



HAL
open science

Apport de la technique de NGS ciblé par LD-RT-PCR pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique des tumeurs des glandes salivaires et recherche de corrélation histo-moléculaire

René Guérin

► **To cite this version:**

René Guérin. Apport de la technique de NGS ciblé par LD-RT-PCR pour la prise en charge diagnostique et thérapeutique des tumeurs des glandes salivaires et recherche de corrélation histo-moléculaire. Médecine humaine et pathologie. 2022. dumas-03849844

HAL Id: dumas-03849844

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03849844v1>

Submitted on 12 Nov 2022

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.

UFR DE SANTE DE ROUEN NORMANDIE

ANNEE 2022

**THÈSE POUR LE
DOCTORAT EN MEDECINE**

(Diplôme d'Etat)

Par

GUÉRIN René

NÉ LE 02/11/1992 À CHAMBRAY-LÈS-TOURS

PRESENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 18 OCTOBRE 2022

**APPORT DE LA TECHNIQUE DE NGS CIBLE PAR LD-RT-PCR POUR LA
PRISE EN CHARGE DIAGNOSTIQUE ET THERANOSTIQUE DES
TUMEURS DES GLANDES SALIVAIRES ET RECHERCHE DE
CORRELATION HISTO-MOLECULAIRE**

PRESIDENT DU JURY : Monsieur le Pr Jean-Christophe SABOURIN

DIRECTRICE DE THESE : Madame la Dre Marick LAÉ

MEMBRE DU JURY : Madame la Pre Valérie COSTES-MARTINEAU

Monsieur le Pr Fabrice JARDIN

Monsieur le Dr Philippe RUMINY

ANNEE UNIVERSITAIRE 2021 - 2022

U.F.R. SANTÉ DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Loïc FAVENNEC**
Professeur Agnès LIARD
Professeur Guillaume SAVOYE

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle APTER	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc BASTE	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mme Sophie CANDON	HCN	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Florian CLATOT	CB	Cancérologie – Radiothérapie
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie

Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Frédéric DI FIORE	CHB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET (<i>disponibilité</i>)	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CHB	Radiothérapie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mme Julie GUEUDRY	HCN	Ophthalmologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Claude HOUDAYER	HCN	Génétique
Mr Fabrice JARDIN	CHB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénérologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HCN	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HCN	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HCN	Médecine interne

Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Benoit MISSET (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Gaël NICOLAS	UFR	Génétique
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Horace ROMAN (<i>détachement</i>)	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatogastro-entérologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Lilian SCHWARZ	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Réanimation médicale
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Anatomie -Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HC	Rhumatologie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie
Mme Marie-Laure WELTER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Najate ACHAMRAH	HCN	Nutrition
Mme Elodie ALESSANDRI-GRADT	HCN	Virologie
Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Emmanuel BESNIER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Neurophysiologie
Mr Damien COSTA	HCN	Parasitologie
Me Pierre DECAZES	CB	Médecine Nucléaire
M. Vianney GILARD	HCN	Neurochirurgie
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
M. Florent MARGUET	HCN	Histologie
Mme Chloé MELCHIOR	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Sébastien MIRANDA	HCN	Médecine Vasculaire
Mr Thomas MOUREZ (<i>détachement</i>)	HCN	Virologie
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
M. Abdellah TEBANI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr Julien WILS	HCN	Pharmacologie

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mr Thierry WABLE	UFR	Communication
Mme Mélanie AUVRAY-HAMEL	UFR	Anglais

ATTACHE TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE à MI-TEMPS

Mme Justine SAULNIER	UFR	Biologie
-----------------------------	-----	----------

II - PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mr Jérémy BELLIEN (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Margueritta AL ZALLOUHA	Toxicologie
Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Thomas CASTANHEIRO MATIAS	Chimie Organique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER (LE CLEZIO)	Statistiques
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla EL GHARBI-HAMZA	Chimie analytique
Mr Chervin HASSEL	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme Maryline LECOINTRE	Physiologie

Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Biologie Cellulaire
M. Jérémie MARTINET (MCU-PH)	Immunologie
M. Romy RAZAKANDRAINIBÉ	Parasitologie
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mme Caroline BERTOUX	Pharmacie

PAU-PH

M. Mikaël DAOUPHARS
M. Pierre BOHN

PAU

M. Damien SALAUZE

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES

M. Eric BARAT	Pharmacie
M. Guillaume FEUGRAY	Biochimie Générale
M. Henri GONDÉ	Pharmacie
M. Paul BILLOIR	Hématologie
M. Romain LEGUILLON	Pharmacie
M. Thomas DUFLOT	Pharmacologie
Mme Alice MOISAN	Virologie

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mme Chaïma EZZINE	Pharmacologie
M. Abdelmounaim MOUHAJIR	Parasitologie
M. Olivier PERRUCHON	Pharmacognosie

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT

M. Maxime **GRAND**

Bactériologie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile **BARBOT**

Chimie Générale et minérale

Mr Thierry **BESSON**

Chimie thérapeutique

Mr Abdeslam **CHAGRAOUI**

Physiologie

Mme Elisabeth **CHOSSON**

Botanique

Mme Marie-Catherine **CONCE-CHEMTOB**

Législation et économie de la santé

Mme Isabelle **DUBUS**

Biochimie

Mr Abdelhakim **EL OMRI**

Pharmacognosie

Mr François **ESTOUR**

Chimie organique

Mr Loïc **FAVENNEC**

Parasitologie

Mr Michel **GUERBET**

Toxicologie

Mme Martine **PESTEL-CARON**

Microbiologie

Mr Mohamed **SKIBA**

Pharmacie galénique

Mr Rémi **VARIN**

Pharmacie clinique

M. Jean-Marie **VAUGEOIS**

Pharmacologie

Mr Philippe **VERITE**

Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR MEDECINE GENERALE

Mr Jean-Loup **HERMIL** (PU-MG) UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCE MEDECINE GENERALE

Mr Matthieu **SCHUERS** (MCU-MG) UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mr Julien **BOUDIER** UFR Médecine Générale

Mme Laëtitia **BOURDON** UFR Médecine Générale

Mme Elsa **FAGOT-GRIFFIN** UFR Médecine Générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mr Jonathan BRETON (med)	Nutrition
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (med)	Neurosciences (Néovasc)
M. Sylvain FRAINEAU (med)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel LETELLIER (med)	Physiologie
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Anne-Sophie PEZZINO	Orthophonie
Mme Christine RONDANINO (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var TAN	Immunologie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

DIRECTEUR ADMINISTRATIF : M. Jean-Sébastien **VALET**

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation **SJ – Saint Julien Rouen**

Abréviations :

<u>ACB</u>	Adénome à cellules basales
<u>ACE</u>	Antigène Carcino-Embryonnaire
<u>ACGS</u>	Adénocarcinome cribriforme des glandes salivaires
<u>ADN</u>	Acide DésoxyriboNucléique
<u>ADNm</u>	Acide RiboNucléique messager
<u>AFIP</u>	Armed Forces Institute of Pathology
<u>ALK</u>	ALK receptor tyrosine kinase
<u>AML</u>	Actine Muscle Lisse
<u>AMS</u>	Adénocarcinome microsécrétoire
<u>AP</u>	Adénome pléomorphe
<u>ARN</u>	Acide RiboNucléique
<u>ATF1</u>	Activating Transcription Factor 1
<u>CAK</u>	Carcinome Adénoïde Kystique
<u>CCAc</u>	Carcinome à cellules acineuses
<u>CCCH</u>	Carcinome à cellules claires hyalinisant
<u>CCS</u>	Carcinome canalaire salivaire
<u>CI</u>	Carcinome intraductal
<u>CK</u>	CytoKératine
<u>CM</u>	Carcinome myoépithélial
<u>CME</u>	Carcinome muco-épidermoïde
<u>COCC</u>	Carcinome Odontogène à cellules claires
<u>CREB1</u>	cAMP Response Element Binding protein 1
<u>CREM</u>	cAMP Response Element Modulator
<u>CRTC1/3</u>	CREB Regulated Transcription Coactivator 1/3
<u>CS</u>	Carcinome Sécrétoire
<u>CxAP</u>	Carcinome ex-adénome pléomorphe
<u>DOG1</u>	Discovered On GIST 1
<u>EMA</u>	Epithelial membrane antigen antibody
<u>EML4</u>	EMAP Like 4
<u>ETV6</u>	ETS Variant Transcription Factor 5/6
<u>EWSR1</u>	Ewing Sarcoma Breakpoint Region 1
<u>FFPE</u>	Fixé au formol et inclus en paraffine
<u>FISH</u>	Fluorescent In Situ Hybridization
<u>GFAP</u>	Gliale Fibrillary Acidic Protein
<u>GS</u>	Glandes salivaires
<u>HE(S)</u>	Hématoxyline Eosine (Safran)
<u>HMGA2</u>	High Mobility Group AT-Hook 2
<u>IRM</u>	Imagerie par Résonance Magnétique
<u>LD-RT-PCR</u>	Ligation Dependent – Reverse Transcription – Polymérase in Chain Reaction
<u>MAML2</u>	MAsterMind Like transcriptional coactivator 2
<u>MYB</u>	MYB proto-oncogene
<u>MYBL1</u>	MYB proto-oncogene like 1
<u>NCOA4</u>	Nuclear Receptor COActivator 4

<u>ND</u>	Non disponible
<u>NFIB</u>	Nuclear Factor IB
<u>NGS</u>	New Generation Sequencing
<u>NTRK3</u>	Neurotrophic Receptor Tyrosine Kinase 3
<u>OMS</u>	Organisation Mondiale de la Santé
<u>ORL</u>	Oto-Rhino-Laryngologie
<u>PCR</u>	Polymerase in Chain Reaction
<u>PLAG1</u>	Pleomorphic Adenoma Gene 1
<u>REFCOR(path)</u>	Réseau d'Expertise Français Sur les Cancers ORL Rares (pathologie)
<u>RNA-Séq</u>	Séquençage d'ARN
<u>SAI</u>	Sans autre spécificité
<u>SOX10</u>	SRY-related HMG-box 10
<u>UMI</u>	Unique molecular identifier
<u>WIF1</u>	WNT Inhibitor Factor 1

Sommaire :

Introduction.....	1
I. Les Glandes salivaires	1
I.1. Embryologie.....	1
I.2. Anatomie	1
I.2.A. Les glandes parotides.....	1
I.2.B. Les glandes submandibulaires	3
I.2.C. Les glandes sublinguales	4
I.2.D. Les glandes salivaires accessoires.....	4
I.3. Rôle physiologique	5
I.4. Histologie.....	7
I.4.A. Morphologie.....	7
I.4.B. Immunohistochimie	9
II. Réarrangement chromosomique et gène de fusion	11
II.1. Historique	11
II.2. Impact des transcrits de fusion dans la tumorigénèse	13
II.3. Mécanismes de formation des transcrits de fusion.....	14
II.3.A. Le réarrangement chromosomique	14
II.3.B. Le trans-épissage (ou trans-splicing).....	16
II.3.C. Le cis-épissage (ou cis-splicing)	17
III-Tumeurs des glandes salivaires.....	18
III.1. Généralités	18
III.2. Epidémiologie	19
III.3. Facteurs de risque	20
III.4. Diagnostic	20
III.5. Prise en charge	21
III.6. Le REFCOR	22
IV-Tumeurs salivaires associées à des transcrits de fusion.....	24
IV.1. Carcinome mucoépidermoïde	24
IV.2. Carcinome adénoïde kystique.....	27
IV.3. Carcinome à cellules claires hyalinisant.....	29
IV.4. Carcinome odontogène à cellules claires	30
IV.5. Carcinome sécrétoire	31
IV.6. Carcinome intraductal.....	32
IV.7. Carcinome à cellules acineuses.....	33
IV.8. Carcinome myoépithélial	34
IV.9. Carcinome canalaire salivaire	34
IV.10. Adénocarcinome cribriforme des glandes salivaires	34
IV.11. Adénocarcinome microsécrétoire	35
IV.12. Adénome pléomorphe et Carcinome ex-Adénome pléomorphe.....	35
IV.13. Adénocarcinome NOS	36
Objectif de l'étude.....	38
Matériel et Méthode.....	38
I. Critères d'inclusion	38
II. Procédure de l'étude.....	39
II.1. Recueil de données	39
II.2. Etude moléculaire	40

II.3. Données histomorphologiques	45
Résultats	47
I. Résultats globaux	47
II. Carcinomes muco-épidermoïdes	49
III. Carcinomes adénoïdes kystiques	54
IV. Carcinomes sécrétoires	59
V. Carcinomes intraductaux	64
VI. Carcinomes à cellules claires hyalinisants.....	69
VII. Carcinomes odontogènes à cellules claires	73
VIII. Adénomes pléomorphes et carcinome ex-adénome pléomorphe.....	75
Discussion et Perspectives	86
I. Contexte actuel	86
II. Résultats de l'étude.....	88
II.1. Résultats de biologie moléculaire	88
II.2.A. Au total.....	88
II.2.B. Carcinome muco-épidermoïde	88
II.2.C. Carcinome adénoïde kystique.....	90
II.2.D. Carcinome sécrétoire	91
II.2.E. Carcinome à cellules claires hyalinisant/odontogène à cellules claires	92
II.2.F. Carcinome intraductal	93
II.2.G. Adénome pléomorphe.....	94
II.2.H. Apport du NGS ciblé par LD-RT-PCR	94
II.2. Perspective	96
Conclusion	97

Introduction

I. Les Glandes salivaires

Les glandes salivaires correspondent à un ensemble d'**organes exocrines** permettant la **sécrétion de la salive**.

Elles regroupent **trois paires de glandes salivaires majeures** que sont les glandes **parotides**, les glandes **submandibulaires** et les glandes **sublinguales**, auxquelles s'ajoutent plus d'un millier de **glandes salivaires mineures** (ou accessoires).

I.1. Embryologie

Au cours du développement embryonnaire humain les glandes salivaires se forment entre la **4^{ème} et la 12^{ème} semaine de gestation**.

Une **placode épithéliale** d'origine ectodermique se forme à partir de l'épithélium de la paroi buccale (ou stomodéum). Cette placode prolifère et forme un **bourgeon épithélial** solide. Les bourgeons ainsi formés s'invaginent au sein du mésenchyme sous-jacent pour donner un tunnel, dans un premier temps plein. La glande se développe à partir de l'extrémité aveugle du tunnel avec installation d'une **structure arborescente**. Les extrémités de ces ramifications forment, par la suite, les acini sécrétoires. Ces bourgeons épithéliaux solides se tunnelisent dans un second temps et deviennent creux. A partir du mésenchyme avoisinant, se développe la **capsule des glandes salivaires majeures** (1,2).

I.2. Anatomie

I.2.A. Les glandes parotides

La parotide est la **plus volumineuse des glandes salivaires** avec un poids moyen de 25g. Elle est située en arrière de la branche mandibulaire, au-dessous du méat acoustique externe et en avant du processus mastoïde, du processus styloïde de l'os temporal, des muscles du rideau stylien et du muscle digastrique (**Figure 1**).

Cette glande est subdivisée en deux sous parties que sont la **partie superficielle** (pars superficialis) et la **partie profonde** (pars profunda), séparées par un plan fibreux, lui-même traversé par le **nerf facial** (VII), la **veine jugulaire externe** et la **veine rétro-mandibulaire**. La vascularisation se fait via l'**artère carotide externe** venant s'enfoncer dans la partie profonde de la glande.

Son innervation parasympathique est assurée par le **nerf auriculo-temporal**, issu du V3, et son innervation sympathique est assurée par le **plexus carotidien externe**.

Depuis le bord antérieur de la glande, démarre le **conduit parotidien** (anciennement appelé canal de Sténon) qui traverse la région massétérine pour venir s'aboucher en regard du **collet de la première ou deuxième molaire supérieure. (3,4).**

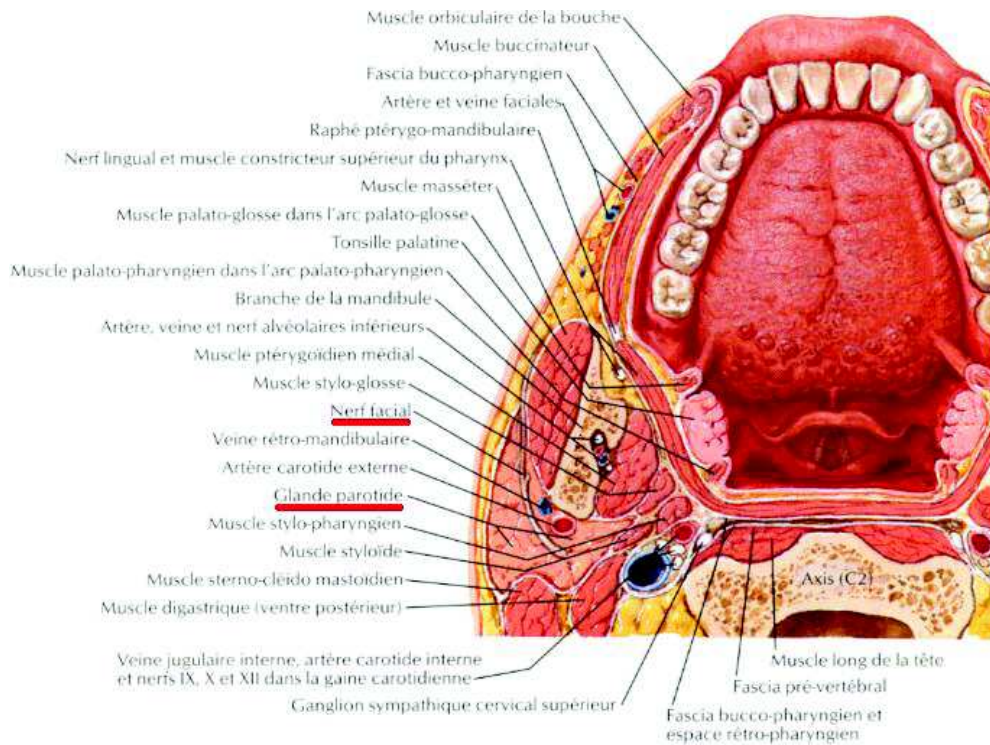


Figure 1. Coupe horizontale de la mandibule au niveau de la langue montrant la loge de la glande parotide. (NETTER F.H., Atlas d'anatomie humaine, 4^{ème} édition, Masson 2007)

I.2.B. Les glandes submandibulaires

La glande submandibulaire est la **deuxième glande salivaire la plus volumineuse** avec un poids moyen de 7g. Située dans la loge éponyme, elle est comprise **entre la face médiale de la branche de la mandibule et la face latérale de la base de la langue** (Figure 2). Elle vient s'enrouler au bord postérieur du muscle mylo-hyoïdien, lequel délimite alors une **partie superficielle** et une **partie profonde**.

Sa vascularisation est assurée par **les artères faciale et submentonnière**. L'innervation parasympathique provient du **ganglion submandibulaire** issu du nerf facial.

Le **conduit submandibulaire** (ancien canal de Wharton) mesure 5 cm de long et naît de la partie profonde. Il s'ouvre au niveau des **caroncules sublinguales** situées de part et d'autre du frein de la langue. (5,6)

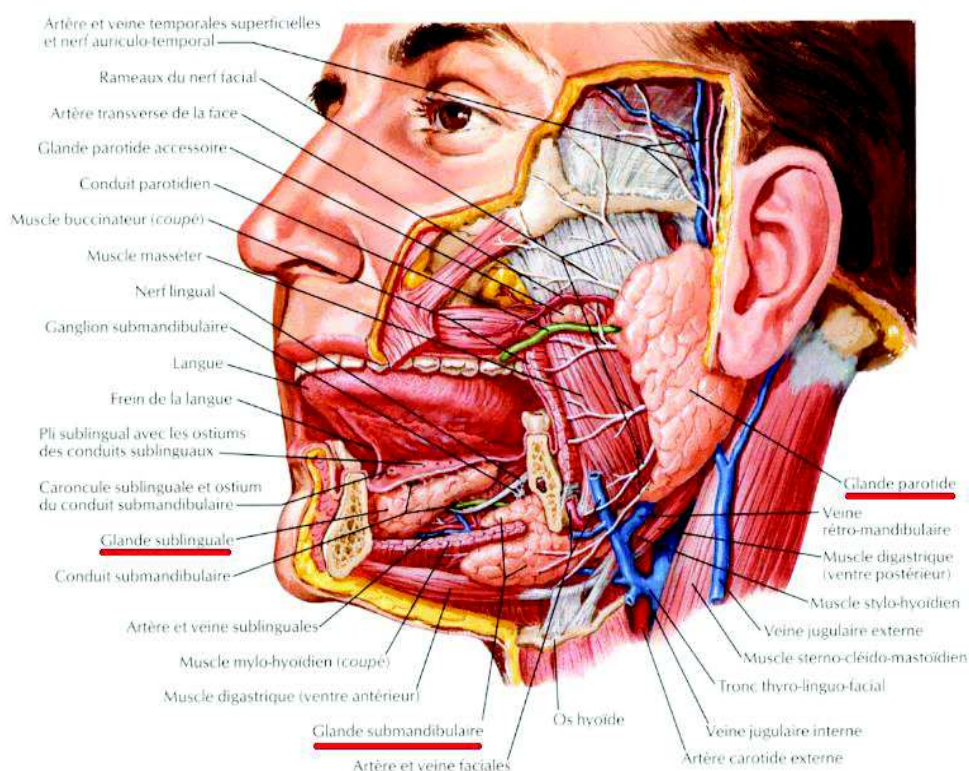


Figure 2. Vue d'ensemble des glandes salivaires majeures. (NETTER F.H., Atlas d'anatomie humaine, 4^{ème} édition, Masson 2007)

I.2.C. Les glandes sublinguales

La **glande sublinguale** est de **petite taille**, avec un poids d'environ 3g. Elle se situe dans le plancher buccal, **au-dessous de la muqueuse du sillon alvéolo-lingual**.

Elle possède une multitude de canaux excréteurs dont le plus important, le **canal de Rivinus**, longe le canal submandibulaire pour soit s'y aboucher, soit s'aboucher à la caroncule sublinguale.

Sa vascularisation est effectuée par les **artères sublinguale et submentonnière**. Le drainage se fait par les **veines du même nom**.

Son innervation parasympathique provient du **noyau salivaire supérieur** via la corde du tympan et son innervation sympathique provient du **ganglion cervical supérieur** (4,7).

I.2.D. Les glandes salivaires accessoires

Les **glandes salivaires accessoires** sont les plus nombreuses. Entre **500 et 1000 lobules glandulaires** sont dispersés dans la sous-muqueuse de la sphère ORL. La majeure partie (70 à 90%) est située dans la **cavité buccale et l'oropharynx**. Cela comprend les lèvres, la langue, le palais et la muqueuse buccale. Ces lobules sont séparés les uns des autres et mesurent entre **1 à 5 mm de grand axe**. Le **canal excréteur** sert bien souvent de dernier relais.

Des glandes similaires sont retrouvées au niveau du nez, du pharynx et du larynx mais **ne sont pas considérées comme des glandes salivaires car elles ne participent pas à la conception de la salive**. Néanmoins, cela explique les similarités des tumeurs se développant dans ces localisations avec les tumeurs des glandes salivaires. Les glandes salivaires accessoires des lèvres sont bien souvent **les seules palpables en clinique**. Elles sont plus nombreuses au niveau du palais et ont tendance à confluer (8).

Suivant le type de sécrétion, certains sous-groupes de glandes salivaires accessoires sont individualisables. A titre d'exemple, on pourrait citer les **glandes séreuses de Von Ebner** (Figure 3), situées à la partie postérieure de la langue au niveau du V lingual, et dont les canaux excréteurs s'abouchent dans le sillon qui circonscrit la base des papilles caliciformes. Les **glandes muqueuses** sont, quant à elles, retrouvées au niveau de la langue, du voile du palais et de la voûte du palais (9).

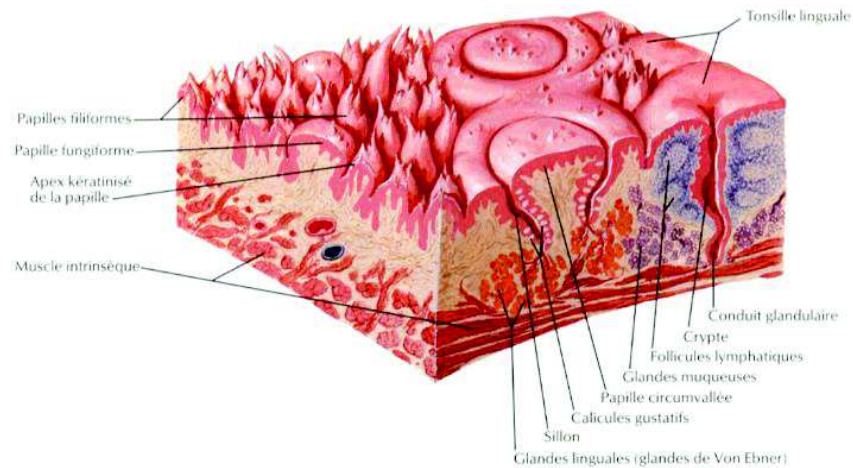


Figure 3. Glandes salivaires accessoires au niveau de la langue. (NETTER F.H., Atlas d'anatomie humaine, 4^{ème} édition, Masson 2007)

I.3. Rôle physiologique

Environ **500 mL à 1000 mL** de salive sont excrétés **chaque jour**. Plus de **90% de ce volume est produit par les glandes salivaires majeures** (10). Pour cela, ces glandes ont besoin d'une importante vascularisation, depuis laquelle elles puiseront l'eau dérivée du plasma.

La **salive primaire** est produite par les **cellules acineuses**. Les cellules épithéliales sont attachées entre elles par des jonctions serrées étanches, permettant de préserver une polarité apico-basale. Cette polarité régule très finement et au moyen d'un système de pompes et canaux ioniques, la concentration intracellulaire et extracellulaire de chaque **électrolyte**.

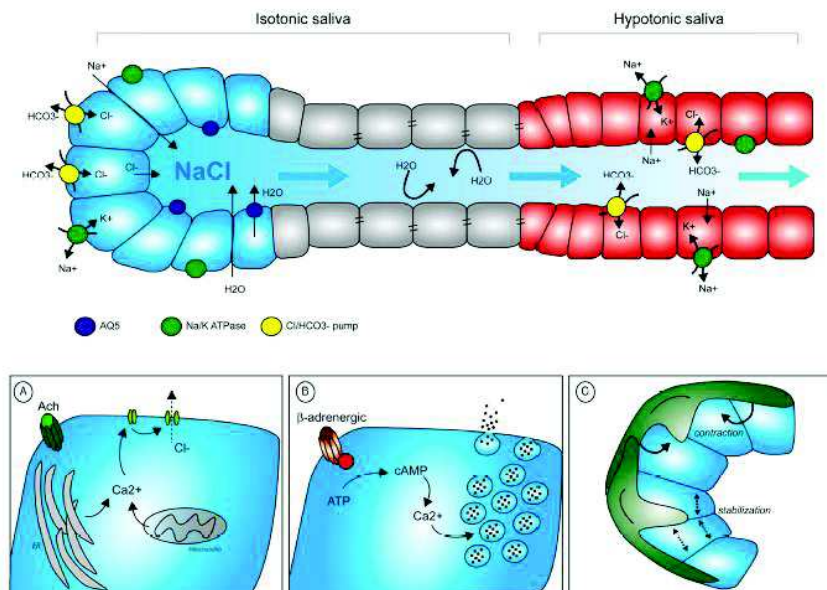


Figure 4. Illustration de la production et de la régulation de la salive primaire. (Physiology, Pathology and Regeneration of Salivary Glands, Cristina Porcheri and al.)

La salive contient également un grand nombre de protéines, notamment des **enzymes protéolytiques des mucines**. Chaque glande salivaire majeure produit une proportion spécifique de chaque type de protéine. La **glande sublinguale** sécrète un liquide **riche en mucines et en glucides**. Ces mucines sont différentes du reste de l'organisme du fait de leur teneur en acide sialique élevée, leur donnant un pH neutre et **non réactif à la coloration au bleu alcian**. A l'inverse, il n'est pas retrouvé de mucine au sein de la salive produite par la **glande parotide**, cette dernière étant chargée de produire l'**amylase**, essentielle pour la décomposition de l'amidon en maltose, disaccharide fondamental dans notre alimentation, et le **lysozyme** ayant une activité antimicrobienne par perméabilisation membranaire des bactéries et des champignons. La **glande submandibulaire** est à l'origine d'un **produit séro-muqueux**.

Des glandes salivaires fonctionnelles **ne sont pas nécessaires à la survie humaine** mais un dysfonctionnement de ces dernières entraînera de nombreux symptômes tels que des difficultés à la mastication, des troubles de la déglutition, des troubles de la parole, des infections buccales, l'apparition de caries dentaires, etc. Seules des thérapies symptomatiques sont actuellement disponibles (sécrétagogues et salive artificielle), **mais aucun traitement à long terme pour restaurer la fonction des glandes salivaires n'a vu le jour (2)**.

I.4. Histologie

I.4.A. Morphologie

Toutes les glandes salivaires partagent une base structurale commune.

Il s'agit d'un canal présentant des ramifications à l'extrémité desquelles se trouvent les **unités fonctionnelles** des glandes salivaires.

Cette unité microscopique se compose d'un **acinus** qui produira la salive, et se poursuit dans l'ordre par le **canal intercalaire**, le **canal strié** puis le **canal excréteur** (Figure 5).

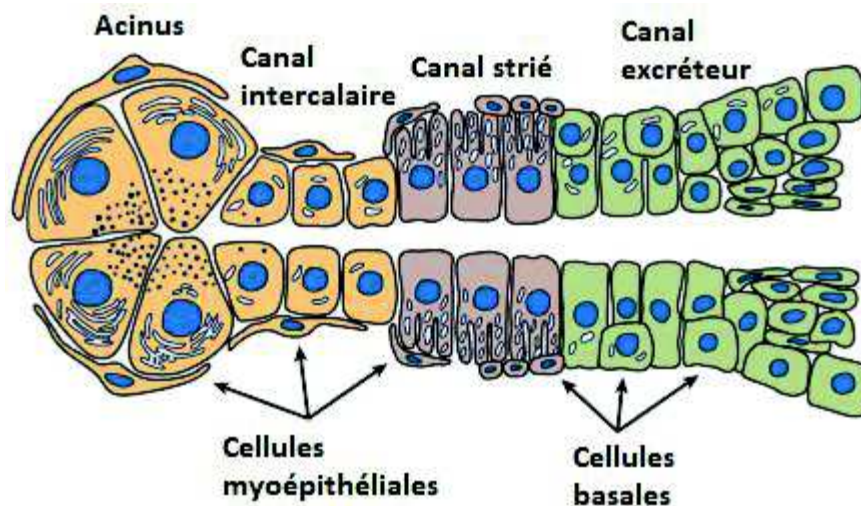


Figure 5. Schéma de l'unité fonctionnelle des glandes salivaires (Bishop JA. Tumors of the Salivary Glands, Series 5. (AFIP ATLASES OF TUMOR AND NON-TUMOR PATHOLOGY)

Tous ces segments présentent une bicouche cellulaire, **luminale** et **périphérique** (ou abluminale).

L'**acinus** est composé de cellules acineuses caractérisées par la présence de granules sécrétoires retrouvés au pôle apical des cellules. Le contenu de ces granules peut être de trois types : **séreux** (sécrétant l'amylase), **muqueux** (sécrétant la sialomucine) ou bien mixte. La proportion de chaque type sera différente suivant la glande salivaire concernée et sa localisation. La **parotide est presque exclusivement de type séreux** tandis que la **glande**

sublinguale est riche en cellules de type muqueux. La glande **submandibulaire présente une composition légèrement plus séreuse que muqueuse.**

<u>Glande salivaire</u>	<u>Type de cellule acineuse</u>
Glande parotide	Séieux
Glande submandibulaire	Séieux > Muqueux
Glande sublinguale	Muqueux > Séieux
Glande accessoire (Palais)	Muqueux
Glande accessoire (Langue)	Muqueux > Séieux
Glande accessoire (Lèvre)	Muqueux > Séieux
Glande accessoire (Muqueuse buccale)	Muqueux > Séieux

Table 1. Composition en cellules acineuses dans les différents types de glandes salivaires inspiré du tableau de Justin A. Bishop et al, 2021. (8)

Le **canal intercalé** (ou canal de Boll) est bordé de **cellules cubiques**. Ces cellules ont la capacité de régénérer les cellules acineuses et les cellules myoépithéliales avoisinantes.

Le **canal strié** (ou canal de Pflüger) est bordé de cellules cylindriques au cytoplasme éosinophile, présentant des striations verticales à son pôle basal lui donnant son nom. Ces stries jouent un rôle majeur dans la composition de la salive par la présence de nombreuses mitochondries permettant les échanges électrolytiques.

Le **canal excréteur** se situe dans les cloisons conjonctives. Il est bordé d'un épithélium cubique ou cylindrique, stratifié ou pseudostratifié.

L'acinus et le canal intercalaire présentent les mêmes cellules abluminales qui sont les **cellules myoépithéliales**. Ce sont des cellules aplaties, allongées, s'étendant sur la face externe des cellules luminales via des processus cytoplasmiques. Leur propriété contractile favorise l'excrétion du matériel produit par les cellules acineuses. Ces cellules sont ensuite remplacées par les **cellules basales** au niveau des canaux striés et excréteurs. (8,11)

I.4.B. Immunohistochimie

Une importante partie de la démarche diagnostique en pathologie des glandes salivaires consiste à **détecter au sein de la tumeur, la présence des contingents épithélial et myoépithélial**. Pour cela, le pathologiste est aidé par un large panel d'anticorps.

Les **cellules acineuses** vont montrer une positivité pour les **marqueurs épithéliaux (EMA, CK7, 8, 19)** mais aussi d'autres marqueurs tels que **SOX10** qui est également positif sur les canaux intercalaires. **DOG1** montre un marquage apical (plus prononcé dans les cellules de type séreux) caractéristique des cellules acineuses donnant un aspect « étoilé » car soulignant la lumière presque virtuelle des acini.

La détection des **cellules myoépithéliales** est largement réalisée par l'utilisation de la **P63, la P40**, ou encore **l'actine muscle lisse (AML)**. La **GFAP** (Protéine acide fibrillaire gliale) **marque les cellules myoépithéliales néoplasiques**, mais est généralement absente sur la composante myoépithéliale normale.

Les **cellules basales** montrent un immunophénotype se rapprochant de celui des cellules myoépithéliales avec sa positivité pour la **P40, la P63** et certaines **cytokératines** en commun avec les cellules myoépithéliales (**CK5/6 ; CK14**).

Les **cellules des canaux intercalaires, striés et excréteurs** sont marquées par les marqueurs épithéliaux conventionnels (**CKAE1/AE3 ; EMA ; etc.**). (8)

	<u>Cellules acineuses</u>	<u>Cellules des canaux intercalaires</u>	<u>Cellules des canaux striés</u>	<u>Cellules des canaux excréteurs</u>	<u>Cellules myoépithéliales</u>	<u>Cellules basales</u>
CKAE1/AE3	+	+	+	+	+ (faible)	+(faible)/-
CK7 et CK8	+(faible)/-	+	+	+	+(faible)/-	+(faible)/-
EMA	+	+	+	+	-	-
CK5/6	-	+(faible)	+(faible)	+	+	+
P63	-	-	-	-	+	+
P40	-	-	-	-	+	+
PS100	-	+/-	-	-	+	-
AML	-	-	-	-	+	-
GFAP	-	-	-	-	+/-	-
ACE	+	+	-	-	-	-
DOG1	+	+/-	-	-	-	-
SOX10	+	+	-	-	+	-

Table 2. Récapitulatif des anticorps utilisés en routine et leurs marquages sur tissu salivaire sain inspiré du tableau de Justin A. Bishop et al, 2021. (8)

II. Réarrangement chromosomique et gène de fusion

II.1. Historique

Les cancers correspondent à une anomalie du génome. Cette anomalie peut survenir par de multiples mécanismes. Les **réarrangements chromosomiques** et les **fusions de gènes** sont des mécanismes importants d'altérations somatiques, jouant un rôle important dans la tumorigenèse.

Les travaux réalisés sur la **leucémie myéloïde chronique** (LMC) ont permis de découvrir le **premier réarrangement chromosomique en 1960** (12). Ce réarrangement était retrouvé chez 95 % des patients atteints de LMC. Il consistait en une translocation réciproque t(9;22) provoquant une fusion entre le gène **ABL** (Abelson murine leukemia) du chromosome 9 et le gène **BCR** (breakpoint cluster region) du chromosome 22. Ce nouveau gène BCR-ABL est ainsi appelé **chromosome Philadelphie**. Par la suite, d'autres fusions de gènes ont été retrouvées dans d'autres **hémopathies malignes** et **sarcomes** : **EWSR1-FLI1** dans le **sarcome d'Ewing** en 1983 ou **ETV6-NTRK3** dans le **fibrosarcome congénital** en 1998.

Les transcrits de fusion, initialement apanage des hémopathies et des sarcomes, furent ensuite identifiés dans les **tumeurs épithéliales**. Le premier gène de fusion découvert dans une tumeur épithéliale était **CTNNB1-PLAG1** dans **l'adénome pléomorphe des glandes salivaires** en 1997 (13). Par la suite, de nombreux autres gènes de fusion dans les tumeurs malignes solides ont été découverts (Figure 6).

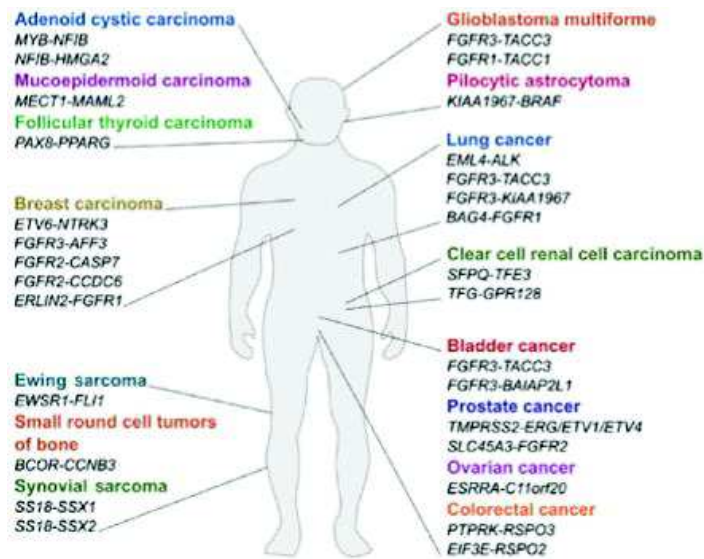


Figure 6. Exemple de gènes de fusion découverts dans les sarcomes et tumeurs solides. (Brittany C.Parker et al, 2013)

Ceci fut permis grâce au développement, en parallèle, de technologies de séquençages de plus en plus sophistiquées et au **séquençage de nouvelle génération** dans les années 2000 (Figure 7).(14)

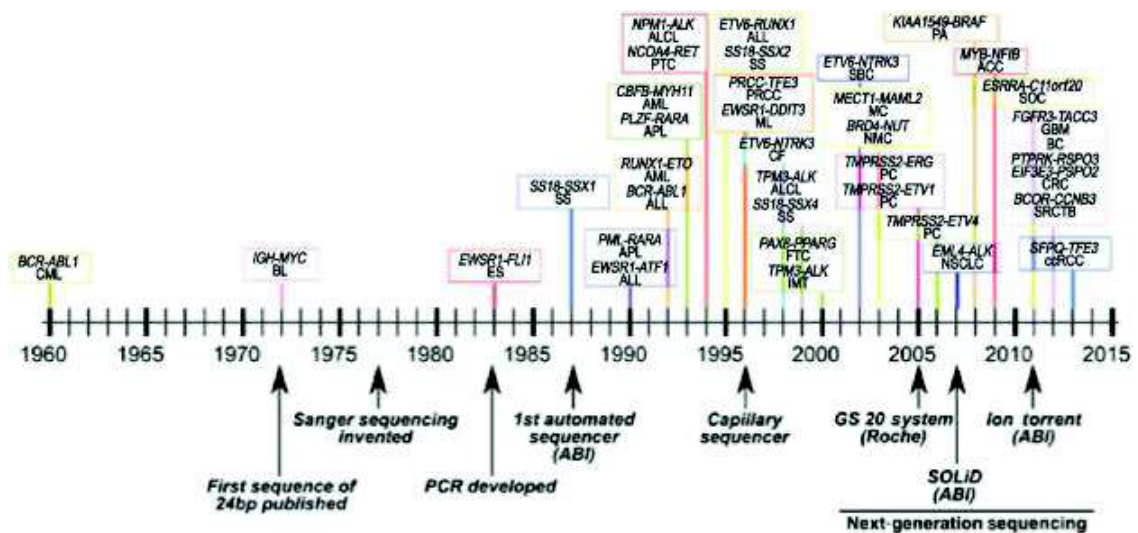


Figure 7. Mise en parallèle des améliorations technologiques dans le séquençage de l'ADN et la découverte des gènes de fusion. (Brittany C.Parker et al, 2013)

II.2. Impact des transcrits de fusion dans la tumorigénèse

Les cancers ont souvent un génome complexe et instable qui va causer des **évènements aléatoires** ou des **mécanismes d'épissage anormaux**.

Ces évènements peuvent se dérouler dans des régions où il n'existe pas de gène connu, expliquant pourquoi une fusion génomique ne signifie pas nécessairement qu'elle affectera la tumorigénèse. Néanmoins, les transcrits de **fusion hors-cadre (out-of-frame)** ainsi créés peuvent fonctionner comme des ARN longs non codant et présenter des **fonctions de régulation**.

Les transcrits de **fusion « in-frame »** vont, à l'inverse, traduire une **nouvelle protéine de fusion** pouvant agir comme un puissant oncogène. Les **gènes de kinase** sont le plus souvent les partenaires de ces fusions car ils conservent leur activité kinase et entraînent une **activation constitutive indépendante d'un ligand** (15,16). Cela aura pour conséquence une signalisation en aval renforcée, conduisant à la carcinogénèse par **activation de voies de signalisation jouant un rôle dans la croissance, la survie, la prolifération et l'apoptose des cellules**. C'est notamment ce phénomène que l'on retrouve dans **certains cancers ORL ou pulmonaires** avec des gènes codant pour une kinase comme **ALK, ROS1, RET** ou encore **NTRK** (17). Les kinases sont des **cibles idéales pour le traitement de ces cancers**. Plusieurs inhibiteurs de kinases comme ALK et BRAF ont été utilisés pour traiter les cancers avec transcrits de fusion.

La fusion peut se produire au niveau de **facteurs de transcription**, conduisant à une activation constitutive ou à une altération génique provoquant une **transcription aberrante des gènes en aval**. C'est par exemple le cas de la protéine de fusion **TMPRSS2-ERG**, la plus courante dans les cancers de la prostate. Cette protéine a pour conséquence une surexpression de facteurs de transcription normalement régulés par un stimulus androgénique, provoquant une activation aberrante des oncogènes en aval. Devant la multiplicité des mécanismes favorisant la cancérogénèse, ces fusions sont plus difficiles à cibler par des thérapies (15).

II.3. Mécanismes de formation des transcrits de fusion

Il existe trois mécanismes permettant d'aboutir à un **transcrit de fusion** : Le **réarrangement chromosomique**, l'**épissage en trans** et l'**épissage en cis**.

Pour rappel, l'**épissage de l'ARN** correspond à un processus par lequel l'ARN pré-messager (**pré-ARNm**) devient un ARN messager mature (**ARNm**). Ceci a pour conséquence l'élimination de régions non codantes (**introns**) et l'assemblage de régions codantes (**exons**).

II.3.A. Le réarrangement chromosomique

Le réarrangement chromosomique peut se produire par le biais de **6 mécanismes différents** (Figure 8). Le gène de fusion créé va donner une protéine de fusion pouvant **activer, réduire ou éliminer** leurs fonctions primaires.

La **translocation réciproque** correspond à l'échange de régions distantes du génome (interchromosomique) entre deux chromosomes non homologues. Elle peut se produire n'importe où. C'est par ce mécanisme que se constitue le gène de fusion **BCR-ABL1**.

L'**insertion chromosomique** correspond à un transfert d'une région chromosomique à ce même chromosome (**intrachromosomique**) ou à un autre chromosome (**interchromosomique ou translocation non réciproque**).

L'**inversion chromosomique** correspond à une cassure ou un réarrangement au sein d'un unique chromosome. Lorsque l'inversion n'**implique pas le centromère**, et que les deux cassures ont lieu au sein du même bras chromosomique, on parle d'**inversion paracentrique**. A l'inverse, lorsque les cassures **incluent le centromère**, on parle d'**inversion péricentrique**.

La **délétion chromosomique** correspond à une perte d'un fragment chromosomique lors de la réplication de l'ADN. La suppression des régions intergéniques entre deux gènes va conduire à une fusion de ces deux derniers.

La **duplication en tandem** correspond à une duplication d'une région génomique qui va alors fusionner avec un gène de la région d'origine. C'est par exemple le cas dans la fusion **C2orf44-ALK** dans le cancer colorectal, entraînant une surexpression de la kinase ALK (18).

La **chromothripsie** correspond à une **fragmentation d'un chromosome**, d'une région chromosomique ou d'un petit nombre de chromosome. Ces fragments vont ensuite se

réassembler de manière incorrecte, conduisant à des modifications tellement importantes qu'un grand nombre de gènes de fusion peut être produit en un unique évènement.(15)

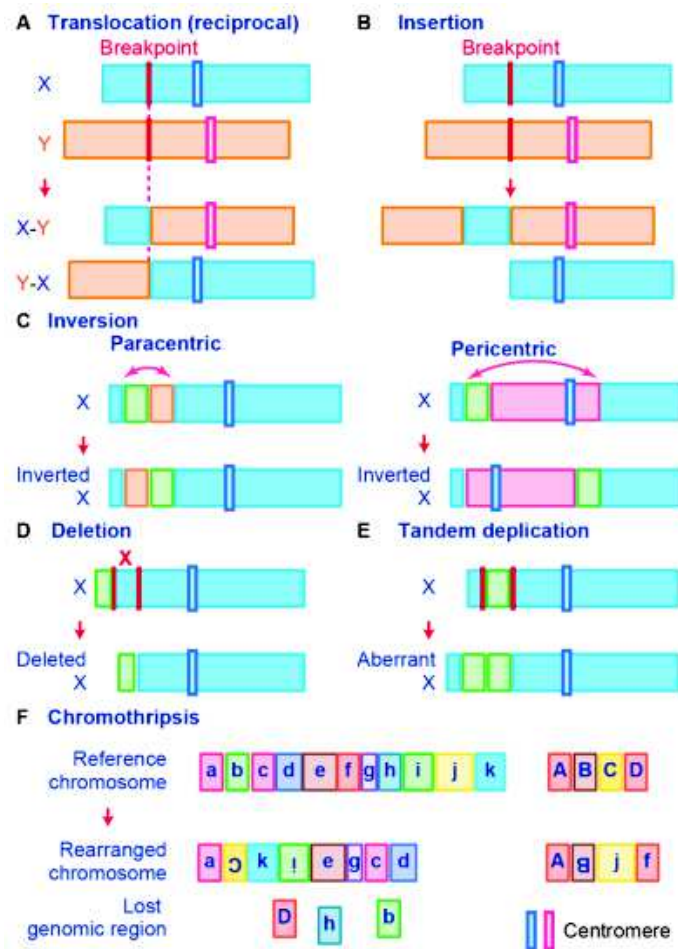


Figure 8. Représentation schématique des six mécanismes de réarrangement chromosomique conduisant à des gènes de fusion. (Kenzui Taniue et al, 2021)

II.3.B. Le trans-épissage (ou trans-splicing)

Le trans-épissage correspond à un épissage de différents transcrits d'ARN qui vont fusionner lors du processus et produire un seul ARNm (Figure 9). Cette fusion va avoir pour conséquence l'apparition de répétitions et un brassage des exons, parfois transcrits à partir de brins opposés. Les mécanismes sont encore **mal connus**.(15)

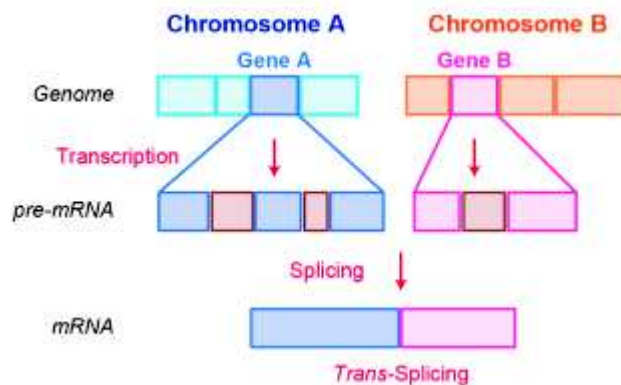


Figure 9. Représentation schématique du trans-épissage conduisant à des gènes de fusion. (Kenzui Taniue et al, 2021)

II.3.C. Le cis-épissage (ou cis-splicing)

Le cis-épissage correspond à un épissage dans lequel **deux gènes adjacents** vont être **transcrits en un unique ARN pré-messager**, suivi d'un épissage classique de l'ARN entre les exons d'intérêts afin de les fusionner.

Ce mécanisme est **rarement associé à des cancers**, bien que certaines fusions décrites aient démontré un rôle pro oncogène. C'est le cas de *SLC45A3-ELK4* qui constitue aujourd'hui un marqueur potentiel du cancer de la prostate.(15,19)

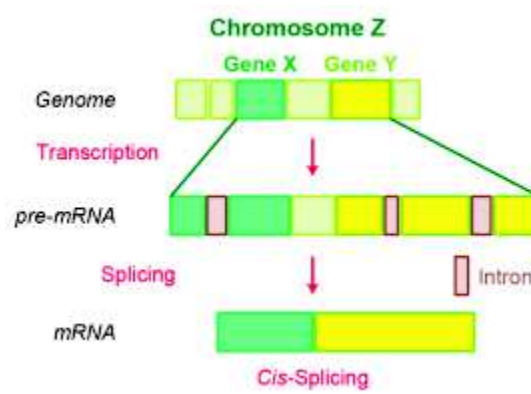


Figure 10. Représentation schématique du cis-épissage conduisant à des gènes de fusion. (Kenzui Taniue et al, 2021)

III-Tumeurs des glandes salivaires

III.1. Généralités

Les tumeurs des glandes salivaires comprennent plus de 33 entités (**malignes**, à **malignité indéterminé/borderline** ou **bénignes**) selon la classification internationale de l'organisation mondiale de la santé en 2017 (20). Ces tumeurs peuvent poser des difficultés diagnostiques en raison du chevauchement de leurs caractéristiques histologiques, notamment sur prélèvement biopsique. Afin d'établir la bénignité ou la malignité, deux approches sont utilisées :

-une approche dite « **classique** » : communément utilisée en pathologie. Elle consiste à rechercher des arguments en faveur de la malignité à travers la mise en évidence de signes d'agressivité (**infiltration** en périphérie de la lésion, **atypies cytonucléaires**, **prolifération cellulaire** traduite par la présence de mitose). Cette approche est permise par une **exérèse avec marge chirurgicale**, la **tumorectomie seule** mettant le pathologiste en difficulté.

-une approche dite « **pragmatique** » : la malignité est établie selon l'évolution clinique, indépendamment de l'absence de critère histologique de malignité. C'est le cas de l'adénocarcinome à cellules acineuses qui, malgré une cytologie de bas grade rappelant un « simple adénome », est classé parmi les tumeurs malignes car pouvant métastaser dans une minorité de cas.

Les entités malignes font l'objet d'un **grading**. Avant la parution de l'OMS 2017, ces tumeurs possédaient un grade prédéfini en fonction de leur pronostic. Une entité de mauvais pronostic sera considérée de haut grade (exemple : **carcinome canalaire salivaire de haut grade**), tandis qu'une entité de bon pronostic sera dite de bas grade (exemple : **carcinome intraductal**). L'OMS 2017 fait disparaître ce système de grading « automatique », laissant au pathologiste la liberté de se prononcer sur le grade selon l'agressivité morphologique apparente de la tumeur.

Toutefois, trois entités ont gardé des systèmes de grading spécifique que nous décrivons plus loin : le **carcinome mucoépidermoïde**, le **carcinome adénoïde kystique** et l'**adénocarcinome SAI**. (20,21)

Malignant tumours			
Mucoepidermoid carcinoma	8430/3	Lymphadenoma	8563/0*
Adenoid cystic carcinoma	8200/3	Cystadenoma	8440/0
Acinic cell carcinoma	8550/3	Sialadenoma papilliferum	8406/0
Polymorphous adenocarcinoma	8525/3	Ductal papillomas	8503/0
Clear cell carcinoma	8310/3	Sebaceous adenoma	8410/0
Basal cell adenocarcinoma	8147/3	Canalicular adenoma and other ductal adenomas	8149/0
Intraductal carcinoma	8500/2		
Adenocarcinoma, NOS	8140/3	Non-neoplastic epithelial lesions	
Salivary duct carcinoma	8500/3	Sclerosing polycystic adenosis	
Myoepithelial carcinoma	8982/3	Nodular oncocytic hyperplasia	
Epithelial–myoepithelial carcinoma	8562/3	Lymphoepithelial sialadenitis	
Carcinoma ex pleomorphic adenoma	8941/3	Intercalated duct hyperplasia	
Secretory carcinoma	8502/3*		
Sebaceous adenocarcinoma	8410/3	Benign soft tissue lesions	
Carcinosarcoma	8980/3	Haemangioma	9120/0
Poorly differentiated carcinoma		Lipoma/sialolipoma	8850/0
Undifferentiated carcinoma	8020/3	Nodular fasciitis	8828/0
Large cell neuroendocrine carcinoma	8013/3		
Small cell neuroendocrine carcinoma	8041/3	Haematolymphoid tumours	
Lymphoepithelial carcinoma	8082/3	Extranodal marginal zone lymphoma of mucosa-associated lymphoid tissue (MALT lymphoma)	9699/3
Squamous cell carcinoma	8070/3		
Oncocytic carcinoma	8290/3		
<i>Uncertain malignant potential</i>			
Sialoblastoma	8974/1		
Benign tumours			
Pleomorphic adenoma	8940/0		
Myoepithelioma	8982/0		
Basal cell adenoma	8147/0		
Warthin tumour	8561/0		
Oncocytoma	8290/0		

The morphology codes are from the International Classification of Diseases for Oncology (ICD-O) [776A]. Behaviour is coded /0 for benign tumours, /1 for unspecified, borderline, or uncertain behaviour; /2 for carcinoma in situ and grade III intraepithelial neoplasia; and /3 for malignant tumours. The classification is modified from the previous WHO classification, taking into account changes in our understanding of these lesions.
*These new codes were approved by the IARC/WHO Committee for ICD-O.

Figure 11. Classification OMS 2017 des tumeurs des glandes salivaires. (El Naggar AK. WHO Classification of Head and Neck Tumours. WHO. Vol. 9. 2017)

III.2. Epidémiologie

Les tumeurs des glandes salivaires représentent **moins de 1% de tous les cancers (22) et 3 à 10%** de l'ensemble des cancers de la région tête et cou (**8.5% en Europe**) (23).

L'incidence de ces lésions est de **0.4 à 13.5 pour 100 000 habitants** avec des **disparités selon l'âge et de la zone géographique**. L'incidence la plus élevée étant chez les patients de plus de 65 ans européens ou nord-américains. Les articles récents semblent tous indiquer que la majorité (**environ 80%**) des tumeurs salivaires sont **bénignes**. L'incidence des tumeurs bénignes est en hausse. Cette tendance pouvant s'expliquer par la plus **grande disponibilité et performance de l'imagerie** permettant un **diagnostic plus précoce de ces lésions** (24–26). On trouve également une **hétérogénéité de localisation des lésions**, se développant très majoritairement (60-80%) **au dépend des glandes parotides** et à environ 1% au niveau des glandes sublinguales. A l'inverse, le **potentiel de malignité augmente à mesure que la taille de la glande diminue**. (24)

Au sein des **glandes salivaires accessoires**, la proportion de lésions malignes varie en fonction de la **localisation des glandes**. Au niveau du palais, le taux de malignité avoisine 40

à 60% et augmente progressivement en descendant vers la langue et le plancher buccal pour y atteindre un taux de malignité d'environ 90%. (27)

La **tumeur maligne** la plus fréquente est le **carcinome mucoépidermoïde** (plus de 50% des tumeurs malignes), suivi du carcinome adénoïde kystique et de l'adénocarcinome NOS (28).

Le **carcinome adénoïde kystique est la tumeur présentant le plus fréquemment une évolution métastatique à distance** (37% des cas de métastase) suivi de l'adénocarcinome NOS (14%) et du carcinome mucoépidermoïde (12%) (29).

III.3. Facteurs de risque

Il **n'existe pas de facteur de risque clairement démontré** pour les tumeurs des glandes salivaires. Des facteurs comme l'irradiation (iatrogène ou non), l'immunosuppression ou le virus d'Epstein-Barr ont été proposés dans certains articles. Certaines expositions professionnelles (fabrication de caoutchouc, exposition au nickel, produits de salons de coiffure) pourraient également avoir un effet favorisant. L'inflammation chronique ne semble pas clairement définie comme un facteur de risque (23).

III.4. Diagnostic

Les tumeurs des glandes salivaires présentent une **importante hétérogénéité des manifestations cliniques**, rendant parfois **difficile de déterminer cliniquement la malignité**.

Certains symptômes peuvent toutefois nous aider, tels que la **douleur**, la **croissance rapide**, les **paresthésies**, les **adénopathies cervicales** ou la **paralysie faciale**. En revanche une croissance lente et asymptomatique n'exclut pas une nature maligne (20).

Pour les **lésions bénignes**, des recommandations sont établies comme les recommandations de la Société Française d'ORL et de Chirurgie de la face et du cou (SFORL) sur la prise en charge de l'adénome pléomorphe mis à jour en 2020. Ce dernier recommande la réalisation en première intention d'une échographie pour des petites lésions parotidiennes. **L'IRM est l'examen de choix** pour les petites lésions plus profondes ainsi que la surveillance des patients à haut risque de récurrence. La TDM injectée est proposée comme alternative à l'IRM en cas de contre-indication.

La **cytoponction à l'aiguille fine** est le test diagnostique de première intention pour la prise en charge des tumeurs des glandes salivaires. Elle a une bonne pertinence diagnostique pour distinguer les lésions tumorales des non tumorales, diagnostiquer les tumeurs bénignes et permet de distinguer les carcinomes de bas et haut grade. La microbiopsie n'est pas recommandée en première intention (30).

Depuis 2017, la classification cytopathologique des glandes salivaires appelée **(Système de Milan)** (31) est utilisée en pathologie :

Diagnostic Category	ROM
I. Non-diagnostic	25%
II. Non-neoplastic	10%
III. Atypia of undetermined significance (AUS)	20%
IV. Neoplasm	
IVA. Neoplasm: benign	<5%
IVB. Neoplasm: salivary gland neoplasm of uncertain malignant potential (SUMP)	35%
V. Suspicious for malignancy (SM)	60%
VI. Malignant	90%

Figure 12. Catégories diagnostiques et risque de malignité dans le Système de Milan. (31)

III.5. Prise en charge

Selon les Recommandation pour la Pratique Clinique rédigé par le REFCOR (Réseau d'Expertise Français sur les Cancers ORL Rares), la **résection chirurgicale** complète de la glande est privilégiée pour les lésions localement ou régionalement avancée, ou au moins du lobe superficiel pour la parotide (21). Cette résection peut être élargie dans le cas d'une tumeur des glandes salivaires accessoires.

Le **curage ganglionnaire homolatéral** accompagne cette résection lorsque des adénopathies sont détectables cliniquement ou à l'imagerie. Les tumeurs de haut grade ainsi que les stades les plus péjoratifs (T4b) indiquent le curage même en l'absence d'adénopathie.

La **radiothérapie post-opératoire** est indiquée lors d'une exérèse complète pour les tumeurs de haut grade à partir du stade II et les tumeurs de bas grade à partir du stade III. Elle est indiquée dans tous les cas où la chirurgie est incomplète. Elle est proposée pour les tumeurs

non opérables ou non résécables ou les tumeurs de bas stade avec signes d'agressivité (haut grade, invasion périnerveuse ou intravasculaire) (32).

A titre d'exemple, l'arbre décisionnel ci-dessous résume la prise en charge des cancers des glandes salivaires du Référentiel régional des Cancers des Voies Aéro-Digestives supérieures des Hauts-de-France (33) :

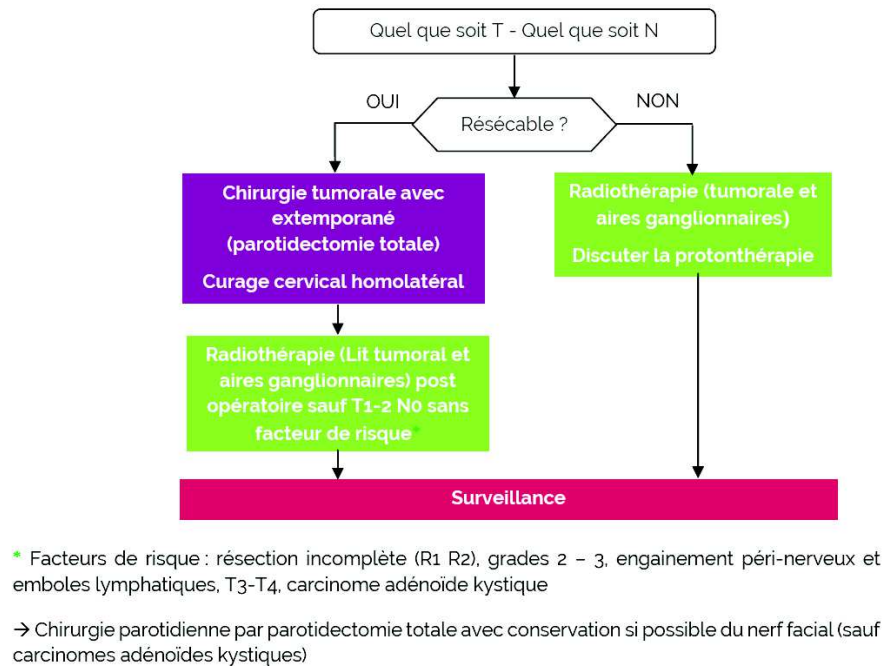


Figure 13. Arbre décisionnel de la prise des cancers des glandes salivaires. (Référentiel régional de prise en charge des CANCERS DES VOIES AERO-DIGESTIVES SUPERIEURS (VADS) de la région Hauts-de-France, Novembre 2019).

III.6. Le REFCOR

Le **Réseau d'Expertise Français sur les Cancers ORL Rares** ou REFCOR est un réseau mixte, clinique et anatomopathologique, créé en 2008 en réponse à un appel d'offre de l'Institut National du Cancer (INCa).

Le réseau regroupe **27 centres régionaux** de référence comprenant plusieurs sites chacun. Ces centres spécialisés incluent différentes spécialités (chirurgiens ORL, chirurgiens maxillo-faciaux, radiothérapeutes, oncologues et pathologistes). Leur mission est **d'améliorer la prise en charge des patients et de développer la recherche dans le domaine des cancers rares de la tête et du cou, comprenant les cancers sino-nasaux, les cancers des glandes**

salivaires, les cancers rares des voies aérodigestives supérieures et les cancers de l'oreille et du rocher.

Le **REFCORpath** regroupe les experts pathologistes. Il répond à la demande d'organiser une **double lecture** pour ces cancers ORL rares, notamment pour les cas difficiles. Ceci se fait via le **logiciel REFCORpath**, outil dédié aux médecins pathologistes leur permettant de soumettre un cas pour relecture après avoir renseigné les éléments diagnostics. La relecture peut également être **demandée par le clinicien**.

Les cas éligibles correspondent à toutes tumeurs malignes de la sphère ORL **en dehors des carcinomes épidermoïdes de localisation classique et des lymphomes**.

Le résultat de la relecture est transmis au clinicien via la base de données cliniques et par courrier au pathologiste initial. Le diagnostic est donné en clair (OMS) avec son code CIM-O associé à son grade (34,35).

IV-Tumeurs salivaires associées à des transcrits de fusion

(La description de ces entités s'appuie sur les descriptions des ouvrages « WHO Classification of Head and Neck Tumours »(20), « Diagnostic Pathology Head and Neck »(36) et les cours de Pre E. Uro-Coste sur la plateforme en ligne SIDES NG.(21))

IV.1. Carcinome mucoépidermoïde

Le **carcinome mucoépidermoïde** (CME) est la **plus commune des tumeurs malignes** des glandes salivaires chez l'adulte et l'enfant. Son pic d'incidence est au alentour de la deuxième décade et plus fréquemment chez la femme. Il correspond à **16% de toutes les tumeurs des glandes salivaires** et 30% des tumeurs malignes. La **parotide** est la localisation préférentielle suivie des glandes accessoires du palais puis de la glande sous mandibulaire.

L'examen **cytologique** de ces lésions sera différent selon le grade. Sur les lésions de bas grade, principalement kystiques, on retrouvera un matériel composé de mucus, de macrophages et de rares cellules épithéliales. Pour les lésions de haut grade, la cellularité sera augmentée avec différents types de cellules que nous décrirons plus bas.

En **macroscopie**, le CME se présente généralement sous la forme d'une masse ferme ou molle, bien circonscrite ou mal définie, le plus souvent avec une composante kystique. Sa taille est très variable.

En histologie, le CME est caractérisé par la présence de 3 types cellulaires : des **cellules mucosécrétantes**, des **cellules intermédiaires** et des **cellules épidermoïdes**. Les **cellules mucosécrétantes** sont retrouvées au sein des formations glandulaires, isolées ou groupées au sein de massifs épithéliaux. Ces cellules sont cubo-cylindriques ou caliciformes. La sécrétion intracytoplasmique est mise en évidence par le **Bleu Alcian**, le **PAS-diaïstase** et le **Mucicarmin**. Les **cellules épidermoïdes** sont regroupées en massifs pleins ou au sein des massifs de cellules intermédiaires. Très rarement, une kératinisation peut être visualisée. Les **cellules intermédiaires** sont les plus fréquentes. Leur taille se situe entre celle des cellules basales et des cellules épidermoïdes matures. Elles se disposent en massifs ou nids. Une composante de **cellules claires** peut être visualisée, correspondant habituellement à moins de 10 % des cellules, mais pouvant être prédominante dans le variant à cellules claires. Des variantes à cellules oncocytaires ou sclérosantes ont également été décrites.

Le système de grading des CME est variable suivant les auteurs. L'**OMS** sépare les CME en **bas grade** (kystique, riche en cellules mucosécrétantes, bien circonscrit), **grade intermédiaire** (composante solide, moins bien circonscrit) et **haut grade** (au moins une des caractéristiques suivantes : atypies cytonucléaires marquées, nécrose, augmentation du nombre de mitoses, invasion vasculaire ou osseuse). Les autres systèmes de grading sont le **système de l'AFIP (Armed Forces Institute of Pathology)** (37) (Figure 14), et le **système de Brandwein** (38), aujourd'hui **recommandé**.

Composant kystique < 20% :	2 points
Invasion nerveuse :	2 points
Nécrose:	3 points
Mitoses > 4 / 10 champs x40 :	3 points
Anaplasie :	4 points

Bas grade :	total 0–4
Intermédiaire :	total 5–6
Haut grade :	total > 7

Figure 14. Système de score de l'AFIP pour les CME hors glande sous maxillaire.

Le CME présente deux composantes (épithéliale/intermédiaire et mucosécrétante). L'**immunohistochimie** sera utilisée afin d'éliminer les autres entités à double composantes comme le carcinome épithélial/myoépithélial ou le carcinome adénoïde kystique. La **CK5/6** et la **P63** étant positives pour les **cellules myoépithéliales** (non retrouvée dans le CME) et les cellules intermédiaires, il sera privilégié l'**AML**, la **GFAP** et la **PS100**. Par ailleurs, l'**EMA** présente une positivité dans les deux composantes du CME mais sera négatif sur la composante myoépithéliale et présentera un renforcement apical sur le contingent épithélial.

	<u>Carcinome muco-épidermoïde</u>		<u>Tumeur à double contingent</u> (CAK, Carcinome épithelial/myoépithelial...)	
	Epithelial/intermédiaire	Mucosécrétant	Myoépithelial	Epithelial
CK5/6	+	-	+	-
P63/P40	+	-	+	-
CK7	+/-	+++	+/-	+++
AML	-	-	+/-	-
GFAP	-	-	+/-	-
PS100	-	-	+/-	-
EMA	+	+	-	+ (apical)

Table 3. Synthèse des immunohistochimies utiles pour le diagnostic différentiel des carcinomes muco-épidermoïdes (d'après le cours éponyme de Professeure Uro-Coste sur la plateforme SIDES NG (21)).

Les diagnostics différentiels sont la tumeur de Warthin avec métaplasie malpighienne, le carcinome à cellules acineuses, le carcinome sécrétoire et le carcinome canalaire salivaire (pour les lésions de haut grade). Les CME de bas grade et de grade intermédiaire sont généralement traités par une **exérèse chirurgicale complète**. Pour les tumeurs de haut grade, la chirurgie peut être complétée par la **radiothérapie et la chimiothérapie**. La **survie à 10 ans** pour les tumeurs de bas grade, de grade intermédiaire et de haut grade est respectivement de **90 %, 70 % et 25 %**.

Environ 60 à 80 % des CME présentent **une translocation t(11;19)(q21;p13)** conduisant au **gène de fusion *CRTC1-MAML2*** (39). D'autres transcrits de fusion plus rares ont été décrits : ***CRTC3-MAML2*** (40) et ***EWSR1-POU5F1*** (41). La fusion ***CRTC1-MAML2*** est présente dans la plupart des CME de bas grade et grade intermédiaire et certaines tumeurs de haut grade, de telle sorte qu'une **absence de fusion *CRTC1-MAML2* est associée à une survie plus faible** (42).

Un faible nombre de **mutations somatiques** notamment de ***TP53*** et ***POU6F266*** a été rapporté (43).

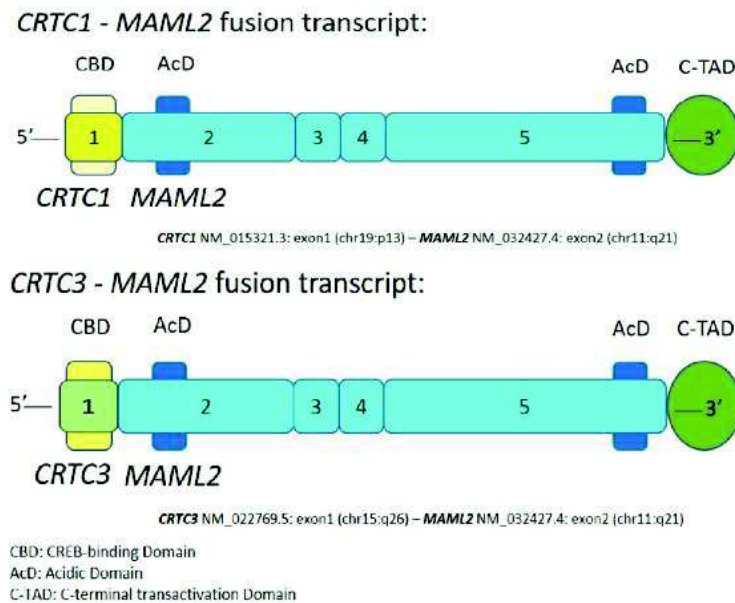


Figure 15. Illustration des transcrits de fusion *CRTC1-MAML2* et *CRTC3-MAML2* dans le CME. (44)

IV.2. Carcinome adénoïde kystique

Le **carcinome adénoïde kystique (CAK)** est la **2ème tumeur maligne** la plus fréquente des glandes salivaires. C'est une tumeur maligne à **croissance lente mais inexorable**, composée de **cellules épithéliales et myoépithéliales**. L'âge médian au moment du diagnostic est de 57 ans. Il représente environ **25 % des carcinomes primitifs** salivaires. Il est retrouvé le plus souvent dans les **glandes salivaires principales** mais également au sein des glandes accessoires de la cavité buccale et le tractus naso-sinusien. C'est également le **carcinome salivaire le plus courant en dehors de la sphère ORL** (peau, sein, poumon et vulve).

A la **cytoponction**, on retrouve des cellules basaloïdes, uniformes, aux noyaux hyperchromatiques et anguleux, un cytoplasme clair ou éosinophile, accompagnées de cylindres hyalins acellulaires.

Sur le plan **macroscopique**, cette lésion se présente sous la forme d'une masse ferme, blanc-grisâtre, non encapsulée et infiltrante. Sa taille est très variable.

Sur le plan **histologique**, cette tumeur est caractérisée par une agressivité architecturale. On trouve à la fois des **cellules myoépithéliales** et des **cellules épithéliales à différenciation ductulaire**. Les cellules myoépithéliales synthétisent un matériel analogue à celui retrouvé

au niveau des membranes basales, formant ainsi des **cylindres hyalins** enserrés au sein de massifs épithéliaux. Le stroma est fibro-hyalin. L'architecture peut être **cribriforme** (la plus fréquente), mais également **tubulaire**, **trabéculaire** ou **solide**, cette dernière étant de moins bon pronostic. Les différents systèmes de grading du CAK sont basés sur l'architecture et notamment le pourcentage de composante solide comme le **système de Perzin/Szanto** (45,46).

L'immunohistochimie est assez limitée car les tumeurs à double composantes **épithéliales** (CK7) / **myoépithéliales** (P63 ; CK5/6 ; AML...) présenteront des caractéristiques similaires. Les diagnostics différentiels sont l'adénocarcinome polymorphe, l'adénome pléomorphe, l'adénome et l'adénocarcinome à cellules basales et le carcinome épithélial-myoépithélial.

Le traitement correspond à l'**exérèse chirurgicale** de la lésion, suivie d'un **traitement adjuvant par radiothérapie et/ou chimiothérapie en fonction de la présence de facteurs de mauvais pronostic**. Les métastases ganglionnaires sont rares tandis que les **métastases à distance sont retrouvées dans plus de 50 % des cas** (poumons, os, foie et cerveau). La **survie à 5 ans est de 40 %** pour les CAK d'architecture cribriforme, tubulaire ou trabéculaire. Elle est de **5% lorsqu'il est retrouvé plus de 30 % de contingent solide**.

Dans 55 % à 90 % des cas, **y compris hors sphère ORL** (47), on retrouve la **fusion MYB-NFIB** (48). Une minorité des CAK (environ 5%) présentent d'autres fusions de gènes comme **MYBL1-NFIB** (49) mais également d'autres partenaires de *NFIB* plus rares : **MYO6, MAP3K5, RIMS1, RPS6KA2** (50), **EPB41L2, MAP7, MCMDC2, C8orf34, CASC20** (51) et **TBPL1** (52). D'autres partenaires de *MYBL1* ont également été décrits : **VCPIP1** (52) et **YTHDF3** (49).

D'autre part, il a été identifié une **mutation activatrice de NOTCH1** dans un sous-ensemble de CAK présentant un pronostic péjoratif avec un taux élevé de métastases à distance. Les premiers essais cliniques d'inhibiteurs de *NOTCH* dans le traitement du CAK sont en cours (53).

IV.3. Carcinome à cellules claires hyalinisant

Le **carcinome à cellules claires hyalinisant** (CCCH) ou carcinome à cellules claires, est une tumeur maligne des glandes salivaires de **bas grade** le plus souvent développée dans les **glandes salivaires accessoires** (80%).

La **cytoponction** montre des cellules épithéliales de tailles variables, cohésives, aux bordures cellulaires proéminentes et des noyaux uniformes ronds à ovoïdes à la chromatine granuleuse, et un cytoplasme clair.

La **macroscopie** retrouve une masse mal circonscrite, solide, blanc-grisâtre. Une hyalinisation peut être macroscopiquement apparente.

A l'**histologie**, on retrouve une prolifération de cellules monotones organisées **en travées, nids et amas**. Ces cellules sont rondes ou polygonales avec un noyau excentré et un **cytoplasme clair**, riche en glycogène, **parfois éosinophile**. Une différenciation squameuse peut être rarement visualisée. Il n'est habituellement pas retrouvé de structure glandulaire. Le stroma peut être lâche et myxoïde à dense et hyalinisé. Malgré son caractère peu agressif, des mitoses, une invasion locale osseuse, des engainements périnerveux et de la nécrose sont possibles.

L'étude immunohistochimique retrouve une positivité des **marqueurs épithéliaux** tels que CK7, CK5/6 et P63 et une **absence de composante myoépithéliale** (PS100-, AML-, ...) permettant de le différencier du carcinome myoépithélial. Le diagnostic différentiel avec le carcinome mucoépidermoïde variant à cellules claires sera fait sur la **recherche de cellules mucosécrétantes** ou la recherche de transcrite de fusion en biologie moléculaire pour les cas les plus compliqués. Bien entendu, il faudra **éliminer la métastase d'un carcinome à cellules claires**, notamment rénal, qui montrera alors une négativité de la P63 et une positivité des marqueurs rénaux (PAX8 et CD10).

Le pronostic est **excellent**, avec de rares métastases ganglionnaires ou à distance. Le traitement est l'exérèse chirurgicale complète, complétée par un traitement adjuvant en cas d'exérèse incomplète ou de métastases. **Le taux de récurrence est d'environ 20 %.**

Trois transcrits de fusion ont été décrits. Le plus courant, retrouvé dans **90 % des tumeurs**, est le transcrite **EWSR1-ATF1**, résultat de la translocation t(12;22)(q13;q12) (54). Le gène **EWSR1** (chromosome 22) est un facteur de transcription de la **famille TET** codant pour une

protéine de liaison à l'ARN. Il fonctionne comme répresseur transcriptionnel. Le gène *ATF1* (chromosome 12) est un facteur de transcription activateur, élément de *CREB* (55). La protéine chimérique ainsi construite entraîne une perte du domaine régulateur PKA d'*ATF1* et le domaine de liaison à l'ARN d'*EWSR1*. Ceci conduit à une activation aberrante d'*ATF1* et des gènes cibles régulés par ce dernier. Le second transcrit de fusion décrit est ***EWSR1-CREM***. *CREM* fait partie de la famille des facteurs de transcription *CREB*, au même titre que *ATF1* (56).

IV.4. Carcinome odontogène à cellules claires

Le **carcinome odontogène à cellules claires** (COCC) est une tumeur épithéliale rare dérivant des glandes localisées aux os de la mâchoire, plus particulièrement de la **mandibule qui regroupe 43 % des lésions**. Il peut provoquer un gonflement de la mâchoire à croissance lente entraînant des douleurs, un déchaussement des dents mais également des signes nerveux ou une ulcération.

Cette entité n'est pas considérée comme faisant partie des tumeurs des glandes salivaires par l'OMS 2017, malgré d'importantes similitudes avec le **carcinome à cellules claires hyalinisant** sur le plan histologique et immunohistochimique.

En effet, il s'agit également d'une tumeur organisée en nappes, nids et travées de cellules de cellules claires riches en glycogène, engainées en périphérie par des cellules de phénotype basaloïde, plus sombres. Ce schéma biphasique diffère du CCCH, bien qu'il existe des patrons monophasiques à cellules claires.

La coloration au PAS met en évidence les cellules claires remplies de glycogène. L'étude immunohistochimique ne retrouve pas de composante myoépithéliale.

Les transcrits de fusion retrouvés sont les mêmes que ceux décrits dans le CCCH. Plus de 80 % des cas montrent un réarrangement de ***EWSR1*** avec classiquement ***ATF1*** (62,5%) comme partenaire de fusion (57). Il a également été décrit des transcrits de fusion ***EWSR1-CREB1*** (58) et ***EWSR1-CREM*** (59).

IV.5. Carcinome sécrétoire

Le **carcinome sécrétoire (SC)**, anciennement **carcinome salivaire analogue des carcinomes mammaires sécrétant** (ou MASC), a été décrit en 2010 par Pre Aléna SKALOVA (60) qui remarqua une proximité morphologique et immunohistochimique de cette tumeur avec son homologue mammaire. Sa localisation préférentielle est la **glande parotide** suivie de la cavité buccale et de la glande sous-maxillaire. Il se retrouve autant chez l'homme que chez la femme à des âges très variables (10-86 ans).

La **cytoponction** retrouve un matériel cellulaire constitué de cellules épithéliales cohésives sous forme de fragments de structure papillaire ou de cellules dispersées. Ces cellules présentent un cytoplasme abondant, clair ou éosinophile, granuleux à vacuolé. Les noyaux présentent un nucléole unique.

A la **macroscopie**, il s'agit d'une tumeur **mal définie, caoutchouteuse**. Des formations kystiques peuvent être retrouvées.

A l'histologie, on retrouve **un seul type de cellule au cytoplasme éosinophile**, parfois vacuolisé. Le noyau est clair et nucléolé. Les figures mitotiques sont peu nombreuses.

L'architecture peut être **microkystique, tubulaire, cribriforme ou solide**. Le PAS marque le contenu intraglandulaire. Cette lésion est peu infiltrante. Les engainements périnerveux sont rares et il n'y a généralement pas de nécrose.

Le diagnostic de SC **nécessite une étude immunohistochimique** comprenant notamment **PS100** et **Mammaglobine** qui montreront un marquage intense des cellules tumorales, spécifique de ce type de lésion. Les marqueurs épithéliaux seront positifs (CK7, CK8, CK19) ainsi que les marqueurs spécifiques du sein tel que GATA3. Les **marqueurs myoépithéliaux sont négatifs** (absence de composante myoépithéliale) de même que DOG1 (absence de cellules acineuses) et les récepteurs hormonaux. Plus récemment, l'immunohistochimie pan-TRK a montré une très bonne sensibilité pour détecter la fusion *ETV6-NTRK3* (61) pouvant aider au diagnostic, mais ne permet pas de détecter les CS associés à une fusion *ETV6-RET*, rendant alors la biologie moléculaire indispensable dans certains cas.

Le SC est une tumeur maligne le plus souvent indolente. Des **métastases ganglionnaires sont retrouvées dans 25 % des cas** et les métastases à distance sont rares.

Le traitement consiste en l'exérèse chirurgicale de la lésion.

L'**émergence des inhibiteurs de *NTRK*** (larotrectinib et entrectinib) permet d'améliorer l'arsenal thérapeutique adjuvant de ces lésions montrant des réponses thérapeutiques allant de 57 à 75 % pour les tumeurs solides avec fusions *NTRK*, comprenant les SC salivaires (62).

Le SC est lié à plusieurs transcrits de fusion, le plus fréquent étant ***ETV6-NTRK3*** résultant de la translocation ***t(12;15)(p16;q25)*** (60). Les autres partenaires de *ETV6* sont ***RET*** (63), ***MET*** (64) et ***MAML3*** (65). Les fusions *ETV6-MET* et *ETV6-RET* ont été décrites comme associées à des **comportements plus agressifs** (66).

Trois transcrits de fusion n'impliquent pas *ETV6* : ***CTNNA1-ALK*** (67), ***EGFR-SEPT14*** (63) et ***VIM-RET*** (68).

IV.6. Carcinome intraductal

Le **carcinome intraductal (CI)**, anciennement appelé carcinome des canaux salivaires de bas grade ou cystadénocarcinome cribriforme de bas grade, est une tumeur maligne **rare** des glandes salivaires **de bas grade**. Elle est majoritairement retrouvée au niveau des glandes salivaires majeures et surtout au niveau de la **parotide**. L'âge moyen au diagnostic est de 62 ans (27-93 ans).

A la macroscopie, cette tumeur est **bien circonscrite**, généralement non encapsulée, présentant de multiples espaces kystiques.

A l'histologie, le diagnostic est difficile. On retrouve les **aspects d'une hyperplasie canalaire atypique ou encore un carcinome canalaire in situ du sein**. Habituellement, cette tumeur est caractérisée par une **prolifération intracanaulaire et intrakystique**, non invasive, de cellules canalaire luminales prenant une architecture papillaire, cribriforme ou solide. Cet aspect est appuyé par la présence d'une couche de cellules myoépithéliales autour des canaux, mise en évidence par immunohistochimie adaptée. Il existe deux types de CI suivant le phénotype présenté par les cellules intra luminales : **intercalaire** ou **apocrine**. Dans l'OMS 2017, cette lésion est classée en bas grade, grade intermédiaire ou haut grade selon son **degré d'atypies cytonucléaires**. A noter que des paternes invasifs peuvent être visualisés.

Sur le plan immunohistochimique, on distingue le CI de **phénotype intercalaire (PS100 et de SOX10 +)** et le CI de **phénotype apocrine (récepteurs aux androgènes +)**. La couche myoépithéliale est mise en évidence par des marqueurs myoépithéliaux. Ses diagnostics

différentiels principaux sont le carcinome canalaire salivaire, le carcinome sécrétoire et le carcinome à cellules acineuses.

Son pronostic est **excellent** après excision complète. **Un seul cas de CI** (confirmé par la présence du transcrit de fusion *NCOA4-RET*) avec **métastase ganglionnaire** a été rapporté à ce jour (69).

La plupart des CI présentent des transcrits de fusion récurrents impliquant le gène *RET*, notamment *NCOA4-RET* retrouvé dans près de la moitié **des CI de type intercalaire** ou encore *TRIM27-RET* plus souvent observé dans **les CI de type apocrine ou mixte** (70).

TUT1-ETV5, *KIAA1217-RET* (69) et *STRN-ALK53* (71) ont été identifiés dans des cas de CI présentant une **composante invasive**. Un transcrit de fusion *TRIM33-RET* associé à une mutation *BRAF V600E* a été décrit dans un sous-ensemble **oncocytaire** des CI (72). **Récemment, *EML4-ALK* et *MYO18A-ALK* ont été décrits** (73).

IV.7. Carcinome à cellules acineuses

Le carcinome à cellules acineuses (CCAc) est une tumeur maligne présentant une différenciation acineuse avec une seule composante cellulaire de **phénotype glandulaire**. Elle correspond à environ **10 % des tumeurs malignes** des glandes salivaires et, est la **deuxième tumeur maligne salivaire la plus fréquente chez l'enfant**. C'est l'aspect cytologique qui fait le diagnostic. L'aspect global de la lésion faisant **le plus souvent bas grade**, la recherche de cellules acineuses (parfois rares) est primordiale car **pathognomonique de cette entité**. La découverte récente de **NR4A3** comme marqueur immunohistochimique très spécifique (100%) et très sensible (98%) aide grandement aux quelques défis diagnostiques, notamment sur les petits prélèvements et les différenciations anaplasiques (74). La translocation t(4;9)(q13;q31) permet une régulation positive du facteur de transcription Nuclear Receptor Subfamily 4 Group A Member 3 (NR4A3) en détournant la séquence régulatrice ayant pour effet un évènement oncogène moteur conduisant au CCAc (75).

Actuellement, seul deux transcrits de fusion ont été décrits dans le CCAc : ***HTN3-MSANTD3*** dans environ 5 % de cas (76), et un cas de ***PRB3-ZNF217*** (77). La **translocation t(4;9)(q13;q31)**, ayant permis la découverte de l'immunohistochimie NR4A3, est retrouvée dans la majorité des cas.

IV.8. Carcinome myoépithélial

Un **carcinome myoépithélial** (CM) est une tumeur maligne **exclusivement composée de cellules myoépithéliales**. Il est peu fréquent et intéresse les patients de tout âge. Sa localisation préférentielle est la glande parotide. **Le pronostic est mauvais** avec souvent présence de métastases à distances, notamment pulmonaires.

Le CM présente des réarrangements récurrents du gène *PLAG1* se chevauchant parfois avec l'adénome pléomorphe et sa transformation carcinomateuse. On retrouve ***FGFR1-PLAG1*, *TGFBR3-PLAG1*, *ACTA2-PLAG1*, *GEM-PLAG1*, *NCALD-PLAG1*** (78) et ***EWSR1-KLF15*** (79).

IV.9. Carcinome canalaire salivaire

Le **carcinome canalaire salivaire** (CCS) est une **tumeur maligne** agressive. Il représente 10 % des cancers salivaires avec une nette prédominance masculine. Il est très majoritairement retrouvé au niveau de la parotide. Il s'agit d'un des carcinomes salivaires **les plus agressifs**.

Le pronostic de cette lésion est **un des plus mauvais des tumeurs malignes des glandes salivaires**, avec des récives locales et des métastases ganglionnaires et à distance fréquentes. **La survie à 5 ans est de 55 à 65 %**.

Des transcrits de fusion ont été détectés dans de rares CCS. Il s'agit de ***EML4-ALK*, *HNRNPH3-ALK*, *STRN-ALK*** et ***RAPGEF6-ACSL6*** (52,73,80).

IV.10. Adénocarcinome cribriforme des glandes salivaires

L'**adénocarcinome cribriforme des glandes salivaires** (ACGS) est un sous-type de l'adénocarcinome polymorphe décrit dans l'OMS 2017. Il fut initialement décrit en 1999 au niveau de la langue (81) puis quelques années plus tard dans les glandes salivaires accessoires (82) en 2011.

80 % des ACGS présentent les transcrits de fusion suivant : ***ARID1A-PRKD1*** et ***DDX3X-PRKD1*** (83), contrairement à l'adénocarcinome polymorphe qui présente le plus souvent une mutation ponctuelle de *PRKD1*.

IV.11. Adénocarcinome microsécrétoire

L'adénocarcinome microsécrétoire (AMS) est une tumeur de bas grade **décrite en 2019 par J. A. Bishop et al.** Il s'agissait anciennement d'un **sous-groupe d'adénocarcinome sans autre spécificité (NOS)** (84).

Deux transcrits de fusion ont été identifiés : **MEF2C-SS18** dans 87,5 % des cas et **SS18-ZBTB7A**, plus rare (84).

IV.12. Adénome pléomorphe et Carcinome ex-Adénome pléomorphe

L'adénome pléomorphe (AP) est une **tumeur bénigne**. C'est la tumeur la plus fréquente des glandes salivaires, représentant trois quart des lésions bénignes et la moitié de toutes les tumeurs salivaires. La clinique est sans spécificité. L'AP se localise préférentiellement à la parotide (80%) à un âge moyen de 45 ans.

En macroscopie, la tumeur est unique, lobulée, bien délimitée, parfois encapsulée, blanchâtre-bleutée. Elle peut présenter une dégénérescence kystique ou hémorragique.

A l'histologie, c'est une tumeur caractérisée par trois composantes intriquées les unes aux autres. Une **composante épithéliale**, de type **canalaire**, faite de cellules cubiques ou cylindriques (parfois claires) agencées en travées et tubes. Une **composante basale/myoépithéliale** faite de cellules fusiformes, stellaires, rondes, plasmocytoides ou claires ou stellaires de type basal/myoépithélial. Ces éléments cellulaires sont disposés sur un **stroma chondro-myoïde**. Des foyers de kératinisation, la présence de cellules mucosécrétantes ainsi qu'une métaplasie sébacée sont possibles. On s'attardera à rechercher des signes de transformation tels que des atypies marquées, une augmentation du nombre de mitose ou des foyers de nécrose.

La **composante épithéliale** sera mise en évidence par les **marqueurs conventionnels** (EMA, ACE, CK7). L'**AML** mettra en évidence la composante myoépithéliale en périphérie des formations épithéliales. La **GFAP**, étant un marqueur des cellules myoépithéliales néoplasiques, est également intéressante.

L'adénome pléomorphe peut se transformer en carcinome dans **environ 6 % des cas**. Cette transformation doit être suspectée lors d'une augmentation récente du volume, une apparition de douleurs ou une paralysie faciale. Il peut également métastaser dans de très

rare cas, notamment aux os et aux poumons. La métastase présentera alors également les aspects d'un adénome pléomorphe bénin (85).

Le **carcinome ex-adénome pléomorphe (CxAP)** est une **tumeur maligne** associée à un adénome pléomorphe correspondant à **12 % de toutes les tumeurs malignes des glandes salivaires**. Il peut présenter une **composante épithéliale et/ou myoépithéliale**. L'adénome pléomorphe d'origine peut être intriqué avec le CxAP ou bien individualisé en périphérie. Des sous-types existent suivant l'extension du CxAP au sein de l'AP : **intracapsulaire**, **intracapsulaire in situ** (les cellules tumorales remplacent alors les cellules canalaire), **peu invasif** (<4 à 6 mm au-delà de la capsule de l'AP) et **invasif** (6 mm ou +). Cette transformation carcinomateuse correspond le plus souvent à un **carcinome canalaire salivaire**, un **carcinome myoépithélial** ou un **adénocarcinome NOS** (44).

Les AP (environ 70%) et les CxAP partagent de nombreux transcrits de fusion. Les réarrangements de **PLAG1** et **HMGA2** sont récurrents. Certains transcrits de CxAP seraient retrouvés préférentiellement dans un sous-type de carcinome myoépithélial : **CTNNB1-PLAG1**, **ND4-PLAG1**, **NCALD-PLAG1**, **TGFBR3-PLAG1** et **FGRF1-PLAG1**.

De plus, certains transcrits de fusion sont partagés avec le **myoépithéliome**, autre tumeur bénigne des glandes salivaires beaucoup plus rare, et le **carcinome myoépithélial**, appuyant le fait qu'il existe un chevauchement moléculaire entre les AP et les néoplasmes myoépithéliaux salivaires (78,86).

IV.13. Adénocarcinome NOS

Les **adénocarcinomes NOS** correspondent au spectre des carcinomes épithéliaux des glandes salivaires qui présentent une différenciation glandulaire et/ou canalaire n'ayant pas de spécificité qui permette de les classer dans une des entités malignes des glandes salivaires.

C'est un **diagnostic d'exclusion**. De ce fait il existe un large panel de présentation clinique et histologique pour ces tumeurs. **Un grading est néanmoins proposé par l'OMS 2017** basé sur les atypies cytonucléaires :

- bas grade** : cellules monomorphes peu atypiques, faible nombre de mitoses
- grade intermédiaire** : atypies cytonucléaires et mitoses en nombre modéré

-**haut grade** : atypies cytonucléaires marquées avec pléomorphisme et mitoses fréquentes.

Un transcrit de fusion a été décrit dans un adénocarcinome NOS, il s'agit de **ZCCHC7-NTRK2**.
(87).

Objectif de l'étude

Les glandes salivaires présentent un large spectre de tumeurs rares de diagnostic parfois difficile sur le plan morphologique et immunohistochimique, notamment sur petits prélèvements. Les nombreuses données moléculaires récentes en pathologie des glandes salivaires ont grandement amélioré la classification de ces tumeurs et leur démembrement.

Notre travail a consisté à évaluer l'apport de la technique moléculaire de NGS ciblé par LD-RT-PCR pour le diagnostic des tumeurs des glandes salivaires et évaluer une éventuelle corrélation histologique et génétique au sein de mêmes entités.

Matériel et Méthode

I. Critères d'inclusion

Des tumeurs des glandes salivaires, bénignes ou malignes (n=242), ont été adressées entre 2019 et juillet 2022 au Service d'Anatomie et Cytologie pathologiques du Centre Henri Becquerel (Rouen). Ces tumeurs ont été transmises par des pathologistes exerçant en structures hospitalières ou dans des laboratoires privés français, à visée diagnostique ou de recherche (collecte de cas rétrospectifs depuis 2009) et dans le cadre du réseau REFCORpath (tumeurs transmises par Dr M. Wassef (Lariboisière – Paris) et Pre V. Costes-Martineau (CHU Montpellier).

Nous rapportons dans ce travail de thèse une série de tumeurs des glandes salivaires décrites comme associées à des transcrits de fusion. La série est constituée de 204 tumeurs composées de carcinomes muco-épidermoïdes (CME), carcinomes adénoïdes kystiques (CAK), carcinomes sécrétoires (CS), carcinomes à cellules claires hyalinisant (CCCH), carcinomes odontogènes à cellules claires (COCC), carcinomes intraductaux (CI), adénomes pléomorphes (AP) et carcinome ex-AP (Figure 16).

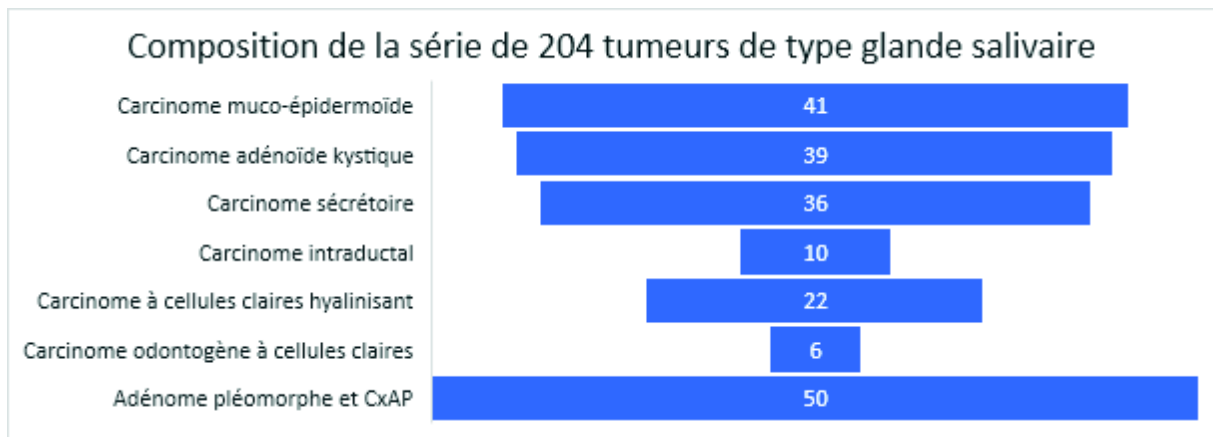


Figure 16. Schéma récapitulatif de la composition de la série de 204 tumeurs salivaires.

II. Procédure de l'étude

L'ensemble de ces 204 tumeurs des glandes salivaires a fait l'objet d'un recueil de données générales, d'une étude moléculaire à la recherche de transcrits de fusion précédemment décrits dans la littérature par NGS ciblé par LD-RT-PCR, ainsi que d'une description histologique succincte suivant des caractéristiques différentes selon l'entité étudiée.

II.1. Recueil de données

Les données suivantes ont été collectées : sexe du patient, âge au diagnostic, nature de l'intervention (biopsie ou exérèse), localisation, taille tumorale et diagnostic. Certains dossiers ont été analysés par un seul pathologiste (diagnostic initial) et d'autres ont été relus par plusieurs pathologistes dans le cadre d'avis ou de relecture par le réseau REFCORpath. Dans ces scénarios, le diagnostic recueilli correspond à celui de l'expert ayant relu le cas.

II.2. Etude moléculaire

Les tumeurs (n=204) ont été analysées par NGS ciblé par LD-RT-PCR (Réaction de polymérisation en chaîne par transcription inverse, dépendante de la ligation), technique de séquençage rapide, inspirée de la technique de la RT-PCR, mise au point par Philippe Ruminy, PhD et Marie-Delphine Lanic, MSc de l'équipe de recherche INSERM U1245 du Centre Henri Becquerel (Rouen).

Présentation

Cette technique consiste à incuber de l'ADNc, formé à partir de l'ARN tumoral, avec des sondes oligonucléotidiques correspondant aux extrémités des exons fusionnés sur les transcrits de fusion (ARNm). Lorsqu'un transcrit de fusion est présent, les deux sondes s'hybrident de part et d'autre de la jonction aberrante. Une ADN ligase va ensuite permettre de créer un lien covalent entre les deux sondes et permettre leur amplification par PCR, qui ne peut avoir lieu si le transcrit de fusion n'est pas présent.

Un panel personnalisé de sondes permettant la détection des fusions d'intérêts est nécessaire. Pour cela, le gène en 5' et le gène en 3' de chaque fusion doivent être connus. Une revue complète de la littérature a été réalisée à l'aide de Pubmed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) jusqu'à avril 2022. Cette recherche a permis d'identifier un total de 90 transcrits de fusions associés à 15 types de tumeurs des glandes salivaires, 13 malignes et 2 bénignes (adénome pléomorphe et myoépithéliome) (Table 4). Le **panel « glandes salivaires »** cible les principaux transcrits de fusions (**70 transcrits de fusion** /90 - 77.8%). Une partie des sondes potentielles identifiées n'a pu être intégrées en raison de limitations techniques. Ces sondes absentes correspondent à des fusions exceptionnelles. Les principales fusions récurrentes sont toutes détectables. Le circo plot illustré Figure 17 représente une partie des gènes inclus dans le panel « glandes salivaires » correspondant aux entités étudiées dans cette thèse.

Ce panel « Glandes salivaires » (88) vient s'ajouter à d'autres panels déjà mis au point, permettant la détection des transcrits de fusion dans les tumeurs pulmonaires (89,90), hématologiques (91), des os et tissus mous et des tumeurs gynécologiques (92) utilisés en routine diagnostique au Centre Henri Becquerel.

Type de tumeur	Transcrits de fusion		Biblio.	Type de tumeur	Transcrits de fusion		Biblio.
	Gène 5'	Gène 3'			Gène 5'	Gène 3'	
CAK	MYB	NFIB	(47)	CCCH	EWSR1	ATF1	(54)
	MYBL1	NFIB	(49)		EWSR1	CREM	(56)
	MYBL1	YTHDF3	(49)	COCC	EWSR1	ATF1	(57)
	MYBL1	VCPIP1	(52)		EWSR1	CREB1	(58)
	MYBL1	C8orf34	(51)		EWSR1	CREM	(59)
	NFIB	TBPL1	(52)		AP	HMGA2	WIF1
	NFIB	CASC20	(51)		HMGA2	NFIB	(94)
	NFIB	EPB41L2	(51)		HMGA2	FHIT	(94)
	NFIB	MCMDC2	(51)		HMGA2	HELB	(95)
	MAP7	NFIB	(51)		HMGA2	TMTC2	(85)
	C8orf34	NFIB	(51)		PRB2	TAF15	(52)
	RIMS1	NFIB	(50)		NPM1	PRB2	(52)
	MYO6	NFIB	(50)		DSTN	PLAG1	(52)
	MAP3K5	NFIB	(50)		NTF3	PLAG1	(52)
	RPS6KA2	NFIB	(50)		LIFR	PLAG1	(96)
	CI	KIAA1217	RET		(69)	ACTA2	PLAG1
	NCOA4	RET	(70)		NCALD	PLAG1	(52)
	STRN	ALK	(71)		CHCHD7	PLAG1	(97)
	TRIM27	RET	(70)		FBXO32	PLAG1	(52)
	TRIM33	RET	(72)		BOC	PLAG1	(98)
	TUT1	ETV5	(69)		CTNNB1	PLAG1	(13)
	MYO18A	ALK	(73)		TCEA1	PLAG1	(97)
	EML4	ALK	(73)		C1orf116	PLAG1	(86)
	CME	CRTC1	MAML2		(39)	NFIB	PLAG1
	CRTC3	MAML2	(40)	CxAP	HMGA2	CNOT2	(52)
	EWSR1	POU5F1	(41)		HMGA2	NFIB	(52)
CS	ETV6	NTRK3	(60)		FGFR1	PLAG1	(52)
	ETV6	RET	(63)		FBXO32	PLAG1	(52)
	ETV6	MET	(64)		MEG3	PLAG1	(52)
	ETV6	MAML3	(65)		ND4	PLAG1	(78)
	VIM	RET	(68)		TGFBR3	PLAG1	(78)
	CTNNA1	ALK	(67)		PLAG1	NFIB	(52)
	EGFR	SEPT14	(63)		CTNNB1	PLAG1	(100)

Table 4. Liste des transcrits de fusion décrits comme associés aux entités étudiées dans cette étude.

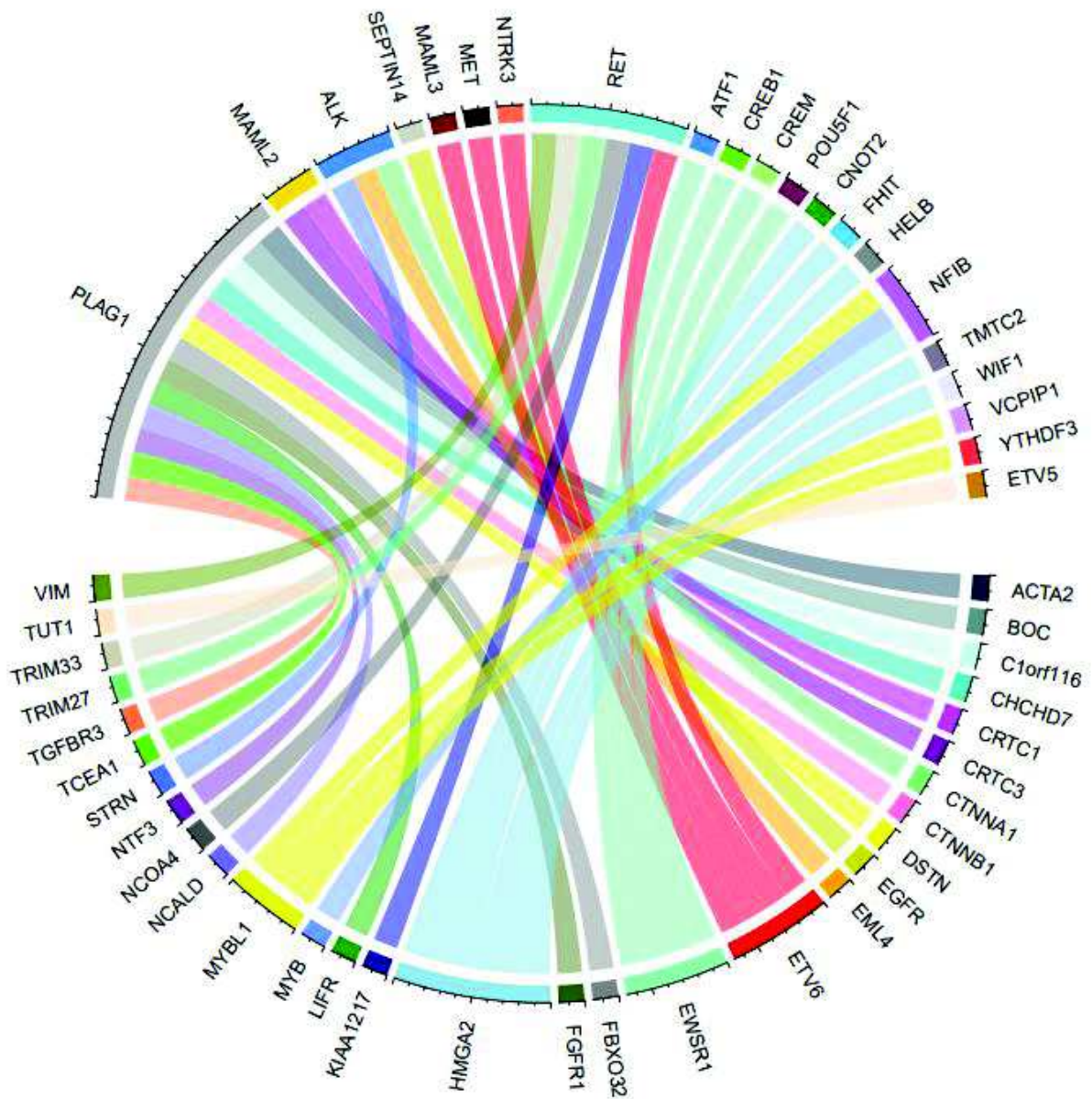


Figure 17. Circos plot des transcrits de fusion décrits comme associés aux entités étudiées dans cette étude.

Extraction d'ARN

L'ARN a été extrait à partir des blocs FFPE après contrôle de la cellularité tumorale sur lame HE, à partir de 3 à 6 lames blanches de 10 µm d'épaisseur. Le système d'extraction automatisé Maxwell[®]16 Research (Promega, Madison, WI, USA) et le kit de purification de l'ARN Maxwell[®]16 FFPE Plus LEV ont été utilisés selon les instructions du fabricant. L'ARN des tissus congelés est extrait en utilisant 1,5 ml de réactif Trizol-LS (Invitrogen) pour 500 µl de lysat cellulaire. La solution est placée sous agitation modérée pendant 30 minutes à 1 heure et l'ARN est extrait selon les instructions du fabricant (Qiagen). Le culot d'ARN est remis en suspension dans 50 µl d'eau sans RNase et stocké à -80 °C. L'évaluation de la concentration d'ARN est réalisée par NanoDrop[™]. La concentration d'ARN doit être ≥ 2 ng/µL pour le test de NGS ciblé par LD-RT-PCR.

Réaction de NGS ciblé par LD-RT-PCR

La procédure est réalisée dans un thermocycleur avec couvercle chauffant. Les échantillons d'ARN ont d'abord fait l'objet d'une transcription inverse en ADNc à l'aide du kit de synthèse d'ADN SuperScript[™]VILO[™]cDNA (Invitrogen, Thermo Fisher Scientific). Un microlitre d'un mélange réactionnel Vilo 5X, 1 µl de H₂O et 0,5 µl de la transcriptase inverse superscript VILO 10X sont ajoutés à 2,5 µl d'ARN total. Ces échantillons sont ensuite chauffés pendant 10 minutes à 25 °C, incubés pendant 60 minutes à 42 °C, incubés pendant 5 minutes à 85 °C et refroidis à 4 °C. Ensuite, 1,5 µl du mélange de sondes de NGS ciblé par LD-RT-PCR et 1,5 µl de tampon d'hybridation SALSA-MLPA (MRC Holland, Amsterdam, Pays-Bas) sont ajoutés à l'ADNc, puis chauffés pendant 2 min à 95 °C et incubés pendant 1 h à 60 °C pour permettre l'hybridation des sondes NGS ciblé par LD-RT-PCR. Trente-deux µl d'un mélange d'ADN ligase sont ensuite ajoutés à la réaction (3 µl de tampon A SALSA-Ligase 65, 3 µl de tampon B SALSA-Ligase, 25 µl d'eau, 1 µl de SALSA-Ligase 65 (MRC-Holland)), et les échantillons sont incubés pendant 15 min à 56 °C et chauffés à 98 °C pendant 5 min. Pour cette étape d'amplification par PCR, 5 µl des produits de ligation sont transférés dans de nouveaux tubes contenant 18 µl d'un mélange PCR (12,5 µl de Red'y'Star Mix (Eurogentec, Liège, Belgique), 5,5 µl d'eau et 2 µl de mélange d'amorces PCR contenant P5I2+P7 barcodingI1 à 5 µM). L'amplification est réalisée comme suit : 6 min à 94 °C ; 35 cycles (30 sec à 94 °C, 30 sec à 58 °C, 30 sec à 72 °C) ; 4 min à 72 °C ; et refroidissement à 4 °C. Les produits sont purifiés à

l'aide du kit Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter) conformément aux instructions du fabricant. Les produits de PCR purifiés sont dosés avec le kit Qubit DNA HS Assay (ThermoFisher Scientific). Les différents échantillons sont regroupés à une concentration de 4nM afin d'obtenir environ 100000 lectures pour chaque cas. Ils sont ensuite séquencés sur un séquenceur Illumina MiSeq (Illumina, San Diego, CA). Pour chaque réaction de NGS ciblé par LD-RT-PCR, un échantillon de contrôle avec un transcrit de fusion connu est inclus pour valider l'expérience. La limite inférieure de détection des transcrits de fusion est de 10 UMIs (identificateurs moléculaires uniques). La limite inférieure de cellularité pour la détection du transcrit est de 5% (Figure 18).

Analyse des données

L'analyse des données est réalisée grâce au logiciel RT-MIS Analysis, développé au Centre Henri Becquerel. Cette analyse permet d'aligner les données de séquençage avec les séquences des sondes qui composent notre mix de sondes « Glandes salivaires », de détecter la fusion génique et de calculer le nombre de séquences correspondant à celle-ci. Les identificateurs moléculaires uniques (UMIs) sont une estimation du nombre de ligations ayant eu lieu au cours de la réaction et de la quantité de transcrits exprimés par la tumeur. Si le transcrit de fusion identifié est connu comme étant associé à une des entités des glandes salivaires, le nombre d'UMIs est alors évalué. Si le nombre d'UMI est < 10 , le résultat est considéré négatif ou requiert une nouvelle extraction suivie d'une nouvelle technique. Si ce nombre est ≥ 10 , le transcrit de fusion est validé comme une vraie fusion.

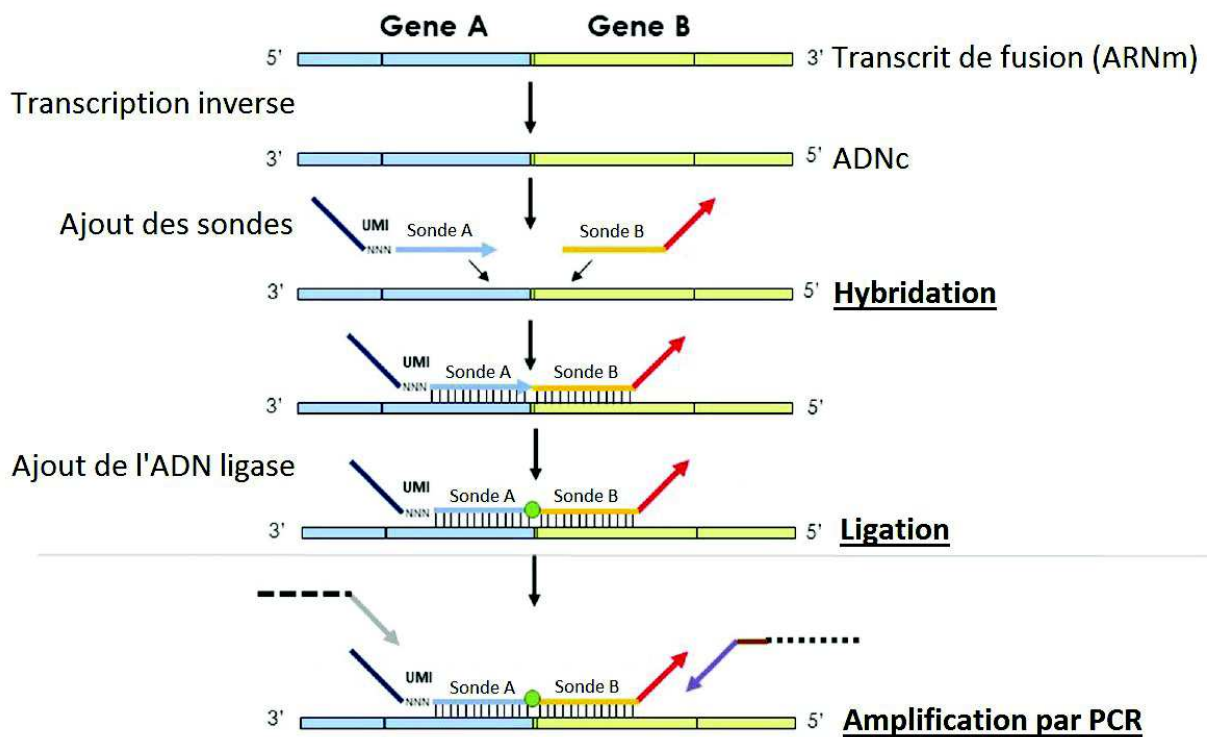


Figure 18. Schéma récapitulatif des différentes étapes de la réaction de NGS ciblé par LD-RT-PCR (d'après Lanic et al., Detection of sarcoma fusions by a next-generation sequencing based-ligation-dependant multiplex RT-PCR assay, Modern Pathology, 2022).

II.3. Données histomorphologiques

L'ensemble des tumeurs a fait l'objet d'une description histologique morphologique succincte par un pathologiste junior et un pathologiste sénior membre du REFCORpath à partir des lames colorées à l'HE et des lames d'immunohistochimie disponibles ainsi que du compte-rendu de pathologie. Cette description est présentée de manière différente selon l'entité étudiée.

Les carcinomes sécrétoires, les carcinomes à cellules claires, les carcinomes odontogènes à cellules claires et les carcinomes intraductaux ont été décrits selon le modèle suivant :

Aspect des cellules tumorales – Architecture – Stroma

Les carcinomes muco-épidermoïdes ont été gradés selon le système proposé par Brandwein en 2002 (38), recommandé à ce jour (101) et se rapprochant du système de grading proposé par l’OMS (20) :

<u>Paramètres histopathologiques</u>	<u>Point</u>
<u>Composante kystique (<25%)</u>	+2
<u>Architecture du front d’invasion (nids/îlots)</u>	+2
<u>Atypies cytonucléaires prononcées</u>	+2
<u>Invasion angiolymphatique</u>	+3
<u>Invasion osseuse</u>	+3
<u>> ou = 4 mitoses pour 10 champs (X400)</u>	+3
<u>Engainements périnerveux</u>	+3
<u>Nécrose</u>	+3
<u>Grade</u>	<u>Score</u>
<u>Bas grade</u>	0-1
<u>Grade intermédiaire</u>	2-3
<u>Haut grade</u>	4 et +

Table 5. Système de grading des carcinomes muco-épidermoïdes selon Brandwein et al. (38)

Les carcinomes adénoïdes kystiques ont été gradés selon le système proposé par Zhang en 2013 (102), appuyé par des études plus récentes (103). Ce système est basé sur l’absence (bas grade) ou la présence (haut grade) d’une composante solide. En effet, les systèmes de grading proposés pour les carcinomes adénoïdes kystiques sont basés sur la présence d’une composante solide avec un cut-off variant d’un système à l’autre. Hors, il semblerait que la moindre composante solide ait un impact significatif sur le pronostic clinique.

Enfin, les adénomes pléomorphes ont été décrits selon leur architecture de manière binaire : classique versus trabéculaire/canaliculaire, afin de comparer nos résultats à ceux d’une étude récente retrouvant une association du transcrit *HMGA2-WIF1* avec les adénomes pléomorphes présentant une architecture canaliculaire (95).

Résultats

I. Résultats globaux

La série était composée de 204 tumeurs de type glande salivaire dont 155 tumeurs malignes (41 carcinomes muco-épidermoïdes, 39 carcinomes adénoïdes kystiques, 36 carcinomes sécrétoires, 10 carcinomes intraductaux, 22 carcinomes à cellules claires hyalinisants, 6 carcinomes odontogènes à cellules claires, 1 carcinome ex-adénome pléomorphe) et 49 tumeurs bénignes (49 adénomes pléomorphes).

Un transcrit de fusion a été retrouvé dans 136 tumeurs (66.7%) plus fréquemment dans les tumeurs malignes (116/155 - 74.8%) que bénignes (20/49 - 40.8%). Tous les cas de carcinomes sécrétoires et de carcinomes intraductaux ont présenté un transcrit de fusion (100%). A l'inverse, moins de la moitié des adénomes pléomorphes et CxAP présentaient un transcrit de fusion (42%) (Figure 19).

Les données de NGS ciblé ont permis une reclassification tumorale/précision diagnostique pour 15 tumeurs, toutes malignes, soit 9.7% des tumeurs malignes étudiées (15/155) avec un maximum de 50% pour les carcinomes intraductaux (5/10), 13.9% pour les carcinomes sécrétoires (5/36), 4.9% pour les carcinomes muco-épidermoïdes (2/41), 4.5% pour les carcinomes à cellules claires hyalinisants (1/22), 2.6% pour les carcinomes adénoïdes kystiques (1/39) et 2% des adénomes pléomorphes correspondant à l'unique adénome pléomorphe transformé en carcinome ex-adénome pléomorphe de cette série.

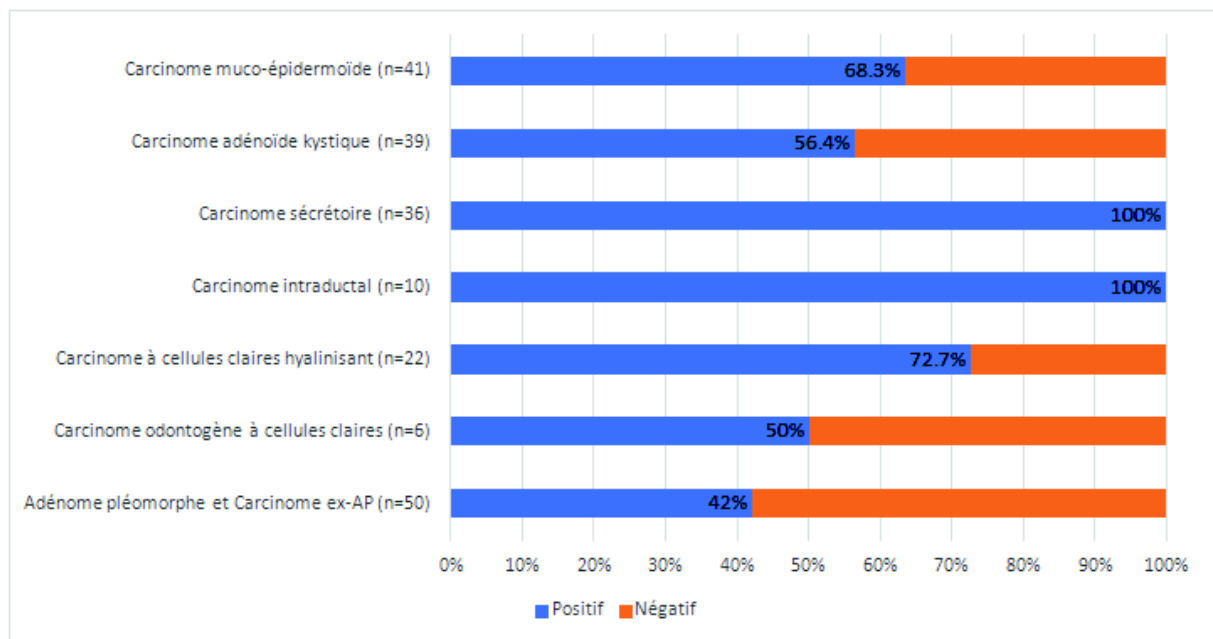


Figure 19. Taux de transcrits de fusion détectés en NGS ciblé par LD-RT-PCR par entité.

II. Carcinomes muco-épidermoïdes

Données générales

Les 41 carcinomes muco-épidermoïdes concernaient autant de femmes (51.2%) que d'hommes (48.8%). L'âge moyen était de 49.4 ans (14-90 ans). 7.3% des cas étaient pédiatriques (3/41). La localisation préférentielle était la glande parotide (n=23, 56.1%) suivie de la cavité buccale (n=12, 29.3%). La taille moyenne de la lésion au moment de l'exérèse était de 29 mm (7-90 mm).

Résultats moléculaires

Un transcrite de fusion a été mis en évidence dans 28 cas (68.3%) (Figure 19-A). Ces transcrits impliquaient tous le gène *MAML2*, le partenaire de fusion étant majoritairement *CRTC1* dans 23 cas (56.1%) suivi de *CRTC3* dans 5 cas (12.2%) (Table 6). Le diagnostic pré-moléculaire était correct dans 92.9% des cas (26/28). Les 2 cas reclassés avaient été initialement diagnostiqués comme carcinome à cellules claires et adénocarcinome sans autre indication (SAI).

Histologie

Un grading de chaque lésion a été réalisé selon le score de Brandwein. Les 23 CME *CRTC1-MAML2* positifs étaient 12 carcinomes de bas grade, 1 de grade intermédiaire, 7 de haut grade et 3 cas avec grading non applicable. Les 5 CME *CRTC3-MAML2* positifs étaient 1 carcinome de bas grade et 4 de haut grade dont 2 avec métastase ganglionnaire. Les 13 CME négatifs étaient de grade bas ou intermédiaire. Les CME présentant des particularités cytologiques avec la présence de cellules claires (4 cas) ou oncocytaires (2 cas) étaient tous associés à un transcrite de fusion (Photos 1 et 2).

No.	Age/Sexe	Site	Intervention	Taille	Diagnostic PM	LD-RT-PCR-NGS	Histologie
1	67/M	Glande parotide	Exérèse	25	CCC	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade - Cellules claires
2	60/F	Glande parotide	Exérèse	23	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade - Cellules claires
3	72/M	Glande parotide	Exérèse	12	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
4	67/M	Cavité nasale	Exérèse	7	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade
5	50/M	Cavité buccale	Exérèse	14	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
6	46/M	Glande parotide	Exérèse	15	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
7	39/F	Glande parotide	Exérèse	30	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
8	29/M	Glande submandibulaire	Exérèse	45	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade
9	68/M	Cavité nasale	Exérèse	18	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade - Cellules claires
10	56/M	Cavité buccale	Biopsie	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade
11	48/M	Glande parotide	Exérèse	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade
12	60/F	Glande parotide	Exérèse	14	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
13	59/F	Cavité buccale	Exérèse	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
14	32/F	Pharynx	Exérèse	25	ADK SAI	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
15	15/F	Glande parotide	Exérèse	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
16	42/F	Glande parotide	Exérèse	20	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
17	21/F	Glande submandibulaire	Exérèse	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
18	59/F	Glande parotide	Exérèse	90	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Grade intermédiaire
19	59/F	Glande parotide	Exérèse	90	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade - Cellules oncocytaires
20	21/F	Cavité buccale (joue)	Biopsie	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Grade NA
21	90/F	Cavité buccale	Biopsie	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Grade NA - Cellules oncocytaires
22	33/M	Cavité buccale	Biopsie	ND	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Grade NA - Cellules claires
23	65/F	Glande parotide	Exérèse	25	CME	<i>CRTC1</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade
24	57/M	Cavité buccale	Exérèse	25	CME	<i>CRTC3</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Bas grade
25	62/M	Ganglion (métastase)	Exérèse	ND	CME	<i>CRTC3</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade - métastase
26	59/M	Cavité buccale	Biopsie	ND	CME	<i>CRTC3</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade
27	55/M	Cavité buccale	Exérèse	30	CME	<i>CRTC3</i> exon 1 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade
28	57/F	Glande parotide	Exérèse	19	CME	<i>CRTC3</i> exon 2 - <i>MAML2</i> exon 2	Haut grade - Cellules claires - métastase
29	75/F	Glande parotide	Exérèse	ND	CME	Négatif*	Bas grade
30	46/F	Glande parotide	Exérèse	ND	CME	Négatif	Grade intermédiaire
31	57/M	Cavité buccale (palais)	Biopsie	ND	CME	Négatif	Grade NA

32	15/M	Cavité buccale (palais)	Biopsie	ND	CME	Négatif	Grade NA
33	14/M	Glande parotide	Exérèse	26	CME	Négatif	Bas grade
34	40/F	Glande parotide	Exérèse	20	CME	Négatif*	Bas grade
35	37/M	Cavité buccale (rétro-molaire)	Exérèse	13	CME	Négatif	Bas grade
36	14/M	Glande parotide	Exérèse	26	CME	Négatif	Bas grade
37	69/F	Glande parotide	Exérèse	17	CME	Négatif	Bas grade – Kystique
38	59/F	Glande parotide	Exérèse	90	CME	Négatif	Grade intermédiaire
39	20/F	Glande parotide	Exérèse	7	CME	Négatif	Bas grade
40	64/M	Glande parotide	Exérèse	37	CME	Négatif	Grade intermédiaire
41	69/F	Glande parotide	Exérèse	20	CME	Négatif	Bas grade - Kystique

Table 6. Résultats pour les 41 carcinomes muco-épidermoïdes.

* : Cellularité entre 5 et 10%

Diagnostic PM : Diagnostic pré-moléculaire.

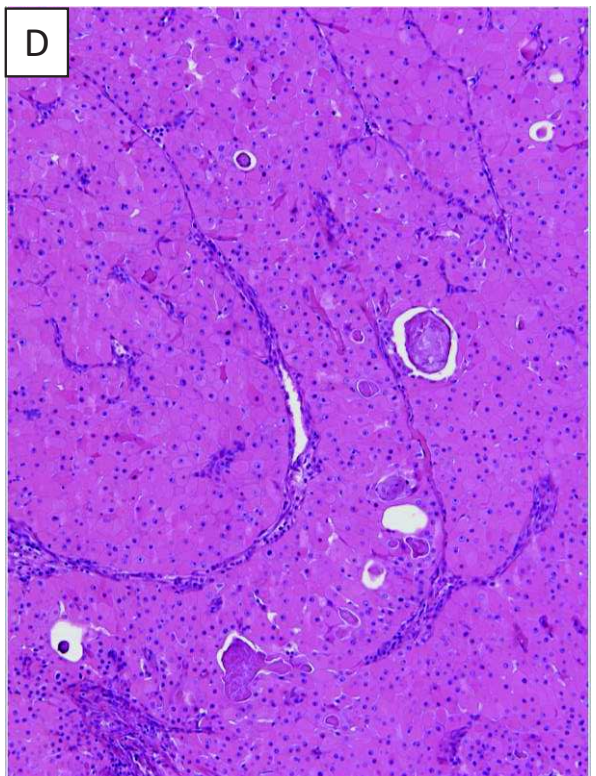
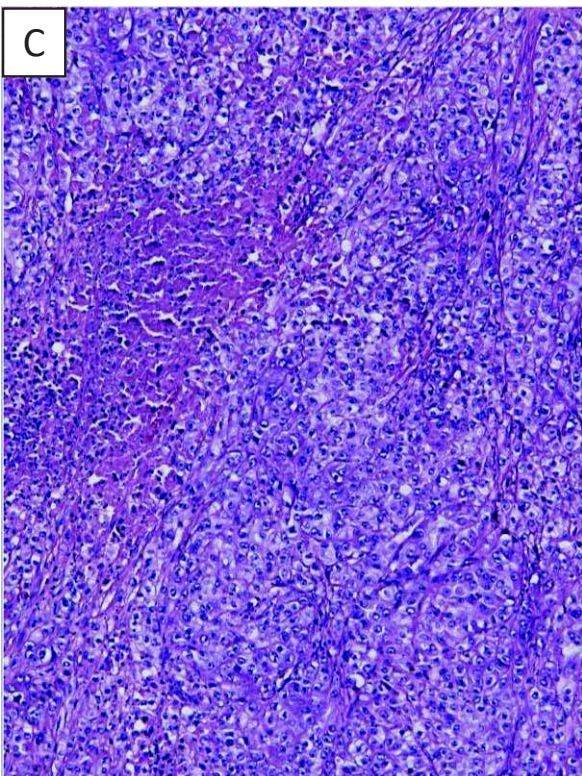
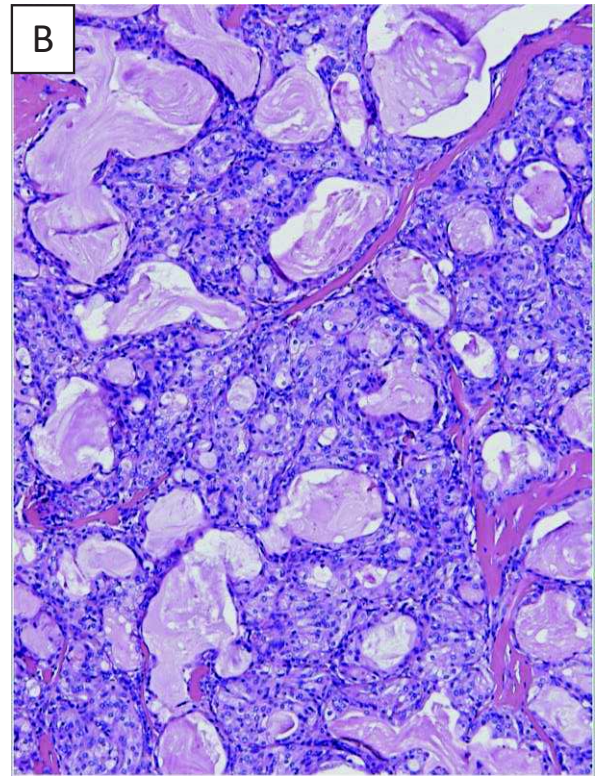
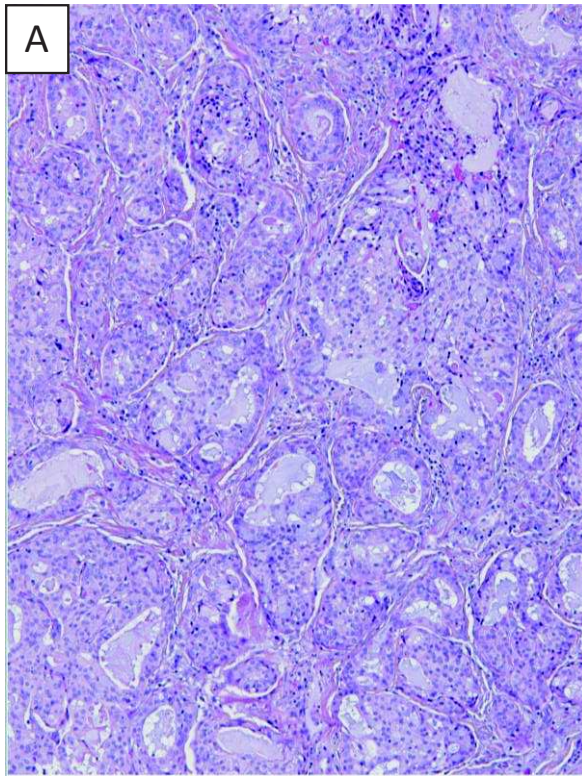


Photo 1. La majorité des cas de CME présentait une morphologie classique, parmi les cas négatifs (**A, Cas 35**) et positifs (**B, Cas 13**). Les tumeurs de haut grade présentaient toutes un transcrits de fusion, comme ici traduit par la présence d'importantes atypies cytonucléaires accompagnées de figures mitotiques et de foyers de nécrose (**C, Cas 11**). Deux tumeurs correspondaient à un variant oncocytaire (**D, Cas 21**).

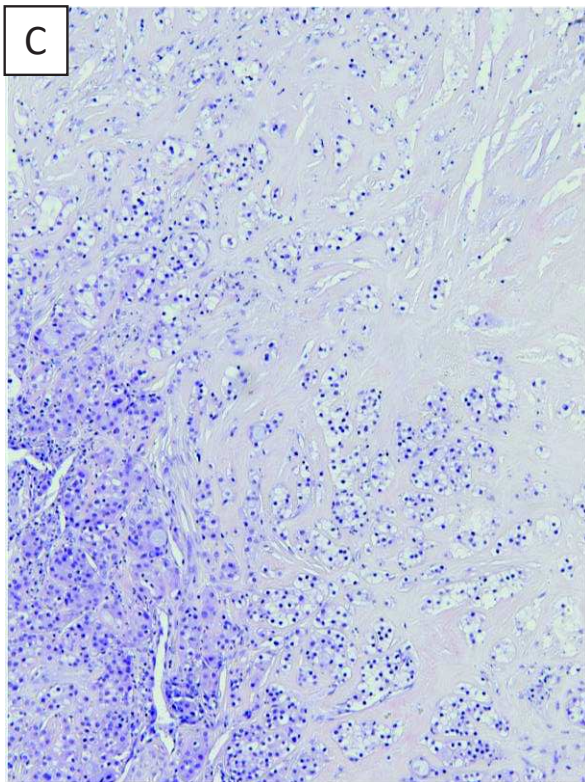
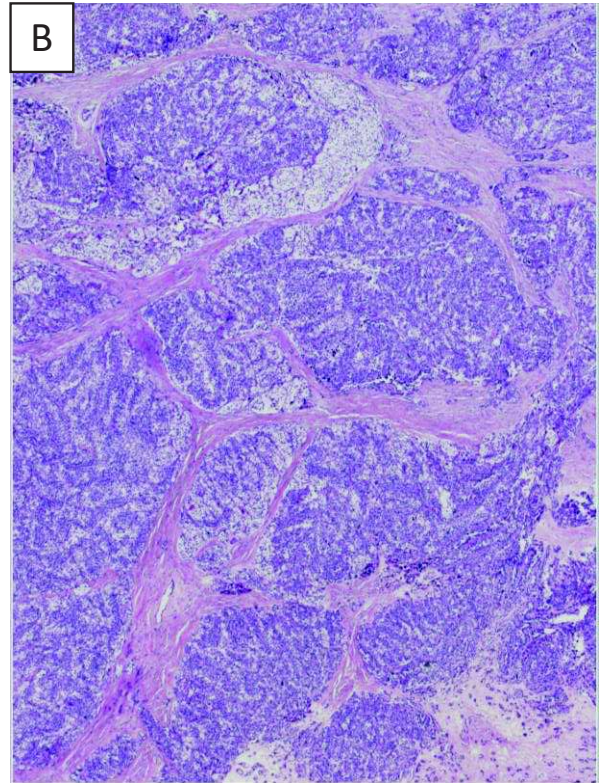
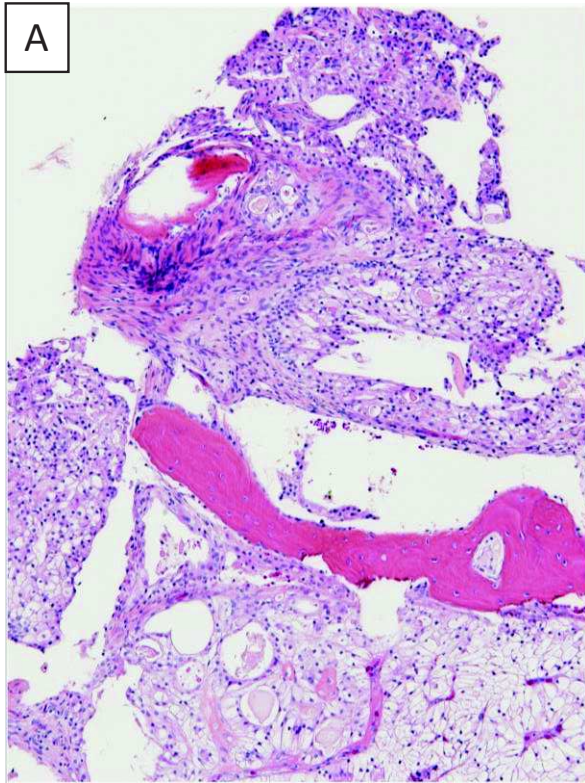


Photo 2. Les CME variant à cellules claires présentait tous un transcrite de fusion. Certains présentait des signes d'agressivité avec infiltration du plan osseux adjacent (**A, Cas 9**) ou avec un front d'invasion composé de petits nids de quelques cellules claires infiltrant un stroma hyalin très dense (**C, Cas 28**). Un CME de bas grade avec des massifs en partie composés de cellules claires disposés sur un stroma hyalin d'aspect rappelant le CCCH (**B, Cas 1**).

III. Carcinomes adénoïdes kystiques

Données générales

Les 39 carcinomes adénoïdes kystiques concernaient autant d'hommes (51.3%) que de femmes (48.7%). L'âge moyen était de 58 ans (30-89 ans). Aucun cas pédiatrique. Les localisations étaient variées, préférentiellement sino-nasales (n=16, 41%), suivi des glandes salivaires majeures (n=10, 25.6%), de la cavité buccale (n=8, 20.5%) et de la trachée (n=3, 7.7%). La taille moyenne de la lésion au moment de l'exérèse était de 24.4 mm (3-80 mm).

Résultats moléculaires

Un transcrite de fusion a été mis en évidence dans 22/39 cas (56.4%), impliquant tous le gène *NFIB* (Figure 19-A). Le partenaire de fusion était majoritairement *MYB* dans 19 cas (48.7%) et moins fréquemment *MYBL1* dans 3 cas (7.7%) (Table 7). Le diagnostic pré-moléculaire était concordant dans 95.5% des cas (1/22). Le cas reclassé était initialement diagnostiqué comme carcinome indifférencié.

Histologie

Tous les cas ont été gradés selon le système de grading proposé par Zhang en 2013 en fonction de la présence ou non d'une composante solide : 23 carcinomes de bas grade (59%) et 16 de haut grade (41%).

Parmi les 19 CAK *MYB-NFIB* positifs, 6 étaient de haut grade (31.6%) et 13 de bas grade. Parmi les 3 CAK positifs *MYBL1-NFIB*, 2 carcinomes étaient de haut grade (66%) et 1 de bas grade. Les 17 cas négatifs correspondaient à 8 haut grade (47%) et 9 bas grade.

A l'histologie, il ne semblait pas y avoir de caractéristique cellulaire, architecturale ou stromale associée à la présence ou non d'un transcrite (Photos 3 et 4).

No.	Age/Sexe	Site	Intervention	Taille	Diagnostic PM	LD-RT-PCR-NGS	Histologie
42	79/M	Cavité buccale (joue)	Exérèse	ND	CAK	MYB exon 15 - NFIB exon 12	Bas grade
43	66/M	Cavité nasale	Exérèse	20	CAK	MYB exon 15 - NFIB exon 12	Haut grade
44	21/F	Glande parotide	Exérèse	ND	CAK	MYB exon 15 - NFIB exon 11	Bas grade
45	69/M	Glande parotide	Exérèse	ND	CAK	MYB exon 15 - NFIB exon 11	Haut grade
46	36/F	Sinus maxillaire	Exérèse	ND	CAK	MYB exon 15 - NFIB exon 11	Bas grade
47	33/M	Pharynx	Exérèse	ND	ADK SAI	MYB exon 15 - NFIB exon 11	Haut grade
48	30/M	Glande parotide	Exérèse	25	CAK	MYB exon 15 - NFIB exon 9	Bas grade
49	47/F	Sinus ethmoïdal	Biopsie	ND	CAK	MYB exon 14 - NFIB exon 12	Bas grade
50	75/F	Trachée	Exérèse	ND	CAK	MYB exon 14 - NFIB exon 11	Haut grade
51	89/M	Sinus maxillaire	Biopsie	ND	CAK	MYB exon 13 - NFIB exon 12	Bas grade
52	82/F	Sinus maxillaire	Biopsie	ND	CAK	MYB exon 13 - NFIB exon 12	Bas grade
53	27/F	Trachée	Biopsie	ND	CAK	MYB exon 13 - NFIB exon 12	Bas grade
54	52/M	Cavité nasale	Exérèse	35	CAK	MYB exon 13 - NFIB exon 12	Haut grade
55	82/F	Sinus maxillaire	Exérèse	6	CAK	MYB exon 13 - NFIB exon 12	Bas grade
56	41/M	Sinus maxillaire	Exérèse	3	CAK	MYB exon 8 - NFIB exon 11	Bas grade
57	44/M	Sinus maxillaire	Biopsie	ND	CAK	MYB exon 8 - NFIB exon 11	Bas grade
58	62/F	Cavité nasale	Biopsie	ND	CAK	MYB exon 8 - NFIB exon 11	Bas grade
59	78/M	Cavité buccale (palais)	Exérèse	30	CAK	MYB exon 8 - NFIB exon 11	Haut grade
60	69/F	Cavité buccale (palais)	Biopsie	ND	CAK	MYB exon 8 - NFIB exon 9	Bas grade
61	59/M	Glande submandibulaire	Biopsie	ND	CAK	MYBL1 exon9 - NFIB exon 11	Haut grade
62	66/F	Sinus ethmoïdal	Biopsie	ND	CAK	MYBL1 exon 8 - NFIB exon 12	Haut grade
63	65/M	Cavité nasale	Exérèse	ND	CAK	MYBL1 exon 8 - NFIB exon 12	Bas grade
64	52/F	Glande submandibulaire	Exérèse	20	CAK	Négatif	Haut grade
65	64/F	Trachée	Biopsie	ND	CAK	Négatif	Haut grade
66	47/M	Glande parotide	Exérèse	80	CAK	Négatif	Haut grade
67	40/F	Glande sublinguale	Biopsie	ND	CAK	Négatif	Haut grade
68	31/M	Glande submandibulaire	Exérèse	35	CAK	Négatif	Bas grade
69	81/F	Nasopharynx (voile du palais)	Exérèse	22	CAK	Négatif	Haut grade
70	69/M	Cavité buccale	Exérèse	16	CAK	Négatif	Bas grade
71	43/F	Glande parotide	Exérèse	28	CAK	Négatif	Haut grade
72	70/F	Sinus maxillaire	Exérèse	35	CAK	Négatif	Bas grade

73	57/F	Sinus maxillaire	Exérèse	17	CAK	Négatif	Bas grade
74	59/F	Sinus maxillaire	Biopsie	ND	CAK	Négatif	Bas grade
75	62/M	Cavité buccale (palais)	Exérèse	15	CAK	Négatif	Bas grade
76	63/F	Cavité buccale	Biopsie	ND	CAK	Négatif	Bas grade
77	81/M	Sinus maxillaire	Biopsie	ND	CAK	Négatif	Bas grade
78	72/M	Cavité buccale (langue)	Biopsie	ND	CAK	Négatif	Haut grade
79	67/M	Glande submandibulaire	Exérèse	8	CAK	Négatif	Haut grade
80	33/M	Cavité buccale (palais)	Exérèse	20	CAK	Négatif	Bas grade

Table 7. Résultats pour les 39 carcinomes adénoïdes kystiques.
Diagnostic PM : Diagnostic pré-moléculaire.

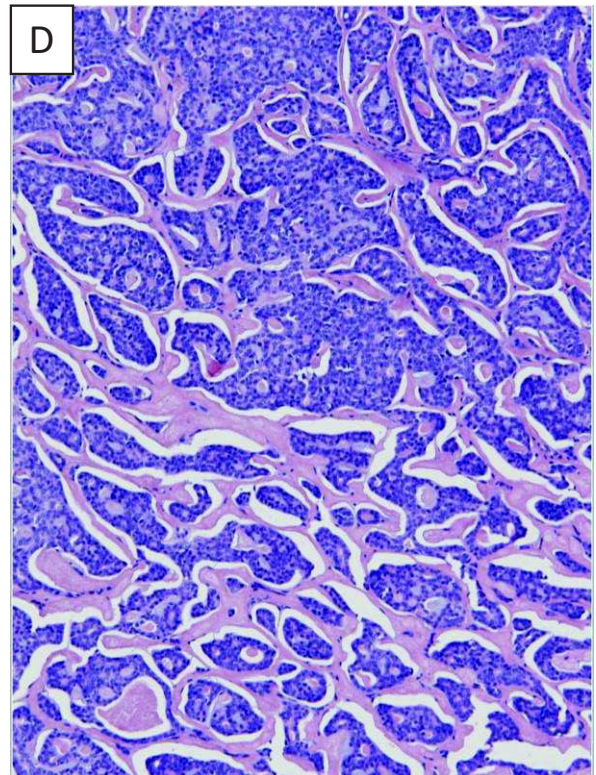
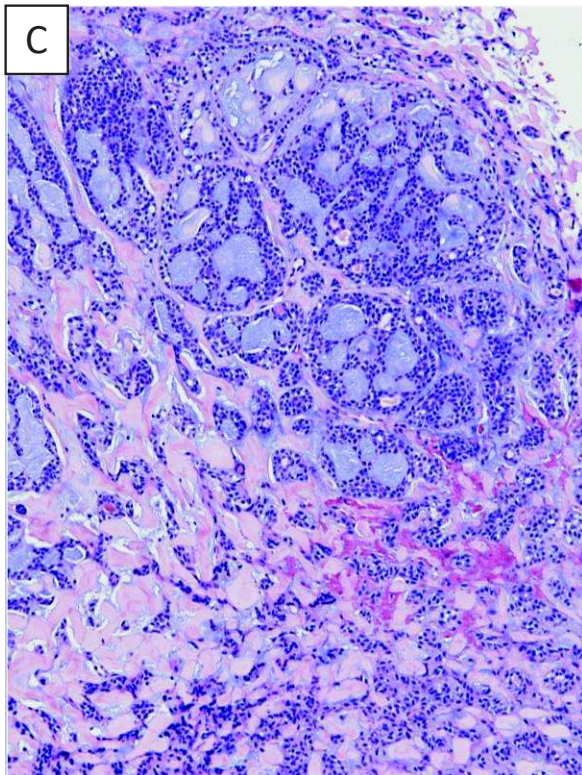
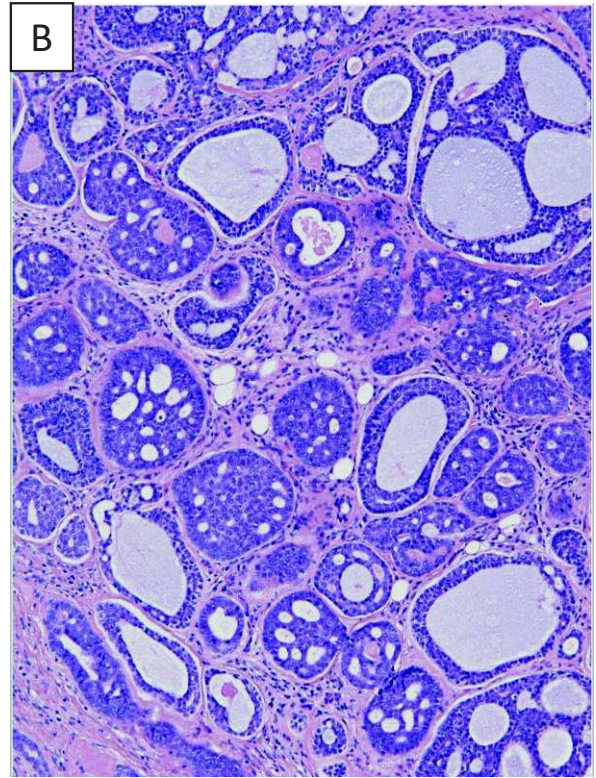
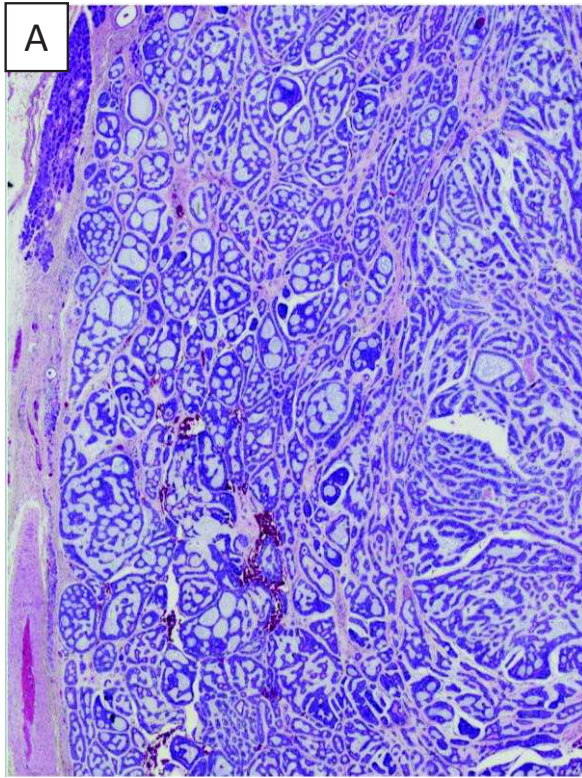


Photo 3. Les CAK ne montraient pas de variation entre les fusion-positifs et négatifs. Les lésions de bas grade négatives (**A, Cas 68**) et positives (**B, Cas 48**) présentaient une morphologie classique composée de structures cribriformes ou tubulaires avec quelques cylindres fibro-hyalins. Le stroma était variable avec un aspect fibro-hyalin plus ou moins prononcé (**C et D, Cas 53 et 44**).

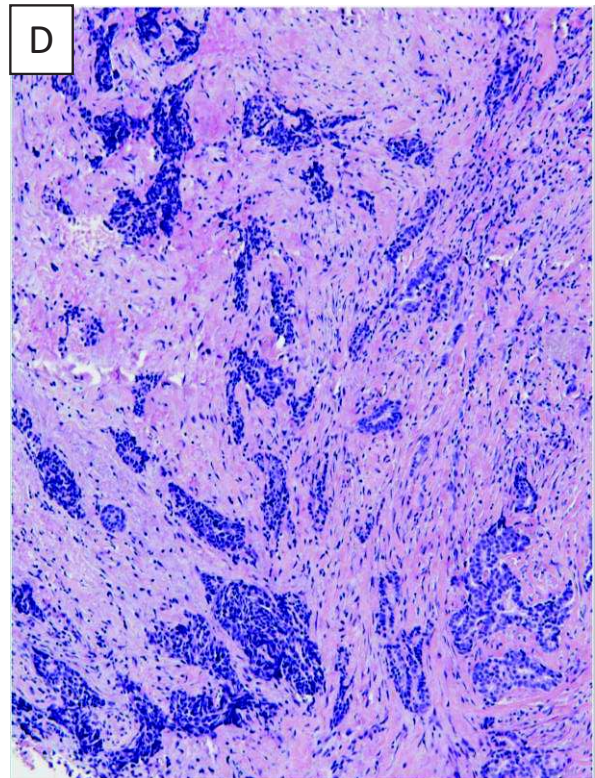
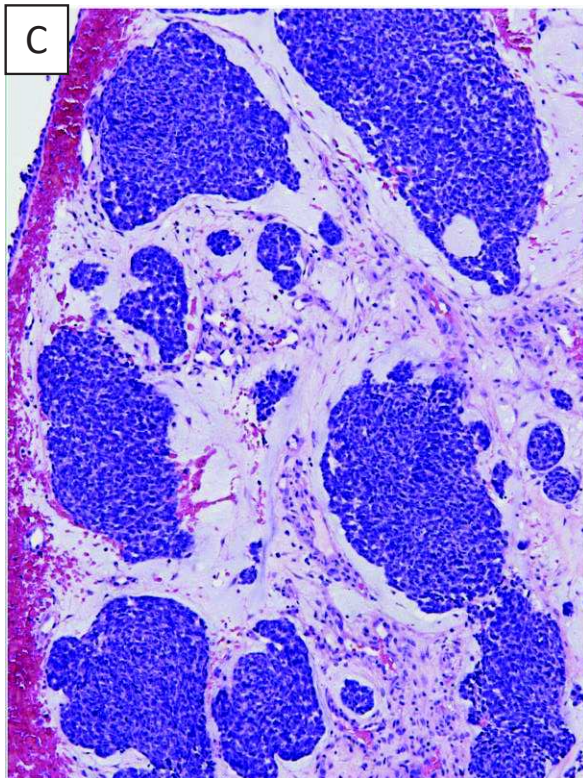
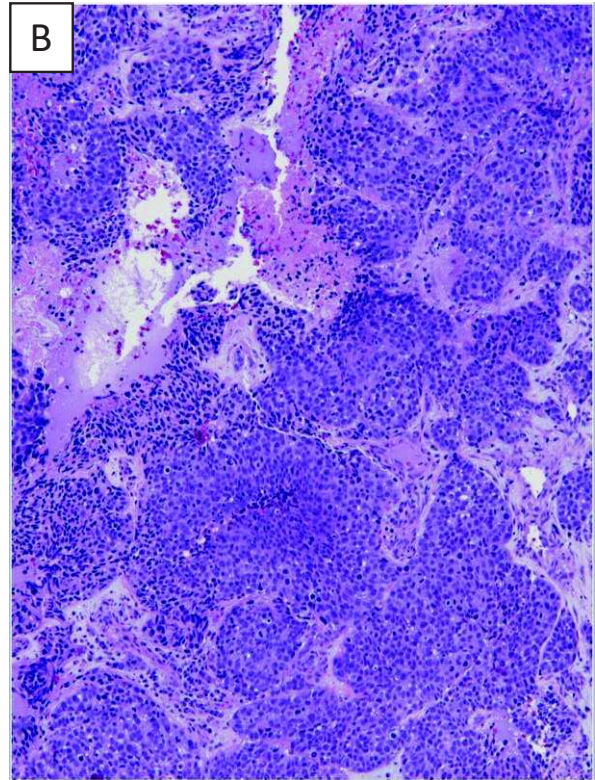
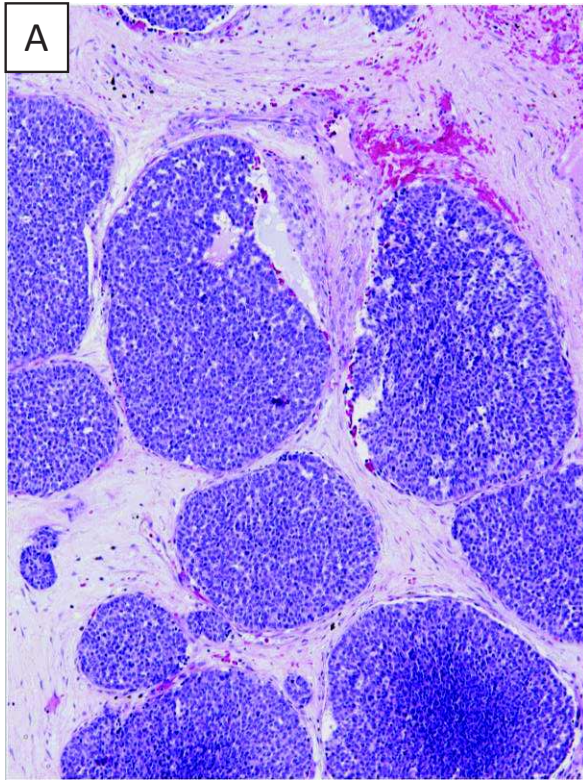


Photo 4. Les CAK de haut grade étaient caractérisés par une composante solide, bien délimitée (**A, Cas 54**) ou partiellement nécrotique et mal limitée (**B, Cas 47**) ou disposée dans un stroma fibro-myxoïde lâche (**C, Cas 43**). Une des tumeurs *MYBL1-NFIB* positive présentait un aspect très infiltrant, peu différencié, sous la forme de courtes travées de cellules basophiles (**D, Cas 62**).

IV. Carcinomes sécrétoires

Données générales

Les 36 carcinomes sécrétoires concernaient plus de femmes (61%) que d'hommes (39%). L'âge moyen était de 46.8 ans (13-82 ans). 5.5% des cas étaient pédiatriques (2/36). La localisation préférentielle était la glande parotide (n=24, 66.6%) suivie de la cavité buccale (n=8, 22.2%). La taille moyenne de la lésion au moment de l'exérèse était de 18.5 mm (8-37 mm).

Résultats moléculaires

Un transcrite de fusion a été mis en évidence dans l'ensemble des 36 cas. Ces transcrits étaient *ETV6-NTRK3* (33/36 - 91.6%) et *ETV6-RET* (3/36 - 8.4%) (Figure 19-A). Le diagnostic pré-moléculaire était concordant dans 86.1% des cas (31/36) (Table 8). Les 5 cas reclassés (13.9%) avaient été initialement diagnostiqués comme carcinome à cellules acineuses (3 cas), adénocarcinome SAI (1 cas) et cystadénome papillaire (1 cas). A noter que 2 des cas discordants avaient été diagnostiqués avant 2010, année de la première description de cette entité par Pre Aléna Skalova.

Histologie

A l'histologie, l'architecture était très variable d'un cas à l'autre avec souvent des patterns mixtes. L'architecture était le plus souvent papillaire kystique (50% des cas) puis cribriforme (30.5%), solide (14%) ou folliculaire (5.5%). Certains cas présentaient des signes d'agressivité activité mitotique augmentée ou engainements périnerveux. Deux cas d'architecture solide montraient des foyers de différenciation à cellules claires. Parmi les 3 SC avec transcrite de fusion *ETV6-RET*, 2 présentaient un stroma fibro-hyalin dense très prononcé. Cet aspect était également présent dans un cas avec transcrite *ETV6-NTRK3* (Photos 5 et 6).

No.	Age/Sexe	Site	Intervention	Taille	Diagnostic PM	LD-RT-PCR-NGS	Histologie
81	65/F	Cavité buccale (joue)	Biopsie	ND	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Cribriforme
82	72/F	Cavité buccale (lèvre)	Exérèse	10	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Solide, parfois cribriforme, mitoses
83	18/M	Glande parotide	Exérèse	20	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
84	36/F	Glande parotide	Exérèse	30	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique, parfois cribriforme
85	52/M	Glande parotide	Exérèse	30	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique, parfois cribriforme
86	27/F	Cavité buccale (lèvre)	Exérèse	20	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Solide, mitoses
87	42/M	Cavité buccale (joue)	Exérèse	19	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Solide
88	76/F	Glande parotide	Exérèse	19	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Cribriforme, mitoses
89	66/M	Glande parotide	Exérèse	18	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Folliculaire
90	13/M	Glande parotide	Exérèse	25	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
91	19/M	Glande parotide	Exérèse	37	CCAc1	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
92	38/M	Glande parotide	Exérèse	13	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique, cribriforme
93	62/M	Glande parotide	Exérèse	26	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Cribriforme
94	27/F	Cavité buccale (palais)	Exérèse	ND	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
95	46/M	Glande parotide	Exérèse	14	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Solide, cellules claires
96	63/F	Glande parotide	Exérèse	15	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Folliculaire
97	54/F	Cavité nasale	Exérèse	20	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Solide, cellules claires
98	61/F	Glande parotide	Exérèse	34	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Cribriforme
99	42/M	Glande parotide	Exérèse	16	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique, parfois cribriforme
100	50/F	Glande parotide	Exérèse	10	CCAc1*	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
101	55/F	Glande parotide	Exérèse	14	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
102	25/F	Glande parotide	Exérèse	ND	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Scléro-hyalin, parfois cribriforme, folliculaire
103	46/F	Cavité buccale (joue)	Exérèse	ND	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
104	34/M	Cavité buccale (lèvre)	Exérèse	8	Cystadénome papillaire*	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique, parfois cribriforme
105	73/M	Cavité buccale (lèvre)	Exérèse	8	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Cribriforme
106	56/F	Cavité nasale	Exérèse	20	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Cribriforme, parfois solide
107	70/F	Glande parotide	Exérèse	ND	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
108	33/M	Glande parotide	Exérèse	ND	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 15	Papillaire kystique
109	57/F	Glande parotide	Exérèse	20	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 14	Papillaire kystique
110	36/F	Glande parotide	Exérèse	17	CS	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 14	Cribriforme
111	56/M	Glande parotide	Exérèse	21	ADK SAI	<i>ETV6</i> exon 5 - <i>NTRK3</i> exon 14	Papillaire-kystique, parfois cribriforme,

cellules apocrines

112	51/F	Glande parotide	Exérèse	15	CCAc	ETV6 exon 5 - NTRK3 exon 14	Papillaire-kystique - solide
113	82/F	Sinus maxillaire	Exérèse	15	CS	ETV6 exon 4 - NTRK3 exon 14	Solide
114	22/F	Glande parotide	Exérèse	15	CS	ETV6 exon 6 - RET exon 12	Scléro-hyalin - Cribriforme – Engainement périnerveux
115	46/F	Glande parotide	Exérèse	15	CS	ETV6 exon 6 - RET exon 12	Papillaire kystique
116	14/F	Glande submandibulaire	Exérèse	11	CS	ETV6 exon 6 - RET exon 12	Scléro-hyalin - Cribriforme

Table 8. Résultats pour les 36 carcinomes sécrétoires.

*Primo-diagnostic réalisé avant 2010.

Diagnostic PM : Diagnostic pré-moléculaire.

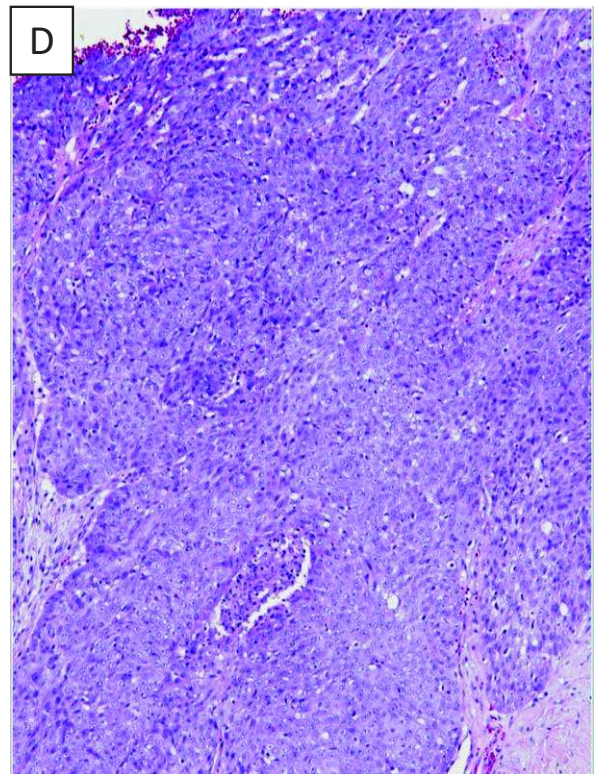
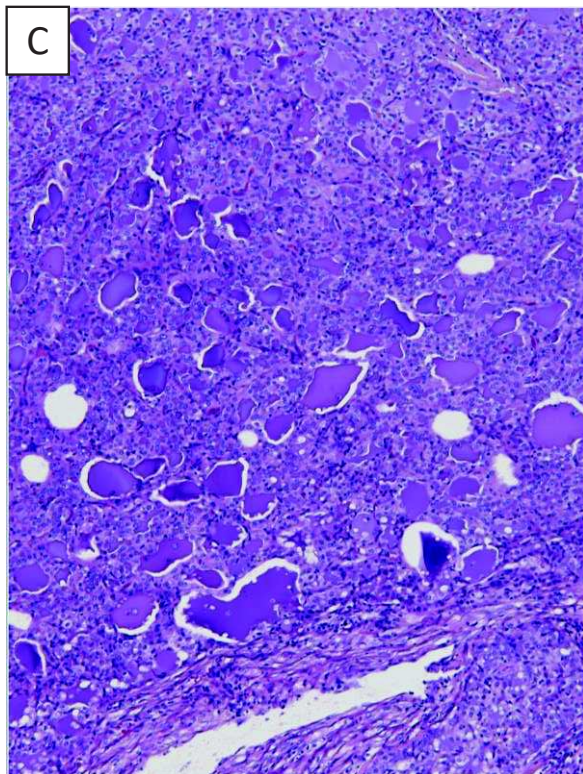
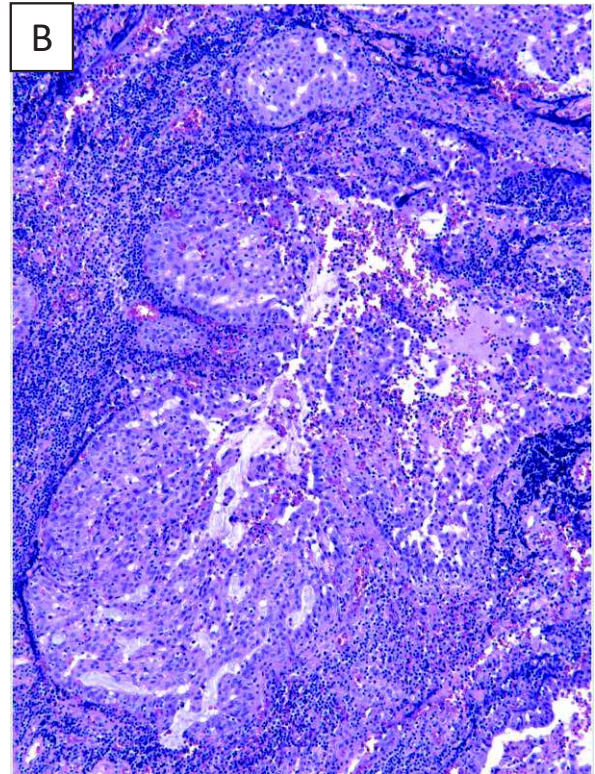
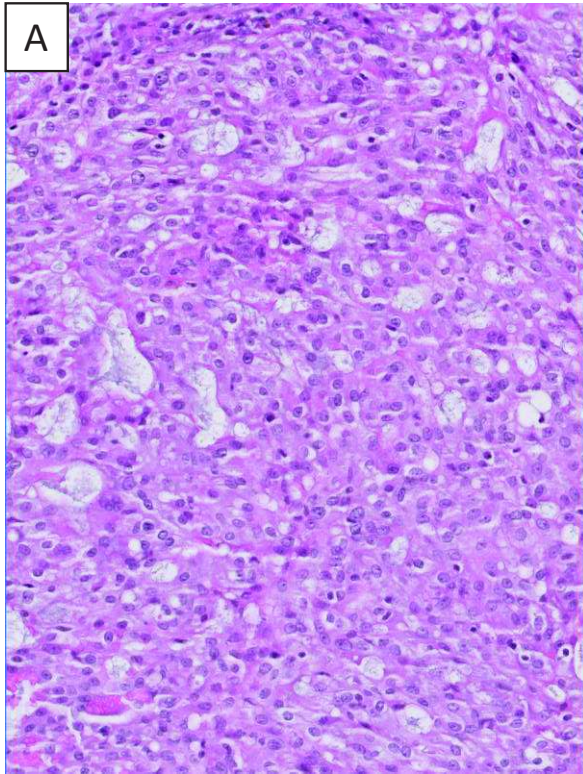


Photo 5. Les CS étaient composés de cellules aux cytoplasmes éosinophiles parfois vacuolisés, d'architecture cribriforme (**A, Cas 81**), papillaire-kystique (**B, Cas 85**), folliculaire-like (**C, Cas 89**) ou solide. Présence d'un nombre de figures mitotiques augmenté et d'atypies cytonucléaires (**D, Cas 86**).

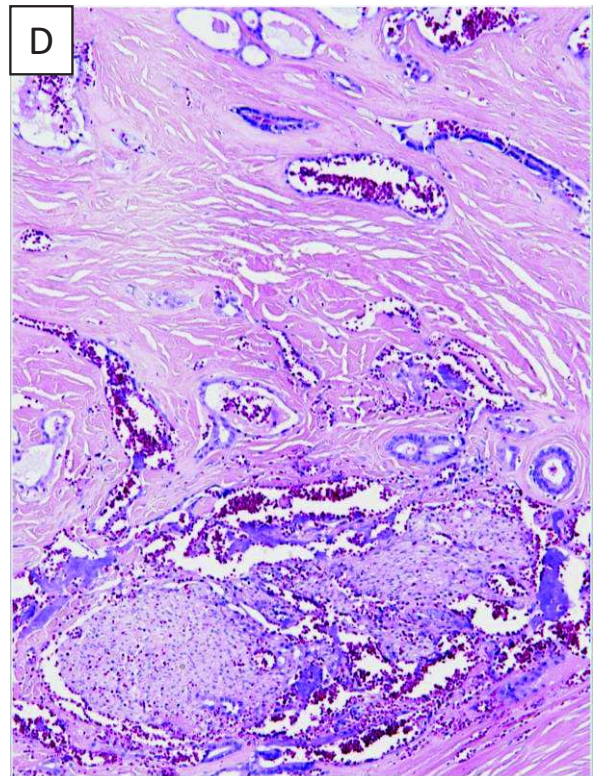
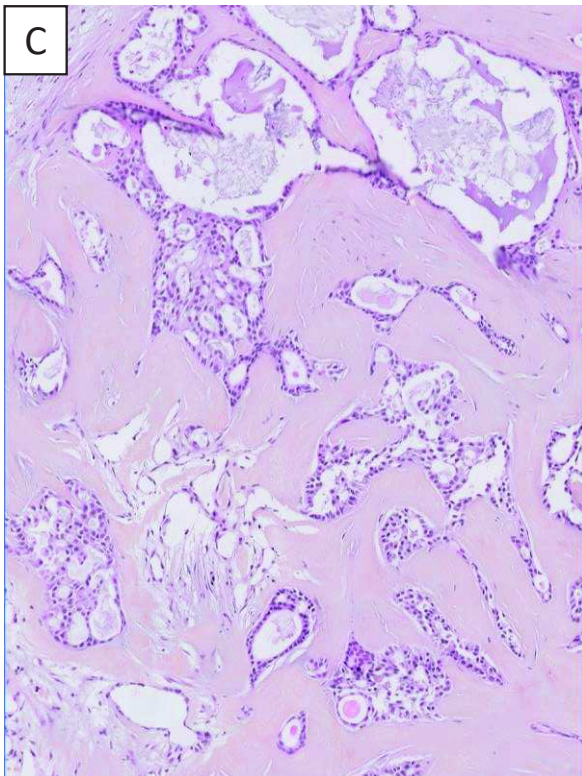
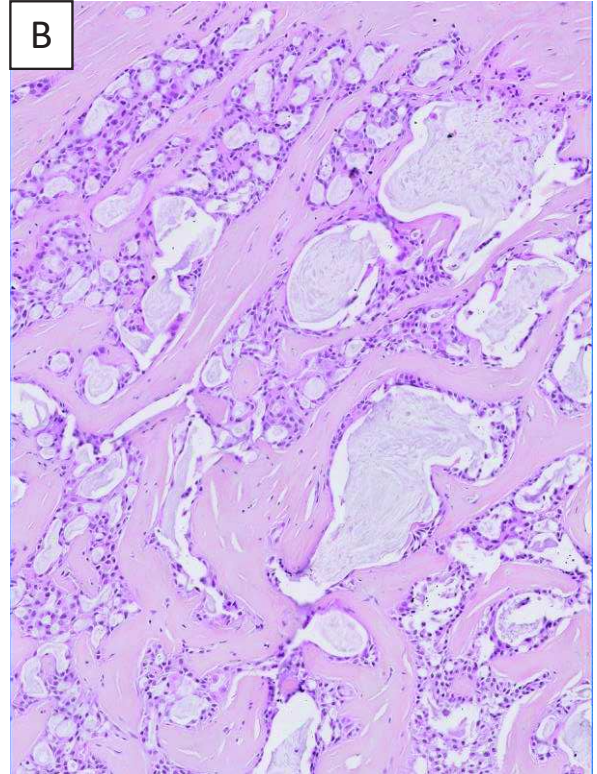
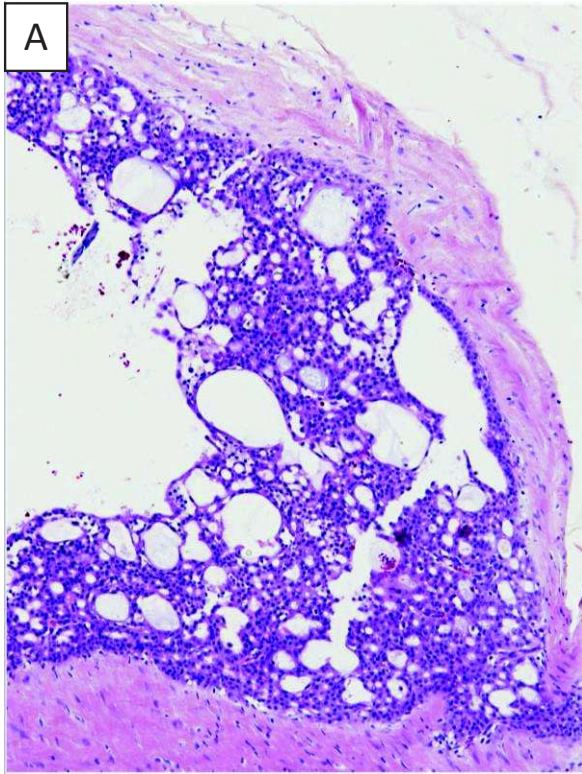


Photo 6. Un CS *ETV6-RET* positif présentait une architecture papillaire-kystique avec un stroma fibreux sans particularité (**A, Cas 115**). Les 2 autres CS *ETV6-RET* positifs présentait un stroma fibro-hyalin très dense. Le caractère infiltrant était prononcé et des images d'engainements périnerveux étaient visualisées dans l'un des cas (**B, C et D, Cas 114 et 116**).

V. Carcinomes intraductaux

Données générales

Les 10 carcinomes intraductaux concernaient plus les femmes (60%) que les hommes (40%). L'âge moyen était de 50 ans (28-68 ans). Aucun cas était pédiatrique. Toutes ces tumeurs étaient localisées au sein des glandes salivaires majeures, très majoritairement la parotide (n=8, 80%) et la glande submandibulaire (n=2, 20%). La taille moyenne des lésions au moment de l'exérèse était de 21.8 mm (8-33 mm).

Résultats moléculaires

Un transcrite de fusion a été mis en évidence dans l'ensemble des 10 cas : *NCOA4-RET* pour 9 IC (90%) et *EML4-ALK* pour un IC (10%) (Figure 19-A). Le diagnostic pré-moléculaire était concordant dans 50% des cas (5/10). Les 5 cas reclassés étaient initialement diagnostiqués comme carcinomes sécrétoires (4 cas) et adénocarcinome SAI (1 cas) (Table 9).

Histologie

A l'histologie, ces lésions présentaient toutes une cytologie peu atypique composée majoritairement de cellules éosinophiles, associées à des cellules claires, quelques cellules mucineuses, et dans un cas une composante à cellules apocrines.

L'architecture était essentiellement kystique avec projections papillaires, associée à quelques foyers cribriformes dans 50% des cas (5/10). La majorité des cas présentaient un stroma fibro-hyalin (8/10) et une sécrétion dans la moitié des cas (5/10).

Neuf CI étaient de sous-type intercalaire exclusif (90%) et un CI (Cas n°124) présentait également une composante apocrine (Photos 7 et 8).

L'unique cas présentant un transcrite *EML4-ALK* présentait une morphologie très particulière. Elle se caractérisait par une multitude de glandes et kystes bordés d'un revêtement épithélial monostratifié cylindrique aux noyaux de petite taille, ronds, situés au pôle luminal. Le kyste central était le siège d'une prolifération papillaire intraluminaire faite de papilles épaisses composées d'un axe fibro-hyalin dense sur lequel se disposaient de nombreux capillaires congestifs. Le revêtement épithélial des papilles était le même que celui du reste

des kystes. Les cellules tumorales exprimaient ALK1. Le diagnostic précis pourra être réévalué en comparaison à d'autres tumeurs présentant le même transcrit de fusion (Photo 9).

No.	Age/Sexe	Site	Intervention	Taille	Diagnostic PM	LD-RT-PCR-NGS	Histologie
117	28/F	Glande parotide	Exérèse	8	CS	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules éosinophiles, parfois claires – Papillaire avec sécrétion - Stroma fibro-hyalin
118	67/F	Glande parotide	Exérèse	25	CI	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules éosinophiles ou claires - Papillaire - Stroma fibro-hyalin
119	45/F	Glande parotide	Exérèse	33	CS	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules éosinophiles ou claires - Papillaire
120	68/F	Glande submandibulaire	Exérèse	25	CI	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules éosinophiles ou claires - Cribriforme et papillaire, avec sécrétion
121	58/M	Glande parotide	Exérèse	28	CI	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules éosinophiles ou claires, parfois mucineuses - Cribriforme ou papillaire, avec sécrétion - Stroma fibro-hyalin
122	36/M	Glande submandibulaire	Exérèse	17	CI	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules majoritairement éosinophiles - Papillaire - Stroma fibreux
123	63/F	Glande parotide	Exérèse	10	CS	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules majoritairement éosinophiles - Cribriforme - Stroma fibreux - Sécrétion
124	40/F	Glande parotide	Exérèse	30	CI	NCOA4 exon 7 - RET exon 12	Cellules majoritairement éosinophiles - Cribriforme ou solide, avec sécrétion - Stroma fibreux - sécrétion
125	48/M	Glande parotide	Exérèse	12	ADK SAI	NCOA4 exon 8 - RET exon 12	Cellules éosinophiles ou apocrines ou claires - Papillaire et cribriforme - Stroma fibrohyalin
126	47/M	Glande parotide	Exérèse	30	CS	EML4 exon 2 - ALK exon 20	Cellules éosinophiles – Papilles épaisses scléro-hyaline - Stroma scléro-hyalin

Table 9. Résultats pour les 10 carcinomes intraductaux.
Diagnostic PM : Diagnostic pré-moléculaire.

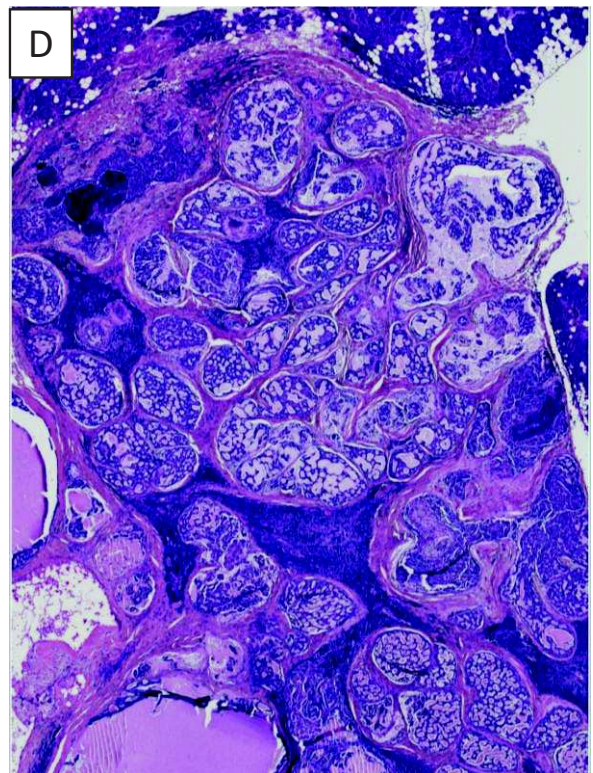
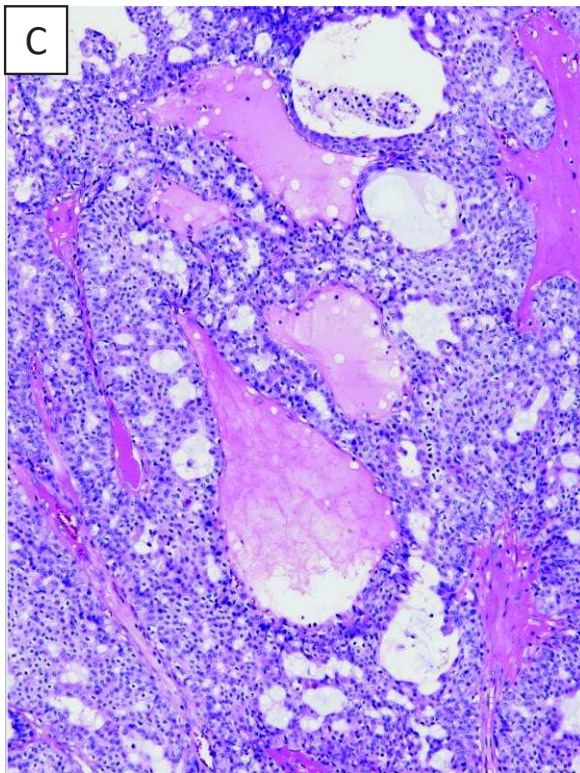
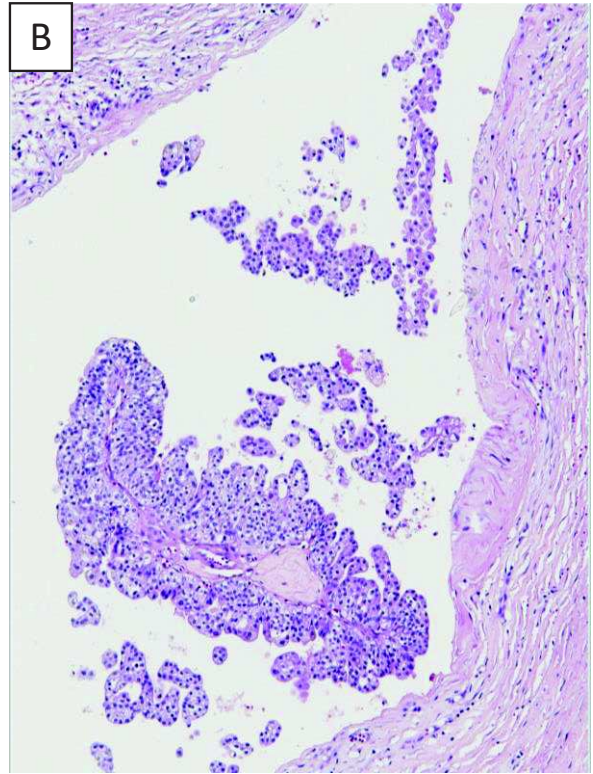
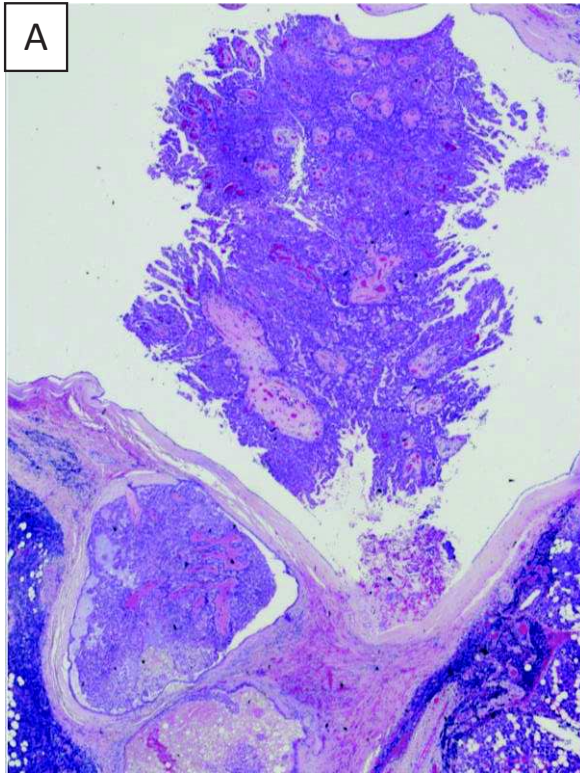


Photo 7. Les CI étaient caractérisés par une prolifération intracanaléculaire ou intrakystique (**A, Cas 117**). Les cellules de type intercalaire s'agencent en papilles (**B, Cas 119**) ou massifs cribriformes, parfois associés à des sécrétions mucoïdes ou hyalines (**C, Cas 120**). La disposition des structures papillaires-kystiques et la présence d'un matériel sécrétoire hyalin fait penser à un CAK (**D, Cas 123**).

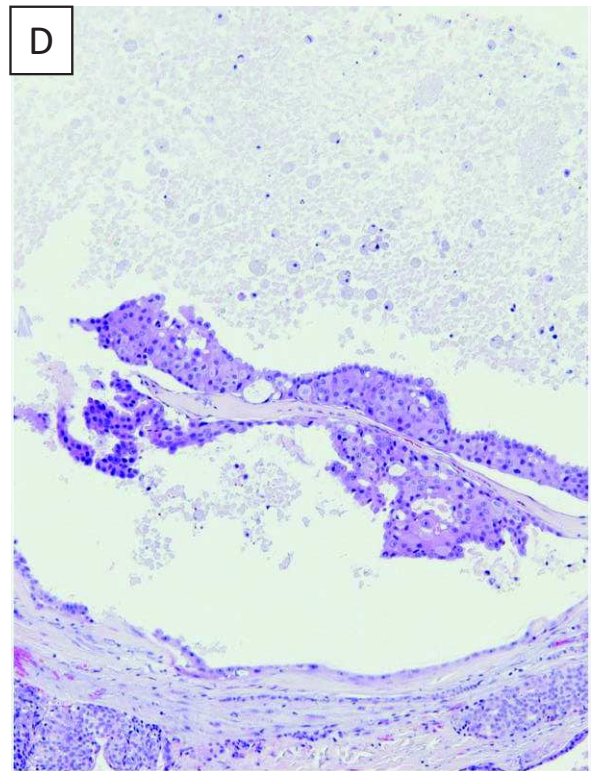
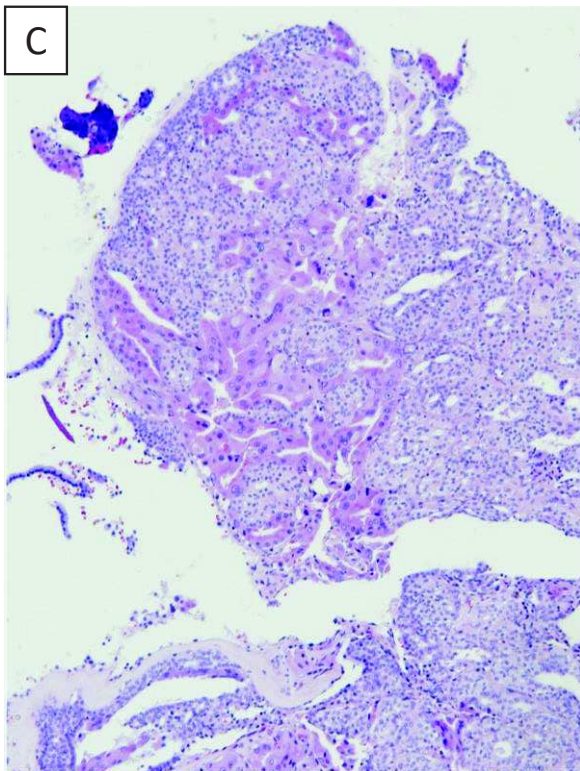
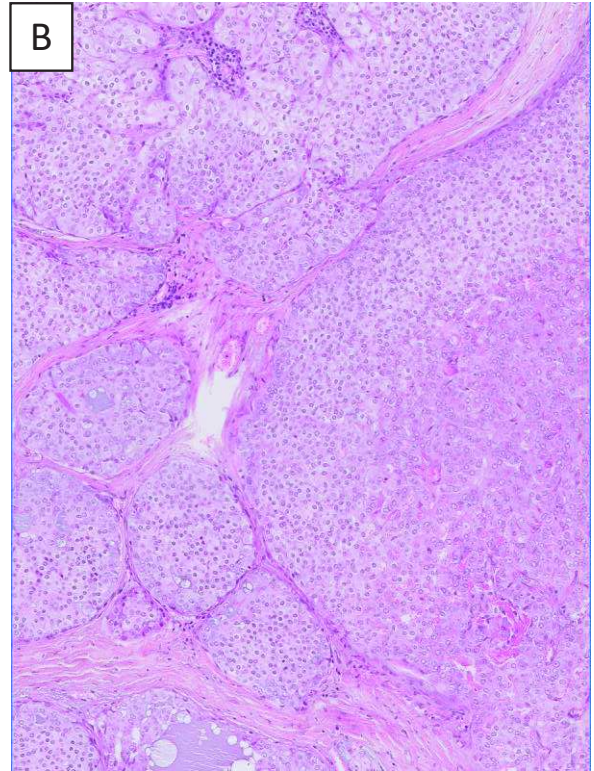
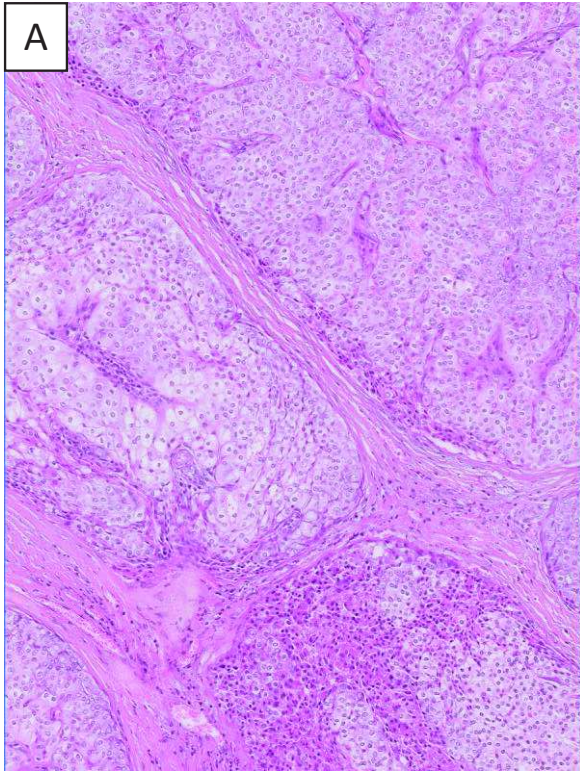


Photo 8. Parfois, l'architecture était cribriforme, comparable à une lésion canalaire in situ du sein (**A et B, Cas 124**). Un CI de type mixte avec quelques foyers apocrines (**C et D, Cas 125**).

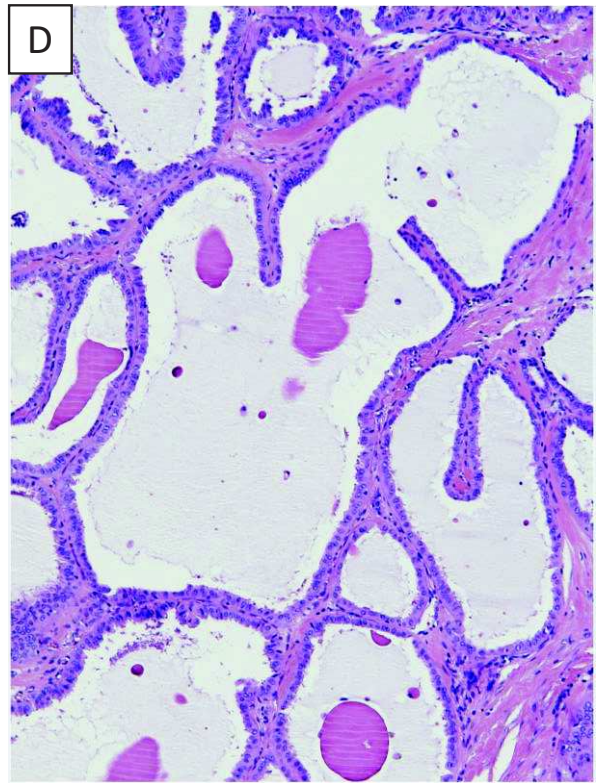
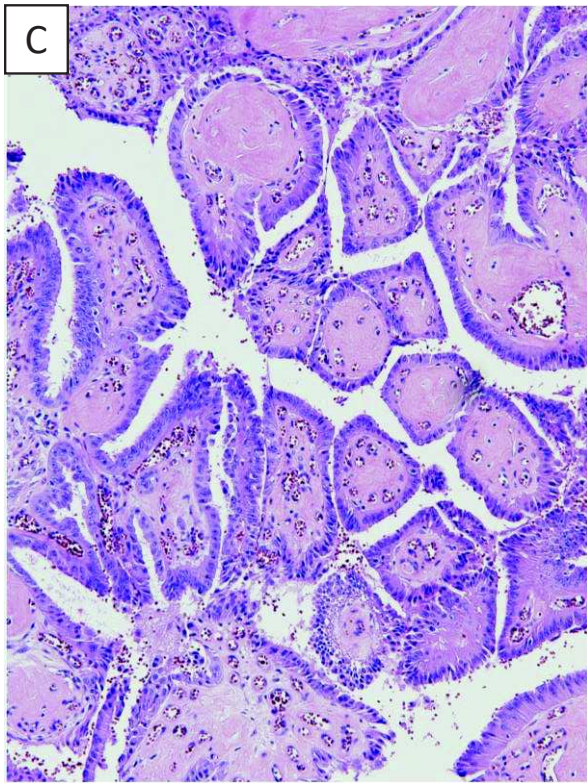
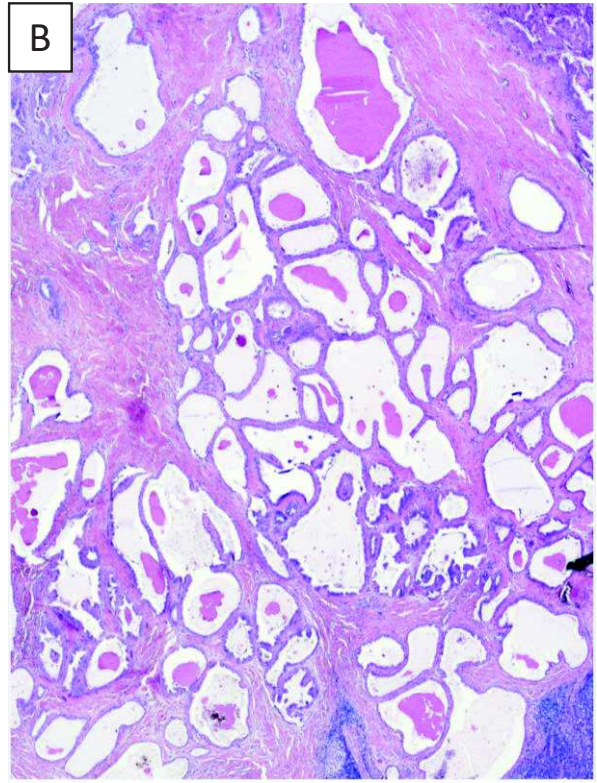
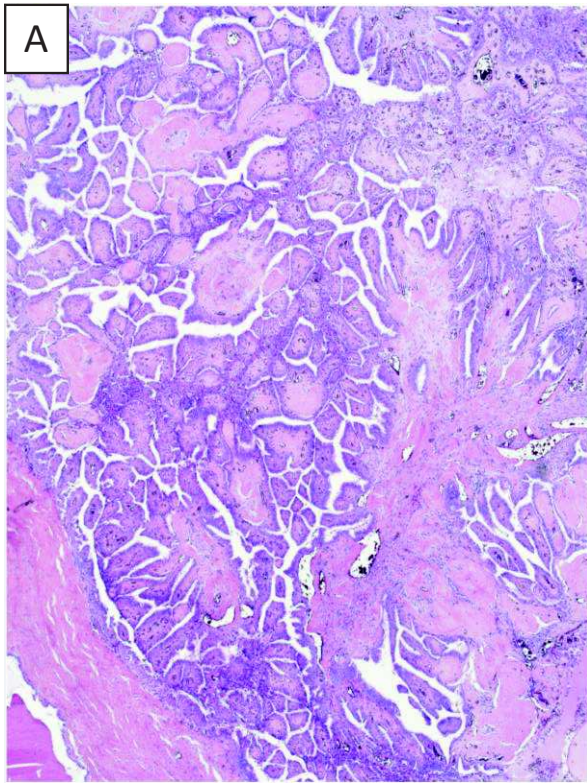


Photo 9. Le CI *EML4/ALK* positif de morphologie particulière (Cas 126).

VI. Carcinomes à cellules claires hyalinisants

Données générales

Les 22 carcinomes à cellules claires hyalinisants intéressaient très largement les femmes (81.8%) et quelques hommes (18.2%). L'âge moyen était de 56.5 ans (26-89 ans). Aucun cas n'était pédiatrique. Parmi les 21 localisations communiquées, la localisation préférentielle était la cavité buccale/oropharynx (n=13, 59.1%) puis le rhinopharynx (n=3), la glande parotide (n=3), la glande sous maxillaire (n=1) et le sinus maxillaire (n=1). La taille moyenne des lésions au moment de l'exérèse était de 25.2 mm (9-50 mm).

Résultats moléculaires

Un transcrite de fusion a été mis en évidence dans 16 cas (72.7%) : *EWSR1-ATF1* dans 10 cas (62.5%), *EWSR1-CREM* dans 4 cas (25%) et 2 nouveaux transcrits distincts pour 2 cas (en cours d'étude pour publication) (Figure 19-B). Le diagnostic pré-moléculaire était discordant dans seulement 1 cas parmi les 14 présentant un transcrite connu (diagnostic initial d'adénome à cellules basales ou adénome pléomorphe) (Table 10).

Histologie

Les CCCH présentaient des composantes à cellules claires et/ou à cellules éosinophiles variables d'un cas à l'autre. Ces cellules infiltraient le parenchyme sous différentes architectures, souvent mixtes : plages, amas solides, amas cribriformes, nids, travées ou tubules. L'ensemble des cas montraient un stroma fibro-hyalin, parfois associé à des territoires myxoïdes (3 cas dont 2 présentant un transcrite).

Il ne semblait pas y avoir de différence morphologique notable entre les cas présentant un transcrite et les cas négatifs. Dans 4 cas, des signes d'agressivités étaient présents : engainements périnerveux (2 cas), nécrose (3 cas), métastase ganglionnaire (1 cas) ou atypies cytonucléaires marquées (1 cas), retrouvés autant parmi les cas sans transcrite que parmi les cas avec transcrite (Photos 10 et 11).

No.	Age/Sexe	Site	Intervention	Taille	Diagnostic PM	LD-RT-PCR-NGS	Histologie
127	53/F	Glande submandibulaire	Exérèse	40	CCCH	EWSR1 exon 15 - ATF1 exon 5	Cellules claires ou éosinophiles - Envahissement périnerveux/ganglionnaire et nécrose - Stroma fibro-hyalin
128	42/M	Cavité buccale	NC	NC	CCCH	EWSR1 exon 13 - ATF1 exon 5	Cellules éosinophiles ou claires - Plages et travées – Stroma fibro-hyalin
129	89/F	Cavité buccale (palais)	Exérèse	18	CCCH	EWSR1 exon 13 - ATF1 exon 5	Cellules Eosinophiles ou claires – Stroma myxoïde ou hyalin
130	56/F	NC	Biopsie	ND	CCCH	EWSR1 exon 11 - ATF1 exon 3	Cellules éosinophiles - Trabéculaire – Stroma fibro-hyalin
131	49/F	Cavité buccale (palais)	Exérèse	9	CCCH	EWSR1 exon 11 - ATF1 exon 3	Cellules claires – Stroma fibro-hyalin
132	26/M	Rhinopharynx	Exérèse	30	CCCH	EWSR1 exon 11 - ATF1 exon 3	Cellules éosinophiles - Stroma myxoïde ou hyalin
133	58/F	Rhinopharynx	Biopsie	ND	ACB/AP	EWSR1 exon 11 - ATF1 exon 3	Cellules éosinophiles - Trabéculaire – Stroma fibro-hyalin
134	49/F	Cavité buccale	Exérèse	15	CCCH	EWSR1 exon 10 - ATF1 exon 5	Cellules claires ou éosinophiles – Stroma fibro-hyalin
135	47/F	Rhinopharynx	Exérèse	40	CCCH	EWSR1 exon 10 - ATF1 exon 5	Cellules éosinophiles ou claires – Stroma fibro-hyalin
136	78/F	Cavité buccale	Exérèse	20	CCCH	EWSR1 exon 8 - ATF1 exon 3	Cellules éosinophiles ou claires - Trabéculaire – Stroma hyalin
137	52/F	Cavité buccale (palais)	Exérèse	13	CCCH	EWSR1 exon 13 - CREM exon 4	Cellules claires - Stroma fibro-hyalin
138	61/F	Oropharynx	Exérèse	30	CCCH	EWSR1 exon 12 - CREM exon 5	Cellules éosinophiles – Nids – Stroma fibreux
139	51/F	Cavité buccale (lèvre)	Exérèse	10	CCCH	EWSR1 exon 10 - CREM exon 5	Cellules éosinophiles ou claires - Massif avec nécrose - Stroma fibro-hyalin
140	55/F	Cavité buccale (joue)	Biopsie	ND	CCCH	EWSR1 exon10 - CREM exon 5	Cellules éosinophiles ou claires - Trabéculaire – stroma fibro-hyalin
141	61/F	Cavité buccale (lèvre)	Exérèse	25	CCCH	Nouveau transcrit 1	Cellules claires ou éosinophiles – Nappes – Stroma fibro-hyalin et myxoïde
142	51/M	Glande parotide	Exérèse	15	CCCH	Nouveau transcrit 2	Cellules claires ou éosinophiles - Cribriforme – Stroma fibro-hyalin
143	45/F	Cavité buccale (palais)	Exérèse	33	CCCH	Négatif	Cellules claires - Trabéculaire ou massif - Engainement périnerveux - Stroma fibro- hyalin
144	86/F	Glande parotide	Exérèse	50	CCCH	Négatif	Cellules claires atypiques avec mitoses - nappes et travées avec nécrose – Stroma fibro-hyalin
145	59/F	Cavité buccale	Exérèse	ND	CCCH	Négatif	Cellules claires – Massif ou nids – Stroma scléro-hyalin
146	71/M	Sinus maxillaire	Biopsie	ND	CCCH	Négatif	Cellules éosinophiles - Trabéculaire – Stroma fibro-hyalin
147	64/F	Glande parotide	Exérèse	15	CCCH	Négatif	Cellules claires avec mitoses – Tubulaire - Stroma scléro-hyalin
148	39/F	Oropharynx	Exérèse	40	CCCH	Négatif	Cellules éosinophiles - Trabéculaire et massif – Stroma fibro-hyalin

Table 10. Résultats pour les 22 carcinomes à cellules claires hyalinisants.
Diagnostic PM : Diagnostic pré-moléculaire.

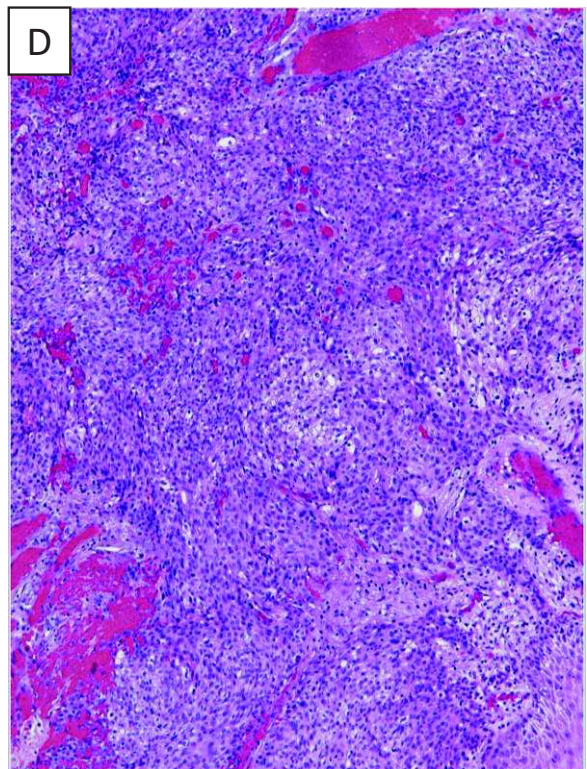
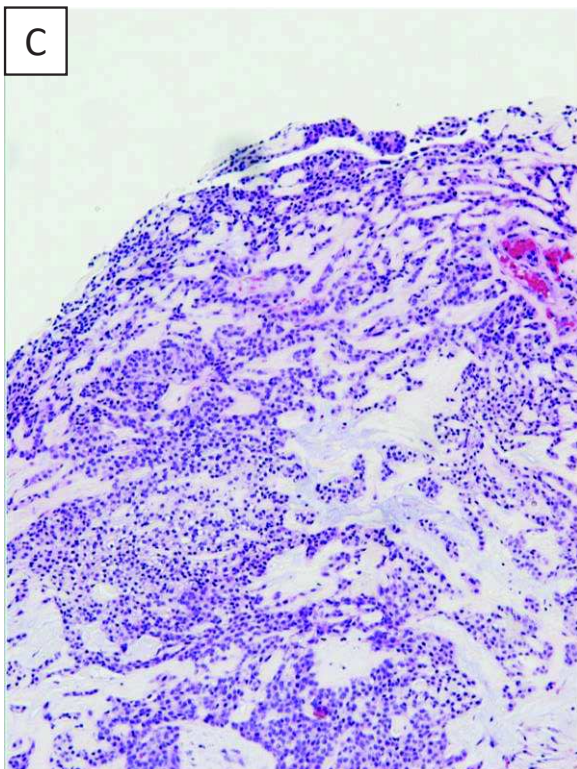
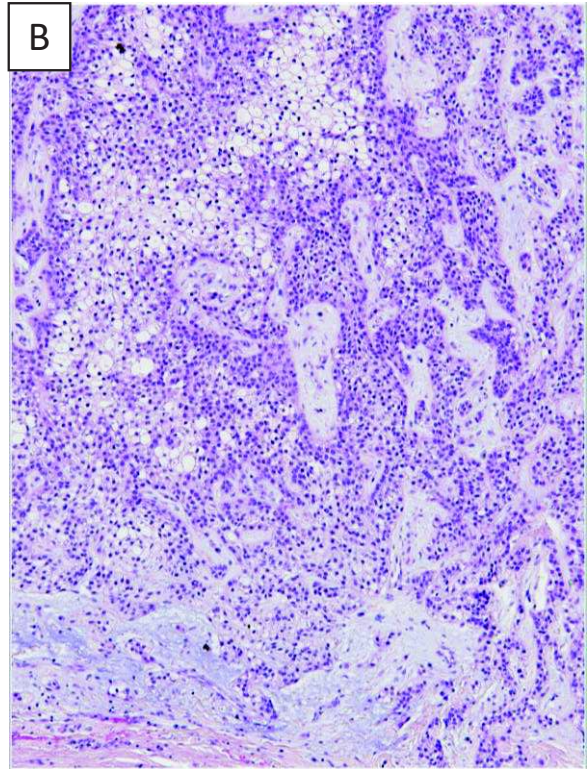
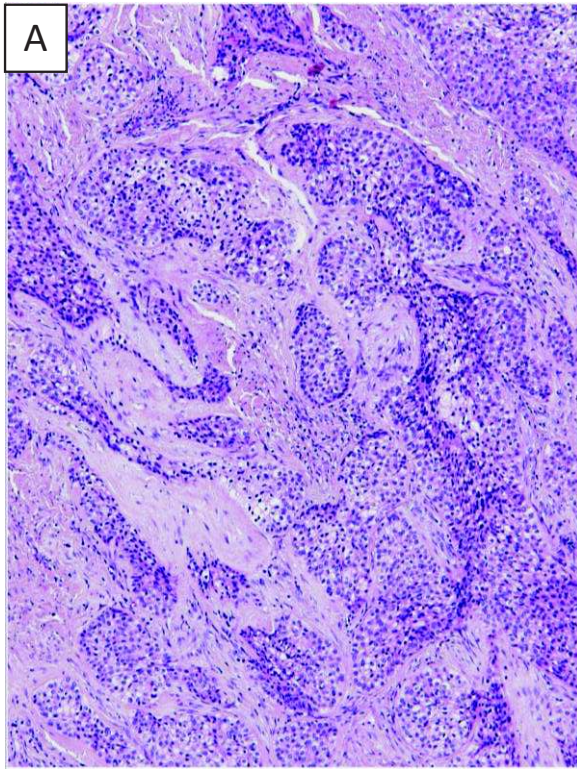


Photo 10. Les CCCH ne présentait pas de différence morphologique entre les transcrits de fusion positifs ou négatifs. Les CCCH *EWSR1-ATF1* positifs montraient des stromas variés pouvant être fibreux (**A, Cas 135**), myxoïde (**B, Cas 129**) ou hyalin (**C, Cas 133**). Certains territoires étaient riches en cellules éosinophiles rendant le diagnostic plus difficile (**D, Cas 134**).

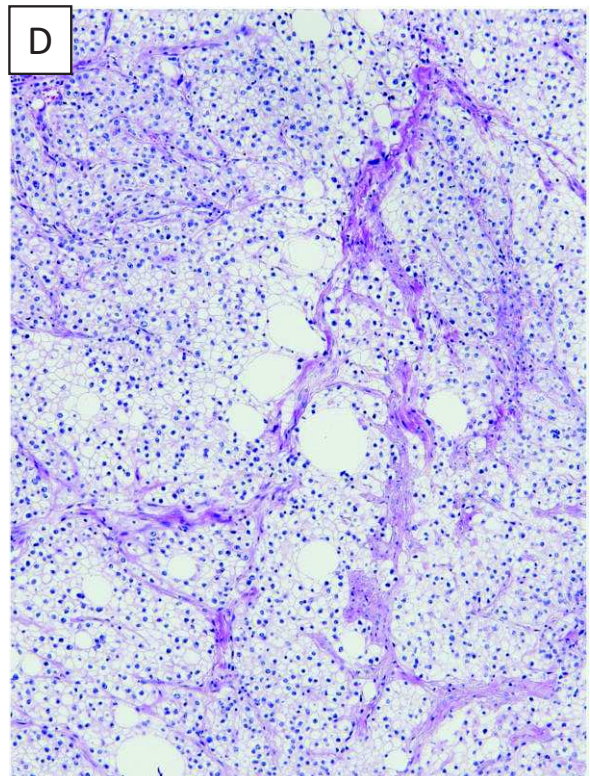
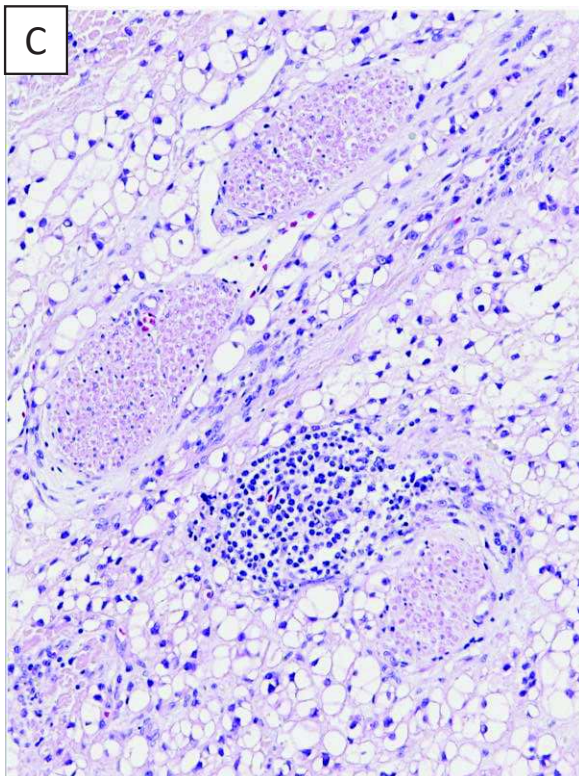
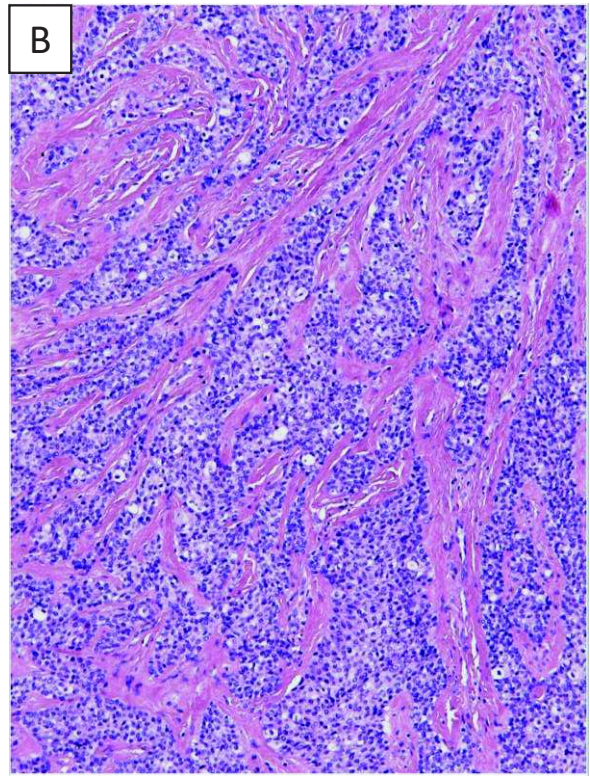
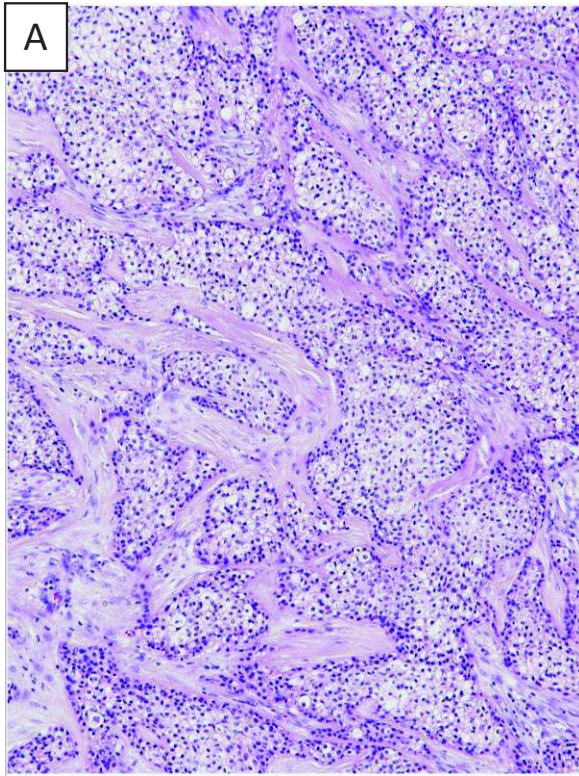


Photo 11. Les CCCH *EWSR1-CREM* positifs étaient également composés de massifs et travées de cellules claires et éosinophiles disposés dans un stroma pouvant être fibreux (**A, Cas 140**) ou fibro-hyalin (**B, Cas 137**). Des signes d'agressivité ont été visualisés dans des cas positifs ou négatifs comme des engainements périnerveux (**C, Cas 143**) ou un nombre de figures mitotiques augmenté et des atypies cytonucléaires (**D, Cas 144**).

VII. Carcinomes odontogènes à cellules claires

Données générales

Les 6 carcinomes odontogènes à cellules claires intéressaient 4 hommes et 2 femmes. L'âge moyen était de 44 ans (14-62 ans, un cas pédiatrique). La localisation était la mâchoire/os maxillaire. La taille moyenne des lésions était de 17 mm (9-30 mm).

Résultats moléculaires

Un transcrit de fusion a été mis en évidence dans la moitié des cas (3/6). *EWSR1* était à chaque fois concerné, en partenariat avec *ATF1* (2 cas) ou *CREB1* (1 cas) (Figure 19-B). Le diagnostic pré-moléculaire était concordant pour tous les cas (Table 11).

Histologie

Les COCC présentaient des cellules éosinophiles et/ou claires organisées en travées, tubules ou nids. Le stroma était toujours fibro-hyalin. Un cas présentait des atypies cytonucléaires. Il n'a pas été constaté de différence morphologique entre les cas positifs et les cas négatifs. (Photo 12).

No.	Age/Sexe	Site	Intervention	Taille	Diagnostic PM	LD-RT-PCR-NGS	Histologie
149	52/M	Mâchoire	Exérèse	15	CCOC	<i>EWSR1</i> exon 7 - <i>ATF1</i> exon 5	Cellules éosinophiles - Trabéculaire - Stroma hyalin
150	41/M	Mâchoire	Biopsie	ND	CCOC	<i>EWSR1</i> exon 11 - <i>ATF1</i> exon 3	Cellules éosinophile - Trabéculaire et tubulaire - Stroma fibro-hyalin
151	42/F	Mâchoire	Exérèse	ND	CCOC	<i>EWSR1</i> exon 7 - <i>CREB1</i> exon 7	Cellules éosinophiles – Stroma fibro-hyalin
152	62/M	Mâchoire	Exérèse	14	CCOC	Négatif	Cellules éosinophiles ou claires avec atypies - Trabéculaire - Stroma fibro-hyalin
153	14/F	Os maxillaire	Exérèse	9	CCOC	Négatif	Cellules claires - Stroma fibro-hyalin
154	33/M	Mâchoire	Exérèse	30	CCOC	Négatif	Cellules claires ou éosinophiles - Trabéculaire – Stroma fibro-hyalin

Table 11. Résultats pour les 6 carcinomes odontogènes à cellules claires.
Diagnostic PM : Diagnostic pré-moléculaire.

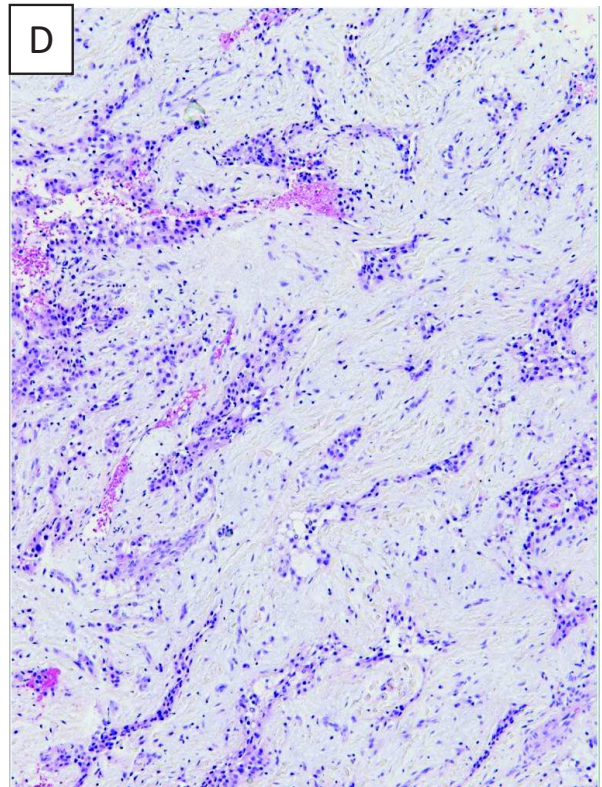
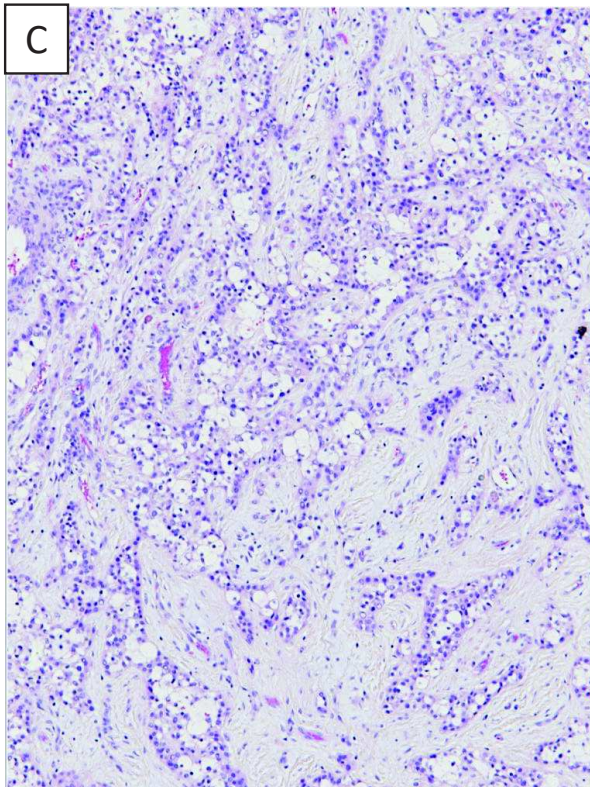
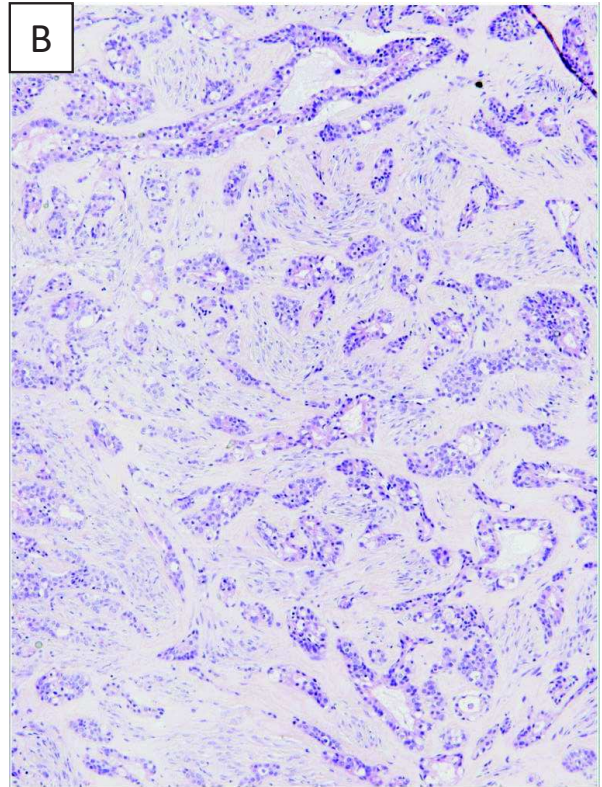
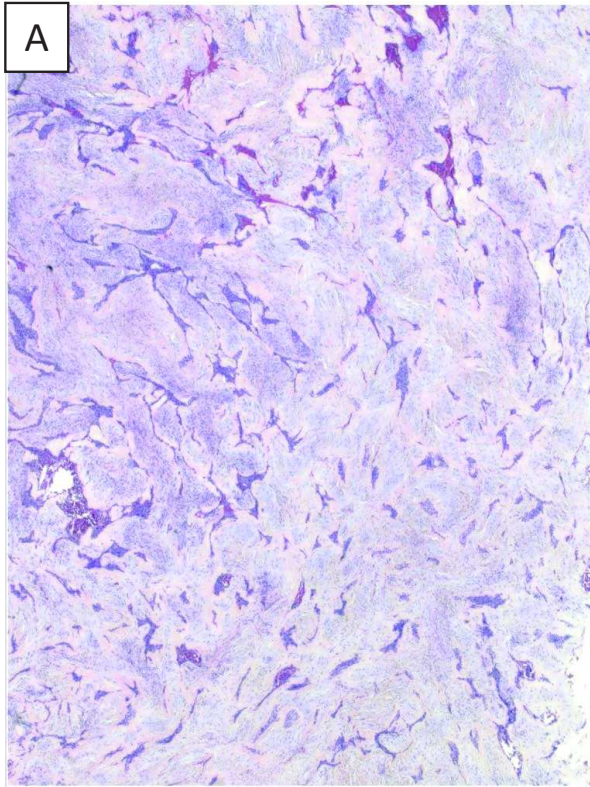


Photo 12. Les COCC présentant un transcrite de fusion *EWSR1-ATF1* (A et B, Cas 149 et 150) ou *EWSR1-CREB1* (C et D, Cas 151) ne présentait pas de différence morphologique hormis la présence d'un épais manchon hyalin autour des massifs tumoraux retrouvés sur les cas *EWSR1-ATF1* positifs.

VIII. Adénomes pléomorphes et carcinome ex-adénome pléomorphe

Données générales

Les 50 adénomes pléomorphes/carcinome ex-adénome pléomorphe affectaient 34 femmes (68%) pour 16 hommes (32%). L'âge moyen au diagnostic était de 54.5 ans (20-80 ans). Aucun cas n'était pédiatrique. La localisation préférentielle était la glande parotide (n=44, 88%), la glande submandibulaire (n=3, 6%) et la cavité buccale (n=3, 6%). La taille moyenne des lésions était de 26.15 mm (11-75 mm).

Résultats moléculaires

Un transcrite de fusion a été mis en évidence dans 21 cas (42%) : 14 *HMGA2-WIF1* (28%), 6 *CTNNB1-PLAG1* (12%) et 1 *HMGA2-NFIB* (2%) (Figure 19-B). Le diagnostic pré-moléculaire a permis de préciser le diagnostic de l'unique lésion maligne, initialement diagnostiquée adénocarcinome SAI, en carcinome ex-adénome pléomorphe (Table 12).

Histologie

Les AP de cette série étaient bien circonscrits, délimités par une capsule fibreuse plus ou moins épaisse, et présentaient les trois composantes caractéristiques de cette entité, à savoir : une composante épithéliale de type canalaire et une composante de type basale disposées sur un stroma myxoïde le plus souvent, parfois chondro-myxoïde.

L'architecture majoritaire était trabéculaire (ou canaliculaire) dans 29 cas et classique (brin, tubulaire, solide) dans 21 cas dont un cas d'architecture solide présentant des foyers de kératinisation. Les AP que nous avons analysés étaient cependant enrichis en sous-type trabéculaire puisqu'ils avaient été transmis pour recherche de transcrite plus souvent décrit comme associés à ce type architectural (*HMGA2-WIF1*) (95).

Parmi les 29 AP d'architecture trabéculaire (ou canaliculaire), 10 présentaient un transcrite *HMGA2-WIF1*, 1 un transcrite *HMGA2-NFIB*, 2 un transcrite *CTNNB1-PLAG1* et 16 ne présentaient pas de transcrite. Parmi les 21 AP d'architecture classique, 4 présentaient un transcrite *HMGA2-WIF1*, 4 un transcrite *CTNNB1-PLAG1* et 13 ne présentaient pas de transcrite (Table 12) (Photos 13, 14, 15, 16 et 17).

Transcrit de fusion	Architecture		Total
	Trabéculaire	Classique	
<i>HMGA2-WIF1/NFIB</i>	11 (38%)	4 (19%)	15 (30%)
<i>CTNNB1-PLAG1</i>	2 (7%)	4 (19%)	6 (12%)
Négatif	16 (55%)	13 (62%)	29 (58%)
Total	29	21	50

Table 12. Distribution des AP (et CxAP) selon leur architecture et leur profil moléculaire. Pourcentage sur le total des colonnes.

Les AP *CTNNB1-PLAG1* positif ne montraient pas de caractéristique histologique permettant de les démarquer. Néanmoins, l'unique AP de notre série présentant une transformation (partielle) en carcinome ex-adénome pléomorphe présentait un transcrit *CTNNB1-PLAG1* (Table 13).

No.	Age/Sexe	Site	Intervention	Taille	Diagnostic PM	LD-RT-PCR-NGS	Histologie
155	32/F	Glande parotide	Exérèse	28	AP	HMGA2 exon 4 - NFIB exon 11	Trabéculaire
156	25/M	Glande parotide	Exérèse	25	AP	HMGA2 exon 4 - WIF1 exon 10	Classique (Brin)
157	56/M	Glande parotide	Exérèse	25	AP	HMGA2 exon 4 - WIF1 exon 10	Classique (Brin)
158	44/M	Glande parotide	Exérèse	15	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
159	28/F	Glande parotide	Exérèse	14	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Classique (Brin)
160	79/F	Glande parotide	Exérèse	75	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Classique (Brin)
161	70/M	Glande parotide	Exérèse	28	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
162	68/F	Glande parotide	Exérèse	ND	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
163	61/F	Glande parotide	Exérèse	19	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
164	41/M	Glande parotide	Exérèse	ND	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
165	73/M	Glande parotide	Exérèse	23	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
166	64/M	Glande parotide	Exérèse	17	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
167	47/M	Glande parotide	Exérèse	22	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 10	Trabéculaire
168	72/M	Glande parotide	Exérèse	18	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 9	Trabéculaire
169	53/M	Glande parotide	Exérèse	15	AP	HMGA2 exon 3 - WIF1 exon 3	Trabéculaire
170	80/M	Glande parotide	Exérèse	16	AP	CTNNB1 exon 1 - PLAG1 exon 3	Classique (Solide)
171	54/F	Glande submandibulaire	Exérèse	ND	AP	CTNNB1 exon 1 - PLAG1 exon 3	Classique (Solide kératinisant)
172	72/F	Glande parotide	Exérèse	30	ADK SAI	CTNNB1 exon 1 - PLAG1 exon 3	Trabéculaire avec focalement carcinome ex-adénome pléomorphe
173	55/M	Glande submandibulaire	Exérèse	25	AP	CTNNB1 exon 1 - PLAG1 exon 3	Classique (Tubulaire)
174	55/F	Glande parotide	Exérèse	22	AP	CTNNB1 exon 1 - PLAG1 exon 2	Classique (Tubulaire)
175	53/M	Glande parotide	Exérèse	47	AP	CTNNB1 exon 1 - PLAG1 exon 3	Trabéculaire
176	58/F	Glande parotide	Exérèse	11	AP	Négatif	Classique (Tubulaire et solide)
177	71/F	Glande parotide	Exérèse	18	AP	Négatif	Trabéculaire
178	57/F	Glande parotide	Exérèse	27	AP	Négatif	Trabéculaire
179	79/F	Glande parotide	Exérèse	30	AP	Négatif	Trabéculaire
180	53/F	Glande parotide	Exérèse	15	AP	Négatif	Trabéculaire
181	55/F	Glande parotide	Exérèse	15	AP	Négatif	Classique (Tubulaire et brin)
182	59/F	Cavité buccale	Biopsie	ND	AP	Négatif	Trabéculaire
183	36/F	Glande parotide	Exérèse	22	AP	Négatif	Trabéculaire
184	30/F	Glande parotide	Exérèse	29	AP	Négatif	Classique (Brin)
185	63/F	Glande parotide	Exérèse	80	AP	Négatif	Classique (Brin)

186	58/F	Glande submandibulaire	Exérèse	ND	AP	Négatif	Classique (Tubulaire)
187	60/F	Glande parotide	Exérèse	30	AP	Négatif	Trabéculaire
188	67/F	Glande parotide	Exérèse	12	AP	Négatif	Trabéculaire
189	61/F	Glande parotide	Exérèse	40	AP	Négatif	Classique (Solide et brin)
190	37/F	Glande parotide	Exérèse	ND	AP	Négatif	Classique (Solide)
191	54/F	Glande parotide	Exérèse	25	AP	Négatif	Classique (Tubulaire)
192	60/F	Glande parotide	Exérèse	45	AP	Négatif	Classique (Brin et tubulaire)
193	38/F	Glande parotide	Exérèse	40	AP	Négatif	Classique (Brin)
194	27/F	Glande parotide	Exérèse	30	AP	Négatif	Classique (Tubulaire et Brin)
195	71/F	Glande parotide	Biopsie	ND	AP	Négatif	Trabéculaire
196	58/F	Glande parotide	Exérèse	20	AP	Négatif	Trabéculaire
197	20/F	Glande parotide	Exérèse	ND	AP	Négatif	Trabéculaire
198	73/F	Glande parotide	Exérèse	ND	AP	Négatif	Trabéculaire
199	58/M	Glande parotide	Exérèse	20	AP	Négatif	Trabéculaire
200	63/M	Cavité buccale (palais)	Biopsie	ND	AP	Négatif	Trabéculaire
201	46/F	Glande parotide	Exérèse	12	AP	Négatif	Trabéculaire
202	30/M	Cavité buccale (lèvre)	Exérèse	11	AP	Négatif	Trabéculaire
203	69/F	Glande parotide	Exérèse	20	AP	Négatif	Classique (Solide)
204	32/F	Glande parotide	Exérèse	30	AP	Négatif	Classique (Solide et tubulaire)

Table 13. Résultats pour les 50 adénomes pléomorphes/carcinome ex-adénome pléomorphe.

Diagnostic PM : Diagnostic pré-moléculaire.

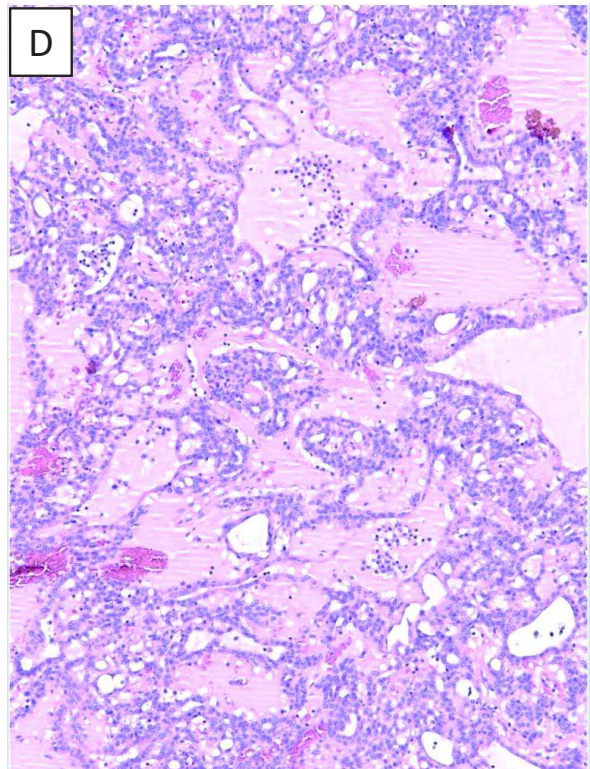
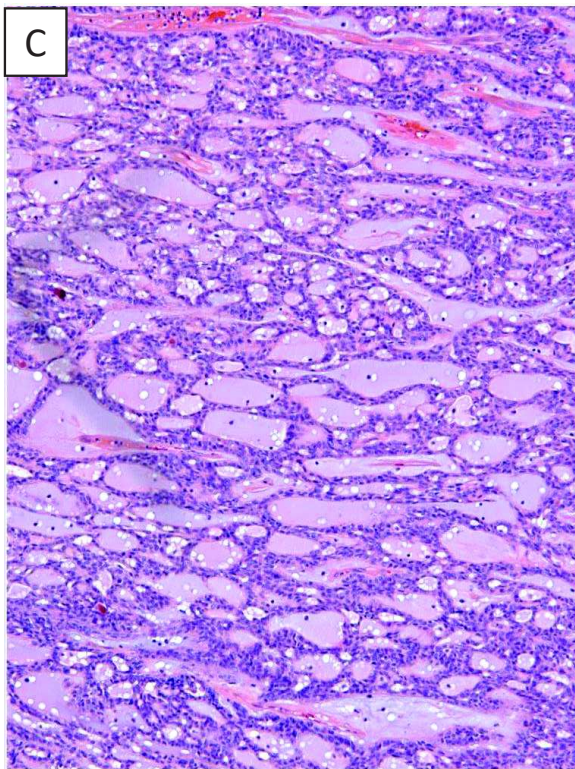
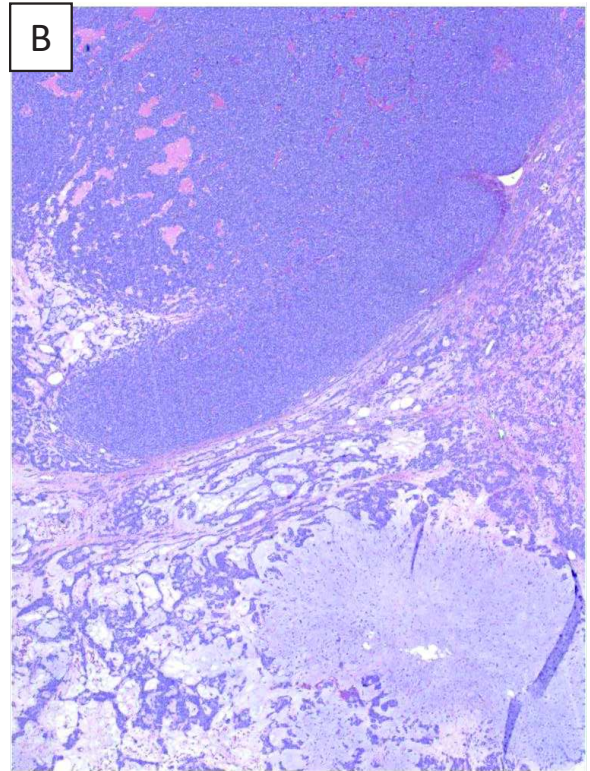
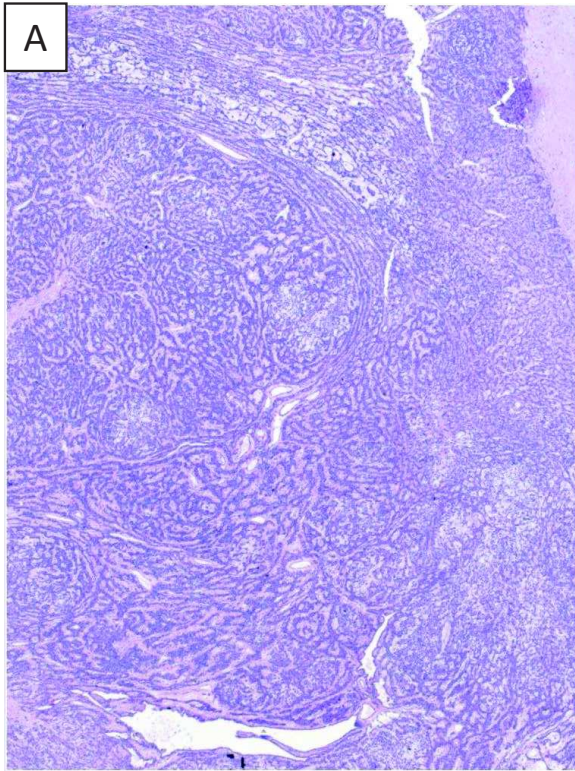


Photo 13. Les AP *HMGA2-WIF1* positifs présentaient souvent un aspect monomorphe (**A, Cas 166**) ou biphasique (**B, Cas 169**). La prolifération épithéliale est agencée sous forme de travées d'épaisseur variable connectées entre elles, faisant rappeler un adénome canaliculaire. Des sécrétions éosinophiles étaient fréquemment visualisées, piégées au sein des travées (**C et D, Cas 163 et 168**).

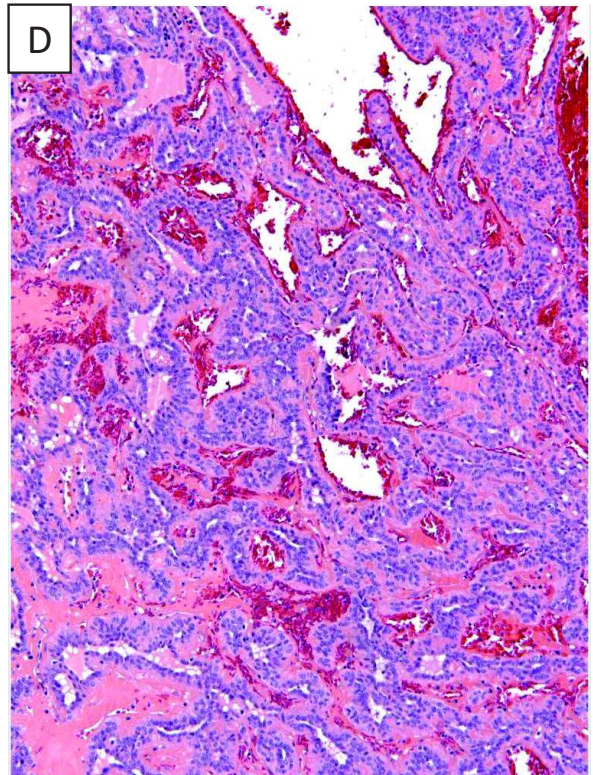
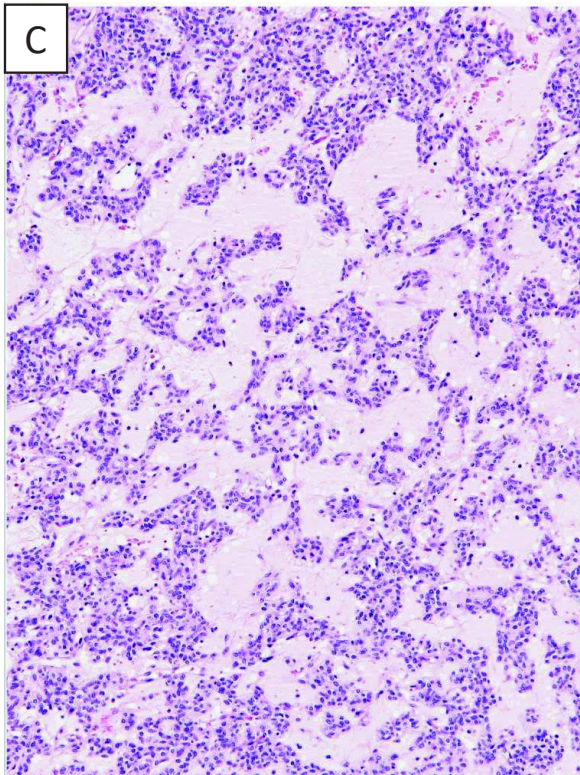
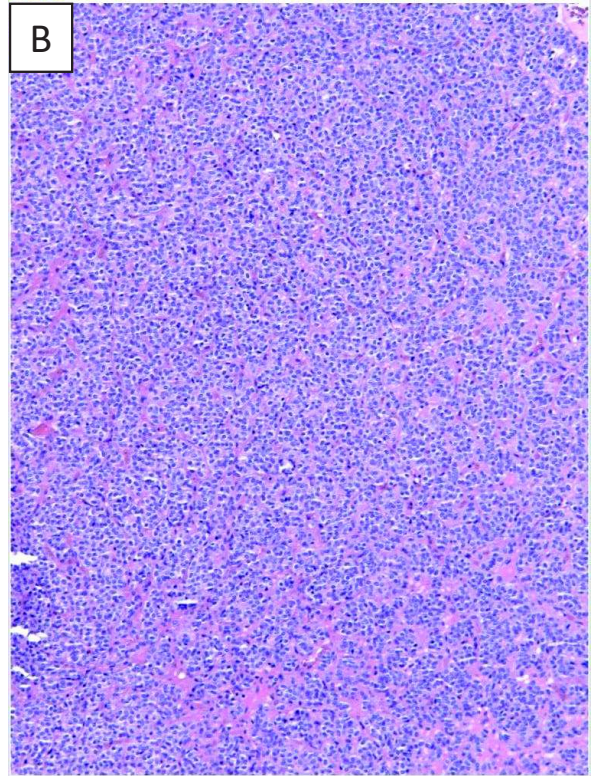
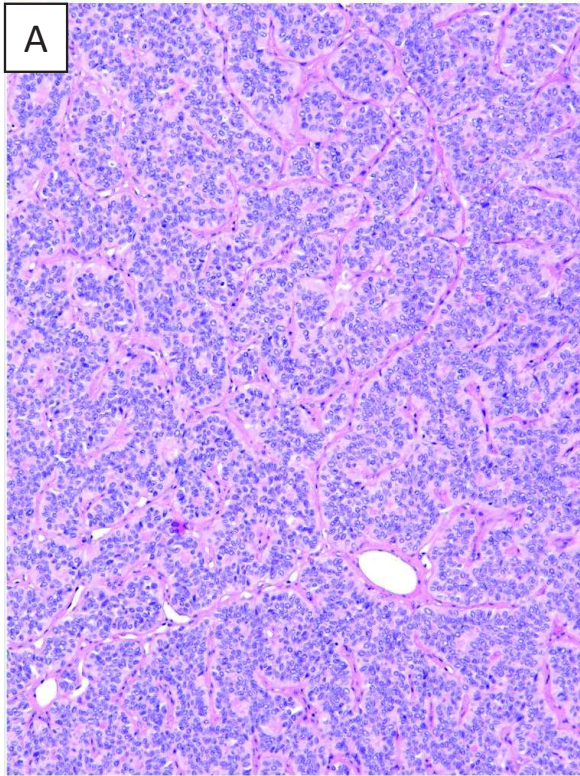


Photo 14. Au sein de ces tumeurs « canaliculaire-like » *HMGA2-WIF1*+ l'architecture de la composante épithéliale et le stroma étaient variables avec des travées bien dessinées disposées sur un stroma fibreux (**A, Cas 164**), des travées confluentes sur un stroma hyalin (**B, Cas 161**), des travées fines et courtes sur un stroma myxoïde lâche (**C, Cas 162**) ou une composante tubulaire préminente contenant un matériel éosinophile accompagnée d'un stroma hémorragique (**D, Cas 163**).

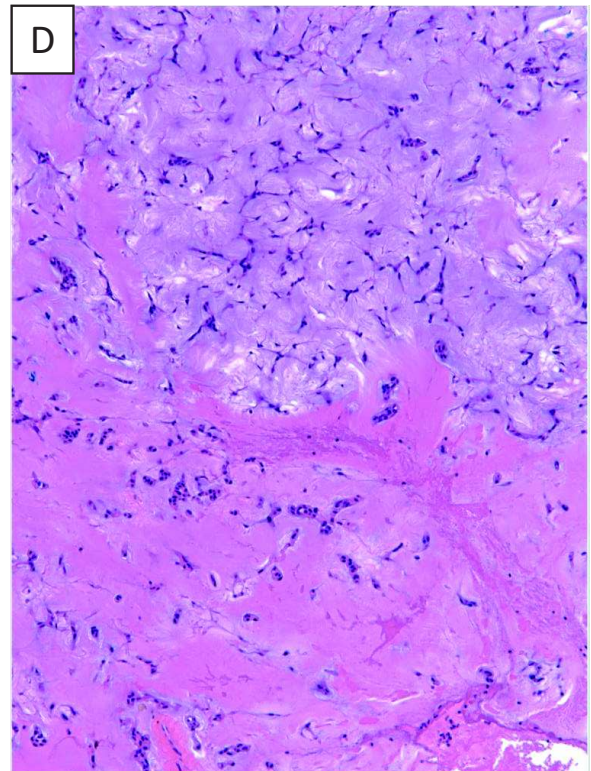
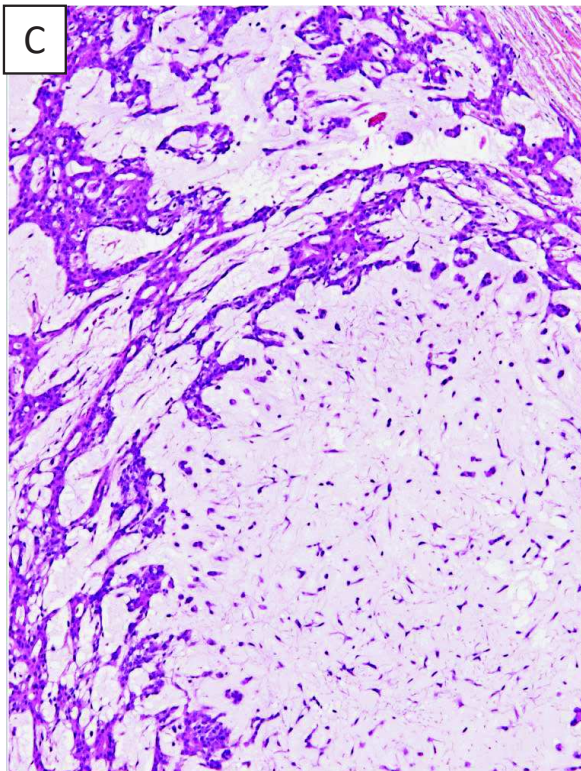
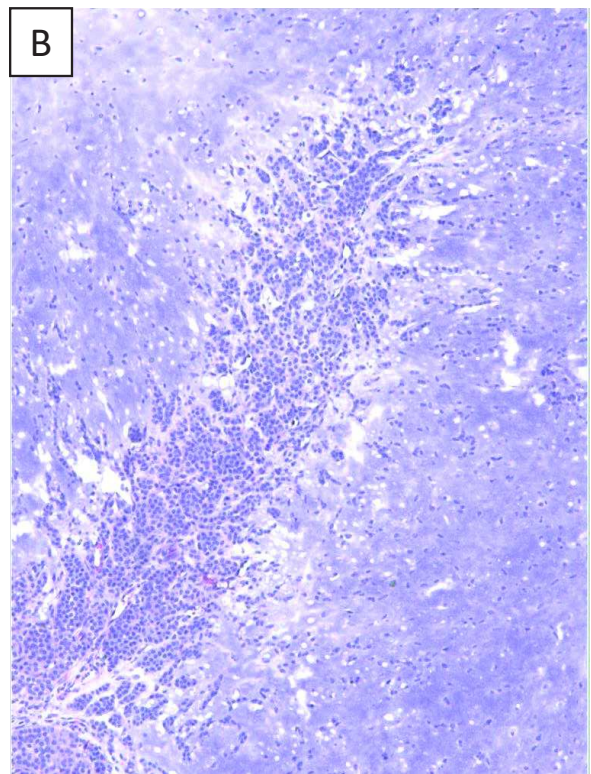
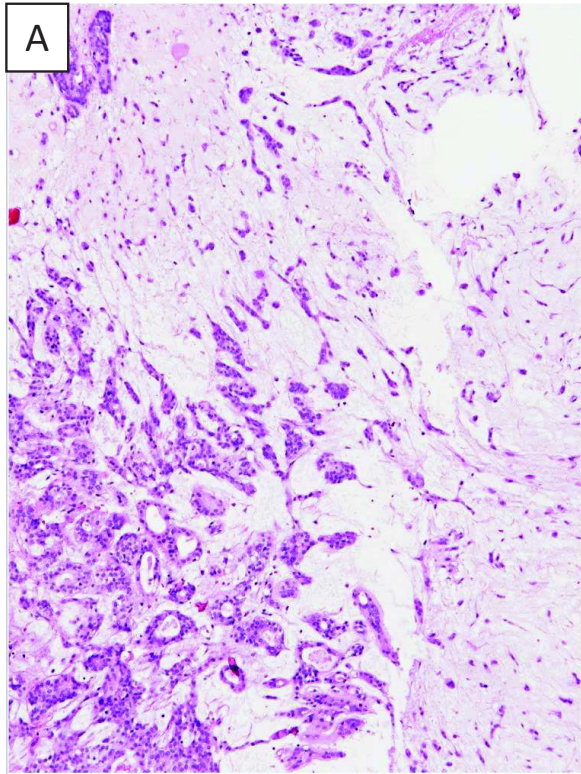


Photo 15. Certains AP *HMGA2-WIF1* positifs avaient une morphologie classique d'architecture tubulaire et en brin (**A, Cas 157**), en nids et brins épithéliaux sur un stroma chondroïde (**B, Cas 159**), avec une composante trabéculaire minoritaire est focale (**C, Cas 156**) ou une composante mésenchymateuse fusiforme et stellaire prédominante sur un stroma myxoïde-hyalin dense (**D, Cas 160**).

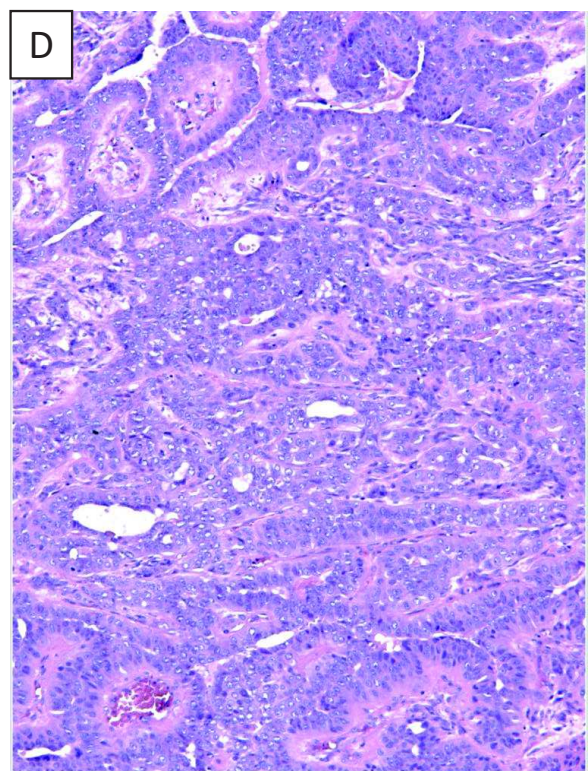
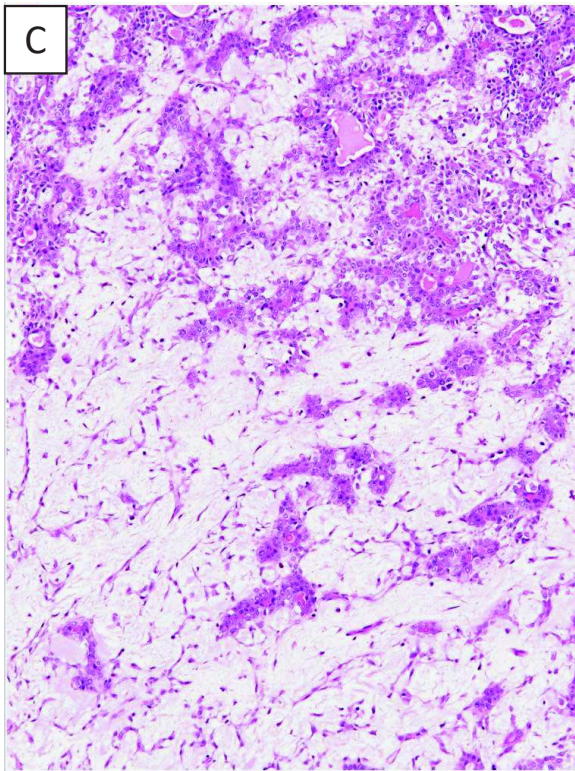
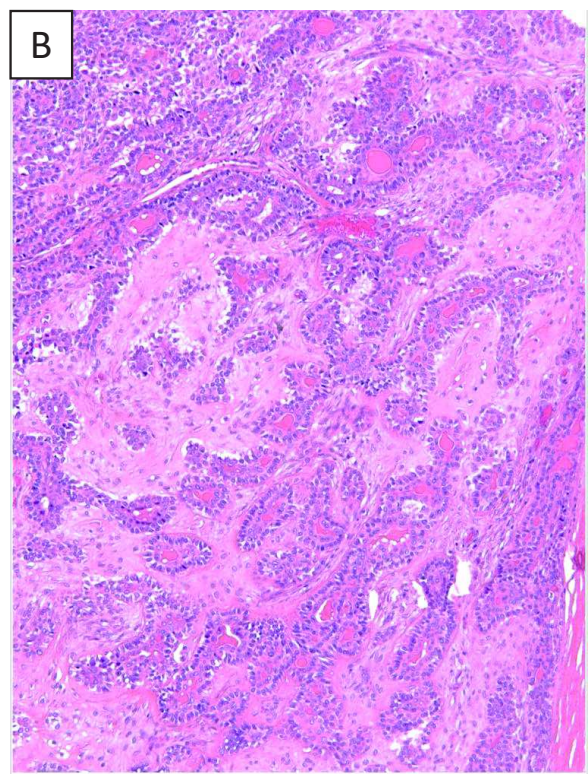
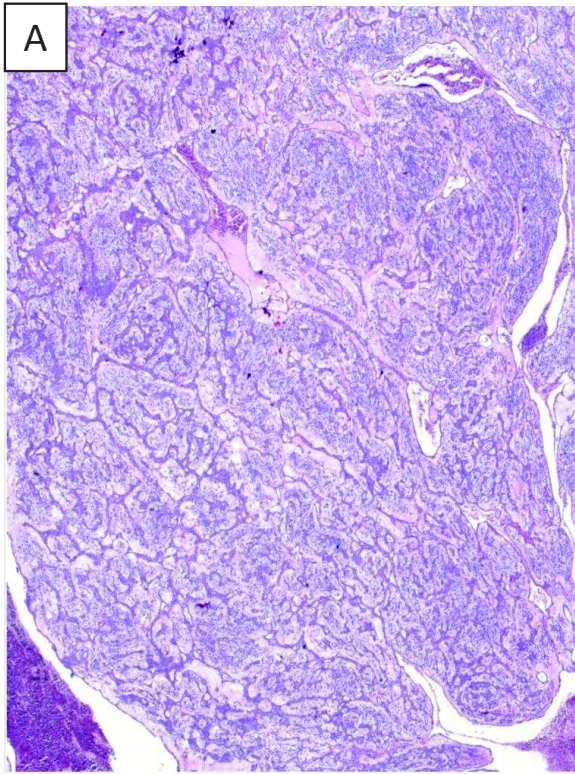


Photo 16. Les AP *CTNNB1-PLAG1* positifs comprenaient également des lésions d'architecture trabéculaire « canaliculaire-like » (**A et B, Cas 172 et 175**) mais également des lésions d'architecture plus classique (**C, Cas 174**). Un cas d'aspect monomorphe « canaliculaire-like » présentait un foyer de transformation carcinomateuse accompagné d'images d'infiltration en périphérie de la lésion le classant en CxAP (**D, Cas 172**).

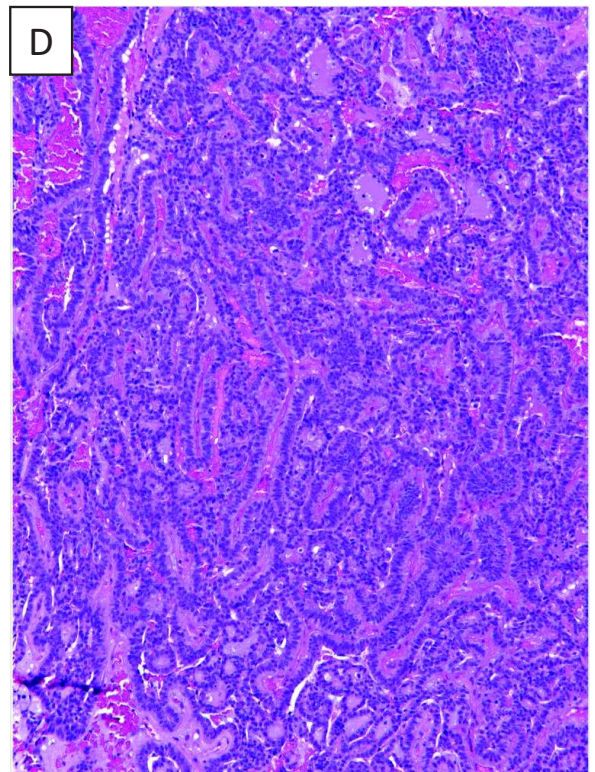
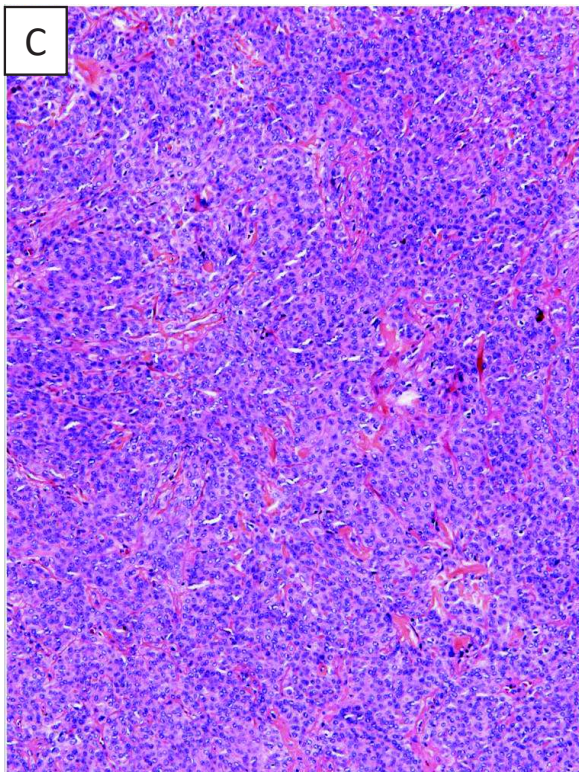
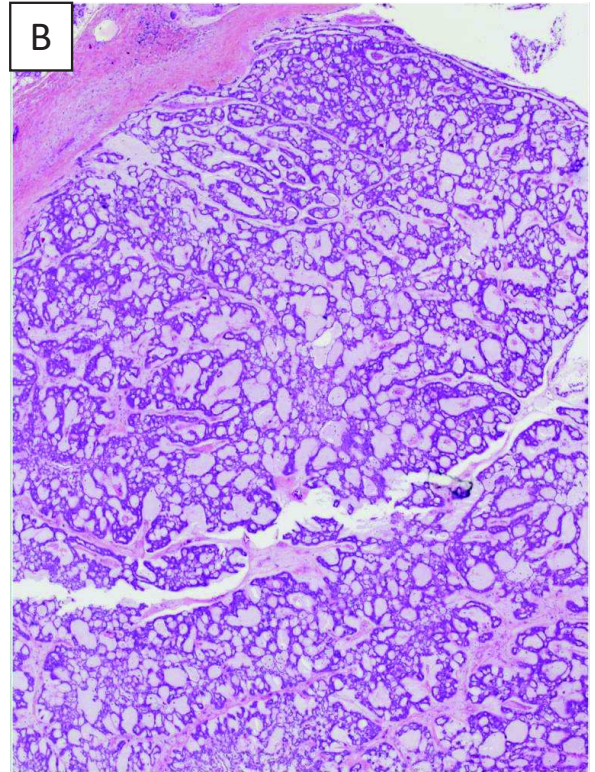
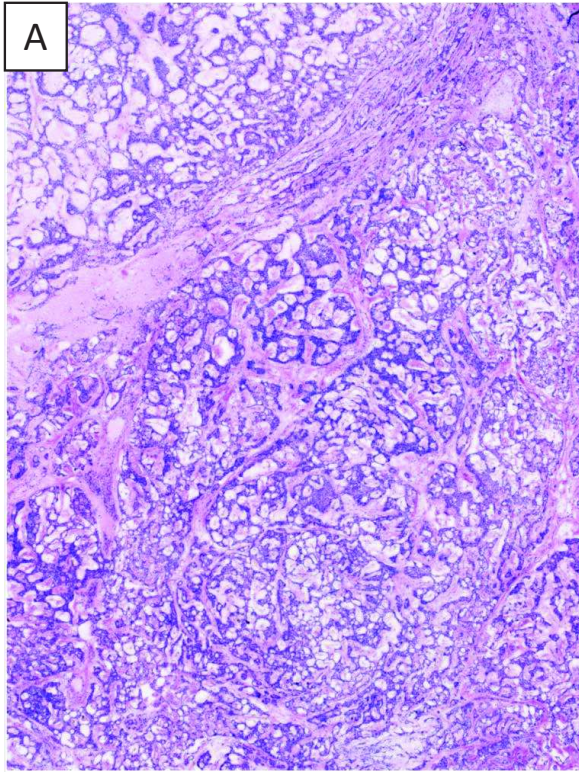
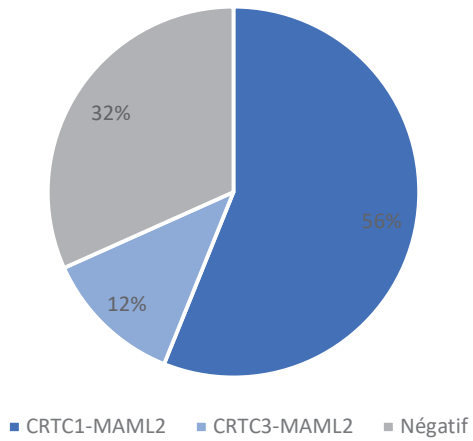
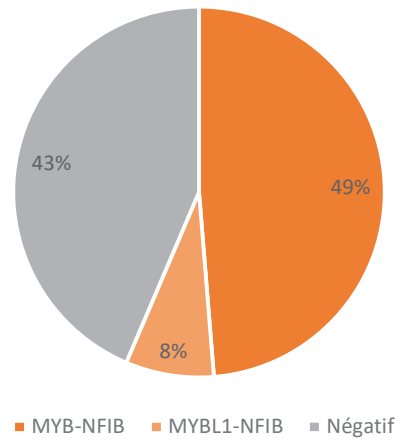


Photo 17. Les aspects monomorphes et leurs variations histologiques concernant la composante épithéliale et le stroma étaient également retrouvés sur les tumeurs sans transcrit associé (A, B, C, D, Cas 177, 188, 197 et 200).

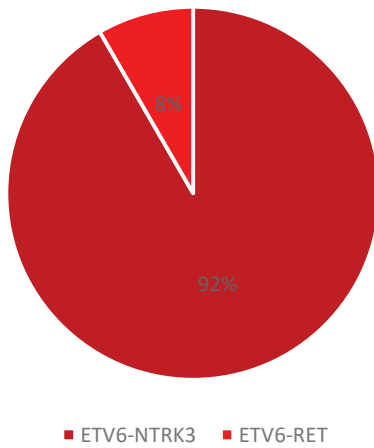
Carcinomes muco-épidermoïdes (n=41)



Carcinomes adénoïdes kystiques (n=39)



Carcinomes sécrétoires (n=36)



Carcinomes intraductaux (n=10)

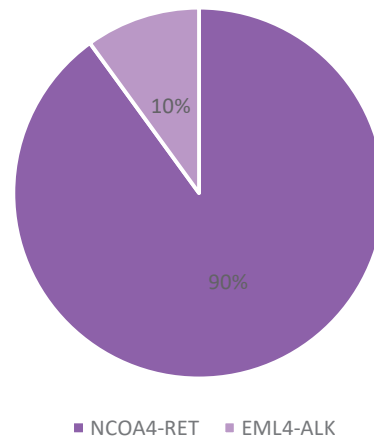
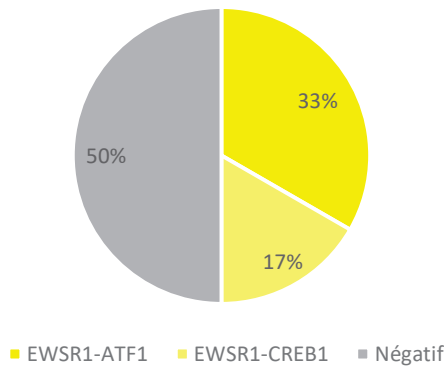
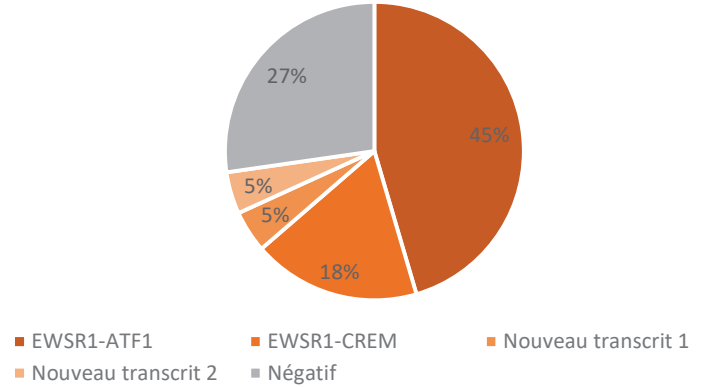


Figure 19-A. Résumé des proportions de chaque transcrit de fusion par entité histologique.

Carcinomes odontogènes à cellules claires
(n=6)



Carcinomes à cellules claires hyalinisants
(n=22)



Adénomes pléomorphes et CxAP (n=50)

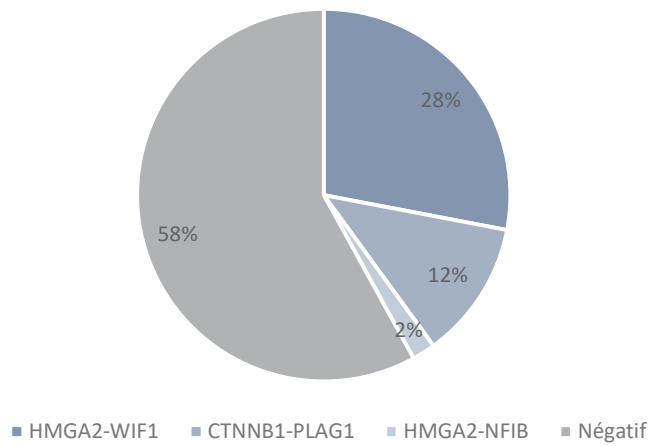


Figure 19-B. Résumé des proportions de chaque transcrit de fusion par entité histologique.

Discussion et Perspectives

I. Contexte actuel

La caractérisation histo-moléculaire des tumeurs des glandes salivaires est aujourd'hui en plein essor avec plus de 90 transcrits de fusion déjà identifiés. Cette caractérisation débuta en 1997 avec la description du transcrit *CTNNB1-PLAG1* dans l'adénome pléomorphe (13) puis la mise en évidence des transcrits de fusion récurrents comme *CRTC1-MAML2* dans le carcinome muco-épidermoïde en 2007 (39), *MYB-NFIB* dans le carcinome adénoïde kystique en 2009 (47), *EWSR1-ATF1* dans le carcinome à cellules claires hyalinisant en 2011 (54). L'émergence des techniques de séquençage de nouvelle génération a ensuite permis la description de nouvelles entités comme le carcinome sécrétoire (ancien carcinome analogue des carcinomes sécrétoires mammaires) en 2010 par Pre Alena Skalova associé au gène de fusion *ETV6-NTRK3*, et le carcinome microsécrétoire (ancien sous-type d'adénocarcinome SAI) associé au gène de fusion *MEF2C-SS18* en 2019 par Dr Justin Bubola.

Toutes ces avancées histo-moléculaires rentrent dans une démarche globale, d'une part de préciser le diagnostic histologique (parfois très difficile) par une étude génétique, et d'autre part de proposer une prise en charge thérapeutique personnalisée. Sur le versant diagnostic, la mise en évidence de ces altérations moléculaires a permis une plus grande finesse dans la classification des tumeurs des glandes salivaires, la découverte de nouveaux variants, de définir de nouvelles entités, de diminuer la part des tumeurs classées en adénocarcinome SAI (104).

Cette personnalisation du soin est permise par la mise en place d'indications à la thérapie ciblée en lien avec les altérations moléculaires identifiées dans ces tumeurs. C'est le cas du larotrectinib (inhibiteur de TRK) qui a récemment montré une efficacité dans le traitement des carcinomes sécrétoires avec transcrit *ETV6-NTRK3* (105). D'autres thérapies ciblées sont en cours d'étude comme les inhibiteurs spécifiques de *RET* (selpercatinib et pralsetinib) montrant une activité en cas de réarrangements et mutations de *RET* dans différents types de tumeurs, pour l'instant modeste (106) (Table 14).

<u>Type histologique</u>	<u>Gènes de fusion/réarrangements et altérations moléculaires</u>	<u>Thérapies ciblées</u>
<u>Carcinome sécrétoire</u>	<i>ETV6-NTRK3</i> <i>ETV6-RET</i>	Anti- <i>NTRK</i> Anti- <i>RET</i>
<u>Carcinome muco-épidermoïde</u>	<i>CRTC1-MAML2</i> <i>CRTC1-MAML3</i>	Anti-EGFR
<u>Carcinome adénoïde kystique</u>	<i>NOTCH1</i>	Inhibiteurs de NOTCH
<u>Carcinome sur adénome pléomorphe</u>	Fusion <i>PLAG1</i> Mutation <i>HRAS</i> Mutation <i>PIK3CA</i>	Inhibiteurs <i>FGFR</i> Tipifarnib Inhibiteur de <i>PIK3CA</i>
<u>Tous carcinomes</u>	Charge mutationnelle élevée, TMB > 10 Mb	Anti- <i>PD1</i> (approbation FDA, pas d'AMM en France donc essai thérapeutique).

Table 14. Récapitulatif des principales anomalies moléculaires pouvant impliquer une thérapie ciblée dans les carcinomes des glandes salivaires parmi les entités traitées dans ce travail (d'après le tableau de Dre C.Even et Pre Uro-Coste, Tumeurs des glandes salivaires : intérêt diagnostique et thérapeutique de la biologie moléculaire, Correspondances en Onco-Théranostic, Volume XI n°2, Avril-mai-juin 2022).

Vert : Recommandées selon guidelines ou AMM ou ATU

Rouge : Essais en cours

Noir : Thérapie à évaluer, manque de données cliniques

Enfin, comme l'évoquait le Dr J. Bubola en 2021, nous entrons dans une nouvelle phase passionnante de la pathologie des glandes salivaires qui est la mise en place de substituts immunohistochimiques aux différents tests génétiques (107), comme ce qui a pu être fait avec l'anticorps anti NUT très spécifique et sensible des carcinomes porteurs d'une fusion du gène *NUT* (108). Pour les tumeurs des glandes salivaires, l'intérêt de l'immunohistochimie NR4A3 a été mis en évidence en 2019 (75) dans les carcinomes à cellules acineuses provenant de la translocation t(4;9)(q13;q31) apportant une précieuse aide au diagnostic de ces tumeurs. L'immunohistochimie anti Pan-TRK montre également une très bonne sensibilité dans les carcinomes sécrétoires porteurs de la fusion *ETV6-NTRK* (61) comme montré par notre équipe.

II. Résultats de l'étude

Notre travail a permis de préciser les anomalies moléculaires des tumeurs des GS sur une large série de tumeurs bien caractérisées histologiquement dans le cadre du réseau REFCORpath.

II.1. Résultats de biologie moléculaire

II.2.A. Au total

Dans ce travail, nous avons identifié un transcrite de fusion dans 66.7% des cas étudiés (136/204) : 74.8% des tumeurs malignes (116/155) et 40.8% des tumeurs bénignes (20/49). Ces données ont permis de préciser le diagnostic de 15 tumeurs, toutes malignes, soit 9.7% des tumeurs malignes (15/155) avec un maximum de 50% pour les carcinomes intraductaux (5/10), ce qui souligne leur très grande difficulté diagnostique, 13.9% pour les carcinomes sécrétoires (5/36), 4.9% pour les carcinomes muco-épidermoïdes (2/41), 4.5% pour les carcinomes à cellules claires hyalinisants (1/22), 2.6% pour les carcinomes adénoïdes kystiques (1/39) et 2% des adénomes pléomorphes correspondant à l'unique adénome pléomorphe transformé en carcinome ex-adénome pléomorphe de cette série. Ce taux de reclassement diagnostique doit tenir compte du fait que certaines tumeurs ont été diagnostiquées avant la description de certaines entités dans l'OMS et par des pathologistes généralistes non experts REFCORpath.

II.2.B. Carcinome muco-épidermoïde

Parmi les 41 carcinomes muco-épidermoïdes, 68.3% (28/41) présentaient un transcrite de fusion dont 56.1% de *CRTC1-MAML2* (23/41) et 12.2% de *CRTC3-MAML2* (5/41) représentant 18% des cas positifs (5/28). Nos données sont concordantes avec la littérature rapportant un transcrite *CRTC1-MAML2* dans 60 à 75% des carcinomes muco-épidermoïdes (42,109,110). Les données concernant la proportion de carcinomes muco-épidermoïdes avec

transcrit *CRTC3-MAML2* sont rares étant donné que de nombreuses études ont été réalisées par FISH à la recherche d'un réarrangement de *MAML2* sans précision du partenaire. Dans une cohorte de 101 carcinomes muco-épidermoïdes, 6% présentaient un transcrit *CRTC3-MAML2* en 2009 (111).

Un des défis actuels est l'optimisation de la prise en charge du carcinome muco-épidermoïde. Les tumeurs de bas grade nécessitent généralement qu'une excision chirurgicale complète, alors que les tumeurs de haut grade sont traitées par radiothérapie adjuvante avec ou sans chimiothérapie (112).

La relation entre le grade histologique de ces tumeurs et la présence d'un réarrangement du gène *MAML2* (et plus largement le pronostic) est fortement débattue. De 2006 jusqu'à nos jours, de nombreuses études tendent à montrer l'intérêt de la biologie moléculaire en démontrant une récurrence des transcrits *CRTC1-MAML2* et *CRTC3-MAML2* dans les tumeurs de bas grade à intermédiaire (110,113–115). À l'inverse, quelques rares études ne mettent pas en évidence de relation significative entre la présence d'un réarrangement de *MAML2* et un bas grade histologique (116,117).

Dans notre étude, nous avons utilisé le système de grading de Brandwein, recommandé bien qu'il classe un plus grand nombre de tumeurs en haut grade comparativement aux autres systèmes de grading (114). Parmi les carcinomes muco-épidermoïdes avec transcrit de fusion, 12 sont de bas grade, 1 de grade intermédiaire et 11 de haut grade. Parmi les carcinomes muco-épidermoïdes sans transcrit de fusion 8 sont de bas grade, 3 de grade intermédiaire et aucun n'est de haut grade. Ces résultats ne sont pas en faveur d'une relation entre la présence d'un réarrangement *MAML2* et une tumeur de bas grade.

Dans notre série, contrairement à la littérature (111), les CME avec transcrit *CRTC3-MAML2* sont majoritairement de haut grade (4/5) dont 2 cas au stade métastatique au moment du diagnostic. Les carcinomes muco-épidermoïdes de sous-type particulier (4 cas à cellules claires et 2 cas à cellules oncocytaires) étaient tous positifs. Nous ne disposons pas du suivi de ces patients (notion de récurrence ? apparition de métastase ?).

II.2.C. Carcinome adénoïde kystique

Les carcinomes adénoïdes kystiques ont présenté un transcrit de fusion dans 56.4% des cas (22/39) avec 48.7% de transcrit *MYB-NFIB* (19/39) et 7.7% de transcrit *MYBL1-NFIB* (3/39). Ces résultats sont concordants avec la littérature qui rapporte une proportion de carcinomes adénoïdes kystiques présentant un transcrit *MYB-NFIB* de 50 à 90%, et *MYBL1-NFIB* de 10-20% (104).

Le grading binaire de ces lésions selon le modèle proposé par Zhang en 2013 (102), fondé sur la présence ou l'absence d'une composante tumorale solide, n'a pas montré de réelle tendance avec la présence ou non d'un transcrit de fusion (36.4% de haut grade parmi les positifs et 47% de haut parmi les négatifs). L'analyse morphologique de ces différents cas, n'a pas mis en évidence de caractère morphologique permettant de prédire ou non la présence d'un transcrit de fusion ou du sous type de transcrit (*MYB-NFIB* ou *MYBL1-NFIB*).

De même, les données de la littérature ne montre pas que la présence d'un transcrit *MYB-NFIB* permet de prédire le pronostic de la tumeur (104,118) hormis dans de rares travaux (119).

La recherche de transcrits *MYB-NFIB*, ainsi que des autres transcrits alternatifs, a une utilité diagnostique majeure pour éliminer les diagnostics différentiels dans les lésions de haut grade peu différenciées ou des prélèvements de petite taille.

La présence d'une surexpression de la protéine Myb dans la majorité des carcinomes adénoïdes kystiques (53) est prometteuse et suscite l'intérêt de l'utilisation d'inhibiteurs thérapeutiques de Myb, pouvant possiblement donner un intérêt thérapeutique à la recherche moléculaire d'un réarrangement de *MYB* systématique dans ces tumeurs.

II.2.D. Carcinome sécrétoire

Les carcinomes sécrétoires ont tous présenté un transcrite de fusion (n=36) : *ETV6-NTRK3* dans 91.6% des cas (33/36) et *ETV6-RET* dans 8.4% des cas (3/36) en accord avec la littérature, décrivant des prévalences de 95-98% pour *ETV6-NTRK3* et 2-5% pour *ETV6-RET* (104).

Parmi nos 3 cas *ETV6-RET*, deux d'entre eux étaient décrits comme présentant des comportements agressifs avec notamment présence d'engainements périnerveux. Ces deux tumeurs présentaient un stroma fibro-sclérotique majeur, comme décrit par Pre Alena Skalova dans 30% de ses carcinomes sécrétoires *ETV6-RET* (66). Ce stroma particulier ne semble cependant pas constant dans les lésions *ETV6-RET* positives, ni spécifique puisque ce stroma a également été décrit sur un cas *ETV6-NTRK3* positif (cas 102). Aucune autre particularité histologique notable n'a été constatée.

L'intérêt de la biologie moléculaire est ici primordial compte tenu de la très forte prévalence des transcrits de fusion dans le carcinome sécrétoire. Le diagnostic de carcinome sécrétoire par rapport aux autres tumeurs, comme le carcinome à cellules acineuses ou le carcinome intraductal, est parfois très difficile malgré l'aide apportée par l'immunohistochimie avec les anticorps anti PS100 et anti Mammaglobine, ou plus récemment PanTRK. Dans notre étude, 13.9% des carcinomes sécrétoires (5/36) n'avaient pas été précisément diagnostiqués lors du primo-diagnostic dont une tumeur classée bénigne à l'origine.

Par ailleurs, la découverte du gène de fusion *ETV6-NTRK3* a mis en exergue une potentielle cible thérapeutique avec l'émergence des inhibiteurs de TRK (larotrectinib et entrectinib). Ces thérapies ont montré de bons résultats pour les tumeurs *ETV6-NTRK3* positives avec une réponse plus ou moins importante dans 10 cas sur 12 pour le larotrectinib (62) et 6 cas sur 7 pour l'entrectinib (120). Devant l'apparition de mécanismes de résistance, des inhibiteurs de *TRK* de nouvelles générations sont utilisés comme le Selitrectinib (121).

II.2.E. Carcinome à cellules claires hyalinisant/odontogène à cellules claires

Parmi les 22 carcinomes à cellules claires hyalinisants testés, 72.7% présentaient un transcrite de fusion (16/22) : *EWSR1-ATF1* (10/22 – 62.5%) , *EWSR1-CREM* (4/22 - 25%) en accord avec la littérature (104).

A l'histologie, la cytologie (proportion de cellules claires et éosinophiles), l'architecture, ainsi que les particularités stromales comme la présence de territoires myxoïdes ne semblent pas être prédictifs d'un transcrite de fusion. La moitié des cas présentant des signes d'agressivité (emboles tumoraux, nécrose, métastase, atypies) étaient associés à un transcrite de fusion.

La recherche de transcrits de fusion au sein des carcinomes à cellules claires hyalinisant a, à l'heure actuelle, un rôle purement diagnostique, sans valeur prédictive ou pronostique (104). Bien que la découverte d'une prolifération tumorale de bas grade avec contingent à cellules claires et stroma fibreux hyalinisé soit caractéristique, d'autres tumeurs, comme le CME variant à cellules claires, sont des diagnostics différentiels, justifiant la réalisation de techniques complémentaires comme la FISH *EWSR1*, ou préférentiellement le NGS en raison de transcrits n'impliquant pas *EWSR1* (nouveaux transcrits, analyse en cours).

Par ailleurs, les fusions *FET* (englobant à la fois *EWSR1* et *FUS*) avec les gènes de la famille *CREB* (*CREB1*, *CREM* et *ATF1*) sont impliquées dans une grande variété de tumeurs de localisation et de pronostic variées comme l'histiocytome fibreux angiomatoïde, le sarcome à cellules claires des tissus mous, le sarcome à cellules claires du tractus gastro-intestinal, le sarcome myxoïde pulmonaire primitif, la tumeur myoépithéliale des tissus mous (122). Pour ces transcrits, une analyse histo-morphologique couplée à l'analyse moléculaire est donc indispensable.

La technique de NGS ciblé par LD-RT-PCR n'a pas pour vocation première la détection de nouveaux transcrits de fusion étant donné que les deux partenaires de fusion sont ciblés, contrairement aux techniques comme le RNAseq ou l'Anchored multiplex PCR. Malgré cela, et grâce au très grand nombre de sondes dans notre panel (plusieurs centaines) couvrant une grande variété de tumeurs à transcrits de fusion, de nouveaux transcrits ont été identifiés. La récurrence de ce cas de figure devrait, en toute logique, augmenter avec l'ajout de sondes intéressant de nouveaux gènes. Sur le plan histologique, ces deux cas positifs ne présentaient pas de caractéristique morphologique les démarquant du reste de la cohorte. Il

s'agissait dans les deux cas de tumeurs de bas grade présentant un contingent à cellules claires accompagné d'un stroma fibro-hyalin.

Notre cohorte comprenait également 6 carcinomes à cellules claires odontogènes. Ces tumeurs présentent des similitudes histologiques et immunohistochimiques avec les carcinomes à cellules claires hyalinisants, faisant d'eux un analogue odontogène du carcinome à cellules claires hyalinisant (57). La moitié de nos cas présentaient une fusion *EWSR1*. Les tumeurs *EWSR1* positives ne présentaient pas de particularité morphologique par rapport aux tumeurs négatives.

II.2.F. Carcinome intraductal

Les 10 carcinomes intraductaux présentait un transcrite de fusion : *NCOA4-RET* (9/10) et un cas *EML4-ALK* (1/10). Les études portant sur les carcinomes intraductaux sont très rares. L'analyse moléculaire de la plus grande cohorte de CI (33 cas) a mis en évidence un transcrite de fusion dans près de la moitié des cas (15/33) dont une importante majorité de *NCOA4-RET* (11/33). Ces derniers étaient retrouvés sur des sous-types intercalaires ou mixtes comme ce que nous avons pu mettre en évidence dans notre travail (69).

Un carcinome intraductal présentant un transcrite *EML4-ALK* a été décrit dans la littérature en 2021 (73). D'après les auteurs, il s'agissait d'une tumeur de bas grade, non invasive, de sous type intercalaire, présentant une morphologie et un profil immunohistochimique classique. Notre description est concordante, avec cependant des expansions papillaires intraluminales plus imposantes que sur les autres tumeurs. Devant le faible nombre de tumeurs décrites comme associées à ce transcrite, il nous est difficile de tirer des conclusions. De plus, la présence d'un transcrite de fusion *EML4-ALK* dans les CI et de rares carcinomes canaux salivaires mériterait notamment d'être étudié compte tenu de l'importante différence pronostique entre ces deux tumeurs.

La grande rareté de cette entité explique le manque de données dans la littérature et une faible connaissance de cette tumeur, se traduisant par un fort taux de reclassement, ici de 50% malgré l'expertise pré moléculaire de chacun de ces cas par le réseau REFCORpath.

II.2.G. Adénome pléomorphe

Parmi 50 adénomes pléomorphes, 42% ont présenté un transcrite de fusion (21/50) : 15 cas de fusion *HMGA2* (14 cas *HMGA2-WIF1* et 1 cas *HMGA2-NFIB*) soit 30%, et 6 cas de fusion *PLAG1* (*CTNNB1-PLAG1*) soit 12%. Dans la littérature, les réarrangements de *PLAG1* et *HMGA2* sont détectés collectivement dans >60% des cas dont >50% de réarrangement de *PLAG1* et 10-15% de réarrangement de *HMGA2* (123).

Notre série est enrichie en adénomes pléomorphes d'architecture trabéculaire ou « Canalicular Adenoma-like » (n=29) récemment décrits dans la littérature (95). Parmi ce sous-type, 10 cas présentaient une fusion *HMGA2-WIF1* (34.5%). De plus, les transcrits *CTNNB1-PLAG1* et *HMGA2-NFIB* ont également été mis en évidence dans ce sous-type d'adénome pléomorphe. Le transcrite *HMGA2-WIF1* n'est pas spécifique de ce sous-type d'adénome pléomorphe puisqu'il a également été identifié dans 4 adénomes pléomorphes présentant une architecture classique. A noter que l'unique cas *HMGA2-NFIB* positif présentait également une architecture trabéculaire. Les tumeurs avec transcrite *CTNNB1-PLAG1* étaient également des adénomes pléomorphes d'architecture trabéculaire dont un présentant une transformation partielle en carcinome ex-adénome pléomorphe.

II.2.H. Apport du NGS ciblé par LD-RT-PCR

La diversité croissante des tumeurs des glandes salivaires, et de leurs gènes de fusion, demande, dans une certaine mesure, de trouver des alternatives aux techniques conventionnelles, comme la FISH qui, malgré de nombreux avantages (plateau technique simple, temps de réponse rapide, contrôle spatial de la tumeur, etc.), demande un diagnostic a priori afin d'orienter le partenaire de fusion à étudier. De plus, plusieurs techniques FISH peuvent être parfois nécessaires (FISH *EWSR1* et *MAML2*...) pour des tumeurs dont la morphologie fait discuter plusieurs types tumoraux.

Le NGS ciblé par LD-RT-PCR est une solution de choix pour permettre cette transition. Cette technique, dérivée de la RT-PCR, permet d'interroger simultanément un grand nombre de gènes par l'ajout d'une phase de ligation. Il s'agit d'un test simple nécessitant des techniques limitées en laboratoire (transcription inverse, hybridation des sondes, ligation, amplification

par PCR) et une analyse sur un séquenceur de nouvelle génération, déjà présent dans de nombreux sites ce jour.

L'analyse simultanée d'un grand nombre de gènes en une seule technique moléculaire est particulièrement indiquée pour les tumeurs de diagnostic difficile, comme les tumeurs salivaires, pour lesquelles une analyse histo-morphologique accompagnée d'une étude immunohistochimique ne suffit parfois pas à établir un diagnostic de certitude. De plus, cette technique, malgré un plateau technique et un temps de technique plus important, présente un coût matériel plus faible que la FISH.

Les cas positifs de NGS ciblé par LD-RT-PCR présentés dans ce travail ont été, pour certains, analysés en parallèle par une technique conventionnelle (immunohistochimie, FISH ou RT-PCR). Nous avons montré dans des études antérieures une excellente concordance entre elles pour d'autres types tumoraux (89–92).

II.2. Perspective

Notre étude confirme la forte corrélation histo-moléculaire des tumeurs des glandes salivaires. Au sein de certains types tumoraux, certaines particularités morphologiques ont présenté une tendance d'association à certains transcrits de fusion : les carcinomes sécrétoires avec stroma fibro-hyalin dense avec un transcrit *ETV6-RET* et les adénomes pléomorphes de morphologie canaliculaire-like avec un transcrit *HMGA2-WIF1*. L'étude d'un plus grand nombre de tumeurs permettrait bien entendu de confirmer ces observations, ou d'identifier de nouvelles corrélations histo-moléculaires. Au-delà d'une corrélation histo-moléculaire, il serait intéressant d'étudier une corrélation clinico-moléculaire entre les différents transcrits de fusion et l'évolution de la maladie (récidive, transformation maligne en carcinome ex-adénome pléomorphe, apparition de métastase) et permettre une plus grande justesse dans la prise en charge de ces tumeurs.

La technique de NGS ciblé par LD-RT-PCR semble être un atout majeur pour le diagnostic et l'étude théranostique des tumeurs à transcrits de fusion par son faible coût et sa flexibilité vis-à-vis de la qualité de l'ARN extrait. La prise en charge en première intention des lésions salivaires passant par la cytoponction à l'aiguille fine, il serait intéressant de connaître la sensibilité de la LD-RT-PCR-NGS sur du matériel cytologique comportant, par conséquent, peu d'ARN tumoral analysable. La réalisation d'un diagnostic moléculaire sur matériel cytologique en pré-opératoire, pourrait permettre une meilleure stratégie médico-chirurgicale.

La technique de NGS ciblé par LD-RT-PCR n'a pas été conçue dans l'optique de découvrir de nouveaux transcrits de fusion. Cependant, grâce au très grand nombre de sondes incluses dans nos panels (plusieurs centaines) couvrant une grande variété de tumeurs à transcrits de fusion (sarcomes, carcinomes toutes localisations, tumeurs rares), de nouveaux transcrits ont été identifiés. L'implémentation régulière de nouveaux gènes selon les données de la littérature permettra d'affiner notre diagnostic moléculaire et d'également augmenter nos chances de trouver à nouveaux des transcrits de fusion non décrits.

Conclusion

Les tumeurs des glandes salivaires, bénignes et malignes, sont des tumeurs peu fréquentes présentant une grande diversité histo-morphologique. Ceci rend leur diagnostic parfois difficile notamment pour les entités les plus rares, les sous-types morphologiques particuliers, ou les prélèvements de petite taille.

L'émergence de technologies de séquençage de nouvelle génération a apporté une aide précieuse avec la mise en évidence d'altérations génétiques. Ces altérations conduisent parfois à des gènes/transcrits de fusion, spécifiques de certaines entités. Des tests par hybridation fluorescente in situ (FISH) ont été mis en place, mais exigeant d'avoir une idée a priori du diagnostic et du gène à analyser. Dans le cas où plusieurs hypothèses diagnostiques sont avancées, des techniques plus coûteuses et nécessitant un plateau technique plus développé sont utilisées comme le RNAseq ou l'Anchored multiplex PCR. La technique de NGS ciblé par LD-RT-PCR permet de rechercher un grand nombre de transcrits de fusion dans un même temps technique à partir de l'ARN tumoral extrait. Cette technique a l'avantage d'être peu coûteuse, rapide et présente une bonne tolérance concernant la qualité de l'ARN extrait.

En plus de précision/reclassement du diagnostic, ce travail a permis également d'identifier des lésions très particulières, notamment un carcinome *EML4-ALK* montrant une morphologie très différente des carcinomes intraductaux classiques posant la question de sa classification, ou encore deux carcinomes à cellules claires hyalinisants de morphologie classique présentant de nouveaux transcrits de fusion (publications en cours).

La biologie moléculaire est donc aujourd'hui un indispensable pour la prise en charge diagnostique et théranostique des tumeurs des glandes salivaires. En attendant une amélioration des outils immunohistochimiques disponibles, le NGS ciblé par LD-RT-PCR peut être proposé comme un excellent examen moléculaire de screening large de première intention.

Bibliographie :

1. Carlson GW. The salivary glands. Embryology, anatomy, and surgical applications. *Surg Clin North Am.* févr 2000;80(1):261-73, xii.
2. Porcheri C, Mitsiadis TA. Physiology, Pathology and Regeneration of Salivary Glands. *Cells.* 26 août 2019;8(9):E976.
3. Dictionnaire de l'Académie Nationale de Médecine [Internet]. [cité 6 juin 2022]. Disponible sur: http://dictionnaire.academie-medecine.fr/index.php?q=Glande_parotide
4. Kamina P. Anatomie Clinique Tome 2 Tête Cou Dos. Maloine. 2006.
5. Dictionnaire de l'Académie Nationale de Médecine [Internet]. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/index.php?q=Glande+submandibulaire>
6. Elsevier. Région submandibulaire : Anatomie [Internet]. Elsevier Connect. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.elsevier.com/fr-fr/connect/anatomie/region-submandibulaire-anatomie>
7. The Sublingual Gland - Structure - Vasculature - Innervation - TeachMeAnatomy [Internet]. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <https://teachmeanatomy.info/head/organs/salivary-glands/sublingual/>
8. Bishop JA. Tumors of the Salivary Glands, Series 5. (AFIP ATLASSES OF TUMOR AND NON-TUMOR PATHOLOGY).
9. Glandes salivaires accessoires [Internet]. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/media/campus/uvp5/dermatologie/pathologies-de-la-muqueuse-buccale/histoanatomie/gldeaccessoires.asp>
10. Miletich I. Introduction to salivary glands: structure, function and embryonic development. *Front Oral Biol.* 2010;14:1-20.
11. HS - Les glandes salivaires principales [Internet]. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.histology.be/atlas/HSH/general/right/HS-Dig-GIAn-Saliv.htm>
12. Mitelman F, Johansson B, Mertens F. The impact of translocations and gene fusions on cancer causation. *Nat Rev Cancer.* avr 2007;7(4):233-45.
13. Kas K, Voz ML, Röijer E, Aström AK, Meyen E, Stenman G, et al. Promoter swapping between the genes for a novel zinc finger protein and beta-catenin in pleiomorphic adenomas with t(3;8)(p21;q12) translocations. *Nat Genet.* févr 1997;15(2):170-4.
14. Parker BC, Zhang W. Fusion genes in solid tumors: an emerging target for cancer diagnosis and treatment. *Chin J Cancer.* nov 2013;32(11):594-603.
15. Taniue K, Akimitsu N. Fusion Genes and RNAs in Cancer Development. *Non-Coding RNA.* 4 févr 2021;7(1):10.
16. Dai X, Theobard R, Cheng H, Xing M, Zhang J. Fusion genes: A promising tool combating against cancer. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer.* avr 2018;1869(2):149-60.
17. Stransky N, Cerami E, Schalm S, Kim JL, Lengauer C. The landscape of kinase fusions in cancer. *Nat Commun.* 10 sept 2014;5:4846.
18. Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, Otto G, Parker A, Jarosz M, et al. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nat Med.* 12 févr 2012;18(3):382-4.
19. Rickman DS, Pflueger D, Moss B, VanDoren VE, Chen CX, de la Taille A, et al. SLC45A3-ELK4 is a novel and frequent erythroblast transformation-specific fusion transcript in prostate cancer. *Cancer Res.* 1 avr 2009;69(7):2734-8.

20. El Naggar AK. WHO Classification of Head and Neck Tumours. WHO. Vol. 9. 2017.
21. Cours : 10-340 Tumeurs malignes [Internet]. sides. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <https://sides.uness.fr/elearning>
22. Setti K, Mouanis M, Moumni A, Maher M, Harmouch A. Profil épidémiologique des tumeurs malignes primitives des glandes salivaires : à propos de 154 cas. *Pan Afr Med J.* 18 févr 2014;17:117.
23. Guzzo M, Locati LD, Prott FJ, Gatta G, McGurk M, Licitra L. Major and minor salivary gland tumors. *Crit Rev Oncol Hematol.* mai 2010;74(2):134-48.
24. Liao WC, Chih-Chao C, Ma H, Hsu CY. Salivary Gland Tumors: A Clinicopathologic Analysis From Taipei Veterans General Hospital. *Ann Plast Surg.* janv 2020;84(1S Suppl 1):S26-33.
25. Cunha JL, Coimbra AC, Silva JV, Nascimento IS, Andrade ME, Oliveira CR, et al. Epidemiologic analysis of salivary gland tumors over a 10-years period diagnosed in a northeast Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cirurgia Bucal.* 1 juill 2020;25(4):e516-22.
26. Żurek M, Rzepakowska A, Jasak K, Niemczyk K. The Epidemiology of Salivary Glands Pathologies in Adult Population over 10 Years in Poland-Cohort Study. *Int J Environ Res Public Health.* 24 déc 2021;19(1):179.
27. Lopes MA, Kowalski LP, da Cunha Santos G, Paes de Almeida O. A clinicopathologic study of 196 intraoral minor salivary gland tumours. *J Oral Pathol Med Off Publ Int Assoc Oral Pathol Am Acad Oral Pathol.* juill 1999;28(6):264-7.
28. Tchekmedyian V. Salivary Gland Cancers. *Hematol Oncol Clin North Am.* oct 2021;35(5):973-90.
29. Mimica X, McGill M, Hay A, Karassawa Zanoni D, Shah JP, Wong RJ, et al. Distant metastasis of salivary gland cancer: Incidence, management, and outcomes. *Cancer.* 15 mai 2020;126(10):2153-62.
30. Fakhry - COMITE D'ORGANISATION.pdf [Internet]. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.sforl.org/wp-content/uploads/2020/07/Recommandation-SFORL-Prise-en-charge-de-l%E2%80%99ad%C3%A9nome-pl%C3%A9omorphe-2020.pdf>
31. Rossi ED, Faquin WC, Baloch Z, Barkan GA, Foschini MP, Pusztaszeri M, et al. The Milan System for Reporting Salivary Gland Cytopathology: Analysis and suggestions of initial survey. *Cancer Cytopathol.* oct 2017;125(10):757-66.
32. Aegerter DP, Cosmidis DA. Participants Bureau REFCOR. :15.
33. Référentiel-régional-VADS-VF.pdf [Internet]. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <https://www.onco-hdf.fr/app/uploads/2019/11/R%C3%A9f%C3%A9rentiel-r%C3%A9gional-VADS-VF.pdf>
34. BAGLIN AC. Bulletin de la Division Française de l'Académie Internationale de Pathologie, REFCOR : Réseau d'Expertise Français sur les Cancers ORL Rares. 2016.
35. Accueil - Réseau d'Expertise Français sur les Cancers ORL Rares - French Network of Rare Head and Neck Tumors [Internet]. [cité 7 juin 2022]. Disponible sur: <http://refcor.org/>
36. Thompson LDR. Diagnostic Pathology Head and Neck, Second Edition. Elsevier. 2016.
37. Goode RK, Auclair PL, Ellis GL. Mucoepidermoid carcinoma of the major salivary glands: clinical and histopathologic analysis of 234 cases with evaluation of grading criteria. *Cancer.* 1 avr 1998;82(7):1217-24.
38. Brandwein MS, Ferlito A, Bradley PJ, Hille JJ, Rinaldo A. Diagnosis and classification of salivary neoplasms: pathologic challenges and relevance to clinical outcomes. *Acta Otolaryngol (Stockh).* oct 2002;122(7):758-64.

39. Tirado Y, Williams MD, Hanna EY, Kaye FJ, Batsakis JG, El-Naggar AK. CRTC1/MAML2 fusion transcript in high grade mucoepidermoid carcinomas of salivary and thyroid glands and Warthin's tumors: implications for histogenesis and biologic behavior. *Genes Chromosomes Cancer*. juill 2007;46(7):708-15.
40. Fehr A, Röser K, Heidorn K, Hallas C, Löning T, Bullerdiek J. A new type of MAML2 fusion in mucoepidermoid carcinoma. *Genes Chromosomes Cancer*. mars 2008;47(3):203-6.
41. Möller E, Stenman G, Mandahl N, Hamberg H, Mölne L, van den Oord JJ, et al. POU5F1, encoding a key regulator of stem cell pluripotency, is fused to EWSR1 in hidradenoma of the skin and mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands. *J Pathol*. mai 2008;215(1):78-86.
42. Jee KJ, Persson M, Heikinheimo K, Passador-Santos F, Aro K, Knuutila S, et al. Genomic profiles and CRTC1-MAML2 fusion distinguish different subtypes of mucoepidermoid carcinoma. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. févr 2013;26(2):213-22.
43. Kang H, Tan M, Bishop JA, Jones S, Sausen M, Ha PK, et al. Whole-Exome Sequencing of Salivary Gland Mucoepidermoid Carcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 janv 2017;23(1):283-8.
44. Skálová A, Hycza MD, Vaneček T, Baněčková M, Leivo I. Fusion-positive salivary gland carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer*. mai 2022;61(5):228-43.
45. Perzin KH, Gullane P, Clairmont AC. Adenoid cystic carcinomas arising in salivary glands: a correlation of histologic features and clinical course. *Cancer*. juill 1978;42(1):265-82.
46. Szanto PA, Luna MA, Tortoledo ME, White RA. Histologic grading of adenoid cystic carcinoma of the salivary glands. *Cancer*. 15 sept 1984;54(6):1062-9.
47. Persson M, Andrén Y, Mark J, Horlings HM, Persson F, Stenman G. Recurrent fusion of MYB and NFIB transcription factor genes in carcinomas of the breast and head and neck. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 3 nov 2009;106(44):18740-4.
48. de Almeida-Pinto YD, Costa SFDS, de Andrade BAB, Altemani A, Vargas PA, Abreu LG, et al. t(6;9)(MYB-NFIB) in head and neck adenoid cystic carcinoma: A systematic review with meta-analysis. *Oral Dis*. juill 2019;25(5):1277-82.
49. Mitani Y, Liu B, Rao PH, Borra VJ, Zafereo M, Weber RS, et al. Novel MYBL1 Gene Rearrangements with Recurrent MYBL1-NFIB Fusions in Salivary Adenoid Cystic Carcinomas Lacking t(6;9) Translocations. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 1 févr 2016;22(3):725-33.
50. Rettig EM, Talbot CC, Sausen M, Jones S, Bishop JA, Wood LD, et al. Whole-Genome Sequencing of Salivary Gland Adenoid Cystic Carcinoma. *Cancer Prev Res Phila Pa*. avr 2016;9(4):265-74.
51. Shibata E, Morita KI, Kayamori K, Tange S, Shibata H, Harazono Y, et al. Detection of novel fusion genes by next-generation sequencing-based targeted RNA sequencing analysis in adenoid cystic carcinoma of head and neck. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. oct 2021;132(4):426-33.
52. Bubola J, MacMillan CM, Demicco EG, Chami RA, Chung CTS, Leong I, et al. Targeted RNA sequencing in the routine clinical detection of fusion genes in salivary gland tumors. *Genes Chromosomes Cancer*. oct 2021;60(10):695-708.
53. Ferrarotto R, Mitani Y, Diao L, Guijarro I, Wang J, Zweidler-McKay P, et al. Activating NOTCH1 Mutations Define a Distinct Subgroup of Patients With Adenoid Cystic Carcinoma Who Have Poor Prognosis, Propensity to Bone and Liver Metastasis, and Potential

Responsiveness to Notch1 Inhibitors. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 janv 2017;35(3):352-60.

54. Antonescu CR, Katabi N, Zhang L, Sung YS, Seethala RR, Jordan RC, et al. EWSR1-ATF1 fusion is a novel and consistent finding in hyalinizing clear-cell carcinoma of salivary gland. *Genes Chromosomes Cancer*. juill 2011;50(7):559-70.

55. Fisher C. The diversity of soft tissue tumours with EWSR1 gene rearrangements: a review. *Histopathology*. janv 2014;64(1):134-50.

56. Chapman E, Skalova A, Ptakova N, Martinek P, Goytain A, Tucker T, et al. Molecular Profiling of Hyalinizing Clear Cell Carcinomas Revealed a Subset of Tumors Harboring a Novel EWSR1-CREM Fusion: Report of 3 Cases. *Am J Surg Pathol*. sept 2018;42(9):1182-9.

57. Bilodeau EA, Weinreb I, Antonescu CR, Zhang L, Dacic S, Muller S, et al. Clear cell odontogenic carcinomas show EWSR1 rearrangements: a novel finding and a biological link to salivary clear cell carcinomas. *Am J Surg Pathol*. juill 2013;37(7):1001-5.

58. Vogels R, Baumhoer D, van Gorp J, Eijkelenboom A, Verdijk M, van Cleef P, et al. Clear Cell Odontogenic Carcinoma: Occurrence of EWSR1-CREB1 as Alternative Fusion Gene to EWSR1-ATF1. *Head Neck Pathol*. juin 2019;13(2):225-30.

59. Breik O, Higginson J, Al-Ajami AK, Mohamed A, Martin T, Amel-Kashipaz R. Clear Cell Odontogenic Carcinoma: First Report of Novel EWSR1-CREM Fusion Gene in Case of Long-Term Misdiagnosis. *Head Neck Pathol*. déc 2021;15(4):1391-8.

60. Skálová A, Vanecek T, Sima R, Laco J, Weinreb I, Perez-Ordóñez B, et al. Mammary analogue secretory carcinoma of salivary glands, containing the ETV6-NTRK3 fusion gene: a hitherto undescribed salivary gland tumor entity. *Am J Surg Pathol*. mai 2010;34(5):599-608.

61. Csanyi-Bastien M, Lanic MD, Beaussire L, Ferric S, François A, Meseure D, et al. Pan-TRK Immunohistochemistry Is Highly Correlated With NTRK3 Gene Rearrangements in Salivary Gland Tumors. *Am J Surg Pathol*. 1 nov 2021;45(11):1487-98.

62. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, DuBois SG, Lassen UN, Demetri GD, et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med*. 22 févr 2018;378(8):731-9.

63. Black M, Liu CZ, Onozato M, Iafrate AJ, Darvishian F, Jour G, et al. Concurrent Identification of Novel EGFR-SEPT14 Fusion and ETV6-RET Fusion in Secretory Carcinoma of the Salivary Gland. *Head Neck Pathol*. sept 2020;14(3):817-21.

64. Rooper LM, Karantanos T, Ning Y, Bishop JA, Gordon SW, Kang H. Salivary Secretory Carcinoma With a Novel ETV6-MET Fusion: Expanding the Molecular Spectrum of a Recently Described Entity. *Am J Surg Pathol*. août 2018;42(8):1121-6.

65. Guilmette J, Dias-Santagata D, Nosé V, Lennerz JK, Sadow PM. Novel gene fusions in secretory carcinoma of the salivary glands: enlarging the ETV6 family. *Hum Pathol*. janv 2019;83:50-8.

66. Skalova A, Vanecek T, Martinek P, Weinreb I, Stevens TM, Simpson RHW, et al. Molecular Profiling of Mammary Analog Secretory Carcinoma Revealed a Subset of Tumors Harboring a Novel ETV6-RET Translocation: Report of 10 Cases. *Am J Surg Pathol*. févr 2018;42(2):234-46.

67. Sasaki E, Masago K, Fujita S, Suzuki H, Hanai N, Hosoda W. Salivary Secretory Carcinoma Harboring a Novel ALK Fusion: Expanding the Molecular Characterization of Carcinomas Beyond the ETV6 Gene. *Am J Surg Pathol*. juill 2020;44(7):962-9.

68. Skálová A, Banečková M, Thompson LDR, Ptáková N, Stevens TM, Brcic L, et al. Expanding the Molecular Spectrum of Secretory Carcinoma of Salivary Glands With a Novel VIM-RET Fusion. *Am J Surg Pathol*. oct 2020;44(10):1295-307.

69. Skálová A, Ptáková N, Santana T, Agaimy A, Ihrler S, Uro-Coste E, et al. NCOA4-RET and TRIM27-RET Are Characteristic Gene Fusions in Salivary Intraductal Carcinoma, Including Invasive and Metastatic Tumors: Is « Intraductal » Correct? *Am J Surg Pathol.* oct 2019;43(10):1303-13.
70. Skálová A, Vanecek T, Uro-Coste E, Bishop JA, Weinreb I, Thompson LDR, et al. Molecular Profiling of Salivary Gland Intraductal Carcinoma Revealed a Subset of Tumors Harboring NCOA4-RET and Novel TRIM27-RET Fusions: A Report of 17 cases. *Am J Surg Pathol.* nov 2018;42(11):1445-55.
71. Rooper LM, Thompson LDR, Gagan J, Oliai BR, Weinreb I, Bishop JA. Salivary Intraductal Carcinoma Arising within Intraparotid Lymph Node: A Report of 4 Cases with Identification of a Novel STRN-ALK Fusion. *Head Neck Pathol.* mars 2021;15(1):179-85.
72. Bishop JA, Nakaguro M, Whaley RD, Ogura K, Imai H, Lakloulou I, et al. Oncocytic intraductal carcinoma of salivary glands: a distinct variant with TRIM33-RET fusions and BRAF V600E mutations. *Histopathology.* sept 2021;79(3):338-46.
73. Agaimy A, Baněčková M, Ihrler S, Mueller SK, Franchi A, Hartmann A, et al. ALK Rearrangements Characterize 2 Distinct Types of Salivary Gland Carcinomas: Clinicopathologic and Molecular Analysis of 4 Cases and Literature Review. *Am J Surg Pathol.* 1 sept 2021;45(9):1166-78.
74. Haller F, Skálová A, Ihrler S, Märkl B, Bieg M, Moskalev EA, et al. Nuclear NR4A3 Immunostaining Is a Specific and Sensitive Novel Marker for Acinic Cell Carcinoma of the Salivary Glands. *Am J Surg Pathol.* sept 2019;43(9):1264-72.
75. Haller F, Bieg M, Will R, Körner C, Weichenhan D, Bott A, et al. Enhancer hijacking activates oncogenic transcription factor NR4A3 in acinic cell carcinomas of the salivary glands. *Nat Commun.* 21 janv 2019;10(1):368.
76. Andreasen S, Varma S, Barasch N, Thompson LDR, Miettinen M, Rooper L, et al. The HTN3-MSANTD3 Fusion Gene Defines a Subset of Acinic Cell Carcinoma of the Salivary Gland. *Am J Surg Pathol.* avr 2019;43(4):489-96.
77. Barasch N, Gong X, Kwei KA, Varma S, Biscocho J, Qu K, et al. Recurrent rearrangements of the Myb/SANT-like DNA-binding domain containing 3 gene (MSANTD3) in salivary gland acinic cell carcinoma. *PLoS One.* 2017;12(2):e0171265.
78. Dalin MG, Katabi N, Persson M, Lee KW, Makarov V, Desrichard A, et al. Multi-dimensional genomic analysis of myoepithelial carcinoma identifies prevalent oncogenic gene fusions. *Nat Commun.* 30 oct 2017;8(1):1197.
79. Stevens TM, Qarmali M, Morlote D, Mikhail FM, Swensen J, Gatalica Z, et al. Malignant Ewing-Like Neoplasm With an EWSR1-KLF15 Fusion: At the Crossroads of a Myoepithelial Carcinoma and a Ewing-Like Sarcoma. A Case Report With Treatment Options. *Int J Surg Pathol.* août 2018;26(5):440-7.
80. Majewska H, Gorczyński A, Czapiewski P, Menon R, Mueller J, Lakis S, et al. ALK alterations in salivary gland carcinomas. *Virchows Arch Int J Pathol.* mai 2021;478(5):933-41.
81. Michal M, Skálová A, Simpson RH, Raslan WF, Curík R, Leivo I, et al. Cribriform adenocarcinoma of the tongue: a hitherto unrecognized type of adenocarcinoma characteristically occurring in the tongue. *Histopathology.* déc 1999;35(6):495-501.
82. Skalova A, Sima R, Kaspirkova-Nemcova J, Simpson RHW, Elmberger G, Leivo I, et al. Cribriform adenocarcinoma of minor salivary gland origin principally affecting the tongue: characterization of new entity. *Am J Surg Pathol.* août 2011;35(8):1168-76.

83. Weinreb I, Zhang L, Tirunagari LMS, Sung YS, Chen CL, Perez-Ordóñez B, et al. Novel PRKD gene rearrangements and variant fusions in cribriform adenocarcinoma of salivary gland origin. *Genes Chromosomes Cancer*. oct 2014;53(10):845-56.
84. Bishop JA, Weinreb I, Swanson D, Westra WH, Qureshi HS, Sciubba J, et al. Microsecretory Adenocarcinoma: A Novel Salivary Gland Tumor Characterized by a Recurrent MEF2C-SS18 Fusion. *Am J Surg Pathol*. août 2019;43(8):1023-32.
85. Wasserman JK, Dickson BC, Smith A, Swanson D, Purgina BM, Weinreb I. Metastasizing Pleomorphic Adenoma: Recurrent PLAG1/HMGA2 Rearrangements and Identification of a Novel HMGA2-TMTC2 Fusion. *Am J Surg Pathol*. août 2019;43(8):1145-51.
86. Baněčková M, Uro-Coste E, Ptáková N, Šteiner P, Stanowska O, Benincasa G, et al. What is hiding behind S100 protein and SOX10 positive oncocytomas? Oncocytic pleomorphic adenoma and myoepithelioma with novel gene fusions in a subset of cases. *Hum Pathol*. sept 2020;103:52-62.
87. Freiburger SN, Brada M, Fritz C, Höller S, Vogetseder A, Horcic M, et al. SalvGlandDx - a comprehensive salivary gland neoplasm specific next generation sequencing panel to facilitate diagnosis and identify therapeutic targets. *Neoplasia N Y N*. mai 2021;23(5):473-87.
88. Lanic M-D, Wassef M, Meseure M, Guérin R, Baglin A-C, Jardin F et al. Ligation-dependent RT-PCR: a new specific and low-cost technique to detect gene fusion in salivary gland tumors. Abstract from USCAP 2020: Head and Neck Pathology (1235-1315). *Mod Pathol* 33, 1338–1408 (2020).
89. Piton N, Lanic MD, Marguet F, Lamy A, Blanchard F, Guisier F, et al. An improved assay for detection of theranostic gene translocations and MET exon 14 skipping in thoracic oncology. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. mai 2021;101(5):648-60.
90. Piton N, Ruminy P, Gravet C, Marchand V, Colasse É, Lamy A, et al. Ligation-dependent RT-PCR: a new specific and low-cost technique to detect ALK, ROS, and RET rearrangements in lung adenocarcinoma. *Lab Invest J Tech Methods Pathol*. mars 2018;98(3):371-9.
91. Ruminy P, Marchand V, Buchbinder N, Larson T, Joly B, Penther D, et al. Multiplexed targeted sequencing of recurrent fusion genes in acute leukaemia. *Leukemia*. mars 2016;30(3):757-60.
92. Lanic MD, Le Loarer F, Rainville V, Sater V, Viennot M, Beaussire L, et al. Detection of sarcoma fusions by a next-generation sequencing based-ligation-dependent multiplex RT-PCR assay. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. mai 2022;35(5):649-63.
93. Queimado L, Lopes CS, Reis AMC. WIF1, an inhibitor of the Wnt pathway, is rearranged in salivary gland tumors. *Genes Chromosomes Cancer*. mars 2007;46(3):215-25.
94. Geurts JM, Schoenmakers EF, Röijer E, Stenman G, Van de Ven WJ. Expression of reciprocal hybrid transcripts of HMGIC and FHIT in a pleomorphic adenoma of the parotid gland. *Cancer Res*. 1 janv 1997;57(1):13-7.
95. Agaimy A, Ihrler S, Baněčková M, Costés Martineau V, Mantsopoulos K, Hartmann A, et al. HMGA2-WIF1 Rearrangements Characterize a Distinctive Subset of Salivary Pleomorphic Adenomas With Prominent Trabecular (Canalicular Adenoma-like) Morphology. *Am J Surg Pathol*. 1 févr 2022;46(2):190-9.
96. Voz ML, Aström AK, Kas K, Mark J, Stenman G, Van de Ven WJ. The recurrent translocation t(5;8)(p13;q12) in pleomorphic adenomas results in upregulation of PLAG1 gene expression under control of the LIFR promoter. *Oncogene*. mars 1998;16(11):1409-16.

97. Asp J, Persson F, Kost-Alimova M, Stenman G. CHCHD7-PLAG1 and TCEA1-PLAG1 gene fusions resulting from cryptic, intrachromosomal 8q rearrangements in pleomorphic salivary gland adenomas. *Genes Chromosomes Cancer*. sept 2006;45(9):820-8.
98. Pei J, Liu JC, Ehya H, Wei S. BOC-PLAG1, a new fusion gene of pleomorphic adenoma: Identified in a fine-needle aspirate by RNA next-generation sequencing. *Diagn Cytopathol*. juin 2021;49(6):790-2.
99. Afshari MK, Fehr A, Nevado PT, Andersson MK, Stenman G. Activation of PLAG1 and HMGA2 by gene fusions involving the transcriptional regulator gene NFIB. *Genes Chromosomes Cancer*. nov 2020;59(11):652-60.
100. Asahina M, Saito T, Hayashi T, Fukumura Y, Mitani K, Yao T. Clinicopathological effect of PLAG1 fusion genes in pleomorphic adenoma and carcinoma ex pleomorphic adenoma with special emphasis on histological features. *Histopathology*. févr 2019;74(3):514-25.
101. Seethala RR. An Update on Grading of Salivary Gland Carcinomas. *Head Neck Pathol*. 25 févr 2009;3(1):69-77.
102. Zhang CY, Xia RH, Han J, Wang BS, Tian WD, Zhong LP, et al. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: clinicopathologic analysis of 218 cases in a Chinese population. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol*. mars 2013;115(3):368-75.
103. Xu B, Drill E, Ho A, Ho A, Dunn L, Prieto-Granada CN, et al. Predictors of Outcome in Adenoid Cystic Carcinoma of Salivary Glands: A Clinicopathologic Study With Correlation Between MYB Fusion and Protein Expression. *Am J Surg Pathol*. oct 2017;41(10):1422-32.
104. Skálová A, Stenman G, Simpson RHW, Hellquist H, Slouka D, Svoboda T, et al. The Role of Molecular Testing in the Differential Diagnosis of Salivary Gland Carcinomas. *Am J Surg Pathol*. févr 2018;42(2):e11-27.
105. Le X, Baik C, Bauman J, Gilbert J, Brose MS, Grilley-Olson JE, et al. Larotrectinib Treatment for Patients With TRK Fusion-Positive Salivary Gland Cancers. *The Oncologist*. 10 mai 2022;oyac080.
106. Subbiah V, Gainor JF, Rahal R, Brubaker JD, Kim JL, Maynard M, et al. Precision Targeted Therapy with BLU-667 for RET-Driven Cancers. *Cancer Discov*. juill 2018;8(7):836-49.
107. Bishop JA. Immunohistochemistry surrogates for molecular alterations: A new paradigm in salivary gland tumor cytopathology? *Cancer Cytopathol*. févr 2021;129(2):102-3.
108. Haack H, Johnson LA, Fry CJ, Crosby K, Polakiewicz RD, Stelow EB, et al. Diagnosis of NUT midline carcinoma using a NUT-specific monoclonal antibody. *Am J Surg Pathol*. juill 2009;33(7):984-91.
109. Seethala RR, Dacic S, Cieply K, Kelly LM, Nikiforova MN. A reappraisal of the MECT1/MAML2 translocation in salivary mucoepidermoid carcinomas. *Am J Surg Pathol*. août 2010;34(8):1106-21.
110. Okumura Y, Nakano S, Murase T, Ueda K, Kawakita D, Nagao T, et al. Prognostic impact of CRTC1/3-MAML2 fusions in salivary gland mucoepidermoid carcinoma: A multiinstitutional retrospective study. *Cancer Sci*. nov 2020;111(11):4195-204.
111. Nakayama T, Miyabe S, Okabe M, Sakuma H, Ijichi K, Hasegawa Y, et al. Clinicopathological significance of the CRTC3-MAML2 fusion transcript in mucoepidermoid carcinoma. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. déc 2009;22(12):1575-81.
112. Coca-Pelaz A, Rodrigo JP, Triantafyllou A, Hunt JL, Rinaldo A, Strojjan P, et al. Salivary mucoepidermoid carcinoma revisited. *Eur Arch Oto-Rhino-Laryngol Off J Eur Fed Oto-Rhino-Laryngol Soc EUFOS Affil Ger Soc Oto-Rhino-Laryngol - Head Neck Surg*. avr 2015;272(4):799-819.

113. Behboudi A, Enlund F, Winnes M, Andr en Y, Nordkvist A, Leivo I, et al. Molecular classification of mucoepidermoid carcinomas-prognostic significance of the MECT1-MAML2 fusion oncogene. *Genes Chromosomes Cancer*. mai 2006;45(5):470-81.
114. Cipriani NA, Lusardi JJ, McElherne J, Pearson AT, Olivas AD, Fitzpatrick C, et al. Mucoepidermoid Carcinoma: A Comparison of Histologic Grading Systems and Relationship to MAML2 Rearrangement and Prognosis. *Am J Surg Pathol*. juill 2019;43(7):885-97.
115. Fehr A, Werenicz S, Trocchi P, Falk M, Friedrich RE, Stammer A, et al. Mucoepidermoid carcinoma of the salivary glands revisited with special reference to histologic grading and CRTC1/3-MAML2 genotyping. *Virchows Arch Int J Pathol*. nov 2021;479(5):975-85.
116. Seethala RR, Chiosea SI. MAML2 Status in Mucoepidermoid Carcinoma Can No Longer Be Considered a Prognostic Marker. *Am J Surg Pathol*. ao t 2016;40(8):1151-3.
117. Birkeland AC, Foltin SK, Michmerhuizen NL, Hoesli RC, Rosko AJ, Byrd S, et al. Correlation of Crtc1/3-Maml2 fusion status, grade and survival in mucoepidermoid carcinoma. *Oral Oncol*. mai 2017;68:5-8.
118. Rettig EM, Tan M, Ling S, Yonescu R, Bishop JA, Fakhry C, et al. MYB rearrangement and clinicopathologic characteristics in head and neck adenoid cystic carcinoma. *The Laryngoscope*. sept 2015;125(9):E292-299.
119. Han J, Zhang C, Gu T, Yang X, Hu L, Tian Z, et al. Analysis of clinicopathological characteristics, MYB rearrangement and prognostic factors in salivary adenoid cystic carcinoma. *Oncol Lett*. mars 2019;17(3):2915-22.
120. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw AT, Farago AF, et al. Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1-2 trials. *Lancet Oncol*. f vr 2020;21(2):271-82.
121. Florou V, Nevala-Plagemann C, Whisenant J, Maeda P, Gilcrease GW, Garrido-Laguna I. Clinical Activity of Selitrectinib in a Patient With Mammary Analogue Secretory Carcinoma of the Parotid Gland With Secondary Resistance to Entrectinib. *J Natl Compr Cancer Netw JNCCN*. mai 2021;19(5):478-82.
122. Thway K, Fisher C. Tumors with EWSR1-CREB1 and EWSR1-ATF1 fusions: the current status. *Am J Surg Pathol*. juill 2012;36(7):e1-11.
123. Stenman G. Fusion oncogenes in salivary gland tumors: molecular and clinical consequences. *Head Neck Pathol*. juill 2013;7 Suppl 1:S12-19.

Résumé :

Introduction :

Les tumeurs des glandes salivaires sont rares et présentent une grande diversité histomorphologique, rendant leur diagnostic histologique parfois difficile notamment pour les entités les plus rares, les sous-types morphologiques particuliers, ou les prélèvements de petite taille. L'émergence de technologies de séquençage de nouvelle génération a apporté une aide précieuse en pathologie tumorale avec la mise en évidence de gènes de fusion, spécifiques de certaines entités.

Méthode :

Une série de 204 tumeurs salivaires bénignes et malignes, associées à des transcrits de fusion, bien caractérisées histologiquement par le réseau d'expertise REFCORpath, a été analysée par NGS ciblé par LD-RT-PCR (panel « glandes salivaires » ciblant 70 transcrits de fusion). Une évaluation de la prévalence de ces transcrits au sein de chaque type tumoral et une comparaison par rapport au diagnostic pré-moléculaire ont été réalisés.

Résultats :

Le NGS ciblé par LD-RT-PCR a permis de détecter un transcrit de fusion dans 66.7% des tumeurs (136/204) dont 74.8% des tumeurs malignes (116/155) et 40.8% des bénignes (20/49) et a affiné le diagnostic pour 15 tumeurs (9.7%). Les prévalences des transcrits récurrents détectés sont concordantes avec les données de la littérature. Certaines particularités histologiques ont été relevés comme associées à certains transcrits, à confirmer sur l'analyse d'un plus grand nombre de tumeurs.

Conclusion :

La biologie moléculaire tient aujourd'hui une place majeure pour le diagnostic des tumeurs des glandes salivaires avec également un intérêt théranostique. Le NGS ciblé par LD-RT-PCR peut être proposé comme un excellent examen moléculaire de screening large de première intention. Cette technique a l'avantage d'être peu coûteuse, rapide et présente une bonne tolérance concernant la qualité de l'ARN extrait.