



**HAL**  
open science

# Rhabdomyosarcomes du nourrisson : analyse intégrative des cohortes françaises MMT 89-95, RMS 2005 et du Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant

Thibault Butel

► **To cite this version:**

Thibault Butel. Rhabdomyosarcomes du nourrisson : analyse intégrative des cohortes françaises MMT 89-95, RMS 2005 et du Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-02124422

**HAL Id: dumas-02124422**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02124422>**

Submitted on 9 May 2019

**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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

## AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt toute poursuite pénale.

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4*

*Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 335.2-L 335.10*

UNIVERSITÉ PARIS DESCARTES  
Faculté de Médecine PARIS DESCARTES

Année 2018

N° 73

**THÈSE**  
**POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT**  
**DE**  
**DOCTEUR EN MÉDECINE**

Rhabdomyosarcomes du nourrisson : analyse intégrative  
des cohortes françaises MMT 89-95, RMS 2005 et du  
Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant

Présentée et soutenue publiquement  
le 28 mai 2018

Par

***Thibault BUTEL***

Né le 16 décembre 1989 à Saint-Germain-en-Laye (78)

Dirigée par Mme Le Docteur Véronique Minard-Colin, Oncologie pédiatrique

Jury :

M. Le Professeur Arnaud Petit, PU-PH ..... Président

Mme Le Professeur Sabine Sarnacki, PU-PH

M. Le Professeur Jean-Michel Coindre, PU-PH

M. Le Docteur Daniel Orbach, Oncologie pédiatrique



# Remerciements

---

A mon Président de thèse, Monsieur le Professeur Arnaud Petit,  
je vous remercie de m'avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de cette thèse, j'en suis touché et reconnaissant.

A mon Directeur de thèse, Madame le Docteur Véronique Minard-Colin,  
Je ne sais pas si vous imaginiez dans quel projet vous vous lanciez en me proposant ce travail sur les rhabdomyosarcomes du nourrisson! Votre disponibilité et votre passion m'ont été essentielles, merci mille fois.

A Madame le Professeur Sabine Sarnacki,  
Vous avez si gentiment et spontanément accepté de participer au jury. Veuillez trouver l'expression de mes sincères remerciements et de ma gratitude.

A Monsieur le Professeur Jean-Michel Coindre,  
Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez immédiatement porté au sujet. Vous me faites l'honneur de juger mon travail. Veuillez recevoir l'expression de ma respectueuse gratitude.

A Monsieur le Docteur Daniel Orbach,  
Je sais que ce sujet vous tient particulièrement à cœur. Je vous suis très reconnaissant d'avoir accepté que je m'attaque à ce beau sujet et de m'avoir accueilli à Curie lors de mon recueil de données. Je vous remercie de me faire le grand plaisir d'être membre de mon jury de thèse.

A mes parents,  
Maman, Papa, vous êtes et avez toujours été présents pour me soutenir. Vous avez même eu le courage et la patience de relire ce travail bien que vous ne maîtrisiez pas le sujet. Merci pour tout !

A mes frères et sœurs Ludo, Constance et Quentin,  
Vous êtes toujours là pour moi, vous faites partie de moi. Merci d'avoir géré parfois ma mauvaise humeur en repos de garde... Prima Familia !

A Alix,

Tu es toujours présente pour me soutenir et m'encourager ! Merci de m'avoir supporté pendant ces semaines de rédaction de thèse. Merci tout simplement !

A Sabine, Stéphane et Louis, la sous-sous !!!

Que d'heures passées à travailler, souvent dans la bonne humeur, parfois dans la mauvaise, mais toujours dans la bienveillance. A très vite pour de nouvelles aventures !

A tous mes amis rencontrés au cours de ces années de médecine, que de belles rencontres !

A tous les médecins qui m'ont permis la réalisation de ce travail en m'accordant de leur temps pour participer à notre étude, en particulier Dominique Ranchère, Franck Tirode, Gaëlle Pierron et Marie Karanian. Merci pour le partage de vos expériences et de vos réflexions, votre disponibilité, votre sympathie et vos encouragements. C'était super de travailler avec vous, merci !

A tous les centres français d'oncologie pédiatrique (cliniciens et services d'anatomopathologie), à Brigitte Lacour (Registre national des tumeurs solides de l'enfant - CHU Nancy) et à Nathalie Cozic (service de Biostatistiques – Institut Gustave Roussy) qui nous ont aidé à retrouver ces précieux échantillons tumoraux et à recueillir les données cliniques : Angers, Brest, Besançon, Bordeaux (CHU), Bordeaux (Bergonié), Caen, Clermont-Ferrand, Lille (Oscar Lambret), Lille (CHU), Lyon, Marseille, Nancy, Nantes, Nice, Paris (Curie), Paris (Trousseau), Paris (Debré), Reims, Rennes, Rouen, Strasbourg (CHU), Strasbourg (Hautepierre), Toulouse (CHU), Villejuif (Gustave Roussy). Désolé de vous avoir harcelés, cela valait le coup je crois !

# Table des matières

---

REMERCIEMENTS	2
ABREVIATIONS	6
INTRODUCTION	7
<b>CHAPITRE 1 : TUMEURS DU NOURRISSON</b>	<b>7</b>
1.1 EPIDEMIOLOGIE	7
1.2 PARTICULARITES DIAGNOSTIQUES	8
1.3 SPECIFICITES DE LA PRISE EN CHARGE	9
<b>CHAPITRE 2 : LES TUMEURS MESENCHYMATEUSES MALIGNES</b>	<b>12</b>
2.1 GENERALITES	12
2.2 LE RHABDOMYOSARCOME	15
2.3 PARTICULARITES DU RMS DU NOURRISSON	22
OBJECTIFS	25
MATERIELS & METHODES	26
<b>CHAPITRE 1 : SCHEMA DE L'ETUDE</b>	<b>26</b>
1.1 POPULATION	26
1.2 RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES	26
1.3 TRAITEMENT	27
<b>CHAPITRE 2 : ANALYSE DE BIOPATHOLOGIE</b>	<b>30</b>
1.1 RELECTURE HISTOLOGIQUE CENTRALISEE	30
1.2 BIOLOGIE MOLECULAIRE	30
<b>CHAPITRE 3 : ANALYSES STATISTIQUES</b>	<b>31</b>
<b>CHAPITRE 4 : ASPECTS LEGAUX</b>	<b>32</b>
RESULTATS	33
<b>CHAPITRE 1 : CARACTERISTIQUES A L'INCLUSION</b>	<b>33</b>
1.1 CLINIQUE	33
1.2 RELECTURE HISTOLOGIQUE CENTRALISEE	36
1.3 ANALYSE MOLECULAIRE	42
1.4 ANALYSE DES CLUSTERS D'EXPRESSIONS	44
<b>CHAPITRE 2 : TRAITEMENT</b>	<b>45</b>
1.1 TYPES	45
1.2 ADAPTATION DES DOSES	47
1.3 TOXICITES	47
<b>CHAPITRE 3 : SUIVI</b>	<b>48</b>
1.1 SURVIE	48
1.2 FACTEURS PRONOSTIQUES	52
1.3 COUT DE LA GUERISON	55
DISCUSSION	56
<b>CHAPITRE 1 : PARTICULARITES DES RMS DU NOURRISSON</b>	<b>56</b>
<b>CHAPITRE 2 : DEVENIR DES RMS DU NOURRISSON</b>	<b>57</b>
<b>CHAPITRE 3 : POINTS CLEFS DE L'ANALYSE MOLECULAIRE</b>	<b>59</b>
<b>CHAPITRE 4 : ZOOM SUR LES RMS A CELLULES FUSIFORMES</b>	<b>60</b>
<b>CHAPITRE 5 : TOXICITES</b>	<b>62</b>

<b>CONCLUSION</b>	<b>63</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	<b>65</b>
<b>ANNEXES</b>	<b>73</b>
<b>ANNEXES 1 CLASSIFICATION TNM (SELON LE RMS 2005)</b>	<b>74</b>
<b>ANNEXE 2 IRS CLINICAL CLASSIFICATION (SELON LE RMS 2005)</b>	<b>75</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>76</b>

## Abréviations

---

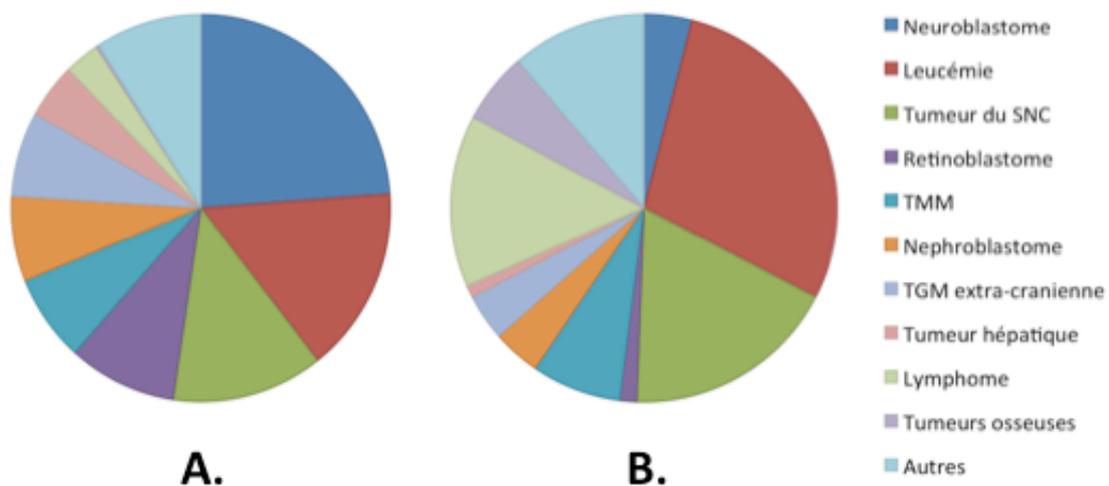
SC : Surface Corporelle  
EpSSG : European Pediatric Soft Tissue Sarcoma Study Group  
F : Féminin  
FI : Fibrosarcome Infantile  
GU non VP : Génito-Urinaire non Vésico-Prostatique  
HR : Hazard Ratio  
IHC : ImmunoHistoChimie  
IVA : Ifosfamide-Vincristine-Actinomycin D  
CER : Comité d'Ethique de la Recherche (IRB : Institutional Review Board en anglais)  
IRM : Imagerie par Résonance Magnétique  
M : Masculin  
MVO : Maladie Veino-Occlusive  
NA : Données manquantes  
NF1 : Neurofibromatose de type 1  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
PM : ParaMéningé  
RC : Rémission Complète  
RMS : Rhabdomyosarcome ; RMSa : sous-type alvéolaire ; RMSe: sous-type embryonnaire ;  
RMSsc : sous-type à cellules fusiformes (« spindle cells » en anglais)  
R0 : résection chirurgicale microscopiquement complète  
R1 : résection chirurgicale macroscopiquement complète mais microscopiquement incomplète  
R2 : résection chirurgicale macroscopiquement incomplète  
RNTSE : Registre Nationale des Tumeurs Solides de l'Enfant  
RP : Rémission Partielle  
SG : Survie Globale  
SIOP : Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique  
SSE : Survie Sans Evénement  
TC non PM : Tête et Cou non ParaMéningé  
TMM : Tumeur Mésoenchymateuse Maligne  
VA : Vincristine-Actinomycin D  
VAC : Vincristine-Actinomycin D-Cyclophosphamide  
VP : Vésico-Prostatique

# Introduction

## Chapitre 1 : Tumeurs du nourrisson

### 1.1 Epidémiologie

Environ 1750 nouveaux cas de cancers sont diagnostiqués chaque année en France chez les enfants, à la fois tumeurs solides et hémopathies malignes, auxquels il faut ajouter 800 cas survenant chez des adolescents de plus de 15 ans. Bien qu'ils ne représentent que 1% des cancers tous âges confondus, les cancers pédiatriques constituent la 1<sup>ère</sup> cause de mortalité non accidentelle entre 0 et 15 ans. La survie des enfants et adolescents atteints de ces cancers s'est améliorée de manière très significative ces dernières décennies et dépasse aujourd'hui les 80%<sup>1,2</sup>.



**Figure 1. Distribution des types histologiques des tumeurs chez les nourrissons de moins de 1 an (A) et chez les enfants de 1 à 15 ans (B), d'après Sultan et al, 2010**

Les tumeurs des nourrissons de moins de 1 an représentent moins de 10% des tumeurs de l'enfant<sup>3</sup>, et 2% si l'on ne considère que les tumeurs malignes néonatales<sup>3,4</sup>. Cependant, c'est avant l'âge d'un an que l'incidence annuelle de tumeurs malignes est la plus élevée chez l'enfant, estimée à 243/million d'enfants en France<sup>1</sup>, faisant suggérer un premier « hit »

oncogénique très précoce. A cet âge, les tumeurs du système nerveux sympathique, neuroblastomes et apparentés, sont les plus fréquentes, suivies par les tumeurs du système nerveux central et les leucémies (figure 1). En France, toutes tumeurs confondues, la survie à 5 ans est sensiblement identique à celle des enfants plus grands, soit environ 80%, mais de nombreuses disparités existent en fonction des types histologiques<sup>1,2</sup>. Ainsi, les neuroblastomes ont un excellent pronostic avant l'âge d'un an, certains régressant même spontanément, à l'inverse des tumeurs cérébrales.

## 1.2 Particularités diagnostiques

Les tumeurs néonatales peuvent être dans de rares cas détectées en anténatales, soit directement sur les échographies, soit indirectement devant des signes de souffrance utérine comme une polyhydramnios, un anasarque, ou une hépato-splénomégalie<sup>5,6</sup>, mais sont plus fréquemment diagnostiquées durant le premier mois de vie. La découverte d'une masse tumorale peut être fortuite lors d'un examen clinique de routine, mais également suspectée devant l'apparition de symptômes fonctionnels, menaçant parfois le pronostic vital à court terme, comme des troubles respiratoires ou digestifs (tumeurs abdominales) ou des anomalies de l'hémostase. La majorité des tumeurs des tissus mous à cet âge sont des tumeurs bénignes, par exemple d'origine vasculaire, des malformations congénitales, voire des pathologies infectieuses. L'échographie est le premier examen réalisé, permettant de diagnostiquer certaines de ces tumeurs sur des images typiques et d'éviter des explorations plus invasives. L'IRM est souvent nécessaire pour compléter les images échographiques, en particulier pour les tumeurs des tissus mous, du fait de la qualité des images et de son caractère non irradiant. En l'absence d'aspect typique bénin à l'imagerie, la confirmation diagnostique ne peut rarement faire l'économie d'une biopsie avec examen anatomo-pathologique, après réalisation d'un bilan d'hémostase complet.

La cytoponction à l'aiguille fine peut constituer un examen de première orientation mais le diagnostic repose le plus souvent sur une biopsie radioguidée percutanée à l'aiguille, ou chirurgicale au bloc sous anesthésie générale. La technique de la biopsie doit être discutée en réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP) et tenir compte de l'expérience du radiologue/chirurgien qui va faire le geste, de la localisation, du projet chirurgical futur, et de l'urgence de la situation clinique... Dans tous les cas, il faudra veiller si possible à la

congélation de fragments afin de préciser le type de tumeur par des analyses cytologiques et moléculaires complémentaires.

Une stratégie avec exérèse chirurgicale d'emblée est la plus souvent non-indiquée, particulièrement chez les enfants. En effet, de nombreuses lésions bénignes peuvent être laissées en place et bénéficier de traitements non chirurgicaux (hémangiomes, lésions post-traumatique, fibromatose), alors que les lésions malignes doivent être caractérisées avant de décider de la stratégie thérapeutique globale, et ce d'autant que la chirurgie des sarcomes est très contraignante, devant être réalisée en monobloc avec des marges larges en zones saines.

### 1.3 Spécificités de la prise en charge

La stratégie thérapeutique globale des tumeurs du nourrisson est évidemment conditionnée par l'âge de l'enfant et ses comorbidités associées. Elle doit être discutée en RCP et tenir compte :

- de la mauvaise tolérance à la chimiothérapie liée, entre autres, à l'immaturation des tissus et des systèmes enzymatiques à cet âge ;
- des risques à long terme de séquelles « inacceptables » liées à la maladie et aux traitements, dont certaines sont probablement encore mal connues ou méconnues.

La chirurgie chez les jeunes nourrissons reste toujours complexe du fait de la taille des patients et de la proximité des structures anatomiques (en particulier du risque élevé de spasme vasculaire artériel). L'objectif de la chirurgie dépend du type histologique, certaines tumeurs comme les sarcomes nécessitant un contrôle carcinologique local strict alors que d'autres peuvent être réséquées sans marges saines autour avec un risque de récurrence faible, comme les neuroblastomes<sup>7</sup>. Quoi qu'il en soit, l'articulation avec les autres traitements comme la chimiothérapie doit permettre de limiter au maximum l'ampleur de la chirurgie et le risque de séquelles. Malheureusement, souvent après l'échec des autres thérapeutiques proposées, certains cas n'offrent pas d'autres options que la réalisation d'une chirurgie mutilante, avec exérèse de tout ou partie d'un organe. Rarement, la chirurgie peut être l'unique traitement de certaines formes de tumeurs localisées, essentiellement des tumeurs rénales (bénignes le plus souvent à cet âge) et les neuroblastomes non régressifs spontanément et de biologie favorable.

Les **chimiothérapies** utilisées dans le traitement des tumeurs pédiatriques sont globalement les mêmes que pour les adultes, chez qui elles sont souvent utilisées en premier avant l'administration à des enfants. Bien que les chimiothérapies semblent mieux tolérées à court terme par les enfants que par les adultes, le problème des séquelles à long terme est actuellement au cœur de la décision thérapeutique en oncologie pédiatrique. En plus de ces risques à long terme d'un traitement par molécules cytotoxiques sur un organisme en plein développement<sup>8-10</sup>, la gestion des chimiothérapies chez les nourrissons de moins de 1 an est particulièrement délicate du fait de différence physiologique par rapport aux enfants plus âgés et a fortiori aux adultes<sup>11</sup>.

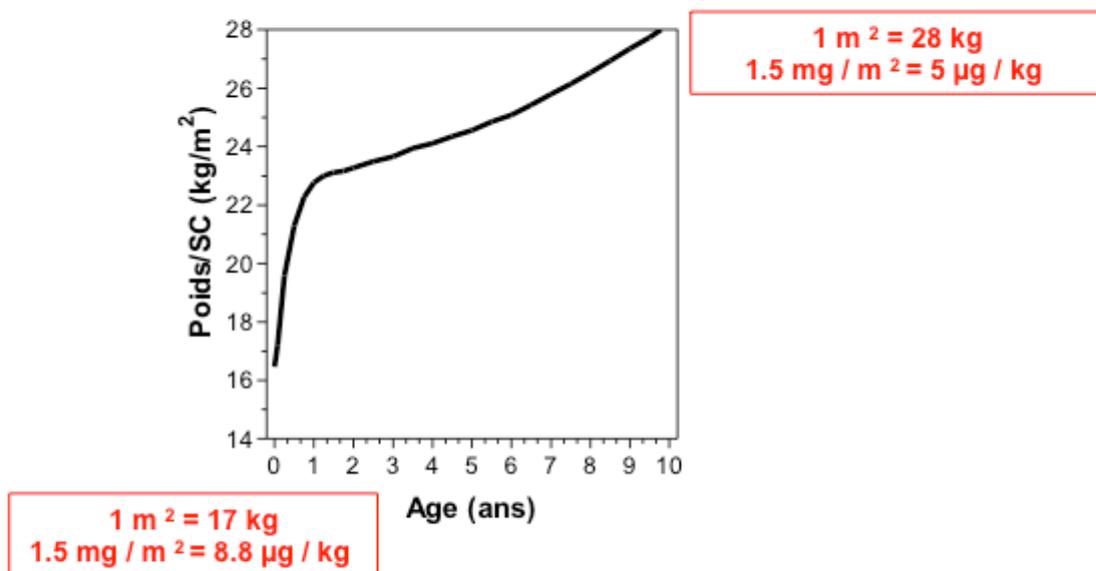
Bien que la plupart des chimiothérapies sont administrées en intra-veineuse (à l'exception de certaines nouvelles thérapies ciblées), l'administration orale de certaines molécules peut par exemple poser des problèmes d'*absorption*, la mobilité gastrique et le pH gastrique variant dans les premiers mois de vie<sup>12</sup>.

La *pharmacodynamie* est également profondément modifiée chez les nourrissons, avec un volume de distribution très différent en fonction de l'âge, la proportion du volume extracellulaire représentant 50% du poids d'un nouveau-né, 35% de celui d'un nourrisson de 4-6 mois et 20% d'un adolescent/adulte<sup>13</sup>. Cette différence de volume de distribution, associée à d'autres facteurs pharmacodynamiques (affinité des protéines plasmatiques, composition en acides gras ...) conduit à une grande variabilité des concentrations de chimiothérapie, souvent surestimées chez le nourrisson. Enfin, l'immaturation de la barrière hémato-encéphalique accroît encore le volume de distribution et favorise la diffusion des molécules dans le système nerveux central.

L'immaturation rénale et hépatique du nourrisson conduit également à des profondes différences *pharmacocinétiques* par rapport aux adultes. Ainsi, le cytochrome P450 (phase I) a une activité croissante depuis la naissance jusqu'à atteindre son activité maximale à la puberté<sup>14</sup>. De même, le débit de filtration glomérulaire est diminué à la naissance et atteint son débit maximal vers l'âge de 6-12 mois, augmentant ainsi la demi-vie plasmatique de certaines molécules. D'autres facteurs pharmacocinétiques n'atteignent leur maturité qu'au bout de quelques mois, par exemple la fonction tubulaire rénale, l'excrétion biliaire et l'activité des transporteurs membranaires.

Malheureusement, très peu de données pharmacologiques sont disponibles chez le nourrisson<sup>15</sup>. De manière empirique, des adaptations de doses sont habituellement proposées pour les nourrissons de moins de 1 an ou de moins de 10-12kgs, avec une grande

hétérogénéité selon les protocoles et les types de tumeurs. Ainsi, les doses de chimiothérapies sont calculées selon le poids et non la surface corporelle comme pour les enfants plus âgés, correspondant à une réduction d'environ 30% de la dose, le rapport poids/surface corporelle augmentant progressivement au cours de la première année (figure 2). Une réduction supplémentaire de dose est même souvent recommandée dans les protocoles. De plus, de nombreux agents cytotoxiques responsables de toxicités spécifiques sont contre-indiqués en deçà d'un certain âge: les anthracyclines avant l'âge de 3 voire 6 mois (des cas de toxicités cardiaques aiguës ayant été reportés<sup>16</sup> et l'ifosfamide (pour éviter les toxicités tubulaires et neurologiques)... De nouvelles études pharmacologiques sont nécessaires pour augmenter le rationnel de ces adaptations de doses et améliorer la prise en charge des nourrissons.



**Figure 2. Evolution du rapport poids/surface corporelle chez l'enfant de 0 à 10 ans**

La **radiothérapie** est évitée autant que faire se peut, du fait de séquelles qui en découlent à long terme<sup>9</sup>, en particulier l'atteinte cutanée, le défaut de croissance et la dysfonction d'organe, et les seconds cancers. Associée à une chirurgie incomplète, la radiothérapie peut tout de même s'imposer pour prévenir les rechutes locales. Au maximum, la curiethérapie est préférée à la radiothérapie externe chez les enfants, en particulier pour les localisations tumorales pelviennes.

Enfin, pour certaines tumeurs particulièrement agressives associées à un pronostic effroyable, comme par exemple les tumeurs rhabdoïdes ou certaines tumeurs du système nerveux central, **une discussion éthique** de limitation des soins à visée curative peut être engagée. Le ressenti des parents est alors particulièrement important à recueillir, après leur avoir exposé clairement la situation oncologique et le risque de séquelles majeures à long terme. Cette réflexion est capitale pour éviter des situations d'obstination déraisonnable, destructrice pour les parents, l'enfant et l'équipe soignante.

## Chapitre 2 : Les Tumeurs Mésenchymateuses Malignes

### 2.1 Généralités

Les tumeurs mésenchymateuses sont un groupe de tumeurs cancéreuses qui se développent à partir de cellules issues du tissu de soutien de l'organisme (tissus conjonctifs). Il peut s'agir de tumeurs des "tissus mous" (tissu adipeux, muscles, vaisseaux... mais aussi viscères : estomac, colon, etc.) ou des parties "dures" (os et cartilages) du corps. Très complexes et hétérogènes, ces tumeurs, qui touchent environ 4000 personnes par an en France, se déclinent en plus de 150 types histologiques différents. Les tumeurs mésenchymateuses malignes – TMM – (ou sarcomes des tissus mous) représentent environ 6-8% des tumeurs malignes de l'enfant avant 15 ans, la 5ème en fréquence derrière les leucémies, les tumeurs du système nerveux central, les lymphomes, et les neuroblastomes<sup>1,3</sup>. Cette proportion reste assez stable si l'on ne considère que les tumeurs des nourrissons de moins de 1 an.

Ces tumeurs sont définies selon le type de tissus qu'elles reproduisent et non celui dont elles sont issues (table 1). Elles sont ensuite classées selon leur degré de malignité : bénigne, intermédiaire (localement agressive ou rarement métastatique) et maligne (on parle alors souvent de sarcome)

Cependant, tout âge confondu, 10 à 20 % de ces tumeurs restent inclassables, bien que cette proportion reste mal connue. Les termes de « sarcomes à cellules rondes », à « petites cellules » ou à « cellules fusiformes » sont alors employés<sup>17</sup>.

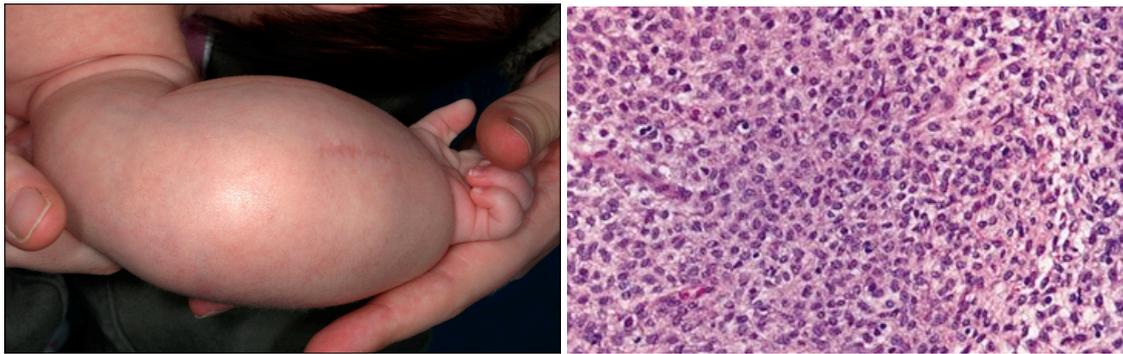
Les rhabdomyosarcomes – RMS – et les fibrosarcomes infantiles – FI – sont de loin les plus fréquentes, comptant respectivement pour plus d’un tiers et plus d’un quart des TMM de moins de 12 mois dans les séries historiques<sup>3,16</sup>. Les autres TMM sont exceptionnelles à cet âge (synovialosarcomes, tumeurs malignes des gaines nerveuses, etc...) et ont été principalement décrites dans des séries anciennes avant l’ère de la biologie moléculaire. La survie des TMM du nourrisson semble moins bonne que chez les enfants plus âgés, avec une survie globale à 5 ans autour de 60-70% selon les publications<sup>2,3</sup>.

	Bénignes	Intermédiaires	Malignes
<b>Tissu graisseux (adipocytes)</b>	Lipoblastomes Lipome, Angiolipome	Tumeur lipomateuse atypique	Liposarcome
<b>Tissu fibroblastique/myofibroblastique (fibroblastes)</b>	Fasciite nodulaire, Myosite ossifiante, Fibromatose colli, Fibromatose cellulaire infantile, Hamartome fibreux Myofibromatose infantile	Fibromatose de type desmoïde, Fibroblastome à cellules géantes Lipofibromatose, Tumeur myofibroblastique inflammatoire, Fibrosarcome infantile, Dermatofibrosarcome	Fibrosarcome de l’adulte Myxofibrosarcome
<b>Tumeurs pericytaires (peri-vasculaires)</b>	Myopéricytome, Myofibrome Myofibromatose infantile, Angioleiomyome		
<b>Tumeurs fibrohistiocytaires</b>	Tumeur ténosynoviale à cellules géantes, Histiocytofibrome bénin profond	Tumeur fibrohistiocytaire plexiforme	
<b>Muscles striés (rhabdomyocytes)</b>	Rhabdomyome		<b>Rhabdomyosarcome</b>
<b>Muscles lisses (myocytes)</b>	Léiomyome profond		Léiomyosarcomes
<b>Tumeurs vasculaires</b>	Hémangiome, Lymphangiome, Angiomatose	Hémangioendothéliome kaposiforme, Angioendothéliome papillaire intra-vasculaire	Hémangioendothéliome épithélioïde, Angiosarcome
<b>Nerfs périphériques</b>	Schwannome, Neurofibrome, Périneurionome, Myxome		Tumeurs malignes des gaines des nerfs périphériques
<b>Tumeurs histiocytaires</b>	Xanthogranulome juvénile		

**Table 1. Classification des principales tumeurs mésenchymateuses du nourrisson, d’après la nouvelle classification OMS des tumeurs des tissus mous de 2013**

Le fibrosarcome infantile est une tumeur maligne fibroblastique, survenant principalement dans les 2 premières années de vie (dont plus d'un tiers à la naissance), majoritairement chez les garçons (sex-ratio M/F : 3/1). Après l'âge de 4 ans, il s'agit plutôt d'une forme appelée «fibrosarcome de type adulte». Le FI siège principalement au niveau des membres (figure 3), le tronc et la tête étant rarement atteints. La croissance tumorale est très variable, parfois très rapide, la tumeur pouvant doubler de volume en quelques semaines. D'exceptionnelles métastases ont été rapportées (dans moins de 5 % des cas), le pronostic du FI étant essentiellement local et locorégional. Histologiquement, le FI ressemble aux formes adultes, avec une tumeur composée de nombreuses cellules fusiformes (les fibroblastes) présentant de nombreuses mitoses et des atypies nucléaires et souvent associées à un infiltrat inflammatoire. Il peut parfois exister des formes composites avec des aspects transitionnels avec la myofibromatose infantile. L'immunohistochimie – IHC – n'est pas spécifique avec une positivité avec l'anticorps anti-actine muscle lisse dans 33% des cas et une négativité des marqueurs musculaires, notamment la desmine et la myogénine. L'étude cytogénétique par FISH ou en biologie moléculaire par RT-PCR permet de confirmer le diagnostic puisque dans plus de 70 % des cas, une translocation chromosomique t(12;15) (p13;q25) est identifiée. Il s'agit d'une translocation réciproque aboutissant à la fusion de 2 gènes *ETV6-NTRK3* (ETS variant gène 6 ; neutrophic tyrosine kinase receptor type 3) et à la formation d'une protéine chimérique<sup>18</sup>. Récemment, une nouvelle translocation *EML4-NTRK3* a été identifiée à la fois dans des FI et des néphromes mésoblastiques, autre tumeur habituellement associée à la translocation *ETV6-NTRK3*<sup>19</sup>.

La stratégie thérapeutique actuelle est de proposer une chirurgie seule pour les tumeurs limitées d'exérèse aisée. Dans les autres cas, une chimiothérapie est utilisée en première intention, parfois poursuivie pendant plusieurs mois (association Vincristine-Actinomycin D – VA – en alternance hebdomadaire avec addition éventuelle d'un alkylant en cas d'effet insuffisant de la première association). Elle est le plus souvent suivie d'une chirurgie conservatrice, l'amputation n'étant jamais réalisée en première intention. Dans certains cas, la chimiothérapie seule permet d'obtenir une RC et ainsi de surseoir à la chirurgie<sup>20-22</sup>. Le risque de récurrence locale est de 10 à 30 %. Ces récurrences doivent être traitées par chirurgie conservatrice précédée éventuellement d'une reprise de la chimiothérapie. Pour les exceptionnelles formes résistantes, des nouveaux inhibiteurs de NTRK, en particulier le larotrectinib, sont en cours d'évaluation et semblent présenter une activité anti-tumorale encourageante<sup>23</sup>. Au total, le pronostic des FI est très bon, avec une survie globale à 5 ans autour de 94%<sup>3</sup>.



A.

B.

**Figure 3. Présentation clinique (A) et histologique - coloration HES (B) au diagnostic d'un fibrosarcome infantile**

## 2.2 Le Rhabdomyosarcome

Le RMS est la TMM la plus fréquente chez l'enfant, comptant pour au moins 1/3 des TMM diagnostiquées au cours de la première année de vie. Cette proportion augmente chez les enfants plus grands, jusqu'à près de 50%. Chaque année, environ 80 cas sont diagnostiqués en France, soit 5% de toutes les tumeurs malignes de l'enfant. Le RMS a été décrit pour la première fois par Weber en 1854, la publication n'ayant été élaborée que 92 ans plus tard par Stout en 1946<sup>24</sup>.

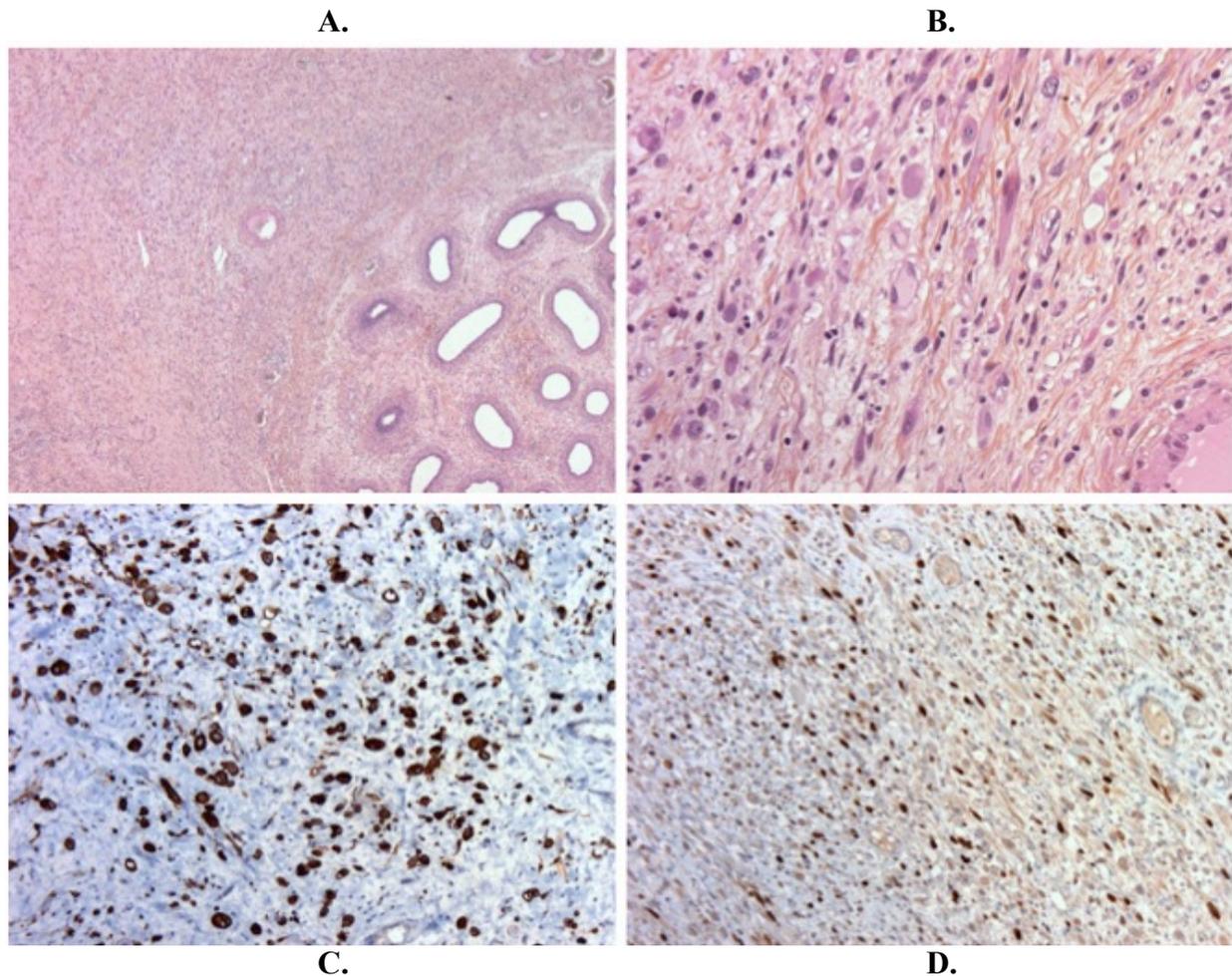
Il se développe aux dépens du muscle strié, via une prolifération anarchique d'un rhabdomyoblaste, cellule souches mésenchymateuse primitive en voie de différenciation musculaire, exprimant des gènes régulateurs des cellules myogéniques<sup>25,26</sup>. Le blocage de certains facteurs de différenciation via des mutations génétiques conduit à un défaut de maturation de cette cellule puis une transformation maligne<sup>27</sup>.

Il peut avoir comme point de départ n'importe quel endroit du corps où des cellules souches mésenchymateuses primitives en voie de différenciation musculaire sont présentes. Les symptômes cliniques sont donc très variés, principalement reliés à l'effet de masse de la tumeur (obstruction ou compression).

Histologiquement, le diagnostic de RMS exige la présence de rhabdomyoblastes, mimant l'aspect du muscle strié fœtal. Différents stades de myogénisation de ces rhabdomyoblastes peuvent être observés : les cellules stellaires avec un cytoplasme clairsemé et un noyau central

représentent le phénotype cellulaire le plus primitif, alors que, avec la cytodifférenciation, le noyau est déjeté au sein d'un cytoplasme plus éosinophile. Un noyau vésiculeux, éosinophile et périphérique, des stries cytoplasmiques denses (ou doubles striations) et des nucléoles multiples indiquent la différenciation terminale, avec des myotubules évidents. En IHC, on note une apparition progressive des marqueurs en fonction de la différenciation musculaire striée. Seule la vimentine, marqueur non spécifique, est présente dans les cytoplasmes des cellules primitives, alors que la desmine et la myogénine (seuls marqueurs spécifiques) sont acquis par les rhabdomyoblastes. Les cellules très différenciées peuvent présenter des marqueurs de la différenciation musculaire terminale, tel que la créatine kinase M. Il est important de noter que seul le marquage nucléaire par ces marqueurs est spécifique. Ainsi, le marquage de l'antigène de *MyoD1*, marqueur spécifique de la différenciation musculaire, est facilement faussement positif dans le cytoplasme de cellules non musculaires après fixation avec de la paraffine.

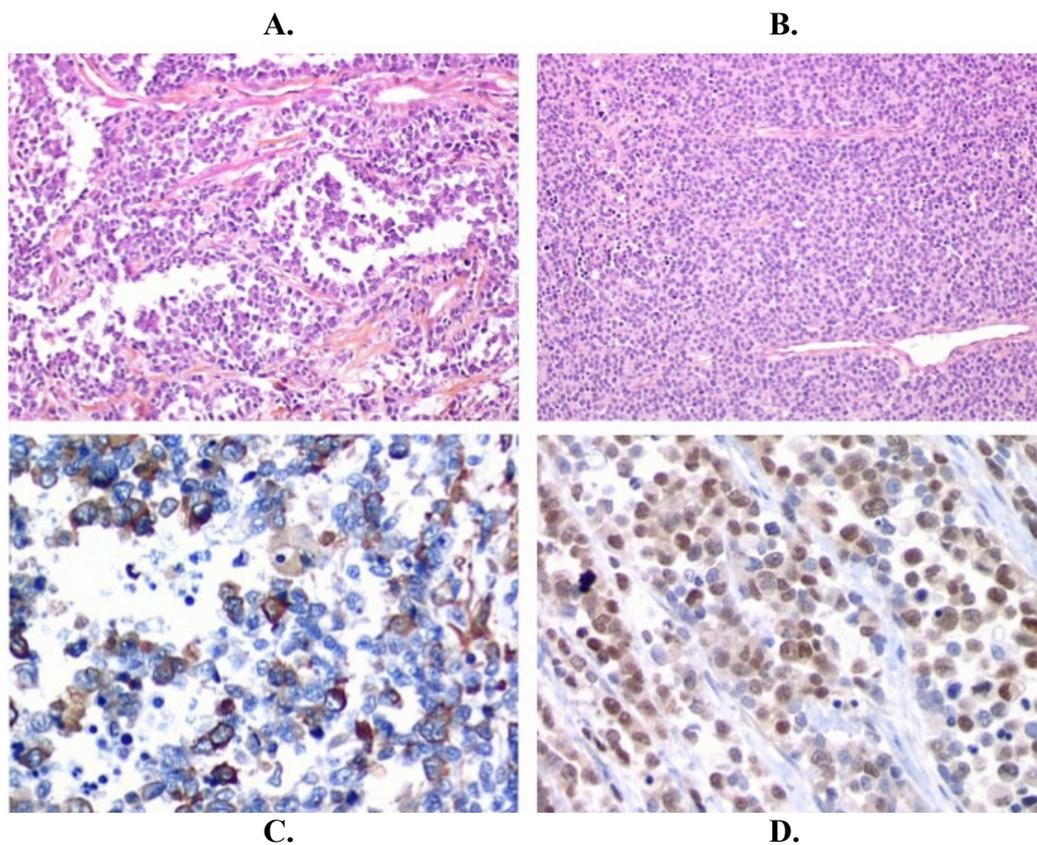
On distingue 2 types histologiques principaux de RMS : la forme embryonnaire – RMSe – et la forme alvéolaire – RMSa. Les RMSe, grossièrement 80% des RMS, sont constitués d'une prolifération de cellules de morphologie variable allant de cellules fusiformes à des éléments de morphologie rhabdomyoblastique, plus globoïdes et rubanés (figure 4). L'architecture est souvent vaguement fasciculée, sur un fond alternant des zones lâches et myxoïdes un peu oedémateuses, parfois riche en collagène et des zones plus denses, créant une variation de la cellularité au sein de la tumeur. Il existe ainsi de nombreux sous-types de RMSe variant sur le plan histologique en fonction de l'architecture, de la cellularité, du degré de différenciation : RMSe anaplasique et le RMSe botryoïde (reconnus dans la classification OMS<sup>28</sup>), et les RMSe lâche non botryoïde, dense peu différencié, dense bien différencié, biphasique dense et lâche ... (non encore spécifiés par OMS<sup>28</sup>). Le RMSe de type botryoïde, dont les sites privilégiés sont la cavité buccale, le vagin, la vessie et les voies biliaires extra-hépatiques, présente une "couche cambiale" correspondant à une densification des éléments cellulaires tumoraux juste sous la membrane basale de l'épithélium.



**Figure 4. Aspect histologique typique d'un RMSe** A et B- Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] C- Immunomarquage positif pour la desmine D- Immunomarquage positif pour la myogénine

Les RMSa, comptant pour environ 20% des RMS, sont caractérisés par la présence de septas fibreux responsables d'une compartimentalisation de la prolifération, typique de l'architecture alvéolaire. Les cellules tumorales, souvent indifférenciées (sans rhabdomyoblaste franc) et caractérisées par un volumineux noyau monomorphe, arrondi et nucléolé, sont appendues en monocouche à ces septas et s'engouffrent dans la lumière des alvéoles (figure 5). On note souvent la présence de cellules géantes myoblastiques caractéristiques de cette forme. Les RMSa présentent souvent un marquage de la desmine et de la myogénine diffus, en comparaison avec le marquage hétérogène et plus faible observé dans les RMSe. Ils présentent dans 70 % des cas une translocation spécifique, la plus fréquente étant la translocation t(2;13) (q35-q14) avec un gène de fusion *PAX3-FOXO1* ou dans 15-25% des cas une translocation variante t(1;13) avec *PAX7-FOXO1*<sup>29-31</sup>, mises en évidence par FISH ou par

RT-PCR sur matériel congelé (figure 7). Le mécanisme d'action de cette protéine de fusion entre ces deux facteurs de transcription<sup>32</sup> est encore mal connu, mais pourrait agir via des mécanismes de régulations épigénétiques comme « super-enhancer », conduisant à une surexpression de gènes tels que *MYOD* et myogénine, puis à la transformation de la cellule souches en RMSa<sup>33</sup>. Il n'existe actuellement pas d'inhibiteur de la protéine de fusion *PAX-FOXO1*. Les RMSa porteurs de la translocation *PAX-FOXO1* sont classiquement associés à un faible taux de mutations, mais plutôt des mécanismes d'amplification de gènes<sup>34</sup>.



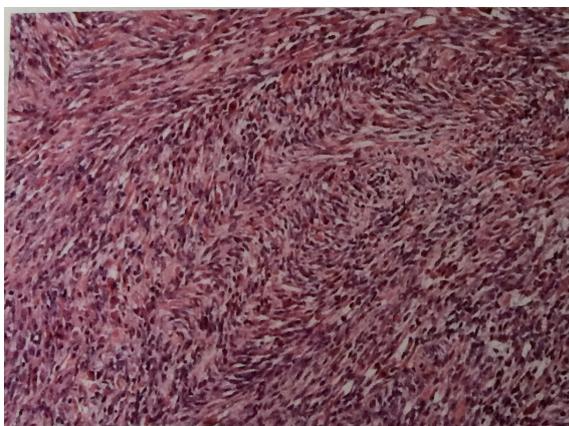
**Figure 5. Aspect histologique typique d'un RMSa** A et B- Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] C- Immunomarquage positif pour la desmine D- Immunomarquage positif pour la myogénine

Aucun évènement génétique clef n'a pu être mis en évidence pour les RMSa. Cependant, ils sont caractérisés par des altérations moléculaires complexes impliquant plusieurs chromosomes<sup>35-37</sup> et un nombre de mutations oncogéniques plus important que dans les RMSa<sup>38</sup>. On peut citer par exemple, une hyperdiploïdie<sup>39,40</sup>, l'implication fréquente d'un point de rupture précis dans le gène *PAX3* 2q35 dans un réarrangement chromosomique complexe

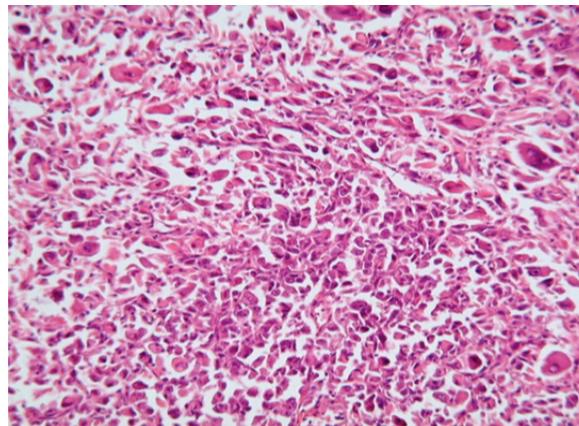
ou une polysomie 8<sup>41</sup>. Dans la plupart des cas, on retrouve une perte de l'hétérozygotie (Loss Of Heterozygoty - LOH) au niveau de la région chromosomique 11p15.5<sup>42,43</sup>, contenant le gène de l'*IGF2* et des gènes suppresseurs de tumeur tel que *H19*, *CDKN1* et *HOTS*. Il est intéressant de noter que les RMSa sans translocation semblent plus proches des RMSe que des RMSa, tant sur le plan clinique que moléculaire<sup>44</sup>.

Plus rarement chez l'enfant et l'adolescent (moins de 10%<sup>45</sup>) sont rencontrées d'autres formes de RMS : les RMS à cellules fusiformes– RMSsc : « *spindle cell RMS* » – et les RMS sclérosants, souvent classés comme un sous-type de RMSe. Les RMSsc et les RMS sclérosants sont regroupés comme une entité à part dans la nouvelle classification de l'OMS de 2013<sup>46,47</sup>. Les RMSsc surviennent souvent au niveau paratesticulaire et de la tête et du cou. Ils présentent une architecture fasciculée composée principalement de cellules fusiformes, repérables par leur discret noyau allongé et leur cytoplasme discrètement éosinophile (figure 6.A). Des figures mitotiques, des atypies cytonucléaires et un hyperchromatisme sont fréquemment retrouvés<sup>48</sup>.

Parfois, ces RMS peuvent présenter des zones de hyalinisation du stroma contenant des cellules fusiformes arrangées en nids ou en travées, donnant cet aspect pseudovasculaire caractéristique de la forme sclérosante<sup>49</sup>. Une rare mutation du gène *MyoD1* a été mise en évidence dans un sous-type de RMSsc agressifs de l'enfant de plus de 10 ans et de l'adulte<sup>50,51</sup>.



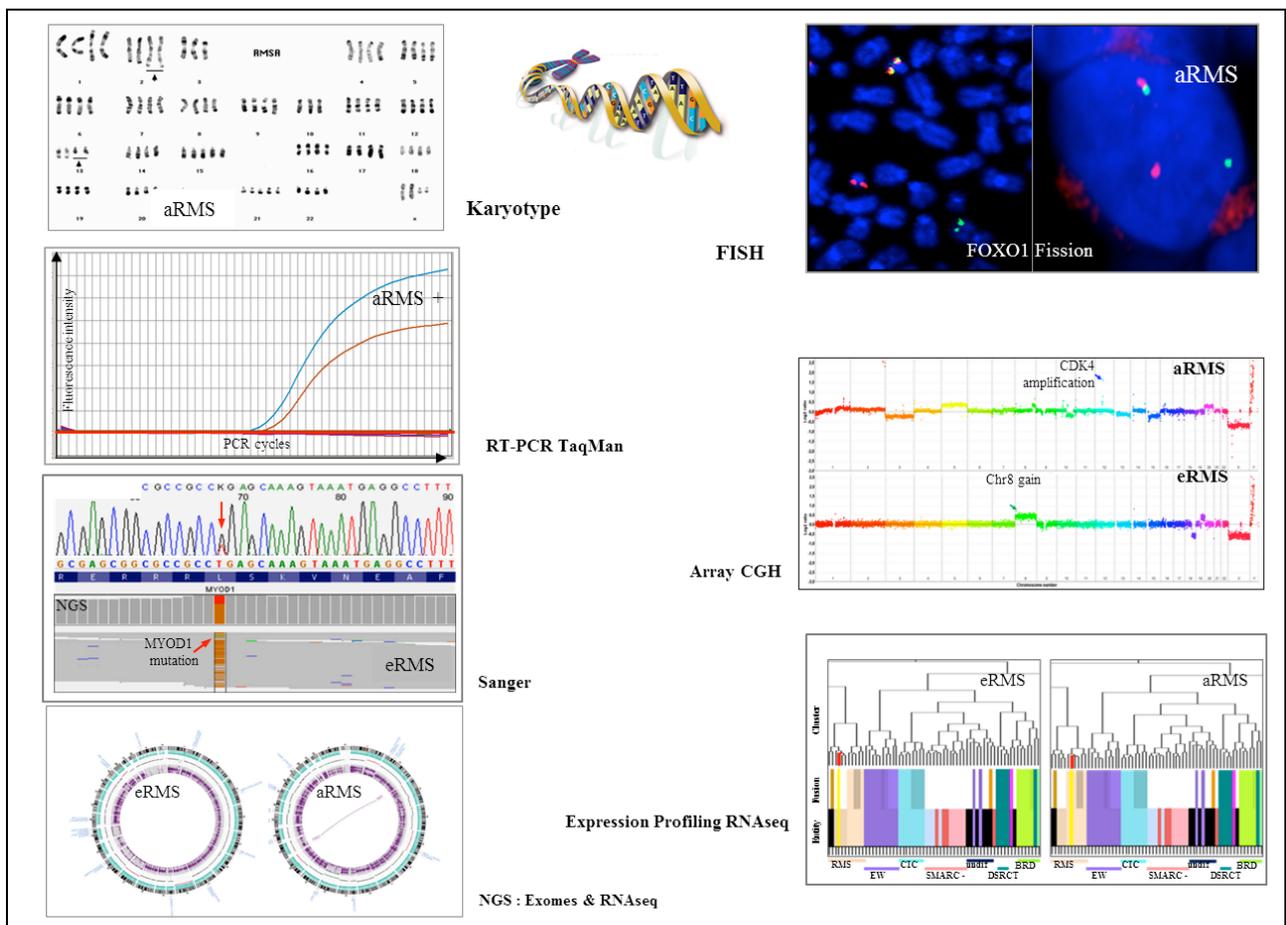
A.



B.

**Figure 6. Aspect histologique après Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES]  
A- RMSsc      B- RMS pléomorphe**

Le dernier type de RMS, le RMS pléomorphe, est la forme la plus fréquente de l'adulte, mais est exceptionnel chez l'enfant/adolescent. Cette forme est caractérisée par le mélange de cellules d'aspect et de taille variables, parfois polygonales et polynuclées, parfois fusiformes, parfois rondes indifférenciées (figure 6.B). Le cytoplasme est habituellement abondant, éosinophile, d'aspect granuleux, parfois vacuolisé. Des doubles striations sont exceptionnellement retrouvées.



**Figure 7. Les différentes méthodes de caractérisations des RMS: de la cytogénétique à la biologie moléculaire (d'après Gaëlle Pierron)**

*La translocation PAX3-FOXO1 définissant les RMSa peut être visualisée sur un caryotype classique; Le point de rupture du locus de FOXO1 peut également être mis en évidence par FISH; Des altérations génétiques sont repérables par CGH-array comme par exemple une amplification spécifique de CDK4 souvent observé chez les RMSa, ou un gain complet du chromosome 8 chez les RMSe; Les transcrits de fusion PAX3/7-FKHR peuvent être identifiés par Real Time RT-QPCR; Le séquençage soit par la méthode Sanger classique soit par le séquençage nouvelle génération (Next Generation Sequencing - NGS) permet de détecter la*

*mutation de MyoD1 (p.L122R); Les profils d'expression génique obtenus par RNAseq peuvent révéler des sous-groupes de RMS; Enfin, le séquençage haut débit ou le RNAseq permettent une étude large et détaillée, où toutes ces différentes altérations peuvent être recherchées simultanément (Fusions, Amplifications, Gains, Mutations, profils d'expression).*

Le diagnostic histologique est particulièrement difficile à la période néonatale en raison notamment de l'intense activité mitotique tissulaire. Les tumeurs bénignes peuvent apparaître très cellulaires, immatures, avec un index mitotique élevé mais sans irrégularité nucléaire ni mitose anormale. Le diagnostic différentiel pour les formes peu différenciées avec les tumeurs bénignes cellulaires, notamment les FI, est parfois délicat. L'étude immunohistochimique (desmine et surtout myogénine) permet de distinguer le RMS des autres tumeurs à petites cellules rondes : lymphome malin, sarcome d'Ewing extra-squelettique, PNET, tumeur desmoplastique à petites cellules rondes.

Plusieurs cas d'anomalies congénitales associées à un RMS ont été décrits<sup>52</sup>, mais aucune corrélation forte ni substratum moléculaire héréditaire n'a pu être mise en évidence, en dehors des RMS survenant dans un contexte génétique connu type NeuroFibromatose de type 1 – NF1 – RASopathie, ou syndrome de Gorlin. La survenue d'une RMS de sous-type histologique particulier (anaplasique ou pléomorphe) ou survenant à un âge jeune et notamment un RMS à fusion *FOXO1* négative chez un nourrisson peut faire proposer un conseil génétique et la recherche d'un syndrome de Li-Fraumeni<sup>53</sup>.

L'intensité du traitement chez les enfants nécessite tout particulièrement une bonne stratification du risque, afin d'offrir les meilleures chances de guérison tout en limitant les séquelles à long-terme. L'enjeu principal du traitement des RMS est d'obtenir un contrôle local de la tumeur. En effet, l'évolution de ces tumeurs, lorsqu'elles ne sont pas métastatiques au diagnostic, est dominée par le risque de récurrence locale. Une exérèse chirurgicale carcinologique de qualité est donc indispensable à la guérison. Ainsi, la réalisation dès le diagnostic d'une exérèse chirurgicale complète conservatrice est rarement possible sans risque important de séquelles, il est alors proposé une chimiothérapie première afin de réduire la taille de la tumeur et de faciliter la chirurgie à venir<sup>45,54-56</sup>. Malheureusement, une chirurgie conservatrice n'est pas toujours possible, et ce malgré une chimiothérapie néo-adjuvante.

Lorsque la chirurgie ne peut être complète ou pour éviter une chirurgie mutilante, la radiothérapie est utilisée en complément malgré le risque de séquelle importante. Dans la mesure du possible, la curiethérapie ou la protonthérapie sont privilégiées à la radiothérapie externe par photons.

Le pronostic des RMS s'est spectaculairement amélioré depuis les années 1970, la survie des patients passant d'à peine 25% à plus de 80% pour les RMS localisés<sup>57,58</sup>. Malheureusement, les RMS réfractaires et les RMS métastatiques restent de très mauvais pronostic, avec une survie ne dépassant pas les 30%<sup>32</sup>. Ces progrès sont le fruit d'une meilleure stratification du traitement, d'une amélioration de l'imagerie, de la biologie, de la chirurgie et des soins de support. Cependant, aucune chimiothérapie n'a aujourd'hui montré sa supériorité en terme d'efficacité par rapport au VAC - Vincristine, Actinomycine D, et Cyclophosphamide - dont la combinaison a été développée en 1974. Les principaux facteurs de mauvais pronostic sont une taille de la tumeur de plus de 5 cm, un âge inférieur à 1 an ou supérieur à 10 ans<sup>59</sup>, les localisations défavorables (paraméningé, vessie/prostate, membres...), le type histologique alvéolaire et l'extension loco-régionale ou métastatique. Enfin, la présence d'un gène de fusion impliquant *FOXO1* est l'un des facteurs clés de la classification des RMS et de la stratification du risque<sup>60</sup>. Les RMS réfractaires aux chimiothérapies ainsi que les RMS métastatiques restent à ce jour très difficiles à guérir malgré les progrès réalisés<sup>32</sup>.

## 2.3 Particularités du RMS du nourrisson

Le RMS du nourrisson de moins de 1 an, 4 à 10% des RMS et 0,4 à 2 % si l'on ne considère que les RMS néonataux<sup>3,16</sup>, est une entité bien particulière, avec des spécificités à la fois cliniques, histologiques et pronostiques. Outre les difficultés de prise en charge du nourrisson évoquées ci-dessus, ce sous-type de RMS présente une importante hétérogénéité, certaines tumeurs étant très agressives et résistantes à la chimiothérapie<sup>59</sup> quand d'autres sont très chimiosensibles et facilement curables, sans qu'aucun outil diagnostique ne permette au clinicien de les différencier. Il semble avoir une sur-représentation des formes à cellules fusiformes, principalement retrouvées au niveau paratesticulaire et dans la région de la tête et du cou (figure 8), et pourraient être associés à un meilleur pronostic<sup>61,62</sup>.



**A.**



**B**

**Figure 8. Présentations cliniques au diagnostic de RMS du nourrisson**

**A-** RMS paratesticulaire

**B-** RMS de l'aile du nez (tête et cou non paraméningé)

La survie des nourrissons porteurs d'un RMS semble moins bonne que celle des enfants âgés de 1 à 10 ans, mais l'hétérogénéité des séries et des analyses, mélangeant parfois RMS et autres TMM, rendent difficile les comparaisons (table 2) :

- dans la série française SIOP de TMM de moins de 13 mois<sup>16</sup>, seuls les RMS localisés étaient analysés avec une SG et une SSE à 5 ans respectivement de 72% et 57%, taux identiques aux enfants de 1 à 10 ans mais meilleurs que pour les enfants de plus de 10 ans (59% et 42%). Deux tiers de cette cohorte de 64 RMS (âge médian 7 mois) étaient des RMSe, et les localisations préférentielles étaient : membres (23%), Génito-urinaire non Vessie/Prostate – GU non VP – (20%), vessie/prostate – VP – (19%).

- dans la cohorte italienne de l'Italian Cooperative Groupe<sup>63</sup>, une SG et une SSE à 5 ans de 61% et 42% étaient rapportés pour les 50 RMS localisés et métastatiques confondus. L'âge médian de cette cohorte était de 6 mois, avec quasiment trois-quarts de RMSe, majoritairement des localisations VP ou Tête et Cou non ParaMéningé – TC non PM.

- dans la série américaine du COG (étude IRS-IV)<sup>64</sup> analysant 76 enfants de moins de 12 mois (âge médian 7,8 mois), l'EFS à 5 ans était de 57% (versus 83% pour les enfants de 1–9 ans, et 68% pour les plus de 10 ans) et l'OS de 76% (versus 87% pour les enfants de 1–9 ans, et 55% pour les plus de 10 ans). Les tumeurs se répartissaient équitablement sur tous les sites primitifs, à l'exclusion du PM, et étaient RMSe pour 57% d'entre elles.

- enfin, dans la série américaine issue de la base de données Surveillance, Epidemiology, and End Results (SEER)<sup>3</sup>, 99 RMS de moins de 1 an étaient analysés, avec une répartition histologique semblable aux autres séries (59% de RMSe) et une localisation principalement TC non PM (29%) et GU non VP (26%). L'information de la médiane d'âge n'était pas plus disponible. La SG à 5 ans était de 52%, RMS localisés et métastatiques confondus.

L'analyse de ces différentes séries souligne la nécessité de données homogènes à propos des RMS du nourrisson, afin de confirmer ces variabilités pronostiques, et d'en rechercher un substratum clinique, histologique ou moléculaire.

	SIOP <sup>10</sup>	ICG <sup>63</sup>	COG <sup>64</sup>	SEER <sup>3</sup>
<b>Effectif</b>	n=64	n=50	n=76	n=99
<b>Age médian</b>	7 mois	6 mois	7,4 mois	-
<b>RMS métastatiques</b>	8 (13%)	3 (6%)	-	15 (15%)
<b>RMSe</b>	63%	74%	57%	59%
<b>RMSa</b>	31%	22%	22%	27%
<b>Localisations préférentielles</b>	Membres 23% GU non VP 20% VP 19%	TC non PM 28% VP 18%	Tronc 17% TC non PM 16% VP 16% GU non VP 16%	TC non PM 29% GU non VP 26%
<b>RMS localisés</b>	SG à 5 ans SSE à 5 ans		76 57	
<b>Tous RMS</b>	SG à 5 ans SSE à 5 ans	61 42		52

**Table 2. Tableau récapitulatif des précédentes séries de RMS du nourrisson**

Abréviations : SG : survie Globale ; SSE : Survie Sans Evènement ; TC non PM : Tête et Cou non ParaMéningé ; GU non VP : Génito-Urinaire non Vésico-Prostatique ; VP: Vésico-Prostatique

Récemment, de nouvelles translocations impliquant *NCOA2* et *VGLL2* ont été décrites chez 11 enfants présentant un RMS à cellules fusiformes<sup>65-67</sup> (âge médian = 3 mois, IC95=1-5m), alors que parmi les 30 autres enfants plus âgés (âge médian =9.5 ans, IC95=6-14 ans) pris en charge pour un RMS sclérosant ou à cellules fusiformes, aucun ne présentait ces nouvelles translocations mais 10 avaient une mutation du gène *MyoD1*. Malgré un petit nombre de cas retrouvés et un suivi relativement court, ces nouvelles fusions impliquant *VGLL2* et *NCOA2* semblent associées à un bon pronostic et un faible pouvoir métastatique. Peu d'études sur cette population particulière ont été faites, et aucune reliant à la fois clinique, histologie et biologie moléculaire sur une cohorte exhaustive.

## Objectifs

---

L'objectif principal de notre étude intégrative analysant tous les RMS des nourrissons traités en France sur plus de vingt ans était d'intégrer les données cliniques, histologiques et les nouveaux outils de biologie moléculaire, afin de mieux comprendre la présentation, les facteurs pronostiques et le devenir des RMS du très jeune enfant et de guider à l'avenir la thérapeutique.

Les objectifs secondaires étaient de décrire les différents types histologiques observés chez le nourrisson après une relecture centralisée, d'évaluer l'incidence des nouvelles fusions chromosomiques (impliquant notamment *NCOA2* et *VGLL2*) dans cette population de RMS et enfin, d'étudier les toxicités induites par les chimiothérapies administrées à ces très jeunes enfants.

# Matériels & Méthodes

---

## Chapitre 1 : Schéma de l'étude

### 1.1 Population

Notre étude rétrospective a inclus tous les nourrissons traités en France pour un RMS entre janvier 1989 et juin 2015 et âgés de moins de 6 mois au diagnostic. Ces patients étaient inclus soit dans les protocoles français SIOP MMT 89 et MMT 95, soit dans le protocole européen EpSSG RMS 2005, ou ont été identifiés via le Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant (RNTSE). Les patients pour lesquels aucun tissu tumoral n'a pu être retrouvé n'ont pas été inclus dans notre étude.

### 1.2 Recueil des données cliniques

Les données cliniques ont été collectées via les bases de données des 3 études SIOP MMT 89<sup>55</sup> (entre 1989 et 1995, n=6), MMT 95<sup>56</sup> (entre 1995 et 2003, n=6) et EpSSG RMS 2005<sup>45</sup> (entre 2005 et 2015, n=13). Pour les patients enregistrés via le RNTSE (n=12, à partir de l'année 2000) mais non inclus dans ces études, les données ont été collectées à partir des dossiers médicaux. Le stade clinique initial a été défini selon le système TNM et le stade post-opératoire selon la Intergroup Rhabdomyosarcoma Study<sup>68,69</sup>.

La réponse tumorale a été évaluée selon la réponse volumétrique (critère de réponse du protocole EpSSG RMS2005<sup>45</sup>). Pour un patient présentant une tumeur mesurable au diagnostic et non opérée d'emblée, le volume tumoral était estimé selon la formule Largeur x Epaisseur x Hauteur x 0.52 et la réponse évaluée après 3 cures. Une Rémission complète (RC) était définie comme une disparition complète de la lésion, une réponse partielle (RP) correspondait à une régression d'au moins 2/3 du volume tumoral initial, un effet objectif était défini par une diminution entre 1/3 et 2/3 du volume initial, une maladie stable correspondait à une régression de moins d'1/3 de la tumeur ou une augmentation du volume de moins de 40%, et une progression était soit une augmentation de plus de 40% du volume de la tumeur initiale, soit une apparition d'autres localisations de la maladie.

Les toxicités de grade 3-5 selon le NCI Common Terminology Criteria for Adverse Events (CTCAE) v4.0 ont été recueillies pour chaque cycle de chimiothérapies.

### 1.3 Traitement

Les enfants ont été inclus et traités selon les protocoles en vigueur en France au moment de leur diagnostic : les protocoles français SIOP MMT 89 et MMT 95 puis le protocole européen EpSSG RMS 2005. Dans aucune de ces études, les enfants âgés de moins de 6 mois au diagnostic ne pouvaient être inclus dans la partie randomisée portant sur la chimiothérapie mais étaient simplement enregistrés de façon prospective.

Dans les 3 protocoles, le traitement local répondait à la même logique : la résection chirurgicale n'est envisagée que si l'exérèse complète R0 ou R1 peut être obtenue avec une chirurgie conservatrice. Si le résultat de la chirurgie initiale est incertain ou microscopiquement incomplet, une reprise chirurgicale peut être envisagée toujours en l'absence de séquelles inacceptables à prévoir. La radiothérapie était envisagée systématiquement chez les patients mauvais répondeurs à la chimiothérapie maximale ou nécessitant une chirurgie radicale. Cependant, chez les jeunes nourrissons, les conséquences à long terme d'une chirurgie radicale peuvent être considérées moins inacceptables que celle de la radiothérapie. Finalement, aucune irradiation externe n'a été réalisée pour les nourrissons de moins de 6 mois en première ligne mais quelques enfants ont bénéficié de la curiethérapie.

Les chimiothérapies indiquées dans les différents protocoles sont listées ci-dessous.

**Dans le MMT 89**, les patients présentant une tumeur localisée stade I pT1 et ayant bénéficié d'une exérèse complète d'emblée ne recevaient que 2 cures de VA. Les patients de risque intermédiaire (localement agressif ou de résection impossible) recevaient plusieurs cures d'Ifosfamide-Vincristine-Actinomycine D (IVA), dont le nombre variait en fonction du stade initial, de la localisation, de la réponse à la chimiothérapie et de la qualité de la chirurgie. En cas de faible réponse à la chimiothérapie et/ou d'impossibilité de réaliser une exérèse complète R0, une seconde ligne de chimiothérapie de type « Vincaepi » était débutée (VCE : vincristine, carboplatine, et epidophyllotoxine). Les patients considérés à haut risque (envahissement ganglionnaire ou métastatique d'emblée, paraméningé de moins de 3 ans ...) recevaient une chimiothérapie intensifiée d'emblée, comprenant 6 molécules en alternance : IVA – carboplatine, epirubicine, et vincristine [CEV] – ifosfamide, vincristine et etoposide [IVE]). La nécessité d'un traitement local associé était déterminée en fonction de la réponse

tumorale à cette ligne de chimiothérapie +/- d'un curage ganglionnaire en cas d'envahissement ganglionnaire au diagnostic.

**Dans le protocole MMT 95**, les patients étaient traités par 9 cures d'IVA. Les patients randomisés dans le bras IVA et n'ayant pas obtenu une bonne réponse à la chimiothérapie après 3 cures devaient être traités par la chimiothérapie considérée comme plus intensive et comprenant la combinaison « 6 molécules » en alternance (équivalent au MMT89 haut risque).

Les doses des molécules avant adaptation étaient : vincristine 1.5mg/m<sup>2</sup> à J1; actinomycine-D 0.045 mg/kg à J1; ifosfamide 3 g/m<sup>2</sup> à J1-J2+/- J3 (avec uroprotection par mesna) ; carboplatine 500 mg/m<sup>2</sup> à J1; epirubicine 150 mg/m<sup>2</sup> à J1; et etoposide 150 mg/m<sup>2</sup> à J1-J2-J3.

**Dans le RMS 2005**, seules des cures de VA ou IVA étaient utilisées, selon la stratification du risque et la réponse au traitement.

Dans les 3 protocoles, les cures de chimiothérapies étaient répétées toutes les 3 semaines, après vérification de la récupération complète clinique et hématologique.

Un traitement des rechutes était également proposé, reposant sur intensification de la chimiothérapie avec un changement des molécules précédemment utilisées, et un traitement local intensif (comportant radiothérapie et si possible exérèse chirurgicale complète).

Les enfants de moins de 6 mois n'étant qu'au mieux enregistrés mais jamais randomisés dans ces études, il a été observé de nombreuses variations dans les prises en charge. Nous avons reporté ici seulement les premières lignes de chimiothérapies, sauf quand les modifications de prise en charge n'étaient pas le fait d'une progression tumorale.

La chirurgie a été définie comme: i) conservative en l'absence de potentielles séquelles fonctionnelles majeures à long-terme, ii) conservative avec "séquelles esthétiques" (toute résection non radicale mais résultante en un changement notable d'apparence, en particulier résection au niveau de la face/tête/cou) ou iii) radicale (avec séquelles fonctionnelles majeures à long-terme ou exérèse de tout ou partie d'un organe « noble » - par exemple membres, uretère, rein, colon – associée à une morbidité importante).

Des recommandations d'adaptation de doses étaient proposées dans les protocoles MMT95 et RMS2005, mais pas dans le protocole MMT89. Ces recommandations sont résumées dans la table 3.

En résumé, les doses de chimiothérapie sont calculées selon le poids en kg et non selon la surface corporelle. De plus, pour les enfants de moins de 3 mois et entre 3 et 6 mois, les doses

étaient diminuées respectivement de 50% et 33%. Lorsque la première cure de chimiothérapie était bien tolérée, les doses étaient progressivement augmentées jusqu'à la pleine dose en mg/kg au cours des cures suivantes.

En raison du risque de néphrotoxicité, en particulier à long terme, l'ifosfamide, n'est pas recommandé chez les enfants de moins de 3 mois dans le protocole MMT95, et de moins de 6 mois dans le RMS 2005. Les anthracyclines étaient également contre-indiquées avant l'âge de 3 mois.

Les adaptations de doses ont été analysées en regard des dernières recommandations en vigueur en France (RMS 2005). Les patients recevant moins ou plus que les doses recommandées ont été classés selon 3 catégories : "sous-dosage" (dose inférieure d'au moins 25% des doses recommandées pour au moins une des molécules, à l'exception de la vincristine), "sur-dosage" (dose supérieure d'au moins 25% des doses recommandées pour au moins une des molécules, à l'exception de la vincristine) et "dose adaptée". L'adhérence au protocole dans lequel l'enfant était spécifiquement enregistré n'a pas été évaluée.

	0-3 mois ou <6 kg	3-6 mois ou 6-8 kg	> 6 mois ou > 8 kg
<b>Vincristine</b>	0.025 -> 0.05*	0.033 -> 0.05*	0.05
<b>Actinomycin D</b>	0.025 -> 0.05*	0.033 -> 0.05*	0.05
<b>Ifosfamide</b>	Contre-indiqué avant 6 mois ou 8 kg		50 -> 100 Jours 1-2
<b>Cyclophosphamide</b>	25 -> 50		30 -> 50
<b>Doxorubine</b>	Contre-indiqué avant 3 mois ou 6 kg	0.65 -> 1 Jours 1-2	1 Jours 1-2

**Table 3. Recommandations françaises d'adaptation de doses en fonction de l'âge**

Toutes les unités sont mg/kg

\*augmentation progressive en fonction de la tolérance

\*\* dans les protocoles MMT, l'ifosfamide était autorisé à partir de 3 mois ou 6 kgs, avec une dose de départ de 66 mg/kg/j x2 jusqu'à 100 x2 mg/kg/j x2 jours

## Chapitre 2 : Analyse de biopathologie

### 1.1 Relecture Histologique Centralisée

Une relecture histologique centralisée de toutes les lames du diagnostic a été réalisée par Dominique Ranchère et Marie Karanian (centre Léon Bérard, Lyon). L'objectif était d'abord de confirmer le diagnostic histologique de RMS puis d'essayer d'en distinguer des sous-types particuliers. Le diagnostic de RMS était défini par un ensemble de caractéristiques morphologiques ET la positivité d'au moins l'un des 2 marqueurs immunohistochimiques spécifiques du RMS : la desmine ou la myogénine. Dans certains cas, des marquages IHC complémentaires ont été réalisés lors de la relecture, notamment : Ki67, AP2-bêta, actine muscle lisse, MyoD1, S100, GFAP, CD34, EGFR, SOX10 et SMARCB1. Tous les cas ont été classés selon la classification WHO 2013 des tumeurs de tissus mous<sup>28</sup>: RMSe (classique ou botryoïde), RMSa (classique ou peu différencié), et RMSsc, et comparés au diagnostic histologique initial.

### 1.2 Biologie Moléculaire

Les techniques d'hybridation in situ en fluorescence (FISH) et de CGH array ont été réalisées sur du tissu fixé en paraffine – FFPE (Formalin-Fixed Paraffin-Embedded). Lorsque du tissu congelé était disponible, une Multiplex Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction – RT-PCR – regroupant les translocations les plus couramment rencontrées dans les sarcomes a été réalisée par Gaëlle Pierron à l'institut Curie. Du séquençage haut débit de l'ARN a également été réalisé pour tous les patients ayant du matériel tumoral disponible pour de la biologie moléculaire, soit par Franck Tirode au Centre Léon Bérard (Lyon) pour le matériel FFPE soit par Gaëlle Pierron à l'institut Curie (Paris) pour le matériel congelé.

Le réactif Trizol a été utilisé pour l'extraction des ARN totaux après broyage du matériel tumoral congelé ou FFPE (Thermo Fisher Scientific, Courtaboeuf, France). Tous les ARNs ont été quantifiés par spectrophotométrie (NanoDrop; Thermo Fisher Scientific) et un contrôle qualité a été réalisé (valeur seuil de DV200 > 13%) en utilisant une TapeStation avec Hs RNA ScreenTape (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, USA). La constitution de la banque a été effectuée en suivant le protocole TruSeq Stranded mRNA LS (Illumina, San

Diego, CA, USA) pour les échantillons congelés ou TruSeq RNA Access Library Prep Kit (Illumina) pour les échantillons FFPE. Le séquençage a été réalisé sur des machines de séquençage Illumina : soit le HiSeq 2500 (150nt paired-end, échantillon congelé) ou NextSeq 500 (75nt paired-end, échantillons FFPE).

Les Alignements ont été réalisés en utilisant soit TopHat2 avec le génome référence Hg19 pour le tissu congelé<sup>70</sup> soit l'algorithme STAR avec le génome référence GRCh38 pour le tissu FFPE<sup>71</sup>. L'étude des gènes de fusion a été réalisée avec les outils DeFuse<sup>72</sup>, STAR-Fusion<sup>73</sup>, FusionCatcher<sup>74</sup> et FusionMap. Les profils d'expression transcriptionnelle ont été extraits des dossiers en utilisant Kallisto<sup>75</sup>, et transformés en  $\log_2(\text{TPM}+2)$  avant normalisation par quantile en utilisant le package Limma v 3.32.2 du logiciel R<sup>76</sup>. Seuls les gènes avec une séquence codante connue (« Ensembl GRCh38p5 annotation ») et avec une valeur maximale d'expression supérieure à 2 pour tous les échantillons ont été utilisés pour l'analyse de clusters. Cette dernière a été réalisée par classification ascendante hiérarchique en utilisant la méthode de Ward basée sur l'intervalle interquartile des 10% des gènes avec le plus de variations.

## Chapitre 3 : Analyses statistiques

La Survie Globale – SG – a été calculée entre la date du diagnostic et la date de dernière nouvelles (ou décès). La Survie Sans Evènement – SSE – a été calculée entre la date du diagnostic et la date du premier évènement, comme le décès toute cause confondue, la progression ou la rechute. La RC était définie comme la disparition de tout signe clinique ou radiologique de maladie au cours du traitement ou en cas de lésion résiduelle (notamment après curiethérapie) si celle-ci persistait sans progression 6 mois après la fin des traitements. La date de la fin du recueil des données était juin 2017, permettant un suivi minimum de 12 mois depuis la date du diagnostic. Les courbes de survie ont été estimées selon la méthode Kaplan-Meier. Le test du log-rank a été utilisé pour comparer les courbes de survie et estimer un hazard ratio (HR). Les variables catégorielles ont été présentées sous forme de fréquence, et celles continues sous forme de moyenne (minimum-maximum). Toutes les analyses ont été réalisées grâce au logiciel R version 3.2.3<sup>76</sup>.

## Chapitre 4 : Aspects Légaux

L'étude a été approuvée par le Comité d'Ethique de la Recherche de l'institut Gustave Roussy (IRB).

# Résultats

## Chapitre 1 : Caractéristiques à l'inclusion

### 1.1 Clinique

Un total de 37 nourrissons (22 garçons – 60%) ont été inclus dans cette étude (MMT 89=6, MMT 95=6, RMS 2005=13 et RNTSE=12). Treize autres patients ont été identifiés mais finalement non inclus, soit car aucun matériel tumoral n'était disponible (n=6), soit car le diagnostic de RMS a été infirmé lors la relecture histologique (négativité du marquage IHC par la desmine et la myogénine - n=7). Trente patients sur les 37 inclus avaient du matériel tumoral disponible pour l'analyse moléculaire : tissu congelé pour n=15, tissu fixé en paraffine pour n=8 ou les 2 pour n=7 patients. Pour les 7 patients restants, le tissu fixé dans le liquide de Bouin (n=2) ou les lames d'histologie simples (n=5) ne pouvaient être utilisés pour la biologie moléculaire (figure 9).

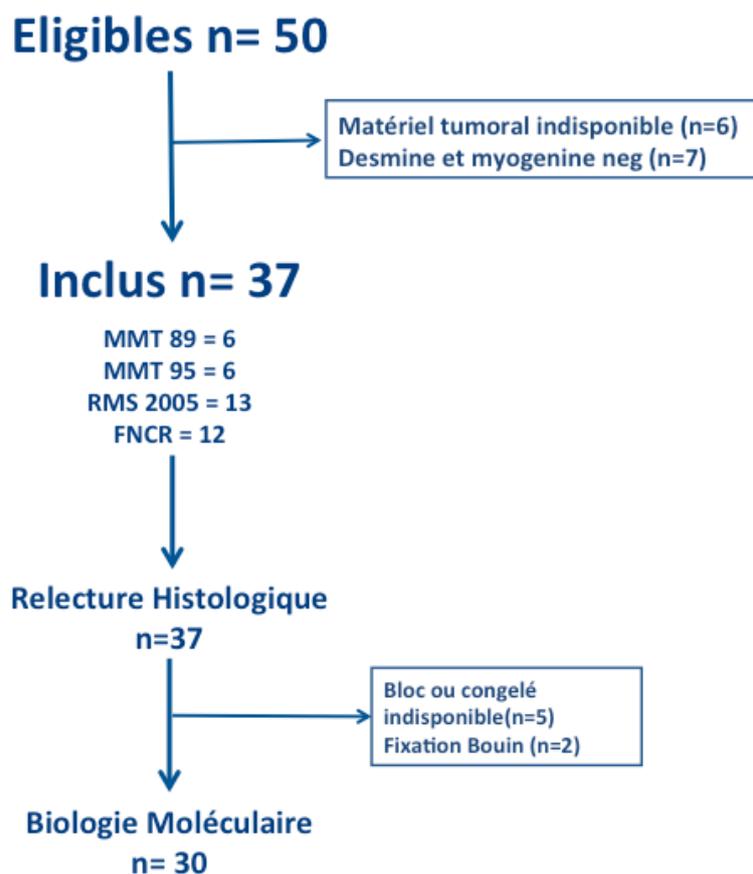


Figure 9. Flow-chart

L'âge médian au diagnostic de RMS était de 2,8 mois [0-5.8 mois]. Le diagnostic de RMS a été fait à la naissance pour 7 nourrissons (19%). Six tumeurs (16%) étaient métastatiques au diagnostic, dont deux se sont révélées être des tumeurs rhabdoïdes après relecture histologique (la première avec envahissement méningé et l'autre avec envahissement pleural). Deux autres patients métastatiques étaient des RMSa (un avec envahissement méningé, et le deuxième avec métastases osseuses et une lésion péri-hépatique), un était un RMSe avec métastases pulmonaires, alors que le dernier était un RMS inclassable très nécrotique avec métastases ostéo-médullaires. Six patients (16%) avaient un envahissement ganglionnaire N1 au diagnostic. Les deux localisations primitives principales étaient : VP (n=11 – 30%) et TC non PM (n=10 – 27%). Une malformation congénitale ou des prédispositions héréditaires ont été retrouvées chez 5 patients: une fille avec des lésions pigmentées hypodermiques et un angiome plan de la face, un garçon avec une cataracte bilatérale congénitale, un garçon avec un colobome (pour lequel un lien avec une altération de la voie p53 est actuellement discuté<sup>77</sup>), une fille avec un syndrome de Turner et un garçon avec une NF1. De plus, 2 autres patients avaient des antécédents familiaux particuliers : deux décès précoces de cause inconnue dans la fratrie d'une petite fille, et un garçon avec des frères et sœurs atteints de polykystose rénale autosomique récessive. Les caractéristiques cliniques au diagnostic sont résumées dans la table 4.

Caractéristiques		n° de patients (%)
Age (mois)		2.8 [0-5.8]
	<1 mois	10 (27%)
	1-3 mois	8 (22%)
Sexe (garçon)		22 (59%)
Malformations congénitales/ prédispositions génétiques/ antécédents familiaux notables		7 (19%)
Localisation du primitif	<i>TC non PM*</i>	10 (27%)
	<i>GU non VP*</i>	3 (8%)
	<i>VP*</i>	11 (30%)
	<i>Membres</i>	4 (11%)
	<i>PM*</i>	5 (13%)
	<i>Autres</i>	4 (11%)
Taille de la tumeur > 5 cm		18 (49%)
Statut T**	<i>T1</i>	13 (35%)
	<i>T2</i>	24 (65%)
Envahissement ganglionnaire N1**		6 (16%)
Groupe clinique (IRS)**	<i>I/II</i>	5 (14%)
	<i>III</i>	26 (70%)
	<i>IV</i>	6 (16%)
Protocole de traitement	<i>MMT 89</i>	6 (16%)
	<i>MMT 95</i>	6 (16%)
	<i>RMS 2005</i>	13 (35%)
	<i>RNTSE* (traités selon RMS 2005)</i>	12 (33%)

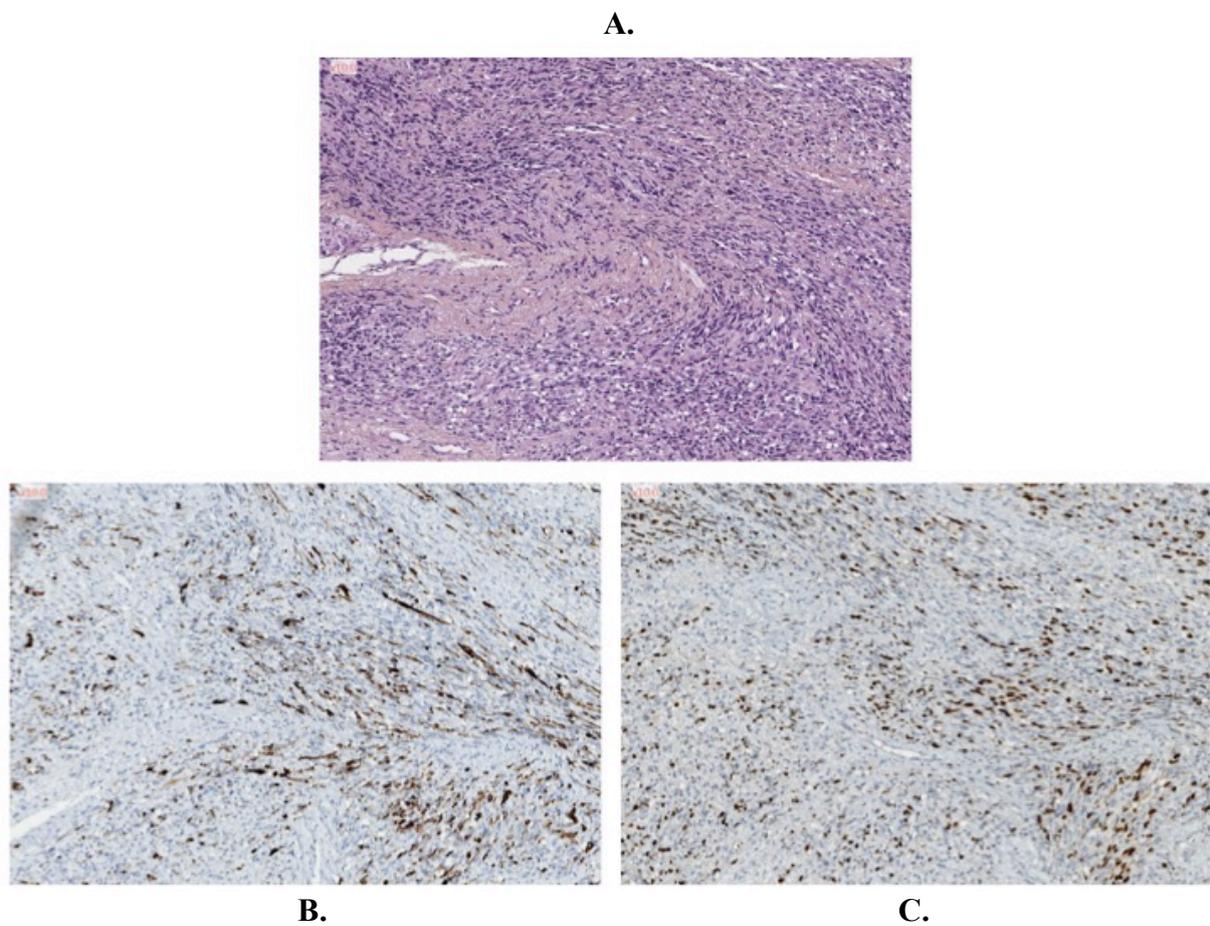
**Table 4 : Caractéristiques cliniques au diagnostic des 37 patients**

\* Abréviations : TC non PM : Tête et Cou non ParaMéningé ; GU non VP: Génito-Urinaire non Vésico-Prostatique ; VP : Vésico-Prostatique ; PM : ParaMéningé ; RNTSE Registre Nationale des Tumeurs Solides de l'Enfant

\*\* cf. annexes

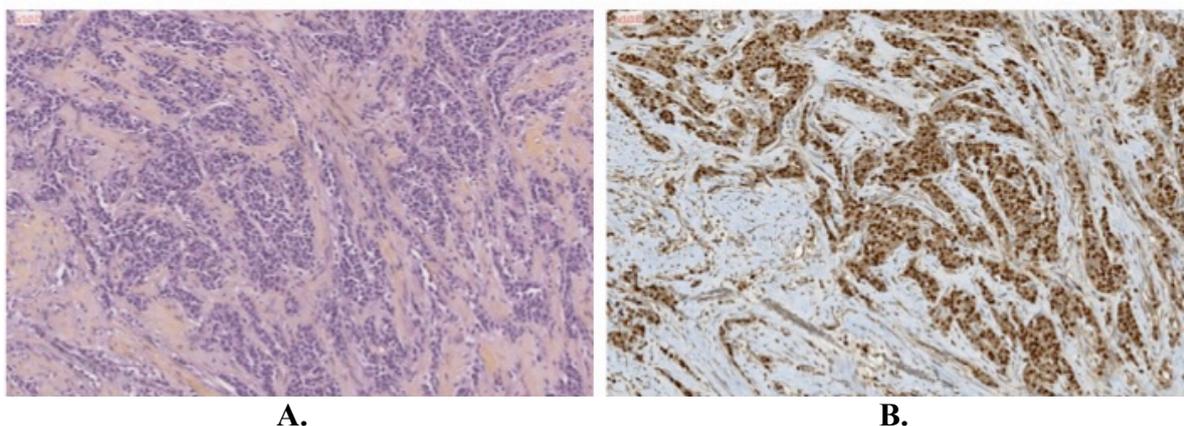
## 1.2 Relecture histologique centralisée

Après relecture histologique centralisée des 37 cas (table 5), 16 (43%) tumeurs ont été classées RMSe – figure 10 (dont 2 botryoïdes), 10 (27%) étaient RMSsc, et 6 (16%) étaient RMSa (figure 11).



**Figure 10. Aspect histologique d'un des RMSe**

**A-** Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] zoom x10      **B-** Immunomarquage positif pour la desmine (hétérogène)      **C-** Immunomarquage positif pour la myogénine (20%)



**Figure 11. Aspect histologique d'un des RMSa**

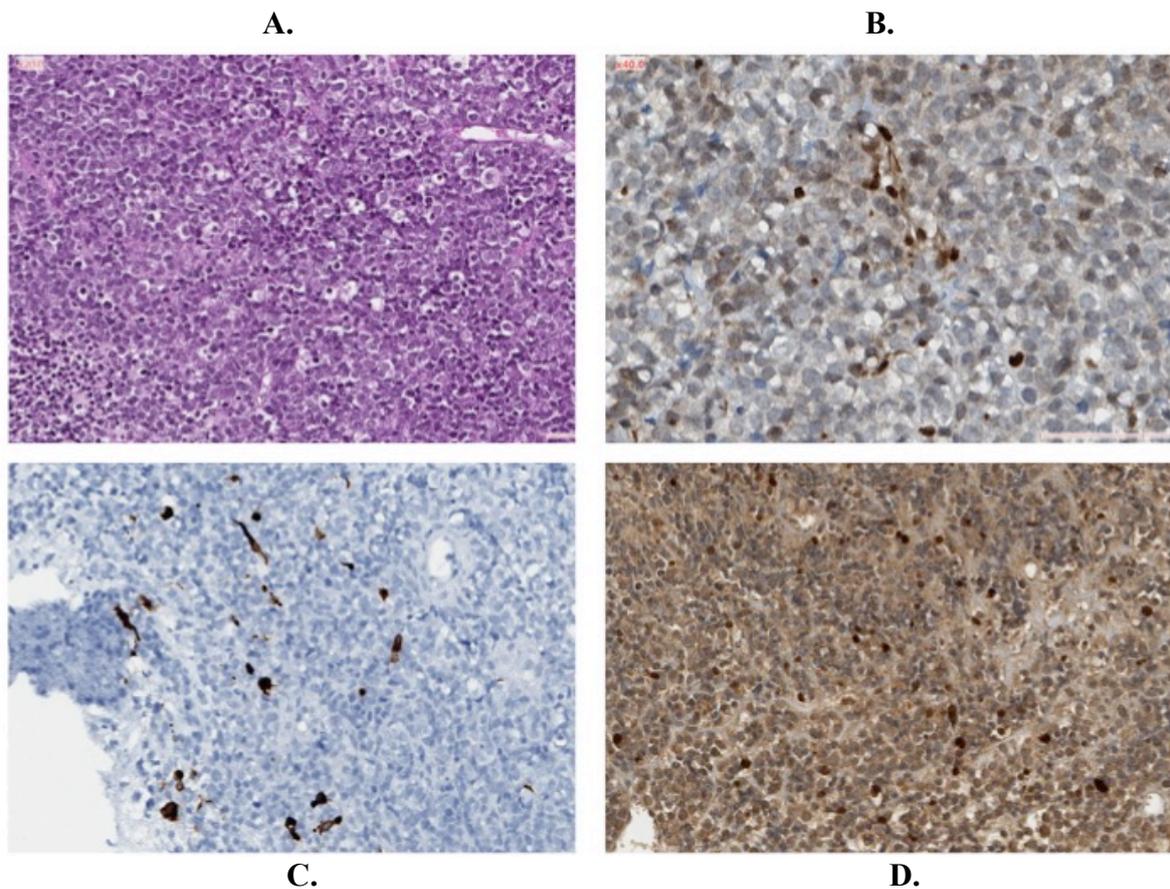
A- Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] zoom x10

B- Immunomarquage positif pour la myogénine (100%)

		Histologie initiale	Relecture centralisée
<b>Embryonnaire</b>	<i>Classique</i>	<b>24 (65%)</b>	<b>16 (43%)</b>
	<i>Botryoïde</i>	21	14
	<i>Rhabdomyome</i>	2	2
		1	-
<b>Alvéolaire (ou indifférencié)</b>	<i>Classique</i>	<b>6 (16%)</b>	<b>6 (16%)</b>
	<i>Très indifférencié</i>	6	4
		-	2
<b>Fusiforme</b>	<i>Lipofibromatose-like</i>	<b>6 (16%)</b>	<b>10 (27%)</b>
	<i>Rhabdomyome-like</i>	-	4
	<i>Sarcome fusocellulaire-like</i>	-	3
	<i>Triton-like</i>	-	2
		-	1
<b>Tumeur Rhabdoïde INI négative (desmine &amp; myogénine +)</b>		-	<b>2 (6%)</b>
<b>NOS</b>	<i>Très indifférencié</i>	<b>1 (3%)</b>	<b>3 (8%)</b>
		-	2 (5%)
	<i>Nécrotique</i>	1 (3%)	1 (3%)

**Table 5. Relecture histologique centralisée des 37 patients (tumeurs au diagnostic)**

Deux tumeurs indifférenciées initialement diagnostiquées RMSe (avec positivité de l'immunomarquage de la myogénine de respectivement 5% et 25% des cellules tumorales) se sont révélées être d'authentiques tumeurs rhabdoïdes (figure 12) lors de la relecture histologique (perte de l'expression d'INI1 à la fois en IHC et en RNaseq). Parmi les trois cas restants, 2 étaient très indifférenciés (RMS NOS) et un quasiment complètement nécrotique au diagnostic.

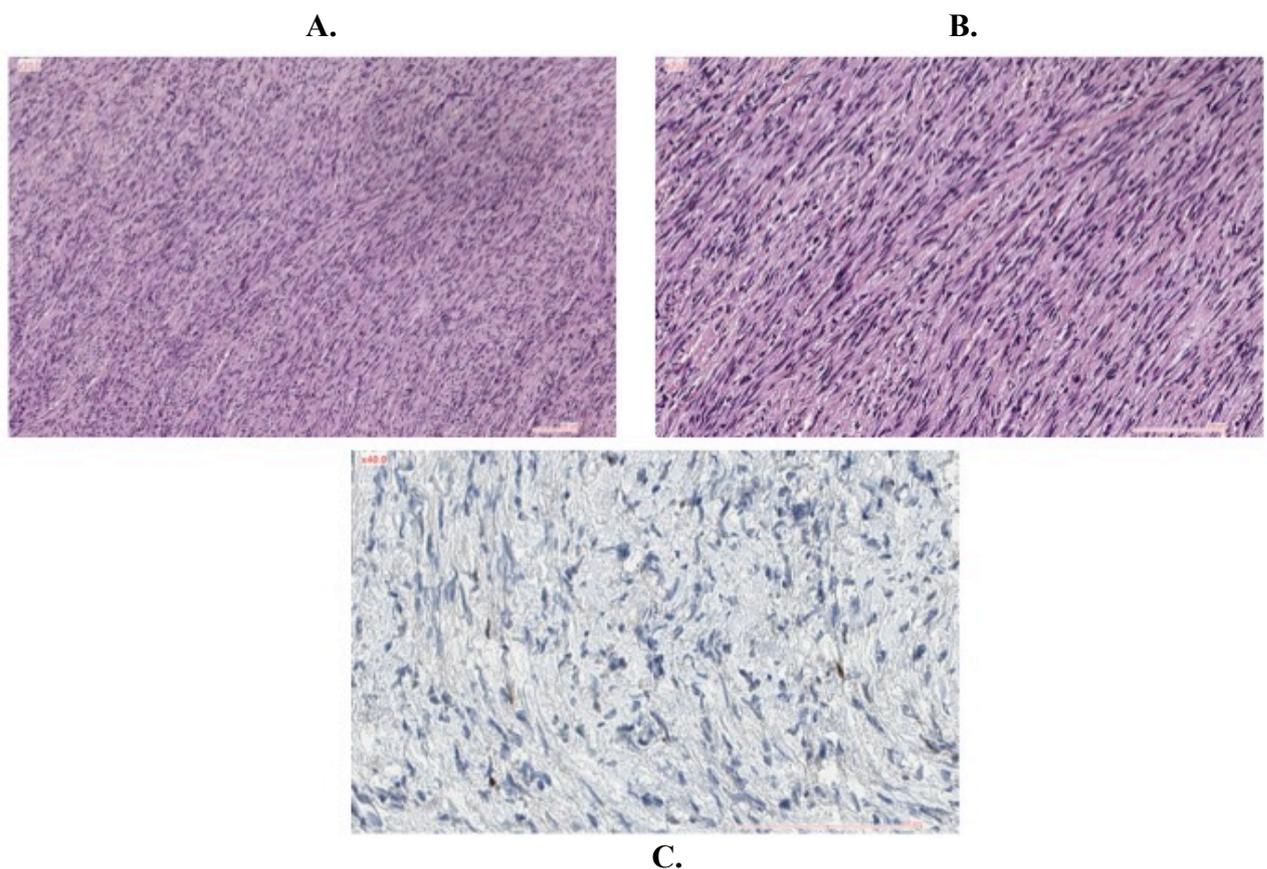


**Figure 12. Aspect histologique d'une des tumeurs rhabdoïdes initialement diagnostiquée RMSe**

**A-** Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] zoom x20 **B-** Perte d'expression de INI1 dans les cellules rhabdoïdes (bleutées) en immunohistochimie **C-** Immunomarquage positif pour la desmine **D-** Immunomarquage positif pour la myogénine (25%)

Parmi les 10 RMSsc, différents sous-types histologiques ont pu être observés :

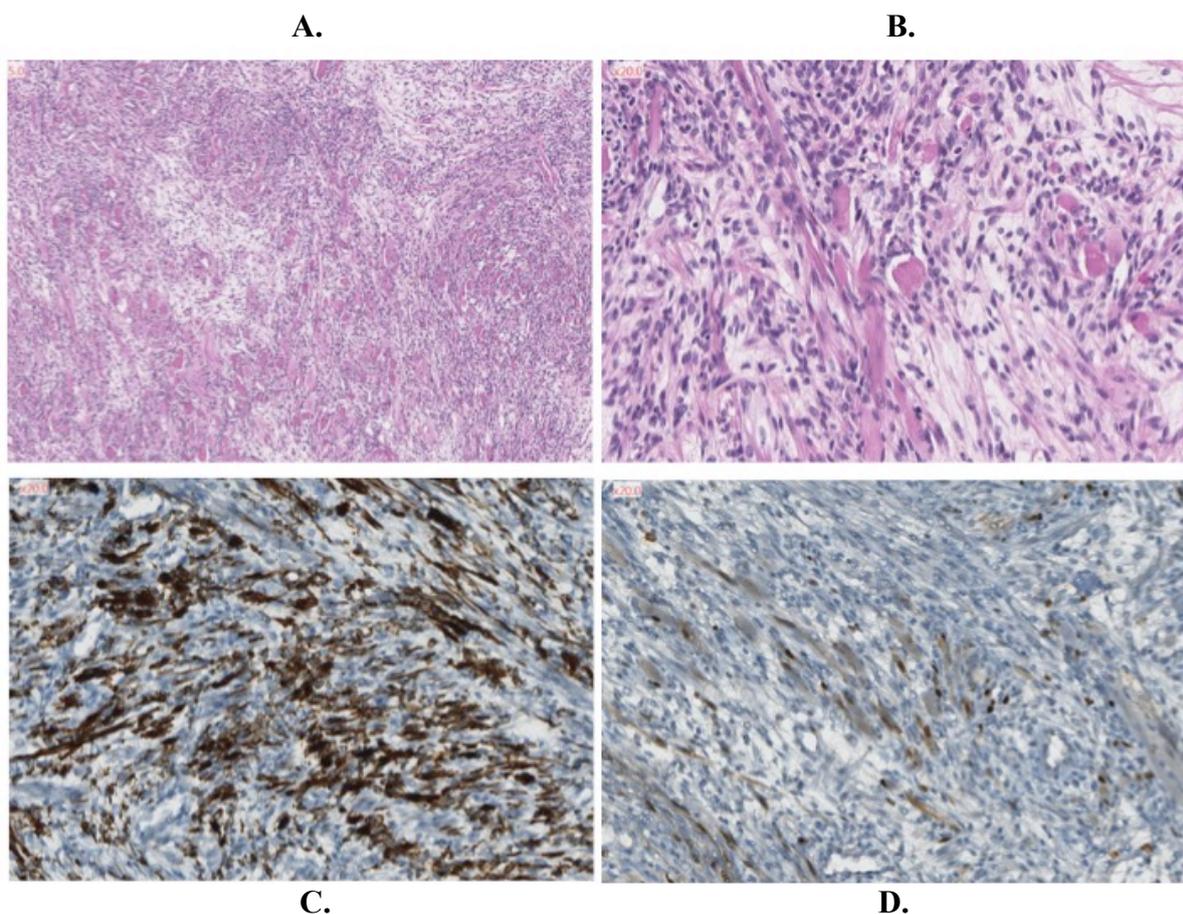
- Quatre RMSsc “*lipofibromatose-like*” (figure 13) étaient formés d’une prolifération conjonctive fusocellulaire et fasciculée de cellules monotones sans rhabdomyoblaste évident, faiblement anisocaryotique avec des atypies nucléaires discrètes à modérées, sur un fond alternant des zones denses et des zones plus lâches riches en collagène. Le marquage IHC était positif très focalement pour la desmine et la myogénine (< 2% des cellules tumorales). Ce sous type-tumoral était caractérisé par un index de prolifération (Ki67) modéré, entre 20 et 40% environ.



**Figure 13. Aspect histologique d’un RMSsc “lipofibromatose-like”**

**A-** Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] zoom x10      **B-** Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] zoom x20      **C-** Immunomarquage positif pour la myogénine (2%)

- Trois RMSsc appelés « *rhabdomyome-like* » (figure 14) avait un aspect de rhabdomyome, avec une lésion bien limitée pseudo-encapsulée, composée de cellules rubanées voire de fibres musculaires striées matures sur fond de tissu lâche plus ou moins myxoïde et un marquage important en IHC pour la myogénine et la desmine. Cependant, ces tumeurs présentaient focalement des zones d'activité proliférative importante associées à des atypies cytonucléaires et des figures mitotiques.



**Figure 14. Aspect histologique d'un RMSsc « rhabdomyome-like »**

**A-** Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] zoom x5 **B-** Coloration hematoxylin-eosin-safran [HES] zoom x20 **C-** Immunomarquage positif pour la desmine (hétérogène fort) **D-** Immunomarquage positif pour la myogénine (30%)

- Deux RMSsc « *sarcome fusocellulaire-like* » présentait une prolifération fusocellulaire fasciculée retrouvée habituellement dans les sarcomes fusocellulaires, mais à l'intérieur de laquelle étaient retrouvées des cellules tumorales positives pour la desmine et la myogénine.

- Le dernier RMSsc, un garçon de 4 mois porteur d'une NF1 et d'une cataracte congénitale bilatérale chez qui a été diagnostiqué un RMS vésico-prostatique IRS II, avait une forme histologique atypique proche des RMSsc de l'adulte: une prolifération fusocellulaire d'architecture plus ou moins fasciculée alternant des zones denses avec des zones plus myxoïdes, avec des atypies cytonucléaires franches, des foyers de nécrose et une activité mitotique importante (dépassant les 20 mitoses à l'objectif x40). Cette lésion, présentant un marquage focal pour la desmine et la myogénine, pouvait même, dans ce contexte familial, faire évoquer une tumeur maligne des gaines des nerfs périphériques avec différenciation rhabdomyoblastique hétérologue (tumeur de triton).

Alors qu'une majorité des RMSe étaient localisés au niveau VP ou Génito-Urinaire non Vésico-Prostatique – GU non VP – et que réciproquement les RMS VP ou GU non VP étaient majoritairement des RMSe, nous avons observé que les localisations des RMSa et des RMSsc, bien qu'assez variables, étaient assez proches, en particulier TC non PM et Membres (table 6).

Au total, la relecture centralisée a modifié le diagnostic pour 8 RMSe : 4 RMSe ont été finalement classés RMSsc (« *lipofibromatose-like* » n=1, « *rhabdomyome-like* » n=2, forme atypique de l'adulte n=1), 2 autres ont été finalement diagnostiqués tumeur rhabdoïde, et les deux dernières ont été définies comme « inclassables » ou « NOS » (en anglais « Not Otherwise Specified »).

Histologie		Localisation
<b>Embryonnaire</b>	<b>16 (43%)</b>	9 VP 3 GU non VP 2 TC non PM 2 PM
<b>Alvéolaire (ou indifférencié)</b>	<b>6 (16%)</b>	4 TC non PM 1 Membres 1 autre (thoracique)
<b>Fusiforme</b>	<b>10 (27%)</b>	<b>4 TC non PM</b> <b>2 PM</b> <b>2 Membres</b> <b>1 VP</b> <b>1 autre (thoracique)</b>
<b>Tumeur rhabdoïde INI neg (desmine &amp; myogénine +)</b>	<b>2 (6%)</b>	1 PM 1 autre (thoracique)
<b>Inclassables</b>	<b>3 (8%)</b>	1 VP 1 Membres 1 autre (diaphragmatique)

**Table 6. Localisation en fonction du type histologique**

Abréviations : Tête et Cou non ParaMéningé ; GU non VP : Génito-Urinaire non Vésico-Prostatique ; VP : Vésico-Prostatique ; PM : ParaMéningé

### 1.3 Analyse moléculaire

Les 30 patients ayant un échantillon tumoral disponible pour l'analyse moléculaire ont bénéficié d'un séquençage ARN (RNAseq) : 15 sur tissu congelé, 8 sur tissu fixé en paraffine et 7 sur les 2 (tissu congelé ET tissu fixé sur paraffine). Une RT-PCR a été réalisée pour 16 patients et une CGH-array pour 8 patients. Les 7 patients sans matériel tumoral suffisant pour l'analyse moléculaire étaient : 2 RMSa, 3 RMSe (2 classiques et un botryoïde) et 2 RMS inclassables.

Onze parmi ces 28 RMS (39% - 2 cas ayant bénéficié d'analyses moléculaires étant des tumeurs rhabdoïdes) étaient associés transcrits de fusion ont été identifiés (table 7) : 3 translocations impliquant *VGLL2*, 3 *PAX3-FOXO1* et 5 fusions rares, la plupart chez des RMSsc. Parmi les 4 RMSa, une translocation *PAX3-FOXO1* a été identifiée pour 3 d'entre eux (confirmée par RT-PCR les 2 cas analysés, le troisième n'ayant pu bénéficier de RT-PCR), tandis que pour le 4ème RMSa avec matériel disponible pour analyse moléculaire, l'étude en technique FISH n'a pas objectivé de réarrangement de *FOXO1*, ce qui était corrélé à la négativité de l'étude en RT-PCR. En revanche, un réarrangement du gène *PAX3* en FISH a

été mis en évidence, faisant suspecter un transcrit rare impliquant *PAX3* (avec *NCOA1* ou *NCOA2* en particulier<sup>78</sup>), bien qu'aucun transcrit n'ait pu être retrouvé en RNAseq.

Parmi les 13 RMSe, un seul transcrit *TOP2B-RAF1* (non encore décrit dans les RMS) a été retrouvé (RMSe classique). A l'inverse, 7 sur les 10 RMSsc avaient un transcrit en RNAseq: 3 d'entre eux (tous « *lipofibromatose-like* »), avait un transcrit impliquant *VGLL2*, avec comme partenaire *NCOA2* (n=2) ou *CITED2* (n=1). Parmi les 3 « *rhabdomyome-like* » RMSsc, une nouvelle translocation *BANZI-FANCC* a été retrouvée chez l'un d'entre eux, associée à une délétion de *PTCH1* sur la CGH-array. Un autre avait également une délétion de *PTCH1* sur la CGH-array mais sans translocation retrouvée, alors que le dernier avait un profil plat sur la CGH. Les 2 « *sarcome fusocellulaire-like* » RMSsc présentaient des translocations décrites précédemment dans d'autres TMM : *TPM3-NTRK* (décrites dans les FI) et *SYPL1-BRAF*. Une translocation jamais décrite a été retrouvée chez le dernier RMSsc avec la forme de type adulte : *PPHLN1-BEST3*. Aucune mutation de *MyoD1* n'a été reportée dans notre cohorte.

Age (mois)	Antécédents	Site	Histologie	Translocation	Description antérieure (type tumoral)	Suivi (mois)	Statut
3	Non	TC non PM	RMSsc	BANZI1B/FANCC	non	58	Vivant en RC1
Birth	Non	PM	RMSsc	VGLL2/NCOA2	Oui (scRMS <sup>65-67</sup> )	12	Vivant en RC1
1,6	Non	Membres	RMSsc	VGLL2/NCOA2	Oui (scRMS <sup>65-67</sup> )	24	Vivant en RC1
1,8	Non	TC non PM	RMSsc	VGLL2/NCOA2	Oui (scRMS <sup>65-67</sup> )	61	Vivant en RC1
Birth	2 décès précoces inexplicables dans la fratrie	Membres	RMSsc	SYPL1/BRAF	Oui (FI <sup>90</sup> )	65	Vivant en RC1
1	Non	TC non PM	RMSsc	TPM3/NTRK	Oui (fibrosarcome <sup>86-89</sup> FI <sup>89-91</sup> )	138	Vivant en RC1
4,6	NF1 + cataracte bilatérale congénitale	VP	RMSsc	PPHLN1/BEST3	non	-	Décédé
2,2	Non	GU non VP	RMSe	TOP2B/RAF1	Oui (LMA)	65	Vivant en RC2
1,2	Non	TC non PM	RMSa	PAX3/FOXO1	Oui (aRMS <sup>29</sup> )	-	Décédé
4,8	Lésions hypopigmentées & angiomes plans	TC non PM	RMSa	PAX3/FOXO1	Oui (aRMS <sup>29</sup> )	-	Décédé
4,1	Non	TC non PM	RMSa	PAX3/FOXO1	Oui (aRMS <sup>29</sup> )	-	Décédé

**Table 7. Tableau récapitulatif des cas de RMS avec transcrit de fusion**

Abréviations : F : Féminin ; M : Masculin ; NF1 : Neurofibromatose de type 1 ; TC non PM : Tête et Cou non ParaMéningé ; GU non VP: Génito-Urinaire non Vésico-Prostatique ; VP : Vésico-Prostatique ; PM : ParaMéningé ; RC : Rémission Complète

## 1.4 Analyse des clusters d'expressions

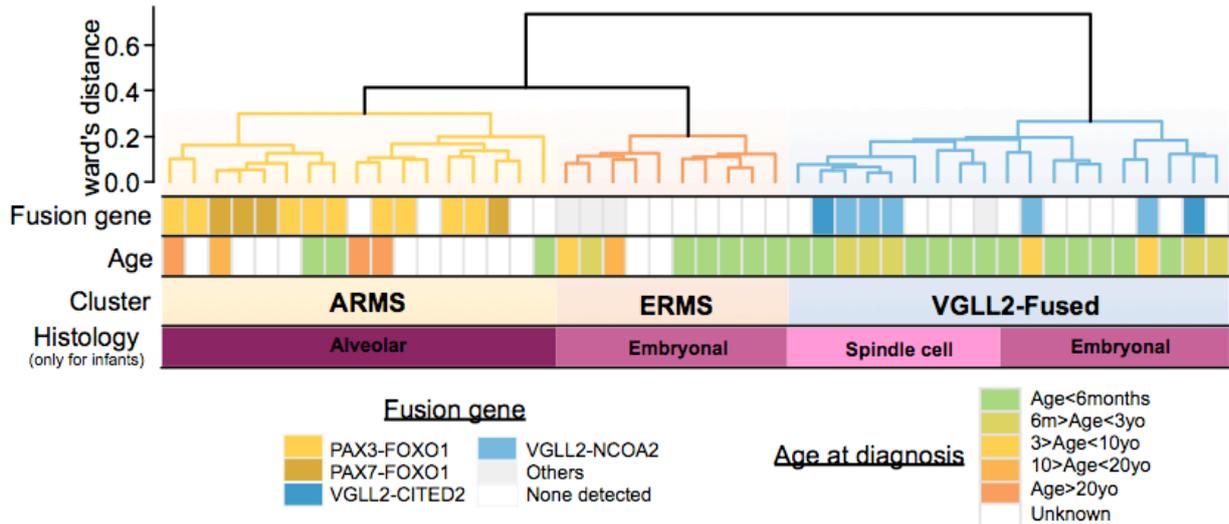
Un RNAseq avec profil d'expression transcriptionnelle fut réalisé sur 30 échantillons tumoraux: 15 sur tissu congelé, 8 sur tissu FFPE et 7 sur les 2 (tissu congelé et tissu FFPE). Cependant, ces deux groupes « congelés » et « FFPE » ont été analysés séparément du fait de l'utilisation de techniques différentes.

Afin d'évaluer la corrélation entre histologie et profil d'expression transcriptionnelle, nous avons analysé nos 22 échantillons de tissus congelés avec 184 autres TMM tous âges confondus<sup>79</sup>. La majorité des échantillons de RMS du nourrissons se regroupaient dans des sous-groupes de RMS, à l'exception de 2 échantillons qui clustérisaient séparément : une tumeur rhabdoïde et une tumeur RMSsc « *sarcome fusocellulaire-like* » avec translocation *BRAF-SYPL1*. Ces 2 échantillons ont été exclus pour la suite de l'analyse.

De même, nous avons analysés nos 15 échantillons FFPE avec une large cohorte de TMM (non publiée). Cinq échantillons ne se regroupèrent pas non plus avec le sous-groupe RMS, dont une tumeur rhabdoïde, les deux RMSsc « *sarcome fusocellulaire-like* », le RMSsc de type adulte et le RMSe avec translocation *TOP2B-RAF1*.

Pour identifier différents sous-groupes d'expression transcriptionnelle à l'intérieur du groupe RMS, nous nous sommes concentrés exclusivement sur les échantillons congelés, en combinant nos 20 échantillons avec 26 échantillons tous âges confondus.

L'analyse des clusters d'expression fit ressortir un modèle avec 3 clusters (figure 15), stable lorsque différentes conditions de clustering était appliquées : un cluster RMSa (3/20, 15%), un cluster RMSe (5/20, 25%) et un cluster *VGLL2* (12/20, 60%). Tous les RMSa (*FOXO1* positif) étaient regroupés dans le cluster RMSa et quasiment tous les RMSsc (à l'exception de ceux non inclus dans l'analyse - les deux RMSsc « *sarcome fusocellulaire-like* » et le RMSsc de type adulte) étaient dans le cluster *VGLL2*. Les RMSe étaient distribués entre 2 clusters différents : le cluster *VGLL2* (n=7) et le cluster RMSa (n=5). Aucun élément clinique initial ou histologique permettant de distinguer ces deux groupes de RMSe n'a pu être retrouvé.



**Figure 15. Clusters d'expression obtenus par analyse hiérarchique non supervisée** (pour des raisons didactiques et de compréhension, les RMS des nourrissons ont été analysés avec 26 autres RMS tout âges confondus)

## Chapitre 2 : Traitement

Pour le traitement et le suivi, seuls les 35 patients avec un diagnostic de RMS confirmé après relecture ont été analysés (les 2 patients avec un diagnostic final après relecture de tumeur rhabdoïde n'ont pas été considérés dans ce chapitre ; ces 2 patients ayant présenté une progression précoce de leur maladie sous chimiothérapie ayant abouti au décès malgré un traitement de 2ème ligne).

### 1.1 Types

Sept nourrissons (20%) (2 IRS I, 1 IRS II, 4 IRS III) bénéficièrent d'une chirurgie au diagnostic tandis que les 28 autres (80%) ont eu une seule (à l'aiguille ou chirurgicale).

Huit patients (23%) ont été traités par chimiothérapie seule durant la première ligne de traitement. Trois d'entre eux furent mis en RC (8%), dont un présenta une rechute suivie d'une RC2 après chimiothérapie de deuxième ligne à base de doxorubicine, chirurgie radicale et curiethérapie. Un autre patient décéda de toxicité de la chimiothérapie (détails ci-dessous)

avant la chirurgie. Les 4 autres patients progressèrent précocement sous chimiothérapie : un décéda avant la chirurgie de rattrapage, deux décédèrent malgré un traitement de seconde ligne comprenant chirurgie radicale et chimiothérapie, et seulement un a été finalement sauvé par une chirurgie radicale, une chimiothérapie à base de doxorubicine et de la curiethérapie.

Vingt-sept patients (77%) ont bénéficié d'une chirurgie au cours de la première ligne de traitement : 19 résections tumorales limitées et 8 résections larges mutilantes. Parmi les 27 patients, sept furent opérés d'emblée au diagnostic, les sept chirurgies étant conservatrices. Seules 2 sur les 7 ont été microscopiquement complètes, les 5 autres (3 macroscopiquement incomplètes et 2 microscopiquement incomplètes) nécessitèrent une seconde chirurgie, toutes conservatrices (6/7 furent finalement R0 et seulement un patient était toujours R1 malgré la deuxième chirurgie). Vingt patients (57%) ont été opérés après chimiothérapie, dont 4 ont nécessité deux chirurgies. La qualité de la résection de ces chirurgies en cours de traitement a été moyenne, avec seulement 13 R0, 4 R1 et 3 R2.

Au total, la qualité de la résection chirurgicale était : R0 pour 19 enfants (70%), R1 pour 5 (19%) et R2 pour 3 (11%). Parmi les 8 patients avec chirurgie incomplète, 3 ont été traités avec curiethérapie (R1 n=1, R2 n=2), 3 avec un traitement d'entretien (R1 n=2, R2 n=1) et 2 n'ont pas reçu de traitement complémentaire.

Comme première ligne de chimiothérapie, 19 patients (54%) ont reçu un régime à base d'alkylant (IVA/VAC) et 3 (9%) n'ont été traités que par VA (une décéda après la première cure de chimiothérapie, le deuxième était un RMS thoracique peu différencié localisé IRS I réséqué d'emblée au diagnostic et le dernier était un RMSsc « *rhabdomyome-like* » retro-auriculaire localisé IRS II). Treize patients (37%) ont reçu un traitement à base d'anthracyclines : 4 du fait des caractéristiques initiales de la maladie (M1=3 ; N1=1), 7 à cause d'une réponse jugée insuffisante après 3 cures d'IVA/VAC, 2 n'avaient pas de raison évidente à cette intensification de traitement. Le nombre moyen de cure de chimiothérapie était de 7.4 [1-16], le chiffre minimum correspondant à la patiente décédée après une cure de chimiothérapie.

La réponse à la chimiothérapie a été évaluée après 3 cures : 2 patients étaient en RC (un après IVA/VAC et un après un protocole comprenant de la doxorubicine), 8 en RP (7/8 étaient traités par IVA/VAC), 7 présentaient un effet objectif, 8 une stabilité et 2 avaient progressé.

Quatre nourrissons (11%) ont reçu une irradiation complémentaire par curiethérapie au cours de la première ligne de traitement : 2 TC non PM – 1 était R1 et l'autre était R2 – et 2 VP – 1 était R1 et l'autre était R2.

## 1.2 Adaptation des doses

Les doses de chimiothérapie ont été adaptées puis escaladées sans toxicité notable pour la majorité des patients. Ainsi, plus de la moitié (57%) ont reçu des doses de chimiothérapie correctement adaptées selon les recommandations françaises, tandis que 12 nourrissons (34%) ont été sur-dosés et 3 (9%) sous-dosés.

## 1.3 Toxicités

Parmi les 33 nourrissons pour lesquels les données de toxicité étaient disponibles, une médiane de 2,2 [0-8] toxicités de grade III-IV a été observée (soit 0,4 par cure de chimiothérapie), les toxicités hématologiques n'ayant pas été prises en compte. Seuls 7 enfants (21%) n'ont présenté aucune toxicité de grade III-IV durant la première ligne de chimiothérapie. Un décès probablement d'origine toxique a été rapporté : il s'agissait d'une fille présentant à la naissance un RMSe botryoïde de la vessie, décédée rapidement après une première cure de chimiothérapie de type VA sur-dosée (vincristine 0.07 mg/kg en une fois - 280% de la dose recommandée - et actinomycin-D 0.02 mg/kg/jour sur 3 jours - 240% de la dose recommandée).

Les toxicités les plus fréquentes étaient les infections (avec 23 enfants (70%) ont présenté au moins une infection de grade III/IV, majoritairement une aplasie fébrile). Trois maladies veino-occlusives hépatiques – MVO – (9%) ont été rapportées : deux rapidement après une première cure de VAC malgré des doses correctement adaptées (nourrissons âgés de 3 semaines et 5 mois au diagnostic), et une (âge au diagnostic : 3,6 mois) après 4 cures de VAC sur-dosées en cyclophosphamide (débuté à 30 mg/kg x 2 puis augmenté jusqu'à 50 mg/kg x 2) mais pas en VA (débutés à 0,033mg/kg puis augmentés progressivement).

Les données de toxicités sont résumées dans la table 8.

Vingt-cinq nourrissons (68%) ont reçu de l'ifosfamide, dont 3 avaient moins de 3 mois lors de la première cure, et 16 avaient entre 3 et 6 mois. Une toxicité tubulaire de grade IV a été rapportée (syndrome de sécrétion inappropriée d'hormone antidiurétique - ADH – avec hyponatrémie sévère). Deux toxicités neurologiques ont également été observées : une dyskinésie probablement induite par les neuroleptiques, l'autre n'étant pas détaillée. La toxicité à long-terme de l'ifosfamide n'a pas été analysée dans cette étude.

	Cohorte entière (n=37)	Sous-dosage & Adaptation correcte (n=23)	Sur-dosage (n=12)
<b>Toxicité</b>	<b>26 (79%)</b>	<b>16 (80%)</b>	<b>10 (83%)</b>
<i>Infectieuse</i>	23 (70%)	14 (70%)	9 (75%)
<i>Digestive</i>	7 (21%)	6 (30%)	1 (8%)
<i>MVO*</i>	3 (9%)	2 (10%)	1 (8%)
<i>Neurologique</i>	2 (6%)	1 (5%)	1 (8%)
<i>Cardiaque</i>	0	-	-
<i>Pulmonaire</i>	1 (3%)	1 (5%)	0 (0%)
<i>Auditive</i>	0	-	-
<i>Rénale</i>	3 (9%)	2 (10%)	1 (8%)
<i>Allergique</i>	1 (3%)	0	1 (8%)
<i>NA</i>	4	3	-
<b>Nombre total de toxicités</b>	2.2 (0-8)	2.4 (0-8)	2.2 (0-6)
<b>Nombre total de toxicités infectieuses</b>	1.8 (0-5)	1.6 (0-5)	1.7 (0-5)
<b>Nombre de toxicités par cure</b>	<b>0.4</b>	<b>0.3</b>	<b>0.6</b>

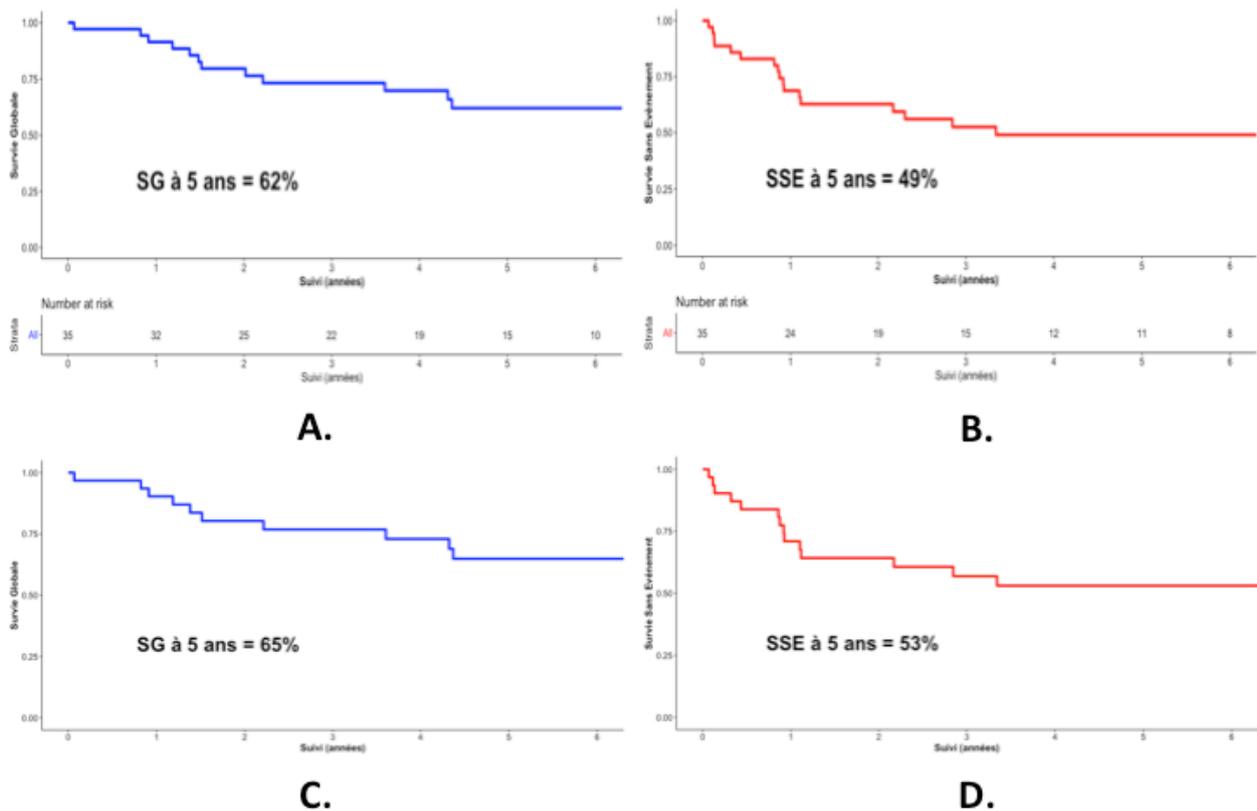
**Table 8. Toxicités grade III/IV en fonction de la qualité de l'adaptation de dose**

\* Abréviations : MVO : Maladie Veino-occlusive ; NA : Données manquantes

## Chapitre 3 : Suivi

### 1.1 Survie

Au moment de l'analyse, la médiane de suivi des survivants était de 5.4 ans [1-13 ans]. La SG et la SSE à 5 ans pour toute la cohorte étaient respectivement de 62% (IC95%, 47-82) et 49% (IC95%, 35-70) (figure 16). La SG et la SSE à 5 ans pour les tumeurs localisées étaient respectivement de 65% (IC95%, 49-85) et 53% (IC95%, 38-75). Les deux patients finalement diagnostiqués tumeur rhabdoïde, tous les deux décédés rapidement après progression précoce (1,4 et 3,8 mois après le diagnostic), n'ont pas été inclus dans l'analyse.



**Figure 16. Survie globale (SG) et Survie sans Evènement (SSE) à 5 ans A. et B. pour tous les patients (à l'exclusion des 2 tumeurs rhabdoïdes – n= 35) C. et D. pour les tumeurs localisées**

Vingt-trois patients (66%) étaient vivants à la fin de l'analyse (table 9 – figure 17), dont 18 en première RC, 4 étaient en rémission après rechute locale et un après progression en cours de traitement. Au total, 12 patients décédèrent (34%), parmi lesquels 2 ne furent jamais en RC, 9 décédèrent après rechute (2 locales, 3 loco-régionales et 2 métastatiques) et un décéda de cause toxique durant le traitement initial (cf. ci-dessus).

Une RC fut obtenue pour 33 patients (94%). Les deux patients n'ayant pu être mis en RC sont tous les deux des RMS IRS III avec envahissement ganglionnaire N1. Dix-sept sur les 35 nourrissons (46%) présentèrent un échec de la première ligne de traitement. Onze patients rechutèrent (31%), majoritairement en local (6/11) ou loco-régional (3/11) et 2 patients

développèrent des métastases à distance. Le délai médian de rechute était de 13 mois [5-40], avec aucune rechute observée après 5 ans de suivi. Cinq nourrissons (14%) progressèrent précocement sous chimiothérapie, avec un délai de progression de 1.6 mois [1.4-11].

Parmi les 9 rechutes locales, 4 furent observées chez des patients ayant bénéficié d'une résection complète R0, une chez une patiente en RC grâce à la chimiothérapie seule et une après chirurgie incomplète et curiethérapie.

Parmi les 5 progressions sous chimiothérapie (table 10), aucun patient ne présenta de réponse partielle : 3 progressèrent pendant les 3 premières cures, tandis que les 2 autres avaient une maladie stable lors de l'évaluation après 3 cures, puis progressèrent rapidement après. Une seule patiente fut finalement guérie par chirurgie radicale, chimiothérapie à base d'anthracyclines et curiethérapie.

<b>Vivant à la fin du suivi</b>		<b>23 (66%)</b>
<b>Vivant sans récurrence</b>		<b>18 (52%)</b>
<b>Décédé</b>		<b>12 (34%)</b>
	<i>Progression de la maladie</i>	11
	<i>Décès toxique</i>	1
<b>Type du 1er événement</b>	<b>Progression</b>	<b>5 (14%)</b>
	<i>Locale</i>	4
	<i>Loco-régionale</i>	1
	<b>Rechute</b>	<b>11 (31%)</b>
	<i>Locale</i>	6
	<i>Loco-régionale</i>	3
	<i>Métastatique</i>	2
	<b>Décès toxique</b>	<b>1 (3%)</b>

**Table 9. Tableau récapitulatif du devenir des 35 patients**

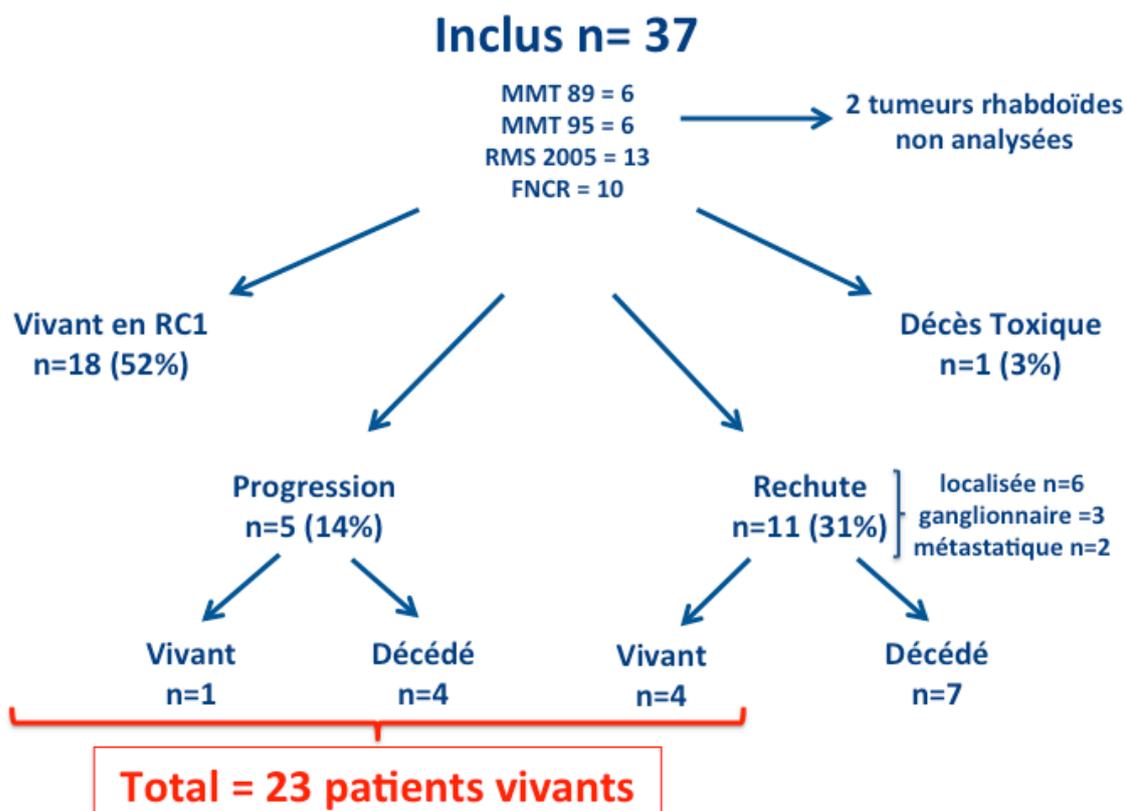


Figure 17. Devenir des 35 patients (à l'exclusion des 2 tumeurs rhabdoïdes)

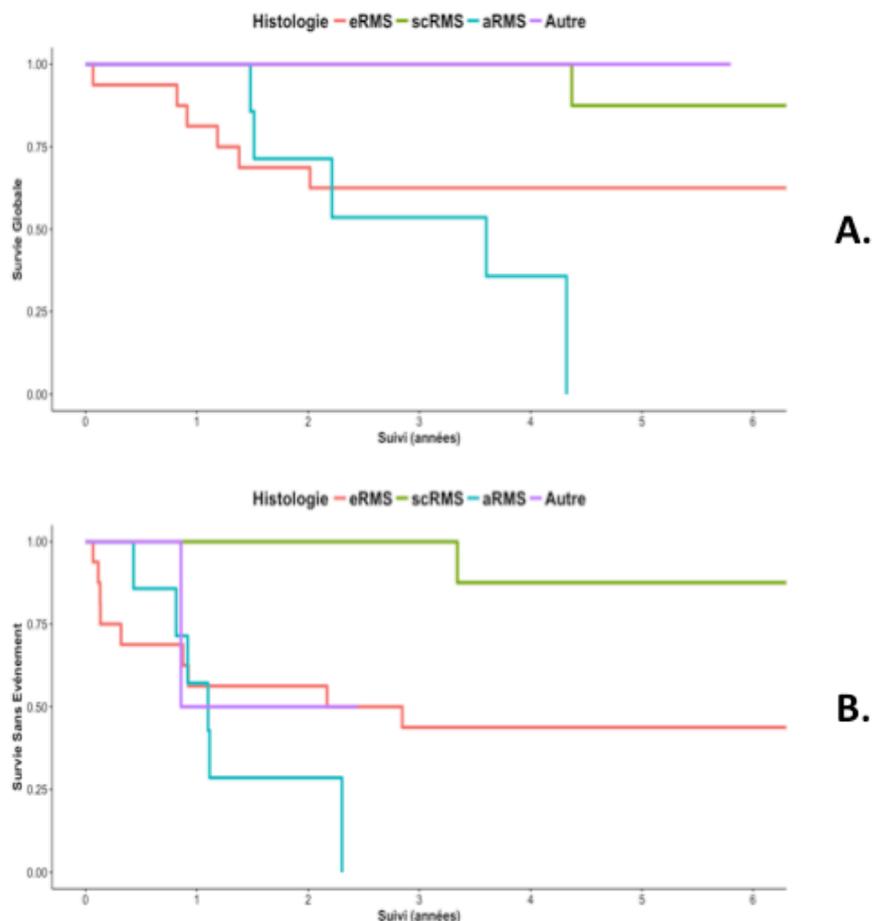
Age (mois)	Site	TNM	Histologie	1 <sup>ère</sup> ligne de chimiothérapie	Qualité de l'adaptation des doses	Biologie moléculaire	Délai de prog.	Type de prog.	Suivi	Statut
2,2	GU non VP	T1bN0M0	RMSe	doxo-based	Doses adaptées	TOP2B/RAF1	3,8	locale	65 mois	Vivant en RC1
Birth	GU non VP	T2bN0M0	RMSe	IVA/VAC	Sous dosage	pas de TF	1,6	locale	-	Décédé
1,6	VP	T2bN0M1	RMSe	doxo-based	Doses adaptées	pas de TF	1,6	locale	-	Décédé
1,5	VP	T2bN0M0	RMSe	IVA/VAC	Doses adaptées	pas de TF	5	locale	-	Décédé
5,3	PM	T2aN1M0	RMSe	IVA/VAC	Sur-dosage	NA	1,4	loco-régionale	-	Décédé

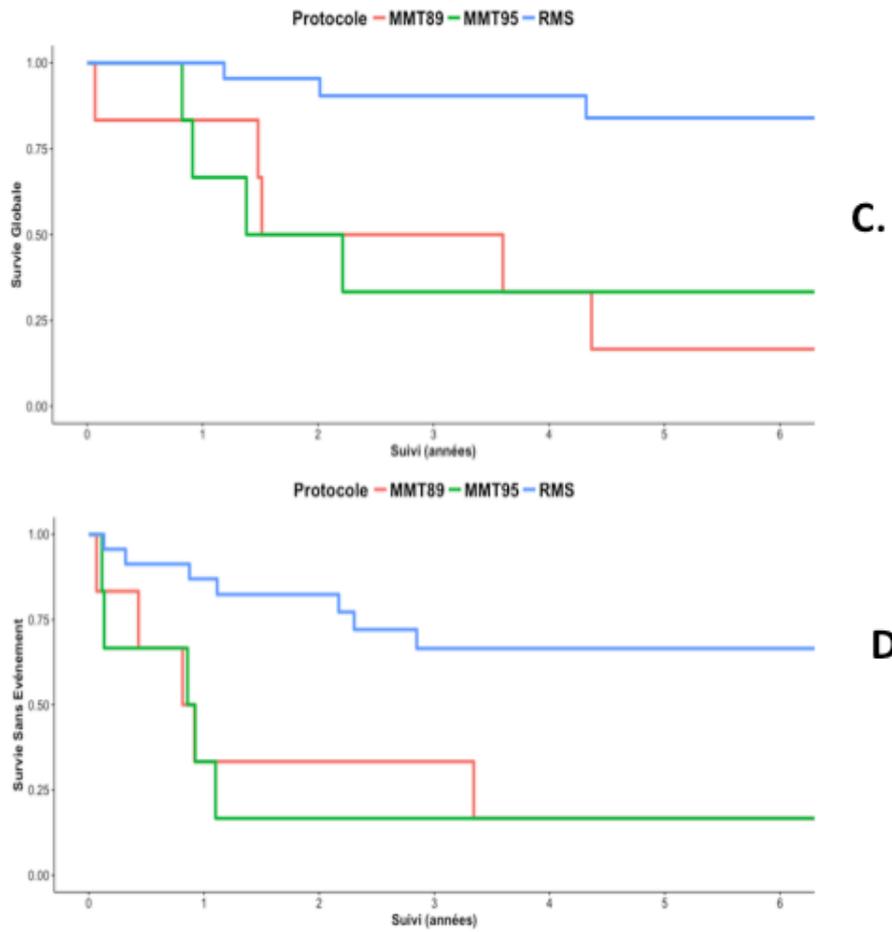
Table 10. Tableau récapitulatif des cas ayant progressés en cours de traitement (n=5)

Abréviations : F : Féminin ; M : Masculin ; GU non VP : Génito-Urinaire non Vésico-Prostatique ; VP: Vésico-Prostatique ; PM : ParaMéningé ; RC : Rémission Complète, IVA/VAC : régime de chimiothérapie avec alkylant doxo-based : régime de chimiothérapie avec doxorubicine ; TF : Transcrit de Fusion

## 1.2 Facteurs pronostiques

Les résultats de l'analyse de la SG et de la SSE à 5 ans en fonction des différents facteurs pronostics sont exposés dans la table 11. La SG et SSE (figure 18) étaient impactées par le type de protocole de traitement ( $p=0,0007$ ) - les patients traités selon le protocole EpSSG RMS 2005 ayant le meilleur pronostic - et le type histologique du RMS ( $p=0,02$  et  $p=0,05$  respectivement), les RMSa ayant le moins bon pronostic et les RMSsc le meilleur ( $p=0,02$  et  $p=0,05$ ). Parmi les RMSsc, 9 nourrissons sur les 10 étaient vivants en RC1 (seule une rechute locale chez le patient avec la forme de RMSsc de type adulte, survenue à 3 ans du diagnostic et conduisant au décès). Age, sexe, taille de la tumeur, invasivité de la tumeur, stade IRS, site du primitif, envahissement ganglionnaire, statut métastatique et qualité de la résection chirurgicale n'étaient pas statistiquement associés à une variation de la SG ou de la SSE (table 11). Aucune analyse multivariée n'a pu être réalisée du fait de la petite taille de l'effectif.





**Figure 18. Survie globale (SG) et Survie sans Evènement (SSE) à 5 ans A. et B. en fonction du type histologique ( n= 35) C. et D. en fonction du protocole de traitement**

		Nb de patient	SSE à 5 ans		SG à 5 ans	
			HR	p	HR	p
Sexe	Garçon	22	1,5	0,4	1,45	0,52
	Fille	13				
Groupe d'âge, en mois	< 3 mois	17	1,3	0,6	1,2	0,74
	> 3 mois	18				
Localisation initiale	Défavorable	23	1,2	0,8	0,96	0,95
	Favorable	12				
IRS groupe**	I & II	5	1,4	0,29	0,9	0,6
	III	26				
	IV	4				
Statut T**	T1	13	0,99	1	0,79	0,69
	T2	22				
Taille de la tumeur, cm	< 5 cm	19	0,6	0,26	0,6	0,39
	> 5 cm	16				
Métastase**	M0	31	2,6	0,13	2,2	0,31
	M1	4				
Envahissement ganglionnaire**	N0	29	1,5	0,5	2,4	0,18
	N1	6				
Type histologique				0,02		0,02
aRMS	Non aRMS	28	3,3	0,03	4,8	0,005
	aRMS	7				
scRMS	Non scRMS	25	0,1	0,006	0,17	0,06
	scRMS	10				
Qualité de la resection	R0	19	1,5	0,5	0,9	0,9
	R1 & R2	8				
Protocole	MMT	12	0,12	0,002	0,2	0,0007
	RMS	23				

**Table 11. Facteurs pronostiques de la Survie globale (SG) et de la Survie sans événement (SSE) à 5 ans**

\* Abréviations : RMSa : RMS alvéolaire ; RMSsc : RMS à cellules fusiformes

\*\* cf. annexes

### 1.3 Coût de la guérison

Parmi les 23 patients survivants (table 12), 4 (17%) ont été initialement traités avec chimiothérapie seule, 13 (57%) avec chimiothérapie et chirurgie conservatrice (incluant les séquelles esthétiques), et 6 avec chimiothérapie et chirurgie radicale (26%). Trois d'entre eux avaient bénéficié de curiethérapie. Le cumul des traitements reçus dans le cadre de la première ligne de traitement et pour le traitement des rechutes ou progressions indiquent que :

- 2 nourrissons furent guéris par chimiothérapie seule
- 10 (43%) par chimiothérapie + chirurgie conservatrice (dont 3 avec séquelles esthétiques)
- 3 (13%) par chimiothérapie + chirurgie conservatrice + curiethérapie
- 8 (35%) par chimiothérapie et chirurgie radicale (la moitié bénéficièrent en plus de curiethérapie).

Onze nourrissons (48%) reçurent une chimiothérapie à base d'anthracyclines.

		Survivants (n=23)
<b>Régime de chimiothérapie</b>	<i>“6 drogues” ou avec anthracyclines ou autres</i>	<b>11 (48%)</b>
	<i>Avec agent alkylant</i>	<b>10 (43%)</b>
	<i>VA</i>	<b>2 (9%)</b>
<b>No. de patients irradiés</b>		<b>7 (30%)</b>
<b>Chirurgie</b>		<b>21 (91%)</b>
	<i>Conservatrice</i>	<b>9 (39%)</b>
	<i>Avec séquelles esthétiques</i>	<b>4 (17%)</b>
	<i>Radicale</i>	<b>8 (35%)</b>

**Table 12. Coût de la guérison (« burden of therapy »)**

Abréviations : VA : Vincristine-Actinomycine D

# Discussion

---

## Chapitre 1 : Particularités des RMS du nourrisson

Nous avons confirmé dans ce travail que les RMS des nourrissons avaient bien une présentation au diagnostic et une évolution naturelle assez différentes par rapport aux enfants plus âgés. Ainsi, alors que le sex-ratio est assez similaire quelque soit l'âge, le site de la tumeur primitive était préférentiellement VP (30%) et TC non PM (27%) chez les nourrissons, alors que l'on voit plus de RMS ParaMéningé – PM – (20%) et GU non VP (20%) chez les plus grands<sup>55</sup>. Au total, on constate une grande variabilité des localisations des RMS du nourrisson en fonction des cohortes, avec comme point commun une faible proportion de RMS PM (table 2).

De même, nous avons observé une proportion assez importante de RMSsc dans notre série (27%), alors que cette forme est assez rare chez les plus grands (moins de 10-15% selon les séries<sup>16,63,64</sup>). Il faut toutefois noter que cette forme histologique n'a été redéfinie que récemment comme une entité à part entière de RMS dans la classification internationale de l'OMS (2013)<sup>47</sup>, étant considéré précédemment comme un sous-type des RMSe. La proportion de ces RMSsc a donc probablement été sous-estimée dans les travaux précédents.

Au cours de la relecture histologique centralisée, 2 tumeurs rhabdoïdes ont été finalement diagnostiquées, alors que le diagnostic de RMSe peu différencié avait été posé initialement devant une positivité des cellules tumorales pour la desmine et la myogénine et l'absence de transcrite de fusion. La perte d'INI1 a été décelée lors du séquençage ARN, puis confirmée par IHC. Cela souligne l'importance de réaliser systématiquement l'immunomarquage INI1, particulièrement dans le cas de RMSe peu différencié, même en cas de positivité de la desmine et/ou de la myogénine.

## Chapitre 2 : Devenir des RMS du nourrisson

La SG (62%) et la SSE à 5 ans (49%) de notre cohorte était cohérente par rapport à celle observée par le groupe italien<sup>63</sup> étudiant tous les RMS de moins de 1 an sur une période de 20 ans, et supérieur à la SG observée dans la série du COG<sup>64</sup> (52%). La SSE à 5 ans pour les tumeurs localisées (65%) était légèrement inférieure aux chiffres du protocole SIOP<sup>16</sup> MMT 84 et 89 (72%) et à celle du COG<sup>64</sup>(76%). Cela pourrait s'expliquer par le choix de nos critères d'inclusion et la relecture anatomopathologique, ayant pu exclure des patients particuliers avec un meilleur pronostic.

Dans notre série comme dans les séries précédentes, les taux de rechutes sont assez élevés (11/35; 30%), et la majorité d'entre elles sont locales ou locorégionales (9/11; 82%). En effet, depuis le premier protocole, la SIOP a adopté une stratégie conservative pour le traitement local des nourrissons, afin de limiter au maximum les séquelles (chirurgicales et post-radiothérapie). Cette politique peut donc expliquer ce taux plus important de rechutes que pour d'autres protocoles ou pour des enfants plus grands. Bien que le taux de rattrapage était assez peu satisfaisant (4/11, 36% des enfants étaient vivants en rémission après une rechute traitée par une seconde ligne de traitement, souvent plus agressive localement), cette stratégie, a permis de guérir 65% (15/23) des survivants de notre cohorte sans chirurgie mutilante.

Un taux important de progression a été observé avec étonnement dans notre étude (5/35, 14%), souvent de façon précoce (médiane de progression, 1.6 mois), en comparaison aux enfants plus grands (2% parmi les RMS de risque intermédiaire)<sup>80</sup>. Ces progressions sont intervenues en dépit d'une chimiothérapie adaptée voire intensive (VAC/IVA n= 3, régime avec doxorubicine n= 2, un seul patient sous-dosé après adaptation des doses).

Un seul enfant ayant progressé sous chimiothérapie est en vie en première RC après plus de 5 ans de suivi : il s'agit d'une fille traitée pour un RMSe localisé du vagin et pour laquelle un nouveau transcrit de fusion *TOP2B-RAFI* a été retrouvé. Les 4 autres patients ayant présenté une maladie progressive étaient tous des RMSe sans transcrit de fusion identifié, ni de mutation *myoD1*. Aucune mutation de *MyoD1* n'a d'ailleurs été retrouvée dans notre cohorte, confirmant qu'elle touche plutôt les enfants plus âgés. Les 2 enfants pour lesquels une tumeur rhabdoïde a été diagnostiquée lors de la relecture histologique, tous les deux décédés rapidement après progression précoce, n'ont pas été inclus dans les analyses de survie.

Seul les types histologique RMSsc ou RMSa sont ressortis comme facteur pronostic dans notre analyse, respectivement de bon et mauvais pronostic. Ainsi, beaucoup d'habituels

facteurs pronostiques des RMS comme la localisation ou la taille de la tumeur ne semblent pas impacté la survie des nourrissons. L'hypothèse la plus probable est que le sous-type de RMS, en particulier fusiforme ou alvéolaire, écrase complètement les autres facteurs de risques. Ainsi, un RMSsc « *lipofibromatose-like* » localisé sur un membre aura un excellent pronostic alors que cette localisation est habituellement corrélée à un pronostic sombre car souvent le siège des RMSa. Ces résultats sont, quoi qu'il en soit, à prendre avec beaucoup de précaution du fait du faible effectif de notre étude. Nous avons observé avec surprise que la survie des patients traités dans le protocole RMS 2005 (ou contemporains de ce protocole) était largement meilleure (SG 5 ans = 84%) que celle des patients traités dans les protocoles MMT (25%). L'amélioration des soins de support, la qualité de l'imagerie et les modifications de prise en charge entre les protocoles ne semblent pas suffisantes pour impacter à ce point la différence de survie. Cependant, les différents types histologiques n'étaient pas représentés en même proportion dans les différents protocoles : dans le protocole RMS2005, une proportion plus importante de RMSsc est notée (39%), de localisation plus fréquente au niveau des membres, en comparaison aux protocoles SIOP MMT (8%). De même, davantage de patients avec un RMSa sont issus des protocoles MMT89 (33%) par rapport au protocole RMS2005 (9%). On peut donc supposer que des RMSsc étiquetés RMS dans le RMS 2005 ne l'auraient pas été dans les protocoles précédents, soit du fait de l'apparition de marqueurs plus sensibles comme la myogénine, soit du fait d'une appréciation diagnostique différente de la part des pathologistes (nouvelle classification de l'OMS en 2013). Il en résulterait une non-inclusion dans les protocoles MMT des cas de RMSsc de meilleur pronostic, rapprochés plutôt à l'époque des FI, pouvant expliquer en partie cette différence de survie. De même, le biais relatif de cette cohorte (patients avec diagnostic initial de RMS et matériel disponible pour relecture) implique peut-être l'excès de RMSa dans les protocoles MMT, à l'époque où la congélation de matériel était moins systématique.

## Chapitre 3 : Points clefs de l'analyse moléculaire

Pour 39% (11/28) des nourrissons de notre série ayant bénéficié d'une analyse de biologie moléculaire (hors tumeurs rhabdoïdes), une translocation a été retrouvée lors du séquençage ARN, dont plusieurs jamais décrites. Sept RMSsc sur les 10 ont eu un transcrit de fusion retrouvé. L'analyse d'expression génique a permis de distinguer 3 clusters évidents parmi les RMS : un cluster rassemblant les RMSa, un cluster rassemblant les RMSsc et un cluster avec une partie des RMSe. Il était intéressant de noter que les RMSe se répartissaient à peu près équitablement entre le cluster RMSe et le cluster RMSsc, sans qu'aucun élément clinique ou histologique évident ne permette de différencier ces 2 entités de RMSe. Il sera donc important d'explorer cela dans des études futures, à plus grande échelle ou chez les enfants plus grands. A noter que certains RMSsc, plus proches histologiquement des sarcomes fusocellulaires que des RMS, clustérisaient loin de RMS et n'ont donc pas été inclus dans l'analyse de cluster des RMS. Le cluster *VGLL2* est un cluster hétérogène, composé à la fois des RMSsc de bon pronostic, dont certains présentent une translocation *VGLL2*, et des RMSe dont il est difficile de déterminer des caractéristiques cliniques ou histologiques communes, et qui ne sont pas particulièrement de bon pronostic (2 décès sur les 7 et 2 seulement vivants en RC1).

## Chapitre 4 : Zoom sur les RMS à cellules fusiformes

Malgré leur localisation souvent défavorable (6/10) bien que très variable, et leur réponse médiocre à la chimiothérapie (aucune RC après 3 cures, seule 4/10 avait un effet objectif ou une RP après chimiothérapie, 3 autres étaient stables), les RMSsc de notre série, tous localisés, ont eu une évolution très favorable, avec aucune progression rapide et une seule rechute tardive (conduisant au décès).

Trois sous-types histologiques de RMSsc ont pu être distingués dans notre cohorte. D'abord, une présentation histologique proche d'une lipofibromatose, semblant être associée à un pronostic particulièrement favorable, les 4 patients étant vivants sans récurrence, avec deux d'entre eux ayant eu un contrôle local incomplet. Trois sur 4 de ces RMSsc étaient associés à une translocation impliquant le gène *VGLL2* (Vestigial-like 2 ou VITO1), exclusivement exprimé dans les muscles striés de l'adulte<sup>81</sup>. *VGLL2* a été identifié comme étant l'homologue humain d'un facteur de transcription de la drosophile, *Vestigial*, jouant un rôle important dans le développement des ailes de ces animaux. Chez l'homme, Vgl-2 est un cofacteur essentiel des membres de la famille de TEF-1 (transcription enhancer factor-1) dont dépend l'expression des gènes spécifiques des muscles<sup>82</sup>. Cette régulation transcriptionnelle semble dépendre des éléments de réponse MCAT localisés dans les régions promotrices de ces gènes, par exemple la troponine T, la chaîne lourde de la  $\beta$ -myosine et l' $\alpha$ -actin... *NCOA2* a été identifié comme l'un des partenaires de translocation de *VGLL2*. Il s'agit d'une protéine appartenant à la famille p160 dont font également partie SRC-1 (steroid receptor coactivator), TIF2 et GRIP1. Il agit en se liant à son récepteur nucléaire via une séquence spécifique, et recrute deux co-activateurs transcriptionnels CBP (CREB-binding protein) et CARM-1, activant ensuite des mécanismes épigénétiques<sup>83,84</sup>. Ces deux principaux gènes sont réarrangés soit ensemble soit avec d'autres partenaires, tel que *PAX3*, *CITED2* ou *TEAD1*, également facteurs de transcription ou coactivateurs impliqués dans le programme de différenciation musculaire<sup>83</sup>.

Ensuite un sous-type de RMSsc bien différencié a été retrouvé chez 3 enfants, histologiquement assez proche du rhabdomyome mais présentant une prolifération cellulaire plus importante. Ces 3 tumeurs étaient localisées au niveau TC non PM plus précisément en retro-auriculaire. Deux sur les 3 présentaient une délétion du gène *PTCHI* sur la CGH-array (le troisième avait un profil plat), et l'une d'entre elle avait une nouvelle fusion jamais décrite *BANZI-FANCC*. Bien qu'aucune mutation de *PTCHI* n'ait été retrouvée lors du séquençage

ARN de ces trois tumeurs, l'aspect histologique et la délétion de *PTCH1* sur la CGH font évoquer un syndrome de Gorlin sous-jacent<sup>85</sup>. Aucune malformation congénitale associée n'a cependant été observée chez ces patients, en dehors d'un colobome chez le patient sans délétion de *PTCH1* à la CGH, mais qui pourrait s'inscrire dans les anomalies oculaires sévères que présentent certains patients porteurs d'un syndrome de Gorlin.

Enfin, 2 RMSsc présentaient de nombreuses caractéristiques des FI, mais avaient une immunoréactivité incontestable de certaines cellules tumorales à la desmine et à la myogénine. Des translocations retrouvées plus classiquement dans d'autres types de TMM ont été identifiées chez ces 2 patients : *BRAF-SYPL1* et *TPM3-NTRK*. De manière intéressante, la fusion du gène *NTRK* avec *TPM3* a été récemment décrite dans d'autres TMM<sup>86-88</sup>, dont des FI<sup>89-91</sup>. De même, plusieurs fusions impliquant *BRAF* ont été récemment rapportées par Antonescu chez 5 sarcomes à cellules fusiformes de l'enfant (4 cas âgés de 0 à 3 ans, 1 cas chez un adolescent)<sup>90</sup>, souvent des FI sans translocation *ETV6-NTRK*, confirmant un chevauchement des entités histologiques historiques que sont les FI et les RMS.

Le dernier RMSsc était assez différent des autres, avec une présentation histologique plus proche de celle des adultes. Il s'agit du seul RMSsc décédé après une rechute locorégionale. Une translocation *PPHNL1-BEST3* a été retrouvée, mais elle n'a jamais été décrite par ailleurs.

Ce groupe de RMSsc présente donc une hétérogénéité des présentations cliniques et histologiques, ne permettant pas de dégager un substratum moléculaire. Il semble se situer à la frontière entre les RMS et d'autres MMT, en particulier les FI à fusion négative. Certaines de ces tumeurs présentant des fusions impliquant *NTRK* ou *BRAF* pourraient bénéficier de nouvelles thérapies ciblées, déjà utilisées pour d'autres MMT<sup>89,92,93</sup>. La question reste cependant ouverte et nécessitera des études sur de plus larges cohortes afin de confirmer la malignité « intermédiaire » et le faible risque métastatique de ces tumeurs permettant de réduire à l'avenir la lourdeur des traitements en particulier loco-régionaux (chirurgie mutilante pour les RMS des membres et radiothérapie) pour ces très jeunes enfants.

## Chapitre 5 : Toxicités

Dans notre cohorte, une relative bonne tolérance de la chimiothérapie a été observée, avec une incidence de toxicités de grade III/IV d'environ 80%, chiffre proche de celui des enfants plus âgés. Un décès toxique a été répertorié, mais les circonstances et les causes exactes restent assez floues. Nous avons tout de même répertorié 3 MVO (soit 9% des enfants), ce qui confirme que le jeune âge en constitue un facteur de risque.

S'agissant des toxicités spécifiques à l'ifosfamide, une seule tubulopathie a été retrouvée dans notre cohorte. Parmi les 2 toxicités neurologiques répertoriées, au moins une ne semble pas liée à l'ifosfamide (dyskinésie post- neuroleptiques). Ces données semblent donc plutôt rassurantes quant à la vulnérabilité particulière à l'ifosfamide des enfants de moins de 6 mois, mais ces chiffres doivent être pris avec de grandes précautions du fait de la non-exhaustivité du recueil rétrospectif et de l'absence de suivi à long terme.

## Conclusion

---

Notre étude a colligé les données cliniques, histologiques et de biologie moléculaire de 37 enfants de moins de 6 mois atteints d'un RMS et traités en France sur une période de plus de 25 ans selon les protocoles SIOP et EpSSG. Il s'agit d'une ambitieuse collaboration entre cliniciens, biologistes et pathologistes de plusieurs centres français, en particulier le centre Léon Bérard à Lyon, l'institut Curie à Paris et l'institut Gustave Roussy à Villejuif.

Le choix d'une limite d'âge fixée à 6 mois peut paraître étonnant si l'on se réfère aux précédents travaux sur les RMS des nourrissons, allant souvent jusqu'à l'âge d'un an. Cependant, il repose principalement sur 3 arguments :

- i) d'abord, la faisabilité du recueil clinique et surtout du matériel tumoral pour chaque patient dans tous les centres français n'était pas connue et difficile à évaluer
- ii) ensuite, cette limite nous permettait de recueillir avec certitude tous les cas de RMS néonataux
- iii) enfin, elle semblait adaptée à l'analyse des toxicités dans cette tranche d'âge particulièrement vulnérable.

En dehors des réflexions et problématique scientifiques, l'une des difficultés de ce travail a été de retrouver le matériel tumoral de ces patients en contactant chaque centre individuellement. Il nous semble absolument capital dans le futur de mettre en place un stockage centralisé de ces échantillons, qui plus est pour ces maladies rares avec peu de cas par an, afin d'assurer au patient une prise en charge optimale mais également d'améliorer l'efficacité des travaux de recherche. Nous avons également été surpris du nombre important de patients non enregistrés dans un protocole (12/37 – 32%), rappelant le travail de pédagogie à réaliser par les investigateurs principaux des protocoles auprès des cliniciens de chaque centre afin que les nourrissons de moins de 1 an soient enregistrés même s'ils ne sont pas randomisés.

Notre travail a donc permis de mettre en évidence les singularités des RMS des nourrissons. Ainsi, nous avons reporté, entre autres, une localisation préférentielle au niveau de la TC non PM ainsi que de la VP, une proportion plus importante de formes histologiques à cellules fusiformes et un nombre de progressions précoces sensiblement plus important.

Notre analyse intégrative clinique, histologique et moléculaire se veut être une première étape vers une classification moléculaire des RMS du nourrisson, et plus généralement des TMM. Il a permis de mieux comprendre l'hétérogénéité phénotypique des RMS du nourrisson. Les RMSa (*FOXO1+*) et les RMSe sont souvent réfractaires au traitement et ont un pronostic péjoratif tandis que les RMSsc se présentent comme des tumeurs de malignité « intermédiaire », surtout locale, et ont un pronostic excellent. Il y a donc un enjeu majeur à la compréhension de cette zone de chevauchement diagnostique que constituent les RMSsc, les FI, et certains sarcomes indifférenciés. Bien qu'il ne permette pas de conclusion définitive, ce travail préliminaire appuie l'hypothèse de Mentzel d'un spectre commun entre ces différentes tumeurs<sup>94</sup>. Forts de notre expérience et de ces résultats, nous envisageons donc d'étendre notre étude aux TMM de moins de 1 an dans les années à venir.

# Bibliographie

---

1. Lacour, B. *et al.* Childhood cancer survival in France, 2000-2008. *Eur. J. Cancer Prev. Off. J. Eur. Cancer Prev. Organ. ECP* **23**, 449–457 (2014).
2. Institut National du Cancer (INCA). Les cancer en France / Édition 2014. (2015).
3. Sultan, I. *et al.* Soft tissue sarcomas in the first year of life. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **46**, 2449–2456 (2010).
4. Lobe, T. E. *et al.* Neonatal rhabdomyosarcoma: the IRS experience. *J. Pediatr. Surg.* **29**, 1167–1170 (1994).
5. Kamil, D. *et al.* Spectrum and outcome of prenatally diagnosed fetal tumors. *Ultrasound Obstet. Gynecol. Off. J. Int. Soc. Ultrasound Obstet. Gynecol.* **31**, 296–302 (2008).
6. Sebire, N. J. & Jauniaux, E. Fetal and placental malignancies: prenatal diagnosis and management. *Ultrasound Obstet. Gynecol. Off. J. Int. Soc. Ultrasound Obstet. Gynecol.* **33**, 235–244 (2009).
7. Orbach, D. *et al.* Neonatal cancer. *Lancet Oncol.* **14**, e609-620 (2013).
8. Lipshultz, S. E., Franco, V. I. & Cochran, T. R. Cardiotoxicity in childhood cancer survivors: a problem with long-term consequences in need of early detection and prevention. *Pediatr. Blood Cancer* **60**, 1395–1396 (2013).
9. McGovern, S. L. & Mahajan, A. Progress in radiotherapy for pediatric sarcomas. *Curr. Oncol. Rep.* **14**, 320–326 (2012).
10. Arndt, C. *et al.* Age is a risk factor for chemotherapy-induced hepatopathy with vincristine, dactinomycin, and cyclophosphamide. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **22**, 1894–1901 (2004).
11. Veal, G. J. & Boddy, A. V. Chemotherapy in newborns and preterm babies. *Semin. Fetal. Neonatal Med.* **17**, 243–248 (2012).
12. Kearns, G. L. *et al.* Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N. Engl. J. Med.* **349**, 1157–1167 (2003).
13. van den Berg, H., van den Anker, J. N. & Beijnen, J. H. Cytostatic drugs in infants: a review on pharmacokinetic data in infants. *Cancer Treat. Rev.* **38**, 3–26 (2012).
14. Rodriguez-Antona, C. & Ingelman-Sundberg, M. Cytochrome P450 pharmacogenetics and cancer. *Oncogene* **25**, 1679–1691 (2006).
15. Veal, G. J. *et al.* Adaptive dosing of anticancer drugs in neonates: facilitating evidence-based dosing regimens. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **77**, 685–692 (2016).

16. Orbach, D. *et al.* Soft tissue sarcoma or malignant mesenchymal tumors in the first year of life: experience of the International Society of Pediatric Oncology (SIOP) Malignant Mesenchymal Tumor Committee. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **23**, 4363–4371 (2005).
17. Alaggio, R., Bisogno, G., Rosato, A., Ninfo, V. & Coffin, C. M. Undifferentiated sarcoma: does it exist? A clinicopathologic study of 7 pediatric cases and review of literature. *Hum. Pathol.* **40**, 1600–1610 (2009).
18. Knezevich, S. R., McFadden, D. E., Tao, W., Lim, J. F. & Sorensen, P. H. A novel ETV6-NTRK3 gene fusion in congenital fibrosarcoma. *Nat. Genet.* **18**, 184–187 (1998).
19. Church, A. J. *et al.* Recurrent EML4-NTRK3 fusions in infantile fibrosarcoma and congenital mesoblastic nephroma suggest a revised testing strategy. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* **31**, 463–473 (2018).
20. Orbach, D. *et al.* Conservative strategy in infantile fibrosarcoma is possible: The European paediatric Soft tissue sarcoma Study Group experience. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **57**, 1–9 (2016).
21. McCahon, E., Sorensen, P. H. B., Davis, J. H., Rogers, P. C. J. & Schultz, K. R. Non-resectable congenital tumors with the ETV6-NTRK3 gene fusion are highly responsive to chemotherapy. *Med. Pediatr. Oncol.* **40**, 288–292 (2003).
22. Surico, G. *et al.* Chemotherapy alone for the treatment of congenital fibrosarcoma: is surgery always needed? *Med. Pediatr. Oncol.* **40**, 268–270 (2003).
23. Laetsch, T. W. *et al.* Larotrectinib for paediatric solid tumours harbouring NTRK gene fusions: phase 1 results from a multicentre, open-label, phase 1/2 study. *Lancet Oncol.* (2018). doi:10.1016/S1470-2045(18)30119-0
24. Stout, A. P. Rhabdomyosarcoma of the Skeletal Muscles. *Ann. Surg.* **123**, 447–472 (1946).
25. Tonin, P. N., Scrable, H., Shimada, H. & Cavenee, W. K. Muscle-specific gene expression in rhabdomyosarcomas and stages of human fetal skeletal muscle development. *Cancer Res.* **51**, 5100–5106 (1991).
26. Soleimani, V. D. & Rudnicki, M. A. New insights into the origin and the genetic basis of rhabdomyosarcomas. *Cancer Cell* **19**, 157–159 (2011).
27. Hawkins, D. S., Gupta, A. A. & Rudzinski, E. R. What is new in the biology and treatment of pediatric rhabdomyosarcoma? *Curr. Opin. Pediatr.* **26**, 50–56 (2014).

28. Rudzinski, E. R. *et al.* The World Health Organization Classification of Skeletal Muscle Tumors in Pediatric Rhabdomyosarcoma: A Report From the Children's Oncology Group. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **139**, 1281–1287 (2015).
29. Sorensen, P. H. B. *et al.* PAX3-FKHR and PAX7-FKHR gene fusions are prognostic indicators in alveolar rhabdomyosarcoma: a report from the children's oncology group. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **20**, 2672–2679 (2002).
30. Barr, F. G. *et al.* Examination of gene fusion status in archival samples of alveolar rhabdomyosarcoma entered on the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study-III trial: a report from the Children's Oncology Group. *J. Mol. Diagn. JMD* **8**, 202–208 (2006).
31. Rudzinski, E. R. *et al.* Histology, fusion status, and outcome in metastatic rhabdomyosarcoma: A report from the Children's Oncology Group. *Pediatr. Blood Cancer* **64**, (2017).
32. Sun, X. *et al.* Rhabdomyosarcoma: Advances in Molecular and Cellular Biology. *Sarcoma* **2015**, 232010 (2015).
33. Ren, Y.-X. *et al.* Mouse mesenchymal stem cells expressing PAX-FKHR form alveolar rhabdomyosarcomas by cooperating with secondary mutations. *Cancer Res.* **68**, 6587–6597 (2008).
34. Rodig, S. J. & Shapiro, G. I. Crizotinib, a small-molecule dual inhibitor of the c-Met and ALK receptor tyrosine kinases. *Curr. Opin. Investig. Drugs Lond. Engl.* **11**, 1477–1490 (2010).
35. Missiaglia, E. *et al.* Genomic imbalances in rhabdomyosarcoma cell lines affect expression of genes frequently altered in primary tumors: an approach to identify candidate genes involved in tumor development. *Genes. Chromosomes Cancer* **48**, 455–467 (2009).
36. Bridge, J. A. *et al.* Genomic gains and losses are similar in genetic and histologic subsets of rhabdomyosarcoma, whereas amplification predominates in embryonal with anaplasia and alveolar subtypes. *Genes. Chromosomes Cancer* **33**, 310–321 (2002).
37. Goldstein, M., Meller, I., Issakov, J. & Orr-Urtreger, A. Novel genes implicated in embryonal, alveolar, and pleomorphic rhabdomyosarcoma: a cytogenetic and molecular analysis of primary tumors. *Neoplasia N. Y.* **8**, 332–343 (2006).
38. Shern, J. F. *et al.* Comprehensive genomic analysis of rhabdomyosarcoma reveals a landscape of alterations affecting a common genetic axis in fusion-positive and fusion-negative tumors. *Cancer Discov.* **4**, 216–231 (2014).

39. Chiles, M. C. *et al.* Sclerosing rhabdomyosarcomas in children and adolescents: a clinicopathologic review of 13 cases from the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Group and Children's Oncology Group. *Pediatr. Dev. Pathol. Off. J. Soc. Pediatr. Pathol. Paediatr. Pathol. Soc.* **8**, 141 (2005).
40. Croes, R. *et al.* Adult sclerosing rhabdomyosarcoma: cytogenetic link with embryonal rhabdomyosarcoma. *Virchows Arch. Int. J. Pathol.* **446**, 64–67 (2005).
41. Hosoi, H. *et al.* A novel PAX3 rearrangement in embryonal rhabdomyosarcoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* **189**, 98–104 (2009).
42. Xia, S. J., Pressey, J. G. & Barr, F. G. Molecular pathogenesis of rhabdomyosarcoma. *Cancer Biol. Ther.* **1**, 97–104 (2002).
43. Sultan, I., Qaddoumi, I., Yaser, S., Rodriguez-Galindo, C. & Ferrari, A. Comparing adult and pediatric rhabdomyosarcoma in the surveillance, epidemiology and end results program, 1973 to 2005: an analysis of 2,600 patients. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **27**, 3391–3397 (2009).
44. Williamson, D. *et al.* Fusion gene-negative alveolar rhabdomyosarcoma is clinically and molecularly indistinguishable from embryonal rhabdomyosarcoma. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **28**, 2151–2158 (2010).
45. Brennan, B. *et al.* Alveolar soft part sarcoma in children and adolescents: The European Paediatric Soft Tissue Sarcoma study group prospective trial (EpSSG NRSTS 2005). *Pediatr. Blood Cancer* **65**, (2018).
46. Yasui, N. *et al.* Clinicopathologic analysis of spindle cell/sclerosing rhabdomyosarcoma. *Pediatr. Blood Cancer* **62**, 1011–1016 (2015).
47. Jo, V. Y. & Fletcher, C. D. M. WHO classification of soft tissue tumours: an update based on the 2013 (4th) edition. *Pathology (Phila.)* **46**, 95–104 (2014).
48. Zhao, Z. *et al.* Spindle cell/sclerosing rhabdomyosarcoma: case series from a single institution emphasizing morphology, immunohistochemistry and follow-up. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* **8**, 13814–13820 (2015).
49. Mentzel, T. & Katenkamp, D. Sclerosing, pseudovascular rhabdomyosarcoma in adults. Clinicopathological and immunohistochemical analysis of three cases. *Virchows Arch. Int. J. Pathol.* **436**, 305–311 (2000).
50. Rekhi, B., Upadhyay, P., Ramteke, M. P. & Dutt, A. MYOD1 (L122R) mutations are associated with spindle cell and sclerosing rhabdomyosarcomas with aggressive clinical outcomes. *Mod. Pathol. Off. J. U. S. Can. Acad. Pathol. Inc* (2016). doi:10.1038/modpathol.2016.144

51. Agaram, N. P. *et al.* Recurrent MYOD1 mutations in pediatric and adult sclerosing and spindle cell rhabdomyosarcomas: evidence for a common pathogenesis. *Genes. Chromosomes Cancer* **53**, 779–787 (2014).
52. Ruymann, F. B. *et al.* Congenital anomalies associated with rhabdomyosarcoma: an autopsy study of 115 cases. A report from the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study Committee (representing the Children’s Cancer Study Group, the Pediatric Oncology Group, the United Kingdom Children’s Cancer Study Group, and the Pediatric Intergroup Statistical Center). *Med. Pediatr. Oncol.* **16**, 33–39 (1988).
53. Archer, N. M. *et al.* An Increased Risk of Second Malignant Neoplasms After Rhabdomyosarcoma: Population-Based Evidence for a Cancer Predisposition Syndrome? *Pediatr. Blood Cancer* **63**, 196–201 (2016).
54. Ray, A. & Huh, W. W. Current state-of-the-art systemic therapy for pediatric soft tissue sarcomas. *Curr. Oncol. Rep.* **14**, 311–319 (2012).
55. Stevens, M. C. G. *et al.* Treatment of nonmetastatic rhabdomyosarcoma in childhood and adolescence: third study of the International Society of Paediatric Oncology--SIOP Malignant Mesenchymal Tumor 89. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **23**, 2618–2628 (2005).
56. Oberlin, O. *et al.* Randomized comparison of intensified six-drug versus standard three-drug chemotherapy for high-risk nonmetastatic rhabdomyosarcoma and other chemotherapy-sensitive childhood soft tissue sarcomas: long-term results from the International Society of Pediatric Oncology MMT95 study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **30**, 2457–2465 (2012).
57. Yang, L., Takimoto, T. & Fujimoto, J. Prognostic model for predicting overall survival in children and adolescents with rhabdomyosarcoma. *BMC Cancer* **14**, 654 (2014).
58. Crist, W. *et al.* The Third Intergroup Rhabdomyosarcoma Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **13**, 610–630 (1995).
59. Joshi, D. *et al.* Age is an independent prognostic factor in rhabdomyosarcoma: a report from the Soft Tissue Sarcoma Committee of the Children’s Oncology Group. *Pediatr. Blood Cancer* **42**, 64–73 (2004).
60. Skapek, S. X. *et al.* PAX-FOXO1 fusion status drives unfavorable outcome for children with rhabdomyosarcoma: a children’s oncology group report. *Pediatr. Blood Cancer* **60**, 1411–1417 (2013).
61. Cavazzana, A. O. *et al.* Spindle cell rhabdomyosarcoma. A prognostically favorable variant of rhabdomyosarcoma. *Am. J. Surg. Pathol.* **16**, 229–235 (1992).

62. Leuschner, I. *et al.* Spindle cell variants of embryonal rhabdomyosarcoma in the paratesticular region. A report of the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study. *Am. J. Surg. Pathol.* **17**, 221–230 (1993).
63. Ferrari, A. *et al.* Rhabdomyosarcoma in infants younger than one year old: a report from the Italian Cooperative Group. *Cancer* **97**, 2597–2604 (2003).
64. Malempati, S. *et al.* Rhabdomyosarcoma in infants younger than 1 year: a report from the Children’s Oncology Group. *Cancer* **117**, 3493–3501 (2011).
65. Meloni-Ehrig, A. *et al.* Translocation (2;8)(q35;q13): a recurrent abnormality in congenital embryonal rhabdomyosarcoma. *Cancer Genet. Cytogenet.* **191**, 43–45 (2009).
66. Mosquera, J. M. *et al.* Recurrent NCOA2 gene rearrangements in congenital/infantile spindle cell rhabdomyosarcoma. *Genes. Chromosomes Cancer* **52**, 538–550 (2013).
67. Alaggio, R. *et al.* A Molecular Study of Pediatric Spindle and Sclerosing Rhabdomyosarcoma: Identification of Novel and Recurrent VGLL2-related Fusions in Infantile Cases. *Am. J. Surg. Pathol.* **40**, 224–235 (2016).
68. Rodary, C., Flamant, F. & Donaldson, S. S. An attempt to use a common staging system in rhabdomyosarcoma: a report of an international workshop initiated by the International Society of Pediatric Oncology (SIOP). *Med. Pediatr. Oncol.* **17**, 210–215 (1989).
69. Lawrence, W., Gehan, E. A., Hays, D. M., Beltangady, M. & Maurer, H. M. Prognostic significance of staging factors of the UICC staging system in childhood rhabdomyosarcoma: a report from the Intergroup Rhabdomyosarcoma Study (IRS-II). *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **5**, 46–54 (1987).
70. Kim, D. *et al.* TopHat2: accurate alignment of transcriptomes in the presence of insertions, deletions and gene fusions. *Genome Biol.* **14**, R36 (2013).
71. Dobin, A. *et al.* STAR: ultrafast universal RNA-seq aligner. *Bioinforma. Oxf. Engl.* **29**, 15–21 (2013).
72. McPherson, A. *et al.* deFuse: an algorithm for gene fusion discovery in tumor RNA-Seq data. *PLoS Comput. Biol.* **7**, e1001138 (2011).
73. Haas, B. *et al.* STAR-Fusion: Fast and Accurate Fusion Transcript Detection from RNA-Seq. *bioRxiv* 120295 (2017). doi:10.1101/120295
74. Nicorici, D. *et al.* FusionCatcher - a tool for finding somatic fusion genes in paired-end RNA-sequencing data. *bioRxiv* 11650 (2014). doi:10.1101/011650
75. Bray, N. L., Pimentel, H., Melsted, P. & Pachter, L. Near-optimal probabilistic RNA-seq quantification. *Nat. Biotechnol.* **34**, 525–527 (2016).

76. The R Core Team. R: The R Project for Statistical Computing. (2016). Available at: <https://www.r-project.org/>. (Accessed: 5th October 2016)
77. Van Nostrand, J. L. *et al.* Inappropriate p53 activation during development induces features of CHARGE syndrome. *Nature* **514**, 228–232 (2014).
78. Sumegi, J. *et al.* Recurrent t(2;2) and t(2;8) translocations in rhabdomyosarcoma without the canonical PAX-FOXO1 fuse PAX3 to members of the nuclear receptor transcriptional coactivator family. *Genes. Chromosomes Cancer* **49**, 224–236 (2010).
79. Watson, S. *et al.* Transcriptomic definition of molecular subgroups of small round cell sarcomas. *J. Pathol.* **245**, 29–40 (2018).
80. Minn, A. Y. *et al.* Early treatment failure in intermediate-risk rhabdomyosarcoma: results from IRS-IV and D9803--a report from the Children's Oncology Group. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **28**, 4228–4232 (2010).
81. Maeda, T., Chapman, D. L. & Stewart, A. F. R. Mammalian vestigial-like 2, a cofactor of TEF-1 and MEF2 transcription factors that promotes skeletal muscle differentiation. *J. Biol. Chem.* **277**, 48889–48898 (2002).
82. Günther, S., Mielcarek, M., Krüger, M. & Braun, T. VITO-1 is an essential cofactor of TEF1-dependent muscle-specific gene regulation. *Nucleic Acids Res.* **32**, 791–802 (2004).
83. Yoshida, T. MCAT elements and the TEF-1 family of transcription factors in muscle development and disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **28**, 8–17 (2008).
84. Yoshida, H. *et al.* PAX3-NCOA2 fusion gene has a dual role in promoting the proliferation and inhibiting the myogenic differentiation of rhabdomyosarcoma cells. *Oncogene* **33**, 5601–5608 (2014).
85. Fete, T. J. & Fete, M. International research symposium on Goltz syndrome. *Am. J. Med. Genet. C Semin. Med. Genet.* **172C**, 3–6 (2016).
86. Pavlick, D. *et al.* Identification of NTRK fusions in pediatric mesenchymal tumors. *Pediatr. Blood Cancer* **64**, (2017).
87. Agaram, N. P. *et al.* Recurrent NTRK1 Gene Fusions Define a Novel Subset of Locally Aggressive Lipofibromatosis-like Neural Tumors. *Am. J. Surg. Pathol.* **40**, 1407–1416 (2016).
88. Davis, J. L. *et al.* Infantile NTRK-associated Mesenchymal Tumors. *Pediatr. Dev. Pathol. Off. J. Soc. Pediatr. Pathol. Paediatr. Pathol. Soc.* **21**, 68–78 (2018).
89. Wong, V. *et al.* Evaluation of a Congenital Infantile Fibrosarcoma by Comprehensive Genomic Profiling Reveals an LMNA-NTRK1 Gene Fusion Responsive to Crizotinib. *J. Natl. Cancer Inst.* **108**, (2016).

90. Kao, Y.-C. *et al.* Recurrent BRAF Gene Fusions in a Subset of Pediatric Spindle Cell Sarcomas: Expanding the Genetic Spectrum of Tumors With Overlapping Features With Infantile Fibrosarcoma. *Am. J. Surg. Pathol.* **42**, 28–38 (2018).
91. Haller, F. *et al.* Paediatric and adult soft tissue sarcomas with NTRK1 gene fusions: a subset of spindle cell sarcomas unified by a prominent myopericytic/haemangiopericytic pattern. *J. Pathol.* **238**, 700–710 (2016).
92. Doebele, R. C. *et al.* An Oncogenic NTRK Fusion in a Patient with Soft-Tissue Sarcoma with Response to the Tropomyosin-Related Kinase Inhibitor LOXO-101. *Cancer Discov.* **5**, 1049–1057 (2015).
93. Amatu, A., Sartore-Bianchi, A. & Siena, S. NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across multiple tumour types. *ESMO Open* **1**, e000023 (2016).
94. Mentzel, T. [Spindle cell rhabdomyosarcoma in adults: a new entity in the spectrum of malignant mesenchymal tumors of soft tissues]. *Pathol.* **31**, 91–96 (2010).

## Annexes

---

## Annexes 1 Classification TNM (selon le RMS 2005)

### Pre treatment TNM

<b>Tumour T</b>	<b>Lymph nodes N</b>	<b>Metastasis M</b>
<p><b>T0:</b> No evidence of tumour</p> <p><b>T1:</b> Tumour confined to organ or tissue of origin  <i>T1a:</i> Tumour ≤ 5 cm in greatest dimension  <i>T1b:</i> Tumour &gt; 5 cm in greatest dimension</p> <p><b>T2:</b> Tumour not confined to organ or tissue of origin  <i>T2a:</i> Tumour ≤ 5 cm in greatest dimension  <i>T2b:</i> Tumour &gt; 5 cm in greatest dimension</p> <p><b>TX:</b> No information on size and tumour invasiveness</p>	<p><b>N0:</b> No evidence of lymph node involvement</p> <p><b>N1:</b> Evidence of regional lymph node involvement</p> <p><b>NX:</b> No information on lymph node involvement</p>	<p><b>M0:</b> No evidence of metastases or non-regional lymph nodes</p> <p><b>M1:</b> Evidence of distant metastasis or involvement of non-regional lymph nodes</p> <p><b>MX:</b> No information on metastasis</p>

### pTNM: Post surgical TNM classification

<b>Tumour pT</b>	<b>Lymph nodes pN</b>	<b>Metastasis pM</b>
<p><b>pT0:</b> No evidence of tumour found on histological examination of specimen.</p> <p><b>pT1:</b> Tumour limited to organ or tissue of origin. Excision complete and margins histologically free.</p> <p><b>pT2:</b> Tumour with invasion beyond the organ or tissue of origin. Excision complete and margins histologically free.</p> <p><b>pT3</b> Tumour with or without invasion beyond the organ or tissue of origin. Excision incomplete.  <i>pT3a:</i> Evidence of microscopic residual tumour.  <i>pT3b:</i> Evidence of macroscopic residual tumour.  <i>pT3c:</i> Adjacent malignant effusion regardless of size.</p> <p><b>pTX:</b> Tumour status may not be assessed.</p>	<p><b>pN0:</b> No evidence of tumour found on histological examination of regional lymph nodes</p> <p><b>pN1:</b> Evidence of invasion of regional lymph nodes  <i>pN1a:</i> Evidence of invasion of regional lymph nodes Involved nodes considered to be completely resected  <i>pN1b:</i> Evidence of invasion of regional lymph nodes Involved nodes considered not to be completely resected</p> <p><b>pNX:</b> N status may not be assessed due to lack of pathological examination or inadequate information on pathological findings.</p>	<p><b>pM0:</b> No evidence of metastasis found on histological examination of non-regional lymph nodes</p> <p><b>pM1:</b> Evidence of metastasis on histological examination</p> <p><b>pMX:</b> M status may not be assessed due to lack of pathological examination or inadequate information on pathological findings.</p>

## Annexe 2 IRS CLINICAL CLASSIFICATION (selon le RMS 2005)

### **Group I: Localized disease, completely resected**

(Regional nodes not involved – lymph node biopsy or dissection is required except for head and neck lesions)

(a) Confined to muscle or organ of origin

(b) Contiguous involvement – infiltration outside the muscle or organ of origin, as through facial planes.

*Notation: This includes both gross inspection and microscopic confirmation of complete resection. Any nodes that may be inadvertently taken with the specimen must be negative. If the latter should be involved microscopically, then the patient is placed in Group IIb or IIc (See Below).*

### **Group II: Total gross resection with evidence of regional spread**

a) Grossly resected tumour with microscopic residual disease.

(Surgeon believes that he has removed all of the tumour, but the pathologist finds tumour at the margin of resection and additional resection to achieve clean margin is not feasible.)

No evidence of gross residual tumour. No evidence of regional node involvement. Once radiotherapy and/or chemotherapy have been started, re-exploration and removal of the area microscopic residual does not change the patient's group.

b) Regional disease with involved nodes, completely resected with no microscopic residual.

*Notation: Complete resection with microscopic confirmation of no residual disease makes this different from Groups IIa and IIc. Additionally, in contrast to Group IIa, regional nodes (which are completely resected, however) are involved, but the most distal node is histologically negative.*

c) Regional disease with involved nodes, grossly resected, but with evidence of microscopic residual and/or histologic involvement of the most distal regional node (from the primary site) in the dissection.

*Notation: The presence of microscopic residual disease makes this group different from Group IIb, and nodal involvement makes this group different from Group IIa.*

### **Group III: Incomplete resection with gross residual disease**

a) After biopsy only

b) After gross or major resection of the primary (>50%)

### **Group IV: Distant metastatic disease present at onset**

(Lung, liver, bones, bone marrow, brain, and distant muscle and nodes)

*Notation: The above excludes regional nodes and adjacent organ infiltration which places the patient in a more favourable grouping (as noted above under Group II). The presence of positive cytology in CSF, pleural or abdominal fluids as well as implants on pleural or peritoneal surfaces are regarded as indications for placing the patient in Group IV.*

## Abstract

---

### Rhabdomyosarcome du nourrisson de moins de 6 mois: Analyse intégrative des cohortes françaises MMT 89-95, RMS 2005 et du Registre National des Tumeurs Solides de l'Enfant

#### Résumé :

**Introduction** Le rhabdomyosarcome (RMS) du nourrisson, 4-10% des RMS chez l'enfant, est une entité bien spécifique. Récemment, des réarrangements moléculaires impliquant *VGLL2* ont été décrits dans des formes de RMS à cellules fusiformes (RMSsc) du nourrisson. Afin de mieux comprendre l'hétérogénéité des RMS du nourrisson, nous avons réalisé une étude intégrative pionnière.

**Méthodes** Tous les RMS de moins de 6 mois au diagnostic et traités en France depuis 1989 ont été analysés, avec relecture histologique centralisée et biologie moléculaire.

**Résultats** 37 nourrissons de moins de 6 mois ont été analysés, avec une médiane d'âge de 2,8 mois [0-5.8]. Le site primitif était principalement la vessie/prostate (n=11) et la tête et cou non paraméningé (n=10). Six patients (16%) avaient une maladie métastatique. La Survie Globale (SG) et la Survie Sans Evènement à 5 ans étaient respectivement de 62% (IC95%, 47-82) et 49% (IC95%, 35-70). Dix-sept nourrissons (48%) ont présenté un échec de traitement : 11 rechutes (31%), 5 (14%) progressions, et un décès toxique. Après relecture histologique, 10 patients (27%) étaient des RMSsc (3 avec translocation *VGLL2* et 2 avec délétion de *PTCH1*) et 2 RMS peu différenciés (myogénine positive) ont été finalement diagnostiqués tumeurs rhabdoïdes (perte de l'expression de *INI1*). Le facteur pronostique principal était l'histologie, les RMSsc étant d'excellent pronostic (SG 90%). Onze tumeurs sur les 28 RMS analysés en RNAseq (39%) présentaient une translocation.

**Conclusion** Les RMSsc se présentent comme des tumeurs de malignité « intermédiaire », surtout locale, avec un pronostic excellent, tandis que les autres RMS ont un pronostic plus péjoratif.

#### Mots clés (français) :

Rhabdomyosarcome, Nourrisson, histologie, rhabdomyosarcome à cellules fusiformes, biologie moléculaire, *VGLL2*

## Rhabdomyosarcoma in newborn and infants: an integrative clinical, histological and molecular analysis of the French cohorts SIOP MMT 89-95, RMS 2005 and the French National Cancer Registry

### Abstract

**Background** RMS in infants, ~4-10% of RMS, is a particular entity with specific clinical presentation and outcome. Recently, molecular rearrangements involving *NCOA2* or *VGLL2* genes have been described in congenital spindle cell RMS (scRMS). To better understand the clinical heterogeneity of RMS in infants and determine optimal therapy, an integrative clinical, histological and molecular analysis was performed.

**Methods** All patients with a diagnosis of RMS under 6 months of age and treated in France from 1989 were reviewed with central pathological review and molecular analysis.

**Results** 37 infants under 6 months of age were identified with a median age at diagnosis of 2.8 months [0-5.8]. Seven patients had congenital malformations and/or predisposition hereditary disorder. Tumor sites were predominantly bladder/prostate (n=11) and head and neck non-parameningeal (n=10). Six patients (16%) had metastatic disease. Five-year event-free and overall survival (OS) were 62% (95%CI, 47-82) and 49% (95%CI, 35-70). Seventeen infants (48%) had treatment failures: 11 relapsed (31%), mostly loco-regional, 5(14%) had refractory disease, and one died by toxic death. After pathological review, 10 patients (27%) were scRMS (3 *VGLL2* fusion and 2 *PTCH1* deletion) and 2 poorly differentiated RMS (myogenin positive on immunochemistry) were retrospectively diagnosed as rhabdoid tumors with loss of INI1 expression. The main prognosis factor was histology, scRMS having an excellent prognosis (OS 90%). Eleven fusions among the 28 patients analyzed (39%) were reported. Cluster expression analysis showed 3 main clusters: alveolar RMS, embryonal RMS and the *VGLL2*-fused cluster, with embryonal RMS spread in both embryonal RMS cluster and *VGLL2*-fused cluster.

**Conclusion** This preliminary work help to better understand the phenotypic heterogeneity of the RMS in infants. The RMSsc looks like “intermediate” tumors and have an excellent prognosis while the others RMS have a worse prognosis.

Keywords : Rhabdomyosarcoma, Infant, pathology, Spindle Cell Rhabdomyosarcoma, Molecular analysis, *VGLL2*

Université Paris Descartes  
Faculté de Médecine Paris Descartes  
15, rue de l'École de Médecine  
75270 Paris cedex 06