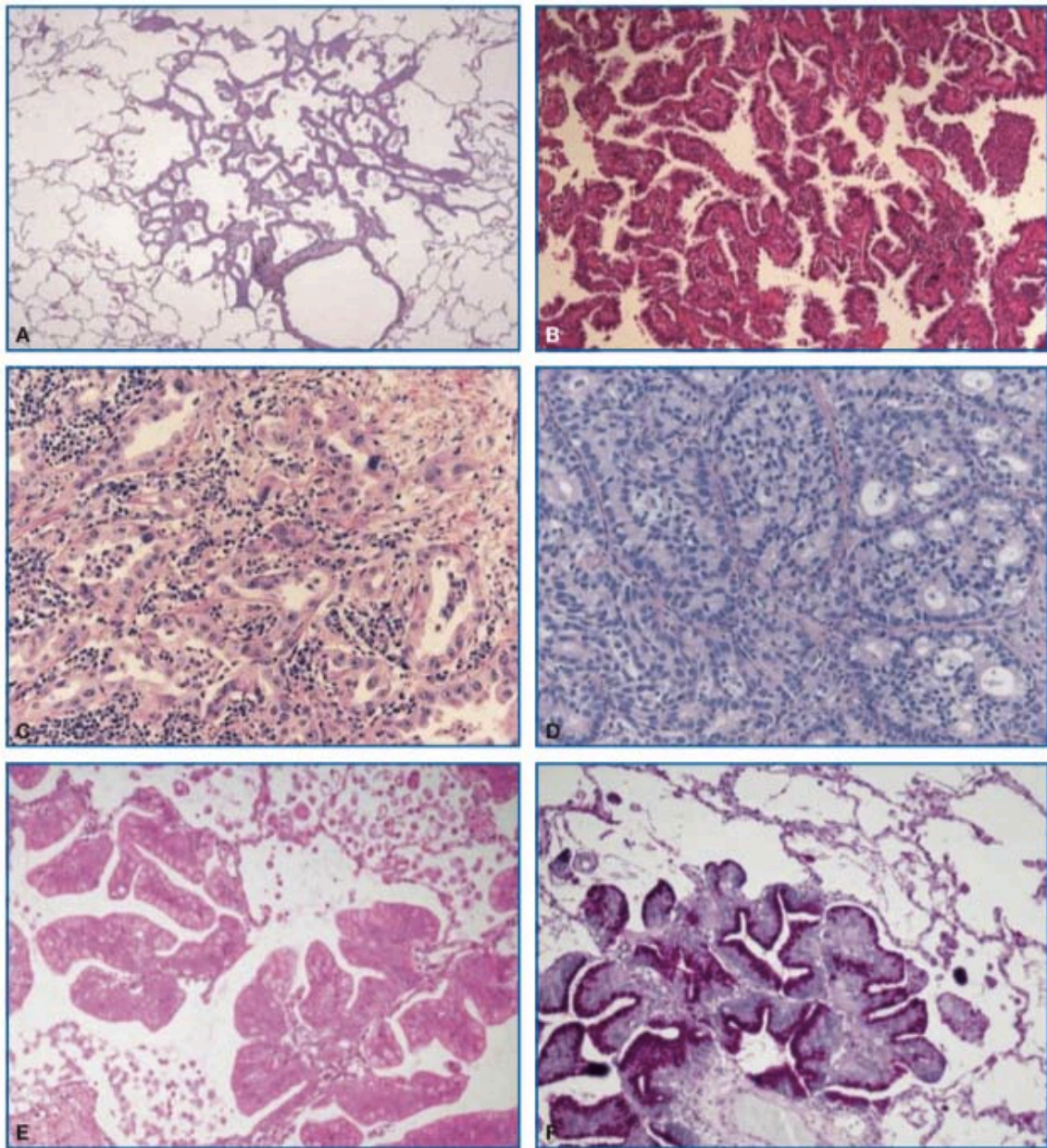


Figure 31 : Adénocarcinomes avec variantes architecturales et cytologiques. a : architecture lépidique. Adénocarcinome in situ b : architecture papillaire c : architecture acinaire, d : architecture solide, e : adénocarcinome mucineux, avec cellules cylindriques mucosécrétantes, f : adénocarcinome mucineux avec mucine intracellulaire [14].

2. Classification des CBPNPC (TNM, 8^{ème} édition)

Le système le plus fréquemment utilisé pour déterminer le stade du cancer broncho-pulmonaire est la classification TNM [14].

3. Classification pTNM des cancers broncho-pulmonaire (8^{ème} édition)

La classification TNM prend en compte :

- ✚ La taille de la tumeur primitive.
- ✚ Le nombre de ganglions lymphatiques régionaux qui contiennent des cellules cancéreuses, ainsi que leur emplacement.
- ✚ Présence ou non de métastases.

La taille de la tumeur (T) (8^{ème} édition)

Tableau XVIII : Classification pTNM du cancer broncho-pulmonaire[14].

Tx :Tumeur primaire non connue ou tumeur prouvée par la présence de cellules malignes dans les sécrétions broncho-pulmonaires mais non visible aux examens radiologiques et endoscopiques.
T0 : Absence de tumeur identifiable. .
Tis : Carcinome in situ
T1: Tumeur de 3 cm ou moins dans ses plus grandes dimensions, entourée par du poumon ou de la plèvre viscérale, sans évidence d'invasion plus proximale que les bronches lobaires à la bronchoscopie .
T1a(mi) : Adénocarcinome minimalement-invasif
T1a \leq 1 cm
T1b $>$ 1 cm et \leq 2 cm
T1c $>$ 2 cm et \leq 3 cm
T2:Tumeur de plus de 3 cm, mais de 5 cm ou moins, avec quelconque des éléments suivants:
-Envahissement d'une bronche souche quelle que soit sa distance par rapport à la carène mais sans envahissement de la carène,
-Envahissement de la plèvre viscérale,
-Existence d'une atélectasie ou pneumonie obstructive s'étendant à la région hilare ((sub)lobaire ou pulmonaire)
T2a : $>$ 3 cm mais \leq 4 cm
T2b : 4 cm mais \leq 5 cm
T3:Tumeur de plus de 5 cm et de 7 cm ou moins, ou associée à un(des) nodule(s) tumoral(aux) distinct(s) et dans le même lobe, ou ayant au moins l'un des caractères invasifs suivants :
-Atteinte de la paroi thoracique (incluant les tumeurs du sommet),
-Atteinte du nerf phrénique,
-Atteinte de la plèvre pariétale ou du péricarde.

T4:Tumeur de plus de 7 cm ou associée à un(des) nodule(s) pulmonaire(s) distinct(s) comportant un envahissement quelconque parmi les suivants :
-Médiastin
-Cœur ou gros vaisseaux,
-Trachée,

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

-Diaphragme,
-Nerf récurrent,
-Oesophage,
-Corps vertébraux,
-Carène,
-Nodules tumoraux séparés dans deux lobes différents du même poumon.

Classification adénopathies régionales (N) [14].

- pN0: Absence de métastase ganglionnaire régionale détectée en histologie standard .
- Nx:Envahissement locorégional inconnu.
- N0 : Absence de métastase dans les ganglions lymphatiques régionaux.
- N1 : Métastases ganglionnaires péri-bronchiques homolatérales et/ou hilaires homolatérales incluant une extension directe. .
- N2 : Métastases dans les ganglions médiastinaux homolatéraux ou dans les ganglions sous-carénares. .
- N3 : Métastases ganglionnaires médiastinales controlatérales ou hilaires controlatérales ou scaléniques, sus- claviculaires homo- ou controlatérales.

Classification des métastases [14] :

- M0:Pas de métastase à distance. .
- M1 : Existence de métastases :
- M1a :Nodules tumoraux séparés dans un lobe controlatéral, ou nodules pleuraux ou pleurésie maligne ou péricardite maligne .
- M1b:1 seule métastase dans un seul site métastatique
- M1c:Plusieurs métastases dans un seul site ou plusieurs sites atteints

Traitement

En pratique, on distingue les stades localisés (I et II), les stades localement avancés (III) et les stades disséminés (IV).

Pour les stades localisés (stades I et II), en fonction du bilan d'opérabilité, une chirurgie d'exérèse complétée ou non de chimiothérapie adjuvante ou d'une radiothérapie stéréotaxique sera proposée.

La thérapie du CBNPC à un stade avancé a considérablement évolué avec l'introduction des thérapies ciblées et de l'immunothérapie avec la chimiothérapie [15].

Les options de traitement pour les patients atteints d'un CBNPC à un stade avancé dépendent des caractéristiques de la tumeur et du patient. Les caractéristiques tumorales importantes qui orientent les décisions thérapeutiques sont les caractéristiques histologiques (Épidermoïde ou non épidermoïde), les caractéristiques moléculaires avec la présence ou non de mutations du récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR), translocation du lymphome anaplasique kinase (ALK), translocation de la tyrosine kinase du récepteur oncogène 1 (ROS1) et mutation du gène B de l'homologue de l'oncogène viral du sarcome murin v-Raf (BRAF) et l'expression du ligand de mort programmée-1 (PD-L1). En fonction de ces différents aspects, les patients peuvent être candidats à une thérapie ciblée, à une immunothérapie, à une chimiothérapie, à une combinaison de chimiothérapie avec une immunothérapie [16].

Les chimiothérapies :

Si l'état général du patient est conservé, s'il n'existe pas de mutation accessible à une thérapie ciblée et depuis 2016 si l'expression PDL1 est inférieure à 50% les recommandations sont d'utiliser une chimiothérapie de première ligne. Elle se compose d'un doublet à base de sels de platine (Carboplatine ou Cisplatine) associés à une molécule dite de 3ème génération type

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

(Gemcitabine, Pemetrexed, Vinorelbine, Paclitaxel, Docétaxel) plus ou moins associés à un traitement anti-angiogénique (Bevacizumab) dans les tumeurs non épidermoïdes. Le choix de la chimiothérapie sera décidé en Réunion de Concertation Pluridisciplinaire (RCP) en fonction de l'âge, de l'état général, des comorbidités et du type histologique de la tumeur [17].

S'il existe une progression tumorale sous chimiothérapie de 1ère ligne on proposera en fonction de la décision de RCP une mono-chimiothérapie, une thérapie ciblée ou une immunothérapie [18].

✚ Les thérapies ciblées:

Les recommandations sont d'effectuer la recherche de cible moléculaire. La présence d'une telle anomalie doit amener à proposer en première ligne la thérapie ciblée correspondante. Il peut s'agir d'un Inhibiteur de Tyrosine Kinase (ITK) de l'EGFR (Erlotinib, Gefitinib, Afatinib, Osimertinib), d'un inhibiteur de ALK en cas de translocation de ALK ou d'anomalie moléculaire de ROS1 ou de C-met. Ce type de traitement, s'il est possible, offre un meilleur taux de réponse ainsi qu'une meilleure médiane de survie qui peut être supérieure à 2 ans [18].

✚ L'immunothérapie :

Traitement récent et au cœur des préoccupations actuelles en oncologie, l'immunothérapie est une avancée majeure en oncologie thoracique. Dans le cancer du poumon, l'immunothérapie a d'abord été indiquée en 2ème ligne thérapeutique puis plus récemment en 1ère ligne. Trois molécules ont actuellement une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans le cancer du poumon : le Nivolumab, le Pembrolizumab, l'Atézolizumab. Nous détaillerons ci-dessous plus précisément cette option thérapeutique [16].

III. Immunothérapie :

1. Généralités:

Le concept d'immunothérapie, est l'utilisation du système immunitaire pour combattre une maladie, un ancien concept, découvert dès XXème siècle du a des rémissions de cancer suite à des infections.

Progressivement ,les connaissanceset la compréhension des interactions cellulaires impliquées au niveau du système immunitaire et dans la modulation de celui-ci se sont développées et l'idée de l'existence d'une immunité anti tumorale grâce à laquelle le système immunitaire peut limiter le développement tumoral s'est imposée [19].L'échappement des cellules tumorales au système immunitaire est ensuite devenu un des mécanismes fondamentaux de la cancérogénèse [20]. Favoriser l'immunité anti tumorale est ainsi devenu un nouvel axe thérapeutique.

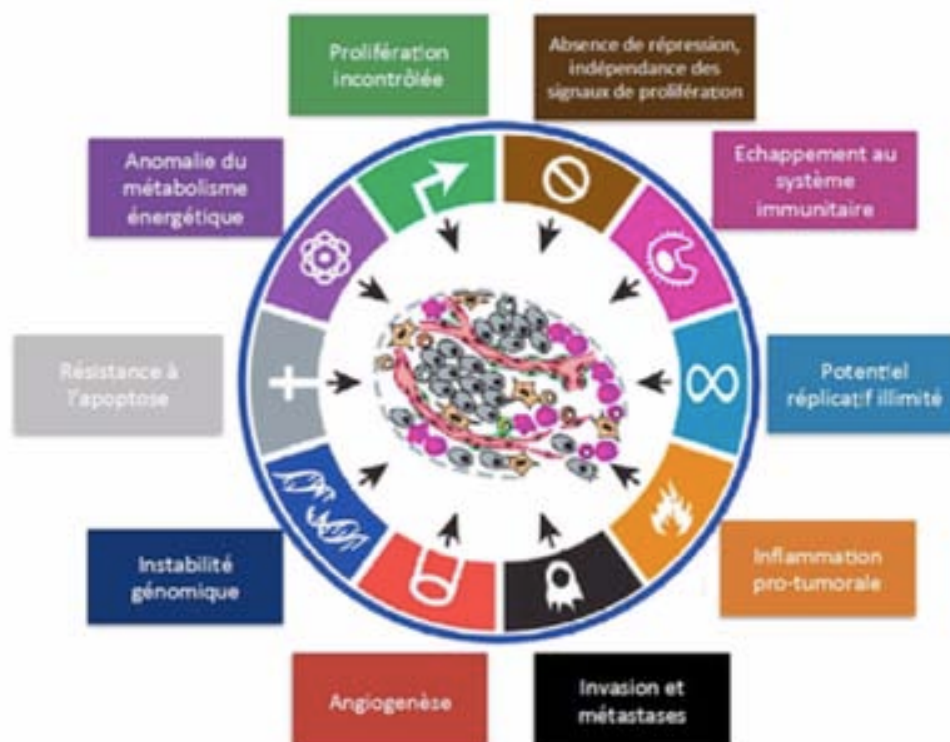


Figure 32 : Mécanismes fondamentaux de la cancérogénèse [20]

On parle des immunothérapies passives qui visent à apporter des effecteurs immunologiques dirigés contre la tumeur et des immunothérapies dites actives parmi lesquelles on retrouve les molécules utilisées dans le cancer du poumon ciblant les points de contrôles immunitaires (dit immune checkpoint). Ces molécules s'opposent à l'immunosuppression induite par la tumeur et son environnement en bloquant des récepteurs inhibiteurs de la réponse immunitaire. Nous détaillerons ci-dessous plus particulièrement les mécanismes de l'immunothérapie ciblant les points de contrôle immunitaire et particulièrement ceux visant le récepteur inhibiteur « programme death 1 » (PD- 1) et son ligand « programme death ligand 1 » (PDL1) [21].

2. Immunosurveillance et Evasion tumorale

De multiples mécanismes permettent de prévenir l'apparition des cancers en induisant la senescence ou l'apoptose. Toutefois dans le cas où le système échoue, les cellules cancéreuses peuvent être reconnues et éliminées par les cellules du système immunitaire. Le système immunitaire est capable d'éliminer un cancer ou de le maintenir dans un état dormant pendant de très longues périodes. Mais si les cellules cancéreuses échappent à l'immunosurveillance, cela aboutit à la croissance d'un cancer qui se manifeste cliniquement [21].

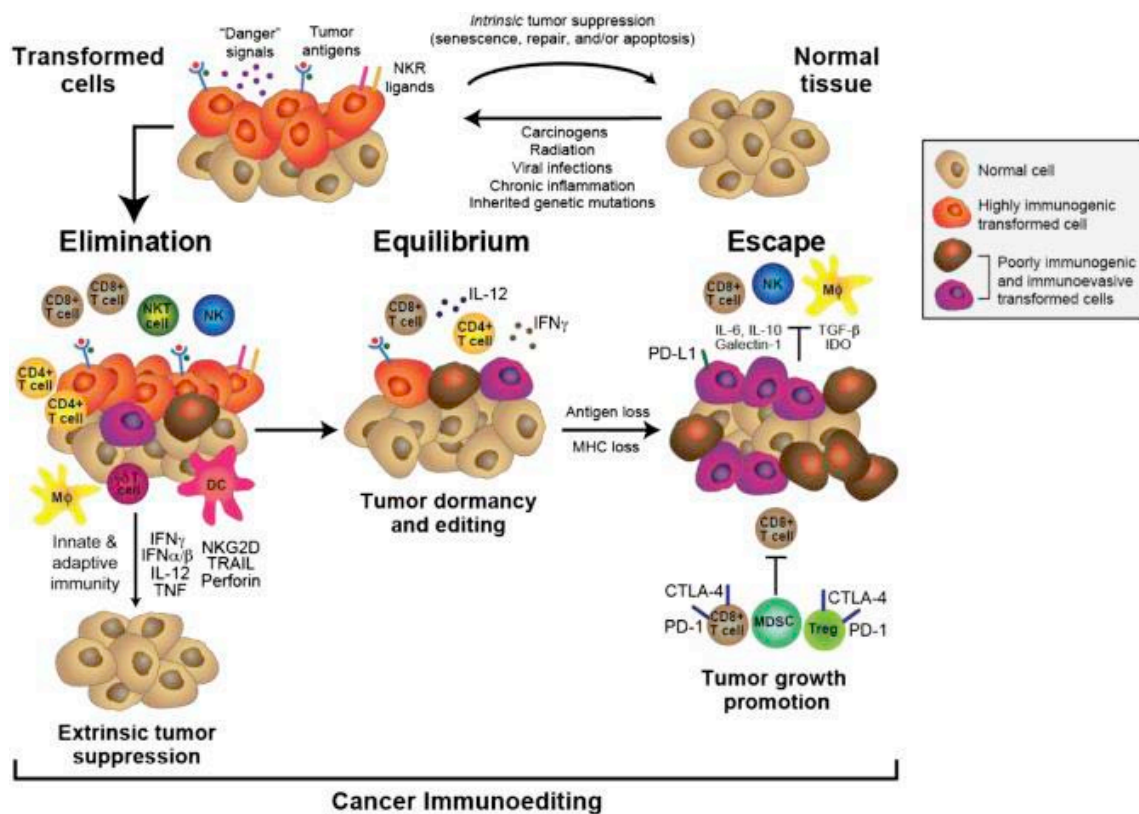


Figure 33 : Interactions entre le système immunitaire et le Cancer [22].

Ces interactions peuvent avoir trois issues 1) élimination du cancer : reconnaissance et destruction des cellules tumorales, 2) équilibre : maîtrise de l'expansion des cellules transformées, mais pas d'éradication, 3) échappement : les cellules tumorales possèdent la capacité d'atténuer les réponses immunes [22].

3. Immunothérapie anti-PD1 / PD-L1

Le prix Nobel de physiologie ou de médecine 2018 a été rapporté par deux chercheurs en immunothérapie du cancer, James P. Allison, PhD, du MD Anderson Cancer Center de l'Université du Texas, et au Dr Tasuku Honjo de l'Université de Kyoto, au Japon. Allison et Honjo ont été honorés pour leurs travaux visant à découvrir des moyens d'activer le système immunitaire pour lutter contre le cancer, une avancée décisive dans le développement de nouveaux traitements contre le cancer. Allison a étudié la protéine CTLA-4 et Honjo a découvert PD-1, une autre protéine présente à la surface de certains lymphocytes T [23].

3.1 L'axe PD1-PDL1 dans la réponse immunitaire :

Le récepteur PD-1 est exprimé essentiellement par les lymphocytes activés mais également sur d'autres cellules du système immunitaire (LT régulateur, lymphocytes B, cellules NK, cellules dendritiques et monocytes). Son expression augmente au niveau des LT activés en cas d'exposition antigénique prolongée afin de limiter l'activation des lymphocytes et d'éviter une réponse immune excessive [24]. Ce récepteur PD1 a deux ligands: PDL1, protéine transmembranaire retrouvée principalement sur les cellules tumorales sous l'effet de l'interféron ou parfois sur quelques cellules immunocompétentes et PDL2 peu exprimé au niveau tumoral mais principalement sur les macrophages et les cellules dendritiques (qui interviendraient notamment dans la tolérance au niveau pulmonaire) [25].

L'interaction PD1/PDL1 conduit à une régulation négative du lymphocyte qui cesse de proliférer et sécréter des cytokines et donc de détruire les cellules tumorales. Il en résulte alors

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

une anergie et une apoptose des lymphocytes T [25,26].

Les cellules tumorales utilisent cette voie pour échapper au système immunitaire à la fois en sur-exprimant le ligand PDL1 à sa surface mais également sur les cellules de son environnement pour freiner l'activité du système immunitaire

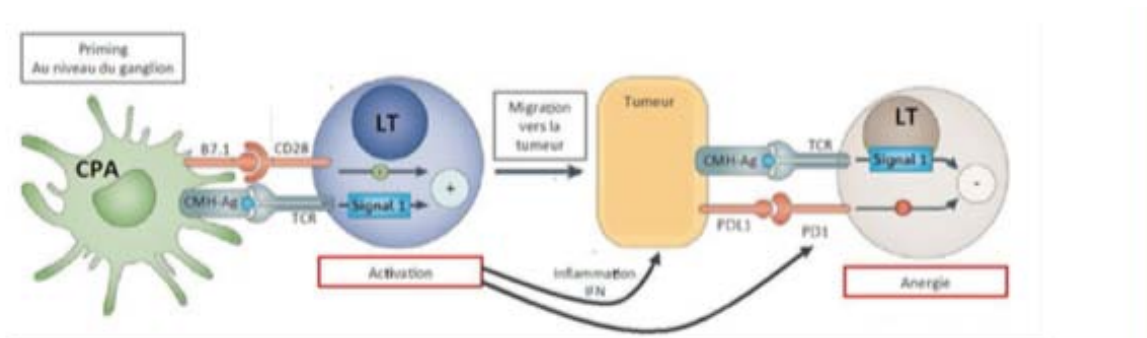


Figure 34 : Mécanismes de l'axe PD1/PDL1 dans la résistance immunitaire [27]

Les inhibiteurs des points de contrôle immunitaire vont bloquer les mécanismes de frein mis en jeu par la cellule tumorale et réactiver le système immunitaire pour lui permettre de lutter plus efficacement contre les cellules tumorales [28].

Parmi ces molécules, nous nous intéressons particulièrement aux anti-PD1 et anti-PDL1 qui sont des immunoglobulines monoclonales humanisées. Les anti-PD1 vont bloquer l'interaction de PD1 avec ses deux récepteurs à savoir le PDL1 et le PDL2, l'avantage des anti-PD1 serait de pouvoir saturer les récepteurs PD1 des LT circulants avant leur migration au niveau tumoral et donc d'être actif à des concentrations plus faibles. Les anti-PDL1 bloquent la liaison PD1 PDL1 mais également à un autre récepteur B7-1 dont le rôle semble moins important (36) Par contre, les anti-PDL1 respectent l'interaction de PD1 et PDL2 impliquée dans la tolérance périphérique notamment au niveau pulmonaire [28,29].

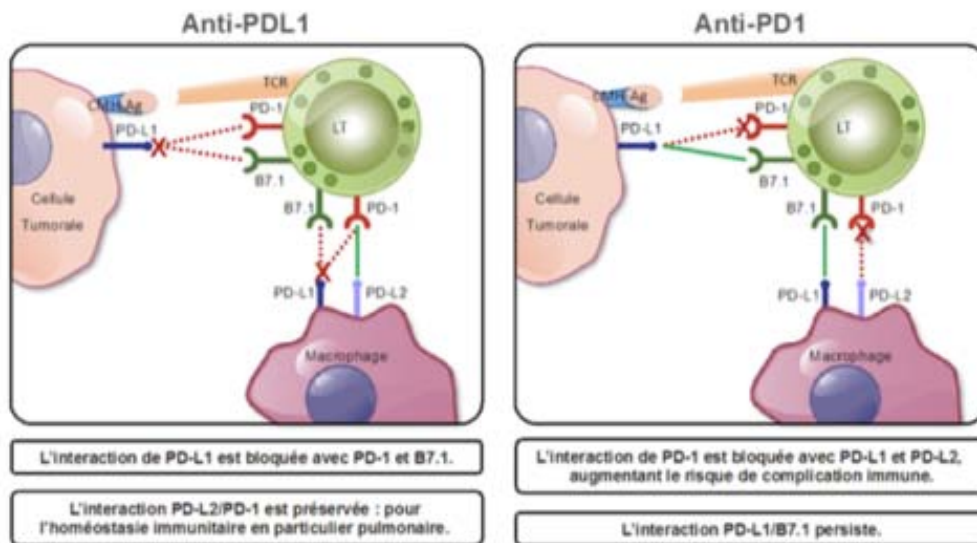


Figure 35 : Mécanismes d'action des AC anti PDL/PDL1 [38]

L'immunothérapie est devenue une approche prometteuse dans le traitement des cancers, elle est une avancée majeure et est au cœur de tous les congrès internationaux. Les premières Autorisations de Mise sur le Marché (AMM) se sont développées dans le mélanome puis les indications se sont étendues dans le cancer du poumon et d'autres cancers avec la multiplication de nouveaux essais cliniques. Actuellement 3 molécules ont l'AMM en deuxième ligne des traitements du cancer du poumon, dans l'ordre chronologique : le Nivolumab (anti PDL1), le Pembrolizumab (anti PDL1) et l'Atézolizumab (anti PD1) [30].

3.2 . PD-L1(B7-H1)

PD-L1 (Programmed death-ligand 1) ou CD274, également connu comme B7-H1, est une molécule inhibitrice des LT, qui est impliquée dans la protection des cellules tumorales contre une attaque immunitaire. Il s'agit d'une glycoprotéine de surface connue pour être exprimée sur les cellules dendritiques (DC), les macrophages, les cellules B, les Treg, les cellules épithéliales, les cellules endothéliales, les sites privilégiés immunitairement telles que la barrière fœto-

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

maternelle [31] et sur une majorité de cellules tumorales [32].

PD-L1 est exprimé sur les cellules myéloïdes, les LTregs, les LB et les NK et une haute expression de PD-1 est souvent présente sur les TILs (Tumor infiltrating Lymphocytes) [33].

Des cellules du sang périphérique comme les $CD4^+$ et $CD8^+$ chez les patients atteints d'un cancer peuvent également exprimer PD-1, ce qui rend peu probable que les $LT\ PD-1^+$ représentent exclusivement des LT spécifiques de la tumeur [42]. La signalisation PD-1 dans les cellules NK régule négativement leur fonction et le blocage de PD-1 augmente la production d'IFN- γ par les NK [33, 34].

Les cellules cancéreuses libèrent des cytokines immunosuppressives telles que le TGF- β , l'IL-10 et Fas ligand, qui induisent l'expression de PD-L1 et ainsi aide les cellules tumorales à échapper aux réponses immunitaires [35]. L'expression de PD-L1 a été associée aux facteurs clinico-pathologiques dans divers cancers. La régulation positive de PD-L1 peut permettre aux cancers d'échapper au système immunitaire de l'hôte, via la formation du complexe PD-1 /PD-L1 transmetteur d'un signal d'inhibition qui réduit la prolifération des $LT\ CD8^+$. PD-L1 est une protéine transmembranaire qui joue aussi un rôle majeur dans la suppression du système immunitaire lors de la grossesse, d'allogreffes de tissus, de maladie auto-immune [36].

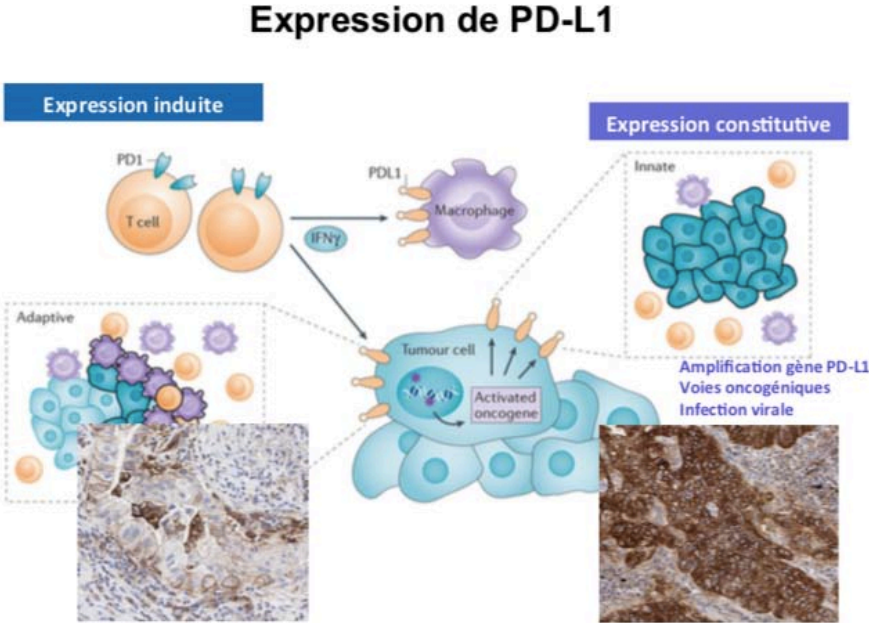


Figure 36 :Expression de PD/L1 [37]

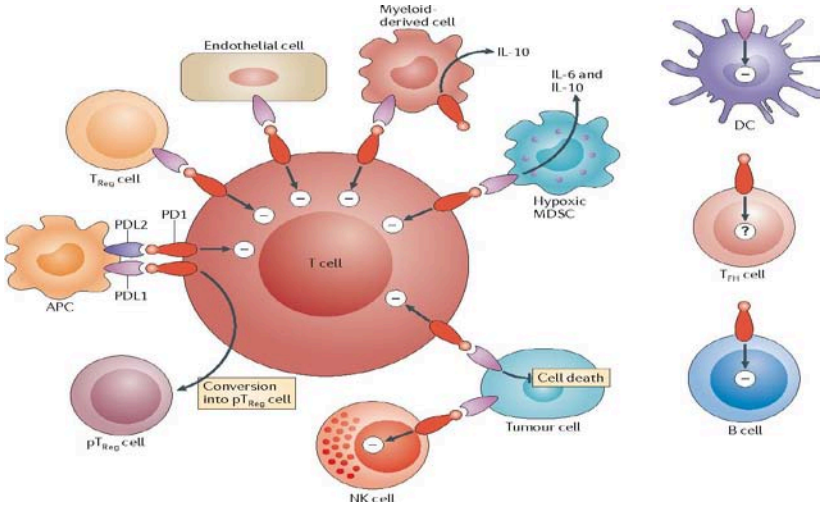


Figure 37: Mécanismes d'action de PD-1, PD-L1 et de PD-L2 [38]

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

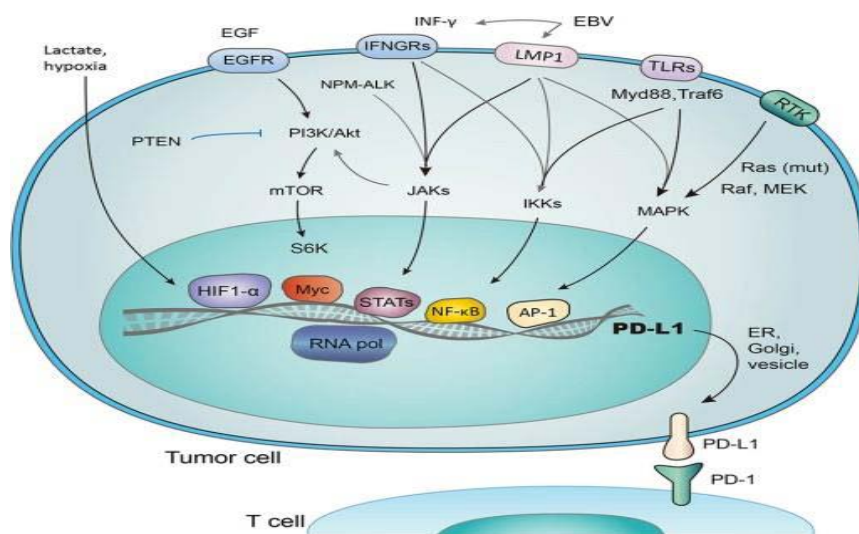


Figure 38 :Régulation de PD-L1 [39]

L'augmentation de l'expression de PD-L1 a été démontrée dans de nombreux types de cancers (par exemple, le mélanome (40%–100%), le CBNPC (35%–95%)...). De plus, des niveaux élevés de PD-L1 sont liés à un mauvais pronostic dans le cancer du sein, le cancer rénal, le cancer ovarien etc. Il a été aussi montré que l'expression de PD-L1 peut augmenter la résistance des cellules tumorales aux traitements [39].

L'importance de l'expression de PD-L1 sur des tumeurs solides en tant que biomarqueur pronostic a été rapportée dans de nombreuses études, dont beaucoup ont noté l'association entre l'expression de PD-L1 dans les tissus tumoraux et un mauvais pronostic, bien que cette association varie selon le type de la tumeur [25,39].

La détermination des taux de PD-L1 dans les tumeurs peut donc aider les médecins pour identifier les patients les plus susceptibles de bénéficier d'une thérapie anti - PD-1 / PD-L1.

L'expression de PD-L1 évaluée par immunohistochimie est actuellement utilisée comme outil de prise de décision clinique pour soutenir l'utilisation d'inhibiteurs de check-point

immunitaire chez les patients avec un CBNPC [38].

4. Ré arrangement du gène Anaplastic Lymphoma Kinase(ALK) :

En 2007, une autre anomalie génétique concernant le gène codant pour la kinase ALK a été décrite par M. Soda et al. dans les CBNPC ; cette anomalie correspond à une translocation entre 2 gènes le gène *ALK* (*Anaplastic Lymphoma Kinase*) en 2p23 et le gène *EML4* (*Echinoderm Microtubule associated protein Like 4*) en 2p21 [40]

Cette altération résulte en fait d'une inversion au niveau du bras court du chromosome 2 et d'une fusion de la région codant pour la tyrosine kinase (TK) ALK avec différentes portions N – terminales du gène *EML4*. Ces réarrangements sont responsables d'une activité tyrosine kinase permanente via la dimérisation du domaine TK , indépendante de toute fixation à un ligand ; cette activation constante est responsable de la prolifération des cellules tumorales , de changements dans leur cytosquelette, de leur migration et de leur survie [41,42]

Comme pour les mutations d'*EGFR*, les cellules qui présentent ce réarrangement sont dépendantes de l'activation de la kinase ALK [51]. De multiples variantes ont été décrites (environ 15 actuellement) [43,44]

Ces variantes impliquent l'exon 20 du gène *ALK* qui code pour le domaine TK intracytoplasmique et la région d' *EML4* qui code pour le domaine *coiled coil* aminoterminal d'*EML4* nécessaire à l'activation d'ALK ; les variants *EML4-ALK* les plus fréquents sont E13;A20 et E6a/b;A20, observés dans 33 et 29 % des cas [45,46].

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

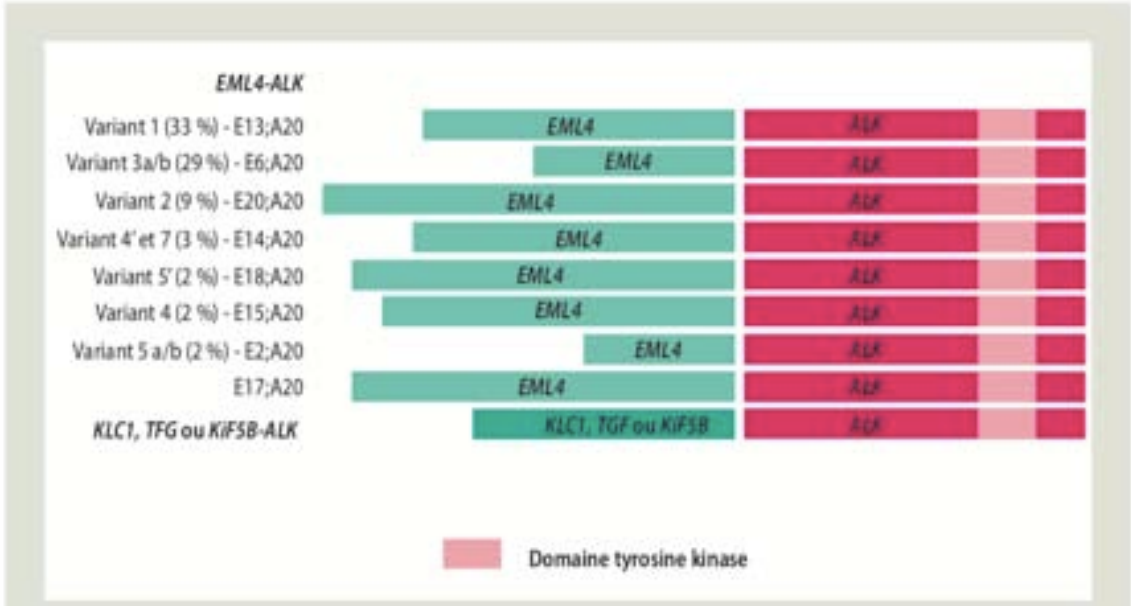


Figure 39 :Différents variants actuellement recensés du rearrangement du gene ALK avec ses différents partenaires[47]

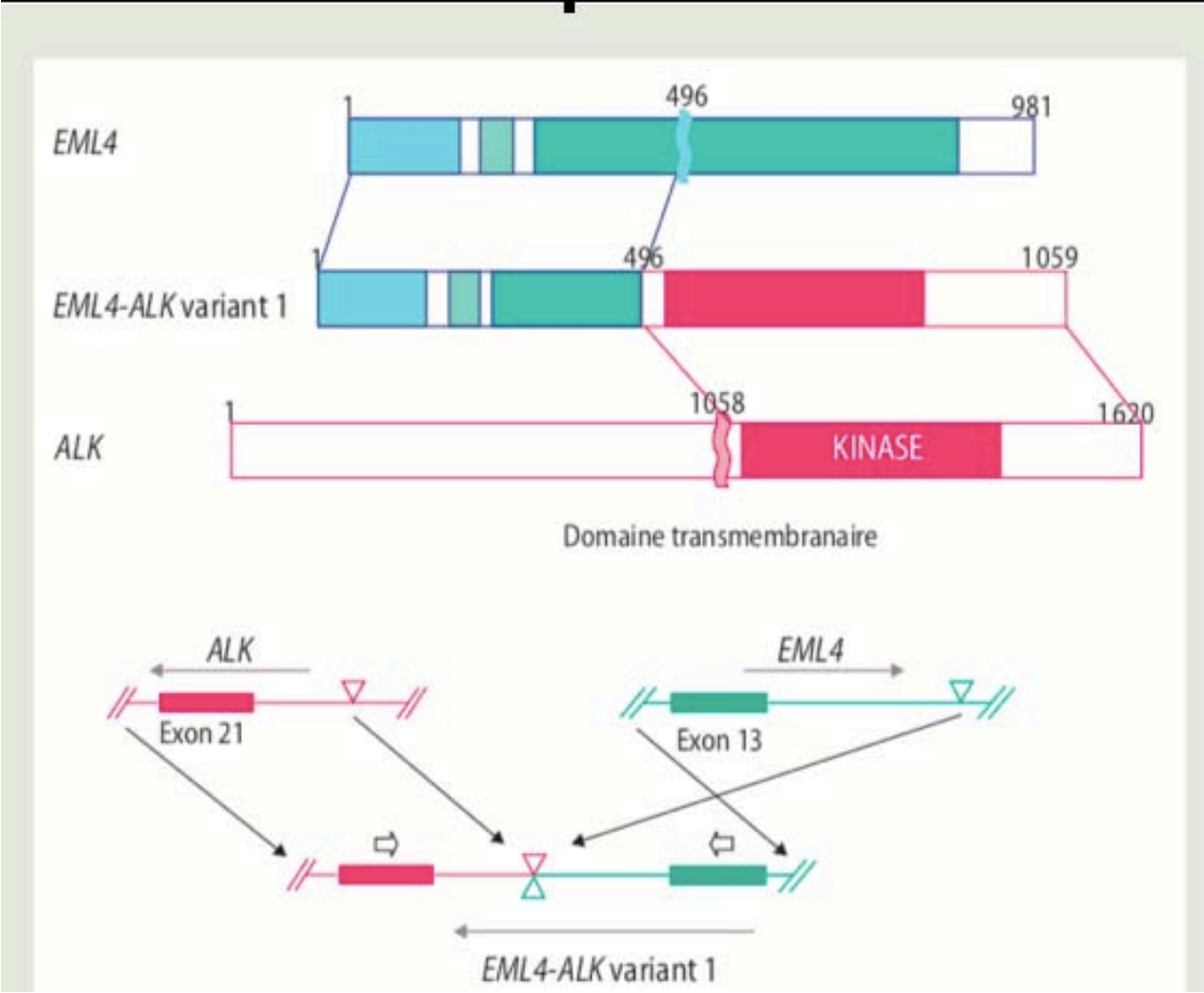


Figure 40 : Translocation EML4-ALK, illustrant inversion de la partie aminoterminal d EML4 et sa fusion avec la partie du gène ALK codant pour le domaine de tyrosine kinase[47].

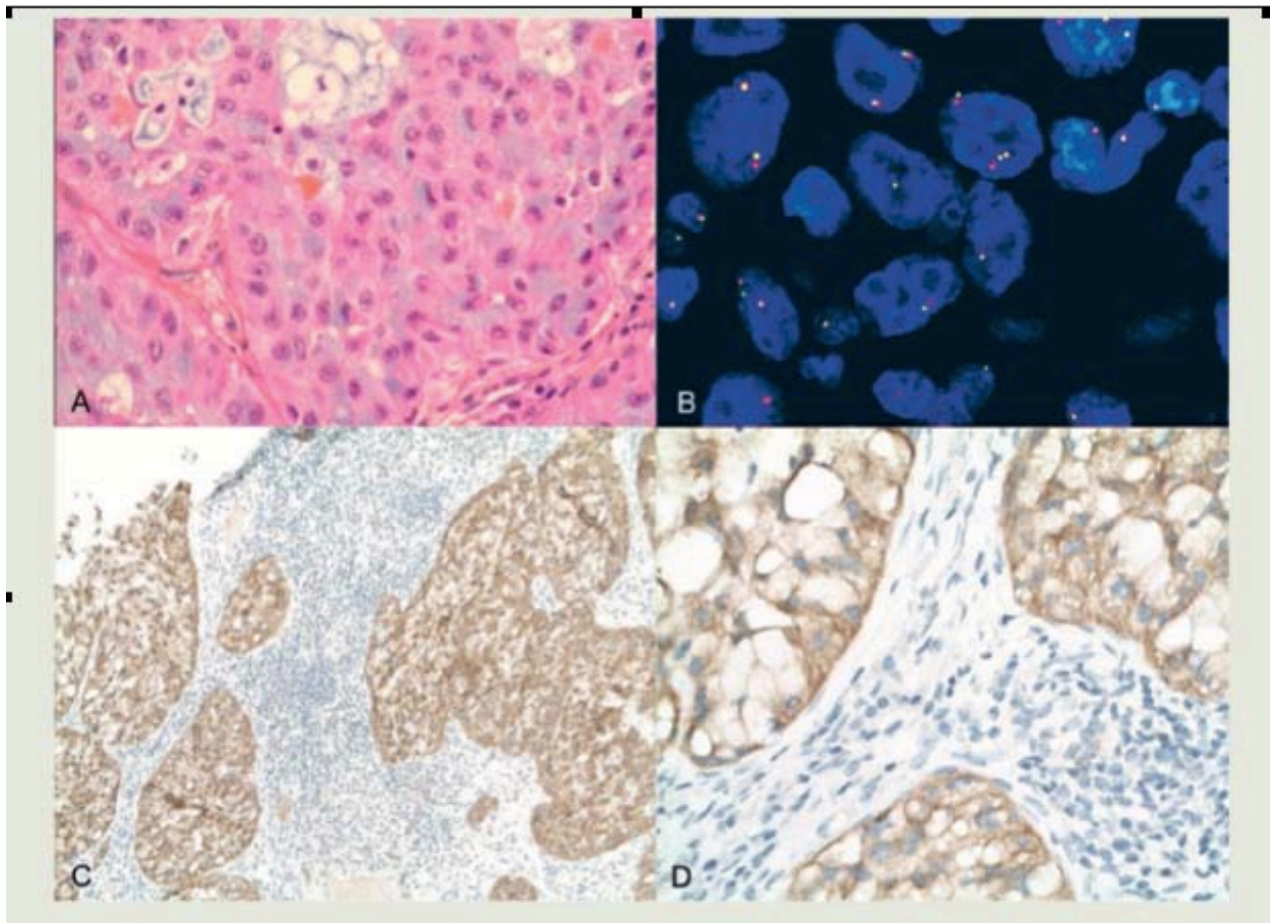


Figure 41: A. Histologie classique solide et acinaire riche en cellules en bague à chaton des adénocarcinomes ALK réarrangés . B . FISH ALK (sonde break-apart) montrant une séparation des sondes marquées en rouge et en vert et témoignant d'un réarrangement du gène ALK .C et D Immunohistichimie anti -ALK [47].

IV. Aspects épidémiologiques

1. Place du cancer broncho-pulmonaire :

Le cancer du poumon se situe au 4^e rang des cancers tous sexes confondus. Il se place au 2^e rang des cancers chez l'homme et au 3^e rang chez la femme. 46 363 nouveaux cas estimés en 2018 en France [49]. Aux Etats unis le nombre de cas pour 2019 est estime a 228 150 cas soit 12,9 % de tout les cancer [50].

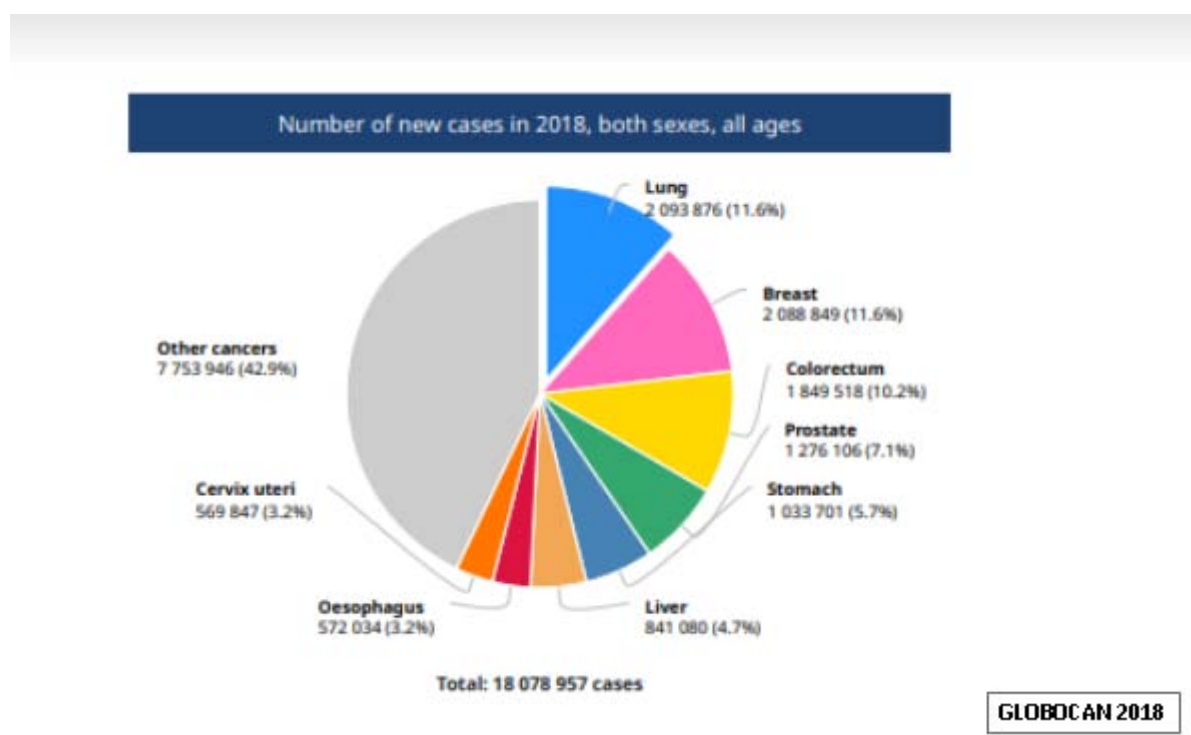


Figure 42 : Estimation de l'incidence des cancers dans le monde en 2018 [51].

2. Âge :

Le cancer du poumon prend des décennies à se développer après le début du tabagisme, et est donc rare avant l'âge de 30 ans et atteint un pic chez les personnes âgées. Les taux de cancer du poumon ont tendance à baisser après environ 80 ans, probablement en raison de la

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

mortalité concurrente due à d'autres causes ou de la précision réduite de la classification. Cependant dans notre série la moyenne d'âge est de 61ans plus au moins 11,12 avec des extrêmes d'âge de 28 ans à 91 ans. Nos résultats sont comparables à ceux de la littérature en France la moyenne d'âge est de 67 ans [51].

L'âge moyen de survenue du carcinome pulmonaire est variable d'une série à l'autre, selon le pays, le niveau des soins dans chaque région, les habitudes tabagiques des populations

Tableau XXI : La moyenne d'âge du cancer broncho-pulmonaire décrites par la littérature internationale

Série	Région	Nombre de cas	Age moyen
M. Inoue et al 2014 [52]	Japon	704	66 ans
K Kadota et al 2014 [53]	New York	1038	69 ans
A Ben AMAR et al 2012 [54]	Tunisie	200	60 ans
Ndiaye et al 2015 [55]	Sénégal	37	54,56 ans
RCRC 2008-2012 [56]	Maroc (Casablanca)	2762	59,5 ans
Notre série	Maroc (Marrakech)	110	61 ans

3. Sexe :

Quel que soit l'âge observé, l'incidence de ce cancer est plus élevée chez l'homme que chez la femme, toutefois l'écart se resserre au détriment de ces dernières dans les pays développés.

En effet, alors que l'incidence du cancer du poumon est globalement stable, voire diminué chez l'homme et que la mortalité est en baisse, ce n'est pas le cas chez la femme. Au contraire, les taux d'incidence comme de mortalité féminines sont en forte progression depuis 1990. Ce phénomène est essentiellement lié à l'augmentation de la consommation tabagique des femmes.

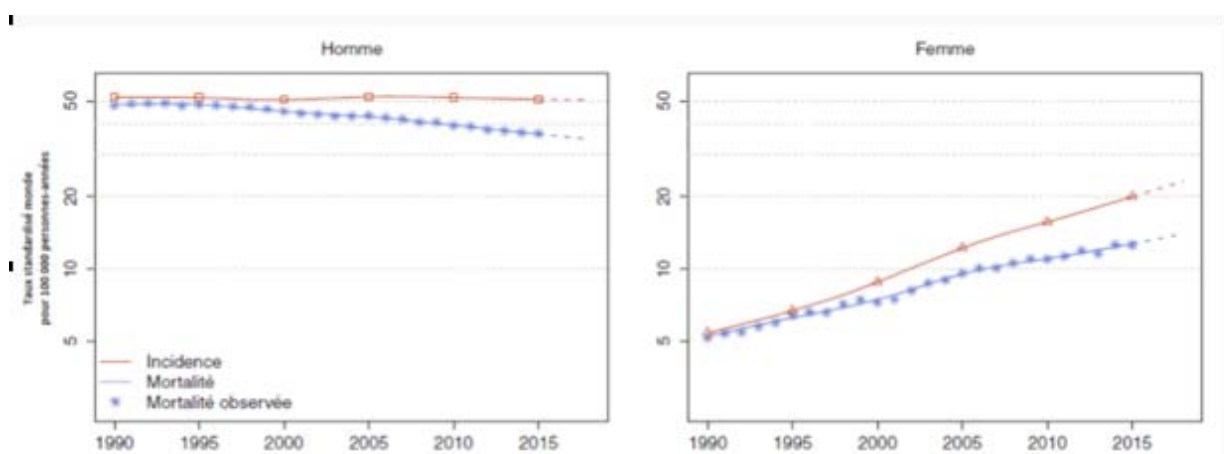


Figure 43 : Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer bronchopulmonaire en France métropolitaine entre 1980 et 2018 [49]

Dans notre série on remarque une nette prédominance masculine, le sexe masculin représente 80,2% de notre échantillons contre 19,8% de sexe féminin.

Tableau XXII : La prédominance sexuelle du cancer broncho-pulmonaire décrites par la littérature internationale

Série	Région	Hommes	Femmes	Sex ratio
M. Inoue et al 2014 [52]	Japon	53%	47%	1.3
A Ben Amar et al2012 [54]	Tunisie	91%	9%	10
Ndiaye et al2015 [55]	Sénégal	86,5%	13,5%	6,4
RCRC 2008- 2012 [56]	Maroc (casablanca)	89,6%	10,4%	8,6
Notre série 2018- 2020	Maroc (Marrakech)	80,2%	19,8%	4,04

4. Type histologique :

La répartition des différents types histologiques des carcinomes broncho – pulmonaires s'est modifiée durant ces dernières années, l'adénocarcinome est devenu le type le plus fréquent, que ce soit chez le fumeur ou le non-fumeur, et chez les hommes et les femmes [56]

La répartition histologique dans notre étude est comparable aux données de la littérature avec 66 % d'adénocarcinome suivi par le carcinome épidermoïde dans 18 % des cas.

Nos résultats rejoignent ceux rapportés par Inoue et al [52], A Ben Amar [53], Cadelis et al [57] alors que chez Ndiaye et al [54] l'adénocarcinome était le type histologique le plus fréquent.

Tableau XXIII : Répartition du type histologique du cancer broncho-pulmonaire décrites par la littérature internationale

Série	Adénocarcinomes	Carcinomes épidermoïdes
M. Inoue et al 2014 [52]	78.7%	7.4%
A Ben Amar et al 2012 [54]	47.5%	28.5%
Ndiaye et al 2015 [55]	32.43%	45.94%
Cadelis et al 2009-2010 [58]	43.4%	24.5%
Notre série 2018-2020	66%	18%

V. Le profil de l'expression de l'anticorps anti-PD-L1 et l'anticorps anti-ALK :

Récemment, de nombreux progrès ont été réalisés dans les thérapies ciblées pour le carcinome non à petites cellules du poumon (CPNPC). Par conséquent, un sous-typage histologique est devenu obligatoire pour établir un diagnostic histologique précis au sein des carcinomes non à petites cellules.

1. Statut d'expression de l'Ac anti PD-L1 :

Dans notre étude l'expression de l'anticorps anti PD-L1 était négative dans 51,4% des cas. Les études ont montré un pourcentage de positivité à 30,9% pour l'étude de Yan Jin [59], 46,2% pour l'étude de Sui [60], et de 45% dans l'étude de B. Guldhammer [61].

Tableau XXIV : Le statut d'expression de l'Ac anti PD-L1 à travers les séries

Etude	Expression négative du PDL1	Expression positive du PDL1
Etude de <u>Yan Jin</u> [59]	69,2%	30,9%
Etude <u>Hongshu Sui</u> , [60]	54,4%	46,2%
Etude de B Guldhammer Skov [61]	63%	45%
Notre étude	51,4%	48,6%

2. Scoring de l'anti corps anti PD-L1 basé sur TPS :

La recherche du degré d'expression de l'anticorps anti PD-L1 est d'une importance majeure. Le score tumoral proportionnel à une grande implication dans le pronostic et la prise en charge des tumeurs broncho-pulmonaires non à petites cellules.

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Dans notre série 51,4% des patients présentaient une absence d'expression à l'anticorpsanti PD-L1. Nos résultats sont concordants avec les études Yan Jin et Hongshu Sui qui décrivent respectivement des pourcentages qui varient entre 69,2% [59] et 54,4% [61].

En ce qui concerne la présence d'expression de l'anticorps anti PD-L1, dans notre série on a enregistré un pourcentage de 25,8% , ce qui rejoint les données de la littérature avec 21,2% [59] et 29,5% [61] pour les études de Yan jin et Hongshu respectivement .

Pour la forte expression de PD-L1, les résultats de nos patients ont démontrés un taux de 22,9%, ce qui rejoint l'étude Guldhammer Skov avec 27,3% [61] et l'étude de Hongshu Sui(72) avec un taux de 16,4% .

Tableau XXV : Le scoring d'expression de l'Ac anti PD-L1 à travers les séries

Etude	Expression négative du PDL1	Présence d'expression de PDL1	Forte expression du PDL1
Etude de Yan Jin [59]	69,2%	21,2%	9,7%
Etude Hongshu Sui [60]	54,4%	29,5%	16,4%
Etude de B Guldhammer Skov [61]	63%	17,7%	27,3%
Notre étude	51,4%	25,8%	22,9%

L'expression de l'anticorps anti PDL1 selon le type histologique :

✚ Dans l'Adénocarcinome:

Notre étude a révélé que l'absence d'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans l'adénocarcinome représente 65%, ce qui rejoint l'étude de Yan jin [59] avec une absence d'expression de 71,1% .

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

En ce qui concerne la forte expression de l'AC anti PD-L1 dans les adénocarcinomes, on a enregistré un taux de 22,5 % , concordant avec l'étude de Guldhammer skov [61],avec un taux de 21% , tandis que l'étude de Yan jin [59] n'a enregistré que 4,4% dans cette catégorie .

Tableau XXVI: L'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans les adénocarcinomes

Étude	Absence d'expression PD-L1	Présence d'expression PD-L1	Forte Expression PD-L1
Yan Jin [59]	71,1%	8,5%	4,4%
Guldhammer Skov [61]	37%	43%	21%
Notre série	65%	12,5%	22,5%

Dans les carcinomes épidermoïdes :

Dans notre étude nous avons constaté une absence d'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans 19,2% des cas ce qui ne concorde pas avec les données de la littérature [59]. L'étude Yan jin adémontré un taux de 68,2 % alors que celle de Gldhamer skov [61] a objective un taux de 36%.

La forte expression de l'anticorps anti-PD-L1 dans les carcinomes épidermoïdes était enregistré chez 22,5% de nos patients, 21% et 5% dans les études de Yan jin [59],et Guldhamer Skov [61]respectivement.

Tableau XXVII : L'expression de l'anticorps anti PD-L1 dans les carcinomes épidermoïdes

Étude	Absence d'expression PD-L1	Présence d'expression PD-L1	Forte expression PD-L1
Yan Jin [59]	68,2	11,6%	5%
Guldhammer Skov [61]	36%	43%	21%
Notre série	19,2%	50%	22,5%

3. L'expression de l'anticorps anti ALK :

Les réarrangements du gène ALK sont observés dans 3 à 13 % des CBNPC selon les séries, avec une incidence aux alentours des 5 % dans les études sur des populations non sélectionnées [61].

Dans notre série le réarrangement ALK positif présente 2,9% ce qui concorde avec les données de la littérature.

Tableau XXIX: L'expression de l'anticorps anti ALK dans la littérature internationale.

Etude de B.Guldhammer Skov [61],	819	2%
Etudes de M-Kenudson [64]	174	2,9%
Dalila Mehdaoui 2012 [65]	207	4,3%
Etudes Scott J.2009 [66]	358	5,6%
Notre étude	101	2,9%



CONCLUSION



Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Les cancers broncho-pulmonaires (CBP) représentent la première cause de mortalité par cancer dans le monde. Les CBP ont bénéficié ces dernières années d'avancées thérapeutiques majeurs représentés essentiellement par les thérapies ciblées et l'immunothérapie.

PD-L1 est un marqueur prédictif de réponse aux agents anti-PD-1 ou anti-PD-L1 chez les patients atteints de CBPNPC. L'expression de PD-L1 évaluée par immunohistochimie est actuellement utilisée comme outil de prise de décision clinique pour soutenir l'utilisation d'inhibiteurs de check-point immunitaire dans le traitement des patients atteints de CBPNPC. La thérapie ciblée anti-ALK est un atout thérapeutique majeur chez les patients présentant un réarrangement du gène ALK.

Cette étude nous a permis de déterminer le profil d'expression immunohistochimique PDL-1 ainsi que la proportion des réarrangements du gène ALK des CBPNPC au sein du CHU Mohammed VI de Marrakech et leur corrélation avec les différents facteurs pronostiques et théranostiques impliqués dans les CBNPC. D'autre part cette étude a permis de faire le point sur les impératifs techniques en immunohistochimie et en FISH afin d'optimiser le rendement des biopsies et améliorer la prise en charge des patients.

Le rôle des pathologistes dans la prise en charge des patients atteints de CBP à l'ère des thérapies personnalisées est fondamental. En effet, l'anatomopathologiste joue un rôle déterminant pour poser le diagnostic positif et déterminer les facteurs pronostiques et théranostiques du CBPNPC. Il porte également la responsabilité de la qualité des tissus et doit mettre en place des stratégies d'économie tissulaire dans la perspective des tests immunohistochimiques et moléculaires.

Les testing PDL-1 et ALK doit être mis en place dans les laboratoires ayant un recrutement en pathologie pulmonaire et réalisé dans en même temps que les autres marqueurs théranostiques afin d'établir une stratégie de traitement personnalisée pour chaque patient



Recommandations



Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Cette étude incite donc à :

- a) Améliorer la phase pré analytique pour assurer une bonne fixation des prélèvements :
4. Prévoir une journée de formation pour le personnel du bloc opératoire et personnel d'aide endoscopique.
 5. Fournir au chirurgien le formol tamponé neutre à 4%.
 6. Sensibiliser le personnel anatomopathologique sur l'intérêt de la gestion du prélèvement de petite taille précieux.
- b) Adhérer à des programmes d'assurance qualité.
 - c) Rechercher la mutation ALK une fois le CBPNPC est posé.
 - d) Rechercher l'expression PDL-1 une fois le CBPNPC est posé.
 - e) En cas d'adénocarcinome l'étude doit être complétée par une étude génétique en biologie moléculaire afin de rechercher une mutation de EGFR, KRAS, BRAF ou ROS1 .
 - f) Au niveau national ou maghrébin, penser à développer des plateformes techniques selon les normes internationales plus sensibles, plus spécifiques et moins coûteuses adaptés à notre contexte ciblant "*les drivers oncogéniques*" pour permettre un traitement personnalisé des patients atteints de CBPNPC « Traitement à la carte ».
 - g) Élaborer un référentiel national de biologie moléculaire et d'immunohistochimie des CBPNPC .
 - h) En cas d'adénocarcinome, l'étude anatomopathologique doit être complétée par une étude génétique en biologie moléculaire afin de rechercher une mutation activatrice du gène du récepteur de l'Epidermal Growth Factor (EGFR), KRAS, BRAF, une mutation des gènes Lymphoma Kinase (ALK) ou ROS1(12). Leur recherche doit être systématique car en présence d'une de ces anomalies génétiques , le pronostic de la maladie change radicalement, ces dernières ouvrant pour la plupart l'accès à des thérapies ciblées spécifiques.



_Fiche d'exploitation

Identite

Age

Id

Sexe

Homme : 1 Femme : 2

Etude anatomo-pathologique

Matériel d'étude

Biopsie : Pièce opératoire :

Site anatomique de la tumeur :

Poumon : OUI, NON

Plèvre : OUI ,NON

Broches : OUI ,NON

Médiastin :OUI , NON

Métastases : OUI ,NON

Etude histologique

Type histologique :

Adénocarcinomes : 1

Les carcinomes épidermoïdes : 2

Carcinome sans autres indications : 3

Etudes immunologique

Etude faite :

Etude non faite :

Expression de la protéine PDL-1 en immunohistochimie dans les cancers broncho-pulmonaire non à petite cellules

Profil du PDL1

Inf a 1% : 1

Entre 1% et 49% : 2

Sup a 50% : 3

Profil ALK

Positif :

Négatif :

Résultats FISH



Résumé :

Les cancers broncho-pulmonaires (CBP) représentent la première cause de mortalité par cancer dans le monde. Les CBP ont bénéficié ces dernières années d'avancées thérapeutiques majeurs représentés essentiellement par les thérapies ciblées et l'immunothérapie. L'objectif de notre étude était d'étudier l'expression de PDL1 et ALK dans les CBNPC tout en mettant le point sur les impératifs techniques en immunohistochimie et en FISH afin d'optimiser le rendement des biopsies et améliorer la prise en charge des patients.

Notre avons réalisé une étude transversale, étalée sur 18 mois allant de septembre 2017 au 31 janvier 2020 et ayant porté sur 111 patients colligés au CHU Mohammed VI de Marrakech pour le diagnostic et le suivi. Les tumeurs ont été analysées histologiquement et classées selon le profil d'expression PDL-1 et ALK. Une corrélation avec les facteurs cliniques, histologiques et pronostiques a également été réalisée.

L'adénocarcinome était le type histologique le plus représenté dans notre série avec un taux de 75%, suivi des carcinomes épidermoïdes (21,6%) et des CBPNC sans autres indications (2,7%). Parmi les patients étudiés, 51,4% avait un TPS inférieur à 1%, 25,8% ont présenté un TPS compris entre 1% et 49%, et 22,9% un TPS supérieur à 50%.

L'expression de l'anticorps anti-ALK n'était positive que chez 3 patients de notre série soit 2,9%. Les patients présentant une expression positive de l'anticorps anti PD-L1 peuvent bénéficier d'une immunothérapie. Le crizotinib est une option thérapeutique de choix chez les patients présentant un réarrangement du gène ALK. Une prise en charge adéquate et dans des brefs délais peut changer le pronostic des tumeurs broncho-pulmonaires rencontrées dans notre région et améliorer la survie.

∩

Abstract :

Bronchopulmonary cancers (PBC) are the leading cause of cancer death in the world. In recent years, PBC has benefited from major therapeutic advances, mainly represented by targeted therapies and immunotherapy. The objective of our study was to study the expression of PDL1 and ALK in NSCLC while focusing on the technical requirements in immunohistochemistry and FISH in order to optimize the yield of biopsies and improve patient care. .

We carried out a cross-sectional study, spread over 18 months from September 2017 to January 31, 2020 and involving 111 patients collected from the Mohammed VI University Hospital in Marrakech for diagnosis and follow-up. Tumors were analyzed histologically and classified according to PDL-1 and ALK expression profile. A correlation with clinical, histological and prognostic factors was also achieved.

Adenocarcinoma was the most common histological type in our series with a rate of 75%, followed by squamous cell carcinoma (21.6%) and CBPNC without other indications (2.7%). Of the patients studied, 51.4% had a TPS less than 1%, 25.8% had a TPS between 1% and 49%, and 22.9% had a TPS greater than 50%.

The expression of the anti-ALK antibody was positive in only 3 patients in our series, ie 2.9%. Patients with positive anti-PD-L1 antibody expression may benefit from immunotherapy. Crizotinib is a preferred treatment option in patients with a rearrangement of the ALK gene. Adequate and timely management can change the prognosis of bronchopulmonary tumors found in our region and improve survival.

ملخص :

السرطانات القصبية الرئوية (PBC) هي السبب الرئيسي للوفاة من السرطان في العالم . في السنوات الأخيرة ، استفاد CBP من التطورات العلاجية الكبرى ، المتمثلة بشكل رئيسي في العلاجات المستهدفة والعلاج المناعي. كان الهدف من دراستنا هو دراسة التعبير عن PDL1 و ALK في NSCLC مع التركيز على المتطلبات الفنية في الكيمياء المناعية و FISH من أجل تحسين إنتاجية الخزعات وتحسين رعاية المرضى. .

أجرينا دراسة مقطعية امتدت على 18 شهرًا من سبتمبر 2017 إلى 31 يناير 2020 وشملت 111 مريضًا تم جمعهم في مستشفى محمد السادس الجامعي في مراكش للتشخيص والمتابعة. تم تحليل الأورام من الناحية النسيجية وتصنيفها وفقًا لملف تعبير PDL-1 و ALK. كما تم التوصل إلى ارتباط مع العوامل السريرية والنسجية والتنبؤية.

كان الورم الغدي هو النوع النسيجي الأكثر شيوعًا في سلسلتنا بنسبة 75٪ ، يليه سرطان الخلايا الحرشفية (21.6٪) و CBPNC بدون مؤشرات أخرى (2.7٪). من بين المرضى الذين خضعوا للدراسة ، كان 51.4٪ لديهم TPS أقل من 1٪ ، و 25.8٪ كان لديهم TPS بين 1٪ و 49٪ ، و 22.9٪ كان لديهم TPS أكبر من 50٪.

كان التعبير عن الجسم المضاد لـ ALK إيجابيًا في 3 مرضى فقط في سلسلتنا ، أي 2.9٪. المرضى الذين لديهم تعبير إيجابي عن الأجسام المضادة لـ PD-L1 قد يستفيدون من العلاج المناعي. Crizotinib هو خيار العلاج المفضل في المرضى الذين يعانون من إعادة ترتيب جين ALK. يمكن للإدارة الملائمة وفي الوقت المناسب تغيير تشخيص أورام القصبات الرئوية الموجودة في منطقتنا وتحسين البقاء على قيد الحياة.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Kentaro In.**
Lung Cancer: Understanding Its Molecular Pathology and the 2015 WHO Classification. *Front Oncol.* 2017;7:193.
2. **Cree la, Booton R , Cane P, Gosney J, Ibrahim M, Kerr K, et al.**
PD-L1 testing for lung cancer in the UK: Recognizing the challenges for implementation. *Histopathology* 2016;69(2):177-86
3. **Decoster L, Schallier D.**
Treatment of older patients with advanced non-small cell lung cancer: A challenge. *J Geriatr Oncol* 2019;10:528-33.
4. **Sul J, Blumenthal GM, Jiang X, He K ,keegan P, Pazdur R .**
FDA approval summary : Pembrolizumab for the treatment of patients with metaxtatic non_small cell lung cancer whose tumors express programmed death-ligand 1 . *Oncologist* 2016;21(5):643-50.
5. **Xu-Monette ZY, Zhang M, Li J, Young KH.**
PD-1/PD-L1 Blockade: have we found the key to unleash the antitumor immune response? *Front Immunol* 2017;8: 1597.
6. **Lantuejoul S.**
Pourquoi une nouvelle classification histomoléculaire des tumeurs pulmonaires en 2015 ? *Ann Pathol* 2016;36:1-4.
7. **Stevens A, Lowe JS, Young B.**
Anatomie Pathologique. Atlas de Wheater. 4^{ème} édition. *Paris: De Boeck; 2015.*
8. **Afaqap.**
Recommandations pour le testing ALK dans les CBNPC .*Mai 2017*
9. **Moro-Sibilot D, McLeer Florin .A, Toffart C, Lantuejoul S,**
Translocation EML4-ALK : Techniques de détection , variantes, implications thérapeutiques. *Eselvier* 2012 ;36 :1-5
10. **Soda M, Choi YL, Enomoto M , Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S et al.**
Identification of the transforming EML4-ALK, fusion gene in non-small-cell lung cancer .*Nature* 2007;448:561-6.
11. **Lantuejoul S, Rouquette I, Brambilla E, Travis WD.**
Nouvelle classification OMS 2015 des adénocarcinomes pulmonaires et prénéoplasies. *Ann Pathol* 2016;36:5-14.
12. **Zheng M.**
Classification and pathology of lung cancer. *Surg Oncol Clin N Am* 2016;25:447-68.
13. **Brunelli A, Charloux A, Bolliger CT, Rocco G, Sculier JP, Varela G, et al.**
ERS/ESTS clinical guidelines on fitness for radical therapy in lung cancer patients (surgery and chemo-radiotherapy). *Eur Respir J* 2009;34:17-41.

14. **Eberhardt WE, Mitchell A, Crowley J, Kondo H, Kim YT, Turrisi A 3rd, et al.**
The IASLC Lung Cancer Staging Project: proposals for the revision of the M descriptors in the forthcoming eighth edition of the TNM classification of lung cancer. *J Thorac Oncol* 2015;10:1515-22.
15. **Aupérin A, Le Péchoux C, Rolland E, Curran WJ, Furuse K, Fournel P, et al.**
Meta-analysis of concomitant versus sequential radiochemotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010;28:2181-90.
16. **Gandhi L, Rodríguez-Abreu D, Gadgeel S, Esteban E, Felip E, De Angelis F, et al.**
Pembrolizumab plus chemotherapy in metastatic non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2018;378:2078-92.
17. **Garassino MC, Cho BC, Kim JH, Mazières J, Vansteenkiste J, Lena H, et al.**
Durvalumab as third-line or later treatment for advanced non-small-cell lung cancer (ATLANTIC): an open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2018;19:521-36.
18. **Ramnath N, Dilling TJ, Harris LJ, Kim AW, Michaud GC, Balekian AA, et al.**
Treatment of stage III non-small cell lung cancer: Diagnosis and management of lung cancer, 3rd ed: American College of Chest Physicians evidence-based clinical practice guidelines. *Chest* 2013;143(5 Suppl):e314S-40.
19. **Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ.**
Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* 2011;331:1565-70.
20. **Dunn GP, Koebel CM, Schreiber RD.**
Interferons, immunity and cancer immunoediting. *Nat Rev Immunol* 2006;6:836-48.
21. **Sheffield B.** Predictive biomarker testing for programmed death 1 inhibition in non-small cell lung cancer .16th world conf lung cancer .2015; ORAL13,05.
22. **Grivennikov SI, Greten FR, Karin M.**
Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010;140:883-99.
23. **El-Guindy DM, Helal DS, Sabry NM, Abo El-Nasr M.**
Programmed cell death ligand-1 (PD-L1) expression combined with CD8 tumor infiltrating lymphocytes density in non-small cell lung cancer patients. *J Egypt Natl Canc Inst* 2018;30:125-31.
24. **Pardoll DM.**
The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* 2012;12:252-64.
25. **Nguyen LT, Ohashi PS.**
Clinical blockade of PD1 and LAG3--potential mechanisms of action. *Nat Rev Immunol* 2015;15:45-56.
26. **Keir ME, Butte MJ, Freeman GJ, Sharpe AH.**
PD-1 and its ligands in tolerance and immunity. *Annu Rev Immunol* 2008;26:677-704.

27. **Chen DS, Irving BA, Hodi FS.**
Molecular pathways: next-generation immunotherapy -- inhibiting programmed death-ligand 1 and programmed death-1. *Clin Cancer Res* 2012;18:6580-7.
28. **Topalian SL, Drake CG, Pardoll DM.**
Targeting the PD-1/B7-H1(PD-L1) pathway to activate anti-tumor immunity. *Curr Opin Immunol* 2012;24:207-12.
29. **Bellesoeur A.**
Biomarqueurs des immunothérapies anti-PD-1/PD-L1: facteurs cliniques, histologiques et immunohistochimiques associés au statut PD-L1 [Thèse]. Paris: Université Paris Descartes; Faculté de Médecine; 2016.
30. **Mazières J.**
Immunothérapie en oncologie thoracique: où en sommes-nous ? [En Ligne]. [Consulté le 28/06/2020]. Disponible:http://splf.fr/wp-content/uploads/2017/10/Mazieres-J._Immunotherapie-en-oncologie-thoracique-ou-en-sommes-nous.pdf
31. **Ghebeh H, Barhoush E, Tulbah A, Elkum N, Al-Tweigeri T, Dermime S.**
FOXP3+ Tregs and B7-H1+/PD-1+ T lymphocytes co-infiltrate the tumor tissues of high-risk breast cancer patients: Implication for immunotherapy. *BMC Cancer* 2008; 8:57.
32. **Raimondi G, Shufesky WJ, Tokita D, Morelli AE, Thomson AW.**
Regulated compartmentalization of programmed cell death-1 discriminates CD4+CD25+ resting regulatory T cells from activated T cells. *J Immunol* 2006;176:2808-16.
33. **Ahmadzadeh M, Johnson LA, Heemskerk B, Wunderlich JR, Dudley ME, White DE, et al.**
Tumor antigen-specific CD8 T cells infiltrating the tumor express high levels of PD-1 and are functionally impaired. *Blood* 2009;114:1537-44.
34. **Gaule P, Smithy JW, Toki M, Rehman J, Patell-Socha F, Cougot D, et al.**
A quantitative comparison of antibodies to programmed cell death 1 ligand 1. *JAMA Oncol* 2017;3(2):256
35. **Liu J, Hamrouni A, Wolowiec D, Coiteux V, Kuliczowski K, Hetuin D, et al.**
Plasma cells from multiple myeloma patients express B7-H1 (PD-L1) and increase expression after stimulation with IFN- γ and TLR ligands via a MyD88-, TRAF6-, and MEK-dependent pathway. *Blood* 2007;110:296-304.
36. **Arnould L.**
Comment intégrer l'analyse de PDL1 en pratique [En Ligne]. 2017 [Consulté le 28/06/2020]. Disponible:<http://oncotrans.fr/files/142/COMM/2017/VENDREDI/17-13h40-laurent-arnould.pdf>
37. **Noh H, Hu J, Wang X, Xia X, Satelli A, Li S.**
Immune checkpoint regulator PD-L1 expression on tumor cells by contacting CD11b positive bone marrow derived stromal cells. *Cell Commun Signal* 2015;13:14.

38. **Wu P, Wu D, Li L, Chai Y, Huang J.**
PD-L1 and survival in solid tumors: a meta-analysis. *PLoS One* 2015;10:e0131403.
39. **Kintsler S, Cassataro MA, Drosch M, Holenya P, Knuechel R, Braunschweig T.**
Expression of programmed death ligand (PD-L1) in different tumors. Comparison of several current available antibody clones and antibody profiling. *Ann Diagn Pathol* 2019;41:24-37.
40. **Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al.**
Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature* 2007;448:561-6.
41. **Horn L, Pao W.**
EML4-ALK: honing in on a new target in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:4232-5.
42. **Koivunen JP, Mermel C, Zejnullahu K, Murphy C, Lifshits E, Holmes AJ, et al.**
EML4-ALK fusion gene and efficacy of an ALK kinase inhibitor in lung cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14:4275-83.
43. **Sanders HR, Li HR, Bruey JM, Scheerle JA, Meloni-Ehrig AM, Kelly JC, et al.**
Exon scanning by reverse transcriptase-polymerase chain reaction for detection of known and novel EML4-ALK fusion variants in non-small cell lung cancer. *Cancer Genet* 2011;204:45-52.
44. **Sasaki T, Rodig SJ, Chirieac LR, Jänne PA.**
The biology and treatment of EML4-ALK non-small cell lung cancer. *Eur J Cancer* 2010;46:1773-80.
45. **Takeuchi K, Choi YL, Togashi Y, Soda M, Hatano S, Inamura K, et al.**
KIF5B-ALK, a novel fusion onco-kinase identified by an immunohistochemistry-based diagnostic system for ALK-positive lung cancer. *Clin Cancer Res* 2009;15:3143-9.
46. **Togashi Y, Soda M, Sakata S, Sugawara E, Hatano S, Asaka R, et al.**
KLC1-ALK: a novel fusion in lung cancer identified using a formalin-fixed paraffin-embedded tissue only. *PLoS One* 2012;7:e31323.
47. **Marchetti A, Di Lorito A, Pace MV, Iezzi M, Felicioni L, D'Antuono T, et al.**
ALK protein analysis by IHC staining after recent regulatory changes: a comparison of two widely used approaches, revision of the literature, and a new testing algorithm. *J Thorac Oncol* 2016;11:487-95.
48. **Lantuejoul S, Mescam-Mancini L, McLeer-Florin A.**
Réarrangements du gène ALK dans les cancers du poumon non à petites cellules. *Correspondances en Onco-Théranostic* 2012;1(3):107-10.
49. **Institut National du Cancer.**
Epidémiologie des cancers – Les chiffres du cancer en France. 2016 [En Ligne]. [Consulté le 27/06/2020]. Disponible: <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers>

50. **Centers for Disease Control and Prevention.**
National Program of Cancer Registries (NPCR) 2019 [En Ligne]. [Consulté le 27/06/2020].
Disponible: <http://www.cdc.gov/cancer/npcr/about.htm>
51. **van de Velde CJ, Aristei C, Boelens PG, Beets-Tan RG, Blomqvist L, Borrás JM, et al.**
EURECCA colorectal: multidisciplinary mission statement on better care for patients with colon and rectal cancer in Europe. *Eur J Cancer* 2013;49:2784-90.
52. **Inoue M, Okumura M, Sawabata N, Miyaoka E, Asamura H, Yoshino I, et al.**
Clinicopathological characteristics and surgical results of lung cancer patients aged up to 50 years: the Japanese Lung Cancer Registry Study 2004. *Lung Cancer* 2014;83:246-51.
53. **Kadota K, Yeh YC, Sima CS, Rusch VW, Moreira AL, Adusu-milli PS, et al.**
The cribriform pattern identifies a subset of acinar predominant tumors with poor prognosis in patients with stage I lung adenocarcinoma: a conceptual proposal to classify cribriform predominant tumors as a distinct histologic subtype. *Mod Pathol* 2014;27:690-700.
54. **Ben Amar A, Yangui I, Ketata W, Msaad S, Ayadi H, Ayoub A.**
Contribution à l'étude du cancer bronchique primitif dans le service de pneumologie de Sfax (Tunisie). *Rev Mal Respir* 2012;29(Suppl 1):A162.
55. **Ndiaye EM, Touré NQ, Thiam K, Cissé M, Diatta A.**
Difficultés diagnostiques et de prise en charge des cancers broncho-pulmonaires primitifs (CBPP) dans le service de pneumologie du CHNU de Fann. *Rev Mal Respir* 2015;32(Suppl):A92.
56. **Fondation Lalla Salma Prévention et Traitement des Cancers.**
Registre des cancers de la région du Grand Casablanca 2008-2012 (édition 2016). [En Ligne]. [Consulté le 21/06/2020]. *Disponible: https://www.contrelecancer.ma/site_media/uploaded_files/RCRGC.pdf*
57. **Couraud S, Westeel V, Ranchon F, Toffart AC, Souquet PJ. Cancer bronchique non à petites cellules.** Référentiels Auvergne Rhône-Alpes en oncologie thoracique. 16ème édition. Mise à jour 2020. [En Ligne]. [Consulté le 21/06/2020].
Disponible: <https://lecancer.fr/download/46614/>
58. **Cadelis G, Kaddah S, Bhakkan B, Quellery M, Deloumeaux J.**
Epidémiologie et incidence du cancer bronchique primitif dans une région à faible consommation tabagique: la Guadeloupe. Données 2008-2009 du registre des cancers. *Rev Mal Respir* 2013;30:537-48.
59. **Yang J, Chen J, Wei J, Liu X, Cho WC.**
Immune checkpoint blockade as a potential therapeutic target in non-small cell lung cancer. *Expert Opin Biol Ther* 2016;16: 1209-23.

60. Jin Y, Shen X, Pan Y, Zheng Q, Chen H, Hu H, et al.
Correlation between PD-L1 expression and clinicopathological characteristics of non-small cell lung cancer: A real-world study of a large Chinese cohort. *J Thorac Dis* 2019;11:4591-601.
61. The global Cancer observatory Lung Cancer 2019
62. Skov BG, Rørvig SB, Jensen THL, Skov T.
The prevalence of programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in non-small cell lung cancer in an unselected, consecutive population. *Mod Pathol* 2020;33:109-117.
63. Du X, Shao Y, Qin HF, Tai YH, Gao HJ.
ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer* 2018;9:423-30.
64. Mino-Kenudson M, Chirieac LR, Law K, Hornick JL, Lindeman N, Mark EJ, et al.
A novel, highly sensitive antibody allows for the routine detection of ALK-rearranged lung adenocarcinomas by standard immunohistochemistry. *Clin Cancer Res* 2010;16:1561-71.
65. Mehdaoui D.
Intérêt de la détection du remaniement du gène ALK en cancérologie pulmonaire: comparaison de 2 techniques de détection (FISH et IHC) sur une série de 254 patients porteurs d'un adénocarcinome pulmonaire [Thèse]. Rouen: Université de Rouen, Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie; 2012.
66. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, Yeap BY, Shaw A, Barletta JA, et al.
Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the Western population. *Clin Cancer Res* 2009;15:5216-23.

قسم الطبيب

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي.

وأن أصون حياة الإنسان في كافة أطوارها في كل الظروف
والأحوال باذلاً وسعي في استنقاذها من الهلاك والمرض
والألم والقلق.

وأن أحفظ للناس كرامتهم، وأستر عورتهم، وأكتم سرهم.
وأن أكون على الدوام من وسائل رحمة الله، باذلاً رعايتي الطبية للقريب والبعيد،
للصالح والطالح، والصديق والعدو.

وأن أثابر على طلب العلم، أسخره لنفع الإنسان .. لا لأذاه.
وأن أوقر من علمني، وأعلم من يصغرنني، وأكون أخاً لكل زميل في المهنة الطبية
متعاونين على البر والتقوى.

وأن تكون حياتي مصداق إيماني في سري وعلانيتي، نقيّة مما يُشِينها تجاه
الله ورسوله والمؤمنين.

والله على ما أقول شهيدا

أطروحة رقم 161

سنة 2020

**التعبير عن بروتين PDL-1 النسيجية المناعية في
السرطانات القصبية الرئوية ذي الخلايا الغير الصغيرة**

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2020/09/22

من طرف

السيدة : أصيلة هذه

المزداة 10 دجنبر 1993 ب آسفي

لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

سرطان القصبات الرئوية - كيمياء المناعة المناعية - PDL-1 - ALK - FISH

اللجنة

الرئيس

ل. عمرو

السيدة

أستاذة في الأمراض الصدرية

المشرف

ح. رايس

السيدة

أستاذة في علم التشريح المرضي

الحكام {

م. خوشاني

السيدة

أستاذة في طب العلاج بالأشعة

أ. فخري

السيد

أستاذ في علم التشريح المرضي- علم الأجنة- علم الوراثة الخلوية

ي. مسوكر

السيد

أستاذ في جراحة الصدر