



HAL
open science

SOX10, GATA3 et Récepteur à l'androgène : utilité dans le diagnostic différentiel entre cancer du sein triple négatif et adénocarcinome pulmonaire TTF1 négatif

Élodie Laurent

► To cite this version:

Élodie Laurent. SOX10, GATA3 et Récepteur à l'androgène : utilité dans le diagnostic différentiel entre cancer du sein triple négatif et adénocarcinome pulmonaire TTF1 négatif. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-01845319

HAL Id: dumas-01845319

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01845319>

Submitted on 20 Jul 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE BORDEAUX

U.F.R DES SCIENCES MEDICALES

Année 2018

Thèse n°3054

Thèse pour l'obtention du

DIPLOME D'ETAT de DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 21 Juin 2018 par

Elodie Laurent

Née le 23 Janvier 1990 à Bayonne (64)

Discipline : Anatomie et Cytologie Pathologiques

**SOX10, GATA3 et Récepteur à l'androgène : utilité dans le diagnostic différentiel entre cancer
du sein triple négatif et adénocarcinome pulmonaire TTF1 négatif.**

Directeur de thèse :

Monsieur le Docteur Gaëtan Macgrogan

Rapporteur externe :

Monsieur le Professeur Pascal Roger

Membres du jury :

Madame le Professeur Béatrice Vergier

Présidente

Monsieur le Docteur Gaëtan Macgrogan

Directeur de thèse

Monsieur le Docteur Hugues Begueret

Membre

Madame le Docteur Marie Parrens

Membre

Monsieur le Docteur Rémi Veillon

Membre

Monsieur le Professeur Pierre Dubus

Membre

REMERCIEMENTS

A ma présidente de jury,

Madame le Professeur Béatrice Vergier

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Service de Pathologie

CHU de Bordeaux

Je suis très honorée que vous présidiez ce jury,

Votre dynamisme et votre bienveillance mis au service de la formation de tous les internes d'anatomo-pathologie de Bordeaux et de passage sont un modèle et je vous remercie vivement d'avoir pu en bénéficier.

Votre dévouement à la fois pour les patients, le service, la dermatopathologie, ainsi que l'implication et l'énergie que vous accordez à tous vos projets sont un exemple.

Veillez trouver ici l'expression de ma profonde reconnaissance, de mon respect et de ma sincère gratitude.

A mon directeur de thèse,

Monsieur le Docteur Gaëtan Macgrogan

Chef de service, Praticien Hospitalier,

Service de Biopathologie

Institut Bergonié, Bordeaux

Cher Gaëtan, je te remercie de m'avoir proposé ce sujet de thèse, de m'avoir accordé ta confiance au cours de la réalisation de ce travail et pour ta disponibilité.

J'ai énormément appris par ce travail, à travers ta rigueur et tes conseils.

J'ai eu la chance de bénéficier de tes enseignements en pathologie mammaire et en management par la qualité. Merci infiniment pour ta pédagogie et ta patience.

Crois en l'expression de mon profond respect, de ma sincère gratitude et de mon amitié.

A mes juges,

Monsieur le Docteur Hugues Begueret,

Praticien Hospitalier

Service de Pathologie

CHU de Bordeaux

Cher Hugues, je te remercie de m'avoir proposé ce sujet de thèse et pour ta disponibilité.

J'espère que ce travail est à la hauteur de tes attentes.

J'ai bénéficié de tes enseignements en pathologie thoracique, de ta pédagogie et de ta patience. Je t'en remercie.

Crois en l'expression sincère de mon respect et de ma gratitude.

Madame le Docteur Marie Parrens,

Maitre de Conférences des Universités, Praticien Hospitalier

Service de Pathologie

CHU de Bordeaux

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail de thèse et j'espère qu'il vous intéressera.

J'ai eu la chance de bénéficier de votre enseignement en hématopathologie, de votre rigueur et de votre patience. Je vous en remercie.

Veillez trouver l'expression de ma profonde reconnaissance et de ma sincère gratitude.

A mes juges,

Monsieur le Docteur Rémi Veillon

Praticien Hospitalier

Service de Pneumologie et d'Oncologie Thoracique

Hôpital Haut Lévêque, CHU de Bordeaux, Pessac

Je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail de thèse et d'y apporter votre expérience d'oncologue. J'espère qu'il vous apportera satisfaction.

Veillez croire en l'expression de ma plus haute considération.

Monsieur le Professeur Pierre Dubus,

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Service de Biologie des Tumeurs

Hôpital Haut-Lévêque, CHU de Bordeaux, Pessac

Je suis très honorée que vous ayez accepté de juger ce travail de thèse et vous en remercie.

Veillez croire en l'expression de ma plus haute considération.

A mon rapporteur,

Monsieur le Professeur Pascal Roger

Professeur des Universités, Praticien Hospitalier

Pôle Biologie Pathologie

Hôpital Universitaire Carémeau, CHU de Nîmes

Je vous remercie d'avoir accepté de relire et de rapporter ce travail de thèse. La pathologie mammaire est votre sujet de prédilection, c'est pourquoi j'espère que ce travail vous satisfera.

Veillez croire en l'expression de ma plus haute considération.

Table des matières

Introduction générale	14
I. Cancer du sein : épidémiologie, facteurs de risque, prise en charge, évolution.....	14
II. Les cancers du sein triple négatif (CSTN).....	16
II.A Définition	16
II. B. Epidémiologie et facteurs de risque des cancers du sein triple négatif	16
II.C. Aspects cliniques et histopathologiques des CSTN	16
II. D. Anomalies moléculaires	17
II.E. Pronostic et évolution	17
II. F Traitement.....	19
III. Sous groupes moléculaires de cancer du sein: où se situe le cancer du sein triple négatif ?.....	19
III.A Sous-groupes moléculaires dans le cancer du sein	19
III.B Phénotype immunohistochimique des CSTN	21
III.C Marqueurs immunohistochimiques prometteurs exprimés par les CSTN	23
IV Cancers pulmonaires	24
IV.A. Epidémiologie des cancers pulmonaires	24
IV.B Facteurs de risque	25
IV.C. Evaluation immunohistochimique des cancers du poumon	26
IV. D Prise en charge thérapeutique du cancer du poumon.....	27
Objectifs du travail	29
Références bibliographiques	30
Article original	40
Perspectives	67

Introduction générale

I Cancer du sein : épidémiologie, facteurs de risque, prise en charge, évolution.

Le cancer du sein est le 1^{er} cancer en terme d'incidence chez la femme, avec 58 968 nouveaux cas de cancer du sein en France métropolitaine en 2017, nettement devant le cancer du côlon-rectum et le cancer du poumon. Il existe depuis plusieurs années un recul dans l'incidence du cancer du sein, évalué en moyenne à une diminution de 1,5 point du taux d'incidence en moyenne entre 2005 et 2012 (1).

Le cancer du sein est aussi celui qui cause le plus grand nombre de décès chez la femme, avec 11 883 décès estimés en 2017, soit 18,2 % des décès féminins par cancer. De la même manière, il existe une diminution du taux de mortalité depuis 2005, évalué en moyenne à -1.5 point par an entre 2005 et 2012. Tous sexes confondus, il représente près de 8 % de l'ensemble des décès par cancer (1).

De même, la survie nette à 5 ans standardisée sur l'âge s'améliore au cours du temps. Elle est passée de 80 % pour les femmes diagnostiquées entre 1989 et 1993 à 87 % pour celles diagnostiquées entre 2005 et 2010 (1).

Cela s'explique par l'amélioration des traitements et par un dépistage du cancer du sein de plus en plus adapté au niveau de risque de chaque femme, avec un dépistage organisé pour toutes les femmes entre 50 ans et 74 ans, qui permet de diagnostiquer ces cancers à un stade précoce (1).

Les facteurs de risque de cancer du sein sont nombreux et bien connus, ils comprennent : le sexe féminin, un temps prolongé d'activité génitale (ménarches précoces et ménopause tardive), une première grossesse tardive, la nulliparité(2), l'âge, la prédisposition génétique, un antécédent personnel de cancer gynécologique, un antécédent personnel d'irradiation thoracique médicale à forte dose, la prise prolongée d'un traitement hormonal de la ménopause, la consommation de tabac ou d'alcool, le surpoids (3), et un antécédent familial au 1^{er} degré de cancer du sein (4).

Le dépistage organisé a permis une meilleure prise en charge des patientes du fait de la précocité du diagnostic. Le dépistage est proposé à toutes femmes ayant entre 50 et 74 ans sous la forme d'une mammographie bilatérale à double relecture. En cas d'images ACR4 à 5, des prélèvements biopsiques percutanés par microbiopsie ou macrobiopsie, pour analyse anatomopathologique, sont réalisés.

Le diagnostic de cancer mammaire est donc réalisé par le pathologiste qui évaluera également les éléments pronostiques et prédictifs de réponse aux traitements, essentiels pour la décision thérapeutique. Ces éléments comprennent :

- Le caractère invasif de la lésion, son type histologique, son grade histopronostique (architecture tumorale, atypies cytonucléaires et mitoses) et la présence d'embolies vasculaires

- L'expression des récepteurs à l'œstrogène et à la progestérone, la recherche de surexpression d'HER2

La prise en charge des patientes atteintes de cancer du sein est codifiée. Le traitement repose, selon les situations cliniques, sur la chirurgie et/ou la radiothérapie et/ou la chimiothérapie (incluant les thérapies ciblées) et/ou l'hormonothérapie. La décision thérapeutique est prise en réunion de concertation pluridisciplinaire, en accord avec la patiente (5).

Les schémas thérapeutiques sont résumés dans la figure 1 tirée du guide d'affection longue durée émis par la Haute Autorité de Santé (HAS).

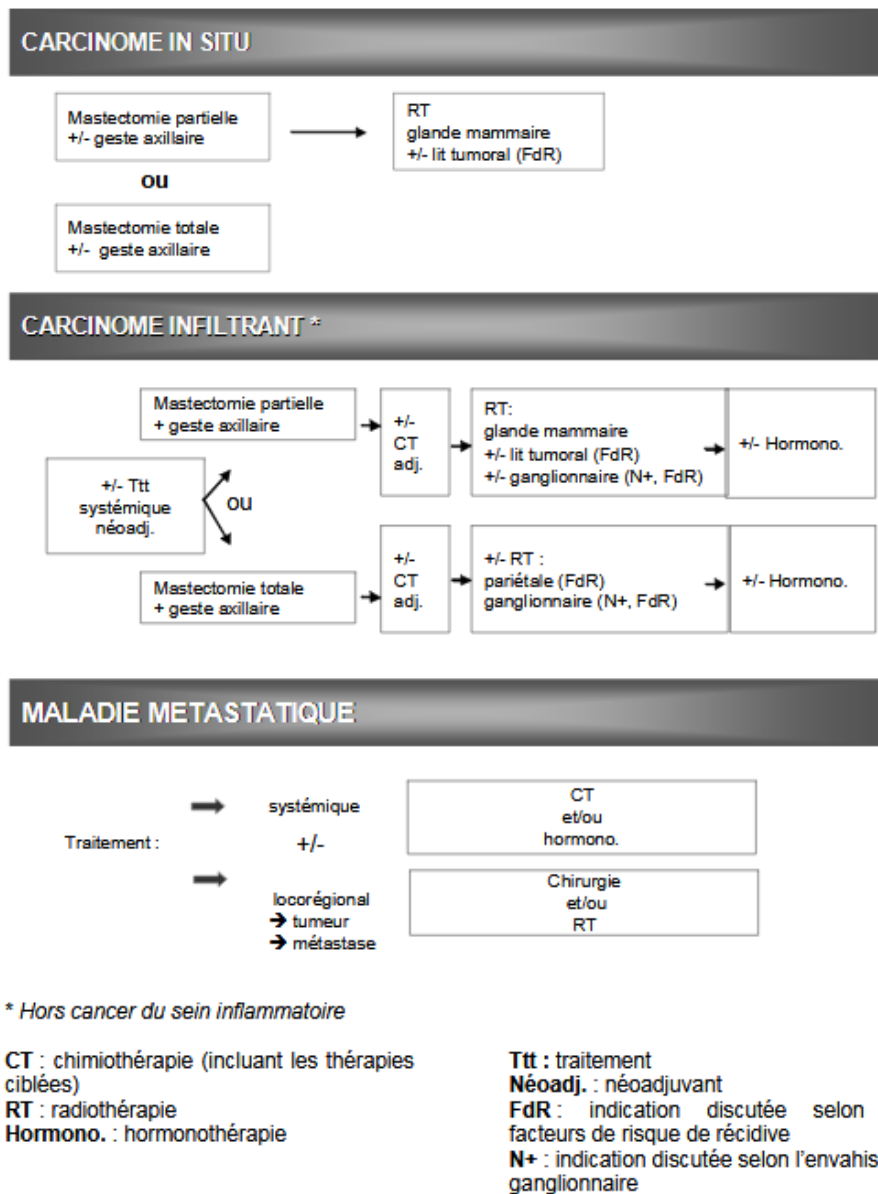


Figure 1 : Prise en charge thérapeutique en fonction des données cliniques et anatomopathologiques

II Les cancers du sein triple négatif (CSTN)

II.A Définition

Les cancers du sein triple négatif (CSTN) sont définis par une absence d'expression des récepteurs à l'œstrogène (RE), à la progestérone (RP) et une absence de surexpression ou d'amplification d'HER2 (6).

Il est à noter que la définition de la négativité des marqueurs hormonaux est différente selon les pays : aux Etats-Unis, la définition est stricte avec <1% pour RE ou RP alors qu'en Europe, le seuil est plutôt fixé à <10%.

Ils représentent 10 à 20% des cancers du sein (7).

II. B. Epidémiologie et facteurs de risque des cancers du sein triple négatif

Dans les études américaines, la population la plus touchée est celle de femmes jeunes d'origine Afro-américaine et Hispanique par rapport à des femmes d'âge jeune d'autres groupes raciaux ou ethniques (8,9).

Comparé aux femmes sans cancer du sein, les autres facteurs de risque sont une ménarche précoce, la multiparité, un jeune âge à la première grossesse, l'absence d'allaitement et un indice de masse corporel élevé pendant la période pré-ménopausique (10,11). Certains de ces facteurs de risque diffèrent donc de ceux d'autres types de cancer du sein, notamment les cancers RE +, comme la multiparité et l'augmentation du tour de taille (10).

La présence d'une mutation constitutionnelle de BRCA 1 fait aussi partie des facteurs de risque.

II.C. Aspects cliniques et histopathologiques des CSTN

Les CSTN sont plus souvent diagnostiqués au stade de tumeur cliniquement détectable que lors d'une découverte mammographique (12). Ainsi, ils sont sur-représentés dans les cancers d'intervalle (cancers diagnostiqués entre deux mammographies de dépistage) (13). Leurs caractéristiques radiologiques sont variables ; ils sont souvent décrits comme une masse circonscrite, sans spicule périphérique, ni micro-calcification associée (14). Ces tumeurs sont fréquemment réhaussées en IRM et hyperfixantes en TEP TDM (15).

Sur le plan macroscopique, la taille tumorale des CSTN semble plus élevée et l'atteinte ganglionnaire est moins fréquente comparativement aux autres sous-types (7,16).

Sur le plan microscopique, les CSTN sont classiquement de haut grade (grade 3 dans 75% des cas) avec un haut index mitotique et des atypies nucléaires marquées (17). Les tumeurs présentent

fréquemment une nécrose centrale, une infiltration lymphocytaire et une importante composante apoptotique (10,18). Si la plupart du temps, les CSTN sont de type canalaire infiltrant sans autre spécification, il existe de nombreux types histologiques spéciaux au sein des CSTN dont certains sont d'excellent pronostic comme les carcinomes adénoïdes kystiques (ou cylindromes) et les carcinomes sécrétants juvéniles (19). Les carcinomes médullaires, également considérés comme de bon pronostic font aussi partie des CSTN (20) ainsi que les carcinomes métaplasiques qui sont eux de plus mauvais pronostic, notamment en cas de haut grade (21). Les carcinomes apocrines qui expriment le récepteur à l'androgène (RA) sont également des CSTN (22).

II. D. Anomalies moléculaires

Les CSTN présentent très souvent une grande instabilité génomique, se traduisant par des altérations du nombre de copies de gènes (pertes ou gains, amplifications ou délétions) des pertes d'hétérozygotie et des mutations somatiques aboutissant à des inactivations de gènes suppresseurs de tumeurs et des activations d'oncogènes (23). Les plus fréquents sont les pertes de PTEN et les mutations activatrices de PI3KCA ou inactivatrices de p53 ou Rb (24).

Les cancers basaux sporadiques et les cancers héréditaires associés à une mutation BRCA1 partagent de nombreuses caractéristiques. En effet, ces derniers sont retrouvés au sein des tumeurs basales dans les analyses initiales de Sorlie et col l(25). Ils sont le plus souvent de phénotype triple négatif, de haut grade, faiblement différenciés, très prolifératifs, associés à des mutations de P53, ainsi qu'à l'expression des cytokératines basales et d'autres marqueurs basaux (26). Au niveau génomique, cette proximité se manifeste par des niveaux d'instabilité génomique et des profils d'inactivation du chromosome X similaires (27). Ces ressemblances suggèrent fortement l'existence d'un défaut dans les systèmes de réparation des cassures double-brins de l'ADN, BRCA1-dépendants, au sein des cancers basaux sporadiques et donc pour une partie des CSTN.

Ainsi, si la fréquence des mutations germinales de BRCA 1 est basse dans la population globale des cancers du sein, elle semble beaucoup plus élevée dans la population des CSTN, autour de 15% (28).

Mais la dysfonction du système BRCA1-dépendant peut reposer sur d'autres mécanismes que la mutation du gène BRCA 1 tels que la méthylation du promoteur du gène ou la surexpression d'ID4, un régulateur négatif de sa transcription (27).

II.E. Pronostic et évolution

Le pronostic des CSTN est considéré dans la plupart des études comme plus défavorable que celui des autres formes, dû à un risque de récurrence locale et à distance, et de décès plus élevé (9,12). Le risque de récurrence est d'une temporalité différente comparée aux autres types de cancers du sein. En effet, le risque de rechute locale ou métastatique est concentré dans les 5 ans qui suivent le diagnostic, avec un

maximum dans les 3 premières années. Ce risque diminue très rapidement par la suite. Ce profil de rechute s'oppose à celui des tumeurs RE+, dont le risque de récurrence métastatique est plus faible dans les cinq premières années, mais continue de croître jusqu'à 17 ans après le diagnostic (12).

La répartition des sites de récurrences métastatiques des CSTN est également différente de celle observée dans les autres sous-types. Les CSTN ont un plus faible risque de métastase ganglionnaire et osseuse (10%). En revanche, ils possèdent un risque plus grand de développer des métastases pulmonaires (40%), cérébrales (30%) et hépatiques (20%) comparés aux cancers du sein RE+ (7,29).

Pourtant tous les CSTN ne rechuteront pas. Ainsi, au sein des CSTN, le pronostic apparaît plus défavorable dans les tumeurs identifiées comme basales par rapport aux CSTN non basaux (16,30–32). Certaines études ont également suggéré un impact pronostic favorable de l'expression de gènes impliqués dans la réponse immunitaire (33) ainsi que l'infiltration lymphocytaire intratumorale (34).

Le classique mauvais pronostic de ces tumeurs contraste également avec leur grande chimiosensibilité, observable en situation néoadjuvante. Cette donnée s'explique par leur grade élevé et leur absence de réceptivité hormonale, caractéristiques classiquement associées à la réponse aux cytotoxiques.

En cas de récurrence métastatique, le pronostic est assez uniformément sombre et la survie globale est alors en général très péjorative. Les études montrent une médiane de survie globale de 18 mois pour les CSTN contre plus de 36 mois pour les formes RE+ HER2- (35).

Le pronostic de ces patientes est aggravé car il existe un risque majoré de développer un autre cancer primitif, notamment pulmonaire par rapport à la population générale. Tanaka et coll. ont ainsi démontré un risque augmenté de second cancer avec un OR de 1.3 (IC 95 [1.1-1.6]), majoré dans les 5 premières années suivant le diagnostic de cancer du sein (36).

Ce risque est essentiellement observé chez les patientes ayant un antécédent de cancer du sein triple négatif. Par exemple, il a été mis en évidence un risque augmenté, chez des patientes aux antécédents de cancer du sein avec des récepteurs hormonaux négatifs, de développer un cancer du poumon par rapport aux patientes aux antécédents de cancer du sein RE+ [HR ajusté de 1.22 CI95% (1.10-1.37)] (37). Ce risque est notamment augmenté dans les 5 années suivant le diagnostic de cancer du sein (37), et chez les patientes fumeuses [HR : 2,04 CI 95(1.24-3.36)] (38). Pour Evans et coll. cette augmentation de risque était prédominante pour les patientes dont le diagnostic de cancer du sein avait été fait avant l'âge de 50 ans (39). D'autres études confirment ces tendances avec notamment un risque augmenté de cancer pulmonaire chez les femmes de moins de 50 ans ayant bénéficié de radiothérapie pour le traitement de cancer du sein (40–42).

Outre le traitement du cancer du sein, des risques génétiques ou environnementaux ou bien une surveillance plus étroite peuvent expliquer l'augmentation du risque de second cancer (42).

II. F Traitement

Les CSTN bénéficient des mêmes recommandations globales dans la prise en charge thérapeutique, avec quelques spécificités liées à ces caractéristiques. Un traitement chirurgical est envisagé en première option si la tumeur n'est pas trop volumineuse : de type conservateur pour les T1 et quelques T2 et une mastectomie totale pour les tumeurs les plus volumineuses. Du fait de sa grande réponse à la chimiothérapie cytotoxique, une chimiothérapie néoadjuvante est plus souvent envisagée à visée de conservation mammaire (43,44). Concernant les patientes métastatiques, le pronostic reste globalement sombre quelque soit le type de chimiothérapie utilisé.

Actuellement, de nouvelles pistes thérapeutiques sont à l'essai. Du fait du grand nombre de dysfonctions dans la machinerie de réparation de l'ADN dans les CSTN, une sensibilité plus grande aux thérapeutiques endommageant l'ADN peut être envisagée : dans un premier temps, l'utilisation de sels de platine étaient prometteurs puis d'autres études ont mis en évidence l'absence de bénéfice de cette chimiothérapie (45). Une autre approche serait l'utilisation des inhibiteurs de poly(ADP-ribose) polymérase (PARP), groupe d'enzymes impliqué dans la réparation des lésions simple-brin d'ADN. En cas d'inhibition de ces enzymes, les lésions simple brin évoluent en lésions double brins, lésions non réparées chez les patientes atteintes d'une mutation BRCA 1 réalisant le phénomène de synergie létale (46). Les essais thérapeutiques n'ont malheureusement pas pu démontrer le bénéfice de ces molécules pour les patientes atteintes de CSTN malgré la présence d'une dysfonction du système BRCA1-dépendant (47).

Les autres cibles potentielles seraient les anti-angiogéniques, les inhibiteurs de mTOR (mammalian target of rapamycin), les anti-tyrosine kinase SRC, les anti-androgènes etc ... (48).

III. Sous-groupes moléculaires de cancer du sein: où se situe le cancer du sein triple négatif ?

III.A Sous-groupes moléculaires dans le cancer du sein

Les cancers du sein sont en réalité une association de multiples sous-types ayant des caractéristiques et des évolutions tout à fait différentes. Cette hétérogénéité tumorale a d'abord été mise en évidence par Perou et Sorlie qui ont déterminé des « portraits » de cancers du sein (30). A partir de variations dans l'expression des gènes et donc d'ARN, ils ont établi une nouvelle classification moléculaire des cancers du sein avec des expressions moléculaires et pronostiques différentes. Cette classification comprenait :

- Les cancers du sein de type luminal A et luminal B,
- Les cancers du sein HER2+
- Les cancers du sein de type basal
- Les cancers du sein de type "normal-like".

Il existe des doutes quand à l'existence de cette dernière catégorie, car des chercheurs ont émis l'hypothèse qu'elle serait secondaire à une contamination importante par du tissu mammaire sain au cours de la technique (49,50). Le plus souvent elle est alors remplacée par la catégorie « inclassée ».

Cette répartition possède un grand intérêt du fait de la différence de pronostic en fonction des catégories et il est acté par les sociétés savantes que les décisions thérapeutiques doivent être prises en fonction du sous-type moléculaire (51,52).

De même, il est établi que la définition de ces sous-groupes est moléculaire mais pour plus de commodités et afin d'alléger le coût liée à la classification moléculaire, une approximation de cette classification peut être faite par étude immunohistochimique :

- Les cancers du sein de type luminal A (Récepteur œstrogène positif (RE+) et récepteur à la progestérone positif (RP+), HER2 non surexprimé (HER2-)), luminal B (RE+ and/or RP+, HER2-), avec comme différence une plus forte activité proliférative pour le luminal B par rapport au luminal A (Ki67 \geq 15%)
- Les cancers du sein HER2+ sont RE négatif (-) et/ou RP- mais surexpriment HER2
- Les cancers du sein de type basal sont : ER-, PR-, HER2-, cytokératines (CK) 5/6 +, CK8/18+, EGFR + (31)
- Les cancers du sein non classés (négatifs pour tous les marqueurs)

Parmi ces différents sous-groupes, la catégorie « basal-like » est souvent prise comme synonyme de cancers du sein triple-négatif (CSTN), car ces 2 types de cancers partagent des caractéristiques communes comme la non-expression des récepteurs hormonaux (RE et RP), l'absence de surexpression d'HER-2 et un mauvais pronostic.

En fait, les catégories « basal-like » et triple négative ne se recoupent pas entièrement : on estime que 25 à 30 % des CSTN ne possèdent pas les anomalies permettant de les classer en cancer de type basal et que la même proportion de cancers basaux n'ont pas de phénotype immunohistochimique de type triple négatif (32,53).

Les CSTN représentent, en réalité, un groupe beaucoup plus hétérogène, comprenant plusieurs sous-types moléculaires.

En effet, de nouveaux sous-groupes de CSTN non-basaux ont été isolés comme le sous-groupe de carcinome moléculaire apocrine. Farmer et coll. ont ainsi montré que ce sous-groupe exprimait le récepteur à l'androgène (RA) et comprenait une grande partie des tumeurs RE négatives en dehors du sous-groupe basal. Ils ont alors divisé les cellules tumorales mammaires en 3 groupes en fonction de l'activité des récepteurs stéroïdiens : luminal (RE+ RA+), basal (RE- RA-) et apocrine (RE- RA+) (22). Ce sous-type a ensuite été nommé "sous-type luminal avec récepteurs aux androgènes" par

Lehman (54) et Burstein (55).

Ensuite, le sous-type “claudin-low” a été défini, représentant 7 à 14% de l’ensemble des tumeurs du sein et 30 % des CSTN (56–59). Ce sous-type est caractérisé par des types histologiques comme le carcinome invasif de type ductal avec une forte proportion de carcinome métaplasique ou médullaire et par un faible taux voir une absence de protéines d’adhésion cellulaire de type « claudin » (56,60).

Puis, Lehmann et coll. ont mis en évidence 6 sous-types moléculaires à partir de données transcriptomiques d’une population de 587 CSTN : 2 sous-types « basal-like », un sous-type « immunomodulateur », un « mésenchymateux », un « cellule souche mésenchymateuse » et le sous-type luminal avec expression du gène codant pour le récepteur à l’androgène (54).

Quelques années plus tard, Burstein and coll. ont identifié à partir de profils ARN et ADN de 198 CSTN, quatre sous-types moléculaires au sein des CSTN, chacun avec un pronostic différent et des biomarqueurs spécifiques, potentiels cibles thérapeutiques : un sous-type luminal avec expression du gène codant pour le récepteur à l’androgène , un sous-type mésenchymateux, un sous-type basal-like immunodéprimé et basal-like immuno-activé.

Liu et coll. ont quand à eux mis en évidence 4 sous-types (immunomodulateur, luminal avec expression du gène codant pour le récepteur à l’androgène, mésenchymal-like et un sous-type basal avec immunosuppression) à partir d’analyse ARN et ARNlong non codés (61).

D’autres auteurs ont recherché des sous-types des CSTN à partir de clusters d’expression génomique, sans que des liens soient prouvés entre ces clusters et l’évolution clinique des patientes (62).

Du fait de cette grande hétérogénéité génomique et transcriptomique, il est difficile de déterminer un phénotype immunohistochimique caractéristique de la globalité des cancers du sein triple négatif.

III.B Phénotype immunohistochimique des CSTN

Les différents sous-groupes moléculaires des CSTN sont néanmoins une base à la recherche de marqueurs immunohistochimiques.

Pour le sous-type basal, de nombreuses études ont montré la bonne corrélation entre l’expression immunohistochimique des cytokératines (CK) 5/6, CK14, 34βE12, EGFR, vimentine et CK8/18 et l’expression génomique classant les tumeurs en basal-like (16,31,63–65). Néanmoins Gazinska et coll. ont montré que la classification phénotypique ne recouvrait pas entièrement la classification moléculaire (53). De manière plus récente, Won et coll. ont comparé 46 marqueurs immunohistochimiques de cancer du sein « basal-like » avec leur profil d’expression génomique. Ki67 et PPH3 étaient les marqueurs les plus sensibles en faveur du sous-type basal. Alors que CK14, IMP3 et NGFR étaient les plus spécifiques. La perte d’INPP4B et l’expression de Nestin étaient aussi

hautement spécifiques (66). Tous ces marqueurs sont pertinents pour différencier un CSTN primitif d'un autre sous-type moléculaire de cancer du sein. Cependant, la plus part d'entre eux ne peuvent pas être utilisés pour prouver l'origine mammaire d'une métastase.

Pour le sous-type claudin-low, la négativité de l'E-cadhérine et des claudines 1, 3, 4 et 7 permettent une bonne corrélation entre le phénotype immunohistochimique et l'expression génomique (67,68).

L'expression du récepteur aux androgènes (RA) est présente dans le sous-type carcinome moléculaire apocrine (69–74). Mais l'expression de ce récepteur n'est pas du tout spécifique des CSTN comme l'ont prouvée de multiples études : en effet environ 60 à 70% des cancers du sein expriment ce récepteur, quelque que soit le statut RE (71,75,76).

Par définition, ces marqueurs immunohistochimiques sont une traduction phénotypique de certains sous-type moléculaires des CSTN et ne peuvent donc pas être utilisés comme marqueurs génériques d'un CSTN.

Concernant les marqueurs utilisés pour déterminer l'origine mammaire des tumeurs, de nombreuses études ont testé la Mammaglobuline, le GCDFP 15 et GATA-3. Ces trois marqueurs ont montré une excellente sensibilité pour le diagnostic de cancer du sein RE+ (94-100%) (77–80). Ils sont aussi d'une grande spécificité pour Mammaglobuline et GCFP15 (92%) (81), mais pas pour GATA 3, du fait de son expression dans les cellules urothéliales, des glandes salivaires, des cellules basales prostatiques, des cellules épidermiques et de certains lymphocytes T (82).

Mais pour le sous-type de CSTN, les résultats sont plus décevants avec une sensibilité de seulement 14 à 30 % pour GCDF15 (tumeurs primitives ou métastases); 19 à 25% (tumeurs primitives) et 25 % à 41% (métastases) pour Mammaglobuline, avec de nombreuses expressions qui se font sous la forme d'un marquage focal (77,78,83).

A l'heure actuelle, le marqueur immunohistochimique le plus spécifique des CSTN est GATA 3 avec une positivité évaluée entre 20 et 66% avec l'anticorps monoclonal de souris (1:100 dilution, clone L50–823; Biocare Medical, Concord, CA) en fonction de l'échelle de notation utilisée (84–87).

Plusieurs études ont essayé de déterminer une signature moléculaire globale et spécifique pour les CSTN dans le but de caractériser les voies de cancérogenèse et d'apporter des pistes pour des thérapies ciblées.

Comme attendu, les résultats sont éparés, en accord avec l'hétérogénéité des TNBC (88–92).

Cependant, certains marqueurs sont retrouvés de manière plus fréquente comme SOX10 et RA.

III.C Marqueurs immunohistochimiques prometteurs exprimés par les CSTN

SOX10 :

L'expression de SOX10 par immunohistochimie a été primitivement utilisée dans le diagnostic positif de mélanome et des tumeurs des gaines nerveuses (93). En effet, le facteur de transcription SOX10 induit la survie et la différenciation des cellules dérivées de la crête neurale (94,95).

Dans le sein il a été prouvé, *in vitro*, que SOX10 joue un rôle dans le développement des cellules épithéliales mammaires de souris sous l'influence de Notch4 et PBP (perisome-proliferative-activated receptor-binding protein) (96). Dans le sein, la voie de signalisation Notch est cruciale pour contrôler la différenciation et l'entretien des cellules souches (97).

Feng et coll. ont montré que SOX10 régulaient les propriétés des cellules souches de CSTN en induisant l'expression de Nestin, à un niveau transcriptomique et protéomique, en se fixant sur la région du promoteur NES (98).

SOX10 est connu pour être exprimé par les cellules myoépithéliales du sein, des glandes salivaires, des glandes bronchiques (93,99). Miettinen et coll. ont aussi prouvé l'expression de SOX10 dans d'autres lésions tumorales comme les myoépithéliomes des tissus mous, les carcinomes adénoïdes kystiques, de rares carcinomes épidermoïdes ORL, de rares carcinomes pulmonaires à petites cellules et des carcinomes embryonnaires. De manière plus importante, par exemple dans un contexte de métastase de carcinome de primitif inconnu, aucune expression de SOX10 n'a été notée dans les carcinomes coliques, gastriques, des voies biliaires, pancréatiques, ovariens, endométriaux, prostatiques, rénaux, surrenaliens, urothéliaux ou dans les mésothéliomes malins. Un cas d'adénocarcinome pulmonaire sur les 86 testés exprimait SOX10 et correspondait à un adénocarcinome de type fœtal qui comprenait des glandes avec vacuolisations périnucléaires rappelant l'endomètre sécrétoire (100).

Cimino-Mathews et coll. ont déjà démontré l'utilité de ce marqueur : dans leur étude, SOX10 était exprimé par 66% des tumeurs basal-like, des CSTN non classés et des carcinomes métaplasiques, comparé à 5% des cancers de type luminal A, B et HER2+ ($p < 0.00001$) (101).

L'expression de SOX10 dans les cellules myoépithéliales normales du sein, des carcinomes « basal-like » et les carcinomes métaplasiques est en faveur d'une différenciation myoépithéliale de ces tumeurs, d'autant plus que la surexpression de SOX10 peut entraîner une transition mésenchymateuse des cellules mammaires (102).

De plus, SOX10 est un marqueur stable au cours des traitements comme la chimiothérapie : Riemenschnitter et coll. ont évalué l'expression de ce marqueur avant et après chimiothérapie : ils ont montré que 94% des tumeurs exprimaient SOX10 avant la chimiothérapie et 91% des tumeurs

continuaient à l'exprimer après chimiothérapie (103). Ceci est d'autant plus intéressant que les patients atteints de CSTN bénéficient souvent de chimiothérapie néoadjuvante ou adjuvante.

GATA 3:

GATA-binding protein 3 (GATA3) fait partie de la famille des facteurs de transcription « zinc-finger binding transcription factors », qui régulent la différenciation de nombreux types de tissu, notamment celle des cellules épithéliales luminales dans la glande mammaire adulte (104).

GATA 3 est un des marqueurs les plus spécifiques pour les CSTN, avec 43% à 48% de positivité avec le clone L50-823 (84,85). Mais GATA 3 est aussi exprimé dans de nombreuses tumeurs épithéliales comme non épithéliales, rendant son utilisation difficile, sans association à d'autres marqueurs, pour déterminer l'origine mammaire d'une métastase de primitif inconnu (82).

RA

Le récepteur aux androgènes (RA) est un récepteur nucléaire d'hormone stéroïdienne qui fonctionne comme un facteur de transcription avec fixation à l'ADN. L'expression du RA a été retrouvée dans les cancers du sein luminaux, HER2+ et les CSTN (71,75,76). Concernant les CSTN, l'expression du RA a été observée dans 10 à 38% des CSTN et est associée à la différenciation apocrine (69–74,105).

De même son expression a été rapportée dans les cancers prostatiques, urothéliaux, rénaux, dans les carcinomes hépatocellulaires, les carcinomes endométriaux, des glandes salivaires, lacrymaux et des adénocarcinomes pulmonaires (106,107).

IV Cancers pulmonaires :

IV.A. Epidémiologie des cancers pulmonaires

Le cancer du poumon est un des plus fréquents cancers dans le monde. En France, le cancer du poumon se situe au 4ème rang des cancers incidents, tous sexes confondus. Il se place au 2ème rang des cancers chez l'homme et au 3ème rang chez la femme (108).

Selon l'Institut National du Cancer, 49 109 nouveaux cas sont estimés en 2017. Il existe une disparité entre les genres puisque le taux d'incidence moyen entre 2005 et 2012 est globalement en diminution chez l'homme (-0.3%/an) et en augmentation chez la femme (+ 5.4 %/an). Il en est de même pour le taux de mortalité qui a diminué de -2.2 %/an en moyenne chez l'homme et augmenté + 4.6%/an en moyenne entre 2005 et 2012 chez la femme. Les taux d'incidence et de mortalité féminines sont en forte progression depuis 1980. Ce phénomène est essentiellement lié à l'augmentation de la consommation tabagique des femmes. Les projections 2017 indiquent que la mortalité féminine par

cancer du poumon se rapproche de plus en plus de la mortalité par cancer du sein (108).

Les cancers pulmonaires se développent soit à partir des cellules de l'épithélium respiratoire, soit à partir de l'unité terminale respiratoire. Ils sont historiquement divisés en 2 catégories. Les cancers du poumon à petites cellules, qui dérivent de cellules présentant des caractéristiques neuroendocrines, correspondant à 15% des cancers du poumon ; et les cancers non à petites cellules, qui représentent les 85% restants. Ce dernier type est divisé en 3 sous-types histologiques majeurs : l'adénocarcinome, qui représente plus de 40% de tous les cancers pulmonaires, le carcinome épidermoïde (20%) et les carcinomes à grandes cellules (2.9%). Les autres carcinomes représentent environ 20% (109–111).

L'adénocarcinome pulmonaire est donc le type histologique de cancer le plus fréquent, du fait d'une augmentation majeure de son incidence et a détrôné le carcinome épidermoïde depuis plusieurs années.

Le pronostic de ces cancers est mauvais avec une survie globale à 5 ans évaluée à 15.6 % aux Etats Unis et à 17% en France (108) .

IV.B Facteurs de risque

Le facteur de risque majeur de cancer du poumon, connu depuis longtemps, est le tabagisme actif (112,113).

L'agence internationale pour la recherche contre le cancer a identifié au moins 50 substances cancérigènes dans la fumée de tabac, notamment les tobacco-specific N-nitrosamines (TSNA) et les 4-(methylnitrosamino)-1(3-pyridyl)-1-butanone (NNK) (114,115).

NNK est associé à des mutations d'ADN qui entraînent l'activation de la voie de l'oncogène K-ras (116,117). Cette activation a été détectée dans 24 % des adénocarcinomes humains (118).

Tous les types histologiques sont associés au tabac. La plus forte association se retrouve avec le carcinome épidermoïde. Inversement, l'adénocarcinome du poumon est plus souvent retrouvé chez les jamais-fumeurs (62% d'adénocarcinomes contre 18% de carcinomes épidermoïdes sur une cohorte de 5144 patients n'ayant jamais fumé) (119).

La progression de l'adénocarcinome chez les fumeurs peut être expliquée par la modification de la consommation de tabac : des inhalations plus profondes de fumée à faible teneur en nicotine et en goudron entraînant une localisation plus périphérique de la fumée de cigarette dans le poumon (120).

La prévalence de fumeurs est plus haute chez les hommes (23.1%) que chez les femmes (18.3%); toutefois cette différence tend à se rétrécir (121). La fumée de cigarette est donc le plus important facteur de risque chez la femme avec plus de 80% de cancers pouvant être rattachés au tabac (122) .

Le tabagisme passif est aussi un facteur de risque, connu depuis plusieurs dizaines d'années (123).

La présence de facteurs génétiques tels qu'une mutation de l'EGFR, notamment dans les populations asiatiques non-fumeuses, favorise le développement de cancers pulmonaires (124,125).

Le cancer du poumon est plus fréquent chez les personnes âgées : plus de 65 % des patients développant un cancer du poumon ont plus de 65 ans (113).

Un régime riche en fruits et légumes a été lié avec un risque diminué de cancer dans une cohorte aux Pays-Bas, avec un effet protecteur plus prononcé chez les fumeurs que les anciens fumeurs. Pas de fruit ou légume particulier ne semblait responsable de l'effet protecteur (126).

Alors que le surpoids et l'obésité sont des facteurs de risque de multiples cancers, aucune association n'a été retrouvée quand au risque lié au cancer du poumon. Une des hypothèses avancées est le lien fort entre BMI et utilisation de tabac : en effet, les fumeurs ont tendance à avoir un IMC plus bas que que la même population standard non fumeuse (127).

La présence d'une BPCO (broncho-pneumopathie obstructive) est aussi un facteur de risque de cancer, même chez les patients non fumeurs (128).

La fumée relarguée par les combustions de charbon ou de bois à des fins de chauffage ou de cuisine entraîne un risque surajouté de cancer du poumon (129).

La pollution de l'air semble être aussi un facteur de risque, liée notamment aux particules fines et notamment le dioxyde de soufre ou le monoxyde d'azote (130).

Plusieurs substances liées au milieu professionnel ont été identifiées comme carcinogènes : l'amiante, l'arsenic, le beryllium, le cadmium, chromium, nickel, silice et les vapeurs de diesel (131).

IV.C. Evaluation immunohistochimique des cancers du poumon

Le caractère primitif pulmonaire et le type histologique peuvent être difficiles à déterminer par l'étude morphologique seule, d'autant plus que les fragments biopsiques examinés sont de petites tailles. Il est d'usage de s'aider au moindre doute d'un examen immunohistochimique complémentaire, tout en gardant à l'esprit le caractère précieux du matériel qui doit être préservé pour de potentielles études moléculaires à visée thérapeutique.

L'analyse immunohistochimique va permettre, dans la plupart des cas, de préciser le phénotype, adénocarcinome ou épidermoïde. Seuls 10 % des cas seront finalement non classés (carcinome non à petites cellules, NOS) (132).

Les marqueurs neuro-endocrines (chromogranine, synaptophysine et CD56) ne doivent être réalisés

que devant une morphologie évocatrice de tumeurs neuroendocrines, et non de manière systématique.

Pour le carcinome épidermoïde, il est d'usage d'utiliser l'anticorps p40 qui est aussi sensible (100%) que p63 mais plus spécifique (100% vs 68%) pour un seuil >5% de cellules marquées (133).

Pour l'adénocarcinome pulmonaire, il est d'usage d'utiliser le TTF1. Napsin A, qui est une protéine de distribution cytoplasmique, possède une expression tissulaire plus restreinte (poumon et rein) que le TTF1. En pratique, il permet de « rattraper » quelques cas d'adénocarcinomes TTF1 négatif (134).

En effet, TTF1 n'est malheureusement pas exprimé par tous les adénocarcinomes pulmonaires. Selon les auteurs, TTF1 et Napsin A ne sont pas exprimés dans respectivement 27 à 36% et 13 à 17% des cas (134,135). Le taux d'expression peut même chuter si on sélectionne uniquement les adénocarcinomes peu différenciés, comme le variant « solide » : dans ce cas, TTF1 et Napsin A ne sont pas exprimés dans 54% et 31% des cas (135).

Ces caractéristiques posent un problème quand on doit déterminer la nature primitive ou secondaire d'un adénocarcinome peu différencié de localisation pulmonaire, survenant chez une patiente ayant un antécédent de carcinome mammaire de phénotype triple négatif.

En effet, la morphologie de ces deux tumeurs est sensiblement identique puisque peu différenciée, et l'étude immunohistochemique est aussi mise à défaut (cf Figure 2). Yang et coll. ont montré que la situation où il fallait différencier un adénocarcinome pulmonaire peu différencié d'un cancer du sein triple négatif était celle où l'immunohistochemie était la moins performante (136).

Or, la différenciation entre ces 2 pathologies est cruciale car les traitements qui en découlent sont totalement différents.

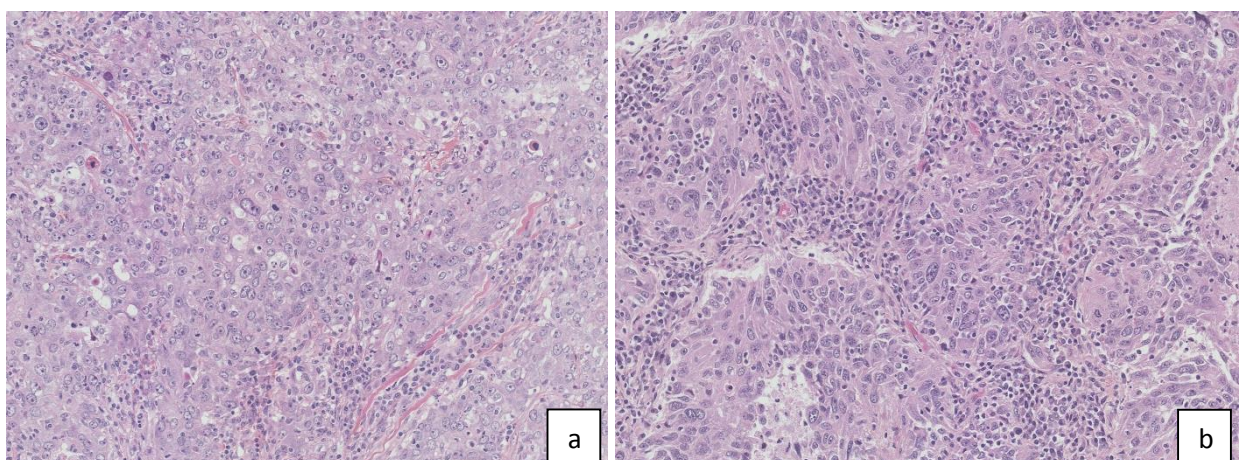


Figure 2 : Coloration HES, grossissement x 20 : Aspect morphologique d'un carcinome du sein triple négatif (a) et d'un adénocarcinome pulmonaire TTF1 négatif de sous-type solide (b)

IV. D Prise en charge thérapeutique du cancer du poumon

La prise en charge du cancer du poumon dépend du stade clinique, de l'âge du patient, son Performance Status, ses souhaits et du type histologique. La décision de prise en charge se fera lors d'une concertation pluridisciplinaire.

Concernant le cancer bronchique à petites cellules, le traitement de référence est la chimiothérapie plus ou moins associée à une radiothérapie thoracique et/ou cérébrale. Alors que pour les cancers non à petites cellules, le traitement à privilégier, si le stade évolutif de la maladie le permet, est chirurgical, complété par une chimiothérapie et une radiothérapie en fonction du stade pTNM (cf tableau ci-dessous) (137).

	Stade					
	IA	IB	II	IIIA	IIIB	IV ⁽³⁾
Chirurgie	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	RCP	-	-
Radiothérapie	- ⁽¹⁾	- ⁽¹⁾	- ⁽²⁾	RCP	<input checked="" type="checkbox"/>	-
Traitement systémique⁽⁴⁾	-	RCP	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>

Modalité thérapeutique de référence, systématique sauf si contre-indication.

RCP : Modalité en option, à discuter en réunion de concertation pluridisciplinaire selon le malade et sa maladie.

(1) La radiothérapie peut être proposée comme une alternative à la chirurgie en cas de non-opérabilité.

(2) Une irradiation peut être discutée en complément de la chirurgie et de la chimiothérapie en cas d'atteinte pariétale ou d'exérèse incomplète.

(3) Stade IV – incluant les cas avec pleurésie maligne selon la nouvelle classification TNM. Le cas particulier des tumeurs avec un nombre limité de métastases (métastase pulmonaire ou surrénalienne unique, une à trois métastases cérébrales) n'est pas inclus ici.

(4) Cytotoxiques (stades II, III et IV) ou thérapies ciblées (stade IV) (en fonction du résultat des recherches de mutations : EGFR, etc.)

Pour le traitement de l'adénocarcinome pulmonaire, le choix du traitement systémique est plus large. Ce choix est alors primitivement porté par l'analyse immunohistochimique et moléculaire à la recherche de mutations permettant l'utilisation de thérapies ciblées. On recherche alors :

- une mutation activatrice de l'EGFR donnant accès aux Gefitinib (Iressa™), Afatinib (Giotrif™) ou Erlotinib (Tarceva™)
- une translocation du gène ALK dont résulte une protéine de fusion EML4-ALK détectable par immunohistochimie ou une translocation du gène ROS1, donnant accès au Crizotinib (Xalkori) et au Ceritinib (ZYKADIA™)

Pour les adénocarcinomes et carcinomes épidermoïdes, une immunothérapie avec des inhibiteurs de PD-1 (comme le Nivolumab ou le Pembrolizumab) ou des inhibiteurs de PD-L1 (comme l'Atezolizumab) est proposée dans certains cas de patients non répondeurs à une première ligne de

traitement systémique ou directement en première ligne thérapeutique avec le Pembrolizumab, si l'expression du PDL1 est suffisante (>50%).

Objectifs du travail

Sur la base du problème diagnostique posé, correspondant à la difficulté pour le pathologiste de différencier une métastase de CSTN de localisation pulmonaire d'un adénocarcinome pulmonaire primitif, nous avons voulu tester de nouveaux marqueurs prometteurs en faveur du diagnostic de carcinome du sein triple négatif, comme SOX10, GATA3 et RA. Pour cela nous avons comparé leurs expressions entre une cohorte de carcinomes primitifs du sein de phénotype triple négatif (N=207) et une cohorte d'adénocarcinomes pulmonaires de phénotype TTF1 négatif (N=95) et TTF1 positif (N=57).

Nous avons voulu ensuite déterminer une association de marqueurs permettant de différencier un maximum de CSTN par rapport aux adénocarcinomes pulmonaires, avec un minimum de faux négatifs, tout en limitant la consommation de matériel biopsique.

Références bibliographiques

1. Institut National du Cancer. Le cancer du sein - les cancers les plus fréquents. Institut National du Cancer. [Internet]. 2018. Disponible sur: <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Les-cancers-les-plus-frequents/Cancer-du-sein>
2. Kelsey JL, Gammon MD, John EM. Reproductive factors and breast cancer. *Epidemiol Rev.* 1993;15(1):36-47.
3. McPherson K, Steel CM, Dixon JM. ABC of breast diseases. Breast cancer-epidemiology, risk factors, and genetics. *BMJ.* 9 sept 2000;321(7261):624-8.
4. Dupont WD, Page DL. Risk factors for breast cancer in women with proliferative breast disease. *N Engl J Med.* 17 janv 1985;312(3):146-51.
5. Haute Autorité de Santé, Institut National du Cancer. Guide-Affection longue durée. Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique : cancer du sein. 2010.
6. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, Dowsett M, McShane LM, Allison KH, et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* nov 2013;31(31):3997-4013.
7. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med.* 11 nov 2010;363(20):1938-48.
8. Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry. *Cancer.* 1 mai 2007;109(9):1721-8.
9. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *JAMA.* 7 juin 2006;295(21):2492-502.
10. Millikan RC, Newman B, Tse C-K, Moorman PG, Conway K, Dressler LG, et al. Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* mai 2008;109(1):123-39.
11. Atkinson RL, El-Zein R, Valero V, Lucci A, Bevers TB, Fouad T, et al. Epidemiological risk factors associated with inflammatory breast cancer subtypes. *Cancer Causes Control CCC.* mars 2016;27(3):359-66.
12. Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, Hanna WM, Kahn HK, Sawka CA, et al. Triple-negative breast cancer: clinical features and patterns of recurrence. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 août 2007;13(15 Pt 1):4429-34.
13. Collett K, Stefansson IM, Eide J, Braaten A, Wang H, Eide GE, et al. A basal epithelial phenotype is more frequent in interval breast cancers compared with screen detected tumors. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol.* mai 2005;14(5):1108-12.

14. Yang W-T, Dryden M, Broglio K, Gilcrease M, Dawood S, Dempsey PJ, et al. Mammographic features of triple receptor-negative primary breast cancers in young premenopausal women. *Breast Cancer Res Treat.* oct 2008;111(3):405-10.
15. Basu S, Chen W, Tchou J, Mavi A, Cermik T, Czerniecki B, et al. Comparison of triple-negative and estrogen receptor-positive/progesterone receptor-positive/HER2-negative breast carcinoma using quantitative fluorine-18 fluorodeoxyglucose/positron emission tomography imaging parameters: a potentially useful method for disease characterization. *Cancer.* 1 mars 2008;112(5):995-1000.
16. Cheang MCU, Voduc D, Bajdik C, Leung S, McKinney S, Chia SK, et al. Basal-like breast cancer defined by five biomarkers has superior prognostic value than triple-negative phenotype. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 mars 2008;14(5):1368-76.
17. Boyle P. Triple-negative breast cancer: epidemiological considerations and recommendations. *Ann Oncol.* 1 août 2012;23(suppl 6):vi7-12.
18. Rakha EA, Reis-Filho JS, Ellis IO. Basal-like breast cancer: a critical review. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 mai 2008;26(15):2568-81.
19. Vincent-Salomon A, Macgrogan G, Charaffe-Jauffret E, Jacquemier J, Arnould L. [Identification of basal-like carcinomas in clinical practice: « triple zero/BRCA1-like » carcinomas]. *Bull Cancer (Paris).* mars 2010;97(3):357-63.
20. Jacquemier J, Padovani L, Rabayrol L, Lakhani SR, Penault-Llorca F, Denoux Y, et al. Typical medullary breast carcinomas have a basal/myoepithelial phenotype. *J Pathol.* nov 2005;207(3):260-8.
21. Weigelt B, Kreike B, Reis-Filho JS. Metaplastic breast carcinomas are basal-like breast cancers: a genomic profiling analysis. *Breast Cancer Res Treat.* sept 2009;117(2):273-80.
22. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, Tubiana-Hulin M, Fumoleau P, Larsimont D, et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene.* 7 juill 2005;24(29):4660-71.
23. Adélaïde J, Finetti P, Bekhouche I, Repellini L, Geneix J, Sircoulomb F, et al. Integrated profiling of basal and luminal breast cancers. *Cancer Res.* 15 déc 2007;67(24):11565-75.
24. Shah SP, Roth A, Goya R, Oloumi A, Ha G, Zhao Y, et al. The clonal and mutational evolution spectrum of primary triple-negative breast cancers. *Nature.* 4 avr 2012;486(7403):395-9.
25. Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 11 sept 2001;98(19):10869-74.
26. Turner NC, Reis-Filho JS. Basal-like breast cancer and the BRCA1 phenotype. *Oncogene.* sept 2006;25(43):5846-53.
27. Turner NC, Reis-Filho JS, Russell AM, Springall RJ, Ryder K, Steele D, et al. BRCA1 dysfunction in sporadic basal-like breast cancer. *Oncogene.* mars 2007;26(14):2126-32.
28. Gonzalez-Angulo AM, Timms KM, Liu S, Chen H, Litton JK, Potter J, et al. Incidence and outcome of BRCA mutations in unselected patients with triple receptor-negative breast cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 mars 2011;17(5):1082-9.

29. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, Rawlinson E, Sun P, Narod SA. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* mai 2009;115(2):423-8.
30. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 17 août 2000;406(6797):747-52.
31. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, Cheang M, Karaca G, Hu Z, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 15 août 2004;10(16):5367-74.
32. Bertucci F, Finetti P, Cervera N, Esterni B, Hermitte F, Viens P, et al. How basal are triple-negative breast cancers? *Int J Cancer.* 1 juill 2008;123(1):236-40.
33. Sabatier R, Finetti P, Cervera N, Lambaudie E, Esterni B, Mamessier E, et al. A gene expression signature identifies two prognostic subgroups of basal breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* avr 2011;126(2):407-20.
34. Ono M, Tsuda H, Shimizu C, Yamamoto S, Shibata T, Yamamoto H, et al. Tumor-infiltrating lymphocytes are correlated with response to neoadjuvant chemotherapy in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* avr 2012;132(3):793-805.
35. Kassam F, Enright K, Dent R, Dranitsaris G, Myers J, Flynn C, et al. Survival outcomes for patients with metastatic triple-negative breast cancer: implications for clinical practice and trial design. *Clin Breast Cancer.* févr 2009;9(1):29-33.
36. Tanaka H, Tsukuma H, Koyama H, Kinoshita Y, Kinoshita N, Oshima A. Second primary cancers following breast cancer in the Japanese female population. *Jpn J Cancer Res Gann.* janv 2001;92(1):1-8.
37. Schonfeld SJ, Curtis RE, Anderson WF, Berrington de González A. The risk of a second primary lung cancer after a first invasive breast cancer according to estrogen receptor status. *Cancer Causes Control CCC.* oct 2012;23(10):1721-8.
38. Prochazka M, Hall P, Gagliardi G, Granath F, Nilsson BN, Shields PG, et al. Ionizing radiation and tobacco use increases the risk of a subsequent lung carcinoma in women with breast cancer: case-only design. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 20 oct 2005;23(30):7467-74.
39. Evans HS, Lewis CM, Robinson D, Bell CM, Møller H, Hodgson SV. Incidence of multiple primary cancers in a cohort of women diagnosed with breast cancer in southeast England. *Br J Cancer.* 2 févr 2001;84(3):435-40.
40. Schaapveld M, Visser O, Louwman MJ, de Vries EGE, Willemse PHB, Otter R, et al. Risk of new primary nonbreast cancers after breast cancer treatment: a Dutch population-based study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 10 mars 2008;26(8):1239-46.
41. Buiatti E, Crocetti E, Acciai S, Gafà L, Falcini F, Milandri C, et al. Incidence of second primary cancers in three Italian population-based cancer registries. *Eur J Cancer Oxf Engl.* 1990. oct 1997;33(11):1829-34.
42. Mellekjaer L, Friis S, Olsen JH, Scélo G, Hemminki K, Tracey E, et al. Risk of second cancer among women with breast cancer. *Int J Cancer.* 1 mai 2006;118(9):2285-92.

43. Gnant M, Harbeck N, Thomssen C. St. Gallen/Vienna 2017: A Brief Summary of the Consensus Discussion about Escalation and De-Escalation of Primary Breast Cancer Treatment. *Breast Care* Basel Switz. mai 2017;12(2):102-7.
44. National Comprehensive Cancer Network. NCCN Guidelines® for cancer by site : breast cancer. [Internet]. 2018. Disponible sur: NCCN.org.
45. Alba E, Chacon JI, Lluch A, Anton A, Estevez L, Cirauqui B, et al. A randomized phase II trial of platinum salts in basal-like breast cancer patients in the neoadjuvant setting. Results from the GEICAM/2006-03, multicenter study. *Breast Cancer Res Treat.* nov 2012;136(2):487-93.
46. Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt ANJ, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature.* 14 avr 2005;434(7035):917-21.
47. Gelmon KA, Tischkowitz M, Mackay H, Swenerton K, Robidoux A, Tonkin K, et al. Olaparib in patients with recurrent high-grade serous or poorly differentiated ovarian carcinoma or triple-negative breast cancer: a phase 2, multicentre, open-label, non-randomised study. *Lancet Oncol.* sept 2011;12(9):852-61.
48. Gonçalves A, Sabatier R, Charafe-Jauffret E, Gilibert M, Provansal M, Tarpin C, et al. Triple-negative breast cancer: histoclinical and molecular features, therapeutic management and perspectives. *Bull Cancer (Paris).* mai 2013;(5):453-464.
49. Weigelt B, Mackay A, A'hern R, Natrajan R, Tan DSP, Dowsett M, et al. Breast cancer molecular profiling with single sample predictors: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* avr 2010;11(4):339-49.
50. Sotiriou C, Pusztai L. Gene-expression signatures in breast cancer. *N Engl J Med.* 19 févr 2009;360(8):790-800.
51. Goldhirsch A, Wood WC, Coates AS, Gelber RD, Thürlimann B, Senn H-J, et al. Strategies for subtypes--dealing with the diversity of breast cancer: highlights of the St. Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2011. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* août 2011;22(8):1736-47.
52. Goldhirsch A, Winer EP, Coates AS, Gelber RD, Piccart-Gebhart M, Thürlimann B, et al. Personalizing the treatment of women with early breast cancer: highlights of the St Gallen International Expert Consensus on the Primary Therapy of Early Breast Cancer 2013. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* sept 2013;24(9):2206-23.
53. Gazinska P, Grigoriadis A, Brown JP, Millis RR, Mera A, Gillett CE, et al. Comparison of basal-like triple-negative breast cancer defined by morphology, immunohistochemistry and transcriptional profiles. *Mod Pathol.* juill 2013;26(7):955-66.
54. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest.* juill 2011;121(7):2750-67.
55. Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, Covington KR, Contreras A, Fuqua SAW, et al. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1 avr 2015;21(7):1688-98.

56. Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast Cancer Res BCR*. 2010;12(5):R68.
57. Hess KR, Anderson K, Symmans WF, Valero V, Ibrahim N, Mejia JA, et al. Pharmacogenomic predictor of sensitivity to preoperative chemotherapy with paclitaxel and fluorouracil, doxorubicin, and cyclophosphamide in breast cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 sept 2006;24(26):4236-44.
58. Prat A, Perou CM. Deconstructing the molecular portraits of breast cancer. *Mol Oncol*. févr 2011;5(1):5-23.
59. Hennessy BT, Gonzalez-Angulo A-M, Stemke-Hale K, Gilcrease MZ, Krishnamurthy S, Lee J-S, et al. Characterization of a naturally occurring breast cancer subset enriched in epithelial-to-mesenchymal transition and stem cell characteristics. *Cancer Res*. 15 mai 2009;69(10):4116-24.
60. Sabatier R, Finetti P, Guille A, Adelaide J, Chaffanet M, Viens P, et al. Claudin-low breast cancers: clinical, pathological, molecular and prognostic characterization. *Mol Cancer*. 2 oct 2014;13:228.
61. Liu Y-R, Jiang Y-Z, Xu X-E, Yu K-D, Jin X, Hu X, et al. Comprehensive transcriptome analysis identifies novel molecular subtypes and subtype-specific RNAs of triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res [Internet]*. déc 2016 [cité 30 avr 2018];18(1). Disponible sur: <http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13058-016-0690-8>
62. Kreike B, van Kouwenhove M, Horlings H, Weigelt B, Peterse H, Bartelink H, et al. Gene expression profiling and histopathological characterization of triple-negative/basal-like breast carcinomas. *Breast Cancer Res [Internet]*. oct 2007 [cité 30 avr 2018];9(5). Disponible sur: <http://breast-cancer-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/bcr1771>
63. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. févr 2006;19(2):264-71.
64. Thike AA, Cheek PY, Jara-Lazaro AR, Tan B, Tan P, Tan PH. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. janv 2010;23(1):123-33.
65. Choo JR, Nielsen TO. Biomarkers for Basal-like Breast Cancer. *Cancers*. 28 mai 2010;2(2):1040-65.
66. Won JR, Gao D, Chow C, Cheng J, Lau SY, Ellis MJ, et al. A survey of immunohistochemical biomarkers for basal-like breast cancer against a gene expression profile gold standard. *Mod Pathol*. nov 2013;26(11):1438-50.
67. Gerhard R, Ricardo S, Albergaria A, Gomes M, Silva AR, Logullo ÂF, et al. Immunohistochemical features of claudin-low intrinsic subtype in metaplastic breast carcinomas. *Breast Edinb Scotl*. juin 2012;21(3):354-60.
68. Dias K, Dvorkin-Gheva A, Hallett RM, Wu Y, Hassell J, Pond GR, et al. Claudin-Low Breast Cancer; Clinical & Pathological Characteristics. *PloS One*. 2017;12(1):e0168669.

69. Thike AA, Yong-Zheng Chong L, Cheok PY, Li HH, Wai-Cheong Yip G, Huat Bay B, et al. Loss of androgen receptor expression predicts early recurrence in triple-negative and basal-like breast cancer. *Mod Pathol.* mars 2014;27(3):352-60.
70. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, Lee AHS, Robertson JF, Ellis IO. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer.* 1 janv 2007;109(1):25-32.
71. Niemeier LA, Dabbs DJ, Beriwal S, Striebel JM, Bhargava R. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. *Mod Pathol.* févr 2010;23(2):205-12.
72. Park S, Koo J, Park HS, Kim J-H, Choi S-Y, Lee JH, et al. Expression of androgen receptors in primary breast cancer. *Ann Oncol.* mars 2010;21(3):488-92.
73. Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, Bianco-Miotto T, Centenera MM, Harris JM, et al. Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer. *Cancer Res.* 1 août 2009;69(15):6131-40.
74. Mossler JA, Barton TK, Brinkhous AD, McCarty KS, Moylan JA, McCarty KS. Apocrine differentiation in human mammary carcinoma. *Cancer.* 1 déc 1980;46(11):2463-71.
75. Agoff SN, Swanson PE, Linden H, Hawes SE, Lawton TJ. Androgen receptor expression in estrogen receptor-negative breast cancer. Immunohistochemical, clinical, and prognostic associations. *Am J Clin Pathol.* nov 2003;120(5):725-31.
76. Kuenen-Boumeester V, Van der Kwast TH, Claassen CC, Look MP, Liem GS, Klijn JG, et al. The clinical significance of androgen receptors in breast cancer and their relation to histological and cell biological parameters. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990. août 1996;32A(9):1560-5.
77. Yang Y, Lu S, Zeng W, Xie S, Xiao S. GATA3 expression in clinically useful groups of breast carcinoma: a comparison with GCDFP15 and mammaglobin for identifying paired primary and metastatic tumors. *Ann Diagn Pathol.* févr 2017;26:1-5.
78. Huo L, Zhang J, Gilcrease MZ, Gong Y, Wu Y, Zhang H, et al. Gross cystic disease fluid protein-15 and mammaglobin A expression determined by immunohistochemistry is of limited utility in triple-negative breast cancer. *Histopathology.* janv 2013;62(2):267-74.
79. Shaoxian T, Baohua Y, Xiaoli X, Yufan C, Xiaoyu T, Hongfen L, et al. Characterisation of GATA3 expression in invasive breast cancer: differences in histological subtypes and immunohistochemically defined molecular subtypes. *J Clin Pathol.* nov 2017;70(11):926-34.
80. Kawaguchi KR, Lu F-I, Kaplan R, Liu Y-F, Chadwick P, Chen Z, et al. In Search of the Ideal Immunopanel to Distinguish Metastatic Mammary Carcinoma From Primary Lung Carcinoma: A Tissue Microarray Study of 207 Cases. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* avr 2014;22(4):266-74.
81. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ. Mammaglobin vs GCDFP-15: an immunohistologic validation survey for sensitivity and specificity. *Am J Clin Pathol.* janv 2007;127(1):103-13.
82. Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, Rys J, Czapiewski P, Wazny K, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol.* janv 2014;38(1):13-22.

83. Lewis GH, Subhawong AP, Nassar H, Vang R, Illei PB, Park BH, et al. Relationship between molecular subtype of invasive breast carcinoma and expression of gross cystic disease fluid protein 15 and mammaglobin. *Am J Clin Pathol.* avr 2011;135(4):587-91.
84. Byrne DJ, Deb S, Takano EA, Fox SB. GATA3 expression in triple-negative breast cancers. *Histopathology.* juill 2017;71(1):63-71.
85. Cimino-Mathews A, Subhawong AP, Illei PB, Sharma R, Halushka MK, Vang R, et al. GATA3 expression in breast carcinoma: utility in triple-negative, sarcomatoid, and metastatic carcinomas. *Hum Pathol.* juill 2013;44(7):1341-9.
86. Liu H, Shi J, Prichard JW, Gong Y, Lin F. Immunohistochemical evaluation of GATA-3 expression in ER-negative breast carcinomas. *Am J Clin Pathol.* mai 2014;141(5):648-55.
87. Krings G, Nystrom M, Mehdi I, Vohra P, Chen Y-Y. Diagnostic utility and sensitivities of GATA3 antibodies in triple-negative breast cancer. *Hum Pathol.* nov 2014;45(11):2225-32.
88. Santuario-Facio SK, Cardona-Huerta S, Perez-Paramo YX, Trevino V, Hernandez-Cabrera F, Rojas-Martinez A, et al. A New Gene Expression Signature for Triple Negative Breast Cancer Using Frozen Fresh Tissue before Neoadjuvant Chemotherapy. *Mol Med Camb Mass.* 4 mai 2017;23.
89. Rody A, Karn T, Liedtke C, Pusztai L, Ruckhaeberle E, Hanker L, et al. A clinically relevant gene signature in triple negative and basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res BCR.* 6 oct 2011;13(5):R97.
90. Komatsu M, Yoshimaru T, Matsuo T, Kiyotani K, Miyoshi Y, Tanahashi T, et al. Molecular features of triple negative breast cancer cells by genome-wide gene expression profiling analysis. *Int J Oncol.* févr 2013;42(2):478-506.
91. Al-Ejeh F, Simpson PT, Sanus JM, Klein K, Kalimutho M, Shi W, et al. Meta-analysis of the global gene expression profile of triple-negative breast cancer identifies genes for the prognostication and treatment of aggressive breast cancer. *Oncogenesis.* 21 avr 2014;3:e100.
92. Cascione L, Gasparini P, Lovat F, Carasi S, Pulvirenti A, Ferro A, et al. Integrated microRNA and mRNA signatures associated with survival in triple negative breast cancer. *PloS One.* 2013;8(2):e55910.
93. Nonaka D, Chiriboga L, Rubin BP. Sox10: a pan-schwannian and melanocytic marker. *Am J Surg Pathol.* sept 2008;32(9):1291-8.
94. Mollaaghababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. *Oncogene.* 19 mai 2003;22(20):3024-34.
95. Kelsh RN. Sorting out Sox10 functions in neural crest development. *BioEssays News Rev Mol Cell Dev Biol.* août 2006;28(8):788-98.
96. Zhu YT, Jia Y, Hu L, Qi C, Prasad MK, McCallion AS, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor-binding protein (PBP) is essential for the growth of active Notch4-immortalized mammary epithelial cells by activating SOX10 expression. *Biochem J.* 23 déc 2009;425(2):435-44.

97. Artavanis-Tsakonas S, Rand MD, Lake RJ. Notch signaling: cell fate control and signal integration in development. *Science*. 30 avr 1999;284(5415):770-6.
98. Feng W, Liu S, Zhu R, Li B, Zhu Z, Yang J, et al. SOX10 induced Nestin expression regulates cancer stem cell properties of TNBC cells. *Biochem Biophys Res Commun*. avr 2017;485(2):522-8.
99. Ivanov SV, Panaccione A, Nonaka D, Prasad ML, Boyd KL, Brown B, et al. Diagnostic SOX10 gene signatures in salivary adenoid cystic and breast basal-like carcinomas. *Br J Cancer*. 23 juill 2013;109(2):444-51.
100. Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, Biernat W, Czapiewski P, Kopczynski J, et al. Sox10--a marker for not only schwannian and melanocytic neoplasms but also myoepithelial cell tumors of soft tissue: a systematic analysis of 5134 tumors. *Am J Surg Pathol*. juin 2015;39(6):826-35.
101. Cimino-Mathews A, Subhawong AP, Elwood H, Warzecha HN, Sharma R, Park BH, et al. Neural crest transcription factor Sox10 is preferentially expressed in triple-negative and metaplastic breast carcinomas. *Hum Pathol*. juin 2013;44(6):959-65.
102. Dravis C, Spike BT, Harrell JC, Johns C, Trejo CL, Southard-Smith EM, et al. Sox10 Regulates Stem/Progenitor and Mesenchymal Cell States in Mammary Epithelial Cells. *Cell Rep*. 29 sept 2015;12(12):2035-48.
103. Riemenschnitter C, Teleki I, Tischler V, Guo W, Varga Z. Stability and prognostic value of Slug, Sox9 and Sox10 expression in breast cancers treated with neoadjuvant chemotherapy. *SpringerPlus*. 2013;2:695.
104. Asselin-Labat M-L, Sutherland KD, Barker H, Thomas R, Shackleton M, Forrest NC, et al. Gata-3 is an essential regulator of mammary-gland morphogenesis and luminal-cell differentiation. *Nat Cell Biol*. févr 2007;9(2):201-9.
105. Rahim B, O'Regan R. AR Signaling in Breast Cancer. *Cancers*. 24 févr 2017;9(3).
106. Schweizer MT, Yu EY. AR-Signaling in Human Malignancies: Prostate Cancer and Beyond. *Cancers*. 11 janv 2017;9(1).
107. Berardi R, Morgese F, Santinelli A, Onofri A, Biscotti T, Brunelli A, et al. Hormonal receptors in lung adenocarcinoma: expression and difference in outcome by sex. *Oncotarget*. 13 déc 2016;7(50):82648-57.
108. Institut National du Cancer. Institut National du cancer - les chiffres du cancer en France - Epidémiologie des cancers -Les cancers les plus fréquents - le cancer du poumon [Internet]. 2018. Disponible sur: <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Les-cancers-les-plus-frequeents/Cancer-du-poumon>
109. Dela Cruz CS, Tanoue LT, Matthay RA. Lung cancer: epidemiology, etiology, and prevention. *Clin Chest Med*. déc 2011;32(4):605-44.
110. Howlader N, Noone AM, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, Altekruse SF, Kosary CL, Ruhl J, Tatalovich Z, Cho H, Mariotto A, Eisner MP, Lewis DR, Chen HS, Feuer EJ, Cronin KA, Edwards BK. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute. Bethesda, MD [Internet]. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2008, National Cancer Institute.

Bethesda, MD,; 2011. Disponible sur: https://seer.cancer.gov/csr/1975_2008/ based on November 2010 SEER data submission, posted to the SEER web site, 2011.

111. Herbst RS, Heymach JV, Lippman SM. Lung cancer. *N Engl J Med*. 25 sept 2008;359(13):1367-80.
112. Doll R, Hill AB. Smoking and carcinoma of the lung; preliminary report. *Br Med J*. 30 sept 1950;2(4682):739-48.
113. Wynder E, Graham E. Etiologic factors in bronchiogenic carcinoma with special reference to industrial exposures; report of eight hundred fifty-seven proved cases. *A M A Arch Ind Hyg Occup Med*. 1951;4(3):221-235;
114. Smith CJ, Perfetti TA, Rumble MA, Rodgman A, Doolittle DJ. « IARC group 2A Carcinogens » reported in cigarette mainstream smoke. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. avr 2000;38(4):371-83.
115. Smith C., Perfetti T., Mullens M., Rodgman A, Doolittle D. “IARC Group 2B Carcinogens” reported in cigarette mainstream smoke. *Food Chem Toxicol*. sept 2000;38(9):825-48.
116. Hoffmann D, Djordjevic MV, Rivenson A, Zang E, Desai D, Amin S. A study of tobacco carcinogenesis. LI. Relative potencies of tobacco-specific N-nitrosamines as inducers of lung tumours in A/J mice. *Cancer Lett*. 30 juill 1993;71(1-3):25-30.
117. Belinsky SA, Devereux TR, Maronpot RR, Stoner GD, Anderson MW. Relationship between the formation of promutagenic adducts and the activation of the K-ras protooncogene in lung tumors from A/J mice treated with nitrosamines. *Cancer Res*. 1 oct 1989;49(19):5305-11.
118. Rodenhuis S, Slebos RJ. Clinical significance of ras oncogene activation in human lung cancer. *Cancer Res*. 1 mai 1992;52(9 Suppl):2665s-2669s.
119. Sun S, Schiller JH, Gazdar AF. Lung cancer in never smokers--a different disease. *Nat Rev Cancer*. oct 2007;7(10):778-90.
120. Gray N. The consequences of the unregulated cigarette. *Tob Control*. oct 2006;15(5):405-8.
121. Minna J, Schiller J. Harrison's principles of internal medicine. 17th edition. New York: McGraw-Hill; 2008.
122. Wingo PA, Ries LA, Giovino GA, Miller DS, Rosenberg HM, Shopland DR, et al. Annual report to the nation on the status of cancer, 1973-1996, with a special section on lung cancer and tobacco smoking. *J Natl Cancer Inst*. 21 avr 1999;91(8):675-90.
123. Janerich DT, Thompson WD, Varela LR, Greenwald P, Chorost S, Tucci C, et al. Lung cancer and exposure to tobacco smoke in the household. *N Engl J Med*. 6 sept 1990;323(10):632-6.
124. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from « never smokers » and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 7 sept 2004;101(36):13306-11.
125. Rudin CM, Avila-Tang E, Harris CC, Herman JG, Hirsch FR, Pao W, et al. Lung cancer in never smokers: molecular profiles and therapeutic implications. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 15 sept 2009;15(18):5646-61.

126. Voorrips LE, Goldbohm RA, Verhoeven DT, van Poppel GA, Sturmans F, Hermus RJ, et al. Vegetable and fruit consumption and lung cancer risk in the Netherlands Cohort Study on diet and cancer. *Cancer Causes Control CCC*. févr 2000;11(2):101-15.
127. Prospective Studies Collaboration, Whitlock G, Lewington S, Sherliker P, Clarke R, Emberson J, et al. Body-mass index and cause-specific mortality in 900 000 adults: collaborative analyses of 57 prospective studies. *Lancet Lond Engl*. 28 mars 2009;373(9669):1083-96.
128. Turner MC, Chen Y, Krewski D, Calle EE, Thun MJ. Chronic obstructive pulmonary disease is associated with lung cancer mortality in a prospective study of never smokers. *Am J Respir Crit Care Med*. 1 août 2007;176(3):285-90.
129. Hosgood HD, Boffetta P, Greenland S, Lee Y-CA, McLaughlin J, Seow A, et al. In-home coal and wood use and lung cancer risk: a pooled analysis of the International Lung Cancer Consortium. *Environ Health Perspect*. déc 2010;118(12):1743-7.
130. Pope CA, Burnett RT, Thun MJ, Calle EE, Krewski D, Ito K, et al. Lung cancer, cardiopulmonary mortality, and long-term exposure to fine particulate air pollution. *JAMA*. 6 mars 2002;287(9):1132-41.
131. Driscoll T, Nelson DI, Steenland K, Leigh J, Concha-Barrientos M, Fingerhut M, et al. The global burden of disease due to occupational carcinogens. *Am J Ind Med*. déc 2005;48(6):419-31.
132. Warth A, Muley T, Herpel E, Meister M, Herth FJF, Schirmacher P, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies. *Histopathology*. déc 2012;61(6):1017-25.
133. Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, Pelosi G, Travis WD, Rekhtman N. p40 (Δ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. mars 2012;25(3):405-15.
134. Turner BM, Cagle PT, Sainz IM, Fukuoka J, Shen SS, Jagirdar J. Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma: evaluation of 1674 cases by tissue microarray. *Arch Pathol Lab Med*. févr 2012;136(2):163-71.
135. Bishop JA, Sharma R, Illei PB. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol*. janv 2010;41(1):20-5.
136. Yang M, Nonaka D. A study of immunohistochemical differential expression in pulmonary and mammary carcinomas. *Mod Pathol*. mai 2010;23(5):654-61.
137. Haute Autorité de Santé, Institut National du Cancer. Guide du parcours de soins. Tumeur maligne, affection maligne du tissu lymphatique ou hématopoïétique : Cancers bronchopulmonaires [Internet]. 2013. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2013-10/guide_k_bronchopulmonaires_finalweb__091013.pdf

SOX10, GATA3 and Androgen Receptor for the differential diagnosis between Triple Negative Breast Cancer and TTF1-negative Lung Adenocarcinoma

Elodie Laurent, MBBS^{1,2}, Hugues Begueret MD, PhD³, Benjamin Bonhomme MD¹, Rémi Veillon, MD⁴, Matthieu Thumerel MD, PhD⁵, Valérie Velasco, BSc¹, Véronique Brouste, MSc⁶, Stéphanie Hoppe, MD⁶, Marion Fournier, MD⁷, Thomas Grellety, MD, PhD^{2,8} and Gaëtan MacGrogan, MD¹.

¹Department of Biopathology, Institut Bergonié, Comprehensive Cancer Centre, F-33000 Bordeaux, France

²University of Bordeaux, F-33000 Bordeaux, France

³Department of Pathology, University Hospital of Bordeaux, F-33604, Pessac, France ⁴Department of Pneumology, University Hospital of Bordeaux, F-33604, Pessac, France

⁵Department of Thoracic Surgery, University Hospital of Bordeaux, F-33604, Pessac, France,

⁶Department of Clinical Research and Medical Information, Institut Bergonié, Comprehensive Cancer Centre, F-33000 Bordeaux, France

⁷Department of Surgery, Institut Bergonié, Comprehensive Cancer Centre, F-33000 Bordeaux, France

⁸Department of Medical Oncology, Institut Bergonié, Comprehensive Cancer Centre, F-33000 Bordeaux, France

Correspondence to: Dr G MacGrogan, Département de Biopathologie 229 cours de l'Argonne CS61283-33076 Bordeaux cedex France, Phone number : 0033556330436, Fax number : 0033556330438, E-mail address: G.MacGrogan@bordeaux.unicancer.fr

Conflicts of Interest and Source of Funding: *The authors would like to thank the Comité Prévention et Dépistage des cancers (<http://comitepreventiondepistagecancers.com/>) for funding the purchase of a TMA arrayer that enabled us to perform this study.*

The authors have disclosed that they have no significant relationships with, or financial interest in, any commercial companies pertaining to this article.

Abstract

Triple-negative breast cancer (TNBC) has an increased risk of developing visceral metastases and other primary non-breast cancers, particularly lung cancer. The differential diagnosis of TNBC metastases and primitive cancers from other organs can be difficult due to lack of a TNBC standard immunoprofile.

We analyzed the diagnostic value of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), human epidermal growth factor receptor (HER2), Thyroid transcription factor-1 (TTF1), Napsin A, Sry-related HMg-Box gene 10 (SOX10), GATA-binding protein 3 (GATA3) and androgen receptor (AR) in a series of 207 TNBC and 152 primary lung adenocarcinomas (LA).

All tested TNBCs were TTF1 and Napsin A-negative. When comparing TNBC and TTF1-positive or negative LA, SOX10 had the best sensitivity (62.3%) and specificity (100%) as marker in favor of TNBC compared to LA, irrespective of TTF1 status ($p < 0.0001$). GATA3 had moderate sensitivity (30.4%) and excellent specificity (98.7%) as marker for TNBCs compared to TTF1-negative LA and misclassified only 2/152 LA (1.3%). AR had a moderate sensitivity (30%) and good specificity (91.4%) and misclassified 20/152 (13.1%) LA. In SOX10-negative TNBC, GATA3 outperformed AR to differentiate TNBC from TTF1-negative LA [OR=23.4; 95%IC(5.2-105.6); $p < 0.0001$] and [OR=4.9; 95%CI(2.15-11); $p = 0.0001$], respectively. Only 22/207 (10.6%) TNBC cases did not express any aforementioned marker.

Based our results, the best sequential immunohistochemical analysis to differentiate TNBC from TTF1-negative LA is first SOX10 followed by GATA3, and finally AR. This order is important in the diagnostic workup of small biopsies from lung nodules in women with a previous history of TNBC.

Key words: Triple negative breast cancer, Lung adenocarcinoma, SOX10, TTF1, GATA3, Androgen receptor

Introduction:

Triple-negative breast cancers (TNBCs) are defined by the absence of estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR) and a human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) negative status. They account for 10-20% of all breast cancers (1). TNBCs usually are of high grade with an elevated mitotic count and a high proliferative index (2–4).

TNBC patients often tend to develop visceral metastases compared to other breast cancer subtypes (5). Despite the lower risk of lymph node and bone metastases (10%), TNBCs present a higher risk of developing lung (40%), brain (30%) and liver (20%) metastases compared to hormonal positive breast cancer subtypes (1,5). This results in poorer prognosis for TNBCs.

Several recent studies have shown that patients with a history of breast cancer have an increased risk of developing another primary non-breast cancer, particularly lung cancer, compared to the general population (6–10). When a lung nodule is detected in a patient with previous history of TNBC, it can be problematic to diagnose, with certainty, whether it is metastatic TNBC or primary lung adenocarcinoma (LA). Morphological features of TNBCs and solid subtype LAs can be quite similar. Thyroid transcription factor-1 (TTF1) and Napsin A are specific and sensitive markers for primary LA; however, these proteins are not expressed in 27-36% and 13-17% of LAs, respectively, with even lower expression rates in solid variants of LA (11,12). To date, there is no recognized universal standard TNBC-specific immunophenotype due to its intrinsic molecular heterogeneity (13–15). Mammaglobulin, Gross cystic Disease Fluid Protein 15 (GCFP15) and especially GATA binding protein 3 (GATA3) have demonstrated excellent sensitivities (94-100%) for the diagnosis of ER+/PR+ luminal breast cancer subtypes (16–18). Mammaglobulin and GCFP15 are also highly specific (92%) of luminal breast cancer (19). However, GATA3 is not specific as it also present in urothelial and salivary gland cancers, prostatic basal cells, epidermis and T-lymphocyte subpopulations (20). Regarding TNBCs, the sensitivities for GCFP15 and mammaglobulin are only 14-30% (primitive or metastatic tumors) and 25-41% (metastatic lesions), respectively, with many positive tumors displaying only focal staining (16,17,21). In fact, the most sensitive immunohistochemical (IHC)

marker for TNBC is GATA3 with 20-66% positivity using the mouse monoclonal anti-GATA3 antibody (clone L50-823) and depending of the scoring scale used (22-25).

Hence, there are a non-negligible number of pulmonary nodules found in patients with a history of TNBC in which the pathologist cannot differentiate, with certainty, a TNBC metastasis from a primitive LA. Furthermore, given the very sparse tumor material available in lung biopsies, it is very important to follow a thrifty IHC strategy to differentiate TNBC from primary LAs.

Confronted with these issues, we decided to explore the added value of new TNBC IHC markers to distinguish from primary LA. We focused on genes known to be expressed or overexpressed in TNBCs such as Sry-related HMg-Box gene 10 (*SOX10*), which is involved in the tumor formation and development of TNBCs (26,27). We also focus on androgen receptor (AR) expression, which defines a subclass of TNBCs known as molecular apocrine (28) or luminal androgen receptor subtype (13).

In this study, we performed a comparative analysis on the IHC expressions of ER, PR, HER2, TTF1, Napsin A, Cytokeratin 7 (CK7), AR, GATA3 and SOX10 between TNBC, TTF1-positive and TTF1-negative LAs.

Materials and Methods:

Patients

This study was approved by our institutional review board. The project and data collection were declared to the national French commission on informatics and liberty (CNIL). Patients were informed of the study project and those who consented to use their tumor material were included in this study.

Two hundred and seven cases of formalin fixed paraffin embedded (FFPE) triple negative breast cancers, from patients treated by primary surgery at Institute Bergonié between 2007 and 2012, were retrieved from our pathology department and were used to construct a tissue microarray (TMA) made

of three to five 1 mm cores of each tumor. Another TMA was constructed, using three 1 mm cores from 95 FFPE TTF1-negative and from 57 FFPE TTF1-positive primary LAs treated by primary lung surgery, partial pleurectomy or adenectomy at Hôpital Haut Lévêque, Bordeaux University Hospital, between 2005 and 2016.

Immunohistochemistry

IHC analyses was performed on 3 µm TMA sections using ER, PR, HER2/neu, CK7, TTF1, Napsin A, GATA-binding protein 3 (GATA3), SOX10 and AR antibodies. All immunohistochemical techniques were performed on a Roche Ventana Benchmark ultra-automat. Details of antibody clones, manufacturers, dilutions used, incubation times, pretreatment buffers and staining kits are summarized in **Table 1**.

Nuclear staining was assessed for ER and PR. A negative ER and/or PR status was defined by the presence of less than 1% of positive tumor cells. HER2/neu staining was scored according to the ASCO/CAP 2013 recommendations(29). The H-score(30) was used for the interpretation of the all the other immunohistochemical factors. The H-score is obtained by multiplying the percentage of positive tumor cells by the staining intensity (0, no staining; 1, weak staining; 2, moderate staining and 3, strong staining). The resulting score ranges from 0 to 300. A marker was considered positive when its H-score was ≥ 10 . Nuclear staining was assessed for TTF1, SOX10, GATA3 and AR. Cytoplasmic staining was assessed for CK7 and Napsin A.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using the 9.4 SAS software version (SAS Institute, Inc., Cary,NC). Qualitative data are described by their cohort numbers and percentages; quantitative data by their median values and their range [min-max]. The sensitivity of a marker for detecting TNBC as opposed to LA was calculated by dividing the number of TNBC positive cases with this marker by the total

number of TNBC. The specificity of a marker for detecting TNBC as opposed to LA was calculated by dividing the number of LA negative cases for this marker by the total number of LA. The predictive strength of markers for differentiating TNBC from LA was assessed by logistic regression analysis: odd ratios (OR), 95% confidence intervals (95%CI) with corresponding *P* Walds were reported. The association between an immunohistochemical marker and a TNBC diagnosis was assessed by univariate analysis. A *P-value* <0.05 was considered significant. The significant markers from the univariate analysis were evaluated in a multivariate analysis using the step-down method of logistic regression. The association between SOX10 and other markers was assessed using the Chi_2 test or Fisher test depending on cohort numbers.

The follow-up was calculated using the inverse Kaplan-Meier method, where deaths are censored. Overall survival (OS) was measured from the date of surgery to the time of death from any cause or last known information. The OS probabilities were calculated using the Kaplan Meier method.

Results

Patient Demographics

The clinical and histological TNBC characteristics are presented in **Table 2**. Median age in the TNBC cohort was 60 years [26-96]. TNBCs in our series were relatively small [median size, 17 mm (range, 2.5-150)]. Tumors were more often Elston & Ellis grade 3; there were no grade 1 tumors in the series. The most common histological type was invasive carcinoma of no special type (84.5%). Axillary lymph node status was assessed in 177 (85.5%) patients at the time of diagnosis and showed a low rate (23.2%) of metastatic lymph nodes. With a median follow-up of 69.3 months, the 3- and 5-year survival probabilities in the TNBC cohort were 92% [95%CI (87.3-95.0)] and 88.5% [95%CI (83.1-92.3)], respectively. At last follow-up 21 patients (10.1%) developed a breast cancer metastasis, with bone and lung the most frequent metastatic sites. Six (2.9%) patients developed other primary cancers during the follow-up period: two head and neck cancers, one angiosarcoma, one primary LA, one ovarian carcinoma and one melanoma.

The clinical and histological LA characteristics are presented in **Table 3**. Two cohorts were defined on the basis of the TTF1 status: a TTF1-negative cohort of 95 patients and a TTF1-positive cohort of 57 patients. Both cohorts were selected from 1585 LAs treated by surgery during 2005-2016. The TTF1-negative cohort (N=95) comprised of 30.5% women and 69.5% men. The median age was 62 years [38-84]. The most common histological subtype was solid adenocarcinoma (41.1%) according to the latest WHO Classification (2015) (31). The tumoral stage was determined according to the 8th edition of the TNM classification (32) for non-small cell lung cancer. Most often, tumors were intraparenchymatous with a size ranging from 31-70 mm [41/95 (43.2%)], (pT2a/b), and second most frequent, tumors were larger than 70 mm or had locoregional involvement [30/95 (31.6%)], (pT3). Lymph node status was known in 87.4% of cases and was positive in 22 cases (23.2%). Thirty-two out of 78 (41%) patients for whom a follow-up was available developed multiple metastases. The three most frequent metastatic sites were brain (12 cases), lung (10 cases) and adrenal gland (7 cases). Interestingly, one patient had a past history of breast cancer (luminal carcinoma) before the lung cancer diagnosis. With a median follow-up of 15.6 months, 19/78 patients (24.3%) died of disease. The median OS was not reached.

The TTF1-positive LA cohort (N=57) comprised of 89.5% women and 10.5% men. The median age was 62 years [37-85]. The most common histological type was acinar adenocarcinoma (70.2%). Tumors were more often intraparenchymatous with a size ranging from 31-70 mm [27/57(47.4%)], (pT2a/b), and second most frequent tumors were smaller than 31 mm 22/57(38.5%), (pT1a/b). Lymph node status was known in all cases and was positive in 16 cases (28.1%). Five out of 56 (8.9%) patients for whom follow-up was available developed multiple lung cancer metastases, the most frequent being brain (4 cases) and lung (2 cases). Five patients had a past history of breast cancer before the lung cancer diagnosis (3 luminal carcinomas, one in situ lobular carcinoma and one of unknown subtype). With a median follow of 22.3 months, 3 patients (5.3%) died of disease. The median OS was not reached.

Immunohistochemical results

The results of the IHC analysis in the three cohorts are shown in **Table 4**.

The IHC staining patterns of representative cases in the series are illustrated in **Figure 1**.

None of the 207 TNBCs expressed ER, PR, TTF1 nor Napsin A. All TNBC cases were Her2 negative. Concerning CK7, only 6/207 did not express this marker. Among them, 4 were metaplastic spindle cell carcinomas.

We then verified whether TTF1 labeling was distributed correctly among the two LA cohorts. As expected, the results showed that the labeling was negative in the TTF1-negative LA cohort and positive in the TTF1-positive LA cohort. Concerning Napsin A, 5 (8.8%) TTF1-negative LAs were Napsin A-positive and 5 (5.3%) TTF1-positive LAs were Napsin A-negative. Four LAs in the TTF1-negative cohort showed ER positivity with a very weak staining (<5% positive tumor cells with a weak intensity of staining). The only HER2-positive LA case was found in a male patient with no past history of carcinoma. Concerning the TTF1-positive LA cohort, 14 cases were ER-positive, six with <10% tumor cell tumor positivity and eight cases with more than 10% tumor cell tumor positivity.

The most interesting result in our series was the SOX10 expression pattern. Indeed, SOX10 was positive in 129/207 TNBCs (Sensitivity of 62.3%) and no expression of this marker was observed in TTF1-negative or positive LA cohorts (Specificity: 100%; $p < 0.0001$).

SOX10 staining was present in the tumor cell nuclei and was easy to read. The median H-score for SOX10 in our series of TNBC was 80 [10-300].

There was an inverse correlation between AR and SOX10 with 89.1% (115/129) of SOX10-positive TNBC that were AR-negative and 61.5% (48/78) of SOX10-negative TNBC were AR-positive ($p < 0.0001$). SOX10 and GATA3 were also inversely correlated, 79.8% (103/129) of SOX10-positive TNBC were GATA3-negative and 47.4% (37/78) of SOX10-negative TNBC were GATA3-positive ($p < 0.0001$).

GATA3 and AR were more frequently expressed in the TNBCs compared to the TTF1-negative or positive LAs. The AR and GATA3 sensitivities in the TNBC cohort were of 30% and 30.4%, respectively, with median H-scores of 120 (10-300) and 40 (10-270), respectively.

These markers also showed excellent specificities, compared to the overall population of LA, irrespective of TTF1 status: 86% for AR and 98.7% for GATA3.

Amongst SOX10, AR and GATA3, SOX10 had the best sensitivity and specificity as marker in favor of TNBC compared to LA, whatever the TTF1 status.

The conclusion of the first part of our study was that TTF1 and Napsin A were 100% specific of LA and that SOX10 was 100% specific of TNBC in a diagnostic setting comparing TNBC and LA.

In the second part of our study, we set out to identify the best marker combination between GATA3 and AR, enabling the distinction between SOX10-negative TNBC and TTF1 and Napsin A-negative LA, by comparing their expression patterns in the 78/207 SOX10-negative TNBC and 90/152 TTF1 and Napsin A-negative LA.

In univariate analysis, the two markers significantly predicted a TNBC diagnosis compared to a LA diagnosis: GATA3 [OR=39.7; 95%CI (9.1-172.8); $p<0.001$] and AR [OR=8.7; 95%CI (4.1-18.0); $p<0.001$]. In multivariate analysis, the two markers were independent predictors of a TNBC diagnosis: GATA3 [OR=23.4; 95%CI (5.2-105.6); $p<0.0001$] and AR [OR=4.9; 95%CI (2.15-11); $p=0.0001$].

Combining SOX10, GATA3 and AR positivity enabled the identification of 185/207 (89.4%) TNBC cases in our study.

AR and GATA3 displayed equivalent sensitivities in the whole TNBC cohort. GATA3 had a higher specificity, only 2/152 (1.3%) LAs were GATA3-positive compared to 20/152 (13.1%) LAs were AR-positive. Hence, this marker was considered the second most useful marker, after SOX10, to differentiate TNBCs from LAs. Nevertheless, based on the significant results of univariate and multivariate analyses, AR expression is reliable for TNBC diagnosis. Taken together, the best

sequential IHC analysis to differentiate TNBC from TTF1-negative LAs is first SOX10, followed by GATA3, and finally AR (**Figure 2**).

Discussion

To the best of our knowledge, this is the first comprehensive comparative study on SOX10, GATA3 and AR expression in TNBC and TTF1-negative LA.

Patients with a history of breast cancer have an increased risk of developing primary cancers at other sites, including lung cancer (33). The risk of developing cancers at other sites is essentially observed after hormonal receptor (HR)-negative breast cancer. For instance, there is an increased risk of developing a lung cancer following HR-negative breast cancer compared to HR-positive [adjusted hazard ratio (hr) of 1.22; 95%CI (1.10-1.37)] with a maximum risk during the first 5 years after the diagnosis (34). The increased risk of developing a primary cancer at another site could be explained by susceptibility genes, shared environmental factors, or radiotherapy for breast cancer (8,33,35–37). The lung cancer risk is elevated in smoker patients [hr: 2.04; 95%CI (1.24 to 3.36)] (33).

In our cohort, 6 patients with a TNBC history developed another primitive cancer, including one lung adenocarcinoma in a woman smoker.

Distinguishing between breast cancer lung metastases and primary LA can be challenging for the pathologist. This distinction can be made by comparing the morphology of the lung lesion to that of the primary breast tumor or by identifying an *in situ* component. However, biopsy specimens received by the pathologist are often too small to classify a lung nodule and a meticulous morphological study is rather impossible. Hence, a panel of immunostains is often needed for definitive diagnosis. However, a minimal quantity of biopsy material has to be used to preserve enough material in case theranostic molecular studies need to be performed.

Both breast and LAs share the cytokeratin (CK) 7-positive and CK20-negative immunoprofile (38). The classical IHC panel of ER, PR, commonly used to establish breast origin cannot be used for TNBC, by definition.

On the other hand, TTF1 and Napsin A are specific LA markers but do not label in 100% of LAs (11,12). Particularly in the case of poorly differentiated adenocarcinomas, like the solid variant, TTF1 and Napsin A are not expressed in 54% and 31% of cases, respectively (12). Furthermore, the solid variant morphology can mimic a high grade TNBC. We deliberately chose to over represent the TTF1-negative category of LA to perform our comparative study with TNBC and hence, there is an over-representation of the solid adenocarcinoma variant in our series.

The basal breast cancer term, as defined by Perou and Sorlie (39), is frequently used as a TNBC synonym. However, it is well-known that the two groups are, to a certain extent, separate entities. Indeed, it is estimated that 25-30% TNBCs are non-basal tumors and the basal tumors are non-triple-negative (40). As several studies have demonstrated, at molecular level, TNBC is a heterogeneous disease (13,14,28,41). Several IHC panels have been constructed to recognize TNBC with a basal phenotype (42). Nielsen et al (43) defined basal-like breast cancer as any staining with CK5/6 or epidermal growth factor receptor (EGFR) antibodies in the context of HER2 and ER negativity. Livasy et al (44) reported that negative expression of ER and HER2 with positive expression of EGFR, CK5/6, CK8/18 and vimentin was the most consistent immunophenotype of basal-like breast tumors. More recently, Won et al (45) compared 46 IHC markers of basal-like breast cancer against a gene expression profile gold standard. Ki67 and PPH3 were the most sensitive biomarkers positively expressed in the basal-like subtype, whereas CK14, IMP3 and NGFR were the most specific. Loss of INPP4B and expression of Nestin were also highly specific. All these markers may be relevant to differentiate a primary TNBC from other molecular subtypes of breast cancer. However, most of them are of no use to prove the mammary origin of the metastatic lesion. Furthermore, these markers do not detect the molecular apocrine carcinoma subtype which is a subset of TNBC that expresses AR, (28). This subtype was subsequently referred to as the luminal androgen receptor subtype (13,14).

SOX10

Our results show 100% specificity of SOX10 expression in TNBC compared to LA, irrespective of TTF1 status. This can be explained by the different embryological origins of the breast and the lung.

Indeed, the breast is derived from the ectodermal major germ layer and the lung from the endodermal major germ layer (46,47). SOX10 is a nuclear transcription factor that plays an important role in the neural crest development and differentiation (48,49). SOX10 also plays a role in the stem cell maintenance and cell differentiation, through Notch signaling pathways (50) and regulates cancer stem cell properties of TNBC cells by inducing Nestin expression at both mRNA and protein levels (51).

IHC labeling of SOX10 was primarily used to support the diagnosis of melanoma and nerve sheath tumors(52). Subsequently, Cimino-Mathews et al. showed that SOX10 labeled in 66% of the basal-like, unclassified triple-negative and metaplastic carcinomas compared to 5% of the luminal A, B and HER-2 carcinomas(53). Recently, Miettinen et al. showed that SOX10 also expressed in soft tissue myoepitheliomas, adenoid cystic carcinomas, rare squamous carcinomas of head and neck, rare pulmonary small cell carcinomas and embryonal carcinomas. More importantly, in the context of a metastatic carcinoma of unknown origin, no expression of SOX10 was found in colon, gastric, bile duct, liver, pancreatic, ovarian, endometrial, prostate, renal, adrenocortical, urothelial carcinomas and malignant mesotheliomas in their study. One case out of 86 LAs was SOX10-positive(54). Furthermore, SOX10 expression is maintained in metastatic sites of breast cancer, particularly in lung metastasis (55). Given these different data, SOX10 appears to be an excellent TNBC marker, especially to establish a breast origin of tumor nodules in endodermal and mesodermal-derived organs in patients with a medical history of breast cancer.

GATA3

GATA3 is one of six members of the zinc-finger binding transcription factor family that regulates the specification and differentiation of many tissue types, including luminal epithelial cell differentiation in the adult mammary gland (56). GATA3 is one of the most sensitive IHC markers reported for TNBC, with 43-48% positivity (22,23), using the mouse clone L50-823 anti-GATA3 antibody. But GATA3 is also widely expressed in a variety of epithelial and non-epithelial neoplasms making it difficult to use as the sole marker for determining the breast origin of a metastasis of unknown primary

cancer (20). GATA3 was the second-best marker in our study, with a sensitivity of 30.4% and a specificity of 98.7%. Only 2 cases of LA were misclassified with this marker. The inverse correlation observed in our study between SOX10 and GATA3 may be an additional argument to use these two markers primarily in small lung biopsy samples, in order to sign a TNBC origin with maximum effectiveness and sample preservation.

Androgen Receptor

AR is a steroid hormone nuclear receptor that functions as a DNA-binding transcription factor. AR IHC expression is found in ER-positive, HER2-positive cancers and TNBCs. AR expression is generally observed in 20-40% of TNBC cases, depending on the IHC methodology used and the positivity cut-off (57). Several gene expression array studies have identified a subset of TNBCs, named molecular apocrine or luminal androgen receptor tumors, characterized by AR expression and of many genes that are expressed in ER-positive luminal tumors (13,14,28). AR is also expressed in prostate cancer, urothelial cancer, renal cell cancer, hepatocellular carcinoma, endometrial carcinoma, salivary duct carcinoma, lacrymal carcinoma and lung adenocarcinoma (58,59). In our study, AR was positive in 30% of TNBCs with a specificity of 86%, which is similar to reports in the literature (60–65). In the 62 AR positive TNBCs, the second most frequent histological subtype, after invasive carcinoma NST (No Special Type), was apocrine carcinoma (6 of 9, 9.7%).

AR expressed in 6/57 TTF1-positive and 14/95 TTF1-negative LAs and was less specific than SOX10 and GATA3. Expression of hormonal receptors ER α and β , PR and AR in LAs is known (59) and could hinder differential diagnosis with a metastatic breast carcinoma. Therefore, detecting AR using a panel of IHC markers - preferably after TTF1, SOX10 and GATA3 - is recommended for correct diagnosis of metastatic TNBC in the lung.

In **conclusion**, SOX10 is an excellent marker to differentiate TNBC from LA, irrespective of TTF1

status. Furthermore, GATA3 and AR expression helped differentiating SOX10-negative TNBC from TTF1-negative LA. All three combined identified 185/207 TNBC in our study with a sensitivity of 89.4% and a specificity of 90.1%. We believe that this strategy should be considered for the diagnostic workup of a pulmonary nodule in patients with a previous history of TNBC.

Acknowledgments

We thank Dr. Ravi Nookala of Institut Bergonié for the medical writing service and Dorothée Quincy for editorial assistance.

1. Foulkes WD, Smith IE, Reis-Filho JS. Triple-Negative Breast Cancer. *N Engl J Med*. 2010 Nov 11;363(20):1938–48.
2. Penault-Llorca F, Radosevic-Robin N. Biomarkers of residual disease after neoadjuvant therapy for breast cancer. *Nat Rev Clin Oncol*. 2016 Aug;13(8):487–503.
3. Esserman LJ, Moore DH, Tsing PJ, et al. Biologic markers determine both the risk and the timing of recurrence in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2011 Sep;129(2):607–16.
4. Boyle P. Triple-negative breast cancer: epidemiological considerations and recommendations. *Ann Oncol*. 2012 Aug 1;23(suppl 6):vi7–12.
5. Dent R, Hanna WM, Trudeau M, et al. Pattern of metastatic spread in triple-negative breast cancer. *Breast Cancer Res Treat*. 2009 May;115(2):423–8.
6. Tanaka H, Tsukuma H, Koyama H, et al. Second primary cancers following breast cancer in the Japanese female population. *Jpn J Cancer Res*. 2001 Jan;92(1):1–8.
7. Buiatti E, Crocetti E, Acciai S, et al. Incidence of second primary cancers in three Italian population-based cancer registries. *Eur J Cancer*. 1997 Oct;33(11):1829–34.
8. Evans HS, Lewis CM, Robinson D, et al. Incidence of multiple primary cancers in a cohort of women diagnosed with breast cancer in southeast England. *Br J Cancer*. 2001 Feb 2;84(3):435–40.
9. Schaapveld M, Visser O, Louwman MJ, et al. Risk of new primary nonbreast cancers after breast cancer treatment: a Dutch population-based study. *J Clin Oncol*. 2008 Mar 10;26(8):1239–46.
10. Møller L, Friis S, Olsen JH, et al. Risk of second cancer among women with breast cancer. *Int J Cancer*. 2006 May 1;118(9):2285–92.

11. Turner BM, Cagle PT, Sainz IM, et al. Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma: evaluation of 1674 cases by tissue microarray. *Arch Pathol Lab Med.* 2012 Feb;136(2):163–71.
12. Bishop JA, Sharma R, Illei PB. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol.* 2010 Jan;41(1):20–5.
13. Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *J Clin Invest.* 2011 Jul;121(7):2750–67.
14. Burstein MD, Tsimelzon A, Poage GM, et al. Comprehensive genomic analysis identifies novel subtypes and targets of triple-negative breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2015 Apr 1;21(7):1688–98.
15. Koboldt DC, Fulton RS, McLellan MD et al. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2012 Oct 4;490(7418):61–70..
16. Yang Y, Lu S, Zeng W, et al. GATA3 expression in clinically useful groups of breast carcinoma: a comparison with GCDFP15 and mammaglobin for identifying paired primary and metastatic tumors. *Ann Diagn Pathol.* 2017 Feb;26:1–5.
17. Huo L, Zhang J, Gilcrease MZ, et al. Gross cystic disease fluid protein-15 and mammaglobin A expression determined by immunohistochemistry is of limited utility in triple-negative breast cancer. *Histopathology.* 2013 Jan;62(2):267–74.
18. Shaoxian T, Baohua Y, Xiaoli X, et al. Characterisation of GATA3 expression in invasive breast cancer: differences in histological subtypes and immunohistochemically defined molecular subtypes. *J Clin Pathol.* 2017 Nov;70(11):926–34.
19. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ. Mammaglobin vs GCDFP-15: an immunohistologic validation survey for sensitivity and specificity. *Am J Clin Pathol.* 2007 Jan;127(1):103–13.
20. Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol.* 2014 Jan;38(1):13–22.
21. Lewis GH, Subhawong AP, Nassar H, et al. Relationship between molecular subtype of invasive breast carcinoma and expression of gross cystic disease fluid protein 15 and mammaglobin. *Am J Clin Pathol.* 2011 Apr;135(4):587–91.
22. Byrne DJ, Deb S, Takano EA, et al. GATA3 expression in triple-negative breast cancers. *Histopathology.* 2017 Jul;71(1):63–71.
23. Cimino-Mathews A, Subhawong AP, Illei PB, et al. GATA3 expression in breast carcinoma: utility in triple-negative, sarcomatoid, and metastatic carcinomas. *Hum Pathol.* 2013 Jul;44(7):1341–9.
24. Liu H, Shi J, Prichard JW, et al. Immunohistochemical evaluation of GATA-3 expression in ER-negative breast carcinomas. *Am J Clin Pathol.* 2014 May;141(5):648–55.
25. Krings G, Nystrom M, Mehdi I, et al. Diagnostic utility and sensitivities of GATA3 antibodies in triple-negative breast cancer. *Hum Pathol.* 2014 Nov;45(11):2225–32.

26. Mina A, Yoder R, Sharma P. Targeting the androgen receptor in triple-negative breast cancer: current perspectives. *OncoTargets Ther.* 2017 Sep; 10:4675–85.
27. Panaccione A, Guo Y, Yarbrough WG, et al. Expression Profiling of Clinical Specimens Supports the Existence of Neural Progenitor-Like Stem Cells in Basal Breast Cancers. *Clin Breast Cancer.* 2017 Jul;17(4):298-306.e7.
28. Farmer P, Bonnefoi H, Becette V, et al. Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis. *Oncogene.* 2005 Jul 7;24(29):4660–71.
29. Wolff AC, Hammond MEH, Hicks DG, et al. Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 Testing in Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Clinical Practice Guideline Update. *J Clin Oncol.* 2013 Nov;31(31):3997–4013.
30. Kinsel LB, Szabo E, Greene GL, et al. Immunocytochemical analysis of estrogen receptors as a predictor of prognosis in breast cancer patients: comparison with quantitative biochemical methods. *Cancer Res.* 1989 Feb 15;49(4):1052–6.
31. Travis W, Brambilla E, Burke A, et al. WHO Classification of Tumours of the Lung, Pleura, Thymus and Heart. WHO Classification of Tumours, 4th Edition, Volume 7 : International Agency for Research on Cancer. Lyon; 2015.
32. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. TNM Classification of Malignant Tumors, Eighth edition. Oxford, UK ; Hoboken, NJ : John Wiley & Sons, Inc., 2017.
33. Prochazka M, Hall P, Gagliardi G, et al. Ionizing radiation and tobacco use increases the risk of a subsequent lung carcinoma in women with breast cancer: case-only design. *J Clin Oncol.* 2005 Oct 20;23(30):7467–74.
34. Schonfeld SJ, Curtis RE, Anderson WF, et al. The risk of a second primary lung cancer after a first invasive breast cancer according to estrogen receptor status. *Cancer Causes Control.* 2012 Oct;23(10):1721–8.
35. Inskip PD, Stovall M, Flannery JT. Lung cancer risk and radiation dose among women treated for breast cancer. *J Natl Cancer Inst.* 1994 Jul 6;86(13):983–8.
36. Grantzau T, Overgaard J. Risk of second non-breast cancer among patients treated with and without postoperative radiotherapy for primary breast cancer: A systematic review and meta-analysis of population-based studies including 522,739 patients. *Radiother Oncol.* 2016 Dec;121(3):402–13.
37. Bazire L, De Rycke Y, Asselain B, et al. Risks of second malignancies after breast cancer treatment: Long-term results. *Cancer/Radiothérapie.* 2017 Feb;21(1):10–5.
38. Nan Ping Wang, Zee S, Zarbo RJ, et al. Coordinate Expression of Cytokeratins 7 and 20 Defines Unique Subsets of Carcinomas. *Appl Immunohistochem.* 1995 Jul 1;3(2):99–107,.
39. Perou CM, Sørlie T, Eisen MB, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature.* 2000 Aug 17;406(6797):747–52.
40. Bertucci F, Finetti P, Cervera N, et al. How basal are triple-negative breast cancers? *Int J Cancer.* 2008 Jul 1;123(1):236–40.
41. Rody A, Karn T, Liedtke C, et al. A clinically relevant gene signature in triple negative and basal-like breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2011 Oct 6;13(5):R97.

42. Choo JR, Nielsen TO. Biomarkers for Basal-like Breast Cancer. *Cancers*. 2010 May 28;2(2):1040–65.
43. Nielsen TO, Hsu FD, Jensen K, et al. Immunohistochemical and clinical characterization of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Clin Cancer Res*. 2004 Aug 15;10(16):5367–74.
44. Livasy CA, Karaca G, Nanda R, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Mod Pathol*. 2006 Feb;19(2):264–71.
45. Won JR, Gao D, Chow C, et al. A survey of immunohistochemical biomarkers for basal-like breast cancer against a gene expression profile gold standard. *Mod Pathol*. 2013 Nov;26(11):1438–50.
46. Laurence DJ, Monaghan P, Gusterson BA. The development of the normal human breast. *Oxf Rev Reprod Biol*. 1991;13:149–74.
47. Reid L. The Embryology of the Lung. In: de Reuck AVS, Porter R, eds. *Ciba Foundation Symposium : Development of the Lung*. London : Churchill, 1967 : 109–30.
48. Mollaaghbababa R, Pavan WJ. The importance of having your SOX on: role of SOX10 in the development of neural crest-derived melanocytes and glia. *Oncogene*. 2003 May 19;22(20):3024–34.
49. Kelsh RN. Sorting out Sox10 functions in neural crest development. *BioEssays*. 2006 Aug;28(8):788–98.
50. Zhu YT, Jia Y, Hu L, et al. Peroxisome-proliferator-activated receptor-binding protein (PBP) is essential for the growth of active Notch4-immortalized mammary epithelial cells by activating SOX10 expression. *Biochem J*. 2009 Dec 23;425(2):435–44.
51. Feng W, Liu S, Zhu R, et al. SOX10 induced Nestin expression regulates cancer stem cell properties of TNBC cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2017 Apr;485(2):522–8.
52. Nonaka D, Chiriboga L, Rubin BP. Sox10: a pan-schwannian and melanocytic marker. *Am J Surg Pathol*. 2008 Sep;32(9):1291–8.
53. Cimino-Mathews A, Subhawong AP, Elwood H, et al. Neural crest transcription factor Sox10 is preferentially expressed in triple-negative and metaplastic breast carcinomas. *Hum Pathol*. 2013 Jun;44(6):959–65.
54. Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, et al. Sox10--a marker for not only schwannian and melanocytic neoplasms but also myoepithelial cell tumors of soft tissue: a systematic analysis of 5134 tumors. *Am J Surg Pathol*. 2015 Jun;39(6):826–35.
55. Nelson ER, Sharma R, Argani P, et al. Utility of Sox10 labeling in metastatic breast carcinomas. *Hum Pathol*. 2017 Sep;67:205–10.
56. Asselin-Labat M-L, Sutherland KD, Barker H, et al. Gata-3 is an essential regulator of mammary-gland morphogenesis and luminal-cell differentiation. *Nat Cell Biol*. 2007 Feb;9(2):201–9.
57. Rahim B, O'Regan R. AR Signaling in Breast Cancer. *Cancers*. 2017 Feb 24;9(3).
58. Schweizer MT, Yu EY. AR-Signaling in Human Malignancies: Prostate Cancer and Beyond. *Cancers*. 2017 Jan 11;9(1).

59. Berardi R, Morgese F, Santinelli A, et al. Hormonal receptors in lung adenocarcinoma: expression and difference in outcome by sex. *Oncotarget*. 2016 Dec 13;7(50):82648–57.
60. Thike AA, Yong-Zheng Chong L, Cheok PY, et al. Loss of androgen receptor expression predicts early recurrence in triple-negative and basal-like breast cancer. *Mod Pathol*. 2014 Mar;27(3):352–60.
61. Rakha EA, El-Sayed ME, Green AR, et al. Prognostic markers in triple-negative breast cancer. *Cancer*. 2007 Jan 1;109(1):25–32.
62. Niemeier LA, Dabbs DJ, Beriwal S, et al. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. *Mod Pathol*. 2010 Feb;23(2):205–12.
63. Park S, Koo J, Park HS, et al. Expression of androgen receptors in primary breast cancer. *Ann Oncol*. 2010 Mar;21(3):488–92.
64. Peters AA, Buchanan G, Ricciardelli C, et al. Androgen receptor inhibits estrogen receptor-alpha activity and is prognostic in breast cancer. *Cancer Res*. 2009 Aug 1;69(15):6131–40.
65. Mossler JA, Barton TK, Brinkhous AD, et al. Apocrine differentiation in human mammary carcinoma. *Cancer*. 1980 Dec 1;46(11):2463–71.

Figure 1: Representative immunohistochemical profiles of triple negative breast cancer (TNBC) and TTF1-negative lung adenocarcinomas(LA).

TNBC with a SOX10-positive, GATA3-negative, AR-negative immunoprofile: (a) SOX10 immunostain, (b) same case GATA3 immunostain, (c) same case AR immunostain. **TNBC with a SOX10-negative, GATA3-positive, AR-positive immunoprofile:** (d) SOX10 immunostain, (e) same case GATA3 immunostain, (f) same case AR immunostain. **TNBC with a SOX10-negative, GATA3-negative, AR-positive immunoprofile:** (g) SOX10 immunostain, (h) same case GATA3 immunostain, (i) same case AR immunostain. **TTF1-negative LA with a SOX10-negative, GATA3-negative, AR-positive immunoprofile:** (j) SOX10 immunostain, (k) same case GATA3 immunostain, (l) same case AR immunostain

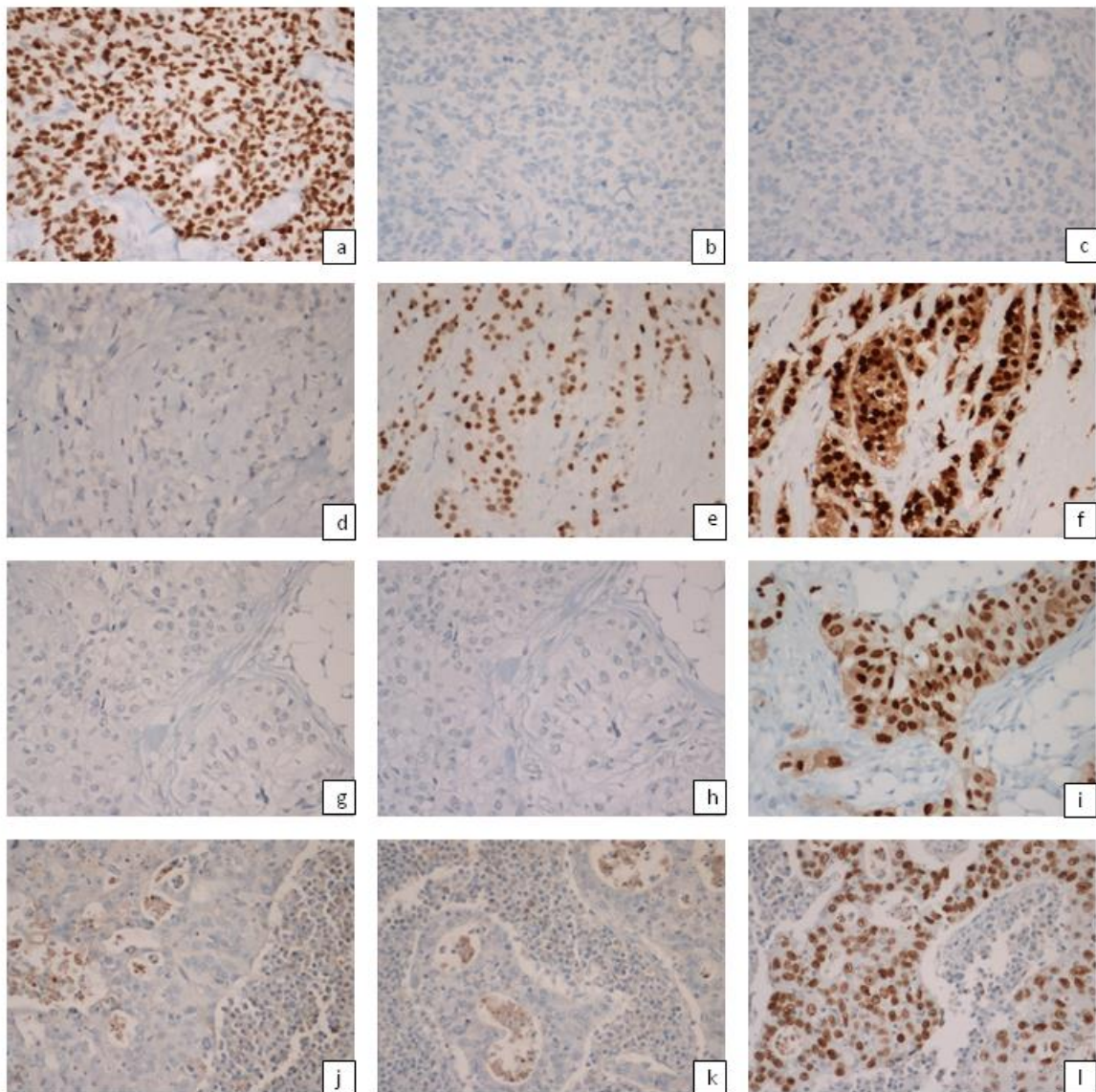


Figure 2: Best sequential immunohistochemical analysis to differentiate Triple Negative Breast Cancer (TNBC) from primitive Lung Adenocarcinoma (LA), according to our results.

Legend : MC : misclassified WC : wellclassified

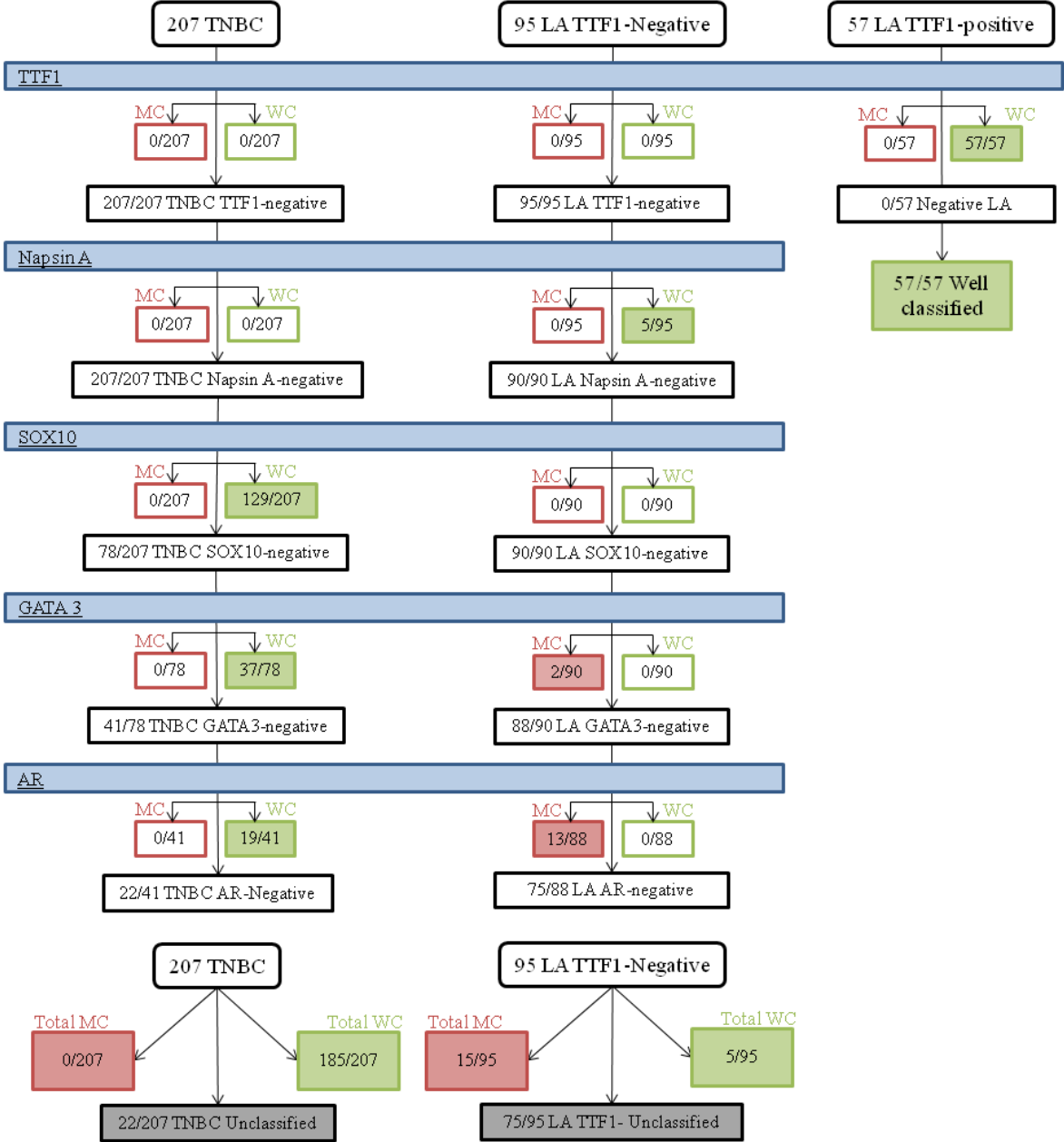


Table 1 Immunohistochemical markers used in the study

Antibody	Clone	Dilution	Distributor	Pretreatment	Incubation time/ Detection system
ER	SP1	Prediluted Ready to use	Roche Diagnostics (760-4605)	CC1 standard (64')	32min UltraViewUniversal DAB
PR	1E2	Prediluted Ready to use	Roche Diagnostics (790-4296)	CC1 short(36')	12min UltraViewUniversal DAB
AR	SP107	Prediluted Ready to use	Roche Diagnostics (760-4605)	CC1 standard (64')	32min UltraViewUniversal DAB
Her2/neu	4B5	Prediluted Ready to use	Roche Diagnostics (790-4493)	CC1 short (36')	12min UltraViewUniversal DAB
GATA3	L50- 823	1/250	Biocare Medical, CA 94520,USA	CC1 standard (64')	36min UltraViewUniversal DAB
SOX10	EP268	1/100	Bio SB,Santa Barbara, CA 93117,USA	CC1 standard (64') A 100°c	52min UltraViewUniversal DAB
TTF1	8G7G3/ 1	Prediluted Ready to use	Roche Diagnostics (790-4398)	CC1 standard (64')	52min UltraViewUniversal DAB
Napsin A	MRQ- 60	Prediluted Ready to use	Roche Diagnostics (760-4867)	CC1 short (36')	20min UltraViewUniversal DAB
CK7	SP52	Prediluted Ready to use	Roche Diagnostics (790-4462)	CC1 (52')	32min UltraViewUniversal DAB

ER indicates Estrogen Receptor; PR : Progesterone Receptor; AR : Androgen Receptor; HER2 : Human Epidermal growth factor Receptor 2; SOX10 : Sry-related HMg-Box gene 10; TTF1 : Thyroid transcription factor-1; CK7 : Cytokeratin; CC : Cell Conditioning solution; DAB : 3,3'-Diaminobenzidine.

Table 2 : Clinical and Pathological characteristics of Triple Negative Breast Cancers in the series

	N(207)	% col.
Median age	60	100.0
Minimum	26.0	
Maximum	96.3	
Median tumor size (mm)	17	
Minimum	2.5	
Maximum	150	
Histological grade		
Grade 1	0	0.0
Grade 2	27	8.2
Grade 3	180	91.3
Histological type		
Invasive carcinoma of no special type	175	84.5
Invasive lobular carcinoma	8	3.9
Carcinoma with apocrine differentiation,	9	4.3
Metaplastic carcinoma : spindle cell carcinoma	6	2.9
Metaplastic carcinoma : squamous cell carcinoma	5	2.4
Secretory carcinoma	1	0.5
Adenoid cystic carcinoma	2	1.0
Mixed invasive NST and lobular carcinoma	1	0.5
Hormonal receptor and Her2 status		
ER negative	207	100.0
PR negative	207	100.0
HER2 negative	207	100.0
Lymph node status		
Positive	48	23.2
Negative	129	62.3
Unknown	30	14.5
Median overall follow-up (month)	69.3	
Metastasis of breast cancer		
Yes	21	10.1
No	182	87.9
Unknown	4	2.0
Metastasis site		
Bone	11	5.3
Lung	10	4.8
Lymph node	5	2.4
Liver	7	3.4
Brain	6	2.9
Other cancer during follow up		
Yes	6	2.9
No	201	97.1

ER indicates Estrogen Receptor; PR : Progesterone Receptor; HER2 : Human Epidermal growth factor Receptor 2; NST : No Special Type.

Table 3 : Clinical and Pathological characteristics of lung adenocarcinomas included in the study

	TTF1 Negative		TTF1 Positive		Total	
	N(95)	% col.	N(57)	% col.	N(152)	% col.
Gender						
Women	29	30.5	51	89.5	80	52.6
Men	66	69.5	6	10.5	72	47.4
Age						
Median	62		62		62	
Minimum	38		37		37	
Maximum	84		85		85	
Histological type						
Acinar adenocarcinoma	25	26.3	40	70.2	65	42.8
Adenosquamous carcinoma	1	1.0	0	0	1	0.7
Lepidic adenocarcinoma	1	1.1	3	5.3	4	2.6
Micropapillary adenocarcinoma	0	0	1	1.8	1	0.7
Invasive mucinous adenocarcinoma	23	24.2	2	3.4	25	16.4
Papillary adenocarcinoma	4	4.2	4	7.0	8	5.3
Pleomorphic carcinoma	2	2.1	1	1.8	3	2.0
Solid adenocarcinoma	39	41.1	6	10.6	45	29.6
Tumoral status						
T1a	10	10.5	12	21.0	22	14.5
T1b	9	9.5	10	17.5	19	12.5
T2a	26	27.4	24	42.1	50	32.9
T2b	15	15.8	3	5.3	18	11.8
T3	30	31.6	8	14.0	38	25.0
T4	5	5.3	0	0	5	3.3
Lymph node status						
Negative	61	64.2	41	71.9	102	67.1
Positive	22	23.2	16	28.1	38	24.9
Unknown	12	12.6	0	0.0	12	7.9
Metastasis						
Yes	32	33.7	5	8.8	37	24.3
No	46	48.4	51	89.5	97	63.8
Unknown	17	17.9	1	1.8	18	11.9
Metastasis site						
Brain	12	28.6	4	57.1	16	32.7
Lung	10	23.8	2	28.6	12	24.5
Adrenal gland	7	16.7	0	0	7	14.3
Bone	3	7.1	0	0	3	6.1
Liver	3	7.1	0	0	3	6.1
Peritoneum	3	7.1	0	0	3	6.1
Lymph node	2	4.8	1	14.3	3	6.1
Skin	2	4.8	0	0	2	4.1
Other cancer before pulmonary carcinoma						
Yes	14	14.7	16	71.9	30	19.7
No	72	75.8	41	28.1	113	74.3

Unknown	9	9.5	0	0.0	9	6.0
Cancer type						
Breast cancer	1	1.1	5	8.8	6	4.0
Head and Neck cancer	4	4.3	0	0.0	4	2.7
Melanoma	3	3.2	0	0.0	3	2.0

TTF1 indicates Thyroid Transcription Factor-1.

Table 4: Comparative immunohistochemical results between Triple negative breast cancer and TTF1-positive and TTF1-negative lung adenocarcinoma

	TNBC			Pulmonary adenocarcinoma TTF1-negative			Pulmonary adenocarcinoma TTF1-positive		
	N (207)	%raw	% col	N(95)	%raw	% col	N(57)	%raw	% col
ER									
Negative	207	60.7	100.0	91	26.7	95.8	43	12.6	75.4
Positive	0	0.0	0	4	22.2	4.2	14	77.7	24.6
PR									
Negative	207	60.3	100.0	83	24.2	87.4	53	15.5	93.0
Positive	0	0	0	12	75	12.6	4	25	7.0
HER2									
Negative	207	58.1	100.0	94	26.4	98.9	55	15.4	96.5
Positive	0	0	0	1	33.3	1.1	2	66.7	3.5
TTF1									
Unknown	1	100.0	0.5						
Negative	206	68.4	99.5	95	31.6	100.0	0	0	0
Positive	0	0	0	0	0	0	57	100	100.0
Napsin									
Negative	207	68.5	100.0	90	29.8	94.7	5	1.7	8.8
Positive	0	0	0	5	8.8	5.3	52	91.2	91.2
CK7									
Negative	6	60	2.9	4	40	4.2	0	0	0
Positive	201	57.6	97.1	91	26.1	95.8	57	16.3	100.0
AR									
Negative	145	52.3	70.0	81	29.2	85.3	51	18.4	89.5
Positive	62	75.6	30.0	14	17.1	14.7	6	7.3	10.5

SOX10									
Negative	78	33.9	37.7	95	41.3	100.0	57	24.8	100.0
Positive	129	100	62.3	0	0	0	0	0	0
GATA3									
Negative	144	49.0	69.6	93	31.6	97.9	57	19.4	100.0
Positive	63	96.9	30.4	2	3.1	2.1	0	0	0

TNBC indicates Triple Negative Breast Cancer; TTF1 : Thyroid Transcription Factor-1; ER indicates Estrogen Receptor; PR : Progesterone Receptor; HER2 : Human Epidermal growth factor Receptor 2; CK7 : CytoKeratin 7; AR : Androgen Receptor; SOX10 : Sry-related HMg-Box gene 10.

PERSPECTIVES

Autres marqueurs immunohistochimiques

SOX10 semble être le marqueur le plus sensible à l'heure actuelle pour signer une origine en faveur du cancer du sein triple négatif(CSTN), avec une sensibilité de 62.3% dans notre cohorte. Malgré cette performance, plus de 30 % des CSTN ne sont pas classés à l'aide de ce marqueur.

D'autres marqueurs semblent être prometteurs comme le facteur de transcription FOXC1. En effet, FOXC1 a été retrouvé de manière constante dans le sous-type moléculaire basal-like mais pas dans les autres sous-types moléculaires. De plus, la forte expression de ce marqueur est liée à un pronostic plus péjoratif au sein des CSTN (P = 0.0001). Une surexpression ectopique dans les cellules tumorales mammaires accroît leurs capacités de prolifération, migration et d'invasion(1).

Won et coll. ont testé plus de 46 marqueurs immunohistochimiques. Parmi eux, l'absence d'expression d'INPP4B (inositol polyphosphate-4-phosphatase de type II : un régulateur négatif du phosphatidylinositol signaling) possédait la meilleure association avec les cancers de type basaux, avec une sensibilité de 61% et une spécificité de 99%. Mais l'interprétation de la perte d'expression immunohistochimique d'INPP4B peut parfois être difficile et peut être confondue, une perte de marquage liée à un problème pré-analytique. Pour cette raison, une absence de détection immunohistochimique d'un marqueur est moins satisfaisante que la présence d'un marquage pour le diagnostic positif d'un cancer(2). De plus, INPP4B étant un inhibiteur de la voie PI3K, sa perte d'expression signe plutôt un processus général de cancérogénèse mais pas une spécificité d'organe ou de type histologique.

Ils ont aussi testé Nestin, un marqueur initialement connu dans les cellules souches neuronales, et ont montré une forte association avec les CSTN et les cancers basal-like avec une sensibilité de 54% et une spécificité de 96%. Nestin, étant un marqueur, avec moins de difficultés techniques et dont l'expression est en faveur d'un CSTN, semble donc être un meilleur marqueur que l'INPP4B(2).

Une nouvelle vision artistique : Vers des « proteomics portraits » ?

La grande majorité des classifications immunohistochimiques actuelles des cancers du sein se sont faites à partir de données transcriptomiques (liées à l'analyse d'expression des ARN). A partir des résultats de ces analyses, on a voulu extrapoler et transposer des données transcriptomiques en données immunohistochimiques, sans tenir compte des possibles modifications post transcriptionnelles altérant les ARN avant leur traduction en protéines

Il serait intéressant de refaire une exploration moléculaire des CSTN en analysant directement le niveau d'expression des protéines les constituant. La protéomique est une science récente qui étudie les protéines, elle donne ainsi accès à l'expression génique d'une cellule, d'un tissu ou d'un organe,

grâce à l'étude des protéines et de leurs modifications post-traductionnelles. Une analyse protéomique débute par l'extraction des protéines à partir de la matrice biologique. Les protéines sont ensuite séparées et purifiées par électrophorèse bidimensionnelle, puis leur analyse réalisée par spectrométrie de masse. Ces étapes sont généralement suivies de l'identification des protéines et de leur quantification par méthode différentielle ou absolue.

Dans la suite de notre étude, nous prévoyons d'explorer en protéomique les différents sous-groupes SOX10+, GATA3+, AR+, SOX10- et GATA3- et AR- de notre cohorte de CSTN. Par-delà, nous voulons identifier de nouvelles protéines caractéristiques des différents sous-groupes de CSTN pour la mise au point de nouveaux anticorps.

Economie du matériel biopsique

Actuellement, les microbiopsies réalisées pour le diagnostic étiologique d'un nodule pulmonaire doivent être utilisées avec parcimonie car le matériel est susceptible d'être utilisé pour des analyses immunohistochimiques et moléculaire à des fins thérapeutiques.

De notre point de vue, la technique la moins couteuse en matériel est l'étude immunohistochimique, c'est pourquoi nous pensons nécessaire de trouver de nouveaux anticorps et un algorithme efficace pour faire le diagnostic entre cancer du sein triple négatif et adénocarcinome pulmonaire.

Bibliographie :

1. Ray PS, Wang J, Qu Y, Sim MS, Shamonki J, Bagaria SP, et al. FOXC1 Is a Potential Prognostic Biomarker with Functional Significance in Basal-like Breast Cancer. *Cancer Res.* 15 mai 2010;70(10):3870-6.
2. Won JR, Gao D, Chow C, Cheng J, Lau SY, Ellis MJ, et al. A survey of immunohistochemical biomarkers for basal-like breast cancer against a gene expression profile gold standard. *Mod Pathol.* nov 2013;26(11):1438-50.