



Année 2017/2018

N°

Thèse

Pour le
DOCTORAT EN MEDECINE
Diplôme d'État
par

Mathilde CANCEL

Née le 24 avril 1984 à TOURS (37)

TITRE

Etude rétrospective de l'expression d'AR-V7 dans des cancers de prostate métastatiques résistants à la castration chez 62 patients traités au CHU de Tours

Présentée et soutenue publiquement le 12/04/2018 devant un jury composé de :

Président du Jury :

Professeur Claude LINASSIER, Oncologie médicale, Faculté de Médecine –Tours

Membres du Jury :

Professeur Franck BRUYERE, Urologie, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD, Anatomie & Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Claude LINASSIER, Oncologie médicale, Faculté de Médecine –Tours

Docteur Bérengère NARCISO-RAHARIMANANA, Oncologie médicale – Tours

Directeur de thèse :

Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD, Anatomie & Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine - Tours

UNIVERSITE FRANCOIS RABELAIS
FACULTE DE MEDECINE DE TOURS

DOYEN

Pr. Patrice DIOT

VICE-DOYEN

Pr. Henri MARRET

ASSESEURS

Pr. Denis ANGOULVANT, *Pédagogie*
Pr. Mathias BUCHLER, *Relations internationales*
Pr. Hubert LARDY, *Moyens – Relations avec l'Université*
Pr. Anne-Marie LEHR-DRYLEWICZ, *Médecine générale*
Pr. François MAILLOT, *Formation Médicale Continue*
Pr. Patrick VOURC'H, *Recherche*

SECRETAIRE GENERALE

Mme Fanny BOBLETER

DOYENS HONORAIRES

Pr. Emile ARON (†) – 1962-1966
Directeur de l'Ecole de Médecine - 1947-1962
Pr. Georges DESBUQUOIS (†) - 1966-1972
Pr. André GOUAZE - 1972-1994
Pr. Jean-Claude ROLLAND – 1994-2004
Pr. Dominique PERROTIN – 2004-2014

PROFESSEURS EMERITES

Pr. Daniel ALISON
Pr. Catherine BARTHELEMY
Pr. Philippe BOUGNOUX
Pr. Pierre COSNAY
Pr. Etienne DANQUECHIN-DORVAL
Pr. Loïc DE LA LANDE DE CALAN
Pr. Noël HUTEN
Pr. Olivier LE FLOCH
Pr. Yvon LEBRANCHU
Pr. Elisabeth LECA
Pr. Gérard LORETTE
Pr. Roland QUENTIN
Pr. Alain ROBIER
Pr. Elie SALIBA

PROFESSEURS HONORAIRES

P. ANTHONIOZ – A. AUDURIER – A. AUTRET – P. BAGROS – G. BALLON – P. BARDOS – J.L. BAULIEU – C. BERGER – JC. BESNARD – P. BEUTTER – P. BONNET – M. BROCHIER – P. BURDIN – L. CASTELLANI – B. CHARBONNIER – P. CHOUTET – T. CONSTANS – C. COUET - J.P. FAUCHIER – F. FETISSOF – J. FUSCIARDI – P. GAILLARD – G. GINIES – A. GOUAZE – J.L. GUILMOT – M. JAN – J.P. LAMAGNERE – F. LAMISSE – Y. LANSON – J. LAUGIER – P. LECOMTE – G. LELORD – E. LEMARIE – G. LEROY – Y. LHUINTE – M. MARCHAND – C.

MAURAGE – C. MERCIER – J. MOLINE – C. MORAINÉ – J.P. MUH – J. MURAT – H. NIVET – L. POURCELOT – P. RAYNAUD – D. RICHARD-LENOBLE – M. ROBERT – J.C. ROLLAND – D. ROYERE - A. SAINDELLE – J.J. SANTINI – D. SAUVAGE – B. TOUMIEUX – J. WEILL

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

ANDRES Christian	Biochimie et biologie moléculaire
ANGOULVANT Denis	Cardiologie
ARBEILLE Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
AUPART Michel	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
BABUTY Dominique	Cardiologie
BALLON Nicolas	Psychiatrie ; addictologie
BARILLOT Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie
BARON Christophe	Immunologie
BEJAN-ANGOULVANT Théodora	Pharmacologie clinique
BERNARD Anne	Cardiologie
BERNARD Louis	Maladies infectieuses et maladies tropicales
BODY Gilles	Gynécologie et obstétrique
BONNARD Christian	Chirurgie infantile
BONNET-BRILHAULT Frédérique	Physiologie
BRILHAULT Jean	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BRUNEREAU Laurent	Radiologie et imagerie médicale
BRUYERE Franck	Urologie
BUCHLER Matthias	Néphrologie
CALAIS Gilles	Cancérologie, radiothérapie
CAMUS Vincent	Psychiatrie d'adultes
CHANDENIER Jacques	Parasitologie, mycologie
CHANTEPIE Alain	Pédiatrie
COLOMBAT Philippe	Hématologie, transfusion
CORCIA Philippe	Neurologie
COTTIER Jean-Philippe.....	Radiologie et imagerie médicale
DE TOFFOL Bertrand	Neurologie
DEQUIN Pierre-François.....	Thérapeutique
DESTRIEUX Christophe	Anatomie
DIOT Patrice	Pneumologie
DU BOUEXIC de PINIEUX Gonzague	Anatomie & cytologie pathologiques
DUCLUZEAU Pierre-Henri	Endocrinologie, diabétologie, et nutrition
DUMONT Pascal.....	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
EL HAGE Wissam.....	Psychiatrie adultes
EHRMANN Stephan	Réanimation
FAUCHIER Laurent	Cardiologie
FAVARD Luc	Chirurgie orthopédique et traumatologique
FOUQUET Bernard	Médecine physique et de réadaptation
FRANCOIS Patrick.....	Neurochirurgie
FROMONT-HANKARD Gaëlle	Anatomie & cytologie pathologiques
GOGA Dominique	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
GOUDEAU Alain	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUPILLE Philippe	Rhumatologie
GRUEL Yves	Hématologie, transfusion
GUERIF Fabrice	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
GUYETANT Serge	Anatomie et cytologie pathologiques
GYAN Emmanuel	Hématologie, transfusion
HAILLOT Olivier	Urologie
HALIMI Jean-Michel	Thérapeutique
HANKARD Régis	Pédiatrie
HERAULT Olivier	Hématologie, transfusion
HERBRETEAU Denis	Radiologie et imagerie médicale
HOURIOUX Christophe	Biologie cellulaire
LABARTHE François	Pédiatrie
LAFFON Marc	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale, médecine d'urgence
LARDY Hubert	Chirurgie infantile
LARIBI Saïd	Médecine d'urgence
LARTIGUE Marie-Frédérique.....	Bactériologie-virologie
LAURE Boris	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
LECOMTE Thierry	Gastroentérologie, hépatologie
LESCANNE Emmanuel.....	Oto-rhino-laryngologie
LINASSIER Claude	Cancérologie, radiothérapie
MACHET Laurent	Dermato-vénéréologie
MAILLOT François	Médecine interne
MARCHAND-ADAM Sylvain	Pneumologie

MARRET Henri	Gynécologie-obstétrique
MARUANI Annabel	Dermatologie-vénérologie
MEREGHETTI Laurent	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
MORINIERE Sylvain	Oto-rhino-laryngologie
MOUSSATA Driffa	Gastro-entérologie
MULLEMAN Denis	Rhumatologie
ODENT Thierry	Chirurgie infantile
OUAISSI Mehdi	Chirurgie digestive
OULDAMER Lobna	Gynécologie-obstétrique
PAGES Jean-Christophe	Biochimie et biologie moléculaire
PAINTAUD Gilles	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PATAT Frédéric	Biophysique et médecine nucléaire
PERROTIN Dominique	Réanimation médicale, médecine d'urgence
PERROTIN Franck	Gynécologie-obstétrique
PISELLA Pierre-Jean	Ophtalmologie
PLANTIER Laurent	Physiologie
QUENTIN Roland	Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
REMERAND Francis	Anesthésiologie et réanimation, médecine d'urgence
ROINGEARD Philippe	Biologie cellulaire
ROSSET Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
RUSCH Emmanuel	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
SAINT-MARTIN Pauline	Médecine légale et droit de la santé
SALAME Ephrem	Chirurgie digestive
SAMIMI Mahtab	Dermatologie-vénérologie
SANTIAGO-RIBEIRO Maria.....	Biophysique et médecine nucléaire
SIRINELLI Dominique	Radiologie et imagerie médicale
THOMAS-CASTELNAU Pierre	Pédiatrie
TOUTAIN Annick	Génétique
VAILLANT Loïc	Dermato-vénérologie
VELUT Stéphane	Anatomie
VOURC'H Patrick	Biochimie et biologie moléculaire
WATIER Hervé	Immunologie

PROFESSEUR DES UNIVERSITES DE MEDECINE GENERALE

LEBEAU Jean-Pierre
LEHR-DRYLEWICZ Anne-Marie

PROFESSEURS ASSOCIES

MALLET Donatien Soins palliatifs
POTIER Alain Médecine Générale
ROBERT Jean Médecine Générale

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

BAKHOS David Physiologie
BARBIER Louise Chirurgie digestive
BERHOUEZ Julien Chirurgie orthopédique et traumatologique
BERTRAND Philippe Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
BLANCHARD-LAUMONNIER Emmanuelle Biologie cellulaire
BLASCO Hélène Biochimie et biologie moléculaire
BRUNAUT Paul Psychiatrie d'adultes, addictologie
CAILLE Agnès Biostatistiques, informatique médical et technologies de communication
CLEMENTY Nicolas Cardiologie
DESOUBEAUX Guillaume Parasitologie et mycologie
DOMELIER Anne-Sophie Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
DOUFOR Diane Biophysique et médecine nucléaire
FOUQUET-BERGEMER Anne-Marie Anatomie et cytologie pathologiques
GATAULT Philippe Néphrologie
GAUDY-GRAFFIN Catherine Bactériologie-virologie, hygiène hospitalière
GOUILLEUX Valérie Immunologie
GUILLON Antoine Réanimation
GUILLON-GRAMMATICO Leslie Epidémiologie, économie de la santé et prévention
HOARAU Cyrille Immunologie
IVANES Fabrice Physiologie
LE GUELLEC Chantal Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
MACHET Marie-Christine Anatomie et cytologie pathologiques

PIVER Éric	Biochimie et biologie moléculaire
REROLLE Camille	Médecine légale
ROUMY Jérôme	Biophysique et médecine nucléaire
TERNANT David	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
ZEMMOURA Ilyess	Neurochirurgie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

AGUILLON-HERNANDEZ Nadia	Neurosciences
BOREL Stéphanie	Orthophonie
DIBAO-DINA Clarisse	Médecine Générale
LEMOINE Maël	Philosophie
MONJAUZE Cécile	Sciences du langage - orthophonie
PATIENT Romuald	Biologie cellulaire
RENOUX-JACQUET Cécile	Médecine Générale

CHERCHEURS INSERM - CNRS - INRA

BOUAKAZ Ayache	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
CHALON Sylvie	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
COURTY Yves	Chargé de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
DE ROCQUIGNY Hugues	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
ESCOFFRE Jean-Michel	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
GILOT Philippe	Chargé de Recherche INRA – UMR INRA 1282
GOUILLEUX Fabrice.....	Directeur de Recherche CNRS – UMR CNRS 7292
GOMOT Marie.....	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930
HEUZE-VOURCH Nathalie	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
KORKMAZ Brice	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
LAUMONNIER Frédéric	Chargé de Recherche INSERM - UMR INSERM 930
LE PAPE Alain	Directeur de Recherche CNRS – UMR INSERM 1100
MAZURIER Frédéric	Directeur de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
MEUNIER Jean-Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 966
PAGET Christophe	Chargé de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
RAOUL William	Chargé de Recherche INSERM – UMR CNRS 7292
SI TAHAR Mustapha	Directeur de Recherche INSERM – UMR INSERM 1100
WARDAK Claire	Chargée de Recherche INSERM – UMR INSERM 930

CHARGES D'ENSEIGNEMENT

Pour l'Ecole d'Orthophonie

DELORE Claire	Orthophoniste
GOUIN Jean-Marie	Praticien Hospitalier
PERRIER Danièle	Orthophoniste

Pour l'Ecole d'Orthoptie

LALA Emmanuelle	Praticien Hospitalier
MAJZOUB Samuel	Praticien Hospitalier

Pour l'Ethique Médicale

BIRMELE Béatrice	Praticien Hospitalier
------------------------	-----------------------

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté,
de mes chers condisciples
et selon la tradition d'Hippocrate,
je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur
et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent,
et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux
ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira
les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas
à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres,
je rendrai à leurs enfants
l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime
si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre
et méprisé de mes confrères
si j'y manque.

Table des matières

Abréviations :	8
Résumé :	9
Abstract :	10
Mots clés :	11
1. Introduction :	12
1.1. Critères d'agressivité initiale dans le cancer de prostate :	12
1.2. Carcinogenèse du cancer de prostate :	14
1.3. Options thérapeutiques dans le cancer de prostate :	14
1.4. Objectifs de l'étude :	16
2. Patients et méthodes :	17
2.1. Patients :	17
2.1.1. Type d'étude :	17
2.1.2. Critères d'inclusion et critères d'exclusion :	17
2.2. Méthodes :	17
2.2.1. Recueil des données cliniques et anatomopathologiques :	17
2.2.2. Relecture histologique des lames :	18
2.2.3. Constitution des blocs de Tissue Microarray (TMA) :	18
2.2.4. Immunohistochimie (IHC) :	18
2.2.5. Analyses Statistiques :	19
3. Résultats :	20
3.1. Diagramme de flux :	20
3.2. Caractéristiques des patients :	21
3.3. Prévalence de l'expression d'AR-V7, SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 et Zeb1 :	23
3.4. Expression d'AR-V7 en fonction des autres marqueurs :	27
3.5. Expression de SPINK1 en fonction d'ERG :	27
3.6. Analyses de survie en univarié :	28
3.7. Analyses multivariées :	29
3.8. Etudes descriptives de séquence :	30
4. Discussion :	32
4.1. Caractéristiques cliniques de la population étudiée :	32
4.2. Marqueurs anatomo-pathologiques :	32
4.3. Marqueurs cliniques, biologiques et anatomo-pathologiques et survie :	34
4.4. Evolutivité de l'expression d'AR-V7 et des autres marqueurs au cours du suivi :	36
4.5. Limites de l'étude :	36
5. Conclusion :	37
6. Bibliographie :	38

Abréviations :

AKT :	protéine kinase B
AR-V7 :	variant d'épissage 7 du récepteur aux androgènes
ARNm :	acide ribonucléique messenger
CHAARTED :	ChemoHormonal Therapy versus Androgen Ablation Randomized Trial for Extensive Disease in prostate cancer
CHU :	centre hospitalier universitaire
CPMRC :	cancer de prostate métastatique résistant à la castration
CTC :	cellules tumorales circulantes
DPP :	dossier personnalisé partagé
ERG :	« erythroblast transformation-specific » - related gene
HES :	hématoxyline-éosine-safran
HR :	hazard ratio
IC _{95%} :	intervalle de confiance à 95%
IHC :	immunohistochimie
ISUP :	International Society of Urological Pathology
NS :	non su
PCR :	polymerase chain reaction
PI3K :	phosphatidylinositol-3-kinase
PSA :	prostate specific antigen
PTEN :	phosphatase and tensin homolog
RA :	récepteur aux androgènes
RT-PCR :	reverse transcriptase-polymerase chain reaction
SPINK1 :	serine peptidase inhibitor, Kazal type 1
TDM :	tomodensitométrie
TEM :	transition épithélio-mésenchymateuse
TMA :	Tissue Microarray
Zeb1 :	zinc-finger enhancer binding protein

Résumé :

Introduction : La prolifération cellulaire et la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) sont deux propriétés majeures des cellules cancéreuses. La prolifération est couramment caractérisée par le niveau d'expression nucléaire de l'antigène Ki67. PTEN (phosphatase and tensin homolog) est un régulateur négatif de la voie de signalisation PI3K/AKT, impliquée dans la prolifération cellulaire. La TEM est régulée par différents facteurs de transcription, dont Zeb1 (zinc-finger enhancer binding protein) est un des facteurs clés. SPINK1 (serine peptidase inhibitor, Kazal type 1) est un promoteur de la TEM. Enfin l'expression d'ERG (« erythroblast transformation-specific » - related gene) en immunohistochimie (IHC) représente le gène de fusion TMPRSS2-ERG, qui est l'altération moléculaire la plus fréquente dans ce cancer.

Plusieurs traitements sont disponibles en première ligne de prise en charge du cancer de prostate métastatique résistant à la castration (CPMRC). Tous ne répondent pas de la même façon à la chimiothérapie par docétaxel ou aux hormonothérapies de nouvelle génération comme l'acétate d'abiratéron et l'enzalutamide. L'un des défis actuels est d'identifier des marqueurs prédictifs de la réponse au traitement envisagé. L'expression du variant d'épissage du récepteur aux androgènes 7 (AR-V7) a été corrélée à la réponse aux différents traitements disponibles.

Objectifs : L'objectif principal de cette étude était d'évaluer, rétrospectivement, l'intérêt pronostique sur la survie globale de l'expression d'AR-V7 en IHC, dans les prélèvements réalisés en routine chez des patients suivis pour un CPMRC. Les objectifs secondaires étaient :
1/ de comparer l'expression d'AR-V7 avec celle d'autres biomarqueurs impliqués dans la progression du cancer de prostate, afin d'étudier leur corrélation potentielle ;
2/ d'étudier sa variabilité au cours de la maladie.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective de cohorte monocentrique portant sur 62 patients traités au centre hospitalier universitaire (CHU) de Tours, entre 2003 et 2015. L'ensemble des données a été extrait du dossier médical informatisé du CHU et de la base de gestion informatique du service d'Anatomie Pathologique de Tours (DIAMIC). Les expressions d'AR-V7, SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 et Zeb1 de 123 prélèvements ont été analysées en IHC sur « Tissue Microarray » (TMA). Les données d'expression ont été corrélées aux caractéristiques cliniques, biologiques et anatomopathologiques des patients. Les courbes de survie ont été calculées par la méthode de Kaplan-Meier et comparées par le test du log-rank, pour les analyses univariées et par un modèle de Cox, pour les analyses multivariées.

Résultats : La médiane de suivi était de 79 mois [6-256]. L'âge médian était de 69 ans [48-91]. Le taux médian de PSA (prostate specific antigen) au diagnostic était de 26,4 ng/ml [3,5-700]. La moitié des patients avaient un score ISUP ≥ 4 . Le temps médian pour développer une résistance à la castration à partir du début de l'hormonothérapie était de 34 mois [2-204].

AR-V7 était exprimé dans 36% des prélèvements. Son expression augmentait avec l'avancée des traitements, passant de 27% des prélèvements l'exprimant avant traitement systémique à 57% après traitement d'hormonorésistance ($p < 0,05$). L'expression d'AR-V7 était corrélée au niveau d'expression de Zeb1 ($p < 0,01$), et inversement corrélée à la perte de PTEN ($p < 0,001$).

En analyse univariée, la survie globale était significativement corrélée au score ISUP ($p < 0,05$), au statut métastatique au diagnostic ($p < 0,01$), à l'expression de Zeb1 ($p < 0,01$), mais pas au statut d'AR-V7 ($p = 0,78$).

En analyse multivariée, Zeb1 restait significativement prédictif de la survie globale ($p < 0,05$).

Conclusion : Dans notre cohorte rétrospective, nous n'avons pas retrouvé d'impact de l'expression d'AR-V7 sur la survie globale. Par contre, le niveau d'expression de Zeb1 était lié à la positivité d'AR-V7 et sa positivité avait une valeur pronostique sur la survie globale.

Ces résultats sont préliminaires et nécessitent une étude confirmatoire dans le cadre d'une étude prospective et multicentrique.

Abstract :

Introduction: Cell proliferation and the epithelial-to-mesenchymal transition (TEM) are two major properties of cancer cells. Proliferation is commonly characterized by the level of Ki67 nuclear expression. In addition, PTEN (phosphatase and tensin homolog) is a negative regulator of the PI3K / AKT signaling pathway that is involved in cell proliferation. TEM is regulated by various transcription factors, including Zeb1 (zinc-finger enhancer binding protein). SPINK1 (serine peptidase inhibitor, Kazal type 1) is a promoter of TEM. Finally, ERG expression in immunohistochemistry (IHC) represents the TMPRSS2-ERG fusion gene, which is the most common molecular alteration in prostate cancer.

Several options are available in the first line of treatment of metastatic castration-resistant prostate cancer (CPMRC). A significant proportion of patients, however, is resistant to chemotherapy or to new hormonal agents such as abiraterone acetate and enzalutamide. One of the current challenges is to identify predictive markers of response. Detection of the androgen-receptor splice variant 7 (AR-V7) was correlated with the response to the different treatments available.

Objectives: The primary endpoint was to evaluate, retrospectively, the prognostic role of AR-V7 in overall survival, using routine samples from patients treated for a CPMRC. Secondary endpoints were: 1/ to compare AR-V7 expression with other biomarkers involved in the progression of prostate cancer expression, in order to study their potential correlation; 2/ to study AR-V7 expression variability during cancer evolution.

Patients and methods: This was a single-center retrospective cohort study of 62 patients treated between 2003 and 2015. All the data were extracted from the patient medical file and pathology database (DIAMIC) of Tours University Hospital. AR-V7, SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 and Zeb1 expressions of 123 samples were analyzed by IHC on "Tissue Microarray" (TMA). Their expressions were correlated with clinical, biological and pathological patients' characteristics. Survival curves were calculated by the Kaplan-Meier method and compared by the log-rank test for univariate analyses and a Cox model for multivariate analyses.

Results: The median follow-up was 79 months [6-256]. The median age was 69 years [48-91]. The median PSA (prostate specific antigen) rate at diagnosis was 26.4 ng/ml [3.5-700]. Half of the patients had a ISUP score ≥ 4 . The median time to develop resistance to castration from the onset of hormone therapy was 34 months [2-204].

AR-V7 was expressed in 36% of the samples. Its expression increased with the sequence of treatments, from 27% of the samples before systemic treatment to 57% after a treatment for castration-resistant cancer ($p < 0.05$). AR-V7 expression was correlated with the intensity of Zeb1 expression ($p < 0.01$), and inversely correlated with the loss of PTEN ($p < 0.001$).

In univariate analysis, overall survival was significantly correlated with the ISUP score ($p < 0.05$), metastatic status at diagnosis ($p < 0.01$), Zeb1 expression ($p < 0.01$), but not with AR-V7 status ($p = 0.78$).

In multivariate analysis, Zeb1 remained significantly associated with decreased overall survival ($p < 0.05$).

Conclusion: In our retrospective cohort, we did not find any impact of AR-V7 expression on overall survival. However, we showed that Zeb1 expression was related to AR-V7 positivity. Furthermore, Zeb1 expression had a prognostic value on overall survival.

These results are preliminary and require a confirmatory study in a prospective, multicenter study.

Mots clés :

Mots clés :

cancer de prostate métastatique résistant à la castration,
AR-V7,
transition épithélio-mésenchymateuse,
Zeb1.

Keywords:

metastatic castration-resistant prostate cancer,
AR-V7,
epithelial-to-mesenchymal transition,
Zeb1.

1. Introduction :

En France, le cancer de la prostate est le cancer le plus fréquent chez l'homme, avec une incidence estimée en 2011 à environ 97,7 cas pour 100 000 hommes par an et une mortalité d'environ 10,5 décès pour 100 000 cas par an en 2011¹.

1.1. Critères d'agressivité initiale dans le cancer de prostate :

Le diagnostic repose sur l'examen anatomopathologique de biopsies prostatiques. Dans 90% des cas il s'agit d'un adénocarcinome, classé selon le score ISUP (International Society of Urological Pathology), qui a remplacé le score historiquement utilisé dit score de Gleason. Etabli par Gleason en 1966, ce score reflète la différenciation tumorale, et de ce fait l'agressivité potentielle de la tumeur². Pour rendre compte de l'hétérogénéité des cancers prostatiques, le score de Gleason est obtenu par l'addition des 2 grades principaux définis sur des critères architecturaux, initialement du grade 1 (très bien différencié) au grade 5 (indifférencié), comme représenté sur la gauche de la figure 1. Depuis 1966, certaines précisions sur la définition des grades ont été apportées, mais les modifications les plus importantes dans l'évaluation du score de Gleason ont été initiées par les conférences de consensus de l'ISUP en 2005 et 2014³ (voir partie droite de la figure 1).

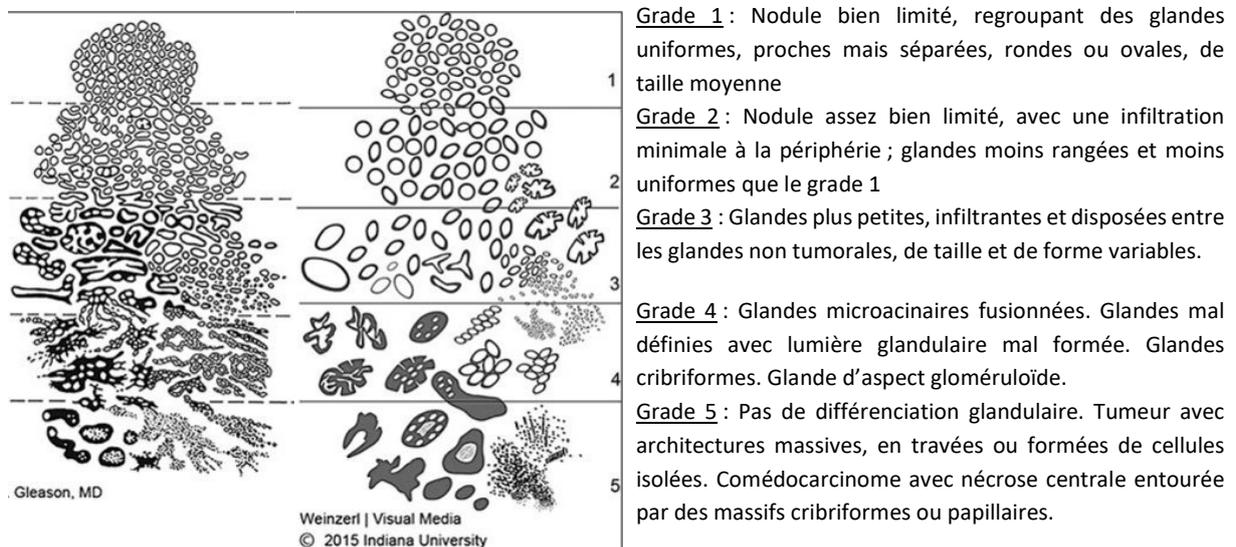


Figure 1 : Schéma de l'adénocarcinome de prostate selon le grade de différenciation

A gauche : grade selon le score de Gleason, schéma

A droite : grade modifié selon le score ISUP, schéma et description

(Adapté d'Epstein et col. rapportant la conférence de consensus de 2014 de l'ISUP³)

Ces conférences de consensus de l'ISUP avaient pour but d'une part de modifier certaines définitions des grades pour une corrélation optimale avec les données pronostiques actuelles et d'autre part d'apporter davantage de précisions pour augmenter la reproductibilité entre pathologistes.

La classification proposée par l'ISUP en 2014 définit les groupes pronostiques suivants :

- Groupe 1 : score de Gleason 6 (3+3)
- Groupe 2 : score de Gleason 7 (3 majoritaire, soit 3+4)
- Groupe 3 : score de Gleason 7 (4 majoritaire, soit 4+3)
- Groupe 4 : score de Gleason 8 (4+4, 3+5, ou 5+3)
- Groupe 5 : score de Gleason 9 ou 10

La valeur pronostique de cette classification en 5 groupes a été validée rétrospectivement par des études multi-institutionnelles⁴.

Les autres critères d'agressivité du cancer de prostate au diagnostic sont le taux de PSA et le stade TNM, dont la dernière classification date de 2017 (voir tableau 1).

pT : tumeur primitive

pT2 : tumeur limitée à la prostate

pT3 : extension extra-prostatique

pT3a : extension extra-prostatique uni ou bilatérale incluant le col vésical

pT3b : envahissement uni ou bilatéral de la paroi des vésicules séminales

pT4 : envahissement d'autres structures que les vésicules séminales (sphincter externe, rectum, muscles releveurs de l'anus, paroi pelvienne)

N : ganglions lymphatiques régionaux

Nx : ganglions régionaux non évalués

N0 : absence de métastase ganglionnaire régionale

N1 : métastase(s) ganglionnaire(s) régionale(s)

M : métastases à distance

M0 : absence de métastase

M1 : métastase(s)

M1a : ganglion lymphatique non régional

M1b : métastase osseuse

M1c : autre site (viscéral) avec ou sans métastase osseuse

Tableau 1 : Classification pTNM 2017 du cancer de la prostate

Ces trois critères diagnostiques (score de Gleason maintenant remplacé par le score ISUP, taux de PSA et stade TNM) ont d'ailleurs permis d'établir la classification de D'Amico qui définit trois groupes de risque de récurrence d'anomalie du PSA dix ans après prostatectomie radicale⁵, de la façon suivante :

- risque faible : PSA \leq 10 ng /mL ET score de Gleason \leq 6 ET stade clinique T1c ou T2a
- risque intermédiaire : PSA de 11 à 20 ng /mL OU score de Gleason = 7 OU stade clinique T2b
- haut risque : PSA $>$ 20 ng /mL OU score de Gleason de 8 à 10 OU stade clinique T2c.

Cette classification est encore largement utilisée en pratique pour les décisions thérapeutiques.

1.2. Carcinogénèse du cancer de prostate :

La carcinogénèse du cancer de prostate est de mieux en mieux connue. L'altération précoce la plus fréquente est celle du gène de fusion TMPRSS2-ERG⁶, retrouvée dans environ 30 à 50% des cancers de prostate. Le promoteur de TMPRSS2 est activé par les androgènes. En cas de fusion TMPRSS2-ERG, son activation induit l'expression du facteur de transcription ERG (« erythroblast transformation-specific » - related gene) qui interviendrait dans les voies de signalisation régulant la croissance cellulaire, la différenciation et la carcinogénèse. Cependant, son rôle précis reste encore mal connu. La positivité d'ERG en IHC est représentative de la présence du gène de fusion à 99,9%^{7,8}.

Dans la carcinogénèse, il existe globalement deux mécanismes de développement du cancer qui sont la prolifération, permettant le développement local du cancer et la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), qui permet aux cellules épithéliales de migrer, de gagner en invasivité et d'accroître leur potentiel métastatique⁹. La prolifération est couramment caractérisée par le niveau d'expression nucléaire de l'antigène Ki67. PTEN (phosphatase and tensin homolog) est un régulateur négatif de la voie de signalisation PI3K/AKT (phosphatidylinositol-3-kinase/protéine kinase B) impliquée dans la prolifération cellulaire. La perte de l'expression de PTEN est corrélée à un mauvais pronostic^{10,11}. Cette dernière peut être hétérogène au sein des tumeurs, rendant parfois difficile et observateur-dépendante l'interprétation de l'IHC pour détecter ces anomalies¹².

La TEM est régulée par différents facteurs de transcription, dont Zeb1 (zinc-finger enhancer binding protein) est un des facteurs clés et peut être évalué en IHC^{13,14}. SPINK1 (serine peptidase inhibitor, Kazal type 1) est un inhibiteur de sérine protéase, dont le PSA (prostate specific antigen). *In vitro*, l'expression de SPINK1 est associée à une invasivité des cellules tumorales plus importante et assure la promotion de la TEM. L'expression de SPINK1 et la présence d'ERG sont très fréquemment mutuellement exclusives. L'expression de SPINK1 a été associée à un pronostic plus défavorable¹⁵.

1.3. Options thérapeutiques dans le cancer de prostate :

L'adénocarcinome de prostate est accessible à un traitement curatif comme la chirurgie ou la radiothérapie, s'il est diagnostiqué au stade localisé. Une maladie avancée ou métastatique est habituellement sensible à la castration, chirurgicale ou médicale. Cependant, une résistance à la castration apparaît généralement après 18 à 24 mois^{16,17}, dans la majorité des cas liée à la transcription active du récepteur aux androgènes (RA) malgré l'hormonothérapie bloquant la synthèse des androgènes. Plusieurs modifications dans la voie de biosynthèse des androgènes ou de la fonctionnalité du RA (tels qu'une mutation, une phosphorylation ou un épissage alternatif) ont été corrélées à la persistance de cette activité malgré le maintien de la castration¹⁸.

En 2004, la chimiothérapie par docétaxel est devenue le premier traitement de référence des cancers de prostate métastatiques résistants à la castration (CPMRC)¹⁹. Le cabazitaxel est un autre taxane dont l'efficacité a été développée à partir de lignées cellulaires résistantes au docétaxel²⁰.

Récemment, de nouveaux traitements hormonaux ont prouvé leur efficacité dans le traitement de patients dont la maladie était résistante au docétaxel. L'acétate d'abiratérone inhibe la biosynthèse des androgènes testiculaires, surrénaliens et directement dans la cellule tumorale prostatique, en inhibant la 17 α -hydroxylase et la C17,20-lyase, alors que l'enzalutamide cible directement le RA, comme représenté sur la figure 2. Ces deux traitements ont amélioré la survie de patients ayant un CPMRC, que ce soit avant ou après docétaxel²¹⁻²⁴.

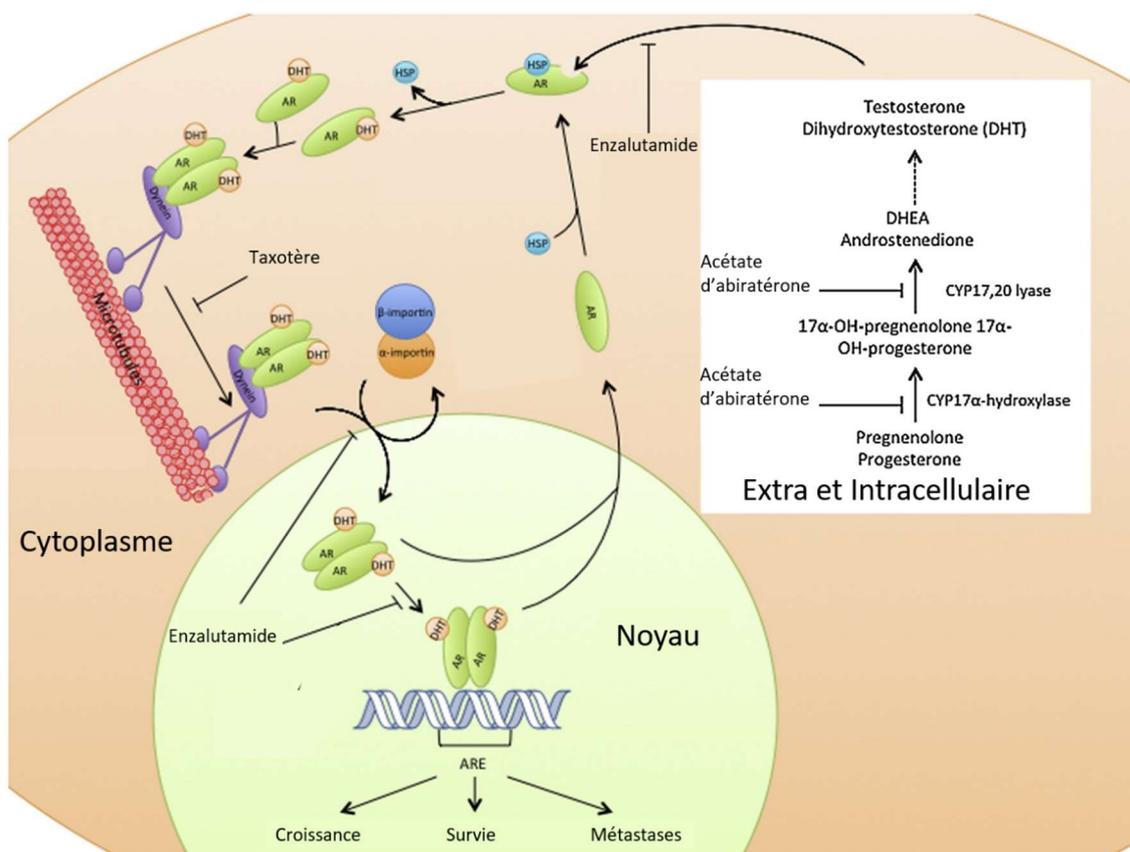


Figure 2 : Modélisation des mécanismes d'action des différents traitements dans le CPMRC, adapté de McCrea et col.²⁵

Tous les cancers de prostate ne répondent pas de la même façon à la chimiothérapie ou aux traitements hormonaux de nouvelle génération. L'un des défis actuels est d'identifier des marqueurs prédictifs de la réponse au traitement envisagé.

Des variants du RA (représentés figure 3), dus à un épissage alternatif de l'ARNm (acide ribonucléique messager), se caractérisent par l'absence de domaine liant au ligand et peuvent activer une réponse cellulaire constante, avec ou sans la présence d'androgènes. Parmi ces variants, l'AR-V7 (variant d'épissage du récepteur aux androgènes 7), constitutionnellement actif, est le plus fréquemment rapporté dans la littérature. L'expression de l'AR-V7 peut être détectée par immunohistochimie (IHC) dans le tissu tumoral²⁶. La détection de l'AR-V7 par PCR (polymerase chain reaction) dans le sang, les cellules tumorales circulantes (CTC) ou les exosomes de patients ayant un CPMRC a été récemment corrélée à la résistance à l'acétate d'abiratéron et l'enzalutamide²⁷⁻³¹, sans être un marqueur prédictif de résistance au docétaxel³².

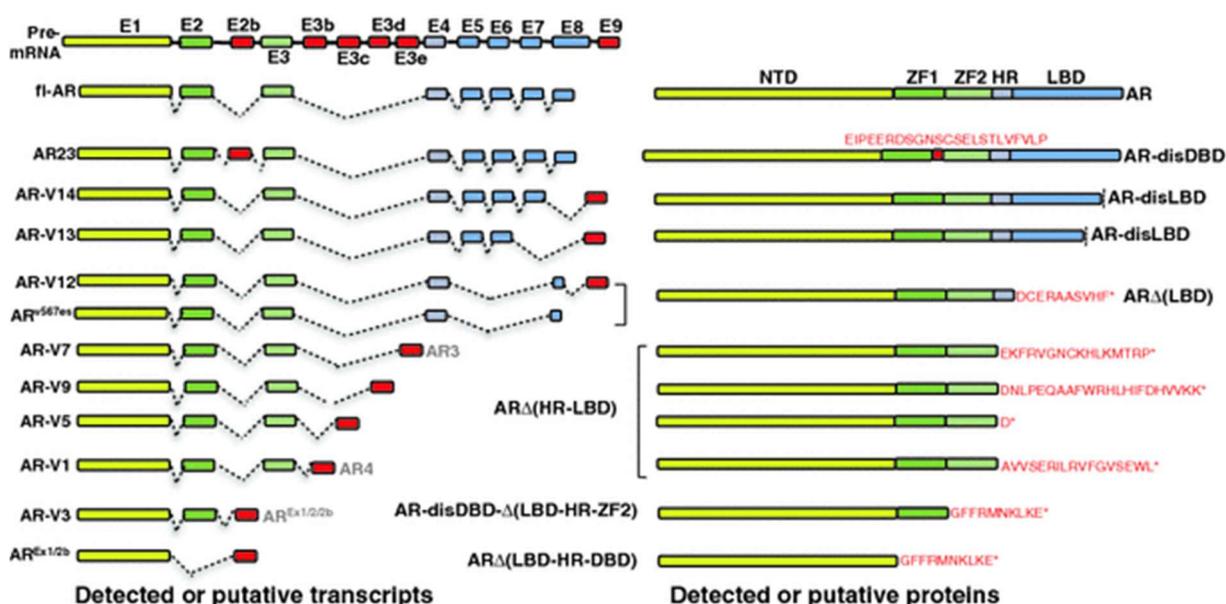


Figure 3 : Schéma des séquences des différents variants d'épissage du RA décrits dans le cancer de prostate, reproduit d'Haile et col.³³

1.4. Objectifs de l'étude :

L'objectif principal de cette étude était d'évaluer, rétrospectivement, l'intérêt pronostique sur la survie globale de l'expression d'AR-V7 en IHC, dans les prélèvements réalisés en routine chez des patients suivis pour un CPMRC.

Les objectifs secondaires étaient :

- 1/ de comparer l'expression d'AR-V7 avec celle d'autres biomarqueurs impliqués dans la carcinogenèse du cancer de prostate afin d'étudier leur corrélation potentielle ;
- 2/ d'étudier la variabilité d'AR-V7 au cours de la maladie.

2. Patients et méthodes :

2.1. Patients :

2.1.1. Type d'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective, de cohorte, monocentrique, concernant des patients traités au centre hospitalier universitaire (CHU) de Tours, entre 2003 et 2015.

2.1.2. Critères d'inclusion et critères d'exclusion :

Tous les patients suivis entre 2003 et 2015, au CHU de Tours, pour un CPMRC et ayant eu au moins un prélèvement histologique au stade métastatique, disponible au CHU, ont été inclus. Chaque patient devait donc remplir les critères d'inclusion suivants :

- âge du patient > 18 ans
- adénocarcinome prostatique confirmé histologiquement
- statut métastatique documenté par la présence de métastases loco régionales ou à distance sur une imagerie : tomодensitométrie (TDM) ou scintigraphie osseuse
- ayant reçu une hormonothérapie anti-androgénique
- ayant une preuve de la résistance à la castration : soit par la progression du PSA (au moins trois élévations du PSA à au moins deux semaines d'intervalle, la dernière valeur étant d'au moins 2,0 ng/mL), soit par la progression radiologique
- ayant au moins un prélèvement histologique réalisé au stade métastatique de la maladie

La majorité des patients a présenté un tableau de maladie localement avancée voir métastatique d'emblée et n'a pas eu de traitement local initial.

Les patients ayant été traités pour un autre cancer que le cancer de la prostate, à l'exception d'un carcinome basocellulaire, au cours des cinq années précédant l'inclusion potentielle ou au cours du suivi pour le cancer de prostate, ont été exclus de l'étude.

2.2. Méthodes :

2.2.1. Recueil des données cliniques et anatomopathologiques :

L'ensemble des données a été extrait du dossier personnalisé partagé du CHU (DPP) et de la base de gestion informatique du service d'Anatomie Pathologique de Tours (DIAMIC).

Les données cliniques et anatomopathologiques suivantes ont été recueillies :

- l'année de naissance du patient et son âge au diagnostic ;
- au diagnostic du cancer : date de diagnostic, site de prélèvement (tumeur primitive ou métastase), stade TNM ;
- taux de PSA et score ISUP au diagnostic ;
- type de traitement local initial s'il y en a eu un : chirurgie ou radiothérapie externe ;
- concernant l'hormonothérapie : date de début du traitement et date de début de la résistance à la castration ;
- concernant l'évolution métastatique : intervalle de temps entre le diagnostic et l'apparition de métastases, type de sites métastatiques (ganglionnaire, osseux, viscéral), haute masse tumorale à l'évolution métastatique (qui est définie, comme dans l'étude CHARTED, par la

présence de métastases viscérales et/ou la présence d'au moins quatre métastases osseuses dont au moins une est située en dehors des corps vertébraux et du pelvis³⁴ ;

- pour chaque ligne de traitement systémique en situation de résistance à la castration : type de traitement (chimiothérapie ou hormonothérapie de nouvelle génération), durée du traitement avec les dates de début et de fin du traitement.

2.2.2. Relecture histologique des lames :

Pour chaque tumeur, les lames HES (hématoxyline-éosine-safran) ont été relues par M. Cancel, secondée en cas de doute par le Docteur A. Vinceneux et le Professeur G. Fromont pour déterminer les zones tumorales d'intérêt, à raison de 1 à 3 zones par prélèvement.

2.2.3. Constitution des blocs de Tissue Microarray (TMA) :

La technique de TMA permet d'analyser sur une seule lame un grand nombre d'échantillons de tissus inclus en paraffine.

Les zones d'intérêt ont été repérées au préalable par lecture des lames originelles colorées en HES. Le plan de disposition des carottes sur les blocs de TMA a été réalisé grâce à un logiciel (TMA designer 2).

Le bloc de TMA, contenant les 338 carottes de tissu tumoral étudiées, a été construit à l'aide de l'appareil dédié semi-automatique : le Manual Tissue Arrayer MTA Booster, Version 1.01, Alphélys, France.

Pour chaque tumeur, trois carottes cylindriques de 0,6 mm de diamètre ont été prélevées dans les zones tumorales repérées sur le bloc de paraffine donneur et transférées vers le bloc de paraffine vierge receveur³⁵.

Après une étape de déparaffinage et de déshydratation, une coloration HES sur des coupes étagées a été réalisée en premier lieu, pour contrôler la qualité et la morphologie des échantillons.

2.2.4. Immunohistochimie (IHC) :

L'étude immunohistochimique a été réalisée sur des coupes de 3 µm des blocs de TMA avec soit l'automate XT Benchmark (Ventana Medical Systems, Inc., Arizona, Etats-Unis) pour ERG et Ki67, soit un marquage manuel à l'aide du kit LSAB, pour les anticorps AR-V7, SPINK1, PTEN et Zeb1.

Les lames ont été déparaffinées, réhydratées puis chauffées dans une solution tampon (pH adapté au type d'anticorps utilisé) afin de démasquer les sites antigéniques. Après avoir bloqué la peroxidase endogène avec du peroxyde d'hydrogène 3%, les anticorps primaires ont été incubés. Les anticorps primaires comprenaient : AR-V7, SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 et Zeb1, dont les caractéristiques détaillées sont précisées dans le tableau 2 (dilution, marquage et seuil de positivité).

Les lames ont ensuite été révélées selon la méthode de la streptavidine-biotine-peroxydase puis contre colorées à l'hématoxyline.

Les contrôles négatifs ont été réalisés en omettant l'anticorps primaire ou en incubant un anticorps non pertinent.

La lecture des immuno-marquages a été réalisée sur microscope optique par le Professeur G. Fromont.

Une évaluation semi-quantitative a été réalisée pour ERG et PTEN (négatif, faiblement positif, fortement positif). AR-V7 et SPINK1 ont été évalués de façon qualitative (positif ou négatif). Ki67 et Zeb1 ont été évalués de façon quantitative en comptant le pourcentage de cellules marquées dans le tissu prostatique carcinomateux. Un score qualitatif a été extrapolé pour Zeb1 à partir des valeurs quantitatives.

Cible de l'anticorps	Clone	Fournisseur	Dilution	pH de démasquage	Durée d'incubation	Température d'incubation	Clonalité
AR-V7	EPR15656	Abcam	1 : 250	9	1h	ambiante	monoclonal
SPINK1	24-79	Abnova	1 : 1000	6	une nuit	4°C	monoclonal
ERG	EPR3864	Roche	pur	8,4	32 min	37°C	monoclonal
PTEN	138G6	Cell signaling	1 : 200	9	1h	ambiante	monoclonal
Ki67	30-9	Ventana	pur	8,4	12 min	37°C	monoclonal
Zeb1	801-900	Abnova	1 : 1000	6	1h	ambiante	monoclonal

Tableau 2 : Caractéristiques des anticorps utilisés

2.2.5. Analyses Statistiques :

Le logiciel Statview, version 4.5, software (Abacus Concepts, Berkeley, CA) a été utilisé pour l'ensemble des analyses statistiques de l'étude.

Les comparaisons entre groupes indépendants ont été réalisées par des tests de χ^2 pour les données semi quantitatives ou qualitatives et par des tests non paramétriques de Mann Whitney ou de Kruskal Wallis pour les données continues. Les groupes appariés ont été comparés par des tests de Fisher pour les données semi quantitatives ou qualitatives et par des tests de rang de Wilcoxon pour les données continues.

La survie globale en fonction des différents paramètres étudiés, a été analysée en univarié par la méthode de Kaplan-Meier³⁶, les courbes ont été comparées en utilisant le test de log-rank³⁷ et le hazard ratio (HR) a été calculé ainsi que son intervalle de confiance à 95% (IC_{95%}) à l'aide du modèle de Cox. Une analyse multivariée des paramètres significatifs ou proches de la significativité en univarié (soit $p < 0,1$) a été réalisée en utilisant un modèle de Cox.

Les analyses ont été réalisées avec un risque de première espèce $\alpha = 95\%$, les $p < 0,05$ ont donc été considérés statistiquement significatifs.

Il n'y a pas eu d'ajustement sur le nombre de tests effectués.

3. Résultats :

3.1. Diagramme de flux :

Entre 2003 et 2015, au CHU de Tours, 291 patients ont eu des résections de prostate dans le cadre d'une prise en charge palliative.

Nous avons exclu 218 patients pour les raisons suivantes : 41 patients avaient été suivi pour une autre néoplasie ; 76 patients n'avaient pas de prélèvement tissulaire disponible au CHU de Tours ; 62 n'ont pas évolué vers une maladie métastatique ; 39 sont restés hormonosensibles sur la durée de leur suivi au CHU.

Sur les 73 patients restant disponibles pour l'analyse, 11 n'ont pas pu être analysés car : les blocs en paraffine de 2 patients ne contenaient plus de matériel tumoral, les blocs en paraffine de 7 patients n'ont pas été retrouvés, 2 patients n'avaient pas eu de suivi clinique au CHU de Tours.

Au total, nous avons donc identifié 62 patients pris en charge pour un CPMRC avec au moins un prélèvement histologique au stade métastatique disponible au CHU de Tours (voir figure 4).

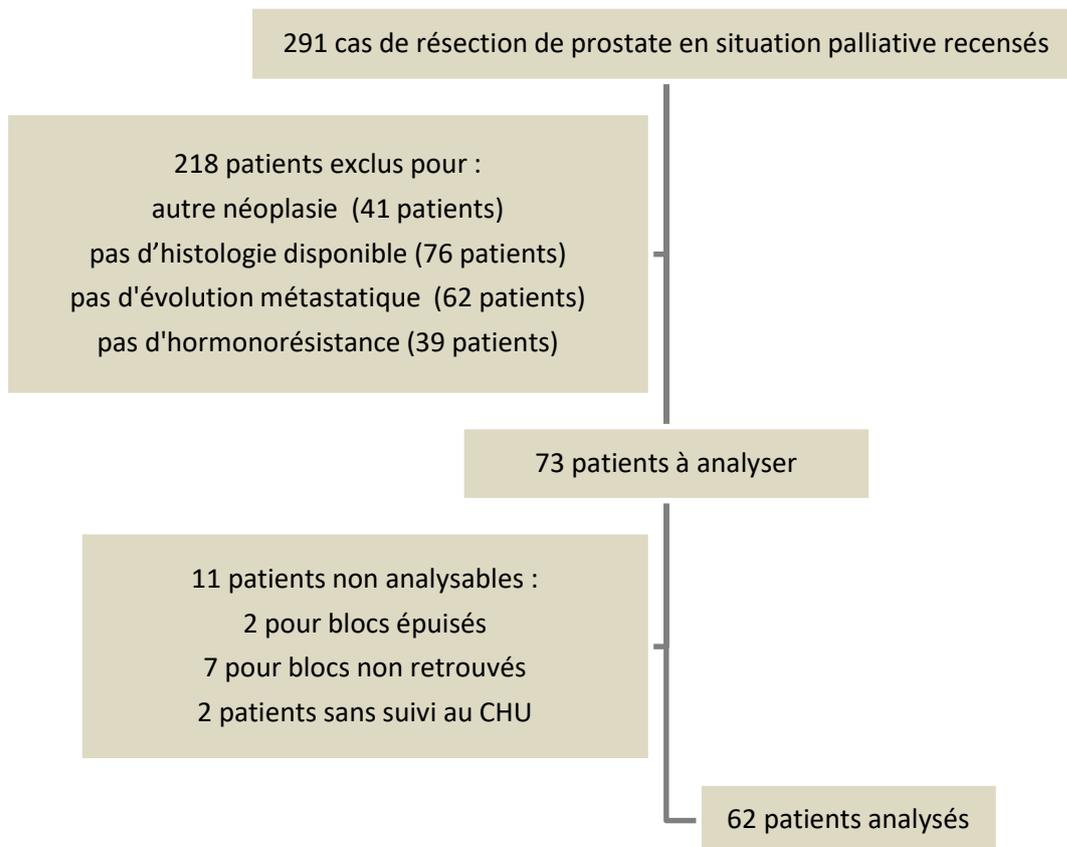


Figure 4 : Diagramme de flux

3.2. Caractéristiques des patients :

L'étude a porté sur 62 patients avec un cancer de prostate qui a évolué vers un CPMRC. Leurs caractéristiques sont résumées dans le tableau 3. La durée médiane de suivi était de 79 mois [6-256]. L'âge médian des patients au diagnostic était de 69 ans [48-91]. Le taux médian de PSA au diagnostic était de 26,4 ng/ml [3,5-700]. La moitié des patients avait un score ISUP ≥ 4 (ce qui correspond au groupe à haut risque de la classification de D'Amico). Le temps médian pour développer une résistance à la castration à partir du début de l'hormonothérapie était de 34 mois [2-204].

			n = 62	
Age, médiane [extrêmes] (ans)			69	[48-91]
PSA au diagnostic (ng/ml) médiane [extrêmes]			26,4	[3,5-700]
selon le groupe pronostique de D'Amico : n (%)				
	< 10		16	(26)
	10 à 20		7	(11)
	>20		35	(57)
	NS		4	(6)
Gleason au diagnostic	Score ISUP	n (%)		
3+3	1		8	(13)
3+4	2		10	(16)
4+3	3		5	(8)
8	4		14	(23)
9 ou 10	5		17	(27)
NS	NS		8	(13)
Métastatique au diagnostic n (%)				
	Oui		25	(40)
	Non		33	(53)
	NS		4	(7)
Haute masse tumorale à l'évolution métastatique n (%) (selon les critères de l'étude CHAARTED)				
	Oui		35	(56)
	Non		22	(36)
	NS		5	(8)
Nombre de prélèvement par patient médiane [extrêmes]			2	[1-5]

Tableau 3 : Caractéristiques des patients

NS : non su car donnée non renseignée dans le dossier du patient

Parmi les 62 patients, 42 patients (68%) ont eu au moins deux prélèvements de sites tumoraux au cours de leur suivi, entraînant l'analyse de 123 prélèvements au total dont 26 prélèvements de sites métastatiques (5 sites ganglionnaires, 4 sites osseux, 17 sites autres).

Les prélèvements ont été réalisés à différents stades du traitement (voir tableau 4), et leur répartition en fonction du stade de traitement est détaillé dans la figure 5.



Figure 5 : Diagramme de suivi des patients étudiés

n (%)	Avant traitement systémique	Après traitement systémique
Prélèvement de prostate, n = 97	30 (31)	67 (69)
Prélèvement de métastase, n = 26	5 (19)	21 (81)

Tableau 4 : Répartition des prélèvements selon le site de prélèvement (primitif ou localisation à distance) et le stade du traitement (avant traitement systémique ou après initiation d'un traitement systémique à type d'hormonothérapie ou de chimiothérapie)

3.3. Prévalence de l'expression d'AR-V7, SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 et Zeb1 :

Les expressions des différents anticorps testés sont résumées dans le tableau 5. Un exemple de marquages, positif et négatif, pour les principaux anticorps d'intérêt est présenté figure 6.

n (%)	Tous prélèvements n = 123
AR-V7	
-	61 (50)
+	45 (36)
NS	17 (14)
SPINK1	
-	105 (85)
+	6 (5)
NS	12 (10)
ERG	
0	76 (62)
1	27 (22)
2	8 (6)
NS	12 (10)
PTEN	
2	22 (18)
1	37 (30)
0	48 (39)
NS	16 (13)

médiane [extrêmes] (%)	Tous prélèvements n = 123
Ki67	5 [0-80] 10 NS
Zeb1	0 [0-90] 18 NS

Tableau 5 : Expression des anticorps testés dans les cancers de prostate
NS : non su car résultat d'IHC non interprétable

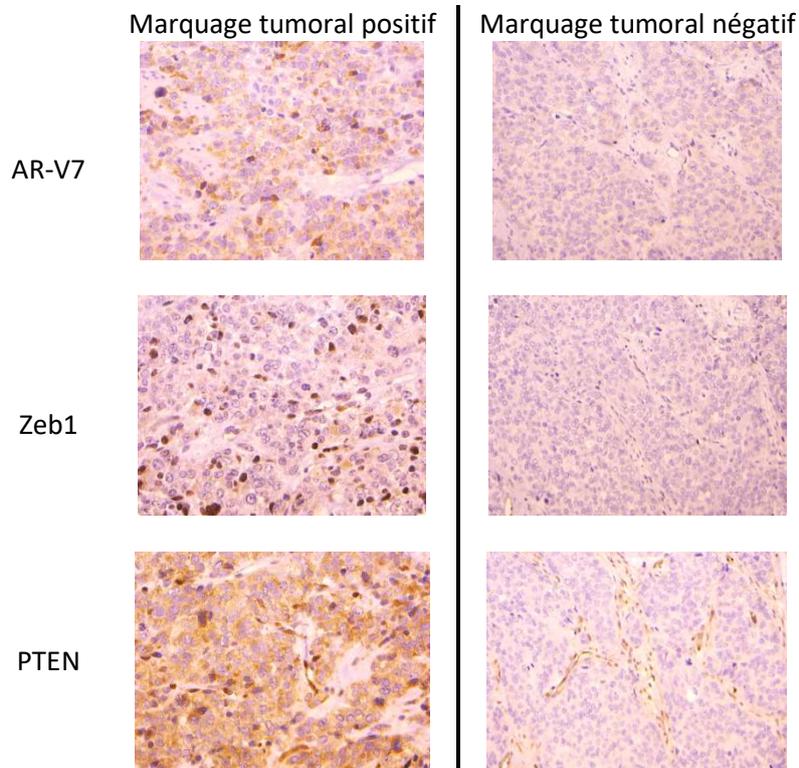


Figure 6 : A gauche : adénocarcinome de prostate exprimant AR-V7 (en haut), Zeb1 (au milieu) et PTEN (en bas). A droite : adénocarcinome de prostate n'exprimant pas ces différents marqueurs

Il n'a pas été trouvé de différence statistiquement significative de l'expression des différents marqueurs testés en fonction du site de prélèvement, que ce soit du tissu tumoral prostatique ou issu du prélèvement d'une métastase (voir tableau 6). Seul le niveau d'expression de Ki67 avait tendance à être plus important dans les métastases que dans le tissu tumoral prostatique ($p = 0,07$).

n = 90	Tumeur primaire n (%)	Métastase n (%)	p
AR-V7 (n = 79)	n = 61	n = 19	0,18
-	31 (51)	13 (68)	
+	30 (49)	6 (32)	
SPINK1 (n = 82)	n = 63	n = 20	0,25
-	59 (94)	20 (100)	
+	4 (6)	0 (0)	
ERG (n = 83)	n = 63	n = 19	0,99
0	45 (71)	14 (70)	
1	15 (24)	5 (25)	
2	3 (5)	1 (5)	
PTEN (n = 80)	n = 61	n = 19	0,31
2	16 (26)	2 (10)	
1	22 (36)	7 (37)	
0	23 (38)	10 (53)	
Ki67 (n = 83)	n = 65	n = 18	0,07
médiane [extrêmes] (%)	5 [0-80]	9 [0-80]	
Zeb1 (n = 80)	n = 63	n = 17	0,81
médiane [extrêmes] (%)	0 [0-80]	0 [0-80]	

Tableau 6 : Expression des anticorps testés dans les cancers de prostate en fonction du site de prélèvement, concernant les prélèvements réalisés alors que la maladie était à un stade métastatique

	Avant tout traitement systémique n (%)	Après un traitement systémique n (%)	p
AR-V7 (n = 106)	n = 22	n = 84	0,11
-	16 (73)	45 (54)	
+	6 (27)	39 (46)	
SPINK1 (n = 111)	n = 26	n = 85	0,56
-	24 (92)	81 (95)	
+	2 (8)	4 (5)	
ERG (n = 111)	n = 26	n = 85	0,13
0	22 (85)	54 (64)	
1	3 (12)	24 (28)	
2	1 (4)	7 (8)	
PTEN (n = 107)	n = 24	n = 83	0,69
2	4 (16)	18 (22)	
1	10 (42)	27 (32)	
0	10 (42)	38 (46)	
Ki67 (n = 113)	n = 32	n = 81	0,01
médiane [extrêmes] (%)	3,5 [0-80]	6 [0-80]	
Zeb1 (n = 105)	n = 24	n = 81	0,08
médiane [extrêmes] (%)	0 [0-90]	3 [0-80]	

Tableau 7a : Expression des anticorps testés dans les cancers de prostate avant et après traitement

	Avant tout traitement systémique n (%)	Après initiation d'une hormonothérapie de première intention n (%)	Après initiation d'une deuxième ligne de traitement n (%)	p
AR-V7 (n = 106)	n = 22	n = 56	n = 28	0,10
-	16 (73)	33 (59)	12 (43)	
+	6 (27)	23 (41)	16 (57)	
SPINK1 (n = 111)	n = 26	n = 57	n = 28	0,34
-	24 (92)	53 (93)	28 (100)	
+	2 (8)	4 (7)	0 (0)	
ERG (n = 111)	n = 26	n = 57	n = 28	0,38
0	22 (85)	36 (63)	18 (64)	
1	3 (12)	16 (28)	8 (29)	
2	1 (4)	5 (9)	2 (7)	
PTEN (n = 107)	n = 24	n = 56	n = 27	0,94
2	4 (16)	12 (21)	6 (22)	
1	10 (42)	18 (32)	9 (33)	
0	10 (42)	26 (47)	12 (45)	
Ki67 (n = 113)	n = 32	n = 54	n = 27	0,02
médiane [extrêmes] (%)	3,5 [0-80]	5 [0-80]	8 [0-60]	
Zeb1 (n = 105)	n = 24	n = 55	n = 26	0,19
médiane [extrêmes] (%)	0 [0-90]	3 [0-80]	0 [0-80]	

Tableau 7b : Expression des marqueurs en fonction du stade de traitement

	Avant traitement systémique n (%)	Après initiation d'une deuxième ligne de traitement n (%)	p
AR-V7 (n = 50)	n = 22	n = 28	0,03
-	16 (73)	12 (43)	
+	6 (27)	16 (57)	
SPINK1 (n = 54)	n = 26	n = 28	0,13
-	24 (92)	28 (100)	
+	2 (8)	0 (0)	
ERG (n = 54)	n = 26	n = 28	0,23
0	22 (85)	18 (64)	
1	3 (12)	8 (29)	
2	1 (4)	2 (7)	
PTEN (n = 51)	n = 24	n = 27	0,79
2	4 (16)	6 (22)	
1	10 (42)	9 (33)	
0	10 (42)	12 (45)	
Ki67 (n = 59)	n = 32	n = 27	0,03
médiane [extrêmes] (%)	3,5 [0-80]	8 [0-60]	
Zeb1 (n = 50)	n = 24	n = 26	0,79
médiane [extrêmes] (%)	0 [0-90]	0 [0-80]	
-	21 (87)	21 (81)	
+	3 (13)	5 (19)	

Tableau 7c : Expression des marqueurs avant traitement systémique et après traitement systémique d'hormonorésistance (chimiothérapie ou hormonothérapie de nouvelle génération)

L'expression d'AR-V7 a augmenté avec l'avancée dans les lignes de traitements (tableaux 7a, 7b et 7c). En particulier, dans le tableau 7c, en comparant son expression avant traitement systémique (27%) et en cours de traitement d'hormonothérapie, donc de deuxième ligne, type chimiothérapie ou hormonothérapie de nouvelle génération (57%), la différence est devenue statistiquement significative ($p < 0,05$). Nous avons constaté la même évolution pour le niveau d'expression de Ki67, qui a augmenté de façon statistiquement significative avec chaque changement de type de traitement (voir tableaux 7a, 7b et 7c).

3.4. Expression d'AR-V7 en fonction des autres marqueurs :

L'expression d'AR-V7 était significativement corrélée au niveau d'expression de Zeb1 ($p = 0,0046$) (voir tableau 8).

n = 101		Zeb1	
		médiante [extrêmes] (%)	
AR-V7	-	0 [0-90]	
	+	5 [0-80]	

Tableau 8 : Expression d'AR-V7 en fonction du niveau d'expression de Zeb1

L'expression d'AR-V7 était significativement inversement corrélée à la perte d'expression de PTEN, comme le montre le tableau 9 ($p = 0,0005$).

n = 101		PTEN		
		2	1	0
AR-V7	-	5 (24%)	18 (55%)	35 (74%)
	+	16 (76%)	15 (45%)	12 (26%)

Tableau 9 : Expression d'AR-V7 en fonction du niveau d'expression de PTEN

Enfin, l'expression d'AR-V7 n'était corrélée ni au niveau d'expression d'ERG ($p = 0,90$), ni à celui de Ki67 ($p = 0,65$), ni à l'expression de SPINK1 ($p = 0,44$).

3.5. Expression de SPINK1 en fonction d'ERG :

SPINK1 n'était pas exprimé quand ERG était positif (soit un score à 1 ou 2), sauf pour un prélèvement (voir tableau 10).

n = 111		ERG		
		0	1	2
SPINK1	-	71 (64%)	26 (23%)	8 (7%)
	+	5 (5%)	1 (1%)	0 (0%)

Tableau 10 : Expression de SPINK1 en fonction du niveau d'expression d'ERG

3.6. Analyses de survie en univarié :

La survie globale a été étudiée en fonction des paramètres cliniques, biologiques et anatomopathologiques utilisés en pratique clinique : le taux de PSA, le score ISUP, le stade T, le statut métastatique au diagnostic, la masse tumorale métastatique initiale (voir tableau 11). Le score ISUP et le stade M au diagnostic étaient significativement corrélés à la survie globale en analyse univariée ($p < 0,05$).

Variable en univarié	Score PSA	Score ISUP	Stade T	Métastases au diagnostic	Masse tumorale
p (test du log rank)	0,27	0,04	0,92	0,0012	0,39

Tableau 11 : Facteurs biologiques et anatomopathologiques pronostics étudiés en analyse univariée sur la survie globale

La survie globale à partir de la date du premier prélèvement sous traitement systémique été étudiée en fonction du statut AR-V7, sans différence significative ($p = 0,78$; HR = 0,91 avec un intervalle de confiance IC_{95%} = [0,47 ; 1,77]). La courbe de survie est représentée figure 7.

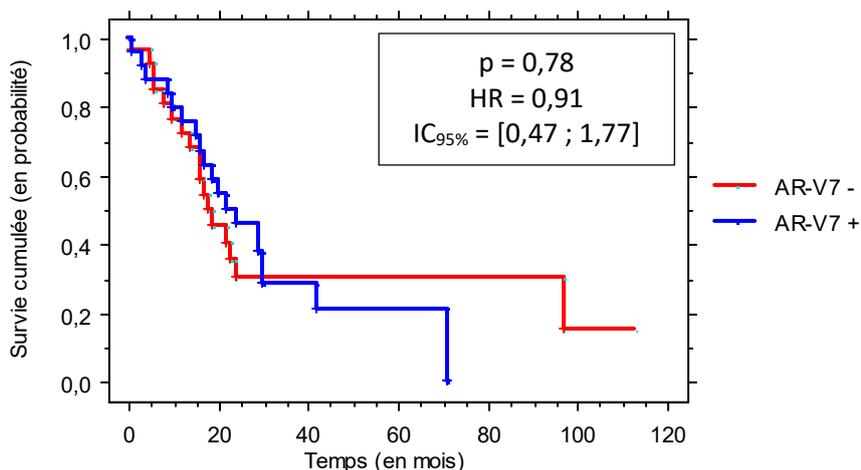


Figure 7 : Courbe de Kaplan-Meier en fonction de l'expression d'AR-V7

Par ailleurs, la survie globale a été étudiée en fonction des autres marquages réalisés en IHC (SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 et Zeb1), à partir de la date de prélèvement, pour chaque premier prélèvement réalisé après l'instauration d'une hormonothérapie. Les résultats sont présentés dans le tableau 12. La perte de PTEN avait tendance à être liée à la survie sans que ce soit significatif. L'expression de Zeb1 a été significativement corrélée à une moins bonne survie globale ($p < 0,001$).

Variable en univarié	AR-V7	SPINK1	ERG	PTEN	Ki67	Zeb1
p (test du log rank)	0,78	0,51	0,29	0,096	0,72	0,0008

Tableau 12 : Impact en analyse univariée sur la survie globale, de l'expression des marqueurs d'intérêt, sur le premier prélèvement réalisé après l'instauration d'une hormonothérapie, avec comme date d'origine la date de réalisation du premier prélèvement

De même, la survie a été étudiée pour chaque dernier prélèvement réalisé pour les patients ayant reçu une hormonothérapie. Les résultats sont présentés dans le tableau 13. Dans ce cas de figure, le niveau d'expression de Ki67 avait tendance à être lié à la survie globale sans que ce soit significatif, et l'expression de Zeb1 est restée liée à une moins bonne survie globale ($p < 0,01$).

Variable en univarié	AR-V7	SPINK1	ERG	PTEN	Ki67	Zeb1
p (test du log rank)	0,52	0,22	0,18	0,46	0,099	0,0016

Tableau 13 : Impact en analyse univariée sur la survie globale de l'expression des marqueurs d'intérêt sur le dernier prélèvement réalisé après l'instauration d'une hormonothérapie, avec comme date d'origine la date de réalisation du prélèvement

La survie globale était donc statistiquement significativement moins bonne quand Zeb1 était exprimé (voir tableaux 12 et 13, $p < 0,01$), comme le montrent les courbes de survie représentées figure 8.

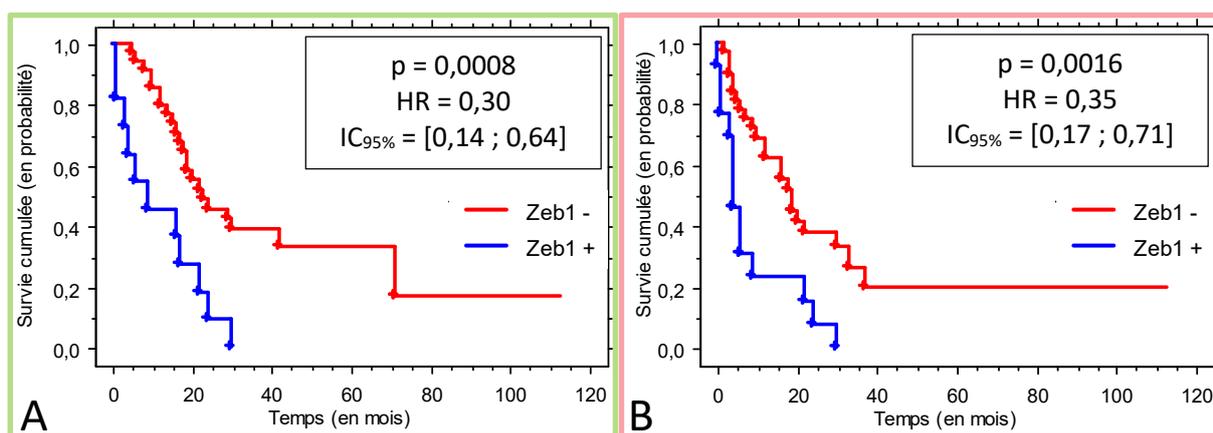


Figure 8 : Courbes de Kaplan Meier en fonction de l'expression de Zeb1

A = pour le premier prélèvement réalisé sous traitement systémique

B = pour le dernier prélèvement réalisé en cours de traitement systémique

3.7. Analyses multivariées :

Devant plusieurs facteurs cliniques, biologiques, anatomopathologiques, statistiquement liés à la survie dans le cadre d'analyses univariées ou proches de la significativité ($p < 0,1$), des analyses multivariées ont donc été réalisées :

- pour l'analyse à partir du premier prélèvement réalisé sous traitement systémique,
- et pour l'analyse du dernier prélèvement réalisé en cours de traitement systémique.

Pour le premier prélèvement sous traitement systémique, le score ISUP ($p < 0,01$), la perte de PTEN ($p < 0,05$) et l'expression de Zeb1 ($p < 0,05$) ont été retrouvés statistiquement significativement liés à la survie globale (voir tableau 14).

Variables en multivarié	Score ISUP au diagnostic	Métastases au diagnostic	PTEN	Zeb1
p (test de Cox)	0,0067	0,85	0,038	0,011
HR avec IC _{95%}	par classe : 1 vs 2-3 : 0,28 [0,06 ; 1,41] 2-3 vs 4-5 : 3,66 [1,24 ; 10,77]	0,92 [0,39 ; 2,14]	par classe : 0 vs 1 : 4,99 [1,42 ; 17,53] 1 vs 2 : 4,99 [1,14 ; 21,87]	0,30 [0,12 ; 0,76]

Tableau 14 : Analyse multivariée sur la survie pour les patients prélevés après l'instauration d'une hormonothérapie, avec comme date d'origine la date de réalisation du premier prélèvement en cours de traitement systémique

En bleu : paramètres au diagnostic

En vert : marqueurs sur le premier prélèvement en cours de traitement systémique

Pour le dernier prélèvement réalisé sous traitement systémique, seul Zeb1 ($p < 0,05$) a été retrouvé statistiquement significativement lié à la survie globale (voir tableau 15).

Variables en multivarié	Score ISUP au diagnostic	Métastases au diagnostic	Ki67	Zeb1
p (test de Cox)	0,12	0,62	0,26	0,0098
HR avec IC _{95%}	par classe : 1 vs 2-3 : 0,22 [0,05 ; 1,01] 2-3 vs 4-5 : 0,92 [0,34 ; 2,49]	1,24 [0,53 ; 2,89]	par classe : 0 vs 1 : 2,93 [0,64 ; 13,54] 1 vs 2 : 0,87 [0,36 ; 2,07]	0,20 [0,06 ; 0,68]

Tableau 15 : Analyse multivariée sur la survie pour le dernier prélèvement réalisé après l'instauration d'une hormonothérapie, avec comme date d'origine la date de réalisation du dernier prélèvement en cours de traitement systémique

En bleu : paramètres au diagnostic

En rouge : marqueurs sur le dernier prélèvement en cours de traitement systémique

3.8. Etudes descriptives de séquence :

Parmi les 62 patients étudiés, 24 patients ont eu un prélèvement réalisé avant tout traitement systémique et un prélèvement après le début d'un traitement systémique (voir tableau 16).

Ki67 et Zeb1 étant des variables continues il était plus difficile de les décrire dans ces analyses.

	AR-V7	SPINK1	ERG	PTEN
Effectif total n	14	18	16	14
positivation n (%)	5 (36)	1 (5)	3 (19)	2 (14)
restent positifs n (%)	2 (14)	0 (0)	1 (6)	5 (36)
négativation n (%)	1 (7)	2 (11)	0 (0)	2 (14)
restent négatifs n (%)	6 (43)	15 (83)	12 (75)	5 (36)

Tableau 16 : Evolution des marqueurs entre le prélèvement avant et celui après traitement systémique

L'expression d'AR-V7 était variable dans le temps, et semblait se positiver plus fréquemment qu'elle ne se négativait. L'expression de SPINK1 était pour sa part, très stable et restait négative dans 83% des cas. L'expression d'ERG était elle aussi stable et est restée globalement négative. L'expression de PTEN était plutôt stable et répartie de façon équivalente entre présence et perte de PTEN.

De façon similaire, parmi les 62 patients étudiés, 23 patients ont eu deux prélèvements différents en cours de traitement systémique (voir tableau 17).

	AR-V7	SPINK1	ERG	PTEN
Effectif total n	22	22	22	21
positivation n (%)	7 (32)	0 (0)	0 (0)	2 (9)
restent positifs n (%)	3 (14)	1 (5)	9 (41)	8 (38)
négativisation n (%)	6 (27)	0 (0)	0 (0)	5 (24)
restent négatifs n (%)	6 (27)	21 (95)	13 (59)	6 (29)

Tableau 17 : Evolution des marqueurs entre les prélèvements réalisés à différents moments du traitement systémique

L'expression d'AR-V7 était donc là aussi variable dans le temps, se positivant ou se négativant dans une proportion égale de cas. L'expression de SPINK1 était totalement stable et restait globalement négative. L'expression d'ERG était elle aussi stable et relativement équilibrée entre les prélèvements positifs et négatifs. L'expression de PTEN était davantage variable.

4. Discussion :

Ce travail a permis la constitution d'une cohorte rétrospective alliant à la fois la recherche de caractéristiques anatomopathologiques d'intérêt dans le cancer de la prostate et l'analyse de données cliniques et biologiques recueillies en routine. Cette étude préliminaire était centrée sur l'expression d'AR-V7 et sur ses liens potentiels avec d'autres marqueurs d'intérêt, en particulier avec le niveau d'expression de Zeb1 qui est un marqueur de la TEM.

4.1. Caractéristiques cliniques de la population étudiée :

Les caractéristiques cliniques des patients étudiés correspondaient aux données rapportées dans la littérature, tant pour l'âge que le score ISUP au diagnostic, par contre le taux de PSA et l'hormonosensibilité présentaient un certain degré de variation. En effet, l'âge médian au diagnostic était ici de 69 ans, similaire aux données retrouvées dans la littérature qui décrivaient un âge moyen de 71 ans pour des patients métastatiques d'emblée³⁸, conformément aux chiffres rapportés par l'HAS³⁹, et aux études similaires concernant des patients suivis pour un CPMRC dont les âges médians allaient de 66 à 71 ans^{27,28,32,40-44}.

De même, le score ISUP au diagnostic était dans la moitié des cas ≥ 4 (soit un score de Gleason ≥ 8), ce qui était comparable aux données publiées pour des cohortes similaires^{27,28,32,40-44}.

Le taux médian de PSA au diagnostic était de 26,4 ng/ml, ce qui correspondait aux valeurs les plus basses des taux médians de PSA des études similaires, qui variaient entre 26,3 et 321 ng/ml^{27,28,32,42-44}. Nous supposons que certaines de ces études rapportaient le taux de PSA à l'inclusion, donc au moment où la maladie métastatique devenait résistante à la castration, ce qui peut expliquer des chiffres souvent plus élevés que le taux de PSA au diagnostic du cancer. La durée de l'hormonosensibilité de notre série était de 34 mois en médiane, ce qui était supérieur de 12 mois par rapport aux données publiées de survie sans progression^{16,17}. Notre hypothèse est qu'il était moins systématiquement débuté un nouveau traitement dès l'apparition de la résistance à la castration, surtout quand la maladie était lentement évolutive, contrairement à ce qui est fait dans les essais cliniques. De plus, les données recueillies dans cette étude ont souvent concerné des patients traités avant l'avènement des hormonothérapies de nouvelle génération. Ils ont donc bénéficié de manipulations hormonales incluant le kétoconazole, les œstrogènes ou l'estramustine, avant le recours à la chimiothérapie.

4.2. Marqueurs anatomo-pathologiques :

Dans notre série, 36% des prélèvements exprimaient AR-V7, ce qui était comparable à d'autres études publiées pour les cancers de prostate, dans lesquelles les expressions allaient de 18 à 55%^{27,28,32,40-44}. Ces études étaient le plus souvent réalisées sur CTC et AR-V7 était détecté en utilisant des techniques de RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction). Ceci nous laisse supposer une bonne corrélation entre l'analyse de l'ARNm (RT-PCR) et celle de la protéine (IHC).

Concernant les autres marqueurs étudiés, SPINK1 était peu exprimé, avec seulement 5% de positivité des prélèvements testés, ce qui était de l'ordre de grandeur des données retrouvées dans d'autres publications^{15,45,46}. Cependant, il existe aussi des études qui ont rapporté une

expression de SPINK1 plus importante, allant de 13,5 à 25% des pièces de prostatectomie ou de biopsies de prostates⁴⁷⁻⁵⁰.

En général, l'expression de SPINK1 et d'ERG sont exclusives¹⁵. Dans notre série, un des cas exprimait les deux marqueurs, ce qui avait déjà été noté dans deux autres études, avec 2 cas parmi les 298 étudiés pour l'une⁴⁹ et 3 cas parmi les 1067 étudiés pour l'autre⁴⁶.

ERG était quant à lui exprimé dans 28% des cas, ce qui correspondait aux valeurs publiées (18 à 42,7%)^{15,45,46,48,50-54}.

Nous avons observé une perte totale de PTEN dans 39% des prélèvements, ce qui correspondait là aussi aux données de la littérature, qui rapportaient une perte de PTEN dans 39 à 63,6% des cas^{45,48,55-57}.

Enfin Zeb1 était exprimé dans 13% des 24 prélèvements avant traitement systémique, et 19% des 26 prélèvements en cours de traitement d'hormonorésistance, ce qui était inférieur aux résultats de la série publiée antérieurement par notre équipe, dans lesquelles Zeb1 était identifié dans 25% des cas de 234 cas de cancer de prostate localisé hormonosensible, 92% des 48 cas de CPRC et 62% des 24 biopsies de métastases de cancer de prostate¹³. La différence constatée peut être expliquée par plusieurs facteurs. Tout d'abord, les types de prélèvements étudiés n'étaient pas exactement comparables cliniquement. De plus, la quantité de matériel disponible selon le prélèvement pouvait être différente, par exemple nos tissus avant traitement systémique comprenaient surtout des biopsies diagnostiques alors que les cas de cancer de prostate localisé publiés étaient des prostatectomies. Le nombre de prélèvements analysés était plus important dans la publication que dans notre étude. Enfin, les prélèvements n'ont pas été fixés avec la même technique, nos prélèvements ayant été fixés dans du formol acétique alors que les prélèvements de la publication avaient été fixés au formol. Or, nous avons constaté que ces techniques de fixation différentes pouvaient influencer sur le seuil d'expression en IHC de Zeb1.

Au stade métastatique, tous ces marqueurs étaient exprimés de manière similaire au niveau de la prostate et des sites métastatiques. Cela appuie l'hypothèse que les caractéristiques de la maladie sont similaires quel que soit le site du prélèvement réalisé. Cependant, un nombre important de résultats étaient inexploitable pour les sites métastatiques (23%) par rapport aux prélèvements obtenus dans le cadre d'une résection trans-urétrale de prostate (14%). Cela s'explique par la différence de quantité de matériel disponible entre des biopsies de petite taille réalisées à but diagnostique pour les métastases et des copeaux de prostate réséqués chirurgicalement à but thérapeutique.

Dans notre étude l'expression d'AR-V7 était corrélée au niveau d'expression de Zeb1 de façon statistiquement significative ($p < 0,01$), ce qui fait supposer que l'expression du variant pourrait avoir un lien avec la TEM et donc l'évolution de la maladie à distance. Des études *in vitro*, ont montré que la transfection de lignées cellulaires par AR-V7 entraînait une surexpression de Zeb1 et d'autres marqueurs de la TEM⁵⁸⁻⁶⁰. Une autre étude *in vitro* a montré que c'était plutôt Snail, un acteur de la TEM, qui induisait une surexpression non seulement d'AR-V7 mais aussi du RA⁶¹.

Par ailleurs, de nombreuses études *in vitro* ont montré un lien entre l'expression du RA et la TEM, mais plutôt dans des modèles de cancer du sein^{62,63}. Notre étude vient donc, de façon intéressante, appuyer tous ces travaux pré-cliniques.

Ces résultats pourraient conduire au développement de nouvelles cibles thérapeutiques. Par exemple, Ramamurthy et col. ont étudié la molécule thérapeutique VNLG-152, un rétinamide, qui a la particularité de cibler le RA mais aussi son variant AR-V7. Ils l'ont testé *in vivo* sur des xénogreffes de lignées cellulaires de cancers de prostate (la lignée 22Rv1), et ont montré qu'un de ses effets thérapeutiques semblait être la suppression de la TEM⁶⁴.

De façon inattendue, l'expression d'AR-V7 était ici inversement corrélée à la perte de PTEN ($p < 0,001$), alors que les deux marqueurs sont décrits dans la littérature comme facteurs de mauvais pronostic. Nos données suggèrent l'indépendance de ces deux facteurs impliqués dans l'évolution vers la résistance à la castration. Cependant, une étude *in vitro* sur cellules de la lignée PC3 a suggéré que la transcription d'AR-V7 était dépendante de la voie de signalisation PI3K-AKT et de la perte de PTEN⁶⁵ mais une autre étude en IHC sur des tissus de cancer de prostate a montré une corrélation inverse⁶⁶.

4.3. Marqueurs cliniques, biologiques et anatomo-pathologiques et survie :

Dans les analyses de survie globale en univarié, le stade T n'était pas statistiquement significatif ($p = 0,92$) contrairement aux données établies⁶⁷, probablement en raison d'un manque de puissance, l'information n'ayant été retrouvée que pour 26 patients sur les 62 de l'étude.

Dans les études publiées, le taux de PSA était corrélé à la survie, même pour des patients ayant un cancer de prostate métastatique^{68,69}. Dans notre étude, le taux de PSA au diagnostic n'était pas corrélé à la survie globale dans l'analyse univariée ($p = 0,27$), en partie en raison de l'absence de PSA informatif pour un certain nombre de patients.

Par contre, le score ISUP et le stade M au diagnostic étaient corrélés à la survie globale dans les analyses univariées ($p < 0,05$ et $p < 0,01$ respectivement), comme attendu d'après les données de la littérature⁶⁷.

Enfin, nous avons analysé la survie globale en fonction de la masse tumorale lors de l'évolution métastatique de la maladie. Ce critère n'était pas significatif ($p = 0,39$), contrairement aux données publiées dans le cadre de l'essai CHAARTED³⁴. Cette différence peut s'expliquer par la plus grande hétérogénéité de notre population qui incluait non seulement des patients métastatiques d'emblée mais aussi des patients dont les maladies sont devenues métastatiques dans un second temps.

Nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre l'expression d'AR-V7 et la survie globale ($p = 0,78$), contrairement à l'étude de Li et col. de méthodologie comparable, qui avait retrouvé une corrélation statistiquement significative⁷⁰. Dans cette étude, les prélèvements étudiés étaient exclusivement les biopsies diagnostiques. Or l'expression d'AR-V7 dès le diagnostic est beaucoup plus rare et concerne possiblement des maladies beaucoup plus agressives que celles des patients AR-V7 positifs de notre étude.

Les autres données de la littérature sont diverses sur le sujet. Parmi quatre études qui concernaient des patients traités par taxanes, deux n'ont pas mis en évidence de lien entre l'expression d'AR-V7 et la survie globale^{32,41} alors que deux autres ont rapporté une corrélation^{40,43}. Par ailleurs, toutes les études étaient concluantes pour les patients qui débutaient une hormonothérapie de nouvelle génération^{27-31,71,72}. C'est ce que résume une méta analyse récente en concluant qu'AR-V7 est pronostique de la survie pour les patients sous hormonothérapie de nouvelle génération mais pas pour ceux qui sont traités par chimiothérapie⁷³.

Dans notre étude, une majorité des patients a été traitée par docétaxel. Cela conforte donc le fait que le statut AR-V7 ne soit pas aussi déterminant pour les patients traités par chimiothérapie que pour les patients traités par hormonothérapie de nouvelle génération. Néanmoins, notre étude était rétrospective et les prélèvements n'avaient pas été réalisés systématiquement à l'initiation du traitement ce qui rend les données plus hétérogènes et plus délicates à interpréter.

Il existe des arguments pharmacologiques en faveur du caractère prédictif d'AR-V7 à la réponse aux différents traitements disponibles pour le CPMRC. En effet il manque à AR-V7 le domaine liant au ligand du RA et il a la propriété d'être constitutionnellement actif. Or, les hormonothérapies de nouvelle génération vont avoir pour cible principale : l'inhibition de la synthèse du ligand pour ce qui concerne l'acétate d'abiraténone, ou la fixation du ligand sur le RA pour ce qui concerne l'enzalutamide (confère figure 2). On comprend donc qu'AR-V7 soit résistant aux hormonothérapies de nouvelles générations, au moins en ce qui concerne leur principale cible thérapeutique²⁵.

Concernant les autres marqueurs testés en IHC, nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre les expressions de SPINK1 ($p = 0,51$), ERG ($p = 0,29$), PTEN ($p = 0,096$) et la survie globale dans les analyses univariées. Par contre, l'expression de Zeb1 était corrélée à la survie globale de façon statistiquement significative ($p < 0,01$), et la positivité de Zeb1 était un facteur mauvais pronostic.

Zeb1 est un marqueur de la TEM, qui reflète l'agressivité de la maladie et sa capacité de dissémination à distance. Cela conforte la tendance observée par Figiel et col. entre une réduction de la survie globale et l'expression de Zeb1¹³. Il a par ailleurs été rapporté que l'expression de la vimentine, un autre marqueur de la TEM, était corrélée à la survie globale dans le CPMRC⁷⁴.

Malgré une tendance, le niveau d'expression de Ki67 n'était pas corrélé à la survie globale, contrairement à ce qui avait été publié dans des études antérieures⁷⁴⁻⁷⁶.

Nous n'avons retrouvé qu'une tendance non significative :

1/ entre le niveau d'expression d'ERG et une meilleure survie globale, comme dans l'étude de Taris⁵² ;

2/ entre la perte de PTEN et un moins bon pronostic, comme dans d'autres études antérieures^{10,11,57}.

Parmi les paramètres liés à la survie globale en univarié, le seul qui restait toujours statistiquement significatif dans le modèle multivarié était l'expression de Zeb1 ($p < 0,05$).

4.4. Evolutivité de l'expression d'AR-V7 et des autres marqueurs au cours du suivi :

Les analyses n'étaient qu'exploratoires vu les petits effectifs disponibles. Nous avons constaté une grande variabilité de l'expression d'AR-V7 au cours du temps pour un même patient, comme cela a déjà été rapporté sur CTC⁴⁴. Cette variabilité pourrait être liée à une grande hétérogénéité de l'expression de ce marqueur au sein d'une même tumeur. AR-V7 reste tout de même intéressant à étudier et caractériser, car son expression semble malgré tout être liée à la réponse aux différents traitements disponibles pour les CPMRC^{27,32,40,43,73}.

La perte de PTEN restait globalement stable au cours du temps. Une autre étude a rapporté que l'expression de PTEN en IHC restait la même dans 86% des cas entre hormonosensibilité et hormonorésistance¹⁰. Des résultats contradictoires ont été publiés, mais sur un petit effectif (28 cas au total) et avec des cancers hormonosensibles⁷⁷.

ERG lui était très peu exprimé dans cet échantillon. Son expression augmentait initialement puis restait stable en cours de traitement systémique.

4.5. Limites de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective et unicentrique, sur une longue durée d'inclusion allant de 2003 à 2015. L'effectif n'a concerné que 62 patients. Les données obtenues étaient donc très hétérogènes et les groupes de petite taille. Devant un très petit nombre de patients traités par hormonothérapie de nouvelle génération, il n'a pas été possible de faire des analyses comparant hormonothérapies de nouvelle génération et chimiothérapie.

Les prélèvements ont été réalisés à des moments différents de l'histoire de la maladie d'un patient à un autre, ce qui rend l'analyse des données d'autant plus difficile.

Nous nous proposons donc de compléter cette étude préliminaire par une étude de cohorte prospective et multicentrique, en réalisant des tests sanguins afin d'homogénéiser le moment auquel le prélèvement sera effectué, et d'étudier si les premiers résultats observés ici se confirment ou non.

5. Conclusion :

Dans notre cohorte rétrospective composée de 62 patients, nous n'avons pas retrouvé d'impact de l'expression d'AR-V7 sur la survie globale. Par contre, nous avons montré que le niveau d'expression de Zeb1, facteur de transcription impliqué dans la TEM, était lié à la positivité d'AR-V7. Par ailleurs, l'expression de Zeb1 avait une valeur pronostique sur la survie globale.

Ces résultats sont préliminaires et nécessitent une étude confirmatoire dans le cadre d'une étude prospective et multicentrique.

Il serait intéressant d'avoir un meilleur échantillonnage des prélèvements, ce qui est difficilement réalisable pour des prélèvements de tissus, pour des raisons éthiques. Nous envisageons donc de poursuivre ces travaux en réalisant une étude sur des prélèvements de sang total, qui seraient réalisés au moment de l'initiation d'une nouvelle ligne de traitement, sur le modèle de ce qui se fait actuellement notamment pour les CTC. L'intérêt d'un prélèvement sanguin « standard » serait d'être plus facilement transposable en pratique clinique courante contrairement au recueil des CTC qui reste une technique très couteuse et non disponible en pratique courante actuellement.

6. Bibliographie :

1. Grosclaude, P. *et al.* Prostate cancer: Incidence, survival and mortality in France. *Bull. Épidémiologique Hebd.* **39–40**, 693–699 (2016).
2. Gleason, D. F. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother. Rep.* **50**, 125–128 (1966).
3. Epstein, J. I. *et al.* The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am. J. Surg. Pathol.* **40**, 244–252 (2016).
4. Epstein, J. I. *et al.* A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur. Urol.* **69**, 428–435 (2016).
5. D’Amico, A. V. *et al.* Predicting prostate specific antigen outcome preoperatively in the prostate specific antigen era. *J. Urol.* **166**, 2185–2188 (2001).
6. Tomlins, S. A. *et al.* Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* **310**, 644–648 (2005).
7. Rosen, P. *et al.* Clinical potential of the ERG oncoprotein in prostate cancer. *Nat. Rev. Urol.* **9**, 131–137 (2012).
8. Park, K. *et al.* Antibody-based detection of ERG rearrangement-positive prostate cancer. *Neoplasia N. Y. N* **12**, 590–598 (2010).
9. Kalluri, R. & Weinberg, R. A. The basics of epithelial-mesenchymal transition. *J. Clin. Invest.* **119**, 1420–1428 (2009).
10. Ferraldeschi, R. *et al.* PTEN protein loss and clinical outcome from castration-resistant prostate cancer treated with abiraterone acetate. *Eur. Urol.* **67**, 795–802 (2015).
11. Yoshimoto, M. *et al.* FISH analysis of 107 prostate cancers shows that PTEN genomic deletion is associated with poor clinical outcome. *Br. J. Cancer* **97**, 678–685 (2007).
12. Lotan, T. L. *et al.* PTEN protein loss by immunostaining: analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **17**, 6563–6573 (2011).
13. Figiel, S. *et al.* Clinical significance of epithelial-mesenchymal transition markers in prostate cancer. *Hum. Pathol.* **61**, 26–32 (2017).

14. Lamouille, S., Xu, J. & Derynck, R. Molecular mechanisms of epithelial-mesenchymal transition. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **15**, 178–196 (2014).
15. Tomlins, S. A. *et al.* The role of SPINK1 in ETS rearrangement-negative prostate cancers. *Cancer Cell* **13**, 519–528 (2008).
16. Crawford, E. D. *et al.* A controlled trial of leuprolide with and without flutamide in prostatic carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **321**, 419–424 (1989).
17. Eisenberger, M. A. *et al.* Bilateral orchiectomy with or without flutamide for metastatic prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **339**, 1036–1042 (1998).
18. Tsao, C.-K., Galsky, M. D., Small, A. C., Yee, T. & Oh, W. K. Targeting the androgen receptor signalling axis in castration-resistant prostate cancer (CRPC). *BJU Int.* **110**, 1580–1588 (2012).
19. Tannock, I. F. *et al.* Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **351**, 1502–1512 (2004).
20. Bissery, M. C. Preclinical evaluation of new taxoids. *Curr. Pharm. Des.* **7**, 1251–1257 (2001).
21. de Bono, J. S. *et al.* Abiraterone and increased survival in metastatic prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **364**, 1995–2005 (2011).
22. Ryan, C. J. *et al.* Abiraterone in metastatic prostate cancer without previous chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **368**, 138–148 (2013).
23. Scher, H. I. *et al.* Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **367**, 1187–1197 (2012).
24. Beer, T. M. *et al.* Enzalutamide in metastatic prostate cancer before chemotherapy. *N. Engl. J. Med.* **371**, 424–433 (2014).
25. McCrea, E., Sissung, T. M., Price, D. K., Chau, C. H. & Figg, W. D. Androgen receptor variation affects prostate cancer progression and drug resistance. *Pharmacol. Res.* **114**, 152–162 (2016).
26. Qu, Y. *et al.* Constitutively active AR-V7 plays an essential role in the development and progression of castration-resistant prostate cancer. *Sci. Rep.* **5**, 7654 (2015).
27. Antonarakis, E. S. *et al.* AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N. Engl. J. Med.* **371**, 1028–1038 (2014).

28. Del Re, M. *et al.* The Detection of Androgen Receptor Splice Variant 7 in Plasma-derived Exosomal RNA Strongly Predicts Resistance to Hormonal Therapy in Metastatic Prostate Cancer Patients. *Eur. Urol.* **71**, 680–687 (2017).
29. Todenhöfer, T. *et al.* AR-V7 Transcripts in Whole Blood RNA of Patients with Metastatic Castration Resistant Prostate Cancer Correlate with Response to Abiraterone Acetate. *J. Urol.* **197**, 135–142 (2017).
30. Qu, F. *et al.* Association of AR-V7 and Prostate-Specific Antigen RNA Levels in Blood with Efficacy of Abiraterone Acetate and Enzalutamide Treatment in Men with Prostate Cancer. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **23**, 726–734 (2017).
31. Seitz, A. K. *et al.* AR-V7 in Peripheral Whole Blood of Patients with Castration-resistant Prostate Cancer: Association with Treatment-specific Outcome Under Abiraterone and Enzalutamide. *Eur. Urol.* **72**, 828–834 (2017).
32. Antonarakis, E. S. *et al.* Androgen Receptor Splice Variant 7 and Efficacy of Taxane Chemotherapy in Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *JAMA Oncol.* **1**, 582–591 (2015).
33. Haile, S. & Sadar, M. D. Androgen receptor and its splice variants in prostate cancer. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* **68**, 3971–3981 (2011).
34. Sweeney, C. J. *et al.* Chemohormonal Therapy in Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **373**, 737–746 (2015).
35. Kajdacsy-Balla, A. *et al.* Practical aspects of planning, building, and interpreting tissue microarrays: the Cooperative Prostate Cancer Tissue Resource experience. *J. Mol. Histol.* **38**, 113–121 (2007).
36. Bland, J. M. & Altman, D. G. Survival probabilities (the Kaplan-Meier method). *BMJ* **317**, 1572–1580 (1998).
37. Bland, J. M. & Altman, D. G. The logrank test. *BMJ* **328**, 1073 (2004).
38. [Survival of metastatic prostate cancer: 71 patients followed for seven to eleven years]. *Progres En Urol. J. Assoc. Francaise Urol. Soc. Francaise Urol.* **7**, 254–258 (1997).

39. Haute Autorité de Santé - ALD n° 30 - Cancer de la prostate. Available at: https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_725257/fr/ald-n-30-cancer-de-la-prostate. (Accessed: 22nd July 2017)
40. Scher, H. I. *et al.* Association of AR-V7 on Circulating Tumor Cells as a Treatment-Specific Biomarker With Outcomes and Survival in Castration-Resistant Prostate Cancer. *JAMA Oncol.* **2**, 1441–1449 (2016).
41. Onstenk, W. *et al.* Efficacy of Cabazitaxel in Castration-resistant Prostate Cancer Is Independent of the Presence of AR-V7 in Circulating Tumor Cells. *Eur. Urol.* **68**, 939–945 (2015).
42. Efstathiou, E. *et al.* Molecular characterization of enzalutamide-treated bone metastatic castration-resistant prostate cancer. *Eur. Urol.* **67**, 53–60 (2015).
43. Scher, H. I. *et al.* Nuclear-specific AR-V7 Protein Localization is Necessary to Guide Treatment Selection in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Eur. Urol.* **71**, 874–882 (2017).
44. Nakazawa, M. *et al.* Serial blood-based analysis of AR-V7 in men with advanced prostate cancer. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **26**, 1859–1865 (2015).
45. Bismar, T. A. *et al.* Interactions and relationships of PTEN, ERG, SPINK1 and AR in castration-resistant prostate cancer. *Histopathology* **60**, 645–652 (2012).
46. Brooks, J. D. *et al.* Evaluation of ERG and SPINK1 by Immunohistochemical Staining and Clinicopathological Outcomes in a Multi-Institutional Radical Prostatectomy Cohort of 1067 Patients. *PLoS One* **10**, e0132343 (2015).
47. Flavin, R. *et al.* SPINK1 protein expression and prostate cancer progression. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **20**, 4904–4911 (2014).
48. Huang, K.-C., Bégin, L. R., Palanisamy, N., Donnelly, B. & Bismar, T. A. SPINK1 expression in relation to PTEN and ERG in matched primary and lymph node metastatic prostate cancer: Implications for biomarker development. *Urol. Oncol.* **34**, 235.e1-10 (2016).
49. Huang, K.-C., Evans, A., Donnelly, B. & Bismar, T. A. SPINK1 Overexpression in Localized Prostate Cancer: a Rare Event Inversely Associated with ERG Expression and Exclusive of Homozygous PTEN Deletion. *Pathol. Oncol. Res. POR* **23**, 399–407 (2017).
50. Pan, X. *et al.* The expression profile and prognostic value of SPINK1 in initially diagnosed bone metastatic prostate cancer. *The Prostate* **76**, 823–833 (2016).

51. Song, W. *et al.* Immunohistochemical staining of ERG and SOX9 as potential biomarkers of docetaxel response in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *Oncotarget* **7**, 83735–83743 (2016).
52. Taris, M. *et al.* ERG expression in prostate cancer: the prognostic paradox. *The Prostate* **74**, 1481–1487 (2014).
53. Mehra, R. *et al.* Characterization of TMPRSS2-ETS gene aberrations in androgen-independent metastatic prostate cancer. *Cancer Res.* **68**, 3584–3590 (2008).
54. Hägglöf, C. *et al.* TMPRSS2-ERG expression predicts prostate cancer survival and associates with stromal biomarkers. *PLoS One* **9**, e86824 (2014).
55. Han, B. *et al.* Characterization of ETS gene aberrations in select histologic variants of prostate carcinoma. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **22**, 1176–1185 (2009).
56. Krohn, A. *et al.* Heterogeneity and chronology of PTEN deletion and ERG fusion in prostate cancer. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **27**, 1612–1620 (2014).
57. Schmitz, M. *et al.* Complete loss of PTEN expression as a possible early prognostic marker for prostate cancer metastasis. *Int. J. Cancer* **120**, 1284–1292 (2007).
58. Kong, D. *et al.* Androgen receptor splice variants contribute to prostate cancer aggressiveness through induction of EMT and expression of stem cell marker genes. *The Prostate* **75**, 161–174 (2015).
59. Cottard, F. *et al.* Constitutively active androgen receptor variants upregulate expression of mesenchymal markers in prostate cancer cells. *PLoS One* **8**, e63466 (2013).
60. Cottard, F. *et al.* Dual effects of constitutively active androgen receptor and full-length androgen receptor for N-cadherin regulation in prostate cancer. *Oncotarget* **8**, 72008–72020 (2017).
61. Ware, K. E. *et al.* Snail promotes resistance to enzalutamide through regulation of androgen receptor activity in prostate cancer. *Oncotarget* **7**, 50507–50521 (2016).
62. Graham, T. R. *et al.* Reciprocal regulation of ZEB1 and AR in triple negative breast cancer cells. *Breast Cancer Res. Treat.* **123**, 139–147 (2010).

63. Liu, Y.-N., Liu, Y., Lee, H.-J., Hsu, Y.-H. & Chen, J.-H. Activated androgen receptor downregulates E-cadherin gene expression and promotes tumor metastasis. *Mol. Cell. Biol.* **28**, 7096–7108 (2008).
64. Ramamurthy, V. P., Ramalingam, S., Gediya, L. K. & Njar, V. C. O. The retinamide VNLG-152 inhibits f-AR/AR-V7 and MNK-eIF4E signaling pathways to suppress EMT and castration-resistant prostate cancer xenograft growth. *FEBS J.* (2018). doi:10.1111/febs.14383
65. Mediwala, S. N. *et al.* The activity of the androgen receptor variant AR-V7 is regulated by FOXO1 in a PTEN-PI3K-AKT-dependent way. *The Prostate* **73**, 267–277 (2013).
66. Sarwar, M. *et al.* Targeted suppression of AR-V7 using PIP5K1 α inhibitor overcomes enzalutamide resistance in prostate cancer cells. *Oncotarget* **7**, 63065–63081 (2016).
67. D'Amico, A. V. *et al.* Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *JAMA* **280**, 969–974 (1998).
68. Miyamoto, S. *et al.* Impact of pretreatment factors, biopsy Gleason grade volume indices and post-treatment nadir PSA on overall survival in patients with metastatic prostate cancer treated with step-up hormonal therapy. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* **15**, 75–86 (2012).
69. Nayyar, R., Sharma, N. & Gupta, N. P. Prognostic factors affecting progression and survival in metastatic prostate cancer. *Urol. Int.* **84**, 159–163 (2010).
70. Li, H. *et al.* Androgen-receptor splice variant-7-positive prostate cancer: a novel molecular subtype with markedly worse androgen-deprivation therapy outcomes in newly diagnosed patients. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **31**, 198–208 (2018).
71. Welti, J. *et al.* Analytical Validation and Clinical Qualification of a New Immunohistochemical Assay for Androgen Receptor Splice Variant-7 Protein Expression in Metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Eur. Urol.* **70**, 599–608 (2016).
72. Antonarakis, E. S. *et al.* Clinical Significance of Androgen Receptor Splice Variant-7 mRNA Detection in Circulating Tumor Cells of Men With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer Treated With First- and Second-Line Abiraterone and Enzalutamide. *J. Clin. Oncol.* JCO.2016.70.1961 (2017). doi:10.1200/JCO.2016.70.1961

73. Li, H. *et al.* Prognostic Value of Androgen Receptor Splice Variant 7 in the Treatment of Castration-resistant Prostate Cancer with Next generation Androgen Receptor Signal Inhibition: A Systematic Review and Meta-analysis. *Eur. Urol. Focus* (2017). doi:10.1016/j.euf.2017.01.004
74. Lindsay, C. R. *et al.* Vimentin and Ki67 expression in circulating tumour cells derived from castrate-resistant prostate cancer. *BMC Cancer* **16**, 168 (2016).
75. Hammarsten, P. *et al.* Phospho-Akt immunoreactivity in prostate cancer: relationship to disease severity and outcome, Ki67 and phosphorylated EGFR expression. *PLoS One* **7**, e47994 (2012).
76. Tollefson, M. K. *et al.* Prostate cancer Ki-67 (MIB-1) expression, perineural invasion, and gleason score as biopsy-based predictors of prostate cancer mortality: the Mayo model. *Mayo Clin. Proc.* **89**, 308–318 (2014).
77. Bertram, J. *et al.* Loss of PTEN is associated with progression to androgen independence. *The Prostate* **66**, 895–902 (2006).

Vu, le Directeur de Thèse

Vu, le Doyen

De la Faculté de Médecine de Tours

Tours, le

RESUME en FRANÇAIS UNIQUEMENT

Introduction : La prolifération cellulaire et la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) sont deux propriétés majeures des cellules cancéreuses. La prolifération est couramment caractérisée par le niveau d'expression nucléaire de l'antigène Ki67. PTEN (phosphatase and tensin homolog) est un régulateur négatif de la voie de signalisation PI3K/AKT, impliquée dans la prolifération cellulaire. La TEM est régulée par différents facteurs de transcription, dont Zeb1 (zinc-finger enhancer binding protein) est un des facteurs clés. SPINK1 (serine peptidase inhibitor, Kazal type 1) est un promoteur de la TEM. Enfin l'expression d'ERG (« erythroblast transformation-specific » - related gene) en immunohistochimie (IHC) représente le gène de fusion TMPRSS2-ERG, qui est l'altération moléculaire la plus fréquente dans ce cancer.

Plusieurs traitements sont disponibles en première ligne de prise en charge du cancer de prostate métastatique résistant à la castration (CPMRC). Tous ne répondent pas de la même façon à la chimiothérapie par docétaxel ou aux hormonothérapies de nouvelle génération comme l'acétate d'abiratéron et l'enzalutamide. L'un des défis actuels est d'identifier des marqueurs prédictifs de la réponse au traitement envisagé. L'expression du variant d'épissage du récepteur aux androgènes 7 (AR-V7) a été corrélée à la réponse aux différents traitements disponibles.

Objectifs : L'objectif principal de cette étude était d'évaluer, rétrospectivement, l'intérêt pronostique sur la survie globale de l'expression d'AR-V7 en IHC, dans les prélèvements réalisés en routine chez des patients suivis pour un CPMRC. Les objectifs secondaires étaient : 1/ de comparer l'expression d'AR-V7 avec celle d'autres biomarqueurs impliqués dans la progression du cancer de prostate, afin d'étudier leur corrélation potentielle ; 2/ d'étudier sa variabilité au cours de la maladie.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective de cohorte monocentrique portant sur 62 patients traités au centre hospitalier universitaire (CHU) de Tours, entre 2003 et 2015. L'ensemble des données a été extrait du dossier médical informatisé du CHU et de la base de gestion informatique du service d'Anatomie Pathologique de Tours (DIAMIC). Les expressions d'AR-V7, SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 et Zeb1 de 123 prélèvements ont été analysées en IHC sur « Tissue Microarray » (TMA). Les données d'expression ont été corrélées aux caractéristiques cliniques, biologiques et anatomopathologiques des patients. Les courbes de survie ont été calculées par la méthode de Kaplan-Meier et comparées par le test du log-rank, pour les analyses univariées et par un modèle de Cox, pour les analyses multivariées.

Résultats : La médiane de suivi était de 79 mois [6-256]. L'âge médian était de 69 ans [48-91]. Le taux médian de PSA (prostate specific antigen) au diagnostic était de 26,4 ng/ml [3,5-700]. La moitié des patients avaient un score ISUP ≥ 4 . Le temps médian pour développer une résistance à la castration à partir du début de l'hormonothérapie était de 34 mois [2-204].

AR-V7 était exprimé dans 36% des prélèvements. Son expression augmentait avec l'avancée des traitements, passant de 27% des prélèvements l'exprimant avant traitement systémique à 57% après traitement d'hormonorésistance ($p < 0,05$). L'expression d'AR-V7 était corrélée au niveau d'expression de Zeb1 ($p < 0,01$), et inversement corrélée à la perte de PTEN ($p < 0,001$). En analyse univariée, la survie globale était significativement corrélée au score ISUP ($p < 0,05$), au statut métastatique au diagnostic ($p < 0,01$), à l'expression de Zeb1 ($p < 0,01$), mais pas au statut d'AR-V7 ($p = 0,78$).

En analyse multivariée, Zeb1 restait significativement prédictif de la survie globale ($p < 0,05$).

Conclusion : Dans notre cohorte rétrospective, nous n'avons pas retrouvé d'impact de l'expression d'AR-V7 sur la survie globale. Par contre, le niveau d'expression de Zeb1 était lié à la positivité d'AR-V7 et sa positivité avait une valeur pronostique sur la survie globale.

Ces résultats sont préliminaires et nécessitent une étude confirmatoire dans le cadre d'une étude prospective et multicentrique.

Mots clés : cancer de prostate métastatique résistant à la castration, AR-V7, transition épithélio-mésenchymateuse, Zeb1.

CANCEL Mathilde

47 pages, 17 tableaux, 8 figures

Résumé :

Introduction : La prolifération cellulaire et la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) sont deux propriétés majeures des cellules cancéreuses. La prolifération est couramment caractérisée par le niveau d'expression nucléaire de l'antigène Ki67. PTEN (phosphatase and tensin homolog) est un régulateur négatif de la voie de signalisation PI3K/AKT, impliquée dans la prolifération cellulaire. La TEM est régulée par différents facteurs de transcription, dont Zeb1 (zinc-finger enhancer binding protein) est un des facteurs clés. SPINK1 (serine peptidase inhibitor, Kazal type 1) est un promoteur de la TEM. Enfin l'expression d'ERG (« erythroblast transformation-specific » - related gene) en immunohistochimie (IHC) représente le gène de fusion TMPRSS2-ERG, qui est l'altération moléculaire la plus fréquente dans ce cancer.

Plusieurs traitements sont disponibles en première ligne de prise en charge du cancer de prostate métastatique résistant à la castration (CPMRC). Tous ne répondent pas de la même façon à la chimiothérapie par docétaxel ou aux hormonothérapies de nouvelle génération comme l'acétate d'abiratéron et l'enzalutamide. L'un des défis actuels est d'identifier des marqueurs prédictifs de la réponse au traitement envisagé. L'expression du variant d'épissage du récepteur aux androgènes 7 (AR-V7) a été corrélée à la réponse aux différents traitements disponibles.

Objectifs : L'objectif principal de cette étude était d'évaluer, rétrospectivement, l'intérêt pronostique sur la survie globale de l'expression d'AR-V7 en IHC, dans les prélèvements réalisés en routine chez des patients suivis pour un CPMRC. Les objectifs secondaires étaient : 1/ de comparer l'expression d'AR-V7 avec celle d'autres biomarqueurs impliqués dans la progression du cancer de prostate, afin d'étudier leur corrélation potentielle ; 2/ d'étudier sa variabilité au cours de la maladie.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective de cohorte monocentrique portant sur 62 patients traités au centre hospitalier universitaire (CHU) de Tours, entre 2003 et 2015. L'ensemble des données a été extrait du dossier médical informatisé du CHU et de la base de gestion informatique du service d'Anatomie Pathologique de Tours (DIAMIC). Les expressions d'AR-V7, SPINK1, ERG, PTEN, Ki67 et Zeb1 de 123 prélèvements ont été analysées en IHC sur « Tissue Microarray » (TMA). Les données d'expression ont été corrélées aux caractéristiques cliniques, biologiques et anatomopathologiques des patients. Les courbes de survie ont été calculées par la méthode de Kaplan-Meier et comparées par le test du log-rank, pour les analyses univariées et par un modèle de Cox, pour les analyses multivariées.

Résultats : La médiane de suivi était de 79 mois [6-256]. L'âge médian était de 69 ans [48-91]. Le taux médian de PSA (prostate specific antigen) au diagnostic était de 26,4 ng/ml [3,5-700]. La moitié des patients avaient un score ISUP ≥ 4 . Le temps médian pour développer une résistance à la castration à partir du début de l'hormonothérapie était de 34 mois [2-204].

AR-V7 était exprimé dans 36% des prélèvements. Son expression augmentait avec l'avancée des traitements, passant de 27% des prélèvements l'exprimant avant traitement systémique à 57% après traitement d'hormonorésistance ($p < 0,05$). L'expression d'AR-V7 était corrélée au niveau d'expression de Zeb1 ($p < 0,01$), et inversement corrélée à la perte de PTEN ($p < 0,001$).

En analyse univariée, la survie globale était significativement corrélée au score ISUP ($p < 0,05$), au statut métastatique au diagnostic ($p < 0,01$), à l'expression de Zeb1 ($p < 0,01$), mais pas au statut d'AR-V7 ($p = 0,78$).

En analyse multivariée, Zeb1 restait significativement prédictif de la survie globale ($p < 0,05$).

Conclusion : Dans notre cohorte rétrospective, nous n'avons pas retrouvé d'impact de l'expression d'AR-V7 sur la survie globale. Par contre, le niveau d'expression de Zeb1 était lié à la positivité d'AR-V7 et sa positivité avait une valeur pronostique sur la survie globale.

Ces résultats sont préliminaires et nécessitent une étude confirmatoire dans le cadre d'une étude prospective et multicentrique.

Mots clés :

cancer de prostate métastatique résistant à la castration, AR-V7, transition épithélio-mésenchymateuse, Zeb1

Jury :

Président du Jury :

Professeur Claude LINASSIER, Oncologie médicale, Faculté de Médecine –Tours

Directeur de thèse :

Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD, Anatomie & Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine – Tours

Membres du Jury :

Professeur Franck BRUYERE, Urologie, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Gaëlle FROMONT-HANKARD, Anatomie & Cytologie Pathologiques, Faculté de Médecine – Tours

Professeur Claude LINASSIER, Oncologie médicale, Faculté de Médecine –Tours

Docteur Bérengère NARCISO-RAHARIMANANA, Oncologie médicale – Tours

Date de soutenance : le 12 avril 2018