



HAL
open science

Mécanismes épigénétiques et régulation du gène NF2 : quel rôle dans les méningiomes ?

Logan Baldini

► **To cite this version:**

Logan Baldini. Mécanismes épigénétiques et régulation du gène NF2 : quel rôle dans les méningiomes ?. Sciences pharmaceutiques. 2024. dumas-04603473

HAL Id: dumas-04603473

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04603473v1>

Submitted on 6 Jun 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.



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

THÈSE D'EXERCICE

Phase d'Approfondissement du DES de Biologie Médicale

Soutenue le 31 mai 2024

Par M. Logan BALDINI
Né le 4 décembre 1997
À Abidjan

Conformément aux dispositions de l'Arrêté du 12 avril 2017
portant organisation du troisième cycle des études de Médecine et de Pharmacie

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

-----oOo-----

TITRE :

Mécanismes épigénétiques et régulation du gène *NF2* : quel rôle dans les
méningiomes ?

-----oOo-----

JURY :

Président : Pr. Catherine BADENS

Membres : Pr. Anne BARLIER

Dr. Diane FRANKEL

Dr. Romain APPAY

Dr. François PETIT

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	M. Jean-Paul BORG
<i>Vice-Doyens :</i>	Mme Florence SABATIER-MALATERRE, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT, Mme Alexandrine BERTAUD
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, Mme Alexandrine BERTAUD, M. David BERGELFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, M. Philippe GARRIGUE, M. Guillaume HACHE, M. Thierry TERME
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE, Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Patrice VANELLE, M. Pierre TIMON-DAVID,
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Philippe CHARPIOT, M. Riad ELIAS
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Sylvie BUREAU
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Manon BONIFAY
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Flora GLATIGNY

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC M. François DEVRED
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pierre REBOUILLON
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE ET BIOTHERAPIES
PHARMACO ECONOMIE, E-SANTE

M. Jérémy MAGALON
Mme Carole SIANI
Mme Muriel MASI

ENSEIGNANT CDI

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

A.H.U.

PHARMACOTECHNIE

Mme Mélanie VELIER

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE
Responsable : Professeur Françoise DIGNAT-GEORGE

PROFESSEURS

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN
Mme Aurélie LEROYER
M. Romaric LACROIX

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Edouard LAMY
Mme Alexandrine BERTAUD
Mme Claire CERINI
Mme Edwige TELLIER
M. Stéphane POITEVIN
Mme Sandra GHAYAD

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Sylvie COINTE

MICROBIOLOGIE

Mme Anne DAVIN-REGLI
Mme Véronique ROUX
M. Fadi BITTAR
Mme Isabelle PAGNIER
Mme Sophie EDOUARD
M. Seydina Mouhamadou DIENE

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE

Mme Carole DI GIORGIO
M. Aurélien DUMETRE
Mme Magali CASANOVA
Mme Anita COHEN

BIOLOGIE CELLULAIRE
BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLECULAIRE

Mme Anne-Catherine LOUHMEAU
Mme Alexandra WALTON

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Amandine BONIFAY

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

PRATIQUE OFFICINALE

M. Jérôme JOUVE
Mme Emmanuelle TONNEAU-PFLUG

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION

Mme Catherine BADENS

CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES

M. David BERGE-LEFRANC

CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE

M. Pascal RATHELOT
M. Maxime CROZET

CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE

M. Patrice VANELLE
M. Thierry TERME

PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE

Mme Sok Siya BUN

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL M. Quentin ALBERT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS M. Charles DESMARCHELIER M. Mathieu CERINO
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Duje BURIC M. Pascal PRINDERRE
CHIMIE THERAPEUTIQUE - CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE	Mme Sandrine ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE Mme Fanny MATHIAS
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE	Mme Valérie MAHIOU-LEDDER Mme Béatrice BAGHDIKIAN M. Elnur GARAYEV

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	Mme Haïfa LAYACHI RAHABI M. Cyril PUJOL
DROIT ET ETHIQUE	Mme Laurie PAHUS
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA
DISPOSITIFS MEDICAUX	Mme Valerie MINETTI-GUIDONI

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Bruno LACARELLE M. Joseph CICCOLINI
TOXICOLOGIE GENERALE	Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD Mme Marie-Anne ESTEVE
PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET
PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	Mme Anaïs MOYON
TOXICOLOGIE ET PHARMACOCINETIQUE	Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA Mme Anne RODALLEC M. Nicolas FABRESSE
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Pierre-Henri VILLARD

A.H.U.

PHYSIOLOGIE / PHARMACOLOGIE	M. Vincent NAIL
PHARMACIE CLINIQUE	Mme Maeva MONTALEYTANG Mme Charlotte BERARD

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Annie CILIA, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Yann COTTE, Pharmacien Assistant

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Mélanie FALZON, Pharmacie-Adjoint

Mme Nicole FRANCOIS, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Céline HIRSCH, Pharmacien Conseil de l'Assurance Maladie

Mme Christelle LABRANDE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Florence LEANDRO-DIJON, Pharmacien adjoint

Mme Nathalie MARTIN, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie MERLIN, Pharmacien Assistant

Mme Vanessa METZ, Pharmacien hospitalier

Mme Alice PERINEAU, Pharmacien Assistant

Mme Florence PEYRON, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Bertrand POURROY, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 23 février 2023

REMERCIEMENTS

Au Professeur Anne BARLIER,

Pour sa confiance en moi et en mon avenir. Vous êtes un modèle de par votre bienveillance. Merci pour votre encadrement.

Au Professeur Catherine BADENS,

Pour avoir accepté de présider mon jury de thèse et du temps accordé à la lecture de mon travail.

Au Docteur Romain APPAY,

Pour avoir partagé avec moi ses connaissances des méningiomes et de l'étude du méthylome tumoral. Merci d'avoir accepté d'évaluer mon travail.

Au Docteur Diane FRANKEL,

Dont les travaux sur l'étude des micro-ARN dans la progeria ont inspiré mes travaux de thèse. Merci d'accepter de faire partie de mon jury.

Au Docteur François PETIT,

Dont le parcours m'inspire un profond respect. Pour avoir accepté de se déplacer pour prendre part à cette étape si importante de ma vie. En espérant que ce ne soit que le début d'une longue collaboration.

À l'équipe de génétique moléculaire,

Pour leur patience et leur gentillesse à mon égard. Surtout lors de mes périodes de détresse face au pyroséquenceur.

À Cathy et Morgane,

Pour leur implication dans ce projet. Sans qui je n'aurai au mieux pas de résultats et au pire fait brûler le laboratoire.

À mon père et Kerry-Leigh,

Dont la fierté m'encourage à me dépasser dans tous les aspects de ma vie. Pour n'avoir jamais douté de moi, même quand c'était mon cas, je vous aime.

À ma mère,

Pour son soutien et ses conseils que je n'écoute pas toujours, bien qu'ils soient souvent justes (mais je n'aime pas trop l'admettre). De la correction de mes devoirs à sa relecture héroïque de ma thèse, elle m'a toujours accompagné. Je t'aime.

À mes grands-parents,

Devant qui je suis immensément fier de présenter l'accomplissement de mon travail. Pour m'avoir toujours encouragé dans les études.

À mes tantes,

Pour avoir toujours été attentionnées et présentes pour moi.

À mes oncles,

Merci de m'avoir laissé remonter à la surface dans la piscine. Sans quoi je ne serais pas ici.

À mes cousins et cousines,

Que je vois grandir d'années en années.

À Lucille,

Sans qui cette thèse ne serait pas ce qu'elle est aujourd'hui. Merci d'être ma plus grande supportrice et ma plus fidèle complice. La preuve que le bonheur vient des gardes d'hématologie. Cependant, je t'aime.

Regarde l'avant-dernière page.

À Alexis et Anthony,

Pour m'avoir tendu la main le jour où j'en avais besoin, et pour ne l'avoir jamais lâchée ensuite. Je n'en serais pas ici aujourd'hui sans vous, je vous aime.

À Amaury, Louis, Josselin et Lucas,

Pour tous ces souvenirs de lycée et le plaisir de chaque fois vous retrouver comme si rien n'avait changé. Pour le manteau de Josselin, merci.

À Axel, Marina, Juliette et Jérémy,

Qui ont partagé avec moi ces années de pharmacie et ce concours. Pour nos soirées internat, nos parties de contrée endiablées et pour avoir réveillé Marina avec des bruits de crapauds, merci. Vous avez été une seconde famille marseillaise.

À Audrey et Maëlia,

Pour tous ces moments partagés, du POC jusqu'aux fonds marins de Polynésie. Parce que vous rayonnez sur votre entourage, dont j'ai la chance de faire partie, merci.

À Yasmine, Charlotte et Nicolas,

Qui m'ont accompagné dans cette grande aventure qu'a été l'AMIPBM. Merci d'avoir été, avec Audrey, mes piliers dans cet aspect de ma vie. De toutes les galères, AG ou encore week-end ski je ne changerai rien, merci.

À l'ensemble de mes co-internes,

Pour tous ces moments partagés, bons comme mauvais, dont je me souviendrai toute ma vie.

« L'Université n'entend donner aucune approbation, ni improbation aux opinions émises dans les thèses. Ces opinions doivent être considérées comme propres à leurs auteurs. »

SOMMAIRE

Abréviations	5
Liste des figures	9
Liste des tables	12
I. Introduction	13
II. Méningiomes	14
1. Méninges	14
2. Localisations	16
3. Facteurs de risque	20
4. Diagnostic	25
5. Profil moléculaire	37
6. Traitements	72
III. Epigénétique	79
1. Modification des histones	79
2. Méthylation de l'ADN	83
3. Micro-ARNs	89
4. Complexes de remodelage de la chromatine	93
5. Traitements épigénétiques en oncologie	93
IV. Objectif de l'étude	98
V. Matériel, méthodes et résultats	99
1. Description et caractérisation de la cohorte	99
2. Méthylation du promoteur de <i>NF2</i>	101
3. Expression du miR-92a-3p	114
4. Discussion	125
VI. Conclusion	127

ABRÉVIATIONS

5hmC	5-hydroxy-methyl-cytosine
ABC	Cellules de bordure arachnoïdiennes
ACMG	American College of Medical Genetics and Genomics
ADN	Acide désoxyribonucléique
AGO	Argonaute
AKT = PKB	Protéine kinase B
AMM	Autorisation de mise sur le marché
AMOT	Angiomotine
ARID1A	AT-rich interaction domain 1A
ARN	Acide ribonucléique
ARNcirc	ARN circulaire
ARNlnc	Long ARN non codant
ARNm	ARN messenger
ARNnc	ARN non-codant
ARNpi	ARN interagissant avec PIWI
ARNr	ARN ribosomal
ARNsn	Petit ARN nucléaire
ARNsnc	Petit ARN non-codant
ARNsno	Petit ARN nucléolaire
ARNt	ARN de transfert
ATP	Adénosine triphosphate
BAP1	BRCA1 associated protein-1
BCL2	B-cell lymphoma 2
BER	Excision des paires de bases
BET	Bromodomain and extraterminal domain
BRD2/3/4/T	Bromodomain Containing 2/3/4/T
cBAF	Canonical BRG1/BRM-associated factor
CBP = CREBBP	CREB-Binding Protein
CCND2	Cycline D2
CDK4/6	Cyclin dependent kinase 4/6
CDKN2A/B	Cyclin dependent kinase inhibitor 2A/B
CHD	Chromodomain-Helicase-DNA-Binding Protein
CHEK2	Checkpoint kinase 2
CLH22	Clathrin heavy chain like 1
CNV	Copy number variation
CRL4	Cullin-4-based RING-type
CTLA4	Cytotoxic T-lymphocyte associated protein 4
DBC	Cellules de bordure de la dure-mère
DCAF1	DDB1 and Cul4-Associated Factor 1
DGCR8	DiGeorge syndrome critical region gene 8
DMVs	Vallées de méthylation de l'ADN

DNMTs	ADN-méthyltransférases
EANO	European Association of Neuro-Oncology
EMA	Antigène épithélial membranaire
EP300	E1A Binding Protein P300
ERBB = EGFR	Epidermal growth factor receptor
EZH2	Enhancer of zeste 2
FAK	Kinase d'adhésion focale
FERM	4.1, ezrin, radixin, moesin
FGF3	Fibroblast Growth Factor 3
FOXM1	Forkhead box M1
FT	Facteur de transcription
GLI	Glioma-associated oncogene
GNAT	Gcn5-related N-acetyltransferase
GTP	Guanosine triphosphate
HAT	Histones acetyltransferases
HDAC	Histones désacétylases
HDAC	Histones désacétylases
HDL	High density lipoprotein
HE	Hematoxylin and eosin
HLA	Human leukocyte antigen
HMT	Histones méthylases
IDH1/2	Isocitrate déshydrogénases 1/2
IHC	Immunohistochimie
IRM	Imagerie par résonance magnétique
ISWI	Imitation SWItch
JNK	c-Jun N-terminal kinases
KDM5C	Lysine demethylase 5C
KDM6A	Lysine demethylase 6A
KLF4	Kruppel-like factor 4
KMT2A = MLL1	Lysine N-méthyltransférase 2A
LATS1/2	Large tumor suppressor 1/2
LCS	Liquide cérébro-spinal
LSD1 = KDM1A	Lysine specific demethylase 1
LZTR1	Leucine Zipper Like Post Translational Regulator 1
MAPK	Mitogen-activated protein kinase
MBD	Methyl-CpG binding domain
MDM2	Mouse double minute 2 homolog
MEC	Matrice extra-cellulaire
MEK	Mitogen-activated protein kinase kinase
MEKK3 = MAP3K3	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 3
Merlin	Moesin-ezrin-radixin-like protein
miARN	microARN
miARNdb	miARN double brin
miARNsb	miARN simple brin mature

MLH1	MutL homolog 1
MMR	Mismatch repair
MSI	Instabilité microsatellitaire
MST1/2	Macrophage-stimulating 1/2
mTOR	Mammalian target of rapamycin
mTORC1/2	mTOR complex 1/2
MYPT1-PP1 δ	Myosin phosphatase target subunit 1 - protein phosphatase 1 δ
MYST	MOZ, Ybf2, Sas2, TIP60
ncBAF	Non canonical BAF
NF2	Neurofibromatose de type 2
<i>NF2</i>	Gène de la neurofibromine de type 2
NTC	No template control
OMS	Organisation mondiale de la santé
PAK	p-21 activated kinase
PBAF	Polybromo-associated BAF
PBRM1	Polybromo 1
PCR	Polymerase chain reaction
PD1	Programmed cell death 1
PDK1	Phosphoinositide-dependent kinase 1
PDL1	Programmed death-ligand 1
PFS-6	Survie sans progression à 6 mois
PGDS	Prostaglandin D2 Synthetase
PI3K	Phosphatidylinositol 3-kinase
PIKE-L	Phosphatidylinositol 3-kinase enhancer-L
PIP2	Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PIP3	Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate
PKA	Protéine kinase A
POLR2A	RNA Polymerase II Subunit A
PPi	Pyrophosphate inorganique
PRC2	Complexe répresseur polycomb 2
pré-miARN	Précurseur miARN
pri-miARN	miARN primaire
PTCH1/2	Patched 1/2
PTEN	Phosphatase and tensin homolog
qPCR	PCR quantitative
RAC1	Rac Family Small GTPase 1
RAG1	Recombination activating 1
RAN	Ras-related nuclear protein
RAS	Rat sarcoma virus
RB1	Retinoblastoma transcriptional corepressor 1
RISC	RNA-silencing complex
RQ	Quantification relative
RT	Reverse transcription
RTK	Récepteurs tyrosine kinase

SAM	S-adenosyl methionine
SETD1	SET Domain Containing 1
SETDB1	SET Domain Bifurcated 1
SHH	Sonic hedgehog
siARN	Petit ARN interférent
SMARCB1 = INI1	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily B member 1
SMARCE1	SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin, subfamily E member 1
SMO	Smoothened
SNC	Système nerveux central
SNORD38B	Small Nucleolar RNA, C/D Box 38B
SOS	Son Of Sevenless
SSS	Sinus sagittal supérieur
SSTR	Récepteurs à la somatostatine
SUFU	Suppressor of fused homolog
SUVH39H1/2	Suppressor Of Variegation 3-9 Homolog 1/2
SWI/SNF	Switch/sucrose non-fermentable
TAZ	Tafazzin
TDG	Thymine DNA glycosylase
TEADs	Transcriptional enhanced associated domains
TERC	Telomerase RNA component
TERT	Telomerase reverse transcriptase
TET	Ten-eleven translocation
TIAM1	T-Lymphoma Invasion And Metastasis-Inducing Protein 1
TMB	Charge mutationnelle tumorale
TRAF7	Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Factor 7
TSC1/2	Complexe de la sclérose tubéreuse 1/2
UCSC	University of California, Santa Cruz
UHFR	Ubiquitin-like containing PHD and RING finger domain
USF1	Upstream transcription factor 1
UTR	Untranslated Transcribed Region
VEGF	Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire
VGLL4	Vestigial-like protein 4
XPO5	Exportine-5
YAP1	Yes Associated Protein 1

LISTE DES FIGURES

- Figure 1. Représentation des méninges humaines A. Spinales B. Cérébrales
- Figure 2. Représentation schématique de l'origine embryonnaire des méninges
- Figure 3. Représentation des principales localisations intra-crâniennes des méningiomes
- Figure 4. IRM du rachis en séquence T1 montrant un méningiome rachidien cervical
- Figure 5. IRM cérébrale en séquence T1 avec injection de gadolinium montrant un méningiome primaire de la gaine du nerf optique droit
- Figure 6. IRM cérébrale en séquence T1 montrant un méningiome en plaque de la convexité
- Figure 7. Représentation des gènes *LZTR1*, *SMARCB1* et *NF1* sur le chromosome 22
- Figure 8. Modèle de tumorigenèse en 3 événements et 4 hits de *SMARCB1*
- Figure 9. IRM cérébrale d'un méningiome
- Figure 10. IRM cérébrale de méningiomes
- Figure 11. Structure du ⁶⁸Ga-DOTA-TOC
- Figure 12. Algorithme décisionnel adapté de la *Classification of Tumors of the Central Nervous System 5th Edition*, World Health Organization, 2021
- Figure 13. A. Enroulements B. Invaginations intranucléaires C. Psammomes
- Figure 14. Coupes de méningiomes en coloration HE A. Méningothélial B. Fibroblastique
- Figure 15. Coupes de méningiomes en coloration HE A. Psammomateux B. Angiomateux
- Figure 16. Coupe de méningiome microkystique en coloration HE
- Figure 17. Coupes de méningiome sécrétoire
- Figure 18. Coupes de méningiome chordoïde en coloration HE
- Figure 19. Coupe de méningiome à cellules claires en coloration HE
- Figure 20. Coupes de méningiomes en coloration HE A. Papillaire B. Rhabdoïde
- Figure 21. Coupe de méningiome atypique en coloration HE, on peut noter une hypercellularité ainsi que des foyers de petites cellules à haut rapport N/C
- Figure 22. Représentation graphique du paysage mutationnel des méningiomes
- Figure 23. Représentation de la protéine Merlin
- Figure 24. Représentation des interactions de la protéine Merlin avec différents récepteurs membranaires et RhoGTPases
- Figure 25. Représentation des interactions de Merlin avec la voie PI3K/AKT/mTOR
- Figure 26. Représentation de la voie de signalisation Hippo
- Figure 27. Représentation des rôles de Merlin dans la régulation de la voie Hippo
- Figure 28. Représentation de la conformation de l'E3 ubiquitine ligase CRL4^{DCAF1}

Figure 29. Représentation des principales localisations de méningiomes *NF2*-déficients

Figure 30. Représentation de la dysrégulation de l'activité de *YAP1* sur la transcription lors de fusions impliquant *YAP1*

Figure 31. Rôle des complexes SWI/SNF sur la décompaction de la chromatine en opposition à celui du complexe répresseur Polycomb 2 (PRC2) sur la compaction de la chromatine via la méthylation des histone H3K27

Figure 32. A. Distributions des variants de *TRAF7* dans ses domaines protéiques B. Structure tridimensionnelle de la protéine TRAF7 (7 domaines WD40 en rouge) C. Mécanisme de résistance à l'apoptose dans une cellule *TRAF7*-mutée

Figure 33. Représentation des domaines fonctionnels du gène *KLF4*

Figure 34. Représentation de la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR

Figure 35. Représentation des principales localisations de méningiomes avec altérations *TRAF7*, *KLF4* ou de la voie PI3K/AKT/mTOR (i.e. *AKT1* et *PIK3CA*)

Figure 36. Représentation de la voie de signalisation Sonic Hedgehog

Figure 37. Représentation des principales localisations de méningiomes avec altérations de la voie SHH et du gène *POLR2A*

Figure 38. Représentation du rôle des protéines p15 et p16 dans la transition G1/S

Figure 39. Classes de méthylation dans les méningiomes d'après *Sahm et al., 2017*

Figure 40. Classes de méthylation dans les méningiomes d'après *Choudhury et al., 2022*

Figure 41. Cascade d'acquisition des CNVs d'après *Maas et al., 2021*

Figure 42. Classification pronostique proposée par *Maas et al., 2021*

Figure 43. Classification pronostique proposée par *Driver et al., 2022*

Figure 44. Recommandations de prise en charge des méningiomes adaptée de l'European Association of Neuro-Oncology (EANO) 2021

Figure 45. Potentielles cibles thérapeutiques dans les méningiomes

Figure 46. Compaction de la chromatine et marqueurs épigénétiques

Figure 47. Vue d'ensemble de la régulation de la transcription par les modifications post-transcriptionnelles des histones

Figure 48. Résidus d'acides aminés des histones sujets à des modifications post-traductionnelles

Figure 49. Histone methyltransferases (HMTs) selon leur lysine cible

Figure 50. Représentation d'un îlot CpG ainsi que des régions dites Shore, Shelf et Open sea

Figure 51. Îlot CpG de *NF2* représenté à cheval sur le promoteur, l'exon 1 et l'intron 1 du gène d'après UCSC Genome Browser

Figure 52. Rôle des DNMTs dans la méthylation de l'ADN A. *de novo* B. de maintien

Figure 53. Modifications dynamiques d'une cytosine d'après Kohli *et al.*, *Nature* 2013

Figure 54. Cross-régulation épigénétique de la transcription

Figure 55. Régulation épigénétique de la transcription : différents cas de figure

Figure 56. Biogenèse des micro-ARNs

Figure 57. Structure des 4 classes d'ATPases relatives aux 4 familles de remodeleur de la chromatine ATP-dépendants

Figure 58. Traitements épigénétiques en développement

Figure 59. Méthodes d'administration (A) et méthodes de vectorisation (B) dans les thérapies ciblant les miARNs

Figure 60. Représentation de la conversion de l'ADN aux bisulfites

Figure 61. Représentation de la réaction de pyroséquençage

Figure 62. Pyromark Q48 Autoprep[®]

Figure 63. Validation des contrôles de l'assay 2

Figure 64. Principe de RT-qPCR adaptée aux miARNs par Qiagen

Figure 65. Courbes d'étalonnage des assays mir-16-5p, SNORD38N, miR-92a-3p et U6

Figure 66. Courbes de fusion des assays de qPCR

Figure 67. Expression du miR-92a-3p selon les mutations retrouvées en NGS

Figure 68. Relation entre l'expression du transcrit *NF2* et du miR-92a-3p parmi 19 méningiomes de notre cohorte (hors tumeurs mutées PI3K/AKT/mTOR)

LISTE DES TABLES

- Table 1. Répartition des localisations anatomiques des méningiomes d'après 3 études
- Table 2. Répartition des sous-type histologiques dans une cohorte de 1970 méningiomes d'après *Youngblood et al.*, J Neurosurg 2019
- Table 3. Profil génétique, sous-type histologique et Ki67 des tumeurs *SMARCB1*-mutées dans notre cohorte de 77 méningiomes (CNV = Copy Number Variation, NR = non réalisé)
- Table 4. Principales anomalies moléculaires rapportées dans les méningiomes, ainsi que les grades OMS, gènes, localisations et sous-type histologiques associés
- Table 5. Classification de Simpson évaluant la résection chirurgicale des méningiomes
- Table 6. Assay 1 analysant les CpG 1, 2 et 3
- Table 7. Assay 2 analysant les CpG 6, 7, 8, 9 et 10
- Table 8. Assay 3 analysant les CpG 11, 12 et 13
- Table 9. Préparation des réactifs en vue de la quantification de l'ADN par Qubit
- Table 10. Protocole de conversion aux bisulfites et purification de l'ADN
- Table 11. Préparation de la réaction de PCR
- Table 12. Programme de PCR 50 cycles
- Table 13. Résultats de méthylation par pyroséquençage de 11 dinucléotides CpG du promoteur de *NF2* sur 32 méningiomes de notre cohorte
- Table 14. Protocole d'extraction d'ARN à partir de fragments de méningiomes
- Table 15. Préparation de la réaction de RT
- Table 16. Programme de RT
- Table 17. Préparation de la réaction de qPCR
- Table 18. Programme de RT
- Table 19. Résultats de quantification relative par RT-qPCR des miR-92a-3p et miR-16-5p sur 26 méningiomes de notre cohorte
- Table 20. Résultats de 3 études s'intéressant à la méthylation du promoteur de *NF2* dans les méningiomes

I. Introduction

Les méningiomes sont les tumeurs primaires du système nerveux central (SNC) les plus fréquentes avec une incidence de 9.51 par 100,000 habitants/an. Ces tumeurs représentent environ 40% de l'ensemble des tumeurs du SNC et ont un âge médian au diagnostic de 67 ans¹. Elles sont majoritairement bénignes et classées en trois grades pronostics (I, II et III) selon les recommandations de l'OMS.

Il existe une grande diversité au sein des méningiomes qui se traduit par leur classification en 15 sous-types histologiques différents, ainsi que par les nombreux gènes impliqués dans leur pathogenèse²⁻⁴. Parmi eux, le gène de la neurofibromine de type 2 (*NF2*) est retrouvé muté, délété ou les deux, dans 40 à 60% des méningiomes^{5,6}. De plus, l'inactivation constitutionnelle de ce gène est responsable de la neurofibromatose de type 2 (*NF2*) et prédispose à un risque de développer des méningiomes⁷. Ainsi, le rôle du gène *NF2* semble fondamental dans la pathogenèse de ces tumeurs.

Dans une cohorte de 77 méningiomes constituée dans notre laboratoire, nous observons une grande variabilité des niveaux de transcrit du gène *NF2*, en l'absence de délétion ou de mutation du gène, avec, dans certaines tumeurs un taux du transcrit de *NF2* bas équivalent à celui des tumeurs portant une altération génétique de *NF2*. Suite à cette observation, nous avons émis l'hypothèse d'une diminution épigénétique de *NF2* qui entraînerait cette plus faible expression du gène. Les deux mécanismes envisagés et étudiés ici sont la méthylation du promoteur et les micro-ARN comme régulateurs de l'expression de *NF2*.

II. Méningiomes

1. Méninges

Les méningiomes sont des tumeurs issues des méninges, trois membranes recouvrant le SNC. On retrouve à l'extérieur la dure-mère (pachyméninge) plus rigide, puis de manière concentrique l'arachnoïde et la pie-mère (leptoméninges) plus souples. La dure-mère est une méninge de protection composée d'un feuillet externe endostéal constitué d'ostéoblastes, correspondant au périoste des os crâniens sur lesquels il s'appuie, et d'un feuillet interne méningé riche en fibroblastes. Le feuillet superficiel est adhérent aux parois de la boîte crânienne, tandis que le feuillet profond émet des prolongements formant entre autres la faux du cerveau et la tente du cervelet. L'arachnoïde est une méninge de glissement, composée d'un feuillet apposé sur la face profonde de la dure-mère, ainsi que de cellules formant les travées de l'espace sous-arachnoïdien. Des invaginations de l'arachnoïde dans les sinus veineux, appelées villosités arachnoïdiennes ou granulations de Pacchionni, permettent la résorption du liquide cérébro-spinal (LCS) contenu dans l'espace sous-arachnoïdien. Cet espace sépare l'arachnoïde de la pie-mère et permet la circulation du LCS. La pie-mère, quant à elle, épouse l'ensemble du nevraxe ce qui lui confère un rôle de membrane nourricière du système nerveux (Fig. 1) ^{8,9}.

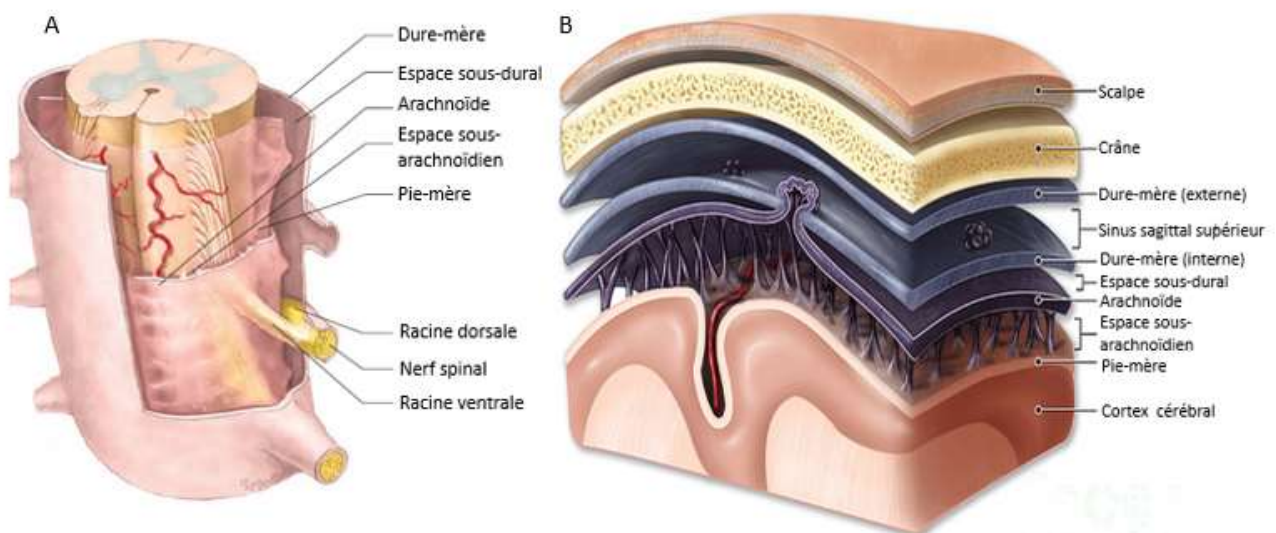


Figure 1. Représentation des méninges humaines

A. Spinales B. Cérébrales

Les méninges se développent tôt durant l'embryogenèse, suivant de près la formation du SNC et atteignent leur structure adulte dès la fin du premier trimestre. Elles seraient issues à la fois de l'ectoderme (crêtes neurales) et du mésoderme. La partie antérieure de la convexité et de la base du crâne, ainsi que la faux du cerveau et la tente du cervelet seraient issues des crêtes neurales. Quant au mésoderme, il aboutirait aux méninges de la base du crâne (excepté la partie antéro-latérale) et aux parties moyenne et postérieure de la convexité (Fig. 2) ^{10,11}.

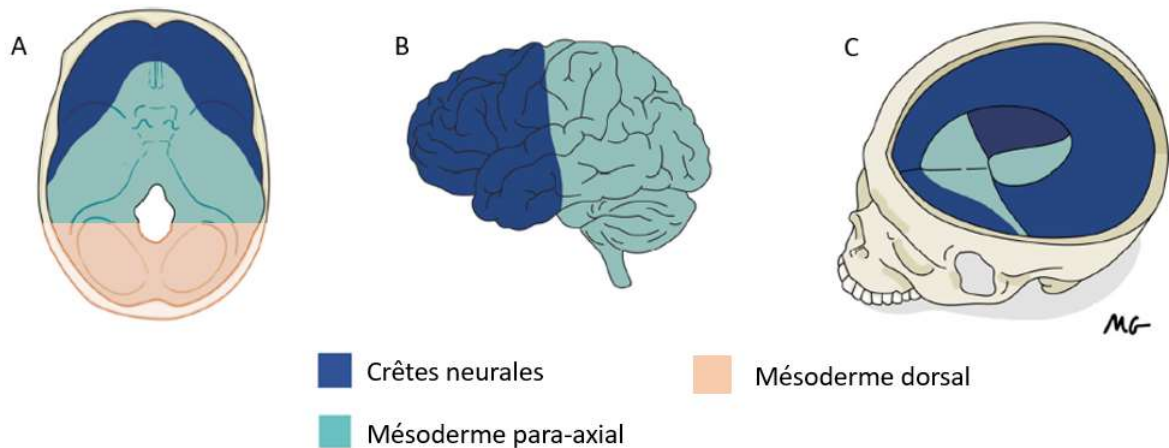


Figure 2. Représentation schématique de l'origine embryonnaire des méninges

A. Base du crâne B. Convexité C. Faux du cerveau et tente du cervelet ^{6,10}

La cellule d'origine des méningiomes est une donnée controversée. Il est rapporté dans la littérature que ces tumeurs dérivent des cellules des villosités arachnoïdiennes. Cependant, une étude française rapporte une étiologie probablement mixte entre les cellules de bordures de la dure-mère et de l'arachnoïde, dérivant d'une même cellule progénitrice pouvant être d'origine mésodermique ou des crêtes neurales ¹¹. La Prostaglandin D₂ Synthetase (PGDS ou β -trace) est une enzyme sécrétée dans le LCS. L'expression de PGDS a été montrée comme forte dans les cellules de bordure arachnoïdiennes (ABC), plus faible dans les cellules des villosités arachnoïdiennes et négligeable dans les cellules de bordure de la dure-mère (DBC), les cellules trabéculaires sous-arachnoïdiennes, la pie-mère et le tissu cérébral. Les cellules tumorales de méningiomes expriment la PGDS contrairement aux autres tumeurs primaires du SNC ¹². D'après *Kalamarides et al.*, 2011, les méningiomes méningothéliaux seraient issus des ABC avec une histologie proche des cellules arachnoïdiennes et une expression de PGDS. Au contraire, les méningiomes fibroblastiques seraient issus des DBC avec une histologie proche de la dure-mère et une absence d'expression de PGDS.

2. Localisations

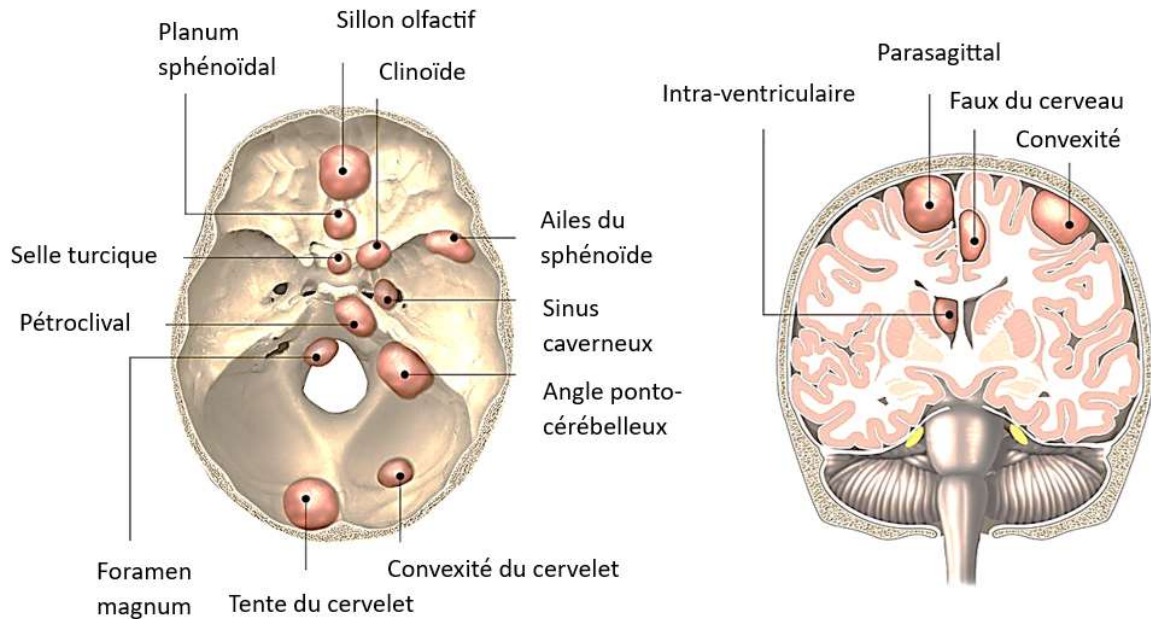


Figure 3. Représentation des principales localisations intra-crâniennes des méningiomes

A. Coupe axiale (base du crâne) B. Coupe coronale

Parmi les méningiomes, 85% sont supratentoriels ¹³.

2.1 Base du crâne

Les méningiomes de la base du crâne représentent près de 50% des méningiomes nécessitant une chirurgie. Mais en raison de leur proximité avec les nerfs crâniens, le tronc cérébral, la moelle spinale ou encore la vascularisation cérébrale, une résection complète peut être difficile. De ce fait, un taux de récurrence élevé (29%) peut être observé dans ces tumeurs ^{4,14}. Cependant, ces méningiomes sont fréquemment associés à un sous-type méningothélial, à des mutations non-*NF2* (*TRAF7*, *KLF4*, *AKT1*, *SMO*, *PIK3CA*, *POLR2A*) et donc à un grade I de l'OMS. Néanmoins, des mutations du gène *NF2* sont également retrouvées, en particulier dans les méningiomes de la fosse postérieure ^{2,15-18}.

2.2 Convexité, Parasagittal et Faux du cerveau

Les méningiomes de la convexité représentent environ 20% des méningiomes et se développent à partir des méninges recouvrant la convexité des hémisphères cérébraux.

Les méningiomes de la faux représentent environ 9% des méningiomes et se développent à partir de la faux du cerveau en étant recouverts par le parenchyme cérébral¹⁹.

Les méningiomes parasagittaux représentent environ 20% des méningiomes et se développent en regard du sinus sagittal supérieur (SSS)²⁰. Contrairement aux méningiomes de la convexité et de la faux pour lesquels une résection complète est souvent possible, la chirurgie peut s'avérer délicate pour les parasagittaux en raison de l'envahissement fréquent du SSS par ces tumeurs et de leur accolement aux larges veines rejoignant le SSS^{21,22}.

Ces tumeurs sont fréquemment associées à des altérations du gène *NF2* et aux sous-types fibroblastique et transitionnel^{2,15,16}. On y retrouve également des méningiomes de grade II et III plus fréquemment que dans les méningiomes de la base du crâne^{15,17,18}. A noter que les méningiomes de la partie antérieure de la faux sont particulièrement liés aux altérations *SMARCB1*⁶.

2.3 Spinaux

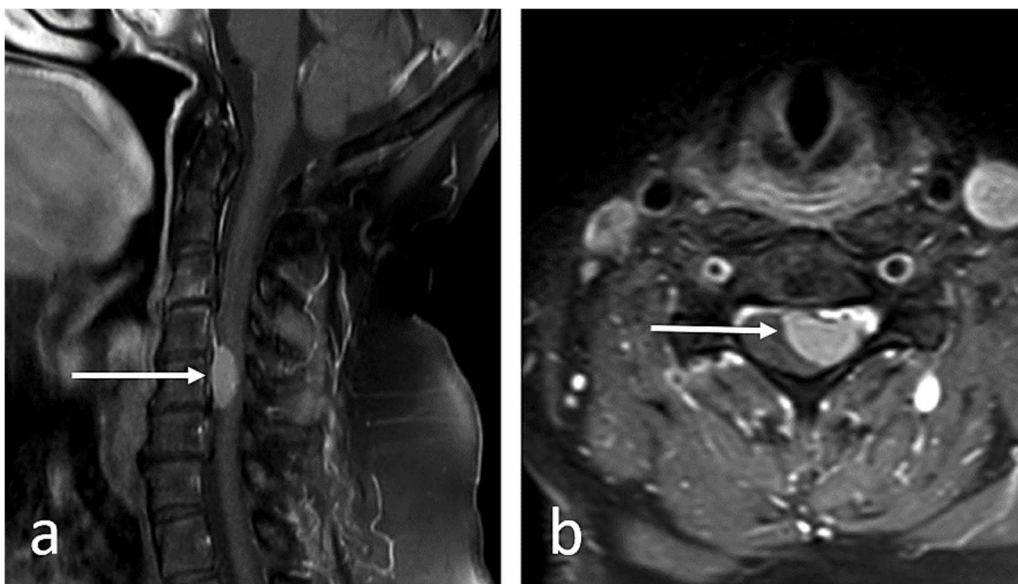


Figure 4. IRM du rachis en séquence T1 montrant un méningiome rachidien cervical

A. Sagittal B. Axial²³

Les méningiomes rachidiens sont des tumeurs du rachis se développant à partir de l'arachnoïde, à l'extérieur de la moelle épinière, et dans la grande majorité des cas en intradural²⁴. Ils représentent 1.2 à 12.7% des méningiomes et près de 25% de toutes les tumeurs de la moelle spinale. Ces tumeurs sont principalement retrouvées dans la région thoracique (67 à 84%) mais peuvent se développer dans la région cervicale (14 à 27%) et plus rarement lombaire (2 à 14%)²³. Ces méningiomes sont considérés de meilleur pronostic que les méningiomes intracrâniens avec un plus faible taux de récurrence après résection (1.3 à 6.4% survenant dans les 1 à 17 ans post-chirurgie)²⁵. Généralement, ces méningiomes n'infiltrent pas les tissus sains et ne métastasent pas²⁴.

Le sous-type histologique psammomateux est particulièrement associé à cette localisation, suivi en fréquence par le sous-type méningothélial, puis transitionnel²⁶⁻²⁸. Le sous-type dit à cellules claires est également retrouvé dans les méningiomes du rachis, il est associé à un grade II de l'OMS et à des mutations *SMARCE1*²⁹. Une étude de 2022 a identifié deux autres sous-groupes moléculaires mutuellement exclusifs parmi les méningiomes rachidiens de grade I. Le premier groupe est constitué de tumeurs mutées *NF2*, avec une prédominance féminine quasi-totale, et une localisation principalement thoracique. Le second groupe est constitué de tumeurs présentant la mutation *AKT1* p.Glu17Lys isolée, avec une localisation principalement cervicale, plus précisément du côté ventral de la moelle spinale. A l'inverse, les tumeurs intracrâniennes *AKT1* mutées présentent fréquemment des mutations *TRAF7* associées. Par ailleurs, on retrouve quasi-exclusivement des tumeurs méningothéliales dans le sous-groupe *AKT1*, contrairement au sous-groupe *NF2* où les sous-types habituellement associés sont retrouvés, dont le psammomateux³⁰.

2.4 Intra-ventriculaires

Les méningiomes intra-ventriculaires représentent 0.5 à 5% des méningiomes et se développent à l'intérieur des ventricules sans présenter d'attache à la dure-mère. Leur répartition est de 77.8% dans les ventricules latéraux, 15.6% dans le troisième ventricule et 6.6% dans le quatrième ventricule. Avec un âge moyen de 44 ans au diagnostic, ces méningiomes sont retrouvés chez des patients plus jeunes, possiblement en lien avec le fait que cette localisation est plus fréquente chez les patients atteints de *NF2* que dans les cas sporadiques. Les sous-types fibroblastiques et transitionnels y sont particulièrement représentés

2.5 Gaine du nerf optique

Les méningiomes primaires de la gaine du nerf optique représentent environ 1 à 2% des méningiomes et se développent dans l'orbite à partir des méninges recouvrant le nerf optique. Bien que la mortalité associée à ces tumeurs soit très faible, la compression du nerf et des vaisseaux cause une ischémie et ainsi fréquemment une cécité. La chirurgie augmentant le risque de cécité, l'approche thérapeutique de choix pour ces tumeurs est la radiothérapie. A noter, cette localisation tumorale est plus fréquente chez les patients atteints de NF2 que dans les cas sporadiques ^{35,36}.

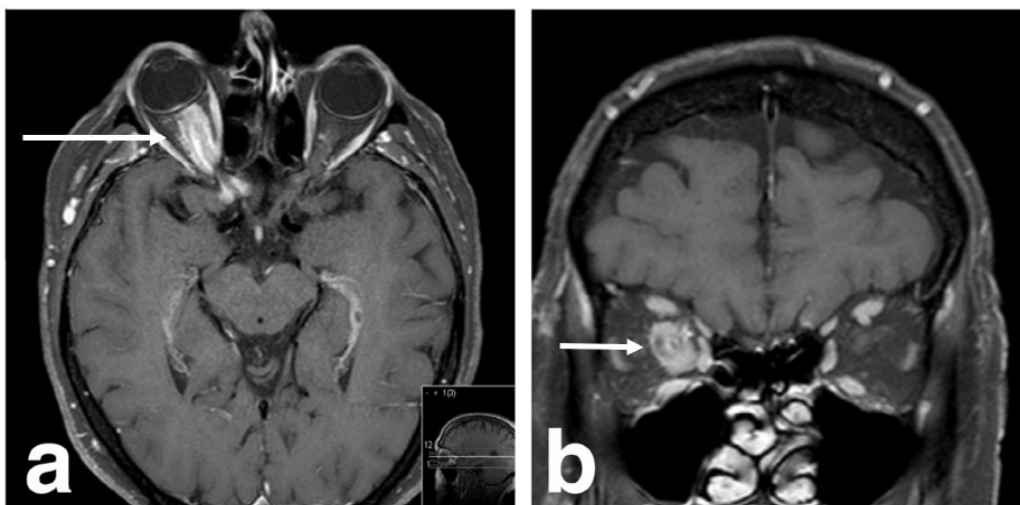


Figure 5. IRM cérébrale en séquence T1 avec injection de gadolinium montrant un méningiome primaire de la gaine du nerf optique droit A. Axial B. Coronal ³⁶

Les méningiomes de la partie antérieure de la base du crâne (sphénoïde, suprasellaire, clinioïde, sillons olfactifs principalement) sont parfois désignés sous le nom de méningiomes secondaires orbitaires, lorsque leur extension entraîne une compression du nerf optique ^{35,36}.

2.6 En plaque

Les méningiomes en plaque représentent 2 à 9% des méningiomes. Ils s'opposent aux méningiomes classiques « en masse » par leur extension le long de l'os entraînant fréquemment une hyperostose et un épaissement dural. Ils sont principalement retrouvés au niveau sphéno-orbitaire et plus rarement au niveau de la convexité ou d'autres localisations. De par leur forme, ces tumeurs sont à la fois un challenge diagnostique et chirurgical ³⁷.

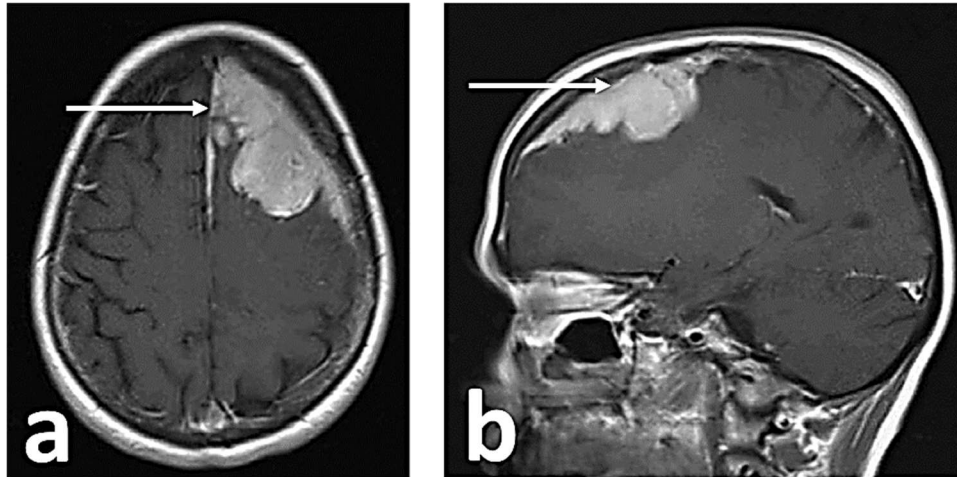


Figure 6. IRM cérébrale en séquence T1 montrant un méningiome en plaque de la convexité

A. Axial B. Sagittal

3. Facteurs de risque

3.1 Âge

Les méningiomes ont une incidence croissante avec l'âge. Parmi les tumeurs du SNC ces tumeurs présentent la plus faible incidence chez les 0-14 ans et la plus importante (20.41 par 100,000 habitants/an) chez les plus de 40 ans ¹. Cependant, en raison de leur lente progression asymptomatique et de la fréquence des découvertes incidentes, les méningiomes pourraient être des tumeurs plus précoces.

3.2 Hormonaux

Les femmes sont 2.3 fois plus atteintes que les hommes. Ce ratio s'accroît chez les 35-44 ans et, à l'inverse, est proche de 1 chez les moins de 20 ans ¹. Étonnamment, une prédominance masculine est retrouvée dans les méningiomes de grade II et III ^{13,38,39}. De ce « sex ratio » découle l'hypothèse d'une influence hormonale sur la survenue des méningiomes. Il a d'ailleurs été décrit une augmentation de la taille de méningiomes chez des patientes suivies, lors de la puberté, pendant la phase lutéale du cycle menstruel ou encore pendant la grossesse ⁴⁰. Par ailleurs, une étude sur 3016 méningiomes a mis en évidence une association significative entre altérations *NF2* et patients de sexe masculin, ainsi qu'entre mutations *POLR2A* ou *KLF4* et le sexe féminin ⁴¹.

Localisation	<i>Nanda et al., 2016</i> (%)	<i>Magill et al., 2018</i> (%)	<i>Sun et al., 2020</i> (%)
Base du crâne	69.4	51.5	37.5
Fosse antérieure	38.6	13.7	26.3
Sillon olfactif	7.6	/	6
Sphénoïde / Clinoïde / Tubercule pituitaire	8.1	/	10.5
Ailes du sphénoïde	17.5	/	9.8
Autres	5.4	/	/
Fosse moyenne	11	17.2	1.3
Fosse postérieure	19.9	20.7	9.9
Foramen magnum	/	/	0.3
Angle ponto- cérébelleux	9	/	7.7
Péetroclival	9.8	/	1.9
Autres	1.1	/	/
Convexité	22.3	19.7	21.7
Frontal	10	/	/
Pariétal	6.5	/	/
Temporal	2.2	/	/
Occipital	3.1	/	/
Cervelet	0.4	/	0.9
Faux du cerveau et Tente du cervelet	7	19	19.9
Parasagittal	/		16.1
Intra-ventriculaire	/	/	2
Autres	1.3	9.8	4.8
Nombre total de méningiomes de l'étude	458	1113	1107

Table 1. Répartition des localisations anatomiques des méningiomes d'après 3 études ^{14,38,42}

Plusieurs récepteurs hormonaux sont exprimés dans ces tumeurs. Environ 72% des méningiomes expriment des récepteurs à la progestérone, qui sont également exprimés dans les méninges saines. La présence de récepteurs à la progestérone est corrélée à un grade OMS plus faible et, au contraire, l'absence de ces récepteurs est corrélée à un taux de récurrence plus élevé. Ces récepteurs sont plus fréquemment présents chez les femmes, particulièrement si enceintes, en post-partum ou sous traitement hormonal ⁴⁰. Une faible proportion de méningiomes exprime des récepteurs aux œstrogènes (environ 11%) et sont corrélés à un pronostic plus péjoratif. Des récepteurs aux androgènes sont également retrouvés dans près de la moitié des méningiomes ⁴⁰. Le récepteur à la somatostatine 2 est décrit comme fortement exprimé dans 70 à 100% des méningiomes, en faisant un marqueur très sensible et spécifique de ces tumeurs ⁴³.

De nombreuses équipes ont étudié la prise d'hormones exogènes comme facteur de risque de développer un méningiome. Ces études présentent des résultats discordants concernant un éventuel lien entre ces tumeurs et une contraception hormonale ou un traitement hormonal de substitution post-ménopausique ⁴⁴⁻⁴⁷. Par ailleurs, aucun lien entre la grossesse ou un traitement pour la fertilité et un sur-risque de développer un méningiome n'a été mis en évidence ^{44,48}. L'acétate de cyprotérone est un progestatif de synthèse anti-androgénique utilisé notamment dans le cancer de la prostate. L'apparition de méningiomes, multiples et de petite taille, est corrélée à son utilisation, particulièrement à la durée du traitement et à la dose cumulative. Après arrêt du traitement, une régression des tumeurs a été observée chez 79% des patients ⁴⁹.

3.3 Radiations

Une tumeur cérébrale induite par irradiation est définie comme survenant dans la zone irradiée, après une période de latence suffisante, avec un type histologique différent de la tumeur d'origine et en l'absence d'une maladie génétique prédisposant aux cancers de type neurofibromatose par exemple. Les méningiomes sont les tumeurs cérébrales secondaires à une radiothérapie les plus fréquentes ⁵⁰. Parmi deux cohortes d'enfants survivants du cancer ayant été exposés à une radiothérapie crânienne, 6 à 12.4% des patients ont présenté un ou plusieurs méningiomes avant l'âge de 40 ans ^{51,52}.

Les méningiomes induits par irradiation peuvent être associés à des doses élevées (> 30 Gy), intermédiaires (entre 15 et 30 Gy) ou faibles (< 15 Gy) de radiations. Les doses élevées sont utilisées dans le traitement des hémopathies malignes, gliomes, médulloblastomes et autres tumeurs localisées dans le SNC⁵⁰. Les doses faibles étaient utilisées comme traitement standard des teignes du cuir chevelu avant l'introduction de la griséofulvine en 1960⁵³.

D'après une méta-analyse de 2017, la période de latence entre la radiothérapie et l'apparition du méningiome serait de 22.9 ± 11.4 ans. Cette période de latence est plus longue en cas de faible dose de radiations et plus courte lorsque le méningiome est de grade III. Par ailleurs, ces tumeurs radio-induites ont une épidémiologie différente des méningiomes sporadiques, avec un « sex ratio » de 0.8:1 (femme/homme), un âge plus jeune de survenue, une incidence de grade II et III plus élevée (31.7%) et une faible incidence de mutations *NF2*^{50,54,55}.

3.4 Génétique

L'occurrence de méningiomes est décrite dans de nombreux syndromes de prédisposition génétique aux cancers⁵. Cependant, cette tumeur n'est caractéristique que d'un faible nombre de ces maladies, où il est possible d'observer des méningiomes multiples chez les individus atteints.

La neurofibromatose de type 2 est une maladie autosomique dominante liée à des mutations, délétions ou translocations impliquant le gène de la neurofibromine 2 et prédisposant à développer des méningiomes multiples^{7,56}. L'incidence de cette pathologie est de 1 naissance sur 25,000-33,000 avec une pénétrance de 95% et une symptomatologie se déclarant généralement vers l'âge de 20 ans^{7,57}. Plus de la moitié des patients présentent une altération *de novo*. Près de 30% sont en mosaïque. La perte d'expression de ce gène suppresseur de tumeur est responsable de néoplasies du système nerveux comme les schwannomes vestibulaires (90%, souvent bilatéraux) ou bien périphériques (70%), les méningiomes intra-crâniens ou spinaux (50-80%) et les épendymomes (30%)^{7,58}. Suivant le modèle de Knudson, un second « hit » sur *NF2* (perte d'hétérozygotie ou seconde mutation en *trans*) aboutirait à l'inactivation de l'allèle sain et au développement de ces tumeurs^{7,58,59}. Paradoxalement, les neurofibromes ne font pas partie des lésions retrouvées dans la NF2. Ainsi, d'après un consensus international de 2022, le terme de « schwannomatose liée à *NF2* » devrait être préféré. Par ailleurs, une corrélation génotype-phénotype est observée dans cette pathologie. Les variants tronquants présentent un

phénotype sévère, notamment dans les exons 2 à 13, avec une perte de l'audition plus jeune et une espérance de vie plus courte. Les variants faux-sens, altérant l'épissage ou en mosaïque présentent quant à eux un phénotype intermédiaire. Enfin, les variants en mosaïque somatique sont de meilleur pronostic mais ne peuvent être formellement identifiés qu'après analyse de deux prélèvements tumoraux distincts⁵⁷. En dehors de la NF2, les contextes de méningiomes multiples familiaux sont rares.

Les principaux diagnostics différentiels de la NF2 sont les autres types de schwannomatoses, dont celle liée à *SMARCB1* et celle liée à *LZTR1*⁵⁸. Par ailleurs, ces trois gènes sont localisés sur le bras long du chromosome 22 (Fig. 7)⁶⁰. Ainsi, les délétions 22q, fréquentes dans les méningiomes, peuvent entraîner une perte de fonction de ces trois gènes simultanément. De cette observation, un modèle en 3 événements (altération germinale, puis altération de *NF2* en *cis* et perte d'hétérozygotie du 22q) et 4 « hits » (altération germinale *SMARCB1* ou *LZTR1*, altération *NF2* en *cis*, perte d'hétérozygotie *SMARCB1* ou *LZTR1*, perte d'hétérozygotie *NF2*) est proposé pour expliquer la tumorigenèse dans ces schwannomatoses (Fig. 8)^{58,61}.

La schwannomatose liée à *SMARCB1* a une pénétrance d'environ 40 à 50%. Un sur-risque de méningiomes existe parmi les patients atteints. Environ 5% développent un ou plusieurs méningiomes, particulièrement au niveau de la faux du cerveau⁶²⁻⁶⁴. En revanche, la schwannomatose liée à *LZTR1* ne cause *a priori* pas de méningiomes⁶². Il faut noter que l'interprétation des variants *SMARCB1* est particulièrement complexe du fait des multiples pathologies pouvant être engendrées. Les larges délétions et variants tronquants affectant les exons 2 à 9 du gène prédisposent principalement aux tumeurs rhabdoïdes. Les variants faux-sens en 3' peuvent causer le syndrome de Coffin-Siris responsable d'une déficience intellectuelle, d'un retard de développement. Enfin, la schwannomatose liée à *SMARCB1* est principalement due à des variants non-tronquants situés aux extrémités du gène ainsi qu'à ce variant c.*82C>T en 3'UTR⁶⁵. De rares cas sont décrits dans la littérature rapportant une co-occurrence de ces lésions chez certains patients⁵⁸.

Les altérations constitutionnelles de *SMARCB1* sont décrites comme prédisposant au développement de méningiomes. Dans un premier temps, la description faite de ce syndrome faisait état de méningiomes spinaux, cependant des méningiomes intracrâniens sont également retrouvés dans ces familles. Par ailleurs, ces méningiomes présentent un sous-type histologique à cellules claires caractéristique et ainsi un grade II de l'OMS^{29,66}.

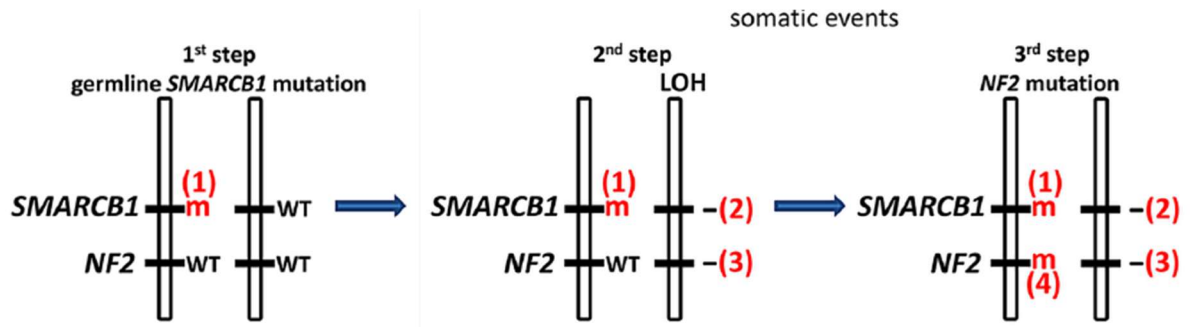


Figure 8. Modèle de tumorigenèse en 3 évènements et 4 hits de *SMARCB1* ⁶⁰

Les gènes *SUFU* et *BAP1* ont également été rapportés comme impliqués dans des cas familiaux de méningiomes ^{67,68}. Certains autres syndromes de prédisposition aux cancers sont décrits comme pouvant entraîner le développement de méningiomes chez les patients atteints. Parmi les gènes impliqués, *TP53*, *MEN1*, *PTCH1* ou encore *PTEN* sont retrouvés dans la littérature ⁵. Cependant, les méningiomes ne font pas partie du spectre clinique caractéristique de ces syndromes.

4. Diagnostic

4.1 Clinique

Les méningiomes sont des tumeurs généralement non infiltrantes et de croissance lente. Ainsi, l'apparition des symptômes peut être insidieuse. Le diagnostic est parfois fait de manière fortuite lors d'un examen d'imagerie.

Les symptômes dus aux méningiomes sont aspécifiques et dépendent de la localisation de la tumeur. Par exemple, l'effet de masse peut provoquer une hypertension intracrânienne et par conséquent des céphalées. Les méningiomes de la gaine du nerf optique ou de la partie antérieure de la base du crâne peuvent provoquer des troubles de la vision, voire une cécité, par compression du nerf optique. Une crise d'épilepsie inaugurale, des déficits neurologiques focaux, des troubles des fonctions supérieures ou des manifestations psychiatriques à titre de dépression ou de démence sont également rencontrés ⁶⁹.

4.2 Imagerie

4.2.1 Imagerie par résonance magnétique (IRM)

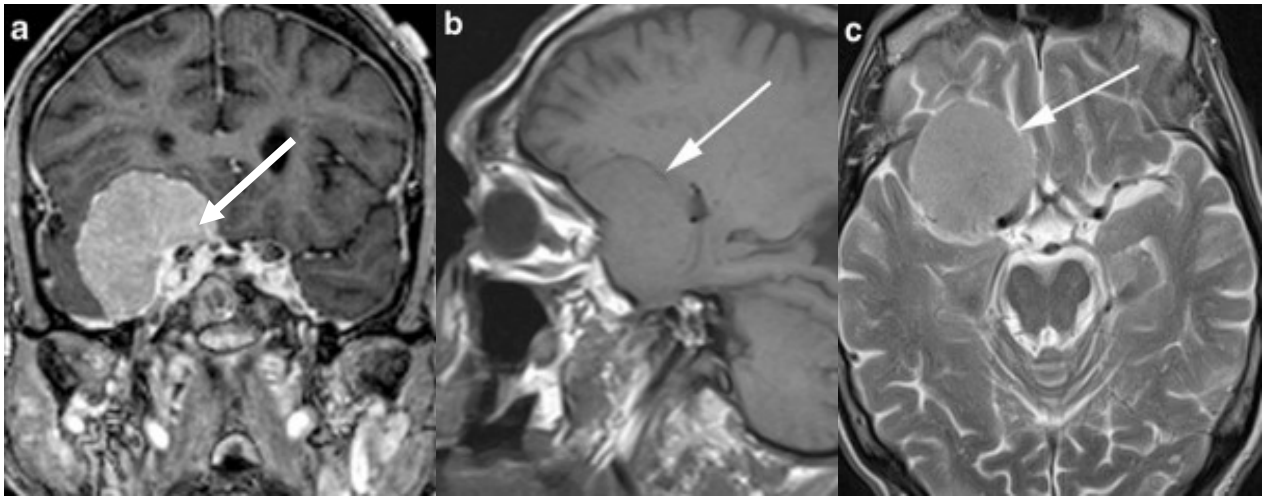


Figure 9. IRM cérébrale d'un méningiome

- A. Coupe coronale séquence T1 injectée (homogène, hyperintense)
- B. Coupe sagittale séquence T1 (homogène, isointense)
- C. Coupe axiale séquence T2 (homogène, discrètement hyperintense) ⁷⁰

L'IRM est la technique de choix pour l'imagerie cérébrale. En pondération T1 les méningiomes apparaissent légèrement hypointenses ou isointenses, mais se rehaussent fortement et de manière homogène après prise de contraste au Gadolinium. En pondération T2 et FLAIR, ils apparaissent discrètement à fortement hyperintense ⁷⁰.

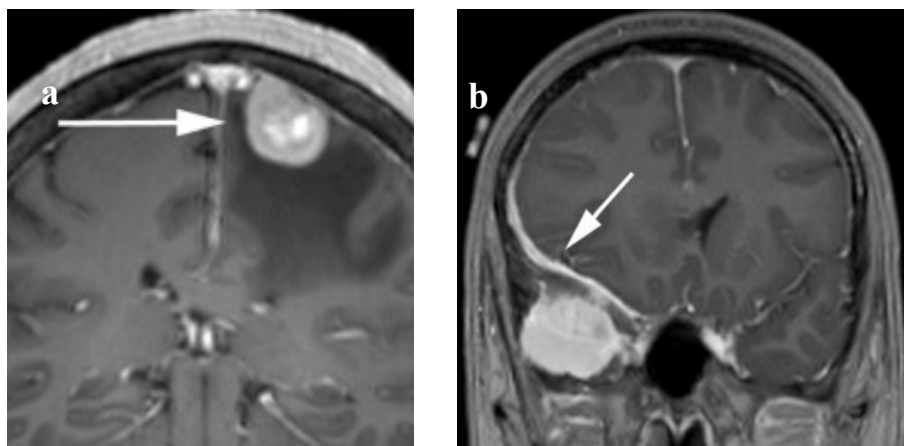


Figure 10. IRM cérébrale de méningiomes

- A. Coupe coronale séquence T1 injectée avec œdème péri-tumoral
- B. Coupe coronale séquence T1 injectée avec épaissement dural (queue durale) ⁷⁰

On peut notamment visualiser l'œdème péri-tumoral à l'IRM (Fig. 10-A). Cet œdème est le plus souvent retrouvé dans les sous-types histologiques sécrétoires, angiomateux et microkystiques. Il peut entraîner une augmentation du volume cérébral donc de la pression intracrânienne. Le traitement de cette complication est l'administration de corticoïdes ^{71,72}.

Un autre signe visualisable à l'imagerie est la queue durale (Fig. 10-B). C'est un épaississement de la dure-mère au contact du méningiome, particulièrement visible après contraste.

4.2.2 ⁶⁸Ga-DOTATOC

Le ⁶⁸Ga-DOTA-TOC est une technique d'imagerie par tomographie par émission de positons (TEP). Le principe étant de coupler du Gallium 68, chélaté par une molécule de tétraxétane (DOTA), à de l'octréotide qui est un analogue de la somatostatine. L'octréotide se liant aux récepteurs à la somatostatine (SSTR), cette technique permet la visualisation de tissus exprimant spécifiquement ces récepteurs. Les méningiomes exprimant le SSTR2, cette TEP est utile pour leur diagnostic et pour leur suivi post-thérapeutique. A noter que l'hypophyse exprime également ces récepteurs, tout comme les tumeurs neuro-endocrines. Ainsi, l'interprétation de cette TEP doit se faire avec prudence ^{71,73}.

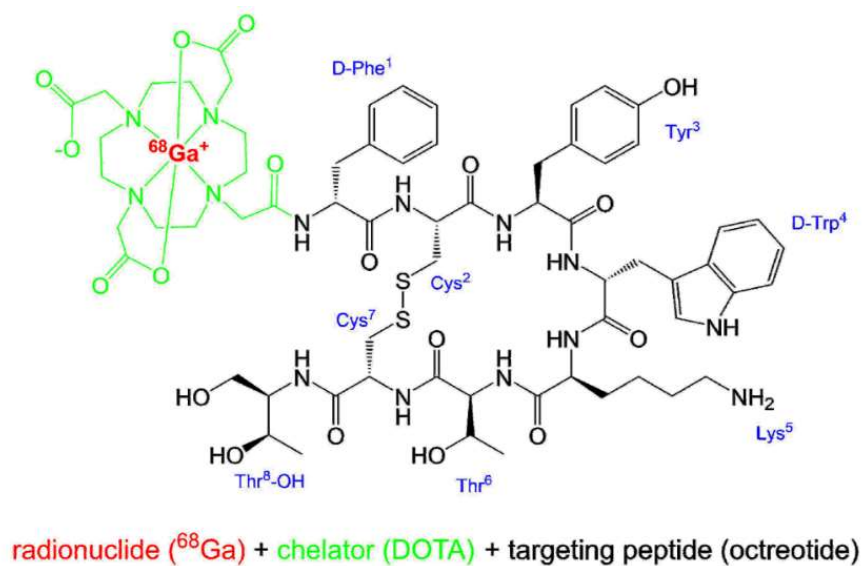


Figure 11. Structure du ⁶⁸Ga-DOTA-TOC ⁷³

4.3 Histologie

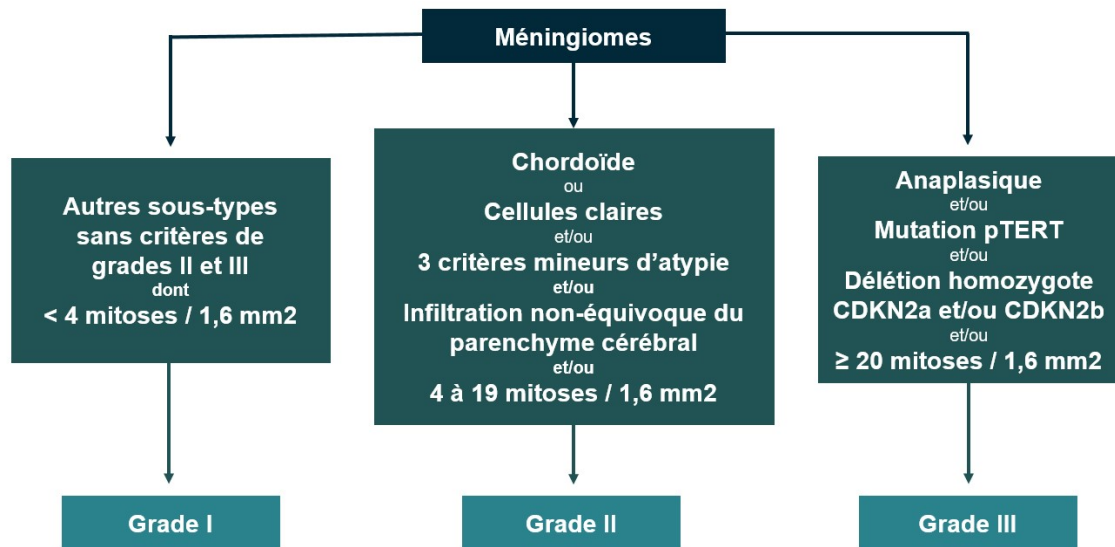


Figure 12. Algorithme de classification des méningiomes adapté de la *Classification of Tumors of the Central Nervous System 5th Edition*, World Health Organization, 2021

L'histologie des méningiomes présente une grande diversité avec 15 sous-types décrits. Cependant, depuis la classification OMS 2021 les méningiomes sont considérés comme une seule et même entité, divisée en 3 grades pronostics sur des critères histo-moléculaires (Fig. 12). Ces tumeurs sont majoritairement bénignes avec environ 80.1% de grade I, 18.3% de grade II et 1.5% de grade III¹. Ces grades sont associés respectivement à des taux de récurrences de 7 à 25% pour les grade I, 30 à 50% pour les grade II et 50 à 100% pour les grade III. A noter que ces taux de récurrence peuvent être influencés par l'étendue de résection chirurgicale, complète ou non, dépendant souvent de la localisation de la tumeur. Les méningiomes malins, de grade III, présentent un particulièrement mauvais pronostic avec une survie médiane de 1.5 ans¹³.

Tout d'abord le diagnostic est posé sur l'histologie. Certains points communs morphologiques contribuent au diagnostic histologique de méningiome, comme les enroulements de cellules tumorales, les psammomes (corps sphériques faits de lamelles calcifiées) et les inclusions intranucléaires (invaginations cytoplasmiques blanches intranucléaires) (Fig. 13). Des marquages immuno-histochimiques peuvent être réalisés pour confirmer le diagnostic, comme le marquage des récepteurs à la progestérone ou des récepteurs à la somatostatine 2 (SSTR2) qui sont positifs dans la grande majorité des méningiomes. Généralement, l'antigène épithélial membranaire (EMA) marque également ces cellules. Le Ki67 permet quant à lui d'évaluer le caractère prolifératif de la tumeur.

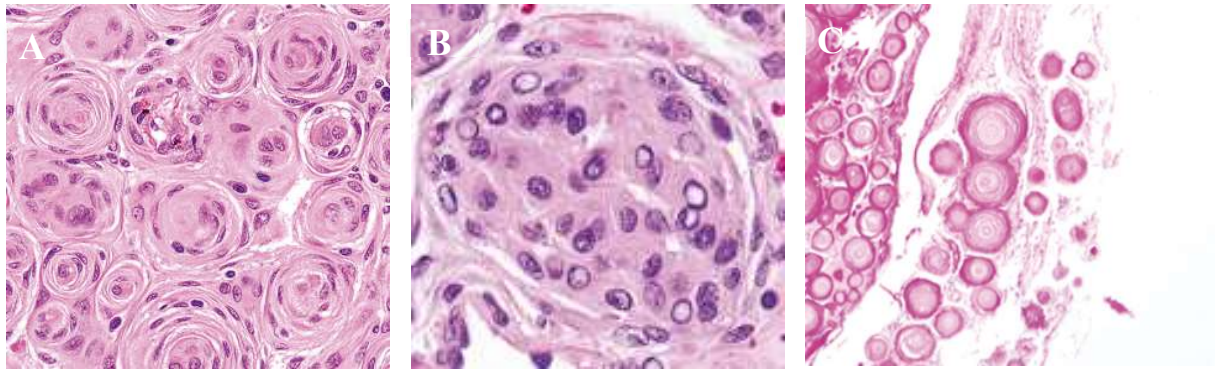


Figure 13. A. Enroulements B. Invaginations intranucléaires C. Psammomes²

Le principal critère permettant le grading des méningiomes est l'index mitotique. Cet index représente le nombre de mitoses observées sur 10 champs à fort grossissement et reflète le caractère prolifératif de la tumeur. Cet index mitotique permet de classer la tumeur en grade II ou III selon sa valeur (Fig. 12).

A noter que la perte complète de la triméthylation de la lysine 27 de l'histone H3 (H3K27me3) en IHC est décrite comme un facteur prédictif de mauvais pronostic. Cependant, ce marquage est fréquemment ambigu, rendant son évaluation difficile en pratique⁷⁴.

Certains sous-types histologiques comme les sous-types chordoïde, atypique ou à cellules claires permettent de classer la tumeur en grade II en raison d'un risque de récurrence évalué plus élevé dans ces sous-types. Quant au sous-type anaplasique, il est signe de malignité et associé au grade III (Fig. 12).

L'envahissement du parenchyme cérébral par des cellules tumorales est aujourd'hui un critère controversé mais permet la classification de la tumeur en grade II d'après l'OMS 2021.

Enfin, l'introduction de critères moléculaires à la classification OMS 2021 est la grande nouveauté dans les méningiomes avec les délétions homozygotes *CDKN2A/B* et les mutations du promoteur de *TERT* classant maintenant en grade III (Fig. 12).

Histologie	Proportions (%)
Méningothélial	41.2
Fibroblastique	12.6
Transitionnel	16.5
Psammomateux	2.9
Angiomateux	2.2
Microkystique	3.8
Sécrétoire	3.8
Riche en lympho-plasmocytes	0.2
Métaplasique	0.3
Chordoïde	0.7
Cellules claires	0.4
Papillaire	0.1
Rhabdoïde	0.2
Atypique	13.8
Anaplasique	1.4

Table 2. Répartition des sous-types histologiques dans une cohorte de 1970 méningiomes d'après *Youngblood et al.*, J Neurosurg 2019

4.3.1 Méningothélial

Sous-type le plus fréquent parmi les méningiomes ⁴¹. Architecture organisée en lobules séparés par de fins septas de collagène. Morphologie de pseudo-syncytium due aux membranes cellulaires difficilement discernables en microscopie. Cellules monomorphes avec un cytoplasme éosinophile abondant (Fig. 14). Des mutations *AKT1*, *TRAF7*, *SMO* et *PIK3CA* sont le plus souvent identifiées. Ces méningiomes sont plus fréquemment retrouvés à la base du crâne que les autres sous-types, particulièrement si associés à ces mutations. Par ailleurs, les mutations *NF2* sont rares dans ce sous-type histologique ².

4.3.2 Fibroblastique

Cellules fusiformes disposées en parallèles ou entrelacées dans une matrice riche en collagène (Fig. 14). Ces méningiomes présentent typiquement des mutations *NF2*, fréquemment associées à une perte d'hétérozygotie par délétion 22q. Ils sont principalement localisés au niveau de la convexité.

4.3.3 Transitionnel

Association de motifs méningothéliaux lobulaires à des motifs fibroblastiques fasciculaires, d'où la dénomination « transitionnel ». Ils partagent avec le sous-type fibroblastique la fréquence des mutations *NF2* et des délétions 22q. Ils sont principalement localisés au niveau de la convexité.

4.3.4 Psammomateux

Dans ce sous-type les psammomes sont prédominants (Fig. 15). Le tissu non calcifié se rapproche histologiquement des sous-types fibroblastique et transitionnel, de même pour le profil génétique avec des mutations de *NF2* et des délétions 22q. L'étage thoracique du rachis est une localisation fréquente de ce sous-type de méningiomes.

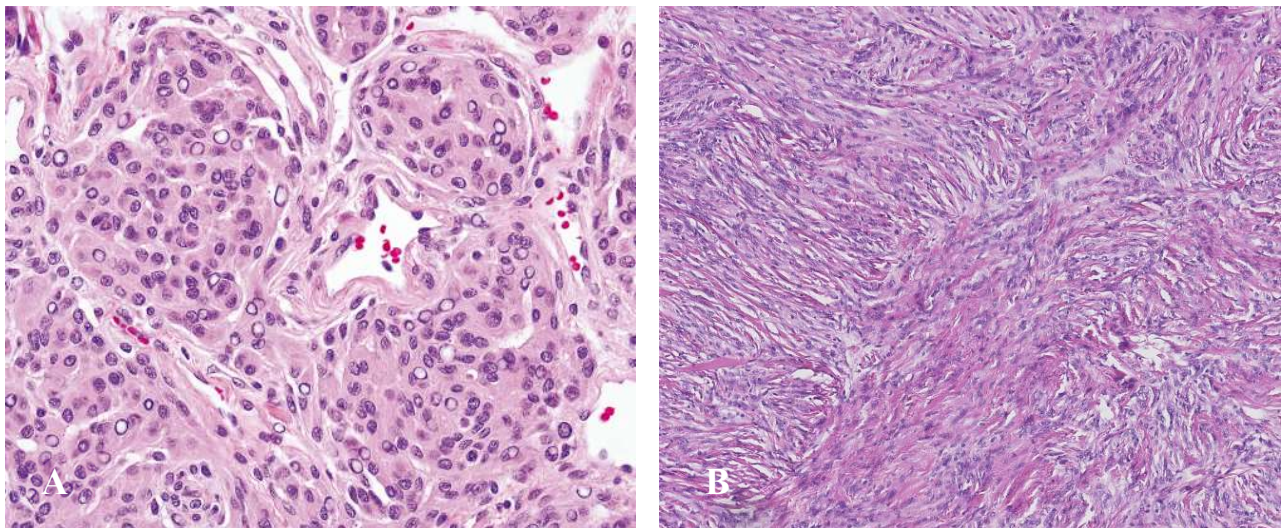


Figure 14. Coupes de méningiomes en coloration HE

A. Méningothélial² B. Fibroblastique

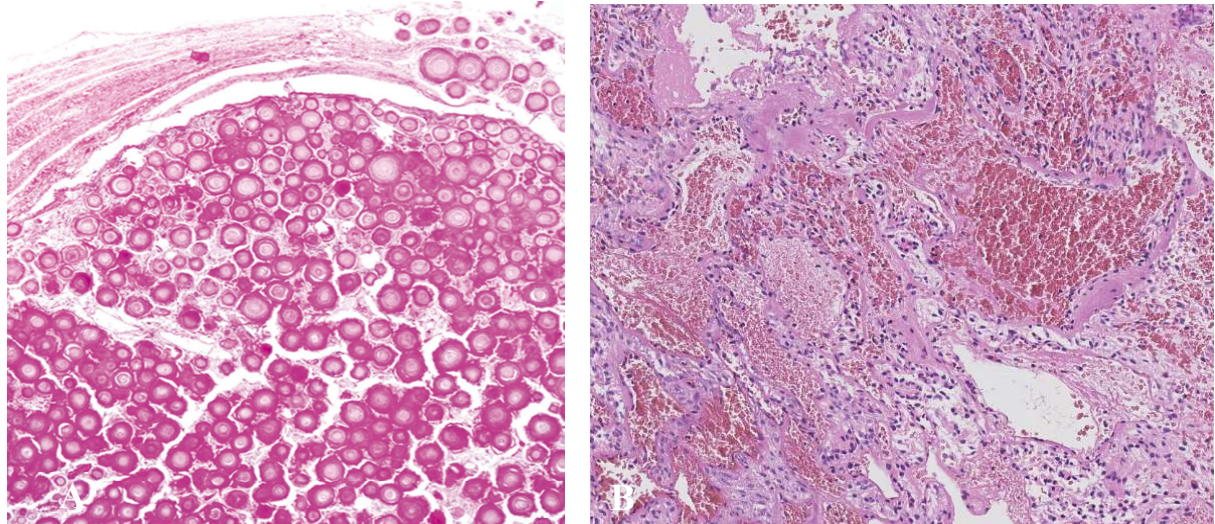


Figure 15. Coupes de méningiomes en coloration HE

A. Psammomateux² B. Angiomateux

4.3.5 Angiomateux

Présence de vaisseaux sanguins prédominant sur les cellules tumorales (Fig. 15). Une morphologie microkystique ou métaplasique peut être retrouvée parmi les cellules méningiomateuses. Le gain du chromosome 5 est également une anomalie partagée avec ces deux autres sous-types. Un œdème cérébral est fréquemment retrouvé, tout comme dans les sous-types sécrétoire et microkystique.

4.3.6 Riche en lympho-plasmocytes

Rare sous-type où un infiltrat inflammatoire prédomine sur le contingent tumoral. Malgré son nom, le contingent lymphoïde peut être faible avec une prédominance de macrophages.

4.3.7 Métaplasique

Présentent une différenciation mésenchymateuse de type myxoïde, lipomateuse, osseuse, ou encore combinée, qui peut être focale ou bien étendue au niveau de la tumeur. Cette morphologie peut être retrouvée en association avec une morphologie angiomateuse ou microkystique.

4.3.8 Microkystique

En histologie, les cellules tumorales présentent de fines expansions tissant une pseudo-toile au sein du tissu, formant des microkystes (Fig. 16). Un gain du chromosome 5 et un œdème cérébral sont fréquemment retrouvés.

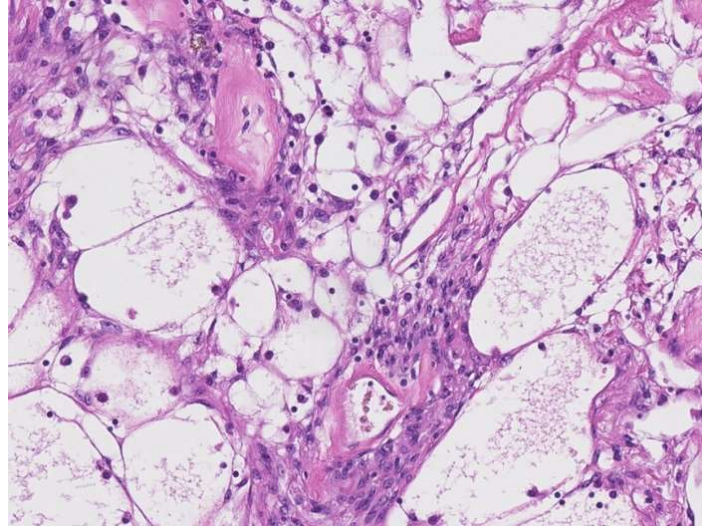


Figure 16. Coupe de méningiome microkystique en coloration HE

4.3.9 Sécrétoire

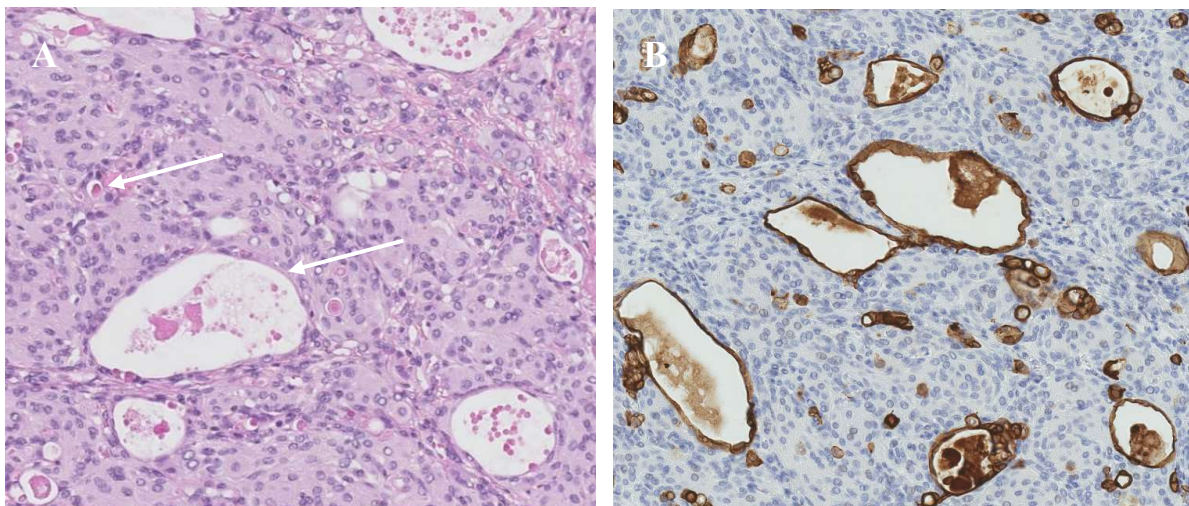


Figure 17. Coupes de méningiome sécrétoire

- A. Coloration HE
- B. IHC Pancytokeratine

On peut observer des formations pseudo-glandulaires remplies par des pseudo-psammomes, qui sont des sécrétions éosinophiles (Fig. 17 A. flèches). A noter que ces sécrétions prennent les marquages épithéliaux comme les cytokératines, à ne pas confondre avec une métastase d'adénocarcinome (Fig. 17 B.). L'association d'une mutation du gène *TRAF7* avec la mutation p.Lys409Gln du gène *KLF4* caractérise ce sous-type, bien que dans de rares cas seule la mutation *KLF4* peut être retrouvée. Un œdème péri-tumoral est fréquemment associé.

4.3.10 Chordoïde

Présence de petites cellules épithélioïdes disposées en cordons ou trabécules au sein d'une matrice riche en mucine (Fig. 18). Aucune altération génétique n'a pu être attribuée à ce sous-type à ce jour. Il est considéré comme un grade II de l'OMS en raison d'un taux de récurrence similaire au sous-type atypique. A noter que cette histologie doit faire évoquer un diagnostic différentiel de chordome ou bien de gliome chordoïde.

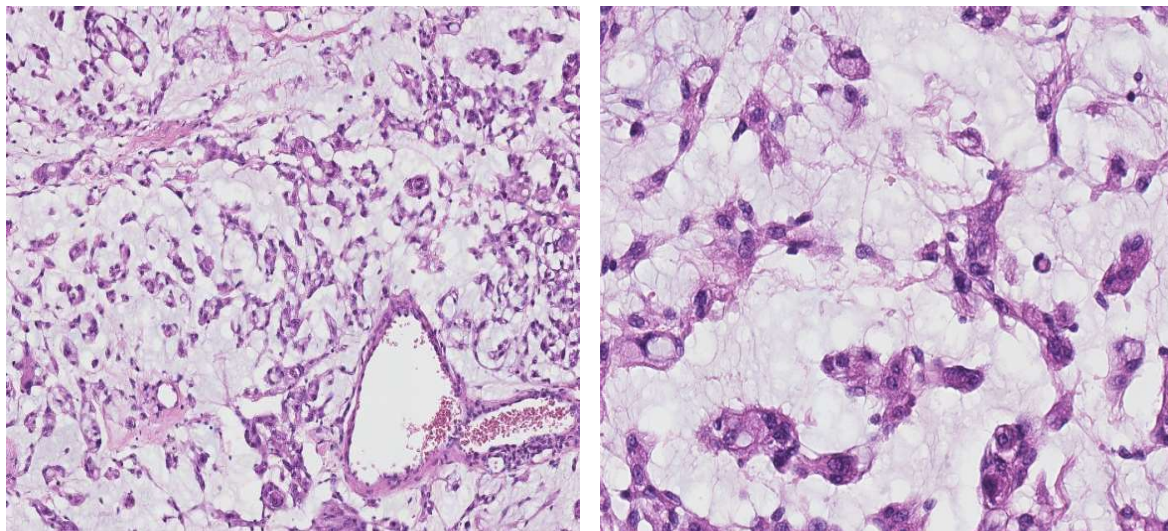


Figure 18. Coupes de méningiome chordoïde en coloration HE

4.3.11 Papillaire

A l'histologie on peut noter la présence d'un agencement pseudo-papillaire des cellules autour des vaisseaux qui peut faire penser aux pseudo-rosettes identifiées dans les épendymomes (Fig. 20 A. flèches). On peut retrouver des cellules de morphologie rhabdoïde arrangées de manière papillaire. En effet ces deux sous-types semblent liés et sont tous deux associés à des altérations des gènes *PBRMI* et *BAP1*. La seule présence de cette architecture papillaire ne suffit plus à classer en grade III de l'OMS 2021.

4.3.12 Rhabdoïde

Présence de cellules de tailles moyennes à grandes présentant un noyau excentré et nucléolé, ainsi que des inclusions éosinophiles paranucléaires (Fig. 20 B.) Ce sous-type a été décrit comme associé à des méningiomes agressifs. Cependant, une étude a montré que la classification OMS parvenait à attribuer un grade pronostic plus juste à ces méningiomes rhabdoïdes, que leur classification en grade III uniquement basée sur le sous-type (OMS 2016). Ainsi la morphologie rhabdoïde n'est plus un critère de classification OMS 2021. Toutefois, une vigilance particulière vis-à-vis de ces méningiomes est recommandée et une immunohistochimie BAP1 peut être utilisée.

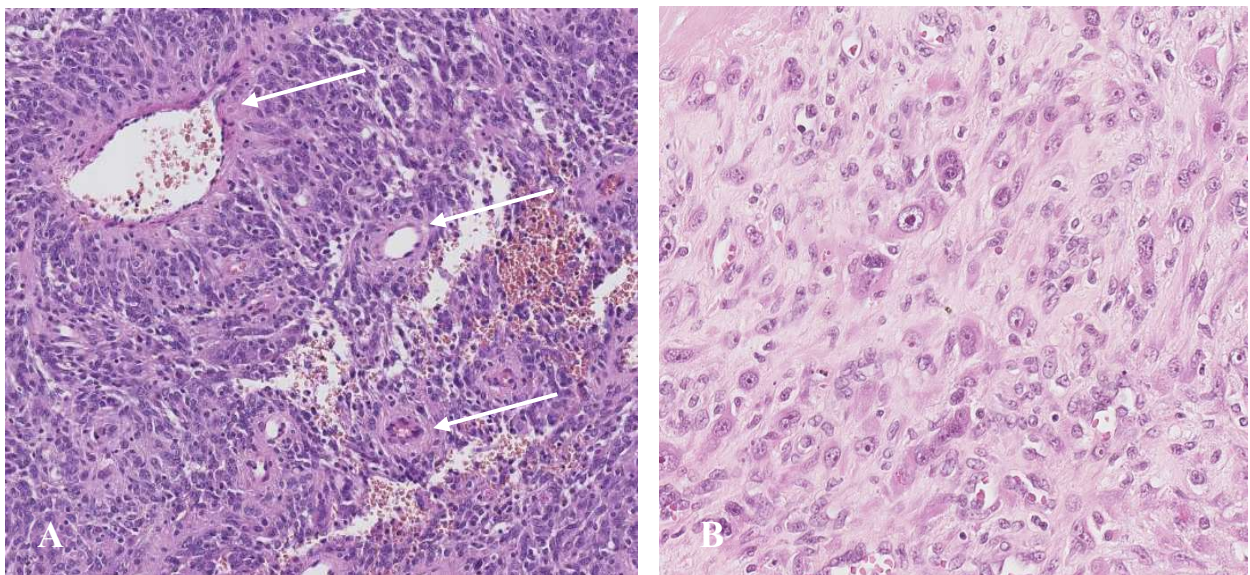


Figure 20. Coupes de méningiomes en coloration HE

A. Papillaire B. Rhabdoïde

4.3.13 Cellules claires

Présence de cellules à cytoplasme clair, riche en glycogène. On retrouve également du collagène interstitiel et péri-vasculaire (Fig. 19). Les localisations ponto-cérébelleuses et spinales, notamment au niveau de la cauda equina, sont les plus fréquentes. Les patients sont également plus jeunes. Ce sous-type est considéré grade II de l’OMS en raison d’un taux de récurrence élevé. Il est associé aux mutations *SMARCE1*.

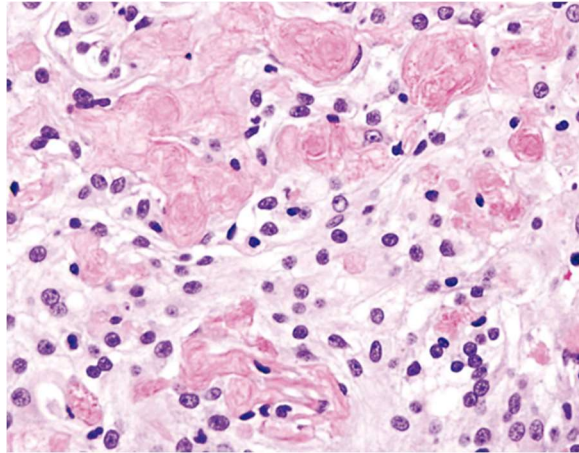


Figure 19. Coupe de méningiome à cellules claires en coloration HE

4.3.14 Atypique

Défini par trois critères d’atypie sur cinq ; soit une hypercellularité, de petites cellules avec un haut rapport nucléo-cytoplasmique, un nucléole proéminent, des foyers de nécrose ou une perte de l’architecture lobulaire i.e. « sheeting ».

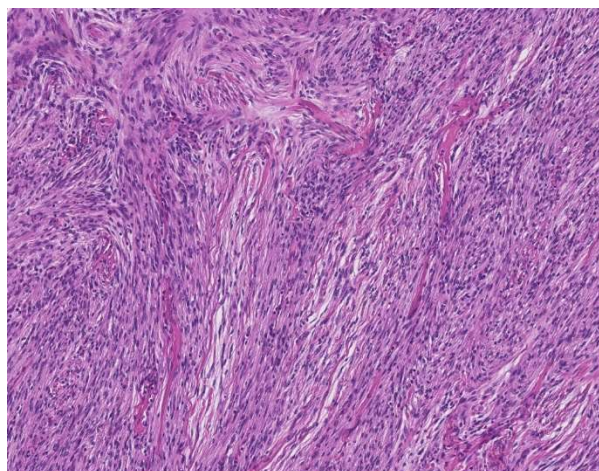


Figure 21. Coupe de méningiome atypique en coloration HE, on peut noter une hypercellularité ainsi que des foyers de petites cellules à haut rapport N/C

4.3.15 Anaplasique

Ces méningiomes présentent une morphologie maligne avec un index mitotique élevé. Ils peuvent être difficile à identifier comme des méningiomes en raison d'une faible différenciation ou bien d'un aspect de carcinome, de sarcome ou encore de mélanome.

5. Profil moléculaire

A l'instar de la grande diversité histologique rencontrée dans les méningiomes, de nombreux gènes sont impliqués dans la pathogenèse des méningiomes (Fig. 22, Tab. 4). Bien que des corrélations soient décrites entre les localisations tumorales, l'histologie et ces gènes, peu d'entre elles sont strictes ^{41,75}.

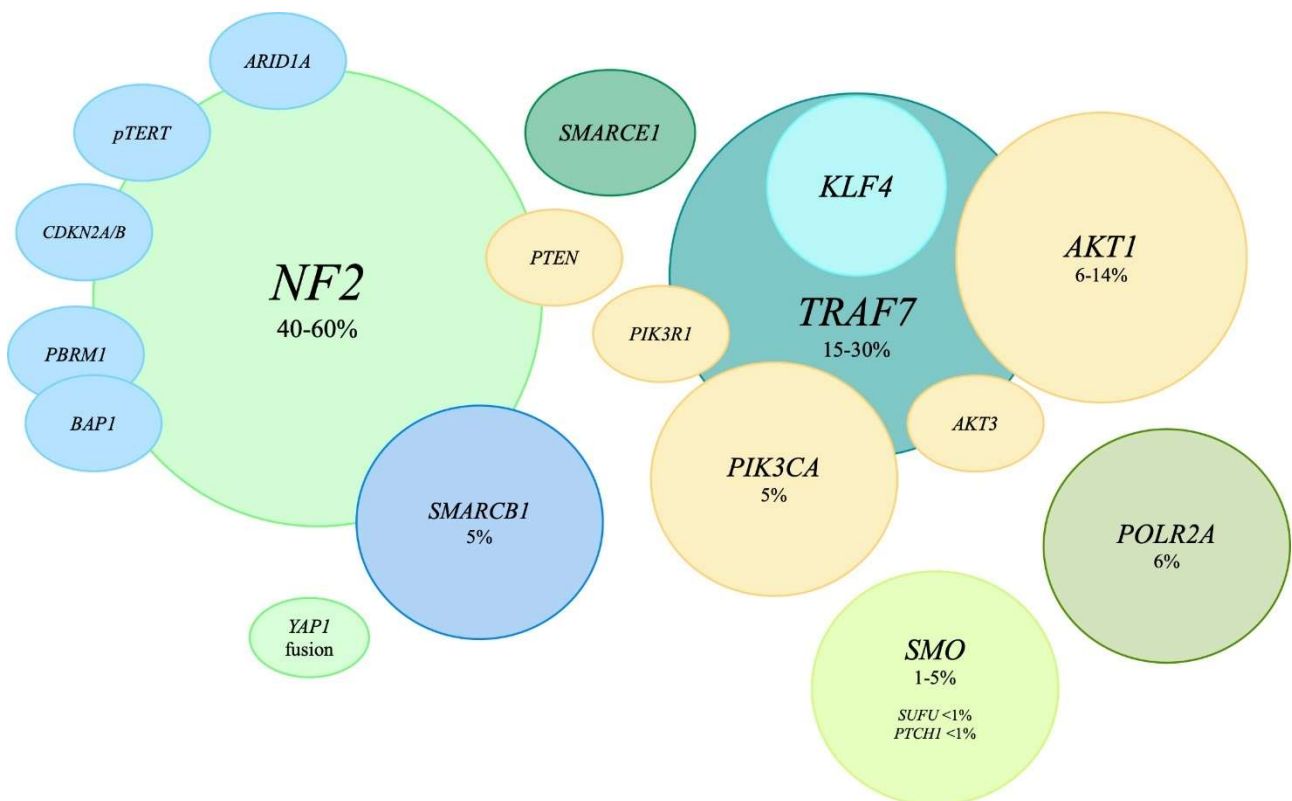


Figure 22. Représentation graphique du paysage mutationnel des méningiomes

Taille des cercles proportionnelle à la fréquence parmi les méningiomes

Cooccurrences représentées par un chevauchement de cercles

5.1 *NF2*

Le gène *NF2* est situé sur le bras long du chromosome 22 (22q12) et contient 17 exons. Il code pour deux isoformes principaux de la protéine moesin-ezrin-radixin-like protein (Merlin également connue sous les noms de neurofibromine 2 ou schwannomine). L'isoforme 1 est le principal, constitué de 595 acides aminés, il présente un épissage ne retenant pas l'exon 16. L'isoforme 2 contient 590 acides aminés dont l'exon 16 mais présente un C-terminal tronqué. Ces deux isoformes auraient un effet suppresseur de tumeur⁷⁶⁻⁷⁸.

5.1.1 Rôle physiologique

Merlin fait partie de la famille de protéine FERM (4.1, ezrin, radixin, moesin) et présente ainsi un domaine FERM en N-terminal, suivi d'un domaine α -hélice puis d'un domaine C-terminal (Fig. 23). Cependant, contrairement aux autres protéines de cette famille, elle ne présente pas de site de liaison à l'actine en C-terminal mais uniquement en N-terminal. En effet, le rôle de ces protéines est de lier les récepteurs membranaires à l'actine du cytosquelette. Classiquement ces protéines sont dans un état inactif en conformation fermée, lorsque leurs extrémités N-term et C-term sont associées. La phosphorylation d'un résidu en C-term leur permet alors de passer en conformation ouverte et de lier l'actine et d'autres protéines membranaires.

Pour Merlin la phosphorylation a lieu sur la Sérine 518 de son C-term et, au contraire, provoque son inactivation. La p-21 activated kinase (PAK) et la protéine kinase A (PKA) sont décrites comme phosphorylant Merlin sur ce résidu, la myosin phosphatase MYPT1-PP1 δ est décrite comme déphosphorylant Merlin sur ce résidu et donc la réactive. A noter que des variants faux-sens de cette S518 sont décrits comme inactivant la protéine. En revanche, des études récentes ont montré que cette phosphorylation n'entraînerait pas un passage vers une conformation ouverte de la protéine comme pour les autres protéines FERM. Le rôle de la conformation de Merlin dans ses interactions intracellulaires reste à élucider⁷⁶⁻⁷⁸.

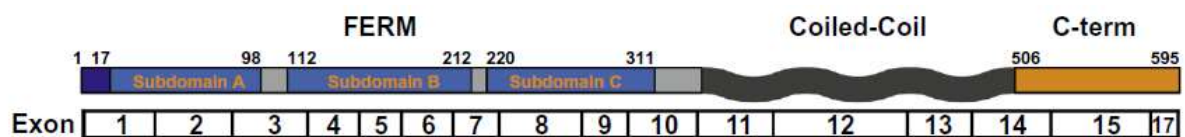


Figure 23. Représentation de la protéine Merlin⁷⁶

Merlin est une protéine d'échafaudage permettant la transduction du signal entre des récepteurs transmembranaires, le cytosquelette, des effecteurs intra-cytoplasmiques et intra-nucléaires via différentes voies entraînant la survie et la prolifération cellulaire. Comme nous allons le voir, un de ses rôles prépondérants se situe dans l'inhibition de contact cellulaire ⁷⁶⁻⁷⁸.

Récepteurs membranaires et RhoGTPases

Le CD44 est une glycoprotéine de surface impliquée dans l'interaction cellules - cellules et cellules - matrice extracellulaire (MEC), notamment via son rôle de récepteur de l'acide hyaluronique. Sa liaison à l'acide hyaluronique de la MEC provoque une activation GTP dépendante de RAC1 via TIAM1. Merlin dans sa forme active inhiberait la liaison CD44-acide hyaluronique en se liant directement au CD44 et régulerait négativement sa signalisation en aval en inhibant le recrutement de RAC1 à la membrane. Cette voie de signalisation aboutit à l'activation de la PAK qui, en plus de phosphoryler Merlin pour la rendre inactive, permet la levée de l'inhibition de contact en augmentant la prolifération via Aurora A et en jouant sur l'activité du cytosquelette via les kinases LIM (LIMK). A noter que cette voie peut également être activée par la reconnaissance de laminine-1 de la MEC par les intégrines aboutissant à l'activation de PAK et à l'inhibition de NF2. En résumé, cette voie de signalisation médiée par la famille des RhoGTPases aboutit à une levée de l'inhibition de contact cellulaire mais est régulée négativement par Merlin à plusieurs niveaux. Cependant, une inactivation de NF2 entraînerait une activation constitutive de cette voie via RAC1/PAK et aboutirait à une prolifération cellulaire ainsi qu'à des anomalies du cytosquelette (Fig. 24) ⁷⁶⁻⁷⁸.

Merlin impacterait également d'autres voies de signalisation en raison de son interaction avec de nombreux récepteurs membranaires. Elle aurait un rôle dans la diminution de l'expression de récepteurs tyrosine kinase (RTK) membranaires comme ERBB2/ERBB3. A l'inverse, une fois activés, ces derniers permettent une activation de la PKA qui phosphoryle et ainsi inactive Merlin.

Elle aurait également une action régulatrice négative indirecte de la voie RAS. Premièrement en inhibant la liaison de SRC à son RTK, ce qui inhibe son action promotrice de la voie RAS et de la kinase d'adhésion focale (FAK). Mais également en bloquant indirectement l'action du complexe RAS en inhibant son assemblage à la protéine SOS ⁷⁶⁻⁷⁸.

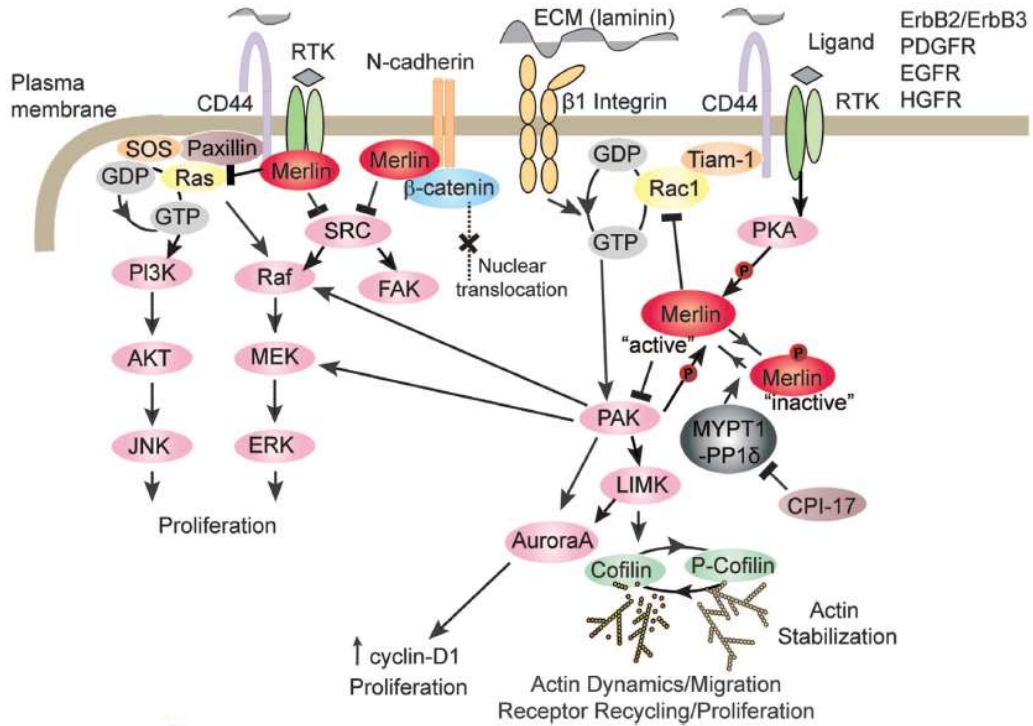


Figure 24. Représentation des interactions de la protéine Merlin avec différents récepteurs membranaires et RhoGTPases⁷⁸

Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR

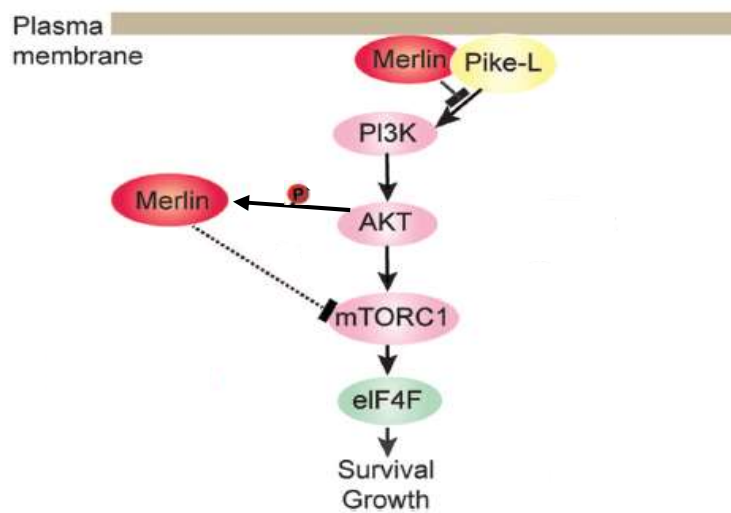


Figure 25. Représentation des interactions de Merlin avec la voie PI3K/AKT/mTOR⁷⁸

Cette voie de signalisation semble être un élément central de la pathogenèse des méningiomes. Les altérations génétiques spécifiques à cette voie seront détaillées par la suite, cependant Merlin joue un rôle dans sa régulation. En effet, la protéine NF2 dans sa forme activée inhibe PI3K via l'inactivation de la phosphatidylinositol 3-kinase enhancer-L (PIKE-L). Par ailleurs, Merlin inhiberait également mTORC1. De plus, il a été décrit que AKT phosphorylerait Merlin sur sa Thréonine 230 et sa Sérine 315, aboutissant à une diminution de sa capacité de liaison à PIKE-L, comme un rétrocontrôle. Au total, une inactivation de Merlin aboutirait à une activation constitutive de la voie PI3K/AKT/mTOR et à la prolifération cellulaire (Fig. 25)⁷⁶⁻⁷⁸.

Voie de signalisation Hippo

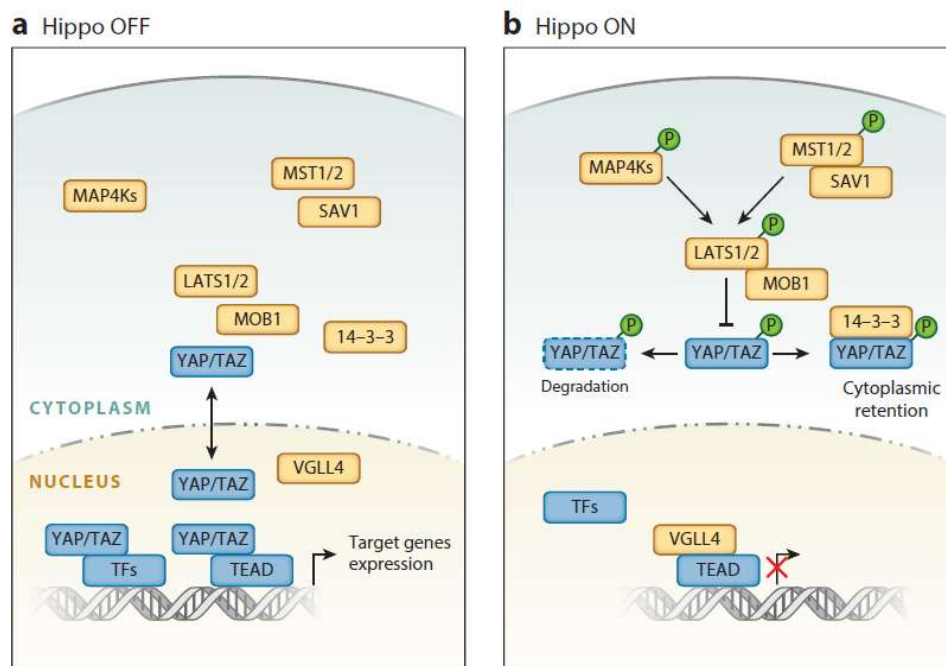


Figure 26. Représentation de la voie de signalisation Hippo⁷⁹

La voie Hippo est une voie de signalisation conservée, décrite pour la première fois chez la *Drosophila melanogaster*. L'objectif de cette voie est de limiter la taille des organes durant le développement. Pour cela elle régule la prolifération et l'apoptose, elle est donc étroitement liée à l'inhibition de contact cellulaire. De ce fait, cette voie et ses composants présentent un effet suppresseur de tumeur. La voie Hippo est constituée d'une cascade de kinases commençant avec la phosphorylation de macrophage-stimulating 1/2 (MST1/2) qui phosphoryle à son tour

large tumor suppressor 1/2 (LATS1/2). Ces dernières permettent la phosphorylation des coactivateurs transcriptionnels YAP/TAZ qui seront alors séquestrés dans le cytoplasme, liés à la protéine 14-3-3, ou bien dégradés. En l'absence d'activation de cette voie, YAP/TAZ non phosphorylés sont localisés dans le noyau et se lient aux transcriptional enhanced associated domains (TEADs) leur permettant d'induire l'expression de gènes cibles. Dans le cas contraire, le vestigial-like protein 4 (VGLL4) se lie à ces régions TEAD et inhibe l'expression génique (Fig. 26) ⁷⁶⁻⁷⁹.

La protéine NF2 intervient dans la régulation de la voie Hippo au niveau de la membrane cellulaire. Premièrement, elle recrute LATS1/2 au niveau de la membrane permettant sa phosphorylation par MST1/2. De plus, elle se lie à l'Angiomotine (AMOT) au niveau des jonctions serrées, entraînant une inhibition de la voie de signalisation RAC1-PAK. A noter que cette AMOT permet également le recrutement et l'activation de LATS1/2 par MST1/2 au niveau de ces jonctions serrées et ainsi l'inhibition de YAP/TAZ. Enfin, au niveau des jonctions adhérentes où l'E-cadhérine permettrait la promotion de la voie Hippo, Merlin interagirait avec la β -caténine en inhibant sa translocation nucléaire et donc la voie de signalisation Wnt. L' α -caténine interagirait quant à elle à la fois avec Merlin et avec la protéine 14-3-3 permettant de séquestrer YAP/TAZ phosphorylés en dehors du noyau. En somme, la voie Hippo et NF2 sont fortement impliquées dans les mécanismes de contact intercellulaire et du cytosquelette. En effet, des facteurs mécaniques comme l'étirement, la densité cellulaire ou la géométrie des cellules ont également montré une influence sur l'activité de YAP/TAZ (Fig. 27) ⁷⁶⁻⁷⁹.

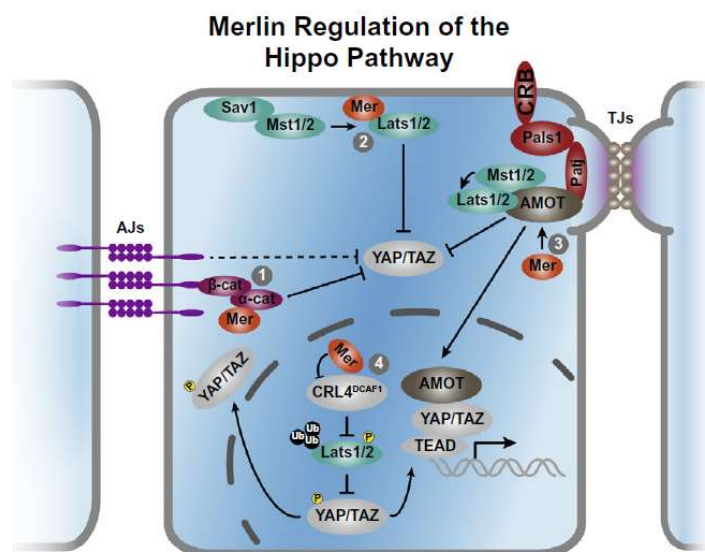


Figure 27. Représentation des rôles de Merlin dans la régulation de la voie Hippo ⁷⁶

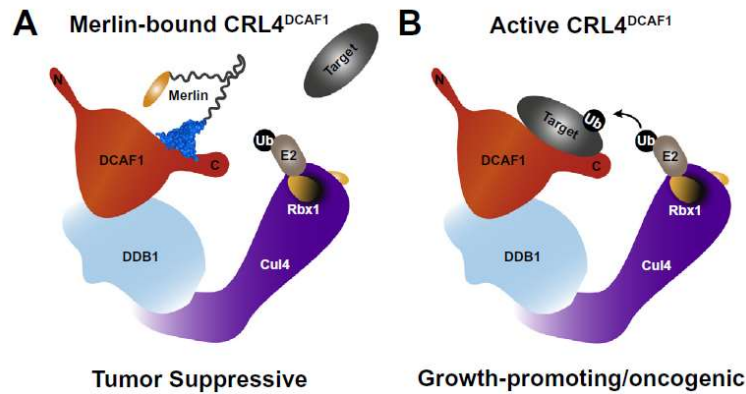


Figure 28. Représentation de la conformation de l'E3 ubiquitine ligase CRL4^{DCAF1} 80

Merlin régule également la voie Hippo au niveau nucléaire. CRL4^{DCAF1} est une E3 ubiquitine ligase de la famille des cullin-4-based RING-type (CRL4) dont l'unité de reconnaissance des substrats à ubiquitinyler est le DDB1 and Cul4-Associated Factor 1 (DCAF1) (Fig. 28). A travers sa fonction d'ubiquitinylation, CRL4^{DCAF1} régule la prolifération cellulaire, la survie et la réparation de l'ADN en agissant sur de nombreuses protéines comme les histones, les histones désacétylases (HDAC), RAG1 ou encore les enzymes TET. LATS1/2 font également partie des substrats de cette ubiquitine ligase. Ainsi, CRL4^{DCAF1} entraînerait une poly/oligo-ubiquitinylation de LATS1/2 responsable de la dégradation de LATS1 par le protéasome, l'inhibition de l'activité kinase de LATS2, et par conséquent l'absence de phosphorylation de YAP/TAZ. CRL4^{DCAF1} régulerait donc négativement la voie Hippo. Cependant, Merlin se lie à CRL4^{DCAF1} dans le noyau et inhibe son action. Au total, Merlin exercerait son rôle suppresseur de tumeur également au niveau nucléaire en restaurant la voie Hippo et en inhibant les autres fonctions proto-oncogéniques de CRL4^{DCAF1}. A noter que plusieurs mutations faux-sens du gène *NF2* sont décrites comme diminuant la liaison ou l'effet inhibiteur de la liaison de Merlin à DCAF1 (Fig. 27) ^{76-78,80}.

5.1.2 Rôle dans les méningiomes sporadiques

Le gène suppresseur de tumeurs *NF2* est le gène le plus fréquemment impliqué dans les méningiomes. Il est altéré dans 40 à 60% des méningiomes ^{5,6}. Les variants rencontrés sont principalement des délétions du bras long du chromosome 22 (co-délétant ainsi potentiellement d'autres gènes suppresseurs de tumeur comme *SMARCB1* ou *CHEK2*) mais également des variants tronquants (non-sens 44% ou frameshift 29%) ou d'épissage (24%), aboutissant dans tous les cas à une perte de fonction du gène ^{5,81}.

Les altérations de *NF2* et des autres principaux gènes drivers impliqués dans les méningiomes sont considérées mutuellement exclusives à l'exception de *SMARCB1* pouvant être concomitantes avec des variations de *NF2* ⁸². Outre les co-délétions *NF2/SMARCB1*, environ 6.4% des méningiomes *NF2*-mutés présentent une co-mutation *NF2/SMARCB1*. De plus, 70% de ces tumeurs présentant une co-mutation *NF2/SMARCB1* sont localisées au niveau antérieur de la faux du cerveau contre seulement 16% des méningiomes uniquement *NF2*-mutés ⁸³.

Les tumeurs *NF2*-déficientes présentent une association avec le sexe masculin supérieure à celle attendue compte tenu du sexe ratio, ce qui est intéressant si l'on prend en considération que les méningiomes agressifs sont sur-représentés dans ces deux populations ⁴¹. En effet, les sous-types atypiques et anaplasiques sont particulièrement associés à *NF2* avec 80% des méningiomes de grade II et III présentant une altération *NF2* ⁸⁴. Par ailleurs, ces méningiomes de haut-grade présentent fréquemment une instabilité chromosomique associée ⁸¹.

Les altérations de *NF2* sont associées aux sous-types histologiques fibroblastique, transitionnel et psammomateux, ce dernier étant particulièrement retrouvé dans les méningiomes rachidiens. Les localisations fréquemment associées sont le rachis et les méningiomes intracrâniens de la convexité, de la faux du cerveau, parasagittaux et du cervelet (Fig 29). Ces tumeurs *NF2*-déficientes sont moins fréquemment retrouvées à la base du crâne, et lorsqu'elles le sont, elles se manifestent principalement au niveau de la fosse postérieure ^{13,41}.

D'après une étude de *Okano et al.*, 2021 les méningiomes seraient reliés à différentes origines embryonnaires. Les méningiomes *NF2*-déficients se développeraient à partir des méninges dérivant des crêtes neurales pour la faux et du mésoderme dorsal pour la fosse postérieure. En opposition, les méningiomes *NF2*-intact proviendraient des méninges dérivant du mésoderme para-axial et seraient associés à une localisation plus centrale dans la base du crâne ⁶.

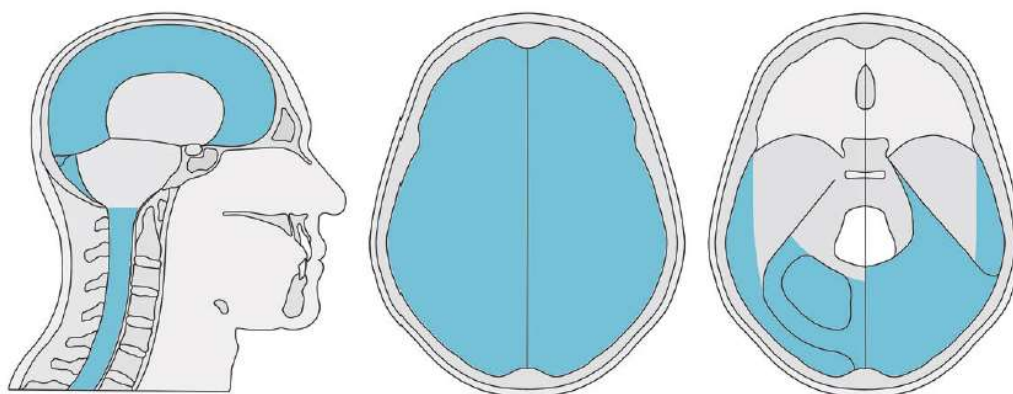


Figure 29. Représentation des principales localisations de méningiomes *NF2*-déficents

A. Sagittal B. Axial (convexité) C. Axial (base du crâne) ⁴

5.2 Fusions *YAP1*

Des fusions du gène Yes associated protein 1 (*YAP1*) sont décrites dans de rares tumeurs comme les épendymomes ou encore les hémangio-endothéliomes épithélioïdes. Récemment, des fusions impliquant ce gène ont été mises en évidence dans de rares méningiomes pédiatriques et du jeune adulte. Au total, 11 cas ont été rapportés dans la littérature chez des patients d'âges allant de moins d'1 an à 20 ans. Les fusions retrouvées chez ces patients étaient *YAP1::MAML2* chez 7 patients, *YAP1::FAM118B* chez 2 patients, *YAP1::PYGO1* et *YAP1::LMO1* chez un patient chacune. A noter que ces fusions ont été retrouvées dans des tumeurs *NF2* wild-type et sans autres altérations moléculaires notables. Le fait qu'elles surexpriment *YAP1* tout comme les méningiomes *NF2* déficitaires laisse penser que ces fusions seraient un moyen alternatif d'oncogenèse via la voie de signalisation Hippo ⁸⁵⁻⁸⁸.

Les fusions *YAP1::MAML2* et *YAP1::FAM118B* ayant été décrites dans les épendymomes, la question d'un diagnostic erroné pourrait se poser. Cependant, les caractéristiques histologiques de ces tumeurs s'apparentaient aux méningiomes et les données de méthylome ont montré que ces méningiomes avec fusion *YAP1* clusterisent parmi les méningiomes et non parmi les épendymomes avec fusion *YAP1* ^{85,86}.

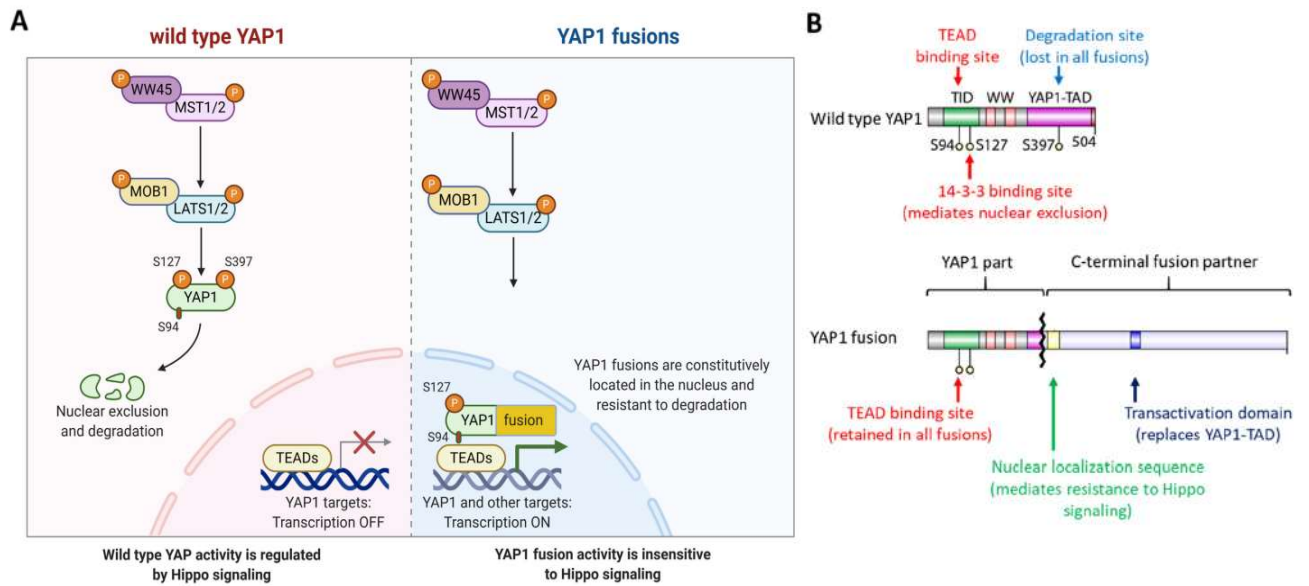


Figure 30. Représentation de la dysrégulation de l'activité de *YAP1* sur la transcription lors de fusions impliquant *YAP1* ⁸⁹

Les fusions *YAP1* ont pour point commun la conservation du domaine de liaison aux TEADs (N-terminal) et la perte du résidu S397 qui est un site de phosphorylation jouant un rôle important dans la dégradation cytoplasmique de YAP1. Ainsi, l'absence de ce résidu S397 permet à YAP1 d'échapper à sa régulation par la voie Hippo et permet sa translocation nucléaire où il se lie aux TEADs via son site de liaison. Le partenaire de translocation joue également un rôle important dans l'ancrage de la protéine dans le noyau via des séquences de localisation nucléaire. Ces protéines de fusion ont donc une localisation nucléaire constitutive qui permet une activation constante de la transcription médiée par YAP1 (Fig. 30) ^{89,90}.

5.3 Complexes switch/sucrose non-fermentable (SWI/SNF)

Les complexes SWI/SNF ont pour rôle principal le remodelage de la chromatine et sont ainsi impliqués dans la régulation transcriptionnelle des gènes. Via leur activité ATPase ils sont capables de déplacer les nucléosomes et ainsi de modifier l'état de compaction de la chromatine. Ces complexes sont principalement localisés proches d'enhancers et de promoteurs, notamment en présence d'histones H3K27 acétylées, donc dans un contexte de transcription active avec une chromatine décondensée, permettant la fixation de facteurs de transcription (Fig. 31). Ils présentent également un rôle dans la réparation de l'ADN (recombinaison homologue, non-homologue et réparation par excision de nucléotides) et dans la cohésion centromérique,

cruciale pour la ségrégation chromosomique. Par ailleurs, les gènes codants pour les sous-unités des complexes SWI/SNF sont retrouvés mutés dans 25% des cancers ^{91,92}.

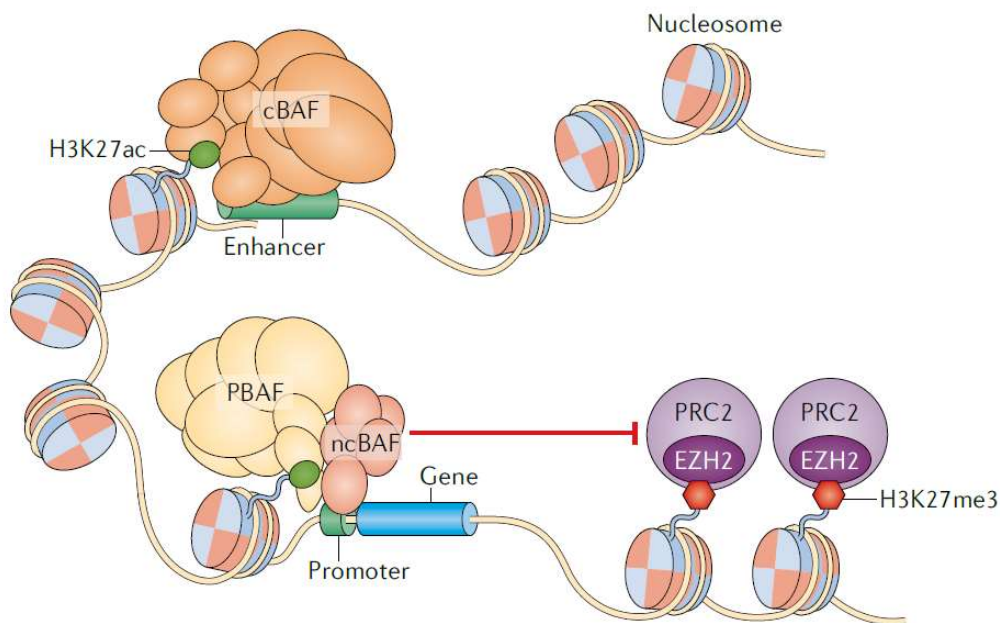


Figure 31. Rôle des complexes SWI/SNF sur la décompaction de la chromatine en opposition à celui du complexe répresseur Polycomb 2 (PRC2) sur la compaction de la chromatine via la méthylation des histones H3K27 ⁹¹

La famille SWI/SNF se décompose en 3 complexes : le canonical BRG1/BRM-associated factor (cBAF), le polybromo-associated BAF (PBAF), et le non canonical BAF (ncBAF). Ces complexes sont composés de sous-unités communes (dont SMARCB1 et SMARCE1) et de sous-unités spécifiques à chaque complexe (comme ARID1A pour cBAF ou PBRM1 pour PBAF) ^{91,92}.

5.3.1 *SMARCB1*

SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin subfamily B member 1 (*SMARCB1*) également connu sous le nom de integrase interactor 1 (*INI1*) est un gène suppresseur de tumeur faisant partie du complexe SWI/SNF. Ainsi, il est décrit que *SMARCB1* contribue à inhiber la transcription ou l'action de différents acteurs de l'oncogenèse comme *RBI*, le couple cycline D1/CDK4, Aurora A ou encore *c-MYC* ⁹³. Les variants de *SMARCB1* entraînent une perte de fonction du gène et sont retrouvés dans environ 5% des méningiomes ⁹⁴.

Le modèle de tumorigenèse en 4 hits décrit précédemment pour les variants constitutionnels de *SMARCB1* dans les méningiomes pourrait également se vérifier pour des altérations purement somatiques. En effet, environ 6.4% des méningiomes *NF2*-mutés présentent une co-mutation *NF2/SMARCB1*. Par exemple, dans notre cohorte de 77 méningiomes, 4 présentent un variant pathogène de *SMARCB1* qui est systématiquement associé à un variant *NF2*. Ces 4 méningiomes présentent en plus une délétion de *NF2* (Tab. 3).

Méningiomes	Variants <i>NF2</i>	Variants <i>SMARCB1</i>	CNV <i>NF2</i>	Sous-type	Ki67
M458	c.560_561del p.(Arg187Asnfs*15)	c.1067dup p.(Thr357Aspfs*4)	Délété	Atypique (grade II)	15%
M543	c.241-9A>G p.(?)	c.1130G>A p.(Arg377His)	Délété	Atypique (grade II)	12%
M594	c.140_141del p.(Phe47*)	c.1084G>T p.(Glu362*)	Délété	Atypique (grade II)	10%
M622	c.336_358del p.(Glu112Aspfs*10)	c.1121G>A p.(Arg374Gln)	Délété	Atypique (grade II)	10%

Table 3. Profil génétique, sous-type histologique et Ki67 des tumeurs *SMARCB1*-mutées dans notre cohorte de 77 méningiomes (CNV = Copy Number Variation)

Ces méningiomes *SMARCB1*-déficients sont décrits comme particulièrement associés à la partie antérieure de la faux du cerveau et ainsi à un développement à partir de méninges originaires des crêtes neurales, tout comme pour *NF2* ⁶. Les méningiomes de grade II sont également plus représentés dans ce groupe de tumeurs que dans celles de la base du crâne, et ils présenteraient un Ki67 plus élevé (Tab. 3) ⁴¹.

5.3.2 *SMARCE1*

SWI/SNF-related matrix-associated actin-dependent regulator of chromatin, subfamily E member 1 (*SMARCE1*) est un gène suppresseur de tumeur faisant partie du complexe SWI/SNF ⁹⁵.

Des variants somatiques de *SMARCE1* sont retrouvés dans les méningiomes sporadiques et sont caractérisés par un sous-type histologique à cellules claires, donc un grade II de l’OMS, et par des localisations rachidiennes fréquentes, tout comme pour les formes familiales. Les variants de *SMARCE1* sont principalement des variants tronquants (grande majorité de non-sens et frameshift) et sont généralement exclusifs^{96,97}. Ces méningiomes sont considérés comme de grade II de l’OMS en raison de leur taux de récurrence élevé (37.8%)⁹⁷. Ils sont également retrouvés chez des patients plus jeunes (médiane au diagnostic entre 11 et 25 ans) et avec une fréquence de métastases plus élevée (8.1%)^{96,97}. D’après une étude de *Sievers et al.*, 2021, ces tumeurs formeraient un cluster très différencié des autres méningiomes après analyse de leur profil de méthylation. Une hypothèse serait que l’altération de *SMARCE1* entraînerait un défaut du système SWI/SNF et ainsi provoquerait des anomalies de remodelage de la chromatine, expliquant le profil épigénétique particulier de ces tumeurs^{95,96}.

Cette entité ne représente qu’une faible proportion des méningiomes (0.2 à 0.81% de sous-type à cellules claires)⁹⁷. Plusieurs études rapportent cependant un diagnostic histologique en défaut devant ces tumeurs, soulignant ainsi la nécessité de réaliser une immunohistochimie *SMARCE1* et/ou une étude génétique ou épigénétique afin de diagnostiquer ces tumeurs de moins bon pronostic^{96,97}.

5.3.3 *ARID1A*

AT-rich interaction domain 1A (*ARID1A*) est un gène suppresseur de tumeur faisant partie du complexe SWI/SNF. Des variants perte de fonction de ce gène sont retrouvés dans environ 5% des méningiomes de haut-grade ou progressifs et sont associés à un pronostic plus péjoratif. Une altération *NF2* est retrouvée associée dans plus de 50% des cas⁹⁸⁻¹⁰¹.

D’après *Chang et al.*, 2018, le complexe SWI/SNF se lierait via *ARID1A* à YAP/TAZ dans le noyau, empêchant leur liaison aux TEADs. Le complexe SWI/SNF aurait donc un rôle inhibiteur de YAP/TAZ, tout comme la voie Hippo. Ainsi, la perte de fonction de *ARID1A* pourrait être un événement renforçant la perte de fonction de *NF2* et entraînerait potentiellement des tumeurs plus agressives¹⁰².

5.3.4 *PBRM1*

Polybromo 1 (*PBRM1*) est un gène suppresseur de tumeur faisant partie du complexe SWI/SNF. Des mutations de ce gène sont retrouvés dans 1.8 à 2.8% des méningiomes^{94,98}.

Environ 70% des méningiomes avec une altération de ce gène présentent un sous-type histologique papillaire. Le sous-type rhabdoïde peut également être retrouvé, tout comme un sous-type mixte présentant à la fois une morphologie rhabdoïde et une architecture papillaire. Le gène *BAP1* peut être muté ou délété de manière concomitante, d'autant plus qu'il se situe à environ 0.135 Mb de *PBRM1* sur le chromosome 3.

En somme, les altérations *PBRM1* sont plutôt associées au sous-type papillaire et les altérations *BAP1* au sous-type rhabdoïde. Cependant les cooccurrences de ces deux gènes sont fréquentes et les sous-types papillaire, rhabdoïde ou mixte rhabdoïde papillaire peuvent être liés aux deux. Par ailleurs, des altérations *NF2* peuvent s'associer à ces deux gènes^{103,104}.

Bien qu'associés à un taux de récurrence élevé, à un risque de métastases et à un pronostic plus péjoratif, les sous-types rhabdoïdes et papillaires ne constituent plus en eux-mêmes un critère de classification en grade III de l'OMS, mais nécessitent une vigilance particulière². Ainsi, pour déterminer si *PBRM1* est lui-même un facteur de mauvais pronostic si muté dans les méningiomes, d'autres études sont nécessaires.

5.4 *TRAF7*

Tumor necrosis factor receptor associated factor 7 (*TRAF7*) est un gène codant pour une E3 ubiquitine ligase pro-apoptotique. Des variants somatiques de ce gène sont retrouvés dans 15 à 28% des méningiomes, il est ainsi le deuxième gène le plus représenté dans ces tumeurs après *NF2*^{13,94,105,106}. La partie C-terminale de la protéine TRAF7 est constituée de 7 domaines WD40 permettant l'interaction protéine-protéine et ainsi l'activité ubiquitine ligase. Les variants pathogènes rapportés de *TRAF7* se situent dans ce domaine WD40, altérant ainsi la structure C-terminale de la protéine et son interaction avec les protéines (Fig. 32-A/B). Cette modification structurale entraînerait un effet dominant négatif de la protéine mutée sur la protéine saine par formation d'hétérodimères non fonctionnels. La perte de fonction de TRAF7 se répercuterait sur d'autres protéines comme MEKK3, qui en l'absence d'interaction avec

TRAF7 ne déclenche pas l'apoptose via la voie JNK, permettant un échappement à la mort cellulaires (Fig. 32-C). Ce phénomène serait également à l'origine d'une perte d'auto-ubiquitinylation de TRAF7 et ainsi d'une plus grande stabilité de la protéine dans les tumeurs mutées, visible en immunohistochimie (surexpression). Un autre effet serait un défaut des cils primaires, empêchant la cellule de se maintenir dans un état quiescent, devant ainsi s'engager dans le cycle cellulaire ¹⁰⁷.

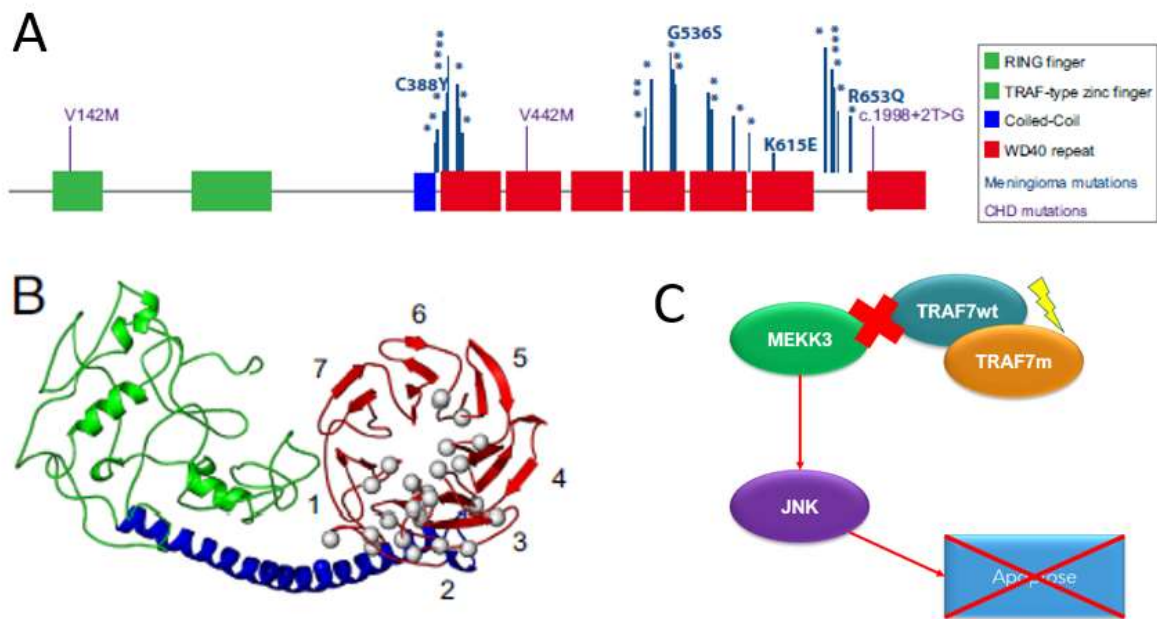


Figure 32.

- A. Distributions des variants de *TRAF7* dans ses domaines protéiques
 B. Structure tridimensionnelle de la protéine *TRAF7* (7 domaines WD40 en rouge)
 C. Mécanisme de résistance à l'apoptose dans une cellule *TRAF7*-mutée ¹⁰⁷

Ces méningiomes *TRAF7*-mutés (avec ou sans co-mutations) sont principalement de grade I (rarement atypiques) et localisés au niveau antérieur et moyen de la base du crâne (Fig. 35). Ils se développeraient ainsi hypothétiquement à partir de méninges ayant pour origine embryonnaire le mésoderme para-axial.

Les variants de *TRAF7* et ceux de *NF2* sont mutuellement exclusifs. Ces variants *TRAF7* peuvent être associés au variant p.Lys409Gln de *KLF4* dans environ 40% des cas, définissant ainsi les méningiomes sécrétoires ¹⁰⁸. Ils peuvent également être associés dans environ 30% des cas au variant p.Glu17Lys de *AKT1* dans les méningiomes méningothéliaux et transitionnels ou à des variants de *PI3KCA* dans environ 12.5% des cas. Dans le reste des méningiomes, ces

variants *TRAF7* sont retrouvés isolés. Les variants de *KLF4*, *AKT1* et *PI3KCA* sont ainsi mutuellement exclusifs dans les méningiomes ^{5,75,81}. Par ailleurs, une étude de *Dogan et al.*, 2022 a montré, par séquençage en single-cell de méningiomes, que l'apparition du variant somatique *TRAF7* était antérieure à l'apparition des variants *KLF4* ou *AKT1* dans la tumorigenèse ¹⁰⁹. Cependant, l'existence de méningiomes avec une altération unique de *TRAF7*, *AKT1* ou plus rarement de *KLF4* laisse penser que ces variations peuvent suffire à la tumorigenèse ou bien qu'un second hit existe dans ces méningiomes mais n'est pas détecté par nos techniques actuelles ^{5,75,109}.

5.5 *KLF4*

Kruppel-like factor 4 (*KLF4*) est un gène codant pour un facteur de transcription en doigt de zinc, régulant notamment la prolifération et la différenciation cellulaire. A noter, *KLF4* est un des facteurs de Yamanaka permettant l'induction de cellules souches pluripotentes. Il exerce son activité grâce à un domaine de liaison activateur et un répresseur de la transcription, tous deux situés en N-terminal de la protéine, ainsi qu'à 3 motifs en doigts de zinc en C-terminal permettant la liaison à l'ADN cible (Fig. 33). *KLF4* peut être considéré comme un gène suppresseur de tumeur ou un oncogène selon le type de tumeur associé ¹¹⁰. Son rôle de suppresseur de tumeur est retenu dans les méningiomes.

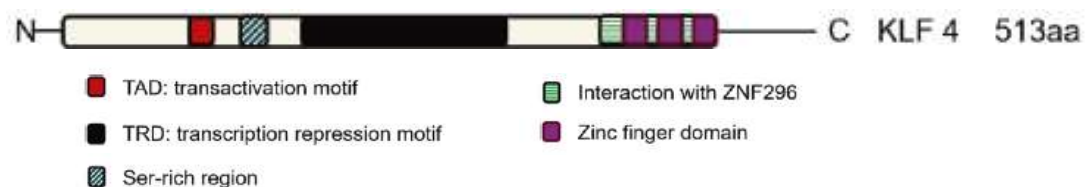


Figure 33. Représentation des domaines fonctionnels du gène *KLF4* ¹¹⁰

Environ 9 à 14% des méningiomes présentent un unique variant de *KLF4*, le p.Lys409Gln i.e. K409Q ^{5,106,111}. Ce variant est quasi-exclusivement retrouvé dans les méningiomes (4 cas rapportés dans d'autres cancers : 2 du sein et 2 du pancréas) et entraînerait une perte de fonction du gène ¹¹¹. Par ailleurs, il est présent dans la région codant pour le 1^{er} doigt de zinc de la protéine. De cette observation, *Tsytsykova et al.*, 2022 ont émis l'hypothèse selon laquelle ce variant modifierait la spécificité de liaison à l'ADN de *KLF4* et induirait un profil d'expression génique particulier en raison de son rôle de facteur de transcription. Ils ont ainsi démontré que

la protéine KLF4 mutée était capable de reconnaître un locus du gène *FGF3* (Fibroblast Growth Factor 3) et d'avoir un effet d'enhancer au niveau de son promoteur. Contrairement aux autres méningiomes, ceux présentant le variant p.Lys409Gln expriment FGF3. Par ailleurs, cette protéine FGF3 augmente la croissance de lignées de méningiomes *in vitro* ¹¹².

Une étude de *Najm et al.*, 2021 s'intéresse cette fois-ci au rôle à la fois de *TRAF7* et *KLF4*. Ils démontrent que la perte de fonction de TRAF7 l'empêche de lier, et donc d'ubiquitinyler, des GTPases impliquées dans la signalisation RAS. Ces GTPases n'étant plus dégradées, la voie RAS serait activée. En réponse à cette dérégulation de la voie RAS, KLF4 serait surexprimé afin de jouer son rôle de suppresseur de tumeur en régulant la prolifération cellulaire (mécanisme compensateur). En effet, KLF4 est fortement exprimé dans les méningiomes *TRAF7*-mutés, même en l'absence de variant *KLF4* ¹¹². Cependant, survenant dans un second temps, la variation p.Lys409Gln de KLF4 entraînerait une perte de fonction de la protéine et donc une perte de son effet suppresseur de tumeur ¹¹³.

Ce variant de *KLF4*, quasi-systématiquement associé à un variant *TRAF7*, peut dans de rares cas être le seul évènement génétique driver identifié ⁵. La K409Q est associée à des méningiomes de grade I, localisés au niveau antérieur et moyen de la base du crâne, et donc hypothétiquement à une origine mésodermique para-axiale (Fig. 35) ⁴¹. Par ailleurs, il définit le sous-type histologique sécrétoire et est fréquemment associé à un œdème péri-tumoral ^{71,108}.

5.6 Voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR

Mammalian target of rapamycin (mTOR) est une protéine impliquée dans deux complexes protéiques différents ayant deux rôles distincts : mTOR complex 1 (mTORC1) et mTOR complex 2 (mTORC2) ¹¹⁴.

La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR est initiée par la fixation de facteurs de croissance et autres hormones sur leur récepteur tyrosine kinase, entraînant l'activation de la phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K). Cette PI3K permet la phosphorylation du 3^{ème} groupement -OH du phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate (PIP2) en phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate (PIP3). Ce PIP3 agit comme second messenger en recrutant la protéine kinase B (PKB ou AKT) à la membrane afin d'être phosphorylée par la phosphoinositide-dependent kinase 1 (PDK1) sur la Thr308 et par mTORC2 sur la Ser473, aboutissant ainsi à son activation.

Par ailleurs, la phosphatase and tensin homolog (PTEN) permet la régulation négative de cette étape en convertissant la PIP3 en PIP2 et en inhibant ainsi le recrutement d'AKT à la membrane. Une fois activé, AKT antagonise l'effet inhibiteur du complexe de la sclérose tubéreuse (TSC1/TSC2) sur mTORC1 (Fig. 34) ¹¹⁴. L'activation de cette voie aboutit à la croissance, la survie et la prolifération cellulaire, notamment en modulant l'expression de nombreux gènes ¹¹⁴.

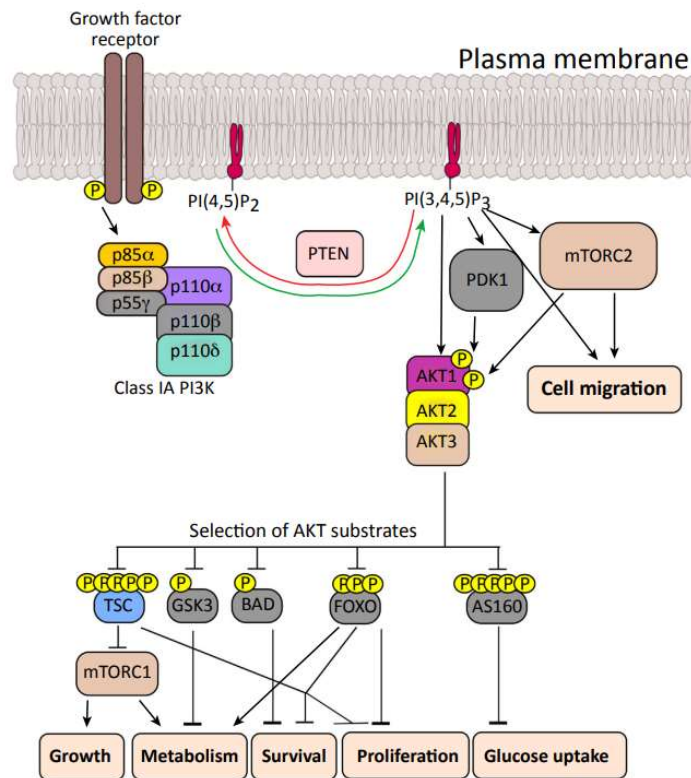


Figure 34. Représentation de la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR ¹¹⁵

Le rôle de cette voie dans la survie et la prolifération cellulaire en fait la cible d'altérations fréquemment impliquées dans la cancérogenèse. En amont de la voie, la surexpression de facteurs de croissance ou l'activation constitutive de récepteurs tyrosine kinase en est un mécanisme d'activation pathologique connu. Des mutations perte de fonction dans les gènes suppresseurs de tumeurs, codant pour des protéines régulant négativement la voie, est un autre mécanisme décrit. Les gènes *PTEN* et *TSC1/2* en font partie, et sont par exemple impliqués respectivement dans le syndrome de Cowden et la sclérose tubéreuse de Bourneville, prédisposant à développer des tumeurs. Enfin, des mutations activatrices dans des oncogènes comme *PIK3CA* ou *AKT1*, *AKT2*, *AKT3*, codant respectivement pour la sous-unité catalytique de PI3K et pour les différents isoformes d'AKT, entraînent une activation constitutive de ces protéines et ainsi une activation constante de la voie, à l'origine de tumeurs ¹¹⁴.

Les mutations des gènes impliqués dans cette voie sont mutuellement exclusives dans les méningiomes.

Le variant p.Glu17Lys i.e. E17K d'*AKT1* est retrouvé dans de nombreux cancers, dont 6 à 14% des méningiomes où il est fréquemment associé à des variants de *TRAF7*. Cette mutation survient dans le domaine homologue à la pleckstrine d'AKT, augmentant l'affinité du PIP3 pour cette dernière, entraînant ainsi le transfert d'AKT à la membrane et sa phosphorylation. L'activation constitutive d'AKT par cette mutation provoquerait une prolifération cellulaire incontrôlée et une augmentation de la survie via l'activation en aval de la voie ¹¹⁶. A noter que le variant p.Glu17Lys du gène *AKT3* a également été décrit dans un cas de méningiome ⁸³.

Les mutations activatrices de *PIK3CA* sont également retrouvées dans divers cancers, dont environ 4.5% des méningiomes où elles peuvent être associées à des variants de *TRAF7* ^{94,117}. Plus de 80% des mutations de *PIK3CA* sont représentées par trois « hotspots ». Le plus fréquent se situe dans le domaine tyrosine kinase, sur l'histidine 1047, les deux autres se situent dans le domaine en hélice, sur les glutamates 542 et 545 ^{5,115}. Plus rarement, des mutations activatrices de *PIK3RI* codant pour la sous-unité régulatrice de PI3K sont également retrouvées dans les méningiomes ⁸³.

L'altération de ces gènes impliqués dans la voie PI3K/AKT/mTOR se rapporte à un profil commun parmi les méningiomes. Les mutations *TRAF7* y sont fréquemment associées, tout comme la localisation antérieure et moyenne de la base du crâne (Fig. 35). Ces tumeurs seraient ainsi rattachées à une origine mésodermique para-axiale. Les sous-types principalement associés sont le méningothélial et le transitionnel, soit des grade I de l'OMS. Cependant des variants *AKT1* sont également associés à des méningiomes atypiques, soit des grade II ^{5,6,13,16,41,94}.

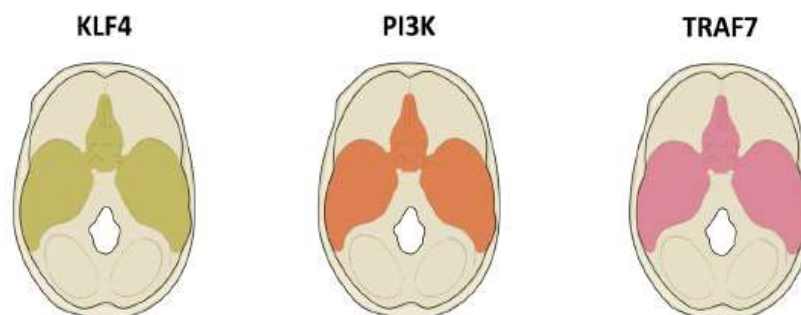


Figure 35. Représentation des principales localisations de méningiomes avec altérations *TRAF7*, *KLF4* ou de la voie PI3K/AKT/mTOR (i.e. *AKT1* et *PIK3CA*) ¹⁰

Par ailleurs, des variants pathogènes de *PTEN* ont été mis en évidence dans des méningiomes. Leur fréquence est difficile à évaluer en raison du faible nombre d'études incluant ce gène dans leur panel. Ces variants sont associés à des méningiomes de mauvais pronostic. Ils sont principalement retrouvés dans des méningiomes de grade II et III et sont associés à un taux de récurrence élevé^{54,98,118}. Par ailleurs, une étude associe une diminution de l'expression de *PTEN* avec des méningiomes de haut grade¹¹⁹.

5.7 *BAP1*

BRCA1 associated protein-1 (*BAP1*) est un gène suppresseur de tumeurs jouant de nombreux rôles, notamment dans la réparation de l'ADN par recombinaison homologue, ou encore dans la régulation de la transcription via le complexe Polycomb agissant sur la compaction de la chromatine. Des variants pathogènes de ce gène sont retrouvés dans moins d'1% des méningiomes¹²⁰.

Les méningiomes *BAP1*-mutés représentent un sous-type de méningiomes particulièrement agressifs, présentant un index mitotique généralement élevé et un temps de progression court, même comparé à d'autres grade II et III. Comme mentionné précédemment, ces tumeurs présentent fréquemment une histologie rhabdoïde, voire papillaire, et sont fréquemment associées à des altérations de *PBRM1*. Néanmoins, des études ont montré qu'une partie des méningiomes rhabdoïdes se comportait comme des grade I. Ainsi, devant ce sous-type histologique, les autres critères de la classification de l'OMS 2021 suffisent à discriminer les méningiomes de haut grade. Cependant, un marquage *BAP1* en immunohistochimie et/ou une recherche de variant *BAP1* en biologie moléculaire sur la tumeur peuvent être pertinents devant une histologie rhabdoïde ou papillaire afin d'adapter la prise en charge^{104,120-122}.

Les principales atteintes du syndrome de prédisposition aux cancers lié à des mutations germinales de *BAP1* sont les mélanomes uvéaux ou cutanés, les mésothéliomes ou encore les carcinomes à cellules rénales. D'autres tumeurs sont retrouvées, dont les méningiomes dans environ 1.7% des cas. A noter que parmi les patients présentant des méningiomes mutés *BAP1*, il semble y avoir une forte prévalence de mutations germinales. Devant un patient présentant un méningiome *BAP1*-muté la recherche du variant au niveau germinale devrait être discutée, d'autant plus s'il présente d'autres atteintes du spectre^{68,120,121}.

5.8 Voie de signalisation Sonic Hedgehog (SHH)

La voie de signalisation SHH joue un rôle important dans le développement embryonnaire. Chez l'adulte, son activité se limite au maintien des cellules souches pluripotentes, permettant ainsi la régénération tissulaire ¹²³.

Cette voie s'organise autour des cils primaires. La protéine Hedgehog (HH) est le ligand du récepteur Patched (PTCH). En l'absence de protéine HH, PTCH réprime le co-récepteur Smoothed (SMO) en inhibant sa translocation vers les cils primaires. La protéine Glioma-associated oncogene (GLI) reste donc liée à Suppressor of fused homolog (SUFU) qui inhibe sa translocation vers le noyau. Enfin, la phosphorylation de GLI permet son clivage en GLI répresseur (GLIR) qui se lie aux séquences promotrices de gènes régulés par la voie SHH et réprime leur expression ¹²³.

En présence du ligand HH, celui-ci lie PTCH et forme avec lui un complexe HH-PTCH qui sera internalisé et dégradé dans les lysosomes. Le co-récepteur SMO n'est plus inhibé et peut donc migrer dans les cils primaires où il va permettre la dissociation de SUFU et GLI. La protéine GLI libre est qualifiée d'activatrice (GLIA) et va migrer dans le noyau puis activer les gènes cibles de la voie, qui peuvent être des oncogènes comme *CCND2*, *BCL2*, *N-MYC*, *FOXM1* par exemple (Fig. 36) ¹²³.

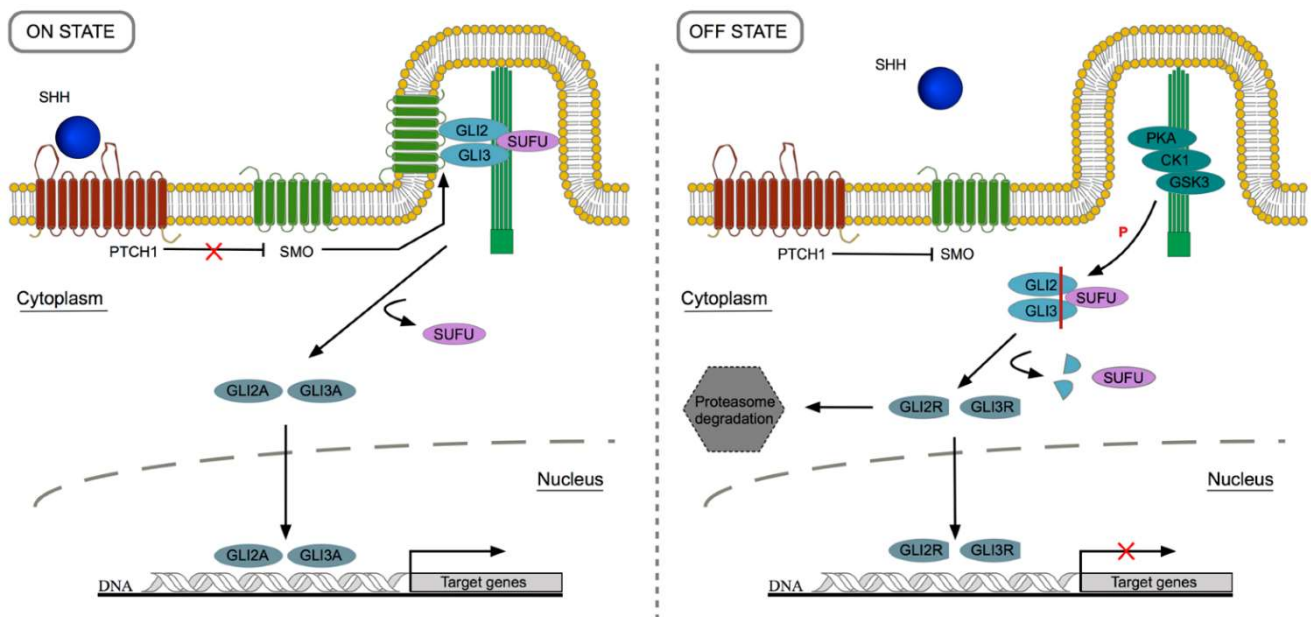


Figure 36. Représentation de la voie de signalisation Sonic Hedgehog ¹²⁴

Smoothered (*SMO*) est un oncogène codant pour un récepteur transmembranaire. Les mutations activatrices de ce gène, comme la p.Leu412Phe et la p.Trp535Leu, provoquent une activation constitutive du récepteur et ainsi de la voie SHH. Ces variants pathogènes sont retrouvés dans 1 à 5% des méningiomes et principalement en l'absence d'autres gènes mutés. Toutefois, des variants de *TRAF7* peuvent être associés. Par ailleurs, *Boetto et al.*, 2018 ont mis en évidence chez la souris une susceptibilité des méninges de la base du crâne (d'origine mésodermique) aux mutations de *SMO*, contrairement à celles de la convexité (originaires des crêtes neurales) ^{5,13,94,105,124,125}.

Suppressor of fused homolog (*SUFU*) est un gène suppresseur de tumeurs codant pour une protéine liant GLI et empêchant sa translocation dans le noyau. Agissant comme un régulateur négatif de la voie SHH, un défaut de cette protéine entraînerait une activation constitutive de cette voie. Patched 1 (*PTCHI*) est un gène suppresseur de tumeurs codant pour le récepteur du ligand HH, dont le rôle est de réprimer la voie HH en inhibant SMO. Une perte de fonction de ce gène aboutit à une activation constitutive de SMO et donc cette voie. Des variants pathogènes de ces deux gènes sont décrits dans moins d'1% des méningiomes. Au niveau constitutionnel, ces deux gènes sont impliqués dans le syndrome de Gorlin prédisposant au développement de tumeurs. Les plus caractéristiques étant les carcinomes basocellulaires et les kératokystes de la mâchoire, mais les méningiomes sont aussi décrits (1 à 5% des cas) dans certaines familles, particulièrement lorsque le gène impliqué est *SUFU* ^{65,94,126}.

Les méningiomes issus de défauts de la voie SHH sont principalement de grade I et de sous-type méningothélial (rarement atypiques) et sont fréquemment localisés au niveau de la base du crâne, notamment dans la région antérieure (Fig. 37). D'après *Youngblood et al.*, 2020, les méningiomes avec altération de la voie SHH sont significativement liés à une modification de la vision chez les patients, ce qui serait la conséquence clinique de la localisation antérieure de ces méningiomes. De plus, parmi les méningiomes des sillons olfactifs, ceux présentant une mutation *SMO* ont été associés à un moins bon pronostic en raison de récurrences tardives et de co-morbidités comme des troubles de la vision et des dysfonctions de la glande pituitaire ^{10,41,94,127}.

5.9 *POLR2A*

Le gène RNA Polymerase II Subunit A (*POLR2A*) code pour RPB1, la plus grande sous-unité de l'ARN polymérase II. Bien que son rôle physiologique soit bien connu et ait été longuement étudié, son rôle en pathologie est à ce jour peu décrit. L'article de *Clark et al.*, 2016 est le premier à faire mention de variants de ce gène impliqués en pathologie. En effet, ils y décrivent deux variants somatiques récurrents de *POLR2A* observés dans une cohorte de 775 méningiomes, le p.Gln403Lys et le p.Leu438_His439del, retrouvés respectivement dans 19 et 4 cas de méningiomes de grade I sans autre altération moléculaire driver. Par la suite, d'autres études mettront en évidence des méningiomes présentant ces variants ⁸³.

Ces variants de *POLR2A* sont retrouvés dans environ 6% des méningiomes et seraient mutuellement exclusifs d'autres altérations moléculaires connues. Ces méningiomes sont quasi-exclusivement de grade I avec un sous-type méningothélial et une localisation principalement à la base du crâne avec une forte affinité pour la selle turcique et la fosse postérieure (Fig. 37). Ils s'apparenteraient donc à une origine mésodermique des méninges. En revanche, un taux de récurrence élevé est décrit avec ces méningiomes. Comme pour les tumeurs mutées *SMO*, ceci peut s'expliquer en partie par la localisation anatomique de ces lésions pour lesquelles une résection totale peut être difficile ^{6,13,41,81,83,94,128}.

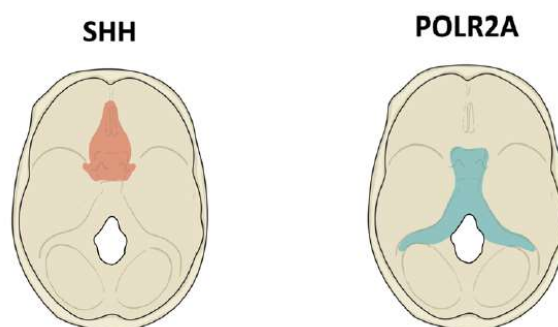


Figure 37. Représentation des principales localisations de méningiomes avec altérations de la voie SHH et du gène *POLR2A* ¹⁰

5.10 *CDKN2A/B*

Cyclin dependent kinase inhibitor 2A et 2B (*CDKN2A/B*), sont des gènes situés à proximité sur le bras court du chromosome 9 et qui codent respectivement pour les protéines p16 et p15. Ces protéines permettent la régulation de la transition G1/S du cycle cellulaire. Ces dernières inhibent les kinases cyclines dépendantes 4 et 6 (CDK4/6) et ainsi, la protéine pRb hypophosphorylée lie le facteur de transcription E2F. Ce faisant, le cycle cellulaire est arrêté, permettant par exemple la réparation de l'ADN. En l'absence de p16 et p15, la protéine pRb est phosphorylée par les CDK4/6 libérant ainsi E2F et permettant la transition vers la phase S du cycle cellulaire (Fig. 38) ¹²⁹.

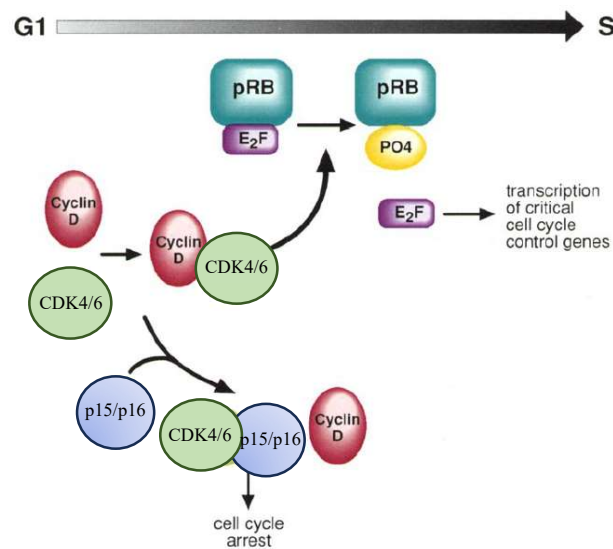


Figure 38. Représentation du rôle des protéines p15 et p16 dans la transition G1/S ¹³⁰

A noter que *CDKN2A*, code également pour la protéine p14^{ARF} via un transcrite alternatif. Cette protéine permet d'inhiber MDM2 et ainsi de promouvoir l'activité de p53 aboutissant également à l'arrêt du cycle cellulaire dans un contexte de réparation de l'ADN.

Les délétions homozygotes 9p comprenant *CDKN2A/B* représentent moins de 5% des méningiomes, dont environ 20 à 25% des grade III de l'OMS. On les retrouve particulièrement dans les méningiomes anaplasiques ou plus rarement atypiques. Une cooccurrence avec une altération *NF2* est fréquente. Elles sont associées à un pronostic péjoratif et à un taux de récurrence élevé. D'après une étude de *Sievers et al.*, 2020, la survie sans progression médiane des méningiomes avec délétion homozygote *CDKN2A/B* serait de 8 mois. En comparaison,

celle des méningiomes mutés *pTERT* serait de 11.5 mois et celle des autres méningiomes de leur cohorte de 147 mois. Par ailleurs, dans une étude de *Khan et al., 2023*, 659 méningiomes ont été classés en 3 groupes pronostic selon la classification OMS 2016, leur profil de méthylation et leur profil transcriptomique. Dans le 3^{ème} groupe, représentant les tumeurs agressives, la survie sans récurrence médiane (mRFS) est de 47 mois. Parmi ces tumeurs, celles présentant une délétion homozygote *CDKN2A/B* chutent à 11 mois. A noter que celles présentant une délétion hétérozygote *CDKN2A/B* ont une mRFS de 25 mois^{94,128,131,132}.

En résumé, les délétions homozygotes *CDKN2A/B* sont un facteur indépendant de mauvais pronostic, même au sein des méningiomes de grade III déjà agressifs. En effet, cette anomalie classe la tumeur en grade III de l'OMS d'après les recommandations de 2021. Cependant, la majorité des méningiomes présentant une délétion homozygote *CDKN2A/B* sont déjà classés en grade III de l'OMS sur des critères histologiques, ou en grade II de sous-type atypique pour les autres. Ainsi, la recherche de cette altération présente un intérêt dans les méningiomes atypiques afin de les reclasser et dans les méningiomes de grade III afin d'affiner leur pronostic.

Paradoxalement, *Wang et al., 2023* identifient qu'une forte expression d'ARNm de *CDKN2A* serait corrélée à des méningiomes de moins bon pronostic, parmi ceux sans CNVs de *CDKN2A/B*¹³³.

Des délétions hétérozygotes et des variants perte de fonction de *CDKN2A/B* sont également rapportés dans les méningiomes. Des études décrivent un pronostic similaire entre les tumeurs délétées *CDKN2A/B* homozygotes et hétérozygotes. Plus de données sont aujourd'hui nécessaires pour conclure à l'impact pronostic de délétions hétérozygotes ou d'une inactivation bi-allélique (délétion hétérozygote et/ou SNV(s)). La faible proportion de méningiomes présentant ces altérations et le fait que l'étude à la fois des CNVs et des SNVs de *CDKN2A/B* ne soit pas souvent réalisée en routine limite ces investigations^{132,134}.

La question de l'évolution des très rares méningiomes de grade I décrits avec délétions homozygote de *CDKN2A/B* est également un sujet peu traité dans la littérature. A noter que quelques études ont été menées sur la méthylation du promoteur de ces gènes, ne permettant pas de conclure quant à une éventuelle valeur pronostic.

5.11 *pTERT*

La télomérase est une ADN polymérase spécialisée dans la réparation des télomères, ces derniers étant érodés à chaque réplication. Elle est constituée d'une partie enzymatique codée par la telomerase reverse transcriptase (*TERT*) et d'un ARN non codant codé par le telomerase RNA component (*TERC*) servant de modèle à la synthèse des répétitions TTAGGG télomériques. La télomérase est inactive dans la majorité des cellules humaines. Cependant, des altérations génétiques menant à l'activation de cette enzyme aboutissent à l'immortalisation des cellules et sont ainsi largement décrites dans l'oncogenèse ¹³⁵.

Parmi ces mécanismes on retrouve des mutations du promoteur de *TERT* (*pTERT*), c.-146C>T (C250T), c.-124C>T (C228T) et c.-57A>C, permettant la création de sites de fixation pour le facteur de transcription E-twenty-six (ETS), aboutissant à l'activation de *TERT*. Ces mutations sont retrouvées dans moins de 5% des méningiomes et sont particulièrement enrichies dans les grade II et III de l'OMS 2016. Soit environ 15 à 20% des grade III qui présenteraient une de ces mutations. Elles sont donc particulièrement associées aux sous-types anaplasique et atypique. Par ailleurs, des études ont démontré une diminution significative de la survie sans progression et de la survie sans récurrence dans les tumeurs mutées, ainsi qu'une diminution de la survie globale. Ainsi, les mutations du *pTERT* sont un critère de classification en grade III selon l'OMS 2021.

A noter que ces méningiomes semblent avoir deux types d'évolution. La première étant l'acquisition du variant dès un bas grade, entraînant une évolution vers des grades supérieurs et de multiples récurrences. La seconde étant l'acquisition d'un de ces variants de manière concomitante à une progression, notamment lors d'une récurrence ^{94,136-139}.

Les amplifications ou réarrangements de *TERT* sont d'autres mécanismes décrits aboutissant à l'hyperactivation de la télomérase en oncologie. Dans les méningiomes, de rares réarrangements de *TERT* sont décrits. Notamment une fusion récurrente *LPCAT1::TERT* et une fusion *RETREG1::TERT* uniquement décrite dans une étude où elle est associée à une surexpression de l'ARNm de *TERT* dans un méningiome ^{140,141}.

5.12 Méthylation de l'ADN

L'analyse du méthylome sur puce à ADN est une technique qui a révolutionné la classification histo-pronostic des méningiomes. Aujourd'hui, cette analyse permet d'étudier la méthylation de 935,000 dinucléotides CpG à travers le génome. En partant du postulat qu'un profil de méthylation spécifique est acquis au cours de la différenciation pour chaque sous-type cellulaire, de la cellule souche à la cellule spécialisée, cette technique permet d'identifier un sous-type cellulaire en fonction de son profil de méthylation. De plus, l'acquisition d'anomalies génétiques dans les cellules tumorales entraîne des dérégulations épigénétiques. Ainsi, l'identification de profils de méthylation propres à chaque tumeur permet de les comparer entre eux afin de poser un diagnostic. L'histologie peut être en défaut devant certaines tumeurs rares ou complexes. De plus, une hétérogénéité inter-observateur peut rendre l'uniformisation diagnostic complexe. Ainsi, l'analyse du méthylome tumoral a notamment permis la reclassification de tumeurs et la création de nouvelles entités. Plusieurs études se sont donc intéressées aux méningiomes et à leurs 15 sous-types histologiques.

L'étude de *Sahm et al.*, 2017 a permis, à partir de l'analyse des données de méthylation de 497 méningiomes, de définir 6 classes de méthylation regroupées en 3 familles de méthylation de pronostic différent. Ces familles de méthylation auraient une valeur pronostic supérieure à la classification en 3 grades de l'OMS. Cependant, ces deux classifications restent complémentaires et sont utilisées conjointement en routine. A noter qu'un score détermine la fiabilité d'attribution à une classe ou à une famille. Les auteurs recommandent un score > 0.9 pour l'attribution à une famille de méthylation en pratique clinique, et > 0.75 pour une classe de méthylation.

La famille de méthylation bénigne est composée des classes ben-1, ben-2 et ben-3. Chacune présentant des altérations moléculaires prépondérantes (mais non exclusives) : la ben-1 plutôt *NF2*-déficients avec les sous-types histologiques classiquement associés, la ben-2 plutôt *TRAF7/KLF4/SMO/AKT1* avec des sous-types sécrétoires, méningothéliaux et une localisation à la base du crâne associés, puis ben-3 avec des gains chromosomiques, notamment du chromosome 5, et le sous-type angiomateux associés.

La famille de méthylation intermédiaire est composée des classes int-A et int-B et la famille de méthylation maligne uniquement de la classe mal. A noter que les classes int-B et mal sont toutes deux associées au sous-type anaplasique, aux délétions *CDKN2A*, aux altérations de *NF2* et aux mutations du *pTERT* (Fig. 39) ¹⁴².

Une 7^{ème} classe de méthylation a été décrite par *Sievers et al., 2021* : celle des méningiomes *SMARCE1* mutés. En effet, ce sous-type de méningiomes associé à une histologie chordoïde forme un cluster très différent des autres méningiomes d'après les données de méthylome. Par ailleurs, aucune autre anomalie driver parmi *NF2*, *TRAF7/KLF4*, *BAP1* ou les fusions de *YAP1* ne semble créer de cluster épigénétique parmi les méningiomes. Ceci pourrait être expliqué par le rôle de *SMARCE1* et du complexe SWI/SNF dans la régulation épigénétique ⁹⁶.

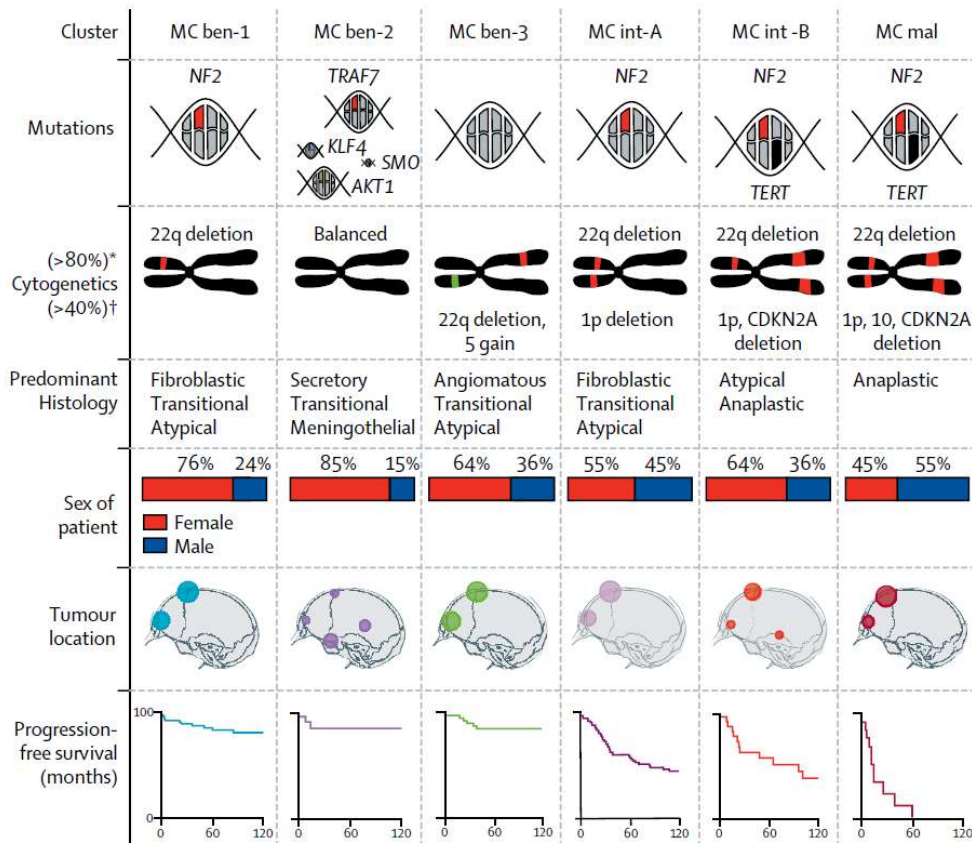


Figure 39. Classes de méthylation dans les méningiomes d'après *Sahm et al., 2017*

Une autre proposition de classification pronostic des méningiomes en fonction des données de méthylome a été faite par *Choudhury et al., 2022*. La présence de délétions pouvant créer une détection artificielle de méthylation par cette technique, l'équipe a analysé les données de méthylation de 565 méningiomes en prenant en compte cette donnée dans l'analyse bio-informatique. Selon eux, la prise en compte des variations du nombre de copies leur a permis d'individualiser 3 classes de méthylation de pronostic différent, et non 6 classes avec des pronostics similaires comme *Sahm et al., 2017* ¹⁴³.

Ces trois classes de pronostic différent sont : merlin-intact de meilleur pronostic, puis immune-enriched de pronostic intermédiaire et hypermitotique de mauvais pronostic. Le second groupe est marqué par une faible proportion de CNVs, hors délétion 22q et gain 6p d'un locus codant pour les gènes du système HLA, ainsi que par un infiltrat immunitaire plus important que dans les deux autres classes. Le groupe hypermitotique présente quant à lui une surexpression de FOXM1 et des gains 1q incluant *USF1*. Une liaison entre *USF1* et le promoteur de *CDK6* a été mise en évidence par chromatin immunoprecipitation sequencing (ChIP-Seq) dans cette même étude (Fig. 40) ¹⁴⁴.




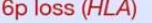
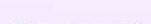


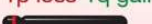

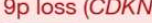
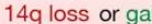





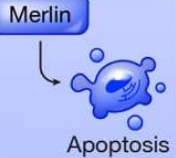
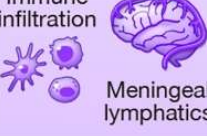
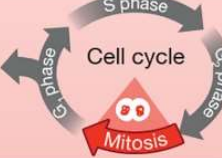

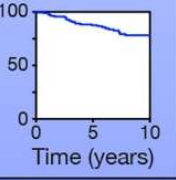
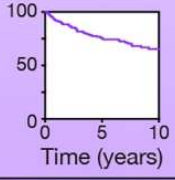
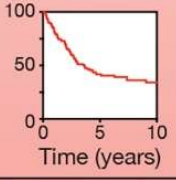
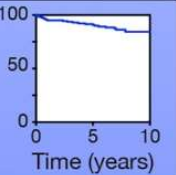
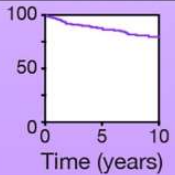
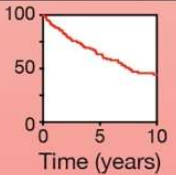
Group	Merlin-intact	Immune-enriched	Hypermitotic	
Genetic features 	 5 gain  6p loss (<i>HLA</i>)  22q neutral (<i>NF2</i>)	 6p gain (<i>HLA</i>)  22q loss (<i>NF2</i>)	 1p loss 1q gain (<i>USF1</i>)  6p loss (<i>HLA</i>)  9p loss (<i>CDKN2A/B</i>)  14q loss or gain  22q loss (<i>NF2</i>)	
Epigenetic and gene expression features 	<i>NF2</i> expression 	<i>HLA</i> and meningeal lymphatic gene hypomethylation and expression 	<i>FOXM1</i> expression  <i>CDKN2A/B</i> hypermethylation	
Cellular features 	Merlin  Apoptosis	Immune infiltration  Meningeal lymphatics	Cell cycle  Mitosis	
Meningioma cell lines 	MSC1 MSC5	M10G DI134 IOMM-Lee CH-157MN	M13C BenMen DI98	
Clinical outcomes and features	WHO grade	Grade 1 81% Grade 2 17% Grade 3 2%	Grade 1 75% Grade 2 19% Grade 3 6%	Grade 1 43% Grade 2 45% Grade 3 12%
	Local freedom from recurrence (%)			
	Overall survival (%)			

Figure 40. Classes de méthylation dans les méningiomes d'après *Choudhury et al., 2022*

5.13 Instabilité chromosomique

Dès 1996 une instabilité chromosomique est rapportée dans les méningiomes ¹⁴⁵. La délétion du bras long du chromosome 22 portant *NF2* est l'événement le plus fréquent, présent dans 40 à 60% des méningiomes. Les anomalies retrouvées le plus fréquemment après celle-ci sont les délétions des chromosomes 1p, 6, 14 et 10. Il est décrit que les méningiomes de bas grade présentent moins d'anomalies chromosomiques quantitatives que les grades plus élevés. L'accumulation de ces anomalies serait donc un signe de malignité dans les méningiomes. Il a notamment été mis en évidence que cette instabilité chromosomique était en très grande majorité retrouvée dans les méningiomes présentant une délétion 22q. Les méningiomes de haut grade sans délétion 22q ne semblent pas acquérir ces CNVs. Une hypothèse avancée par *Yang et al.*, 2012 serait la co-délétion de *NF2* et de *CHEK2* en 22q qui aboutirait à ce phénomène d'instabilité chromosomique du fait du rôle de *CHEK2* dans la réparation de l'ADN et la stabilité du génome. La cascade d'acquisition de ces CNVs continuerait par la délétion 1p, puis en découleraient les autres altérations (Fig. 41) ^{146,147}.

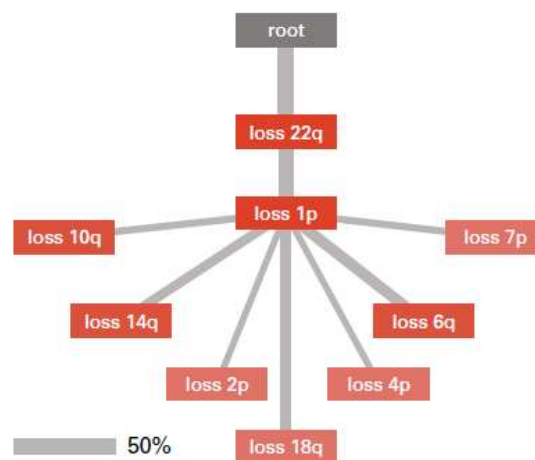


Figure 41. Cascade d'acquisition des CNVs d'après *Maas et al.*, 2021

Ainsi, l'équipe de *Maas et al.*, 2021 élabore une classification permettant d'intégrer ces données de CNVs aux données pronostiques de l'OMS et du méthylome de *Sahm et al.*, 2017. D'après leur revue de la littérature les délétions 1p, 6q, 10q et 14q semblaient être les altérations les plus intéressantes afin de discriminer les méningiomes selon leur pronostic. Leur modèle ne retiendra finalement que les délétions 1p, 6q et 14q. Cette classification attribue entre 0 et 2 points selon le grade OMS, entre 0 et 4 points selon la famille de méthylation et entre 0 et 3

points selon les anomalies chromosomiques parmi les délétions 1p, 6q et 14q. Le grade OMS constitue donc le critère pesant le moins dans ce score intégré. Cette classification permet une meilleure stratification pronostic, notamment entre les risques faible et intermédiaire qui sont les moins évidents à distinguer (Fig. 42) ¹⁴⁶.

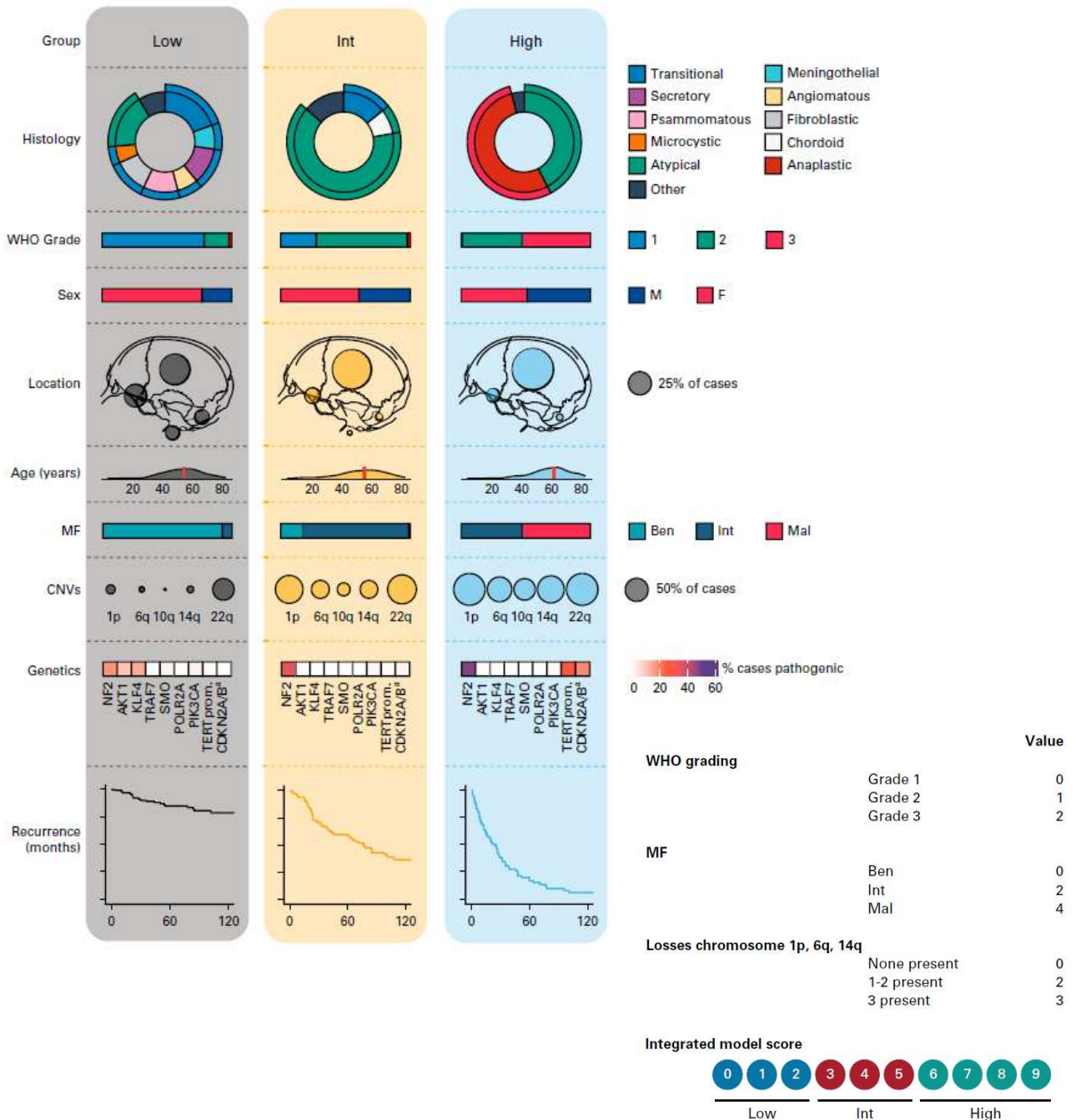


Figure 42. Classification pronostic proposée par *Maas et al., 2021*

Concernant l'utilisation de ce score intégré, l'équipe a démontré que toute délétion supérieure à 5% de la longueur du 1q, 6q ou 14q entraîne un sur-risque et peut être comptabilisée. Par ailleurs, lors de la mise au point de cette classification, l'OMS 2016 était encore en vigueur. Les auteurs ont ensuite réalisé une étude comparant leur score en utilisant l'OMS 2016 contre 2021, c'est-à-dire en incluant les données de mutations du *pTERT* et de délétions homozygotes *CDKN2A/B*. Seuls 2 méningiomes sur 389 présentaient respectivement une de ces deux anomalies permettant de les classer en grade III de l'OMS et par conséquent en pronostic intermédiaire de leur classification intégrée. Les données de CNVs de *CDKN2A/B* étant disponibles à partir des données de méthylome, elles peuvent être incluses facilement à leur classification. Cependant, ils considèrent que l'information apportée par le séquençage du *pTERT* n'est pas suffisante pour nécessiter un séquençage en pratique courante ¹⁴⁸.

Points/feature:		
High-risk molecular alterations	1p-	1 pt
	3p-	1 pt
	4p/q-	1 pt
	6p/q-	1 pt
	10p/q-	1 pt
	14q-	1 pt
	18p/q-	1 pt
	19p/q-	1 pt
	<i>CDKN2A/B</i> -	1 pt
Mitoses	4-19	1 pt
	>20	2 pts

}

Score
No.
(11 max)

→ **Grade 1**
0-1

→ **Grade 2**
2-3

→ **Grade 3**
≥4

Figure 43. Classification pronostic proposée par Driver et al., 2022

D'autres études se sont penchées sur l'impact pronostic des CNVs dans les méningiomes. Comme décrit dans la sous-partie portant sur *CDKN2A/B*, les délétions du 9p incluant ces deux gènes sont associées à un pronostic péjoratif. De même pour les délétions 3p incluant *PBRM1* et *BAP1*. Le gain 1q incluant le gène *USF1* est également associé à des méningiomes plus agressifs, comme l'ont montré Choudhury et al., 2022. Les délétions impliquant les chromosomes 10 et 18 sont également associées à des méningiomes de plus haut grade. De ce fait, une autre classification pronostic des méningiomes, cette fois basée uniquement sur les CNVs et un critère histologique, l'index mitotique, a été mise au point par Driver et al., 2022. Leur score inclut de plus nombreux CNVs dont les délétions 3p, 10 et *CDKN2A/B*, mais n'intègrent pas d'autres données moléculaires comme le méthylome (Fig. 43) ^{144,145,149}.

A noter que des délétions et/ou pertes d'hétérozygotie du chromosome X ont été rapportées dans les méningiomes agressifs. Ces altérations comprendraient fréquemment le gène de la dystrophine (*DMD*)¹⁵⁰.

Par ailleurs, les gains du chromosome 5 sont des anomalies récurrentes, retrouvées principalement dans les méningiomes angiomateux et microkystiques. Ces deux sous-types sont caractérisés par de multiples gains chromosomiques incluant fréquemment les chromosomes 6, 12, 18 et 20, en plus du 5¹⁵¹⁻¹⁵³.

Gène	Locus	Voie de signalisation	Altérations	Fréquence	Histologie associée	Grades OMS	Co-mutations / délétions	Principale localisation
<i>NF2</i>	22q12	Voie Hippo	Délétions Variants perte de fonction	40-60%	Fibroblastique Transitionnel Psammomateux Atypiques Anaplasiques	I / II / III	<i>SMARCB1</i> <i>pTERT</i> <i>CDKN2A/B</i> Isolé ou autres	Convexité Fosse postérieure Parasagittal Faux du cerveau Spinale
<i>TRAF7</i>	16p13	Multiples	Variants perte de fonction (domaines WD40 et coiled-coil)	15-28%	Méningothélial Sécrétoire Transitionnel Atypique	I >> II / III	<i>KLF4</i> (40%) <i>AKT1</i> (30%) <i>PIK3CA</i> (12.5%) Isolé ou autres	Base du crâne (antérieur et moyen)
<i>KLF4</i>	9q31	Multiples	c.1225A>C ; p.Lys409Gln	9-14%	Sécrétoire	I	<i>TRAF7</i>	Base du crâne (antérieur et moyen)
<i>AKT1</i>	14q32	PI3K/AKT/mTOR	c.49G>A ; p.Glu17Lys	6-14%	Méningothélial Transitionnel	I >> II	<i>TRAF7</i> Isolé	Base du crâne (antérieur et moyen)
<i>POLR2A</i>	17p13	/	c.1207C>A ; p.Gln403Lys c.1310_1315del ; p.Leu438_His439del	6%	Méningothélial	I	Isolé	Base du crâne (selle turcique, postérieur)
<i>SMARCB1</i>	22q11	SWI/SNF	Délétions Variants perte de fonction	5%	Atypique	I < II	<i>NF2</i>	Faux du cerveau (antérieur)
<i>PIK3CA</i>	3q26	PI3K/AKT/mTOR	Multiples hotspots (gain de fonction)	4.5%	Méningothélial Transitionnel	I >> II	<i>TRAF7</i> Isolé	Base du crâne (antérieur et moyen)
<i>SMO</i>	7q32	Voie SHH	c.1234C>T ; p.Leu412Phe c.1604G>T ; p.Trp535Leu	1-5%	Méningothélial	I >> II	Isolé	Base du crâne (antérieur)
<i>PBRM1</i>	3p21	SWI/SNF	Variants perte de fonction Délétions	2-3%	Papillaire Rhabdoïde	I < II / III	<i>BAP1</i>	NA
<i>BAP1</i>	3p21	Multiples	Variants perte de fonction Délétions	< 1%	Rhabdoïde Papillaire	II / III	<i>PBRM1</i>	NA

<i>SMARCE1</i>	17q21	SWI/SNF	Variants perte de fonction	< 1%	Cellules claires	II	Isolé	Convexité Spinale
<i>SUFU</i>	10q24	Voie SHH	Variants perte de fonction	< 1%	NA	II / III	NA	Base du crâne (antérieur et moyen)
<i>PTCH1</i>	9q22	Voie SHH	Variants perte de fonction	< 1%	NA	NA	NA	Base du crâne (antérieur et moyen)
<i>ARID1A</i>	1p36	SWI/SNF	Variants perte de fonction Délétions	< 1%	NA	II / III	<i>NF2</i> Autres	NA
<i>CDKN2A/B</i>	9p21	Cycle cellulaire	Délétions homozygotes	< 5%	Anaplasiques Atypiques	III	<i>NF2</i> NA	NA
<i>pTERT</i>	5p15	/	c.-146C>T (C250T) c.-124C>T (C228T) c.-57A>C <i>LPCAT1::TERT</i> <i>RETREG1::TERT</i>	< 5%	Anaplasiques Atypiques	III	NA	NA
<i>AKT3</i>	1q43	PI3K/AKT/mTOR	c.49G>A ; p.Glu17Lys	< 1%	NA	I	<i>TRAF7</i>	NA
<i>PIK3R1</i>	5q13	PI3K/AKT/mTOR	Multiples hotspots (gain de fonction)	< 1%	NA	I	<i>TRAF7</i>	NA
<i>YAPI</i>	11q22	Voie Hippo	<i>YAPI::MAML2</i> <i>YAPI::FAM118B</i> <i>YAPI::PYGO1</i> <i>YAPI::LMO1</i>	11 cas	NA	NA	NA	NA
<i>PTEN</i>	10q23	PI3K/AKT/mTOR	Variants perte de fonction	NA	NA	II / III	NA	NA

Table 4. Principales anomalies moléculaires rapportées dans les méningiomes, ainsi que les grades OMS, gènes, localisations et sous-types histologiques associés

6. Traitements

6.1 Conduite à tenir

Devant une suspicion de méningiome à l'imagerie, en l'absence de symptômes ou d'effet de masse, une surveillance est recommandée par l'EANO à un rythme d'une IRM annuelle, puis tous les 2 ans au-delà de 5 ans. En cas de méningiome avec effet de masse, symptomatique ou selon le souhait du patient, une thérapeutique peut être entreprise.

La chirurgie est alors l'option de première intention si l'état clinique du patient le permet et si la tumeur est accessible. L'objectif de la chirurgie est d'atteindre une résection la plus complète possible, correspondant à un grade I de la classification de Simpson.

Le cas échéant, la pièce chirurgicale doit parvenir dans un laboratoire d'anatomo-pathologie puis dans un laboratoire de biologie moléculaire afin de permettre une classification pronostique histo-moléculaire.

Pour les méningiomes de faible risque pronostic une simple surveillance est recommandée post-résection. Pour les méningiomes de risque intermédiaire une radiothérapie doit être entreprise en cas de résection incomplète du méningiome. En cas de résection complète, l'indication d'une radiothérapie doit être discutée au cas par cas.

Pour les méningiomes de risque élevé une radiothérapie est recommandée, peu importe le degré de résection, en raison du risque élevé de récurrences. L'inclusion dans des essais cliniques est également recommandée. Certaines thérapeutiques validées par un consensus d'expert peuvent être utilisées (Fig. 44) ¹⁵⁴.

Le suivi d'un méningiome doit être réalisé par IRM. Pour les grade I la fréquence de surveillance recommandée est tous les 12 mois, puis tous les 2 ans après 5 ans. Pour les grade II il doit être réalisé tous les 6 mois, puis tous les 12 mois après 5 ans. Pour les grade III la surveillance dépend de l'évolution clinique mais ne doit pas être supérieure à 3-6 mois ¹⁵⁴.

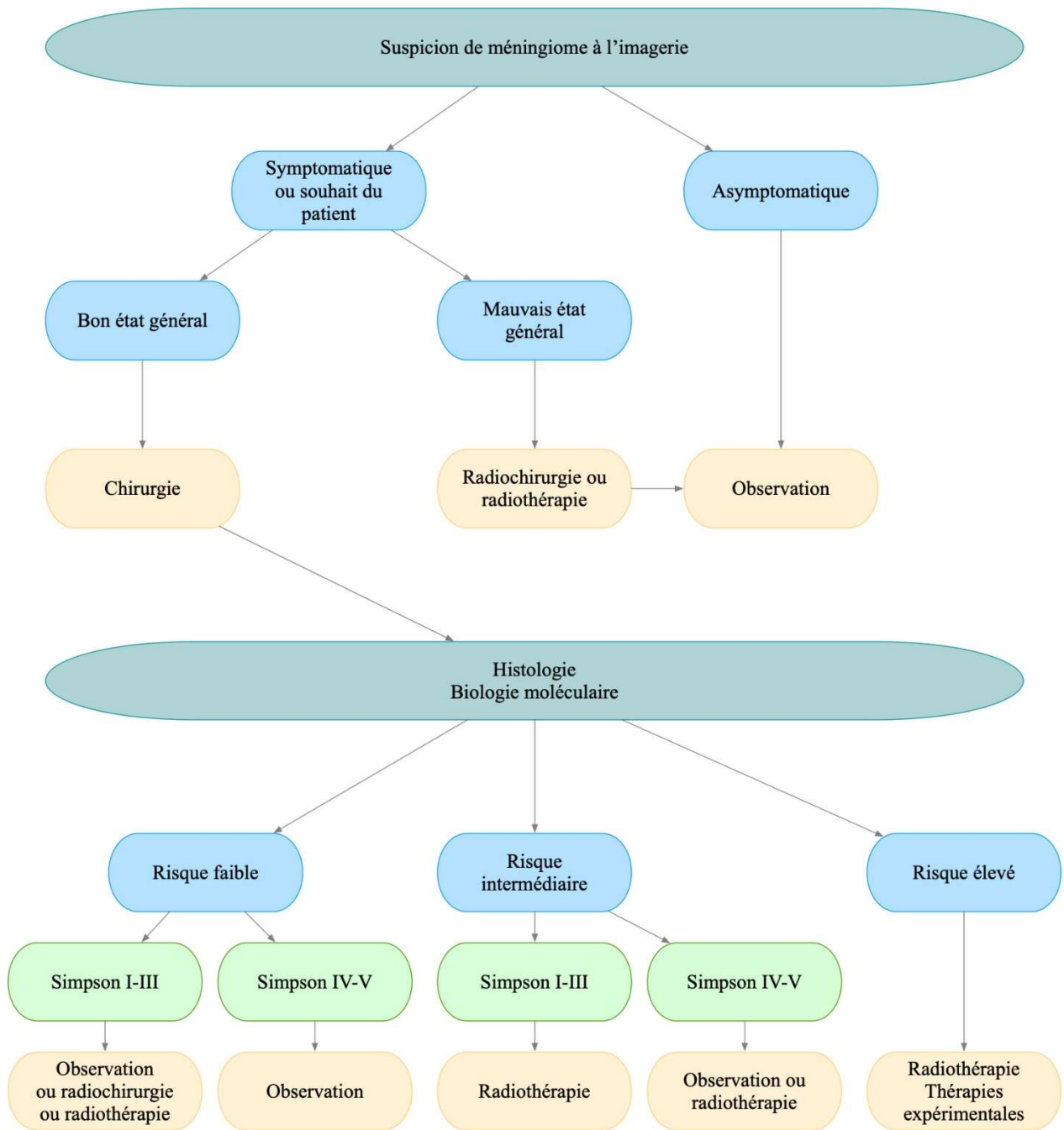


Figure 44. Recommandations de prise en charge des méningiomes adaptée de l'European Association of Neuro-Oncology (EANO) 2021¹⁵⁴

6.2 Chirurgie

La chirurgie reste le traitement de première intention des méningiomes symptomatiques ainsi que de leurs récurrences. La classification de Simpson est utilisée en pratique pour évaluer la résection chirurgicale des méningiomes (Tab. 5). Celle-ci peut également être qualifiée de complète (>95% du volume ou grades Simpson I-III), sub-totale (50-95% du volume), ou partielle (<50% du volume). Une résection complète est associée à un risque de récurrence inférieur aux résections sub-totales ou partielles. Cette option doit donc être choisie quand cela est possible. Cependant, la localisation de certains méningiomes peut rendre une exérèse complète difficile, notamment au niveau de la base du crâne. Il est donc recommandé de réaliser une exérèse la plus complète possible, mais sans compromettre l'avenir fonctionnel du patient. Le chirurgien doit adresser des fragments représentatifs de la tumeur au laboratoire d'anatomopathologie pour analyse histologique et moléculaire afin de confirmer le diagnostic et d'affiner le pronostic ¹⁵⁴⁻¹⁵⁶.

Grade	Définition
I	Exérèse macroscopiquement complète intéressant l'attache durale et éventuellement l'envahissement osseux
II	Exérèse macroscopiquement complète avec coagulation de l'insertion durale
III	Exérèse macroscopiquement complète sans coagulation de l'insertion durale ou sans résection de l'envahissement osseux
IV	Exérèse incomplète
V	Décompression avec ou sans biopsie

Table 5. Classification de Simpson évaluant la résection chirurgicale des méningiomes ¹⁵⁵

6.3 Radiothérapie

La radiothérapie conformationnelle normofractionnée consiste en l'administration localisée et adaptée au volume de la tumeur d'une dose de rayonnements ionisants, fractionnée sur plusieurs séances. Elle est recommandée dans les méningiomes de grade II avec résection incomplète, de grade III, ainsi que dans les récurrences. L'utilisation de la radiothérapie dans les grade II avec résection complète doit être discutée au cas par cas ^{154,156}.

La radiothérapie stéréotaxique ou radiochirurgie consiste en une irradiation très localisée d'un espace déterminé par un système de coordonnées (espace stéréotaxique). Elle peut être utilisée comme alternative à la chirurgie pour les méningiomes de grade I de petite taille (< 3 cm), notamment si la chirurgie n'est pas possible ^{154,156}.

6.4 Traitements systémiques

Il existe aujourd'hui un vrai besoin en traitements systémiques dans les méningiomes récidivants ou non accessibles à un traitement par chirurgie ou radiothérapie. Pour ces méningiomes, et notamment les grade III, l'inclusion dans des essais cliniques est recommandée. Des thérapies comme le bévacizumab, le sunitinib ou encore l'association évérolimus-octréotide peuvent également être proposées.

De nombreux traitements par voie systémique font l'objet d'essais dans les méningiomes. Des molécules comme l'hydroxyurée, la trabectédine, le témozolomide ou encore l'hormonothérapie (mifépristone, tamoxifène) n'ont pas montré d'efficacité significative dans la prise en charge de ces tumeurs ^{154,156}.

D'après une étude de *Kaley et al.*, 2014, les méningiomes récidivants présenteraient une survie sans progression à 6 mois (PFS-6) de 26-29%. L'équipe propose ainsi un seuil d'intérêt de PFS-6 pour les futurs essais cliniques >50% pour les grade I et >35% pour les grade II et III. A noter que l'analyse des données de survie en fonction des grades OMS est aujourd'hui biaisée par les reclassifications des méningiomes par l'OMS d'abord en 2016, puis en 2021 ¹⁵⁷.

Les thérapies ciblées anti-angiogéniques ciblant notamment le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) ont montré un effet prometteur dans des études rétrospectives et dans des essais de phase 2. Le sunitinib a montré une PFS-6 de 42% dans un essai de phase 2 sur 36 patients avec des méningiomes récurrents de grade II et III. Le valatinib a montré une PFS-6 de 64.3% et 37.5% respectivement pour des méningiomes de grade II et III dans un essai de phase 2 sur 25 patients avec des méningiomes récurrents. Le bévacizumab a montré une PFS-6 de 44.4% dans un essai de phase 2 sur 9 patients avec des méningiomes récurrents de grade II et III, ainsi que des résultats similaires sur une cohorte rétrospective de 15 patients avec des méningiomes de grade II et III ^{154,156,158,159}.

L'expression des SSTR dans les méningiomes a guidé l'essai de plusieurs thérapeutiques comme l'octréotide, un analogue de la somatostatine ayant une plus grande affinité pour l'inhibition de la sécrétion d'hormone de croissance (GH) que cette dernière. Le ¹⁷⁷Lu-DOTATOC est un radioligand d'octréotide couplé avec du Lutétium 177 ayant l'AMM dans le traitement des tumeurs neuroendocrines digestives et ayant également fait l'objet d'essais dans les méningiomes ¹⁵⁸.

Comme nous l'avons vu précédemment, l'activation de la voie mTOR est un phénomène récurrent dans les méningiomes. Ainsi, un essai de phase 2 associant l'octréotide à l'évérolimus (inhibiteur de mTOR) a montré une PFS-6 de 55% parmi 20 patients présentant des méningiomes récurrents de grade I à III. Un essai de phase 2 évaluant le vistusertib (inhibiteur de mTOR) dans des méningiomes de grade II et III est également en cours ¹⁶⁰. Ce dernier a montré une PFS-6 de 88.9% chez des patients atteints de neurofibromatose de type 2 présentant des méningiomes symptomatiques ou progressifs ¹⁶¹.

L'expression de programmed death-ligand 1 (PD-L1) a été mise en évidence dans les méningiomes. Ce marqueur est corrélé à des méningiomes de haut grade et à de moins bonnes survie globale et survie sans récurrence. Le pembrolizumab, un anti-PD1, a ainsi fait l'objet d'un essai de phase 2 sur 25 patients présentant des méningiomes récidivants de grade II et III, pour lequel une PFS-6 de 48% a été atteinte. Plusieurs essais sont en cours concernant les inhibiteurs de checkpoint dans les méningiomes, pour valider ces résultats avec le pembrolizumab, mais également pour essayer le nivolumab (anti-PD1) et l'ipilimumab (anti-CTLA-4) ^{158,162-165}. Des études sont aujourd'hui nécessaires afin d'identifier des biomarqueurs conditionnant une réponse à ces traitements immunomodulateurs dans les méningiomes. L'expression de PD-L1, le statut d'instabilité microsatellitaire (MSI) ou encore la charge mutationnelle tumorale (TMB) sont décrits dans d'autres cancers et font de bons candidats.

Comme détaillé précédemment, plusieurs altérations moléculaires sont décrites dans les méningiomes. Cependant, les voies impliquées sont aujourd'hui peu ou pas actionnables. Ainsi, des essais sont en cours afin de pouvoir adapter la thérapeutique au patient et à sa tumeur. *NF2* étant le principal gène impliqué dans les méningiomes, plusieurs thérapies ont été développées afin de cibler ces altérations. Il existerait une intrication entre la focal adhesion kinase (FAK) et les rôles de Merlin dans les mécanismes d'inhibition de contact et d'adhésion cellulaire. Ainsi, un inhibiteur de FAK (GSK2256098) a été étudié dans un essai de phase 2 montrant une PFS-6 de 83% pour 12 méningiomes de grade I et de 33% pour 24 méningiomes

de grade II et III ¹⁶⁶. Un autre essai de phase 2 est en cours pour cette molécule (NCT02523014). L'inhibition de la liaison YAP/TAZ-TEADs est également une cible évaluée actuellement dans trois essais de phase 1 sur des tumeurs *NF2* mutées (NCT04665206, NCT05228015, NCT04857372).

Le capivasertib (inhibiteur d'AKT1) a montré une efficacité sur des xénogreffes *AKT1*^{E17K} et a été utilisé dans le traitement d'une patiente avec un méningiome métastatique ^{167,168}.

Le vismodegib et le sonidegib sont des inhibiteurs de SMO. Le sonidegib a montré une efficacité sur la diminution de la prolifération cellulaire dans une étude pré-clinique ¹²⁵.

L'alpelisib est un inhibiteur de PI3K. Son utilisation en association avec le tramétinib (inhibiteur de MEK) a montré une efficacité dans une étude pré-clinique. Le rationnel de cette association repose sur l'inhibition de la voie mTOR par l'alpelisib et sur l'inhibition conjointe de la voie des MAP-kinases par le tramétinib. Un essai de phase 1 associant ces deux molécules est en cours (NCT03631953) ¹⁶⁹.

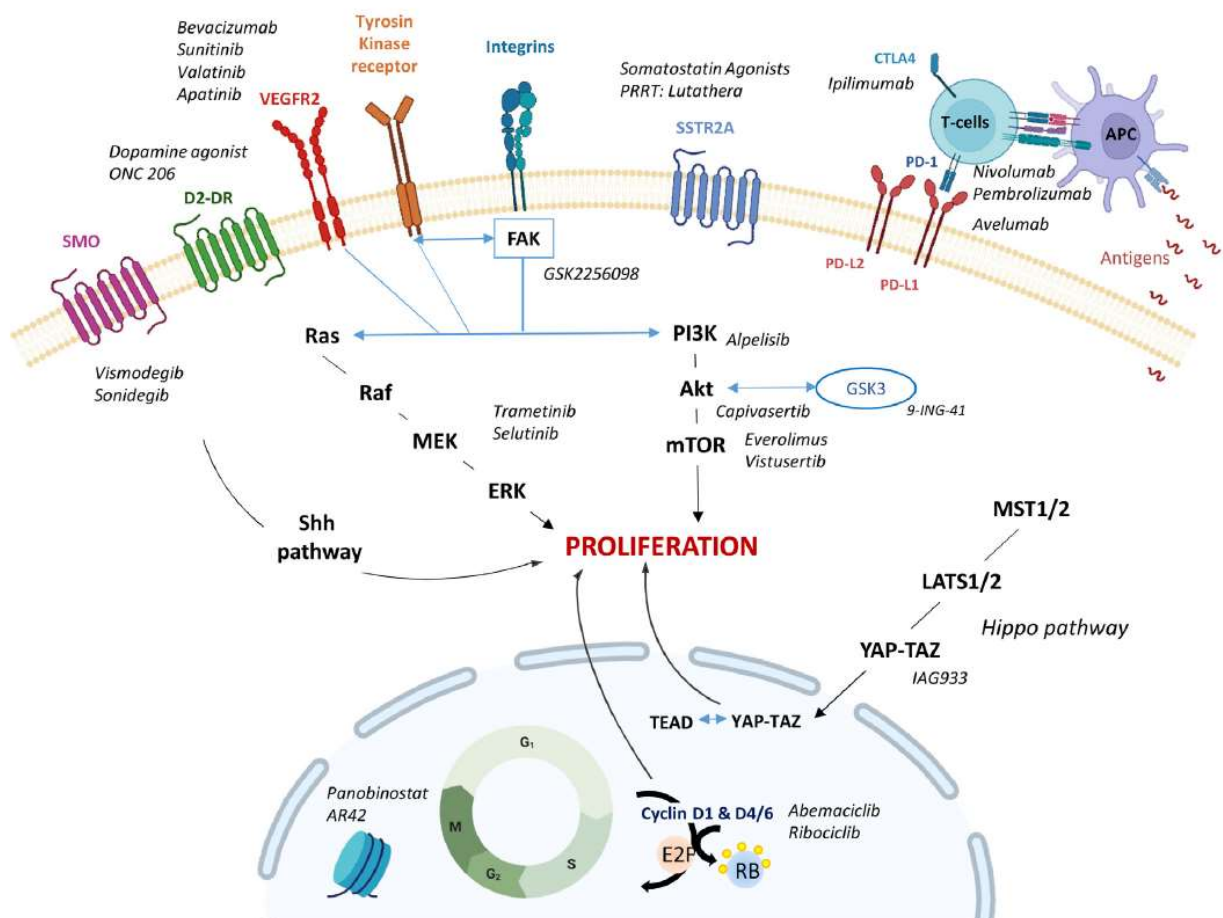


Figure 45. Potentielles cibles thérapeutiques dans les méningiomes ¹⁷⁰

L'abemaciclib est un inhibiteur de CDK4/6. *Choudhury et al., 2022* ont proposé dans leur étude l'utilisation de cet inhibiteur du cycle cellulaire dans les méningiomes agressifs, classés « hypermitotiques » d'après leurs données de méthylome. Ils y montrent une efficacité de l'abemaciclib sur des lignées cellulaires (BenMen, CH157MN et Iomm-Lee), sur un organoïde composé de cellules BenMen, ainsi que sur une xénogreffe de CH-157MN. Ils ont également utilisé ce traitement de manière compassionnelle chez trois patients, montrant une diminution du volume de la tumeur sous traitement ou bien une absence de récurrence à 4 mois post-résection¹⁴⁴. Ce traitement est évalué dans plusieurs essais cliniques de phase 2.

A noter qu'un essai de phase 2 d'intérêt pour ces thérapies ciblées dans les méningiomes est en cours. L'essai NCT02523014 présente quatre bras : un bras vismodegib pour les méningiomes *SMO* ou *PTCH1* mutés, un bras GSK2256098 pour les méningiomes *NF2* mutés, un bras capivasertib pour les méningiomes mutés *AKT1*, *PIK3CA* ou *PTEN* et un bras abemaciclib pour les méningiomes avec des altérations de la voie CDK ou de *NF2*.

De nombreux gènes impliqués dans la régulation épigénétique sont décrits comme impliqués dans les méningiomes. Par exemple le complexe SWI/SNF avec *SMARCB1*, *SMARCE1*, *ARID1A*, *PBRM1*, ou encore le gène *BAP1*, ou bien les gènes *KDM5C* et *KDM6A*. Ainsi, des thérapies ciblant la méthylation des histones ont fait l'objet d'essais¹⁵⁸. Les histones désacétylases panobitostat et AR-42 font actuellement l'objet d'essais de phase 1 et 2 respectivement (NCT01324635, NCT02282917, NCT05130866). A noter que les inhibiteurs d'EZH2 pourraient également être une option thérapeutique à étudier dans les méningiomes avec altération *BAP1*¹²⁰.

III. Épigénétique

L'épigénétique désigne l'ensemble des mécanismes permettant de moduler l'expression génique sans altération des séquences d'ADN. Ces mécanismes sont essentiels dans le développement embryonnaire, la différenciation cellulaire et le maintien de l'expression génique spécifique aux différents sous-types cellulaires. Les modifications d'histones, la méthylation de l'ADN, les petits ARN non-codants ainsi que le remodelage de la chromatine par certains systèmes sont les principaux marqueurs épigénétiques. Ces modifications sont fréquemment impliquées dans la cancérogenèse et sont la cible de plusieurs thérapeutiques.

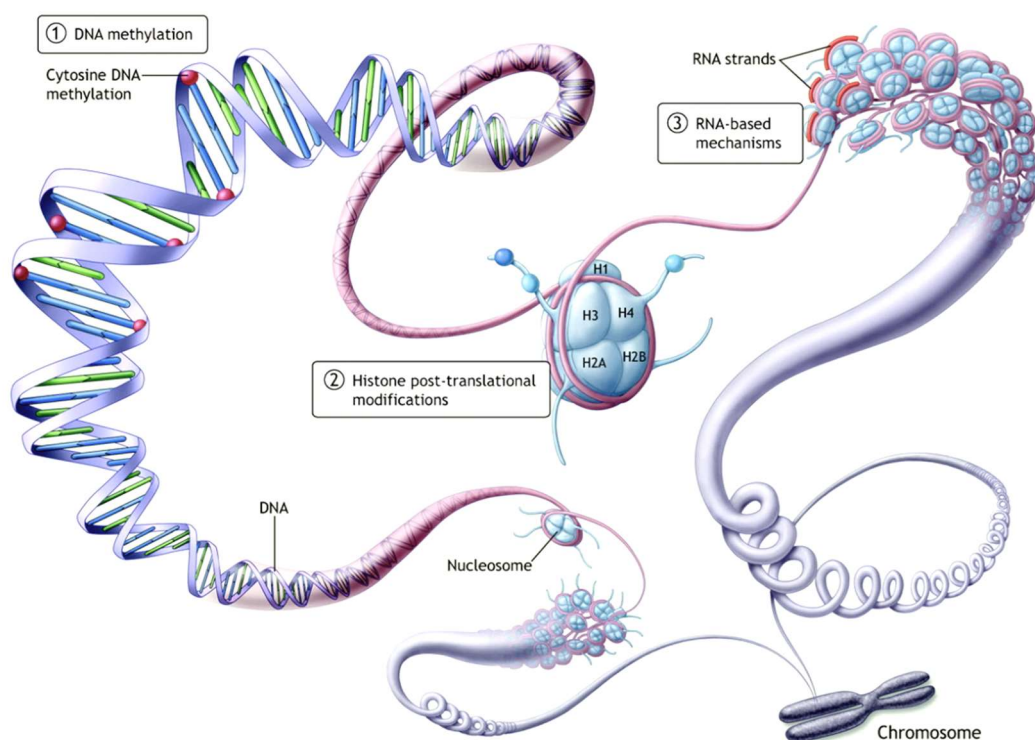


Figure 46. Compaction de la chromatine et marqueurs épigénétiques¹⁷¹

1. **Modification des histones**

Pour rappel, l'ADN est compacté sous forme de chromatine dans le noyau. Cette chromatine est une structure dynamique dont l'élément fondamental est le nucléosome. La chromatine décondensée ou euchromatine rend les gènes accessibles à la transcription. Au contraire, la chromatine compactée ou hétérochromatine réprime l'accès aux gènes.

Le nucléosome est constitué d'un octamère de protéines appelées histones (H3, H4, H2A, H2B, chacune en double) enroulé par un brin d'ADN de 147 paires de bases (Fig. 46). Ces histones présentent une chaîne latérale, ou queue histone, riche en lysines et arginines qui sont le siège de fréquentes modifications covalentes post-traductionnelles. Ces modifications peuvent altérer l'équilibre entre l'ADN chargé négativement et les histones chargées positivement, aboutissant à un remodelage de la chromatine. De nombreuses molécules se lient également aux histones afin d'agir sur l'ADN ou sur la structure de la chromatine. L'histone H1, quant à elle, permet le rapprochement des nucléosomes entre eux.

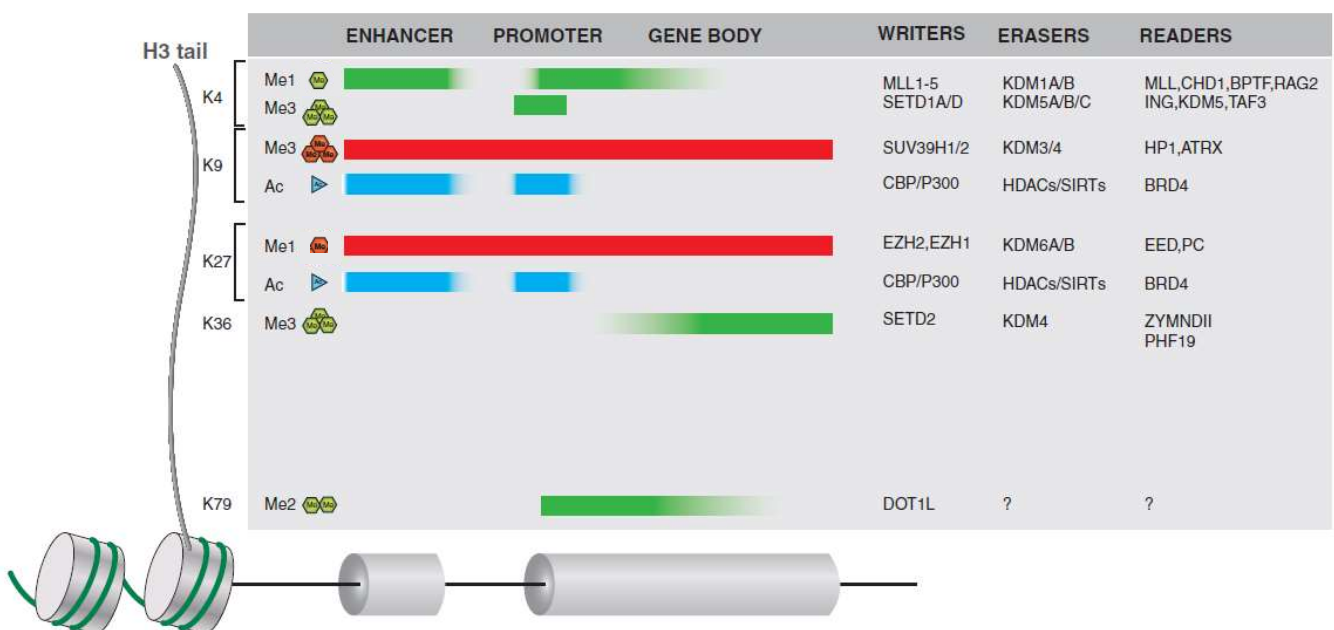


Figure 47. Vue d'ensemble de la régulation de la transcription par les modifications post-traductionnelles des histones (bleu = acétylation, rouge = répression, vert = expression) ¹⁷²

Les principales modifications post-traductionnelles connues des histones sont l'acétylation, la méthylation, la phosphorylation et l'ubiquitinylation. Cependant d'autres modifications comme la citrullination, l'ADP-ribosylation, la désamination, la formylation, l'O-Glc-N-Acylation, la propionylation, la butyrylation, la crotonylation et la proline isomérisation sont également décrites. L'ensemble de ces modifications forme un code histone permettant la régulation de l'état chromatinien ¹⁷²⁻¹⁷⁴.

1.1 Acétylation des histones

L'addition d'un groupement acétyle peut se faire sur les lysines des queues histone (Fig. 47 et 48) et permet, en neutralisant la charge positive de la lysine, de diminuer les contacts avec l'ADN chargé négativement. Ainsi, l'acétylation permet la décompaction de la chromatine et est donc associée à une transcription active. On retrouve cette marque épigénétique principalement au niveau des enhanceurs et promoteurs des gènes¹⁷²⁻¹⁷⁴.

L'acétylation se fait par l'intermédiaire des histones acétyltransférases (HAT), divisées en trois familles : Gcn5-related N-acetyltransferase (GNAT), MYST (MOZ, Ybf2, Sas2, TIP60), et la famille CBP/EP300. A l'opposé, les histones désacétylases (HDAC), réparties en quatre familles (I, II, III, IV) permettent de désacétyler les histones. Les HAT et HDAC sont à la fois considérées comme des oncogènes et des suppresseurs de tumeurs : une hypoacétylation résulterait en une répression de gènes suppresseurs de tumeurs, et au contraire, une hyperacétylation du génome en une surexpression d'oncogènes. Ainsi, l'équilibre d'acétylation du génome est critique et joue un rôle dans la cancérogenèse¹⁷²⁻¹⁷⁴.

Au-delà de son impact direct sur la conformation de la chromatine, cette acétylation des queues histones peut être reconnue par diverses protéines via un domaine structural nommé bromodomaine. La famille de protéines bromodomain and extraterminal domain (BET) composée des protéines BRD2, BRD3, BRD4 et BRDT est capable de reconnaître les acétylations d'histone, puis de recruter des facteurs de transcriptions ainsi que l'ARN polymérase II afin de favoriser la transcription. Des modificateurs d'histones comme la p300 ou la lysine N-méthyltransférase 2A (KMT2A, anciennement MLL1) présentent également un bromodomaine¹⁷²⁻¹⁷⁴.

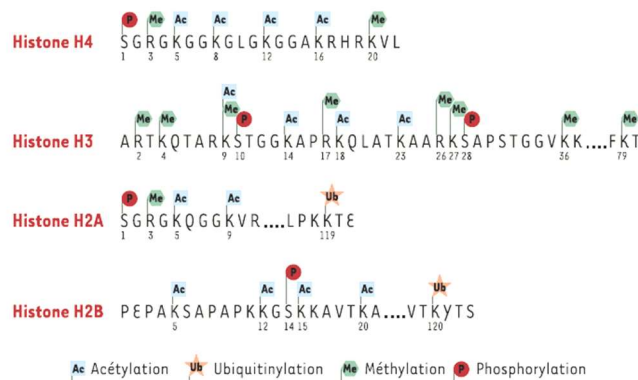


Figure 48. Résidus d'acides aminés des histones sujets à des modifications post-traductionnelles¹⁷³

1.2 Méthylation des histones

La méthylation des histones sur les lysines et arginines par addition d'1 à 3 groupements méthyles est une modification plus complexe que l'acétylation. Des histones méthyltransférases (HMT) transfèrent les groupements méthyles à partir de S-adenosyl methionine (SAM) sur les queues histone. Cependant, la complexité vient de la spécificité des protéines HMT pour un acide-aminé et sa position, ainsi que pour le degré de méthylation (Fig. 49). Il en est de même pour les lysines demethylases (KDM), dont la plus connue est la lysine specific demethylase 1 (LSD1 = KDM1A) déméthylant spécifiquement les résidus H3K4 et H3K9 ¹⁷²⁻¹⁷⁴.

Généralement, les méthylations H3K4, H3K36 et H3K79 sont associées à des régions de transcription active, contrairement aux méthylations H3K9, H3K27 et H4K20. A noter que ces marques histone ne sont pas exclusives et coexistent au sein de l'ADN ¹⁷²⁻¹⁷⁴.

H3K4

La marque H3K4me1 est principalement retrouvée au niveau des enhancers actifs, associée à H3K27ac (en opposition à la marque H3K27me3, répressive et mutuellement exclusive). La marque H3K4me3 est principalement retrouvée au niveau du promoteur de gènes actifs. Parmi les HMT spécifiques on retrouve notamment les protéines MLL ainsi que SETD1A/B ¹⁷²⁻¹⁷⁴.

H3K9

La marque H3K9 contribue à la répression de la transcription et à la formation de l'hétérochromatine. Les protéines SETDB1 et SUVH39H1/2 sont les acteurs clés de sa méthylation ¹⁷²⁻¹⁷⁴.

H3K27

Tout comme la marque H3K9me3, l'H3K27me3 est associée à la répression génique. La marque H3K27me3 est ainsi retrouvée au niveau d'enhancers et de promoteurs de gènes réprimés. A noter que les marques H3K27me2 et H3K27me1 peuvent être associées à des gènes actifs. Le complexe Polycomb (PRC2), notamment via EZH2, permet la méthylation préférentielle de l'H3K27 ¹⁷²⁻¹⁷⁴.

H3K36

La marque H3K36me3 est associée au corps de gènes activement transcrits, avec une présence croissante de 5' en 3'. L'H3K36me2 est également retrouvée dans le corps des gènes mais est surtout retrouvée dans les régions intergéniques. Elles permettent notamment le recrutement des DNMT et l'inhibition du PRC2¹⁷²⁻¹⁷⁴.

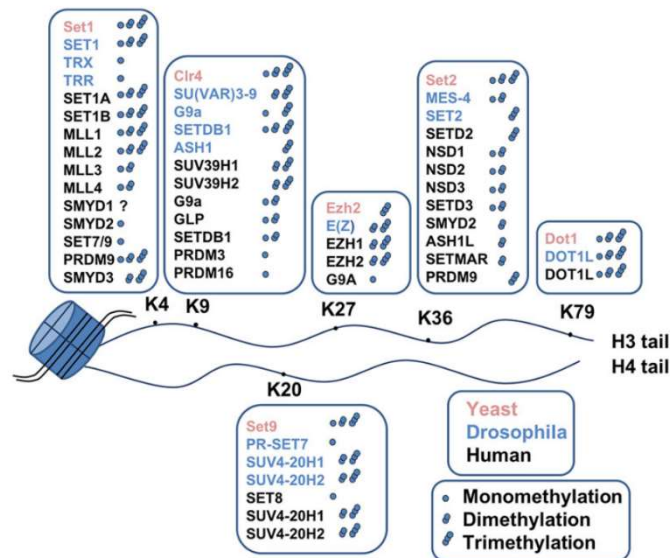


Figure 49. Histone méthyltransférases (HMT) selon leur lysine cible¹⁷⁴

2. Méthylation de l'ADN

La méthylation de l'ADN consiste principalement en l'addition d'un groupement méthyle (-CH₃) sur le carbone 5 d'une cytosine, aboutissant à une 5-méthyl-cytosine (5mC). Ces 5mC représentent environ 1% de l'ensemble des acides nucléiques du génome humain. La majorité de cette méthylation survient sur des cytosines suivies d'une guanine, que l'on nomme dinucléotides CpG. Ces sites CpG sont répartis à travers le génome mais peuvent également être concentrés en îlots CpG, qui sont des régions conservées de l'ADN de plus de 200 paires de bases, enrichies en CpG^{175,176}.

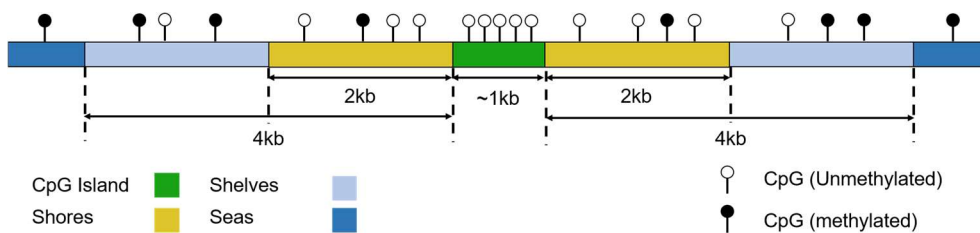


Figure 50. Représentation d'un îlot CpG et des régions dites Shore, Shelf et Open sea¹⁷⁷

La majorité des dinucléotides CpG répartis à travers le génome sont hyperméthylés (>70%). Cette méthylation servirait principalement à réprimer les éléments transposables représentant 45% du génome humain. On désigne ces zones éparses de CpG « open sea ».

Environ 70% des gènes, et notamment les gènes de ménage, présentent un îlot CpG au niveau de leur promoteur. Ces îlots CpG sont majoritairement non méthylés. La méthylation de ces îlots permet le silencing du gène par divers mécanismes. Cependant, leur profil de méthylation ne semble pas tissu-spécifique. En revanche, les régions dénommées « shore », réparties sur 2 kb de chaque côté des îlots, ont un profil de méthylation tissu-spécifique et leur hyperméthylation est également corrélée avec une réduction de l'expression du gène concerné. A noter que les régions situées entre 2 kb et 4 kb d'un îlot sont dénommées « shelf » (Fig. 50). Des zones dénommées canyons ou vallées de méthylation de l'ADN (DMV) sont également rapportées. Ces sont de larges étendues pouvant couvrir plusieurs îlots CpG et non méthylées. Elles sont généralement conservées à travers les espèces, dans les tissus, et elles comprendraient des gènes impliqués dans le développement ^{175,176}.

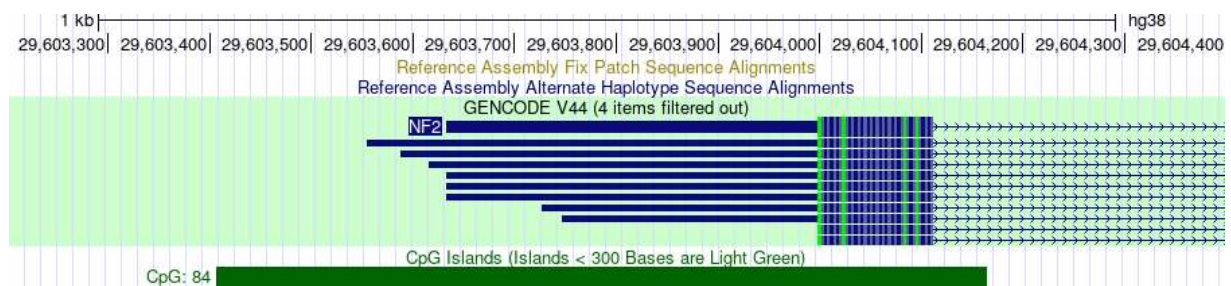


Figure 51. Îlot CpG de *NF2* représenté à cheval sur le promoteur, l'exon 1 et l'intron 1 du gène d'après UCSC Genome Browser

La méthylation des sites CpG dans le corps du gène désigne les CpG situés après le premier exon. En effet, l'îlot CpG couvre généralement le site d'initiation de la transcription comme le promoteur, et une hyperméthylation de sites CpG dans l'exon 1 du gène peut entraîner sa répression. Cependant, les CpG situés dans le corps du gène sont fréquemment méthylés, bien que le promoteur ne le soit pas. Cette méthylation serait présente dans les gènes normalement exprimés, en raison de l'accessibilité de l'ADN décompacté aux ADN-méthyltransférases. En revanche, les gènes fortement exprimés ou non exprimés présenteraient une faible méthylation du corps du gène ¹⁷⁸.

2.1 Création de la méthylation

Trois enzymes de la famille des ADN-méthyltransférases (DNMT) catalysent l'addition des groupements méthyles sur les cytosines de l'ADN : DNMT1, DNMT3A, DNMT3B. Elles assurent deux types de méthylation, *de novo* ou bien de maintien.

Les enzymes DNMT3A et DNMT3B sont capables d'effectuer une méthylation *de novo* d'un brin nu d'ADN. La différence entre les deux réside dans leur expression, la première étant relativement ubiquitaire et la seconde faiblement exprimée par les tissus différenciés, excepté la thyroïde, les testicules et la moelle osseuse.

L'enzyme DNMT1 méthyle préférentiellement les brins d'ADN hémi-méthylés et est donc capable de réaliser une méthylation dite de maintenance. Elle se localise dans la fourche de réplication lors de la réplication de l'ADN et méthyle le brin nouvellement synthétisé pour reproduire la méthylation du brin complémentaire.

Un quatrième membre de cette famille existe, DNMT3L, il ne présente cependant pas de site catalytique et n'est exprimé que pendant le développement ou bien dans le thymus et les cellules germinales chez l'adulte. Son rôle est de stimuler l'activité méthyltransférase de DNMT3A/B en s'y associant ^{175,176}.

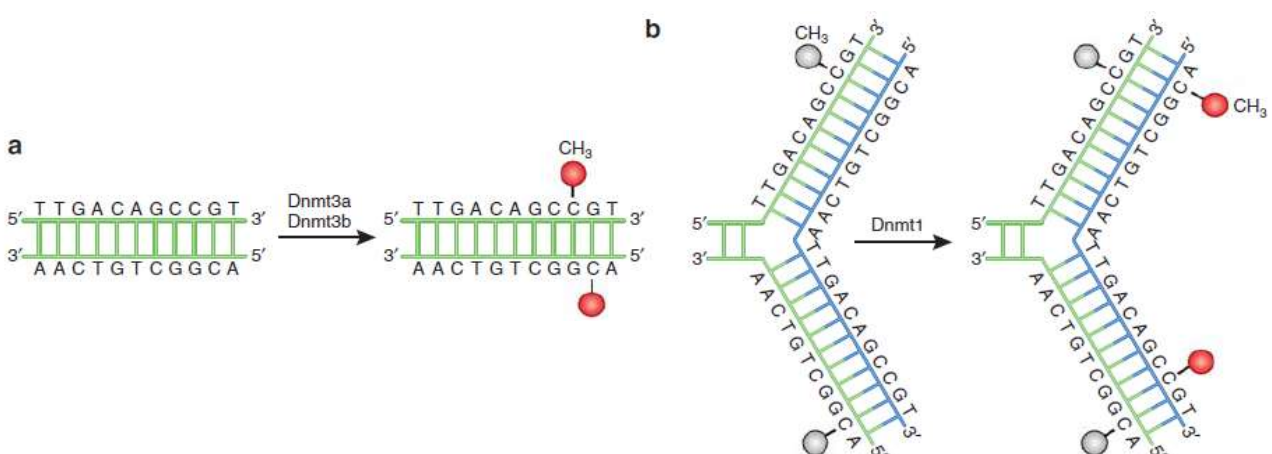


Figure 52. Rôle des DNMT dans la méthylation de l'ADN A. *de novo* B. de maintien ¹⁷⁵

2.2 Suppression de la méthylation

La déméthylation est dite passive quand elle est secondaire à une « dilution » de la méthylation, secondaire à la réplication cellulaire et à un défaut de méthylation de maintien (défaut de DNMT1 par exemple). Les brins néo-synthétisés ne sont pas méthylés sur la base du brin d'origine, aboutissant à une perte de la méthylation globale.

La déméthylation active est le résultat de réactions enzymatiques médiées notamment par les enzymes Ten-eleven translocation (TET) comme TET1, TET2 et TET3. Ces enzymes transforment la 5mC en 5-hydroxy-methyl-cytosine (5hmC), pour aboutir *in fine* à une reconnaissance de cette base modifiée par le système de réparation par excision des paires de bases (BER). La base modifiée est alors excisée par la Thymine DNA glycosylase (TDG) puis remplacée par une cytosine nue.

A noter que, bien qu'elle soit une forme transitoire de l'ADN, la 5hmC est retrouvée notamment dans le cerveau, à des niveaux significatifs, et pourrait avoir un rôle sur la régulation de l'expression génique^{175,176,179}.

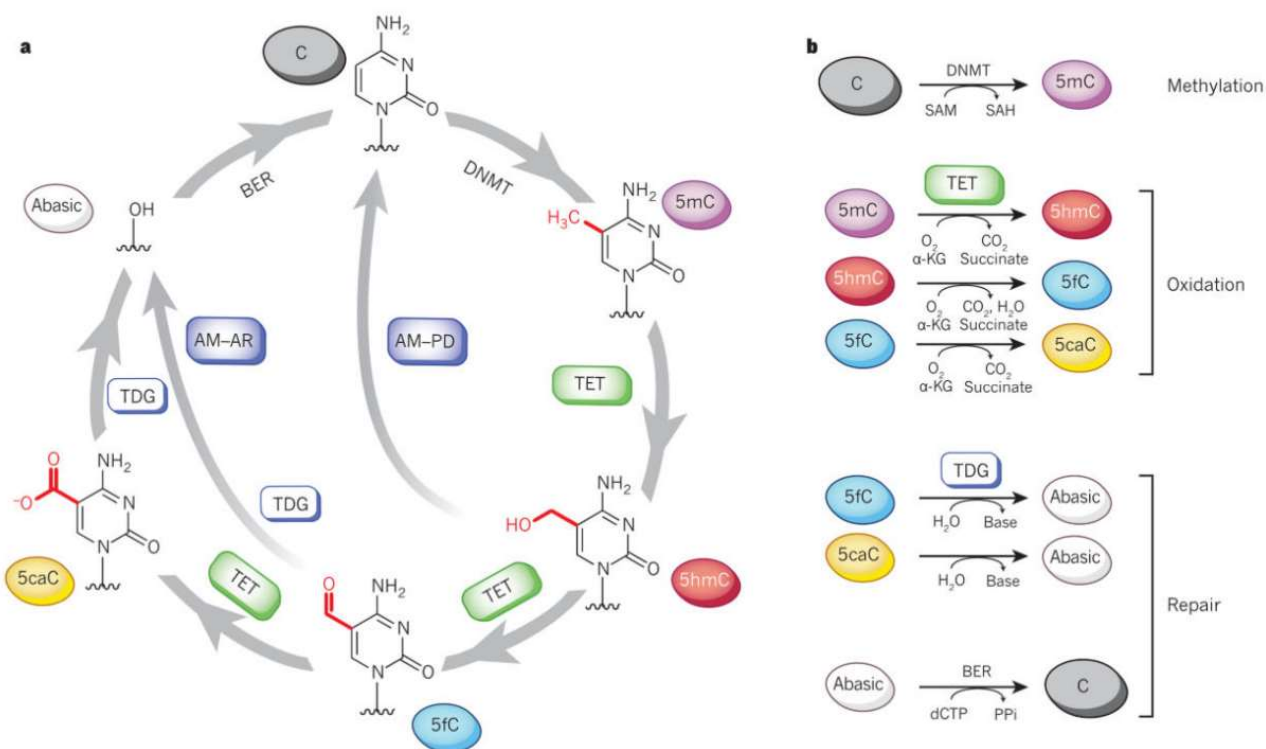


Figure 53. Modifications dynamiques d'une cytosine d'après Kohli *et al.*, *Nature* 2013

2.3 Régulation de l'expression génique au niveau des îlots CpG

Le premier rôle de la méthylation des îlots CpG semble être vis-à-vis des facteurs de transcription (FT). En effet, ces îlots sont des régions conservées, généralement non méthylées, riches en GC et moins riches en nucléosomes (donc une chromatine potentiellement moins compactée). L'ensemble de ces facteurs rendent l'environnement parfait pour la fixation de facteurs de transcription au promoteur, ces derniers étant souvent riches en GC et nécessitant de pouvoir accéder à la séquence pour s'y lier. La méthylation de ces îlots inhibe donc la fixation de ces FT du fait d'un encombrement stérique et de la compaction de la chromatine, entraînant ainsi la répression du gène.

Cependant, le rôle des FT n'est pas si simple. Des mutations des sites de fixation aux FT ont montré qu'en l'absence de fixation de ces derniers, le promoteur du gène était méthylé. Ainsi, les FT pourraient avoir un effet protecteur sur la méthylation des îlots CpG. Enfin, certains FT semblent pouvoir recruter DNMT3A/B au niveau du promoteur pour aboutir au contraire à une méthylation *de novo* ^{175,176}.

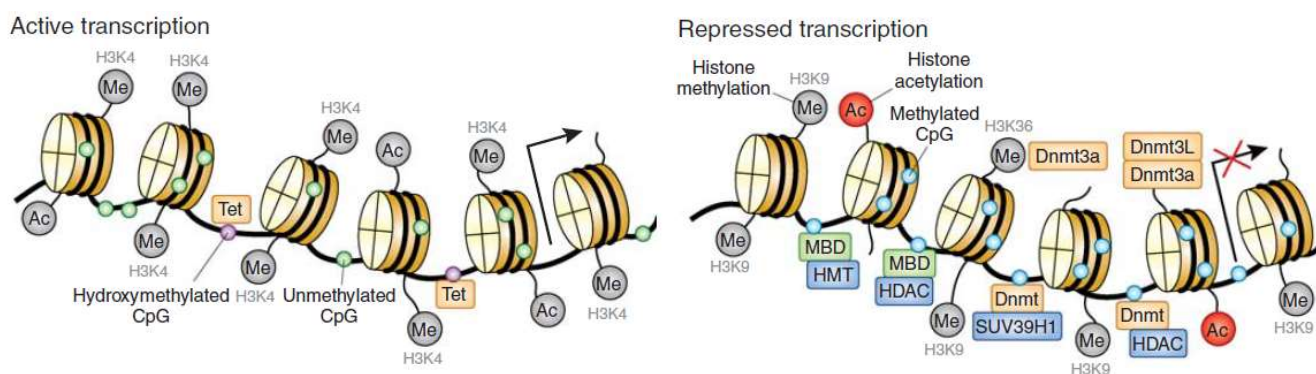


Figure 54. Cross-régulation épigénétique de la transcription ¹⁷⁵

Transcription active : les enzymes TET permettent une déméthylation de l'ADN, les histones peuvent être acétylées ou bien méthylées sur les histones H3K4

Transcription réprimée : les enzymes DNMT permettent le maintien ou la néo-méthylation de l'ADN, les MBD permettent le recrutement des HDAC désacétylant les histones et des HMT méthylant les histones, notamment H3K9

Trois familles de protéines sont connues pour leur activité de reconnaissance et de liaison aux sites méthylés de l'ADN : les protéines methyl-CpG binding domain (MBD), ubiquitin-like containing PHD and RING finger domain (UHRF) et en doigt de zinc.

Les protéines MBD (MeCP2, MBD1, MBD2, MBD3 et MBD4) présentent un domaine de liaison aux méthyles, leur permettant de directement lier l'ADN méthylé, et un domaine de

répression de la transcription permettant de recruter divers complexes répresseurs. Par exemple, MeCP2 recrute DNMT1 pour maintenir la méthylation, mais aussi les histones désacétylases (HDAC) et les histones méthylases (HMT), permettant la compaction de la chromatine en supprimant les acétylations d'histone et en favorisant leur méthylation, notamment sur les histones H3K9 (Fig. 54). Ces protéines permettent également d'inhiber la fixation de FT. A noter que les MBD sont plus exprimées dans le cerveau que dans les autres tissus.

Les protéines UHRF1 et UHRF2, quant à elles, lient l'ADN méthylé mais n'ont pas fonction de répresseurs de la transcription. Leur rôle est de lier l'ADN hémiméthylé et de recruter DNMT1 pour maintenir la méthylation (Fig. 55, haut à gauche).

Enfin, la dernière famille est composée des protéines Kaiso, ZBTB4 et ZBTB38 présentant un domaine en doigt de zinc leur permettant de lier l'ADN méthylé et ainsi de réprimer la transcription ^{175,176}.

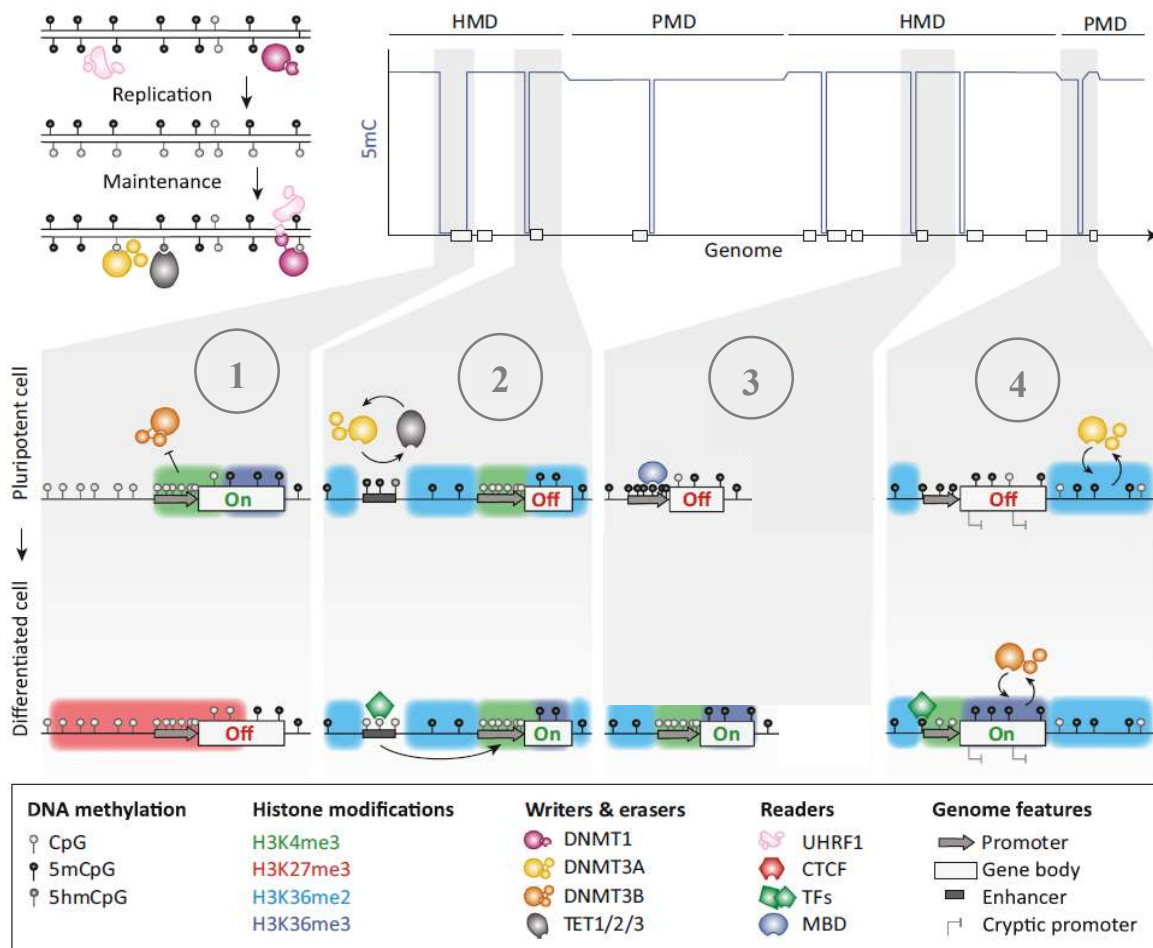


Figure 55. Régulation épigénétique de la transcription : différents cas de figure ¹⁷⁶

- (1) **DMV** : ADN non méthylé indépendamment de l'expression du gène. La triméthylation de l'histone H3K27 marque la répression du gène.
(2) **Enhancer** : la méthylation / déméthylation d'un enhancer peut être un mécanisme de régulation de l'expression génique.
(3) **Îlots CpG** : la méthylation / déméthylation d'un îlot CpG peut être un mécanisme de régulation de l'expression génique.
(4) Méthylation H3K36me2 dans les régions intergéniques et H3K36me3 dans le corps des gènes recrutent les DNMT.

En somme, la régulation de la méthylation de l'ADN est étroitement liée à celle des autres acteurs épigénétiques. En effet, les DNMT sont capables de se lier aux queues d'histones et de recruter des HMT ou HDAC afin de modifier ces dernières (Fig. 54). A l'inverse, la triméthylation des histones H3K4 inhibe la liaison des DNMT à ces dernières. De même, environ 10% des microARN peuvent être régulés par un promoteur compris dans un îlot CpG, et à l'inverse, certains microARN régulent négativement des acteurs de la méthylation de l'ADN comme les DNMT. L'environnement épigénétique est complexe et multifactoriel.

Cette régulation épigénétique est fondamentalement liée à l'oncogenèse. Il est décrit que le génome est globalement hypométhylé dans le cancer. Cette hypométhylation permettrait la transcription d'éléments transposables et contribuerait donc à l'instabilité génomique, mais également l'expression d'oncogènes jusque-là réprimés. A l'opposé, une hyperméthylation localisée aux îlots CpG couvrant le promoteur de certains gènes suppresseurs de tumeurs est également décrite. Ce mécanisme entraînerait le silencing du gène en question, comme par exemple l'hyperméthylation du promoteur de MLH1 dans le cancer colorectal responsable d'une déficience du système mismatch repair (MMR) ^{175,176}.

3. Micro-ARNs

Environ 75% du génome humain est transcrit en ARN quand seulement 3% est transcrit en ARN messager (ARNm) codant pour des protéines. Les ARN non-codants (ARNnc) représentent donc la majorité du transcriptome humain. Ils sont composés par exemple des bien connus ARN ribosomiaux (ARNr) et ARN de transfert (ARNt) intervenant dans la traduction en protéine des ARN messagers. Cependant, des nombreux autres ARNnc ont été décrits au cours des années, différant par leur taille et leurs fonctions dans la cellule. On différencie ainsi classiquement ces ARNnc en petits ARN non-codants (ARNsnc) composés de moins de 200 nucléotides, en longs ARN non codants (ARNlnc) composés de plus de 200 nucléotides et en ARN circulaires (ARNcirc) ¹⁸⁰.

Parmi les ARNsnc on retrouve les ARN interagissant avec PIWI (ARNpi), dont le principal rôle est la répression des éléments transposables de l'ADN, les petits ARN nucléaires (ARNsn), dont font partie les unités U1 à U6 du spliceosome, les petits ARN nucléolaires (ARNsno), impliqués dans la maturation des ARN ribosomiaux au niveau des nucléoles, et enfin les petits ARN interférents (siARN) et les microARN (miARN), tous deux impliqués dans la régulation

de l'expression génique. Le rôle des ARN interférents comme les siARN et miARN en font donc des sujets d'études en oncologie, ainsi que de nouvelles perspectives thérapeutiques^{180,181}.

Les micro-ARN sont donc de petits ARN non-codants d'environ 22 nucléotides régulant négativement l'expression génique au niveau de l'ARN messager. Il est estimé que les miARN régulent l'expression de près d'un tiers des gènes codant pour des protéines.

Les séquences de ces miARN sont retrouvées dans les régions intergéniques, seules ou regroupées en cluster de miARN, mais également dans les introns d'ARN pré-messagers. Ces derniers étant nommés mirtrons. Ainsi, les miARN peuvent être régulés par leur propre promoteur, par un promoteur commun à plusieurs miARN, ou bien par le promoteur d'un gène « hôte » avec lequel ils sont co-transcrits, selon la localisation de leur séquence¹⁸⁰⁻¹⁸².

3.1 Biogenèse des micro-ARN

La plupart des miARN sont transcrits par l'ARN polymérase II en miARN primaires (pri-miARN), comprenant une ou plusieurs structures en tige-boucle. Ces derniers sont ensuite clivés par le complexe microprocesseur, composé de la ribonucléase DROSHA et de son co-facteur DiGeorge syndrome critical region gene 8 (DGCR8), aboutissant à une structure en tige-boucle d'environ 70 nucléotides appelée précurseur miARN (pré-miARN). Les pré-miARN sont alors transportés dans le cytoplasme par l'exportine-5 (XPO5) et la Ras-related nuclear protein (RAN) pour être clivés au niveau de leur boucle terminale par la ribonucléase DICER, aboutissant à un petit ARN double brin (miARNdb). Ce miARNdb présente alors un brin guide et un brin passager dont les extrémités 3' dépassent de 2-3 nucléotides (Fig. 56). A noter que pour certains miARN les deux brins peuvent être « guides » et cibler des ARNm différents¹⁸⁰⁻¹⁸².

Le miARNdb formé par DICER est alors chargé sur une protéine argonaute (AGO) grâce à des protéines chaperonnes. Le brin passager est clivé, aboutissant à un micro-ARN simple brin mature (miARNsb). AGO recrute alors diverses autres protéines permettant la formation du RNA-silencing complex (RISC) centré sur le miARNsb et permettant la reconnaissance de l'ARNm cible. Le miARNsb est alors amené à l'extrémité 3' de son ARNm cible, où il se lie par complémentarité des séquences (Fig. 56). Chez l'Homme la complémentarité entre les bases des miARN et de leurs cibles est fréquemment incomplète. Un miARN peut ainsi avoir de nombreuses cibles.

Ce complexe RISC permet ainsi le silencing d'un gène soit par dégradation de l'ARNm après raccourcissement de la queue poly(A), soit en réprimant sa traduction (Fig. 56) ¹⁸⁰⁻¹⁸².

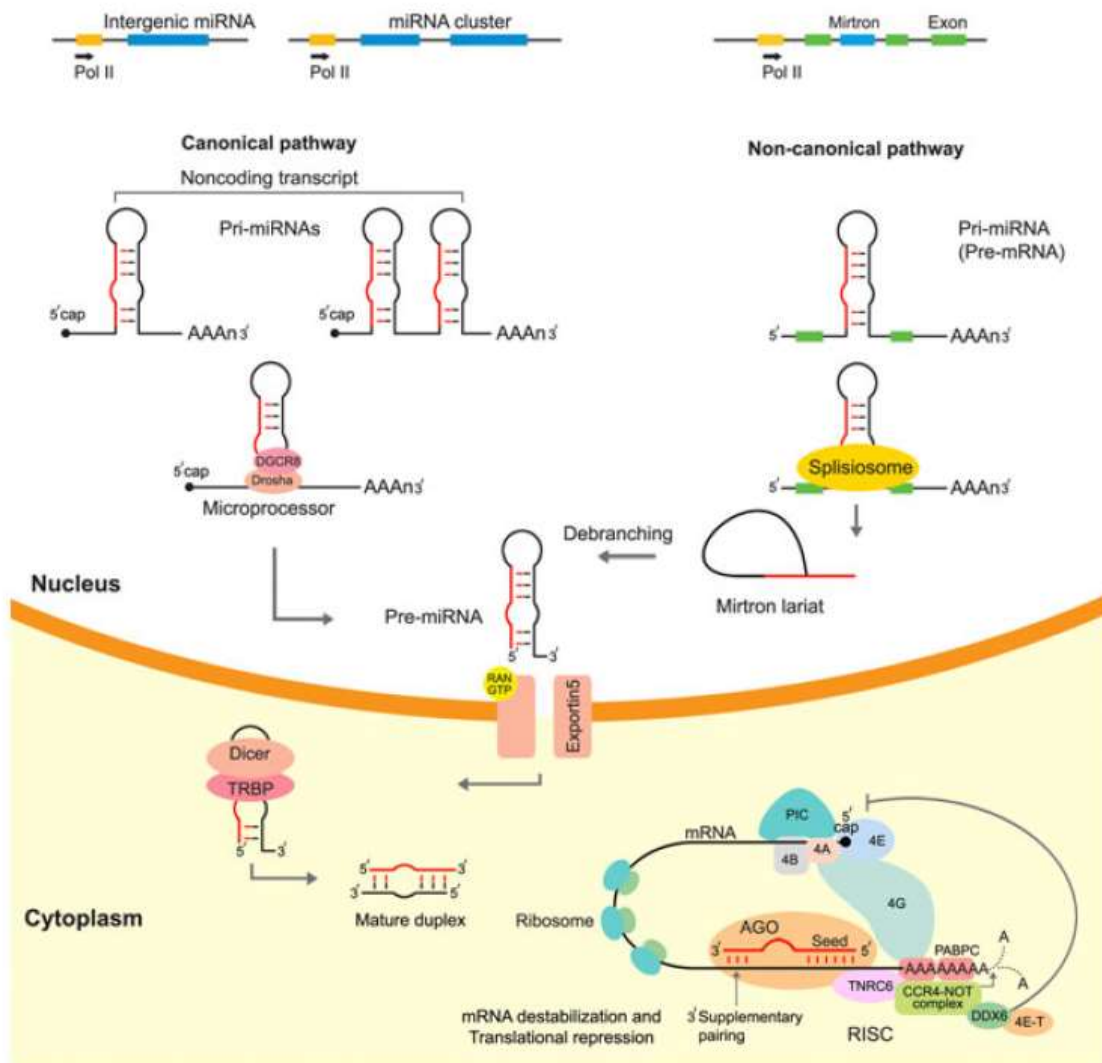


Figure 56. Biogenèse des micro-ARN ¹⁸²

A noter que des voies de biogenèse non-canoniques des miARN existent. Par exemple, les mirtrons suivent une de ces voies, indépendamment de DROSHA.

3.2 Régulation et rôles des micro-ARN

Les miARN reconnaissent une région de 7-8 nucléotides du 3'UTR de l'ARNm cible. Cette région présente une complémentarité, au moins partielle, avec l'unité de reconnaissance du miARN composée des nucléotides 2 à 8. Les nucléotides 13 à 16 du miARN peuvent également contribuer à l'appariement de ces deux ARN.

Un gène de miARN peut aboutir au silencing de nombreux gènes. Comme nous l'avons mentionné, en raison de la complémentarité de séquence imparfaite, un même miARN peut cibler plusieurs ARNm. Un même pri-miARN peut aboutir à plusieurs isoformes (isomiARN) en raison d'un clivage imprécis par DROSHA et/ou DICER, ou bien encore en fonction du brin guide/passager choisi. Tout ceci complexifie encore la régulation génique régie par ces petits ARN non-codants ¹⁸².

Ces miARN sont de véritables acteurs épigénétiques régulant l'expression de certains gènes et impactant notamment la différenciation cellulaire. En effet, le profil d'expression de miARN, tout comme celui des ARNm, est tissu spécifique.

En oncologie ils peuvent jouer un rôle suppresseur de tumeur en réprimant des oncogènes, ou à l'inverse, jouer un rôle d'oncogène en réprimant des gènes suppresseurs de tumeur. Ces petits ARN non-codants ont également un rôle de régulateur épigénétique en jouant sur l'expression des gènes codant pour les DNMT et les TET. Paradoxalement, la régulation de ces miARN est également médiée par des marques épigénétiques comme la méthylation de leurs promoteurs ¹⁸².

Il a été proposé que les miARN puissent participer à la communication inter-cellulaire. Une hypothèse serait qu'une cellule puisse réguler l'expression génique d'une cellule cible distante par l'intermédiaire d'exosomes, de microvésicules ou encore de high density lipoprotein (HDL) transportant des miARN. Cependant, les miARN retrouvés dans la circulation sont principalement libres et probablement issus d'un relargage apoptotique.

Une seconde hypothèse serait la régulation paracrine, restreinte aux cellules proches, médiée par la transmission de ces miARN par les gap-junctions. Les cellules tumorales pourraient ainsi transmettre des miARN surexprimés aux cellules du micro-environnement. Cette hypothèse est renforcée par les observations d'une répression d'ARNm dans des cellules traitées par des miARN extracellulaires ¹⁸².

4. Complexes de remodelage de la chromatine

Les complexes de remodelage de la chromatine sont composés de multiples sous-unités et utilisent l'hydrolyse de l'ATP afin de perturber la structure des nucléosomes, et ainsi rendre accessible l'ADN. Il existe 4 principales familles de ces remodeleurs de la chromatine ATP-dépendants qui présentent tous un domaine ATPase. Le plus connu étant le complexe SWI/SNF, décrit précédemment, suivi des complexes ISWI, CHD et INO80 (Fig. 57).

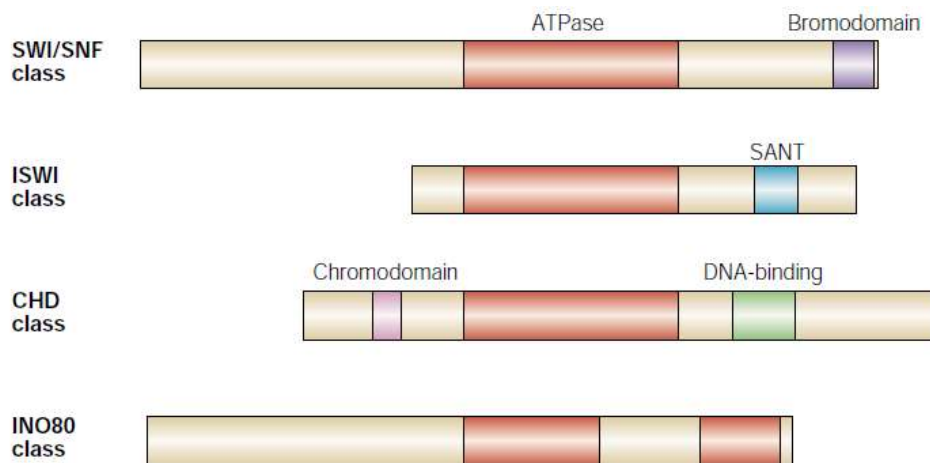


Figure 57. Structure des 4 classes d'ATPases relatives aux 4 familles de remodeleurs de la chromatine ATP-dépendants ¹⁸³

5. Traitements épigénétiques en oncologie

De nombreux variants gain et perte de fonction, ou gènes de fusion, impliquant des acteurs de la régulation épigénétique sont aujourd'hui connus. Ces altérations mettent en évidence l'importance de la balance entre les marques épigénétiques, ainsi que le rôle de leur dérégulation dans l'oncogénèse. De nombreux traitements ciblant ces acteurs épigénétiques ont alors vu le jour ou bien sont encore en phase d'essai (Fig. 58).

5.1 Méthylation de l'ADN

On observe dans les hémopathies myéloïdes des mutations perte de fonction de *DNMT3A*, aboutissant à une hypométhylation, ainsi que des mutations perte de fonction de *TET2*, aboutissant à une hyperméthylation. Des mutations des isocitrate déshydrogénases 1 et 2 (*IDH1/2*) entraînent également une hyperméthylation.

Les inhibiteurs de DNMT comme l'azacitidine et la décitabine sont des antimétabolites utilisés en onco-hématologie. Bien qu'ils provoquent une hypométhylation, leur activité semble indépendante de la présence de mutations des gènes *TET2*, *IDH1* et *IDH2*.

L'ivosidenib et l'enasidenib sont des inhibiteurs des formes mutées d'*IDH1* et *IDH2* respectivement, indiqués dans les hémopathies myéloïdes et les cholangiocarcinomes présentant ces mutations ¹⁸⁴.

5.2 Méthylation des histones

Le système PRC2 et le système SWI/SNF s'opposent dans leur régulation de la compaction de la chromatine. Ainsi, une perte de fonction d'un des gènes du complexe SWI/SNF provoque une sur-activation du complexe PRC2 médiée par EZH2. Les altérations du système SWI/SNF sont très fréquentes dans les cancers. Des variants gain de fonction d'*EZH2* sont également décrits dans les lymphomes folliculaires. Les inhibiteurs d'*EZH2* comme le tazemetostat et le valemestat sont donc des options thérapeutiques dans le lymphome folliculaire et dans les tumeurs mutées pour un gène du complexe SWI/SNF, comme *SMARCB1*. Ces molécules sont toujours en cours d'essai, notamment pour les tumeurs mutées *BAP1*.

Les inhibiteurs de menin et de DOT1L, une HMT, sont également en cours d'essai. Particulièrement en raison de leur interaction avec MLL, les réarrangements *MLL* (= *KMT2A*) aboutissant à des gènes de fusion retrouvés dans les leucémies aiguës.

Des inhibiteurs de LSD1, une lysine déméthylase, sont également à l'essai ¹⁸⁴.

5.3 L'acétylation des histones

Les HAT présentent fréquemment des altérations en oncologie, par exemple on retrouve des variants perte de fonction des gènes *EP300* et *CREBBP*, aboutissant à une perte de l'acétylation des histones. Au contraire, les HDAC ne présentent que rarement des mutations. Les inhibiteurs de ces HDAC comme le vorinostat ou le panobinostat inhibent la désacétylation et entraînent donc une hyperacétylation des histones. Cette hyperacétylation provoque une décompaction de la chromatine qui aboutirait à la transcription de gènes permettant la différenciation des cellules cancéreuses. Ce mécanisme n'est cependant pas totalement élucidé. Ces molécules sont actuellement utilisées dans le traitement du myélome et des lymphomes T cutanés ¹⁸⁴.

Box 1. Epigenetic Therapies in Clinical Development.
DNA methyltransferase (DNMT) inhibitors
Decitabine
Azacitidine
CC-486 (oral azacitidine)
Guadecitabine
ASTX727
Isocitrate dehydrogenase 1 and 2 (IDH1 and IDH2) inhibitors
Ivosidenib
Enasidenib
Vorasidenib
Olutasidenib
Histone deacetylase (HDAC) inhibitors
Vorinostat
Romidepsin
Belinostat
Panobinostat
Chidamide (also known as tucidinostat)
Entinostat
Mocetinostat
Domatinostat
Pracinostat
OKI-179
Givinostat
Abexinostat
Resminostat
Fimepinostat
NBM-BMX
HDAC6 inhibitors
Ricolinostat
Citarinostat
KA2507
EZH2 methyltransferase inhibitors
Tazemetostat
Valemetostat
CPI-0209
CPI-1205
DOT1L methyltransferase inhibitor
Pinometostat
Lysine-specific demethylase 1 (LSD1) inhibitors
Iadademstat
CC-90011
INCB059872
Bromodomain and extraterminal (BET) inhibitors
Molibresib
Birabresib
ZEN003694
PLX51107

Figure 58. Traitements épigénétiques en développement ¹⁸⁴

Des inhibiteurs de BET sont également à l'essai.

5.4 Micro-ARN

La dérégulation de l'expression des miARN dans le cancer peut se faire via la délétion, l'amplification ou encore par la méthylation du promoteur des gènes codants pour ces miARN. Plusieurs approches ont été développées afin d'aboutir à des thérapies ciblant les miARN.

Tout d'abord, les miARN-mimétiques qui sont des oligonucléotides double brins synthétisés pour reproduire les miARNdb endogènes et restaurer leur activité, notamment suppresseur de tumeur, dans les cellules.

Les anti-miARN sont des oligonucléotides simple brin s'hybridant à la séquence d'un miARN afin de bloquer son activité, particulièrement pour les miARN-oncogènes (onco-miR).

Les éponges à miARN sont des molécules dérivant des ARN circulaires, qui présentent de nombreux sites de liaison aux miARN entraînant la séquestration de ces derniers.

Enfin, les amiARN sont des molécules artificielles présentant la spécificité de cible des siARN associée à la structure des miARN permettant l'inhibition de la cible ¹⁸⁵.

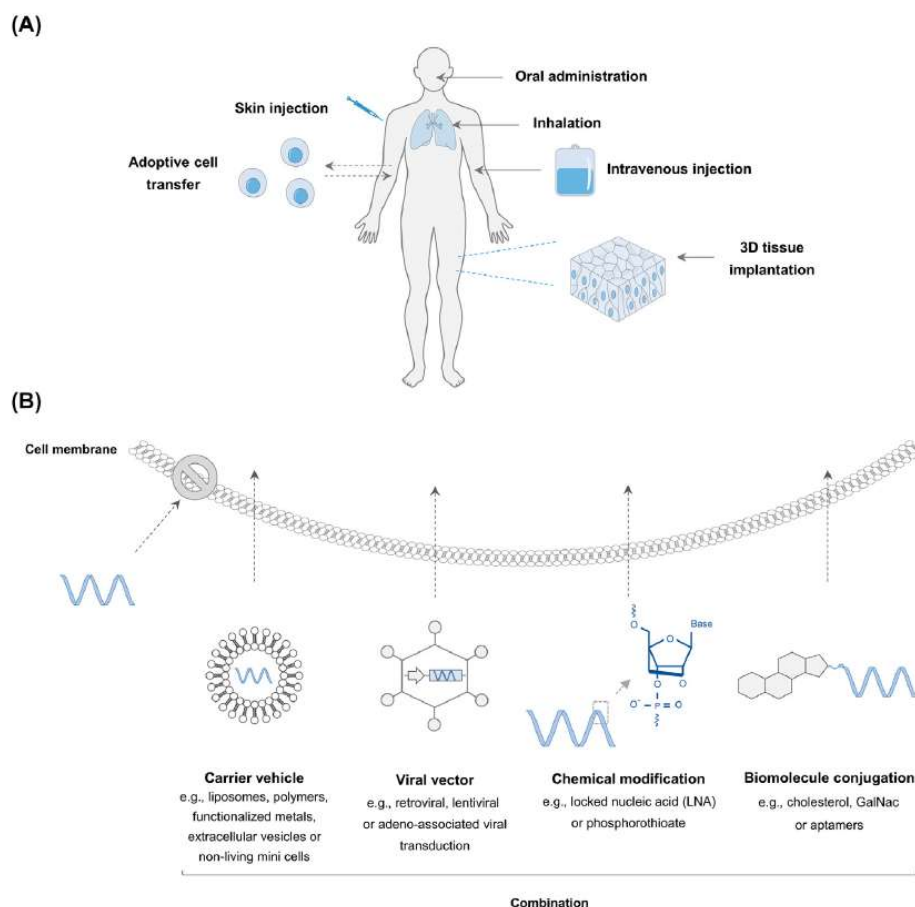


Figure 59. Méthodes d'administration (A) et méthodes de vectorisation (B) dans les thérapies ciblant les miARN ¹⁸⁵

Le mode d'administration et la vectorisation de ces molécules d'ARN jusqu'aux cellules cibles est un challenge dans le développement de ces thérapies. Bien que les modes d'administration les plus utilisés soient en intraveineuse et sous-cutanée, une approche par implant d'une matrice 3D biodégradable dans le tissu cible lors de la chirurgie est développée. Le prélèvement de cellules sanguines pour les traiter *ex-vivo* et ensuite les réadministrer au patient est également envisagé. Pour les modes d'administration systémiques, différentes approches vectorielles sont étudiées comme les liposomes, les vésicules extracellulaires, les vecteurs viraux ou encore simplement des modifications chimiques des chaînes d'acides nucléiques afin de passer la membrane cellulaire (Fig. 59) ¹⁸⁵.

IV. Objectif de l'étude

Dans une cohorte de 77 méningiomes constituée dans notre laboratoire, nous observons une grande variabilité des niveaux de transcrit du gène *NF2*, en l'absence de délétion ou de mutation du gène, avec, dans certaines tumeurs un taux du transcrit de *NF2* bas équivalent à celui des tumeurs portant une altération génétique de *NF2*. Suite à cette observation, nous avons émis l'hypothèse d'une diminution épigénétique de *NF2* qui entraînerait cette plus faible expression du gène. Les deux mécanismes envisagés et étudiés ici sont la méthylation du promoteur et les micro-ARN comme régulateurs de l'expression de *NF2*.

Pour la majorité des gènes, il est décrit qu'une hypométhylation des sites CpG au sein du promoteur favorise l'expression du gène, contrairement à une hyperméthylation qui cause la répression du gène¹⁷⁵. Dans la littérature, plusieurs équipes se sont intéressées à la méthylation du promoteur de *NF2*, aboutissant à des résultats discordants. Nous avons donc décidé d'étudier la méthylation du promoteur du gène *NF2* par pyroséquençage au sein des méningiomes de notre cohorte.

Les micro-ARN (miARN) sont de petits ARN non-codants, impliqués dans la régulation post-transcriptionnelle. Cette régulation s'effectue par fixation de ces micro-ARN à l'ARNm par complémentarité, puis par clivage de l'ARNm ou bien par répression de sa traduction¹⁸⁶. Plusieurs équipes ont étudié l'expression de nombreux micro-ARN au sein des méningiomes, cependant aucune ne relie un miARN à l'expression de *NF2* dans ces tumeurs¹⁸⁷⁻¹⁸⁹. Nous avons choisi d'étudier le miR-92a-3p. Ce micro-ARN est décrit dans une étude comme régulant directement l'expression de *NF2* dans des cellules de cancers colorectal et pulmonaire¹⁹⁰. Nous avons décidé de quantifier ce micro-ARN par RT-qPCR dans les méningiomes de notre cohorte.

V. Matériel, méthodes et résultats

1. Description et caractérisation de la cohorte

Cette étude a été menée sur une cohorte de 77 méningiomes issus de patients du CHU de la Timone à Marseille, après obtention de leur consentement éclairé. La moyenne d'âge de ces patients est de 61.8 ± 13.6 (17 - 87), avec 34 hommes pour 43 femmes (44% vs 56%). Les tumeurs ont été classées selon les recommandations OMS 2021 (excepté la délétion homozygote de *CDKN2A/B*) en 47 grade I (61%), 26 grade II (34%) et 4 grade III (5%).

Parmi cette cohorte nous avons sélectionné les 37 méningiomes ne présentant ni mutation, ni altération du nombre de copie du gène *NF2*, renommés *NF2* wild-type (*NF2*-wt). La moyenne d'âge de ces patients est de 61.1 ± 11.7 (34 - 83), avec 14 hommes pour 23 femmes (38% vs 62%). Les tumeurs ont été classées selon les recommandations OMS 2021 (excepté la délétion homozygote de *CDKN2A/B*) en 30 grade I (81%) et 7 grade II (19%).

Nous avons ajouté à ces 37 tumeurs, les 4 méningiomes de grade III de la cohorte, bien qu'ils soient *NF2*-déficients (mutation \pm CNV). L'âge moyen est de 79 ± 4.8 (75 - 84) et les patients sont tous des hommes.

Parmi cette cohorte de 41 méningiomes (37 *NF2*-wt et 3 grade III), 32 ADN issus de ces tumeurs étaient disponibles pour analyse de la méthylation par pyroséquençage et 26 méningiomes présentaient du matériel congelé pour analyse du miR-92a-3p. Leurs caractéristiques sont répertoriées dans les Tables 13 et 19 respectivement.

Nous avons également utilisé dans cette étude 3 lignées cellulaires de méningiomes humains : Ben-Men1, CH-157MN et IOMM-Lee. Les trois lignées ont été cultivées dans le DMEM-F12 (Dulbecco's Modified Eagle Medium) 10% FCS (fetal calf serum), 1% streptomycin/penicillin, 1% fungizone (Invitrogen, Cergy Pontoise, France), à 37°C avec 7% de CO₂.

Les Ben-Men-1 proviennent d'un méningiome méningothélial de grade I, *NF2*-déficient (numéro d'acquisition CVCL_1959, Braunschweig, Germany). Les CH-157MN proviennent d'un méningiome de grade inconnu, *NF2*-déficient, mais également *NRAS*, *PTEN* et *pTERT* muté (numéro d'acquisition CVCL_5723 données par CERIMED). Les IOMM-Lee proviennent de l'envahissement d'un méningiome de grade III, *NF2* wild-type et muté *BRAF* et *pTERT* (numéro d'acquisition CVCL_5779, ATCC, Manassas, VA, USA).

En amont de ce travail, de l'ADN et de l'ARN ont été extraits à partir de fragments congelés de méningiomes en utilisant respectivement le kit d'extraction QIAamp ADN (Qiagen, Courtaboeuf, France) et le kit RNeasy Plus Minikit (Qiagen, Courtaboeuf, France).

L'ADN a été séquencé sur un MiSeqDx (Illumina, San Diego, CA, USA) en utilisant un panel Custom QIAseq Targeted DNA Panel library preparation (Qiagen, Courtaboeuf, France) ciblant 13 gènes d'intérêt dans les méningiomes : *NF2* (NM_000268.3), *AKT1* (NM_001014431.1), *SMO* (NM_005631.4), *KLF4* (NM_004235.4), *TRAF7* (NM_032271.2), *PIK3CA* (NM_006218.4), *SUFU* (NM_016169.4), *SMARCB1* (NM_003073.3), *SMARCE1* (NM_003079.4), *POLR2A* (NM_000937.4), *CDKN2A* (NM_058195.3), *CDKN2B* (NM_004936.3), *PTEN* (NM_000314.4) et le promoteur de *TERT* (NM_198253.2). L'alignement et la variant calling ont été réalisés à l'aide de 2 pipelines d'analyse : CLC Genomics Workbench 20.0.4 (Qiagen) et le QIAseq targeted DNA custom panel analysis center (smCounter2 Qiagen). Chaque variant a été classé d'après les recommandations de l'American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG).

Afin de rechercher de larges délétions ou duplications de *NF2*, une PCR quantitative en temps réel a été mise en place, utilisant un TaqMan™ Copy Number Assay (ref Hs00918833_cn, Applied Biosystem, Foster City, CA, USA) et un TaqMan™ Copy Number Reference Assay (RNaseP) sur un automate de PCR en temps réel ViiA 7 Real-Time PCR System (Thermo Fisher Scientific Inc., Waltham, MA, USA). Les données ont été analysées sur le logiciel Applied Biosystems Copy Caller software (Applied Biosystem, Foster City, CA, USA). Chaque échantillon a été standardisé en utilisant un ADN présentant deux allèles de *NF2*. La quantification relative (RQ) de *NF2* a été calculée par la formule du $2^{\Delta\Delta Ct}$ en comparaison au gène *PRORP* (protein only RNase P catalytic subunit) utilisé comme standard. Une RQ entre 0.3 et 0.7 a été interprétée comme une délétion et une RQ supérieure à 0.8 comme normale.

Afin de quantifier le transcrite du gène *NF2* une reverse transcription a d'abord été réalisée avec le High Capacity RNA-to-cDNA kit (réf 4387406, ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) selon les recommandations du fournisseur. Une PCR quantitative en temps réel a été réalisée en utilisant le Master Mix TaqMan™ Universal II (réf : 4440038, ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) ainsi que les assays du transcrite d'intérêt *NF2* (ref Hs00966302_m1, ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) et des transcrits de nos gènes de ménage : la tubuline- β , la β -actine et la β -glucuronidase (refs Hs00742828_s1, Hs01060665, Hs00939627,

ThermoFisher Scientific, Waltham, USA). Le calibrant utilisé est le Universal Human Reference RNA (Agilent, Santa Clara, USA). L'expression relative de NF2 a été calculée en utilisant la formule du $2^{\Delta\Delta Ct}$.

2. Méthylation du promoteur de *NF2*

2.1 Matériel et méthodes

Afin d'étudier la méthylation de l'ADN par séquençage, la première étape est la conversion de l'ADN aux bisulfites. Les bisulfites permettent de convertir les cytosines non méthylées en uraciles, contrairement aux cytosines méthylées restant intactes. Cette étape permet la transformation d'une donnée épigénétique comme la méthylation en une variation génétique, plus facilement détectable et quantifiable.

Ensuite, afin d'amplifier l'ADN converti, une PCR est nécessaire. Pour cela, il faut un couple d'amorces complémentaires des séquences d'ADN cibles converties. Les uraciles précédemment convertis seront alors remplacés en thymine.

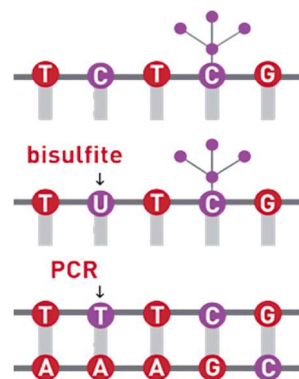


Figure 60. Représentation de la conversion de l'ADN aux bisulfites

Enfin, l'ADN est séquencé par pyroséquençage. La particularité de cette technique consiste en l'injection séquentielle des nucléotides selon un ordre préprogrammé. Si le nucléotide injecté dans le milieu réactionnel correspond à celui attendu par l'ADN polymérase, il est incorporé dans le brin en cours de synthèse. Dans le cas contraire, aucune réaction ne se produit et le nucléotide suivant sera injecté. L'incorporation entraîne la libération d'un pyrophosphate inorganique (PPi). L'enzyme ATP-sulfurylase utilise ce PPi pour transformer l'adénosine phosphosulfate en adénosine triphosphate (ATP). L'ATP est utilisée par la luciférase dans la

réaction d'oxydoréduction de la luciférine qui produit de la lumière. Ce signal lumineux est capté par une caméra et reproduit sous forme d'un pic sur un pyrogramme. La hauteur de ce pic est fonction de l'intensité du signal lumineux, elle-même proportionnelle au nombre de nucléotides incorporés à chaque injection et permet de déduire la séquence du brin néosynthétisé. Dans le cas précis de la méthylation de l'ADN, cette technique permet d'évaluer les proportions respectives de C et de T pour chaque dinucléotide CpG étudié. Cette proportion reflète le pourcentage de brins méthylés ou déméthylés à ce niveau dans l'échantillon initial.

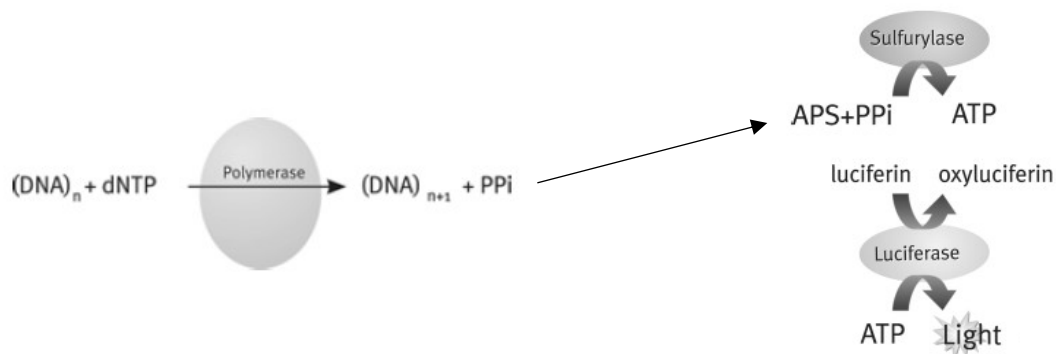


Figure 61. Représentation de la réaction de pyroséquençage¹⁹¹

2.1.1 Design des assays

L'îlot CpG de *NF2* de 757 pb (de c.-591 à c.54+112) que nous avons analysé comprend 84 dinucléotides CpG. Afin d'étudier sa méthylation nous avons créé 3 assays dans le promoteur du gène à partir du logiciel PyroMark Assay Design software (Qiagen, Courtaboeuf, France).

Pour cela, nous avons respecté plusieurs critères : une taille d'amplicon inférieure à 200 pb, l'absence de polymorphismes connus à une fréquence supérieure à 0.1% dans la population au niveau de nos amorces, et l'absence de fixation aspécifique de nos amorces pouvant générer un autre amplicon dans le génome (d'après des prédictions bio-informatiques notamment SNP-Check et UCSC in silico PCR).

Amorce	Bases	Taille amplicon	Séquence 5'-3'
PCR Forward	26	133 pb	GAGTGAAATTTTTTATTGGTGGAGTT
PCR Reverse-biot	21		b-CACAACCCCAAACCTACTCCC
Séquençage	21		ATTTTTTATTGGTGGAGTTAT

Amorces de PCR

Amorce de séquençage

Séquence analysée

Exon 1

ATTCAGAGTGACTGCCACTGTAGCCACTCAACGCCGAGCCTAGGCCTGCTTTTTTTGCAGTTA**GAGT**
GAAACTTTCCATTGGTGGAGTCACCCCAAAGGAGG**CGGGACCGGAGCGGAAAGT**CCTGCCTACCT
TGGCCTTCCCAGCCAAT**CGCAGCATCTATGCGTCAGCCTCCGGTTCGGTTGCGCTGCGCGTAGTGGT**
CTGGG**CGACCTGAGGGCGGGGCCGGGAGCAGGCCCGGGCTGT**GGGGAGGGTG**CGCTTCCCGCG**
GCGCGCGGAGTGAGGACGGTGACAGCCACGCGCGCGCGTACGCGCCCGATGCAG**CGCGGCCCGT**
GACCCTAGT**CGGCCGCTGAGAGGCGCGCGGAGTCTGGGCCGCTGCGCT**TAGGGGTCC**CGTCCCGA**
GG**CGTCCC**CGGCATCT**CGGCCGAATCCCGGAGTGCCGGGT**CGCGCCTGCACCGAAGGTCC**CGGC**
TCCTGTGCCCTCCCTGCAGC**CGTCAGGGCCCGTCCCCAACTCCCCTTT**CGCTCAGGCAGGGTCCT
CGCGGCCCATGCTGGCCCGCTGGGGACCCGCGCAGCCCAGACCGTTCCCGGGCCGGGCAGCCGGCC
ACCATGGTGGCCCTGAGGCCTGTGCAGCAACTCCAGGGGGGCTAAAGGGCTCAGAGTGCAGG**CCG**
TGGGG**CGCG**AGGGTCC**CGGGCCTGAGCCC**CGCGCC**ATGGCCCGGGCCATCGCTTCCCGCATGAGCT**
TCAGCTCTCTCAAGAGGAAGCAACCC

Table 6. Assay 1 analysant les CpG 1, 2 et 3

Amorce	Bases	Taille amplicon	Séquence 5'-3'
PCR Forward-biot	27	132 pb	b-GAGTGAAATTTTTTATTGGTGGAGTTA
PCR Reverse	21		CACAACCCCAAACCTACTCCC
Séquençage	20		CAAATCCCCCAAACCACTAC

Amorces de PCR

Amorce de séquençage

Séquence analysée

Exon 1

ATTCAGAGTGACTGCCACTGTAGCCACTCAACGCCGAGCCTAGGCCTGCTTTTTTTGCAGTTAGAGT
GAAACTTTCCATTGGTGGAGTCACCCCAAAGGAGGCGGGACCGGAGCGGGAAAGTCCTGCCTACCTT
GGCCTTCCCAGCCAATCGCAGCATCTATGCGTCAGCCTCCGGTTCCGGTTGCGCTGCGCGTAGTGGTC
TGGGCGACCTGAGGGCGGGGCCGGGAGCAGGCCCGGGCTGTGGGAGGGTGCCTTCCCGCGG
GCGCGCGGAGTGAGGACGGTGACAGCCACGCGCGCGCGTACGCGCCCGATGCAGCGCGGCCCGT
GACCCTAGTGGCCGCTGAGAGGCGCGCGGAGTCTGGGCGCTGCGCTAGGGGTCCCGTCCCGA
GGCGTCCC CGGCATCTCCGGCCGAATCCCGGAGTGCCGGGTGCGGCCTGCACCGAAGGTCCC CGGC
TCCTGTGCCCTCCCTGCAGCCGTCAGGGGCCGTCCCCCAACTCCCCTTTCCGCTCAGGCAGGGTCTC
CGCGGCCCATGCTGGCCGCTGGGGACCGCGCAGCCCAGACCGTTCCCGGGCCGGGCAGCCCGGCC
ACCATGGTGGCCCTGAGGCCTGTGCAGCAACTCCAGGGGGGCTAAAGGGCTCAGAGTGCAGGCCG
TGGGGCGCGAGGGTCCCGGGCCTGAGCCCCGCGCCATGGCCGGGGCCATCGCTTCCCGCATGAGCT
TCAGCTCTCTCAAGAGGAAGCAACCC

Table 7. Assay 2 analysant les CpG 6, 7, 8, 9 et 10

Amorce	Bases	Taille amplicon	Séquence 5'-3'
PCR Forward	27	147 pb	GAGTGAAATTTTTTATTGGTGGAGTTA
PCR Reverse-biot	20		b-AAACCCACCCTCCCCACAAC
Séquençage	20		GTTGAGAGTAGTGGTTTGGG

Amorces de PCR

Amorce de séquençage

Séquence analysée

Exon 1

ATTCAGAGTGACTGCCACTGTAGCCACTCAACGCCGAGCCTAGGCCTGCTTTTTTTGCAGTTAGAGT
GAAACTTTCCATTGGTGGAGTCACCCCAAAGGAGGCGGGACCGGAGCGGGAAAGTCCTGCCTACCTT
GGCCTTCCCAGCCAATCGCAGCATCTATGCGTCAGCCTCCGGTTCCGGTTGCGCTGCGCGTAGTGGT
CTGGGCGACCTGAGGGCGGGGCCGGGAGCAGGCCCGGGCTGTGGGGAGGGTGCCTTCCCGCG
GGCGCGCGGAGTGAGGACGGTGACAGCCACGCGCGCGCGTACGCGCCCGATGCAGCGCGGCCCG
TGACCCTAGTGGCCGCTGAGAGGCGCGCGGAGTCTGGGCGCTGCGCTAGGGGTCCCGTCCCG

AGGCGTCCC CGGCATCTC CGGCCGAATCC CGGAGTGC CGGGT CGCGCCTGCACCGAAGGTCCC GG
 CTCCTGTGCCCTCCCTGCAGC CGTCAGGGCC CGTCCCCAACTCCCCTTTCCGCTCAGGCAGGGTCC
 TCGCGGCCCATGCTGGCC CGCTGGGGACCC CGCGCAGCCCAGACC GTTCCCGGGCCGGGCAGCC CGGCC
 ACCATGGTGGCCCTGAGGCCTGTGCAGCAACTCCAGGGGGGCTAAAGGGCTCAGAGTGCAGGCCG
 TGGGG CGCGAGGGTCC CGGGCCTGAGCCC CGCGCC ATGGCCGGGGCCATCGCTTCCCGCATGAGCT
 TCAGCTCTCTCAAGAGGAAGCAA CCC

Table 8. Assay 3 analysant les CpG 11, 12 et 13

2.1.2 Quantification de l'ADN

La quantification a été réalisée après décongélation de l'ADN à température ambiante. Pour cela nous avons utilisé le kit dsDNA HS (haute sensibilité, ADN double brin) du Qubit® (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA). Cet automate est un fluorimètre permettant la quantification de l'ADN par mesure de la fluorescence émise par un colorant se liant de manière sélective à l'ADN double brin. Pour réaliser le dosage, nous avons préparé des solutions de 200 µL à partir d'une solution tampon, du colorant, ainsi que des ADN à doser ou bien des standards. Les standards sont au nombre de deux : le standard 1 étant un étalon à 0 ng/µL et le standard 2 est un étalon à 10 ng/µL (Tab. 9).

Préparation de la solution de travail		1 test
Tampon QuBit ds DNA HS (µL)		199
Réactif Qubit ds DNA HS (µL)		1

Réaction Qbit	Etalon 1	Etalon 2	ADN
Solution de travail (µl)	190	190	198
Standard (µL)	10	10	
ADN (µL)			2

Table 9. Préparation des réactifs en vue de la quantification de l'ADN par Qubit

2.1.3 Conversion de l'ADN

Nous avons converti l'ADN à l'aide du kit de conversion aux bisulfites EpiJET® (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA). Nous avons choisi le protocole B (long) du fournisseur car il garantit une meilleure efficacité de conversion (99%), une meilleure sensibilité, limite le niveau de dégradation de l'ADN et est compatible avec l'utilisation de faibles quantités d'ADN (moins de 50 ng).

Afin d'obtenir des résultats optimaux, il est recommandé d'utiliser 200 à 500 ng d'ADN. Nous avons donc décidé d'utiliser 400 ng d'ADN pour la conversion. Pour cela nous avons dilué avec de l'eau sans nucléase les ADN, pour une concentration cible de 20 ng/μL. Un ADN non converti et non méthylé fourni dans le kit est incorporé à l'analyse comme témoin de conversion.

Avant de commencer la conversion, nous avons ajouté 25 mL et 10 mL d'Ethanol 96% respectivement au Wash Buffer et au Desulfonation Buffer. Un aliquot de Modification Reagent est également régénéré par ajout de 0.9 mL d'eau sans nucléases, 200 μL de Modification Solution I et 60 μL de Modification Solution II. Afin d'obtenir une bonne dissolution l'aliquot est ensuite vortexé pendant 10 minutes.

Les étapes de conversion et de purification sont détaillées dans la Table 10. Une fois converti, l'ADN est stocké à -20°C.

Conversion aux bisulfites	
Etape 1	Dans un tube de PCR de 200 μl introduire 20 μl d'ADN à traiter
Etape 2	Ajouter dans chaque tube 120 μl de Modification Reagent Mélanger par pipetage Centrifuger rapidement les tubes
Etape 3	Placer les tubes dans un thermocycleur et réaliser les étapes de dénaturation et de conversion au bisulfite de l'ADN : 98°C /10 minutes puis 60°C / 150 minutes, pause 4°C (durée 2h40) Une fois la réaction de conversion achevée, sortir les tubes du thermocycleur et les centrifuger rapidement

Purification de l'ADN converti	
Etape 4	Ajouter 400 µl de Binding Buffer dans une DNA Purification Micro-colonne placée dans un « collection tube »
Etape 5	Transférer l'ADN converti (140 µl) dans la DNA Purification Micro-colonne correspondante. Mélanger par pipetage
Etape 6	Centrifuger la micro-colonne placée dans son « collection tube » pendant 30 secondes à 12.000 rpm et jeter ensuite l'éluat Repositionner la micro-colonne dans son « collection tube »
Etape 7	Ajouter 200 µl de Wash Buffer dans la micro-colonne Centrifuger la colonne placée dans son « collection tube » pendant 30 secondes à 12.000 rpm Jeter ensuite l'éluat Repositionner la micro-colonne dans son « collection tube »
Etape 8	Ajouter 200 µl de Desulfonation Buffer dans la micro-colonne Incuber la colonne à température ambiante pendant 20 minutes
Etape 9	Centrifuger la colonne dans son « collection tube » pendant 30 secondes à 12.000 rpm Jeter ensuite l'éluat Repositionner la micro-colonne dans son « collection tube »
Etape 10	Ajouter 200 µl de Wash Buffer dans la micro-colonne Centrifuger la colonne placée dans son « collection tube » pendant 30 secondes à 12.000 rpm Jeter ensuite l'éluat Repositionner la micro-colonne dans son « collection tube »
Etape 11	Ajouter 200 µl de Wash Buffer dans la micro-colonne Centrifuger la colonne placée dans son collection tube pendant 60 secondes à 12.000 rpm. Jeter le collection tube contenant l'éluat
Etape 12	Placer la micro-colonne dans un nouveau tube de 1.5 mL Ajouter 10 µl d'Elution Buffer au centre de la micro-colonne. Centrifuger à 12.000 rpm pendant 60 secondes
Etape 13	Jeter la colonne et conserver l'ADN converti élué

Table 10. Protocole de conversion aux bisulfites et purification de l'ADN

2.1.4 Amplification de l'ADN converti

Les amorces de PCR sont régénérées et stockées à 1 mM, puis diluées à 10 μ M avec de l'eau sans nucléases pour utilisation. Un mix de PCR est alors préparé avec les amorces forward, reverse, de l'eau sans nucléases, ainsi que l'AmpliTaq Gold 360[®] Mastermix (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA) contenant l'enzyme et les réactifs nécessaires à la réaction de PCR (Tab. 11).

Réactifs	Volumes pour 1 test (μ l)
Eau sans nucléases	9.5
AmpliTaq Gold 360 [®] Mastermix	12.5
Amorce Forward (10 μ M)	0.5
Amorce Reverse (10 μ M)	0.5
ADN	2
Volume final	25

Table 11. Préparation de la réaction de PCR

A cette étape, 4 témoins sont requis en plus de nos ADN à tester : le témoin de conversion (0% méthylé et converti à l'étape précédente), le témoin 100% méthylé, le témoin 0% méthylé et un témoin négatif de PCR (composé du mix avec 2 μ L d'eau à la place de l'ADN). Le mix et l'ADN sont déposés et homogénéisés dans des barrettes de 200 μ L.

Le programme de PCR détaillé dans la Table 12 est alors effectué sur un thermocycleur SimpliAmp[®] (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA). Les produits de PCR sont ensuite contrôlés sur gel d'agarose à 2% contenant du SYBR[®] Safe au 1/5000ème (ThermoFisher Scientific, Waltham, USA).

Etapes		Température	Durée
Dénaturation		95°C	10min
		95°C	30s
Hybridation	50 cycles	53°C	30s
Elongation		72°C	1min
Fin		72°C	5min
		4°C	Infini

Table 12. Programme de PCR 50 cycles

2.1.5 Pyroséquençage

Le design des séquences d'injection de nucléotides à partir des séquences à analyser a été généré par le Pyromark Q48 Autoprep[®] Software (Qiagen, Courtaboeuf, France). Ce logiciel nous a ensuite permis de programmer nos runs de pyroséquençage en attribuant à chaque échantillon un assay (et donc une séquence d'injection prédéfinie).

Le pyroséquençage est réalisé avec un automate Pyromark Q48 Autoprep[®] (Qiagen, Courtaboeuf, France). Préalablement l'enzyme et le substrat lyophilisés sont régénérés avec 660 µL d'Annealing Buffer, puis laissés 10 minutes à température ambiante. Les amorces de séquençage sont diluées à 4 µM.

Au lancement du run, une fois le fichier de programmation sélectionné sur l'automate, il est nécessaire de remplir les injecteurs avec les différents réactifs (nucléotides, enzyme, substrat, Annealing Buffer, Binding Buffer, solution de dénaturation). Les quantités sont calculées par l'automate en fonction du run programmé (nombre d'échantillons, séquence à injecter). Un disque composé de 4 quadrants (A, B, C et D) de 12 puits est alors chargé sur l'automate.

Après avoir vortexé le tube de billes, on introduit 3 µL dans chaque puits. Pour rappel, le design des amorces de PCR comprenait une extrémité biotinylée. Ces billes servent à récupérer ces brins d'ADN de manière sélective grâce à un système biotine-streptavidine. On ajoute ensuite 10 µL d'échantillon (eau ou ADN) sans homogénéiser et en suivant le plan de dépôt réalisé lors de la programmation du run. Un témoin négatif de la réaction de pyroséquençage est ajouté à cette étape (ajout de 10 µL d'eau aux billes). Le run est alors lancé. Il faudra compléter avec 2 µL d'amorce de séquençage dans chaque puits environ 20 minutes après le lancement. A noter qu'un lavage des injecteurs pré et post-run est réalisé systématiquement.

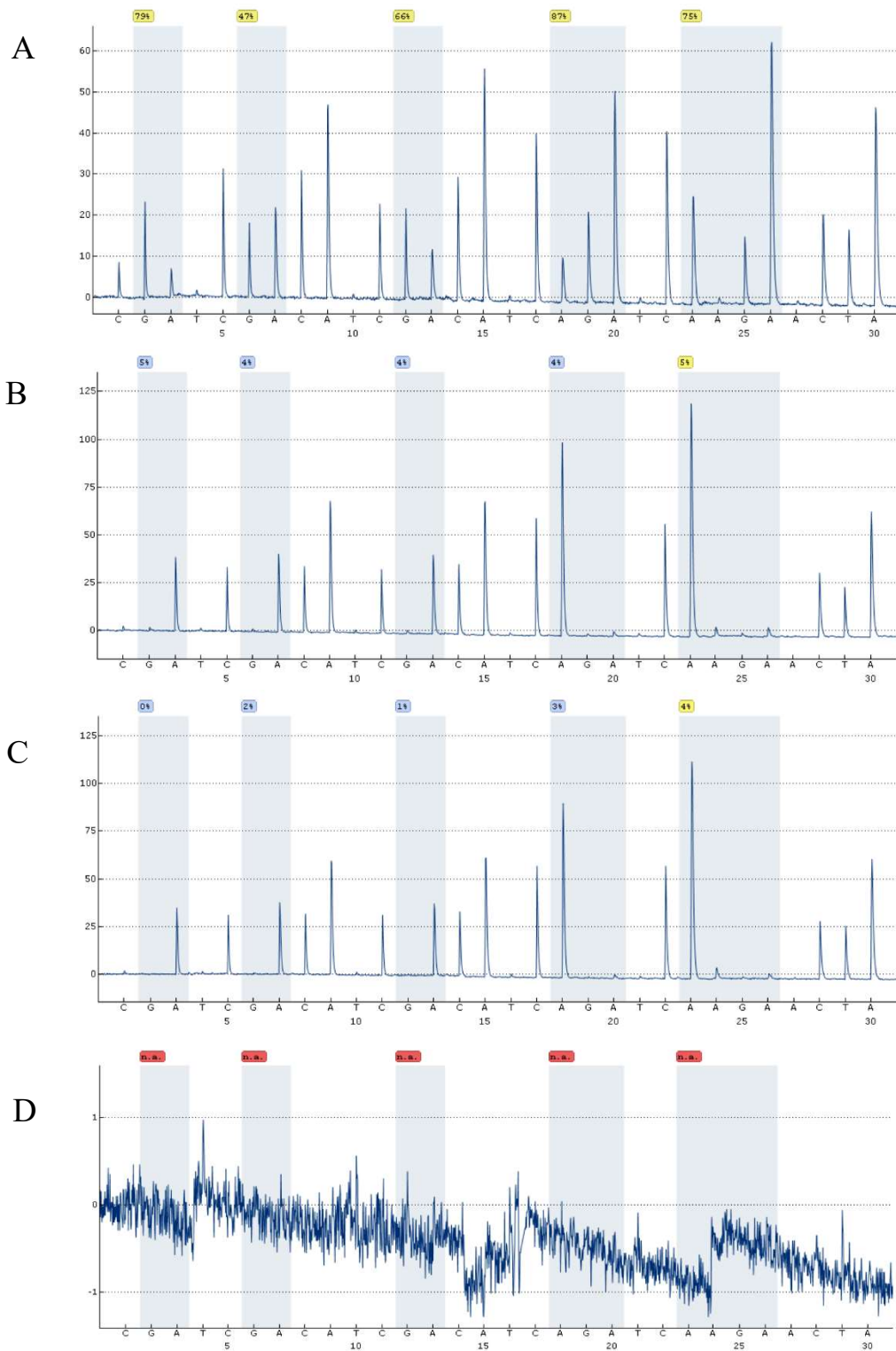


Figure 62. Validation des contrôles de l'assay 2

- A. Témoin 100% méthylé
- B. Témoin 0% méthylé
- C. Témoin de conversion, non méthylé
- D. Témoin négatif de PCR ou pyroséquençage

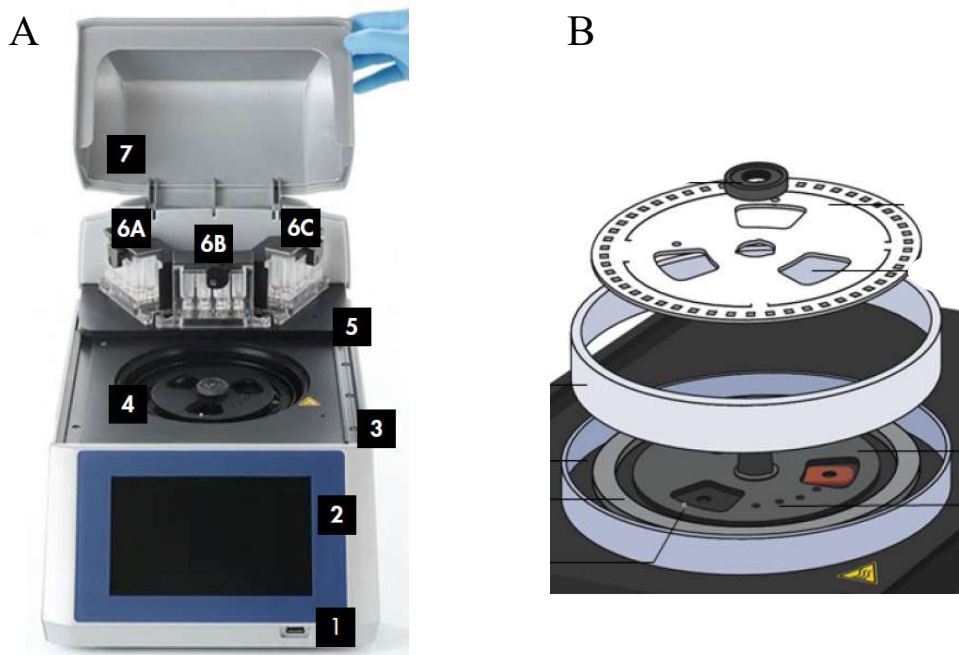


Figure 63. Pyromark Q48 Autoprep[®] 191

A. Vue de face

B. Représentation du disque de chargement des échantillons

L'interprétation des résultats se fait avec le logiciel Pyromark Q48 Autoprep[®] Software (Qiagen, Courtaboeuf, France). Afin de valider la qualité des résultats, l'interprétation des pyrogrammes est nécessaire. Les contrôles négatifs de pyroséquençage et de PCR doivent sortir négatifs. Le témoin de conversion et le témoin 0% méthylé doivent sortir non méthylés. Le témoin 100% méthylé doit sortir méthylé. A noter qu'une intensité trop faible signe un échec du séquençage et rend les résultats ininterprétables (Fig. 62).

2.1.6 Statistiques

Les moyennes ont été réalisées à partir d'Excel (Microsoft[®] Office). Les coefficients de corrélation (tests de Spearman) et la régression linéaire ont été calculés à l'aide de Rstudio.

2.2 Résultats

L'ensemble des valeurs de méthylation obtenues vont de 0 à 23 % avec une moyenne de 2.95 ± 3.0 %. Le pourcentage de méthylation moyen des 11 CpG par méningiome va de 1.5 à 7.6 % avec une moyenne de 2.96 ± 1.66 %. Ainsi, sur notre cohorte de 32 méningiomes aucun ne présente d'hyperméthylation de son promoteur d'après l'étude de ces 11 dinucléotides CpG.

Par ailleurs, il n'existe pas de corrélation entre le taux de transcrit de *NF2* retrouvé en RT-qPCR et le pourcentage de méthylation du promoteur (corrélation Spearman = -0.175 p-value = 0.34 et régression p-value = 0.30) (Tab. 13).

ID	Âge	Sexe	Histologie	Mitoses	Ki67	Grade	Statut NF2	Transcrit NF2	CNV NF2	Gène 1	Gène 2	CpG 1	CpG 2	CpG 3	CpG 6	CpG7	CpG 8	CpG 9	CpG 10	CpG 11	CpG 12	CpG 13	Moyenne
M405	61	M	Méningothélial	< 1/10	4	I	wt	0,25	Normal			1	0	2	0	2	3	3	3	1	0	2	1,55
M542	49	F	Méningothélial	< 1/10	3	I	wt	0,48	Normal	AKT1		1	1	2	15	2	3	4	3	0	1	2	3,09
M478	69	M	Transitionnel	1/10	7	I	wt	0,62	Normal	TRAF7	AKT1	3	2	0	2	2	7	3	3	1	1	3	2,45
M603	72	F	Méningothélial	NR	4	I	wt	0,66	Normal	TRAF7		3	0	0	0	2	3	3	3	1	1	3	1,73
M447	56	F	Sécrétoire	< 1/10	7	I	wt	0,69	Normal	TRAF7	KLF4	4	2	1	2	3	3	3	2	1	1	2	2,18
M520	47	F	Transitionnel	< 1/10	2	I	wt	0,69	Normal	TRAF7	PIK3CA	0	2	0	11	12	10	8	6	4	3	6	5,64
M589	64	F	Transitionnel	< 1/10	3	I	wt	0,69	Normal	SMO		3	2	3	3	3	3	3	3	1	1	4	2,64
M506	77	M	Sécrétoire	< 1/10	1	I	wt	0,73	Normal	TRAF7	KLF4	1	1	2	2	5	2	2	2	1	1	1	1,82
M475	52	F	Transitionnel	1/10	4	I	wt	0,82	Normal	TRAF7	AKT1	2	2	1	1	2	1	2	2	1	1	2	1,55
M515	58	M	Méningothélial	2/10	5	I	wt	0,82	Normal	SMO		2	0	2	4	3	2	2	2	1	1	2	1,91
M588	51	F	Méningothélial	1,5/10	6	I	wt	0,82	Normal			2	2	2	1	3	2	2	2	1	0	3	1,82
M482	61	F	Transitionnel	1/10	4	I	wt	0,83	Normal	TRAF7	PIK3CA	1	1	2	2	4	2	2	2	0	1	2	1,73
M408	34	M	Atypique	4/10	15	II	wt	0,89	Normal			1	2	2	3	1	3	2	2	0	1	2	1,73
M445	78	M	Atypique	4/10	15	II	wt	0,93	Normal			1	0	1	5	2	4	2	2	1	1	3	2,00
M490	62	M	Transitionnel	2/10	4	I	wt	0,94	Normal	TRAF7	AKT1	2	1	1	3	0	2	3	2	1	1	2	1,64
M456	65	M	Atypique	5/10	15	II	wt	1,16	Normal			2	3	4	0	5	2	4	7	2	2	11	3,82
M496	71	F	Méningothélial	1/10	5	I	wt	1,25	Normal			4	2	1	11	2	2	3	2	1	0	2	2,73
M487	78	F	Transitionnel	2/10	2	I	wt	1,27	Normal	SMO		2	1	2	2	3	4	3	2	1	1	3	2,18
M586	62	M	Transitionnel	< 1/10	3	I	wt	1,27	Normal			0	9	4	4	5	5	5	5	4	6	7	4,91
M512	71	M	Atypique	5/10	20	II	wt	1,29	Normal			2	2	2	14	4	2	3	3	1	1	2	3,27
M538	52	F	Sécrétoire	1/10	3	I	wt	1,44	Normal	TRAF7	KLF4	1	1	1	13	10	4	3	3	1	0	4	3,73
M620	55	F	Transitionnel	1/10	2	I	wt	1,54	Normal	TRAF7		1	3	0	2	2	2	3	2	0	1	2	1,64
M554	69	F	Transitionnel	< 1/10	3	I	wt	1,56	Normal			0	3	3	2	2	2	3	2	1	0	2	1,82
M465	66	F	Atypique	2/10	2	II	wt	1,59	Normal	AKT1		4	10	3	6	13	14	6	4	5	5	9	7,18
M587	50	M	Transitionnel	< 1/10	5	I	wt	1,7	Normal	SMO		1	2	3	1	0	2	2	2	1	0	2	1,45
M491	50	M	Atypique	7/10	15	II	wt	1,75	Normal			1	2	3	2	1	1	5	2	1	1	1	1,82
M531	54	F	Méningothélial	< 1/10	5	I	wt	2,2	Normal			2	0	2	2	23	4	3	2	1	1	3	3,91
M533	67	M	Méningothélial	2/10	2	I	wt	2,52	Normal			1	2	1	3	2	2	3	2	1	0	3	1,82
M424	77	M	Anaplasique	12/10	40	III	def	0,12	Normal	NF2	pTERT	3	3	3	0	5	4	6	10	4	0	5	3,91
M464	84	M	Anaplasique	NR	25	III	def	0,16	Normal	NF2	pTERT	3	0	3	3	8	3	4	7	6	5	13	5,00
M480	75	M	Anaplasique	> 20/10	30	III	def	0	Délété	NF2	pTERT	0	NA	2	4	9	20	10	11	7	0	13	7,60
M497	79	M	Anaplasique	14/10	25	III	def	0,75	Normal	NF2	pTERT	3	3	4	2	4	5	4	8	2	3	13	4,64

Table 13. Résultats de méthylation par pyroséquençage de 11 dinucléotides CpG du promoteur de *NF2* sur 32 méningiomes de notre cohorte

(wt = wild-type ; def = déficient ; CNV = copy number variation ; Gènes 1 et 2 = gènes mutés ; Ki67 et méthylation des CpG en %)

3. Expression du miR-92a-3p

3.1 Matériel et méthodes

Pour rappel, la polymerase chain reaction (PCR) est une réaction permettant l'amplification d'un brin d'ADN en passant par des étapes de dénaturation (95°C), d'hybridation (56°C) et d'élongation (72°C) successives. Afin de quantifier cette amplification en temps réel, plusieurs méthodes basées sur la fluorescence existent. Le SYBR[®] Green, un agent intercalant, est l'une d'entre elles. L'incorporation de cet agent au moment de l'élongation augmente avec les cycles de PCR, tout comme son signal fluorescent, permettant la quantification de la réaction.

En raison de leur taille d'environ 22 nucléotides, les miARN ne sont pas amplifiables par des techniques classiques de PCR avec des amorces de taille standard. Ainsi, des techniques de reverse transcription et d'amplification spécifiques de ces petits ARN non-codants ont été développées.

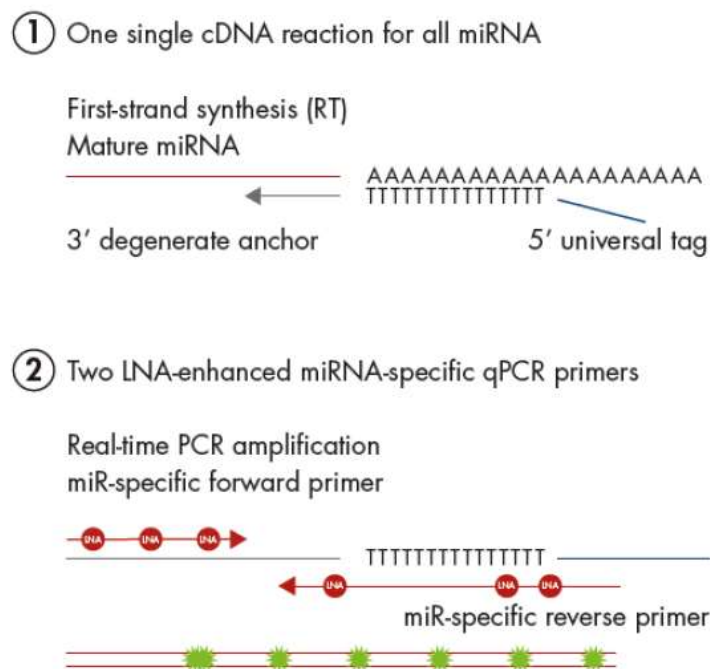


Figure 64. Principe de RT-qPCR adaptée aux miARN par Qiagen¹⁹²

Nous avons choisi d'utiliser la technologie Qiagen (Courtaboeuf, France). Cette dernière repose dans un premier temps sur une reverse transcription (RT) universelle. C'est-à-dire qu'elle permet de transformer l'ensemble des miARN de l'échantillon en ADN complémentaire (ADNc). Pour cela, les miARN, qui ne présentent naturellement pas de queue poly(A), sont polyadénylés par une poly(A) polymérase. L'ADNc est alors synthétisé à partir d'une amorce poly(T), dégénérée en 3' et flanquée d'une séquence connue en 5' (Fig. 64). L'amplification est ensuite réalisée par PCR quantitative (qPCR) à l'aide d'amorces spécifiques d'un miARN d'intérêt. La détection se fait grâce à du SYBR® Green.

A noter qu'une autre technologie développée par ThermoFisher Scientific (Waltham, USA) existe. Elle se base sur une RT spécifique de chaque miARN, initiée par des amorces en tige-boucle. La qPCR, quant à elle, est basée sur la technologie Taqman®.

3.1.1 Extraction d'ARN

Nous avons extrait l'ARN total de fragments de méningiomes congelés de notre cohorte à partir du kit miRNeasy (Qiagen, Courtaboeuf, France). Ce kit d'extraction est conçu pour permettre l'extraction de petits ARN de taille supérieure à 18 nucléotides comme les miARN.

Les méningiomes ont été sortis du -80°C et conservés dans la glace, le temps d'être prélevés de 30 mg de matériel, puis pesés avec une balance de précision. Une fois pesés, les fragments prélevés ont été placés dans 700 µL de QIAzol Lysis Reagent (Qiagen, Courtaboeuf, France) sur glace. Les prélèvements ont ensuite été disruptés à l'aide d'un Ultra-Turrax® (IKA, Staufen, Allemagne), puis homogénéisés, et enfin laissés 5 minutes à température ambiante. Nous avons ensuite suivi les étapes du protocole fournisseur.

Extraction d'ARN	
Etape 1	Les Buffers RWT et RPE ont été régénérés avec de l'éthanol selon les recommandations du fournisseur
Etape 2	Ajouter 140 µL de chloroforme et agiter vigoureusement pendant 15s Laisser reposer 2-3min à température ambiante

Etape 3	Centrifuger 15min à 12.000 G à 4°C pour obtenir 3 phases Phase aqueuse : en haut, incolore, contient l'ARN Interphase : blanche Phase organique : en bas, rouge
Etape 4	Transférer la phase aqueuse dans un tube Ajouter 1,5 volumes d'éthanol 100% et homogénéiser à la pipette Pipeter maximum 700 µL dans la colonne, elle-même dans un tube de 2 mL
Etape 5	Centrifuger à >8.000 G à température ambiante pendant 15s Jeter le liquide ayant traversé la colonne Si >700 µL dans l'échantillon répéter l'étape avec le liquide restant et le même tube 2 mL
Etape 6	Ajouter 700 µL de Buffer RWT dans la colonne Centrifuger à >8000G à température ambiante pendant 15s Jeter le liquide ayant traversé la colonne
Etape 7	Ajouter 500 µL de Buffer RPE dans la colonne Centrifuger à > 8.000G à température ambiante pendant 15s Jeter le liquide ayant traversé la colonne
Etape 8	Ajouter encore 500 µL de Buffer RPE dans la colonne Centrifuger à > 8.000G à température ambiante pendant 2min Récupérer la colonne et jeter le tube de 2 mL
Etape 9	Remettre la colonne dans un tube de 2mL et centrifuger 1min à pleine vitesse dans une centrifugeuse pour éliminer tout résidu de Buffer Mettre la colonne dans un tube de 1,5 mL
Etape 10	Pipeter 30-50 µL d'eau sans RNase dans la colonne Centrifuger à > 8.000G à température ambiante pendant 1min pour éluer l'ARN Répéter cette étape avec le volume élué afin d'optimiser la concentration
Etape 11	Quantification par nanodrop puis conservation à -80°C

Table 14. Protocole d'extraction d'ARN à partir de fragments de méningiomes

3.1.2 Reverse transcription (RT)

Nous avons sorti les échantillons d'ARN du -80°C et laissé décongeler sur glace. Puis dilué les échantillons à 5 ng/μL avec de l'eau sans nucléases. Nous avons utilisé le miRCURY LNA RT kit (Qiagen) pour réaliser la RT.

Décongeler le 5x miRCURY RT SYBR® Green Reaction Buffer (Qiagen) sur glace puis sortir la 10x miRCURY RT Enzyme (Qiagen) au dernier moment. Préparer le mix de RT (Tab. 15) sur glace et homogénéiser à la pipette. Distribuer 8 μl de mix avec 2 μl d'ARN dans chaque puits d'une barrette (volume total = 10 μl). Incuber dans le thermocycleur (Tab. 16). Congeler les cDNA obtenus.

Réactifs	Volumes pour 1 test (μl)
5x miRCURY RT SYBR® Green Reaction Buffer	2
Eau sans nucléases	5
10x miRCURY RT Enzyme	1
ARN à 5 ng/μl	2
Volume final	10

Table 15. Préparation de la réaction de RT

Etapes	Température	Durée
Reverse transcription (RT)	42°C	60min
Inactivation de la réaction	95°C	5min
Fin	4°C	

Table 16. Programme de RT

3.1.3 PCR quantitative en temps réel

Nous avons commandé 3 miRCURY LNA miRNA PCR assays (Qiagen), des amorces spécifiques des ARN non codants : U6, SNORD38B (ARN contrôle) et mir-92a-3p (ARN d'intérêt). Pour les re-suspendre, centrifuger puis ajouter 220 µl d'eau sans nucléase et laisser 20min à RT. Vortexer puis centrifuger avant de stocker à -20°C.

Nous avons choisi comme gènes de ménage un petit ARN nucléaire (U6) et un petit ARN nucléolaire (SNORD38B), tous deux référencés par Qiagen pour la stabilité de leur expression à travers les tissus.

Décongeler le 2x miRCURY SYBR® Green Master Mix (Qiagen), le ROX reference Dye (Qiagen), les échantillons d'ADN complémentaire (ADNc) et les primer. Diluer les cDNA au 1/10^{ème} puis au 1/60ème en ajoutant de l'eau sans RNase aux 10 µL obtenus après la RT.

Le ROX Dye est un composant inerte fluorescent, il n'est donc pas impacté par l'amplification lors de la réaction de PCR. L'ajout de cette molécule au mix de PCR permet la normalisation de la fluorescence entre les échantillons. Pour cela il faut ajouter 10 µL de ROX reference Dye (Qiagen) à 1 mL de 2x miRCURY SYBR® Green Master Mix (Qiagen).

Préparer le mix de PCR (Tab. 17) à température ambiante et homogénéiser. Distribuer 7 µl de mix avec 3 µl de cDNA dans chaque puits (volume total = 10 µl). Distribuer en triplicat pour chaque échantillon, pour un témoin NTC (no template control) composé uniquement du mix de PCR, ainsi que pour un échantillon de BenMen 100 servant de calibrateur inter-plaques. Centrifuger brièvement la plaque puis incubé dans le thermocycleur (Tab. 18).

Réactifs	Volumes pour 1 test (µl)
2x miRCURY SYBR® Green Master Mix + ROX Dye	5
Amorces	1
ADNc (dilué 1/60)	3
Eau sans nucléases	1
Volume final	10

Table 17. Préparation de la réaction de qPCR

Etapes		Température	Durée
Activation par la chaleur		95°C	2min
Dénaturation		95°C	10s
Hybridation / Elongation	40 cycles	56°C	60s
Courbes de fusion		60-95°C	

Table 18. Programme de RT

3.2 Validation de la technique de RT-qPCR

Afin de mettre en place cette qPCR nous avons dû choisir un calibrateur et valider nos assays. Dans ce but, nous avons commencé par réaliser une qPCR avec l'assay U6 sur des culots congelés de 2 million de cellules, issus des 3 lignées cellulaires de méningiomes. Nous avons choisi de conserver la lignée Ben-Men comme calibrateur en raison de son plus faible Ct et de son statut *NF2*-déficient.

Pour qualifier nos assays, nous avons réalisé une gamme à partir de nos Ben-Men à 50, 25, 12.5, 6.25 et 3.125 ng/μL. Pour chacun de ces points nous avons quantifié nos 4 miARN par qPCR et analysé les courbes d'étalonnage, ainsi que les courbes de fusion.

La courbe d'étalonnage est tracée sur un graphique représentant le logarithme du facteur de dilution en fonction du Ct. La courbe d'étalonnage est la courbe de régression passant par chacun des points de la gamme. La pente de cette courbe est liée à l'efficacité de l'amplification. Une efficacité de 100% signifie que la quantité de matériel est doublée à chaque cycle d'amplification. Nous avons obtenu une efficacité comprise entre 100 et 110% pour les assays U6 et SNORD38B. Pour l'assay mir-92a-3p nous avons obtenu une efficacité moindre, de 70%. Ceci s'explique par les deux points de la gamme discordants, correspondant à une erreur de dépôt. Ainsi, nous avons accepté ces assays (Fig. 65).

L'analyse des courbes de fusion permet de s'assurer de la spécificité de nos amorces pour notre cible et la formation d'un unique amplicon. Le SYBR Green[®] est fluorescent quand il est lié à de l'ADN double brin, mais ne l'est pas quand il est libre ou en présence d'ADN simple brin. Le principe est donc d'augmenter progressivement la température jusqu'à dissociation des ADN double brin en ADN simple brin, ce qui aboutit à une diminution de la fluorescence. Cette

analyse est réalisée en fin de programme, après la réaction d'amplification. La décroissance de la fluorescence est représentée par une courbe sur un graphique exprimant la température en fonction de la dérivée de la fluorescence. Cette décroissance de fluorescence étant spécifique de la température de fusion des primers, un pic est spécifique d'un amplicon. La présence d'un unique pic lors de l'analyse des courbes de fusion assure la spécificité de l'assay pour un unique amplicon. L'analyse des courbes de fusion de nos primers confirme la spécificité de ces derniers (Fig. 66).

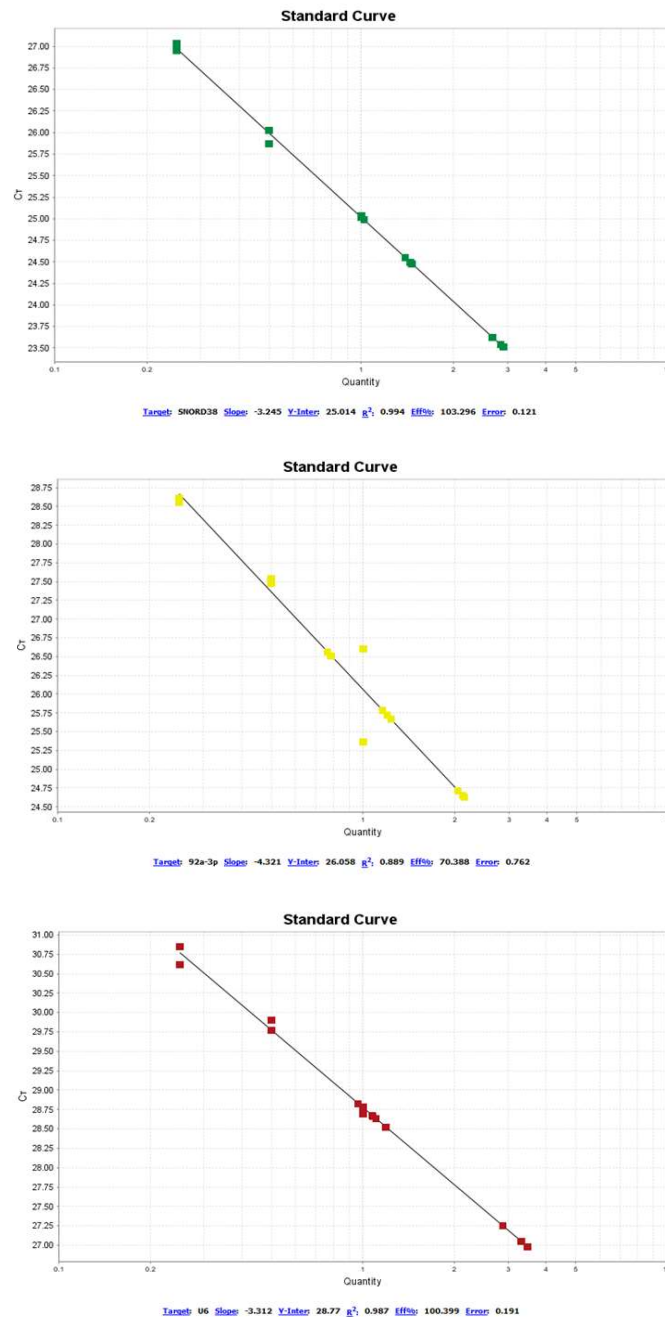


Figure 65. Courbes d'étalonnage des assays SNORD38B, miR-92a-3p et U6

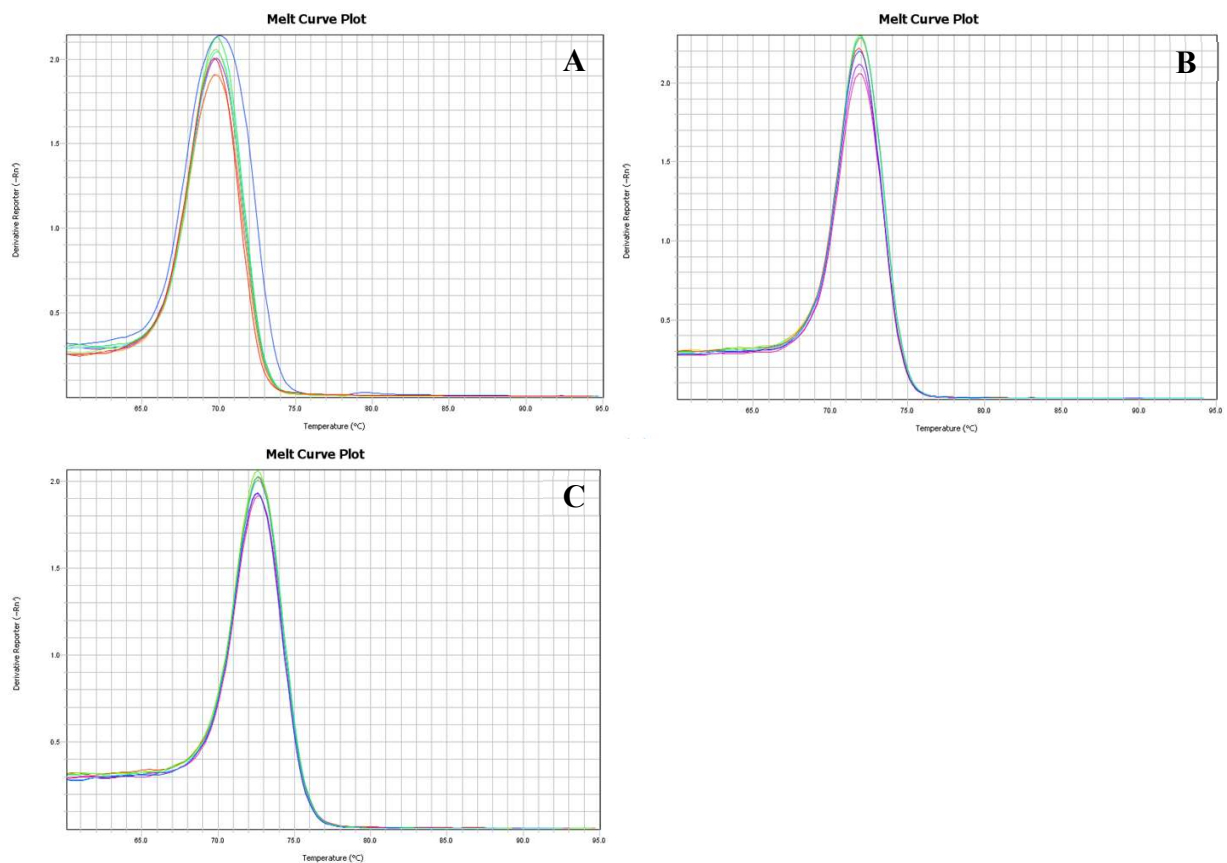


Figure 66. Courbes de fusion des assays de qPCR

- A. U6
- B. SNORD38B
- C. miR-92a-3p

3.3 Statistiques

Les diagrammes en boîtes ont été réalisés à partir d'Excel (Microsoft® Office). Les tests de Mann Whitney, les coefficients de corrélation (test de Spearman) et la régression linéaire ont été calculés à l'aide du logiciel PRISM.

3.4 Résultats

Nous avons étudié la corrélation entre l'expression du transcrite du gène *NF2* et celle du miR-92a-3p. Ces valeurs sont décrites dans la Table 19. Nous observons une corrélation négative non significative entre ces deux ARN quantifiés (corrélation Spearman : $r = -0.27$ et $p\text{-value} = 0.19$) excepté pour le méningiome M533.

En effet, cette tumeur présente un taux de miR-92a-3p et de transcrit *NF2* plus de deux fois supérieur à la majorité des échantillons. Nous avons donc décidé de ne pas l'inclure dans cette analyse afin de ne pas biaiser les résultats obtenus pour les autres méningiomes.

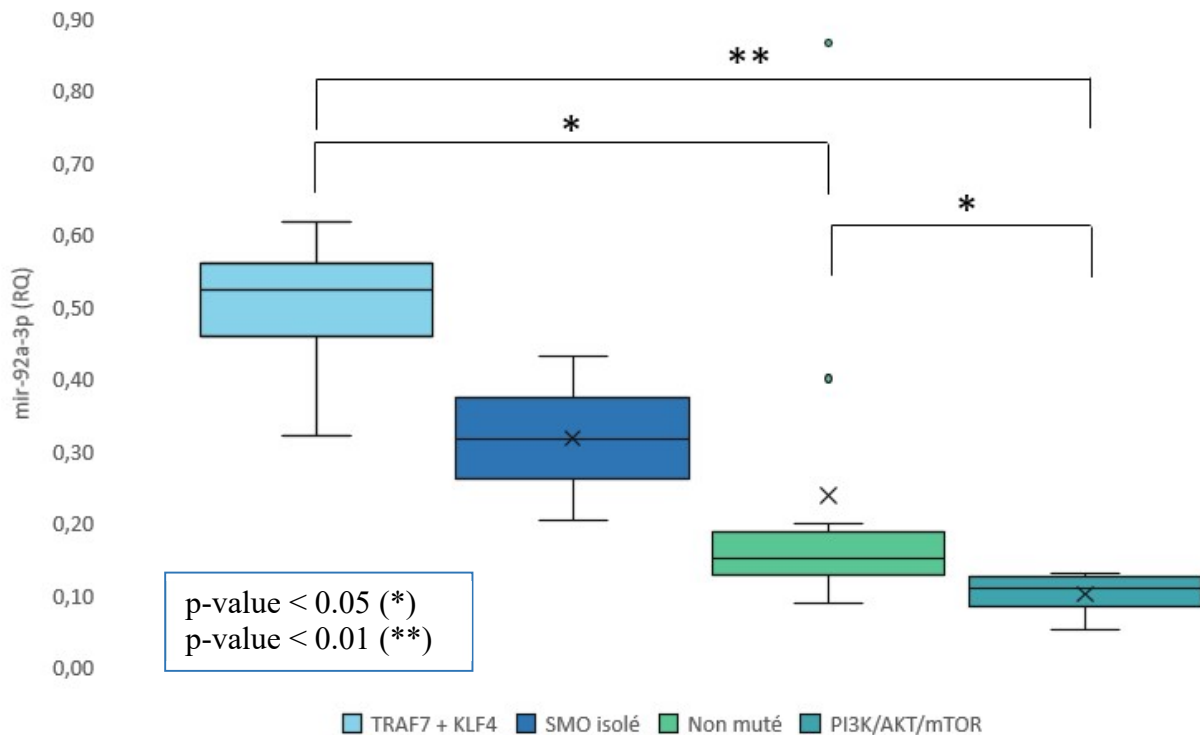


Figure 67. Expression du miR-92a-3p selon les mutations retrouvées en NGS (*TRAF7 + KLF4* n = 4 ; *SMO* n = 2 ; Non mutés n = 10 ; *PI3K/AKT/mTOR* n = 6)

Nous nous sommes intéressés aux corrélations possibles entre l'expression du miR-92a-3p et des caractéristiques génomiques et cliniques des méningiomes de notre cohorte. Les méningiomes sécrétoires (*TRAF7 + KLF4* mutés) expriment le miR-92a-3p significativement plus que les autres tumeurs. Les méningiomes avec des mutations activatrices de la voie *PI3K/AKT/mTOR* expriment significativement moins ce micro-ARN que les autres groupes. Il existe une disparité d'expression du miR-92a-3p parmi les méningiomes non mutés. Aucune différence significative n'a été observée parmi les tumeurs isolément mutées *SMO*, ce groupe étant composé de seulement 2 échantillons (Fig. 67). Par ailleurs, aucune corrélation n'a été mise en évidence entre l'expression du miR-92a-3p et le grade OMS 2021, le Ki67, l'index mitotique ou encore le sous-type histologique.

De ces observations nous avons émis l’hypothèse que la cible de ce miR-92a-3p serait la voie PI3K/AKT/mTOR au sens large. C’est à dire que l’activation de cette voie par ce micro-ARN pourrait être un mécanisme alternatif à l’activation de cette voie (i) suite à la perte du contrôle négatif par mutation du gène *NF2* ou (ii) par des mutations activatrices de gènes de la voie des PI3Kinases. En effet, le miR-92a-3p cible à la fois *NF2* et *PTEN*, tous deux impliqués dans la régulation négative de cette voie. De plus, les 6 méningiomes avec une activation constitutive de la voie des PI3Kinases, secondaire à une mutation, présentent une expression du miR-92a-3p très faible. Ainsi, nous avons décidé d’étudier la corrélation entre l’expression de ce micro-ARN et le transcrite *NF2* en excluant les tumeurs présentant des mutations activatrices de la voie PI3K/AKT/mTOR (tout comme nous avons initialement exclu les méningiomes *NF2*-déficients de notre étude). Nous observons alors une corrélation négative significative entre ces deux ARN quantifiés (corrélation Spearman : $r = -0.55$ et $p\text{-value} = 0.014$; régression linéaire $p\text{-value} = 0.011$) (Fig. 68).

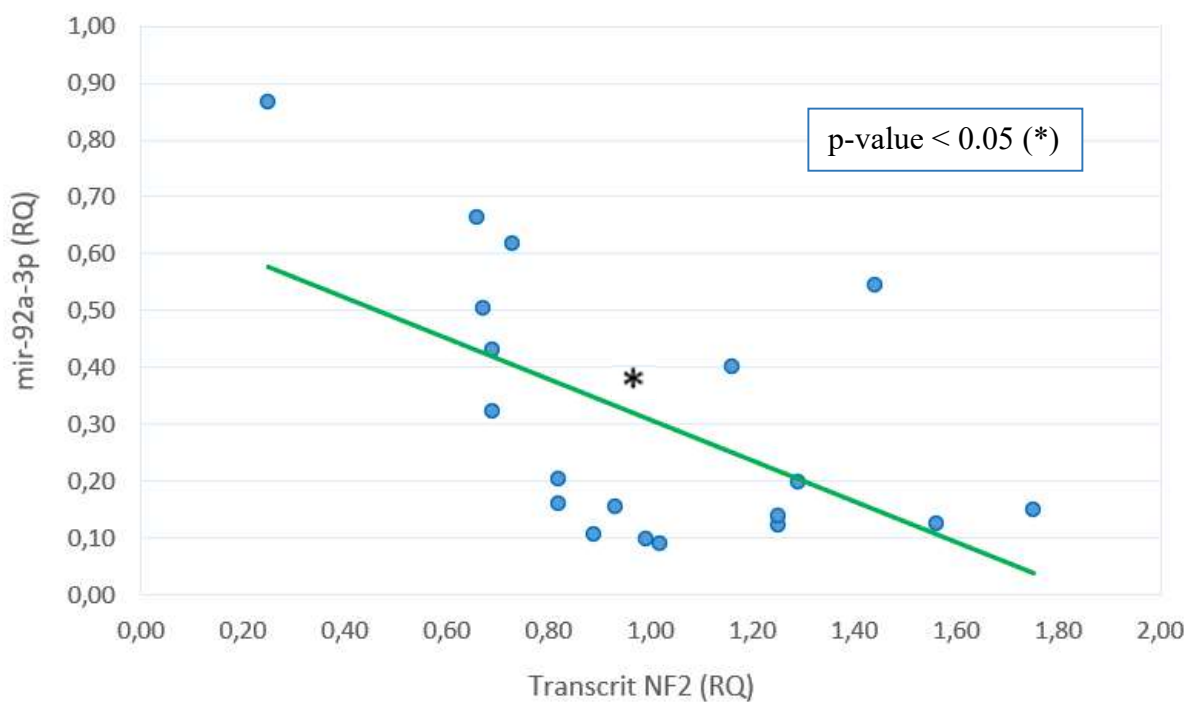


Figure 68. Relation entre l’expression du transcrite *NF2* et du miR-92a-3p parmi 19 méningiomes de notre cohorte (hors tumeurs mutées PI3K/AKT/mTOR)

ID	Statut NF2	Transcrit NF2	miR-92a-3p	Âge	Sexe	Histologie	Mitoses	Ki67	Grade	Gène 1	Gène 2
M405	wt	0,25	0,87	61	M	Méningothélial	< 1/10	4	I		
M478	wt	0,62	0,10	69	M	Transitionnel	1/10	7	I	TRAF7	AKT1
M603	wt	0,66	0,66	72	F	Méningothélial	NR	4	I	TRAF7	
M419	wt	0,67	0,50	54	F	Sécrétoire	< 1/10	7	I	TRAF7	KLF4
M447	wt	0,69	0,32	56	F	Sécrétoire	< 1/10	7	I	TRAF7	KLF4
M520	wt	0,69	0,13	47	F	Transitionnel	< 1/10	2	I	TRAF7	PIK3CA
M589	wt	0,69	0,43	64	F	Transitionnel	< 1/10	3	I	SMO	
M506	wt	0,73	0,62	77	M	Sécrétoire	NR	1	I	TRAF7	KLF4
M475	wt	0,82	0,05	52	F	Transitionnel	1/10	4	I	TRAF7	AKT1
M515	wt	0,82	0,20	58	M	Méningothélial	2/10	5	I	SMO	
M588	wt	0,82	0,16	51	F	Méningothélial	1,5/10	6	I		
M482	wt	0,83	0,08	61	F	Transitionnel	1/10	4	I	TRAF7	PIK3CA
M408	wt	0,89	0,11	34	M	Atypique	4/10	15	II		
M445	wt	0,93	0,16	78	M	Atypique	4/10	15	II		
M490	wt	0,94	0,12	62	M	Transitionnel	2/10	4	I	TRAF7	AKT1
M444	wt	0,99	0,10	77	F	Atypique	4/10	10	II	TRAF7	
M615	wt	1,02	0,09	75	F	Transitionnel	NR	3	I		
M456	wt	1,16	0,40	65	M	Atypique	5/10	15	II		
M423	wt	1,25	0,12	48	F	Méningothélial	1/10	4	I	TRAF7	SMO
M496	wt	1,25	0,14	71	F	Méningothélial	1/10	5	I		
M512	wt	1,29	0,20	71	M	Atypique	5/10	20	II		
M538	wt	1,44	0,54	52	F	Sécrétoire	1/10	3	I	TRAF7	KLF4
M554	wt	1,56	0,13	69	F	Transitionnel	1/10	3	I		
M465	wt	1,59	0,13	66	F	Atypique	2/10	2	II	AKT1	
M491	wt	1,75	0,15	50	M	Atypique	7/10	15	II		
M533	wt	2,52	2,05	67	M	Méningothélial	2/10	2	I		

Table 19. Résultats de quantification relative par RT-qPCR du miR-92a-3p sur 26 méningiomes de notre cohorte

(wt = wild-type ; Gènes 1 et 2 = gènes mutés ; Ki67 en %)

4. Discussion

L'épigénétique est un sujet d'actualité en oncologie, notamment avec l'avènement du méthylome et le développement de « thérapies épigénétiques ». Le gène *NF2* a quant à lui été largement étudié, notamment du fait de son implication dans la neurofibromatose de type 2 et dans la cancérogenèse des méningiomes. Cependant, les études s'intéressant à la régulation épigénétique de *NF2* dans ces tumeurs sont rares, discordantes et inégales méthodologiquement (Tab. 20) ¹⁹³⁻¹⁹⁵.

Sur des méningiomes, *Lomas et al.*, 2005 mettent en évidence 23/88 tumeurs présentant une méthylation du promoteur de *NF2* ¹⁹³. Contrairement à *Van Tilborg et al.*, 2006 et *Hansson et al.*, 2007 qui en retrouvent respectivement 1/21 et 1/100 ^{194,195}. D'autres équipes se sont intéressées aux schwannomes vestibulaires, trouvant ainsi 14/23 tumeurs méthylées pour *Kino et al.*, 2001, 8/44 pour *Gonzalez-Gomez et al.*, 2003, 4/39 pour *Kullar et al.*, 2010, 0/23 pour *Koutsimpelas et al.*, 2012 et 0/30 pour *Lee et al.*, 2012 ¹⁹⁶⁻²⁰⁰. Concernant la méthylation du promoteur de *NF2*, l'étude la plus robuste semble être celle de *Hansson et al.*, 2007 réalisée sur 100 méningiomes par pyroséquençage. Ils ne retrouvent pas d'hyperméthylation du promoteur, à l'exception d'un méningiome présentant une méthylation de 40% d'un dinucléotide CpG situé dans l'intron 1. La méthylation du promoteur de *NF2* ne serait donc pas un mécanisme moléculaire impliqué dans les méningiomes. Ces résultats sont concordants avec ceux de *Van Tilborg et al.*, 2006 et les nôtres, bien que discordants de ceux de *Lomas et al.*, 2005 ¹⁹³⁻¹⁹⁵.

Etude	<i>Lomas et al.</i> , 2005	<i>Van Tilborg et al.</i> , 2006	<i>Hansson et al.</i> , 2007
Méningiomes totaux	88	21	100
Méningiomes méthylés <i>NF2</i>	23 (26 %)	1 (5 %)	1 (1 %)
Technique utilisée	Méthylation specific PCR	Méthylation specific PCR	Pyroséquençage

Table 20. Résultats de 3 études s'intéressant à la méthylation du promoteur de *NF2* dans les méningiomes ¹⁹³⁻¹⁹⁵

Dans notre série de 28 méningiomes *NF2*-wt, nous n'avons pas identifié d'hyperméthylation du promoteur de *NF2*, sur les 11 dinucléotides CpG étudiés, pouvant expliquer les différences d'expression relative du transcrit *NF2* parmi ces tumeurs. Ce mécanisme n'est *a priori* pas impliqué dans ces méningiomes, ni dans les 4 méningiomes de grade III testés.

Nous nous sommes donc intéressés au miR-92a-3p pour expliquer la variation de quantification du transcrit *NF2* parmi notre cohorte de méningiomes. Le miR-92a-3p est décrit comme impliqué, entre autres, dans les cancers du sein, de l'œsophage, colorectal, du poumon ou encore les hépatocarcinomes²⁰¹⁻²⁰⁵. Ce micro-ARN présente plusieurs cibles impliquées en oncologie dont le gène *NF2*¹⁹⁰. L'équipe d'*Alcantara et al.*, 2019 a montré que sa surexpression dans des cellules d'adénocarcinomes colorectal et pulmonaire permettait l'inhibition spécifique de *NF2* et une diminution de son transcrit. Notre étude met également en évidence une corrélation négative significative ($p < 0.05$) entre le miR-92a-3p et l'expression de l'ARNm de *NF2*, parmi 19 méningiomes sans altération génétique de *NF2* ou de la voie des PI3Kinases. La surexpression de ce micro-ARN permettrait d'expliquer la variation d'expression du transcrit *NF2* observée dans notre série de méningiomes *NF2*-wt, en entraînant sa dégradation.

Parmi les cibles du miR-92a-3p nous retrouvons également deux gènes impliqués dans les méningiomes : *PTEN* et *KLF4*. Plusieurs études ont décrit le rôle de ce micro-ARN dans la régulation négative de ces deux gènes dans l'oncogenèse²⁰¹⁻²⁰⁵.

L'inhibition de *PTEN*, tout comme celle de *NF2*, entraînerait une activation de la voie PI3K/AKT/mTOR. La corrélation entre l'expression de *NF2* et du miR-92a-3p, et le lien entre *PTEN* et ce micro-ARN nous permettent d'émettre une hypothèse selon laquelle la surexpression du miR-92a-3p serait un événement alternatif aux mutations de *NF2* et des gènes de la voie des PI3Kinases dans la tumorigenèse, contribuant à l'activation de cette voie. Cette hypothèse est renforcée par le fait que les 6 méningiomes présentant une mutation d'un gène de la voie des PI3Kinases ($TRAF7 + PIK3CA = 2$, $TRAF7 + AKT1 = 3$, $AKT1 = 1$), et donc ayant déjà une activation constitutive de cette voie, n'expriment que très faiblement ce miR-92a-3p avec une moyenne de quantification relative de 0.10 ± 0.03 (Fig. 68, $p < 0.01$). Nous pouvons nous demander si des mutations de gènes de la voie PI3K/AKT/mTOR comme *PIK3R1* ou *AKT3*, non explorées par notre panel, ne pourraient pas expliquer les méningiomes non mutés de notre cohorte n'exprimant que très faiblement le miR-92a-3p.

Par ailleurs, nous avons observé que les 4 méningiomes mutés *TRAF7 + KLF4* exprimaient plus fortement le miR-92a-3p ($p < 0.01$). Une hypothèse serait que la surexpression de ce micro-ARN dans les méningiomes sécrétoires (*TRAF7 + KLF4*) renforcerait l'inhibition de *KLF4*, une des cibles de ce dernier, comme un second « hit » sur l'allèle non muté de *KLF4*.

Ces hypothèses nécessitent d'être confirmées sur une plus large cohorte de méningiomes et étayées par des techniques complémentaires comme des Western-blot des protéines NF2, KLF4 et PTEN afin d'affirmer un lien de causalité entre ce micro-ARN et les mécanismes évoqués.

A noter que les méningiomes pourraient subir une inactivation de Merlin par d'autres moyens. Plusieurs autres micro-ARN sont décrits comme pouvant cibler le transcrit *NF2* dans les tumeurs. Une inhibition post-traductionnelle médiée par les calpaïnes est également décrite, provoquant la protéolyse de Merlin ²⁰⁶.

VI. Conclusion

Bien que la méthylation du promoteur de *NF2* n'explique pas l'oncogenèse de ces tumeurs, la surexpression du miR-92a-3p dans les méningiomes est une piste intéressante dans sa compréhension. Les nombreuses cibles des micro-ARN compliquent la caractérisation des mécanismes moléculaires qu'ils régulent. Cependant, la littérature semble s'accorder sur l'importance de ce micro-ARN en oncologie. Il est intéressant de noter que ce miR-92a-3p présente également des propriétés anti-angiogéniques. Un inhibiteur de ce micro-ARN (MRG-110) a ainsi fait l'objet d'essais de phase I dans l'optique de promouvoir l'angiogenèse dans la cicatrisation des plaies et les pathologies ischémiques ²⁰⁷⁻²⁰⁹. Il serait ainsi intéressant de tester cet inhibiteur sur des tumeurs surexprimant le miR-92a-3p.

BIBLIOGRAPHIE

1. Ostrom, Q. T. *et al.* CBTRUS Statistical Report: Primary Brain and Other Central Nervous System Tumors Diagnosed in the United States in 2015-2019. *Neuro-Oncol.* **24**, v1–v95 (2022).
2. WHO Classification of Tumours Editorial, W. C. of T. E. *Central Nervous System Tumours 5th Edition.*
3. Nassiri, F. *et al.* A clinically applicable integrative molecular classification of meningiomas. *Nature* **597**, 119–125 (2021).
4. Fountain, D. M. *et al.* The spatial phenotype of genotypically distinct meningiomas demonstrate potential implications of the embryology of the meninges. *Oncogene* **40**, 875–884 (2021).
5. Yuzawa, S., Nishihara, H. & Tanaka, S. Genetic landscape of meningioma. *Brain Tumor Pathol.* **33**, 237–247 (2016).
6. Okano, A. *et al.* Associations of pathological diagnosis and genetic abnormalities in meningiomas with the embryological origins of the meninges. *Sci. Rep.* **11**, 6987 (2021).
7. Bachir, S. *et al.* Neurofibromatosis Type 2 (NF2) and the Implications for Vestibular Schwannoma and Meningioma Pathogenesis. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 690 (2021).
8. Baqué, P. *Manuel Pratique d'Anatomie.*
9. Dasgupta, K. & Jeong, J. Developmental biology of the meninges. *Genes. N. Y. N 2000* **57**, e23288 (2019).
10. Boetto, J., Peyre, M. & Kalamarides, M. Meningiomas from a developmental perspective: exploring the crossroads between meningeal embryology and tumorigenesis. *Acta Neurochir. (Wien)* **163**, 57–66 (2021).

11. Kalamarides, M. *et al.* Identification of a progenitor cell of origin capable of generating diverse meningioma histological subtypes. *Oncogene* **30**, 2333–2344 (2011).
12. Yamashima, T. *et al.* Prostaglandin D synthase (beta-trace) in human arachnoid and meningioma cells: roles as a cell marker or in cerebrospinal fluid absorption, tumorigenesis, and calcification process. *J. Neurosci. Off. J. Soc. Neurosci.* **17**, 2376–2382 (1997).
13. Delgado-López, P. D., Cubo-Delgado, E., González-Bernal, J. J. & Martín-Alonso, J. A Practical Overview on the Molecular Biology of Meningioma. *Curr. Neurol. Neurosci. Rep.* **20**, 62 (2020).
14. Nanda, A. *et al.* Relevance of Simpson grading system and recurrence-free survival after surgery for World Health Organization Grade I meningioma. *J. Neurosurg.* **126**, 201–211 (2017).
15. Al-Rashed, M., Foshay, K. & Abedalthagafi, M. Recent Advances in Meningioma Immunogenetics. *Front. Oncol.* **9**, (2020).
16. Karsy, M. *et al.* Clinical potential of meningioma genomic insights: a practical review for neurosurgeons. *Neurosurg. Focus* **44**, E10 (2018).
17. Kane, A. J. *et al.* Anatomic location is a risk factor for atypical and malignant meningiomas. *Cancer* **117**, 1272–1278 (2011).
18. Cornelius, J. F. *et al.* Malignant potential of skull base versus non-skull base meningiomas: clinical series of 1,663 cases. *Acta Neurochir. (Wien)* **155**, 407–413 (2013).
19. C, C., M, D. B. & F, D. Falcine meningiomas. *Handb. Clin. Neurol.* **170**, (2020).
20. Mathiesen, T. Parasagittal meningiomas. *Handb. Clin. Neurol.* **170**, 93–100 (2020).
21. Hasegawa, T. *et al.* Gamma Knife surgery for convexity, parasagittal, and falcine meningiomas. *J. Neurosurg.* **114**, 1392–1398 (2011).
22. Sughrue, M. E. *et al.* Results with judicious modern neurosurgical management of parasagittal and falcine meningiomas. Clinical article. *J. Neurosurg.* **114**, 731–737 (2011).

23. Hohenberger, C. *et al.* Spinal meningiomas. *Neuro-Oncol. Adv.* **5**, i112–i121 (2023).
24. Saraceni, C. & Harrop, J. S. Spinal meningioma: chronicles of contemporary neurosurgical diagnosis and management. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **111**, 221–226 (2009).
25. Gottfried, O. N., Gluf, W., Quinones-Hinojosa, A., Kan, P. & Schmidt, M. H. Spinal meningiomas: surgical management and outcome. *Neurosurg. Focus* **14**, 1–7 (2003).
26. Jamilson Araújo Pereira, B. *et al.* Neuro-oncological features of spinal meningiomas: Systematic review. *Neurochirurgie.* **66**, 41–44 (2020).
27. Sayagués, J. M. *et al.* Microarray-Based Analysis of Spinal versus Intracranial Meningiomas: Different Clinical, Biological, and Genetic Characteristics Associated with Distinct Patterns of Gene Expression. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **65**, 445–454 (2006).
28. Gezen, F., Kahraman, S., Çanakci, Z. & Bedük, A. Review of 36 Cases of Spinal Cord Meningioma. *Spine* **25**, 727–31 (2000).
29. Smith, M. J. *et al.* Loss-of-function mutations in SMARCE1 cause an inherited disorder of multiple spinal meningiomas. *Nat. Genet.* **45**, 295–298 (2013).
30. Hua, L. *et al.* Two predominant molecular subtypes of spinal meningioma: thoracic NF2-mutant tumors strongly associated with female sex, and cervical AKT1-mutant tumors originating ventral to the spinal cord. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **144**, 1053–1055 (2022).
31. Grujicic, D. *et al.* Intraventricular Meningiomas: A Series of 42 Patients at a Single Institution and Literature Review. *World Neurosurg.* **97**, 178–188 (2017).
32. Lyngdoh, B. T. *et al.* Intraventricular meningiomas: a surgical challenge. *J. Clin. Neurosci. Off. J. Neurosurg. Soc. Australas.* **14**, 442–448 (2007).
33. Luo, W., Xu, Y., Yang, J., Liu, Z. & Liu, H. Fourth Ventricular Meningiomas. *World Neurosurg.* **127**, e1201–e1209 (2019).
34. Goutagny, S. & Kalamarides, M. Meningiomas and neurofibromatosis. *J. Neurooncol.* **99**, 341–347 (2010).

35. Douglas, V. P., Douglas, K. A. A. & Cestari, D. M. Optic nerve sheath meningioma. *Curr. Opin. Ophthalmol.* **31**, 455–461 (2020).
36. Shapey, J., Sabin, H. I., Danesh-Meyer, H. V. & Kaye, A. H. Diagnosis and management of optic nerve sheath meningiomas. *J. Clin. Neurosci. Off. J. Neurosurg. Soc. Australas.* **20**, 1045–1056 (2013).
37. Elder, T. A. *et al.* En Plaque Meningiomas: A Narrative Review. *J. Neurol. Surg. Part B Skull Base* **82**, e33–e44 (2021).
38. Magill, S. T. *et al.* Relationship between tumor location, size, and WHO grade in meningioma. *Neurosurg. Focus* **44**, E4 (2018).
39. Buttrick, S., Shah, A. H., Komotar, R. J. & Ivan, M. E. Management of Atypical and Anaplastic Meningiomas. *Neurosurg. Clin. N. Am.* **27**, 239–247 (2016).
40. Agopiantz, M., Carnot, M., Denis, C., Martin, E. & Gauchotte, G. Hormone Receptor Expression in Meningiomas: A Systematic Review. *Cancers* **15**, 980 (2023).
41. Youngblood, M. W. *et al.* Correlations between genomic subgroup and clinical features in a cohort of more than 3000 meningiomas. *J. Neurosurg.* 1–10 (2019) doi:10.3171/2019.8.JNS191266.
42. Sun, C. *et al.* The Preferred Locations of Meningioma According to Different Biological Characteristics Based on Voxel-Wise Analysis. *Front. Oncol.* **10**, 1412 (2020).
43. Wu, W. *et al.* Clinical Significance of Somatostatin Receptor (SSTR) 2 in Meningioma. *Front. Oncol.* **10**, 1633 (2020).
44. Korhonen, K. *et al.* Exogenous sex hormone use and risk of meningioma: a population-based case-control study in Finland. *Cancer Causes Control CCC* **21**, 2149–2156 (2010).
45. Cea-Soriano, L., Blenk, T., Wallander, M.-A. & Rodríguez, L. A. G. Hormonal therapies and meningioma: is there a link? *Cancer Epidemiol.* **36**, 198–205 (2012).

46. Claus, E. B. *et al.* Exogenous hormone use, reproductive factors, and risk of intracranial meningioma in females. *J. Neurosurg.* **118**, 649–656 (2013).
47. Michaud, D. S. *et al.* Reproductive factors and exogenous hormone use in relation to risk of glioma and meningioma in a large European cohort study. *Cancer Epidemiol. Biomark. Prev. Publ. Am. Assoc. Cancer Res. Cosponsored Am. Soc. Prev. Oncol.* **19**, 2562–2569 (2010).
48. Pettersson-Segerlind, J. *et al.* The risk of developing a meningioma during and after pregnancy. *Sci. Rep.* **11**, 9153 (2021).
49. Samoyeau, T. *et al.* Meningioma in patients exposed to progestin drugs: results from a real-life screening program. *J. Neurooncol.* **160**, 127–136 (2022).
50. Yamanaka, R., Hayano, A. & Kanayama, T. Radiation-Induced Meningiomas: An Exhaustive Review of the Literature. *World Neurosurg.* **97**, 635-644.e8 (2017).
51. Bowers, D. C. *et al.* Morbidity and Mortality Associated With Meningioma After Cranial Radiotherapy: A Report From the Childhood Cancer Survivor Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **35**, 1570–1576 (2017).
52. Kok, J. L. *et al.* Risk of benign meningioma after childhood cancer in the DCOG-LATER cohort: contributions of radiation dose, exposed cranial volume, and age. *Neuro-Oncol.* **21**, 392–403 (2019).
53. Umansky, F., Shoshan, Y., Rosenthal, G., Fraifeld, S. & Spektor, S. Radiation-induced meningioma. *Neurosurg. Focus* **24**, E7 (2008).
54. Joachim, T. *et al.* Comparative analysis of the NF2, TP53, PTEN, KRAS, NRAS and HRAS genes in sporadic and radiation-induced human meningiomas. *Int. J. Cancer* **94**, 218–221 (2001).
55. Shoshan, Y. *et al.* Radiation-induced meningioma: a distinct molecular genetic pattern? *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **59**, 614–620 (2000).

56. Arai, E., Ikeuchi, T. & Nakamura, Y. Characterization of the translocation breakpoint on chromosome 22q12.2 in a patient with neurofibromatosis type 2 (NF2). *Hum. Mol. Genet.* **3**, 937–939 (1994).
57. Halliday, D. *et al.* Genetic Severity Score predicts clinical phenotype in NF2. *J. Med. Genet.* **54**, 657–664 (2017).
58. Plotkin, S. R. *et al.* Updated diagnostic criteria and nomenclature for neurofibromatosis type 2 and schwannomatosis: An international consensus recommendation. *Genet. Med. Off. J. Am. Coll. Med. Genet.* **24**, 1967–1977 (2022).
59. Knudson, A. G. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **68**, 820–823 (1971).
60. Kehrer-Sawatzki, H., Farschtschi, S., Mautner, V.-F. & Cooper, D. N. The molecular pathogenesis of schwannomatosis, a paradigm for the co-involvement of multiple tumour suppressor genes in tumorigenesis. *Hum. Genet.* **136**, 129–148 (2017).
61. Sestini, R., Bacci, C., Provenzano, A., Genuardi, M. & Papi, L. Evidence of a four-hit mechanism involving SMARCB1 and NF2 in schwannomatosis-associated schwannomas. *Hum. Mutat.* **29**, 227–231 (2008).
62. Dhamija, R., Plotkin, S., Gomes, A. & Babovic-Vuksanovic, D. LZTR1- and SMARCB1-Related Schwannomatosis. in *GeneReviews® [Internet]* (University of Washington, Seattle, 2023).
63. van den Munckhof, P., Christiaans, I., Kenter, S. B., Baas, F. & Hulsebos, T. J. M. Germline SMARCB1 mutation predisposes to multiple meningiomas and schwannomas with preferential location of cranial meningiomas at the falx cerebri. *Neurogenetics* **13**, 1–7 (2012).
64. Smith, M. J. *et al.* Frequency of SMARCB1 mutations in familial and sporadic schwannomatosis. *Neurogenetics* **13**, 141–145 (2012).

65. Smith, M. J. Germline and somatic mutations in meningiomas. *Cancer Genet.* **208**, 107–114 (2015).
66. Smith, M. J. *et al.* Germline SMARCE1 mutations predispose to both spinal and cranial clear cell meningiomas. *J. Pathol.* **234**, 436–440 (2014).
67. Aavikko, M. *et al.* Loss of SUFU function in familial multiple meningioma. *Am. J. Hum. Genet.* **91**, 520–526 (2012).
68. Prasad, R. N. *et al.* Germline BAP1 Mutation in a Family With Multi-Generational Meningioma With Rhabdoid Features: A Case Series and Literature Review. *Front. Oncol.* **11**, 721712 (2021).
69. Huntoon, K., Toland, A. M. S. & Dahiya, S. Meningioma: A Review of Clinicopathological and Molecular Aspects. *Front. Oncol.* **10**, 579599 (2020).
70. Watts, J. *et al.* Magnetic resonance imaging of meningiomas: a pictorial review. *Insights Imaging* **5**, 113–122 (2014).
71. Euskirchen, P. & Peyre, M. Management of meningioma. *Presse Medicale Paris Fr.* **1983** **47**, e245–e252 (2018).
72. Regelsberger, J. *et al.* Secretory meningiomas: a benign subgroup causing life-threatening complications. *Neuro-Oncol.* **11**, 819–824 (2009).
73. Hennrich, U. & Benešová, M. [68Ga]Ga-DOTA-TOC: The First FDA-Approved 68Ga-Radiopharmaceutical for PET Imaging. *Pharm. Basel Switz.* **13**, 38 (2020).
74. Marastoni, E. & Barresi, V. Atypical meningioma: Histopathological, genetic, and epigenetic features to predict recurrence risk. *Histol. Histopathol.* **39**, 293–302 (2024).
75. Bi, W. L. *et al.* Genomic landscape of intracranial meningiomas. *J. Neurosurg.* **125**, 525–535 (2016).
76. Cooper, J. & Giancotti, F. G. Molecular insights into NF2/Merlin tumor suppressor function. *FEBS Lett.* **588**, 2743–2752 (2014).

77. Lee, S. *et al.* The Role of Merlin/NF2 Loss in Meningioma Biology. *Cancers* **11**, 1633 (2019).
78. Petrilli, A. M. & Fernández-Valle, C. Role of Merlin/NF2 inactivation in tumor biology. *Oncogene* **35**, 537–548 (2016).
79. Ma, S., Meng, Z., Chen, R. & Guan, K.-L. The Hippo Pathway: Biology and Pathophysiology. *Annu. Rev. Biochem.* **88**, 577–604 (2019).
80. Li, W. *et al.* Merlin/NF2 loss-driven tumorigenesis linked to CRL4(DCAF1)-mediated inhibition of the hippo pathway kinases Lats1 and 2 in the nucleus. *Cancer Cell* **26**, 48–60 (2014).
81. Pawloski, J. A., Fadel, H. A., Huang, Y.-W. & Lee, I. Y. Genomic Biomarkers of Meningioma: A Focused Review. *Int. J. Mol. Sci.* **22**, 10222 (2021).
82. Bi, W. L., Prabhu, V. C. & Dunn, I. F. High-grade meningiomas: biology and implications. *Neurosurg. Focus* **44**, E2 (2018).
83. Clark, V. E. *et al.* Recurrent somatic mutations in POLR2A define a distinct subset of meningiomas. *Nat. Genet.* **48**, 1253–1259 (2016).
84. Bi, W. L. *et al.* Genomic landscape of high-grade meningiomas. *NPJ Genomic Med.* **2**, 15 (2017).
85. Sievers, P. *et al.* YAP1-fusions in pediatric NF2-wildtype meningioma. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **139**, 215–218 (2020).
86. Schieffer, K. M. *et al.* YAP1-FAM118B Fusion Defines a Rare Subset of Childhood and Young Adulthood Meningiomas. *Am. J. Surg. Pathol.* **45**, 329–340 (2021).
87. Nobee, A., Xu, M., Seth, A. & Rong, Y. Atypical Intraparenchymal Meningioma with YAP1-MAML2 Fusion in a Young Adult Male: A Case Report and Mini Literature Review. *Int. J. Mol. Sci.* **24**, 12814 (2023).

88. Esposito, S. *et al.* Interhemispheric Pediatric Meningioma, YAP1 Fusion-Positive. *Diagn. Basel Switz.* **12**, 2367 (2022).
89. Szulzewsky, F., Holland, E. C. & Vasioukhin, V. YAP1 and its fusion proteins in cancer initiation, progression and therapeutic resistance. *Dev. Biol.* **475**, 205–221 (2021).
90. Szulzewsky, F. *et al.* Comparison of tumor-associated YAP1 fusions identifies a recurrent set of functions critical for oncogenesis. *Genes Dev.* **34**, 1051–1064 (2020).
91. Mittal, P. & Roberts, C. W. M. The SWI/SNF complex in cancer - biology, biomarkers and therapy. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **17**, 435–448 (2020).
92. Ribeiro-Silva, C., Vermeulen, W. & Lans, H. SWI/SNF: Complex complexes in genome stability and cancer. *DNA Repair* **77**, 87–95 (2019).
93. Kalimuthu, S. N. & Chetty, R. Gene of the month: SMARCB1. *J. Clin. Pathol.* **69**, 484–489 (2016).
94. Birzu, C., Peyre, M. & Sahm, F. Molecular alterations in meningioma: prognostic and therapeutic perspectives. *Curr. Opin. Oncol.* **32**, 613–622 (2020).
95. St Pierre, R. *et al.* SMARCE1 deficiency generates a targetable mSWI/SNF dependency in clear cell meningioma. *Nat. Genet.* **54**, 861–873 (2022).
96. Sievers, P. *et al.* Clear cell meningiomas are defined by a highly distinct DNA methylation profile and mutations in SMARCE1. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **141**, 281–290 (2021).
97. Smith, M. J. *et al.* SMARCE1 mutation screening in classification of clear cell meningiomas. *Histopathology* **70**, 814–820 (2017).
98. Williams, E. A. *et al.* Distinct genomic subclasses of high-grade/progressive meningiomas: NF2-associated, NF2-exclusive, and NF2-agnostic. *Acta Neuropathol. Commun.* **8**, 171 (2020).
99. Gill, C. M. *et al.* SWI/SNF chromatin remodeling complex alterations in meningioma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* **147**, 3431–3440 (2021).

100. Bujko, M. *et al.* Mutational Analysis of Recurrent Meningioma Progressing From Atypical to Rhabdoid Subtype. *World Neurosurg.* **97**, 754.e1-754.e6 (2017).
101. Abedalthagafi, M. S. *et al.* ARID1A and TERT promoter mutations in dedifferentiated meningioma. *Cancer Genet.* **208**, 345–350 (2015).
102. Chang, L. *et al.* The SWI/SNF complex is a mechanoregulated inhibitor of YAP and TAZ. *Nature* **563**, 265–269 (2018).
103. Wu, Y.-T., Ho, J.-T., Lin, Y.-J. & Lin, J.-W. Rhabdoid papillary meningioma: a clinicopathologic case series study. *Neuropathol. Off. J. Jpn. Soc. Neuropathol.* **31**, 599–605 (2011).
104. Williams, E. A. *et al.* Frequent inactivating mutations of the PBAF complex gene PBRM1 in meningioma with papillary features. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **140**, 89–93 (2020).
105. Bi, W. L., Mei, Y., Agarwalla, P. K., Beroukhim, R. & Dunn, I. F. Genomic and Epigenomic Landscape in Meningioma. *Neurosurg. Clin. N. Am.* **27**, 167–179 (2016).
106. Clark, V. E. *et al.* Genomic analysis of non-NF2 meningiomas reveals mutations in TRAF7, KLF4, AKT1, and SMO. *Science* **339**, 1077–1080 (2013).
107. Mishra-Gorur, K. *et al.* Pleiotropic role of TRAF7 in skull-base meningiomas and congenital heart disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **120**, e2214997120 (2023).
108. Reuss, D. E. *et al.* Secretory meningiomas are defined by combined KLF4 K409Q and TRAF7 mutations. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **125**, 351–358 (2013).
109. Dogan, H. *et al.* Single-cell DNA sequencing reveals order of mutational acquisition in TRAF7/AKT1 and TRAF7/KLF4 mutant meningiomas. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **144**, 799–802 (2022).
110. He, Z., He, J. & Xie, K. KLF4 transcription factor in tumorigenesis. *Cell Death Discov.* **9**, 118 (2023).

111. von Spreckelsen, N. *et al.* KLF4K409Q-mutated meningiomas show enhanced hypoxia signaling and respond to mTORC1 inhibitor treatment. *Acta Neuropathol. Commun.* **8**, 41 (2020).
112. Tsytsykova, A. V. *et al.* Mutated KLF4(K409Q) in meningioma binds STRs and activates FGF3 gene expression. *iScience* **25**, 104839 (2022).
113. Najm, P. *et al.* Loss-of-Function Mutations in TRAF7 and KLF4 Cooperatively Activate RAS-Like GTPase Signaling and Promote Meningioma Development. *Cancer Res.* **81**, 4218–4229 (2021).
114. Pópulo, H., Lopes, J. M. & Soares, P. The mTOR signalling pathway in human cancer. *Int. J. Mol. Sci.* **13**, 1886–1918 (2012).
115. Madsen, R. R., Vanhaesebroeck, B. & Semple, R. K. Cancer-Associated PIK3CA Mutations in Overgrowth Disorders. *Trends Mol. Med.* **24**, 856–870 (2018).
116. Chen, Y. *et al.* Effect of AKT1 (p. E17K) Hotspot Mutation on Malignant Tumorigenesis and Prognosis. *Front. Cell Dev. Biol.* **8**, 573599 (2020).
117. Abedalthagafi, M. *et al.* Oncogenic PI3K mutations are as common as AKT1 and SMO mutations in meningioma. *Neuro-Oncol.* **18**, 649–655 (2016).
118. González-Tablas, M. *et al.* Whole-Exome Sequencing Reveals Recurrent but Heterogeneous Mutational Profiles in Sporadic WHO Grade 1 Meningiomas. *Front. Oncol.* **11**, 740782 (2021).
119. Ma, J. *et al.* Low Expression of Phosphatase and Tensin Homolog and High Expression of Ki-67 as Risk Factors of Prognosis in Cranial Meningiomas. *World Neurosurg.* **136**, e196–e203 (2020).
120. Shankar, G. M. & Santagata, S. BAP1 mutations in high-grade meningioma: implications for patient care. *Neuro-Oncol.* **19**, 1447–1456 (2017).

121. Shankar, G. M. *et al.* Germline and somatic BAP1 mutations in high-grade rhabdoid meningiomas. *Neuro-Oncol.* **19**, 535–545 (2017).
122. Vaubel, R. A. *et al.* Meningiomas With Rhabdoid Features Lacking Other Histologic Features of Malignancy: A Study of 44 Cases and Review of the Literature. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **75**, 44–52 (2016).
123. Skoda, A. M. *et al.* The role of the Hedgehog signaling pathway in cancer: A comprehensive review. *Bosn. J. Basic Med. Sci.* **18**, 8–20 (2018).
124. Fernandes-Silva, H., Correia-Pinto, J. & Moura, R. S. Canonical Sonic Hedgehog Signaling in Early Lung Development. *J. Dev. Biol.* **5**, 3 (2017).
125. Boetto, J., Apra, C., Bielle, F., Peyre, M. & Kalamarides, M. Selective vulnerability of the primitive meningeal layer to prenatal Smo activation for skull base meningothelial meningioma formation. *Oncogene* **37**, 4955–4963 (2018).
126. Guerrini-Rousseau, L. *et al.* Current recommendations for cancer surveillance in Gorlin syndrome: a report from the SIOPE host genome working group (SIOPE HGWG). *Fam. Cancer* **20**, 317–325 (2021).
127. Boetto, J., Bielle, F., Sanson, M., Peyre, M. & Kalamarides, M. SMO mutation status defines a distinct and frequent molecular subgroup in olfactory groove meningiomas. *Neuro-Oncol.* **19**, 345–351 (2017).
128. Maggio, I. *et al.* Discovering the Molecular Landscape of Meningioma: The Struggle to Find New Therapeutic Targets. *Diagn. Basel Switz.* **11**, 1852 (2021).
129. Serra, S. & Chetty, R. p16. *J. Clin. Pathol.* **71**, 853–858 (2018).
130. Liggett, W. H. & Sidransky, D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **16**, 1197–1206 (1998).
131. Sievers, P. *et al.* CDKN2A/B homozygous deletion is associated with early recurrence in meningiomas. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **140**, 409–413 (2020).

132. Khan, A. B. *et al.* Even heterozygous loss of CDKN2A/B greatly accelerates recurrence in aggressive meningioma. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **145**, 501–503 (2023).
133. Wang, J. Z. *et al.* Increased mRNA expression of CDKN2A is a transcriptomic marker of clinically aggressive meningiomas. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **146**, 145–162 (2023).
134. Boström, J. *et al.* Alterations of the tumor suppressor genes CDKN2A (p16(INK4a)), p14(ARF), CDKN2B (p15(INK4b)), and CDKN2C (p18(INK4c)) in atypical and anaplastic meningiomas. *Am. J. Pathol.* **159**, 661–669 (2001).
135. Patel, B., Taiwo, R., Kim, A. H. & Dunn, G. P. TERT, a promoter of CNS malignancies. *Neuro-Oncol. Adv.* **2**, vdaa025 (2020).
136. Mellai, M. *et al.* Human TERT Promoter Mutations in Atypical and Anaplastic Meningiomas. *Diagn. Basel Switz.* **11**, 1624 (2021).
137. Juratli, T. A., Brastianos, P. K. & Cahill, D. P. TERT Alterations in Progressive Treatment-Resistant Meningiomas. *Neurosurgery* **65**, 66–68 (2018).
138. Maier, A. D. *et al.* TERT promoter mutations in primary and secondary WHO grade III meningioma. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **31**, 61–69 (2021).
139. Sahm, F. *et al.* TERT Promoter Mutations and Risk of Recurrence in Meningioma. *J. Natl. Cancer Inst.* **108**, djv377 (2016).
140. Juratli, T. A. *et al.* Intratumoral heterogeneity and TERT promoter mutations in progressive/higher-grade meningiomas. *Oncotarget* **8**, 109228–109237 (2017).
141. Mirian, C. *et al.* Poor prognosis associated with TERT gene alterations in meningioma is independent of the WHO classification: an individual patient data meta-analysis. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **91**, 378–387 (2020).
142. Sahm, F. *et al.* DNA methylation-based classification and grading system for meningioma: a multicentre, retrospective analysis. *Lancet Oncol.* **18**, 682–694 (2017).

143. Zhou, W., Triche, T. J., Laird, P. W. & Shen, H. SeSAME: reducing artifactual detection of DNA methylation by Infinium BeadChips in genomic deletions. *Nucleic Acids Res.* **46**, e123 (2018).
144. Choudhury, A. *et al.* Meningioma DNA methylation groups identify biological drivers and therapeutic vulnerabilities. *Nat. Genet.* **54**, 649–659 (2022).
145. Simon, M. *et al.* Role of genomic instability in meningioma progression. *Genes. Chromosomes Cancer* **16**, 265–269 (1996).
146. Maas, S. L. N. *et al.* Integrated Molecular-Morphologic Meningioma Classification: A Multicenter Retrospective Analysis, Retrospectively and Prospectively Validated. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **39**, 3839–3852 (2021).
147. Yang, H. W. *et al.* Alternative splicing of CHEK2 and codeletion with NF2 promote chromosomal instability in meningioma. *Neoplasia N. Y. N* **14**, 20–28 (2012).
148. Hielscher, T. *et al.* Clinical implementation of integrated molecular-morphologic risk prediction for meningioma. *Brain Pathol. Zurich Switz.* **33**, e13132 (2023).
149. Driver, J. *et al.* A molecularly integrated grade for meningioma. *Neuro-Oncol.* **24**, 796–808 (2022).
150. Juratli, T. A. *et al.* DMD genomic deletions characterize a subset of progressive/higher-grade meningiomas with poor outcome. *Acta Neuropathol. (Berl.)* **136**, 779–792 (2018).
151. Abedalthagafi, M. S. *et al.* Angiomatous meningiomas have a distinct genetic profile with multiple chromosomal polysomies including polysomy of chromosome 5. *Oncotarget* **5**, 10596–10606 (2014).
152. Ahrendsen, J. T., Hsu, N., Wolf, Z., Bryke, C. & Varma, H. Multiple Whole Chromosomal Gains Define Angiomatous Meningiomas and Are Absent From the Tumor Vasculature. *J. Neuropathol. Exp. Neurol.* **79**, 618–625 (2020).

153. Kuroi, Y. *et al.* Identification of shared genomic aberrations between angiomatous and microcystic meningiomas. *Neuro-Oncol. Adv.* **1**, vdz028 (2019).
154. Goldbrunner, R. *et al.* EANO guideline on the diagnosis and management of meningiomas. *Neuro-Oncol.* **23**, 1821–1834 (2021).
155. Simpson, D. The recurrence of intracranial meningiomas after surgical treatment. *J. Neurol. Neurosurg. Psychiatry* **20**, 22–39 (1957).
156. Conduites à tenir devant des patients atteints d'un méningiome de grade II et III - Thésaurus - Ref: RRETHESCATMENING20. <https://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Conduites-a-tenir-devant-des-patients-atteints-d-un-meningiome-de-grade-II-et-III-Thesaurus>.
157. Kaley, T. *et al.* Historical benchmarks for medical therapy trials in surgery- and radiation-refractory meningioma: a RANO review. *Neuro-Oncol.* **16**, 829–840 (2014).
158. Mair, M. J., Berghoff, A. S., Brastianos, P. K. & Preusser, M. Emerging systemic treatment options in meningioma. *J. Neurooncol.* **161**, 245–258 (2023).
159. Kumthekar, P. *et al.* A multi-institutional phase II trial of bevacizumab for recurrent and refractory meningioma. *Neuro-Oncol. Adv.* **4**, vdac123 (2022).
160. Graillon, T. *et al.* Everolimus and Octreotide for Patients with Recurrent Meningioma: Results from the Phase II CEVOREM Trial. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **26**, 552–557 (2020).
161. Jordan, J. T. *et al.* Prospective phase II trial of the dual mTORC1/2 inhibitor vistusertib for progressive or symptomatic meningiomas in persons with neurofibromatosis 2. *Neuro-Oncol. Adv.* **5**, vdad041 (2023).
162. Du, Z. *et al.* Increased expression of the immune modulatory molecule PD-L1 (CD274) in anaplastic meningioma. *Oncotarget* **6**, 4704–4716 (2015).

163. Karimi, S. *et al.* Programmed death ligand-1 (PD-L1) expression in meningioma; prognostic significance and its association with hypoxia and NFKB2 expression. *Sci. Rep.* **10**, 14115 (2020).
164. Han, S. J. *et al.* Expression and prognostic impact of immune modulatory molecule PD-L1 in meningioma. *J. Neurooncol.* **130**, 543–552 (2016).
165. Brastianos, P. K. *et al.* Phase 2 study of pembrolizumab in patients with recurrent and residual high-grade meningiomas. *Nat. Commun.* **13**, 1325 (2022).
166. Brastianos, P. K. *et al.* Alliance A071401: Phase II Trial of Focal Adhesion Kinase Inhibition in Meningiomas With Somatic NF2 Mutations. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **41**, 618–628 (2023).
167. Weller, M. *et al.* Durable Control of Metastatic AKT1-Mutant WHO Grade 1 Meningothelial Meningioma by the AKT Inhibitor, AZD5363. *J. Natl. Cancer Inst.* **109**, 1–4 (2017).
168. John, P. *et al.* AKT1E17K -mutated meningioma cell lines respond to treatment with the AKT inhibitor AZD5363. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **48**, e12780 (2022).
169. Mondielli, G. *et al.* Co-Targeting MAP Kinase and Pi3K-Akt-mTOR Pathways in Meningioma: Preclinical Study of Alpelisib and Trametinib. *Cancers* **14**, 4448 (2022).
170. Graillon, T. *et al.* Innovative treatments for meningiomas. *Rev. Neurol. (Paris)* **179**, 449–463 (2023).
171. Matouk, C. C. & Marsden, P. A. Epigenetic regulation of vascular endothelial gene expression. *Circ. Res.* **102**, 873–887 (2008).
172. Audia, J. E. & Campbell, R. M. Histone Modifications and Cancer. *Cold Spring Harb. Perspect. Biol.* **8**, a019521 (2016).
173. Lacoste, N. & Côté, J. [The epigenetic code of histones]. *Med. Sci. MS* **19**, 955–959 (2003).

174. Zhang, Y. *et al.* Overview of Histone Modification. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1283**, 1–16 (2021).
175. Moore, L. D., Le, T. & Fan, G. DNA methylation and its basic function. *Neuropsychopharmacol. Off. Publ. Am. Coll. Neuropsychopharmacol.* **38**, 23–38 (2013).
176. Mattei, A. L., Bailly, N. & Meissner, A. DNA methylation: a historical perspective. *Trends Genet. TIG* **38**, 676–707 (2022).
177. Acton, R. J. *The Epigenomics of Human Ageing*.
178. Jjingo, D., Conley, A. B., Yi, S. V., Lunyak, V. V. & Jordan, I. K. On the presence and role of human gene-body DNA methylation. *Oncotarget* **3**, 462–474 (2012).
179. Kohli, R. M. & Zhang, Y. TET enzymes, TDG and the dynamics of DNA demethylation. *Nature* **502**, 472–479 (2013).
180. Yan, H. & Bu, P. Non-coding RNA in cancer. *Essays Biochem.* **65**, 625–639 (2021).
181. Holley, C. L. & Topkara, V. K. An introduction to small non-coding RNAs: miRNA and snoRNA. *Cardiovasc. Drugs Ther.* **25**, 151–159 (2011).
182. Saliminejad, K., Khorram Khorshid, H. R., Soleymani Fard, S. & Ghaffari, S. H. An overview of microRNAs: Biology, functions, therapeutics, and analysis methods. *J. Cell. Physiol.* **234**, 5451–5465 (2019).
183. Tsukiyama, T. The in vivo functions of ATP-dependent chromatin-remodelling factors. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **3**, 422–429 (2002).
184. Bates, S. E. Epigenetic Therapies for Cancer. *N. Engl. J. Med.* **383**, 650–663 (2020).
185. Diener, C., Keller, A. & Meese, E. Emerging concepts of miRNA therapeutics: from cells to clinic. *Trends Genet. TIG* **38**, 613–626 (2022).
186. Bartel, D. P. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* **116**, 281–297 (2004).

187. Zhi, F. *et al.* A microRNA expression signature predicts meningioma recurrence. *Int. J. Cancer* **132**, 128–136 (2013).
188. Katar, S. *et al.* Expression of miRNA-21, miRNA-107, miRNA-137 and miRNA-29b in meningioma. *Clin. Neurol. Neurosurg.* **156**, 66–70 (2017).
189. Kliese, N. *et al.* miRNA-145 is downregulated in atypical and anaplastic meningiomas and negatively regulates motility and proliferation of meningioma cells. *Oncogene* **32**, 4712–4720 (2013).
190. Alcantara, K. M. M. & Garcia, R. L. MicroRNA-92a promotes cell proliferation, migration and survival by directly targeting the tumor suppressor gene NF2 in colorectal and lung cancer cells. *Oncol. Rep.* **41**, 2103–2116 (2019).
191. Qiagen. PyroMark® Q48 Autoprep User Manual.
192. Qiagen. miRCURY® LNA® miRNA SYBR® Green PCR Handbook.
193. Lomas, J. *et al.* Genetic and epigenetic alteration of the NF2 gene in sporadic meningiomas. *Genes. Chromosomes Cancer* **42**, 314–319 (2005).
194. Hansson, C. M. *et al.* Comprehensive genetic and epigenetic analysis of sporadic meningioma for macro-mutations on 22q and micro-mutations within the NF2 locus. *BMC Genomics* **8**, 16 (2007).
195. van Tilborg, A. A. G. *et al.* Lack of genetic and epigenetic changes in meningiomas without NF2 loss. *J. Pathol.* **208**, 564–573 (2006).
196. Kino, T. *et al.* Identification of the cis-acting region in the NF2 gene promoter as a potential target for mutation and methylation-dependent silencing in schwannoma. *Genes Cells Devoted Mol. Cell. Mech.* **6**, 441–454 (2001).
197. Gonzalez-Gomez, P. *et al.* CpG island methylation in sporadic and neurofibromatosis type 2-associated schwannomas. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **9**, 5601–5606 (2003).

198. Kullar, P. J., Pearson, D. M., Malley, D. S., Collins, V. P. & Ichimura, K. CpG island hypermethylation of the neurofibromatosis type 2 (NF2) gene is rare in sporadic vestibular schwannomas. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **36**, 505–514 (2010).
199. Koutsimpelas, D., Ruerup, G., Mann, W. J. & Brieger, J. Lack of neurofibromatosis type 2 gene promoter methylation in sporadic vestibular schwannomas. *ORL J. Oto-Rhino-Laryngol. Its Relat. Spec.* **74**, 33–37 (2012).
200. Lee, J. D., Kwon, T. J., Kim, U.-K. & Lee, W.-S. Genetic and epigenetic alterations of the NF2 gene in sporadic vestibular schwannomas. *PloS One* **7**, e30418 (2012).
201. Cun, J. & Yang, Q. Bioinformatics-based interaction analysis of miR-92a-3p and key genes in tamoxifen-resistant breast cancer cells. *Biomed. Pharmacother. Biomedecine Pharmacother.* **107**, 117–128 (2018).
202. Yang, B. *et al.* High-metastatic cancer cells derived exosomal miR92a-3p promotes epithelial-mesenchymal transition and metastasis of low-metastatic cancer cells by regulating PTEN/Akt pathway in hepatocellular carcinoma. *Oncogene* **39**, 6529–6543 (2020).
203. Uehara, N. *et al.* miR-92a-3p encapsulated in bone metastatic mammary tumor cell-derived extracellular vesicles modulates mature osteoclast longevity. *Cancer Sci.* **113**, 4219–4229 (2022).
204. Yang, J., Hai, J., Dong, X., Zhang, M. & Duan, S. MicroRNA-92a-3p Enhances Cisplatin Resistance by Regulating Krüppel-Like Factor 4-Mediated Cell Apoptosis and Epithelial-to-Mesenchymal Transition in Cervical Cancer. *Front. Pharmacol.* **12**, 783213 (2021).
205. Li, X., Guo, S., Min, L., Guo, Q. & Zhang, S. miR-92a-3p promotes the proliferation, migration and invasion of esophageal squamous cell cancer by regulating PTEN. *Int. J. Mol. Med.* **44**, 973–981 (2019).

206. Kimura, Y. *et al.* The involvement of calpain-dependent proteolysis of the tumor suppressor NF2 (merlin) in schwannomas and meningiomas. *Nat. Med.* **4**, 915–922 (1998).
207. Gallant-Behm, C. L. *et al.* A synthetic microRNA-92a inhibitor (MRG-110) accelerates angiogenesis and wound healing in diabetic and nondiabetic wounds. *Wound Repair Regen. Off. Publ. Wound Heal. Soc. Eur. Tissue Repair Soc.* **26**, 311–323 (2018).
208. Abplanalp, W. T. *et al.* Efficiency and Target Derepression of Anti-miR-92a: Results of a First in Human Study. *Nucleic Acid Ther.* **30**, 335–345 (2020).
209. Huang, C.-K., Kafert-Kasting, S. & Thum, T. Preclinical and Clinical Development of Noncoding RNA Therapeutics for Cardiovascular Disease. *Circ. Res.* **126**, 663–678 (2020).

CRÉDITS

Lucille DE MARIA, direction artistique

Figure 1-A : McGraw-Hill Education

Figure 1-B : Evan Oto

Figure 3 : University Department of Neurosurgery, Inselspital Bern

Figure 60 : Diagenode San Diego, California, USA

Coupes de méningiomes : Laboratoire central d'anatomopathologie (LCAP), CHU de Nice

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre, méprisé de mes confrères, si j'y manque.

RÉSUMÉ

Les méningiomes sont les tumeurs primaires du système nerveux central les plus fréquentes et ont un âge médian au diagnostic de 67 ans. Elles sont majoritairement bénignes et classées en trois grades pronostics (I, II et III) selon les recommandations de l'OMS. Le gène de la neurofibromine de type 2 (*NF2*) est altéré dans 40 à 60% des méningiomes. Dans une cohorte de 77 méningiomes constituée dans notre laboratoire, nous observons une grande variabilité des niveaux de transcrite du gène *NF2*, en l'absence de délétion ou de mutation du gène, avec, dans certaines tumeurs un taux du transcrite de *NF2* bas équivalent à celui des tumeurs portant une altération génétique de *NF2*. Suite à cette observation, nous avons émis l'hypothèse d'une diminution épigénétique de *NF2* qui entraînerait cette plus faible expression du gène.

Ainsi, nous avons étudié la méthylation de 11 dinucléotides CpG du promoteur de *NF2* sur 32 méningiomes par pyroséquençage. Nous n'avons pas mis en évidence d'hyperméthylation du promoteur de *NF2*, ni de corrélation entre les pourcentages de méthylation et la quantification du transcrite *NF2*. Ce mécanisme ne semble pas être présent dans les méningiomes sporadiques *NF2* wild-type.

Nous avons quantifié le miR-92a-3p dans 26 méningiomes par RT-qPCR. Ce micro-ARN est décrit en oncologie et cible le transcrite *NF2*, mais également ceux de *PTEN* et *KLF4*. Nous avons mis en évidence une corrélation négative significative ($p < 0.05$) entre le niveau d'expression du miR-92a-3p et celui du transcrite *NF2*. Ce micro-ARN est également significativement plus élevé dans les méningiomes sécrétoires, mutés *TRAF7* et *KLF4*, et significativement moins élevé dans les tumeurs présentant des mutations activatrices de la voie PI3K/AKT/mTOR ($p < 0.01$). Le miR-92a-3p permettrait d'expliquer la variation d'expression du transcrite *NF2* parmi nos méningiomes. Cependant, son mécanisme semble plus complexe, en raison de ses nombreuses cibles. Notre hypothèse est qu'il pourrait, au-delà de son action sur *NF2*, renforcer l'inhibition de *KLF4* dans les méningiomes sécrétoires et activer la voie PI3K/AKT/mTOR par inhibition de *PTEN*.

Par ailleurs, le MRG-110 est un inhibiteur du miR-92a-3p en cours d'essai clinique. Il serait intéressant de tester cette thérapie *in vitro* sur des cellules de méningiomes.

Mots clés : méningiomes, épigénétique, *NF2*