Microenvironnement tumoral des glioblastomes : microglie ou macrophages systémiques ?

Estelle Tredez

▶ **To cite this version:**

Estelle Tredez. Microenvironnement tumoral des glioblastomes : microglie ou macrophages systémiques ?. Anatomie, Histologie, Anatomopathologie [q-bio.TO]. 2020. dumas-03023388

HAL Id: dumas-03023388

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03023388

Submitted on 25 Nov 2020

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

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

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE

Faculté de Médecine d'Amiens

ANNEE 2020 **N° 2020 - 128**

MICROENVIRONNEMENT TUMORAL DES GLIOBLASTOMES : MICROGLIE OU MACROPHAGES SYSTEMIQUES ?

THESE DE DOCTORAT EN MEDECINE

ANATOMIE ET CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES

Diplôme d'Etat

Présentée et soutenue publiquement

le 1er octobre 2020

Par Estelle TREDEZ

Née le 22 avril 1991 à Maubeuge (Nord)

PRESIDENT DU JURY : **Monsieur le Professeur Henri SEVESTRE**

MEMBRES DU JURY : **Monsieur le Professeur Olivier JARDE**

Monsieur le Professeur Denis CHATELAIN

Madame le Professeur Cécile MANAOUIL

Monsieur le Professeur Bruno CHAUFFERT

Monsieur le Professeur Michel LEFRANC

DIRECTEUR DE THESE : **Monsieur le Professeur Henri SEVESTRE**

A mon Maître,

Monsieur le Professeur Henri SEVESTRE

Professeur d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques à l'UFR de Médecine d'Amiens

Chef du Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU d'Amiens Picardie

Adjoint au chef de l'Oncopôle

Vous me faites l'honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie du fond du cœur pour votre disponibilité, votre soutien et votre confiance durant ces 5 années d'internat et plus particulièrement pour ce travail de thèse.

Merci pour tous vos conseils de jardinage si précieux, que j'espère, vous viendrez voir mis en œuvre à Crouy !

Je vous témoigne ma profonde et respectueuse reconnaissance.

A mon Maître,

Monsieur le Professeur Olivier JARDE

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier des droits de la Santé

(Chirurgien orthopédiste)

Membre de l'académie nationale de Chirurgie

Membre de l'académie nationale de Médecine

Chevalier dans l'Ordre de la Légion d'Honneur

Chevalier dans l'Ordre des Palmes Académiques

Je vous remercie d'avoir jugé ce travail.

Merci de m'avoir permis de travailler dans le service de médecine légale.

Je tiens à vous exprimer ma sincère reconnaissance et mon profond respect.

A mon Maître,

Monsieur le Professeur Denis CHATELAIN

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

(Anatomie et cytologie pathologique)

Merci d'avoir accepté de juger ce travail.

Merci de m'avoir transmis tellement de choses lors de ma formation d'anapath et surtout de m'avoir permis de participer aux autopsies !

Comment ne pas te remercier pour les tournois de tennis de table, les crêpes et le Beaujolais-fromage !

Tu trouveras ici l'expression de ma sincère reconnaissance et de mon profond respect.

A mon Maître,

Madame le Professeur Cécile MANAOUIL

Professeur des Universités – Praticien Hospitalier

(Médecine légale et droit de la santé)

Service de Médecine Légale et Sociale

Adjointe au Chef du Pôle « Urgences, médecine légale et sociale »

Merci d'avoir si gentiment accepté de juger ce travail.

Merci de m'avoir montré la voie pour atteindre mon rêve de devenir médecin légiste grâce à vos précieux conseils.

Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de ma gratitude.

A mon Maître,

Monsieur le Professeur Bruno CHAUFFERT

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Chef du service d'Oncologie médicale

CHU d'AMIENS

Merci d'avoir jugé mon travail.

Je vous remercie pour vos pistes de travail et votre disponibilité.

Qu'il me soit permis de vous exprimer mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

A mon Maitre,

Monsieur le Professeur Michel LEFRANC

Professeur des Universités - Praticien Hospitalier

(Neurochirurgie)

Directeur du GRECO (groupement de recherche et d'études en chirurgie robotisée) UPJV

Vous avez si spontanément et gentiment accepté de juger ce travail.

Veuillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements et de mon profond respect.

Remerciements

A toi, ma sœur, qui a toujours été là à mes côtés! Merci d'être un si important pilier dans ma vie. Sans toi je n'aurais jamais réussi toutes ces longues années d'études! A notre complicité, à nos rires, à nos regards qui se comprennent sans parole ! Et bien que nos vies prennent un tournant différent, (il était temps selon toi ^^) je serai toujours là pour toi!

JTAA!

"On se remet en chasse? Et on fait main basse!"

Ton greffon qui t'aime!

A mes parents, vous le savez et je vous le redis, sans vous nous n'y serions pas arrivé! Vous êtes ma force. Merci maman d'avoir pansé mes bobos et consolé mes chagrins, merci d'être ce que tu es, une maman louve formidable. Merci papa de tes conseils, de ton soutien et de ton aide à toutes épreuves ! Tu es un papa parfait ! Merci de nous avoir tant donné et tant aimé! Je suis si heureuse de vous avoir à nos côtés malgré la distance ! Je vous aime si fort mes parents adorés !

A mes grands-parents, merci pour tout ce que vous m'avez transmis et tous mes souvenirs d'enfance. J'espère vous avoir rendus fiers.

Une grande pensée pour toi, Mamie…

A Pierre et à Jacqueline, vous nous avez initiés à l'esprit carabin! Merci de nous avoir ouvert la voie et d'avoir été là pour ma sœur et moi.

A Arlette et à nos déjeuners du jeudi midi chez toi en première année. Quel immense soutien moral as-tu joué!!

A Jérôme, merci de rendre ma sœur heureuse !

A Maxou et Caro, merci pour la confiance que vous m'octroyez! Je suis si touchée! Merci encore Maxou d'être le grand frère que nous n'avons jamais eu !!

A Lucie qui lira peut être un jour ces lignes, j'espère être une marraine à la hauteur, je t'aime !

A Guillaume et Caro, Perrine et Jonath, merci pour toutes les vacances passées avec vous! Merci d'avoir supporté mon foutu caractère! A mes petits cousins et cousines que j'aime tant, c'est une joie de vous voir grandir !

A Ginette qui compte beaucoup pour moi ! Merci pour tout!

A tout le reste de ma famille que je n'ai pas encore cité (Éric et Florence, et tous les couz's : Camille et Ludo, Clément et Anissa, Marie et Jonathan, Yves et Laetitia, Alexandre et Khadi, à quand cette cousinade ?).

Merci à ma belle-famille,

Françoise et Claude pour l'accueil si chaleureux dans votre famille,

Anne-Gaëlle, Antoine et Henri pour les week-ends passés ensemble à Boulogne et bientôt à Crouy !

Natan pour ta gentillesse et ton aide à toute épreuve (c'est pas tout le monde qui a un beau frère qui tond sa pelouse ! ;) N'hésite pas, Crouy n'est pas si loin !)

La famille c'est ce qui est le plus important. BOUM BOUM

A tous les médecins d'anapath et de médecine légale à qui je dois beaucoup :

Merci à Carole pour sa bienveillance et sa transmission.

Christophe pour sa rigueur et sa pédagogie. Tu as toujours été un modèle !

Merci à Marie de m'avoir plongé dans l'univers de la médecine légale et de m'avoir tant appris.

Merci Xavier pour ton investissement et ton aide à toute épreuve, tu es vraiment un ami sur qui on peut compter ! Je t'en suis tellement reconnaissante.

Merci à Amélie-Anne, Coralie et Gaétan pour votre bonne humeur !

Merci à Caroline Rambaud, pour m'avoir prise sous son aile durant mon inter-CHU et m'avoir initié à l'anapath médico-légale pédiatrique. Travailler avec vous fut un grand honneur. Merci pour tout ce que j'ai pu apprendre à vos côtés.

Merci aux médecins du Centre de Pathologie des Hauts de France : Thomas, Philippe, Claire, Céline et Monsieur Richard, pour votre accueil et votre confiance. Merci de m'avoir fait découvrir les podcasts de France Culture qui m'ont accompagnée pendant mon interCHU parisien !

A tous mes co-internes et à nos verres du lundi soir!

Plus particulièrement à toi Nelly! Merci de m'avoir aidé pour cette thèse et de m'avoir accompagnée dans les méandres de la neuropathologie ! Plus qu'une co-interne de folie (vive les soirées internat et nos pauses thé !), j'ai trouvé en toi une écoute et un réconfort, une personne courageuse, inspirante et d'une grande générosité. En somme, une véritable amie !!

A Lewis pour m'avoir fait rêver avec tes destinations de vacances à l'autre bout du monde !

A Alex pour sa bienveillance et sa bonne humeur sans faille !

A Guillaume pour toutes ses phrases qui font mouches !

A Soufiane pour nos coups de gueule toujours pardonnés !

A Jean Re pour ton humour et les petits déj!

A Amine, pour ton amitié et nos sorties!

A Pierre, pour ton aide et ton soutien dans la recherche !

A Robin, fournisseur officiel du bon vin de chez nous !

A Clémence pour ta gentillesse et ton soutien!

A Benjamin, pour tes blagues !

Aux plus jeunes que je n'ai pas eu le temps de découvrir…

Aux internes de médecine légale, Valentin et les autres : n'oubliez pas les prélèvements anapath ! ;)

Au personnel du labo d'anapath :

Aux secrétaires : Catherine, Marie, Sophie et Dorothée, qui ont eu la patience de m'écouter dicter trop vite en mangeant mes mots! A Babeth et Isabelle, pour vos sourires et votre gaieté !

Aux techniciens : merci pour tous les moments heureux !

Merci tout particulièrement à Marie Pierre pour ta bonne humeur, ton aide et ta patience dans tous mes projets! Tu es vraiment d'une aide incontestable pour nous tous, j'espère que tu t'en rends compte !! Merci pour tout !!

A Elodie et Valentine, à nos discussions et à nos rires !

A Nathalie pour les bons moments de macro passés ensemble !

A Florine, Richard, Mahé, Louis Victor et les autres, merci !!

A Dom pour ta gentillesse et ton grand cœur !

Au personnel de médecine légale :

Aux secrétaires : Lydie, Anne Line, Catherine et Francia, vous êtes géniales et je suis tellement contente de continuer de travailler avec vous! Catherine, bonne retraite ! Lydie, pour ta bonne humeur contagieuse ! Anne line, promis y'aura des mojitos à l'après thèse ! Francia, merci pour ton soutien en toutes circonstances ! Une pensée toute particulière pour Marion.

Aux agents de morgue, travailler avec vous est toujours un réel plaisir !

A mes amis, vous nous avez tellement bien accueillies en Picardie que nous ne voulons plus en partir :

A Anne Laure, Pierre et le petit Paul pour nos rires,

Adèle et Chuck pour nos soirées jeux (qu'il est grand temps qu'on reprenne !),

Pauline, Alexis et Louis, pour votre humour,

Arnaud et Alexandra pour tous les snaps de chats et pour la Pologne que nous avons hâte de découvrir à vos côtés !

Merci aux personnes sans qui ce travail n'aurait pas vu le jour. Notamment le Professeur Catherine GUETTIER et Monsieur Olivier TRASSARD du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du Kremlin-Bicêtre (AP-HP). Je vous suis très reconnaissante de votre aide.

Et enfin, Merci à toi, Chloé. Mon essentiel et mon évidence.

Merci d'avoir supporté mon stress pendant cette année si difficile!

Chaque jour à tes côtés est magique !

Tu es mon nouveau monde !

Merci à Namie et Oulah, fidèles compagnons toujours là pour m'inciter à faire une pause...

« Que les conversations cessent, que les rires s'envolent

Car ici, la mort se réjouit d'aider les vivants. »

D' après Charles Norris,

Le petit guide de l'empoisonneur, Arte 2014

Table des matières

I. Introduction 15

1) Les glioblastomes 15

2) Le micro-environnement tumoral des glioblastomes 20

3) TMEM119 22

4) Objectifs 23

II. Matériel et méthodes 24

1) Sélection des cas 24

2) Collecte des données 24

3) Immunohistochimie 25

4) Analyses statistiques 26

III. Résultats 28

1) Description de la cohorte 28

2) Macrophages CD68 positifs 32

3) Microglie 34

a. Tissu non tumoral et tissu tumoral 34

b. Corrélation de la microglie dans le tissu tumoral et les différents critères 35

4) Proportion de microglie au sein de la population de macrophages 37

IV. Discussion 42

V. Conclusion 51

VI. Bibliographie 52

VII. Serment d'Hippocrate 59

Résumé 60

Liste des abréviations

ATRX : Alpha-Thalassemia / mental Retardation syndrome X-linked

CD68 : Cluster of Differentiation 68

CTLA4 : Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4

EGFR : Epidermal Growth Factor Receptor

Gy : Gray

IDH : Isocitrate DésHydrogénase

IL : Interleukine

INFγ : Interféron gamma

MGMT : O-6-methylguanine-DNAmethyltransferase

NOS : Not Otherwise Specified

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

PD1 : Programmed cell Death 1

PDL1 : Programmed Death-Ligand 1

TAM : Tumor Associated Macrophoges

TERT : Telomerase Reverse Transcriptase

TGF β **:** Transforming Growth Factor-Beta

TLR4 : Toll-Like Receptor 4

TMEM119 : Protéine Transmembranaire 119

I. Introduction

1) Les glioblastomes

Les glioblastomes sont les tumeurs cérébrales malignes et primitives les plus fréquentes de l'adulte. Leur prévalence est estimée à 1/100 000. Il existe une prédominance masculine et l'âge moyen au diagnostic est de 55 ans. Les glioblastomes sont très agressifs avec une évolution souvent rapide et un pronostic sombre. Cela est confirmé par la survie moyenne qui est d'environ 15 mois. Ils siègent le plus souvent au niveau des hémisphères cérébraux mais peuvent être localisés dans l'ensemble du système nerveux central.

En histologie, ces tumeurs se caractérisent par une prolifération cellulaire composée d'éléments gliaux de différenciation majoritairement astrocytaire. Ces cellules peuvent être monomorphes ou polymorphes et peu différenciées. Les atypies cellulaires et l'activité mitotique sont variables. Deux critères sont indispensables pour poser le diagnostic de glioblastome : la présence d'une prolifération endothélio-capillaire (*Figure 1A*) qui correspond à la présence de vaisseaux à paroi épaissie munie de plusieurs couches de cellules endothéliales et la présence de nécrose, le plus souvent palissadique (*Figure 1B*). Le diagnostic histologique de glioblastome nécessite la présence de la prolifération endothélio-capillaire et/ou de nécrose quelle que soit la présence des autres critères cités ci-dessus.

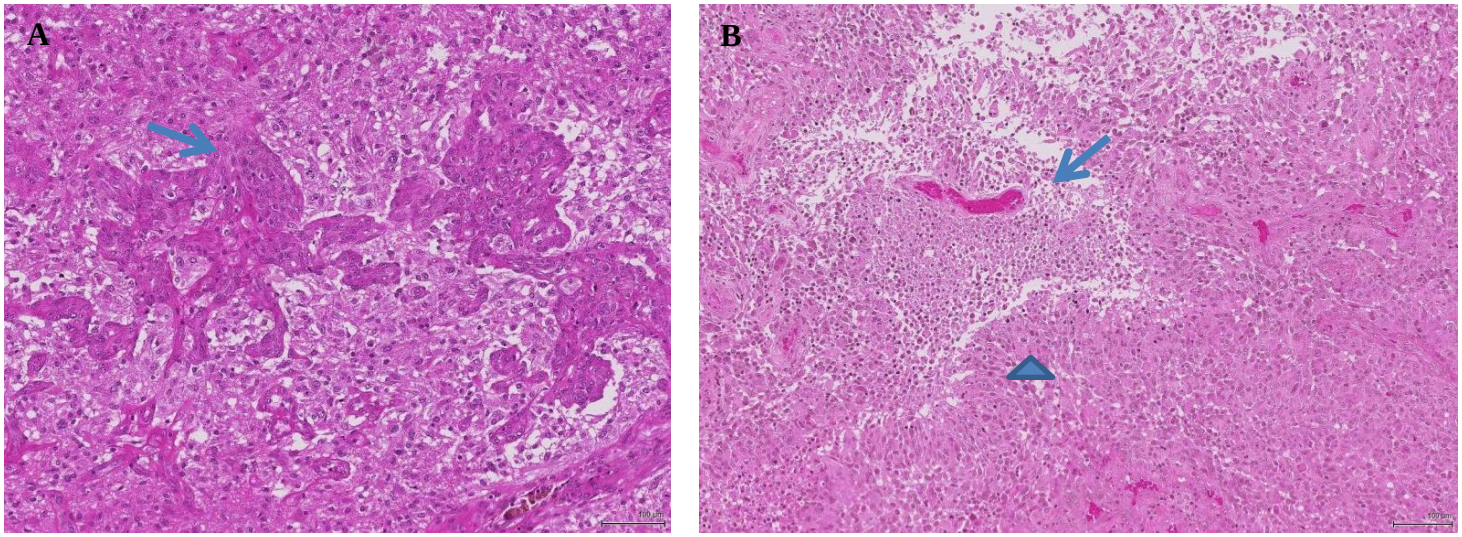
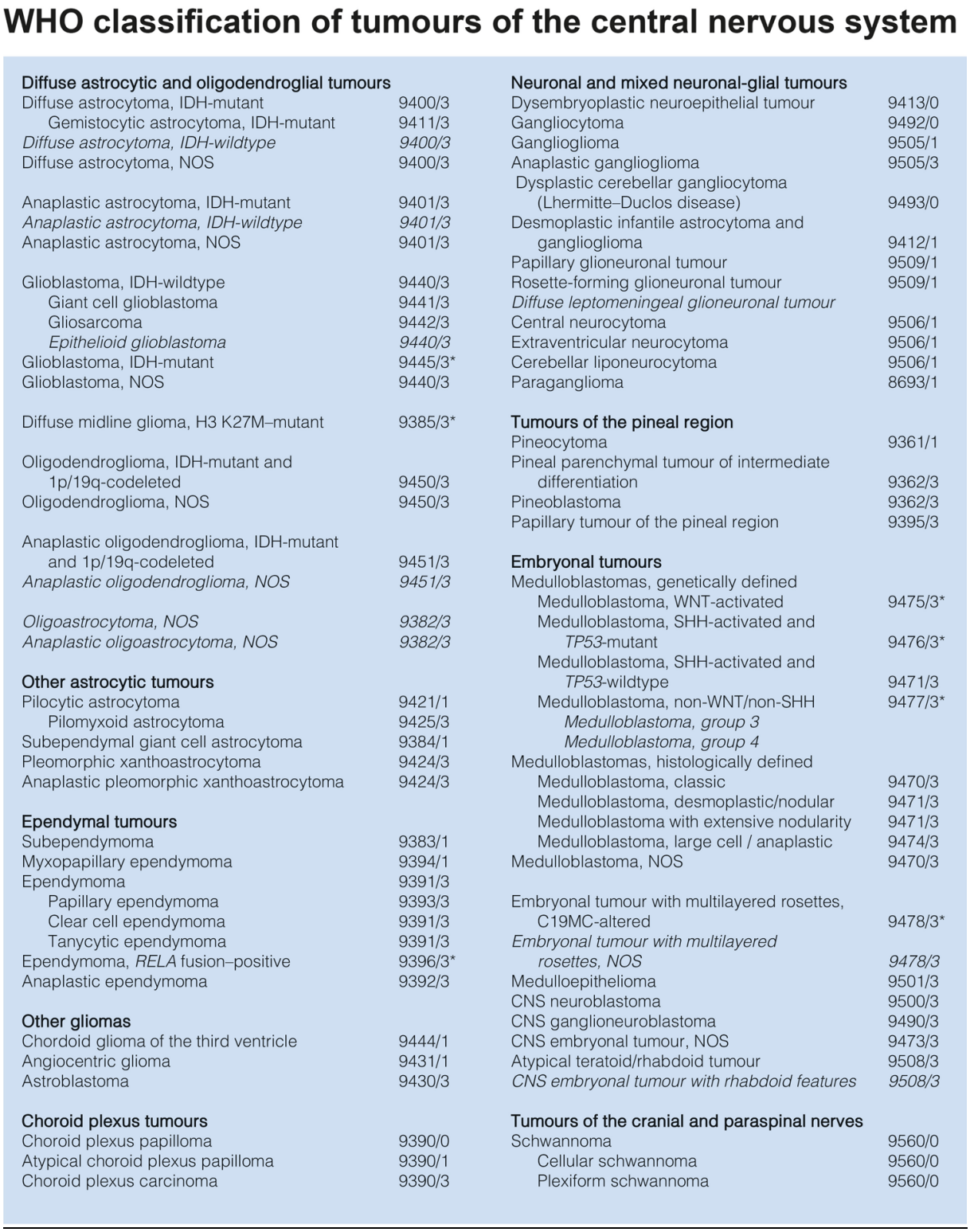


Figure 1 : A : Prolifération endothélio-capillaire (flèche) et B : nécrose (flèche) palissadique (tête de flèche) des glioblastomes (HE, grossissement x100).

La grande majorité des glioblastomes se développe de novo chez des patients âgés, sans preuve clinique ou histologique d'une lésion précurseur (glioblastomes primaires). Les

glioblastomes secondaires évoluent à partir d'une autre lésion parmi lesquelles on peut citer les astrocytomes diffus (de grade II) ou les astrocytomes anaplasiques (de grade III). En général, ces glioblastomes secondaires se manifestent préférentiellement chez des patients plus jeunes et offrent un meilleur pronostic. Cependant, les glioblastomes primaires et secondaires sont histologiquement indiscernables et la présence d'une lésion antérieure n'est pas souvent connue. Des études récentes ont montré que ces glioblastomes secondaires diffèrent des glioblastomes primaires par leur profil génétique et épigénétique. L'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) a donc revu la classification des tumeurs cérébrales en 2016 en prenant en compte les données de biologie moléculaire. Le but de ce changement est de définir des groupes diagnostiques plus homogènes en termes de pronostic et de valeur prédictive de réponse à un traitement. C'est ce qu'on appelle le diagnostic intégré (*Figure 2*). Les glioblastomes sont les seules tumeurs gliales de grade IV selon l'OMS.



WHO classification of tumours of the central nervous system

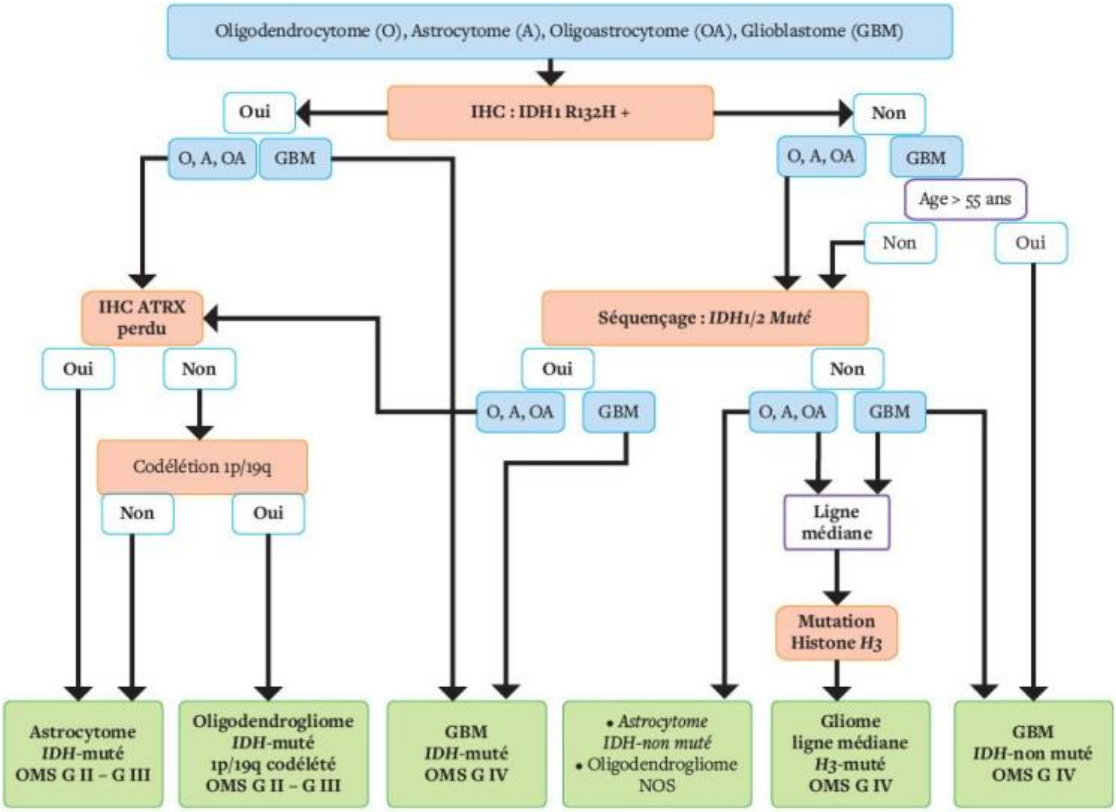
Diffuse astrocytic and oligodendroglial tumours	
Diffuse astrocytoma, IDH-mutant	9400/3
Gemistocytic astrocytoma, IDH-mutant	9411/3
Diffuse astrocytoma, IDH-wildtype	*9400/3*
Diffuse astrocytoma, NOS	9400/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-mutant	9401/3
Anaplastic astrocytoma, IDH-wildtype	*9401/3*
Anaplastic astrocytoma, NOS	9401/3
Glioblastoma, IDH-wildtype	9440/3
Giant cell glioblastoma	9441/3
Gliosarcoma	9442/3
Epithelioid glioblastoma	*9440/3*
Glioblastoma, IDH-mutant	9445/3*
Glioblastoma, NOS	9440/3
Diffuse midline glioma, H3 K27M–mutant	9385/3*
Oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9450/3
Oligodendroglioma, NOS	9450/3
Anaplastic oligodendroglioma, IDH-mutant and 1p/19q-codeleted	9451/3
Anaplastic oligodendroglioma, NOS	*9451/3*
Oligoastrocytoma, NOS	*9382/3*
Anaplastic oligoastrocytoma, NOS	*9382/3*
Other astrocytic tumours	
Pilocytic astrocytoma	9421/1
Pilomyxoid astrocytoma	9425/3
Subependymal giant cell astrocytoma	9384/1
Pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3
Anaplastic pleomorphic xanthoastrocytoma	9424/3
Ependymal tumours	
Subependymoma	9383/1
Myxopapillary ependymoma	9394/1
Ependymoma	9391/3
Papillary ependymoma	9393/3
Clear cell ependymoma	9391/3
Tanycytic ependymoma	9391/3
Ependymoma, *RELA* fusion–positive	9396/3*
Anaplastic ependymoma	9392/3
Other gliomas	
Chordoid glioma of the third ventricle	9444/1
Angiocentric glioma	9431/1
Astroblastoma	9430/3
Choroid plexus tumours	
Choroid plexus papilloma	9390/0
Atypical choroid plexus papilloma	9390/1
Choroid plexus carcinoma	9390/3
Neuronal and mixed neuronal-glial tumours	
Dysembryoplastic neuroepithelial tumour	9413/0
Gangliocytoma	9492/0
Ganglioglioma	9505/1
Anaplastic ganglioglioma	9505/3
Dysplastic cerebellar gangliocytoma (Lhermitte–Duclos disease)	9493/0
Desmoplastic infantile astrocytoma and ganglioglioma	9412/1
Papillary glioneuronal tumour	9509/1
Rosette-forming glioneuronal tumour	9509/1
Diffuse leptomeningeal glioneuronal tumour	
Central neurocytoma	9506/1
Extraventricular neurocytoma	9506/1
Cerebellar liponeurocytoma	9506/1
Paraganglioma	8693/1
Tumours of the pineal region	
Pineocytoma	9361/1
Pineal parenchymal tumour of intermediate differentiation	9362/3
Pineoblastoma	9362/3
Papillary tumour of the pineal region	9395/3
Embryonal tumours	
Medulloblastomas, genetically defined	
Medulloblastoma, WNT-activated	9475/3*
Medulloblastoma, SHH-activated and *TP53*-mutant	9476/3*
Medulloblastoma, SHH-activated and *TP53*-wildtype	9471/3
Medulloblastoma, non-WNT/non-SHH	9477/3*
Medulloblastoma, group 3	
Medulloblastoma, group 4	
Medulloblastomas, histologically defined	
Medulloblastoma, classic	9470/3
Medulloblastoma, desmoplastic/nodular	9471/3
Medulloblastoma with extensive nodularity	9471/3
Medulloblastoma, large cell / anaplastic	9474/3
Medulloblastoma, NOS	9470/3
Embryonal tumour with multilayered rosettes, C19MC-altered	9478/3*
Embryonal tumour with multilayered rosettes, NOS	*9478/3*
Medulloepithelioma	9501/3
CNS neuroblastoma	9500/3
CNS ganglioneuroblastoma	9490/3
CNS embryonal tumour, NOS	9473/3
Atypical teratoid/rhabdoid tumour	9508/3
CNS embryonal tumour with rhabdoid features	*9508/3*
Tumours of the cranial and paraspinal nerves	
Schwannoma	9560/0
Cellular schwannoma	9560/0
Plexiform schwannoma	9560/0

Figure 2 : Classification des tumeurs du système nerveux central selon l'OMS 2016 [1].

Les glioblastomes « IDH-muté », c'est-à-dire mutés pour IDH1 ou IDH2 (deux isoformes de l'enzyme Isocitrate DésHydrogénase) sont le plus souvent des glioblastomes secondaires. Ces mutations induisent la production d'alpha-cétoglutarate et aboutissent à un phénotype

d'hyperméthylation ce qui inhibe des gènes suppresseurs de tumeur [2-6]. Ces mutations sont associées à un pronostic plus favorable et une plus grande chimiosensibilité [3,7].

De plus, les mutations d'ATRX (*Alpha-Thalassemia / mental Retardation syndrome X-linked)* sont impliquées dans l'oncogénèse des glioblastomes secondaires. A l'état normal, l'expression de la protéine ATRX est ubiquitaire. Une absence de marquage des cellules tumorales reflète la mutation du gène dans 80 % des cas. Si ATRX est perdu et que le statut IDH est muté (sans codélétion 1p19q en biologie moléculaire) alors il s'agit d'un glioblastome de grade IV ou astrocytome IDH muté de grade II ou III, en fonction de la morphologie. A l'inverse si ATRX est conservé il s'agit alors d'un oligodendrogliome IDH muté, 1p19q codélété, de grade II ou III (*Figure 3*). Ces mutations sont impliquées dans l'échappement à la sénescence cellulaire en agissant sur le maintien de la longueur des télomères à chaque mitose [8].



<u>Figure 3</u> : Arbre décisionnel des tumeurs gliales et des anomalies moléculaires.

Les mutations du promoteur de TERT (Telomerase Reverse Transcriptase) sont de mauvais pronostic pour les glioblastomes alors qu'elles sembleraient de meilleur pronostic pour les oligodendrogliomes. De même, l'hyperméthylation du promoteur du gène de MGMT (O-6-methylguanine-ADN-methyltransferase) est associée à un pronostic plus favorable et à

une meilleure réponse thérapeutique [9]. En effet, cette enzyme a un rôle clé dans la réparation de l'ADN. La MGMT agit en éliminant les radicaux alkyles ajoutés à la guanine numéro 6 de l'ADN, antagonisant ainsi les effets létaux des agents alkylants notamment le Témozolomide (chimiothérapie de référence dans le traitement des glioblastomes). Le résidu methyl de la 06-méthylguanine de l'ADN est transféré sur la protéine MGMT qui subit une inhibition irréversible. Si la protéine MGMT est défectueuse, ce résidu alkyl reste sur l'ADN bloquant la réplication et menant la cellule à l'apoptose. La méthylation du promoteur du gène MGMT induit une perte ou un faible niveau de la protéine MGMT fonctionnelle, produisant ainsi une réparation inadéquate de l'alkylation de l'ADN due à la chimiothérapie et donc une apoptose plus importante des cellules tumorales. La méthylation du promoteur du gène MGMT a été observée dans environ 50% des gliomes de grade IV [10]. Cette méthylation a été démontrée comme un vrai marqueur pronostique de survie et ayant un rôle prédictif de réponse aux traitements [11].

Les glioblastomes « IDH non mutés » présentent de nombreuses altérations génétiques très hétérogènes. Les plus caractéristiques sont un gain du bras court du chromosome 7 (7p) et une perte du bras long du chromosome 10 (10q), ou une amplification de l'EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*). Chez les patients de plus de 55 ans présentant un aspect typique de glioblastome à l'imagerie et à l'histologie, la négativité de l'anticorps anti-IDH1 en immunohistochimie est suffisante pour classer la tumeur en glioblastome IDH non muté.

Les glioblastomes NOS « *Not Otherwise Specified* » correspondent aux tumeurs sans données moléculaires.

Les principaux facteurs pronostiques cliniques des glioblastomes sont l'âge, l'état neurologique et cognitif du patient. Il s'y ajoute la localisation tumorale dans les lobes frontaux, la qualité de la résection chirurgicale et les traitements adjuvants reçus. Le traitement de référence implique une chirurgie large et/ou un protocole de radiochimiothérapie selon le schéma STUPP qui associe une radiothérapie conformationnelle à la dose de 60 Gy et un traitement concomitant par le Témozolomide oral quotidien (TEMODAL®) puis une administration adjuvante de cette même molécule. Bien que le traitement des patients avec ce protocole permette une meilleure survie par comparaison avec les patients traités différemment, les glioblastomes ont toujours un très mauvais pronostic.

Depuis l'avènement de l'immunothérapie qui cible l'interaction entre les cellules tumorales et leur microenvironnement, et qui donne de très bons résultats pour les mélanomes par exemple, il convient d'étudier les particularités immunologiques des tumeurs, et plus précisément le microenvironnement tumoral et la réaction immunitaire de l'individu contre sa tumeur. Cela est encore rarement étudié dans les tumeurs gliales. De même, les essais cliniques portant sur les immunothérapies sont récents, notamment ceux sur un inhibiteur de points de contrôle immunitaire (la protéine PD-1), ceux-ci n'ayant montré que peu de bénéfice clinique dans les glioblastomes [12]. Il a donc été question de caractériser le microenvironnement tumoral de ces tumeurs pour comprendre cette inefficacité.

2) Le microenvironnement tumoral des glioblastomes

Une étude préliminaire au CHU d'Amiens sur 20 glioblastomes a montré une prédominance de macrophages et un nombre faible de lymphocytes au sein de ces tumeurs par des analyses immunohistochimiques et du transcriptome. Ceci est étonnant car les lymphocytes peuvent constituer une part importante du microenvironnement tumoral dans diverses autres tumeurs dont le mélanome, le cancer du poumon non à petites cellules, le cancer de la sphère ORL, le carcinome des cellules rénales et le lymphome de Hodgkin [12]. Or de nos jours, ces lymphocytes sont les cibles préférentielles de l'immunothérapie. Existerait-il un lien entre ces macrophages en nombre élevé et le peu de lymphocytes retrouvés, ce qui nous permettrait d'ajuster les thérapeutiques utilisées dans ces cancers ?

D'autres études viennent appuyer ces constatations. En effet, des études récentes ont montré que les macrophages comptent pour près de la moitié des cellules constituant la masse tumorale des glioblastomes. Ils sont appelés macrophages associés aux tumeurs (TAM) [13-15].

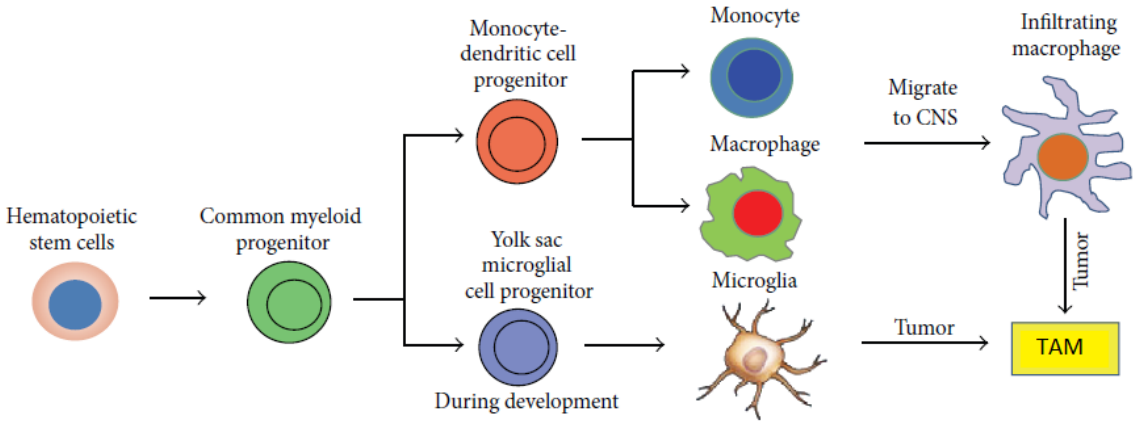
Mais quelle est l'origine de ces TAM ?

Rappelons tout d'abord le contexte immunitaire du cerveau non tumoral.

L'environnement immunitaire du cerveau est particulier afin de protéger au mieux les neurones. Il existe des cellules immunitaires résidentes au sein du cerveau appelées microglie (*Figure 4*). Ce sont des cellules myéloïdes résidentes du système nerveux central et donc des macrophages. La microglie est nécessaire au maintien de l'homéostasie et la plasticité du tissu

cérébral normal. Elle est originaire de cellules progénitrices hématopoïétiques primitives présentes dans la vésicule vitelline (*Yolk Sac)* pendant le développement embryonnaire [16-20]. Elles présentent une grande plasticité fonctionnelle, équilibrant les fonctions neuroprotectrices et neurotoxiques, ce qui se traduit par leur physiologie distincte en réponse aux changements de leur microenvironnement. Les cellules microgliales sont particulièrement mobiles dans les zones du cerveau en cours de restructuration. On pense qu'elles contribuent à la pathogénie de plusieurs maladies neurodégénératives telles que la maladie d'Alzheimer, la maladie de Parkinson, la chorée de Huntington et la sclérose en plaques. La première source de ces TAM serait donc une infiltration de la tumeur par les cellules de la microglie.

L'autre hypothèse concernant ces macrophages est leur provenance systémique. Ces derniers issus de l'infiltration de monocytes dérivés de la moelle osseuse et recrutés à partir de la circulation sanguine peuvent envahir le système nerveux central lors de conditions pathologiques afin d'aider le cerveau à se défendre. Même s'il est admis généralement qu'il existe une barrière hémato-encéphalique qui permet d'isoler le cerveau des agents neuro-toxiques de la circulation sanguine (germes, molécules,…), elle serait perméable aux cellules immunitaires. De plus, les traitements par chimiothérapie peuvent altérer la barrière hémato-encéphalique qui devient moins sélective.



<u>Figure 4 :</u> Lignées cellulaires de la microglie et des macrophages infiltrants des glioblastomes. microglie/macrophages associés aux tumeurs (TAM) [21].

Ces deux populations distinctes de cellules sont morphologiquement indiscernables dans les coupes histologiques de tissus et ne sont pas distinguées de manière fiable. On ignore donc actuellement dans quelle mesure les macrophages sont dérivés de l'infiltration de cellules provenant de la circulation sanguine ou de la microglie [22-23].

3) TMEM119

Pour comprendre le fonctionnement immunitaire du cerveau contre un processus tumoral et par conséquent, cibler soit la microglie ou les macrophages systémiques dans les prochaines approches thérapeutiques, il est essentiel de faire la distinction entre ces deux populations cellulaires.

Bennett et al., ont identifié en 2016 une protéine, la TMEM119, comme un marqueur de surface de la microglie [24-25]. En effet, cette équipe a démontré, à partir du séquençage du transcriptome de cellules microgliales, que la protéine TMEM119 est fortement exprimée par ces cellules mais pas par les macrophages d'origine systémique. Cette protéine a été décrite comme jouant un rôle dans la différenciation des ostéoblastes dans une étude de 2012 [26]. Par la suite, de nombreuses autres études ont montré cette différence d'expression entre les deux populations de cellules [17, 27]. Pour l'instant, sa fonction est encore inconnue dans le système nerveux central.

Cette protéine peut être utilisée pour distinguer de manière fiable la microglie des macrophages infiltrants. Pour cibler celle-ci, il existe une technique spéciale en immunohistochimie avec un anticorps spécifique.

4) Objectifs

Ainsi, les glioblastomes sont des tumeurs de mauvais pronostic et répondent peu aux nouvelles thérapies visant le système immunitaire. Le microenvironnement tumoral de ces tumeurs a fait récemment l'objet de nombreuses études qui retrouvent une grande proportion de macrophages. Or ces macrophages peuvent avoir deux origines distinctes induisant des conséquences non négligeables pour les traitements futurs.

L'objectif de cette étude est de mieux caractériser l'infiltrat inflammatoire des glioblastomes et notamment de reconnaître la provenance des macrophages qui infiltrent ces tumeurs ainsi que le lien entre leurs proportions respectives et des facteurs pronostiques.

II. Matériel et méthodes

1) Sélection des cas

L'étude a porté sur l'ensemble des examens anatomopathologiques des prélèvements issus du CHU d'Amiens sur la base de données DIAMIC, pour lesquels un diagnostic de glioblastome a été retenu entre janvier 2015 et mars 2020. Le diagnostic de cette tumeur a été réalisé par un médecin anatomopathologiste sur des coupes histologiques réalisées à partir des prélèvements inclus en paraffine et colorées à l'Hématoxyline-Phloxine et assisté de techniques immunohistochimiques. Au total, 259 prélèvements ont été retrouvés.

Les critères d'exclusion étaient :

- les prélèvements biopsiques en raison de la petite taille des prélèvements,
- les glioblastomes secondaires (et notamment le statut muté pour ATRX et IDH1 en immunohistochimie),
- les patients de moins de 55 ans pour s'affranchir de la recherche de mutation minoritaire d'IDH1 et IDH2 en biologie moléculaire.

Suite aux critères d'exclusion, 100 patients ont été sélectionnés. Pour deux patients nous n'avions pas les blocs d'inclusion (envoyés à un laboratoire pour des études cliniques) et ils ont donc été exclus de l'étude. Au final cette étude a porté sur 98 cas.

Les échantillons tissulaires anonymes ont été mis à disposition, et utilisés en interne de façon rétrospective, dans le service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques-Tumorothèque de Picardie dans le cadre d'une recherche n'impliquant pas la personne humaine portant sur les pratiques d'enseignement, notamment des étudiants dans le domaine de la santé.

2) Collecte des données

Les critères cliniques et histologiques ont été recherchés sur les logiciels de dossiers médicaux informatisés DxCare et DIAMIC du CHU d'Amiens Picardie. Il a été retenu: le sexe, l'âge des patients au diagnostic, la survenue d'un décès, la survie supérieure à 15 mois avec la séparation des patients en longs survivants (survie supérieure ou égale à 15 mois) et courts survivants (survie inférieure à 15 mois), le pourcentage de nécrose estimé sur les coupes histologiques et la localisation de la tumeur. Le coefficient de prolifération Ki67 et le

statut pour la protéine P53 ont été également recherchés. En effet, la protéine P53 joue un rôle important dans la régulation du cycle cellulaire, l'apoptose et la différenciation cellulaire. Les mutations de P53 sont associées à un pronostic plus sévère [28]. Dans les gliomes, le statut P53 est une aide pour classer ces tumeurs. Le marquage de plus de 10% des noyaux tumoraux par la P53 (surexpression de P53) est associé à la perte d'ATRX. Elle est donc exclusive de la codélétion 1p19q.

3) Immunohistochimie

Les techniques immunohistochimiques ont été réalisées sur l'automate Benchmark Ultra (Ventana Medical Systems). Les techniques ont été exécutées sur du matériel fixé par le formol et inclus en paraffine. Les blocs ont été coupés à 3 µm d'épaisseur. Deux coupes successives ont été utilisées pour l'anticorps anti CD 68 (*Cluster of Differentiation 68*, spécifique de la lignée monocytaire, exprimé par les macrophages circulants et par les macrophages tissulaires et notamment la microglie) et TMEM119 afin d'avoir peu de différences dans les images tissulaires à analyser. Il a été également réalisé pour les prélèvements les plus anciens, un immunomarquage pour les anticorps anti IDH1 R132H, ATRX, la P53 et le Ki67. Ceux-ci ayant été réalisés pour les actes diagnostiques pour les plus récents (*Tableau 1*).

Anticorps	Fabricant/ Distributeur	Clone	Dilution	Technique
TMEM119	Abcam	Rabbit polyclonal	1/50	CC1 64' prétraitement, 32' incubation anticorps
CD68	DAKO	PG-M1	1/100	CC1 8' prétraitement, 20' incubation anticorps
ATRX	SIGMA	Polyclonal	1/200	CC1 64' prétraitement, 32' incubation anticorps
IDH1 R132H	Clinisciences	H09	1/100	CC1 64' prétraitement, 32' incubation anticorps
P53	DAKO	DO-7	1/50	CC1 64' prétraitement, 32' incubation anticorps
Ki67	Diagomics	SP6	1/100	CC1 64' prétraitement, 32' incubation anticorps

Tableau 1: Description des anticorps.

Des témoins positifs et négatifs (en omettant l'anticorps primaire) ont été réalisés pour chaque anticorps.

La technique d'immunomarquage pour l'anticorps anti-TMEM119 a été mise au point pour cette étude. Le témoin positif était du tissu ganglionnaire sain comme préconisé par le fabricant et utilisé dans d'autres études [19]. L'anticorps a également été testé sur du tissu cérébral sain pour éviter le bruit de fond (prélèvement autopsique). Plusieurs dilutions (1/50, 1/100, 1/200) ont été testées afin d'affiner la qualité de l'immunomarquage ainsi que différents prétraitements de la lame (CC1 et CC2) et différentes durées d'exposition à ces prétraitements (64 ou 56 minutes). Nous avons gardé la dilution au 1/50 et le prétraitement CC1 avec 64 minutes.

Toutes les lames marquées par le TMEM119 et le CD68 ont ensuite été numérisées par le scanner de lames Pannoramic 1000 (3DHISTECH) du Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du Pr GUETTIER à l'hôpital du Kremlin-Bicêtre (AP-HP). Grâce à l'application CaseViewer (3DHISTECH), une zone de 1,2 mm² a été sélectionnée dans la tumeur, correspondant à un champ au grossissement 200. Dans cette zone, les cellules marquées par le TMEM119 et le CD68 ont été comptées manuellement par un pathologiste. Afin d'évaluer un possible effet zone, 3 zones de 1,2 mm^2 de trois tumeurs ont été sélectionnées. Lorsque l'on comparait les cellules marquées, il n'y avait qu'une variation inférieure à 5% du nombre de cellules dans ces 3 zones. Ceci nous a permis de n'analyser qu'une zone de 1,2 mm^2 pour chaque tumeur. Comme décrit dans d'autres études [29], certaines cellules tumorales et cellules endothéliales exprimaient TMEM119. Les cellules microgliales ont donc été sélectionnées grâce à leur morphologie.

Lorsqu'il existait sur la lame du tissu cérébral sain d'au moins 1,2 mm², celui-ci a fait l'objet de la même démarche pour le marquage avec l'anticorps anti TMEM119.

4) Analyses statistiques

Les variables quantitatives ont été exprimées en moyennes avec écarts types ou en médianes avec « inter quartile range », les variables qualitatives en fréquences et pourcentages. Chaque variable a été analysée dans le cadre d'une analyse univariée. Les variables qualitatives ont été évaluées par le test du Chi2 ou par le test exact de Fisher quand les conditions du Chi2 n'étaient pas respectées. Des tests paramétriques ont été réalisés avec

notamment le test de Welch car les conditions du test de Student n'étaient pas respectées. Des tests non paramétriques ont également été faits. Il s'agissait du test de Kruskal Wallis et du test de Mann Whitney.
Les variables quantitatives ont été analysées entre elles avec le coefficient de corrélation de Pearson pour évaluer une corrélation linéaire.

Toutes les variables testées en univarié et dont la p-value était inférieure à 0,15 ont été introduites dans la création du modèle multivarié logistique. Ainsi, outre les variables forcées dans le modèle, telles que l'âge ou le sexe systématiquement insérés, celles dont les p-values étaient inférieures à 0,15 étaient considérées comme éligibles au modèle. Le seuil de significativité pour le modèle multivarié était fixé à 0,05.

Les analyses ont été réalisées avec le logiciel graphpad prism version 5.02 pour Windows (GraphPad Software, La Jolla California USA 2017) et le logiciel p-value.io (Medistica. pvalue.io, a Graphic User Interface to the R statistical analysis software for scientific medical publications. 2020).

III. Résultats

1) Description de la cohorte

L'âge moyen au diagnostic était de 64 ans avec des extrêmes allant de 55 ans à 90 ans. Il existait une prédominance masculine (sex ratio = 1,39). Les hommes étaient discrètement plus jeunes au diagnostic que les femmes (63,0 ans ± 6 pour les hommes contre 65,6 ans ± 7,66 pour les femmes, **p = 0,067**). Les glioblastomes étaient essentiellement localisés à droite et touchaient préférentiellement le lobe temporal (Tableau 2). Dix-sept patients avaient une tumeur qui s'étendait à plus de deux lobes contigus (17%) et sept patients avaient une localisation bilatérale du glioblastome (7,1%). Une seule tumeur intéressait le cervelet.

La survie moyenne était de 14 mois environ (14,2 mois ± 10,1) avec 52 décès à la fin de l'étude (53% des patients). Il existait plus de patients courts survivants (survie inférieure à 15 mois) que longs survivants (survie supérieure ou égale à 15 mois). Les courts survivants étaient majoritairement des hommes (nombre d'hommes dans les courts survivants: 40 (70% des hommes au total) et nombre de femmes : 22 (54% des femmes au total) et les longs survivants 17 (30%) hommes et 19 (46%) femmes, **p=0,094**).

Pour les données histologiques, le coefficient de prolifération Ki67 moyen était estimé à 29,4 ± 13,7%. Le pourcentage moyen de P53 était de 25,5 ± 25,3%. Le pourcentage moyen de nécrose tumorale était de 26,6% ± 21,4. Le Ki67 était lié de manière statistiquement significative avec des facteurs tels que le pourcentage de nécrose tumorale (coefficient de corrélation : -0,164 (-0,351; 0,0357), **p=0,11**) et la P53 (0,274 (0,0799; 0,448), **p<0,01**). En effet, il existait une augmentation du pourcentage de nécrose tumorale quand le Ki67 augmentait alors que pour la P53 la relation était inversée *(Figure 5)*.

		Moyenne (écart-type)	Médiane [Q25-75]	Min	Max	n (%)	p
AGE AU DIAGNOSTIC (année)		64,1 (6,83)	63,0 [59,0; 68,8]	55,0	90,0	98 (100%)	
SURVIE (mois)		14,2 (10,1)	12,0 [7,00; 18,0]	1,00	58,0	98(100%)	
KI67 (%)		29,4 (13,7)	30,0 [20,0; 35,0]	5,00	80,0	98 (100%)	
NECROSE (%)		26,6 (21,4)	20,0 [10,0; 40,0]	0	80,0	98 (100%)	
P53 (%)		25,5 (25,3)	15,0 [8,50; 30,0]	1,00	95,0	98 (100%)	
CD68 (nombre cellules marquées/1,2mm²)		201 (133)	169 [105; 258]	30,0	797	98 (100%)	
TMEM119 (nombre cellules marquées/1,2mm²)		92,4 (88,8)	68,0 [30,0; 117]	2,00	432	98 (100%)	
SEXE	**M**	-	-	-	-	57 (58%)	**0,0349**
	F	-	-	-	-	41 (42%)	
COTE	**DROITE**	-	-	-	-	54 (55%)	**<0,0001**
	GAUCHE	-	-	-	-	37 (38%)	
	BILATERAL	-	-	-	-	7 (7,1%)	
LOBE	**TEMPORAL**	-	-	-	-	36 (37%)	**<0,0001**
	FRONTAL	-	-	-	-	20 (20%)	
	MULTIPLE	-	-	-	-	17 (17%)	
	PARIETAL	-	-	-	-	12 (12%)	
	CARREFOUR	-	-	-	-	7 (7,1%)	
	OCCIPITAL	-	-	-	-	5 (5,1%)	
	CERVELET	-	-	-	-	1 (1%)	
NOMBRE DE LOBE(S) ATTEINT(S)	**1**	-	-	-	-	79 (82,3%)	**<0,0001**
	2	-	-	-	-	13 (13,5%)	
	>2	-	-	-	-	4 (4,1%)	
DECES	**OUI**	-	-	-	-	52 (53%)	0,4294
	NON	-	-	-	-	46 (47%)	
SURVIVANTS	**COURT (<15 mois)**	-	-	-	-	46 (56%)	**0,0509**
	LONG (>15 mois)	-	-	-	-	32(44%)	

Tableau 2 : Description de la cohorte.

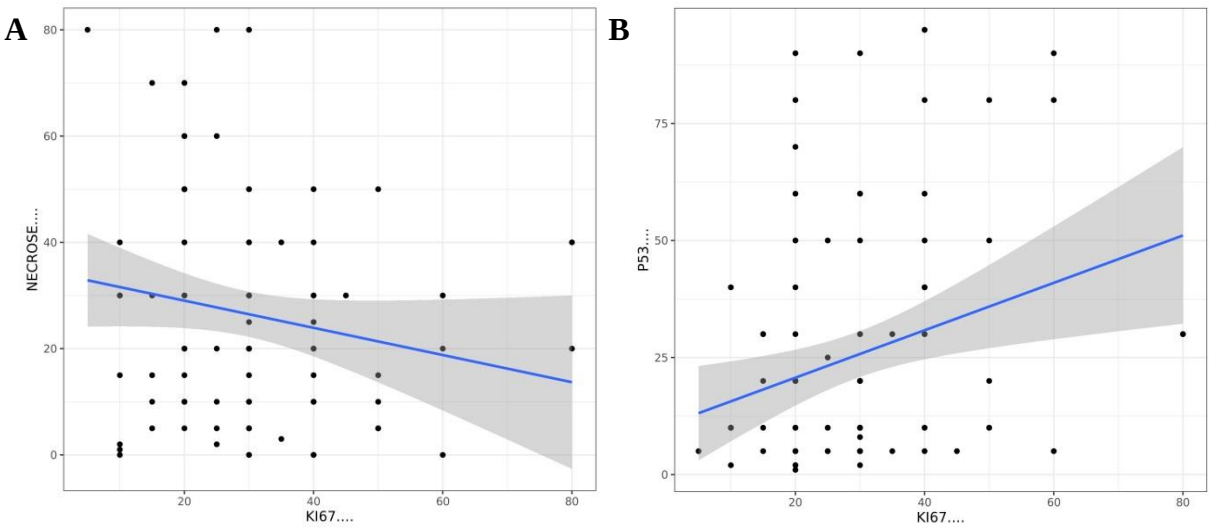


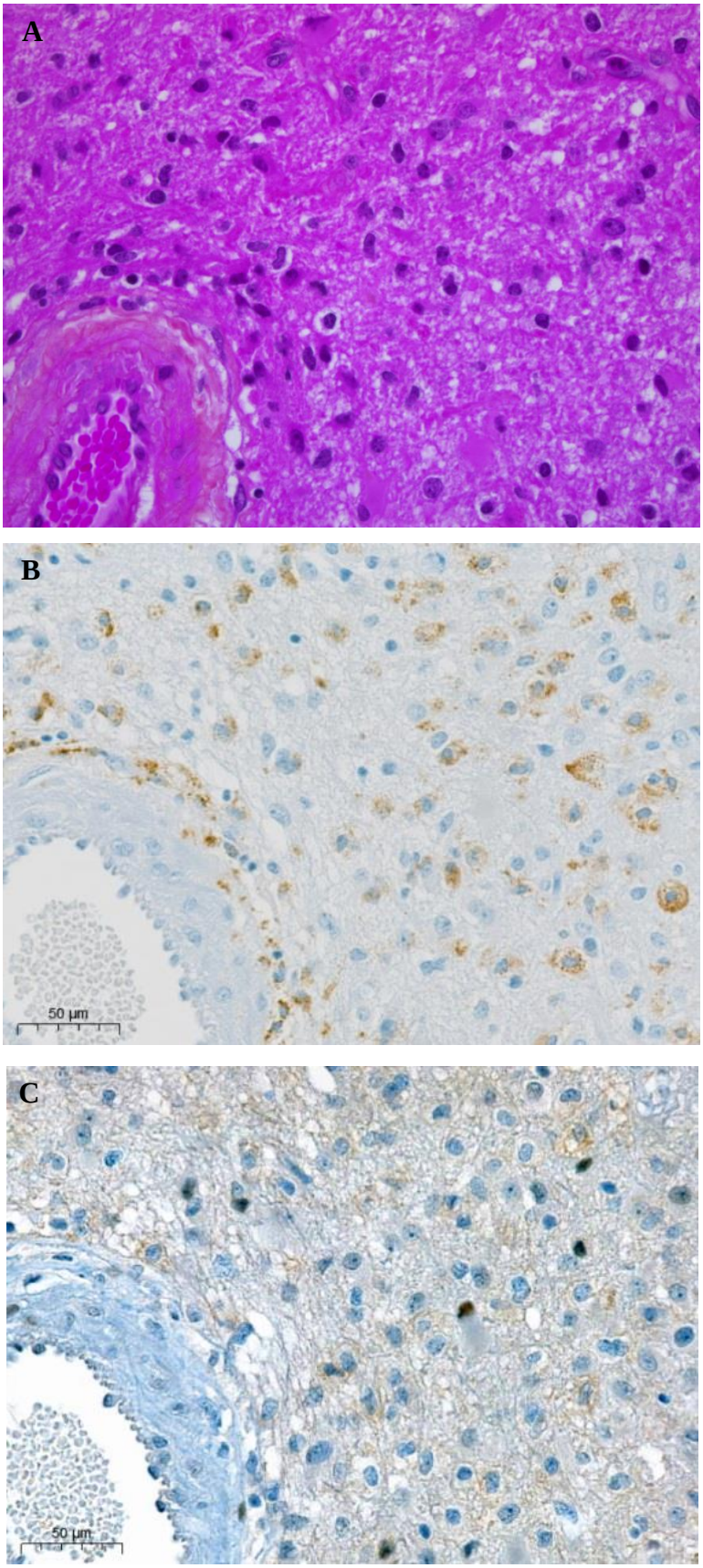
Figure 5 : Corrélation entre le pourcentage de nécrose (A) et de P53 (B) tumoraux et du coefficient de prolifération Ki67.

La localisation tumorale à certains lobes était statistiquement associée au pourcentage de nécrose tumorale et au pourcentage de cellules exprimant la P53. En effet, on retrouvait une augmentation de P53 dans les tumeurs touchant plusieurs lobes, au niveau du carrefour et du lobe occipital. De même, la nécrose tumorale était plus importante dans les lobes occipitaux et frontaux ainsi qu'au niveau du carrefour *(Tableau 3).*

	LOBE TEMPORAL (n = 36)	LOBE FRONTAL (n = 20)	MULTIPLE (n = 17)	LOBE PARIETAL (n = 12)	CARRE-FOUR (n = 7)	LOBE OCCIPITAL (n = 5)	CERVE-LET (n = 1)	p
NECROSE (%), Moyenne	22,7 (±22,0)	33,9 (±21,0)	19,4 (±20,0)	30,0 (±24,0)	33,6 (±20,6)	34,0 (±11,4)	20 (±-)	**0,098**
P53 (%), Moyenne	16,7 (±18,8)	25,4 (±28,3)	33,2 (±23,5)	29,2 (±29,0)	40,7 (±29,5)	32,0 (±37,5)	30 (±-)	**0,052**

Tableau 3 : Répartition des pourcentages de nécrose tumorale et de P53 en fonction des lobes atteints.

Le pourcentage de cellules marquées avec l'anticorps anti P53 augmentait avec le nombre de lobes atteints (1 lobe : 24,3 (±25,7) *vs* 2 lobes : 27,3 (±22,7) *vs* >2 lobes : 42,5 (±26,3), **p=0,12**).



<u>Figure 6</u> : Glioblastome en HE (A), immunomarquage par les anticorps anti CD68 (B) et TMEM119 (C), grossisement x400.

2) Macrophages CD68 positifs

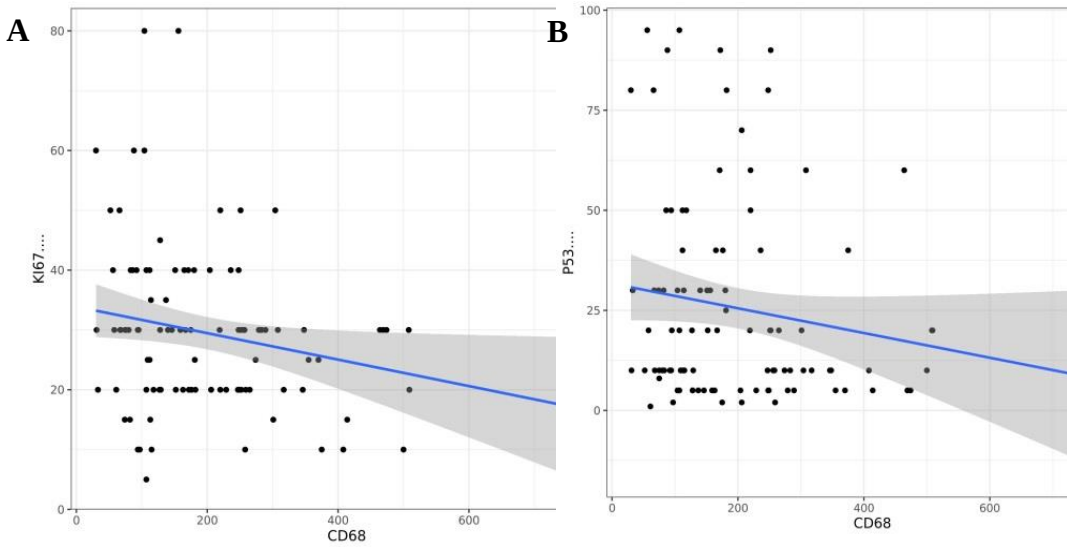
Le nombre moyen de macrophages marqués par l'anticorps anti CD68 était de 201 ± 133 / 1,2 mm² pour toutes les tumeurs analysées (*Figure 6*).

Lorsqu'on comparait cette densité de macrophages avec les caractéristiques clinico-pathologiques, nous retrouvions que le coefficient de prolifération Ki67 et le pourcentage de cellules marquées par l'anticorps anti P53 étaient liés statistiquement avec le nombre de macrophages marqués. En effet, le Ki67 (coefficient de corrélation : -0,215 (-0,396; -0,0168), p= **0,034**) et la P53 (coefficient de corrélation : -0,162 (-0,349; 0,0375), p=**0,11**) diminuaient lorsque le nombre de macrophages augmentait *(Figure 7 et tableau 4 bis)*. Il n'a pas été retrouvé d'autre différence statistiquement significative avec le reste des critères en analyse univariée *(Tableau 4).* Cependant, on peut noter une discrète augmentation du nombre de cellules dans les tumeurs des hommes par rapport à celles des femmes (nombre moyen de macrophages chez les hommes : 213 ± 143 et chez les femmes : 184 ± 117, p=0,28). Il existait une tendance à la diminution de macrophages chez les courts survivants par rapport aux longs survivants (nombre moyen de macrophages chez les courts survivants 179 (±112) et chez les longs survivants : 215 (±155), p=0,24).

		Moyenne (écart-type)	Médiane [Q25-75]	p
DECES	OUI	195 (±145)	158 [102 - 252]	0,63
	NON	208 (±120)	191 [112 - 259]	
COTE	DROITE	208 (±125)	192 [108 - 274]	0,34
	GAUCHE	201 (±147)	156 [107 - 258]	
	BILATERAL	149 (±122)	107 [71 - 196]	
LOBE	TEMPORAL	204 (±134)	176 [94,8 - 263]	0,54
	FRONTAL	225 (±127)	194 [123 - 285]	
	MULTIPLE	162 (±106)	118 [80 - 252]	
	PARIETAL	231 (±190)	168 [123 - 250]	
	CARREFOUR	177 (±80,1)	151 [120 - 220]	
	OCCIPITAL	212 (±157)	137 [115 - 252]	
	CERVELET	67 (±-)	67 [67 - 67]	
NOMBRE DE LOBE(S) ATTEINT(S)	1	212 (±137)	175 [112 - 258]	**0,11**
	2	143 (±90,5)	107 [77,5 - 200]	
	>2	199 (±148)	196 [112 - 283]	
SEXE	M	213 (±143)	172 [107 - 274]	0,28
	F	184 (±117)	151 [104 - 249]	
SURVIVANTS	COURTS	179 (±112)	152 [92,5 - 248]]	0,24
	LONGS	215 (±155)	171 [107 - 268]	

	Coefficient de corrélation (IC95)	p
AGE AU DIAGNOSTIC (année)	-0,0156 (-0,213; 0,183)	0,88
KI67 (%)	-0,215 (-0,396; -0,0168)	**0,034**
NECROSE (%)	0,0929 (-0,108; 0,286)	0,36
P53 (%)	-0,162 (-0,349; 0,0375)	**0,11**

Tableaux 4 et 4 bis : Corrélation entre le nombre de macrophages et les différents critères.



<u>Figure 7 :</u> Corrélation entre le taux de Ki67 (A), de P53 (B) et le nombre de cellules marquées par l'anticorps anti CD68.

Ainsi, il existait bien dans notre cohorte une importante population de macrophages associée aux glioblastomes.

De plus, il existe un lien statistiquement significatif entre ces macrophages, le Ki67 et la P53.

Mais parmi ces macrophages, existe-il de la microglie infiltrant ces tumeurs ?

3) Microglie

a. Tissu non tumoral et tissu tumoral

Après les mises au point pour l'anticorps anti-TMEM119, nous avons exploré le nombre de cellules microgliales dans le tissu tumoral et le tissu non tumoral adjacent à la tumeur. Seuls 23 prélèvements avaient un fragment de tissu non tumoral, les tumeurs associées à ces fragments ont été utilisées pour comparer ces différents marquages. Le nombre moyen de microglie retrouvé dans le tissu sain était de 36,1 ± 23,1 cellules par 1,2 mm² alors que celui du tissu tumoral était de 87,5 ± 80 cellules par 1,2 mm². Cette différence était statistiquement significative avec un coefficient de corrélation de 0,715 et p< **0,001** *(Figure 8 et figure 9*).

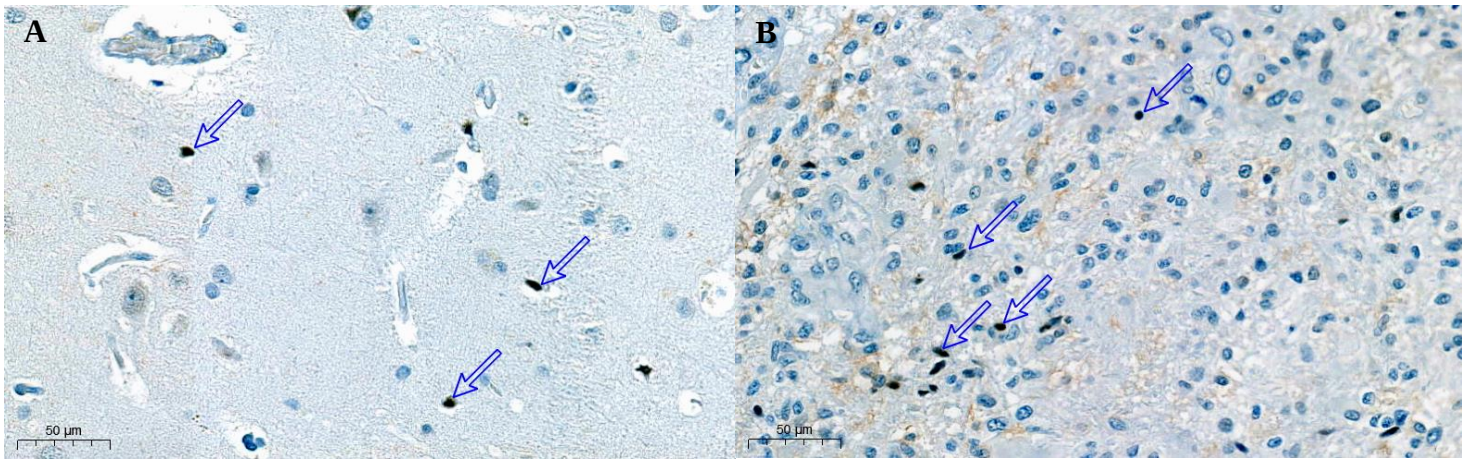


Figure 8 : Immunomarquage par l'anticorps anti TMEM119 dans le tissu non tumoral (A) et tumoral (B), grossissement x200.

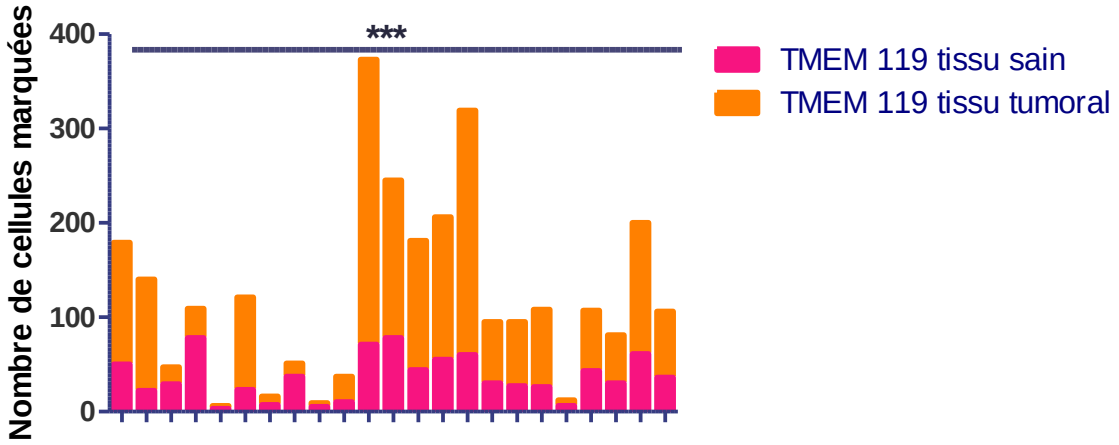


*Figure 9 : Corrélation du nombre de cellules marquées dans le tissu tumoral et non tumoral (**p<0,001**).*

Il existait donc bien des cellules de la microglie dans les glioblastomes et ces cellules microgliales étaient en nombre augmenté par rapport au tissu non tumoral adjacent.

b. Corrélation de la microglie dans le tissu tumoral et les différents critères

Le nombre moyen de microglie (cellules marquées par l'anticorps anti TMEM119) retrouvé dans les glioblastomes était de 92,4 ± 88,8 cellules par 1,2 mm² sur toute la cohorte (98 cas).

Nous retrouvions une association statistiquement significative avec le marquage par l'anticorps anti P53 (coefficient de corrélation : -0,178 (-0,364; 0,0212), p=**0,08**) et les longs survivants (moyenne de cellules de la microglie chez les courts survivants : 82,9 (±89,8) vs chez les longs survivants : 112 (±71,7), p=**0,11**) *(Tableaux 5 et 5 bis*). Il existait une diminution du pourcentage de cellules tumorales marquées par la P53 quand le nombre de cellules microgliales marquées diminuait. Inversement le taux de longs survivants était plus important quand le TMEM 119 était élevé *(Figure 10).* Il n'y avait pas d'autre lien statistiquement significatif avec les autres critères en analyse univariée *(Tableau 5*).

		Moyenne (écart-type)	Médiane [Q25-75]	p
DECES	OUI	89,9 (±74,6)	68 [45,8 - 110]	0,77
	NON	95,3 (±103)	63,5 [15 - 126]	
COTE	DROITE	104 (±105)	69 [30 - 134]	0,58
	GAUCHE	81,9 (±63,6)	70 [44 - 115]	
	BILATERAL	57,3 (±46,9)	36,0 [30,5 - 73]	
LOBE	TEMPORAL	94,1 (±100)	62,5 [18 - 123]	0,6
	FRONTAL	85,3 (±81,9)	61,5 [32,2 - 112]	
	MULTIPLE	91,7 (±66,4)	70 [57 - 115]	
	PARIETAL	83,2 (±77,5)	62,5 [27,5 - 111]	
	CARREFOUR	112 (±39,1)	104 [91,5 - 120]	
	OCCIPITAL	119 (±180)	30 [11- 112]	
	CERVELET	31 (±-)	31 [31 - 31]	
NOMBRE DE LOBE(S) ATTEINT(S)	1	94,4 (±93,6)	68 [25,5 - 123]	0,97
	2	85,3 (±71,7)	70 [40 - 110]	
	>2	81,2 (±49,8)	73 [57 – 97,2]	
SEXE	M	83,2 (±77,4)	68 [30 - 109]	0,25
	F	105 (±102)	65 [31 - 137]	
SURVIVANTS	COURTS	82,9 (±89,8)	58,5 [30 - 102]	**0,11**
	LONGS	112 (±71,7)	103 [65 - 150]	

	Coefficient de corrélation (IC95)	p
AGE AU DIAGNOSTIC (année)	0,0622 (-0,138; 0,257)	0,54
KI67 (%)	-0,0900	0,38
NECROSE (%)	0,0635 (-0,137; 0,259)	0,53
P53 (%)	-0,178 (-0,364; 0,0212)	**0,08**

Tableaux 5 et 5 bis : Corrélation entre le nombre de cellules microgliales et les différents critères.

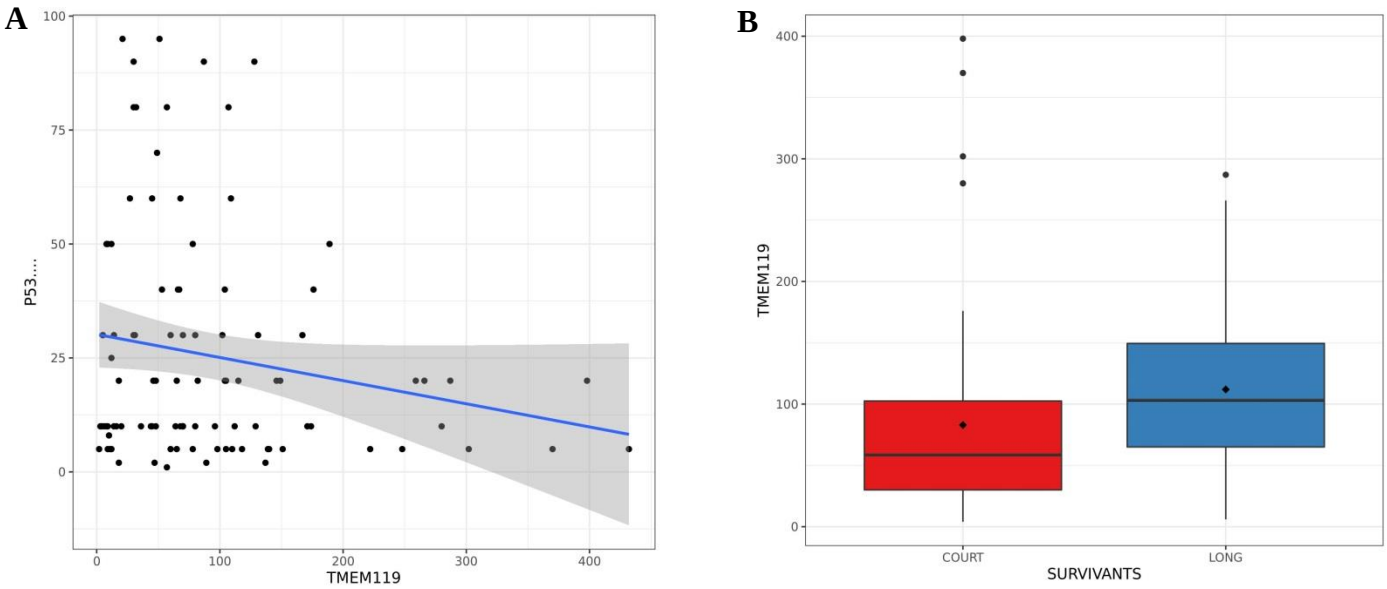


Figure 10 : Corrélation entre le pourcentage de cellules marquées par la P53 et le nombre de cellules marquées par l'anticorps anti TMEM119 (A) et comparaison du nombre de cellules microgliales marquées par le TMEM119 chez les patients courts et longs survivants (B).

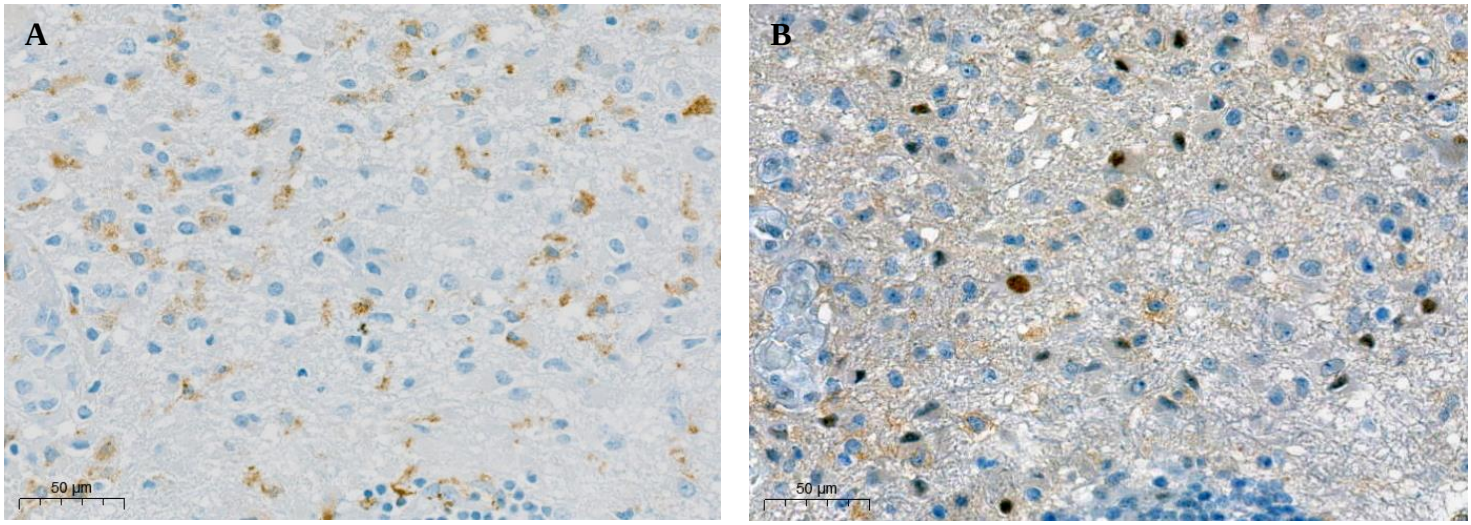
Ainsi nous avons montré qu'il existait bien une population de macrophages qui infiltrent les glioblastomes et que certains d'entre eux proviennent de la microglie. Nous avons aussi montré que ces populations étaient également en lien avec des critères cliniques et histologiques.

Mais quelle est la proportion de chaque type de cellules dans les tumeurs?

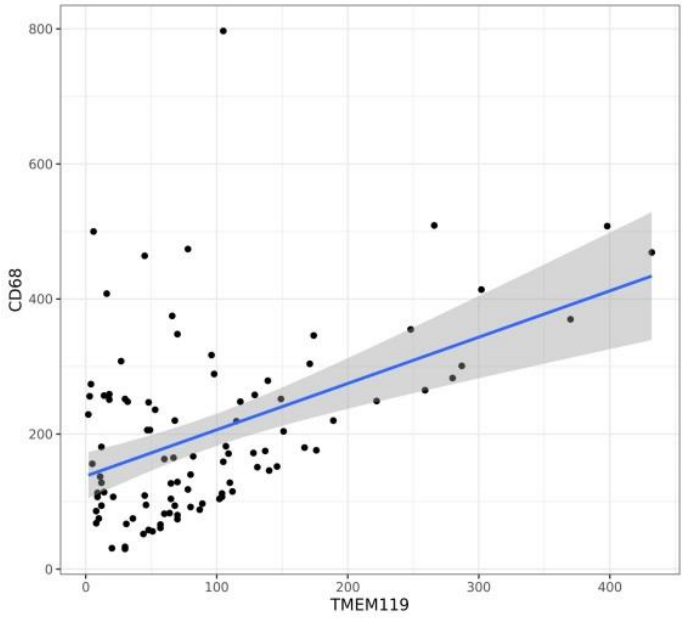
4) Proportion de microglie au sein de la population de macrophage

On a tout d'abord comparé les cellules marquées par l'anticorps anti CD68 et celles marquées par l'anticorps anti TMEM119. On remarque qu'il existait bien une différence

statistiquement significative entre ces deux populations de cellules (coefficient de corrélation : 0,368, p<**0,001**) *(Figure 11 et figure 12).*



<u>Figure 11 :</u> Immunomarquage par l'anticorps anti CD68 (A) et anti TMEM119 (B), grossissement x 200.



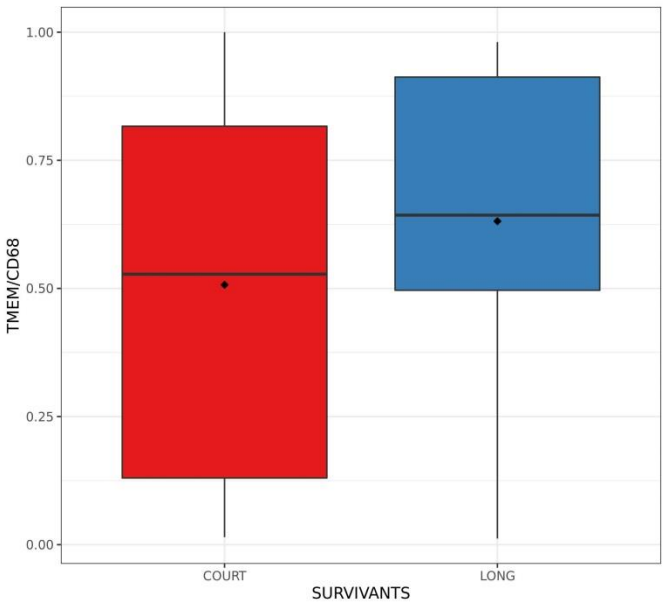
<u>Figure 12 :</u> Corrélation entre le taux de cellules marquées par le CD68 et le TMEM119 (p<0,001).

Pour caractériser au mieux la population macrophagique des glioblastomes, le nombre de cellules de la microglie marquées par l'anticorps anti TMEM119 a été rapporté au nombre de

cellules marquées par l'anticorps anti CD68. La moyenne de ce ratio était de 0,519 ± 0,342 et la médiane de 0,524 [0,141; 0,863].

Seul le statut long ou court survivant a été retrouvé associé à ce ratio en analyse univariée. Les courts survivants étaient majoritairement associés à un ratio TMEM119/CD68 plus faible que les longs survivants (moyenne du ratio de TMEM119/CD68 chez les courts survivants : 0,507 (±0,345) et chez les longs survivants : 0,631 (±0,307), p=**0,089**) *(figure 13)*. Cette augmentation du ratio traduisait une augmentation de cellules microgliales chez les patients longs survivants par rapport aux courts survivants alors que le nombre de macrophages systémiques était quasiment similaire (nombre médian de cellules marquées par l'anticorps anti TMEM119 chez les courts survivants : 58,5 [30 - 102] *vs* chez les longs survivants : 103 [65 - 150] et celles marquées par l'anticorps anti CD68 chez les courts survivants : 152 [92,5 - 248] *vs* chez les longs survivants : 171 [107 - 268].

Une étude multivariée a donc été réalisée à l'aide d'un modèle de régression logistique, avec comme variable à expliquer le statut survivant (long ou court) et comme variable explicative le ratio TMEM119/CD68. Les facteurs confondants sélectionnés étaient l'âge au diagnostic et le sexe mais également le Ki67 et la P53. Il en résulte qu'en analyse multivariée cette association n'était plus statistiquement significative. *(Tableau 6)*



<u>Figure 13 :</u> Ratio du nombre de cellules marquées par l'anticorps anti TMEM119 sur le nombre de cellules marquées par le CD68 chez les patients courts et longs survivants.

		Moyenne (écart-type)	Médiane [Q25-75]	p	Odds-ratio	p
DECES	OUI	0,552 (±0,317)	0,567 [0,284 – 0,835]	0,32		
	NON	0,482 (±0,369)	0,488 [0,101 – 0,867]			
COTE	DROITE	0,539 (±0,347)	0,553 [0,157 – 0,868]	0,86		
	GAUCHE	0,498 (±0,350)	0,512 [0,132 – 0,859]			
	BILATERAL	0,481 (±0,300)	0,480 [0,319 – 0,581]			
LOBE	TEMPORAL	0,515 (±0,334)	0,594 [0,131 – 0,783]	0,18		
	FRONTAL	0,397 (±0,311)	0,325 [0,153 – 0,524]			
	MULTIPLE	0,670 (±0,305)	0,771 [0,525 – 0,928]			
	PARIETAL	0,436 (±0,384)	0,281 [0,118 – 0,798]			
	CARREFOUR	0,731 (±0,294)	0,859 [0,584 – 0,898]			
	OCCIPITAL	0,437 (±0,466)	0,119 [0,0930 – 0,921]			
	CERVELET	0,463 (±-)	0,463 [0,463 – 0,463]			
NOMBRE DE LOBE(S) ATTEINT(S)	1	0,493 (±0,344)	0,500 [0,130 – 0,843]	0,29		
	2	0,641 (±0,326)	0,771 [0,489 – 0,901]			
	>2	0,585 (±0,337)	0,581 [0,473 – 0,693]			
SEXE	M	0,479 (±0,344)	0,484 [0,132 – 0,859]	0,17		
	F	0,575 (±0,336)	0,660 [0,225 – 0,864]			
SURVIVANTS	COURTS	0,507 (±0,345)	0,528 [0,130 – 0,817]	**0,089**	1,01 [0,997; 1,03]	0,13
	LONGS	0,631 (±0,307))	0,643 [0,496 – 0,912]			

	Coefficient de corrélation (IC95)	p
AGE AU DIAGNOSTIC (année)	0,0821 (-0,118; 0,276)	0,42
KI67 (%)	0,0854 (-0,115; 0,279)	0,4
NECROSE (%)	-0,0954 (-0,288; 0,105)	0,35
P53 (%)	0,00661 (-0,192; 0,205)	0,95

Tableaux 6 et 6 bis : Corrélation entre le ratio de cellules dérivant de la microglie et le nombre de macrophages total avec les différents critères.

Ainsi, notre étude a montré que:

- il existait bien des macrophages de la circulation systémique qui envahissaient les tumeurs et qu'il existait un nombre plus faible de microglie associée.

- la microglie est en nombre augmenté dans les glioblastomes comparé au tissu non tumoral avoisinant.

- quand la proportion de microglie dans la tumeur augmentait, cela était associée de manière statistiquement significative en univarié au fait que les patients aient une survie plus longue ; ce qui n'était pas le cas en multivarié.

IV. Discussion

Ce travail porte sur la détermination immunohistochimique des macrophages infiltrants les glioblastomes et leur association avec des critères cliniques ou histologiques dans une cohorte rétrospective de 98 cas.

L'une des difficultés de cette étude a été de travailler sur des prélèvements qui sont le plus souvent fragmentés. L'estimation du pourcentage de nécrose tumorale est conditionnée par ces résections tumorales incomplètes rarement en bloc et le plus souvent faite par aspiration tumorale. De plus nous avons exclus les prélèvements biopsiques qui sont la plupart du temps moins nécrosés mais de plus petite taille. Les conditions d'examen des tumeurs sont donc variables entre chaque cas car la qualité du matériel histologique varie de l'un à l'autre.

Les glioblastomes sont des tumeurs de très mauvais pronostic avec peu d'alternatives thérapeutiques. Les immunothérapies deviennent donc de véritables sources d'espoir parmi les traitements anticancéreux. Elles agissent sur les cellules immunitaires présentes dans les tumeurs afin de réajuster la réaction immunitaire du patient contre la tumeur. Les cellules tumorales, pour se développer, sont capables de diminuer cette réaction immunitaire. Traiter un cancer, ne revient plus à le considérer du seul point de vue de la cellule tumorale mais également du microenvironnement tumoral et des cellules immunitaires qui le composent. La caractérisation de ce microenvironnement devient donc un enjeu de santé publique.

Le microenvironnement tumoral des glioblastomes a commencé à être étudié à la toute fin des années 1980 notamment par l'équipe de Kuppner et al. [30-32]. Les cellules immunitaires de ce microenvironnement se déclinent en une majorité de macrophages [33-35] dont l'étude s'est intensifiée avec un rythme soutenu depuis les années 2010 et de nombreux résultats sont encore en attente notamment dans l'implication thérapeutique de ces découvertes.

A l'état physiologique, les macrophages et les cellules dendritiques jouent un rôle dans la phagocytose et dans la présentation d'antigènes aux lymphocytes. Ces cellules dérivant des monocytes émis par la moelle osseuse, permettent d'activer les lymphocytes et prennent une part essentielle dans l'activation de la réponse immunitaire adaptative. Les macrophages permettent aussi de réguler la réaction immunitaire et l'afflux des autres cellules par le biais de cytokines. De plus, il existe d'autres macrophages qui résident dans certains tissus comme le foie (cellule de Kupffer) ou le tissu nerveux (microglie) et qui n'ont pas la même origine

que les macrophages systémiques. En effet, ces cellules dérivent de la vésicule vitelline durant le développement embryonnaire alors que les macrophages circulant dérivent des monocytes de la moelle osseuse.

Il a été démontré à partir des années 2000, que dans les stades précoces des cancers, il existe une activation des lymphocytes T cytotoxiques et des macrophages pour éliminer les cellules tumorales. Mais plus la tumeur progresse, plus les cellules tumorales agissent sur le microenvironnement tumoral pour l'aider à se développer et bien qu'il existe des macrophages anti-tumoraux, la plupart d'entre eux sont « «*éduqués* » et recrutés par des cellules souches gliomateuses [36] pour aider la progression tumorale [34]. C'est pourquoi de nombreuses études avancent que le nombre de TAM est corrélé à un mauvais pronostic et à une plus faible survie comme dans le cancer mammaire, gastrique, ovarien, vésical et pulmonaire non à petites cellules. Pour d'autres auteurs, il existe une corrélation entre une forte densité de TAM et une meilleure survie [34, 14]. Galarneau et al. en 2007 [37], ont décrit une activité antitumorale des macrophages, alors que des données récemment publiées soutiennent un phénotype protumoral des TAM dans les tumeurs cérébrales [38]. Des études relatent que les TAM, limitent les réponses aux chimiothérapies, aux irradiations et aux inhibiteurs de l'angiogénèse [39-41]. De nombreuses études expérimentales ont montré de manière *in vitro* que ces TAM ont un rôle essentiel dans la formation et le maintien des glioblastomes [23, 42-43] mais également à la croissance et à la migration des cellules tumorales [44] *(Figure 14)*.

Une des hypothèses pour expliquer ces différences de résultats est basée sur l'étude des phénotypes des TAM. En effet, les TAM sont divisés en deux catégories selon des critères morphologiques et sécrétoires traduisant leur activation :

- Le phénotype pro-inflammatoire M1 (anti-tumoral) en réponse au TLR4 et à l'IFN-γ, favorise l'activation des cellules T CD8+ par la présentation d'antigènes et la sécrétion de cytokines.
- le phénotype alternatif M2 (pro-tumoral) déclenché par le TGF-β, l'IL-4, l'IL-10 et/ou l'IL-13 [45-46].

Mais cette description *in vitro* est une réduction très simpliste de ces cellules dans les conditions *in vivo*. Il est maintenant clair que l'activation et la polarisation des macrophages consistent en une gamme de phénotypes ou un continuum plutôt qu'en deux états binaires et qu'il existe de multiples facteurs contribuant à leur hétérogénéité intratumorale et

intertumorale, tels que l'emplacement anatomique, le sous-type de cancer et l'exposition à une myriade de facteurs environnementaux [39]. Ces phénotypes différents permettent d'expliquer des corrélations contradictoires dans l'évolution du patient. En effet, les cellules de type M2 sont parfois corrélées avec un mauvais pronostic, elles ont tendance à être anti-inflammatoires et associées au remodelage des tissus et aux processus de cicatrisation [39].

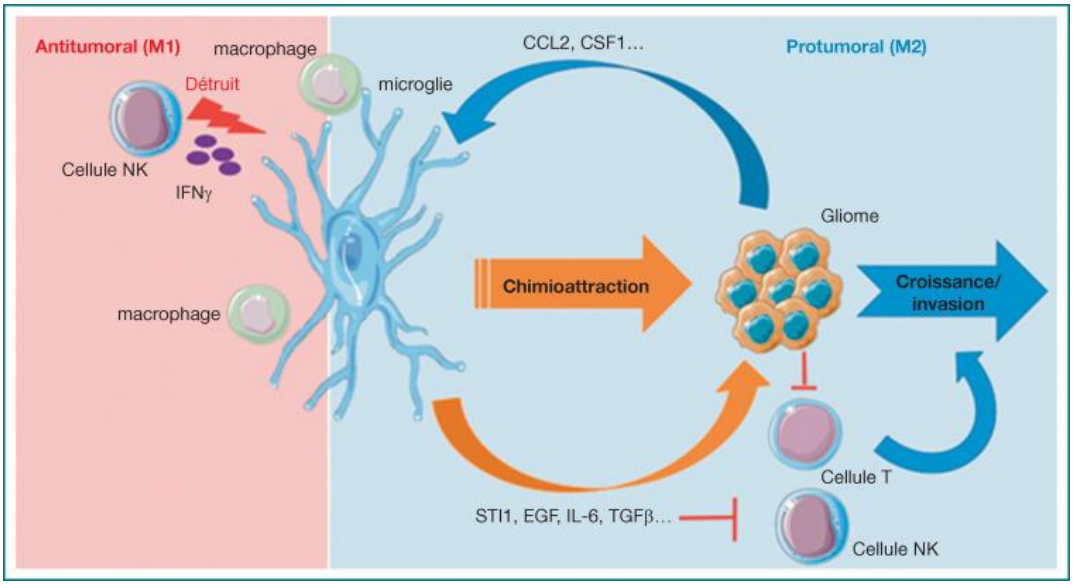


Figure 14 : Exemple de régulation immunitaire dans les glioblastomes par la microglie et les macrophages [47].

Mais toutes ces études qui sont parfois en contradiction ne se sont pas intéressées à la provenance des cellules. Alors que nous avons déjà évoqué qu'elles peuvent provenir de cellules résidantes des tissus (microglie dans le tissu nerveux, mais sont aussi retrouvées dans le pancréas et les poumons [34]) et des macrophages dérivés de la moelle osseuse. Certaines études montrent que l'origine de ces TAM dans les gliomes est majoritairement de la microglie [48] et d'autres auteurs affirment que les TAM sont plutôt d'origine systémique [36]. Les deux sous-types cellulaires (microglie et macrophages systémiques) sont habituellement distingués par des techniques d'immunofluorescence ou de cytométrie de flux portant sur le CD45. Les cellules microgliales expriment faiblement le CD45 et les macrophages systémiques l'expriment fortement. Mais de nombreuses études relèvent des discordances entre ces taux de CD45 notamment entre les modèles murins et humains, et la technique est assez critiquée [49-50]. La découverte du TMEM119 est donc une avancée considérable et récente pour discriminer ces cellules de façon aisée et certaine [17,24]. En effet, la première étude l'identifiant comme un marqueur spécifique de microglie date de 2016

par l'équipe de Bennett et al [24] et le TMEM119 a été repris dans des études très récentes publiées en 2019 [29,41]. Notre laboratoire ne disposait pas de cet anticorps avant la réalisation de cette étude. La mise au point a donc été réalisée spécifiquement pour ce travail. Cette mise au point a nécessité de nombreux tests sur différents prélèvements sains et tumoraux ainsi qu'avec de nombreuses dilutions différentes. Certaines cellules tumorales exprimaient TMEM119 ce que nous interprétons comme une conservation du phénotype glial des cellules tumorales. C'est pourquoi, les cellules macrophagiques ont été comptées manuellement dans les différents tissus afin de ne pas surévaluer le nombre de cellules marquées.

Notre étude démontre que les TAM sont finalement une intrication de cellules macrophagiques systémiques et microgliales avec une prédominance de macrophages d'origine systémique tout comme d'autres études [34]. Notamment l'étude de Chen et al en 2017, qui démontre que ces TAM se divisent en 85% de macrophages systémiques et 15% de microglie dans les glioblastomes de modèles murins [23]. Nous avons inclus tous les glioblastomes alors que selon certaines études, il existe des sous-types moléculaires distincts et notamment le sous-type moléculaire mésenchymateux qui possède une plus grande fréquence de macrophages et cellules microgliales par rapport aux sous-types pro-neural, neuronal ou classique [51]. Cela peut expliquer les grands écarts de valeurs entre les cellules marquées d'une tumeur à l'autre.

L'équipe de Gabrusiewicz en 2011, expose une temporalité dans ces infiltrats. En effet, ils ont démontré par une étude expérimentale, une accumulation rapide de microglie suivie par une augmentation des macrophages d'origine systémique [42]. On ignore actuellement s'il existe des facteurs distincts qui recrutent des cellules microgliales ou des macrophages systémiques. Mais il existe dans les gliomes de nombreuses cytokines impliquées dans les recrutements des macrophages et qui sont sécrétées par les cellules tumorales [21]. Cette accumulation de microglie retrouvée dans certaines études [14], est confirmée par notre étude avec l'augmentation du nombre de cellules marquées par l'anticorps anti TMEM119 dans le tissu tumoral comparé au tissu non tumoral adjacent.

L'équipe de Chen et al., [23] a montré que la microglie se distribue plutôt dans les régions péri-tumorales et les macrophages d'origine systémique composent plutôt un infiltrat péri-vasculaire. Les auteurs supposent donc que ces deux populations ont chacune une fonction unique. Notre étude a montré de manière statistiquement significative en univarié, une

meilleure survie lorsque la population de microglie augmente dans le ratio microglie/macrophages alors qu'il n'y a pas de différence concernant les macrophages seuls. Ce qui peut expliquer des différences de fonction des cellules macrophagiques ou microgliales comme l'affirment certains auteurs, avec des cellules microgliales qui auraient une fonction plutôt anti-tumorale que les macrophages d'origine systémique [22, 52-53]. Le rôle de soutien des tumeurs a été démontré dans des modèles murins de gliomes dans lesquels l'élimination des populations immunitaires macrophagiques était associée à une réduction de la prolifération des tumeurs et/ou de la formation *in vivo* tumorale [21].

Cependant, les études de Markovic et al. suggérent que la microglie aide l'invasion des cellules tumorales en sécrétant des métalloprotéases qui dégradent la matrice extracellulaire [54-55]. Dans les cultures organotypiques de coupes de tumeurs cérébrales et *in vivo*, la déplétion de la microglie diminue la croissance et le caractère invasif des gliomes [21]. Les modèles de migration tridimensionnelle des cellules de glioblastome provenant de patients ont montré que l'invasion était significativement réduite en réponse à la signalisation paracrine des cellules microgliales [56]. Mais encore, la microglie naïve peut réduire la capacité des cellules souches humaines à former des sphères pour supprimer la croissance des gliomes, alors que la microglie ou les monocytes cultivés à partir de patients atteints de gliomes n'ont pas ce potentiel anti-tumorigène [14].

Kudo et al., se sont intéressés au microenvironnement des métastases cérébrales des cancers pulmonaires et ont montré une augmentation des macrophages dans ces localisations secondaires, et que ces macrophages sont plutôt d'origine systémique que microgliale [57]. Cela peut suggérer que le cerveau se défend de toute prolifération néoplasique par un afflux de macrophages systémiques quelle que soit l'origine de cette agression.

Maintenant que la population de TAM est bien établie, est-ce-que ces cellules peuvent induire de mauvaises réponses aux immunothérapies ?

Révolutionnant l'oncologie, les immunothérapies augmentent la survie de patient en stimulant les capacités tumoricides des lymphocytes cytotoxiques. Pour cela des anticorps ont été développés ciblant les protéines PD1 ou PDL1 et CTLA-4, qui sont des points de contrôle entre les cellules tumorales et les cellules immunitaires. En les bloquant, ces thérapies peuvent augmenter la reconnaissance et la cytotoxicité des lymphocytes T envers les cellules

tumorales. Cependant en fonction des études, environ 20 à 40% des tumeurs traitées par ces immunothérapies ne répondent pas à ces traitements [34]. De nombreux essais cliniques ont testé ces immunothérapies dans le glioblastomes avec des résultats peu concluants, bien que leurs utilisations permettraient d'avoir une réponse plus maintenue dans le temps que les traitements conventionnels [47,58]. Mais, l'étude CheckMate 143 (NCT 02017717) qui a été le premier grand essai clinique randomisé sur l'inhibition du PD1 dans les gliobastomes a retrouvé que le Nivolumab (OPDIVO®) ne prolongeait pas la survie globale des patients atteints de glioblastomes récidivants [59]. Les résistances à ces traitements peuvent être classées en critères intrinsèques aux cellules tumorales (absence de ces protéines et donc une insensibilité aux lymphocytes T), ou en critères extrinsèques (absence de lymphocytes T dans la tumeur, présence d'autres points de contrôle inhibiteur de l'immunité, présence d'un environnement immunosuppresseur avec par exemple la présence de TAM). De plus, certaines tumeurs sont sensibles aux lymphocytes T mais ces derniers sont maintenus au niveau de la marge d'invasion par des TAM qui forment des liaisons de longue durée avec les lymphocytes T CD8+ [60-61]. Shernberg et al., pensent que compte tenu des circonstances cliniques de découverte des glioblastomes (déficit neurologique, hypertension intracrânienne) et du risque potentiel de majoration de l'œdème cérébral secondaire à la réaction immunitaire, ces immunothérapies semblent difficilement transposables aux traitements des glioblastomes [62].

Des études portant sur les glioblastomes suggèrent que le microenvironnement tumoral limite le potentiel d'activation des lymphocytes T [39] notamment car plus de la moitié des cellules composant ces tumeurs sont des TAM [13-15]. D'autres études montrent que les TAM produisent un petit niveau de cytokines proinflammatoires mais n'expriment pas de molécule clé dans la co-stimulation des lymphocytes T, ce qui explique qu'ils soient de mauvais inducteurs de réponse lymphocytaire dans les gliomes [41, 63]. Une étude récente de 2018 a montré que les niveaux de lymphocytes T chez les patients atteints de glioblastome sont inférieurs à ceux des patients atteints par l'infection au VIH au stade SIDA [64]. Cette lymphopénie habituellement attribuée au traitement, existe même chez les souris avec des glioblastomes naïves de traitement. Dans leur étude, ils ont démontré que les lymphocytes T sont séquestrés en grand nombre dans la moelle osseuse. La séquestration de ces cellules imposée par la tumeur s'accompagne d'une perte de S1P1 à la surface des lymphocytes T. Dans les modèles murins de glioblastomes, le fait de réexprimer S1P1 à la surface cellulaire autorise des thérapies d'activation des cellules T qui étaient auparavant inefficaces.

Il a été identifié dans une étude de 2018, une population de lymphocytes T CD45+/CD8+ présente dans le cerveau de souris à proximité de cellules de la microglie, ce qui suggère que la microglie pourrait être impliquée dans le recrutement des lymphocytes T dans le cerveau et que ces deux populations cellulaires pourraient interagir [65]. Dans la maladie d'Alzheimer, cette équipe a montré que l'appauvrissement de la microglie et la prévalence de macrophages d'origine systémique ont augmenté le nombre de lymphocytes T CD3+/CD8+. Ces lymphocytes T expriment le marqueur de synapse immunitaire Zap70 (kinase essentielle pour la formation des synapses immunitaires lors de l'interaction des lymphocytes T avec des cellules présentatrices d'antigènes) et sont en outre en étroite association avec la microglie et les macrophages. Les cellules microgliales, en condition neurodégénérative, empêchent le cerveau d'avoir une réponse immunitaire adaptative et agissent en ce sens principalement anti-inflammatoire. En leur absence, les macrophages pourraient jouer un rôle important dans les réponses immunitaires adaptatives en recrutant des lymphocytes T dans le cerveau des personnes atteintes de la maladie d'Alzheimer. La déplétion de la microglie a conduit à une diminution de l'expression des cytokines anti- inflammatoires, ce qui a fait pencher la balance du côté du milieu pro-inflammatoire.

Comment impliquer les résultats de cette étude dans la prise en charge thérapeutique des patients ?

Il n'existe actuellement pas de molécule sur le marché ciblant les TAM mais de nombreuses études précliniques s'y attellent.

Certaines d'entre elles disent que les résistances aux PD1, PDL1 ou CTLA-4 peuvent disparaitre quand on cible les TAM avec un inhibiteur de CSF1R qui permet de diminuer le nombre de TAM dans les cancers colorectaux, les mélanomes et les carcinomes épidermoïdes pulmonaires. Cette diminution de TAM restaure la migration et l'infiltration tumorale par les lymphocytes T [34,66].

Une étude publiée en 2017 propose de « *rééduquer* » les TAM vers un phénotype anti-tumoral plutôt que d'opter pour la diminution des populations de TAM dans les tumeurs. Notamment car des études expérimentales exposent une résistance aux inhibiteurs du CSF1R qui se développe chez environ la moitié des animaux traités [67]. Hoves et al., ont montré dans des études expérimentales, que le traitement dans le cancer colorectal ou mammaire, par un

agoniste de CD40 permet de restaurer un microenvironnement pro-inflammatoire en reprogrammant les TAM et que le co-traitement par agoniste du CD40 et inhibiteur du CSF1R est plus efficace que le traitement seul car le CSF1R permet de supprimer les macrophages pro-inflammatoires avant qu'ils soient détournés par la tumeur [68]. Mais l'utilisation des inhibiteurs du CSF1R n'est pas dénuée d'effets secondaires (par exemple une susceptibilité importante aux infections). C'est pourquoi reprogrammer les TAM en pro-inflammatoire semble la stratégie la plus prometteuse.

Contrairement au ciblage de la population de macrophages qui provient du monocyte périphérique, le ciblage de la population de microglie doit être envisagé en manipulant les barrières antibactériennes avec des agents médicamenteux perméables. Les thérapies ciblant spécifiquement la microglie ne sont pas aussi avancées sur le plan clinique que celles qui visent les macrophages. L'amphotéricine B (un antifongique) stimule la microglie associée aux gliomes par la signalisation TLR. L'amphotéricine B a été identifiée comme une molécule qui renforce l'effet microglial sur l'arrêt de la croissance et la différenciation du cycle des cellules initiatrices de tumeurs cérébrales, et le traitement quotidien des souris porteuses de gliome avec ce médicament prolonge considérablement leur survie. La minocycline, un antibiotique de la famille des tétracyclines à large spectre, a la capacité de contrecarrer l'activation microgliale et peut réduire la croissance des tumeurs en inhibant l'expression d'une métalloprotéase transmembranaire (la MT1-MMP). La propentofylline, une méthylxanthine synthétique atypique, est capable de cibler les cellules microgliales par l'inhibition d'une molécule de surface appartenant à la superfamille des récepteurs aux facteurs de nécrose tumorale (le TNFRSF19156) [21].

Les pistes de traitements qui ont parfois déjà été étudiées dans les glioblastomes ou les tumeurs gliales sont reprises dans le tableau 7 [21, 34, 69-70].

But	Exemple de thérapeutique
Déplétion des TAM	Anti CD163 Inhibiteurs de CSF 1R
Reprogrammation des TAM	Inhibiteurs de PI3K Agonistes des TLR IL-12 Agonistes de STING Histone désacétylase CD47 et l'axe SIRP1α Inhibiteurs de STAT3 PD1 et PDL1 CAR T-cells
Action sur la microglie	Amphotéricine B Minocycline Propentofylline

Tableau 7 : Différentes pistes de traitements ciblant les TAM et leur reprogrammation en pro-inflammatoire.

V. Conclusion

Notre étude rétrospective basée sur une série de 98 cas s'est intéressée aux cellules immunitaires du microenvironnement tumoral des glioblastomes et plus précisément à la caractérisation immunohistochimique des macrophages associés aux tumeurs. Nous avons mis en évidence *(figure 15):*

- Un afflux de cellules microgliales dans le tissu tumoral comparé au tissu non tumoral.
- Une prédominance de macrophages d'origine systémique (dérivés des monocytes) parmi les TAM des glioblastomes.
- Lorsque le ratio cellules microgliales sur macrophages augmente, la survie des patients est plus longue.

Ces données donnent des raisons d'espérer une amélioration du pronostic des glioblastomes avec l'avènement des techniques de manipulation des macrophages et de la microglie.

En perspective, il reste à établir :

- Comment les TAM et les cellules tumorales interagissent.
- Et quel est le rôle exact de ces sous-populations de TAM au sein des glioblastomes.
- Réaliser une cartographie détaillée des TAM afin de mieux comprendre leur infiltration dans l'espace et le temps.

Bibliographie

1. Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization Classification of Tumors of the Central Nervous System: a summary. Acta Neuropathol. juin 2016;131(6):803-20.

2. Reuss DE, Mamatjan Y, Schrimpf D, Capper D, Hovestadt V, Kratz A, et al. IDH mutant diffuse and anaplastic astrocytomas have similar age at presentation and little difference in survival: a grading problem for WHO. Acta Neuropathol. juin 2015;129(6):867-73.

3. Yan H, Parsons DW, Jin G, McLendon R, Rasheed BA, Yuan W, et al. *IDH1* and *IDH2* Mutations in Gliomas. N Engl J Med. 19 févr 2009;360(8):765-73.

4. Sanson M, Marie Y, Paris S, Idbaih A, Laffaire J, Ducray F, et al. Isocitrate Dehydrogenase 1 Codon 132 Mutation Is an Important Prognostic Biomarker in Gliomas. JCO. 1 sept 2009;27(25):4150-4.

5. Van Den Bent MJ, Hartmann C, Preusser M, Ströbel T, Dubbink HJ, Kros JM, et al. Interlaboratory comparison of IDH mutation detection. J Neurooncol. avr 2013;112(2):173-8.

6. Capper D, Zentgraf H, Balss J, Hartmann C, von Deimling A. Monoclonal antibody specific for IDH1 R132H mutation. Acta Neuropathol. nov 2009;118(5):599-601.

7. Bleeker FE, Atai NA, Lamba S, Jonker A, Rijkeboer D, Bosch KS, et al. The prognostic IDH1 R132 mutation is associated with reduced NADP+-dependent IDH activity in glioblastoma. Acta Neuropathol. avr 2010;119(4):487‑94.

8. Amorim J, Santos G, Vinagre J, Soares P. The Role of ATRX in the Alternative Lengthening of Telomeres (ALT) Phenotype. Genes. 19 sept 2016;7(9):66.

9. Hegi ME, Diserens A-C, Gorlia T, Hamou M-F, de Tribolet N, Weller M, et al. MGMT Gene Silencing and Benefit from Temozolomide in Glioblastoma. N Engl J Med. 10 mars 2005;352(10):997‑1003.

10. Wick W, Weller M, van den Bent M, Sanson M, Weiler M, von Deimling A, et al. MGMT testing—the challenges for biomarker-based glioma treatment. Nat Rev Neurol. juill 2014;10(7):372-85.

11. Mansouri A, Hachem LD, Mansouri S, Nassiri F, Laperriere NJ, Xia D, et al. MGMT promoter methylation status testing to guide therapy for glioblastoma: refining the approach based on emerging evidence and current challenges. Neuro-Oncology. 14 févr 2019;21(2):167-78.

12. Park J, Kwon M, Kim KH, Kim T-S, Hong S-H, Kim CG, et al. Immune Checkpoint Inhibitor-Induced Reinvigoration of Tumor-Infiltrating CD8 $^{+}$ T Cells is Determined by Their Differentiation Status in Glioblastoma. Clin Cancer Res. 18 janv 2019;clincanres.2564.2018.

13. Kvisten M, Mikkelsen V, Stensjen A, Solheim O, van der Want J, Torp S. Microglia and macrophages in human glioblastomas: A morphological and immunohistochemical study. mol clin onc [Internet]. 8 mai 2019

14. Hambardzumyan D, Gutmann DH, Kettenmann H. The role of microglia and macrophages in glioma maintenance and progression. Nat Neurosci. janv 2016;19(1):20 7.

15. Saavedra-López E, Roig-Martínez M, Cribaro GP, Casanova PV, Gallego JM, Pérez-Vallés A, et al. Phagocytic glioblastoma-associated microglia and macrophages populate invading pseudopalisades. Brain Communications. 1 janv 2020;2(1):fcz043.

16. Satoh J, Kino Y, Asahina N, Takitani M, Miyoshi J, Ishida T, et al. TMEM119 marks a subset of microglia in the human brain: Human microglial marker TMEM119. Neuropathology. févr 2016;36(1):39 49.

17. Saijo K, Glass CK. Microglial cell origin and phenotypes in health and disease. Nat Rev Immunol. nov 2011;11(11):775 87.

18. Ginhoux F, Greter M, Leboeuf M, Nandi S, See P, Gokhan S, et al. Fate Mapping Analysis Reveals That Adult Microglia Derive from Primitive Macrophages. Science. 5 nov 2010;330(6005):841 5.

19. Zrzavy T, Hametner S, Wimmer I, Butovsky O, Weiner HL, Lassmann H. Loss of 'homeostatic' microglia and patterns of their activation in active multiple sclerosis. Brain. 1 juill 2017;140(7):1900 13.

20. Michell-Robinson MA, Touil H, Healy LM, Owen DR, Durafourt BA, Bar-Or A, et al. Roles of microglia in brain development, tissue maintenance and repair. Brain. mai 2015;138(5):1138 59.

21. Wei J, Chen P, Gupta P, Ott M, Zamler D, Kassab C, et al. Immune biology of glioma associated macrophages and microglia: Functional and therapeutic implications. Neuro-Oncology. 3 nov 2019;noz212.

22. Hambardzumyan D, Bergers G. Glioblastoma: Defining Tumor Niches. Trends in Cancer. déc 2015;1(4):252 65.

23. Chen Z, Feng X, Herting CJ, Garcia VA, Nie K, Pong WW, et al. Cellular and Molecular Identity of Tumor-Associated Macrophages in Glioblastoma. Cancer Res. 1 mai 2017;77(9):2266 78.

24. Bennett ML, Bennett FC, Liddelow SA, Ajami B, Zamanian JL, Fernhoff NB, et al. New tools for studying microglia in the mouse and human CNS. Proc Natl Acad Sci USA. 22 mars 2016;113(12):E1738 46.

25. Butovsky O, Jedrychowski MP, Moore CS, Cialic R, Lanser AJ, Gabriely G, et al. Identification of a unique TGF-β–dependent molecular and functional signature in microglia. Nat Neurosci. janv 2014;17(1):131 43.

26. Tanaka K, Inoue Y, Hendy GN, Canaff L, Katagiri T, Kitazawa R, et al. Interaction of Tmem119 and the bone morphogenetic protein pathway in the commitment of myoblastic into osteoblastic cells. Bone. juill 2012;51(1):158 67.

27. Haage V, Semtner M, Vidal RO, Hernandez DP, Pong WW, Chen Z, et al. Comprehensive gene expression meta-analysis identifies signature genes that distinguish microglia from peripheral monocytes/macrophages in health and glioma. acta neuropathol commun. déc 2019;7(1):20.

28. Shiraishi S, Tada K, Nakamura H, Makino K, Kochi M, Saya H, et al. Influence ofp53 mutations on prognosis of patients with glioblastoma. Cancer. 15 juill 2002;95(2):249 57.

29. Kaiser T, Feng G. Tmem119-EGFP and Tmem119-CreERT2 Transgenic Mice for Labeling and Manipulating Microglia. eNeuro. juill 2019;6(4):ENEURO.0448-18.2019.

30. Kuppner M, Hamou M, Detribolet N. Activation and adhesion molecule expression on lymphoid infiltrates in human glioblastomas. Journal of Neuroimmunology. sept 1990;29(1 3):229 38.

31. Kuppner MC, Hamou M-F, Sawamura Y, Bodmer S, de Tribolet N. Inhibition of lymphocyte function by glioblastoma-derived transforming growth factor β2. Journal of Neurosurgery. août 1989;71(2):211 7.

32. Stevens A, Klöter I, Roggendorf W. Inflammatory infiltrates and natural killer cell presence in human brain tumors. Cancer. 15 févr 1988;61(4):738 43.

33. Cassetta L, Pollard JW. Targeting macrophages: therapeutic approaches in cancer. Nat Rev Drug Discov. déc 2018;17(12):887 904.

34. Lopez-Yrigoyen M, Cassetta L, Pollard JW. Macrophage targeting in cancer. Ann NY Acad Sci. 22 mai 2020;nyas.14377.

35. Wang M, Zhao J, Zhang L, Wei F, Lian Y, Wu Y, et al. Role of tumor microenvironment in tumorigenesis. J Cancer. 2017;8(5):761 73.

36. Zhou W, Ke SQ, Huang Z, Flavahan W, Fang X, Paul J, et al. Periostin secreted by glioblastoma stem cells recruits M2 tumour-associated macrophages and promotes malignant growth. Nat Cell Biol. févr 2015;17(2):170 82.

37. Galarneau H, Villeneuve J, Gowing G, Julien J-P, Vallieres L. Increased Glioma Growth in Mice Depleted of Macrophages. Cancer Research. 15 sept 2007;67(18):8874 81.

38. Zhai H, Heppner FL, Tsirka SE. Microglia/macrophages promote glioma progression. Glia. mars 2011;59(3):472 85.

39. Jahchan NS, Mujal AM, Pollack JL, Binnewies M, Sriram V, Reyno L, et al. Tuning the Tumor Myeloid Microenvironment to Fight Cancer. Front Immunol. 25 juill 2019;10:1611.

40. Takenaka MC, Gabriely G, Rothhammer V, Mascanfroni ID, Wheeler MA, Chao C-C, et al. Control of tumor-associated macrophages and T cells in glioblastoma via AHR and CD39. Nat Neurosci. mai 2019;22(5):729 40.

41. Yu K, Youshani AS, Wilkinson FL, O'Leary C, Cook P, Laaniste L, et al. A nonmyeloablative chimeric mouse model accurately defines microglia and macrophage contribution in glioma. Neuropathol Appl Neurobiol. févr 2019;45(2):119 40.

42. Pyonteck SM, Akkari L, Schuhmacher AJ, Bowman RL, Sevenich L, Quail DF, et al. CSF-1R inhibition alters macrophage polarization and blocks glioma progression. Nat Med. oct 2013;19(10):1264 72.

43. Roesch S, Rapp C, Dettling S, Herold-Mende C. When Immune Cells Turn Bad—Tumor-Associated Microglia/Macrophages in Glioma. IJMS. 1 févr 2018;19(2):436.

44. Gabrusiewicz K, Ellert-Miklaszewska A, Lipko M, Sielska M, Frankowska M, Kaminska B. Characteristics of the Alternative Phenotype of Microglia/Macrophages and its Modulation in Experimental Gliomas. Rameshwar P, éditeur. PLoS ONE. 25 août 2011;6(8):e23902.

45. Petitprez F, Meylan M, de Reyniès A, Sautès-Fridman C, Fridman WH. The Tumor Microenvironment in the Response to Immune Checkpoint Blockade Therapies. Front Immunol. 7 mai 2020;11:784.

46. Bercovici N, Guérin MV, Trautmann A, Donnadieu E. The Remarkable Plasticity of Macrophages: A Chance to Fight Cancer. Front Immunol. 12 juill 2019;10:1563.

47. Baldini C, Romano PM, Varga A, Champiat S, Dumont S, Dhermain F, et al. Immunothérapie des glioblastomes. Bulletin du Cancer. déc 2018;105:S59 67.

48. Müller A, Brandenburg S, Turkowski K, Müller S, Vajkoczy P. Resident microglia, and not peripheral macrophages, are the main source of brain tumor mononuclear cells: Microglia or macrophages in GBM. Int J Cancer. 15 juill 2015;137(2):278 88.

49. Badie B, Schartner JM. Flow Cytometric Characterization of Tumor-associated Macrophages in Experimental Gliomas. Neurosurgery. 1 avr 2000;46(4):957 62.

50. Parney IF, Waldron JS, Parsa AT. Flow cytometry and in vitro analysis of human glioma–associated macrophages: Laboratory investigation. JNS. mars 2009;110(3):572 82.

51. Wang Q, Hu B, Hu X, Kim H, Squatrito M, Scarpace L, et al. Tumor Evolution of Glioma-Intrinsic Gene Expression Subtypes Associates with Immunological Changes in the Microenvironment. Cancer Cell. juill 2017;32(1):42-56.e6.

52. Charles NA, Holland EC, Gilbertson R, Glass R, Kettenmann H. The brain tumor microenvironment. Glia. mars 2012;60(3):502 14.

53. Dorward IG, Luo J, Perry A, Gutmann DH, Mansur DB, Rubin JB, et al. Postoperative imaging surveillance in pediatric pilocytic astrocytomas: Clinical article. PED. oct 2010;6(4):346 52.

54. Markovic DS, Vinnakota K, Chirasani S, Synowitz M, Raguet H, Stock K, et al. Gliomas induce and exploit microglial MT1-MMP expression for tumor expansion. Proceedings of the National Academy of Sciences. 28 juill 2009;106(30):12530 5.

55. Markovic DS, Glass R, Synowitz M, Rooijen N van, Kettenmann H. Microglia Stimulate the Invasiveness of Glioma Cells by Increasing the Activity of Metalloprotease-2. J Neuropathol Exp Neurol. sept 2005;64(9):754 62.

56. Chen J-WE, Lumibao J, Leary S, Sarkaria JN, Steelman AJ, Gaskins HR, et al. Crosstalk between microglia and patient-derived glioblastoma cells inhibit invasion in a three-dimensional gelatin hydrogel model [Internet]. Cancer Biology; 2020 août

57. Kudo Y, Haymaker C, Zhang J, Reuben A, Duose DY, Fujimoto J, et al. Suppressed immune microenvironment and repertoire in brain metastases from patients with resected non-small-cell lung cancer. Annals of Oncology. sept 2019;30(9):1521 30.

58. Berghoff AS, Kiesel B, Widhalm G, Rajky O, Ricken G, Wöhrer A, et al. Programmed death ligand 1 expression and tumor-infiltrating lymphocytes in glioblastoma. Neuro Oncol. août 2015;17(8):1064 75.

59. Filley AC, Henriquez M, Dey M. Recurrent glioma clinical trial, CheckMate-143: the game is not over yet. Oncotarget. 31 oct 2017;8(53):91779 94.

60. Peranzoni E, Lemoine J, Vimeux L, Feuillet V, Barrin S, Kantari-Mimoun C, et al. Macrophages impede CD8 T cells from reaching tumor cells and limit the efficacy of anti–PD-1 treatment. Proc Natl Acad Sci USA. 24 avr 2018;115(17):E4041 50.

61. Saylor J, Ma Z, Goodridge HS, Huang F, Cress AE, Pandol SJ, et al. Spatial Mapping of Myeloid Cells and Macrophages by Multiplexed Tissue Staining. Front Immunol. 14 déc 2018;9:2925.

62. Schernberg A, Marabelle A, Massard C, Armand J-P, Dumont S, Deutsch E, et al. Mise au point sur les glioblastomes : des thérapies ciblant les cellules tumorales aux thérapies ciblant les cellules immunitaires. Bulletin du Cancer. mai 2016;103(5):484 98.

63. Wei J, Gabrusiewicz K, Heimberger A. The Controversial Role of Microglia in Malignant Gliomas. Clinical and Developmental Immunology. 2013;2013:1 12.

64. Chongsathidkiet P, Jackson C, Koyama S, Loebel F, Cui X, Farber SH, et al. Sequestration of T cells in bone marrow in the setting of glioblastoma and other intracranial tumors. Nat Med. sept 2018;24(9):1459 68.

65. Unger MS, Schernthaner P, Marschallinger J, Mrowetz H, Aigner L. Microglia prevent peripheral immune cell invasion and promote an anti-inflammatory environment in the brain of APP-PS1 transgenic mice. J Neuroinflammation. déc 2018;15(1):274.

66. Antonios JP, Soto H, Everson RG, Moughon D, Orpilla JR, Shin NP, et al. Immunosuppressive tumor-infiltrating myeloid cells mediate adaptive immune resistance via a PD-1/PD-L1 mechanism in glioblastoma. NEUONC. 23 janv 2017;now287.

67. Quail DF, Joyce JA. The Microenvironmental Landscape of Brain Tumors. Cancer Cell. mars 2017;31(3):326 41.

68. Hoves S, Ooi C-H, Wolter C, Sade H, Bissinger S, Schmittnaegel M, et al. Rapid activation of tumor-associated macrophages boosts preexisting tumor immunity. Journal of Experimental Medicine. 5 mars 2018;215(3):859 76.

69. Bowman RL, Joyce JA. Therapeutic targeting of tumor-associated macrophages and microglia in glioblastoma. Immunotherapy. juin 2014;6(6):663 6.

70. Cassetta L, Fragkogianni S, Sims AH, Swierczak A, Forrester LM, Zhang H, et al. Human Tumor-Associated Macrophage and Monocyte Transcriptional Landscapes Reveal Cancer-Specific Reprogramming, Biomarkers, and Therapeutic Targets. Cancer Cell. avr 2019;35(4):588-602.e10.

VI. Serment d'Hippocrate

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

MICROENVIRONNEMENT TUMORAL DES GLIOBLASTOMES : MICROGLIE OU MACROPHAGES SYSTEMIQUES ?

GLIOBLASTOMA TUMOR MICROENVIRONMENT: MICROGLIA OR SYSTEMIC MACROPHAGES?

RESUME

Introduction : Les glioblastomes sont les tumeurs cérébrales malignes et primitives les plus fréquentes de l'adulte. Elles sont de très mauvais pronostic malgré les avancées thérapeutiques récentes. Il existe de nombreux macrophages associés aux cellules tumorales des glioblastomes au sein du microenvironnement tumoral. Récemment, il a été découvert que la protéine transmembranaire 119 (TMEM119) est un marqueur spécifique de la microglie permettant de distinguer de manière fiable la microglie des macrophages systémiques Le but de cette étude a été de caractériser de manière immunohistochimique ces macrophages et de les corréler à des facteurs cliniques et histologiques.

Matériel et méthodes : Nous avons rétrospectivement sélectionné 98 cas et réalisé des études immunohistochimiques avec les anticorps anti CD68 et TMEM119 afin d'étudier la population macrophagique et microgliale. Le nombre de cellules marquées a été comparé en univarié et multivarié à des facteurs cliniques et histologiques tels que : l'âge, le sexe, la survie, le pourcentage de nécrose sur la pièce opératoire, la localisation tumorale, le Ki67 et la P53.

Résultats : Notre étude retrouve une prédominance de macrophages (marqués par l'anticorps anti CD68) comparés à la microglie (marquée par les anticorps anti TMEM119). Il existait une augmentation de la microglie entre le tissu non tumoral avoisinant et le tissu tumoral. Il existe, en univarié, une augmentation du ratio TMEM119/CD68 chez les patients avec une survie longue (supérieure à 15 mois).

Conclusion : Ces résultats permettent d'envisager de nouvelles pistes de traitement pour les glioblastomes.

Mots clés : Glioblastome, Microenvironnement, TMEM119, Microglie, Macrophages.

ABSTRACT

Introduction : Glioblastomas are the most common primary malignant brain tumours in adults. They have a very poor prognosis despite recent therapeutic advances. There are many macrophages associated with glioblastoma tumor cells involved in tumor microenvironment. Recently, it was discovered that transmembrane protein 119 (TMEM119) is a microglia specific marker that reliably distinguishes microglia from systemic macrophages. The aim of this study was to immunohistochemically characterize these macrophages and correlate them with clinical and histological factors.

Methods : We retrospectively selected 98 cases and performed immunohistochemical studies with anti-CD68 and TMEM119 antibodies to study the macrophage and microglial population. The number of labeled cells was compared in univariate and multivariate to clinical and histological factors such as: age, sex, survival, percentage of necrosis on the specimen, tumor localization, Ki67 and P53.

Results : Our study found a predominance of macrophages (labeled with antiCD68 antibody) compared to microglia (labeled with anti TMEM119 antibodies). There was an increase in microglia between the surrounding non-tumour tissue and the tumour tissue. There was an increase in the TMEM119/CD68 ratio in univariate in patients with long survival (greater than 15 months).

Conclusion : These results suggest new treatment options for glioblastoma.

Keywords: Glioblastoma, Microenvironment, TMEM119, Microglia, Macrophages.