

Impact pronostique des structures lymphoïdes tertiaires dans 64 métastases hépatiques de cancers colorectaux (CCR)

*Travail de thèse dirigé par Docteur JARY
et soutenu par Caroline BRAUNSTEIN (CHU de Besançon)*

La thématique des structures lymphoïdes tertiaires (SLT ou TLS) est d'actualité car elle intéresse tous les organes, que ce soit en situation primitive ou métastatique et présente un intérêt particulier pour cibler les patients potentiellement répondeurs aux immunothérapies. Peu de travaux étudient ces structures dans les métastases hépatiques des cancers colorectaux chez les patients ayant un cancer sans instabilité microsatellitaire (MSS), aussi nous paraissait-il intéressant d'entamer ce travail d'étude transversal et pluridisciplinaire. Ce travail a été suggéré et porté par l'équipe d'oncologie du CHU de Besançon au sein de laquelle j'ai pu réaliser un semestre de mon cursus d'interne en anatomie pathologique.

L'orientation fonctionnelle de la réaction immunitaire adaptative induite par la tumeur permet son élimination ou au contraire favorise son échappement et permet la croissance tumorale. Cette réaction immunitaire peut être présente sous la forme de structures lymphoïdes tertiaires (TLS), qui sont des follicules lymphoïdes, parfois induits par la chimiothérapie, qui illustrent la diversité et la complexité de la réponse anti-tumorale. Leur présence au niveau du front d'invasion tumorale est associée à un meilleur pronostic, notamment pour les formes localisées de la maladie. Leur caractère prédictif de réponse à l'immunothérapie, indépendamment de la charge tumorale, présente un intérêt particulier pour la majorité de ces patients métastatiques présentant un statut MSS sans altération du système de réparation des mésappariements (pMMR). Peu de travaux les ont caractérisés et ont étudié leur implication pronostique dans les métastases hépatiques des cancers colorectaux. L'objectif de ce travail de thèse était de caractériser l'expression des TLS, leur stade de maturation ainsi que leur localisation dans une cohorte de 64 patients, par une méthode d'analyse immunohistochimique adaptée et réalisable en routine.

Un échantillon de 64 métastases hépatiques de patients opérés a d'abord été sélectionné. Les lames, réalisées en coloration standard HES d'une part et après marquage CD3/CD20 d'autre part, ont été numérisées afin de mesurer, dénombrer et caractériser (mature, précoce) exhaustivement chaque TLS. La localisation était précisée (intratumorale, au front d'invasion ou en zone saine). La densité en lymphocytes T CD3 au niveau intra-tumoral et péri-tumoral, le nombre de cellules dendritiques par TLS, et pour lesquelles le phénotype fonctionnel mature est associé à l'expression d'une protéine lysosomale, DC-LAMP, la régression histologique (*tumor regression grade*, TRG) et le pattern de croissance histologique (HGP) ont également été évalués.

Un seuil optimal de dichotomisation a été établi pour chaque variable par la méthode du log-rank maximisé pour la survie globale (SG). L'association entre variables qualitatives et quantitatives a été évaluée par le test de Kruskal-Wallis puis de Mann-Whitney, corrigés selon Bonferroni. L'influence des paramètres cliniques et moléculaires tumoraux sur la survie globale des patients a été étudiée par modélisation de Cox univariée puis multivariée.

Dans cette cohorte de 64 patients oligométastatiques, 62 présentaient un statut MSS, 72 % présentaient des métastases synchrones, et 75 % avaient préalablement reçu un traitement

néoadjuvant à base d'oxaliplatine. Notre méthodologie de lecture permettant d'établir une pertinence clinique définissait la présence d'au moins 5 TLS dans l'ensemble de la lame analysée, et pour chacun d'eux une surface minimale de 0,06 mm². 56 % des patients présentait des TLS, et 36 % de la cohorte globale plus de 5 TLS. Cette population était associée à une meilleure survie globale (SG med : 60,1 mois ; IC_{95%} : 47,4-NA contre 35 mois ; IC_{95%} : 20-51,1 ; p = 0,014). À noter que les critères clinico-moléculaires classiques des métastases riches en TLS n'expliquaient pas ces résultats. Il n'existait pas de différence dans la répartition des TLS entre les trois *patterns* histologiques de croissance tumorale étudiés. En revanche, la présence d'un infiltrat de lymphocytes CD3 au niveau du front d'invasion était positivement corrélée avec la présence de TLS et de cellules dendritiques exprimant DC-LAMP. Les patients ne présentant pas ou peu de TLS avaient de moins bonnes réponses à la chimiothérapie, sauf pour le groupe présentant les meilleures réponses histologiques soit TRG1. L'âge, le nombre de TLS, la densité en CD3 au front d'invasion et le nombre de cellules exprimant DC-LAMP étaient significativement associés à la survie globale en analyse univariée. En analyse multivariée, seuls l'âge (HR = 2,79 ; p = 0,002) et la forte densité en CD3 sur le front d'invasion (HR = 2,73, p = 0,017) restaient indépendamment liés à une meilleure survie globale.

À ce jour, deux équipes ont décrit la présence de TLS dans les CCR métastatiques. Notre étude propose une méthode de mesure et de caractérisation des TLS sur lame entière, et étudie ensuite sa pertinence clinique en les associant à un meilleur pronostic. La corrélation entre TLS et densité de CD3 confirme la nécessité d'une organisation spécifique afin d'engendrer une réponse efficace. L'absence de TLS observés dans le groupe TRG1 peut être expliquée par l'adaptabilité du phénomène. Une approche standardisée des TLS en anatomopathologie puis leur analyse plus fine par la mise au point de biomarqueurs pronostiques et prédictifs pourrait donc représenter un outil majeur pour l'adaptation des stratégies thérapeutiques personnalisées.

L'oncoimmunologie est un domaine éminemment vaste, étudiant notamment le lien entre le microenvironnement tumoral et la réponse immunitaire adaptative, spontanément mise en place ou bien induite par des agents thérapeutiques.

Ce travail d'équipe évidemment pluridisciplinaire a été dirigé par Docteur Marine Jary, praticien hospitalier en oncologie digestive et par Franck Monnier, ingénieur de recherche supervisant la tumorotheque de Franche-Comté.

Je tiens à remercier très sincèrement la Société Française du Cancer et l'AERIO d'avoir choisi de récompenser ce travail par l'attribution d'un prix de thèse, mettant ainsi particulièrement en avant l'aspect transversal de l'anatomie pathologique et son rôle dans la recherche en cancérologie.

Figure illustrant la composition et le rôle immun adaptatif des structures lymphoïdes tertiaires (C. Sautès-Fridman, B cell and complement at the forefront of chemo; Nat Reviews 2020)

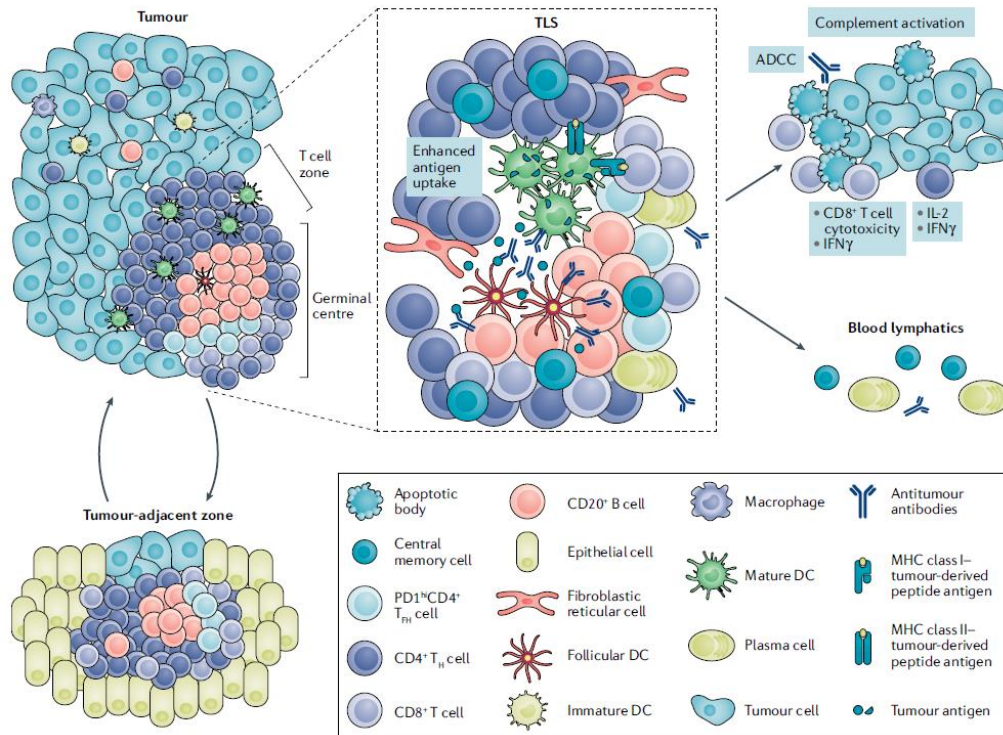
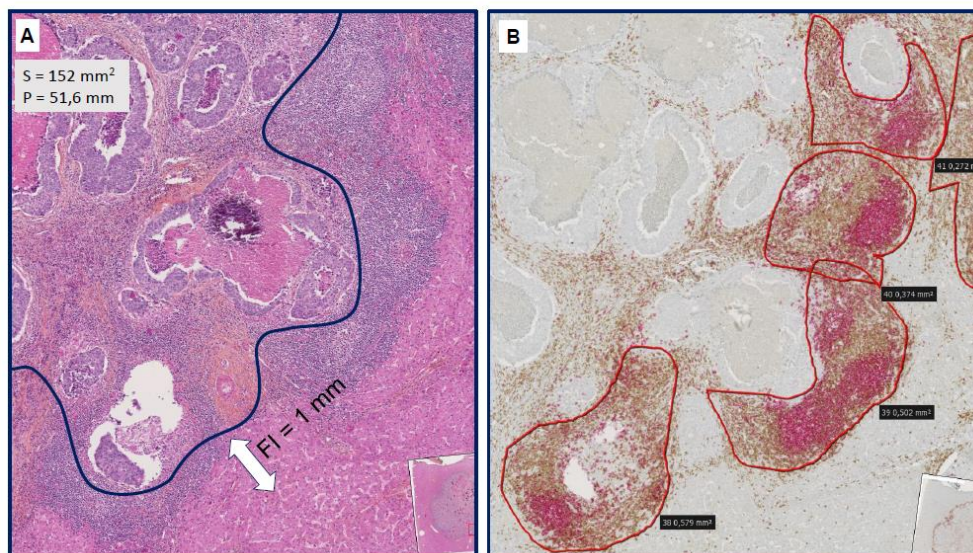


Figure illustrant l'élaboration de notre méthode de quantification des TLS, définissant le groupe des patients TLS^{high}. (illustration à partir d'échantillon de notre cohorte)

✓ Un TLS = surface min. de 0,06 mm² ✓ 5 TLS / lame



A. HES x3,5. Caractérisation de la surface tumorale et du front d'invasion (FI).
B. CD3 / CD20 x3,5. Mesure quantitative et qualitative de chaque TLS.

Figure mettant en évidence la différence significative de survie globale entre les groupes de patients TLS^{low} et TLS^{high} préalablement établis selon notre méthode d'analyse.

