

Histoire naturelle des cancers *in situ* du sein

Natural history of in situ breast carcinomas

A. Vincent-Salomon

Mots clés : carcinome *in situ*, hétérogénéité moléculaire, prolifération, anomalies chromosomiques

Keywords: ductal carcinoma *in situ*, molecular heterogeneity, proliferation, chromosomal alterations

Hypothèses concernant les mécanismes précoces de transformation des cellules mammaires normales

La chronologie de la transformation depuis un épithélium mammaire normal vers des lésions de carcinome *in situ* est mal connue. L'instabilité génétique relève de plusieurs mécanismes et se traduit dans les tumeurs épithéliales du sein par l'apparition progressive de nombreuses anomalies de nombre et de structures des chromosomes. Il faut intégrer ces mécanismes dans le schéma de la carcinogenèse mammaire provenant d'une part de la connaissance morphologique des précurseurs des lésions carcinomateuses en particulier de bas grade et luminal et d'autre part de la description des cellules souches normales et tumorales.

Mécanismes participant à l'instabilité génomique des cellules carcinomateuses

Architecture génomique facilitant les réarrangements chromosomiques

Certaines particularités de la structure et de l'architecture génomiques facilitent la formation de réarrangements chromosomiques [1].

- Les régions riches en AT qui favorisent les délétions et les régions riches en GC qui favorisent plutôt les translocations.
- La présence de régions de séquences répétées ALU-5'AG/AT-3' qui couvrent environ 10 % du génome.
- Les régions centromériques comportant des séquences répétées de (GGAAT)_n.
- Les sites fragiles qui sont des régions riches en GC et séquences Alu, avec une chromatine plus relâchée, riche en gènes, avec des îlots CpG et qui sont de répliation tardive. Ces sites fragiles sont des sites d'intégration virale et contiennent en particulier de nombreux gènes suppresseurs de tumeurs.

Position des territoires chromosomiques pendant l'interphase

Le rôle de la position des chromosomes distribués suivant une architecture précise dans les noyaux (territoires chromosomiques) a des conséquences importantes sur les mécanismes de création des altérations génomiques comme les translocations et les anomalies de nombre des chromosomes. Ce domaine de connaissance est en réelle émergence et devrait améliorer la compréhension des mécanismes d'instabilité génomique [2].

Mécanismes de cassure-pont-fusion

Les cassures-pont-fusions sont des mécanismes favorisant la création de régions d'amplification et de réarrangements complexes des chromosomes [3]. Ce mécanisme pourrait jouer un rôle dans l'hétérogénéité intratumorale.

Événements cellulaires favorisant l'instabilité génomique

Le dysfonctionnement des télomères, la perturbation des points de contrôles du cycle cellulaire permettant la réparation des molécules d'ADN, les erreurs de ségrégations chromosomiques en fin de mitoses et d'autres dérégulations en particulier épigénétiques comme la méthylation participent également à l'instabilité génétique.

L'hypothèse la plus probable est que cette instabilité surviendrait très précocement puisque des altérations génétiques ont été décrites dans l'épithélium mammaire normal entourant les lésions carcinomateuses *in situ* ou infiltrantes [4, 5].

Dysfonctionnement des télomères

Les télomères jouent un rôle dans le maintien de la stabilité chromosomique [6]. Les télomères sont des complexes ADN-protéines situés à l'extrémité des molécules d'ADN et ont pour fonction d'éviter que la cellule ne les reconnaisse comme des cassures double-brin. Les télomères protègent donc les extrémités de l'ADN de la dégradation et de la recombinaison et sont composés de séquences hexamériques TTAGGG répétées en tandem 1 000 à 2 000 fois. Cette région d'ADN télomérique est progressivement perdue à chaque division cellulaire par réplication incomplète des extrémités de l'ADN. Les télomères peuvent de plus être allongés par une enzyme, la télomérase. Cette enzyme est au minimum constituée de deux sous-unités : catalytique (hTERT) et une sous-unité ARN (hTR) qui contient les matrices pour l'addition des séquences répétées télomériques. À l'état physiologique, dans les cellules somatiques, l'activité télomérase est réprimée. La télomérase est activée dans les tumeurs dès le stade *in situ*. Quand les télomères ont raccourci jusqu'à une certaine taille, la cellule rentre en sénescence et en apoptose grâce au contrôle exercé entre autres par TP53 et p16. Si TP53 et p16 ne fonctionnent plus, les télomères continuent de se raccourcir. Il y a alors risque de formation de chromosomes dicentriques puis des cassures chromosomiques durant les mitoses. Ces cassures chromosomiques peuvent favoriser la formation de ponts et de fusions et entraîner une instabilité génétique tumorigène [7].

Par une méthode d'hybridation *in situ* en fluorescence, il a été montré que la longueur des télomères de carcinomes du sein *in situ* et infiltrants est inférieure à celle des télomères du tissu mammaire normal adjacent. Le raccourcissement et le dysfonctionnement des télomères se traduit morphologiquement par des ponts en anaphase, visibles sur coupes tissulaires. Ces ponts correspondent à des chromosomes non dissociés en fin de mitose. Environ 50 % des cellules des unités ductulo-lobulaires normales présentent des télomères plus courts que ceux des cellules épithéliales des canaux de plus grand calibre et des cellules myoépithéliales [8]. Cette observation suggère que le raccourcissement des télomères est probablement induit par des mécanismes hormonaux puisqu'il se produit dans des cellules épithéliales et indique que les cellules épithéliales des unités ductulo-terminales sont probablement celles capables de se transformer.

Il a été également montré que le raccourcissement progressif et anormal des télomères (« la crise des télomères ») participe à l'instabilité génétique au cours de la carcinogenèse mammaire avec la mise en évidence d'un nombre anormal de

chromosomes 1 et 20 évalué par FISH et de ponts en anaphase dans des lésions d'hyperplasie canalaire atypique et de carcinome *in situ* [9].

Modifications épigénétiques

Des modifications épigénétiques sont probablement parmi les événements les plus précoces participant à la transformation de cellules normales en cellule tumorale, y compris, comme évoqué précédemment, en régulant le niveau de transcription des cellules souches [10]. L'inactivation des oncogènes *RB* et *P16* par méthylation de leur promoteur a été décrite et permet l'activation du cycle cellulaire et un échappement au processus de sénescence cellulaire et en particulier, comme vu plus haut, à la sénescence de cellules aux télomères trop courts [7, 8, 11, 12].

Plus récemment, il a été montré que les protéines Polycomb jouent probablement un rôle dans la transformation des cellules mammaires normales en cellules tumorales. EZH2 est la protéine catalytique active du complexe « Polycomb Repression Complex-2 » (PRC2) qui comprend EZH2-EED-SUZ12. Ce complexe PRC2 interagit directement avec les histones déacétylases (HDAC) de type 1 et permet la formation du complexe entre la lysine 27 et l'histone méthylée H3 (H3-K27) et par là réprime l'expression de gènes cibles. La surexpression de la protéine Polycomb PRC-2 EZH2 participe probablement à l'augmentation de l'instabilité génétique dans les cellules normales en bloquant l'expression de certains gènes comme les gènes *RAD51*, et ses homologues, impliqués dans les mécanismes de recombinaison homologue et de réparation de l'ADN [13]. Il faut noter que la stœchiométrie du complexe PRC2 semble critique pour son efficacité. On peut imaginer que la surexpression d'EZH2 déséquilibre le complexe PRC2 qui pourrait alors avoir un effet inverse sur l'expression génique avec réactivation de certains gènes. La mise en évidence de la surexpression de EZH2 dans des cellules mammaires normales permettrait d'identifier les patientes au risque accru de développer un cancer du sein en particulier chez les patientes *BRCA1* mutées [14].

Mécanismes de contrôle de la transformation néoplasique des cellules normales

Il a été montré que l'activation des mécanismes de réparation de l'ADN, en réponse à des réplifications aberrantes, survient dans les lésions préneoplasiques

(telles que l'hyperplasie ou la dysplasie) précoces de la carcinogenèse pulmonaire, vésicale et mammaire [15, 16]. Sont ainsi exprimés à des niveaux élevés les protéines participant au signallement des cassures double-brin pour l'activation des processus de réparation de l'ADN par la recombinaison homologue : ATM, γ H2AX, CHEK2 et TP53. Toutefois, la façon dont les réplifications aberrantes déclenchent les mécanismes de réparation de l'ADN dans ces lésions très précoces reste inconnue. De plus, si le modèle convient pour les carcinogenèses urothéliale et pulmonaire, est-il adapté à la carcinogenèse mammaire ? En effet, si les précurseurs des lésions de carcinome *in situ* de bas grade sont assez bien décrites avec les lésions de métaplasie cylindrique atypique, les lésions d'hyperplasie atypique et les lésions de carcinomes *in situ* de bas grade [17, 18], les lésions précurseurs des lésions de haut grade restent inconnues. Les travaux mentionnés [15, 16] ne distinguent pas différentes voies de carcinogenèse et de plus n'analysent pas les lésions prénéoplasiques entre épithélium normal et carcinome *in situ*. Le stade d'hyperplasie épithéliale n'est vraisemblablement pas un stade de passage entre l'épithélium normal et les lésions de carcinome *in situ* [19]. En effet, les données épidémiologiques montrent que ces lésions ne sont pas associées à un risque accru et réel de développer un cancer. Même si les analyses génétiques identifient des altérations à type de pertes d'hétérozygoties, celles-ci restent exceptionnelles, distribuées au hasard et sont probablement plutôt fortuites que causales [19].

L'accumulation des altérations génomiques telles que les amplifications, les pertes et les gains chromosomiques implique une chronologie et une dimension temporelle ainsi que la présence de cellules en division (cellules souches ou progénitrices à capacité d'autorenouvellement ?). Cette chronologie est encore mal connue pour la carcinogenèse mammaire même si certains schémas chronologiques peuvent être proposés.

Hétérogénéité des carcinomes *in situ* de type canalaire

Définition et présentation clinique

Le carcinome *in situ* est défini comme une prolifération néoplasique épithéliale développée dans les structures ductulo-lobulaires, qui respecte la couche de cellules myoépithéliales. Cette prolifération est constituée de cellules aux atypies nucléaires de grades différents, légères à sévères et peut évoluer vers des lésions infiltrantes. La proportion de carcinomes *in situ* qui évolue vers les formes infiltrantes est

impossible à déterminer car l'étude de l'histoire naturelle des carcinomes *in situ* est mal connue. Quelques essais cliniques et études de suivi au long cours de patientes traitées par exérèse chirurgicale uniquement ont permis de montrer que sans radiothérapie, 50 % des lésions de carcinome *in situ* évoluent vers une forme infiltrante et que le temps de progression est d'environ quatre décades [20, 21]. La prévalence des CCIS dans les séries d'autopsie est d'environ 9 % [22]. Ces observations suggèrent que probablement 50 % des lésions *in situ* n'évoluent pas vers une lésion infiltrante au cours de leur histoire naturelle.

Actuellement, les lésions de carcinomes *in situ* sont dépistées par mammographie dans plus de 85 % des cas. Seulement 10 % des CCIS sont associés à des signes cliniques et 5 % sont de découverte fortuite sur des pièces d'exérèse réalisées pour une autre raison. Les lésions de carcinome *in situ* représentent jusqu'à 25 % des lésions carcinomateuses prises en charge dans certaines institutions [23].

Rappel de la classification histologique

La classification morphologique des carcinomes *in situ* repose essentiellement sur le grade nucléaire, l'absence ou la présence de nécrose et la différenciation architecturale des cellules carcinomateuses. Les données de l'analyse morphologique nécessaires à la prise en charge clinique adaptée des patientes comprennent également la taille des lésions, leur distance par rapport aux berges d'exérèse chirurgicale et la localisation des microcalcifications par rapport aux lésions tumorales. Un système à trois grades est utilisé sans que cela sous-entende une progression du grade 1 vers le grade 3. Le grade attribué à une lésion donnée est celui le plus représenté [24].

Les lésions de bas grade sont caractérisées par une prolifération de cellules de petite taille, monomorphes disposées en arcades, en micropapilles et massifs cribriformes et solides ; les noyaux ont une taille uniforme pas plus grande que 1,5 à 2 fois la taille d'un globule rouge avec une chromatine régulière et un nucléole très petit. Les figures de mitoses sont rares. La taille minimale de ces lésions est d'au minimum deux espaces lobulaires différents ou de deux sections de canaux galactophoriques. Ces lésions ne sont pas associées à de la nécrose.

Les lésions de haut grade sont caractérisées par des cellules très atypiques formant différentes sortes d'architecture : une seule couche cellulaire, des micropapilles, des massifs cribriformes ou solides. Les noyaux sont de haut grade, pléomorphes,

non polarisés, de contours irréguliers et avec une chromatine irrégulière et de gros nucléoles. Il y a généralement des figures de mitoses. Ce grade est fréquemment associé à une abondante nécrose souvent calcifiée mais elle n'est pas indispensable au diagnostic.

Les lésions de grade intermédiaire sont celles dont les noyaux ne sont ni de bas grade ni de haut grade.

À cette classification en grade, des variantes morphologiques sont reconnues telles que les formes à cellules fusiformes, apocrines toutefois le plus souvent classées dans les lésions de haut grade, neuro-endocrines le plus souvent classées dans les lésions de bas grade, malpighienne et à cellules claires.

La diversité des aspects morphologiques, la mauvaise reproductibilité inter-observateur des classifications existantes [25], la coexistence possible et fréquente de plusieurs types morphologiques dans une même lésion ainsi que l'impossibilité de prévoir l'évolutivité de la lésion vers une forme infiltrante soulignent la nécessité d'une meilleure connaissance biologique des lésions carcinomateuses *in situ* et d'un système de classification plus objectif, reposant sur des critères biologiques.

Caractéristiques phénotypiques

Les CCIS montrent dans 95 % des cas une expression intense et diffuse des cytokératines de bas poids moléculaire 8/18 et 19 sans expression des cytokératines de haut poids moléculaire (CK 5/14) en particulier pour les lésions de bas grade et de grade intermédiaire. Les récepteurs aux œstrogènes sont positifs dans environ 50 à 60 % des CCIS avec des taux de positivité différents suivant le grade nucléaire, la différenciation et la présence de nécrose. En effet, dans notre expérience, le niveau de l'expression des RO varie avec la différenciation et la présence de nécrose. Les RO sont exprimés à 83 % des carcinomes *in situ* bien différenciés, à 74 % des CCIS peu différenciés, à 91 % des CCIS sans nécrose et seulement à 37 % des CCIS avec nécrose absorbante [26].

La surexpression de ERBB2 est observée dans 28 à 50 % des cas environ. La surexpression de ERBB2 est observée jusque dans 91 % des cas lorsque les lésions sont peu différenciées et associées à de la nécrose [26-30]. Il faut souligner que les taux de surexpression de ERBB2 sont beaucoup plus élevés dans les CCIS que dans les carcinomes infiltrants. Le paradoxe de la surexpression de ERBB2 plus

fréquente dans les CCIS (40 à 60 % des cas) par rapport à celle observée dans les carcinomes infiltrants (15 à 30 % des cas) reste inexpliqué [28, 31].

Le pourcentage de CCIS coexprimant les RO et ERBB2 est d'environ 10 % ce qui est nettement plus faible que le taux observé pour les carcinomes infiltrants (40 %-50 %) [32]. Cette observation reste pour l'instant inexpliquée mais nous verrons plus loin les hypothèses qui peuvent être formulées.

L'analyse combinée de marqueurs phénotypiques devrait permettre de caractériser et classer de façon plus reproductible les CCIS. Les analyses phénotypiques complétées par les analyses transcriptomiques et génomiques intégrées telles que nous les avons réalisées devraient rapidement permettre une meilleure classification des CCIS et à terme leur prise en charge plus adaptée à leur risque évolutif ultérieur. L'identification des CCIS de phénotype basal-like c'est à dire triple négatif RO RP et ERBB2 – et exprimant les cytokératines 5/6/14 ou l'EGFR est récente. Ce type de CCIS est rare puisque dans des séries consécutives de CCIS stricts, ils ne représentent que 6 à 8 % des cas [33, 34]. Ces lésions sont également observées autour des lésions infiltrantes de même phénotype [35].

Dans une série récente de 163 cas de CCIS (36 CCIS bien différenciés, 55 CCIS grade intermédiaire et 72 CCIS peu différenciés), une classification basée sur le phénotype des lésions a été proposée [36]. Ce classement a été établi à partir de l'analyse non supervisée de l'expression de 16 marqueurs : RO, RP, ERBB2, AR, BCL2, *insulin growth factor receptor*, E-cadhérine, *epithelial membrane antigen* (EMA), CA125, cytokératines 5/6/14 et 19, EGFR, PS100, CD31. Deux grands groupes subdivisés en sous-groupes sont identifiés : un premier groupe majoritaire RO/BLC2⁺ (luminal) composé de 3 sous-groupes : AR⁺ (n = 33 cas), AR⁻ (n = 40 cas) et AR mixte (n = 34 cas) et un deuxième groupe RO⁻/Bcl2⁻ (non luminal) composé d'un sous-groupe de CCIS ERBB2⁺ de 34 cas. Le groupe luminal comprend la majorité des CCIS bien différenciés (94 %) et des CCIS de grade intermédiaire (86 %) et 42 % des CCIS peu différenciés, le groupe non luminal est composé en majorité des CCIS peu différenciés. Un petit groupe de 8 cas étaient triples négatifs RO/RP et ERBB2⁻ (5 % des cas).

Données génétiques

La compréhension des lésions pré-invasives du sein a été améliorée par les données des analyses de génétique moléculaire en modifiant la théorie trop simpliste

d'une seule voie de carcinogenèse suivant de multiples étapes depuis l'épithélium normal vers les lésions de carcinome infiltrant et en proposant un modèle de carcinogenèse à deux voies, l'un de haut grade et l'autre de bas grade.

Les analyses combinées morphologiques et moléculaires utilisant différentes méthodes d'analyse telles que les pertes d'hétérozygoties [37, 38] la CGH et la FISH puis plus récemment les puces d'expression ont été réalisées sur des CCIS.

Il apparaît de plus en plus évident que les lésions de CCIS sont des lésions évoluées sur le plan génétique avec des anomalies génétiques souvent complexes et présentent de grandes similitudes sur le plan génomique avec les CCI [39, 40]. Les analyses moléculaires ont également confirmé les hypothèses issues d'observations morphologiques [41] montrant que les lésions de CCIS sont des précurseurs des carcinomes infiltrants comme le suggèrent par exemple la présence de mutations de *TP53* identiques dans les contingents infiltrants et *in situ* d'une même tumeur [39] ou la similitude des profils CGH des deux contingents [40, 42, 43].

Il apparaît aussi que les anomalies génétiques sont différentes suivant les grades et que leur nombre augmente avec le grade des lésions de CCIS, permettant ainsi de proposer un modèle de carcinogenèse suivant deux grandes voies : l'une de bas grade et l'autre de haut grade. La carcinogenèse de bas grade forme un véritable continuum lésionnel depuis les lésions de métaplasie cylindrique atypique ou atypies épithéliales planes bien identifiées morphologiquement [44] et sur le plan génétique [18] jusqu'aux lésions de CCIS alors que les lésions de CCIS de haut grade n'ont à l'heure actuelle pas de précurseurs reconnus (WHO classification 2002).

Anomalies de nombre des chromosomes

Parmi les anomalies de nombre des chromosomes, la perte du 16q est une caractéristique du bas grade et est rarement observée dans les CCIS de haut grade [38, 40, 43, 45]. De la même façon, les lésions de haut grade sont caractérisées par des gains fréquents des régions chromosomiques 17q, 8q et 5p avec des pertes des régions 8p, 11q, 13q, 14q et le 17p. Les différentes combinaisons d'anomalies de nombre de chromosomes rendent déjà compte d'une hétérogénéité des CCIS sur le plan génétique [46].

Des amplifications des régions chromosomiques 17q12, 17q22-24, 6q22, 8q22 et 11q13 sont observées dans les CCIS de haut grade [38, 40, 43, 45, 46].

Une très élégante analyse par FISH des 31 CCIS a montré que l'amplification de *MYC* (30 %), *ERBB2* (36 %) et *CCND1* (33 %) et d'une région du 20q13 (8,6 %) pouvait être observée dès le stade *in situ* [47]. Les amplifications de *MYC* et *ERBB2* sont plutôt observées dans des CCIS de haut grade, et associées à une prolifération élevée. L'amplification de *ERBB2* est de plus associée à la diminution de l'expression de *BCL2*, la négativité des RO et RP. L'amplification de ces deux oncogènes peut même survenir dans le même cas pour 4 des 12 cas (33 %). L'amplification de *CCND1* n'est par contre pas associée à un grade particulier. Ces observations montrent que l'activation de ces oncogènes *ERBB2*, *MYC* et *CCND1* par amplification est un événement nécessaire à la transformation des cellules mammaires et elle se produit au cours de la carcinogenèse mammaire précoce. Ces événements ne semblent toutefois pas indispensables au processus de progression et d'infiltration tumorale puisqu'ils sont observés dans des carcinomes *in situ* stricts.

Mutations

Des mutations de certains gènes ont été observées dès le stade *in situ* comme par exemple celles du gène *TP53* en 17p13.1 ou plus récemment celles de *IKBKE* en 1q32 [48]. Les mutations de *TP53* ont été identifiées dans environ 40 % des CCIS de haut grade et dans 0 à 5 % des carcinomes *in situ* de bas grade ou de grade intermédiaire [39, 46, 49].

Il semble donc que la survenue de mutations de ces gènes ne participe pas au processus d'invasion puisqu'elles existent dès le stade *in situ*.

Analyses transcriptomiques

Les premières analyses transcriptomiques, portant sur un petit nombre de cas, ont montré l'existence de différences de niveaux d'expression de plusieurs gènes entre des CCIS avec ou sans nécrose [50]. L'existence d'une carcinogenèse en deux grandes voies de bas et haut grade, émergeant des données génomiques, est consolidée d'une part par l'observation de différences de signature transcriptomique principalement entre le stade normal et *in situ* plutôt qu'entre le stade *in situ* et infiltrant [51, 52] et d'autre part par l'observation des grandes similitudes de profil d'expression entre des lésions *in situ* et infiltrante de même grade. Une signature différentielle entre les CCIS bien et peu différenciés a récemment été décrite [53].

La description de cinq grands groupes moléculaires de carcinomes infiltrants : luminal A, luminal B, ERBB2, basal-like et normal-like associées à des pronostics différents vise à classer les tumeurs du sein selon des critères reflétant probablement plus exactement leur comportement biologique.

Une étude récente [53] et une étude ne portant que sur quatre CCIS purs [54] [46] montrent que les classes moléculaires luminal A, luminal B, ERBB2 et basal-like sont observées dès le stade *in situ*.

Si jusqu'à maintenant, il n'avait pas été observé de différence robuste entre les transcriptomes des carcinomes *in situ* et des infiltrants, l'étude par Hannemann [53] propose une signature comprenant 35 gènes permettant de distinguer les CCIS des infiltrants. Parmi ces 35 gènes, la *stromelysine 3*, la *MMP11*, le *collagène de type 1*, *alpha 1* sont notés. Cette signature n'a toutefois pas encore été validée sur une série indépendante.

Facteurs de risques de récurrence

Les données des grands essais randomisés du NSABP17, EORTC 10853, NSABP 24 et UKCCCR ont permis de reconnaître un certain nombre de paramètres cliniques et morphologiques associés à un risque accru de récurrence ainsi que des travaux de recherches.

Cliniques

L'âge est un des facteurs de risque de récurrence les plus forts. En effet, l'essai de l'EORTC a montré que les femmes de moins de 40 ans avaient un risque de développer une récurrence sous forme d'un cancer du sein infiltrant ou *in situ*, supérieur à celui des femmes plus âgées (RR 2.1) [55], observation confirmée par d'autres études [56]. Le mode de diagnostic des lésions de CCIS et en particulier sous forme d'une lésion palpable est également associé à un risque supérieur de rechute [57] et en particulier sous forme d'un carcinome infiltrant [58].

Morphologiques

L'atteinte des berges d'exérèse est un facteur de récurrence reconnu dans 3 des 4 grands essais cités précédemment ainsi que dans des analyses rétrospectives

comme celle de Tunon-Lara, monocentrique avec un protocole d'évaluation morphologique précis en particulier de la qualité de l'exérèse chirurgicale [56]. Le risque relatif est de 1,48 à 2,1.

Le haut grade nucléaire est un facteur de risque de récurrence que ce soit dans les analyses de patientes traitées par chirurgie seule ou par chirurgie et irradiation. Dans certaines études, un haut grade nucléaire serait associé à un risque de récurrence sur un mode infiltrant [20, 21, 59, 60]. La présence de nécrose associée au grade nucléaire est également reconnue comme paramètre morphologique associé à un risque de récurrence accru en particulier dans les travaux de Silverstein avec 11,8 % de récurrences contre 3,8 % pour les non de haut grade et 26,5 % pour les hauts grades et dans les essais du NSABP avec 19 et 20 % de risque de récurrence en présence de nécrose contre 2 et 9 % de récurrence en l'absence de nécrose respectivement [61].

Phénotypiques

Des études ont pu montrer l'existence d'un risque accru du risque de récurrence pour des lésions *in situ* ERBB2⁺, RO/RP⁺, BCL2⁻ d'une part, des CCIS p21⁺ d'autre part. [62].

L'expression de P16 et/ou de COX2 à haut niveau (marquage de plus de 25 % de cellules) associée à un marquage fort de KI67 (> 10 % de cellules +) permettrait aussi d'identifier les CCIS à haut risque de récurrence et en particulier sous une forme infiltrante [63, 64].

Une co-expression de EZH2 dans les cellules carcinomateuses et de ALDH1 dans le stroma autour des lésions *in situ* vient d'être récemment proposée pour repérer les carcinomes *in situ* à risque de récurrence sous forme en particulier de carcinome infiltrant [65].

Génomiques

La signature génomique de Genomic Health (Oncotype DCIS) vient d'être proposée pour améliorer l'identification des carcinomes *in situ* à haut risque de récurrence et validée dans une large cohorte de l'ECOG E5194[66].

Cette signature est basée sur l'analyse de l'expression de sept gènes associés au cancer qui concernent surtout les mécanismes de prolifération : SURVIVIN

(BIRC5), KI67, STK15 (AURORA A), CYCLIN B1, MYBL2, ainsi que le gène des récepteurs à la progestérone et GSTM1.

Rôle du stroma et des cellules myoépithéliales

Les travaux de l'équipe de M. Polyak montrent l'importance clé jouée par le stroma et les cellules myoépithéliales dans la progression des lésions *in situ* en lésions infiltrantes [67, 68].

Néanmoins, en pratique clinique, il n'est pas encore possible de repérer quelles lésions ont le stroma et/ou les cellules myoépithéliales favorisant cette progression.

Conclusion

Les données moléculaires récentes suggèrent que la prolifération des cellules carcinomateuses *in situ* pourraient favoriser le risque de rechute locorégionale.

Ces données doivent encourager les initiatives de traitements plus personnalisés dans cette pathologie de plus en plus fréquente que représentent les carcinomes *in situ*. Ceci nécessite de poursuivre les travaux de recherche pour affiner l'identification des lésions à haut risque de rechute. Ces rechutes peuvent en effet mettre en jeu le pronostic vital avec plus de la moitié des patientes rechutant sous une forme infiltrante [69].

Références

1. Bayani J, Selvarajah S, Maire G *et al.* (2007) Genomic mechanisms and measurement of structural and numerical instability in cancer cells. *Semin Cancer Biol* 17: 5-18
2. Meaburn KJ, Misteli T, Soutoglou E (2007) Spatial genome organization in the formation of chromosomal translocations. *Semin Cancer Biol* 17: 80-90
3. Haber JE, Debatisse M (2006) Gene amplification: yeast takes a turn. *Cell* 125: 1237-40
4. Ellsworth DL, Ellsworth RE, Liebman MN, Hooke JA, Shriver CD (2004) Genomic instability in histologically normal breast tissues: implications for carcinogenesis. *Lancet Oncol* 5: 753-8
5. Euhus DM, Cler L, Shivapurkar N *et al.* (2002) Loss of heterozygosity in benign breast epithelium in relation to breast cancer risk. *J Natl Cancer Inst* 94: 858-60
6. Collado M, Blasco MA, Serrano M (2007) Cellular senescence in cancer and aging. *Cell* 130: 223-33
7. Meeker AK, Argani P (2004) Telomere shortening occurs early during breast tumorigenesis: a cause of chromosome destabilization underlying malignant transformation? *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 9: 285-96

8. Meeker AK, Hicks JL, Gabrielson E, Strauss WM, De Marzo AM, Argani P (2004) Telomere Shortening Occurs in Subsets of Normal Breast Epithelium as well as in situ and Invasive Carcinoma. *Am J Pathol* 164: 925-35
9. Chin K, de Solorzano CO, Knowles D *et al.* (2004) In situ analyses of genome instability in breast cancer. *Nat Genet* 36: 984-8
10. Widschwendter M, Fiegl H, Egle D *et al.* (2007) Epigenetic stem cell signature in cancer. *Nat Genet* 39: 157-8
11. Tlsty TD, Crawford YG, Holst CR *et al.* (2004) Genetic and epigenetic changes in mammary epithelial cells may mimic early events in carcinogenesis. *J Mammary Gland Biol Neoplasia* 9: 263-74
12. Macaluso M, Montanari M, Cinti C, Giordano A (2005) Modulation of cell cycle components by epigenetic and genetic events. *Semin Oncol* 32: 452-7
13. Zeidler M, Varambally S, Cao Q *et al.* (2005) The Polycomb group protein EZH2 impairs DNA repair in breast epithelial cells. *Neoplasia* 7: 1011-9
14. Ding L, Erdmann C, Chinnaiyan AM, Merajver SD, Kleer CG (2006) Identification of EZH2 as a molecular marker for a precancerous state in morphologically normal breast tissues. *Cancer Res* 66: 4095-9
15. Bartkova J, Horejsi Z, Koed K *et al.* (2005) DNA damage response as a candidate anti-cancer barrier in early human tumorigenesis. *Nature* 434: 864-70
16. Gorgoulis VG, Vassiliou LV, Karakaidos P *et al.* (2005) Activation of the DNA damage checkpoint and genomic instability in human precancerous lesions. *Nature* 434: 907-13
17. Schnitt SJ, Vincent-Salomon A (2003) Columnar cell lesions of the breast. *Adv Anat Pathol* 10: 113-24
18. Simpson P, Gale T, Reis-Filho J *et al.* (2005) Columnar Cell Lesions of the Breast: The Missing Link in Breast Cancer Progression?: A Morphological and Molecular Analysis. *Am J Surg Pathol* 29: 734-46
19. Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T, Lakhani SR (2005) Molecular evolution of breast cancer. *J Pathol* 205: 248-54
20. Collins LC, Tamimi RM, Baer HJ, Connolly JL, Colditz GA, Schnitt SJ (2005) Outcome of patients with ductal carcinoma in situ untreated after diagnostic biopsy: results from the Nurses' Health Study. *Cancer* 103: 1778-84
21. Sanders ME, Schuyler PA, Dupont WD, Page DL (2005) The natural history of low-grade ductal carcinoma in situ of the breast in women treated by biopsy only revealed over 30 years of long-term follow-up. *Cancer* 103: 2481-4
22. Erbas B, Provenzano E, Armes J, Gertig D (2006) The natural history of ductal carcinoma in situ of the breast: a review. *Breast Cancer Res Treat* 97: 135-44
23. Leonard GD, Swain SM (2004) Ductal Carcinoma In Situ, Complexities and Challenges. *J Natl Cancer Inst* 96: 906-20
24. Committee TCC (1997) Consensus conference on the classification of ductal carcinoma in situ. *Cancer* 80: 1798-1802
25. Schnitt SJ, Connolly JL, Tavassoli FA *et al.* (1992) Interobserver reproducibility in the diagnosis of ductal proliferative breast lesions using standardized criteria. *Am J Surg Pathol* 16: 1133-43
26. Zafrani B, Leroyer A, Fourquet A *et al.* (1994) Mammographically-detected ductal in situ carcinoma of the breast analyzed with a new classification. A study of 127 cases: correlation with

estrogen and progesterone receptors, p53 and c-erbB-2 proteins, and proliferative activity. *Semin Diagn Pathol* 11: 208-14

27. Bartkova J, Barnes DM, Millis RR, Gullick WJ (1990) Immunohistochemical demonstration of c-erbB-2 protein in mammary ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 21: 1164-7

28. Latta EK, Tjan S, Parkes RK, O'Malley FP (2002) The Role of HER2/neu Overexpression/Amplification in the Progression of Ductal Carcinoma In situ to Invasive Carcinoma of the Breast. *Mod Pathol* 15: 1318-25

29. Ramachandra S, Machin L, Ashley S, Monaghan P, Gusterson BA (1990) Immunohistochemical distribution of c-erbB-2 in in situ breast carcinoma--a detailed morphological analysis. *J Pathol* 161: 7-14

30. Van de Vijver MJ, Peterse JL *et al.* (1988) Neu-protein overexpression in breast cancer. Association with comedo- type ductal carcinoma in situ and limited prognostic value in stage II breast cancer. *New Engl J Med* 319: 1239-45

31. Barnes DM, Bartkova J, Camplejohn RS, Gullick WJ, Smith PJ, Millis RR (1992) Overexpression of the c-erbB-2 oncoprotein: why does this occur more frequently in ductal carcinoma in situ than in invasive mammary carcinoma and is this of prognostic significance? *Eur J Cancer* 28: 644-8

32. Collins LC, Schnitt SJ (2005) HER2 protein overexpression in estrogen receptor-positive ductal carcinoma in situ of the breast: frequency and implications for tamoxifen therapy. *Mod Pathol* 18: 615-20

33. Bryan BB, Schnitt SJ, Collins LC (2006) Ductal carcinoma in situ with basal-like phenotype: a possible precursor to invasive basal-like breast cancer. *Mod Pathol* 19: 617-21

34. Livasy CA, Perou CM, Karaca G *et al.* (2007) Identification of a basal-like subtype of breast ductal carcinoma in situ. *Hum Pathol* 38: 197-204

35. Dabbs DJ, Chivukula M, Carter G, Bhargava R (2006) Basal phenotype of ductal carcinoma in situ: recognition and immunohistologic profile. *Mod Pathol* 19: 1506-11

36. Meijnen P, Peterse JL, Antonini N, Rutgers EJ, van de Vijver MJ (2008) Immunohistochemical categorisation of ductal carcinoma in situ of the breast. *Br J Cancer* 98: 137-42

37. Vos CB, ter Haar NT, Rosenberg C *et al.* (1999) Genetic alterations on chromosome 16 and 17 are important features of ductal carcinoma in situ of the breast and are associated with histologic type. *Br J Cancer* 81: 1410-8

38. Farabegoli F, Champeme MH, Bieche I *et al.* (2002) Genetic pathways in the evolution of breast ductal carcinoma in situ. *J Pathol* 196: 280-6

39. Done S, Eskandarian S, Bull S, Redston M, Andrulis I (2001) p53 missense mutations in microdissected high-grade ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Instit* 93: 700-4

40. Hwang ES, DeVries S, Chew KL *et al.* (2004) Patterns of chromosomal alterations in breast ductal carcinoma in situ. *Clin Cancer Res* 10: 5160-7

41. Millis RR, Pinder SE, Ryder K, Howitt R, Lakhani SR (2004) Grade of recurrent in situ and invasive carcinoma following treatment of pure ductal carcinoma in situ of the breast. *Br J Cancer* 90: 1538-42

42. Aubele M, Cummings M, Walsch A *et al.* (2000) Heterogeneous chromosomal aberrations in intraductal breast lesions adjacent to invasive carcinoma. *Anal Cell Pathol* 20: 17-24

43. Waldman F, De Vries S, Chew K, Moore D, Kerlikowske K, Ljung BM (2000) Chromosomal alterations in ductal carcinomas in situ and their in situ recurrences. *J Natl Cancer Instit* 92: 313-20

44. Schnitt SJ (2003) The diagnosis and management of pre-invasive breast disease: flat epithelial atypia--classification, pathologic features and clinical significance. *Breast Cancer Res* 5: 263-8
45. Buerger H, Otterbach F, Simon R *et al.* (1999) Comparative genomic hybridization of ductal carcinoma in situ of the breast--evidence of multiple genetic pathways. *J Pathol* 187: 396-402
46. Vincent-Salomon A, Lucchesi C, Gruel N *et al.* (2008) Integrated genomic and transcriptomic analysis of ductal carcinoma in situ of the breast. *Clin Cancer Res* 14: 1956-65
47. Fiche M, Avet-Loiseau H, Maugard CM *et al.* (2000) Gene amplifications detected by fluorescence in situ hybridization in pure intraductal breast carcinomas: relation to morphology, cell proliferation and expression of breast cancer-related genes. *Intern J Cancer* 89: 403-10
48. Boehm JS, Zhao JJ, Yao J *et al.* (2007) Integrative genomic approaches identify IKBKE as a breast cancer oncogene. *Cell*, 129: 1065-79
49. O'Malley F, Nvencak-Jones C, Dupont W, Parl F, Manning S, Page D (1994) p53 mutations are confined to the comedotype ductal carcinoma in situ of the breast. Immunohistochemical and sequencing data. *Laboratory Investigation* 71: 67-72
50. Adeyinka A, Emberley E, Niu Y *et al.* (2002) Analysis of Gene Expression in Ductal Carcinoma in situ of the Breast. *Clin Cancer Res* 8: 3788-95
51. Porter D, Lahti-Domenici J, Keshaviah A *et al.* (2003) Molecular Markers in Ductal Carcinoma in situ of the Breast. *Mol Cancer Res* 1: 362-75
52. Ma XJ, Salunga R, Tuggle JT *et al.* (2003) Gene expression profiles of human breast cancer progression. *PNAS* 100: 5974-9
53. Hannemann J, Velds A, Halfwerk JB, Kreike B, Peterse JL, van de Vijver MJ (2006) Classification of ductal carcinoma in situ by gene expression profiling. *Breast Cancer Res* 8: R61
54. Yu K, Lee CH, Tan PH, Tan P (2004) Conservation of breast cancer molecular subtypes and transcriptional patterns of tumor progression across distinct ethnic populations. *Clin Cancer Res* 10: 5508-17
55. Bijker N, Peterse JL, Duchateau L *et al.* (2001) Risk factors for recurrence and metastasis after breast-conserving therapy for ductal carcinoma-in-situ: analysis of European Organization for Research and Treatment of Cancer Trial 10853. *J Clin Oncol* 19: 2263-71
56. Tunon-de-Lara C, de-Mascarel I, Mac-Grogan G *et al.* (2001) Analysis of 676 cases of ductal carcinoma in situ of the breast from 1971 to 1995: diagnosis and treatment--the experience of one institute. *Am J Clin Oncol* 24: 531-6
57. Kerlikowske K, Molinaro A, Cha I *et al.* (2003) Characteristics Associated With Recurrence Among Women With Ductal Carcinoma In situ Treated by Lumpectomy. *J Natl Cancer Inst* 95: 1692-702
58. Collins LC, Achacoso N, Haque R *et al.* (2013) Risk factors for non-invasive and invasive local recurrence in patients with ductal carcinoma in situ. *Breast Cancer Res Treat* 139: 453-60
59. Bellamy CO, Harrison DJ (1994) Evaluation of glutathione S-transferase Pi in non-invasive ductal carcinoma of breast. *Br J Cancer* 69: 183-5
60. Boyades J, Delaney G, Taylor R (1999) Predictors of local recurrence after treatment of ductal carcinoma in situ. *Cancer* 85: 616-28
61. Fisher E, Costantino J, Fisher B *et al.* (1996) Pathologic Findings from the National Surgical Adjuvant breast project (NSABP) Protocol B-17. *Cancer* 78: 1403-16

62. Provenzano E, Hopper JL, Giles GG, Marr G, Venter DJ, Armes JE (2003) Biological markers that predict clinical recurrence in ductal carcinoma in situ of the breast. *Eur J Cancer* 39: 622-30
63. Gauthier ML, Berman HK, Miller C *et al.* (2007) Abrogated response to cellular stress identifies DCIS associated with subsequent tumor events and defines basal-like breast tumors. *Cancer Cell* 12: 479-91
64. Kerlikowske K, Molinaro AM, Gauthier ML *et al.* (2010) Biomarker expression and risk of subsequent tumors after initial ductal carcinoma in situ diagnosis. *J Natl Cancer Inst* 102: 627-37
65. Knudsen ES, Dervishaj O, Kleer CG, Pajak T, Schwartz GF, Witkiewicz AK (2013) EZH2 and ALDH1 expression in ductal carcinoma in situ: Complex association with recurrence and progression to invasive breast cancer. *Cell Cycle* 12: 2042-50
66. Solin LJ, Gray R, Baehner FL *et al.* (2013) A multigene expression assay to predict local recurrence risk for ductal carcinoma in situ of the breast. *J Natl Cancer Inst* 105: 701-10
67. Hu M, Yao J, Carroll DK, Weremowicz S *et al.* (2008) Regulation of in situ to invasive breast carcinoma transition. *Cancer Cell* 13: 394-406
68. Polyak K (2010) Molecular markers for the diagnosis and management of ductal carcinoma in situ. *J Natl Cancer Inst Monogr* 41: 210-3
69. Cutuli B, Lemanski C, Le Blanc-Onfroy M *et al.* (2013) Local recurrence after ductal carcinoma in situ breast conserving treatment. Analysis of 195 cases. *Cancer Radiother* 17: 196-201