



HAL
open science

Étude du micro-environnement immunitaire dans les tumeurs fibreuses solitaires : rôle de l'immunité innée. étude rétrospective à propos de 137 cas

Mathias Colantonio

► To cite this version:

Mathias Colantonio. Étude du micro-environnement immunitaire dans les tumeurs fibreuses solitaires : rôle de l'immunité innée. étude rétrospective à propos de 137 cas. Anatomie, Histologie, Anatomopathologie [q-bio.TO]. 2022. dumas-04541575

HAL Id: dumas-04541575

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04541575v1>

Submitted on 15 Oct 2024

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

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

UNIVERSITE DES ANTILLES

2022

FACULTE DE MEDECINE
HYACINTHE BASTARAUD
N° 2022ANTI0746

**Etude du micro-environnement immunitaire dans les
tumeurs fibreuses solitaires**

Rôle de l'immunité innée - étude rétrospective à propos de 137 cas

THESE

Présentée et soutenue publiquement à la Faculté des Sciences Médicales et Paramédicales
d'Aix Marseille Université
Et examinée par les Enseignants de ladite Faculté

Le 8 Avril 2022

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MEDECINE

Par

COLANTONIO MATHIAS

Examineurs de la thèse :

Monsieur le Professeur TERRIS Benoit

Président

Monsieur le Professeur DANIEL Laurent

Assesseur

Monsieur le Professeur MOLINIÉ Vincent

Assesseur

Madame le Docteur (MCU-PH) BOUVIER Corinne

Directrice

Monsieur le Docteur DIEDHIOU Abdoulaye

Assesseur

UNIVERSITE DES ANTILLES



FACULTE DE MEDECINE HYACINTHE BASTARAUD

Président de l'Université : Eustase JANKY

Doyen de la Faculté de Médecine : Suzy DUFLO

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Christophe DELIGNY

NEVIERE Rémi

Physiologie
CHU de MARTINIQUE
Tel : 0696

Pascal BLANCHET

Chirurgie Urologique
CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES
Tel : 05 90 89 13 95 - Tel/Fax 05 90 89 17 87

André-Pierre UZEL

Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES

Tel : 05 90 89 14 66 – Fax : 0590 89 17 44

Pierre COUPPIE

Dermatologie
CH de CAYENNE
Tel : 05 94 39 53 39 - Fax : 05 94 39 52 83

Bertand De TOFFOL

Neurologie
CH de CAYENNE

Suzy DUFLO

ORL – Chirurgie Cervico-Faciale
CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES
Tel : 05 90 93 46 16

Eustase JANKY

Gynécologie-Obstétrique
CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES
Tel 05 90 89 13 89 - Fax 05 90 89 13 88

DE BANDT Michel

Rhumatologie
CHU de MARTINIQUE
Tel : 05 96 55 23 52 - Fax : 05 96 75 84 44

François ROQUES

Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
CHU de MARTINIQUE
Tel : 05 96 55 22 71 - Fax : 05 96 75 84 38

Jean ROUDIE

Chirurgie Digestive

CHU de MARTINIQUE

Tel : 05 96 55 21 01

Tel : 05 96 55 22 71 - Fax : 05 96 75 84 38

André CABIE

CHU de MARTINIQUE

Tel : 05 96 55 23 01

Philippe CABRE

Neurologie

CHU de MARTINIQUE

Tel : 05 96 55 22 61

Raymond CESAIRE

**Bactériologie-Virologie-Hygiène option
virologie**

CHU de MARTINIQUE

Tel : 05 96 55 24 11

Sébastien BREUREC

Bactériologie & Vénérologie

Hygiène hospitalière

CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES

Tel : 05 90 89 12 80

Antoine ADENIS

**Epidémiologie, Economie de la Santé
et Prévention**

CH de CAYENNE

Annie LANNUZEL

Neurologie

CHU de POINTE- À -PITRE/ABYMES

Tel : 05 90 89 14 13

Louis JEHEL

Psychiatrie Adulte

CHU de MARTINIQUE

Tel : 05 96 55 20 44

Mathieu NACHER

Epidémiologie

CH de CAYENNE

Tel : 05 94 93 50 24

Michel CARLES

Anesthésie-

Réanimation

CHU de POINTE-A-PITRE/BYMES

Tel : 05 90 89 17 74

Magalie DEMAR-PIERRE

Parasitologie et Infectiologue

CH de CAYENNE

Tel : 05 94 39 53 09

Vincent MOLINIE

Anatomie Cytologie Pathologique

CHU de MARTINIQUE

Tel : 05 96 55 20 85/55 23 50

Philippe KADHEL

Gynécologie-Obstétrique
CHU de POINTE-A-PITRE/ABYMES
Tel : 0690

Jeannie HELENE-PELAGE

Médecine Générale
Cabinet libéral au Gosier
Tel : 05 90 84 44 40 - Fax : 05 90 84 78 90

MEJDOUBI Mehdi

Radiologie et Imagerie
Tel : 0696
CHU de MARTINIQUE

VENISSAC Nicolas

**Chirurgie Thoracique Et
cardiovasculaire**
CHU de MARTINIQUE
Tel : 0696

DJOSSOU Félix

**Maladies Infectieuses
Et tropicales**
CH de CAYENNE
Tél : 0694

Christophe DELIGNY

Gériatrie et biologie du vieillissement
CHU de MARTINIQUE
Tel : 05 96 55 22 55

Narcisse ELENGA

Pédiatrie
CH de CAYENNE
Tel : 06 94

Karim FARID

Médecine Nucléaire
CHU de MARTINIQUE
Tel : 05 96 55 24 61

Moustapha DRAME

**Epidémiologie Economie de la Santé et
Prévention**
CHU de MARTINIQUE

TABUE TEGUO Maturin

**Médecine interne : Gériatrie et biologie
Du vieillissement**
CHU de GUADELOUPE
Tel : 0690

CORDEL-WATTIER Nadège

Dermato -Vénérologie
CHU de GUADELOUPE

ROGER Pierre-Marie

Maladies Infectieuses, Maladies Tropicales
CHU de GUADELOUPE

MERLE Harold

Ophthalmologie
CHU de MARTINIQUE

Kallel HATEM

Médecine Intensive-Réanimation
CHU de CAYENNE

Stéphanie PUGET

Neurochirurgie
CHU de MARTINIQUE

DELOUMEAUX-TYNDAL Jacqueline

**Epidémiologie, économie de la santé et
prévention**
CHU de GUADELOUPE

Professeurs des Universités Associé

Franciane GANE-TROPLENT

Médecine générale
Cabinet libéral les Abymes
Tel : 05 90 20 39 37

Papa Ngalgou GUEYE

Médecine D'urgence
CHU de MARTINIQUE

Hossein MEHDAOUI

Médecine Intensive-Réanimation
CHU de MARTINIQUE

Maître de Conférences des Universités - Praticiens Hospitaliers

Jocelyn INAMO

Cardiologie
CHU de MARTINIQUE
Tel : 05 96 55 23 72 - Fax : 05 96 75 84 38

Fritz-Line VELAYOUDOM épouse CEPHISE

Endocrinologie
CHU de GUADELOUPE
Tel : 05 90 89 13 03

Marie-Laure LALANNE-MISTRIH

Nutrition
CHU de GUADELOUPE
Tel : 05 90 89 13 00

GELU-SIMEON Moana

Gastroentérologie
CHU de GUADELOUPE
Tel : 06 90 - Fax : 05 90 75 84 38

BACCINI Véronique

Hématologie, Transfusion
CHU de de GUADELOUPE
Tel : 05 90 89 12 77

MASSE Franck

Médecine Générale
Tél : 0596 56 13 23

JOACHIM-CONTARET Clarisse

**Epidémiologie, Economie de la Santé et
prévention**
CHU de MARTINIQUE

BRUREAU Laurent

Chirurgie Urologique
CHU de GUADELOUPE

**KANGAMBEGA-CHATEAU-DEGAT
Walé**

Médecin généraliste
Maison de santé Pluriprof du Lamentin

CARRERE Philippe

Médecin généraliste
60 route du camp Jacob
Tel : 0690

BERAL Cindy

Ophtalmologie
CHU de GUADELOUPE

Chefs de Clinique des Universités - Assistants des Hôpitaux

PELAGES Malaïka

Endocrinologie
CHU DE GUADELOUPE

CHAUMONT Hugo

Neurologie
CHU de GUADELOUPE

GOUBAND Agathe

Hématologie
CHU de GUADELOUPE
Tel : 0590 89 14 50

OBERT-MARBY Camille

Médecin Générale CH de
l'OUEST GUYANAIS

BAGOEE Cécile

Médecine Interne
CHU de MARTINIQUE

AOUN Tanous

Chirurgie Cardiaque et Thoracique
CHU de MARTINIQUE

GUCKERT Marion

Gynécologie Obstétrique
CHU de GUADELOUPE

ABOUT Frédégonde

Maladies Infectieuses
CHU de MARTINIQUE

LOUIS-SIDNEY Fabienne

Cardiologie
CHU de MARTINIQUE

CEVA Antoine

ORL
CHU de GUADELOUPE

DECAESTECKER Antoine

Anesthésiologie/Réanimation
CHU de GUADELOUPE

HERTAULT Hugo

Chirurgie Générale
CHU de MARTINIQUE

LAMOUREUX Carl

Dermatologie
CHU de CAYENNE

LOBJOIS Quentin

Neurologie
CHU de MARTINIQUE

JEANTET Pierre

Cardiologie
CHU de MARTINIQUE

MONNIER Benjamin

Gynécologie Obstétrique
CHU de GUADELOUPE

SADREUX Yvonne

Urologie
CHU de GUADELOUPE

BODESCU Véronica Adela

Psychiatrie
CHU de MARTINIQUE

BAALA Mélina

Médecine Générale
Cabinet du Dr BUCHER
Tel : 0690

COUSIN Pauline

Médecine Générale
Service CDSP

LARA Kève-Yann

Médecine Générale
Maison Médicale de la Rotonde

VAINQUEUR Larissa

Médecine Interne Gériatrie
CHU de GUADELOUPE

SELLENET Thomas

Chirurgie Orthopédique
CHU MARTINIQUE

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

A Monsieur le Professeur TERRIS Benoit, président du jury,

Vous m'avez fait l'honneur de présider cette thèse. Je vous témoigne ma profonde reconnaissance, et ma gratitude pour votre présence en ce jour. Je vous remercie également pour votre bienveillance, et pour votre implication dans l'encadrement des internes d'anatomie et cytologie pathologique de l'université des Antilles et de la Guyane.

A Madame le Docteur BOUVIER Corinne, directrice de thèse,

Merci d'avoir accepté de diriger ma thèse et de m'avoir accompagné tout au long de ce travail. D'avoir été là pour les aspects techniques de ce travail, les réponses à toutes mes questions pendant plus d'un an et demi à découvrir les TFS et les macrophages. Merci pour votre confiance et votre disponibilité. Merci également d'avoir participé à ma formation durant mon passage dans la subdivision d'Aix-Marseille, et pour votre implication dans la formation des internes.

A Monsieur le Professeur DANIEL Laurent,

Merci de me faire l'honneur de participer à cette soutenance en tant que membre du jury. Merci pour votre formation durant ces deux années d'internat marseillais, et votre soutien lors des moments plus folkloriques dans les locaux de l'administration de l'AP-HM. Merci pour ces articles et ces remarques en guise d'enseignement. Veuillez trouver ici l'expression de ma reconnaissance pour ces semestres loin de ma subdivision.

A Monsieur le Professeur MOLINIE Vincent,

Merci de me faire l'honneur d'être présent pour cette thèse. Merci pour ces conseils, ces corrections, ces mises au point, ces articles, ces lames, et ces nombreuses discussions. Merci pour votre implication, toutes ces connaissances et ces heures passées au multi-têtes. Après presque 4 ans depuis ces mois martiniquais, jusqu'à ceux au CH d'Aix-en-Provence, c'était un plaisir d'apprendre à vos côtés.

A Monsieur le Docteur DIEDHIOU Abdoulaye,

Merci d'être encore une fois présent lors des moments importants de ma formation. Votre présence en ce jury m'honore. Merci pour m'avoir fait découvrir l'anatomopathologie, et merci pour ces heures perdues à corriger les cas, et avoir pris le temps pour partager vos connaissances. Merci de m'avoir initié, et m'avoir transmis cet intérêt grandissant pour la spécialité.

REMERCIEMENTS

A ma famille

Merci à mes parents pour leur soutien inconditionnel et tous ces moments ayant abouti à ce jour. Merci de m'avoir permis d'arriver jusqu'ici, de m'avoir fait grandir et m'avoir accompagné tant lors des moments chaleureux que lors des plus difficiles. Je ne vous remercierai jamais assez pour m'avoir conduit jusqu'ici.

A mon beau-père, merci d'avoir été là et d'autant plus dans les moments clés de mes études, ton soutien m'a été précieux.

Merci à mon frère de me supporter depuis toutes ces années. Malgré la distance qui nous sépare, je sais que nos liens sont présents. Je serai toujours là pour toi.

A mes grands-parents, merci pour tout. J'espère vous rendre fier encore une fois grâce à ce travail.

A mes cousins, mes cousines, mes oncles et tantes qui ont bercé mon enfance. Merci pour ces moments inoubliables.

REMERCIEMENTS

Aux professeurs et praticiens hospitaliers,

Merci à tous d'avoir été présent à chaque étape de ma formation, pendant mon internat, de m'avoir appris ce qu'est un bon anapath'. Je vous suis reconnaissant pour tout.

Au Professeur GARCIA Stéphane, Professeur DANIEL Laurent, Docteur DIEDHIOU Abdoulaye, Docteur ALINE-FARDIN Aude et Docteur CHARTON-BAIN Marie-Clotilde, merci pour votre accueil au sein de vos services respectifs, et votre confiance. Merci d'avoir participé à ma formation pendant ces semestres.

Merci à l'équipe de l'hôpital Nord, Professeur Stéphane GARCIA et Docteurs Véronique SECQ, Amina DJEMLI, Jean-Philippe DALES, Kevin CASELLES, Sophie GIUSANO, Donatienne BOURLARD et Julien TOUZLIAN, pour ces lames et ces cas partagés, ces aides en macroscopie, et ces enseignements.

Merci à l'équipe de l'hôpital de la Timone, Professeur Laurent DANIEL, Professeur Dominique FIGARELLA-BRANGER, Professeur Hubert LEPIDI, Docteurs Corinne BOUVIER, Wassim ESSAMET, Radia FRITIH, Julia TORRENTS, Nicolas MACAGNO, Jean DELGRANDE, André MAUES DE PAULA, HAFFNER Aurélie, BACHONGY Anaïs.

Merci à l'équipe de l'hôpital d'Aix en Provence, Docteur CHARTON-BAIN Marie-Clotilde, Professeur Vincent MOLINIE, Docteur Patrice GRELIER, Docteur GAVRIL Cristina, Docteur Anne-Sophie LEMAIRE.

Merci à l'équipe du CHU de Guadeloupe, Docteurs Abdoulaye DIEDHIOU, Yohannes NEGUESSE, Virna ADANA, Stéphanie GAUMOND, Johnny SALLOUM.

Merci à l'équipe du CHU de Martinique, Docteurs Aude ALINE FARDIN, Clémence PINARD SOUSSAIN, Leila DUFRENOT PETIT JEAN ROGET.

Merci également à l'ensemble des équipes de ces différents services.

REMERCIEMENTS

Aux Amis & co-internes

Merci à vous d'avoir été là avant, pendant, et j'en suis sûr, également, après cet internat.

A Nils, Thery et Thibault, impossible de vous citer sans vous associer ; merci pour ces aventures plus improbables les unes que les autres, parce que l'ordre du Tacos ne saurait mourir.

A Flo, Cha, Mika (Charles), Guigui... Est-ce que j'ai réellement besoin d'écrire quelque chose ? Merci pour tous ces moments passés, et ces moments futurs. Plus que des amis, j'ai trouvé en Guadeloupe une famille avec laquelle j'ai encore beaucoup de choses à vivre. Hâte de vous retrouver.

A Oury, saches que tu seras le premier à m'avoir fait pleurer, parce que rayonnant sous la houppa. Je sais que ce n'est qu'un début, on se revoit très vite.

A Julie et Nico (et Ulysse & Alexandre), finalement j'ai trouvé en Guadeloupe, et suivi en Martinique des personnes en or. J'espère sincèrement vous revoir dès que possible.

A Chacha, parce que les colonies de vacances du lycée n'étaient pas suffisantes, parce que les retrouvailles improbables à Nîmes inimaginables, il a fallu que je te retrouve sur Marseille encore une fois... J'espère que tu as conscience qu'à partir de maintenant, tu risques de devoir me supporter pendant très, très, très longtemps. Merci d'être là, simplement.

A Clem, Maria, Pierre, Nedjma, Babeth, Clarisse, Fanny, Julie, merci pour être rentré dans ma vie d'ermite marseillais, à ces fous rires et ces discussions. Même si 6900km nous sépareront, je sais que vous viendrez encore me sortir de mon lit quand je préfèrerai faire le vieux rat. Ce n'est qu'un au revoir.

A Amandine, ou Didine, parce que je sais que tu adores ce surnom (désolé, mais avec l'impression de cette thèse, il est désormais officiel et irréversible). J'ai trouvé de façon improbable (merci le covoiturage Nord, et les horaires irrespectueuses du matin) une partenaire de sport, une partenaire de déboires mais surtout bien plus. Sans aucune hésitation, je sais qu'on se retrouvera très vite.

A Louise, Amel, Max et Kata, parce que je ne pensais pas trouver une team pareille à Aix, avec des gens prêts à venir me sortir de mes épisodes de geekage intensif, pour jouer au baby, m'accompagner à la salle ou aux restos à volonté, m'amener finalement me luxer le genou ou me faire courser par des guêpes pendant des vacances inoubliables. Merci d'avoir été là ; même si vous rendez le départ aux Antilles un peu plus dur. J'espère qu'on arrivera à se revoir très vite.

A Yannick, pour ces weekends parisiens assez riches en émotions.

A la team ACP Marseille avec qui j'ai partagé ces semestres, Claire (et nos sessions potins du bus retour), Amine, Hugo, Anne-Claire (enfin, « Marseille » ...), Fanny, Rabaa, Jeanne, Thomas.

A la team ACP des Antilles, Anne-Claire, Vincent, Claire, Wiame, Adam, Elise, Valentin, Marine, Gregoire.

Et à tous ceux que ceux que j'oublie au moment d'écrire ces lignes...

Aux patients, que l'on a tendance à oublier derrière nos microscopes...

Abréviations utilisées :

- AP-HM : Assistance Publique des Hôpitaux de Marseille
- CD163 : Cluster de Différenciation 163
- CD209 : Cluster de Différenciation 209
- CD47 : Cluster de Différenciation 47
- CD68 : Cluster de Différenciation 68
- CT : antigènes du cancer / testicule
- CTA : cancer/testit antigen
- FNCLCC : Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer
- GM-CSF : Granulocyte Macrophage Colony Stimulating Factor
- HHV8 : Herpes Human Virus 8
- IGF : Insuline-like Growth factor
- INCA : Institut National du Cancer
- INF : Interferon
- LPS : LipoPolySaccharide
- NAB2 : NGFI-A-binding protein 2
- NETSARC+ : Network Sarcoma + RRePS + ResOs
- OD units : optical density units
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- PCR : Polymerase Chain Reaction
- PD-1 : Programmed cell Death protein 1
- PDGF : Platelet-Derived Growth Factor
- PRAME : Preferentially Expressed in Melanoma
- PTI : Purpura Thrombocytopenie Idiopathique

- ResOs : Réseau de référence pour la prise en charge des sarcomes Osseux et des tumeurs osseuses rares
- RGPD : Règlement Général européen relatif à la Protection des Données personnelles
- RRePS : Réseau de Référence en Pathologie des Sarcomes
- SIRP : Signal Regulatory Protein
- STAT6 : Signal Transducer and Activator of Transcription 6
- TERT : Telomerase Reverse Transcriptase
- TGF : Transforming Growth Factor TFS : Tumeur fibreuse solitaire
- TMA : Tissue Micro Array
- UPS : Undifferentiated pleomorphic sarcoma
- VEGF : Vascular Endothelial Growth Factor
- VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
- WHO : World Health Organization

TABLE DES MATIERES

Résumé.....	2
Abstract	4
1. INTRODUCTION.....	6
1.1. Définition	6
1.2. Epidémiologie	6
1.3. Approche diagnostique des TFS.....	7
1.4. Histologie	7
1.5. Evolutivité et pronostic	9
1.6. Microenvironnement immunitaire tumoral.	10
1.7. Traitement des TFS	12
1.8. Objectif de la thèse.....	13
2. MATERIELS ET METHODES	14
2.1. Critères d'inclusion	14
2.2. Cadre législatif et réglementaire.....	14
2.3. Technique immunohistochimique	15
2.4. Acquisition des images et analyses	15
2.5. Analyses Statistiques	17
3. RESULTATS	20
3.1. Description de la cohorte.....	20
3.2. Description et analyse de l'infiltrat macrophagique : CD68, CD163 et CD209.	22
3.3. Checkpoint immunitaire CD47-SIRP α	27
3.4 Description de l'expression de PRAME dans les TFS.....	29
4. DISCUSSION	30
4.1. Le CD68 et CD163, marqueurs de l'immunité innée.....	30
4.2. Le CD209, un marqueur pronostique.	32
4.3. Checkpoint de l'immunité inné : le CD47 et SIRP α	34
4.4. L'expression de PRAME dans les TFS.....	35
4.5. Limites de l'étude.....	36
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	38
6. ANNEXES.....	39
7. BIBLIOGRAPHIE	52
8. SERMENT D'HIPPOCRATE	60
9. IMPRIMATUR.....	61

Résumé

Contexte : Les tumeurs fibreuses solitaires (TFS) sont des tumeurs mésoenchymateuses rares dont le traitement de référence est chirurgical. Leur évolution peut être péjorative, avec récurrences et risque de métastases dont le traitement est peu codifié. De récentes études se sont intéressées au lien entre les tumeurs mésoenchymateuses et les macrophages du microenvironnement tumoral, de type M1 (CD68+) ou de type M2 (CD163+, CD209+), identifiant certains facteurs jouant un rôle dans leur évolution, comme la surexpression du CD209 corrélée négativement à la survie sans récurrence. D'autres études ont retrouvé une surexpression de PRAME (Preferentially Expressed in Melanoma Antigen), un marqueur lié à des mécanismes d'échappement immunitaire, chez les patients avec TFS TERT-mutées, mutation suggérée par la littérature comme étant de mauvais pronostic.

Objectif : Nous nous sommes intéressés au micro-environnement immunitaire de 137 tumeurs fibreuses solitaires en étudiant en immunohistochimie la composition et densité de l'infiltrat macrophagique avec les marqueurs suivants : CD68, CD163 et CD209, avec une attention particulière pour le checkpoint immunitaire CD47/SIRP α . L'expression de PRAME a également été recherchée.

Méthode : Nous avons recueilli les critères clinico-pathologiques de 137 patients porteurs d'une TFS diagnostiquée dans le service de pathologie de l'hôpital de la Timone à Marseille, issus de 2 cohortes, une première de 1997 à 2009, composée de prélèvements de TFS méningées inclus en Tissue MicroArrays et une seconde, de 2010 à 2020, correspondant aux prélèvements chirurgicaux de TFS méningées ou des tissus mous. Les techniques d'immunohistochimies ont été quantifiées via le logiciel open-source QuPath.

Résultats : Les taux de macrophages de type M1 (CD68+) ou M2 (CD163+) sont plus élevés dans les TFS de haut grade des méninges ainsi qu'au sein de prélèvements correspondant à des récurrences. Parallèlement, un taux de macrophage élevé est protecteur du risque d'événement indésirable au sein d'un sous-groupe pronostique donné et est corrélé positivement à la survie globale. L'expression augmentée de CD209 par les macrophages de type M2 a un effet péjoratif sur la progression sans récurrence en analyse univariée. Ce sont les TFS à forte activité mitotique qui tentent d'échapper aux macrophages de type M1 via le « don't eat me signal », en exprimant plus le CD47. Nous n'avons pas mis en évidence d'expression de PRAME au sein de notre cohorte.

Conclusion : Ce travail décrit pour la première fois, sur une vaste cohorte de TFS méningées et des tissus mous, le microenvironnement immunitaire « inné », en particulier la valeur pronostique potentielle de la densité de l'infiltrat macrophagique ainsi que de l'expression de CD209. D'autre part, la corrélation entre l'expression du CD47 et l'activité mitotique suggère de possibles débouchés thérapeutiques, avec l'usage d'inhibiteurs du check point CD47/SIRP α , pour les TFS à forte activité de prolifération.

Abstract

Context: Solitary fibrous tumours (SFTs) are rare mesenchymal tumours for which the standard treatment is surgery. They usually have an indolent clinical course, but may sometimes badly evolve, with recurrence and risk of metastasis, whose treatment is poorly codified. Recent studies about the link between mesenchymal tumours and the tumour-associated macrophages, either M1 (CD68+) or M2 (CD163+), identified factors that play a role in their evolution, such as CD209's overexpression, which is negatively correlated with the progression-free survival. Other studies have found an overexpression of PRAME, a marker linked to the immune's escape mechanisms, in TERT-promoter mutated SFTs, suggested in the literature to be associated with a poor prognosis.

Objective: We investigated the immune microenvironment of 137 solitary fibrous tumours, by studying the composition and density of the macrophagic infiltrate with the following markers: CD68, CD163 and CD209, with a particular focus on the immune checkpoint CD47/SIRP α . PRAME expression was also tested.

Method: We collected the clinico-pathological criteria of 137 patients with a SFT diagnosed in the pathology department of La Timone hospital in Marseille, from 2 cohorts, the first one from 1997 to 2009, composed of meningeal SFTs samples included in Tissue MicroArrays, and the second one from 2010 to 2020, corresponding to surgical samples of meningeal or soft tissue SFTs. The immunohistochemistry techniques were quantified using the free open-source software QuPath.

Results: M1 (CD68+) or M2 (CD163+) macrophage levels were higher in high-grade meningeal SFTs and in recurrent specimens. At the same time, elevated macrophage levels are protective from the risk of adverse events within a given prognostic subgroup, and positively correlated with overall survival. Increased expression of CD209 by M2-type macrophages has a detrimental effect on progression-free survival in univariate analysis. SFTs with a high mitotic activity try to escape from M1 macrophages via the "don't eat me signal", by expressing more CD47. We did not find evidence of PRAME expression in our cohort.

Conclusion: This work describes for the first time on a large cohort of meningeal and soft tissue SFTs the innate immune microenvironment, in particular the potential prognostic value of the density of the macrophagic infiltrate as well as CD209 expression. On the other hand, the correlation between CD47 expression and mitotic activity suggests possible therapeutic opportunities with the use of CD47/SIRP α checkpoint inhibitors for SFTs with a high proliferative activity.

1. INTRODUCTION

1.1. Définition

Les tumeurs fibreuses solitaires (TFS) sont des tumeurs conjonctives (ou mésenchymateuses) de malignité intermédiaire, appartenant au groupe des tumeurs (myo)fibroblastiques selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) / World Health Organization (WHO) (1). (Cf. **Annexe 1** : WHO classification of soft tissue tumors).

Ubiquitaires, elles ont été initialement rapportées sous la forme de 2 entités distinctes : en 1931 au niveau de la plèvre par Klemperer et Rabin (2), et en 1938 au niveau du système nerveux central, sous l'appellation « méningiome angioblastique » par Cushing & Eisenhardt (3), pour être plus tard dénommées dans cette localisation « hémangiopéricytome » par Stout et Murray (4); les premières présentant implicitement une matrice fibreuse, les secondes étant plus cellulaires. En 2013, la mise en évidence d'une anomalie moléculaire commune, la fusion NAB2-STAT6 a permis dans les tissus mous d'unifier la terminologie : le terme d'hémangiopéricytome est abandonné au profit de celui de TFS (5–7). C'est également le cas pour les localisations méningées dans la dernière classification de l'OMS des tumeurs du système nerveux central (5ème édition, 2022)(8).

1.2. Epidémiologie

Les TFS sont des tumeurs rares : elles représentent moins de 3% des tumeurs conjonctives; ainsi que moins de 1% des tumeurs du système nerveux central.

L'étiologie des TFS, comme celle de la plupart des tumeurs mésenchymateuses bénignes et malignes est inconnue.

A ce jour, aucun facteur connu comme « facteur de risque » des sarcomes n'a été découvert comme favorisant la survenue d'une TFS tels que l'environnement, l'irradiation, les infections virales (HHV8, VIH), l'immunodéficience, les agents chimiques (chlorure de vinyle, dioxyde de thorium) ou encore les prédispositions génétiques (1).

Elles se développent autant chez la femme que chez l'homme, hormis pour la variante lipogénique, à prédominance masculine (sex-ratio de 3/2), avec un pic d'incidence entre 40 et 70 ans (avec une spécificité pour la forme pleurale, se développant préférentiellement après 60 ans) (1).

1.3. Approche diagnostique des TFS

Les TFS extra-méningées sont principalement observées au niveau de la cavité abdominale (31%), des extrémités (29%), de la plèvre (22%), du tronc (11%) ou plus rarement dans d'autres localisations (incluant tête et cou) (7%) (9).

Elles se présentent sous la forme d'une masse bien limitée, le plus souvent infraclinique pour la localisation pleurale en comparaison aux autres formes extra-méningées.

Il est décrit dans moins de 10% des cas, la survenue d'un syndrome paranéoplasique (ostéoarthropathie hypertrophique, ou syndrome d'hypoglycémie paranéoplasique secondaire à une sécrétion par les cellules tumorales) d'Insuline-like Growth Factor 1 et 2 (IGF 1 et 2) (10,11).

Comme pour toute tumeur conjonctive, la prise en charge initiale d'une masse nécessite une exploration radiologique afin de définir sa nature. L'imagerie des TFS ne permet pas de distinguer les formes indolentes des formes plus agressives. Elle révèle la richesse collagénique de la tumeur, mais ne peut empêcher la réalisation de la biopsie ou l'exérèse pour en faire le diagnostic.

Le diagnostic d'une tumeur mésenchymateuse doit être établi selon la classification de l'OMS des tumeurs des tissus mous et de l'os, avec une relecture centralisée dans le cadre du réseau d'expertise NETSARC+, un réseau d'expertise clinique, pathologique et de recherche labellisé par l'Institut National du Cancer (INCA) (12).

1.4. Histologie

Les TFS présentent 2 formes histologiques (**Cf. Annexe 2 : histologie des TFS**) :

- La forme dite fibreuse : il s'agit d'une prolifération de cellules tumorales de densité variable sans pattern architectural spécifique, au sein d'un stroma abondant collagénique. La vascularisation est généralement formée de vaisseaux branchés les uns aux autres de façon arborescente, rappelant des bois de cerfs. Cette morphologie est dite hémangiopéricytaire et est préférentiellement visible dans les zones richement cellulaires, tandis qu'elle sera plus succincte dans les zones fibreuses, formée alors de grands espaces vasculaires ectasiques à paroi fibro-hyaline. Sur le plan cytologique, les cellules sont monotones, ovalaires ou fusiformes, peu atypiques.

- La forme dite cellulaire : ancien « hémangiopéricytome », n'a pas de matrice collagénique proéminente comme celle de la forme fibreuse. Il s'agit essentiellement de nappes de cellules cohésives, avec densité cellulaire importante, et vascularisation hémangiopéricytaire. Les cellules sont ovoïdes avec un cytoplasme plus abondant que la forme fibreuse, tout en restant monomorphes.

Il est important de noter qu'il existe d'autres variantes morphologiques : lipogénique, à cellules géantes ostéoclastiques, épithélioïdes, à cellules rhabdoïdes, hypocellulaires, kystiques, avec inflexion myxoïdes, formes hyalinisées pseudo-chéloïdiennes, angiofibromes à cellules géantes. Il existe une forme dédifférenciée, présentant des aspects de sarcome indifférencié de haut grade, avec un pléomorphisme marqué et une activité mitotique augmentée (1) (**cf. Annexe 3**).

D'un point de vue phénotypique, le profil immunohistochimique des TFS est comparable pour l'ensemble des formes histologiques avec notamment une expression nucléaire du STAT6, mais aussi une expression hétérogène du CD34.

Sur le plan moléculaire les TFS sont caractérisées par le transcrite de fusion NAB2-STAT6.

La protéine codée par NAB2 (NGFI-A binding protein 2 (EGR1 binding protein 2)), possède un rôle de répression transcriptionnelle sur certains gènes de la famille Early Growth Response (EGR), notamment EGR1, un facteur de transcription impliqué essentiellement dans la croissance tumorale, l'induction et la régulation de l'apoptose suite à un stress cellulaire, grâce à la production de nombreux facteurs de croissance comme IGF-II, PDGF-A and TGF- β 1. Elle peut avoir également une action opposée selon son taux de méthylation ou de phosphorylation.

STAT6 (signal transducer and activator of transcription 6), appartient à une famille de facteurs de transcription activée via phosphorylation dont le rôle est d'activer la transcription de gènes cibles par passage bref intra-nucléaire avant dégradation par le protéasome.

Cette fusion génomique entraîne le remplacement d'au moins un domaine répresseur de NAB2, avec un domaine transactivateur de STAT6. La protéine chimérique ainsi créée hérite à la fois d'un domaine activateur (via STAT6) et d'un domaine d'interaction à

EGR1 (via NAB2) : ainsi, NAB2 devient activateur de la voie EGR1 et la protéine STAT6 est relocalisée dans le noyau.

Compte tenu de la proximité de NAB2 et de STAT6, sur le chromosome 12q, et la diversité des points de cassures au niveau des introns et exons rendant la détection par PCR (polymerase chain reaction) compliquée sans séquençage multiplex (plus de 40 transcrits décrits), c'est l'expression en immunohistochimie de STAT6 au sein du noyau des cellules tumorales qui permet d'affirmer le diagnostic de TFS.

1.5. Evolutivité et pronostic

Les tumeurs conjonctives sont réparties en 3 catégories pronostiques : les tumeurs bénignes, celles de malignité intermédiaire (dans laquelle on différencie celles localement agressives, de celles avec potentiel métastatique (TFS)), et les malignes (les sarcomes). Le grading de la Fédération nationale des centres de lutte contre le cancer (FNCLCC) ne s'applique pas aux tumeurs de malignité intermédiaire.

Bien que généralement indolentes, les TFS peuvent récidiver ou plus rarement donner des métastases (10 à 30% des cas), et ce parfois de nombreuses années après le diagnostic initial (1).

Différents paramètres cliniques et histologiques ont été étudiés dans la littérature avec des résultats variables quant à leur valeur pronostique tels que la localisation tumorale, la taille, l'âge, les critères macroscopiques (qualité d'exérèse) et microscopiques (index mitotique, nécrose tumorale, cellularité, pléomorphisme, dédifférenciation) (13).

La dernière édition de la classification des tumeurs des tissus mous de l'OMS décrit l'utilisation de systèmes de « risque » afin de prédire la survie globale, le risque de récurrence locale, et de métastase à distance en prenant en compte les données cliniques (âge du patient, taille tumorale) et les critères histologiques (compte mitotique, nécrose). Il s'agit du score proposé par EG Demicco et collaborateurs (**Annexe 4**). Pour les TFS méningées il faut utiliser le grading de l'OMS (**Annexe 5**).

La valeur pronostique des différents types de transcrits de fusion NAB2-STAT6 ainsi que de la présence d'une mutation du promoteur de TERT au sein de ces tumeurs est en revanche controversée (14–16).

Récemment, Wang et al. (17) ont observé une surexpression de PRAME (Preferentially Expressed in Melanoma Antigen) chez les patients présentant une TFS avec mutation du promoteur de TERT (Telomerase reverse transcriptase).

PRAME appartient à la famille des « antigènes du cancer / testicule » (CT) (Cancer-testis antigens - CTA), est impliqué dans le cycle cellulaire des cellules tumorales par son action inhibitrice de la voie de signalisation de l'acide rétinoïque, et est décrit comme lié à certains mécanismes d'échappement immunitaire (18,19).

Dans la même étude, l'expression de PRAME dans les TFS était corrélée au nombre de macrophages du microenvironnement tumoral, ainsi qu'à l'expression de certaines protéines du checkpoint immunitaire inné : CD47-SIRP α (17).

1.6. Microenvironnement immunitaire tumoral.

Le système immunitaire est constitué de l'ensemble des cellules et tissus ayant fonction d'identifier, maîtriser et détruire ce qui appartient au « non soi », c'est-à-dire les éléments étrangers, agents pathogènes, ainsi que les cellules tumorales. On distingue l'immunité innée (polynucléaires, macrophages, et cellules présentatrices d'antigènes), et l'immunité acquise (lympho-plasmocytaire). Des études se sont intéressées à la relation entre tumeur et système immunitaire, avec toutes un postulat de départ : le système immunitaire peut s'attaquer aux cellules tumorales (20).

1.6.1. L'immunité innée : la liaison CD47/SIRP α

Le principal checkpoint immunitaire inné est celui du CD47 (Cluster de Différenciation 47) et du Signal regulatory Protein α (SIRP α). (21) La famille des Signal Regulatory Protein est une famille d'immuno-récepteurs formée de 5 principales glycoprotéines encodées par un cluster de gènes sur chromosome 20p13 (SIRP α , SIRP β 1, SIRP γ , SIRP β 2 et SIRP δ) (**Annexe 6**). SIRP α est la mieux conservée inter-espèces (22). La liaison au CD47 entraîne la phosphorylation de sa queue intracytoplasmique et le recrutement des phosphatases SHP1 et SHP2, ce qui permet une déphosphorylation de molécules en aval de la cascade enzymatique impliquées dans la phagocytose et/ou la cytotoxicité, et ainsi une répression de ces actions.

- i. SIRP α est exprimée par toutes les cellules myéloïdes : monocytes, macrophages, granulocytes et cellules dendritiques, ainsi que par cellules neuronales du système nerveux central (23).

- ii. Le CD47 est exprimé par toutes les cellules du corps humain. Cette protéine a une fonction de reconnaissance du « soi ». On parle alors du « don't eat me » signal lorsque la liaison est effectuée avec le SIRP α .

Dans l'objectif d'inhiber ce checkpoint immunitaire, la modulation de l'axe SIRP α -CD47 est préférable via un blocage du SIRP α , car le CD47 possède d'autres ligands (notamment la TSP-1 jouant un rôle dans la régulation négative de l'angiogenèse : l'interruption du signal TSP1/CD47 peut entraîner une néo-angiogenèse, une modulation du signal lié au monoxyde d'azote (NO) et donc une progression tumorale) (24–29).

Un blocage de la liaison SIRP α -CD47 entraîne : phagocytose, cytotoxicité des cellules tumorales médiée par opsonisation via les anticorps et rétablit la fonction de cellule présentatrice d'antigène des macrophages et cellules dendritiques aux lymphocytes T CD8+ cytotoxiques (21).

Les effets secondaires d'une utilisation d'un tel inhibiteur ne sont pas totalement connus, faute de recul suffisant.

1.6.2. La polarisation des macrophages : le CD68 et CD163

Au sein de l'immunité innée, on distingue les macrophages associés aux tumeurs (Tumor-associated macrophages). Ils sont polarisés (30,31).

- i. Ils peuvent être de type « **M1** », sous l'effet notamment de l'interféron gamma (INF- γ), des lipopolysaccharides (LPS), et du granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF), et ont alors une fonction **pro-inflammatoire**, microbicide, tumoricide, permettent une réponse immunitaire Th1 (réaction du système immunitaire adaptatif envers agents pathogènes bactériens et viraux), une capacité de présentation antigénique, de défense intra-cellulaire et peuvent entraîner une destruction tissulaire. Ils expriment le **CD68**.
- ii. A contrario, ils peuvent, sous l'effet de l'interleukine 4, 13, 10, du Macrophage colony-stimulating factor ou encore du Transforming growth factor β , s'orienter vers une différenciation de type « **M2** ». Ils ont alors une fonction **anti-inflammatoire**, favorisent la néo-angiogenèse et permettent une réponse humorale avec un profil Th2 (commutation isotypique des lymphocytes B vers la synthèse d'IgE spécifiques et activation des polynucléaires éosinophiles), réponse de l'immunité adaptative face à une stimulation parasitaire ou allergique. Il s'agit d'un environnement favorisant le développement tumoral (32–34). Ils expriment le **CD163**.

Cette polarisation est modulable sous l'influence du micro-environnement. Tamás Ryszer et collaborateurs (35) proposent en 2015 un modèle résumant l'état d'activation du macrophage en fonction de divers stimuli (**cf. Annexe 7**).

Dancsok et collaborateurs (36) se sont intéressés à la répartition des macrophages du microenvironnement tumoral des sarcomes. Ils retrouvent une grande variabilité de la proportion des macrophages M1 et M2, influencée par certains facteurs : le type de sarcome, les anomalies moléculaires, voir même l'âge au diagnostic. Dans les TFS, cet infiltrat est préférentiellement de type M2, avec un ratio de 4/1. L'article retrouve également une expression bimodale du CD47 pour l'ensemble des sarcomes, soit nulle, soit supérieure à 90% des cellules tumorales. Pour les TFS, la répartition est décrite comme nulle dans presque 45% des cas, et dans 40% des cas, « supérieure à 90% » (36).

1.7. Traitement des TFS

Le traitement de référence des TFS est la chirurgie. Du fait d'un pronostic généralement favorable l'exérèse ne doit pas être délabrante. La chimiothérapie (anthracyclines, ifosfamide, dacarbazine ou encore temozolomide) est utilisée dans les formes métastatiques, bien qu'il n'existe pas, à ce jour, d'étude cliniques évaluant son efficacité dans ces tumeurs (10,37–47). La radiothérapie adjuvante est indiquée dans les tumeurs de localisation neuroméningée, celles de haut grade ou en cas de résection incomplète.

Dans tous les cas, la possibilité de rechute tardive motive une surveillance prolongée.

De nombreuses études se sont intéressées à l'utilisation des thérapies ciblées (notamment les antiangiogéniques) avec quelques résultats prometteurs (38,42,48–52).

Parmi les antiangiogéniques, une étude multicentrique (53) s'est intéressée à l'utilisation du pazopanib, inhibiteur de la tyrosine-kinase des récepteurs du facteur de croissance endothélial vasculaire (VEGFR1, VEGFR2 et VEGFR3), des récepteurs du facteur de croissance plaquettaire (PDGFR α et PDGFR β), et du récepteur du facteur de cellule souche (c-KIT), dans les TFS métastatiques ou non résécables, avec progression dans les 6 derniers mois, et retrouve, au décours d'analyses secondaires, un lien entre l'expression de certains marqueurs de l'immunité innée et la survie des patients, notamment celle du CD209, marqueur des macrophages de type M2 (35).

1.8. Objectif de la thèse

L'objectif de ce travail est l'étude micro-environnement immunitaire des tumeurs fibreuses solitaires, et plus particulièrement du rôle de l'immunité innée par l'analyse de la composition et la quantification de l'infiltrat macrophagique grâce aux marqueurs immunohistochimiques tels que le CD68, CD163 et CD209, ceux du checkpoint immunitaire CD47/SIRP α et l'expression de PRAME.

2. MATERIELS ET METHODES

2.1. Critères d'inclusion

Deux cohortes différentes ont été utilisées pour cette étude.

La première (cohorte A) correspond à l'ensemble des patients pour lesquels un diagnostic de tumeur fibreuse solitaire a été posé sur la période de 2010 à 2020, dans le service d'Anatomie pathologique et Neuropathologie du Centre Hospitalo-Universitaire de la Timone à Marseille.

La seconde (cohorte B) est une cohorte constituée lors d'une précédente étude (9) comportant des TFS méningées adressées au service, diagnostiquées entre 1997 et 2009, échantillonnées sous forme de Tissue MicroArray (TMA).

Conformément à la législation pour les TFS diagnostiquées entre 2010 et 2020, 2 modèles de lettres d'informations ont été remises aux patients : une première pour ceux hospitalisés à l'AP-HM (**Annexe 8**) avec un formulaire d'opposition retournable, et une seconde pour les patients inclus via le réseau RRePS (**Annexe 9**)

Pour chacun des patients, un recueil des données cliniques et histologiques a été réalisé via le logiciel intranet de l'AP-HM, Axigate, un logiciel proposant la fonction de dossier patient informatisé regroupant l'ensemble des renseignements administratifs comme médicaux. Les données cliniques recensées ont intéressé : le sexe, l'âge au diagnostic, le décès, la localisation, la récurrence locale, la survenue de métastases, la réalisation d'une radiothérapie, d'une chimiothérapie, d'une thérapie ciblée, la survie sans récurrence, la survie globale ainsi que la durée de suivi. Les données issues des comptes rendus anatomopathologiques correspondaient à la qualité des marges d'exérèse, la présence de nécrose, le compte mitotique, le Ki67, le statut mutationnel de TERT (cohorte B), le risque de récurrence selon la classification de Demicco et ou le grade de l'OMS.

2.2. Cadre législatif et réglementaire

Cette étude ayant été menée à partir de données recueillies dans le cadre du suivi thérapeutique ou médical individuel des patients par les personnes assurant ce suivi, et qualifiée d'interne par la CNIL, en complément des procédures réalisées auprès du centre de recherche biologique (CRB) de l'hôpital de la Timone, une validation a été obtenue par le Délégué à la Protection des Données (DPO), puis un enregistrement a été effectué au registre des activités de traitement de l'AP-HM, conformément au Règlement Général européen relatif à la Protection des Données (RGPD), fiche de déclaration n° 2021-3.

2.3. Technique immunohistochimique

Pour chacun des prélèvements, différents marqueurs immunohistochimiques ont été utilisés : CD68, CD163, CD209, CD47, SIRP α et PRAME (cf. **Annexe 10**) dans des conditions standards : lames d'épaisseur de 4 μ m coupées à partir du bloc tumoral fixé en formol et inclus en paraffine ou des lames de TMA, contenant 17 à 26 cas, échantillonnés par biopsies de 0.6 mm de diamètre, à raison de 3 biopsies par cas, les zones biopsiées ayant été choisies par des pathologistes experts. Les lames ont été techniques sur un automate d'immunohistochimie Benchmark XT (Ventana, Roche Diagnostics), après déparaffinage, en utilisant les anticorps suscités. Un pré-traitement par la chaleur avec un tampon CC1 de 60 minutes a été réalisé, et l'incubation des anticorps a été de 32 minutes à 37°C. La révélation des anticorps a utilisé un chromogène DAB (DiAminoBenzidine) avec un système d'amplification par polymères (ultraview Ventana). La contre-coloration a été effectuée par de l'hématoxyline avec une incubation de 4 minutes. La **figure 1** représente le flowchart des techniques réalisées sur l'ensemble des cas de l'étude.

L'étude immunohistochimique du CD47 a été réalisée sur l'ensemble des cas avec 2 lots d'anticorps. Un premier lot sur la cohorte B, et un second, différent, sur la cohorte A. Ce dernier n'a pas été exploitable malgré 3 essais. Il existait un marquage aberrant : à la fois nucléaire, cytoplasmique et membranaire. Le marquage par le lot de la cohorte B s'est avéré conforme et cohérent. L'analyse du checkpoint immunitaire CD47-SIRP α n'a donc été réalisée que sur la cohorte B.

2.4. Acquisition des images et analyses

Toutes les lames ont été numérisées à l'objectif x20 en utilisant un scanner de lames du service de La Timone : Slides scanner – Nanozoomer, modèle Hamamatsu NANOZOOMER 2.0HT, avec grossissement global 20x ou 40x grâce à une lentille additionnelle de 1,75x.

Les lames ont ensuite été analysées grâce au logiciel open-source QuPath (54). Du fait des particularités morphologiques des macrophages, et du marquage attendu comme membranaire, les marqueurs utilisés dans ce travail ont été évalués par mesure des pixels DAB positifs. Ces marqueurs ont été quantifiés sur lames entières pour les TFS de la cohorte A, et sur l'ensemble des spots des TMA de la cohorte B. La valeur retenue pour le compte positif du pixel (threshold) et d'autres paramètres de détection ont été évalués pour chaque marqueur, et chaque paramètre a été appliqué à l'identique pour l'ensemble des prélèvements :

- CD68 et CD163 : downsample factor : 1 ; Gaussian sigma : 1 μm ; hematoxylin threshold ('Negative') : 0.1 optical density (OD) units, DAB threshold ('Positive') : 0.12 OD units.
- CD47 : downsample factor : 1 ; Gaussian sigma : 1 μm ; hematoxylin threshold ('Negative') : 0.1 optical density (OD) units, DAB threshold ('Positive') : 0.15 OD units.
- SIRP α : downsample factor : 1 ; Gaussian sigma : 1 μm ; hematoxylin threshold ('Negative') : 0.1 optical density (OD) units, DAB threshold ('Positive') : 0.18 OD units.

Concernant le CD209, les rares données de la littérature concernant le marquage immunohistochimique (55,56) distinguent un marquage faible, intermédiaire et fort de l'anticorps. Pour s'adapter à ce mode de raisonnement, nous avons utilisé une méthode de détection avec des paramètres seuils différents selon l'intensité du marquage (**Cf. Annexe 11**) :

- Marquage faible : downsample factor : 1 ; Gaussian sigma : 1 μm ; hematoxylin threshold ('Negative') : 0.1 optical density (OD) units, DAB threshold ('Positive') : 0.12 OD units.
- Marquage intermédiaire : downsample factor : 1 ; Gaussian sigma : 1 μm ; hematoxylin threshold ('Negative') : 0.1 optical density (OD) units, DAB threshold ('Positive') : 0.2 OD units.
- Marquage fort : downsample factor : 1 ; Gaussian sigma : 1 μm ; hematoxylin threshold ('Negative') : 0.1 optical density (OD) units, DAB threshold ('Positive') : 0.4 OD units.

Pour la description et les analyses statistiques, la densité de pixels positifs a été estimée comme étant le pourcentage de pixels positifs / mm^2 . Toutes les étapes ont été supervisées par des pathologistes experts. Les zones de nécrose et les problèmes de plicatures sur les lames ont été écartés dans l'analyse informatique.

La méthode d'analyse est résumée à travers l'exemple retrouvé en **Annexe 12**.

L'expression du CD47 dans les TFS a été décrite, par analogie aux données de l'article de Matlung et al. (21) selon 3 catégories : « marquage supérieur à 90% », « entre 1 et 89% », et « expression nulle ».

Pour l'évaluation du CD209, 2 méthodes ont été utilisées. La première correspondait simplement à l'évaluation de la densité de pixels positifs avec un threshold de type « intermédiaire », qui a été retenu comme correspondant à un marquage significatif. La deuxième méthode, afin d'obtenir un critère plus objectif, a utilisé le pixelwise H-score (ou pix H-score) (57), basé sur les valeurs des marquages faibles, intermédiaires et forts, et sur l'intensité pondérée des différents marquages des pixels, dont la valeur oscille entre 0 et 300, calculé par la formule suivante :

$$\text{Pix H - score} = 100 \frac{3\text{Hp} + 2\text{Mp} + \text{Lp}}{\text{Hp} + \text{Mp} + \text{Lp} + \text{Np}}$$

avec Hp, Mp, Lp et Np correspondant respectivement aux aires des pixels des marquages d'intensité forte, intermédiaire, faible et négative. La pondération d'un facteur 3, 2 et 1 est la même que celle retrouvée dans le H-score traditionnel (valeurs empiriques).(58)

Concernant le PRAME : il n'a pas été réalisé d'évaluation de la densité de pixels positifs. La positivité de l'anticorps, attendu comme nucléaire dans la pathologie tumorale selon les données de la littérature (59), ou cytoplasmique selon l'article de Wang et al. (17), n'a été objectivée dans aucun de nos cas présents sur les TMA. Il a été décidé de ne pas étendre le marquage aux lames entières. L'anticorps a été réalisé uniquement sur la cohorte B.

2.5. Analyses Statistiques

Les analyses ont été réalisées en s'intéressant au CD68, CD163, CD209, SIRP α et CD47.

La corrélation entre les paramètres clinicopathologiques et les scores immunohistochimiques ont été étudiés pour les patients avec un recul minimum de 2 ans.

Concernant le recueil des données, la date de point de la cohorte A a été définie au 31/12/2021. Celle de la cohorte B au 24/10/2014. Le modèle de survie réalisé ne distinguait pas les exclus-vivants des perdus de vue ; ils ont donc été considéré comme données censurées à la date aux dernières nouvelles.

Les tests de Welch, Kruskal-Wallis, Mann-Whitney, et les tests de Spearman ou Pearson ont été utilisés pour les analyses univariées. A titre illustratif, la courbe de survie sans

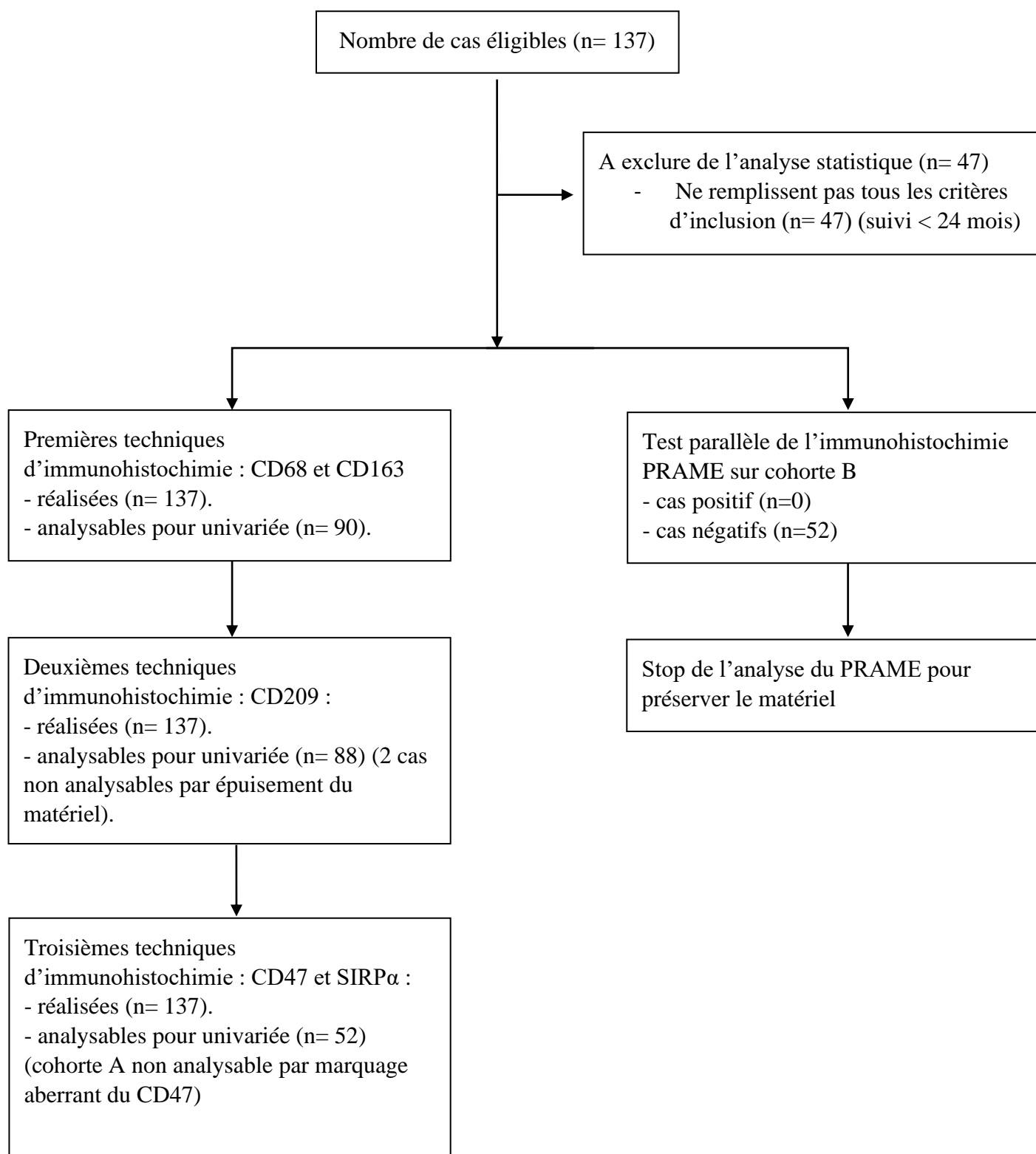
progression selon la survenue d'événements indésirables a été réalisée suite au test de Logrank.

Les différences observées ont été considérées comme significatives lorsque $p < 0.05$.

Les coefficients de corrélation présentés possèdent un intervalle de confiance à 95% lorsque le test utilisé est le test de corrélation de Pearson (paramétrique), autrement il s'agit du coefficient de Spearman (non paramétrique).

L'analyse multivariée n'a pas été réalisée, compte tenu de manque de données (plus de 20% des patients avec une donnée manquante, ou des variables ayant plus de 5% de valeur censurée sur certains critères tels que la chimiothérapie et les marges positives) empêchant un ajustement sur ces paramètres, entraînant alors un effectif trop faible pour les analyses. Les analyses statistiques ont été réalisées sur le site (<https://www.pvalue.io>) (Medistica., pvalue.io, a graphic user interface to the R statistical analysis software for scientific medical publications., 2020.) et vérifiées / confirmées par une statisticienne du Centre Hospitalier d'Aix-En-Provence.

Figure 1 : Organigramme des technique immunohistochimiques réalisées.



3. RESULTATS

3.1. Description de la cohorte

Au total, 137 tumeurs fibreuses solitaires ont été incluses dans l'étude. Les caractéristiques de l'ensemble de ces cas sont résumées dans les **tableaux 1 et 2**.

Tableau 1 : Résumé des caractéristiques clinico-biologiques de la cohorte étudiée.
NB : PFS : Survie sans progression. OS : Survie globale.

	Type de TFS :	Primitive	Récidive	Total
Nombre de cas		113 (82.5 %)	24 (17.5 %)	137
Localisation				
	Tissus mous	40	5	45 (32.8 %)
	Méningée	73	19	92 (67.2 %)
Sexe				
	Masculin	57	15	72 (52.6 %)
	Féminin	56	9	65 (47.4 %)
Age				
	Minimum – Maximum	14 – 86 ans	34 – 80 ans	14 – 86 ans
	Médiane	54 ans	58 ans	57 ans
Radiothérapie		31	15	46
Chimiothérapie		2	5	7
Immunothérapie		0	1	1
Marges chirurgicales positives objectivées		37	7	44
Récidive connue		33	18	51
Métastase connue		5	10	15
PFS (mois) (moyenne (écart-type))		39.1 (44.1)	31.4 (49.6)	37.7 (45.0)
OS (mois) (moyenne (écart-type))		52.5 (56.4)	56.3 (71.9)	53.1 (59.1)
Taille tumorale (cm) (tissus mous) (moyenne (écart-type))		9.36 (7.62)	6.22 (5.21)	9.04 (7.43)
Présence de nécrose		28	4	32
Mitoses (/10 HPF) (moyenne (écart-type))		4.19 (4.23)	5.29 (4.25)	4.38 (4.24)
Ki67 (moyenne (écart-type))		12.6% (14.9%)	18.3% (18.6%)	13.6% (15.6%)
Score pronostique selon la localisation :				
Neuro-méningée (grade de l'OMS)				
	1	40	9	49
	2	24	7	31
	3	9	3	12
Tissus mous (score de Demicco)				
	Faible	16	2	18
	Intermédiaire	15	2	17
	Fort	9	1	10

Tableau 2 : Résumé des caractéristiques clinico-pathologiques selon les 2 cohortes.

	Cohorte A	Cohorte B
Nombre de cas	85	52
Type de TFS		
Primitive	65	48
Récidive	20	4
Localisation		
Tissus mous	45	0
Méningée	40	52
Sexe		
Masculin	43	29
Féminin	42	23
Age		
Minimum – Maximum	14 – 86 ans	22 – 77 ans
Médiane	60 ans	52 ans
Radiothérapie	27	19
Chimiothérapie	6	1
Immunothérapie	1	0
Marges chirurgicales positives objectivées	14	30
Récidive connue	21	30
Métastase connue	11	4
PFS (mois) (moyenne (écart-type))	21.2 (25.3)	64.8 (56.2)
OS (mois) (moyenne (écart-type))	26.8 (27.7)	96.1 (70.8)
Présence de nécrose	22	10
Mitoses (/10 HPF) (moyenne (écart-type))	4.71 (4.29)	3.85 (4.14)
Ki67 (moyenne (écart-type))	14.9% (15%)	11.7% (16.5%)
Score pronostique		
Neuro-méningées (grade de l’OMS)		
1	16	33
2	16	15
3	8	4
Tissus mous (score de Demicco)		
Faible	18	/
Intermédiaire	17	/
Fort	10	/

NB : PFS : Survie sans progression. OS : Survie globale.

3.2. Description et analyse de l'infiltrat macrophagique : CD68, CD163 et CD209.

Les résultats concernant le marquage des anticorps anti-CD68, CD163 et CD209 sont détaillés dans les **tableaux 3 à 6**.

Tableau 3 : Description du CD68, CD163 et CD209 au sein de la cohorte

	Taux moyen de CD68 (%)	Taux moyen de CD163 (%)	Taux moyen de CD209 (%) (threshold intermédiaire)	Pix H-score
Cohorte A + B	10.93	15.55	0.63	18.98
Cohorte A	16.42	21.53	0.64	35.46
Cohorte B	1.95	6.36	0.62	6.37
Tumeurs neuro- méningées	10.07	13.49	0.67	16.96
Tumeurs des tissus mous	12.69	20.95	0.35	33.45
Primitives	9.52	15.25	0.57	17.43
Récidives	17.57	18.17	0.93	26.13
Sexe				
Masculin	10.85	13.75	0.73	16.79
Féminin	11.02	18.02	0.53	21.07
Grade de l'OMS				
1	5.43	8.61	0.79	15.23
2	13.15	17.25	0.39	16.93
3	21.03	23.70	0.89	24.15
Score de Demicco				
Faible	13.73	21.01	0.56	42.46
Intermédiaire	14.32	21.99	0.07	20.09
Fort	8.06	16.81	0.39	37.63

NB : Les taux de CD68, CD163 et CD209 correspondent au pourcentage de pixels positifs, estimé par le nombre de pixels positifs/ μm^2 divisé par le nombre de pixels comptabilisés/ μm^2 .

L'analyse univariée (**tableau 4**) retrouve de nombreuses associations statistiquement significatives.

Tableau 4 : Analyse univariée des facteurs clinico-pathologiques en fonction du CD68, CD163 et CD209.
Les résultats du sous-groupe des TFS primitives sont présentés lorsque les résultats sont statistiquement significatifs, à défaut de l'être pour l'ensemble des TFS.

Statut		Taux de CD68 (%)		Taux de CD163 (%)		Evaluation du CD209			
		Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p	Taux de CD209 (%)		Pix H-score	
		Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p
Type de TFS	Primitive	1.92 [0.496 - 6.87]	0.029	5.91 [1.11 - 21.9]	0.14	0.0871 [0.0197 - 0.376]	0.26	9.23 [1.39 - 31.1]	0.09
	Récidives	10.6 [2.35 - 34.0]	-	12.9 [3.98 - 33.2]	-	0.291 [0.0324 - 1.19]	-	26.0 [5.48 - 47.3]	-
Evènement indésirable			0.011		0.052		0.77		0.062
TFS primitives	Absence	4.95 [1.05 - 13.7]	-	9.43 [1.83 - 24.5]	-	0.0791 [0.0256; 0.278]	-	12.1 [1.48 - 36.8]	-
	Présence	1.52 [0.329 - 4.45]	-	3.08 [0.636 - 14.9]	-	0.0779 [0.0102; 0.480]	-	4.33 [0.871 - 11.8]	-
Métastase	Absence	20.1 [3.82 - 38.2]	0.087	12.3 [4.28 - 26.1]	0.31	0.104 [0.0466 - 0.490]	0.014	13.5 [6.23 - 35.0]	0.34
	Présence	5.23 [1.51 - 12.5]	-	21.0 [9.62 - 35.1]	-	0.750 [0.264 - 2.41]	-	33.6 [4.43 - 59.9]	-
Récidive			0.012		0.032		0.39		0.06
TFS primitives	Absence	4.45 [0.801 - 13.3]	-	9.45 [1.89 - 24.1]	-	0.0950 [0.0381; 0.478]	-	12.3 [1.49 - 36.5]	-
	Présence	1.51 [0.283 - 4.33]	-	2.89 [0.625 - 14.7]	-	0.0775 [0.00965; 0.378]	-	4.33 [0.670 - 11.8]	-
Nécrose	Absence	2.26 [0.483 - 11.8]	0.21	4.57 [0.955 - 21.9]	0.026	0.106 [0.0228 - 0.524]	0.71	10.3 [1.58 - 33.9]	0.92
	Présence	4.83 [1.21 - 22.3]	-	15.0 [7.09 - 31.3]	-	0.0631 [0.0357 - 0.540]	-	9.23 [1.42 - 17.5]	-
Grade de l'OMS			<0.001		<0.001		0.99		0.69
	1	0.665 [0.131 - 3.78]	-	1.68 [0.582 - 9.72]	-	0.111 [0.0227 - 0.540]	-	6.89 [1.09 - 26.1]	-
	2	4.62 [1.46 - 2.11]	-	13.3 [2.66 - 23.4]	-	0.0910 [0.0140 - 0.344]	-	8.06 [0.871 - 35.3]	-
	3	17.3 [4.79 - 26.8]	-	23.0 [11.6 - 42.0]	-	0.0631 [0.0357 - 0.212]	-	9.23 [4.41 - 61.0]	-
Score de Demicco			0.67		0.48		0.16		0.52
	Faible	10.5 [0.731 - 11.8]	-	6.66 [2.63 - 10.8]	-	0.382 [0.108 - 0.733]	-	36.3 [20.2 - 68.3]	-
	Intermédiaire	9.38 [5.19 - 16.2]	-	32.6 [18.6 - 46.9]	-	0.0379 [0.0133 - 0.0953]	-	18.2 [9.87 - 28.4]	-
	Fort	4.26 [3.64 - 4.87]	-	12.2 [10.8 - 13.6]	-	0.386 [0.225 - 0.548]	-	37.6 [27.5 - 47.7]	-

tableau 4, suite

	Coefficient de corrélation	p	Coefficient de corrélation	p	Coefficient de corrélation	p	Coefficient de corrélation	p
Âge	0.653	<0.001	0.515	<0.001	0.322	<0.01	0.630	<0.001
Mitoses	0.426	<0.001	0.218 (0.0110 ; 0.406)	0.039	-0.0491 (-0.257 ; 0.163)	0.65	0.0530	0.63
Ki67	0.373	<0.001	0.250	0.027	-0.167	0.15	-0.0124	0.92
PFS	-0.172	0.11	-0.128	0.23	-0.235	0.029	-0.235	0.029
OS	-0.331	<0.01	-0.338	<0.01	-0.152	0.16	-0.287	<0.01

NB : Evènement indésirable considéré comme récurrence ou métastase. Absence de significativité des taux de CD68, CD163 et CD209 concernant la localisation (méningées ou tissus mous), le sexe et la taille tumorale.

Concernant le CD68 et CD163, les taux de macrophages sont statistiquement plus élevés dans les TFS méningées de mauvais pronostic évaluées par le grade de l’OMS, mais cela n’est pas démontrée dans la localisation des tissus mous avec le score de Demicco ($p = 0.67$ pour le CD68 et $p = 0.48$ pour le CD163). La survie globale est corrélée négativement à ces taux de macrophages ($p < 0.01$), mais nous ne retrouvons pas d’association statistique avec la PFS. Une corrélation positive est retrouvée avec le Ki67 et le nombre de mitoses ($p < 0.01$). La nécrose est aussi associée à un taux plus important de CD163 ($p = 0.026$). La localisation (neuroméningée ou des tissus mous), le sexe, la taille tumorale ne sont pas statistiquement corrélés aux taux de CD68 ou CD163.

Les prélèvements de récidives ont des taux de macrophages CD68+ supérieurs aux tumeurs primitives ($p = 0.029$).

On retrouve également un lien statistique entre le taux de macrophages CD68+ et la survenue d’un événement indésirable, plus fréquent chez les patients ayant un faible taux, dans le sous-groupe des TFS primitives ($p = 0.011$).

Les résultats de l’analyse en sous-groupes en fonction du grading de l’OMS (**tableau 5**) sont significatifs concernant les taux de CD163 pour les TFS de grade 3. Dans ce sous-groupe les TFS présentant un événement indésirable ont des taux de macrophages inférieurs à leurs homologues sans récidive locale ou métastatique ($p = 0.033$). Les autres résultats montrent une tendance équivalente, mais ne sont pas statistiquement significatifs.

Tableau 5 : Analyse univariée en sous-groupe des grades de l’OMS de la survenue des événements indésirables selon les taux de CD68 et CD163.

NB : Pas d’analyses du sous-groupe des récidives car taux de récidive = 100%.

		Taux de CD68 (%)		Taux de CD163 (%)	
		Événement indésirable	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]
Grade 1 de l’OMS	Absence	1.89 [0.532 - 5.05]	0.07	4.28 [1.25; 11.1]	0.07
	Présence	0.329 [0.0549 - 2.37]	-	0.641 [0.114; 7.44]	-
Sous-groupe TFS primitives	Absence	1.89 [0.532; 5.05]	0.056	4.28 [1.25; 11.1]	0.051
	Présence	0.329 [0.0549; 1.85]	-	0.613 [0.114; 7.44]	-
Grade 2 de l’OMS	Absence	5.88 [3.25 - 20.3]	0.53	14.4 [1.89; 19.7]	0.57
	Présence	3.42 [1.46 - 17.2]	-	10.8 [2.88; 23.4]	-
Sous-groupe TFS primitives	Absence	5.88 [3.25; 20.3]	0.13	14.4 [1.89; 19.7]	0.97
	Présence	1.80 [0.900; 4.37]	-	4.31 [2.87; 20.0]	-
Grade 3 de l’OMS	Absence	27.4 [26.2 - 33.6]	0.12	49.0 [43.5; 51.4]	0.033
	Présence	6.66 [2.34 - 17.3]	-	14.9 [8.39; 23.0]	-
Sous-groupe TFS primitives	Absence	27.4 [26.2; 33.6]	0.057	49.0 [43.5; 51.4]	0.057
	Présence	5.41 [3.25; 10.9]	-	12.7 [8.14; 17.7]	-

La PFS semble être corrélée au taux de CD209 : un taux élevé de CD209 (évalué par le threshold intermédiaire ou le pix-H score) est associé à un risque de récurrence plus précoce ($p = 0.029$). La recherche d'une valeur pronostique des marqueurs du CD209 par analyses de la survie sans récurrence semble définir 2 groupes dont la PFS possède une tendance différente, mais non significative pour un taux de CD209 égal à 0.3%, ou 1.5 pour le pix H-score ($p = 0.1$ et 0.16) (**figure 2**).

Le pix-H-score est fortement corrélé au taux de macrophages (CD163 : $rS = 0.404$, $p = <0.001$, CD68 : $rS = 0.502$, $p = <0.001$). Le taux « brut » de CD209 via le threshold intermédiaire également (0.276 et 0.316 respectivement pour les M1 et M2, $p = <0.01$).

Nous avons observé plus de macrophages marqués par le CD163 que par le CD68 (ratio moyen de 6.27). Les résultats de l'analyse univariée en fonction du ratio « taux de CD163 / taux de CD68 » (**tableau 6**) ne retrouvent pas de lien statistique avec la survenue d'événement indésirable, les scores histopronostiques, la survie globale ou la survie sans récurrence.

Figure 2 : courbes de survie sans récurrence selon le taux de CD209 (%) ($p=0.1$) et la valeur du Pix H-score ($p=0.16$)

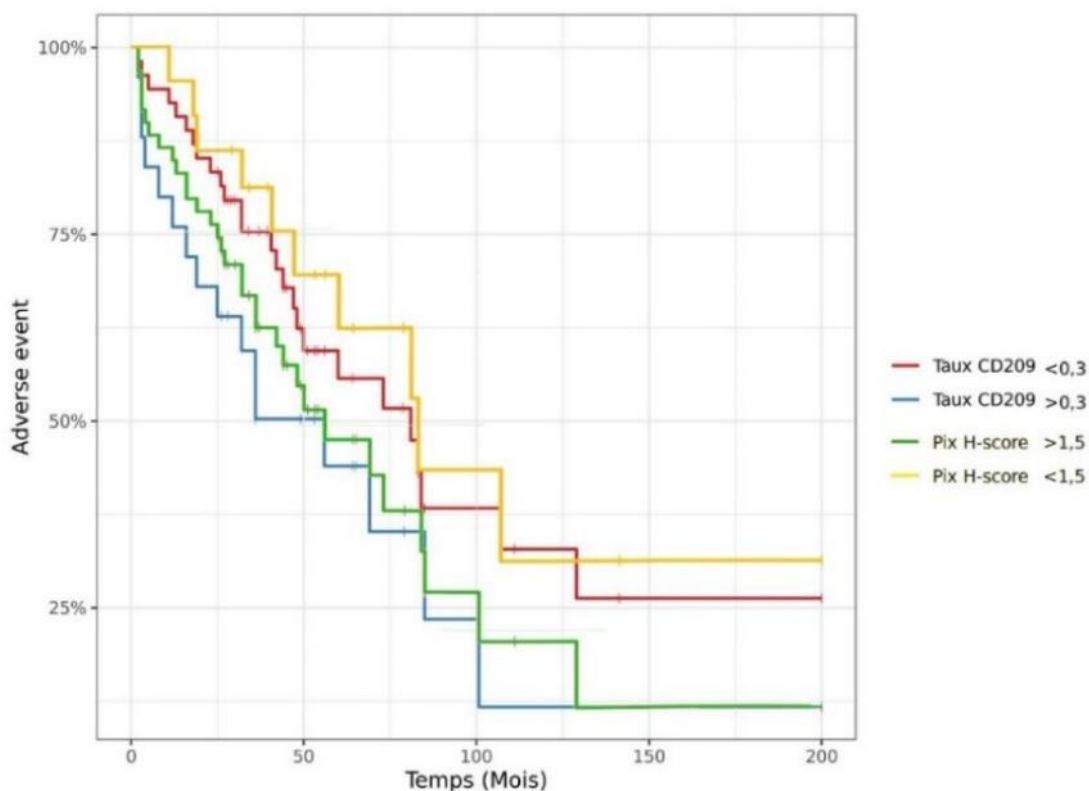


Tableau 6 : Analyse univariée des facteurs clinico-pathologiques en fonction du ratio CD163/CD68

		Ratio taux de CD163 / taux de CD68	
	Statut	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p
Evènement indésirable	Absence	2.00 [0.903 - 3.38]	0.96
	Présence	2.20 [1.03 - 4.95]	-
Métastase	Absence	2.22 [1.23 - 3.61]	0.18
	Présence	1.62 [1.05 - 2.40]	-
Score de Demicco			
	Faible	1.03 [0.787 - 1.80]	0.72
	Intermédiaire	3.09 [2.65 - 3.45]	-
	Fort	2.93 [2.84 - 3.03]	-
Grade de l'OMS			
	1	2.70 [1.39 - 6.62]	0.33
	2	1.62 [0.752 - 3.49]	-
	3	2.01 [1.27 - 2.22]	-

NB : Il n'est pas non plus retrouvé de relation statistiquement significative entre ce ratio et l'OS ($rS = 0.106$, $p = 0.32$) ou la PFS ($rS = 0.127$, $p = 0.23$)

3.3. Checkpoint immunitaire CD47-SIRP α

Le taux d'expression moyen du CD47 de notre cohorte était évalué à 20.61%. Moins de 5% des TFS avaient une expression nulle, le reste possédant une expression variable « entre 1 et 89% » (**Tableau 7, Figure 3**). L'analyse univariée du CD47 et du SIRP α est résumée dans le **tableau 8**.

Figure 3 : répartition du taux de CD47 selon le nombre de cas

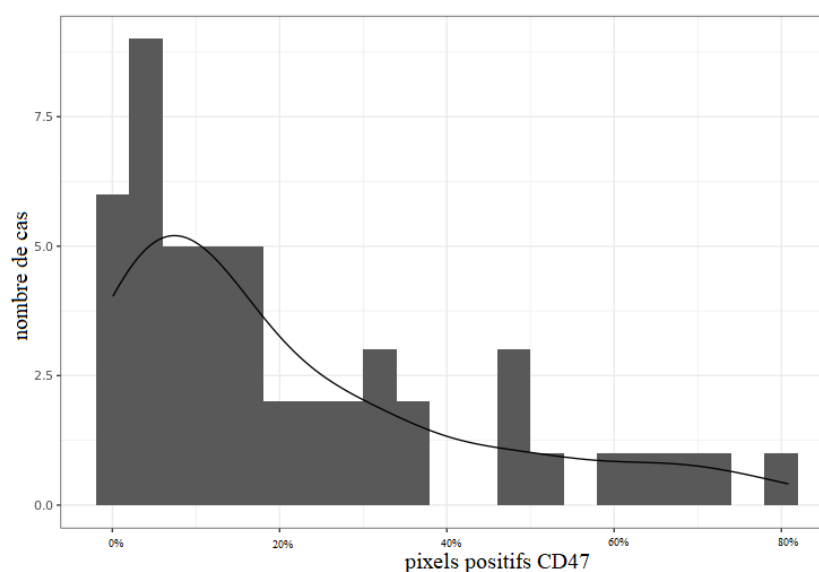


Tableau 7 : Caractéristiques du CD47 et du SIRP α dans la cohorte B.

	Taux moyen de CD47 (%)	Taux moyen de SIRP α (%)
Cohorte B	20.61	1.5136
Primitives	20.73	1.61
Récidives	19.15	1.67
Sexe		
Masculin	21.94	1.03
Féminin	18.99	2.15
Grade de l'OMS		
1	16.7	1.64
2	29.29	0.86
3	19.25	2.96

Tableau 8 : Analyse univariée des facteurs clinicopathologiques selon les taux de CD47 et SIRP α .

	Statut	Taux de CD47		Taux de SIRP α	
		Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p	Médiane [1 ^{er} Q-3 ^e Q]	p
Type de TFS			0.91		0.7
	Primitive	14.3 [4.94 - 30.8]	-	0.612 [0.247 - 1.73]	-
	Récidive	10.2 [5.67 - 37.2]	-	0.428 [0.327 - 0.616]	-
Evènement indésirable			0.92		0.7
	Absence	16.4 [5.97 - 31.6]	-	0.726 [0.257 - 2.10]	-
	Présence	14.3 [6.62 - 31.4]	-	0.587 [0.267 - 0.791]	-
Grade de l'OMS			0.11		0.42
	1	9.11 [2.94 - 23.8]	-	0.638 [0.295 - 1.73]	-
	2	28.2 [10.2 - 40.6]	-	0.520 [0.230 - 0.714]	-
	3	14.2 [7.78 - 25.7]	-	0.555 [0.334 - 3.18]	-
Nécrose			0.82		0.75
	Absence	11.6 [3.34 - 32.2]	-	0.587 [0.252 - 1.68]	-
	Présence	14.6 [10.1 - 22.7]	-	0.711 [0.276 - 1.30]	-
		Coefficient de corrélation (IC 95%)	p	Coefficient de corrélation (IC 95%)	p
Mitoses		0.331 (0.0575 ; 0.558)	0.019	-0.0517 (-0.325 ; 0.230)	0.72
Taux de CD68		0.517	<0.001	0.354	0.012

NB : Corrélation statistiquement significative entre le SIRP α et le CD47 ($rS = 0.346$, $p = 0.015$).

Les analyses univariées retrouvent un coefficient de corrélation statistiquement significatif et positif entre le taux de CD47 et le nombre de mitoses mais pas avec la nécrose ou le grading de l'OMS. L'expression de CD47 et de SIRP α est corrélée à celle du CD68 ($p = < 0.001$ et 0.012). Aucun des autres critères étudiés n'est statistiquement corrélé au taux de CD47 ou au SIRP α (dont l'âge, le sexe, le Ki67, le taux de CD163, la PFS et l'OS).

3.4 Description de l'expression de PRAME dans les TFS

Nous n'avons pas retrouvé de marquage immunohistochimique avec l'anticorps anti-PRAME sur l'ensemble des cas de la cohorte B, ce qui n'a pas permis de continuer l'investigation pour la cohorte A. Concernant le statut mutationnel de ces TFS, 14 possédaient une mutation du promoteur de TERT.

4. DISCUSSION

4.1. Le CD68 et CD163, marqueurs de l'immunité innée

Il existe 2 types de réponse immunitaire :

- i. Une réponse immunitaire dite innée : immédiate, correspondant au premier rempart de l'organisme face au non soi, constitué essentiellement des polynucléaires, monocytes, macrophages et mastocytes.
- ii. Une réponse immunitaire dite acquise : plus tardive, adaptée à chaque élément pathogène. Elle permet notamment la production d'anticorps via reconnaissance d'antigènes, ce qui entraîne alors les mécanismes permettant de rejeter ou détruire les éléments du non soi. Elle est formée des lymphocytes et plasmocytes.

L'identification des macrophages de type M1 via immunohistochimie n'est pas équivoque dans la littérature. Certaines études ont défini le CD68 comme marqueur pan-macrophagique, auquel il est donc nécessaire de soustraire les macrophages de type M2 pour obtenir ceux de type M1 (60,61) D'autres ont au contraire montré que le CD68 tend à minorer le compte macrophagique (62).

Dans notre étude, tout comme dans celle de Dancsok et collaborateurs (36) s'intéressant à la répartition de ces macrophages dans 1242 tumeurs mésoenchymateuses dont 113 TFS neuro-méningées, la plupart des scores de CD68 étaient inférieurs au CD163 (ratio moyen de notre cohorte : 6,27), permettant d'en conclure que le CD68 n'inclut pas l'ensemble des macrophages tumoraux : nous avons appliqué le même raisonnement, et défini le CD68 comme marqueur des macrophages de type M1.

Nos résultats montrent que plus la TFS est agressive, selon les critères définis par le grade de l'OMS, plus l'infiltrat macrophagique est important (de type M1 ou M2) : les TFS de grade 3 de l'OMS ont un taux de macrophage supérieur à celles de grade 2, lui-même supérieur à celles de grade 1. De plus, le nombre de macrophages CD68+ diffère entre les TFS primitives et les récidives, ces dernières ayant un taux de CD68 plus important ($p = 0.029$), résultat partiellement expliqué par les proportions des sous-groupes de score de l'OMS différents : un tiers des TFS du sous-groupe « récidives » ont un score 3 de l'OMS, score qui ne représente que 7/66^e des TFS primitives.

Si l'on s'intéresse aux raisons d'un tel recrutement macrophagique, nos résultats démontrent l'existence d'un rôle protecteur des macrophages : plus une TFS primitive possède un taux élevé de macrophages de type M1 ou M2, moins elle a de chance de voir survenir un événement indésirable, ce qui peut paraître de prime abord, contradictoire avec les données décrites précédemment. Pour expliquer ce résultat, nous avons réalisé les analyses en sous-groupe pour chacun des grades de l'OMS, afin de limiter les potentiels biais de sélection. Nous retrouvons des résultats significatifs avec les taux de macrophages de type M2, plus faibles chez les patients ayant un événement indésirable dans le grade 3 de l'OMS ; les autres résultats montrant simplement une tendance similaire, avec des p proches du risque α de 5% : à grade identique, les TFS ayant un faible taux de macrophage de type M1 ou M2 ont plus de risque d'avoir un événement indésirable.

Nos résultats en analyse univariée ne retrouvent pas de lien entre le ratio de macrophages M2/M1, et les facteurs pronostiques tels que la survenue d'un événement indésirable, de métastase ou la PFS. Il est intéressant de noter que certaines études ont trouvé un lien entre ce ratio et le pronostic de certaines tumeurs (63,64).

L'étude de Dancsok et collaborateurs retrouve également des corrélations statistiquement significatives entre les taux des différents types de macrophages et certaines caractéristiques clinico-pathologiques des TFS : un coefficient de corrélation négatif entre l'âge et le taux de CD68 ($p = 0.021$) et plus de macrophages de type M1 en cas de nécrose. Notre étude confirme que l'âge est bien corrélé, mais de façon positive avec le taux de CD68 et de CD163 ($p < 0.001$). Quant à la nécrose, nous retrouvons une association uniquement avec le taux de CD163 (macrophages de type M2). Nos résultats montrent également un coefficient de corrélation positif entre le compte mitotique et les taux de CD68 ($p = <0.001$) et de CD163 ($p = 0.039$). Pour rappel, il s'agit des critères entrant dans le grade de l'OMS.

La survie sans récurrence semble dans la littérature également impactée par le taux de CD163 avec un Hazard-Ratio de 3.61 ($p=0.015$). Notre étude n'a pas retrouvé de lien entre la PFS et les taux de macrophages, mais nous démontrons un lien avec la survie globale, caractérisée par un coefficient de corrélation négatif et un $p < 0.01$, résultat à interpréter avec prudence car nous n'avons pas recensé de décès dans la cohorte A, et le design de notre étude ne permet pas une évaluation optimale des relations temporelles, à cause des durées de suivi différentes.

Finalement, les résultats concernant les macrophages CD163+ semblent comparables à ceux CD68+ : nous n'avons pas réussi à mettre en évidence l'influence de ce marqueur de la polarisation sur l'évolution des TFS, bien qu'il semble jouer un rôle pro-tumoral comme le laisse suggérer le CD209, fortement corrélé au CD163, décrit précédemment comme étant de mauvais pronostic.

Il serait intéressant d'évaluer ces données en ajustant, notamment sur les marges positives, (critère dont l'évaluation dans les localisations neuroméningées est complexe), mais aussi de réaliser des analyses en sous-groupes avec un plus grand échantillon pour confirmer le rôle protecteur des macrophages.

En résumé : les TFS neuroméningées de mauvais pronostic par leurs caractéristiques clinico-pathologiques recrutent de façon plus importante les macrophages de type M1 et M2, ayant pour but de limiter le risque d'événement indésirable : au sein d'un même groupe pronostique, plus une TFS possède de macrophages, moins elle est à risque d'événement indésirable. Il n'y a pas de différence pronostique entre l'infiltrat de type M1 et celui de type M2 concernant les critères analysés.

4.2. Le CD209, un marqueur pronostique.

Un essai thérapeutique de phase 2, multicentrique s'intéressant à l'utilisation du pazopanib pour les TFS métastatiques ou non résécables (53) a réalisé, en supposant que le système immunitaire puisse avoir un rôle sur l'activité du pazopanib, une étude de séquençage haut débit de l'environnement immunitaire par HTG EdgeSeq immunology Panel, technique basée ne nécessitant pas d'extraction des acides nucléiques, et a mesuré l'expression de 1392 gènes impliqués dans la réponse immunitaire, exprimés par la tumeur et par le microenvironnement sur lames paraffinées (65–67). En analyses uni et multivariés, la survie sans récurrence a été corrélée négativement avec l'expression du CD209, marqueur transmembranaire appartenant à la famille des lectines de type C, récepteur impliqué dans la reconnaissance de certains oligosaccharides, principalement exprimé par les cellules présentatrices d'antigènes (cellules dendritiques/macrophages) (68), et exprimé par certains macrophages (de type M2) du micro-environnement tumoral (35). Cette association est également retrouvée dans le cancer du sein (69). Son étude

immunohistochimique a fait l'objet d'études intéressant principalement le cancer pulmonaire non à petites cellules, mais aussi le myxofibrosarcome afin d'en distinguer les formes agressives des formes de bas grade (55,56,70). Aucune n'a, à ce jour, évalué son expression en immunohistochimie dans les TFS.

Nos résultats concernant l'expression du CD209 en immunohistochimie, corroborent les résultats de biologie moléculaire de l'étude sus-citée de Martin-Broto et collaborateurs (53). La surexpression du CD209, caractérisée par le threshold intermédiaire, paraît être prédictive d'un risque précoce d'événement indésirable caractérisé par un coefficient de corrélation négatif entre les taux de CD209 et la survie sans récurrence (PFS) ($p = 0.029$). Il n'a pas été possible de réaliser de courbe de survie sans récurrence statistiquement significative, dans notre recherche d'une valeur seuil permettant de définir des groupes pronostiques, selon le taux de CD209 ou selon le pix H-score. Les valeurs proposées de 0.3% pour le taux de CD209 ($p = 0.1$) et le pix H-score de 1.5 ($p = 0.16$) devraient être vérifiées voir ajustés par une plus grande cohorte. De plus, l'expression de CD209 nous paraît être liée au risque de maladie métastatique indépendamment de la notion de temps ($p = 0.014$).

Certains résultats sont proches du risque α de 0.05%, et malgré l'absence de significativité, il paraît pertinent de s'y intéresser car ils ne sont pas concordant avec les données significatives décrites précédemment. Ils concernent le pix H-score, et suggèrent que les niveaux d'expression importants de CD209 pourraient être « protecteurs » du risque d'événement indésirable, et sont plus importants dans les prélèvements de récurrences. La forte corrélation de ce score et les taux de CD68 et CD163 laisse supposer de l'expression du CD209 par l'ensemble des macrophages, caractérisée par le marquage immunohistochimique « faible » qui a été pris en compte dans le calcul du pix H-score.

En résumé : dans notre étude, la surexpression du CD209 en immunohistochimie, marqueur des macrophages de type M2, CD163+, est corrélée négativement à la survie sans récurrence, et prédictif de l'évolution métastatique. Les données du pix H-score semblent montrer l'existence d'un marquage basal, faible, par l'ensemble des macrophages.

4.3. Checkpoint de l'immunité inné : le CD47 et SIRP α

Les outils thérapeutiques ciblant les checkpoints immunitaires permettent de restaurer la réponse immunitaire préalablement contournée par les cellules tumorales (71), et les sarcomes sont les premiers cancers pour lesquels ce type d'immunothérapie s'est avérée efficace (72).

Les principaux inhibiteurs du checkpoint immunitaire adaptatif sont l'ipilimumab (anti-CTLA4 des cellules T) et l'axe PD1/PDL1 (pembrolizumab, nivolumab, atezolimumab), utilisés pour certaines néoplasies, avec amélioration de la survie des patients (73–81). Certaines pathologies ne répondent que peu, ou pas à ces traitements. Il est alors intéressant de combiner les inhibiteurs des checkpoints immunitaires pour en potentialiser les effets, comme le Magrolimab (Hu5F9-G4), le TTI-621, l'evorpacept (ALX148) ou encore le RRx-001 (82), des nouvelles molécules en phases pré-cliniques ciblant la liaison CD47- SIRP α , un signal surnommé « don't eat me », ayant un rôle dans la modulation de la phagocytose (21).

Dans notre étude, l'expression du CD47 était variable avec une moyenne d'expression de 21%. Moins de 5% des TFS de notre cohorte avaient une expression nulle, le reste possédant une expression variable « entre 1 et 89% ». Nous n'avons pas retrouvé la distribution franche telle que décrite dans l'article de Dancsok et collaborateurs, pour qui 40% des TFS expriment le CD47 « à plus de 90% », 20% « entre 1 et 89% », et le reste ayant une expression nulle. Bien que la figure 3 ne tend pas vers une telle répartition, nous pouvons expliquer partiellement cette différence par notre quantification grâce au logiciel QuPath : l'œil humain étant plus sensible aux colorations immunohistochimiques de plus forte intensité, l'estimation visuelle du pathologiste surestime les zones positives et prend en considération, de façon inhérente, une composante de l'intensité de la coloration (83,84).

Dans notre cohorte les cellules tumorales mitotiquement actives expriment d'avantage le CD47. Concernant le SIRP α , nous n'avons pas mis en évidence de lien statistique avec les caractéristiques clinico-pathologiques, à l'exception du taux de CD68 corrélé positivement à celui de SIRP α ($r_s = 0.354$, $p = 0.012$). Les macrophages recrutés, de type M1, expriment de façon plus importante cette protéine.

Dancsok et collaborateurs retrouvent peu d'associations statistiquement significatives avec les principaux critères clinico-pathologiques : uniquement une corrélation négative entre le CD47 et les marqueurs CD163 et CD68 ($p = 0.0045$ et $p < .0001$, respectivement). Nous n'avons pas réussi à mettre en évidence ce résultat statistique, mais nos données suggèrent plutôt une corrélation positive avec le CD68, grâce à un p proche du risque α de 5% ($p = 0.073$).

En résumé : les TFS mitotiquement actives expriment davantage de CD47, et l'infiltrat inflammatoire recruté de type M1, exprime le SIRP α , ce qui permettrait une régulation du système immunitaire inné par les TFS agressives via l'axe CD47-SIRP α .

4.4. L'expression de PRAME dans les TFS

Une des raisons expliquant l'échec du système immunitaire face aux cellules tumorales, est la répression de la réponse cytotoxique des cellules T soit par les cellules présentatrices d'antigènes (CPA), soit par les cellules tumorales elles-mêmes.

En ce sens, l'immunothérapie est une thérapeutique « non spécifique » au traitement des tumeurs.

Elle est idéalement réalisée par modification ex-vivo des cellules T du patient pour exprimer des récepteurs antigéniques chimériques dirigés spécifiquement contre les antigènes de surface de la tumeur (85), comme c'est le cas dans le mélanome, avec l'utilisation des immunothérapies basées sur les cellules T spécialement dirigées contre PRAME (86).

Une étude récente (17) retrouve une surexpression de la protéine PRAME chez les patients présentant des TFS présentant une mutation du promoteur de TERT ; mutation potentiellement associée à un mauvais pronostic (87–89).

PRAME est une protéine décrite pour la première fois en 1997 comme antigène du mélanome dont l'expression confère à la tumeur un avantage sélectif face aux lymphocytes T cytotoxiques (18), et identifiée comme un répresseur de la voie de signalisation de l'acide rétinoïque, et donc inhibant la différenciation, l'arrêt de la prolifération et l'apoptose cellulaire (19).

Son expression pourrait être également associée à une résistance contre certaines chimiothérapies, et notamment la trétinoïne (acide tout-trans rétinoïque, ATRA) dans la leucémie aigue promyélocytaire en pédiatrie (90)

Dans l'étude de Wang et collaborateurs, l'expression immunohistochimique de PRAME a été retrouvée dans 92% de la cohorte étudiée, soit 165/180 TFS et corrélée selon le marquage cytoplasmique : marquage négatif (0), cytoplasmique faible (1+), cytoplasmique modéré (2+) et cytoplasmique fort (3+).

In fine, il n'a pas pu être démontré de corrélation entre l'intensité du signal IHC de PRAME et la présence de la mutation de TERT, et son expression ne semble pas être associée à la plupart des données clinico-pathologiques.

Dans notre étude, nous disposions de 52 TFS pour lesquelles le statut mutationnel du promoteur de TERT était disponible : il s'agissait des TFS issues de la cohorte B, et 14 d'entre elles possédaient d'une mutation du promoteur de TERT (46 TFS TERT mutées dans l'étude de Wang). Aucune de ces 52 tumeurs n'exprimait, en immunohistochimie, PRAME, tant au niveau nucléaire (marquage typique décrit dans les tumeurs exprimant cette protéine) (59), que cytoplasmique.

Une des raisons expliquant cette différence, concerne l'anticorps utilisé : PRAME (H-10) Abcam, ab 219650, monoclonal [EPR 20330], pour notre étude et sc-137188 de chez Santacruz pour l'étude de Wang et collaborateurs. Le marquage de plus n'étant pas retrouvé à 100% dans l'étude suscitée, cette différence peut s'expliquer également par le manque de puissance secondaire à notre cohorte plus petite.

En résumé : dans notre étude, PRAME n'est pas exprimé par les TFS.

4.5. Limites de l'étude

Par souci d'objectivité quant à la méthode de quantification des techniques immunohistochimiques, nous avons utilisé le logiciel open-source QuPath (54) mais cette méthode reste peu utilisée en pratique courante. La quantification elle-même est discutable : pour certains critères, un seuil « threshold » simple a été utilisé, distinguant la classification d'un pixel comme « positif » ou « négatif ». Ce seuil peut être controversé, bien que défini après multiples essais, par des pathologistes experts, mais l'utilisation de ce même seuil sur l'ensemble de la cohorte limite les biais de classement potentiels.

Peu d'études se sont intéressées à l'évaluation du CD209 en immunohistochimie. Différentes méthodes ont donc été mise en place pour mesurer ce marqueur, et nous avons été confrontés à des résultats différents entre ceux dépendants du seuil intermédiaire retenu, et ceux secondaires au calcul du pix H-score. Ce score a été utilisé afin de limiter les biais de classement liés à la subjectivité concernant l'évaluation d'une aire positive en immunohistochimie par le pathologiste à l'œil nu, comparable à l'utilisation du seuil intermédiaire (83,84). Pondéré, ce score a mis en évidence une expression faible du marqueur d'intérêt, que le seuil n'a pas pris en compte. Ce qui a permis de supposer l'existence d'une expression faible du CD209 par les macrophages, à différencier de sa surexpression qui est un facteur pronostique selon nos analyses statistiques.

Enfin, les analyses multivariées n'ont pas pu être réalisées par manque d'informations sur certaines données comme la chimiothérapie ou les marges positives, empêchant l'ajustement sur ces facteurs, secondaire à l'absence de standardisation initiale, liée au caractère rétrospectif de l'étude. Les analyses en sous-groupe en univariées ont pour objectif d'ajuster sur certains critères mais restent insuffisantes.

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Notre étude a permis de mettre en évidence un lien entre l'évolution des TFS, et le micro-environnement immunitaire.

Les macrophages de type M1 et M2 sont recrutés de façon plus importante dans les TFS ayant des critères histologiques de mauvais pronostic. Leur rôle pourrait être protecteur, afin de limiter le risque d'événement indésirable : au sein d'un même groupe pronostique, plus une TFS possède un infiltrat macrophagique dense, moins elle est à risque d'événement indésirable.

Nous n'avons cependant pas réussi à mettre en évidence une différence pronostique, entre les macrophages de type M1 et ceux de type M2. Indirectement, nous avons constaté l'effet délétère des macrophages de type M2 car une expression augmentée de CD209 était un facteur péjoratif pour la survie sans récurrence, et était corrélée à la survenue de métastases.

Nous avons également décrit le checkpoint immunitaire CD47-SIRP α . Les TFS mitotiquement actives tentent d'échapper à la régulation de l'immunité innée de type M1, via le « don't eat me signal » : elles expriment d'avantage le CD47, et l'infiltrat inflammatoire recruté exprime lui aussi plus fréquemment le SIRP α .

Le marqueur PRAME, quant à lui, annoncé comme de mauvais pronostic dans une étude précédente, n'a pas été identifié au sein de notre cohorte.

A travers cette étude, nous avons alors prouvé le lien entre l'immunité innée et le pronostic des tumeurs fibreuses solitaires suggérant de possibles débouchés thérapeutiques.

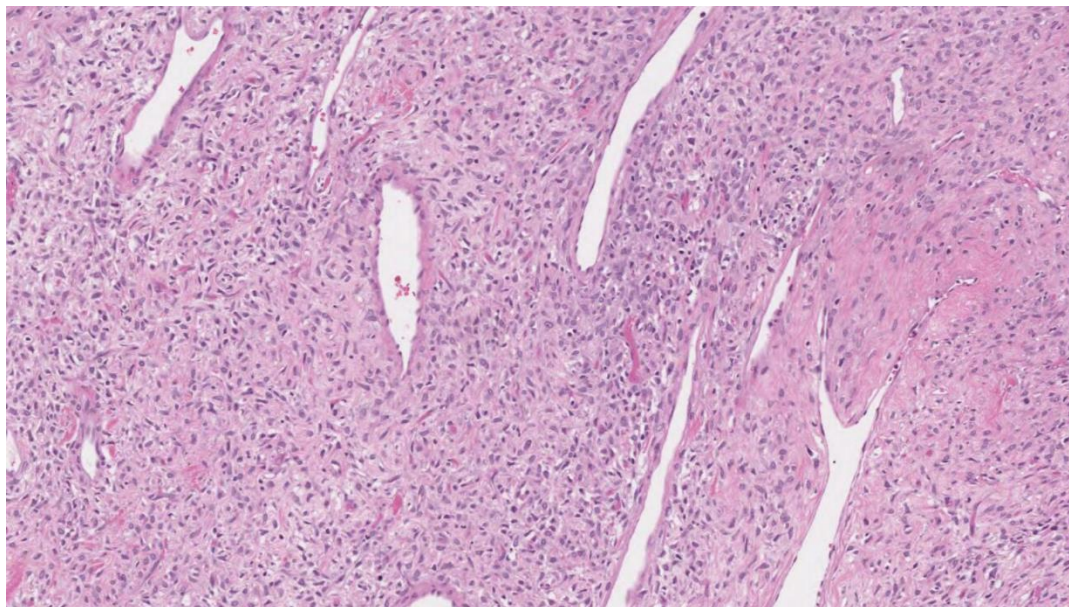
6. ANNEXES

Annexe 1 : WHO Classification of soft tissue tumors (1).

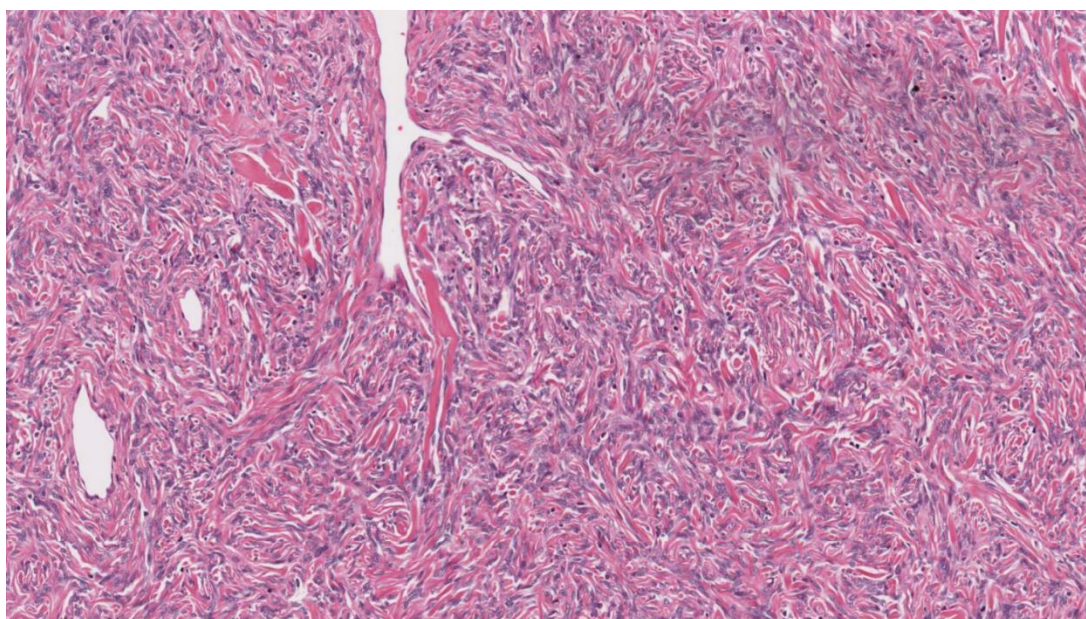
Type histologique	Bénin	Intermédiaire (agressivité locale)	Intermédiaire (métastasant)	Malin
Adipocytaire	Lipome et ses variantes (lipoblastome, hibernome, lipomatose)	Tumeur lipomateuse atypique		Liposarcome
Fibroblastique / myofibroblastique	Fasciite nodulaire, fasciite proliférative, myosite proliférative, elastofibrome, fibroblastome et variantes, fibrome et variantes, fibromyxome Fibromatosis colli, myofibrome, angiofibrome à cellules géantes	Fibromatose de type desmoïde, Tumeur fibreuse solitaire, fibromatose palmoplantaire, lipofibromatose	Tumeur fibreuse solitaire / hémangiopéricytome, tumeur inflammatoire myofibroblastique, dermatifiobrosarcome protuberans NOS, sarcome myofibroblastique,	Fibrosarcome, tumeur fibreuse solitaire maligne, myxofibrosarcome, sarcome fibromyxoïde
Fibro- histiocytaire	Histiocytome fibreux bénin, tumeur à cellules géantes type diffus, tumeur ténosynoviale à cellules géantes		Tumeur à cellules géantes des tissus mous ; tumeur fibrohistiocytaire plexiforme	Tumeur ténosynoviale à cellules géantes maligne
Musculaire strié	Rhabdomyome			rhabdomyosarcome, ectoméenchymome
Musculaire lisse	Léiomyome, angioléiomyome			leiomyosarcome
Vasculaire	Hémangiome, lymphangiome	Hémangioendothéliome kaposiforme	Sarcome de Kaposi, (hem)angioendothéliome	Angiosarcome, hémangioendothéliome épithélioïde NOS
Péricytaire	Tumeur glomique, myopéricytome, angioléiomyome			Tumeur glomique maligne

Chondro-osseux	Chondrome des tissus mous			Chondrosarcome mésentymateux, ostéosarcome extrasquelettique
Gastrointestinal stromal tumour				
Tumeurs des gaines nerveuses périphériques	Schwannome, neurofibrome, tumeur à cellules granuleuses, myxome des gaines nerveuses, neurome solitaire circonscrit, méningiome, tumeur hybride des gaines nerveuses			Tumeur des gaines des nerfs périphériques maligne, tumeur à cellule granuleuse maligne, péricyome malin
De différenciation incertaine	Myxome, tumeur périvasculaire épithélioïde, angiomyolipome	Tumeur fibrolipomateuse hémorragique, angiomyolipome épithélioïde	Tumeur fibromyxoïde ossifiante, fibrosarcome atypique, tumeur mixte, myoépithéliome	Sarcome synovial, sarcome alvéolaire des tissus mous, tumeur neuroectodermique primitive, sarcome d'Ewing, tumeur mésentymateuse phosphaturique, sarcome épithélioïde, sarcome à cellules claires, chondrosarcome myxoïde extrasquelettique, sarcome desmoplastique à cellules rondes, tumeur rhabdoïde, tumeur périvasculaire épithélioïde, sarcome intimal, tumeur fibromyxoïde ossifiante, carcinome myoépithélial, sarcome indéterminé, sarcome à cellules fusiformes, sarcome pléomorphe, sarcome à cellules rondes

Annexe 2 : Histologie des TFS.

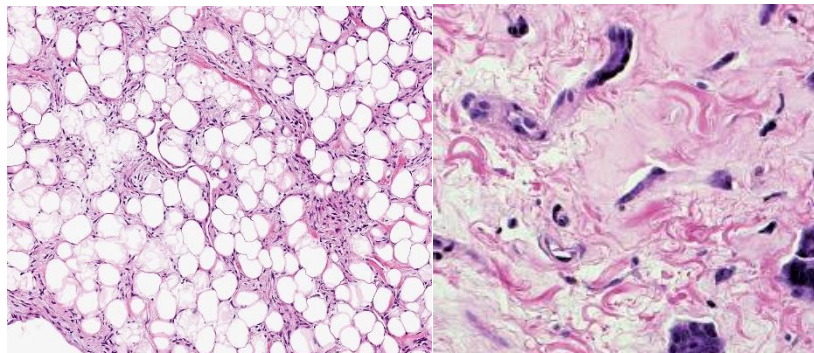
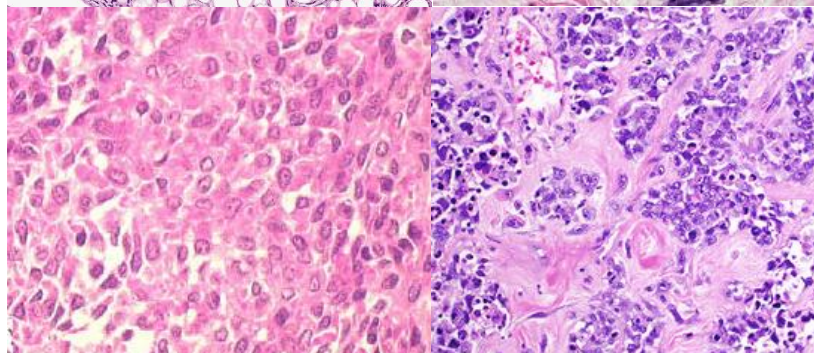


A : Forme cellulaire, à grossissement intermédiaire : nappes de cellules cohésives, avec densité cellulaire importante, et vascularisation hémangiopéricytaire

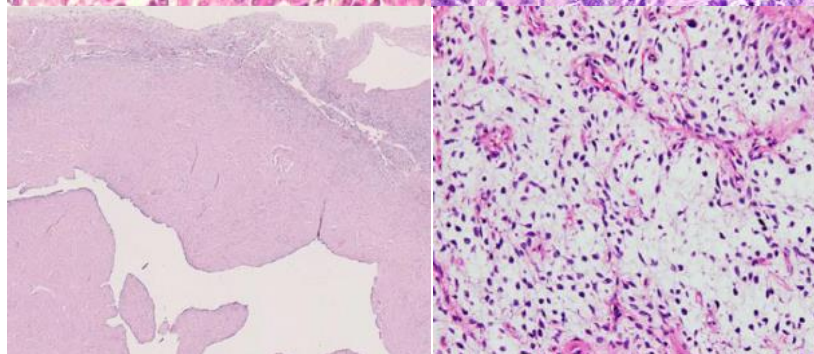


B : forme fibreuse, prolifération de cellules tumorales sans pattern architectural spécifique, au sein d'un stroma abondant collagénique.

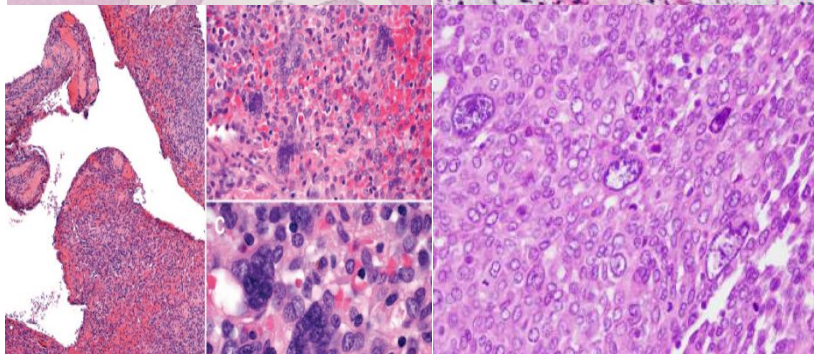
Annexe 3 : Variantes morphologiques des TFS.

Lipogénique
(91)A cellules
géantes
ostéoclastique
s (92)Epithélioïde
(93)Rhabdoïde
(94)

Kystique (95)



Myxoïde (96)

Angiofibrome
à cellules
géantes (97)Dédifférencié
(96)

Annexe 4 : Système d'évaluation du risque de Demicco des TFS selon l'OMS des tissus mous

(1)

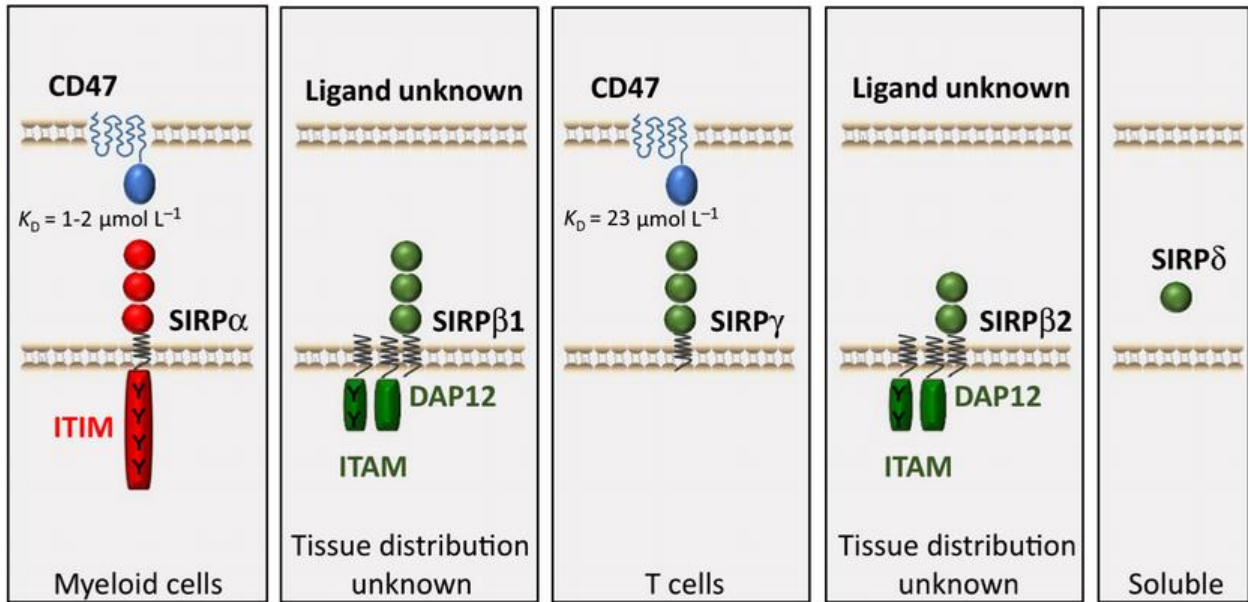
Facteur de risque	Cut-off	Points assignés	
		Modèle à 3 variables	Modèle à 4 variables
Âge du patient (années)	< 55	0	0
	55 ou +	1	1
Mitoses/mm ² (mitoses pour 10 champs à fort grossissement)	0 (0)	0	0
	0.5-1.5 (1-3)	1	1
	2 ou plus (4 ou plus)	2	2
Taille de la tumeur (cm)	0-4.9	0	0
	5-9.9	1	1
	10-14.9	2	2
	15 ou plus	3	3
Nécrose tumorale	< 10%	n/a	0
	10% ou plus	n/a	1
Risque	Faible	0-2 points	0-3 points
	Intermédiaire	3-4 points	4-5 points
	Fort	5-6 points	6-7 points

n/a : non applicable

Annexe 5 : Grading de l'OMS des TFS neuro-méningées (8).

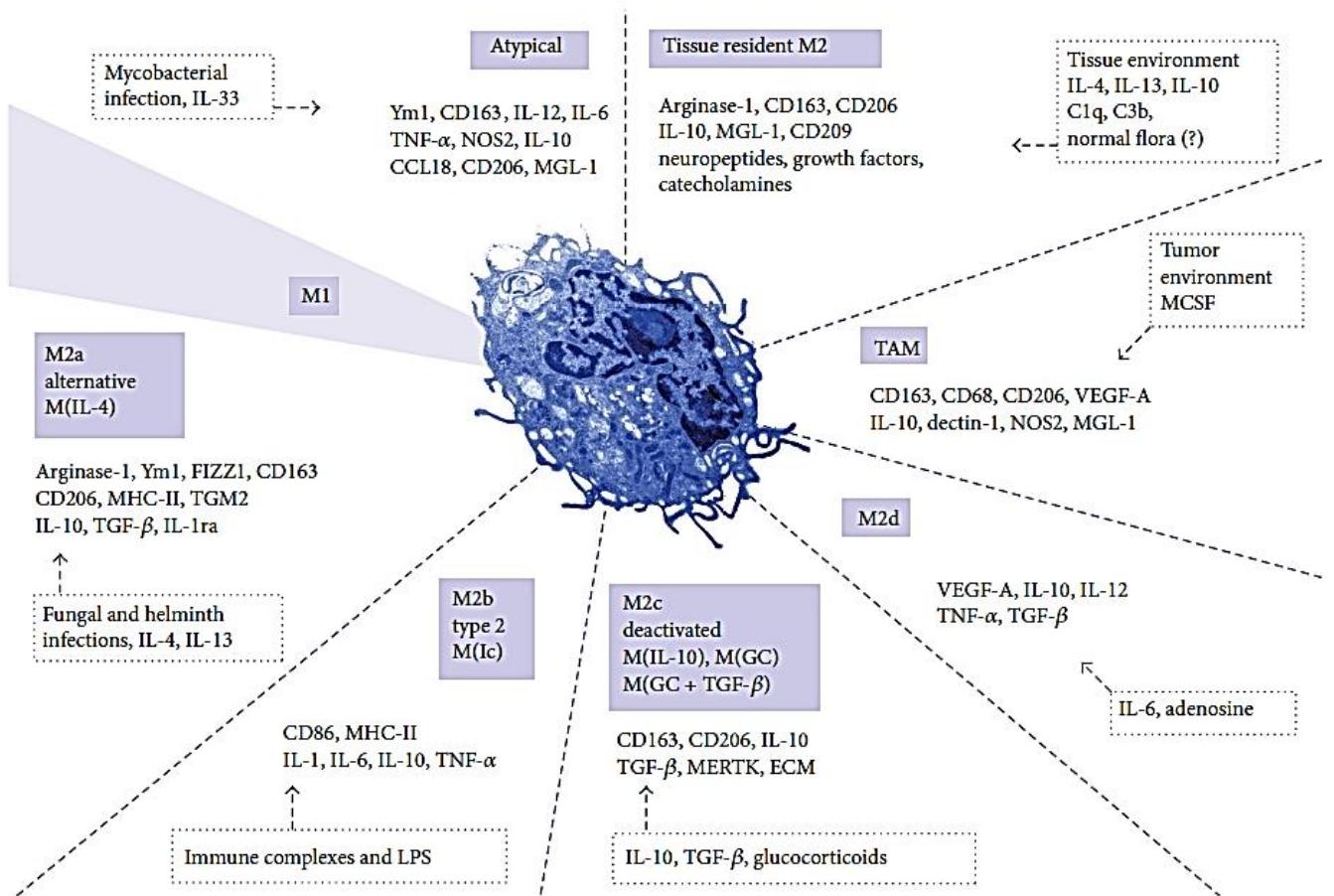
- i. Grade 1 : < 2.5 mitoses / mm^2 (< 5 mitoses/10 HPFs)
- ii. Grade 2 : ≥ 2.5 mitoses / mm^2 (≥ 5 mitoses /10 HPFs) sans nécrose
- iii. Grade 3 : ≥ 2.5 mitoses / mm^2 (≥ 5 mitoses /10 HPFs) avec nécrose

Annexe 6 : La famille des SIRP chez l'espèce humaine.



(21)

Annexe 7 : Schéma résumé de l'état de polarisation du macrophage selon les stimuli. (35)



Annexe 8 : Lettre envoyée aux patients inclus par hospitalisation au sein de l'AP-HM.



HOPITAL DE LA TIMONE
SERVICE ANATOMIE & CYTOLOGIE PATHOLOGIQUES,
NEUROPATHOLOGIE
Tél : 04 13 42 90 10 - Fax : 04 91 38 44 11

pôle : BIOLOGIE-PATHOLOGIE – UF 0700

Pr Laurent DANIEL
PU-PH - Chef de service
RPPS 10003377412
laurent.daniel@ap-hm.fr

Pr Dominique FIGARELLA-BRANGER
PU-PH – Adjointe, Chef de service
RPPS 10003357851
dominique.figarella-branger@ap-hm.fr

Professeur Hubert LEPIDI
PU-PH – RPPS 10003368494
hubert.lepidi@ap-hm.fr

Docteur Corinne BOUVIER
MCU-PH – RPPS 10003374377
corinne.bouvier2@ap-hm.fr

Docteur André MAUES DE PAULA
MCU-PH - RPPS 10100272821
andre.mauesdespaula@ap-hm.fr

Docteur Nicolas MACAGNO
MCU-PH - RPPS 10100821528
nicolas.macagno@ap-hm.fr

Docteur Jean DELGRANDE
PH - RPPS 10003906426
jean.del-grande@ap-hm.fr

Docteur Wassim ESSAMET
PH - RPPS 10100031029
wassim.essamet@ap-hm.fr

Docteur Julia TORRENTS
PH - RPPS 10100287084
julia.torrents@ap-hm.fr

Docteur Anne LARROQUE/BLANC
PH-MT - RPPS 10033591339
anne.larroque@ap-hm.fr

Docteur Radia FRITH
PHC - RPPS 10102056057
radia.frith@ap-hm.fr

Docteur Aurélie HAFFNER
PHC - RPPS 1010724747
aurélie.haffner@ap-hm.fr

Docteur Romain APPAY
AHU - RPPS 10102008851
romain.appay@ap-hm.fr

Docteur Anais BACHONGY
AS - RPPS 10101985389
anais.bachongy@ap-hm.fr

HÔPITAUX
UNIVERSITAIRES
DE MARSEILLE
TIMONE
264, rue Saint-Pierre
13005 Marseille
04 91 38 00 00
fr.ap-hm.fr



Madame, Monsieur,

Lors de votre intervention chirurgicale, une partie des prélèvements qui a été enlevée et inclus en paraffine a été conservée.

Nous vous écrivons pour vous informer de notre volonté d'utiliser ce matériel à des fins de recherche.

En cas d'opposition, merci de nous réadresser le formulaire ci-joint à l'adresse suivante :

*SERVICE D'ANATOMIE PATHOLOGIQUE ET DE NEUROPATHOLOGIE -
CHU – TIMONE 264 rue Saint Pierre – 13385 MARSEILLE Cedex 05*

En vous remerciant de votre participation.

Bien cordialement.

Annexe 9 : Lettre adressée aux patients inclus via le réseau RREPS.

Madame, Monsieur,

Vous-même ou votre enfant avez fait l'objet d'un prélèvement tissulaire examiné par un pathologiste (médecin spécialiste de l'analyse des tissus et de leurs maladies).

En raison sa particularité, ce prélèvement a été adressé au Réseau de Référence en Pathologie des Sarcomes des tissus mous et des Viscères (RRePS), réseau national mis en place par l'Institut National du Cancer (INCa), afin d'être examiné par un second pathologiste pour préciser au mieux votre diagnostic.

- ✚ Dans ce cadre, votre observation anonymisée a été enregistrée dans le réseau national RRePS <https://rreps.sarcomabcb.org>, en accord avec la réglementation de la Commission Nationale Informatique et Libertés (CNIL) et le Règlement Général de Protection des Données (RGPD).
- ✚ Un fragment du prélèvement peut être conservé dans les archives du réseau national RRePS : cela permet de garantir au mieux son accessibilité future si des analyses supplémentaires étaient nécessaires (pour prendre de nouvelles décisions de traitement), de surveillance ou à des fins pédagogiques ou de recherche académique.
- ✚ En tant que patient, vous avez droit de regard sur les informations vous concernant et vous pouvez vous opposer à tout moment à l'enregistrement dans la base et stockage du prélèvement en contactant l'un des pathologistes des centres référents nationaux :

Institut Bergonié Bordeaux - Dr LE LOARER 05 56 33 78 50
Centre Léon Bérard Lyon - Dr KARANIAN 04 26 55 67 55
Institut Gustave Roussy Paris - Dr TERRIER 01 42 11 45 24

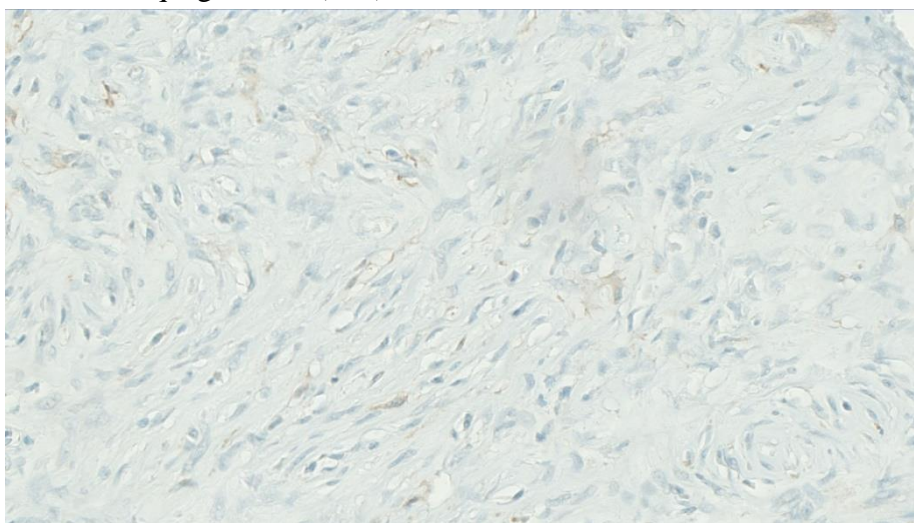
- ✚ Votre pathologie ou celle de votre enfant appartient à un groupe de lésions hétérogènes, de gravité très variable et il est parfois important d'obtenir une information claire sur cette maladie : une association de patients partenaire de notre réseau et de l'INCa peut vous fournir des informations et vous apporter un soutien www.infosarcomes.org/

Annexe 10 : Liste des anticorps utilisés.

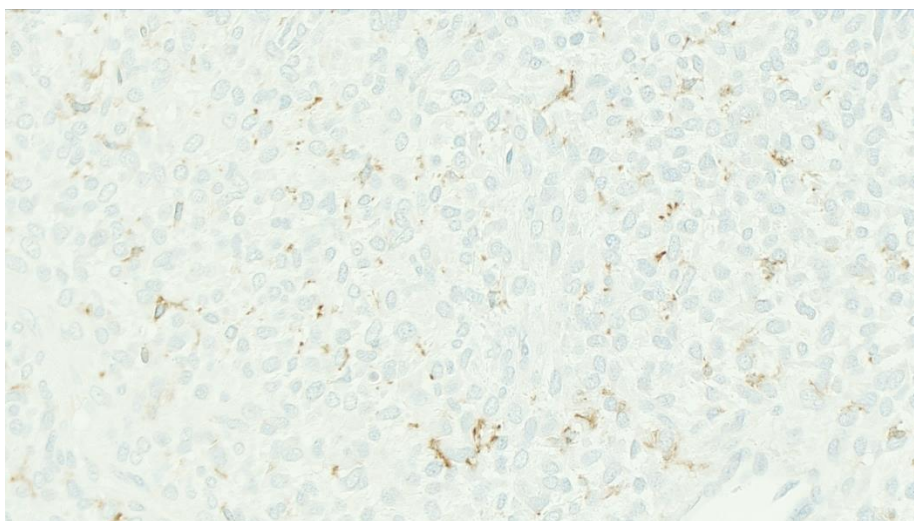
Anticorps	Clone	Dilution
CD68	Dako, clone KP1	1/500
CD163	Leica, Clone 10D6, NCL-L-CD163	1/250
CD209	DC-SIGN, Thermofisher, PA5_7868 Polyclonal	1/500
CD47	LSBio, L9_B10546, polyclonal	1/200
SIRP α	Santacruz, SIRP- α/β (A-1) : sc-1780	1/50
PRAME	Abcam, ab 219650, EPR 20330	1/1000

Annexe 11 : Les différents marquages immunohistochimiques du CD209.

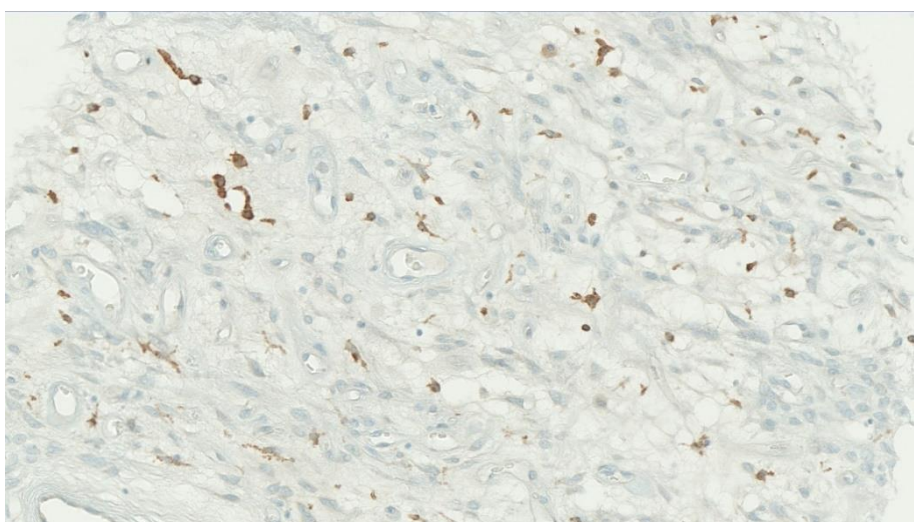
- Marquage faible (x40)



- Marquage intermédiaire (x40)

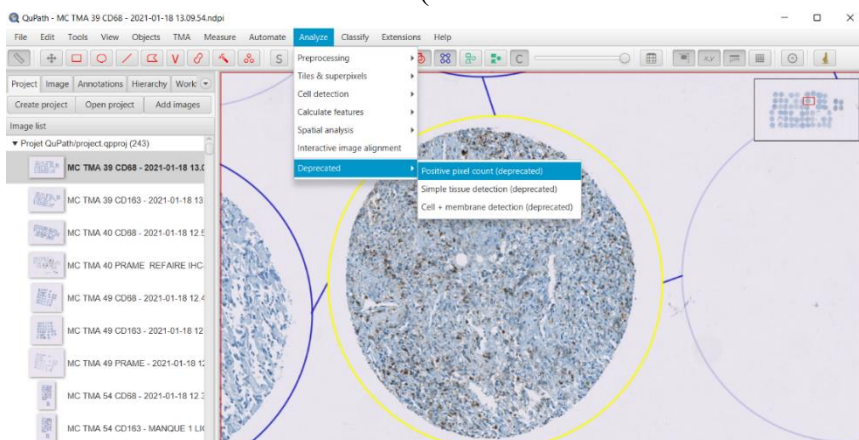


- Marquage fort (x40)

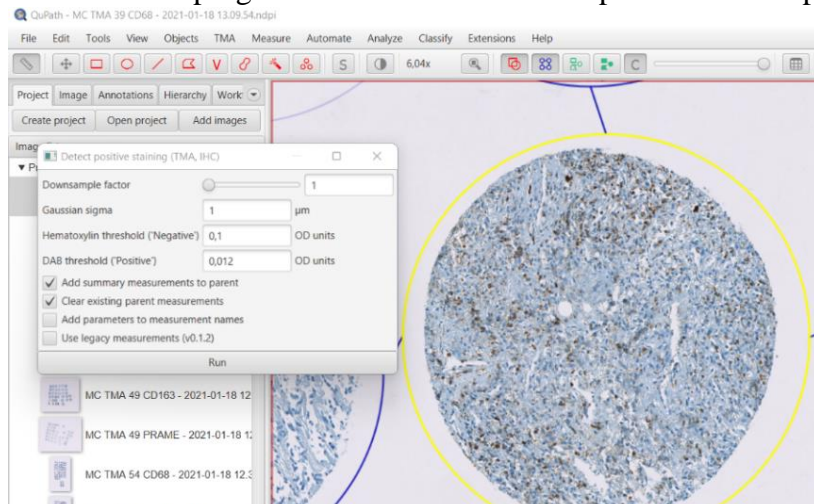


Annexe 12 : Exemple d'acquisition de la densité de pixels positifs via QuPath.

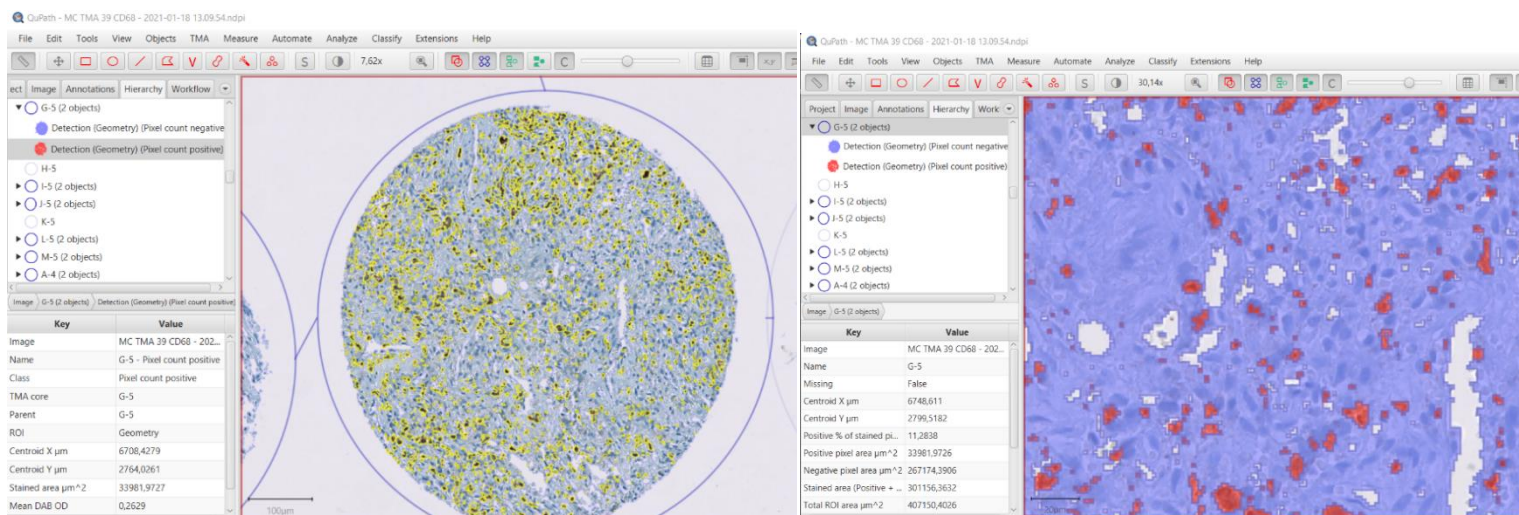
1 : sélection de la zone d'intérêt (ici l'échantillon G5 de la TMA 39)



2 : lancement du programme de l'évaluation des pixels selon les paramètres énoncés



3 : les pixels positifs sont mis en évidence et les données sont accessibles



7. BIBLIOGRAPHIE

1. WHO Classification of Tumours: Volume 3. Soft Tissue and Bone Tumours. WHO; 2020.
2. Klemperer P, Rabin CB, Primary neoplasms of the pleura: a report of five cases. *Arch Pathol*, 1931; 11:385-412.
3. Kruse F. Hemangiopericytoma of the meninges (angioblastic meningioma of Cushing and Eisenhardt). *Neurology*. 1961;11:771.
4. Stout AP. Hemangiopericytoma. A study of twenty-five new cases. *Cancer*. 1949;2:1027-54.
5. Bouvier C, Métellus P, de Paula AM, Vasiljevic A, Jouvét A, Guyotat J, et al. Solitary fibrous tumors and hemangiopericytomas of the meninges: overlapping pathological features and common prognostic factors suggest the same spectrum of tumors. *Brain Pathol*. 2012;22:511-21.
6. Chmielecki J, Crago AM, Rosenberg M, O'Connor R, Walker SR, Ambrogio L, et al. Whole exome sequencing identifies a recurrent NAB2-STAT6 fusion in solitary fibrous tumors. *Nat Genet*. 2013;45:131-2.
7. Robinson DR, Wu Y-M, Kalyana-Sundaram S, Cao X, Lonigro RJ, Sung Y-S, et al. Identification of recurrent NAB2-STAT6 gene fusions in solitary fibrous tumor by inte-grative sequencing. *Nat Genet*. 2013;45:180-5.
8. WHO Classification of Tumours Editorial Board. World Health Organization Classification of Tumours of the Central Nervous System. 5th ed. Lyon : International Agency for Research on Cancer ; 2021.
9. Salas S, Resseguier N, Blay JY, Le Cesne A, Italiano A, Chevreau C, et al. Prediction of local and metastatic recurrence in solitary fibrous tumor: construction of a risk calculator in a multicenter cohort from the French Sarcoma Group (FSG) database. *Ann Oncol*. 2017;28:1979-87.
10. Martin-Broto J, Mondaza-Hernandez JL, Moura DS, Hindi N. A Comprehensive Review on Solitary Fibrous Tumor: New Insights for New Horizons. *Cancers*. 2021;13:2913.
11. Agaimy A. Paraneoplastic disorders associated with miscellaneous neoplasms with focus on selected soft tissue and Undifferentiated/ rhabdoid malignancies. *Semin Diagn Pathol*. 2019;36:269-278.
12. Ray-Coquard I, Montesco MC, Coindre JM, Dei Tos AP, Lurkin A, Ranchère-Vince D, et al. Sarcoma: concordance between initial diagnosis and centralized expert review in a population-based study within three European regions. *Annals of Oncology*. 2012;23:2442-9.
13. Pasquali S, Gronchi A, Strauss D, Bonvalot S, Jeys L, Stacchiotti S, et al. Resectable extra-pleural and extra-meningeal solitary fibrous tumours: A multi-centre prognostic study. *Eur J Surg Oncol*. 2016;42:1064-70.

14. Huang S-C, Li C-F, Kao Y-C, Chuang I-C, Tai H-C, Tsai J-W, et al. The clinicopathological significance of NAB2-STAT6 gene fusions in 52 cases of intrathoracic solitary fibrous tumors. *Cancer Med*. 2016;5:159-68.
15. Nakada S, Minato H, Nojima T. Clinicopathological differences between variants of the NAB2-STAT6 fusion gene in solitary fibrous tumors of the meninges and extra-central nervous system. *Brain Tumor Pathol*. 2016;33:169-74.
16. Tai H-C, Chuang I-C, Chen T-C, Li C-F, Huang S-C, Kao Y-C, et al. NAB2-STAT6 fusion types account for clinicopathological variations in solitary fibrous tumors. *Mod Pathol*. 2015;28:1324-35.
17. Wang W-L, Gokgoz N, Samman B, Andrulis IL, Wunder JS, Demicco EG. RNA expression profiling reveals PRAME, a potential immunotherapy target, is frequently expressed in solitary fibrous tumors. *Mod Pathol*. 2021;34:951-60.
18. Ikeda H, Lethé B, Lehmann F, Van Baren N, Baurain J-F, De Smet C, et al. Characterization of an Antigen That Is Recognized on a Melanoma Showing Partial HLA Loss by CTL Expressing an NK Inhibitory Receptor. *Immunity*. 1997;6:199-208.
19. Epping MT, Wang L, Edel MJ, Carlée L, Hernandez M, Bernardis R. The Human Tumor Antigen PRAME Is a Dominant Repressor of Retinoic Acid Receptor Signaling. *Cell*. 2005;122:835-47.
20. Couzin-Frankel J. Cancer Immunotherapy. *Science*. 2013;342:1432-3.
21. Matlung HL, Szilagyi K, Barclay NA, van den Berg TK. The CD47-SIRP α signaling axis as an innate immune checkpoint in cancer. *Immunol Rev*. 2017;276:145-64.
22. Beek EM van, Cochrane F, Barclay AN, Berg TK van den. Signal Regulatory Proteins in the Immune System. *The Journal of Immunology*. 2005;175:7781-7.
23. Adams S, van der Laan LJ, Vernon-Wilson E, et al. Signal-regulatory protein is selectively expressed by myeloid and neuronal cells. *J Immunol*. 1998;161:1853–1859.
24. Isenberg JS, Annis DS, Pendrak ML, et al. Differential interactions of thrombospondin-1, -2, and -4 with CD47 and effects on cGMP signaling and ischemic injury responses. *J Biol Chem*. 2009;284:1116–1125.
25. Isenberg JS, Ridnour LA, Dimitry J, Frazier WA, Wink DA, Roberts DD. CD47 is necessary for inhibition of nitric oxide-stimulated vascular cell responses by thrombospondin-1. *J Biol Chem*. 2006;281:26069–26080.
26. Jeanne A, Schneider C, Martiny L, Dedieu S. Original insights on thrombospondin-1-related antireceptor strategies in cancer. *Front Pharmacol*. 2015;6:252.
27. Csanyi G, Yao M, Rodriguez AI, et al. Thrombospondin-1 regulates blood flow via CD47 receptor-mediated activation of NADPH oxidase 1. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:2966–73.

28. Pinessi D, Foglieni C, Bugatti A, et al. PO-15— Antiangiogenic small molecule ligands of FGF2 derived from the endogenous inhibitor thrombospondin-1. *Thromb Res.* 2016;140(Suppl 1):S182.
29. Gao L, Chen K, Gao Q, Wang X, Sun J, Yang Y-G. CD47 deficiency in tumor stroma promotes tumor progression by enhancing angiogenesis. *Oncotarget.* 2017;8:22406-13.
30. Sica A, Mantovani A. Macrophage plasticity and polarization: in vivo veritas. *J Clin Invest.* 2012;122:787-95.
31. Martinez FO, Gordon S. The M1 and M2 paradigm of macrophage activation: time for reassessment. *F1000Prime Rep.* 2014;6:13.
32. Atri C, Guerfali FZ, Laouini D. Role of human macrophage polarization in inflammation during infectious diseases. *Int J Mol Sci.* 2018;19:1801.
33. Mackaness GB. The immunological basis of acquired cellular resistance. *J Exp Med.* 1964;120:105–120.
34. Mantovani A, Sica A, Sozzani S, Allavena P, Vecchi A, Locati M. The chemokine system in diverse forms of macrophage activation and polarization. *Trends Immunol.* 2004;25:677–86.
35. Rószter T. Understanding the Mysterious M2 Macrophage through Activation Markers and Effector Mechanisms. *Mediators Inflamm.* 2015;2015:816460.
36. Dancsok AR, Gao D, Lee AF, Steigen SE, Blay J-Y, Thomas DM, et al. Tumor-associated macrophages and macrophage-related immune checkpoint expression in sarcomas. *Oncolmmunology.* 2020;9:1747340.
37. Stacchiotti, S.; Saponara, M.; Frapolli, R.; Tortoreto, M.; Cominetti, D.; Provenzano, S.; Negri, T.; Dagrada, G.P.; Gronchi, A.; Colombo, C.; et al. Patient-derived solitary fibrous tumour xenografts predict high sensitivity to doxorubicin/dacarbazine combination confirmed in the clinic and highlight the potential effectiveness of trabectedin or eribulin against this tumour. *Eur. J. Cancer.* 2017;76, 84–92.
38. Stacchiotti, S.; Libertini, M.; Negri, T.; Palassini, E.; Gronchi, A.; Fatigoni, S.; Poletti, P.; Vincenzi, B.; Dei Tos, A.P.; Mariani, L.; et al. Response to chemotherapy of solitary fibrous tumour: A retrospective study. *Eur. J. Cancer.* 2013;49,2376–2383.
39. Constantinidou, A.; Jones, R.L.; Olmos, D.; Thway, K.; Fisher, C.; Al-Muderis, O.; Judson, I. Conventional anthracycline-based chemotherapy has limited efficacy in solitary fibrous tumour. *Acta Oncol.* 2012;51:550–554.
40. Levard, A.; Derbel, O.; Meeus, P.; Ranchere, D.; Ray-Coquard, I.; Blay, J.Y.; Cassier, P.A. Outcome of patients with advanced solitary fibrous tumors: The Centre Leon Berard experience. *BMC Cancer.* 2013;13:109.

41. Schoffski, P.; Timmermans, I.; Hompes, D.; Stas, M.; Sinnaeve, F.; De Leyn, P.; Coosemans, W.; Van Raemdonck, D.; Hauben, E.; Sciote, R.; et al. Clinical Presentation, Natural History, and Therapeutic Approach in Patients with Solitary Fibrous Tumor: A Retrospective Analysis. *Sarcoma*. 2020;2020: ID 1385978.
42. Park, M.S.; Ravi, V.; Conley, A.; Patel, S.R.; Trent, J.C.; Lev, D.C.; Lazar, A.J.; Wang, W.L.; Benjamin, R.S.; Araujo, D.M. The role of chemotherapy in advanced solitary fibrous tumors: A retrospective analysis. *Clin. Sarcoma Res.* 2013;3:7.
43. Outani, H.; Kobayashi, E.; Wasa, J.; Saito, M.; Takenaka, S.; Hayakawa, K.; Endo, M.; Takeuchi, A.; Kobayashi, H.; Kito, M.; et al. Clinical Outcomes of Patients with Metastatic Solitary Fibrous Tumors: A Japanese Musculoskeletal Oncology Group (JMOG) Multiinstitutional Study. *Ann. Surg. Oncol.* 2021;28:3893-3901.
44. Stacchiotti, S.; Tortoreto, M.; Bozzi, F.; Tamborini, E.; Morosi, C.; Messina, A.; Libertini, M.; Palassini, E.; Cominetti, D.; Negri, T.; et al. Dacarbazine in solitary fibrous tumor: A case series analysis and preclinical evidence vis-a-vis temozolomide and antiangiogenics. *Clin. Cancer Res.* 2013;19:5192–5201.
45. Chaigneau, L.; Kalbacher, E.; Thiery-Vuillemin, A.; Fagnoni-Legat, C.; Isambert, N.; Aherfi, L.; Pauchot, J.; Delroeux, D.; Servagi-Vernat, S.; Mansi, L.; et al. Efficacy of trabectedin in metastatic solitary fibrous tumor. *Rare Tumors.* 2011;3:e29.
46. Khalifa, J.; Ouali, M.; Chaltiel, L.; Le Guellec, S.; Le Cesne, A.; Blay, J.Y.; Cousin, P.; Chaigneau, L.; Bompas, E.; Piperno-Neumann, S.; et al. Efficacy of trabectedin in malignant solitary fibrous tumors: A retrospective analysis from the French Sarcoma Group. *BMC Cancer* 2015, 15, 700.
47. Kobayashi, H.; Iwata, S.; Wakamatsu, T.; Hayakawa, K.; Yonemoto, T.; Wasa, J.; Oka, H.; Ueda, T.; Tanaka, S. Efficacy and safety of trabectedin for patients with unresectable and relapsed soft-tissue sarcoma in Japan: A Japanese Musculoskeletal Oncology Group study. *Cancer.* 2020;126:1253–1263.
48. Park, M.S.; Patel, S.R.; Ludwig, J.A.; Trent, J.C.; Conrad, C.A.; Lazar, A.J.; Wang, W.L.; Boonsirikamchai, P.; Choi, H.; Wang, X.; et al. Activity of temozolomide and bevacizumab in the treatment of locally advanced, recurrent, and metastatic hemangiopericytoma and malignant solitary fibrous tumor. *Cancer.* 2011;117:4939–4947.
49. Maruzzo, M.; Martin-Liberal, J.; Messiou, C.; Miah, A.; Thway, K.; Alvarado, R.; Judson, I.; Benson, C. Pazopanib as first line treatment for solitary fibrous tumours: The Royal Marsden Hospital experience. *Clin. Sarcoma Res.* 2015;5:5.
50. Xie, C.; Wan, X.; Quan, H.; Zheng, M.; Fu, L.; Li, Y.; Lou, L. Preclinical characterization of anlotinib, a highly potent and selective vascular endothelial growth factor receptor-2 inhibitor. *Cancer Sci.* 2018, 109, 1207–1219.

51. Hu-Lowe, D.D.; Zou, H.Y.; Grazzini, M.L.; Hallin, M.E.; Wickman, G.R.; Amundson, K.; Chen, J.H.; Rewolinski, D.A.; Yamazaki, S.; Wu, E.Y.; et al. Nonclinical antiangiogenesis and antitumor activities of axitinib (AG-013736), an oral, potent, and selective inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases 1, 2, 3. *Clin. Cancer Res.* 2008;14:7272–7283.
52. You, W.K.; Sennino, B.; Williamson, C.W.; Falcón, B.; Hashizume, H.; Yao, L.C.; Aftab, D.T.; McDonald, D.M. VEGF and c-Met blockade amplify angiogenesis inhibition in pancreatic islet cancer. *Cancer Res.* 2011;71:4758–4768.
53. Martin-Broto J, Cruz J, Penel N, Le Cesne A, Hindi N, Luna P, et al. Pazopanib for treatment of typical solitary fibrous tumours: a multicentre, single-arm, phase 2 trial. *The Lancet Oncology.* 2020;21:456-66.
54. Bankhead P, Loughrey MB, Fernández JA, Dombrowski Y, McArt DG, Dunne PD, et al. QuPath: Open source software for digital pathology image analysis. *Sci Rep.* 2017;7:16878.
55. Zhang J, Cao J, Ma S, Dong R, Meng W, Ying M, et al. Tumor hypoxia enhances non-small cell lung cancer metastasis by selectively promoting macrophage M2 polarization through the activation of ERK signaling. *Oncotarget.* 2014;5:9664-77.
56. Tazzari M, Indio V, Vergani B, De Cecco L, Rini F, Negri T, et al. Adaptive Immunity in Fibrosarcomatous Dermatofibrosarcoma Protuberans and Response to Imatinib Treatment. *J Invest Dermatol.* 2017;137:484-93.
57. Ram S, Vizcarra P, Whalen P, Deng S, Painter CL, Jackson-Fisher A, et al. Pixelwise H-score: A novel digital image analysis-based metric to quantify membrane biomarker expression from immunohistochemistry images. *PLOS ONE.* 2021;16:e0245638.
58. Detre S, Saclani Jotti G, Dowsett M. A « quickscore » method for immunohistochemical semiquantitation: validation for oestrogen receptor in breast carcinomas. *J Clin Pathol.* 1995;48:876.
59. Lezcano C, Müller AM, Frosina D, Hernandez E, Geronimo JA, Busam KJ, et al. Immunohistochemical Detection of Cancer-Testis Antigen PRAME. *Int J Surg Pathol.* 2021;29:826-35.
60. Herwig MC, Bergstrom C, Wells JR, Holler T, Grossniklaus HE. M2/ M1 ratio of tumor associated macrophages and PPAR-gamma expression in uveal melanomas with class 1 and class 2 molecular profiles. *Exp Eye Res.* 2013;107:52–58.
61. Cornelissen R, Lievense LA, Maat AP, Hendriks RW, Hoogsteden HC, Bogers AJ, Hegmans JP, Aerts JG. Ratio of intratumoral macrophage phenotypes is a prognostic factor in epithelioid malignant pleural mesothelioma. *PLoS One.* 2014;9:e106742.

62. Barros MH, Hauck F, Dreyer JH, Kempkes B, Niedobitek G. Macrophage polarisation: an immunohistochemical approach for identifying M1 and M2 macrophages. *PLoS One*. 2013;8:e80908.
63. Zhang M, He Y, Sun X, Li Q, Wang W, Zhao A, et al. A high M1/M2 ratio of tumor-associated macrophages is associated with extended survival in ovarian cancer patients. *J Ovarian Res*. 2014;7:19.
64. Ohri CM, Shikotra A, Green RH, Waller DA, Bradding P. Macrophages within NSCLC tumour islets are predominantly of a cytotoxic M1 phenotype associated with extended survival. *European Respiratory Journal*. 2009;33:118-26.
65. Hu-Lieskovan S, Bhaumik S, Dhodapkar K, Grivel J-CJB, Gupta S, Hanks BA, et al. SITC cancer immunotherapy resource document: a compass in the land of biomarker discovery. *J Immunother Cancer*. 2020;8:e000705.
66. Qi Z, Wang L, Desai K, Cogswell J, Stern M, Lawson B, et al. Reliable Gene Expression Profiling from Small and Hematoxylin and Eosin–Stained Clinical Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded Specimens Using the HTG EdgeSeq Platform. *The Journal of Molecular Diagnostics*. 2019;21:796-807.
67. O'Rourke D, Sanchez-Garcia JF, Rolfe PA, Huang A, Wang D, Scheuenpflug J, et al. Comparison of HTG-edge targeted RNA sequencing platform with whole transcriptome RNA sequencing for clinical biomarker studies. *Cancer Res*. 2020;80:2016.
68. Bashirova AA, Wu L, Cheng J, Martin TD, Martin MP, Benveniste RE, et al. Novel member of the CD209 (DC-SIGN) gene family in primates. *J Virol*. 2003;77:217-27.
69. Liu L, Chen Z, Shi W, Liu H, Pang W. Breast cancer survival prediction using seven prognostic biomarker genes. *Oncol Lett*. 2019;18:2907-16.
70. Frafjord A, Skarshaug R, Hammarström C, Stankovic B, Dorg LT, Aamodt H, et al. Antibody combinations for optimized staining of macrophages in human lung tumours. *Scandinavian Journal of Immunology*. 2020;92:e12889.
71. Sharma P, Allison JP. The future of immune checkpoint therapy. *Science*. 2015;348(6230):56-61.
72. Coley WB. CONTRIBUTION TO THE KNOWLEDGE OF SARCOMA. *Annals of Surgery*. 1891;14:199-220.
73. Borghaei H, Paz-Ares L, Horn L, et al. Nivolumab versus docetaxel in advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;373:1627–1639.
74. Eggermont AM, Chiarion-Sileni V, Grob JJ, et al. Adjuvant ipilimumab versus placebo after complete resection of high-risk stage III melanoma (EORTC 18071): A randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16:522–530.

75. Fehrenbacher L, Spira A, Ballinger M, et al. Atezolizumab versus docetaxel for patients with previously treated non-small-cell lung cancer (POPLAR): A multicentre, open-label, phase 2 randomised controlled trial. *Lancet*. 2016;387:1837–1846.
76. Garon EB, Rizvi NA, Hui R, et al. Pembrolizumab for the treatment of non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2015;372:2018–2028.
77. Hamid O, Robert C, Daud A, et al. Safety and tumor responses with lambrolizumab (anti-PD-1) in melanoma. *N Engl J Med*. 2013;369:134–144.
78. Hodi FS, O'Day SJ, McDermott DF, et al. Improved survival with ipilimumab in patients with metastatic melanoma. *N Engl J Med*. 2010;363:711–723.
79. Motzer RJ, Escudier B, McDermott DF, et al. Nivolumab versus everolimus in advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med*. 2015;373:1803–1813.
80. Rizvi NA, Mazieres J, Planchard D, et al. Activity and safety of nivolumab, an anti-PD-1 immune checkpoint inhibitor, for patients with advanced, refractory squamous non-small-cell lung cancer (CheckMate 063): A phase 2, single-arm trial. *Lancet Oncol*. 2015;16:257–265.
81. Weber JS, D'Angelo SP, Minor D, et al. Nivolumab versus chemotherapy in patients with advanced melanoma who progressed after anti-CTLA-4 treatment (CheckMate 037): A randomised, controlled, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2015;16:375–384.
82. Oronsky B, Carter C, Reid T, Brinkhaus F, Knox SJ. Just eat it: A review of CD47 and SIRP- α antagonism. *Seminars in Oncology*. 2020;47:117-24.
83. Rimm DL. What brown cannot do for you. *Nat Biotechnol*. 2006;24:914-6.
84. Rizzardi AE, Johnson AT, Vogel RI, Pambuccian SE, Henriksen J, Skubitz AP, et al. Quantitative comparison of immunohistochemical staining measured by digital image analysis versus pathologist visual scoring. *Diagn Pathol*. 2012;7:42.
85. Fesnak AD, Levine BL, June CH. Engineered T Cells: The Promise and Challenges of Cancer Immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2016;16:566-81.
86. Gezgin G, Luk SJ, Cao J, Dogrusöz M, van der Steen DM, Hagedoorn RS, et al. PRAME as a Potential Target for Immunotherapy in Metastatic Uveal Melanoma. *JAMA Ophthalmol*. 2017;135:541-9.
87. Demicco EG, Wani K, Ingram D, Wagner M, Maki RG, Rizzo A, et al. TERT promoter mutations in solitary fibrous tumour. *Histopathology* 2018;73:843–51.
88. Bahrami A, Lee S, Schaefer IM, Boland JM, Patton KT, Pounds S, et al. TERT promoter mutations and prognosis in solitary fibrous tumor. *Mod Pathol*. 2016;29:1511–22.

89. Akaike K, Kurisaki-Arakawa A, Hara K, Suehara Y, Takagi T, Mitani K, et al. Distinct clinicopathological features of NAB2- STAT6 fusion gene variants in solitary fibrous tumor with emphasis on the acquisition of highly malignant potential. *Hum Pathol.* 2015;46:347–56.
90. Masetti R, Vendemini F, Zama D, Biagi C, Gasperini P, Pession A. All-trans retinoic acid in the treatment of pediatric acute promyelocytic leukemia. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2012;12:1191-204.
91. Folpe AL, Devaney K, Weiss SW. Lipomatous hemangiopericytoma: a rare variant of hemangiopericytoma that may be confused with liposarcoma. *Am J Surg Pathol.* 1999;23:1201-7.
92. Vizcaíno MA, Bishop J, Sharma R, Refaey K, Quiñones-Hinojosa A, Rodriguez FJ. Intracranial solitary fibrous tumor/ hemangiopericytoma with osteoclast-like multinucleated giant cells: comparison with giant cell-rich solitary fibrous tumor. *Clinical Neuropathology.* 2016;35:171-7.
93. Mourra N, Lewin M, Sautet A, Parc R, Flejou J-F. Epithelioid solitary fibrous tumor in the ischioanal fossa. *Virchows Arch.* 2005;446:674-6.
94. Reisenauer JS, Mneimneh W, Jenkins S, Mansfield AS, Aubry MC, Fritchie KJ, et al. Comparison of Risk Stratification Models to Predict Recurrence and Survival in Pleuropulmonary Solitary Fibrous Tumor. *Journal of Thoracic Oncology.* 2018;13:1349-62.
95. Watanabe T, Tanahashi M, Suzuki E, Yoshii N, Chiba K, Tsuchida H, et al. Solitary fibrous tumor of the pleura with marked cystic degeneration: a case report. *Surgical Case Reports.* 2020;6:163.
96. Tariq MU, Din NU, Abdul-Ghafar J, Park Y-K. The many faces of solitary fibrous tumor; diversity of histological features, differential diagnosis and role of molecular studies and surrogate markers in avoiding misdiagnosis and predicting the behavior. *Diagn Pathol.* 2021;16:32.
97. Demirci H, Shields CL, Eagle RCJ, Shields JA. Giant Cell Angiofibroma, A Variant of Solitary Fibrous Tumor, of the Orbit in a 16-Year-Old Girl. *Ophthalmic Plastic & Reconstructive Surgery.* 2009;25:402-4.

8. SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis à exercer la médecine, en présence des maîtres de cette école et de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité qui la régissent.

Mon premier souci sera, de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous les éléments physiques et mentaux, individuels collectifs et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou dignité.

Même sous la contrainte, je ne ferai usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients de décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer leurs consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera.

Je ne me laisserai influencer ni par la recherche du gain ni par la recherche de la gloire.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés.

Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers.

Et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances, sans acharnement.

Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission.

Que je sois modéré en tout, mais insatiable de mon amour de la science.

Je n'entreprendrai rien qui ne dépasse mes compétences ; je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

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

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses,

Que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque.

9. IMPRIMATUR

NOM ET PRENOM : COLANTONIO MATHIAS

SUJET DE LA THESE : Etude du micro-environnement immunitaire dans les tumeurs fibreuses solitaires. Rôle de l'immunité innée - étude rétrospective à propos de 137 cas.

THESE : MEDECINE

Qualification : Médecine Spécialisée

ANNEE : 2022

NUMERO D'IDENTIFICATION : 2022ANTI0746

MOTS CLEFS : Tumeurs Fibreuses Solitaires, macrophages M1, macrophages M2, CD209, CD47, SIRPalpha.

RESUME DE LA THESE

Contexte : Les tumeurs fibreuses solitaires (TFS) sont des tumeurs mésoenchymateuses rares pouvant récidiver ou métastaser et dont le traitement des complications est peu codifié. Les macrophages du microenvironnement tumoral des tumeurs mésoenchymateuses, de type M1 (CD68+) ou de type M2 (CD163+, CD209+), jouent un rôle dans leur évolution, comme la surexpression du CD209 corrélée négativement à la survie sans récurrence. D'autres études ont retrouvé une surexpression de PRAME (Preferentially Expressed in Melanoma Antigen), un marqueur lié à des mécanismes d'échappement immunitaire, chez les patients avec TFS TERT-mutées, mutation suggérée par la littérature comme étant de mauvais pronostic.

Objectif : Evaluer la composition et densité de l'infiltrat macrophagique des TFS avec les marqueurs suivants: CD68, CD163 et CD209. Analyser le checkpoint immunitaire CD47/SIRP α et l'expression de PRAME.

Méthode : Nous avons recueilli les critères clinico-pathologiques de 137 patients porteurs d'une TFS diagnostiquée dans le service de pathologie de l'hôpital de la Timone à Marseille, issus de 2 cohortes, une première de 1997 à 2009, composée de prélèvements de TFS méningées inclus en Tissue MicroArrays et une seconde, de 2010 à 2020, correspondant aux prélèvements chirurgicaux de TFS méningées ou des tissus mous. Les techniques d'immunohistochimies ont été quantifiées via le logiciel open-source QuPath.

Résultats : Les taux de macrophages de type M1 (CD68+) ou M2 (CD163+) sont plus élevés dans les TFS de haut grade des méninges ainsi qu'au sein de prélèvements correspondant à des récurrences. Parallèlement, un taux de macrophage élevé est protecteur du risque d'événement indésirable au sein d'un sous-groupe pronostique donné et est corrélé positivement à la survie globale. L'expression augmentée de CD209 par les macrophages de type M2 a un effet péjoratif sur la progression sans récurrence en analyse univariée. Ce sont les TFS à forte activité mitotique qui tentent d'échapper aux macrophages de type M1 via le « don't eat me signal », en exprimant plus le CD47. Nous n'avons pas mis en évidence d'expression de PRAME au sein de notre cohorte.

Conclusion : Ce travail décrit pour la première fois, sur une vaste cohorte de TFS méningées et des tissus mous, le microenvironnement immunitaire « inné », en particulier la valeur pronostique potentielle de la densité de l'infiltrat macrophagique ainsi que de l'expression de CD209. D'autre part, la corrélation entre l'expression du CD47 et l'activité mitotique suggère de possibles débouchés thérapeutiques, avec l'usage d'inhibiteurs du check point CD47/ SIRP α , pour les TFS à forte activité de prolifération.

JURY : Président : Monsieur le Professeur TERRIS Benoit

Juges : Monsieur le Professeur DANIEL Laurent

Monsieur le Professeur MOLINIE Vincent

Monsieur le Docteur DIEDHIOU Abdoulaye

Directeur : Madame le Docteur BOUVIER Corinne
