



HAL
open science

Critères histopronostiques et altérations de la voie RASSF/Hippo dans la carcinogenèse colique

Marc Riffet

► **To cite this version:**

Marc Riffet. Critères histopronostiques et altérations de la voie RASSF/Hippo dans la carcinogenèse colique. Médecine humaine et pathologie. 2021. dumas-03376727

HAL Id: dumas-03376727

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03376727>

Submitted on 13 Oct 2021

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.

UNIVERSITÉ de CAEN NORMANDIE

UFR SANTÉ

FACULTÉ de MÉDECINE

Année 2020/2021

THÈSE POUR L'OBTENTION
DU GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le 30 juin 2021

Par

M. Marc RIFFET

Né le 13/09/1990 à LAXOU (Meurthe-et-Moselle)

TITRE DE LA THÈSE :

**CRITERES HISTOPRONOSTIQUES ET ALTERATIONS DE LA VOIE RASSF/HIPPO DANS LA
CARCINOGENESE COLIQUE**

Président : Monsieur le Professeur Frédéric BIBEAU

Membres : Monsieur le Professeur Arnaud ALVES

Madame le Docteur Céline BAZILLE

Madame le Docteur Guénaëlle LEVALLET

Monsieur le Docteur Benjamin MENAHEM

Directrice de thèse : Dr Céline BAZILLE

Année Universitaire 2020/2021**Doyen**

Professeur Emmanuel TOUZÉ

Assesseurs

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3^{ème} cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

M.	AGOSTINI Denis	Biophysique et médecine nucléaire
M.	AIDE Nicolas	Biophysique et médecine nucléaire
M.	ALEXANDRE Joachim	Pharmacologie clinique
M.	ALLOUCHE Stéphane	Biochimie et biologie moléculaire
M.	ALVES Arnaud	Chirurgie digestive
M.	AOUBA Achille	Médecine interne
M.	BABIN Emmanuel	Oto-Rhino-Laryngologie
M.	BÉNATEAU Hervé	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
M.	BENOIST Guillaume	Gynécologie - Obstétrique
M.	BERGER Ludovic	Chirurgie vasculaire
M.	BERGOT Emmanuel	Pneumologie
M.	BIBEAU Frédéric	Anatomie et cytologie pathologique
Mme	BRAZO Perrine	Psychiatrie d'adultes
M.	BROUARD Jacques	Pédiatrie

M. BUI Thanh-huy Eric	Psychiatrie d'adultes
M. BUSTANY Pierre	Pharmacologie
Mme CHAPON Françoise	Histologie, Embryologie
Mme CLIN-GODARD Bénédicte	Médecine et santé au travail
M. DAMAJ Ghandi Laurent	Hématologie
M. DAO Manh Thông	Hépatologie-Gastro-Entérologie
M. DEFER Gilles	Neurologie
M. DELAMILLIEURE Pascal	Psychiatrie d'adultes
M. DENISE Pierre	Physiologie
Mme DOLLFUS Sonia	Psychiatrie d'adultes
Mme DOMPMARTIN-BLANCHÈRE Anne	Dermatologie
M. DREYFUS Michel	Gynécologie - Obstétrique
M. DU CHEYRON Damien	Réanimation médicale
Mme ÉMERY Evelyne	Neurochirurgie
M. ESMAIL-BEYGUI Farzin	Cardiologie
Mme FAUVET Raffaèle	Gynécologie – Obstétrique
M. FISCHER Marc-Olivier	Anesthésiologie et réanimation
M. GÉRARD Jean-Louis	Anesthésiologie et réanimation
M. GUÉNOLÉ Fabian	Pédopsychiatrie
Mme GUITTET-BAUD Lydia	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
M. HAMON Martial	Cardiologie
Mme HAMON Michèle	Radiologie et imagerie médicale
M. HANOUIZ Jean-Luc	Anesthésie et réa. médecine péri-opératoire
M. HITIER Martin	Anatomie –ORL Chirurgie Cervico-faciale
M. HULET Christophe	Chirurgie orthopédique et traumatologique

M. ICARD Philippe	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
M. JOIN-LAMBERT Olivier	Bactériologie - Virologie
Mme JOLY-LOBBEDEZ Florence	Cancérologie
M. JOUBERT Michael	Endocrinologie
M. LAUNOY Guy	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
M. LE HELLO Simon	Bactériologie-Virologie
Mme LE MAUFF Brigitte	Immunologie
M. LOBBEDEZ Thierry	Néphrologie
M. LUBRANO Jean	Chirurgie viscérale et digestive
M. MAHE Marc-André	Cancérologie
M. MANRIQUE Alain	Biophysique et médecine nucléaire
M. MARCÉLLI Christian	Rhumatologie
M. MARTINAUD Olivier	Neurologie
M. MAUREL Jean	Chirurgie générale
M. MILLIEZ Paul	Cardiologie
M. MOREAU Sylvain	Anatomie/Oto-Rhino-Laryngologie
M. MOUTEL Grégoire	Médecine légale et droit de la santé
M. NORMAND Hervé	Physiologie
M. PARIENTI Jean-Jacques	Biostatistiques, info. médicale et tech. de communication
M. PELAGE Jean-Pierre	Radiologie et imagerie médicale
Mme PIQUET Marie-Astrid	Nutrition
M. QUINTYN Jean-Claude	Ophtalmologie
Mme RAT Anne-Christine	Rhumatologie
M. REPESSE Yohann	Hématologie
M. REZNIK Yves	Endocrinologie

M. ROD Julien	Chirurgie infantile
M. ROUPIE Eric	Médecine d'urgence
Mme THARIAT Juliette	Radiothérapie
M. TILLOU Xavier	Urologie
M. TOUZÉ Emmanuel	Neurologie
Mme VABRET Astrid	Bactériologie - Virologie
M. VERDON Renaud	Maladies infectieuses
Mme VERNEUIL Laurence	Dermatologie
M. VIVIEN Denis	Biologie cellulaire

PROFESSEURS ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

Mme BELLOT Anne	Pédiatrie
M. DE LA SAYETTE Vincent	Neurologie
M. GUILLAUME Cyril	Médecine palliative
M. LE BAS François	Médecine Générale
M. SABATIER Rémi	Cardiologie

PRCE

Mme LELEU Solveig	Anglais
-------------------	---------

PROFESSEURS ÉMÉRITES

M. DERLON Jean-Michel	Neurochirurgie
M. GUILLOIS Bernard	Pédiatrie
M. HABRAND Jean-Louis	Cancérologie option Radiothérapie

M. HURAUULT de LIGNY Bruno	Néphrologie
Mme KOTTLER Marie-Laure	Biochimie et biologie moléculaire
M. LE COUTOUR Xavier	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
M. LEPORRIER Michel	Hématologie
M. RAVASSE Philippe	Chirurgie infantile
M. TROUSSARD Xavier	Hématologie
M. VIADER Fausto	Neurologie

Année Universitaire 2020/2021**Doyen**

Professeur Emmanuel TOUZÉ

Assesseurs

Professeur Paul MILLIEZ (pédagogie)

Professeur Guy LAUNOY (recherche)

Professeur Sonia DOLLFUS & Professeur Evelyne EMERY (3^{ème} cycle)**Directrice administrative**

Madame Sarah CHEMTOB

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme BENHAÏM Annie	Biologie cellulaire
M. BESNARD Stéphane	Physiologie
Mme BONHOMME Julie	Parasitologie et mycologie
M. BOUVIER Nicolas	Néphrologie
M. BROSSIER David	Pédiatrie
M. COULBAULT Laurent	Biochimie et Biologie moléculaire
M. CREVEUIL Christian	Biostatistiques, info. médicale et tech. de communication
M. DE BOYSSON Hubert	Médecine interne
Mme DINA Julia	Bactériologie - Virologie
Mme DUPONT Claire	Pédiatrie
M. ÉTARD Olivier	Physiologie
M. GABEREL Thomas	Neurochirurgie
M. GRUCHY Nicolas	Génétique

M.	ISNARD Christophe	Bactériologie Virologie
M.	JUSTET Aurélien	Pneumologie
Mme	KRIEGER Sophie	Pharmacie
M.	LEGALLOIS Damien	Cardiologie
Mme	LELONG-BOULOUARD Véronique	Pharmacologie fondamentale
Mme	LEVALLET Guénaëlle	Cytologie et Histologie
M.	MACREZ Richard	Médecine d'urgence
M.	MITTRE Hervé	Biologie cellulaire
M.	MOLIN Arnaud	Génétique
M.	SAINT-LORANT Guillaume	Pharmacie
M.	SESBOÛÉ Bruno	Physiologie
M.	TOUTIRAIS Olivier	Immunologie
M.	VEYSSIERE Alexis	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie

MAITRE DE CONFERENCES DES UNIVERSITÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

M. **HUMBERT Xavier**

MAITRES DE CONFERENCES ASSOCIÉS DES UNIVERSITÉS A MI-TEMPS

Mme	ABBATE-LERAY Pascale	Médecine générale
M.	BANSARD Mathieu	Médecine générale
M.	COUETTE Pierre-André	Médecine générale
Mme	NOEL DE JAEGHER Sophie	Médecine générale
M.	PITHON Anni	Médecine générale

M. SAINMONT Nicolas

Médecine générale

Mme SCHONBRODT Laure

Médecine générale

MAITRES DE CONFERENCES ÉMÉRITES

Mme DEBRUYNE Danièle

Pharmacologie fondamentale

Mme DERLON-BOREL Annie

Hématologie

Mme LEPORRIER Nathalie

Génétique

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury

A **Monsieur le Professeur Frédéric BIBEAU**, Président du jury, je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse. Je vous remercie pour votre accompagnement et votre pédagogie tout au cours de mon internat, et d'avoir soutenu et appuyé ma demande de poste d'assistant hospitalo-universitaire au CHU de Caen.

A **Monsieur le Professeur Arnaud ALVES**, Membre du jury, je vous remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse. Je vous prie de recevoir l'expression de ma sincère reconnaissance.

A **Madame le Docteur Céline BAZILLE**, Directrice de thèse, je te remercie de m'avoir donné ce sujet de thèse qui fut fort intéressant. Nous avons passé beaucoup de temps à lire et relire les lames, ainsi qu'à faire toutes les bisulfonations et désulfonations, les PCR, mais cela n'a pas été en vain. Je te remercie également pour ton accompagnement et tes conseils tout au cours de la rédaction de la thèse, ainsi que de ta réactivité. Et encore merci pour tout ce que tu m'as appris au cours de l'internat.

A **Madame le Docteur Guénaëlle LEVALLET**, Membre du jury, je te remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse. Je te remercie aussi pour ton appui à l'obtention d'une année recherche, et pour ton encadrement tout au long de cette année recherche. Ce fut une année riche en péripéties, surtout avec ces lignées cellulaires qui ont été capricieuses du début à la fin.

A **Monsieur le Docteur Benjamin MENAHEM**, Membre du jury, je vous remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse. Je vous prie de recevoir l'expression de ma sincère reconnaissance.

A ma famille

A mes parents, vous qui m'avez toujours soutenu dans ce que je voulais faire. Vous m'avez toujours aidé et chouchouté. Vous avez tout fait pour m'apporter une vie confortable, et je vous en remercie. Vous m'avez vu passer des week-ends enfermé dans ma chambre en train de travailler, que ce soit pour le concours de 1^{ere} année, les examens ou l'ECN. Vous m'avez remonté le moral quand j'avais des doutes sur l'avenir. Puis est venue l'internat, que j'ai choisi de faire à Caen. La transition fut un peu brutale, mais malgré l'éloignement vous avez toujours continué à m'encourager. Je vous remercie pour tout, et sachez que je vous aime.

A mes oncles et tantes, cousins et cousines, qui m'ont soutenu et qui se sont toujours montrés curieux de l'avancement de mon parcours.

Aux différentes équipes hospitalières et libérales

Au Docteur Yassine Eid, qui s'est occupé de toute la partie statistique, qui a passé beaucoup de temps au téléphone pour recueillir toutes les informations nécessaires, et qui s'est dépatouillé avec tous ces chiffres. Merci beaucoup pour ton travail.

A toute l'équipe du service d'anapath du CHU, Professeur CHAPON, François, Marie-Laure, Manon. A l'équipe technique, Stéphanie, Karine, Géraldine et Géraldine (Djay'), Céline, Marie-Christine, Elise, Aurélie, Roselyne, Pascale, Vincent, Sylvie et Sylvie, Laëtitia, Valérie et Charlène. Aux secrétaires, Kathelyne, Céline, Bérangère et Emilie. Merci à vous pour m'avoir aidé dans mes débuts, ravi d'avoir travaillé, et surtout de pouvoir continuer à travailler vous. Merci pour votre bonne humeur, merci pour tous les gâteaux et plaisirs sucrés que l'on a pu déguster.

A l'équipe du service d'anapath de Cherbourg, qui m'a beaucoup appris sur cette formidable discipline. Et j'ai toujours mes fidèles cartes à proximité, prêtes pour un nouveau tour d'illusion.

A l'équipe du cabinet d'anapath d'Alençon, merci à vous toutes et tous pour ces bons moments, que ce soit en pièce de macroscopie, en salle de pause ou au restaurant.

Au Docteur Eric ANGER, qui m'a énormément appris grâce à sa pédagogie et qui s'est toujours montré bienveillant.

A l'équipe du service d'anapath du Centre François Baclesse, dans lequel j'ai déjà passé un premier mois riche en apprentissage.

A l'équipe soignante du service de RDED à Cherbourg, pour leur accueil chaleureux et leur bienveillance tout au cours du semestre. Je remercie chaleureusement le Docteur Thierry COLIN et le Docteur Éric LEGANGNEUX pour ce qu'ils m'ont appris.

A l'équipe de l'Institut Médico-Légal, et de l'Unité Médico-Judiciaire, pour ce qu'ils m'ont appris sur ce pan un peu plus occulte de la médecine. Et merci à toi, Céline pour ton soutien constant, autant dans les bonnes périodes que dans les moins bonnes.

A l'équipe du laboratoire de Biologie et Génétique du Cancer du Centre François Baclesse, pour leur accueil, et tout ce qu'ils m'ont appris sur la biologie moléculaire au cours du semestre.

A mes amis

A tous ceux de Nancy, j'ai passé 5 années superbes avec vous, et nous avons pu tous tenir le coup ensembles. A **Hélène**, geekette assumée au grand cœur, qui m'a connu comme étant « l'homme au chapeau » ; **Hadrien**, avec ses connaissances scientifiques quasi sans limite, son côté savant fou, et qui appartient à la team « lézard » ; **Audrey**, pour sa bonne humeur, son franc parler, et qui aimait bien m'ordonner de manger avec elle au RU (et pour Nicolas, son futur mari) ; **Marion**, avec sa joie de vivre, son grain de folie, et ses talents d'écriture et de dessinatrice (et pour Christophe, son compagnon) ; **Sibylle**, pour sa bonne humeur et son positivisme, toujours à l'écoute (et pour Jérémy, son compagnon) ; **Claire**, la globetrotteuse, toujours pétillante et pleine d'énergie ; **Clément**, fan de Francky Vincent, geek accompli, avec ses talents œnologiques et qui appartient également à la team « lézard » ; et **Anaïs**, la tennismen, celle qui aime les chats tant qu'ils ne s'approchent pas d'elle. Merci à vous tous pour le temps que l'on a passé

ensembles, je suis vraiment heureux de vous connaître, et que l'on ait tous pu garder contact malgré la distance. Merci à vous, je vous aime tous.

A Romain, le meilleur des MPR. On s'est supporté tous les jours pendant tout un semestre, puis 6 mois (mais pas 15) en tant que colocataires, emmitouflés dans des plaides avec un thé quand il faisait 13°C dans l'appart, sans chauffage. Même exilé sur Niort, on est resté en contact. Je suis vraiment heureux de te compter parmi mes amis. Et je n'oublie pas Océane, ta compagne, toujours souriante et de bonne humeur. Merci à vous deux.

A Reynald, fêtard et casanier, le must pour ce qui était d'organiser des soirées à l'internat de Cherbourg, geek à ses heures perdues. Toujours de bon conseil, et toujours présent pour les autres. Merci à toi.

A Catherine, avec ce petit charme anglais qui te caractérise, ainsi que ta passion des chevaux. Merci de nous avoir accueillis chez toi pendant 6 mois, Romain et moi, en tant que colocataires. On a passé de bons moments ensemble, et j'en garderai un très bon souvenir. Merci à toi.

A mes co-internes, Anne-Laure, ma co-interne de promo, avec qui nous formons le duo « Tic et Tac », **Gauthier**, le surfeur BG, **Adèle**, toujours calme et sereine, **Alexandre, Audrey, Arthur, Camille, Maxime**, mon compatriote lorrain, **Félix, Ruben**, la force tranquille, **Hugues, Tanguy et Julia**, les dermatos. Et à **mes anciens co-internes, Maxime, Marine, Marie, David, Bastien, Alice-Sophie et Coralie**. Merci à vous tous.

A mes anciennes camarades doctorantes de Cycéron, Jade, encore une compatriote lorraine, avec son franc-parler, toujours chaleureuse, **Charlène** et son optimisme à toute épreuve, **Aurélie**. Merci pour ces moments qu'on a passé, que ce soit dans le bureau des étudiants ou au V'n'B. Et également à **Fatéméh**, la gentillesse incarnée, toujours présente pour aider quand j'avais besoin, merci à toi.

A mes compagnons de jeux de rôle, avec qui j'ai passé des soirées entières. **Romain**, dit le Patron, **Antoine, Arnaud, Jonathan, Jean-Louis, Lory et Dorian** ; ainsi qu'à tous les joueurs de l'**Association Ephémère**. Merci à vous tous pour tous ces bons moments.

ABREVIATIONS

ADK : Adenocarcinoma

AJCC: American Joint Committee on Cancer

BER : Base Excision Repair

BFT : *Bacteroides fragilis* toxin

CCR: Colorectal Cancer

CIMP: CpG Island Methylator Phenotype

CMS: Consensus Molecular Subtypes

CRCSC: ColoRectal Cancer Sybtyping Consortium

DAB: 3,3'-diaminobenzidine

DCC: Deleted in Colorectal Carcinoma

dMMR: deficient MisMatch Repair

EGFR: Epithelial Growth Factor Receptor

EMT: Epithelial-Mesenchymal Transition

GSK3 β : Glycogen Synthase Kinase 3 β

HPA: Human Protein Atlas

HR: Hazard ratio

HRa: Hazard ratio ajusté

HES: Hematoxyline Eosine Safran

IGF-1: Insulin-like Growth Factor 1

LATS : Large Tumor Suppressor

MICI : Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin

MMR: MisMatch Repair

MST: Mammalian Ste20-like protein

NOS : Not Otherwise Specific

NDR: Nuclear Dfb2-Related

NER: Nucleotid Excision Repair

PAF: Polypose Adénomateuse familiale

PDC: Poorly Differentiated Cluster

pMMR: proficient MisMatch Repair

RASSF: Ras Associated domain Family

RR: Risque Relatif

TAZ: Transcriptionnal coactivator with PDZ-binding motif

TGF β : Transforming Growth Factor β

TILs: Tumor Infiltrant Lymphocytes

TRG: Tumor Regression Grade

TSM: Taux Standardisé Mondial

UICC: Union for International Cancer Control

VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor

XPA: Xeroderma Pigmentosum A

YAP: Yes-Associated Protein

FIGURES

Figure 1 : Estimation de l'incidence et de la mortalité du CCR dans le monde, âge et sexe confondus.....	2
Figure 2 : Taux d'incidence et de mortalité par CCR en France métropolitaine.	3
Figure 3 : Mécanismes de la carcinogenèse colorectale.....	4
Figure 4 : Les facteurs de risque du CCR.....	6
Figure 5 : Aspect macroscopique de tumeurs coliques.....	10
Figure 6 : Illustration des différents niveaux d'infiltration de la classification pTNM.....	14
Figure 7 : Illustrations des différents grades de différenciation des ADK.	16
Figure 8 : Illustration des embolies vasculaires et lymphatiques tumorales, et des engainements péri-nerveux.....	17
Figure 9 : Illustration de la différence entre métastase ganglionnaire lymphatique et dépôt tumoral.....	19
Figure 10 : Illustration du mode d'invasion tumoral.....	20
Figure 11 : Illustration du budding..	21
Figure 12 : Clusters peu différenciés (PDC).	22
Figure 13 : Illustration de l'intensité de l'infiltrat inflammatoire intra-tumoral et péri-tumoral..	23
Figure 14 : La voie de signalisation RASSF/Hippo	33
Figure 15 : Constitution des isoformes RASSF1A et 1C.....	35
Figure 16 : Constitution des isoformes codées par le gène RASSF2.....	36
Figure 17 : Courbes de survie globales des patients atteints d'un cancer colorectal en fonction de l'expression de YAP et TAZ	39
Figure 18 : Principe de la conversion au bisulfite de sodium et de la MS-PCR.....	46
Figure 19 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée.	53
Figure 20 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction de la présence ou non de dépôt tumoral	54
Figure 21 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction du mode d'invasion tumoral, de type expansif ou infiltrant.....	54
Figure 22 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction du grade de budding	54
Figure 23 : Exemple de résultats de MS-PCR sur 10 des patients de la cohorte étudiée.....	57
Figure 24 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction du statut de méthylation du promoteur de RASSF2.....	57

TABLEAUX

Tableau 1 : Tableau des différents stades cliniques des CCR, selon les critères TNM.	15
Tableau 2 : Comparaison des classifications établies par Dworak et par l'AJCC, 7 ^e édition.	25
Tableau 3 : Description des anomalies moléculaires et de l'altération des voies de signalisation des sous-types moléculaires du CCR	31
Tableau 4 : Liste des amorces utilisées pour les MS-PCR	48
Tableau 5 : Caractéristiques cliniques de la population étudiée.....	50
Tableau 6 : Critères histologiques et moléculaires des cancers coliques étudiés chez les patients de la cohorte	52
Tableau 7 : Evaluation de l'impact des facteurs pronostiques cliniques et histologiques sur la survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) des patients étudiés, selon un modèle de Cox ..	55
Tableau 8 : Fréquence de méthylation des promoteurs des gènes RASSF1/2, STK4/3 et LATS1/2	56
Tableau 9 : Evaluation de l'impact de la méthylation du promoteur de RASSF2 sur la survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) des patients étudiés, selon un modèle de Cox.....	58
Tableau 10 : Modèle final de régression logistique entre les facteurs histopronostiques et le statut de méthylation de RASSF2.....	58

TABLE DES MATIERES

PARTIE I	1
I. LE CANCER COLORECTAL	2
A. <i>Généralités sur le cancer colorectal</i>	2
1. Epidémiologie	2
2. Physiopathologie de la carcinogenèse colorectale	3
a. L'instabilité chromosomique	3
b. L'instabilité microsatellitaire.....	4
c. L'hyperméthylation des îlots CpG.....	5
3. Facteurs de risque	5
a. Héritaires	6
i). La polypose adénomateuse familiale	6
ii). Le syndrome de Lynch	7
iii). Autres syndromes de prédisposition.....	7
b. Environnementaux	8
i). Alimentation.....	8
ii). Tabagisme.....	9
iii). Alcool.....	9
4. Aspect macroscopique	9
5. Aspects histologiques	10
6. Facteurs pronostiques	13
a. Stade pTNM	13
b. Grade de différenciation	16
c. Emboles lymphatiques tumoraux	17
d. Emboles vasculaires tumoraux.....	17
e. Engainements périnerveux.....	18
f. Dépôts tumoraux.....	18
g. Front d'invasion tumoral	19
h. Budding et PDC.....	20
i. Infiltrat inflammatoire intra-tumoral.....	21
j. Marges de résection.....	24
k. Evaluation de la régression tumorale	24
7. Prise en charge thérapeutique.....	25
a. Traitement chirurgical.....	26
b. Traitements adjuvants	26
i). Cancers du côlon et du haut rectum :.....	27
ii). Cancers du bas et moyen rectum	27
iii). CCR de stade métastatiques (stade IV)	28
B. <i>Aspects moléculaires</i>	29
1. Facteurs prédictifs et théranostiques	29
a. Mutations des gènes <i>KRAS</i> et <i>NRAS</i>	29
b. Mutation du gène <i>BRAF</i>	29

c.	Etude du phénotype micro-satellitaire	30
2.	Classification moléculaire des cancers colorectaux.....	31
II.	LA VOIE DE SIGNALISATION RASSF/HIPPO.....	33
A.	<i>Description</i>	33
1.	Les régulateurs RASSF	34
a.	RASSF1	34
b.	RASSF2	35
2.	Les kinases MST	36
3.	Les kinases NDR.....	36
a.	Les kinases LATS1 et LATS2.....	37
b.	Les kinases NDR1 et NDR2.....	37
4.	Les cofacteurs de transcription YAP et TAZ	38
B.	<i>Place de la voie RASSF/Hippo dans la carcinogénèse colique</i>	38
PARTIE II	41
I.	OBJECTIFS	42
II.	MATERIELS ET METHODES	43
A.	<i>Matériels</i>	43
1.	Population étudiée.....	43
2.	Données cliniques	43
3.	Critères morphologiques.....	43
B.	<i>Méthodes</i>	44
1.	Coloration standard HES	44
2.	Etude du phénotype micro-satellitaire par immunohistochimie.....	44
3.	Recherche de mutation des gènes <i>KRAS</i> , <i>NRAS</i> et <i>BRAF</i>	45
4.	Etude du statut de méthylation des membres de la voie RASSF/Hippo	45
a.	Extraction d'ADN	45
b.	Conversion au bisulfite de sodium.....	46
c.	PCR spécifique de méthylation (MS-PCR)	47
5.	Analyses statistiques	48
III.	RESULTATS	50
A.	<i>Population étudiée</i>	50
1.	Critères cliniques	50
2.	Critères histologiques et moléculaires	51
B.	<i>Influence des facteurs histo-pronostiques sur la survie</i>	53
C.	<i>Influence de la méthylation du promoteur des gènes de la voie RASSF/Hippo sur la survie</i>	56
IV.	DISCUSSION	60
V.	CONCLUSION	66

Partie I

I. Le cancer colorectal

A. Généralités sur le cancer colorectal

1. Epidémiologie

Le cancer colorectal (CCR) est le troisième cancer le plus fréquent dans le monde, et au second rang des décès par cancer dans le monde, quel que soit l'âge ou le sexe (*Figure 1*). Son incidence tend à diminuer chez l'homme, alors qu'elle reste stable chez la femme. On observe une diminution de la mortalité par CCR depuis les années 1990 (1,2).

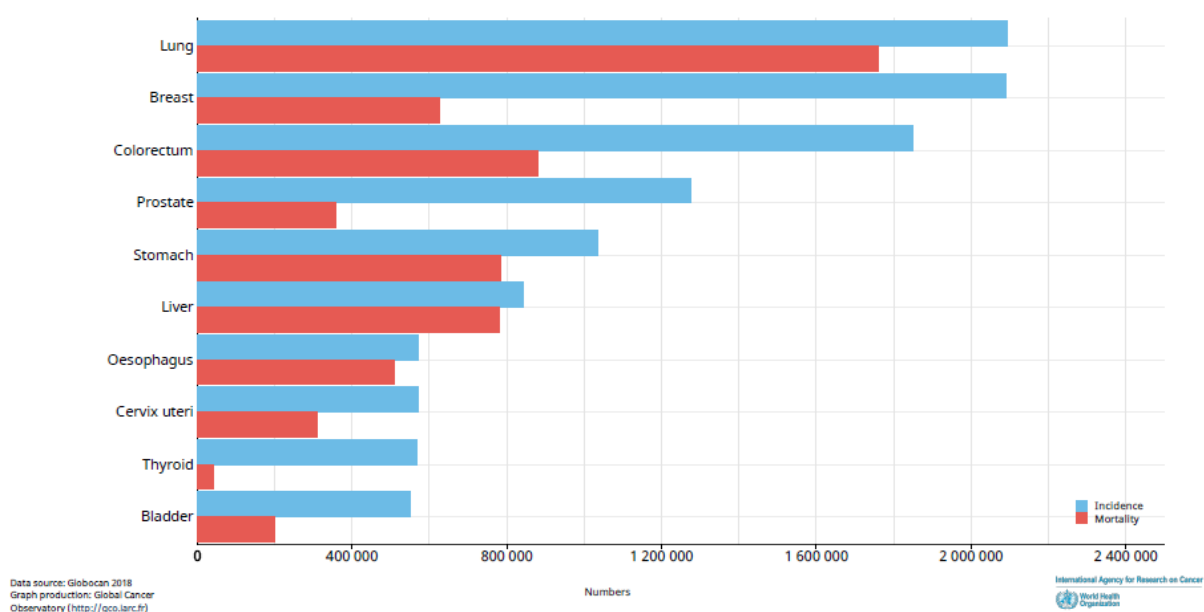


Figure 1 : Estimation de l'incidence et de la mortalité du CCR dans le monde, âge et sexe confondus.

Le CCR est au troisième rang sur l'incidence mondiale, après le cancer du poumon et le cancer du sein. Il est au second rang de mortalité par cancer dans le monde, derrière le cancer du poumon. Source : GLOBOCAN 2018. , produit par le Global Cancer Observatory (2).

En France métropolitaine, le CCR est le troisième cancer le plus fréquent chez l'homme, et le deuxième chez la femme, avec une incidence de 43 336 nouveaux cas en 2018. Il est placé au deuxième rang des décès par cancer chez l'homme, et au 3^e rang chez la femme.

L'incidence du CCR en France métropolitaine tend à diminuer depuis 1990, chez l'homme, alors qu'elle reste stable chez la femme. La mortalité liée au CCR régresse, autant chez l'homme que chez la femme (Figure 2).

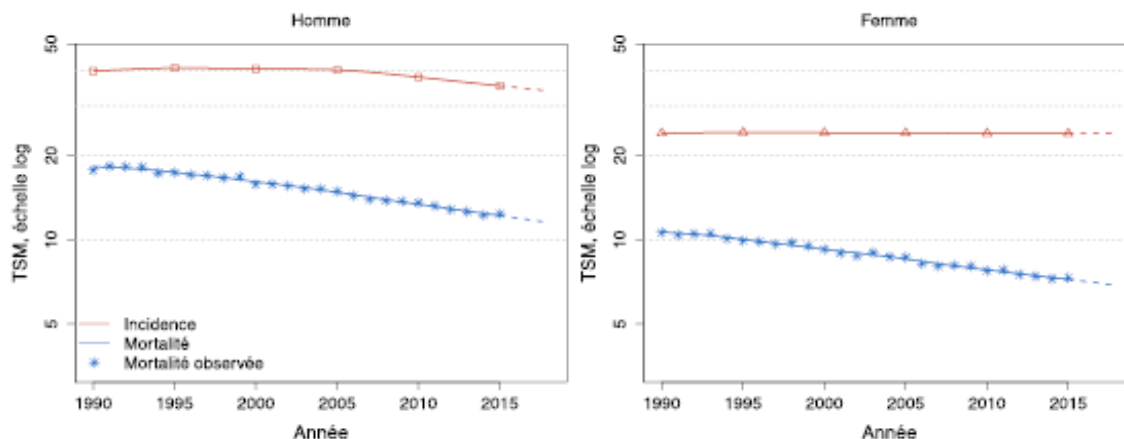


Figure 2 : Taux d'incidence et de mortalité par CCR en France métropolitaine.

On observe que chez l'homme, l'incidence et la mortalité par CCR sont en baisse. Chez la femme, l'incidence reste stable, alors que la mortalité diminue (1). TSM : Taux standardisé mondial.

L'âge médian de décès du CCR est situé à 77 ans chez l'homme, et 81 ans chez la femme. La survie nette, standardisée sur l'âge, à 5 ans est estimée à 62% chez l'homme, et 64% chez la femme. La survie à 10 ans est de 50% chez l'homme et 54% chez la femme tout stade confondu. Le stade de la maladie au moment du diagnostic varie en fonction de l'âge : les CCR à un stade précoce sont plus souvent diagnostiqués dans la tranche d'âge 40-74 ans (48% des patients atteint d'un CCR). A l'inverse les patients âgés de moins de 40 ans (38%) ou plus de 74 ans (37%) sont plus souvent diagnostiqués à un stade avancé de la maladie (1,3).

2. Physiopathologie de la carcinogenèse colorectale

La carcinogenèse colorectale résulte d'une accumulation d'anomalies génomiques et de dérégulations épigénétiques. Ces altérations génomiques et épigénétiques surviennent selon trois mécanismes principaux : l'instabilité chromosomique, l'instabilité microsatellitaire et l'hyperméthylation des îlots CpG (Figure 3) (4,5).

a. L'instabilité chromosomique

L'instabilité chromosomique se définit par un gain ou une délétion de chromosomes entiers, ou d'une partie d'un ou plusieurs chromosomes (6). Cette instabilité touche environ 84% des cas d'adénocarcinomes conventionnels. Elle peut aboutir à la perte de gènes suppresseurs de tumeurs, comme les gènes *APC*, *TP53*, *SMAD4* ou *PI3K*, ou à l'inverse, induire la surexpression d'oncogènes, comme

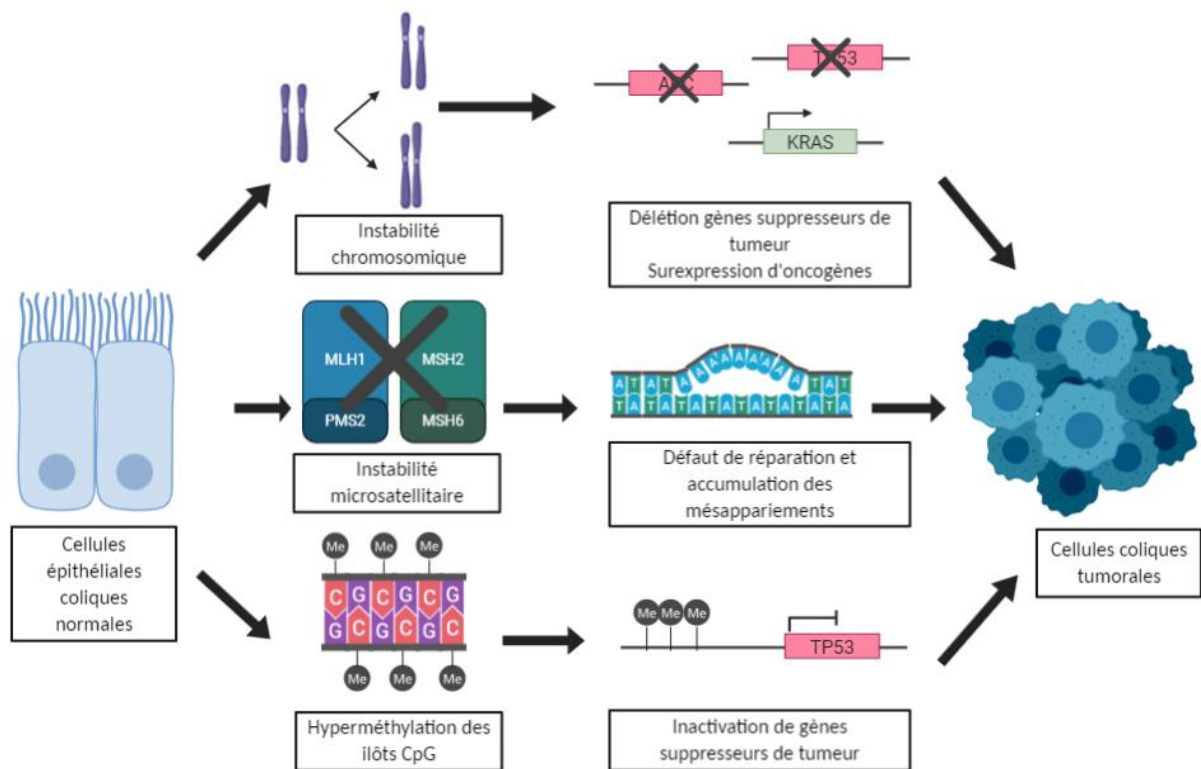


Figure 3 : Mécanismes de la carcinogénèse colorectale.

L'instabilité chromosomique se caractérise par un gain ou une perte de chromosomes entiers, ou d'une partie d'un ou plusieurs chromosomes. Cette instabilité chromosomique aboutit à la délétion de gènes suppresseurs de tumeur, ou à la surexpression d'oncogènes. L'instabilité microsatellitaire est liée à une altération du système de réparation MMR, ce qui entraîne une accumulation des mésappariements lors de la duplication de l'ADN. Cette accumulation peut conduire à l'altération de gènes suppresseurs de tumeur. L'hyperméthylation des îlots CpG, ou CIMP, se caractérise par une hyperméthylation des cytosines situées dans des régions riches en dinucléotides CG, au niveau des régions promotrices, avec pour conséquence une inactivation de l'expression des gènes (5–10). MMR : MisMatch Repair ; CIMP : CpG Island Methylator Phenotype. (Créé avec BioRender.com)

KRAS, dont les mutations sont présentes dans environ 40% des adénocarcinomes conventionnels.

Une perte d'hétérozygotie de la région 18q21 est également fréquemment observée dans les CCR. Cette région comporte notamment le gène suppresseur de tumeur *DCC* (Deleted in Colorectal Carcinoma), qui code pour une protéine transmembranaire inhibant la prolifération en absence de son ligand. Une mutation sur l'un des allèles, associée à une délétion de l'autre allèle (perte d'hétérozygotie) entraîne une survie anormale des cellules (5,6).

b. L'instabilité microsatellitaire

Il existe au sein du génome des séquences nucléotidiques répétées, dont le type de nucléotide et le nombre de répétition varient, appelées séquences microsatellites. Lors de la duplication de l'ADN, l'ADN polymérase est susceptible de faire des erreurs sur ces séquences, provoquant des mésappariements ou

« mismatch ». Ces mésappariements seront détectés et réparés par le système MisMatch Repair (MMR). Les protéines du système MMR sont codées principalement par les gènes *MLH1*, *PMS2*, *MSH2* et *MSH6*. Les protéines MSH2 et MSH6 forment un hétérodimère, qui détecte notamment les mésappariements, et recrute l'hétérodimère MLH1-PMS2 afin de corriger ces mésappariements (5,7,8).

Lorsque ce système est déficient, par perte de l'un de ses effecteurs, les mésappariements ne seront pas corrigés et vont s'accumuler, entraînant des variations de taille des séquences microsatellites. Les tumeurs avec un MMR déficient présentent alors un phénotype micro-satellitaire instable (MSI). L'instabilité micro-satellitaire représente environ 13% des cas dans la voie de cancérogenèse des adénocarcinomes colorectaux conventionnels.

Or, ces séquences microsatellites peuvent se situer dans des gènes ou les promoteurs d'un gène. La modification de ces séquences peut alors altérer la fonction protéique codée par ces gènes, notamment lorsqu'elle survient sur un gène suppresseur de tumeur (7,8). Par exemple, le gène *BAX* (gène pro-apoptotique) possède un motif répété de huit guanines. Il a été observé que, dans 50% des CCR, ce motif présentait une mutation, avec décalage du cadre de lecture, entraînant une perte de fonction de la protéine BAX (8).

c. L'hyperméthylation des îlots CpG

L'hyperméthylation des îlots CpG, ou « CpG Island Methylator Phenotype » (CIMP), correspond à des altérations épigénétiques. Ce phénotype se caractérise par une hyperméthylation des cytosines, localisées au niveau de régions riches en dinucléotides CG, dans des régions promotrices. Cette hyperméthylation sur les régions promotrices provoque une inactivation de l'expression des gènes, notamment sur des gènes suppresseurs de tumeur (5,9,10).

3. Facteurs de risque

Le CCR est une maladie à causes multifactorielles. Plusieurs facteurs interviennent, positivement ou négativement, sur la carcinogenèse et l'apparition d'un CCR (figure 4) (11).

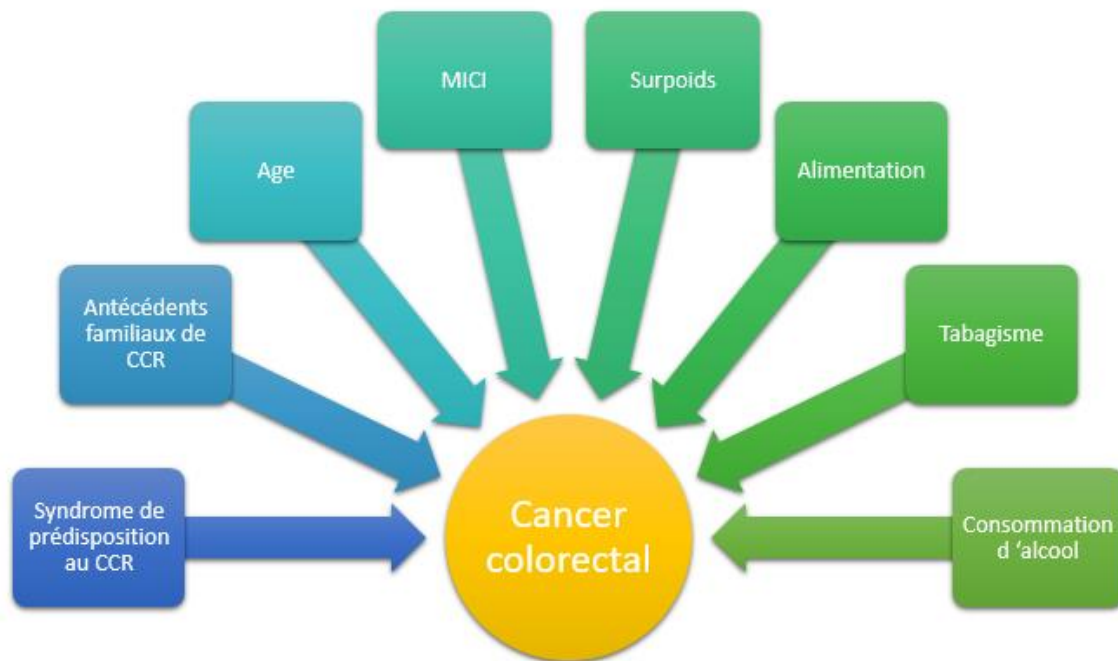


Figure 4 : Les facteurs de risque du CCR.

Le CCR est une maladie dont les causes sont multiples. 5 à 7% des CCR sont liées à un syndrome de prédisposition héréditaire, autosomique ou dominant. Les autres sont d'origine sporadique, et le risque de survenue d'un CCR sporadique dépend de facteurs environnementaux, et de la susceptibilité génétique à ces facteurs. Un âge supérieur à 50 ans, des antécédents familiaux de CCR ou des antécédents personnels de MICI constituent des facteurs de risque. L'exposition au tabac ou à l'alcool, ainsi qu'une mauvaise hygiène alimentaire jouent un rôle dans la carcinogenèse colorectale. D'après Aran et al. (11) MICI : Maladie inflammatoire chronique de l'intestin.

a. Héréditaires

i). *La polypose adénomateuse familiale*

Il existe plusieurs syndromes génétiques prédisposant au CCR. La polypose adénomateuse familiale (PAF) est un syndrome autosomique dominant, lié à une altération du gène *APC*, situé sur le bras long du chromosome 5 (5q21-q22) (12,13). Le gène *APC* est un gène suppresseur de tumeur ; il code pour la protéine APC. Cette protéine intervient notamment dans la voie Wnt/ β -caténine, où elle forme un complexe protéique avec l'axine et la GSK3 β (Glycogen synthase kinase), qui phosphoryle la β -caténine, entraînant son ubiquitinylation et sa dégradation. Si APC n'est pas exprimée ou est non fonctionnelle, la β -caténine n'est plus dégradée, s'accumule, transloque dans le noyau et exerce un rôle de facteur de transcription sur des gènes impliqués dans la prolifération, comme *MYC* (12,14). Les patients atteints développent plusieurs centaines de polypes adénomateux sur le côlon et le rectum, qui dégèneront dans 100% des cas en cancer s'ils ne sont pas retirés. Ces polypes surviennent dans la deuxième décennie. D'autres polypes, adénomateux ou

non, peuvent se développer sur l'ensemble du tractus gastro-intestinal. Les patients peuvent présenter également des manifestations extra-coliques, comme une tumeur desmoïde, un ostéome, un adénocarcinome du pancréas, une tumeur hépatique ou une tumeur du système nerveux central (12–14).

Certains patients atteints de PAF développent moins d'une centaine de polypes colorectaux, et à un âge plus tardif, correspondant à une forme atténuée de PAF. Plusieurs altérations, situées aux extrémités 5' et 3' du gène *APC*, ou sur l'exon 9 ont été observées dans des formes atténuées de PAF. Des variations de l'épissage, notamment un épissage alternatif du transcrit avec une excision des exons 3 et 4 pourraient être impliquées. Ces formes atténuées peuvent parfois poser le problème au diagnostic avec des polypes d'origine sporadique, puisque les polypes surviennent en nombre réduit, et plus tardivement que dans la PAF classique (12,14,15).

ii). Le syndrome de Lynch

Le syndrome de Lynch est un syndrome autosomique dominant, lié à une altération des gènes du MMR. Les gènes *MLH1* et *MSH2* sont les plus fréquemment mutés (60 à 80% des cas) ; les mutations de *PMS2* et *MSH6* sont plus rares. Il existe d'autres altérations pouvant affecter les gènes du système MMR, comme la mutation du gène *EPCAM* provoquant une méthylation du promoteur de *MSH2*, mais elles sont très rares (16). Les personnes atteintes présentent un risque accru de développer un CCR ou un cancer du corps de l'endomètre, mais également d'autres cancers, développés aux dépens de l'ovaire, des voies biliaires, de l'estomac de l'intestin grêle, des voies excrétrices urinaires hautes ou des glandes sébacées (14,17).

iii). Autres syndromes de prédisposition

D'autres syndromes génétiques peuvent prédisposer au CCR :

- Les mutations du gène *APC* peuvent être à l'origine du syndrome de Gardner ou du syndrome de Turcot. Le syndrome de Gardner se caractérise par une polypose intestinale diffuse, des ostéomes, fibromes et kystes épidermiques ou sébacés. Le syndrome de Turcot comporte l'association de CCR et médulloblastome (14,18),

- La polypose associée à une mutation du gène *MYH*, gène impliqué dans le système de réparation des cassures simple brin « base excision repair » (BER). Les patients atteints présentent un phénotype similaire à la forme atténuée de PAF, mais la transmission de la maladie s'effectue sur un mode récessif (14,17),
- Le syndrome de Peutz-Jeghers, lié à une mutation des gènes *LKB1* ou *STK11*, est à l'origine d'hamartomes multiples du tractus gastro-intestinal (14),
- Le syndrome de Cowden, dont le gène majoritairement en cause, *PTEN*, se caractérise par le développement d'hamartomes multiples au niveau de la peau, des seins, de la thyroïde et du côlon. Les patients atteints ont un risque augmenté de développer un cancer du sein, du côlon, de l'endomètre ou de la thyroïde (14,19).

b. Environnementaux

i). Alimentation

Les CCR liés à un syndrome de prédisposition ne représentent que 5 à 7% des CCR. Les CCR sporadiques sont liés à divers facteurs environnementaux (11,20), telles les habitudes alimentaires. Plusieurs études ont analysé, sur des cohortes, la corrélation entre divers types d'aliments et le risque de survenue d'un CCR. Ces études ont observé qu'une alimentation riche en fruits et légumes était associée à un plus faible risque d'apparition d'un CCR, alors que ce risque était plutôt augmenté avec la consommation régulière de viande rouge et d'aliments transformés (21–24). *Levine et al* ont observé un lien entre une alimentation riche en protéines et le taux d'IGF-1, et qu'un taux plus élevé d'IGF-1 favoriserait la survenue d'un CCR. Par ailleurs, la consommation de poisson (riche en acide gras à longues chaînes de type oméga-3) aurait un effet protecteur (21,25).

L'alimentation exerce également un effet sur la carcinogenèse colorectale par les modifications qu'elle engendre sur le microbiote intestinal. Le microbiote évolue au cours de la vie, en fonction des conditions micro-environnementales au niveau gastro-intestinal. L'existence d'une maladie inflammatoire chronique ou l'alimentation, peuvent modifier la composition du microbiote. Or, des études ont observé que certaines espèces bactériennes peuvent être en lien avec la carcinogenèse colorectale (26–28) comme les *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*) et les *Bacteroides fragilis* (*B.fragilis*) (26–30)

ii). Tabagisme

Le tabagisme est reconnu comme facteur de risque dans plusieurs cancers, comme les cancers du poumon, des voies aéro-digestives supérieures, de la vessie et du rein ; son rôle dans la carcinogenèse colorectale a été controversé mais est actuellement bien démontré (31,32). La méta-analyse menée par *Tsoi et al* montre que les fumeurs réguliers ou occasionnels présentent un risque relatif (RR) de développement d'un CCR de 1,20, par rapport aux non-fumeurs. Cette augmentation du risque de CCR est plus particulièrement présente chez l'homme (RR de 1,38), par rapport à la femme (RR de 1,06) (33). Le tabagisme favorise le développement de CCR notamment du côlon droit et du rectum, plutôt que du côlon gauche (33–35). Ces données concordent avec le fait que le tabagisme est plus fréquemment associé à la présence d'une instabilité microsatellitaire. Il est également plus fréquemment associé à des mutations des gènes *TP53* et *BRAF*, ainsi qu'avec un phénotype hyperméthylé des cellules tumorales (36).

iii). Alcool

La consommation d'alcool est un autre facteur de risque de développement d'un CCR. La méta-analyse menée par *Wang et al* montre un RR de développer un CCR de 1,43 avec intervalle de confiance à 95%, pour une consommation régulière de 100g par jour (37). L'alcool serait responsable de modifications épigénétiques, en particulier une modification du phénotype de méthylation des promoteurs des gènes. L'alcool engendre également une altération des mécanismes de réparation de l'ADN, la production de métabolites pro-oncogéniques par la voie du cytochrome P450, ainsi qu'une immunosuppression (37). Le métabolite de l'alcool, l'acétaldéhyde, serait à l'origine d'un déficit en folates ; ce déficit serait à l'origine d'altérations au niveau des télomères, source d'une instabilité chromosomique, ainsi que d'une hypométhylation globale de l'ADN et d'incorporation d'uracile lors de la réplication de l'ADN (37,38).

4. Aspects macroscopiques

Un CCR peut se présenter sous plusieurs formes sur le plan macroscopique (Figure 5) :

- un développement principalement intra-luminal, donnant un aspect exophytique, bourgeonnant



Figure 5 : Aspect macroscopique de tumeurs coliques (étoiles). Elles peuvent présenter un aspect exophytique, bourgeonnant (à gauche), ou un aspect infiltrant, ulcéré, avec parfois une sténose pariétale associée (à droite).

- une croissance endophytique principalement intra-pariétale, avec une ulcération en surface et un bourgeonnement en périphérie
- plus rarement, une infiltration diffuse de la paroi colique, de type linite
- un développement circonférentiel, souvent responsable d'une sténose.

Les CCR associent fréquemment plusieurs aspects macroscopiques. Les tumeurs du côlon ascendant ont tendance à présenter une croissance exophytique, alors que celles du côlon transverse et gauche se développent de façon endophytique, ou circonférentielle.

A la coupe, les CCR présentent un aspect assez homogène, de couleur gris-blanchâtre, et comportant parfois des zones de nécrose. Les adénocarcinomes mucineux comportent fréquemment des flaques mucoïdes (39).

5. Aspects histologiques

L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini plusieurs types histologiques, décrits dans la WHO Classification of Tumors – Digestive System Tumours, 5^e édition 2019 (39). Quatre-vingt-dix pourcent des CCR correspondent à un adénocarcinome (ADK), généralement de type non spécifique (not otherwise specific « NOS »). Certains ADK correspondent à un type histologique particulier, avec des aspects microscopiques spécifiques :

- ADK mucineux : il se définit par la présence d'une composante mucineuse sur au moins 50% de la surface tumorale. Celle-ci est constituée de flaques de mucine comportant des cellules tumorales isolées ou en amas de taille variable (39,40).

- Carcinome à cellules « à bague à chaton » : ce type histologique est rare, avec une prévalence en Europe et aux Etats-Unis de 0,6 à 1,1%. Il se développe plus fréquemment avant 60 ans (41). Histologiquement, il se caractérise par la présence sur au moins 50% des cellules tumorales d'une vacuole intra-cytoplasmique, refoulant le noyau en périphérie, donnant un aspect dit « en bague à chaton ». Ce type histologique peut être associé à un adénocarcinome de type mucineux, ou dans une composante mucineuse d'un adénocarcinome non spécifique. Toute composante « à bague en chaton » doit être signalée sur le compte-rendu anatomo-pathologique, car elle est associée à un plus mauvais pronostic avec un taux de survie à 5 ans entre 0 et 12%, et à un plus haut risque de récurrence (41,42). Sur le plan moléculaire, les cellules tumorales présentent une perte d'expression de l'E-cadhérine, protéine d'adhésion transmembranaire, expliquant l'aspect dyscohésif, avec fréquemment un phénotype CIMP+, MSI, et une mutation de *BRAF* (41,43).

- Carcinome médullaire : ce type histologique se caractérise par un aspect peu différencié de la prolifération tumorale, avec une architecture solide, formant peu de glandes. Les cellules tumorales comportent un noyau à chromatine vésiculeuse, et un cytoplasme fortement éosinophile, abondant. La prolifération s'accompagne d'un intense infiltrat lymphocytaire intra et péri-tumoral. En immunohistochimie, les cellules tumorales n'expriment pas CK20 ni CDX2, contrairement, à l'ADK non spécifique de grade peu différencié. Ce type histologique présente fréquemment une déficience du système de réparation MMR, et une mutation de *BRAF*. Il présente plutôt un bon pronostic, malgré sa morphologie peu différenciée (39,44,45).

- ADK festonné : l'ADK de type festonné appartient au spectre des lésions festonnées, caractérisées par des altérations moléculaires distinctes, comprenant également les polypes hyperplasiques, les adénomes festonnés traditionnels, et les lésions festonnées sessiles avec ou sans dysplasie. En histologie, l'ADK festonné ressemble morphologiquement aux lésions festonnées, avec la présence de glandes tumorales infiltrantes d'aspect festonné. On observe plus fréquemment des mutations des gènes *KRAS* et *BRAF*. La majorité des ADK festonnés se développent sur un adénome festonné traditionnel, avec un phénotype MSS, mais environ 20% d'entre eux se développent sur adénome festonné sessile et présentent un phénotype MSI par hyperméthylation du promoteur de *hMLH1*. Par ailleurs, des études ont observé des altérations génomiques potentiellement utilisables comme

biomarqueurs de l'ADK festonné, à savoir des altérations de *PTCH1*, *HIF1α* et *EPHB2* (39,46,47). Ce sous-type d'ADK est un facteur de mauvais pronostic (46,47).

- ADK micropapillaire : la composante micropapillaire se caractérise par des amas de cellules entourés par un espace optiquement vide, ressemblant à une cavité vasculaire, sur au moins 5% de la surface tumorale. Il n'y a pas d'axe vasculaire au centre des amas, contrairement à une papille. La présence de cette composante est de mauvais pronostic : les embolies vasculaires et lymphatiques ainsi que les engainements périnerveux sont très fréquents, et la survie globale et sans récurrence est plus faible (39,48,49). *Lee et al* ont observé une plus forte expression de gènes impliqués dans le maintien de l'état souche des cellules tumorales des ADK avec composante micropapillaire, comme le gène *SOX2*, impliquant une chimiorésistance et un fort pouvoir métastatique. Il est également observé que l'expression de *SOX2* est corrélée à la présence de métastases ganglionnaires et périphériques, ainsi qu'à un moins bon pronostic (49).

- ADK adenoma-like : Ce sous-type a été décrit initialement sous les termes de « tumeur vilieuse », « adénocarcinome vilieux » ou « adénocarcinome papillaire infiltrant » (39,50). Il se définit par la présence, sur au moins 50% de la surface tumorale infiltrante, d'une architecture vilieuse ressemblant à un adénome, et une bordure tumorale de type expansive ou très focalement infiltrante. Les atypies cytonucléaires sont modérées, de bas grade. Ce sous-type est de meilleur pronostic par rapport à l'ADK NOS, et il est corrélé à une meilleure survie sans récurrence (50–52). Sur biopsie, l'aspect bien différencié, l'architecture vilieuse et les atypies cytonucléaires peu marquées peuvent le faire confondre avec un adénome vilieux. Ces tumeurs présentent un fort taux de mutation *KRAS* (50,51).

- Carcinome adénoquameux : ce type de carcinome est rare, avec une incidence comprise entre 0,05 et 0,2% des CCR (53). Il se caractérise par l'association d'une composante de type ADK et d'une composante de type carcinome épidermoïde. Il présente un plus mauvais pronostic par rapport à un ADK non spécifique, avec une plus forte tendance à former des métastases notamment pour la composante épidermoïde (53–55).

- Carcinome avec composante sarcomatoïde : il existe, dans de rares cas, une composante sarcomatoïde associée à un ADK, en proportions variables. Cette

composante se présente comme une zone tumorale non différenciée, avec des cellules d'aspect fusiforme, ou des cellules d'aspect rhabdoïde, avec un cytoplasme éosinophile abondant, refoulant le noyau en périphérie. Les cellules n'expriment pas ou peu les marqueurs épithéliaux (56,57). Sur le plan moléculaire, il existe fréquemment une altération du complexe SWI/SNF, impliqué dans le remodelage de la chromatine, notamment par altération de la sous-unité SMARCB2, mais également des sous-unités SMARCA2 et SMARCA4. Des altérations des protéines de structure des centrosomes (« Ciliary Rootlet Coiled Coil ») ont également été observées. La présence d'une composante sarcomatoïde est de mauvais pronostic (56–59).

- Carcinome indifférencié : la prolifération tumorale est désignée comme "indifférenciée" lorsqu'elle ne présente aucune caractéristique morphologique, immunohistochimique ou moléculaire permettant de caractériser sa différenciation. L'aspect morphologique peut ressembler au carcinome médullaire, mais à la différence de celui-ci, les cellules tumorales ne présentent pas d'aspect syncytial, ni d'infiltrat inflammatoire marqué. Par ailleurs, les carcinomes indifférenciés ne présentent que rarement un phénotype micro-satellitaire instable (39).

6. Facteurs pronostiques

En plus du type histologique, plusieurs critères histologiques constituent des facteurs histopronostiques. La prise en charge thérapeutique dépend donc de ces facteurs.

a. Stade pTNM

L'évaluation de l'envahissement tumoral, locorégional et à distance, est le facteur histopronostique le plus important, et doit être précisé dans tout compte-rendu anatomo-pathologique. La huitième classification pTNM des tumeurs colorectales de l'Union for International Cancer Control (UICC), et l'American Joint Committee on Cancer (AJCC) est parue en 2017. La pTNM précise l'envahissement local (T), l'extension aux ganglions lymphatiques régionaux (N), et l'extension métastatique à distance (M) (60).

Pour les CCR, la classification est la suivante :

- Envahissement local (T) : selon la profondeur d'infiltration pariétale (*Figure 6*).
- pT0 : absence de tumeur

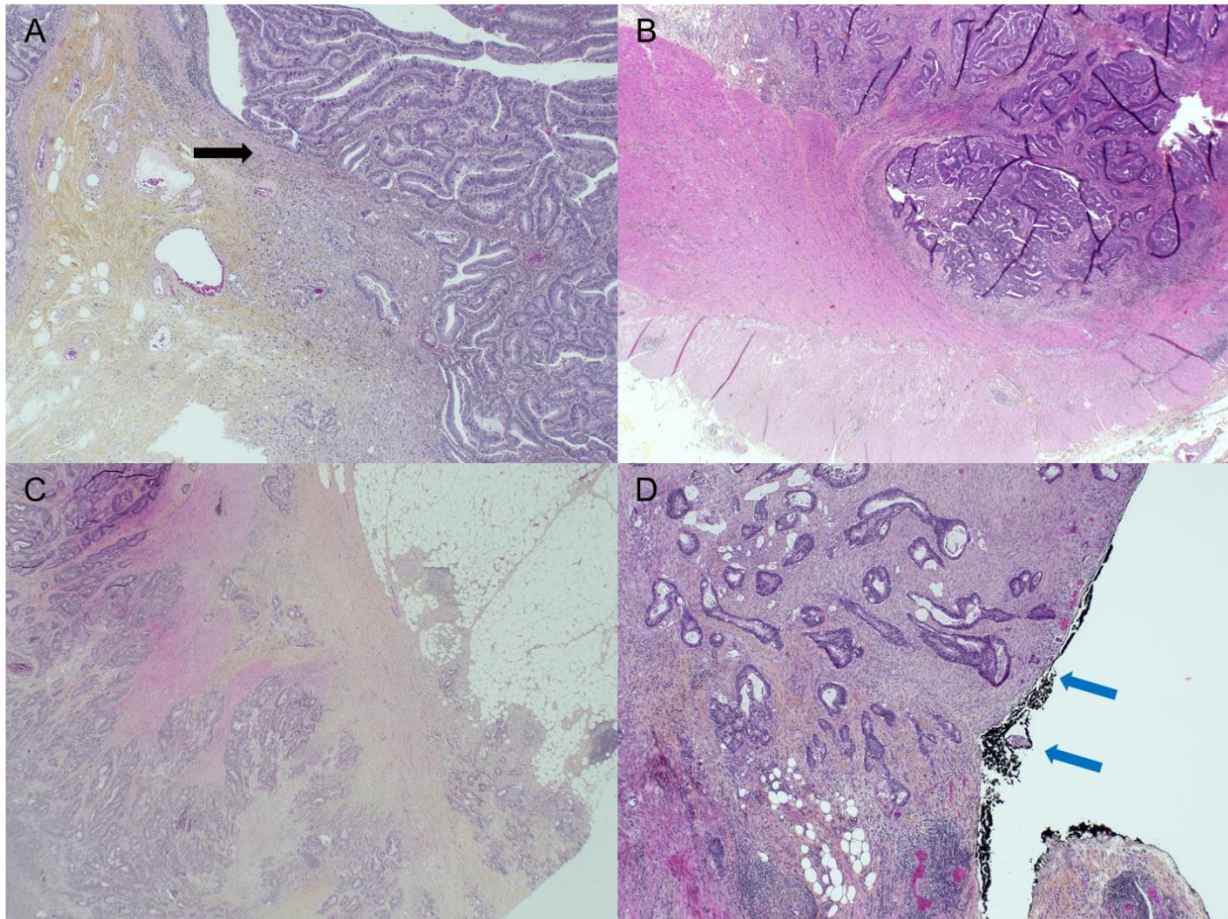


Figure 6 : Illustration des différents niveaux d'infiltration de la classification pTNM

(A) pT1 : la prolifération franchit la musculaire muqueuse (flèche noire) et infiltre le sous-muqueuse (HES x50). (B) pT2 : la prolifération infiltre la musculature (HES x20), (C) pT3 : la prolifération infiltre la sous-séreuse, sans atteindre la séreuse (HE x20). (D) pT4a : la prolifération atteint focalement la séreuse péritonéale (flèches bleues) (HES x50)

- pTis : carcinome intra-épithélial ou carcinome intra-muqueux, avec infiltration de la lamina propria
- pT1 : infiltration de la sous-muqueuse
- pT2 : infiltration de la musculature
- pT3 : infiltration de la sous-séreuse
- pT4 :
 - pT4a : infiltration et ulcération du péritoine viscéral
 - pT4b : invasion directe d'autres organes ou structures
- Extension aux ganglions lymphatiques régionaux (N) : les ganglions lymphatiques régionaux sont individualisés macroscopiquement dans le mésocôlon et le mésorectum. Ce critère est également subdivisé en plusieurs groupes, selon le nombre de ganglions lymphatiques envahis.
- pN0 : absence de métastase ganglionnaire lymphatique

- pN1 : métastase dans 1 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
 - pN1a : métastase dans 1 ganglion lymphatique régional
 - pN1b : métastase dans 2 à 3 ganglions lymphatiques régionaux
 - pN1c : présence de dépôt tumoral satellite dans la sous-séreuse, sans métastase ganglionnaire lymphatique identifiable.
- pN2 : métastase dans au moins 4 ganglions lymphatiques régionaux
 - pN2a : métastase dans 4 à 6 ganglions lymphatiques régionaux
 - pN2b : métastase dans au moins 7 ganglions lymphatiques régionaux
- Extension métastatique à distance (M) :
 - pM0 : absence de métastase à distance
 - pM1 : présence de métastase à distance
 - pM1a : métastase dans un seul organe (dont les ganglions

Tableau 1 : Tableau des différents stades cliniques des CCR, selon les critères TNM (88,89).

Stade	T	N	M
0	Tis	N0	M0
I	T1-2	N0	M0
IIA	T3	N0	M0
IIB	T4a	N0	M0
IIC	T4b	N0	M0
IIIA	T1-2	N1	M0
	T1	N2a	M0
IIIB	T3-4a	N1	M0
	T2-3	N2a	M0
	T1-2	N2b	M0
IIIC	T4a	N2a	M0
	T3-4a	N2b	M0
	T4b	N1-2	M0
IVA	Tout T	Tout N	M1a
IVB	Tout T	Tout N	M1b
IVC	Tout T	Tout N	M1c

lymphatiques non régionaux), sans atteinte de la séreuse péritonéale

➤ pM1b : métastase dans plus d'un organe, sans atteinte de la séreuse péritonéale

➤ pM1c : métastase péritonéale

La définition de ces trois critères permet ensuite de définir le stade d'évolution de la maladie, qui permettra ensuite de définir la prise en charge la plus adaptée (*Tableau 1*) (60).

b. Grade de différenciation

L'évaluation du grade des CCR prend en compte le degré de formation glandulaire (*Figure 7*). Le grade doit correspondre au contingent tumoral le moins différencié, quelle que soit sa proportion. Les CRC bien et moyennement différenciés correspondent à des CRC de bas grade, alors que les CRC peu différenciés sont de haut grade. L'OMS précise que le « budding » et les « clusters peu différenciés » (PDC) ne doivent pas être pris en compte pour la détermination du grade, mais ils doivent être signalés à part en raison de leur impact pronostique (39).

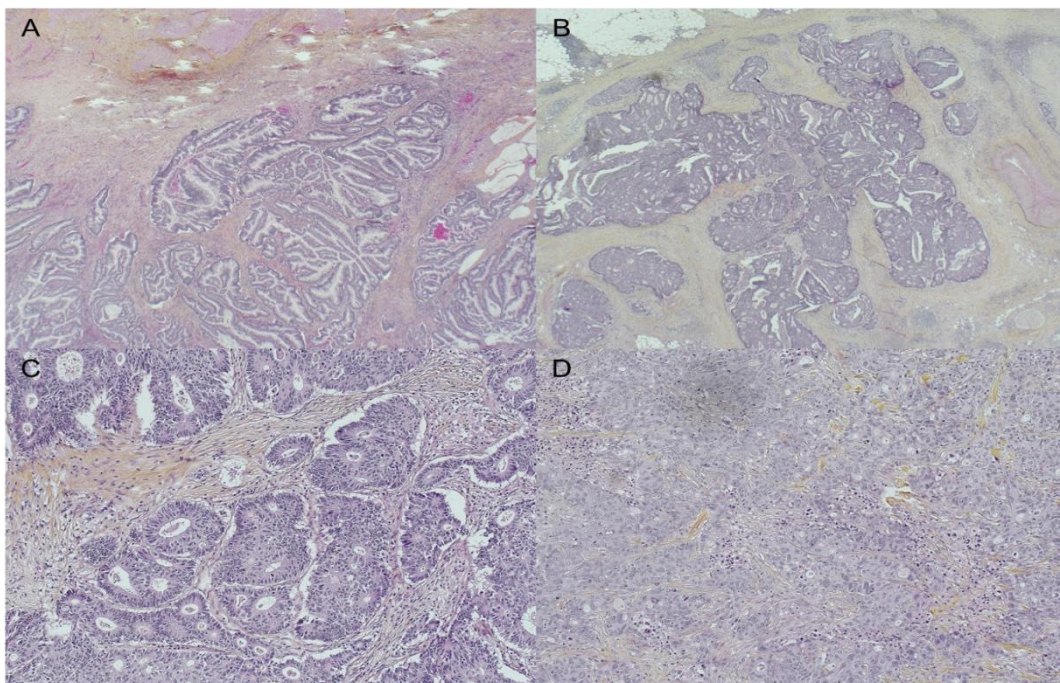


Figure 7 : Illustrations des différents grades de différenciation des ADK.

(A) ADK bien différencié : structures glandulaires bien individualisées, plus ou moins ramifiées (HES x20). (B et C) ADK moyennement différencié : structures glandulaires d'aspect cribriforme, aspect de glandes fusionnées (HES x20 et x100). (D) ADK peu différencié : formation de massifs, avec de rares lumières glandulaires persistantes (HES x100)

c. Emboles lymphatiques tumoraux

Ils se définissent par la présence de cellules tumorales, isolées ou en amas, dans la lumière des lymphatiques (*Figure 8A*). La présence d'emboles lymphatiques tumoraux constitue un facteur pronostique important pour les stades précoces, notamment pour les patients ne présentant pas de métastase ganglionnaire lymphatique, puisqu' environ 30% des patients décèderont avec des métastases à distance (61,62). En cas de doute diagnostique, une étude immunohistochimique avec l'anticorps anti-D2-40 (ciblant la podoplanine), marqueur vasculaire lymphatique, peut permettre d'objectiver des emboles tumoraux lymphatiques (61).

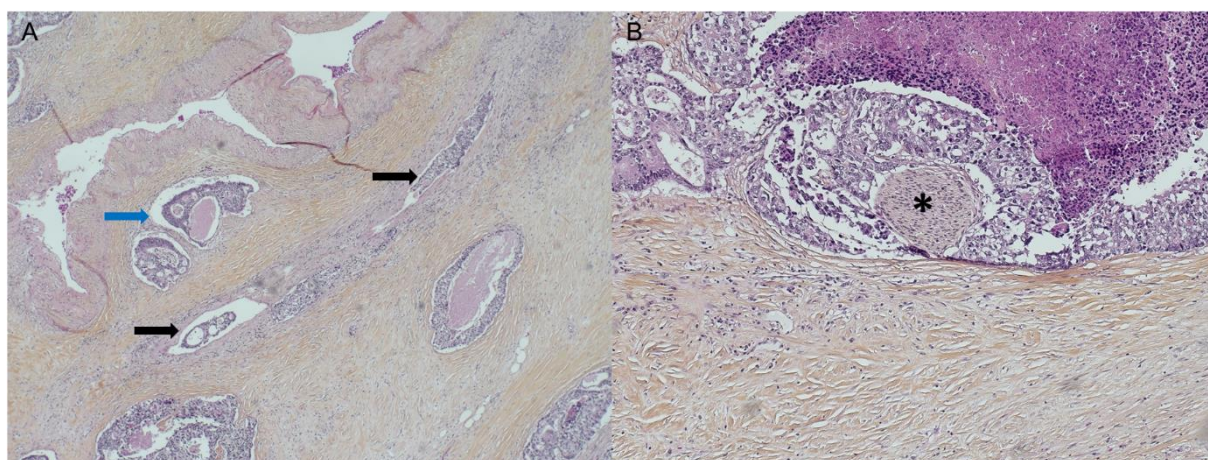


Figure 8 : Illustration des emboles vasculaires et lymphatiques tumoraux, et des engainements péri-nerveux

(A) Des amas de cellules tumorales sont situés dans des lymphatiques (flèche bleue), ainsi qu'au niveau vasculaires (flèches noires) (HES x 50). (B) Les cellules tumorales encerclent et infiltrent une structure nerveuse (astérisque), correspondant à un engainement péri-nerveux (HES x 100).

d. Emboles vasculaires tumoraux

La présence de cellules tumorales au sein d'une veine ou d'une artère (*Figure 8A*) a un impact négatif sur le pronostic des patients atteints d'un CCR. Ils peuvent être subdivisés en deux groupes : les emboles vasculaires intra-muraux (situés dans la sous-muqueuse ou la musculuse) et les emboles vasculaires extra-muraux (situés dans la sous-séreuse) (63–66). Les emboles extra-muraux sont bien décrits dans la littérature comme ayant un impact négatif sur la survie des patients, notamment lorsqu'il n'y a pas de métastase ganglionnaire synchrone associée. En revanche, l'impact des emboles intra-muraux est moins étudié. La revue de *Knijn et al*, sur la fréquence et l'impact des emboles vasculaires intra-muraux dans les CCR, tous stades confondus, montre que ces patients présentent une survie à cinq ans plus faible par rapport aux patients ne présentant pas d'embolie vasculaire. En

revanche, ils n'ont pas observé de différence significative entre une localisation extra-murale ou intra-murale des embolies vasculaires (63).

Jiang et al ont étudié les altérations génomiques chez des patients atteints d'un CCR avec embolies vasculaires. Ils ont observé des remaniements chromosomiques récurrents, notamment des anomalies en 22q, 17q, 10q et 6q. Les altérations géniques ayant potentiellement un lien avec la formation d'embolies vasculaires sont impliquées dans l'EMT, l'angiogenèse et le remodelage de la matrice extra-cellulaire (64).

e. Engainements périnerveux

Les engainements périnerveux constituent un facteur pronostique péjoratif indépendant, similaire à d'autres facteurs pronostiques comme le niveau d'infiltration, le grade de différenciation, et les embolies lymphatiques et vasculaires tumoraux. Ils sont associés à une survie globale moindre, et à un plus haut risque de récurrence, locale ou à distance. Sur le plan histologique, ils correspondent à la présence de cellules tumorales envahissant les trois tuniques d'un nerf (épinèvre, périnèvre et endonèvre), sur au moins un tiers de la circonférence du nerf (39,67–70) (*Figure 8B*). Ils sont rapportés comme moins fréquents dans les CCR (environ 20%), par rapport à d'autres cancers, comme les ADK pancréatiques (98%), les cholangiocarcinomes (75 à 85%), les ADK prostatiques (75%) et les ADK gastriques (60%) (39,68).

f. Dépôts tumoraux

Les dépôts tumoraux correspondent à des amas tumoraux, quelle que soit leur taille, situés dans la graisse péri-colique. Ils ne possèdent pas de continuité avec la tumeur primitive, et ils diffèrent d'un envahissement ganglionnaire métastatique par l'absence de parenchyme ganglionnaire identifiable au niveau du dépôt (*Figure 9*). Les embolies vasculaires et lymphatiques tumoraux, ainsi que les engainements péri-nerveux ne sont pas considérés comme des dépôts tumoraux (39).

Actuellement, la présence de dépôt tumoral sans métastase ganglionnaire lymphatique associée est signalée comme pN1c dans la classification pTNM, et n'est pas prise en compte si des métastases ganglionnaires lymphatiques sont présentes. Cependant, il s'avère, d'après des études récentes que les dépôts tumoraux pourraient constituer un facteur pronostique péjoratif indépendant de la présence ou non de métastases ganglionnaires lymphatiques. Il serait donc proposé d'inclure une

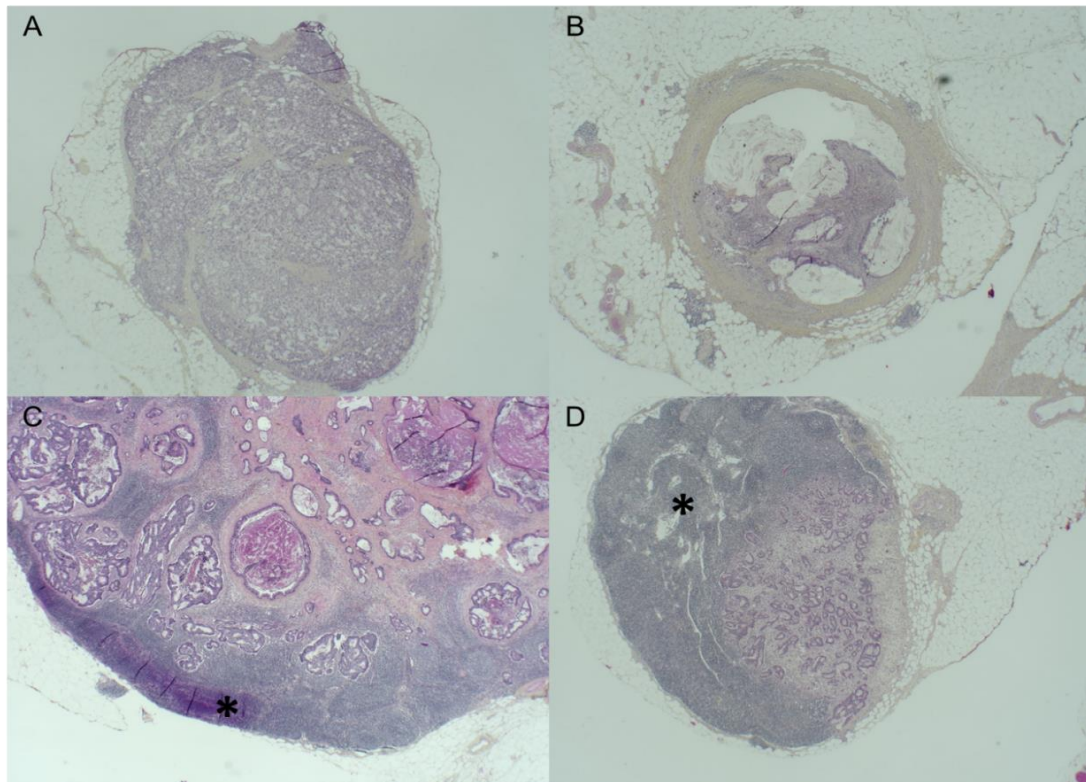


Figure 9 : Illustration de la différence entre métastase ganglionnaire lymphatique et dépôt tumoral

(A et B) Dépôts tumoraux situés dans le mésocôlon sans parenchyme ganglionnaire identifiable (HES x20). (C et D) Métastase ganglionnaire lymphatique. Parenchyme ganglionnaire, bien visible, (astérisque) envahi par la prolifération tumorale, (HES x50 et x20)

nouvelle catégorie dans le statut « N » de la classification TNM pour les dépôts tumoraux, quel que soit le nombre de métastase ganglionnaire lymphatique, lors de sa prochaine révision (71–73).

g. Front d'invasion tumoral

Histologiquement, les CCR envahissent la paroi colique de deux manières : selon un mode expansif (ou « pushing »), se caractérisant une bordure bien limitée et visible entre les structures tumorales et le tissu non tumoral (*Figure 10A*) ; ou selon un mode infiltrant, lorsque l'on ne pas définir de limite nette entre les cellules tumorales et le tissu non tumoral adjacent (*Figure 10B*) (74). *Qwaider et al* ont observé que les patients atteints d'un CCR avec un mode d'invasion de type infiltrant présentaient une moins bonne survie globale, et sans récive, que lorsque le mode d'invasion est de type expansif (74). Par ailleurs, *Karamitopoulou et al* ont observé que la présence de plus de 90% de composante infiltrante était un facteur de mauvais pronostic pour les stades II et III (75).

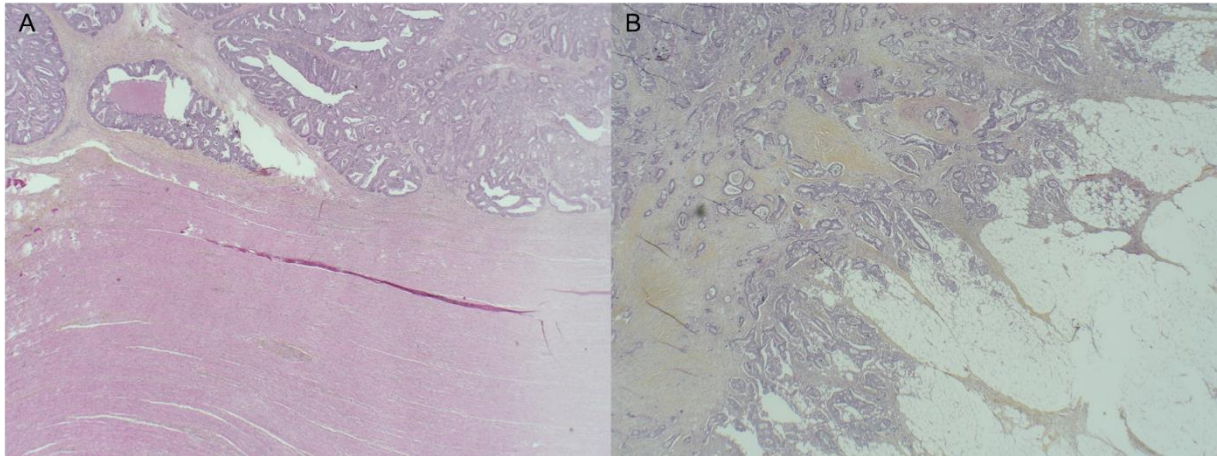


Figure 10 : Illustration du mode d'invasion tumoral

(A) Front d'invasion tumoral selon un mode expansif, appelé pushing. La délimitation entre les glandes tumorales et le parenchyme normal adjacent est bien visible (HES x 20). (B) Front d'invasion tumoral selon un mode infiltrant. Il n'y a pas de délimitation claire entre les structures tumorales et le parenchyme normal adjacent (HES x 20).

h. Budding et PDC

Le « Tumor budding » ou bourgeonnement tumoral se définit par la présence de cellules isolées ou disposées en amas comportant jusqu'à 4 cellules tumorales. La recherche de budding doit se faire, selon les recommandations publiées par *Lugli et al*, sur le front d'invasion de la prolifération tumorale. On évalue le budding sur 10 champs microscopiques à grossissement x100, puis on sélectionne le champ comportant le plus de budding. On compte ensuite le nombre de cellules isolées ou d'amas comportant jusqu'à 4 cellules, au grossissement x200. On détermine enfin le nombre de cellules en budding sur une surface de 0,785 mm², puis on classe le budding en grade 1 (faible) si on observe entre 0 et 4 cellules isolées ou amas, grade 2 (intermédiaire) pour 5 à 9 cellules isolées ou amas, ou grade 3 (élevé) pour au moins 10 cellules isolées ou amas (*Figure 11*) (76).

L'évaluation du budding constitue un important facteur pronostic. En effet, l'impact sur la survie des patients est d'autant plus péjoratif que le budding est de haut grade (76–78). Pour les CCR de stade pT1, la présence de budding est corrélée avec un plus haut risque de métastase ganglionnaire lymphatique. Il apparaît également que, la présence de budding sur des CCR au stade II entraîne un pronostic équivalent aux patients de stade métastatique (76–79). Le budding serait lié à l'EMT, et il y aurait une forte corrélation entre une altération des gènes *KRAS* et *BRAF*, et la présence de budding (77,78).

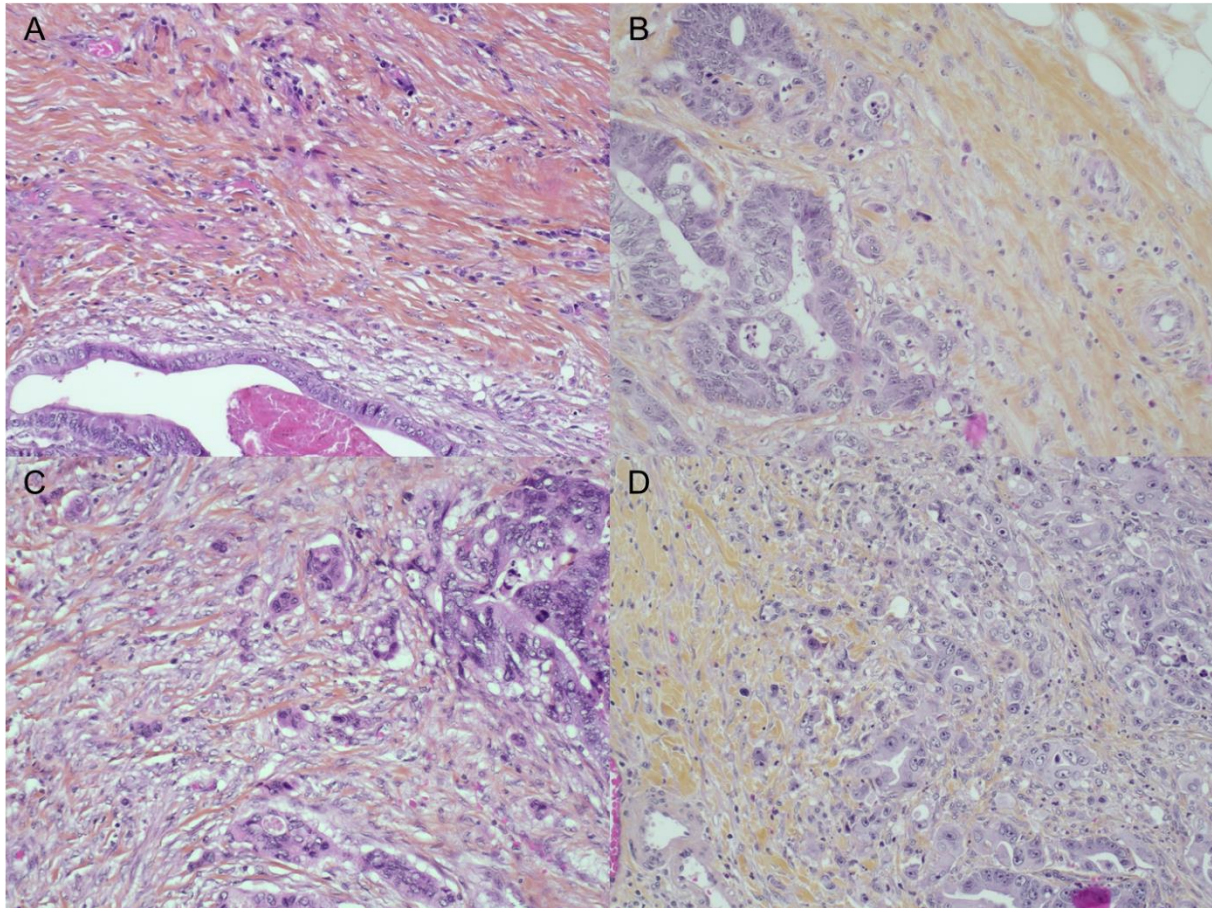


Figure 11 : Illustration du budding. (A et B) Budding grade 1 : sur la (A), il n'est pas observé de cellule isolée se détachant des glandes tumorales. Sur la (B), on observe de deux cellules isolées au niveau du front d'invasion (HES x 200). (C) Budding grade 2 : on observe quelques cellules isolées ou amas de moins de 5 cellules se détachant des glandes tumorales (HES x 200). (D) Budding grade 3 : de nombreuses cellules isolées ou amas de moins de 5 cellules se détachent des glandes tumorales (HES x 200) (76).

Le budding est à différencier des clusters peu différenciés (PDC). Les PDC se caractérisent sur le front d'invasion par des amas tumoraux d'au moins 5 cellules, sans formation de structure glandulaire identifiable. La détermination du grade est identique à la technique utiliser pour grader le budding (*Figure 12*). Les études montrent que la présence de PDC est également un facteur de mauvais pronostic dans les stades pT1, puisqu'il est corrélé à un plus haut risque de métastase ganglionnaire lymphatique. Par ailleurs, il est également observé des altérations plus fréquentes des gènes *KRAS* et *BRAF* dans les CCR avec un grade élevé de PDC (76,80–82).

i. Infiltrat inflammatoire intra-tumoral

L'intensité de l'infiltrat inflammatoire lymphocytaire, en réaction à l'invasion tumorale, constitue un facteur pronostic important. En effet, les patients présentent une meilleure survie globale lorsqu'il existe un important infiltrat inflammatoire lymphocytaire tumoral (83,84). L'étude menée par *Haruki et al* a cherché à

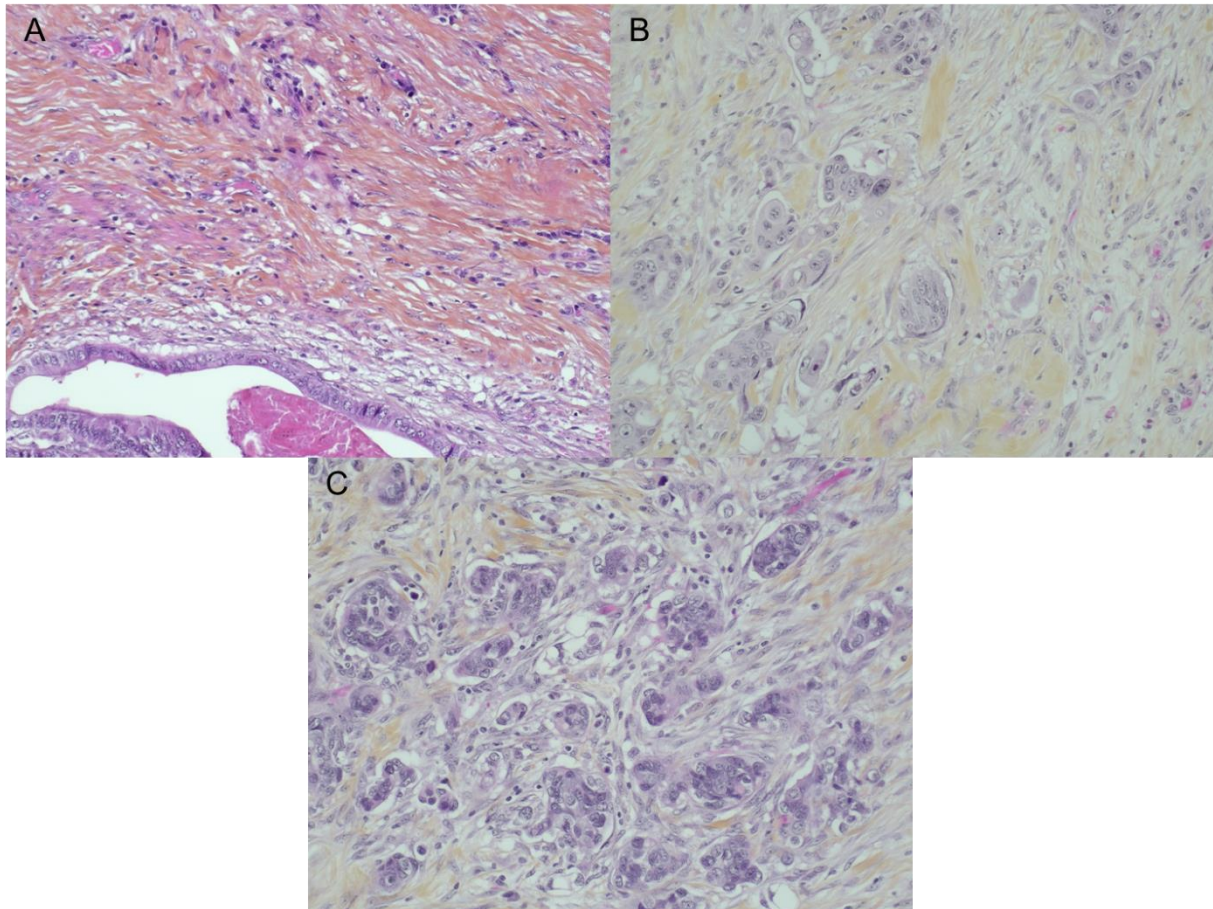


Figure 12 : Clusters peu différenciés (PDC). (A) PDC grade 1 : absence de PDC sur le front d'invasion tumoral (HES x 200). (B) PDC grade 2 : on note la présence de quelques amas de plus de 5 cellules tumorales, sans différenciation glandulaire visible, sur le front d'invasion tumoral (HES x 200). (C) PDC grade 3 : on note plusieurs amas de plus de 5 cellules tumorales, sans différenciation glandulaire visible, sur le front d'invasion tumoral (HES x 200) (76).

caractériser l'impact de cet infiltrat inflammatoire sur la survie des patients atteints d'un CCR en s'intéressant non seulement à l'intensité de l'infiltrat, mais également à sa localisation. Ils ont défini l'intensité de l'inflammation de manière semi-quantitative (coté de 0 (nul), 1+ (faible), 2+ et 3+ (élevé)) (Figure 13), et ont déterminé la localisation de l'infiltrat inflammatoire selon quatre composantes : l'infiltrat inflammatoire transmural (aussi appelé « réaction lymphocytaire Crohn-like », péri-tumoral, intratumoral péri-glandulaire, et les lymphocytes infiltrant la tumeur (TILs). Leurs résultats montrent que les patients présentent une meilleure survie globale lorsque l'infiltrat inflammatoire est modéré ou intense (2+ à 3+), qu'il soit transmural, péri-tumoral ou intra-tumoral péri-glandulaire. Un score 2+ ou 3+ pour les TILs est également corrélé à une meilleure survie des patients (83). L'intensité de l'infiltrat inflammatoire est associée à une localisation proximale, un grade de différenciation bien ou moyennement différencié, un phénotype MSI et la présence

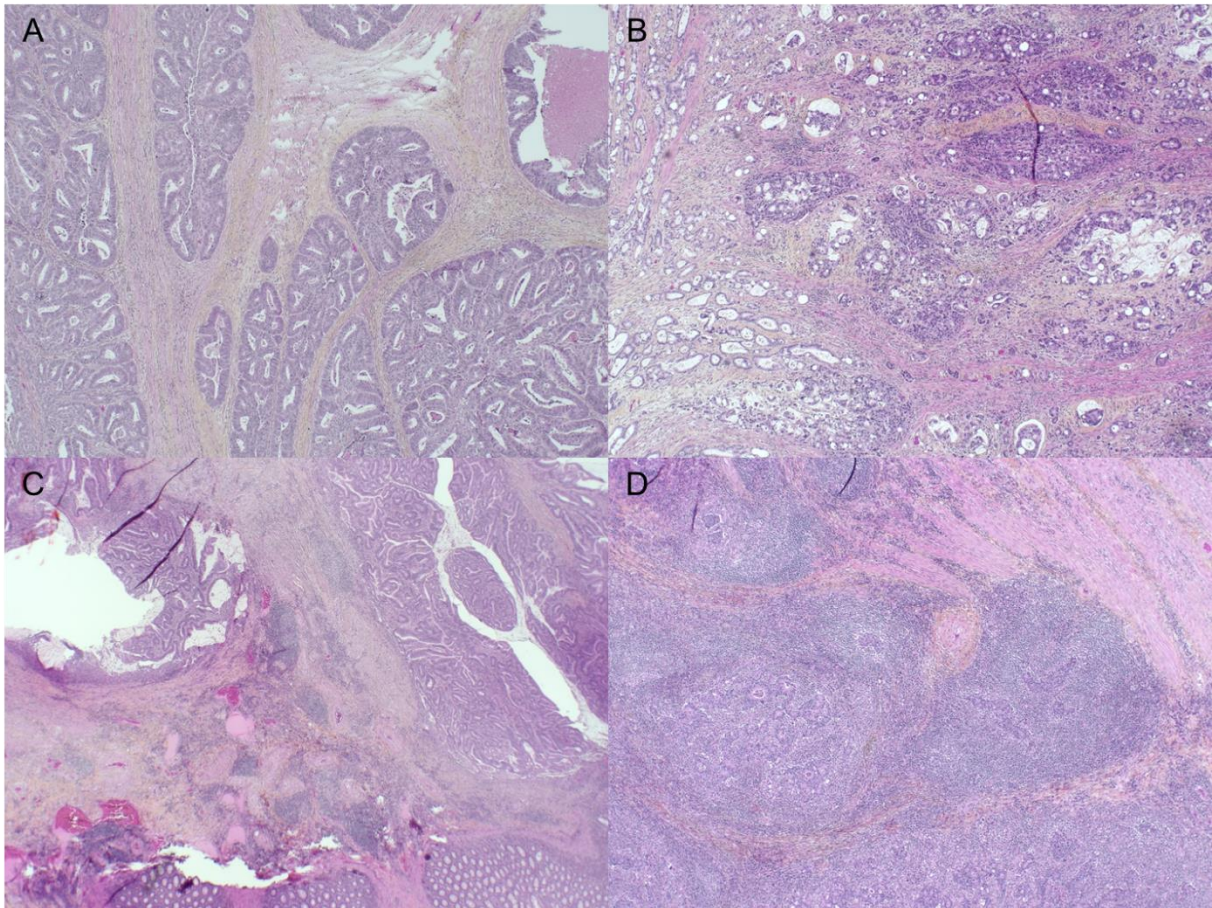


Figure 13 : Illustration de l'intensité de l'infiltrat inflammatoire intra-tumoral et péri-tumoral. (A) Infiltrat inflammatoire faible (HES x 50). (B) Infiltrat inflammatoire modéré (HES x 50). (C) Infiltrat inflammatoire marqué (HES x 20). (D) Infiltrat inflammatoire marqué de type Crohn-like, avec formation d'îlots lymphoïdes à centre germinatif (HES x 50).

d'une mutation du gène *BRAF* ; et l'impact sur la survie des patients apparaît indépendant de ces facteurs (83).

La composition de cet infiltrat semble également avoir un impact significatif sur le pronostic. En effet, la méta-analyse, menée par *Idos et al*, montre que la présence de TILs CD3+ et CD8+, caractéristique des lymphocytes T cytotoxiques, serait de meilleur pronostic. Paradoxalement, la présence de TILs FOXP3+, correspondant à des lymphocytes T régulateurs ayant un rôle immuno-modérateur, serait également de meilleur pronostic (84).

Un intense infiltrat inflammatoire de type Crohn-like est souvent observé dans les CCR de phénotype MSI. Cependant, même si les patients atteints d'un CCR de phénotype MSI, à un stade localisé, présentent une meilleure survie globale, il semble que l'infiltrat lymphocytaire intra-tumoral soit un facteur histopronostique indépendant du phénotype micro-satellitaire (83–85).

j. Marges de résection

La positivité des marges de résection est un critère important, notamment sur le risque de récurrence locale. On distingue d'une part les marges proximale et distale, et d'autre part la marge circonférentielle. Ces marges minimales d'exérèse étaient initialement définies à 5 cm dans les années 1950 (86), mais les études ont ensuite montré que des marges de résection à 1 cm pour les tumeurs du rectum étaient suffisantes (87). Actuellement, ces marges sont fixées à 5 cm pour les tumeurs coliques, et 1 cm pour les tumeurs du rectum (88,89).

La mesure de la marge circonférentielle s'applique aux cancers du rectum. Bien que des études tendent à montrer l'importance de l'évaluation de la marge circonférentielle sur des cancers du caecum, il n'y a actuellement pas encore assez de preuves, par rapport aux cancers du rectum (39). On évalue à l'état frais la qualité de l'exérèse du mésorectum en 3 catégories (90,91) :

- Exérèse complète : le mésorectum présente un aspect lisse, sans perte de substance de plus de 5 mm, sans aspect conique distal, et la marge circonférentielle apparaît intacte et lisse
- Exérèse presque complète : le mésorectum est modérément épais, mais présente une perte de substance de plus de 5 mm, un aspect conique distal modéré, la marge circonférentielle apparaît irrégulière, sans que la musculature ne soit visible.
- Exérèse incomplète : le mésorectum est peu épais, il présente une perte de substance avec musculature apparente, la marge circonférentielle présente un aspect très irrégulier.

Une fois la pièce fixée et encrée, la tumeur est échantillonnée, puis la marge circonférentielle est mesurée à partir de la structure tumorale la plus proche, que ce soit la tumeur primitive, un ganglion métastatique ou un dépôt tumoral. Une marge circonférentielle inférieure à 1 mm est considérée comme positive (R1), cependant il apparaît qu'une marge comprise entre 1 et 2 mm soit liée à un risque significatif de rechute locale (89).

k. Evaluation de la régression tumorale

Tableau 2 : Comparaison des classifications établies par Dworak et par l'AJCC, 7^e édition (39,93). TRG : Tumor Regression Grade

	Dworak	AJCC 7 ^e édition
TRG 0	Grade 4 : Absence de cellule tumorale résiduelle	Absence de cellule tumorale résiduelle
TRG 1	Grade 3 : rares cellules tumorales, dispersées dans un tissu fibreux, avec ou sans plages mucoïdes	Cellules tumorales isolées ou en petits amas
TRG 2	Grade 2 : Remaniements fibreux prédominants avec quelques cellules tumorales isolées ou en amas	Cellules tumorales résiduelles avec réponse desmoplastique
TRG 3	Grade 1 : masse tumorale prédominante, avec fibrose	Preuves minimales de réponse tumorale
TRG 4	Grade 0 : absence de régression	-

En fonction du stade évolutif d'un CCR, les patients peuvent recevoir une chimiothérapie adjuvante pour les cancers coliques, ou une radio-chimiothérapie néo-adjuvante pour les cancers rectaux. L'efficacité des traitements néo-adjuvants peut être déterminée par l'évaluation de la régression tumorale histologique (89,92).

Plusieurs classifications ont été mises au point pour évaluer la réponse histologique dans les suites d'une chimiothérapie néo-adjuvante. La classification établie par *Dworak et al*, la plus ancienne, est encore largement utilisée (93). Cependant, ces différentes classifications souffrent de problèmes de reproductibilité et d'une mauvaise concordance inter-observateurs (92). *Trakarnsanga et al* ont observé que la classification établie par l'AJCC, 7^e édition semblait la plus reproductible chez les patients avec un cancer rectal à un stade avancé (*Tableau 2*) (39,94).

7. Prise en charge thérapeutique

La prise en charge thérapeutique dépend principalement du stade d'évolution de la maladie, mais aussi des différents facteurs pronostiques, et du bilan d'opérabilité du patient. La classification TNM permet de définir les différents stades cliniques, afin de guider la thérapeutique (*Tableau 1*) (88,89). Le traitement des formes non métastatiques repose principalement sur la chirurgie carcinologique, à

laquelle s'adjoint ou non des traitements néo-adjuvants et/ou adjuvants selon le stade établi.

a. Traitement chirurgical

Concernant les cancers coliques de stade non métastatique, l'exérèse doit être faite en monobloc sur le segment colique atteint, avec exérèse du mésocôlon associé, avec des marges de 5 cm minimum et en privilégiant la voie coelioscopique. Les différents types de résection colique sont :

- L'iléo-colectomie droite si la tumeur est située dans le caecum, le côlon droit ou l'angle colique droit
- La colectomie droite avec le transverse, ou la colectomie sub-totale (emportant le côlon gauche, sans le sigmoïde) pour les localisations tumorales dans le côlon transverse
- La colectomie angulaire gauche, l'hémi-colectomie ou la colectomie sub-totale pour les lésions du côlon gauche
- La sigmoïdectomie pour les tumeurs du côlon sigmoïde (88).

Les cancers du rectum sont différenciés selon trois étages (haut, moyen et bas rectum), en fonction de leur distance par rapport à la marge anale. L'étage atteint conditionne la taille des marges de résection nécessaires :

- 5 cm de marge latérale rectale et mésorectale pour les cancers du haut rectum
- Exérèse complète du rectum et mésorectum pour les cancers du moyen rectum
- Exérèse complète du rectum et mésorectum pour les tumeurs du bas rectum, avec possibilité de chirurgie conservatrice du sphincter anal si la tumeur est située à au moins 1 cm de la marge distale, sans envahir les structures musculaires striées. En cas de marge infra-millimétrique ou envahissement des structures musculaires striées, une amputation abdomino-périnéale est nécessaire (89).

b. Traitements adjuvants

En plus de la chirurgie carcinologique, les patients atteints d'un CCR non métastatique peuvent bénéficier d'une chimiothérapie adjuvante pour les cancers du côlon et du haut rectum, ou d'une chimiothérapie associée à une radiothérapie néo-adjuvante et/ou adjuvante dans les cancers du bas et moyen rectum. L'indication d'un traitement adjuvant se discute selon le stade d'évolution de la maladie.

i). Cancers du côlon et du haut rectum :

- Stade I : pas d'indication à un traitement adjuvant, en raison du faible risque de récurrence et des effets indésirables liés à la chimiothérapie
- Stades II : une chimiothérapie peut être discutée selon la présence ou non de facteurs de mauvais pronostic, en classant la tumeur soit en haut risque de récurrence, soit en risque moyen ou faible. Les tumeurs à haut risque de récurrence sont les tumeurs de phénotype MSS avec au moins un des critères suivants : stade pT4, analyse histologique de moins de 12 ganglions lymphatiques, morphologie peu différenciée, présence d'embolie vasculaire ou lymphatique tumoral, présence d'engainement péri-nerveux, perforation ou occlusion digestive. Cependant, les tumeurs de phénotype MSI présentent un bon pronostic même en présence de facteur de mauvais pronostic, et ne constitue pas une indication à la chimiothérapie. Un haut risque de récurrence est une indication potentielle à un traitement adjuvant, à savoir une chimiothérapie à base de fluoro-pyrimidines, ou d'oxaliplatine.
- Stades III : Les patients atteints d'une tumeur de stade III présentent un envahissement ganglionnaire lymphatique, qui est un facteur de mauvais pronostic majeur, et les études ont montré que l'administration d'une chimiothérapie constitue un bénéfice chez ces patients, que la tumeur soit de phénotype MSS ou MSI. Les recommandations préconisent une chimiothérapie à base d'oxaliplatine, associée ou non à des fluoro-pyrimidines. Le caractère bas risque ou haut risque de récurrence conditionne la durée du traitement (88).

ii). Cancers du bas et moyen rectum

L'indication d'un traitement néo-adjuvant, pour les cancers du bas et moyen rectum, est posée en fonction du stade évolutif de la tumeur en imagerie. A partir du stade T2, une radio-chimiothérapie préopératoire est préconisée (89). L'indication d'un traitement adjuvant dépendra des résultats de l'analyse histologique, ainsi que de l'instauration antérieure ou non d'un traitement néo-adjuvant (89) :

- Si un traitement néo-adjuvant a été administré, un traitement adjuvant sera discuté en fonction de l'âge du patient, du stade ypTNM et de la qualité de l'exérèse, cependant il n'existe pas de consensus précis actuellement. La

présence de métastase ganglionnaire lymphatique ou une résection chirurgicale incomplète (R1) constitue un argument en faveur de la chimiothérapie

- S'il n'y a pas eu de traitement néo-adjuvant, un traitement par chimiothérapie, associée ou non à une radiothérapie est proposé en présence de métastase ganglionnaire lymphatique ou de résection R1. Il faut tenir compte de l'âge du patient, notamment pour les patients de plus de 70 ans pour lesquels il peut exister une contre-indication à la radiochimiothérapie déterminée après évaluation gériatrique. Dans ce cas, une chimiothérapie seule peut être proposée.

iii). CCR de stade métastatiques (stade IV)

Parmi les patients atteints d'un CCR, 40 à 60 % d'entre eux présenteront des métastases à distance, hépatiques et/ou extra-hépatiques, dont 25 % seront synchrones. Les différents traitements adjuvants permettent une amélioration de la survie, cependant une rémission complète ou une guérison ne peut être obtenue que par un traitement local chirurgical ou par destruction des métastases (95).

Les indications des différentes modalités thérapeutiques disponibles seront discutées en réunion de concertation pluri-disciplinaire :

- Métastases hépatiques ou extra-hépatiques résécables d'emblées, ou secondairement après traitement adjuvant : l'exérèse chirurgicale de la ou des métastases est effectuée par une hépatectomie, ou par résection atypique de type wedge hépatique, en association avec une chimiothérapie péri-opératoire ou post-opératoire. D'autres alternatives thérapeutiques sont possibles, comme la destruction par radio-fréquence, la radiothérapie stéréotaxique, ou la chimiothérapie intra-artérielle hépatique post-opératoire.
- Métastases non résécables : un traitement par mono-, bi- ou tri-chimiothérapie est indiqué en fonction de l'état général du patient et de l'évolution des métastases. Les thérapies ciblées peuvent être associées, notamment les anti-Vascular Endothelium Growth Factor (VEGF), ou les anti-Epithelial Growth Factor Receptor (EGFR) si la tumeur ne comporte pas de mutation des gènes *KRAS* et *NRAS*. Les traitements anti-PD1 et anti-PD-L1 peuvent se discuter dans le cadre d'essais cliniques pour les tumeurs de phénotype MSI (95).

B. Aspects moléculaires

1. Facteurs prédictifs et théranostiques

Les CCR peuvent présenter des altérations géniques susceptibles de les rendre sensibles à une thérapie ciblée. L'étude de ces marqueurs moléculaires permet donc de prédire une réponse ou une non-réponse à ces thérapies. Dans les CCR, il est recommandé d'étudier :

- Les gènes *KRAS* et *NRAS*, dont la mutation confère une résistance aux anti-EGFR
- Le gène *BRAF*, dont la mutation est un facteur de mauvais pronostic et ne confère pas de bénéfice des anti-EGFR
- L'instabilité microsatellitaire, qui confère un meilleur pronostic mais une moindre efficacité des chimiothérapies à base de fluoro-uracile (39).

a. Mutations des gènes *KRAS* et *NRAS*

L'EGFR est un récepteur transmembranaire, comportant des domaines tyrosines-kinases sur sa portion intracellulaire. Le ligand de l'EGFR, l'Epithelial Growth Factor (EGF) entraîne la dimérisation des EGFR, activant les voies de signalisation des Mitogen-Activated Protein Kinases (MAPK) et PI3K-AKT-mTOR. La voie MAPK comprend notamment les kinases de la famille RAS, codées par les gènes *KRAS*, *NRAS* et *HRAS*. Ces voies de signalisation sont impliquées dans l'initiation de la carcinogenèse, l'invasion, l'angiogenèse, l'inhibition de l'apoptose et la formation de métastase (96).

Les anti-EGFR inhibent la dimérisation des EGFR et l'activation des voies de signalisation impliquées dans la carcinogenèse. Cependant, la présence d'une mutation activatrice sur les gènes *KRAS* ou *NRAS* entraîne une activation constitutive des kinases codées par ces gènes, rendant inefficace les anti-EGFR. Ces deux gènes constituent des facteurs prédictifs de réponse aux anti-EGFR (39,96). Les recommandations actuelles préconisent d'analyser les codons 12, 13, 59, 61, 117 et 146 de ces gènes, en raison de la résistance aux anti-EGFR conférée par ces mutations (39).

b. Mutation du gène *BRAF*

Le gène *BRAF* code pour une sérine/thréonine kinase, impliquée dans la voie de signalisation de l'EGFR. Une mutation sur le codon 600 (mutation V600E) de la

séquence protéique entraîne une activation constitutive de cette kinase (97). La présence de cette mutation est exclusive avec une mutation des gènes *KRAS* ou *NRAS*, et est de mauvais pronostic. Par ailleurs, l'utilisation d'anti-EGFR chez les patients dont la tumeur comporte une mutation *BRAF* n'apporte pas de bénéfice thérapeutique (39,96,97).

La recherche d'une mutation de *BRAF* présente également un intérêt dans les tumeurs de phénotype MSI par inactivation de MLH1-PMS2 ; lorsque cette mutation est présente, elle est associée à une hyperméthylation du promoteur du gène codant pour MLH1, et exclut un syndrome de Lynch (39).

c. Etude du phénotype micro-satellitaire

La recherche d'une instabilité microsatellitaire s'effectue par étude immunohistochimique et/ou en biologie moléculaire. L'étude immunohistochimique s'effectue sur les prélèvements inclus en paraffine, comportant du tissu tumoral, ainsi que du tissu non tumoral comme témoin interne positif, en ciblant MLH1, PMS2, MSH2 et MSH6. Les tissus non tumoraux et les cellules tumorales de phénotype MSS expriment ces 4 protéines, alors que les cellules tumorales de phénotype MSI présentent soit une perte d'expression du couple MLH1-PMS2 ou MSH2-MSH6, soit une perte isolée de PMS2 ou de MSH6 (39,98). Une perte d'expression de MSH2-MSH6 est constitutionnelle et est associée à un syndrome de Lynch, alors qu'une perte de MLH1-PMS2 est le plus souvent liée à une hyperméthylation du promoteur de *MLH1* et est d'origine sporadique (98).

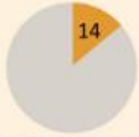

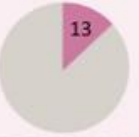
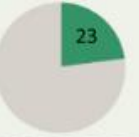
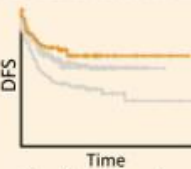
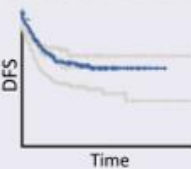
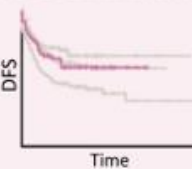
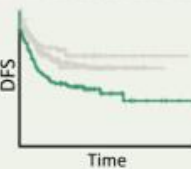
En cas de phénotype MSI en immunohistochimie, il est recommandé de confirmer le résultat par l'étude de l'instabilité micro-satellitaire en biologie moléculaire, en analysant deux séquences microsatellites mononucléotidiques BAT25/26, et trois séquences dinucléotidiques D2S123, D5S346 et D17S250 (98). La tumeur est ensuite classée en pMMR (proficient MisMatchRepair) ou dMMR (deficient MisMatch Repair).

Les tumeurs de phénotype MSI sont associées à une moindre efficacité des chimiothérapies à base de fluorouracile. De plus, les tumeurs de phénotype MSI sans mutation *BRAF* associée sont de bon pronostic (39,98). Des études récentes observent également que ces tumeurs répondent efficacement et de manière prolongée aux anti-PD-L1 (99).

2. Classification moléculaire des cancers colorectaux

La carcinogenèse résulte principalement d'une instabilité micro-satellitaire, d'une instabilité chromosomique ou d'une hyperméthylation des îlots CpG. Cependant, ces trois mécanismes ne permettent pas à eux-seuls de stratifier les différents CCR, puisqu'ils ne prennent pas en compte l'ensemble des mécanismes impliqués dans la carcinogenèse colorectale. Dans cet objectif, plusieurs classifications moléculaires ont été proposées pour classer les CCR en fonction de leur profil d'expression génique et des altérations génomiques et épigénétiques. Le ColoRectal Cancer Sybtyping Consortium (CRCSC) a classé les CCR en 4 groupes, dénommés les Consensus Molecular Subtypes (CMS), en fonction du profil transcriptionnel des tumeurs (100) (Tableau 3). Le CMS1 « voie MSI Immune » correspond aux tumeurs de phénotype MSI, ainsi qu'un phénotype hyperméthylé. Le CMS2 « voie canonique » se caractérise par une instabilité chromosomique et une activation de la voie WNT/MYC. Le CMS3 « voie métabolique » concerne les

Tableau 3 : Description des anomalies moléculaires et de l'altération des voies de signalisation des sous-types moléculaires du CCR (d'après Fessler et al. 2016) (100,101)

	CMS1	CMS2	CMS3	CMS4
Percent of total				
Pathways and programs	JAK/STAT → Immune evasion	Epithelial SRC WNT → MYC	Epithelial Metabolic deregulation	TGFβ → EMT VEGF → Angiogenesis Integrin-β3 → Matrix remodeling
Selected molecular features	MSI+ CIMP+ BRAF ^{V600E}	CIN+	KRAS mutations CIMP ^{low}	CIN+
Microenvironment	Immune infiltrate (e.g., cytotoxic T cells)			High density of stromal cells (e.g., CAFs)
Clinical features	 Good prognosis; poor prognosis after recurrence			 Dismal prognosis
	MSI, immune	Canonical	Metabolic	Mesenchymal

tumeurs peu instables et non hyperméthylées, avec une mutation activatrice du gène *KRAS*. Le CMS4 « voie mésenchymateuse » se rapporte aux tumeurs avec instabilité chromosomique, ainsi qu'une activation des voies du Transforming Growth Factor β (TGF β) et de l'angiogénèse. Le pronostic des patients varie selon le groupe CMS. Les CCR CMS1 sont de meilleur pronostic, alors que les CCR CMS4 sont de mauvais pronostic (100,101).

II. La voie de signalisation RASSF/Hippo

A. Description

La voie de signalisation RASSF/Hippo est constituée de plusieurs membres :

- Des régulateurs, comme les membres de la famille « Ras Associated domain Family » (RASSF)
- Des kinases, constituant le centre de cette voie : les kinases « Mammalian Ste20-like protein » 1 et 2 (MST1 et 2), les kinases « Large Tumor Suppressor » 1 et 2 (LATS1 et 2), et les kinases « Nuclear Dfb2-Related » 1 et 2 (NDR1 et 2)
- Des cofacteurs de transcription « Yes-Associated Protein » (YAP) et « Transcriptional coactivator with PDZ-binding motif » (TAZ).

Dans une cellule saine, les régulateurs de la voie Hippo interagissent avec les

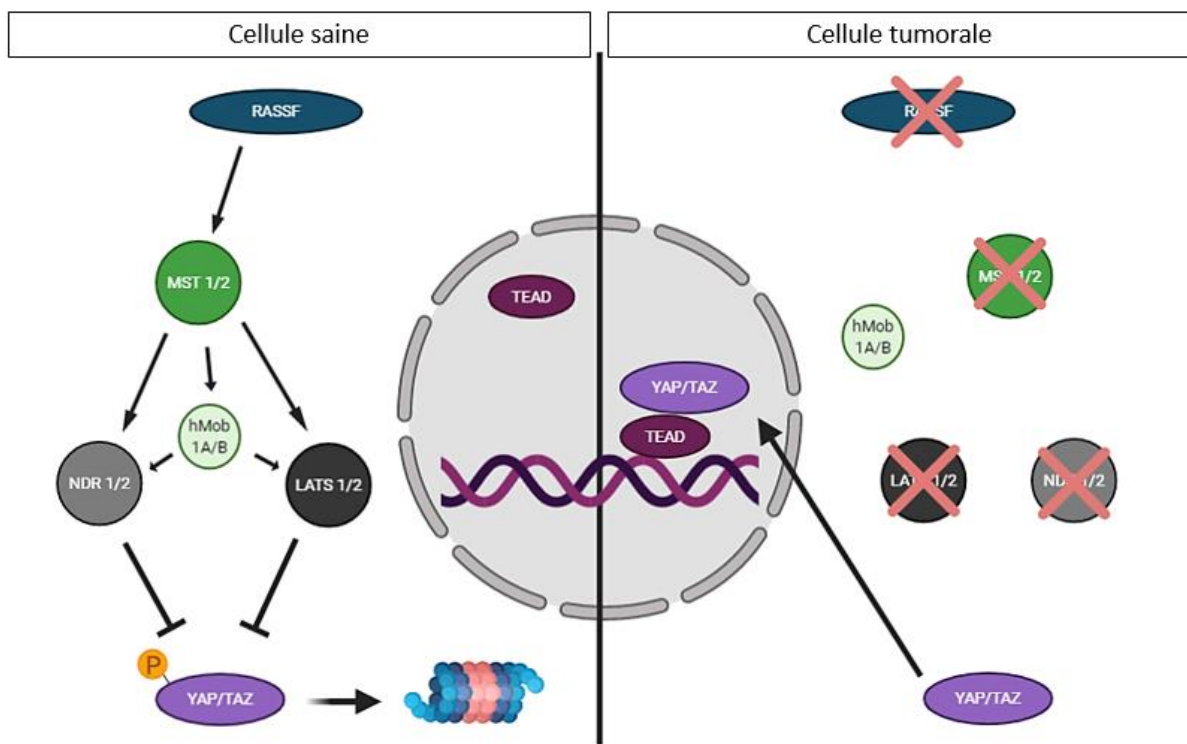


Figure 14 : La voie de signalisation RASSF/Hippo (d'après Zhang et al 2015 (42); Dubois et al 2016 (43))

Dans une cellule saine, certains membres de la famille RASSF, notamment RASSF1A et RASSF2A régulent l'activation par phosphorylation des kinases MST1/2. Ces kinases vont, à leur tour, phosphoryler les kinases NDR (LATS1/2 et NDR1/2) L'activation de ces kinases NDR est amplifiée par hMOB1, qui joue un rôle de co-activateur. Les kinases NDR vont ensuite phosphoryler les cofacteurs de transcription YAP et TAZ, entraînant leur séquestration cytoplasmique, et leur dégradation par le protéasome. L'inactivation de l'un des membres de la voie RASSF/Hippo par hyperméthylation de son promoteur permet à YAP et TAZ de s'accumuler sous leur forme non phosphorylée, et d'être transloqués dans le noyau, où ils activeront la transcription de gènes (en association avec le facteur de transcription « TEA Domain family member » (TEAD)) liés à la prolifération, la migration cellulaire et la résistance à l'apoptose. (Créé avec BioRender.com)

kinases MST1/2, et régulent leur activité. Activées par phosphorylation, MST1/2 phosphorylent alors les kinases LATS1/2 et NDR1/2. A leur tour, ces kinases vont phosphoryler YAP et TAZ. La phosphorylation de ces cofacteurs de transcription entraîne leur séquestration intra-cytoplasmique, leur ubiquitinylation et leur destruction dans le protéasome. Lorsque l'un des membres de la voie RASSF/Hippo est inactivé généralement par hyperméthylation de son promoteur, YAP et TAZ sont alors anormalement activés (forme déphosphorylée), et se transloquent dans le noyau pour activer la transcription de gènes liés à la prolifération, la migration cellulaire, et la résistance à l'apoptose (Figure 14) (102–106).

1. Les régulateurs RASSF

Les régulateurs RASSF constituent une superfamille de dix membres de protéines, numérotées de 1 à 10. Ces protéines possèdent deux domaines principaux : un domaine « Ras-association » leur permettant d'interagir avec la protéine Ras, et un domaine SARAH pour « Sav/RASSF/Hippo », permettant les interactions avec d'autres protéines présentant également ce domaine, telles que les kinases MST (107). L'implication de l'altération de l'expression des membres de la famille RASSF a été étudiée dans de nombreux cancers, les mieux caractérisés étant les familles RASSF1 et RASSF2 (107).

a. RASSF1

Le gène *RASSF1* est situé en 3p21.3 ; il est dirigé par deux promoteurs, qui, associés à un épissage alternatif, peuvent produire huit isoformes, nommées RASSF1A à H. Les isoformes les mieux caractérisées sont RASSF1A et RASSF1C (Figure 15) (107–109). RASSF1A intervient dans plusieurs mécanismes cellulaires comme l'apoptose, la différenciation cellulaire *via* notamment la polymérisation des éléments du cytosquelette (actine et microtubules), et le cycle cellulaire. RASSF1A assure ces multiples rôles en interagissant notamment avec les kinases MST1 et MST2 en les activant par phosphorylation, et contrôlant ainsi la voie de signalisation Hippo (107,108).

L'inactivation de RASSF1A par hyperméthylation du promoteur de *RASSF1* est étudiée dans de nombreux cancers. Dans les cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules, l'inactivation de RASSF1A induit la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT) des cellules tumorales, à l'origine d'une augmentation de

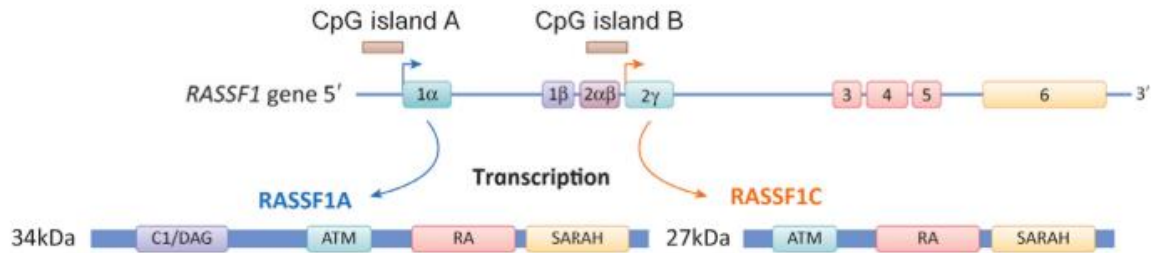


Figure 15 : Constitution des isoformes RASSF1A et 1C (109)

Le gène RASSF1 code huit isoformes, nommées RASSF1A à H, étant dirigé par deux promoteurs et suite à un épissage alternatif. Les isoformes les mieux caractérisées sont RASSF1A et RASSF1C. Elles possèdent un domaine ATM permettant la phosphorylation par la kinase « Ataxia Telangectasia Mutated (ATM), un domaine RA (Ras Associated) qui correspond au domaine d'association avec des protéines de la famille Ras, et un domaine SARAH (Sav-RASSF-Hippo) qui permet d'interagir avec des protéines comportant ce domaine (notamment les kinases MST). Contrairement à RASSF1A, RASSF1C est dépourvu de domaine C1/DAG. Malgré leur forte homologie de séquence, RASSF1A et RASSF1C ont des rôles opposés dans la carcinogénèse : RASSF1A ayant un rôle suppresseur de tumeur, et RASSF1C se comportant à l'inverse comme oncogène.

leurs propriétés invasives et de leur capacités à former des métastases à distance, et pouvant donc être un facteur indépendant de mauvais pronostic (106,110,111).

L'isoforme RASSF1C diffère de RASSF1A au niveau de son extrémité N-terminale, qui ne possède pas de domaine C1/DAG (domaine de liaison au diacylglycérol). A l'inverse de RASSF1A, l'expression de RASSF1C est conservée dans les cellules tumorales (109,112). RASSF1C présente un rôle pro-tumoral ; en effet, une surexpression de RASSF1C serait corrélée à un profil plus invasif des cellules tumorales et à une moins bonne survie des patients atteints d'un cancer broncho-pulmonaire (109).

b. RASSF2

Le gène *RASSF2*, localisé en 20p13, peut produire 3 isoformes, nommées RASSF2A à C. Les isoformes A et C possèdent un domaine d'association à Ras, comme RASSF1A (Figure 16) (113). RASSF2A est principalement de localisation nucléaire ; son interaction avec les kinases MST1/2 permet sa translocation cytoplasmique, et l'activation par phosphorylation des kinases MST1/2 (113,114). Par ailleurs, *Song et al* ont observé *in vivo* chez des souris déficientes pour MST1 que l'expression et la stabilité de RASSF2A sont réduites en l'absence de MST1 (115). RASSF2A présente plutôt un rôle suppresseur de tumeur, notamment en activant « c-Jun N-terminal kinase » (JNK), qui provoque la condensation de la chromatine lors de l'apoptose (114).

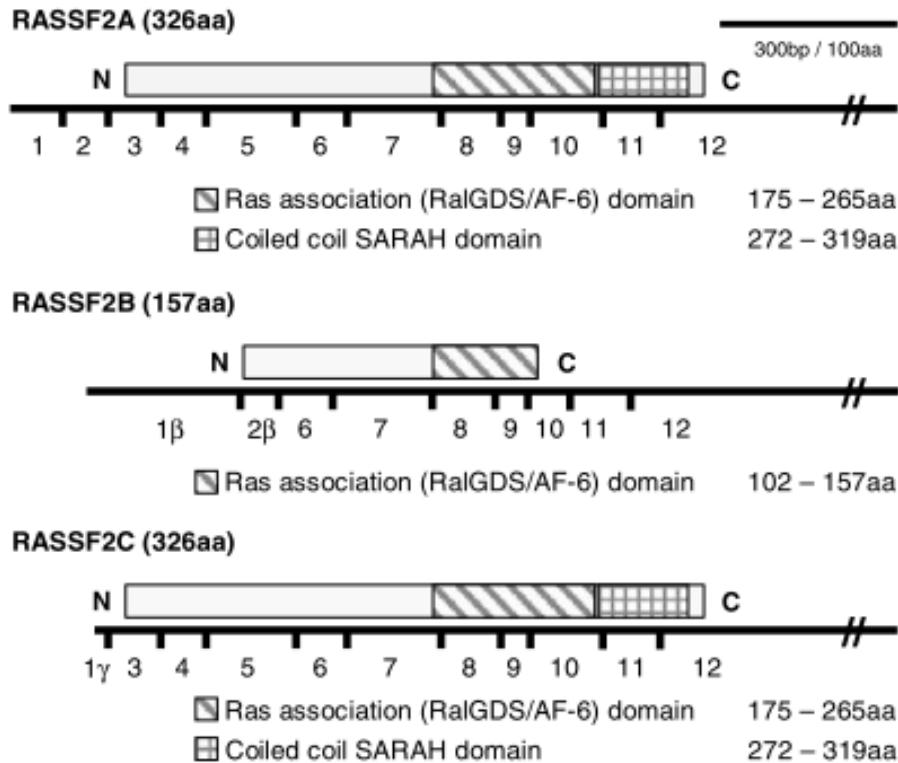


Figure 16 : Constitution des isoformes codées par le gène *RASSF2* (113)

Le gène *RASSF2* code pour trois isoformes : RASSF2A à C. RASSF2A et RASSF2C possèdent un domaine d'association à Ras, ainsi qu'un domaine Sav-RASSF-Hippo (SARAH), leur permettant d'interagir avec d'autres protéines possédant un domaine SARAH.

2. Les kinases MST

La famille des MST comprend cinq protéines apparentées chez le mammifère : MST1 (*STK4*), MST2 (*STK3*), MST3 (*STK24*), MST4 (*STK26*) et YSK1 (*STK25* ou *SOK1*). Ces kinases sont des membres de la superfamille « STE » (116). Les kinases MST1 et MST2, les mieux caractérisées des kinases MST, sont des sérine/thréonine kinases. Elles possèdent un domaine SARAH, qui leur permet de s'homodimériser ou s'hétérodimériser avec d'autres protéines possédant également un domaine SARAH. Elles sont activées par phosphorylation d'un résidu thréonine (Thr183 et Thr180 respectivement pour MST1 et MST2). Phosphorylées, elles activent les kinases NDR, à savoir LATS1/2 et NDR1/2, en les phosphorylant, ainsi que hMob1A et hMob1B, qui participent à l'activation des kinases NDR (117,118).

3. Les kinases NDR

Les kinases NDR sont constituées de quatre membres, les kinases LATS1 et LATS2, et les kinases NDR1 et NDR2 codées respectivement par les gènes *STK38*

et *STK38L*. Les kinases NDR ont pour substrats les cofacteurs de transcription YAP et TAZ (103,105). De par leur forte homologie, les kinases NDR assurent plusieurs fonctions communes, mais leur spécificité protéique leur permet également d'assurer des fonctions propres.

a. Les kinases LATS1 et LATS2

Les kinases LATS1 et LATS2 sont des sérine/thréonine kinases, dont les gènes sont situés respectivement en 6q24-25 et 13q11-12. Elles régulent non seulement les effecteurs terminaux de la voie Hippo, mais interviennent également dans la régulation du cycle cellulaire : LATS1 inhibe le cycle cellulaire pendant la transition G2/M en inhibant l'activité de la kinase *cdc2* ; alors que LATS2 peut bloquer le cycle cellulaire en phase G1/S en inhibant le complexe Cycline E/CDK2 (103).

b. Les kinases NDR1 et NDR2

Les kinases NDR1 et NDR2 sont des sérine/thréonine kinases, qui sont activées par MST1 et 2 comme déjà stipulé, mais également par MST3 (qui, elle, n'interagit pas avec les kinases LATS1 et LATS2) et des kinases de la famille MAP4K (119). Les kinases NDR1/2 régulent non seulement les effecteurs terminaux de la voie Hippo, mais elles jouent également un rôle dans la régulation du cycle cellulaire en phase G1/S en interagissant avec *c-myc* et *p21*, dans la formation d'autophagosomes, dans la réparation des dommages à l'ADN *via* le système de réparation « Nucleotid Excision repair » (NER) en interagissant avec la protéine « Xeroderma Pigmentosum A » (XPA), dans l'autophagie et la migration cellulaire (119).

Cependant, le rôle des kinases NDR1/2 dans la carcinogenèse est encore débattu, avec des résultats parfois contradictoires dans la littérature. En effet, *Zhang et al* ont observé sur des cellules progénitrices cryptiques intestinales que la perte de NDR2 provoque l'activation de YAP et favorise la tumorigenèse des cellules épithéliales intestinales (105), alors que *Keller et al* ont observé sur des lignées épithéliales broncho-pulmonaires tumorales que NDR2 semble jouer un rôle pro-métastasant (120).

4. Les cofacteurs de transcription YAP et TAZ

Les protéines YAP et TAZ sont des cofacteurs transcriptionnels. Sous forme phosphorylée, ils sont séquestrés dans le cytoplasme par la protéine chaperonne 14-3-3, conduisant à leur ubiquitinylation, et à leur destruction dans le protéasome. Sous forme déphosphorylée, ils peuvent transloquer dans le noyau et interagir avec des facteurs de transcription, préférentiellement avec « TEA Domain family member » (TEAD), ce qui induit la transcription de gènes impliqués dans la prolifération et la migration cellulaire, la résistance à l'apoptose et l'EMT (106).

YAP et TAZ sont régulés par plusieurs voies. Comme décrit plus haut, ils sont inhibés par phosphorylation par les kinases NDR : il s'agit de la voie de régulation « canonique » de YAP/TAZ. Il existe également une voie de régulation « non canonique », impliquant divers autres mécanismes dont la densité cellulaire, la rigidité de la matrice extracellulaire, ou l'activation de récepteurs couplés aux protéines G. Il est ainsi rapporté que la GTPase RhoA favorise la localisation nucléaire de YAP (121), alors que RhoB la prévient (106). YAP/TAZ peuvent également être séquestrés par le complexe de destruction de la β -caténine. Lorsque la voie Wnt/ β -caténine est activée, Wnt inhibe ce complexe, ce qui libère YAP/TAZ qui peuvent alors transloquer dans le noyau (122). L'hypoxie, qui correspond à un apport insuffisant d'oxygène au sein d'un tissu, participe également à la translocation nucléaire de YAP/TAZ, via « Hypoxia Inducible Factor » (HIF) (123).

L'activation anormale de YAP/TAZ est impliquée dans la tumorigenèse de plusieurs cancers, et cette dérégulation induit des capacités migratoires et invasives plus importantes des cellules tumorales (106,124). *Han et al* ont observé que l'expression de YAP dans les carcinomes hépato-cellulaires est corrélée à un moins bon pronostic (125), et la même corrélation est observée dans les sarcomes (126).

B. Place de la voie RASSF/Hippo dans la carcinogénèse colique

Les données de la littérature concernant l'altération de la voie RASSF/Hippo dans les CCR sont encore parcellaires, et parfois contradictoires. Certains arguments laissent cependant à penser que des altérations de cette voie de signalisation seraient impliquées dans la transformation et la dissémination des cellules tumorales coliques, comme observé dans d'autres cancers. En effet, Il a été décrit que la

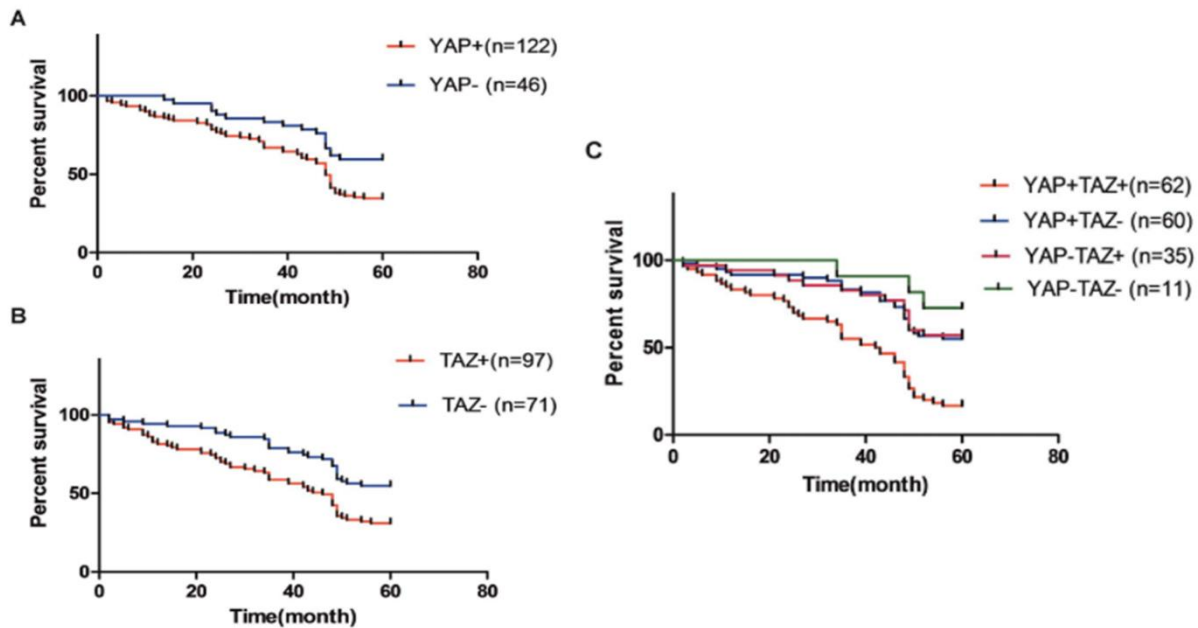


Figure 17 : Courbes de survie globales des patients atteints d'un cancer colorectal en fonction de l'expression de YAP et TAZ (127)

Corrélation entre la survie globale des patients atteints d'un cancer colorectal et l'expression de YAP (A), ou TAZ (B), ou les expressions associées de YAP et TAZ (C) par les cellules tumorales. L'expression de YAP et TAZ par les cellules tumorales est corrélée au mauvais pronostic des patients, tandis que l'expression seule de YAP ou TAZ est de pronostic intermédiaire.

surexpression de YAP dans les cancers coliques favorise la prolifération des cellules tumorales, ainsi que l'apparition de métastases à distance, et constitue un facteur pronostique indépendant de la survie des patients (Figure 17) (127). Cette surexpression pourrait résulter d'une inactivation de l'un des membres de la voie RASSF/Hippo, par hyperméthylation de promoteur. Il a été décrit, pour les cancers colorectaux, une hyperméthylation du promoteur du gène *RASSF1*, et en particulier du gène *RASSF2*, puisque l'hyperméthylation du promoteur de *RASSF2* est observé entre 42 et 70% des cas, alors que le promoteur de *RASSF1* est méthylé dans 15 à 45% des cas (113,128,129). *Wierzbicki et al* ont étudié l'expression et le statut de méthylation du promoteur de *LATS1*, et ils ont observé que l'expression de *LATS1* est fréquemment inactivé (89,4% des cas), et que le promoteur de son gène est hyperméthylé dans 57% des cas (130). Par ailleurs, ces kinases peuvent être inactivées par les microARN. Par exemple, le miR-590-3p cible l'ARNm de *LATS1*, et le miR-103 cible l'ARNm de *LATS2* (131,132). Et ces micro-ARN augmentent les capacités d'invasion et de migration des cellules tumorales coliques (131,132). D'autre part, il est décrit qu'une perte de *NDR2* favorise la prolifération des cellules intestinales cryptiques, ainsi que la tumorigenèse. De plus, la perte de *NDR2* serait un événement de survenue précoce, puisqu'observé au stade d'adénome (105).

La suractivité de YAP dans certaines cellules tumorales pourrait être également liée au microenvironnement tumoral, en particulier par son caractère hypoxique. L'hypoxie, décrite dans toutes les tumeurs solides y compris dans les CCR, joue un rôle majeur dans les cancers, car elle régule l'expression de plusieurs gènes associées à la néoangiogenèse, l'invasion tumorale, la dissémination métastatique et la résistance aux traitements anti-tumoraux (123). Notamment, le facteur de transcription HIF-2 favorise la croissance des cellules tumorales coliques en potentialisant l'activité de YAP (123). Un autre membre de la famille HIF, HIF-1 α , maintient le caractère indifférencié des cellules souches dans les niches de cellules souches coliques, *via* la voie Notch1, et favorise l'EMT (127).

Partie II :

I. Objectifs

Les objectifs de ce travail étaient, à partir d'une cohorte rétrospective de patients atteints d'un cancer colique et opérés au CHU de Caen, de localisation et de stade variables :

- D'étudier l'impact de facteurs histo-pronostiques sur la survie globale et sans récurrence des patients
- D'évaluer la fréquence de méthylation du promoteur des gènes impliqués dans la voie RASSF/Hippo, ainsi que l'impact sur la survie globale et sans récurrence des altérations de cette voie de signalisation.

II. Matériels et méthodes

A. Matériels

1. Population étudiée

Nous avons sélectionné une population rétrospective de patients opérés d'un cancer colique au CHU de Caen à partir de janvier 2010. Tous les patients ont été sélectionnés de manière continue sans tenir compte du stade de la maladie. Tous les patients atteints de cancer du rectum ont été écartés du fait de la réalisation d'une radiothérapie néo-adjuvante, pouvant être à l'origine d'altérations génomiques et moléculaires des cellules tumorales. L'étude comprend 229 patients opérés de janvier 2010 à septembre 2013.

2. Données cliniques

Les données cliniques de chaque patient ont été recueillies sur le serveur du CHU (logiciel Référence), dans les dossiers cliniques des patients ou après appel téléphonique. Ces informations concernent principalement la localisation colique droite ou gauche de la tumeur, la date opératoire, le caractère occlusif ou non, la présence de métastase synchrone hépatique ou extra-hépatique, l'apparition d'une récurrence, avec sa date de découverte et un traitement éventuel. L'administration d'une chimiothérapie adjuvante, d'une chimiothérapie adjuvante en première, deuxième ou troisième ligne, et les différentes thérapeutiques utilisées ont été également recueillies. Enfin, afin d'établir des données de survie globale et sans récurrence, la date des dernières nouvelles et la date de décès ont été récupérées parfois après appel téléphonique. La date de point a été fixée au 30/06/2018.

3. Critères morphologiques

Les critères morphologiques d'intérêt ont été recueillis sur le compte-rendu macroscopique et tous les critères histologiques ont été analysés et revus par deux pathologistes (Docteur Céline BAZILLE et Marc RIFFET) sur les lames histologiques, colorées à l'Hématoxyline Eosine Safran :

- Taille de la tumeur en centimètre
- Grade de différenciation : bien différencié, moyennement différencié, peu différencié, variant mucineux
- Stade pTNM selon la classification de l'UICC de 2017 (8e édition)

- Présence ou absence d'embolies tumorales lymphatiques et/ou vasculaires
- Présence ou absence de dépôts tumoraux
- Le « budding » a été évalué sur le front d'invasion tumoral et classés en 3 grades.
- Les PDC ont été évalués sur le front d'invasion tumoral et classés en 3 grades.
- L'intensité de l'infiltrat inflammatoire intra-tumoral et péri-tumoral. Cet infiltrat a été classé en 4 grades, de manière semi-quantitative : faible, modérée, marquée, et de type Crohn-like avec formation de follicules lymphoïdes à centre germinatifs
- Le type de stroma, défini comme mature (fibreux), intermédiaire (fibreux avec la présence de fibres chéloïdes) ou immature (myxoïde)
- Le front d'invasion, bien délimité (de type « pushing ») ou mal délimité (de type infiltrant).

B. Méthodes

1. Coloration standard HES

Les pièces opératoires, parvenues à l'état frais, sont ouvertes le long du bord anti-mésocolique, puis sont placées dans du formol pendant 24h à 48h, selon la taille du prélèvement. Une fois fixée, la tumeur est échantillonnée, et les ganglions lymphatiques sont prélevés dans le mésocôlon adhérent et placés dans des cassettes identifiées.

Les prélèvements ont suivi le circuit habituel des prélèvements fixés et inclus en paraffine. Brièvement, les prélèvements sont d'abord déshydratés par des bains d'alcool de degré croissant, puis en bain de xylène et en paraffine liquide. Après inclusion en paraffine, des coupes de 3 µm sont effectuées sur le bloc au microtome, et déposées sur une lame de verre. Les lames sont ensuite déparaffinées et colorées en HES (Hématoxyline, Eosine, Safran) dans l'automate de coloration.

2. Etude du phénotype micro-satellitaire par immunohistochimie

Les coupes sont effectuées à partir des prélèvements inclus en paraffine, d'une épaisseur de 3µm, puis déposées sur lame de verre. Les lames sont ensuite placées dans l'automate Ventana Benchmark ULTRA. Les coupes sont

déparaffinées par chauffage à 72°C, puis réhydratées. Elles sont ensuite incubées à 95°C, puis dans du tampon « Cell Conditioning », afin de démasquer les épitopes d'intérêt. Les coupes sont rincées dans du tampon de réaction « Reaction Buffer », puis sont incubées avec l'anticorps primaire (anti-MLH1, anti-PMS2, anti-MSH2 ou anti-MSH6) sous forme pré-dilués en kit, puis lavées avec du tampon de réaction. Après un nouveau rinçage avec le tampon de réaction, les coupes sont incubées, soit avec l'anticorps secondaire couplé à la peroxydase pour les anti-MLH1, anti-MSH2 et anti-MSH6, soit avec un anticorps secondaire puis un anticorps tertiaire couplé à la peroxydase pour l'anti-PMS2, puis rincées. La révélation se fait avec le chromogène 3,3'-diaminobenzidine (DAB), substrat de la peroxydase, et dont le produit de dégradation donnera une couleur brune sur les lames. Une contre-coloration par incubation dans de l'hématoxyline et du « buing reagent » permettra de reconnaître les noyaux des cellules lors de l'interprétation de la coloration immunohistochimique, colorés en bleu.

3. Recherche de mutation des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*

La recherche des mutations des gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF* est effectuée au sein du Laboratoire de Biologie et Génétique du Cancer du Centre de Lutte Contre le Cancer François Baclesse. L'ADN est extrait à partir des prélèvements tumoraux inclus en paraffine, sur la plateforme GENECAN, puis adressé au laboratoire. Les mutations de ces gènes sont recherchées par pyroséquençage.

4. Etude du statut de méthylation des membres de la voie RASSF/Hippo

a. Extraction d'ADN

L'extraction d'ADN est effectuée avec le kit Maxwell® RSC DNA FFPE. Pour chaque bloc, 4 coupes de 10 µm d'épaisseur sont réalisées au microtome, placées dans un tube Eppendorf puis recouvertes de 300 µL d'huile minérale. Le tube est alors incubé à 80°C pendant deux minutes, pour liquéfier la paraffine. La lyse des cellules est obtenue avec 250µL d'une solution de lyse (composée de tampon de lyse Lysis Buffer, de protéinase K, et de Blue Dye qui colore la phase aqueuse contenant les ADNs en bleu), puis le lysat est homogénéisé et centrifugé à 10 000 x g pendant 1 minute, pour permettre la séparation des différentes phases. Le tube est ensuite incubé à 56°C pendant la nuit, puis à 80°C pendant 4 heures, et à

température ambiante pendant 5 minutes. La phase aqueuse est transférée dans une cartouche Maxwell® FFPE Cartridge ; la cartouche est ensuite insérée dans l'automate Maxwell® RSC, qui capture l'ADN via des billes magnétiques, puis purifie l'ADN en passant successivement dans les puits de la cartouche. Les ADN sont ensuite élués par l'automate dans 50 µL d'eau nuclease-free. La concentration d'ADN est mesurée pour chaque lignée par spectrophotométrie au Nanodrop™ et leur pureté appréciée en considérant les ratios de DO 230/280 et 260/280. Les ADN sont stockés à -20°C.

b. Conversion au bisulfite de sodium

Pour évaluer le statut de méthylation des promoteurs des gènes d'intérêt, les ADN, extraits des cultures cellulaires et des blocs tumoraux de patients, sont traités au bisulfite de sodium, qui convertit uniquement les cytosines non méthylées en uraciles (*Figure 18*). La conversion est réalisée avec le kit EpiTec®Bisulfite

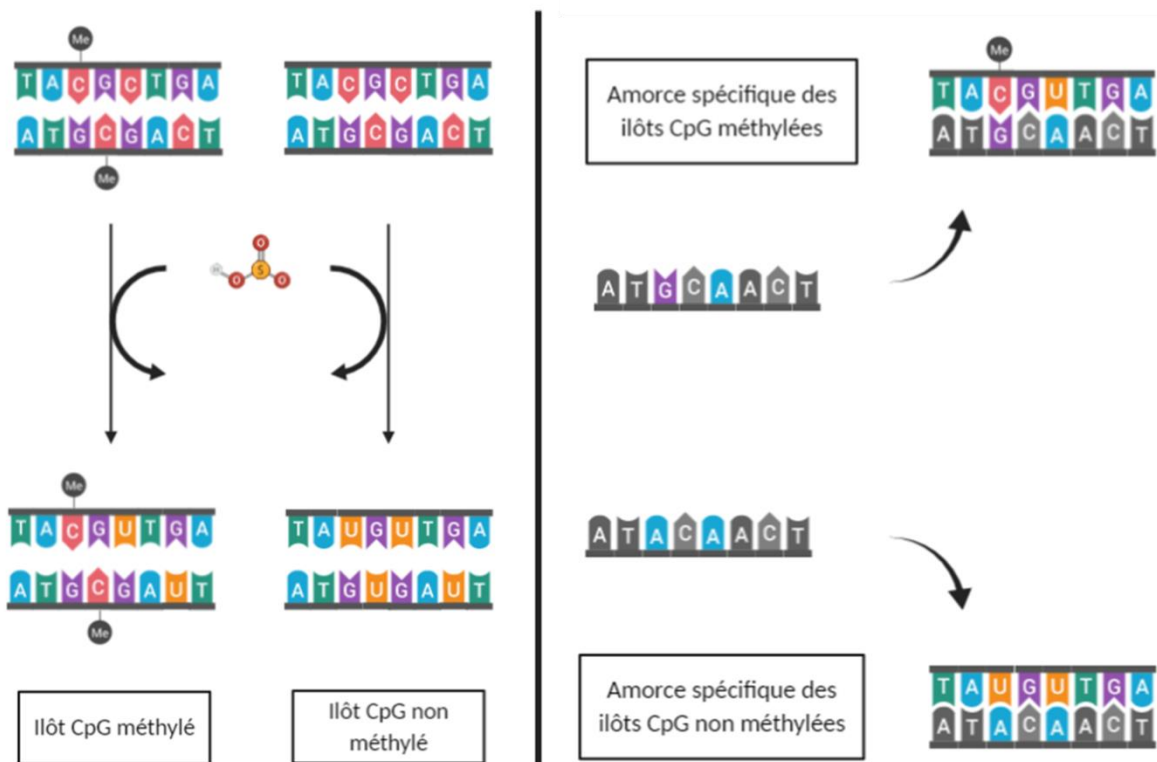


Figure 18 : Principe de la conversion au bisulfite de sodium et de la MS-PCR

Les ADN extraits des blocs tumoraux sont traités avec du bisulfite de sodium, pour discriminer le statut méthylé ou non méthylé des promoteurs des gènes *RASSF1/2*, *MST1/2* et *LATS1/2*. (A) Une fois les ADN double brins dénaturés, le bisulfite de sodium convertit les cytosines non méthylées en uracile. Les cytosines méthylées ne sont pas converties. (B) La réaction d'amplification par PCR utilise deux couples d'amorces distincts, ayant des tailles différentes : des amorces spécifiques des séquences méthylées (en haut), et des amorces spécifiques des séquences non méthylées (en bas). Les produits de PCR sont ensuite séparés sur gel d'agarose. (Créé avec BioRender.com)

(QIAGEN). Cinq cents ng (ADN extrait des lignées cellulaires) ou 1000ng (ADN extrait des prélèvements tumoraux inclus en paraffine) d'ADNs sont mélangés à 140 µL de mix de bisulfonation (contenant le bisulfite de sodium, un tampon de protection de l'ADN ("DNA protect buffer"), et d'eau nuclease-free). La réaction de bisulfonation se réalise au thermocycleur réalisant 3 cycles de dénaturation (5 minutes à 95°C) et d'incubation (25 minutes, 1h25 et 2h55 à 60°C).

Une fois la réaction terminée, les ADNs convertis sont purifiés en étant incubés en présence de 560 µL de tampon "BL" puis transférés sur une colonne. Après centrifugation, un lavage est effectué avec 500 µL de tampon "BW", suivi d'une nouvelle centrifugation, puis les ADNs convertis sont incubés en présence de 500 µL de tampon de désulfonation "BD" pendant 15 minutes à température ambiante. La colonne est ensuite centrifugée, puis deux lavages successifs avec du tampon "BW" sont réalisés. L'élution des ADNs convertis se fait avec 20 µL de solution d'élution "EB" par centrifugation. Les cytosines non méthylées, converties en uraciles par la réaction de bisulfonation, sont transformées en thymidine lors de l'amplification par Polymerase Chain Reaction (PCR).

c. PCR spécifique de méthylation (MS-PCR)

Pour chaque ADN, deux réactions d'amplification vont ainsi avoir lieu pour déterminer la présence ou l'absence de méthylation du promoteur considéré : soit avec un couple d'amorces reconnaissant les séquences non méthylées (U) soit avec un couple d'amorces reconnaissant les séquences méthylées (M) (113,133,134). La réaction d'amplification s'effectue à partir d'1 µL d'ADNs convertis mis en présence de 24µL d'un mélange réactionnel composé de 2,5 µL de tampon 10X, entre 0 et 2 mM de MgCl₂ selon le couple d'amorce utilisé, 2 µL d'amorces sens (20 pmol/µL) et 2µL d'amorces anti-sens (20 pmol/µL) (Tableau 4), 0,1 µL de Taq polymérase (5 U/mL), 1 µL de dNTP et de l'eau nuclease-free. La réaction de PCR s'effectue initialement avec une dénaturation à 95°C pendant 10 minutes ; puis entre 34 et 36 cycles successifs de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, hybridation des amorces entre 58 et 63°C pendant 30 secondes, et polymérisation à 72°C pendant 30 secondes. La réaction se termine par une élongation terminale à 72°C pendant 10 minutes. Les amplicons sont déposés et séparés sur gel d'agarose 3,5%, enrichi avec de GelRed, un agent intercalant de l'ADN. Le témoin positif de méthylation utilisé est un ADN "méthylé" commercial (cpGenome Universal methylation DNA,

Tableau 4 : Liste des amorces utilisées pour les MS-PCR (113,133,134)

Séquences des amorces spécifiques des gènes méthylés ou non méthylés		T _m (°C)	Taille en paire de base (pb)	Référence
RASSF1 (Genbank access : NC_000003.12)				
U	F: 5'-TTTGGTTGGAGTGTGTTAATGTG-3'	60	108	<i>Schagdarsurenjin et al., 2002 (133)</i>
	R: 5'-CAAACCCACAACTAAAAACAA-3'			
M	F: 5'-GTGTTAACGCGTTGCGTATC-3'	62	96	
	R: 5'-AACCCCGCGAACTAAAAACGA-3'			
RASSF2 (Genbank access : NC_000020.11)				
U	F: 5'-AGTTTGTGTTGTTTTTGGTGG-3'	63	108	<i>Hesson et al., 2005 (113)</i>
	R: 5'-AAAAACCAACAACCCCCACA-3'			
M	F: 5'-GTTCGTCGTCGTTTTTAGGCG-3'	63	108	
	R: 5'-AAAAACCAACGACCCCGCG-3'			
MST1/STK4 (Genbank access : NC_000020.11)				
U	F: 5'-TTTGTGGGGTGGGTTTAGGAGGTTTGT-3'	63	125	<i>Seidel et al., 2007 (134)</i>
	R: 5'-AACCAATAACCCCTCACCAACACAACAA-3'			
M	F: 5'-GCGGGGCGGGTTTAGGAGGTTTC-3'	63	120	
	R: 5'-CCAATAACCCCTCACCGACGC-3'			
MST2/STK3 (Genbank access : NC_000008.11)				
U	F: 5'-TTTTAAGTGGGAGGGAGATTTGTTGTGG-3'	61	108	<i>Seidel et al., 2007 (134)</i>
	R: 5'-AAAAACCAAAACACCAACCAACCAACC-3'			
M	F: 5'-CGGGAGGGAGATTCGTCGCG-3'	63	99	
	R: 5'-AAACCGAAACACCGACCGACCG-3'			
LATS1 (accès Genbank : NC_000006.12)				
U	F: 5'-TGAATGATTAGAGTTGTGGGTGATGT-3'	60	128	<i>Seidel et al., 2007 (134)</i>
	R: 5'-AACATTTCCCAACATCATTACACA-3'			
M	F: 5'-GAACGATTAGAGTTGCGGGCGAC-3'	62	126	
	R: 5'-AACATTTCCCGACGTCGCTTACG-3'			
LATS2 (accès Genbank : NC_000013.11)				
U	F: 5'-GGTGTGTTTGTGTTGGATTGGTATGTGGTT-3'	60	141	<i>Seidel et al., 2007 (134)</i>
	R: 5'-CATCTTCCCAAAACACTCACACCACA-3'			
M	F: TTCGTTCCGATTGGTATGCGGTC-3'	60	137	
	R: 5'-CCATCTTCCCGAAACGCTCACG-3'			

S7821 QBiogène). Le témoin d'absence de méthylation est de l'ADN de lymphocytes. Enfin, un témoin négatif est systématiquement réalisé à chaque PCR dans lequel le volume d'ADN converti est remplacé par de l'eau.

5. Analyses statistiques

Les variables qualitatives et quantitatives ont été comparées en utilisant respectivement un test du Chi2 ou de Student (test de Mann-Whitney et test exact de Fisher lorsque les conditions de validité des tests de Student et Chi2 n'étaient pas vérifiées). La survie a été analysée à l'aide de courbes de Kaplan-Meier. Un modèle de Cox univarié et multivarié était réalisé pour identifier les facteurs pronostiques de survie globale et de survie sans récurrence. Les variables qui étaient associées avec la

variable à expliquer (la survie) étaient sélectionnées selon un processus de sélection backward afin de réaliser le modèle multivarié final. Un modèle de régression logistique avec processus de sélection backward était utilisé afin de rechercher une association entre le marqueur RASSF2 et les critères (outcomes) pronostiques utilisés dans le modèle de survie. La différence statistique était considérée significative quand p était inférieur à 0.05. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de SAS 9.4 software (SAS Institute, Cary, NC, USA) par le Dr Yassine Eid.

III. Résultats

A. Population étudiée

1. Critères cliniques

Les critères cliniques sont détaillés dans le *Tableau 5*. Parmi les 229 patients inclus dans cette étude, aucun patient n'a été perdu de vue. Au cours du suivi, 136 patients sont décédés. 111 patients étaient vivants à 5 ans, soit une survie globale à 5 ans de 48,5%.

Tableau 5 : Caractéristiques cliniques de la population étudiée

Caractéristiques		Nombre de patients N = 229
Age	Moyenne (Min - Max)	71 ans (27 ans - 99 ans)
Sexe	Homme	120 (52,4%)
	Femme	109 (47,6%)
Localisation	Droite	119 (51,97%)
	Gauche	110 (48,03%)
Taille	Moyenne (Min - Max)	5,05 cm (0,4 cm - 16 cm)
Stade clinique	I	21 (9,17%)
	II	81 (35,37%)
	III	87 (37,99%)
	IV	40 (17,47%)
Occlusion	oui	67 (29,26%)
	non	162 (70,74%)
Métastase synchrone	Absence	188 (82,10%)
	Hépatique	35 (15,28%)
	Extra-hépatique	6 (2,62%)
Traitement néo-adjuvant	Oui	11 (4,80%)
	Non	218 (95,20%)
Récidive	Absence	180 (78,60%)
	Locale	18 (7,86%)
	Hépatique	19 (8,30%)
	Extra-hépatique	8 (3,49%)
	Non évalué	4 (1,75%)
Décès	Oui	96 (40,61%)
	Non	136 (59,39%)

La moyenne d'âge est 71 ans, avec des extrêmes allant de 27 ans à 99 ans. Cent vingt patients sont de sexe masculin, représentant 52,4% de la cohorte étudiée. La tumeur était localisée à droite dans 51,97% des cas, et à gauche dans 48,03%

des cas. Les patients de stade I constituent 9,17% des patients de la cohorte, 35,37% pour les patients de stade II, 37,99% pour les patients de stade III et 17,47% pour les patients de stade IV.

2. Critères histologiques et moléculaires

Les critères histologiques et moléculaires sont détaillés dans le Tableau 6. Parmi les 229 ADK coliques analysés, la plupart sont de type bien différencié, représentant 44,11% des cas. Vingt-neuf tumeurs correspondent à un ADK mucineux, soit 12,66% des cas. Sept tumeurs (3,06%) présentent une tumeur limitée à la sous-muqueuse (pT1), et 18 tumeurs (7,86%) infiltrent la musculature sans atteinte de la sous-séreuse (pT2). Dans la majorité des cas (61,14%), les cellules tumorales infiltrent la sous-séreuse (stade pT3). Cinquante-trois tumeurs (23,14%) ulcèrent la séreuse colique (stade pT4), dont 2 (0,87%) avec un envahissement des organes de voisinage (stade pT4b). 113 patients (49,34%) ne présentent aucune métastase ganglionnaire lymphatique, ni dépôt tumoral isolé ; 9 patients (3,93%) ne présentent uniquement que des dépôts tumoraux isolés, sans métastase ganglionnaire lymphatique formellement identifiable (N1c).

Nous notons la présence d'emboles tumoraux chez 96 patients (41,92%), dont 51 (22,27%) ne présentant que des emboles tumoraux lymphatiques, et 45 (19,65%) présentant des emboles tumoraux veineux associés.

Concernant l'évaluation du budding et des clusters peu différenciés, une grande majorité des tumeurs comportent un grade de budding ou de clusters peu différenciés à 1 (75,98% et 74,23% respectivement). Pour 2 patients, le budding et les clusters peu différenciés n'ont pu être déterminés, car ces patients présentaient un adénocarcinome avec composante à cellules indépendantes.

L'analyse de l'infiltrat inflammatoire intra et péri-tumoral montre que l'intensité de l'infiltrat est souvent modérée (45,85%). Pour 6 tumeurs (2,62%), on observe un intense infiltrat inflammatoire, de type Crohn-like.

Le stroma tumoral est majoritairement de type intermédiaire (71,61% des cas). Seule une tumeur (0,44%) présente un stroma de type immature, mais l'évaluation du type de stroma reste subjective.

Tableau 6 : Critères histologiques et moléculaires des cancers coliques étudiés chez les patients de la cohorte

Critères histologiques		Nombre de patients N = 229
Différenciation	Bien différencié	101 (44,11%)
	Moyennement différencié	76 (33,19%)
	Peu différencié	23 (10,04%)
	Mucineux	29 (12,66%)
Stade T	1	7 (3,06%)
	2	18 (7,86%)
	3	140 (61,14%)
	4a	51 (22,27%)
	4b	2 (0,87%)
	Stade N	0
	1a	34 (14,85%)
	1b	37 (16,16%)
	1c	9 (3,93%)
	2a	22 (9,61%)
	2b	14 (6,11%)
Emboles	Absence	133 (58,08%)
	Lymphatiques	51 (22,27%)
	Vasculaires	45 (19,65%)
Dépôts tumoraux	Absence	167 (72,93%)
	Présence	62 (27,07%)
Budding	Grade 1	174 (75,98%)
	Grade 2	35 (15,28%)
	Grade 3	18 (7,86%)
	Non évaluable	2 (0,88%)
Clusters peu différenciés	Grade 1	170 (74,23%)
	Grade 2	25 (10,92%)
	Grade 3	32 (13,97%)
	Non évaluable	2 (0,88%)
Intensité de l'infiltrat inflammatoire	Faible	62 (27,07%)
	Modéré	105 (45,85%)
	Marqué	56 (24,46%)
	Crohn-like	6 (2,62%)
Front d'invasion	Expansif	78 (34,06%)
	Infiltrant	151 (65,94%)
Phénotype micro-satellitaire	Stable	24 (10,48%)
	Instable	10 (4,37%)
	Non évalué	195 (85,15%)
Statut RAS	Absence de mutation	46 (20,09%)
	Présence de mutation	34 (14,85%)
	Non évalué	149 (65,06%)
Statut BRAF	Absence de mutation	69 (30,13%)
	Présence de mutation	6 (2,62%)
	Non évalué	154 (67,25%)
Statut de méthylation du promoteur de RASSF2	Non méthylé	30 (13,1%)
	Méthylé	199 (86,9%)

L'évaluation du front d'invasion tumoral montre le plus souvent un mode d'invasion de type infiltrant (65,94% des cas).

Dans cette cohorte, une analyse du phénotype microsatellitaire par immunohistochimie a été effectuée sur les prélèvements de 34 des 229 patients (14,85%). Nous décrivons un phénotype MSI pour 10 de ces tumeurs. Quatre-vingts patients ont bénéficié d'une analyse moléculaire effectuée sur tissu tumoral inclus en paraffine, pour déterminer le statut des gènes *KRAS* et *NRAS*, et 75 ont également bénéficié d'une analyse du gène *BRAF*. Trente-quatre patients (42,5%) présentent un cancer colique avec mutation du gène *KRAS* ou *NRAS*, et 6 avec une mutation de *BRAF* (8%). Les différentes mutations observées sur ces gènes sont les suivantes :

- *KRAS* : G12D, G12V, G12A, G12C, G12S, G13R, G13D, Q61R et A146T
- *NRAS* : Q61R
- *BRAF* : V600E

L'étude de la survie globale et sans récurrence des patients montre une médiane de survie globale à 60,2 mois, et une médiane de survie sans récurrence à 46,9 mois (Figure 19).

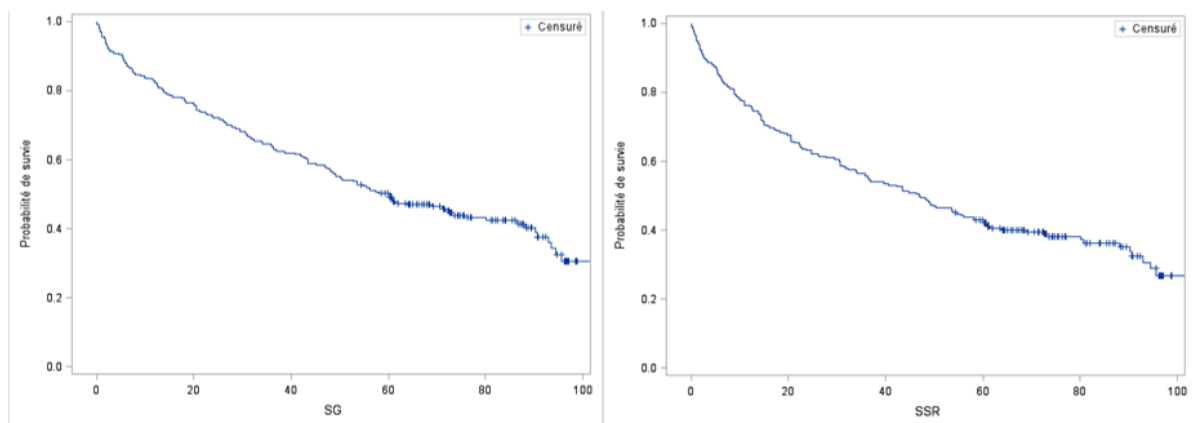


Figure 19 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée.

B. Influence des facteurs histo-pronostiques sur la survie

L'impact des facteurs histopronostiques a d'abord été étudié et modélisé avec des courbes de survie de Kaplan-Meier. Nous observons de manière significative une moins bonne survie globale et sans récurrence chez les patients atteints d'un cancer colique avec présence de dépôts tumoraux (log rank = 0,003 et 0,001

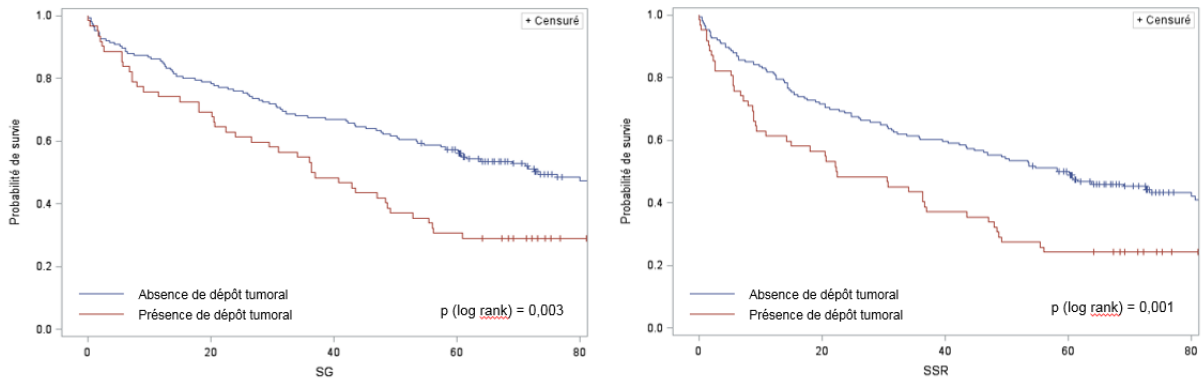


Figure 20 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction de la présence ou non de dépôt tumoral.

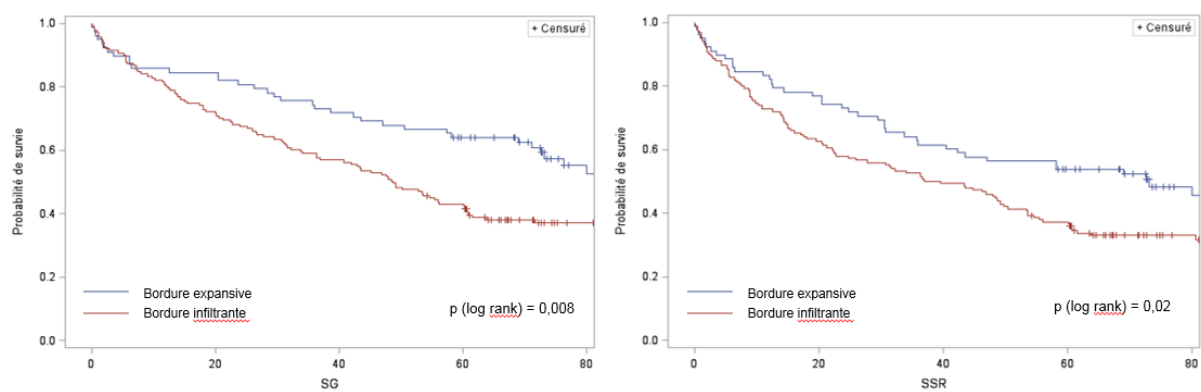


Figure 21 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction du mode d'invasion tumorale, de type expansif ou infiltrant

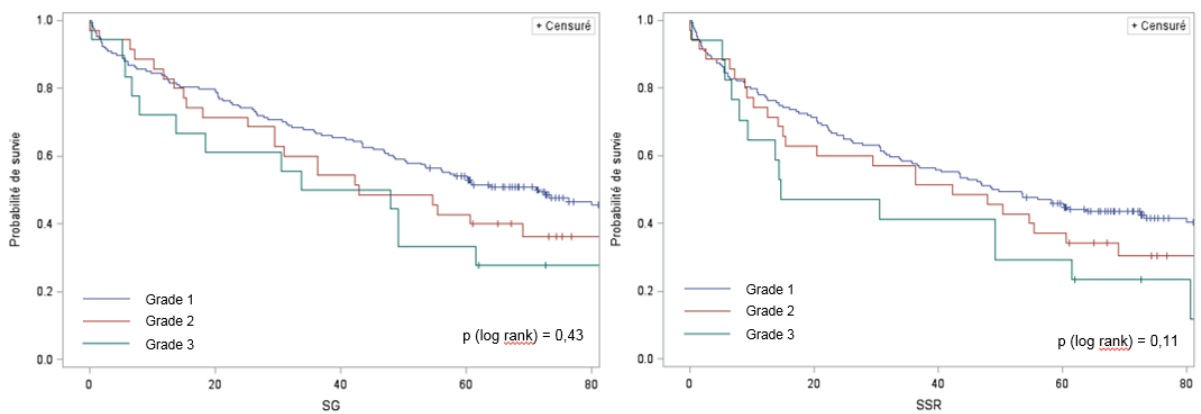


Figure 22 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction du grade de budding

respectivement) (*Figure*). Nous observons également une moins bonne survie globale et sans récurrence des patients lorsque la tumeur présente un mode d'invasion infiltrant (log rank = 0,008 et 0,02 respectivement), par rapport à un mode expansif (*Figure*). Concernant l'analyse de l'impact du budding, nous observons une tendance à une moins bonne survie globale et sans récurrence des patients pour un budding de grade 2 et d'autant plus de grade 3, cependant la différence n'est pas

significative (log rank = 0,43 et 0,11 respectivement) (*Figure*). Nous n'avons pas mis en évidence de différence significative sur les autres facteurs histopronostiques tels que les PDC, l'intensité de l'infiltrat inflammatoire, le phénotype micro-satellitaire et la présence d'une mutation de *KRAS*, *NRAS* ou *BRAF*.

Nous avons ensuite analysé les facteurs histopronostiques en utilisant un modèle de Cox, en univarié et en multivarié, sur la survie globale et sans récurrence (Tableau 7). Un âge supérieur à 70 ans apparaît significativement de mauvais pronostic en analyse univariée et multivariée (Hazard ratio (HR) à 1,68 ; p = 0,004 et HR ajusté (HRa) 2,12 ; p <0,0001 respectivement) en survie globale. En survie sans récurrence, il existe également un impact pronostique péjoratif (HR = 1,43 et HRa = 1,84 respectivement en univarié et multivarié (p = 0,04 et 0,0006 respectivement)).

L'absence de métastase synchrone est significativement de meilleur pronostic sur la survie globale en univarié et multivarié (HR 0,33 ; p < 0,0001 et HR 0,30 ; p < 0,0001 respectivement), ainsi que sur la survie sans récurrence (HR 0,28 ; p < 0,0001 et

Tableau 7 : Evaluation de l'impact des facteurs pronostiques cliniques et histologiques sur la survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) des patients étudiés, selon un modèle de Cox

		HR	IC 95%	p	HRa	IC 95%	p
		Modèle univarié			Modèle multivarié*		
Sexe (Homme)	SG	1.43	[1,01-2,00]	0.04	1,73	[1,20-2,49]	0.003
	SSR	1.70	[1,23-2,37]	0.002	1,95	[1,38-2,76]	0.0002
Age (<70 ans)	SG	1.68	[1,18-2,39]	0.004	2.12	[1,46-3,08]	<0,0001
	SSR	1.43	[1,02-2,01]	0.04	1,84	[1,30-2,60]	0,0006
Localisation à droite (vs gauche)	SG	1.35	[0,96-1,90]	0,92	1.60	[1,12-2,28]	0.01
	SSR	1.05	[0,76-1,46]	0.76	-	-	-
Absence de métastases synchrones (M0)	SG	0.33	[0,22-0,48]	<0,0001	0,3	[0,20-0,46]	<0,0001
	SSR	0.28	[0,19-0,41]	<0,0001	0,32	[0,22-0,46]	<0,0001
Bordure de type expansif (vs type infiltrant)	SG	0.66	[0,42-1,02]	0.06	-	-	-
	SSR	0.71	[0,45-1,14]	0.16	-	-	-
Absence de DT	SG	0.58	[0,40-0,83]	0.003	0,57	[0,39-0,83]	0.003
	SSR	0.57	[0,40-0,81]	0.002	0,59	[0,41-0,85]	0.005

HRa 0,32 ; $p < 0,0001$ respectivement). Nous observons également que le sexe masculin et la localisation droite sont significativement de plus mauvais pronostic sur la survie globale en analyse multivariée (HRa 1,73 ; $p = 0,003$ et HRa 1,60 ; $p = 0,01$ respectivement). Le sexe masculin est également un facteur de mauvais pronostic sur la survie sans récurrence, en univarié et multivarié (HR 1,70 ; $p = 0,002$ et HRa 1,95 ; $p = 0,0002$ respectivement). Nous ne mettons pas en évidence d'impact de la localisation de la tumeur sur la survie sans récurrence.

Les tumeurs ne présentant pas de dépôt tumoral apparaissent de meilleur pronostic, de manière significative, sur la survie globale en univarié et multivarié (HR 0,58 ; $p = 0,003$ et HRa 0,57 ; $p = 0,003$ respectivement) ainsi que sur la survie sans récurrence (HR 0,57 ; $p = 0,002$ et HRa 0,59 ; $p = 0,005$ respectivement). L'invasion tumorale sur un mode expansif tend à être de meilleur pronostic sur la survie globale et sans récurrence, mais la différence est non significative (HR 0,66 ; $p = 0,06$ et HR 0,71 ; $p = 0,16$).

C. Influence de la méthylation du promoteur des gènes de la voie RASSF/Hippo sur la survie

Parallèlement aux facteurs histopronostiques, nous avons étudié la méthylation des promoteurs des gènes impliqués dans la voie RASSF/Hippo, à savoir les gènes *RASSF1/2*, *MST1/2* et *LATS1/2*, afin de mettre en évidence un impact sur la survie des patients atteints d'un cancer colique. Nous avons initialement effectué une MS-PCR à partir de l'ADN extrait des blocs tumoraux sur 100 patients.

La fréquence de méthylation des promoteurs de ces gènes est décrite dans le

Tableau 8 : Fréquence de méthylation des promoteurs des gènes *RASSF1/2*, *STK4/3* et *LATS1/2*

Statut de méthylation des promoteurs	<i>RASSF1</i>	<i>RASSF2</i>	<i>STK4</i>	<i>STK3</i>	<i>LATS1</i>	<i>LATS2</i>
Méthylé	16	86	3	1	10	6
Non méthylé	84	14	96	99	90	94
Non interprétable/amplifiable	0	0	1	0	0	0
Total patients	100					

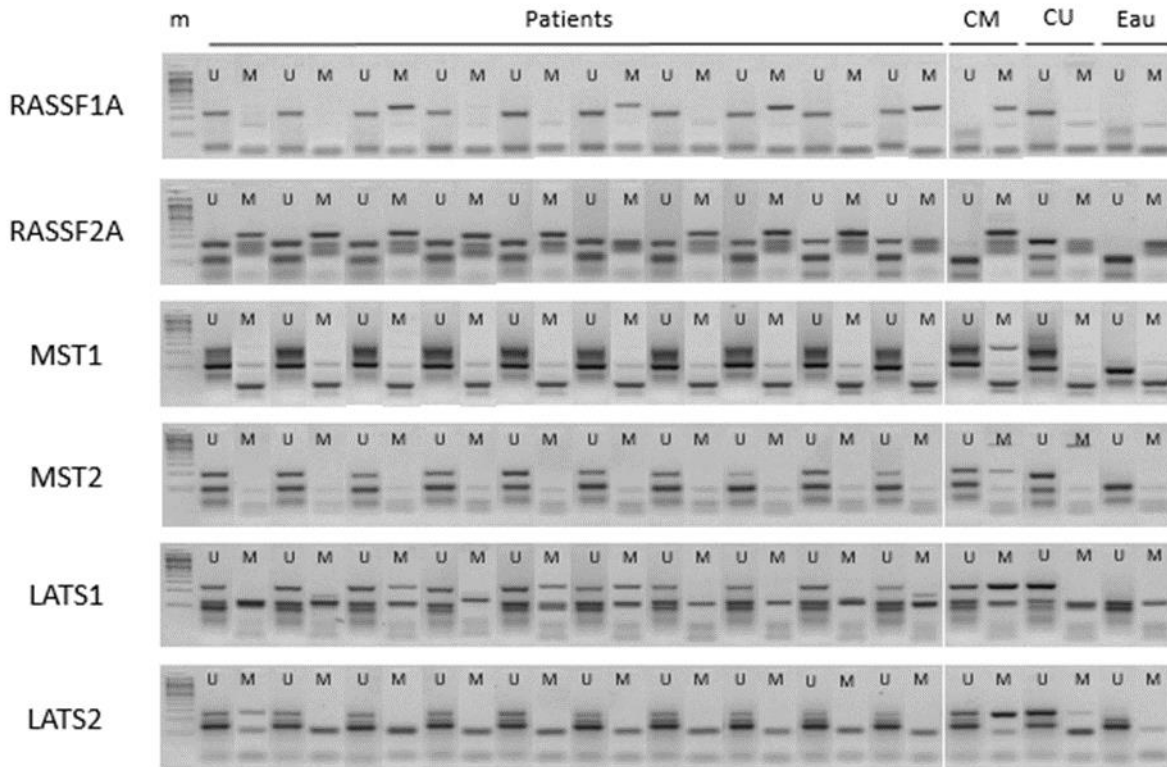


Figure 23 : Exemple de résultats de MS-PCR sur 10 des patients de la cohorte étudiée. U : non méthylé ; M : méthylé ; CU : contrôle non méthylé ; CM : contrôle méthylé ; m : marqueur de taille.

tableau 8. Nous observons sur ces 100 patients, que la méthylation du promoteur de *RASSF2* est un événement fréquent (86% de méthylation), par rapport aux autres gènes (Figure 23). Par ailleurs, nous avons mis en évidence, de manière non significative, une tendance à un moins bon pronostic lorsque le promoteur de *RASSF2* était méthylé (log rank = 0,26), alors que la méthylation de *LATS2* montrait une tendance à un meilleur pronostic, de manière non significative (Figure 24).

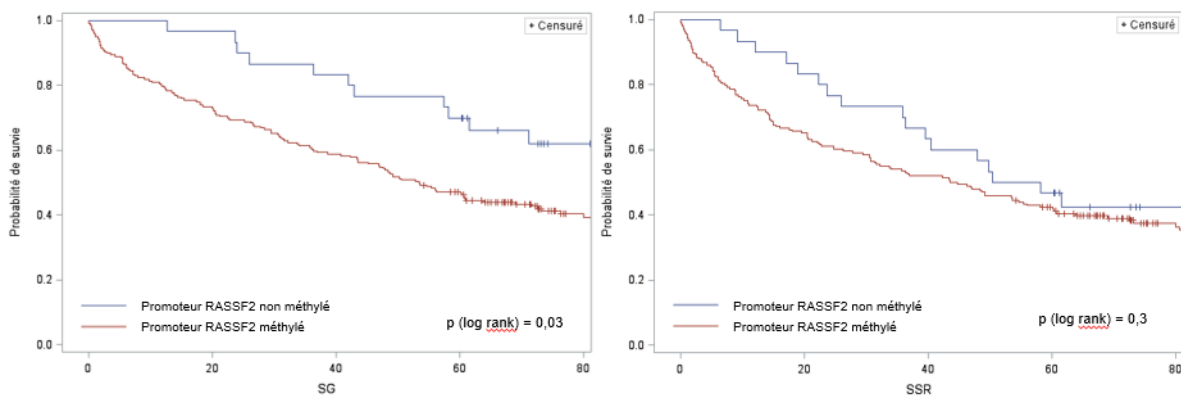


Figure 24 : Courbes de survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) de la population étudiée en fonction du statut de méthylation du promoteur de *RASSF2*

Nous avons par la suite inclus 129 patients supplémentaires dans notre cohorte, et nous avons étudié uniquement le statut de méthylation des promoteurs des gènes *RASSF2* et *LATS2*. L'inclusion de cette deuxième cohorte nous permet de mettre en évidence, de manière significative, une moins bonne survie globale des patients lorsque le promoteur de *RASSF2* est méthylé (log rank = 0,03), cependant la différence est non significative sur la survie sans récurrence (log rank = 0,30). La nouvelle fréquence de méthylation est de 86,9%.

Nous avons analysé la survie globale et sans récurrence selon un modèle de Cox, en univarié et multivarié, sur notre cohorte de 229 patients. Néanmoins, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'impact significatif de la méthylation de *RASSF2* (Tableau 9).

Tableau 9 : Evaluation de l'impact de la méthylation du promoteur de *RASSF2* sur la survie globale (SG) et sans récurrence (SSR) des patients étudiés, selon un modèle de Cox

		HR	IC 95%	p	HRa	IC 95%	p
		Modèle univarié			Modèle multivarié*		
Promoteur de <i>RASSF2</i> méthylé	SG	1.26	[0.73-2,16]	0,4	-	-	-
	SSR	1.36	[0.73-2,54]	0,33	-	-	-

Tableau 10 : Modèle final de régression logistique entre les facteurs histopronostiques et le statut de méthylation de *RASSF2*

		HR	IC 95%	p	HRa	IC 95%	p
		Modèle univarié			Modèle multivarié*		
Sexe (Homme)		1.98	[0,88-4,44]	0.10	-	-	-
Age (<70 ans)		2.07	[0,95-4,50]	0.07	-	-	-
Localisation à droite (vs gauche)		0.57	[0,26-1,25]	0,16	-	-	-
Métastases synchrones (M0)		1.07	[0,38-2,98]	0.90	-	-	-
Mode d'invasion		0.96	[0,42-2,17]	0.93	-	-	-
Dépôts tumoraux		2.00	[0,73-5,50]	0.18	-	-	-
Budding		1.25	[0,48-3,25]	0,64	-	-	-
Emboles vasculaire et lymphatiques tumoraux		0.94	[0,43-2,03]	0.86	-	-	-

Enfin, un modèle de régression logistique pour rechercher une association entre le marqueur RASSF2 et les critères (outcomes) pronostiques utilisés dans le modèle de survie montrait que l'hyperméthylation de *RASSF2* était un facteur indépendant (Tableau 10).

IV. Discussion

Le CCR constitue un enjeu de santé publique, de par son incidence et la mortalité qu'il engendre. Il est donc essentiel de déterminer des marqueurs histologiques et moléculaires pour optimiser la prise en charge thérapeutique des patients.

Dans notre cohorte, la moyenne d'âge des patients est de 71 ans, ce qui est concordant avec les données de l'Institut National du Cancer, décrivant une moyenne d'âge de 71 ans au diagnostic chez l'homme, et 73 ans chez la femme (3). Les études observent à une échelle globale une moyenne d'âge entre 53 et 73 ans selon l'âge et le sexe (135–138). Cependant, depuis quelques années, les études décrivent une baisse d'incidence chez les patients de plus de 50 ans, et une augmentation chez les patients plus jeunes, de moins de 50 ans. Ce décalage d'incidence serait lié à plusieurs facteurs, comme l'absence de dépistage chez les patients de moins de 50 ans, ou à des facteurs environnementaux, tels les habitudes alimentaires, la sédentarité et le tabagisme, notamment dans les pays en voie de développement (136,139).

Nous observons une légère prédominance de tumeurs du côlon droit dans notre cohorte. Selon les études, cette prédominance de localisation droite/gauche varie, mais le plus souvent, ce sont les cancers du côlon gauche qui prédominent (140–142). Néanmoins, même si, historiquement, les cancers du côlon étaient plus fréquemment localisés à gauche, l'incidence des tumeurs localisées dans le côlon droit a augmenté au fur et à mesure des années (141). Concernant les stades cliniques au diagnostic, l'incidence est également variable selon les études, mais les cancers du côlon sont principalement diagnostiqués aux stades II ou III (137,142,143). Nous faisons cette même observation dans notre cohorte. D'après ces données, notre cohorte apparaît donc homogène. Cependant, nous observons une survie globale à 5 ans plus basse, à 48,5% dans notre cohorte, alors que dans la littérature, la survie globale à 5 ans est rapportée entre 63,5% et 71% (137,142,144).

L'objectif principal de notre étude était d'analyser l'impact de différents facteurs histopronostiques sur la survie globale et sans récurrence à 5 ans des patients de notre cohorte. Nos résultats montrent que la présence de dépôts tumoraux isolés est un facteur de mauvais pronostic. L'étude menée par *Nagtegaal et al* met en

évidence l'impact négatif des dépôts tumoraux, dans les CCR, sur la survie globale (HR = 2,9 IC95% 2,2 – 3,8 en univarié, et HR = 2,2 IC95% 1,7 – 2,8 en multivarié) et sans récurrence (HR = 2,2 IC95% 1,6 – 3 en univarié, et HR = 2 IC95% 1,4 – 2,8 en multivarié) (71). Des résultats similaires ont été observés dans la méta-analyse effectuée par *Lord et al*, sur la survie globale (HR = 1,63 IC95% 1,44 – 1,61) et sans récurrence (HR = 1,77 IC95% 1,37 – 2,11) (145). Par ailleurs, la présence de dépôts tumoraux seuls associés à des métastases ganglionnaires lymphatiques est de plus mauvais pronostic que les dépôts tumoraux seuls ou les métastases ganglionnaires lymphatiques seules, comme l'ont observé *Mirkin et al*. Ils ont mis en évidence une survie plus élevée pour les dépôts tumoraux seuls (HR = 0,56) ou les métastases ganglionnaires lymphatiques seules (HR = 0,64) (72).

Concernant l'influence du type d'envahissement sur le front d'invasion tumoral, nous avons observé pour le mode d'invasion « infiltrant » une survie à 5 ans globale et sans récurrence moindre ($p = 0,008$ et $0,02$ respectivement), et que le mode « expansif » tend à être de meilleur pronostic, mais de manière non significative, sur la survie globale (HR = 0,66 IC95% 0,42 – 1,02, $p = 0,06$) et sans récurrence (HR = 0,71 IC95% 0,45 – 1,14, $p = 0,16$). De manière similaire, *Qwaidar et al* ont observé un impact péjoratif du mode « infiltrant » sur la survie des patients atteints d'un CCR de stade II ou III, mais ils ne mettent pas en évidence de différence significative sur les HR pour la survie globale et sans récurrence (HR = 1,1 IC95% 0,7 – 1,7, $p = 0,8$ et HR = 1,0 IC95% 0,7 – 1,6, $p = 0,9$ respectivement) (74). En revanche, *Li et al* ont observé, chez des patients atteints d'un CCR de stade I à III, un meilleur pronostic lorsque le mode d'infiltration est « expansif » sur la survie globale (HR = 0,731 IC95% 0,584 – 0,916) et sans récurrence (HR = 0,722 IC95% 0,602 – 0,864) (146). Il est décrit également que le mode d'invasion « infiltrant » est plus fréquemment associé à un stade pTNM plus avancé, une faible différenciation tumorale, à un grade de budding plus élevé, et à la présence d'emboles lymphatiques et vasculaires tumoraux (75,147). Sur le plan moléculaire, le mode d'invasion « expansif » est fréquemment associé aux CCR de phénotype MSI, alors le mode d'invasion « infiltrant » est fréquemment associé à une mutation du gène *BRAF* (147).

Les patients avec CCR de grade élevé tendent à présenter une moins bonne survie, cependant l'impact apparaît non significatif sur la survie globale et sans récurrence à 5 ans (log rank = 0,43 et 0,11 respectivement). De nombreuses études

décrivent l'impact pronostique de la présence et du grade de budding dans les CCR. Ces études ont distingué le budding de bas grade (0 à 9 cellules isolées au niveau du front d'invasion tumoral) et le budding de haut grade (10 cellules isolées ou plus au niveau du front d'invasion tumoral). Les résultats montrent que les patients atteints d'un CCR de stade II avec un budding de haut grade présentent une survie à 5 ans moindre : 89,0% - 94,0% de survie à 5 ans pour le budding de bas grade, contre 66,7% - 73,9% pour le budding de haut grade (148–150). Ces études ont également mis en évidence que le budding de haut grade était de mauvais pronostic, avec HR = 2,57 à 4,89 (148–152). Par rapport à notre cohorte, la plupart de ces études ont inclus des patients atteints d'un CCR de stade II, alors que nous avons inclus des patients atteints d'un CCR quel que soit le stade évolutif. Il serait donc intéressant, dans notre étude, d'analyser l'impact du budding sur la survie des patients de stade II. Par ailleurs, *Graham et al* ont mis en évidence que le budding de haut grade est plus fréquemment associé à des CCR de phénotype MSS, et à la présence d'une mutation de *KRAS* (151).

Le second objectif de notre étude était d'analyser l'impact de l'altération des membres de la voie RASSF/Hippo, chez des patients atteints d'un cancer colique, tout stade confondu. Nos résultats mettent en évidence que les différents membres de cette voie de signalisation, à savoir RASSF1/2, MST1/2 et LATS1/2 peuvent être altérés par hyperméthylation du promoteur de leurs gènes respectifs, avec des fréquences variables. Ces résultats font évoquer que les altérations fréquentes de cette voie de signalisation doivent contribuer à la carcinogenèse colique. Néanmoins, il est difficile de comparer les fréquences que nous rapportons dans notre étude aux données de la littérature, étant donné que les altérations de cette voie n'ont jamais été caractérisées de manière systématique.

Parmi les gènes étudiés, nous avons observé que le promoteur du gène *RASSF2* est plus fréquemment hyperméthylé que les autres gènes. Il est décrit dans la littérature que le promoteur de *RASSF2* est fréquemment méthylé dans de nombreux types de cancers, comme les cancers broncho-pulmonaires, gastriques, colorectaux, du sein, de l'endomètre et des voies aéro-digestives supérieures (114). Nous avons mis en évidence une fréquence de 87,2 % de méthylation promoteur de *RASSF2* dans notre cohorte, ce qui est concordant avec les résultats observés par *Park et al*, qui a analysé le statut de méthylation de *RASSF2* sur une cohorte de 146

patients atteints d'un CCR, et qui ont observé une fréquence de méthylation de 72,6% (153). D'autres équipes ont analysé la fréquence de méthylation de *RASSF2* dans des CCR, notamment *Hesson et al*, qui ont observé une méthylation de *RASSF2* dans 70% des cas (113), alors que *Harada et al* et *Akino et al* ont observé des fréquences de méthylation plus faible, 46% et 42% respectivement (128,129). Par ailleurs, *Park et al* ont également observé que la méthylation de *RASSF2* est un événement de survenue précoce, puisque sur les 16 adénomes colorectaux analysés, tous présentent une méthylation de *RASSF2* (153).

En étudiant l'impact du statut de méthylation sur la survie à 5 ans des patients de notre cohorte, nous observons que les patients avec une méthylation de *RASSF2* présentent significativement un moins bon pronostic. A ce jour, il n'y a que très peu de données dans la littérature concernant l'impact sur la survie des patients atteints d'un CCR en fonction du statut de méthylation de *RASSF2*. L'atlas "Human Protein Atlas" (HPA), qui répertorie les données de survie de nombreux cancers en fonction du niveau d'expression de diverses protéines, montre que les patients atteints d'un cancer colique exprimant faiblement *RASSF2* présentent un moins bon pronostic ($p=0,038$), ce qui concordant avec nos résultats, étant donné que la méthylation du promoteur d'un gène inhibe son expression (154). Cependant, ces données concernent l'expression protéique de *RASSF2*, et une faible expression protéique peut être liée à d'autres causes qu'une hyperméthylation du promoteur de *RASSF2*.

D'autres arguments sont en faveur d'un rôle pronostique du statut de méthylation de *RASSF2*. En effet, l'hyperméthylation de *RASSF2* favoriserait l'agressivité des cellules tumorales, comme l'ont observés *Luo et al* et *Aydin et al* chez des patients atteints d'un adénocarcinome gastrique (155,156). *Carter et al*, a étudié un micro-ARN, le miR-200, sur des lignées tumorales coliques, et ils ont observé que d'une part, ce microARN cible l'ARNm de *RASSF2* et inhibe son expression, et d'autre part, les cellules tumorales surexprimant ce microARN prolifèrent plus (157). Par ailleurs, dans les CCR, l'hyperméthylation du promoteur de *RASSF2* semble plus fréquemment associée à la présence d'une mutation de *KRAS* (128,129,153,157), bien que *Hesson et al* décrivent plutôt une relation inverse entre la fréquence de l'hyperméthylation de *RASSF2* et la fréquence de mutation de *KRAS* (113).

Concernant le statut de méthylation de *RASSF1A*, nous avons observé une fréquence de méthylation de 16% sur les 100 premiers patients de notre cohorte. *Hu et al* ont mené une méta-analyse sur le statut de méthylation du promoteur de *RASSF1A* dans les CCR à partir de 21 études, et ils ont observé une fréquence de méthylation très variable, comprise entre 15,84% et 93,3%. Ils précisent cependant que certaines études présentaient une méthylation de *RASSF1A* sur des échantillons témoins non tumoraux (158). L'hyperméthylation de *RASSF1A* est également rapportée dans les ostéosarcomes, les cancers du sein, des voies aéro-digestives supérieures, les gliomes, les carcinomes à cellules claires du rein, les carcinomes urothéliaux, les carcinomes thyroïdiens et les neuroblastomes (107). *Hu et al* ont également analysé 3 autres études, qui portaient sur l'impact pronostique du statut de méthylation de *RASSF1A*, et ils ont mis en évidence que la méthylation de *RASSF1A* est un facteur de mauvais pronostic (HR = 2,85, IC 95% 1,88 – 4,31, $p < 0,001$) (158). Cet impact pronostique a également été observé par *Jiang et al*, qui mettent en évidence une moins bonne survie des patientes atteints d'un cancer du sein, lorsque le promoteur de *RASSF1A* est méthylé (159). Dans notre étude, nous n'avons pas pu mettre en évidence d'impact de la méthylation de *RASSF1A* sur la survie à 5 ans des patients, possiblement en raison d'un effectif insuffisant.

L'étude du statut de méthylation de *RASSF1A* pourrait influencer la prise en charge thérapeutique. Contrairement à *RASSF2*, la méthylation de *RASSF1A* semble corrélée à l'absence de mutation de *KRAS* (160). Par ailleurs, *Sun et al* ont observé, chez des patients atteints d'un CCR de stade II ou III et traités par chimiothérapie à base d'oxaliplatine, une meilleure chimio-sensibilité lorsque le promoteur de *RASSF1A* n'est pas méthylé (161).

Nous avons observé une faible fréquence de méthylation du promoteur de *STK4* et *STK3* (codant *MST1* et *MST2* respectivement), 3% et 1% respectivement. L'altération de ces deux gènes est peu étudiée dans le CCR, néanmoins, quelques études ont observé que les CCR avec inactivation de *MST1* ou *MST2* semblent de moins bon pronostic. *Minoo et al* ont mis en évidence, en étudiant l'expression de *MST1* par immunohistochimie, que la perte d'expression cytoplasmique de *MST1* était corrélée à un stade TNM avancé, à la présence d'embolies vasculaires, et à une survie globale moindre. Cependant, ils n'ont pas observé de lien entre la perte d'expression cytoplasmique de *MST1* et la méthylation du promoteur de *STK4* (162).

L'association entre la perte d'expression MST1 et un moins bon pronostic a été observé dans d'autres types de cancers, notamment dans les mésothéliomes malins (163). Par ailleurs, *Guo et al* ont observé, dans les gliomes diffus, que le promoteur de *STK4* peut être méthylé, et que son hyperméthylation favorise l'agressivité des cellules tumorales (164).

Comme *STK4* et *STK3* (codant MST1 et MST2 respectivement), nous avons observé que les promoteurs de *LATS1* et *LATS2* sont peu fréquemment méthylés, 10% et 6% respectivement. Paradoxalement, la méthylation de *LATS2* tendait à être, de manière non significative de meilleur pronostic. L'atlas HPA montrait par ailleurs, dans les cancers coliques, que la méthylation de *LATS2* semble être de meilleur pronostic ($p=0,018$) (165). Cependant, la faible expression de *LATS2* peut être liée à d'autres mécanismes que l'hyperméthylation de son promoteur, comme l'a observé *Peng et al*, et à l'inverse, ils ont observé que la faible expression de *LATS2* est associée à moins bon pronostic des CCR. Ils ont étudié le microARN miR-372-3p, qui est fréquemment surexprimé dans les CCR, et ils ont mis en évidence que sa surexpression est corrélée à l'agressivité des cellules tumorales, et que ce microARN cible l'ARNm de *LATS2* (166). Quant à *LATS1*, *Wierzbicki et al* ont observé, sur des biopsies d'ADK colorectaux, que son expression est fréquemment inactivée (89,4%), par hyperméthylation du promoteur de *LATS1* dans plus de la moitié des cas, contrairement à la fréquence de méthylation que nous avons observé dans notre étude (130).

Dans d'autres types de cancer, l'expression de *LATS1* et *LATS2* peut être diminuée par hyperméthylation de leur promoteur, comme rapporté dans les cancers du sein, les sarcomes des tissus mous, les ADK gastriques, les carcinomes broncho-pulmonaires non à petites cellules, les carcinomes à cellules claires du rein et les carcinomes épidermoïdes nasopharyngés et de la cavité buccale, ou bien par perte d'hétérozygotie, comme observée dans les cancers de l'ovaire, du col utérin, du sein et du foie (103,167–170). L'inactivation de *LATS1* et *LATS2* serait associée à des tumeurs plus agressives, et de moins bon pronostic (103), à l'exception des oligodendrogliomes, pour lesquels l'hyperméthylation du promoteur de *LATS2* prédit une meilleure survie, comme observée dans les CCR (124).

V. Conclusion

Le cancer colorectal est une pathologie fréquente, nécessitant une prise en charge multi-disciplinaire. Cette prise en charge dépend de critères cliniques, comme l'état général du patient, la résecabilité chirurgicale, mais également des facteurs histopronostiques, à savoir le stade pTNM, le grade de différenciation, la présence d'embolies tumorales lymphatiques ou vasculaires, la présence de dépôts tumoraux isolés, la présence d'engainements périnerveux, l'évaluation du grade de budding et des clusters peu différenciés, la présence et l'intensité d'un infiltrat inflammatoire péri-tumoral, le mode d'invasion tumoral, et le phénotype microsatellitaire. L'étude moléculaire des gènes *KRAS* et *NRAS* à la recherche d'une mutation activatrice permet de prédire la réponse à une thérapie ciblée par anti-EGFR, tandis que la présence ou non d'une mutation du gène *BRAF* constitue un facteur pronostique.

La carcinogenèse colorectale résulte de nombreux mécanismes génétiques et épigénétiques, dont les principaux sont l'instabilité microsatellitaire, l'instabilité chromosomique et l'hyperméthylation des îlots CpG. Il existe des classifications moléculaires des tumeurs colorectales, notamment la classification élaborée par le CRCSC, où les CCR sont classées en 4 groupes, les Consensus Molecular Subtypes, selon leurs altérations géniques et épigénétiques, ainsi que leurs profils d'expression génique. Ces groupes ont des pronostics différents, et cette classification pourrait permettre une prise en charge plus personnalisée du patient, mais elle n'est actuellement pas appliquée en pratique. Parmi les altérations impliquées dans la carcinogenèse colorectale, certains marqueurs pourraient être identifiés, en particulier dans la voie de signalisation RASSF/Hippo, impliquée dans la prolifération cellulaire, et la transition épithélio-mésenchymateuse. Cette voie est altérée dans de nombreux cancers, souvent par hyperméthylation du promoteur des gènes impliqués dans cette voie.

Notre étude s'est donc attachée, dans un premier temps, à analyser l'impact des facteurs histopronostiques sur la survie globale et sans récurrence à 5 ans, de patients atteints d'un cancer colique. Nos résultats montrent un impact péjoratif sur la survie lorsque le mode d'invasion tumoral est de type infiltrant, ainsi qu'avec la présence des dépôts tumoraux isolés. Nous avons également mis en évidence une tendance à un moins bon pronostic lorsqu'il existe un budding de haut grade, mais

nous n'avons pas obtenu de résultat significatif, qui peut être lié à un manque de puissance de notre étude. Ces résultats mettent en lumière l'intérêt de rechercher ces facteurs histopronostiques décrits de manière récente, afin de pouvoir adapter la prise en charge thérapeutique des patients, en dispensant des traitements plus agressifs si certains de ces facteurs sont présents.

Dans un second temps, nous avons étudié l'impact de la méthylation du promoteur des gènes impliqués dans la voie RASSF/Hippo, à savoir les gènes *RASSF1/2*, *STK4/3* (codant MST1 et MST2 respectivement) et *LATS1/2*, en étudiant leur statut de méthylation par MS-PCR. Nos résultats montrent que le promoteur du gène *RASSF2* est très fréquemment méthylé dans les cancers coliques. Nous avons également observé une moins bonne survie des patients lorsque le promoteur de *RASSF2* est méthylé. Il pourrait donc exister, en pratique, un intérêt à étudier le statut de méthylation du promoteur de *RASSF2* dans les tumeurs coliques, en tant que facteur pronostique, pour pouvoir adapter la prise en charge thérapeutique. De plus, la recherche de la méthylation du promoteur pourrait être réalisée facilement en pratique clinique.

BIBLIOGRAPHIE

1. Cancer colorectal – Santé publique France [Internet]. [cited 2020 Feb 11]. Available from: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/cancers/cancer-du-colon-rectum>
2. Global Cancer Observatory. Cancer Today [Internet]. GLOBOCAN 2018. [cited 2020 Feb 13]. Available from: https://gco.iarc.fr/today/online-analysis-multi-bars?v=2018&mode=cancer&mode_population=countries&population=900&populations=900&key=total&sex=0&cancer=39&type=0&statistic=5&prevalence=0&population_group=0&ages_group%5B%5D=0&ages_group%5B%5D=17&nb_items=1
3. Le cancer colorectal - Les cancers les plus fréquents [Internet]. [cited 2020 Feb 14]. Available from: <https://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Les-cancers-les-plus-frequents/Cancer-colorectal>
4. Ashktorab H, Schäffer AA, Daremipouran M, Smoot DT, Lee E, Brim H. Distinct Genetic Alterations in Colorectal Cancer. Zanger U, editor. PLoS One. 2010 Jan 26;5(1):e8879.
5. Armaghany T, Wilson JD, Chu Q, Mills G. Genetic alterations in colorectal cancer. *Gastrointest Cancer Res.* 2012 Jan;5(1):19–27.
6. Cisyk AL, Penner-Goeke S, Lichtensztejn Z, Nugent Z, Wightman RH, Singh H, et al. Characterizing the prevalence of chromosome instability in interval colorectal cancer. *Neoplasia.* 2015 Mar;17(3):306–16.
7. Gradia S, Subramanian D, Wilson T, Acharya S, Makhov A, Griffith J, et al. hMSH2-hMSH6 forms a hydrolysis-independent sliding clamp on mismatched DNA. *Mol Cell.* 1999 Feb 1;3(2):255–61.
8. Grady WM, Carethers JM. Genomic and Epigenetic Instability in Colorectal Cancer Pathogenesis. Vol. 135, *Gastroenterology.* W.B. Saunders; 2008. p. 1079–99.
9. Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1999 Jul

- 20;96(15):8681–6.
10. Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, et al. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet.* 2006 Jul;38(7):787–93.
 11. Aran V, Victorino AP, Thuler LC, Ferreira CG. Colorectal Cancer: Epidemiology, Disease Mechanisms and Interventions to Reduce Onset and Mortality. *Clin Colorectal Cancer.* 2016 Sep 1;15(3):195–203.
 12. Half E, Bercovich D, Rozen P. Familial adenomatous polyposis. *Orphanet J Rare Dis.* 2009 Dec 12;4(1):22.
 13. Orphanet: Polypose adénomateuse familiale [Internet]. [cited 2020 Feb 17]. Available from: https://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=733
 14. Fearon ER. Molecular Genetics of Colorectal Cancer. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2011 Feb 28;6(1):479–507.
 15. Ibrahim A, Barnes DR, Dunlop J, Barrowdale D, Antoniou AC, Berg JN. Attenuated familial adenomatous polyposis manifests as autosomal dominant late-onset colorectal cancer. *Eur J Hum Genet.* 2014 Nov 19;22(11):1330–3.
 16. Boland PM, Yurgelun MB, Boland CR. Recent progress in Lynch syndrome and other familial colorectal cancer syndromes. *CA Cancer J Clin.* 2018 May;68(3):217–31.
 17. Biller LH, Syngal S, Yurgelun MB. Recent advances in Lynch syndrome. *Fam Cancer.* 2019 Apr 9;18(2):211–9.
 18. García EBG, Knoers NV. Gardner's syndrome (familial adenomatous polyposis): a cilia-related disorder. *Lancet Oncol.* 2009 Jul;10(7):727–35.
 19. Pilarski R, Burt R, Kohlman W, Pho L, Shannon KM, Swisher E. Cowden Syndrome and the PTEN Hamartoma Tumor Syndrome: Systematic Review and Revised Diagnostic Criteria. *JNCI J Natl Cancer Inst.* 2013 Nov 6;105(21):1607–16.

20. Dekker E, Tanis PJ, Vleugels JLA, Kasi PM, Wallace MB. Colorectal cancer. *Lancet*. 2019 Oct 19;394(10207):1467–80.
21. Orlich MJ, Singh PN, Sabaté J, Fan J, Sveen L, Bennett H, et al. Vegetarian dietary patterns and the risk of colorectal cancers. *JAMA Intern Med*. 2015 May 1;175(5):767–76.
22. Tantamango-Bartley Y, Jaceldo-Siegl K, Fan J, Fraser G. Vegetarian diets and the incidence of cancer in a low-risk population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2013 Feb;22(2):286–94.
23. Lavalette C, Adjibade M, Srour B, Sellem L, Fiolet T, Hercberg S, et al. Cancer-specific and general nutritional scores and cancer risk: Results from the prospective NutriNet-Santé cohort. *Cancer Res*. 2018 Aug 1;78(15):4427–35.
24. Schwingshackl L, Schwedhelm C, Hoffmann G, Knüppel S, Laure Preterre A, Iqbal K, et al. Food groups and risk of colorectal cancer. *Int J Cancer*. 2018 May 1;142(9):1748–58.
25. Levine ME, Suarez JA, Brandhorst S, Balasubramanian P, Cheng CW, Madia F, et al. Low protein intake is associated with a major reduction in IGF-1, cancer, and overall mortality in the 65 and younger but not older population. *Cell Metab*. 2014 Mar 4;19(3):407–17.
26. Gao R, Gao Z, Huang L, Qin H. Gut microbiota and colorectal cancer. Vol. 36, *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. Springer Verlag; 2017. p. 757–69.
27. Gagnière J, Raisch J, Veziant J, Barnich N, Bonnet R, Buc E, et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. Vol. 22, *World Journal of Gastroenterology*. Baishideng Publishing Group Co., Limited; 2016. p. 501–18.
28. Tilg H, Adolph TE, Gerner RR, Moschen AR. The Intestinal Microbiota in Colorectal Cancer. Vol. 33, *Cancer Cell*. Cell Press; 2018. p. 954–64.
29. Kostic AD, Chun E, Robertson L, Glickman JN, Gallini CA, Michaud M, et al. *Fusobacterium nucleatum* Potentiates Intestinal Tumorigenesis and Modulates the Tumor-Immune Microenvironment. *Cell Host Microbe*. 2013 Aug 14;14(2):207–15.

30. Viljoen KS, Dakshinamurthy A, Goldberg P, Blackburn JM. Quantitative profiling of colorectal cancer-associated bacteria reveals associations between fusobacterium spp., enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) and clinicopathological features of colorectal cancer. *PLoS One*. 2015 Mar 9;10(3):e0119462.
31. Botteri E, Iodice S, Bagnardi V, Raimondi S, Lowenfels AB, Maisonneuve P. Smoking and colorectal cancer: A meta-analysis. Vol. 300, *JAMA - Journal of the American Medical Association*. 2008. p. 2765–78.
32. Fagunwa IO, Loughrey MB, Coleman HG. Alcohol, smoking and the risk of premalignant and malignant colorectal neoplasms. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017 Oct 1;31(5):561–8.
33. Tsoi KKF, Pau CYY, Wu WKK, Chan FKL, Griffiths S, Sung JJY. Cigarette Smoking and the Risk of Colorectal Cancer: A Meta-analysis of Prospective Cohort Studies. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2009 Jun;7(6):682-688.e5.
34. Leufkens AM, Van Duijnhoven FJB, Siersema PD, Boshuizen HC, Vrieling A, Agudo A, et al. Cigarette Smoking and Colorectal Cancer Risk in the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition Study. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2011 Feb;9(2):137–44.
35. Durko L, Malecka-Panas E. Lifestyle Modifications and Colorectal Cancer. *Curr Colorectal Cancer Rep*. 2014 Mar 12;10(1):45–54.
36. Chen K, Xia G, Zhang C, Sun Y. Correlation between smoking history and molecular pathways in sporadic colorectal cancer: a meta-analysis. *Int J Clin Exp Med*. 2015 May 30;8(3):3241–57.
37. Wang Y, Duan H, Yang H, Lin J. A pooled analysis of alcohol intake and colorectal cancer. *Int J Clin Exp Med*. 2015 May 30;8(5):6878–89.
38. Bull CF, Mayrhofer G, O'Callaghan NJ, Au AY, Pickett HA, Low GKM, et al. Folate deficiency induces dysfunctional long and short telomeres; Both states are associated with hypomethylation and DNA damage in human WIL2-NS cells. *Cancer Prev Res*. 2014 Jan;7(1):128–38.
39. Nagtegaal ID, Odze RD, Klimstra D, Paradis V, Rugge M, Schirmacher P, et al.

The 2019 WHO classification of tumours of the digestive system. *Histopathology*. 2020.

40. Luo C, Cen S, Ding G, Wu W. Mucinous colorectal adenocarcinoma: Clinical pathology and treatment options. Vol. 39, *Cancer Communications*. BioMed Central Ltd.; 2019.
41. Tajiri K, Sudou T, Fujita F, Hisaka T, Kinugasa T, Akagi Y. Clinicopathological and corresponding genetic features of colorectal signet ring cell carcinoma. Vol. 37, *Anticancer Research*. International Institute of Anticancer Research; 2017. p. 3817–23.
42. Song IH, Hong SM, Yu E, Yoon YS, Park IJ, Lim SB, et al. Signet ring cell component predicts aggressive behaviour in colorectal mucinous adenocarcinoma. *Pathology*. 2019 Jun 1;51(4):384–91.
43. Foda AARM, Aziz AA, Mohamed MA. Colorectal signet ring cell carcinoma: Influence of EGFR, E-cadherin and MMP-13 expression on clinicopathological features and prognosis. *Ann Diagn Pathol*. 2018 Feb 1;32:41–6.
44. Knox RD, Luey N, Sioson L, Kedziora A, Clarkson A, Watson N, et al. Medullary Colorectal Carcinoma Revisited: A Clinical and Pathological Study of 102 Cases. *Ann Surg Oncol*. 2015 Sep 12;22(9):2988–96.
45. Lee LH, Yantiss RK, Sadot E, Ren B, Calvacanti MS, Hechtman JF, et al. Diagnosing colorectal medullary carcinoma: interobserver variability and clinicopathological implications. *Hum Pathol*. 2017 Apr 1;62:74–82.
46. Mäkinen MJ. Colorectal serrated adenocarcinoma. Vol. 50, *Histopathology*. *Histopathology*; 2007. p. 131–50.
47. De Palma FDE, D'argenio V, Pol J, Kroemer G, Maiuri MC, Salvatore F. The molecular hallmarks of the serrated pathway in colorectal cancer. Vol. 11, *Cancers*. MDPI AG; 2019.
48. Jakubowska K, Guzińska-Ustymowicz K, Poczynicz A. Invasive micropapillary component and its clinico-histopathological significance in patients with colorectal cancer. *Oncol Lett*. 2016 Aug 1;12(2):1154–8.
49. Lee HJ, Eom DW, Kang GH, Han SH, Cheon GJ, Oh HS, et al. Colorectal

- micropapillary carcinomas are associated with poor prognosis and enriched in markers of stem cells. *Mod Pathol*. 2013 Aug;26(8):1123–31.
50. González IA, Bauer PS, Liu J, Chatterjee D. Adenoma-like adenocarcinoma: clinicopathologic characterization of a newly recognized subtype of colorectal carcinoma. *Hum Pathol*. 2021 Jan 1;107:9–19.
 51. Gonzalez RS, Cates JMM, Washington MK, Beauchamp RD, Coffey RJ, Shi C. Adenoma-like adenocarcinoma: A subtype of colorectal carcinoma with good prognosis, deceptive appearance on biopsy and frequent KRAS mutation. *Histopathology*. 2016 Jan 1;68(2):183–90.
 52. Loy TS, Kaplan PA. Villous adenocarcinoma of the colon and rectum: A clinicopathologic study of 36 cases. Vol. 28, *American Journal of Surgical Pathology*. Am J Surg Pathol; 2004. p. 1460–5.
 53. Sunkara T, Caughey ME, Makkar P, John F, Gaduputi V. Adenosquamous Carcinoma of the Colon. *Case Rep Gastroenterol*. 2017 Sep 1;11(3):791–6.
 54. Toumi O, Hamida B, Njima M, Bouchrika A, Ammar H, Daldoul A, et al. Adenosquamous carcinoma of the right colon: A case report and review of the literature. *Int J Surg Case Rep*. 2018 Jan 1;50:119–21.
 55. Masoomi H, Ziogas A, Lin BS, Barleben A, Mills S, Stamos MJ, et al. Population-based evaluation of adenosquamous carcinoma of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*. 2012;55(5):509–14.
 56. Remo A, Fassan M, Vanoli A, Bonetti LR, Barresi V, Tatangelo F, et al. Morphology and molecular features of rare colorectal carcinoma histotypes. Vol. 11, *Cancers*. MDPI AG; 2019.
 57. Moussaly E, Atallah JP. A Rare Case of Undifferentiated Carcinoma of the Colon with Rhabdoid Features: A Case Report and Review of the Literature. *Case Rep Oncol Med*. 2015;2015:1–5.
 58. Agaimy A, Daum O, Markl B, Lichtmanegger I, Michal M, Hartmann A. SWI/SNF complex-deficient undifferentiated/rhabdoid carcinomas of the gastrointestinal tract: A series of 13 cases highlighting mutually exclusive loss of SMARCA4 and SMARCA2 and frequent co-inactivation of SMARCB1 and

- SMARCA2. *Am J Surg Pathol*. 2016;40(4):544–53.
59. Yang J, Liu X, Yue G, Adamian M, Bulgakov O, Li T. Rootletin, a novel coiled-coil protein, is a structural component of the ciliary rootlet. *J Cell Biol*. 2002 Nov 11;159(3):431–40.
 60. Brierley JD, Gospodarowicz MK, Wittekind C. *TNM classification of malignant tumours - 8th edition*. Union for International Cancer Control. 2017.
 61. Van Wyk HC, Roxburgh CS, Horgan PG, Foulis AF, McMillan DC. The detection and role of lymphatic and blood vessel invasion in predicting survival in patients with node negative operable primary colorectal cancer. Vol. 90, *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. Elsevier Ireland Ltd; 2014. p. 77–90.
 62. Akagi Y, Adachi Y, Ohchi T, Kinugasa T, Shirouzu K. Prognostic impact of lymphatic invasion of colorectal cancer: a single-center analysis of 1,616 patients over 24 years - PubMed. *Anticancer Res*. 2013;33:2965–70.
 63. Knijn N, van Exsel UEM, de Noo ME, Nagtegaal ID. The value of intramural vascular invasion in colorectal cancer – a systematic review and meta-analysis. Vol. 72, *Histopathology*. Blackwell Publishing Ltd; 2018. p. 721–8.
 64. Jiang HH, Zhang ZY, Wang XY, Tang X, Liu HL, Wang AL, et al. Prognostic significance of lymphovascular invasion in colorectal cancer and its association with genomic alterations. *World J Gastroenterol*. 2019 May 28;25(20):2489–502.
 65. Courtney ED, West NJ, Kaur C, Ho J, Kalber B, Hagger R, et al. Extramural vascular invasion is an adverse prognostic indicator of survival in patients with colorectal cancer. *Color Dis*. 2009;11(2):150–6.
 66. Dirschmid K, Sterlacci W, Rhomberg M, Offner FA. Extramural venous invasion in colorectal cancer stage i. Vol. 70, *Journal of Clinical Pathology*. BMJ Publishing Group; 2017. p. 551–2.
 67. van Wyk HC, Going J, Horgan P, McMillan DC. The role of perineural invasion in predicting survival in patients with primary operable colorectal cancer: A systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2017 Apr 1;112:11–20.
 68. Knijn N, Mogk SC, Teerenstra S, Simmer F, Nagtegaal ID. Perineural invasion

- is a strong prognostic factor in colorectal cancer. *Am J Surg Pathol*. 2016 Jan 1;40(1):103–12.
69. Yang Y, Huang X, Sun J, Gao P, Song Y, Chen X, et al. Prognostic Value of Perineural Invasion in Colorectal Cancer: A Meta-Analysis. *J Gastrointest Surg*. 2015 Jun 1;19(6):1113–22.
 70. Zhou Y, Wang H, Gong H, Cao M, Zhang G, Wang Y. Clinical significance of perineural invasion in stages II and III colorectal cancer. *Pathol Res Pract*. 2015 Nov 1;211(11):839–44.
 71. Nagtegaal ID, Knijn N, Hugen N, Marshall HC, Sugihara K, Tot T, et al. Tumor deposits in colorectal cancer: Improving the value of modern staging—a systematic review and meta-analysis. *J Clin Oncol*. 2017 Apr 1;35(10):1119–27.
 72. Mirkin KA, Kulaylat AS, Hollenbeak CS, Messaris E. Prognostic Significance of Tumor Deposits in Stage III Colon Cancer. *Ann Surg Oncol*. 2018 Oct 1;25(11):3179–84.
 73. Liu F, Zhao J, Li C, Wu Y, Song W, Guo T, et al. The unique prognostic characteristics of tumor deposits in colorectal cancer patients. *Ann Transl Med*. 2019 Dec;7(23):769–769.
 74. Qwaider YZ, Sell NM, Stafford CE, Kunitake H, Cusack JC, Ricciardi R, et al. Infiltrating Tumor Border Configuration is a Poor Prognostic Factor in Stage II and III Colon Adenocarcinoma. *Ann Surg Oncol*. 2020;
 75. Karamitopoulou E, Zlobec I, Koelzer VH, Langer R, Dawson H, Lugli A. Tumour border configuration in colorectal cancer: Proposal for an alternative scoring system based on the percentage of infiltrating margin. *Histopathology*. 2015 Oct 1;67(4):464–73.
 76. Lugli A, Kirsch R, Ajioka Y, Bosman F, Cathomas G, Dawson H, et al. Recommendations for reporting tumor budding in colorectal cancer based on the International Tumor Budding Consensus Conference (ITBCC) 2016. *Mod Pathol*. 2017 Sep 1;30(9):1299–311.
 77. Trinh A, Ladrach C, Dawson HE, ten Hoorn S, Kuppen PJK, Reimers MS, et al.

- Tumour budding is associated with the mesenchymal colon cancer subtype and RAS/RAF mutations: a study of 1320 colorectal cancers with Consensus Molecular Subgroup (CMS) data. *Br J Cancer*. 2018 Nov 13;119(10):1244–51.
78. Maffeis V, Nicolè L, Cappellesso R. RAS, Cellular Plasticity, and Tumor Budding in Colorectal Cancer. *Front Oncol*. 2019 Nov 19;9.
 79. Cappellesso R, Luchini C, Veronese N, Lo Mele M, Rosa-Rizzotto E, Guido E, et al. Tumor budding as a risk factor for nodal metastasis in pT1 colorectal cancers: a meta-analysis. *Hum Pathol*. 2017 Jul 1;65:62–70.
 80. Barresi V, Branca G, Ieni A, Reggiani Bonetti L, Baron L, Mondello S, et al. Poorly differentiated clusters (PDCs) as a novel histological predictor of nodal metastases in pT1 colorectal cancer. *Virchows Arch*. 2014;464(6):655–62.
 81. Barresi V, Reggiani Bonetti L, Ieni A, Caruso RA, Tuccari G. Poorly Differentiated Clusters: Clinical Impact in Colorectal Cancer. Vol. 16, *Clinical Colorectal Cancer*. Elsevier Inc.; 2017. p. 9–15.
 82. Konishi T, Shimada Y, Lee LH, Cavalcanti MS, Hsu M, Smith JJ, et al. Poorly Differentiated Clusters Predict Colon Cancer Recurrence. *Am J Surg Pathol*. 2018;42(6):705–14.
 83. Haruki K, Kosumi K, Li P, Arima K, Väyrynen JP, Lau MC, et al. An integrated analysis of lymphocytic reaction, tumour molecular characteristics and patient survival in colorectal cancer. *Br J Cancer*. 2020 Apr 28;122(9):1367–77.
 84. Idos GE, Kwok J, Bonthala N, Kysh L, Gruber SB, Qu C. The Prognostic Implications of Tumor Infiltrating Lymphocytes in Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Sci Rep*. 2020 Feb 25;10(1):3360.
 85. Narayanan S, Kawaguchi T, Peng X, Qi Q, Liu S, Yan L, et al. Tumor Infiltrating Lymphocytes and Macrophages Improve Survival in Microsatellite Unstable Colorectal Cancer. *Sci Rep*. 2019 Dec 1;9(1).
 86. GRINNELL RS. Distal intramural spread of carcinoma of the rectum and rectosigmoid. *Surg Gynecol Obstet*. 1954;99(4):421–30.
 87. Pahlman L, Bujko K, Rutkowski A, Michalski W. Altering the therapeutic paradigm towards a distal bowel margin of < 1 cm in patients with low-lying

- rectal cancer: A systematic review and commentary. *Color Dis.* 2013 Apr;15(4).
88. 3. Cancer du côlon non métastatique | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive [Internet]. [cited 2021 Jan 31]. Available from: <https://www.snfge.org/content/3-cancer-du-colon-non-metastatique>
 89. 5. Cancer du rectum | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive [Internet]. [cited 2021 Jan 31]. Available from: <https://www.snfge.org/content/5-cancer-du-rectum>
 90. Nagtegaal ID, Van Krieken JHJM. The role of pathologists in the quality control of diagnosis and treatment of rectal cancer - An overview. *Eur J Cancer.* 2002;38(7):964–72.
 91. Faus C, Roda D, Frasson M, Roselló S, García-Granero E, Flor-Lorente B, et al. The role of the pathologist in rectal cancer diagnosis and staging and surgical quality assessment. Vol. 12, *Clinical and Translational Oncology.* Clin Transl Oncol; 2010. p. 339–45.
 92. Fanelli GN, Loupakis F, Smyth E, Scarpa M, Lonardi S, Pucciarelli S, et al. Pathological Tumor Regression Grade Classifications in Gastrointestinal Cancers: Role on Patients' Prognosis. Vol. 27, *International Journal of Surgical Pathology.* SAGE Publications Inc.; 2019. p. 816–35.
 93. Dworak O, Keilholz L, Hoffmann A. Pathological features of rectal cancer after preoperative radiochemotherapy. *Int J Colorectal Dis.* 1997 Feb;12(1):19–23.
 94. Trakarnsanga A, Gönen M, Shia J, Nash GM, Temple LK, Guillem JG, et al. Comparison of tumor regression grade systems for locally advanced rectal cancer after multimodality treatment. *J Natl Cancer Inst.* 2014 Oct 1;106(10).
 95. 4. Cancer colorectal métastatique | SNFGE.org - Société savante médicale française d'hépatogastroentérologie et d'oncologie digestive [Internet]. [cited 2021 Feb 11]. Available from: <https://www.snfge.org/content/4-cancer-colorectal-metastatique>
 96. Martini G, Troiani T, Cardone C, Vitiello P, Sforza V, Ciardiello D, et al. Present and future of metastatic colorectal cancer treatment: A review of new candidate

- targets. Vol. 23, World Journal of Gastroenterology. Baishideng Publishing Group Co., Limited; 2017. p. 4675–88.
97. Cohen R, Cervera P, Svrcek M, Pellat A, Dreyer C, de Gramont A, et al. BRAF-Mutated Colorectal Cancer: What Is the Optimal Strategy for Treatment? Vol. 18, Current Treatment Options in Oncology. Springer New York LLC; 2017.
 98. Kawakami H, Zaanani A, Sinicrope FA. Microsatellite Instability Testing and Its Role in the Management of Colorectal Cancer. Vol. 16, Current Treatment Options in Oncology. Springer New York LLC; 2015. p. 30.
 99. Zhao P, Li L, Jiang X, Li Q. Mismatch repair deficiency/microsatellite instability-high as a predictor for anti-PD-1/PD-L1 immunotherapy efficacy. Vol. 12, Journal of Hematology and Oncology. BioMed Central Ltd.; 2019.
 100. Guinney J, Dienstmann R, Wang X, de Reyniès A, Schlicker A, Soneson C, et al. The consensus molecular subtypes of colorectal cancer. Nat Med. 2015 Nov;21(11):1350–6.
 101. Fessler E, Medema JP. Colorectal Cancer Subtypes: Developmental Origin and Microenvironmental Regulation. Trends in cancer. 2016;2(9):505–18.
 102. Praskova M, Khoklatchev A, Ortiz-Vega S, Avruch J. Regulation of the MST1 kinase by autophosphorylation, by the growth inhibitory proteins, RASSF1 and NORE1, and by Ras. Biochem J. 2004 Jul 15;381(Pt 2):453–62.
 103. Takahashi Y, Miyoshi Y, Takahata C, Irahara N, Taguchi T, Tamaki Y, et al. Down-Regulation of LATS1 and LATS2 mRNA Expression by Promoter Hypermethylation and Its Association with Biologically Aggressive Phenotype in Human Breast Cancers. Clin Cancer Res. 2005 Feb 15;11(4):1380–5.
 104. Dupont S, Morsut L, Aragona M, Enzo E, Giulitti S, Cordenonsi M, et al. Role of YAP/TAZ in mechanotransduction. Nature. 2011 Jun 8;474(7350):179–84.
 105. Zhang L, Tang F, Terracciano L, Hynx D, Kohler R, Bichet S, et al. NDR Functions as a Physiological YAP1 Kinase in the Intestinal Epithelium. Curr Biol. 2015 Feb 2;25(3):296–305.
 106. Dubois F, Keller M, Calvayrac O, Soncin F, Hoa L, Hergovich A, et al. RASSF1A Suppresses the Invasion and Metastatic Potential of Human Non–

- Small Cell Lung Cancer Cells by Inhibiting YAP Activation through the GEF-H1/RhoB Pathway. *Cancer Res.* 2016 Mar 15;76(6):1627–40.
107. Dubois F, Bergot E, Zalcman G, Levallet G. RASSF1A, puppeteer of cellular homeostasis, fights tumorigenesis and metastasis - An updated review. *Press Cell Death Dis.* 2019;
 108. Guo C, Zhang X, Pfeifer GP. The tumor suppressor RASSF1A prevents dephosphorylation of the mammalian STE20-like kinases MST1 and MST2. *J Biol Chem.* 2011 Feb 25;286(8):6253–61.
 109. Dubois F, Bergot E, Levallet G. Cancer and RASSF1A/RASSF1C, the Two Faces of Janus. Vol. 5, *Trends in Cancer.* Cell Press; 2019. p. 662–5.
 110. Pastuszek-Lewandoska D, Kordiak J, Migdalska-Sęk M, Czarnecka KH, Antczak A, Górski P, et al. Quantitative analysis of mRNA expression levels and DNA methylation profiles of three neighboring genes: FUS1, NPRL2/G21 and RASSF1A in non-small cell lung cancer patients. *Respir Res.* 2015 Jun 26;16(1):76.
 111. Schmidt ML, Hobbing KR, Donniger H, Clark GJ. RASSF1A Deficiency Enhances RAS-Driven Lung Tumorigenesis. *Cancer Res.* 2018 May 15;78(10):2614–23.
 112. Reeves ME, Baldwin SW, Baldwin ML, Chen S-T, Moretz JM, Aragon RJ, et al. Ras-association domain family 1C protein promotes breast cancer cell migration and attenuates apoptosis. *BMC Cancer.* 2010 Oct 18;10:562.
 113. Hesson LB, Wilson R, Morton D, Adams C, Walker M, Maher ER, et al. CpG island promoter hypermethylation of a novel Ras-effector gene RASSF2A is an early event in colon carcinogenesis and correlates inversely with K-ras mutations. *Oncogene.* 2005 Jun 4;24(24):3987–94.
 114. Cooper WN, Hesson LB, Matallanas D, Dallol A, von Kriegsheim A, Ward R, et al. RASSF2 associates with and stabilizes the proapoptotic kinase MST2. *Oncogene.* 2009 Aug 20;28(33):2988–98.
 115. Song H, Oh S, Oh HJ, Lim D-S. Role of the tumor suppressor RASSF2 in regulation of MST1 kinase activity. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010 Jan

- 1;391(1):969–73.
116. Creasy CL, Chernoff J. Cloning and characterization of a member of the MST subfamily of Ste20-like kinases. *Gene*. 1995 Dec 29;167(1–2):303–6.
 117. Seidel C, Schagdarsurengin U, Blümke K, Würfl P, Pfeifer GP, Hauptmann S, et al. Frequent hypermethylation of MST1 and MST2 in soft tissue sarcoma. *Mol Carcinog*. 2007 Oct;46(10):865–71.
 118. Avruch J, Zhou D, Fitamant J, Bardeesy N, Mou F, Barrufet LR. Protein kinases of the Hippo pathway: regulation and substrates. *Semin Cell Dev Biol*. 2012 Sep;23(7):770–84.
 119. Hergovich A. The Roles of NDR Protein Kinases in Hippo Signalling. *Genes (Basel)*. 2016 May 18;7(5):21.
 120. Keller M, Dubois F, Teulier S, Martin APJ, Levallet J, Maille E, et al. NDR2 kinase contributes to cell invasion and cytokinesis defects induced by the inactivation of RASSF1A tumor-suppressor gene in lung cancer cells. *J Exp Clin Cancer Res*. 2019 Apr 12;38(1):158.
 121. Lee MG, Jeong SI, Ko KP, Park SK, Ryu BK, Kim IY, et al. RASSF1A directly antagonizes RhoA activity through the assembly of a Smurf1-mediated destruction complex to suppress tumorigenesis. *Cancer Res*. 2016 Apr 1;76(7):1847–59.
 122. Azzolin L, Panciera T, Soligo S, Enzo E, Bicciato S, Dupont S, et al. YAP/TAZ incorporation in the β -catenin destruction complex orchestrates the Wnt response. *Cell*. 2014 Jul 3;158(1):157–70.
 123. Ma X, Zhang H, Xue X, Shah YM. Hypoxia-inducible factor 2 α (HIF-2 α) promotes colon cancer growth by potentiating Yes-associated protein 1 (YAP1) activity. *J Biol Chem*. 2017;292(41):17046.
 124. Levallet G, Creveuil C, Bekaert L, Péres E, Planchard G, Lecot-Cotigny S, et al. Promoter hypermethylation of genes encoding for RASSF/Hippo pathway members reveals specific alteration pattern in diffuse gliomas. *J Mol Diagnostics*. 2019 May 2;
 125. Han S, Bai E, Jin G, He C, Guo X, Wang L, et al. Expression and clinical

- significance of YAP, TAZ, and AREG in hepatocellular carcinoma. *J Immunol Res.* 2014;2014:261365.
126. Bouvier C, Macagno N, Nguyen Q, Loundou A, Jiguet-Jiglaire C, Gentet J-C, et al. Prognostic value of the Hippo pathway transcriptional coactivators YAP/TAZ and β 1-integrin in conventional osteosarcoma. *Oncotarget.* 2016 Oct 4;7(40):64702–10.
 127. Wang L, Shi S, Guo Z, Zhang X, Han S, Yang A, et al. Overexpression of YAP and TAZ is an independent predictor of prognosis in colorectal cancer and related to the proliferation and metastasis of colon cancer cells. *PLoS One.* 2013;8(6):e65539.
 128. Akino K, Toyota M, Suzuki H, Mita H, Sasaki Y, Ohe-Toyota M, et al. The Ras effector RASSF2 is a novel tumor-suppressor gene in human colorectal cancer. *Gastroenterology.* 2005 Jul 1;129(1):156–69.
 129. Harada K, Hiraoka S, Kato J, Horii J, Fujita H, Sakaguchi K, et al. Genetic and epigenetic alterations of Ras signalling pathway in colorectal neoplasia: analysis based on tumour clinicopathological features. *Br J Cancer.* 2007 Nov 19;97(10):1425–31.
 130. Wierzbicki PM, Adrych K, Kartanowicz D, Stanislawowski M, Kowalczyk A, Godlewski J, et al. Underexpression of LATS1 TSG in colorectal cancer is associated with promoter hypermethylation. *World J Gastroenterol.* 2013 Jul 21;19(27):4363–73.
 131. Zheng Y-B, Xiao K, Xiao G-C, Tong S-L, Ding Y, Wang Q-S, et al. MicroRNA-103 promotes tumor growth and metastasis in colorectal cancer by directly targeting LATS2. *Oncol Lett.* 2016 Sep;12(3):2194–200.
 132. Sun Z-Q, Shi K, Zhou Q-B, Zeng X-Y, Liu J, Yang S-X, et al. MiR-590-3p promotes proliferation and metastasis of colorectal cancer via Hippo pathway. *Oncotarget.* 2017 Aug 29;8(35):58061–71.
 133. Schagdarsurengin U, Gimm O, Hoang-Vu C, Dralle H, Pfeifer GP, Dammann R. Frequent epigenetic silencing of the CpG island promoter of RASSF1A in thyroid carcinoma. *Cancer Res.* 2002 Jul 1;62(13):3698–701.

134. Seidel C, Schagdarsurengin U, Blümke K, Würfl P, Pfeifer GP, Hauptmann S, et al. Frequent hypermethylation of MST1 andMST2 in soft tissue sarcoma. *Mol Carcinog.* 2007 Oct;46(10):865–71.
135. Broman KK, Bailey CE, Parikh AA. Sidedness of Colorectal Cancer Impacts Risk of Second Primary Gastrointestinal Malignancy. *Ann Surg Oncol.* 2019 Jul 15;26(7):2037–43.
136. Brenner H, Chen C. The colorectal cancer epidemic: challenges and opportunities for primary, secondary and tertiary prevention. Vol. 119, *British Journal of Cancer.* Nature Publishing Group; 2018. p. 785–92.
137. Siegel R, DeSantis C, Jemal A. Colorectal cancer statistics, 2014. *CA Cancer J Clin.* 2014 Mar;64(2):104–17.
138. Loree JM, Pereira AAL, Lam M, Willauer AN, Raghav K, Dasari A, et al. Classifying colorectal cancer by tumor location rather than sidedness highlights a continuum in mutation profiles and consensus molecular subtypes. *Clin Cancer Res.* 2018 Mar 1;24(5):1062–72.
139. Connell LC, Mota JM, Braghiroli MI, Hoff PM. The Rising Incidence of Younger Patients With Colorectal Cancer: Questions About Screening, Biology, and Treatment. Vol. 18, *Current Treatment Options in Oncology.* Springer New York LLC; 2017.
140. Yahagi M, Okabayashi K, Hasegawa H, Tsuruta M, Kitagawa Y. The Worse Prognosis of Right-Sided Compared with Left-Sided Colon Cancers: a Systematic Review and Meta-analysis. *J Gastrointest Surg.* 2016 Mar 1;20(3):648–55.
141. Lee GH, Malietzis G, Askari A, Bernardo D, Al-Hassi HO, Clark SK. Is right-sided colon cancer different to left-sided colorectal cancer? - A systematic review. Vol. 41, *European Journal of Surgical Oncology.* W.B. Saunders Ltd; 2015. p. 300–8.
142. Benedix F, Kube R, Meyer F, Schmidt U, Gastinger I, Lippert H. Comparison of 17,641 patients with right- and left-sided colon cancer: Differences in epidemiology, perioperative course, histology, and survival. *Dis Colon Rectum.* 2010 Jan;53(1):57–64.

143. Bryan S, Masoud H, Weir HK, Woods R, Lockwood G, Smith L, et al. Health Reports Cancer in Canada: Stage at diagnosis.
144. Aguiar Junior S, de OLIVEIRA MM, E Silva DRM, de MELLO CAL, Calsavara VF, Curado MP. Survival of patients with colorectal cancer in a cancer center. *Arq Gastroenterol.* 2020 Apr 1;57(2):172–7.
145. Lord AC, D’Souza N, Pucher PH, Moran BJ, Abulafi AM, Wotherspoon A, et al. Significance of extranodal tumour deposits in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. Vol. 82, *European Journal of Cancer.* Elsevier Ltd; 2017. p. 92–102.
146. Li X, Zhao Q, An B, Qi J, Wang W, Zhang D, et al. Prognostic and predictive value of the macroscopic growth pattern in patients undergoing curative resection of colorectal cancer: A single-institution retrospective cohort study of 4,080 Chinese patients. *Cancer Manag Res.* 2018;10:1875–87.
147. Koelzer VH, Lugli A. The tumor border configuration of colorectal cancer as a histomorphological prognostic indicator. *Front Oncol.* 2014;4 MAR.
148. Betge J, Kornprat P, Pollheimer MJ, Lindtner RA, Schlemmer A, Rehak P, et al. Tumor budding is an independent predictor of outcome in AJCC/UICC stage II colorectal cancer. *Ann Surg Oncol.* 2012 Nov;19(12):3706–12.
149. Lai YH, Wu LC, Li PS, Wu WH, Yang SB, Xia P, et al. Tumour budding is a reproducible index for risk stratification of patients with Stage II colon cancer. *Color Dis.* 2014;16(4):259–64.
150. Nakamura T, Mitomi H, Kanazawa H, Ohkura Y, Watanabe M. Tumor budding as an index to identify high-risk patients with stage II colon cancer. *Dis Colon Rectum.* 2008 May;51(5):568–72.
151. Graham RP, Vierkant RA, Tillmans LS, Wang AH, Laird PW, Weisenberger DJ, et al. Tumor budding in colorectal carcinoma: Confirmation of prognostic significance and histologic cutoff in a population-based cohort. *Am J Surg Pathol.* 2015 Oct 1;39(10):1340–6.
152. Petrelli F, Pezzica E, Cabiddu M, Coinu A, Borgonovo K, Ghilardi M, et al. Tumour Budding and Survival in Stage II Colorectal Cancer: a Systematic

- Review and Pooled Analysis. Vol. 46, Journal of Gastrointestinal Cancer. Humana Press Inc.; 2015. p. 212–8.
153. Park H-W, Kang HC, Kim I-J, Jang S-G, Kim K, Yoon H-J, et al. Correlation between hypermethylation of the RASSF2A promoter and K-ras/BRAF mutations in microsatellite-stable colorectal cancers. *Int J Cancer*. 2007 Jan 1;120(1):7–12.
 154. Expression of RASSF2 in colorectal cancer - The Human Protein Atlas [Internet]. [cited 2021 Apr 19]. Available from: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000101265-RASSF2/pathology/colorectal+cancer/COAD>
 155. Luo D, Ye T, Li T-Q, Tang P, Min S-D, Zhao G-F, et al. Ectopic expression of RASSF2 and its prognostic role for gastric adenocarcinoma patients. *Exp Ther Med*. 2012 Mar;3(3):391–6.
 156. Aydin D, Bilici A, Kayahan S, Yavuzer D, Basar M, Aliustaoglu M. Prognostic importance of RASSF2 expression in patients with gastric cancer who had undergone radical gastrectomy. *Clin Transl Oncol*. 2016 Jun 12;18(6):608–16.
 157. Carter J V., O'Brien SJ, Burton JF, Oxford BG, Stephen V, Hallion J, et al. The microRNA-200 family acts as an oncogene in colorectal cancer by inhibiting the tumor suppressor RASSF2. *Oncol Lett*. 2019;18(4):3994–4007.
 158. Hu F, Chen L, Bi MY, Zheng L, He JX, Huang YZ, et al. Potential of RASSF1A promoter methylation as a biomarker for colorectal cancer: Meta-analysis and TCGA analysis. Vol. 216, *Pathology Research and Practice*. Elsevier GmbH; 2020.
 159. Jiang Y, Cui L, Chen W, Shen S, Ding L. The prognostic role of RASSF1A promoter methylation in breast cancer: a meta-analysis of published data. *PLoS One*. 2012;7(5):e36780.
 160. Cao D, Chen Y, Tang Y, Peng XC, Dong H, Li LH, et al. Loss of RASSF1A expression in colorectal cancer and its association with k-ras status. *Biomed Res Int*. 2013;2013.
 161. Sun X, Yuan W, Hao F, Zhuang W. Promoter methylation of RASSF1A

- indicates prognosis for patients with stage II and III colorectal cancer treated with oxaliplatin-based chemotherapy. *Med Sci Monit.* 2017 Nov 12;23:5389–95.
162. Mino P, Zlobec I, Baker K, Tornillo L, Terracciano L, Jass JR, et al. Prognostic significance of mammalian sterile20-like kinase 1 in colorectal cancer. *Mod Pathol.* 2007 Mar 2;20(3):331–8.
163. Maille E, Brosseau S, Hanoux V, Creveuil C, Danel C, Bergot E, et al. MST1/Hippo promoter gene methylation predicts poor survival in patients with malignant pleural mesothelioma in the IFCT-GFPC-0701 MAPS Phase 3 trial. *Br J Cancer.* 2019;120(4):387–97.
164. Guo Z, Li G, Bian E, Ma C-C, Wan J, Zhao B. TGF- β -mediated repression of MST1 by DNMT1 promotes glioma malignancy. *Biomed Pharmacother.* 2017 Oct;94:774–80.
165. Expression of LATS2 in colorectal cancer - The Human Protein Atlas [Internet]. [cited 2021 Apr 22]. Available from: <https://www.proteinatlas.org/ENSG00000150457-LATS2/pathology/colorectal+cancer/COAD>
166. Peng H, Pan X, Su Q, Zhu LS, Ma GD. MIR-372-3p promotes tumor progression by targeting LATS2 in colorectal cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2019;23(19):8332–44.
167. Zhang Y, Hu C-F, Chen J, Yan L-X, Zeng Y-X, Shao J-Y. LATS2 is demethylated and overexpressed in nasopharyngeal carcinoma and predicts poor prognosis. *BMC Cancer.* 2010 Oct 8;10:538.
168. CHEN K-H, HE J, WANG D-L, CAO J-J, LI M-C, ZHAO X-M, et al. Methylation-associated inactivation of LATS1 and its effect on demethylation or overexpression on YAP and cell biological function in human renal cell carcinoma. *Int J Oncol.* 2014 Dec;45(6):2511–21.
169. Malik SA, Khan MS, Dar M, Hussain MU, Shah MA, Shafi SM, et al. Molecular Alterations and Expression Dynamics of LATS1 and LATS2 Genes in Non-Small-Cell Lung Carcinoma. *Pathol Oncol Res.* 2018 Apr 22;24(2):207–14.
170. Kim E, Ahn B, Oh H, Lee YJ, Lee JH, Lee Y, et al. High Yes-associated protein

1 with concomitant negative LATS1/2 expression is associated with poor prognosis of advanced gastric cancer. *Pathology*. 2019 Apr;51(3):261–7.

« Par délibération de son Conseil en date du 10 Novembre 1972, l'Université n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ou mémoires. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs ».

VU, le Président de Thèse

VU, le Doyen de la Faculté

VU et permis d'imprimer
en référence à la délibération
du Conseil d'Université
en date du 14 Décembre 1973

Pour le Président
de l'Université de CAEN et P.O

Le Doyen

ANNEE DE SOUTENANCE : 2021

NOM ET PRENOM DE L'AUTEUR : RIFFET Marc

TITRE DE LA THESE : CRITERES HISTOPRONOSTIQUES ET ALTERATIONS DE LA VOIE RASSF/HIPPO DANS LA CARCINOGENESE DES CANCERS COLIQUES

RESUME DE LA THESE EN FRANÇAIS : La carcinogenèse colorectale résulte de plusieurs mécanismes d'altérations géniques et épigénétiques, dont l'altération de la voie RASSF/Hippo, par hyperméthylation du promoteur des gènes impliqués dans cette voie. Les objectifs de notre étude étaient d'analyser l'impact des facteurs histopronostiques, ainsi que le statut de méthylation des gènes de la voie RASSF/Hippo sur la survie de patients atteints d'un cancer colique. Le statut de méthylation a été étudié par PCR spécifique de méthylation. La survie a été étudiée en réalisant des courbes de Kaplan-Meier, et un modèle de régression Cox a été utilisé pour identifier les facteurs pronostiques sur la survie globale et sans récurrence. Nos résultats mettent en évidence un mauvais pronostic du mode d'invasion tumoral de type infiltrant et de la présence de dépôts tumoraux isolés. Un budding de haut grade montre une tendance à un mauvais pronostic, sans différence significative. L'étude de la méthylation des membres de la voie RASSF/Hippo montre que le promoteur de *RASSF2* est fréquemment méthylé dans les cancers coliques (86,9%), et que les patients présentent une moins bonne survie lorsque celui-ci est méthylé. L'analyse des récents facteurs histopronostiques comme le mode d'infiltration, les dépôts tumoraux et le budding pourraient s'intégrer dans les résultats des examens anatomo-pathologiques, car ils ont un impact pronostique. L'étude du statut de méthylation de *RASSF2* pourrait également constituer à l'avenir un facteur pronostique à rechercher en pratique clinique.

MOTS CLES : carcinogenèse, cancers coliques, voie de signalisation Hippo, facteurs histopronostiques

TITRE DE LA THESE EN ANGLAIS : HISTOPRONOSTICS CRITERIA AND RASSF/HIPPO PATHWAY ALTERATIONS IN CARCINOGENESIS OF COLIC CANCER

RESUME DE LA THESE EN ANGLAIS : Colorectal carcinogenesis results from several mechanisms of genetic and epigenetic alterations, including alteration of the RASSF/Hippo pathway, by hypermethylation of gene's promoter involved in this pathway. The objectives of our study were to analyze the impact of histopronostic factors, as well as the methylation status of genes in RASSF/Hippo pathway on the survival of patients with colic cancer. Methylation status was investigated by Methyl Specific PCR. Survival was studied using Kaplan-Meier curves, and a Cox regression model was used to identify prognostic factors for overall and free recurrence survival. Our results show a poor prognosis of infiltrating type of tumor invasion mode and presence of isolated tumor deposits. A high-grade budding shows a tendency to poor prognosis, with no significant difference. The methylation study of RASSF/Hippo members shows that *RASSF2* promoter is frequently methylated in colic cancer (86.9%), and that patients have poorer survival when methylated. The analysis of recent histopronostic factors such as invasion mode, tumor deposits and budding could be integrated into the results of anatomo-pathological examinations, as they have a prognostic impact. The study of the methylation status of *RASSF2* may also be a prognostic factor for clinical practice in the future.

KEY WORDS : carcinogenesis, colic cancers, Hippo pathway, histopronostic factors