

**UNIVERSITE DE NANTES**

---

**FACULTE DE MEDECINE**

---

Année 2011

N° 48

**THESE**

pour le

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE**

**Spécialité Anatomie et Cytologie Pathologiques**

par

**Laure Droy Dupré**

née le 16/10/1980 à St Quentin (Aisne)

---

Présentée et soutenue publiquement le 16 Juin 2011

---

**Hétérogénéité histopathologique et moléculaire  
des tumeurs villeuses recto-sigmoïdiennes**

---

Président du jury : Monsieur le Professeur C. Laboisse

Directeur de thèse : Monsieur le Professeur J.-F. Mosnier

Membres du jury : Monsieur le Professeur S. Bézieau  
Madame le Docteur T. Matysiak Budnik

# SOMMAIRE

<b>INTRODUCTION</b> .....	3
<b>GENERALITES</b> .....	4
<b>1. Evolution du concept morphologique des polypes dans le tube digestif</b> .....	4
1.1. <i>Evolution du concept de polype adénomateux, et assimilation de la tumeur villositaire aux adénomes villositaires</i> .....	5
1.1.1. Evolution du concept de « tumeur villositaire ».....	5
1.1.2. Progression des polypes adénomateux vers le cancer, et facteurs prédictifs de transformation carcinomateuse.....	8
1.1.3. Critères morphologiques actuels de description des polypes adénomateux : « les adénomes conventionnels ».....	9
1.2. <i>Evolution du concept de polype festonné</i> .....	11
1.2.1. Problèmes posés par les polypes hyperplasiques et les adénomes festonnés	11
1.2.2. Progression des polypes festonnés vers le cancer.....	13
1.2.3. Critères morphologiques actuels de description des polypes festonnés.....	14
1.2.4. Polypes festonnés et « tumeurs villositaires ».....	16
<b>2. L'expression des mucines dans les polypes colorectaux</b> .....	18
<b>3. Evolution du concept des voies génétiques menant aux cancers colorectaux</b> .....	20
3.1. <i>Le modèle classique d'oncogénèse : la séquence adénome - carcinome selon Vogelstein</i> .....	20
3.2. <i>Evolution du concept d'instabilité microsatellitaire</i> .....	22
3.3. <i>Epigénétique et cancer du colon</i> .....	23
3.3.1. La voie festonnée sessile associée à la mutation <i>BRAF</i> , prédominant dans le colon droit (Figure 9).....	24
3.3.2. La voie festonnée traditionnelle associée à la mutation <i>KRAS</i> , prédominant dans le colon gauche (Figure 9).....	24
<b>4. Cascades de régulation impliquées dans la cancérogenèse colorectale et méthodes d'exploration</b> .....	26
<b>BUT DE L'ETUDE</b> .....	28
<b>MATERIEL ET METHODES</b> .....	29
1. <b>Patients sélectionnés</b> .....	29
2. <b>Etude histologique</b> .....	29
3. <b>Etude immunohistochimique</b> .....	30
4. <b>Analyse moléculaire</b> .....	31
4.1 <i>Extraction d'ADN</i> .....	31
4.2 <i>Détermination du profil d'instabilité microsatellitaire</i> .....	32
4.3 <i>Détermination du statut mutationnel KRAS</i> .....	32
4.4 <i>Détermination du statut mutationnel BRAF</i> .....	33
<b>RESULTATS</b> .....	34
1. <b>Etude histologique</b> .....	34
2. <b>Etude des données cliniques</b> (tableau 2).....	38
3. <b>Etude immunohistochimique et moléculaire</b> (Figure 14).....	40
3.1. <i>Profil d'expression des mucines</i> .....	40
3.2. <i>Profil d'instabilité microsatellitaire</i> .....	41
3.3. <i>Profil d'expression des protéines p16 et MGMT</i> .....	42
3.4. <i>Statut mutationnel du gène KRAS</i> .....	42
3.5. <i>Statut mutationnel du gène BRAF</i> .....	43
3.6. <i>Profil d'expression nucléaire de la protéine <math>\beta</math>-caténine</i> .....	43
3.7. <i>Profil d'expression de la protéine P53</i> .....	44
<b>DISCUSSION</b> .....	46
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	52

## INTRODUCTION

Les tumeurs vilieuses du colon et du rectum sont des tumeurs macroscopiquement étendues, planes ou saillantes, d'aspect vilieux. La séquence adénome – cancer est considérée comme le concept de base de la carcinogenèse colique. Dans cette séquence, le terme d'adénome désigne une lésion saillante tapissée d'un épithélium dysplasique. Le concept morphologique validé à la fin des années 1970 par B.C. Morson répartit les adénomes coliques en trois groupes selon leur architecture : les adénomes tubuleux, tubulo-vilieux et vilieux. L'augmentation de taille des adénomes coliques s'accompagne de l'accentuation de leur architecture vilieuse et de l'aggravation des lésions de dysplasie, augmentant progressivement leur risque d'évolution vers le cancer. Ce concept morphologique a constitué le socle du schéma moléculaire de Vogelstein, qui établit un lien entre l'évolution morphologique de l'adénome colique et l'accumulation stéréotypée d'anomalies génétiques. Ce paradigme a conduit à l'assimilation des tumeurs vilieuses aux adénomes vilieux par la plupart des pathologistes.

La démonstration récente et sans équivoque de la possibilité de transformation carcinomateuse des polypes festonnés, incluant le polype hyperplasique, qui, dénué de dysplasie, était jusqu'alors exclus de la séquence adénome – carcinome, a remis en question tout le concept de la carcinogenèse colique, et amène à revisiter ces concepts, qui paraissaient définitivement établis.

Dans ce contexte, l'assimilation des tumeurs vilieuses aux adénomes vilieux mérite d'être discutée. Il est reconnu que les tumeurs vilieuses sont plus agressives que les autres polypes, et qu'elles sont plus souvent associées à des adénocarcinomes de type inhabituel. Elles sont aussi associées à une localisation particulière, la charnière recto-sigmoïdienne, et semblent avoir, d'après des travaux récents, un profil moléculaire particulier (Jass et coll., 2006).

Pour cette raison, nous avons étudié l'ensemble des tumeurs recto-sigmoïdiennes considérées comme des tumeurs vilieuses en endoscopie, et analysé leur profil clinique, histologique, moléculaire et évolutif.

## GENERALITES

### 1. Evolution du concept morphologique des polypes dans le tube digestif

Le terme de polype rectal ou colique désigne une tumeur faisant saillie dans la lumière intestinale, sans préjuger de sa nature histologique. Le polype peut être d'insertion sessile (à large base d'insertion) ou pédiculée. Les polypes sont de taille variable, pouvant parfois atteindre plusieurs centimètres. C'est notamment le cas des « tumeurs vilieuses », sujet de cette thèse, qui sont des polypes sessiles d'aspect framboisé, généralement localisés dans le sigmoïde ou le rectum (Figure 1).

Notre travail s'est intéressé aux polypes de nature épithéliale, qu'on peut subdiviser, selon les classifications histologiques actuelles, en polype adénomateux et en polype festonné (Snover et coll., 2010). Ces différents polypes sont caractérisés par une prolifération épithéliale prenant des aspects architecturaux et cytologiques spécifiques permettant de les distinguer. Les polypes adénomateux sont actuellement définis par une architecture tubuleuse et/ou vilieuse, s'associant à des lésions cytologiques de dysplasie conventionnelle de l'épithélium intestinal. Les polypes festonnés sont définis par une architecture tubuleuse ou vilieuse, et bordés d'un épithélium festonné, plus ou moins métaplasique (métaplasie gastrique, intestinale) avec ou sans dysplasie. Ces notions étant récentes et encore discutées, nous les décrivons en détail, en reprenant leur historique pour mieux comprendre l'évolution de ces concepts, et en insistant sur les formes vilieuses, qui font l'objet de notre étude.

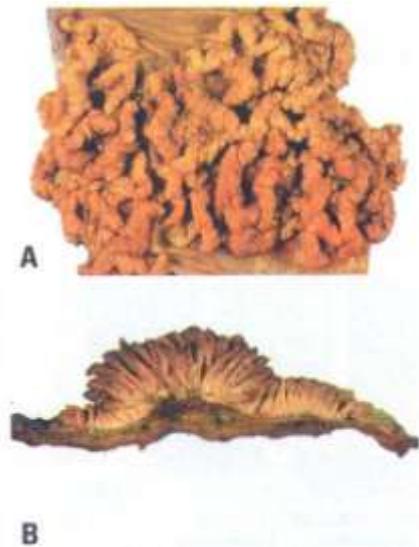


**Figure 1.** Aspects endoscopiques d'un polype pédiculé, d'un polype sessile et d'une nappe vilieuse sessile du rectum.

## 1.1. Evolution du concept de polype adénomateux, et assimilation de la tumeur vilieuse aux adénomes vilieux

### 1.1.1. Evolution du concept de « tumeur vilieuse »

L'une des premières études rapportant quatre cas de « tumeurs vilieuses » est publiée en 1899 par Quénu et Landel. Les premières descriptions de ces tumeurs, aussi appelées « papillomes » (Quénu et coll., 1899 ; David 1925, McKittrick et coll., 1954) font état de volumineuses tumeurs rectales (Figure 2), pouvant être associées à une importante diarrhée hydrique, ayant pour conséquence des troubles hydro-électrolytiques (hypokaliémie, hyponatrémie et hypochlorémie). Cet aspect clinique a été initialement décrit sous le terme de syndrome de McKittrick-Wheelock. Le potentiel malin de ces lésions était déjà reconnu, puisqu'il était observé qu'elles pouvaient se transformer en tumeurs malignes.

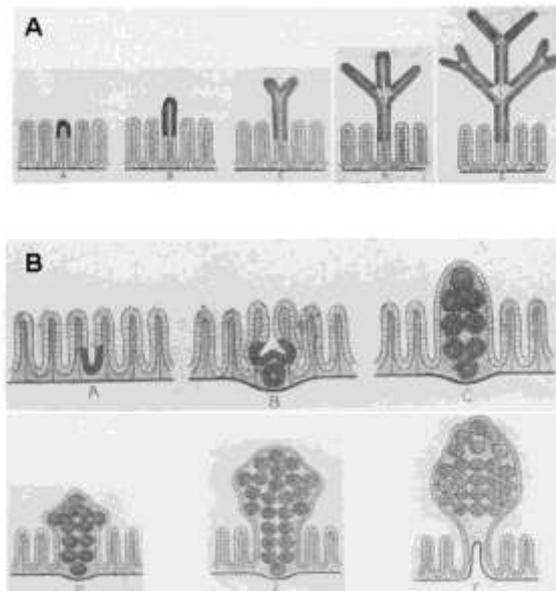


**Figure 2.** Macroscopie d'un adénome vilieux sessile (A) et de sa tranche de section (B). (Hamilton et coll., 2000).

Les autres lésions polypeuses du colon, nommées à l'époque « adénome », correspondant aux lésions actuellement nommées « adénomes tubuleux », étaient alors bien connues, beaucoup plus fréquentes, et souvent pédiculées. Leur potentiel malin était considéré comme très faible. Il était même contesté par certains chirurgiens et anatomopathologistes, pensant que les adénomes pédiculés restaient

des lésions bénignes, sans capacité de donner des cancers infiltrants et des métastases.

A la fin des années 1940, l'intérêt de rattacher ou de séparer les deux entités polypoïdes du colon et du rectum, le « papillome » (adénome villos) et l'« adénome » (adénome tubuleux) a été débattu. Plusieurs études (Helwig, 1947 ; Sunderland et coll., 1948) ont défendu l'idée que le papillome ne représentait qu'une variante architecturale mineure de l'adénome, et non une entité distincte. Au contraire, Dukes (1947) considérait que le mécanisme d'apparition de ces 2 entités était différent. Son hypothèse était que les papillomes dérivait de l'épithélium de surface et les adénomes du fond des cryptes de Lieberkühn. Les papillomes avaient ainsi suffisamment d'espace pour s'étendre en structures villoses dans la lumière colique ou rectale. Le développement de l'adénome était quant à lui contraint par les tissus avoisinants, réalisant ainsi une lésion nodulaire d'architecture tubuleuse, enserrée dans la sous-muqueuse. Le péristaltisme intestinal entraînait la pédiculisation de la tumeur (Figure 3).



**Figure 3.** Différences entre un « papillome » et un « adénome » selon Dukes en 1947. Le papillome (A) se développe à partir de l'épithélium de surface. L'adénome (B) se développe à partir du fond des cryptes.

Sunderland (Sunderland et coll., 1948) a été le premier à séparer les deux entités, mais pour des raisons différentes. Pour lui, ces deux entités n'étaient que des variations architecturales des adénomes, aucune preuve formelle ne démontrant leur origine différente. Toutefois, le papillome devait être distingué à cause de ses caractéristiques cliniques particulières : sa rareté, sa survenue chez des sujets âgés,

sa localisation préférentielle rectale, sa grande taille, sa croissance lente, et son caractère souvent récidivant après exérèse. Toutefois, la caractéristique majeure qui faisait considérer le papillome comme une entité distincte était son important potentiel de transformation maligne. En effet, Sunderland notait que l'évolution clinique des papillomes était différente de celle des « adénomes simples » : ils étaient beaucoup plus souvent associés à des carcinomes in situ ou des adénocarcinomes invasifs, modifiant le pronostic ainsi que la prise en charge des patients. Finalement, ce sont ces arguments cliniques qui justifiaient l'individualisation des papillomes. Dans ce concept, Le potentiel malin du papillome occupait une position intermédiaire entre celui de l'adénome et celui de l'adénocarcinome. A partir de cette date, le papillome a pris une importance croissante dans la littérature, non seulement à cause de son fort potentiel de malignité mais surtout à cause des difficultés d'exérèse de ces tumeurs, qui sont larges et sessiles (Welch et coll., 1976).

La distinction des papillomes et des adénomes a toutefois été remise en question par la description de lésions polypeuses d'architecture histologique mixte, tubuleuse et villose. Grâce au développement des méthodes d'explorations endoscopiques à partir des années 1970, ces lésions initialement dénommées « polype villo-glandulaire » puis adénome tubulo-villeux (Morson, et coll., 1970, Wolff et coll., 1973 ; Appel et coll., 1977) ont été de plus en plus fréquemment décrites. L'endoscopie a rendu ces lésions plus accessibles aux exérèses totales et aux biopsies. Il a été ainsi rapporté qu'un tiers des adénomes présentaient une composante architecturale villose et que la fréquence de cette composante villose augmentait avec la taille des polypes (Muto et coll., 1975). Dans le même temps, il était rapporté que certains adénomes vilieux n'étaient pas d'implantation sessile. Certains pouvaient être pédiculés, comme les adénomes tubuleux. Une des contributions majeures de l'introduction de l'endoscopie dans ce débat a été de montrer, grâce à la multiplication des prélèvements effectués, que les papillomes, les adénomes et les adénomes villo-glandulaires partageaient une anomalie cytologique identique, appelée la dysplasie épithéliale (Welch, 1971 ; Muto et coll., 1975).

Les divergences d'opinion ont été effacées par la publication, en 1976, d'une classification des polypes intestinaux par l'Organisation Mondiale de la Santé (Morson et coll., 1976). Cette classification rassemblait les différents polypes en une seule entité, sur l'argument essentiel que malgré leurs différences architecturales,

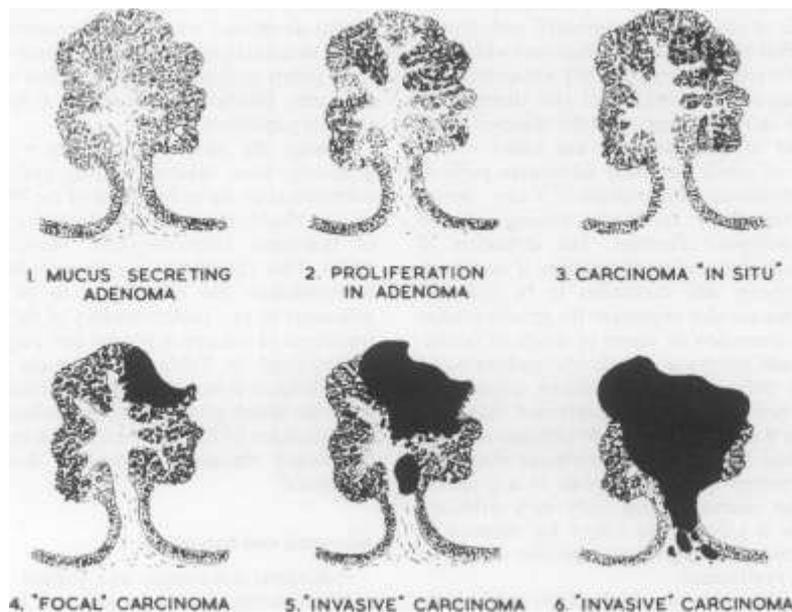
ces lésions partageaient une même anomalie biologique à l'origine du potentiel malin : la dysplasie épithéliale (Morson, 1976). Ainsi, la « tumeur vilieuse » était fondue dans le spectre des adénomes, ces derniers étant désormais considérés comme seule entité de potentiel de malignité indiscutable (Morson, 1984). Les adénomes étaient alors répartis en adénomes tubuleux, adénomes vilieux, et adénomes tubulo-vilieux.

#### 1.1.2. Progression des polypes adénomateux vers le cancer, et facteurs prédictifs de transformation carcinomateuse

La capacité des adénomes vilieux et tubuleux à se transformer en tumeurs malignes a été décrite par Cuthbert Dukes sous la dénomination imagée de « The Rake's Progress », ou « La Carrière du Libertin », du nom d'un opéra d'Igor Stravinski, inspiré d'une série de tableaux de William Hogarth, et relatant le déclin et la chute d'un homme ayant passé un pacte avec le diable (Figure 4). Virchow avait déjà décrit à la fin du XIX<sup>ème</sup> siècle les « modifications cellulaires » ou atypies cytonucléaires associées à la transformation carcinomateuse, mais Dukes fut le premier, dans les années 1950, à décrire l'ensemble des étapes histologiques de la transformation des adénomes du colon et du rectum en lésion carcinomateuse infiltrante. Dans les années 1950-1960 aux Etats-Unis, cette théorie a conduit certains à proposer une colectomie totale à des patients ne présentant que quelques polypes (Morson, 1984). Cette attitude extrémiste a amené certains pathologistes à présenter un point de vue très tranché, à savoir que les adénomes tubuleux pédiculés ne conduisaient jamais au carcinome infiltrant et métastatique, tandis que les adénomes vilieux présentaient un véritable potentiel malin significatif (Spratt et coll., 1958 ; Castelman et coll., 1962).

En effet, les adénomes colorectaux sont fréquents dans la population générale et leur association à un cancer est finalement rare : la prévalence des polypes cancéreux dans les séries de résection endoscopiques de polypes varie de 0,2% à 11% (Netzer et coll., 1998 ; Soetikno et coll., 2008). Ainsi, l'adénome ne constitue pas un marqueur très sensible du risque de développer un cancer colorectal. Pour cette raison, différentes études ont recherché les critères morphologiques des adénomes associés à un risque important de transformation maligne.

Deux de ces critères sont connus depuis longtemps : la **taille** de l'adénome supérieure à 10mm (Grinnell et coll., 1958 ; Muto et coll., 1975), et la présence d'une **composante vilieuse** (Ferraro et coll., 1965 ; Appel et coll., 1977). Puis, le degré de la **dysplasie** s'est avéré être le marqueur pronostique le plus sensible (Muto et coll., 1975 ; Konishi et coll., 1982). Ces critères s'accumuleraient au cours de l'évolution de l'adénome. Enfin, **le nombre de polypes** détectés dans le colon et le rectum serait un critère de moindre sensibilité (Nusko et coll., 1997).



**Figure 4.** Origine et développement du carcinome dans un polype rectal : « the Rake's Progress » ou « la Carrière du Libertin » selon Cuthbert Dukes.

### 1.1.3. Critères morphologiques actuels de description des polypes adénomateux : « les adénomes conventionnels »

**L'adénome de type conventionnel** est reconnu comme étant une lésion pré-néoplasique, précédant l'adénocarcinome colorectal.

Macroscopiquement et endoscopiquement, l'adénome colorectal peut être polypoïde (surélevé), plan, ou déprimé. Lorsqu'il est polypoïde, l'adénome peut être sessile (à large base d'insertion) ou pédiculé, le pied du polype étant constitué d'une excroissance de la muqueuse normale.

La lésion histologique qui définit l'adénome conventionnel est la dysplasie dite « conventionnelle ». La dysplasie conventionnelle de bas grade est caractérisée par

une hypercellularité avec des noyaux allongés, peu hyperchromatiques, pseudostratifiés, mais restant au pôle basal des cellules épithéliales, sans dépasser les  $\frac{3}{4}$  de la hauteur de l'épithélium (Fenoglio-Preiser, 2008).

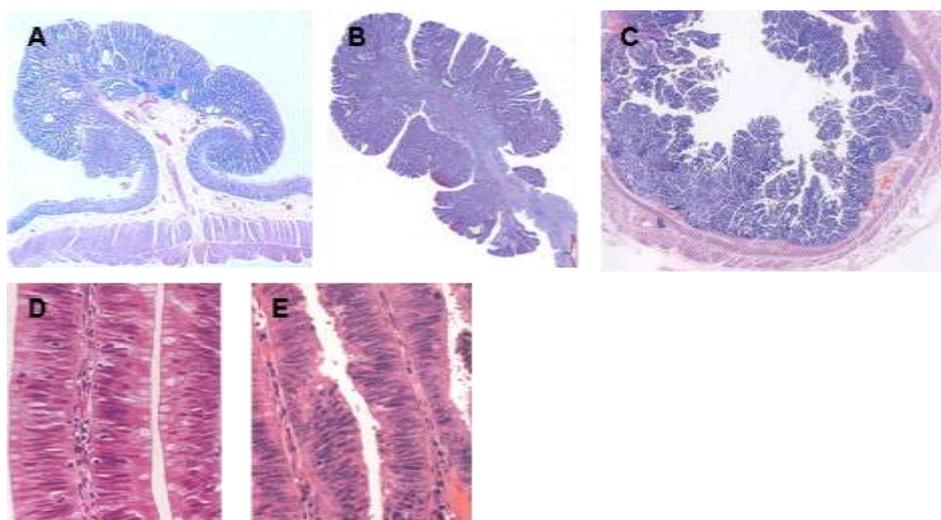
La dysplasie conventionnelle de haut grade se caractérise par la présence de noyaux nettement ascensionnés, atteignant la surface de l'épithélium, arrondis, irréguliers et hyperchromatiques. Le rapport nucléo-cytoplasmique est augmenté et la polarité cellulaire disparaît. Quelques mitoses sont présentes.

Les adénomes conventionnels sont séparés en 3 groupes architecturaux (Figure 5) :

- Les adénomes tubuleux sont constitués de cryptes allongées réalisant des tubes, tapissés par un épithélium dysplasique. Les structures tubulaires doivent représenter plus de 75% de la surface du polype. L'implantation de l'adénome tubuleux est habituellement pédiculée.

- Les adénomes vilieux sont formés de projections vilieuses, centrées par un axe conjonctif fin, digitiforme, et tapissé par un épithélium glandulaire dysplasique. Ces projections vilieuses doivent représenter plus de 75% de la surface du polype. L'architecture vilieuse est définie arbitrairement par une hauteur de glande dépassant le double de l'épaisseur d'une muqueuse colique normale (Hamilton et coll., 2010). L'implantation de l'adénome vilieux est habituellement sessile.

- Les adénomes tubulo-vilieux contiennent un mélange de structures vilieuses et tubuleuses, chaque composant représentant entre 25% et 75% du polype (Fenoglio-Preiser, 2008).



**Figure 5.** Adénomes conventionnels du colon. Adénome tubuleux (A), tubulo-vilieux (B) et vilieux (C). Dysplasie conventionnelle de bas grade (D) et de haut grade (E).

## 1.2. *Evolution du concept de polype festonné*

Les **polypes festonnés** sont de description récente, et ne sont pas encore clairement définis. Ces polypes ont une architecture festonnée, c'est-à-dire un aspect dentelé de la surface épithéliale. Les polypes festonnés regroupent le polype hyperplasique, le polype/adénome festonné sessile et l'adénome festonné traditionnel. L'évolution du concept et la morphologie de ces lésions festonnées sont intimement liées, et seront détaillées ci-dessous.

### 1.2.1. Problèmes posés par les polypes hyperplasiques et les adénomes festonnés

**Les polypes hyperplasiques** ont été essentiellement décrits par B.C. Morson dans les années 1960. Il décrivait ces lésions comme de petits polypes généralement sessiles faits de tubes avec un compartiment de prolifération étendu et une maturation excessive de l'épithélium des cryptes et de la surface, accompagnée d'un festonnement caractéristique. Il dénommait alors ces lésions « polype hyperplasiques/métaplasiques » (Morson, 1962). Ce sont les polypes les plus fréquemment rencontrés dans le colon adulte. Ces polypes sont des lésions asymptomatiques, et leur découverte est fortuite, lors d'une coloscopie ou d'une résection colique. Les polypes hyperplasiques ont longtemps été considérés comme des lésions indolentes. En effet, malgré leur grande fréquence, il n'était jamais retrouvé de formes de passage entre un polype hyperplasique et un carcinome (Lane et coll., 1971).

La notion de « bénignité » des polypes hyperplasiques a été remise en cause par Urbanski et coll. en 1984. La présence de polypes hyperplasiques était décrite avec une plus grande fréquence chez les patients atteints de cancer colorectal. De plus, les auteurs ont décrit pour la première fois un polype présentant une architecture festonnée associant des aspects de polype hyperplasique à d'authentiques lésions de dysplasie avec transformation carcinomateuse. Urbanski et coll. (1984) ont nommé cette lésion festonnée « polype mixte hyperplasique et adénomateux » et ont suggéré le potentiel de transformation maligne des lésions festonnées, dont le

modèle est le polype hyperplasique. En 1990, Longacre et Fénoglio-Preiser ont décrit une série de « polype mixte adénomateux et hyperplasique » et ont introduit le terme d' « adénome festonné » pour décrire ce type de polypes présentant un mélange de structures festonnées et adénomateuses. Selon ces auteurs, les adénomes festonnés incluaient différentes formes histologiques de lésions comprenant des adénomes festonnés avec une composante adénomateuse minimale, difficiles à identifier des polypes hyperplasiques classiques, et des polypes festonnés clairement adénomateux. Les adénomes festonnés avec une composante adénomateuse minimale décrits par Longacre et Fenoglio-Preiser ont par la suite posé de nombreux problèmes d'identification aux pathologistes. En effet, différentes observations ont montré l'existence de « polypes hyperplasiques » de grande taille du colon droit, contigus à d'authentiques adénocarcinomes (Warner et coll., 1994). En fait, ces difficultés peuvent être expliquées a posteriori par le fait que Longacre et Fenoglio-Preiser décrivaient pour la première fois un type de dysplasie différent de la dysplasie observée dans les adénomes conventionnels. Cette dysplasie éosinophile est actuellement dénommée « dysplasie festonnée » (Lazarus et coll., 2005 ; Mäkinen et coll., 2007). Il faut cependant noter que Longacre et Fenoglio décrivaient dans 25% des adénomes festonnés des zones de dysplasie festonnée associées à des zones de dysplasie conventionnelle.

En 1996, Torlakovic et Snover ont décrit des formes familiales de polyposes hyperplasiques associées à des adénocarcinomes coliques. Ils notaient la présence de polypes similaires aux polypes hyperplasiques solitaires classiques, avec une maturation et une différenciation franche, mais présentant certaines caractéristiques histologiques distinctes : ils étaient souvent de plus grande taille, et présentaient des anomalies de prolifération caractérisées par la répartition anormale des compartiments de prolifération et de différenciation. Ces auteurs ont proposé de renommer les polyposes hyperplasiques sous le terme « polypose adénomateuse festonnée » (Torlakovic et coll., 1996).

Torlakovic et coll. ont ensuite réévalué en 2003 une série de polypes hyperplasiques en précisant la nature du revêtement cellulaire, et la répartition des compartiments de prolifération et de différenciation des cryptes coliques. Au terme de cette réévaluation, les polypes hyperplasiques étaient répartis en 4 variants : type « microvésiculaire », type « à cellules caliciformes », type « pauvre en mucine » (ces 3 types ne présentant pas d'anomalie la prolifération) et les « polypes hyperplasiques

avec prolifération anormale » (Torlakovic et coll., 2003). Les « polypes hyperplasiques avec prolifération anormale » correspondaient à un groupe de polype hyperplasique de grande taille, de localisation colique droite et présentant des anomalies de répartition du compartiment de prolifération et de différenciation. Il s'agissait des mêmes polypes qu'ils avaient déjà décrits en 1996 dans les polyposes hyperplasiques familiales. Torlakovic et coll. ont alors proposé de les distinguer des autres polypes hyperplasiques et de les renommer « adénomes festonnés sessiles », car ces polypes sont plus souvent associés à des carcinomes. De plus, en 2001, Hawkins et coll. avaient montré que les polypes hyperplasiques du colon droit présentaient les mêmes anomalies génétiques que les adénomes festonnés du colon droit. Ils suggéraient donc que ces lésions étaient des précurseurs des carcinomes colorectaux présentant une instabilité microsatellitaire.

La compilation de ces données historiques montrait à ce stade qu'un groupe de polypes associé à une évolution carcinomateuse pouvait être distingué des adénomes conventionnels, et qu'ils avaient un aspect architectural commun, l'aspect festonné. Néanmoins, ce groupe apparaissait encore très hétérogène, incluant des lésions cliniquement et morphologiquement très différentes. La répartition actuelle de ces lésions est schématiquement décrite dans le chapitre 1.2.3.

### 1.2.2. Progression des polypes festonnés vers le cancer

La présence de formes de passage des polypes festonnés vers l'adénocarcinome colique et la description d'adénocarcinomes associés à des formes familiales de polyposes hyperplasiques a fait la démonstration définitive du potentiel de transformation des polypes hyperplasiques en adénocarcinomes. Ces adénocarcinomes peuvent être des adénocarcinomes festonnés. La première description de l'adénocarcinome festonné a été rapportée par Jass et Smith (Jass et coll., 1992). Par la suite une série d'adénocarcinomes festonnés a été rapportée par Mäkinen et coll. en 2001. Ces adénocarcinomes se caractérisent par la conservation des critères architecturaux des polypes et de la dysplasie festonnée : une architecture festonnée, des cellules tumorales au cytoplasme éosinophile, au noyau vésiculeux et au nucléole proéminent. Ils sont souvent partiellement ou totalement mucineux.

Le terme de « voie de cancérogenèse festonnée » est dorénavant utilisé pour décrire le continuum morphologique entre les polypes hyperplasiques, les adénomes festonnés et certains cancers colorectaux (Jass et coll., 1999 ; 2000 ; 2001 ; Torlakovic et coll., 2003, O'Brien et coll., 2006).

### 1.2.3. Critères morphologiques actuels de description des polypes festonnés

**Le polype hyperplasique** est une lésion fréquente, avec une prévalence d'environ 10% chez des patients asymptomatiques dans les études de cohortes importantes. Il est habituellement de petite taille, et localisé typiquement dans la région recto-sigmoïdienne.

Actuellement, les polypes hyperplasiques sont répartis en 3 catégories distinctes : les polypes hyperplasiques riches en cellules microvésiculaires, les polypes hyperplasiques riches en cellules caliciformes et les polypes hyperplasiques pauvres en mucine. Ces polypes se distinguent les uns des autres par la différenciation des cellules bordant le tiers moyen et le tiers supérieur des cryptes : différenciation fovéolaire dans les polypes hyperplasiques riches en cellules microvésiculaires, différenciation en cellules caliciformes coliques dans les polypes hyperplasiques riches en cellules caliciformes, et différenciation intestinale dans les polypes hyperplasiques pauvres en mucine. Le fond des cryptes est prolifératif. Il n'apparaît pas d'anomalie de la prolifération cellulaire. Les polypes hyperplasiques riches en cellules caliciformes sont fréquents dans le sigmoïde et le rectum. Les polypes hyperplasiques riches en cellules microvésiculaires sont fréquents dans le colon droit. Les altérations moléculaires des polypes hyperplasiques de type microvésiculaire ont été liées à celles des adénomes festonnés sessiles (Torlakovic et coll., 2003).

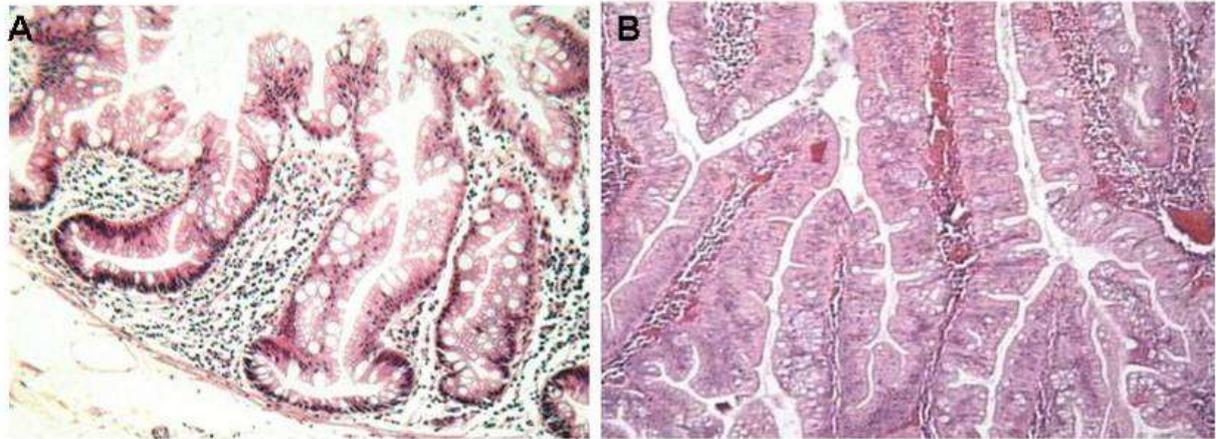
**Les adénomes/polypes festonnés sessiles (A/PFS)** sont le plus souvent localisés dans le colon droit. Ces lésions sont le plus souvent de grande taille, d'implantation

sessile, souvent couvertes de mucus, leur donnant un aspect initial jaunâtre en endoscopie. En microscopie, les A/PFS ressemblent aux polypes hyperplasiques, car ils présentent une architecture très festonnée, tapissées de cellules essentiellement de type microvésiculaire sans atypies cytonucléaires franches. Cependant, les A/PFS présentent des anomalies architecturales et du compartiment de prolifération particulières. Les anomalies architecturales sont la bifidité des cryptes, la dilatation et l'horizontalisation de la base des cryptes en L ou en T, contenant de nombreuses cellules caliciformes matures et immatures, microvésiculaires (Figure 6A). Ces anomalies cytologiques, correspondant à des anomalies de la maturation des cellules sécrétoires des cryptes coliques, et la localisation anormale de la zone de prolifération, témoigneraient du caractère déjà « dysplasique » de ces lésions. Les A/PFS non compliqués ne présentent pas de lésions de dysplasie conventionnelle décrite plus haut. Ceux-ci sont nommés dans la littérature tantôt « adénome festonné sessile », « polype festonné sessile » ou par l'OMS « adénome/polype festonné sessile » (Snover et coll., 2010). Cependant, lors de la progression vers le cancer, les A/PFS acquièrent des lésions de dysplasie. Cette dysplasie peut ressembler à la dysplasie conventionnelle des polypes adénomateux conventionnels, ou bien peut prendre la forme d'une **dysplasie dite « festonnée »**, faite de cellules cubiques ou cylindriques, au cytoplasme éosinophile, et au noyau vésiculaire présentant un nucléole parfois proéminent. Les A/PFS avec dysplasie conventionnelle sont nommés par certains auteurs « adénome festonné sessile avec dysplasie » (Sheridan et coll., 2006). Les A/PFS avec dysplasie de type festonnée sont dénommés de façon variée : « adénome festonné sessile », « adénome festonné » et parfois « adénome festonné traditionnel », rendant l'abord de cette littérature souvent difficile.

**L'adénome festonné traditionnel (AFT)** est moins fréquent que l'A/PFS. L'AFT est plus souvent de localisation distale. Il comporte un aspect polypoïde, et ressemble donc, en endoscopie, aux polypes adénomateux. En microscopie, les AFT sont le plus souvent constitués de tubes et surtout de villosités, bordés d'un épithélium festonné aux cellules épithéliales cylindriques allongées, présentant un cytoplasme éosinophile et des noyaux pénicillés (figure 6B). Les AFT présentent des lésions de dysplasie festonnée caractérisée, comme pour les A/PFS, par des noyaux vésiculeux et nucléolés. Certains adénomes festonnés traditionnels présentent des lésions de

dysplasie conventionnelle. Ceux-ci ont été décrits par Longacre et Fenoglio sous le terme de « polype mixte adénomateux et hyperplasique ».

Un critère diagnostique permettant de distinguer les adénomes festonnés traditionnels et les adénomes festonnés sessiles serait la formation de cryptes ectopiques ou mini-cryptes (Torlakovic et coll., 2008).



**Figure 6.** adénome festonné sessile (A) et adénome festonné traditionnel (B). Selon Fenoglio-Preiser, 2008.

#### 1.2.4. Polypes festonnés et « tumeurs vilieuses »

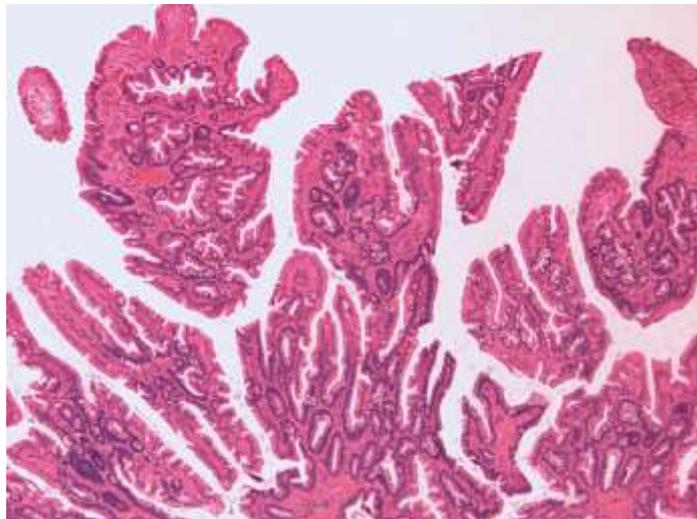
Pourquoi décrire aussi abondamment les lésions festonnées dans le cadre d'une étude sur les tumeurs vilieuses du rectum ?

Des lésions vilieuses festonnées ont été décrites dès 1999 par Yokoo et coll., sous le terme de polype colorectal à différenciation entérocytaire. Les auteurs décrivaient des polypes présentant une architecture largement papillaire, constituée de longues et fines villosités, bordées d'une alternance de villosités de petite taille, alternant avec des cryptes immatures, réalisant un aspect ondulé ou festonné. L'examen des photographies de cet article montre que ces mini-cryptes rappellent beaucoup les mini-cryptes et autres cryptes ectopiques décrites plus tard par Torlakovic et coll. (2008) dans les adénomes festonnés traditionnels. Les villosités étaient bordées de cellules cylindriques éosinophiles avec une bordure en brosse mise en évidence par la microscopie électronique. Ces cellules ressemblaient beaucoup aux cellules absorbantes entérocytaires. Ces polypes présentant rarement des plages de

dysplasie conventionnelle, les auteurs ont assimilé cette lésion particulière à une variante histologique de polype hyperplasique (Yokoo et coll., 1999). A posteriori, ces lésions semblent bien correspondre à des polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques.

En 2007, une série de lésions similaires est décrite par Yantiss et coll., sous le terme d'adénome festonné « filiforme » : il s'agissait de polypes adénomateux siégeant exclusivement dans le colon gauche, présentant de fines projections papillaires, parfois œdémateuses, bordées d'un épithélium festonné. Les cellules bordant les papilles étaient également très éosinophiles, intercalées avec quelques cellules mucosécrétantes en proportion variable (figure 7). Les auteurs décrivaient dans ces polypes des plages de dysplasie festonnée et des plages de dysplasie conventionnelle, ainsi que d'autres composantes épithéliales se rapprochant des adénomes festonnés sessiles ou des polypes hyperplasiques.

Snover considère, dans la classification des tumeurs digestives de l'OMS (Snover et coll., 2010), que ces adénomes festonnés filiformes représentent une forme « vilieuse » d'adénome festonné traditionnel.



**Figure 7.** Un adénome festonné « filiforme » selon Yantiss (Yantiss et coll., 2007).

## 2. L'expression des mucines dans les polypes colorectaux

Vingt gènes de mucines MUC codent des glycoprotéines de haut poids moléculaire, également appelées mucopolysaccharides. Ces protéines sont exprimées dans un grand nombre de cellules épithéliales, et leur expression est spécifique d'organe. Les mucines sont caractérisées par la présence d'un nombre variable de répétitions d'acides aminés en tandem, riches en sérine et en thréonine, et hautement glycosylées, créant la spécificité de chaque type de mucine. Parmi les gènes MUC, le gène MUC2 code pour la mucine de type intestinal, qui est présente à l'état normal dans les cellules caliciformes de l'intestin grêle et du colon. Le gène MUC5AC code pour une mucine de type gastrique, présente dans l'épithélium foveolaire de l'estomac. Des anomalies de synthèse et d'expression de ces mucines, ainsi que leur glycosylation anormale, ont été décrites dans les polypes colorectaux et dans les cancers du colon (Lan et coll., 1987 ; Ho et coll., 1993)

De nombreux auteurs ont corrélé l'expression des gènes MUC et la différenciation de l'épithélium de revêtement dysplasique et non dysplasique des polypes coliques festonnés et adénomateux « conventionnels », afin de clarifier leurs liens histogénétiques (Biemer-Hüttmann et coll., 1999 ; Owens et coll., 2008 ; Gibson et coll., 2011).

Dans la muqueuse intestinale ou colique normale, l'expression de MUC2 apparaît en immunohistochimie sous la forme de granules en périphérie des vacuoles de sécrétion des cellules caliciformes. Les polypes hyperplasiques présentent une augmentation de l'expression normale para-vacuolaire du MUC2. Dans les adénomes tubuleux, les études ont montré que l'expression de MUC2 était soit intracytoplasmique diffuse, soit de localisation normale mais diminuée (disparition des vacuoles de sécrétion) parallèlement avec le grade de la dysplasie conventionnelle des adénomes. Les adénomes villosités se distinguent par la conservation fréquente d'une expression importante du MUC2 dans les cellules dysplasiques. Cette augmentation de l'expression de MUC2 est aussi observée dans les différents types d'adénomes festonnés (Biemer-Hüttmann et coll., 1999).

Dans la muqueuse intestinale et colique normale, MUC5AC, aussi dénommé Mucine Gastrique Humaine (Bara et coll., 1998), n'est pas exprimé. MUC5AC est essentiellement exprimé à l'état normal dans les cellules foveolaires gastriques.

L'expression de MUC5AC apparaît en immunohistochimie dans le mucus comblant les vacuoles de sécrétion des cellules foveolaires. Les adénomes coliques tubuleux et tubulovilleux tapissés de dysplasie conventionnelle expriment rarement MUC5AC (Biemer-Hüttmann et coll., 1999), alors que les adénomes villeux expriment intensément MUC5AC. L'expression de MUC5AC est observée dans les vacuoles de mucosécrétion des cellules résiduelles (Buisine et coll., 1996). Enfin, il a été décrit que les polypes hyperplasiques, en particulier ceux tapissés de nombreuses cellules microvésiculaires, et les adénomes festonnés sessiles, localisés à droite, exprimaient intensément le MUC5AC. Les autres adénomes festonnés présenteraient aussi une augmentation de l'expression de MUC5AC (Biemer-Hüttmann et coll., 1999 ; Fujita et coll., 2010 ; Gibson et coll., 2010). Cette expression est considérée par certains auteurs japonais comme la traduction de la métaplasie gastrique des polypes festonnés (Yao et coll., 1999 ; Koike et coll., 2003).

L'observation d'une expression intense de MUC5AC dans les polypes hyperplasiques et les adénomes festonnés, associée à leur morphologie festonnée commune et leur état d'instabilité microsatellitaire, a été un des arguments ayant permis de suggérer leur filiation (Biemer-Hüttmann et coll., 1999 ; Koike et coll., 2003). Aucune suggestion explicative n'a été avancée quant à l'expression du MUC5AC dans les adénomes villeux. Avant la description détaillée des polypes festonnés, l'expression de MUC5AC était considérée comme spécifique des adénomes villeux, et d'intérêt diagnostique (Buisine et coll., 1996).

### 3. Evolution du concept des voies génétiques menant aux cancers colorectaux

#### 3.1. *Le modèle classique d'oncogenèse : la séquence adénome - carcinome selon Vogelstein*

Le modèle clinique à la base de ce mécanisme est la polypose adénomateuse familiale (PAF). Cette polypose est caractérisée par la présence de multiples adénomes du colon et du rectum, pouvant se transformer en carcinomes. L'étude des polyposes adénomateuses familiales est à la base du concept de la séquence adénome – carcinome (Dukes, 1947). Une anomalie génétique de transmission autosomique dominante a été suggérée. En 1986, Herrera décrit par des techniques de cytogénétique une délétion germinale du chromosome 5q chez un patient atteint de PAF (Herrera et coll., 1986). A partir de cette observation, Bodmer et coll. (1987) démontrent le lien entre la PAF et la délétion chromosomique 5q.

En 1988, l'équipe de Vogelstein montre pour la première fois, à partir d'une large série d'adénomes et de cancers colorectaux sporadiques, que la délétion chromosomique 5q est une anomalie récurrente observée dans les adénomes sporadiques et dans les carcinomes (Vogelstein et coll., 1988). La découverte de cette anomalie établit un lien entre la cancérogenèse familiale et sporadique, et évoque l'idée d'une dépendance de la séquence adénome - carcinome à l'anomalie 5q. Cela suggère que le bras long du chromosome 5 (5q) contient un gène suppresseur de tumeur. Ce gène est identifié par Groden et Kinzler en 1991, il est nommé *APC (Adenomatous Polyposis Coli)* (Groden et coll., 1991 ; Kinzler et coll., 1991). Les patients atteints de PAF possèdent une mutation germinale, de transmission autosomique dominante, du gène *APC*.

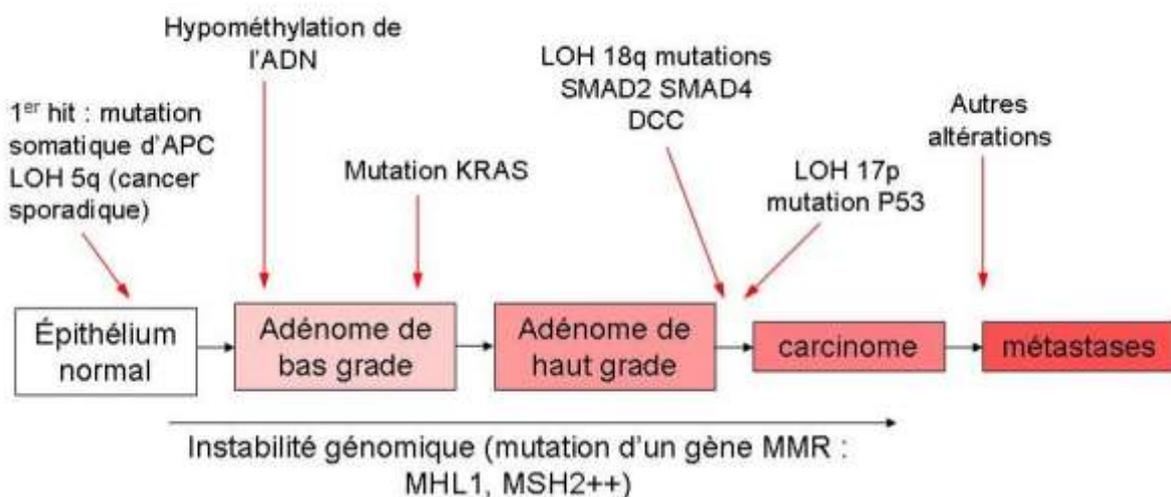
Les travaux de Vogelstein en 1988 montrent également que cette délétion 5q est associée à d'autres anomalies génétiques, dont la fréquence suit le degré d'évolution des adénomes. Ces anomalies génétiques correspondent à la mutation du gène *KRAS*, et à d'autres délétions alléliques sur les chromosomes 18q et 17p, ce dernier comportant le gène suppresseur de tumeur *TP53*.

Ainsi, Vogelstein décrit la première théorie de la cancérogenèse colorectale : une

accumulation d'altérations génétiques, impliquant l'activation d'oncogènes (*KRAS*) et la perte de fonction de gènes suppresseurs de tumeur (*APC*, *TP53*...) (Vogelstein et coll., 1988), conduit à la progression histologique de l'épithélium colique normal à l'adénome et au cancer : c'est la séquence adénome - carcinome (Fearon et coll., 1990). Cette voie est également nommée « LOH » pour « loss of heterozygoty », ou instabilité chromosomique, en rapport avec les importantes anomalies récurrentes de caryotype (figure 8).

De nombreuses études épidémiologiques, clinico-pathologiques et moléculaires ont permis de valider ce paradigme dans la majorité des cancers colorectaux (cette voie représenterait 80% des cancers colorectaux).

Le modèle dit « canonique » de cancérogenèse proposé par Vogelstein a induit l'idée que les néoplasies coliques formaient un ensemble parfaitement homogène. Cependant, les études de Vogelstein ne sont pas attachées à différencier les multiples formes histologiques des adénomes et des carcinomes colorectaux, dont l'aspect est peu compatible avec une unique voie de cancérogenèse. Il apparaît néanmoins que ce modèle canonique de cancérogenèse est fortement subordonné à l'aspect morphologique de la dysplasie conventionnelle telle qu'elle a été décrit plus haut.



**Figure 8.** La séquence adénome – carcinome, schéma adapté selon le modèle de Fearon et Vogelstein (Fearon et coll., 1990).

### 3.2. Evolution du concept d'instabilité microsatellitaire

La découverte de la voie d'oncogenèse par instabilité microsatellitaire a démontré que les carcinomes colorectaux ne formaient pas une entité homogène, mais bien des entités diverses sur le plan oncogénique, avec une correspondance phénotypique clairement identifiable dans un certain nombre de situations.

En 1966, Lynch et coll. isolent les caractéristiques du syndrome de Lynch, grâce aux données cliniques de 3 familles présentant de nombreux cas de cancers colorectaux sans polypose, associés à des cancers gastriques et utérins (Lynch et coll., 1966). Dans ce syndrome, de transmission autosomique dominante, les cancers colorectaux naissent de rares polypes isolés, adénomateux conventionnels, festonnés ou mixtes. Ces tumeurs sont le plus souvent localisées dans le colon droit. Elles sont peu différenciées, souvent associées à une composante mucineuse ou en bague à chaton, et à un stroma lymphoïde de « type Crohn ».

Le premier lien entre le syndrome de Lynch et la génétique est apporté par Peltomäki et coll. (1993), par l'identification d'un locus de sensibilité au cancer sur le chromosome 2p dans les familles informatives (Peltomäki et coll., 1993). Peu après, un second locus a été identifié sur le chromosome 3p (Lindblom et coll., 1993). Parallèlement, Ionov et coll., en 1993, ont mis en évidence des micro-délétions somatiques étendues au niveau de répétitions de séquences identiques de nucléotides dans 12% des cancers colorectaux sporadiques inclus dans leur étude. Ces cancers étaient le plus souvent localisés dans le colon droit (68%), la plupart étaient peu différenciés (86%), et n'étaient presque jamais associés à une mutation de *TP53* ou de *KRAS* (Ionov et coll., 1993). Les auteurs ont proposé que ces micro-délétions résultaient d'une anomalie des gènes impliqués dans la fidélité de réplication des séquences répétées, d'où la dénomination de RER (Replication ERror). Le cas d'un des patients atteint de plusieurs tumeurs synchrones portant les mêmes micro-délétions a suggéré l'existence d'une transmission potentiellement héréditaire du gène mutateur initiateur. Aaltonen et coll. (1993) ont montré la présence du phénotype RER+ (Replication ERror) dans les tumeurs survenant dans un contexte familial de syndrome de Lynch mais aussi dans des tumeurs sporadiques. Ce profil RER+ était souvent observé dans des tumeurs localisées dans le colon droit.

La même année, Thibodeau et coll. décrivaient des tumeurs caractérisées par une instabilité des séquences répétées d'ADN d'un ou plusieurs loci, à l'aide de 4 marqueurs microsatellitaires ciblant les chromosomes 5q, 17p, 18q et 15q. L'instabilité microsatellitaire était définie par l'apparition d'anomalies (gain ou perte de nucléotides) au niveau de courtes séquences répétées de quelques nucléotides situées le plus souvent dans des régions introniques non codantes du génome appelées « séquences microsatellites ». Une nouvelle voie de cancérogenèse colique était ainsi définie, nommée la voie d'instabilité microsatellitaire ou MSI (Microsatellite Instability). Selon le degré d'instabilité, ce génotype est divisé en niveau élevé (MSI-High) et niveau faible (MSI-Low).

Cette voie MSI est fortement corrélée à la localisation proximale des tumeurs coliques, qui sont riches en mucines, et sont associées à une meilleure survie (Thibodeau et coll., 1993). La compréhension du fait que le génotype MSI résulte d'une erreur de réparation au cours de la réparation de l'ADN a conduit à identifier 2 gènes impliqués dans le syndrome de Lynch, dénommés *MSH2* et *MLH1*, localisés respectivement sur les chromosomes 2p et 3p. Ces gènes MMR (MisMatch Repair) codent pour des protéines impliquées dans le dépistage et la réparation des mésappariements de l'ADN.

### 3.3. *Epigénétique et cancer du colon*

La méthylation de l'ADN représente un des grands mécanismes épigénétiques de régulation des gènes. La méthylation de l'ADN au niveau d'îlots CpG présents au niveau de promoteurs de gènes induit la perte d'expression de ces gènes. Un excès de méthylation a été observé dans 30 à 50% des cancers colorectaux. Cet excès est nommé CIMP (CpG Island Methylator Phenotype), et est divisé en niveau faible (CIMP-Low) et niveau élevé (CIMP-High). Dans la voie festonnée, l'hyperméthylation est un évènement précoce : il a en effet été détecté dans de petits polypes hyperplasiques. Les promoteurs des gènes *MLH1* et *MGMT* sont des cibles fréquentes de l'hyperméthylation. La mise sous silence de *MLH1* par hyperméthylation a été souvent associée au phénotype d'instabilité microsatellitaire

élevé (MSI-High). La mise sous silence de *MGMT* a été, quant à elle, souvent associée à l'état MSI-Low ou à l'état MSS/CIMP-High. Le promoteur du gène *P16<sup>INK4a</sup>* est également la cible de l'hyperméthylation. La voie festonnée est souvent décrite comme la conséquence d'une accumulation d'anomalies de méthylation associées à l'instabilité microsatellitaire.

L'hétérogénéité morphologique et moléculaire des différents polypes festonnés a conduit à l'hypothèse de deux voies festonnées parallèles (Figure 9), l'une caractérisée par la mutation *KRAS*, l'autre par la mutation *BRAF* (Yang et coll., 2004 ; Jass et coll., 2002 ; Mäkinen 2007 ; Huang et coll., 2011).

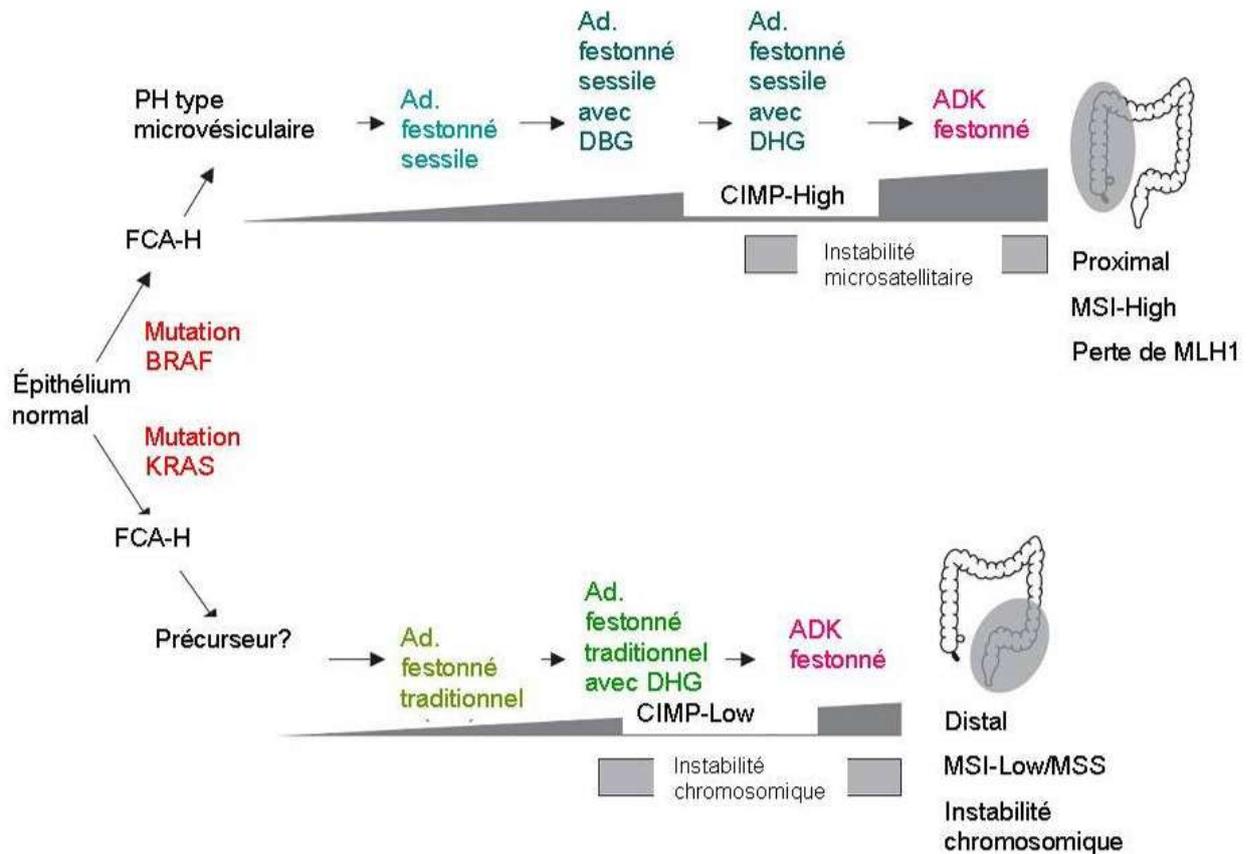
### 3.3.1. La voie festonnée sessile associée à la mutation *BRAF*, prédominant dans le colon droit (Figure 9)

Cette voie, bien décrite, est initiée par les polypes hyperplasiques à prédominance de cellules micro-vésiculaires, évoluant vers des adénomes festonnés sessiles puis des adénomes festonnés sessiles avec dysplasie conventionnelle de grade croissant, et aboutissant à l'adénocarcinome festonné. Ces cancers surviennent le plus souvent chez la femme, et prédominent dans le colon droit. Cette voie serait associée à une accumulation d'anomalies génétiques et épigénétiques : Les lésions initiales sont tout d'abord le siège d'une mutation activatrice de *BRAF*. Puis le degré de méthylation des îlots CpG augmente avec la progression des lésions, l'élément clef étant la méthylation du promoteur du gène *hMLH1*, conduisant à un génotype d'instabilité microsatellitaire (microsatellite instable, MSI). Au bout de cette voie, les cancers invasifs sont *BRAF* mutés, CIMP-High et MSI (O'Brien et coll., 2006 ; Mäkinen 2007).

### 3.3.2. La voie festonnée traditionnelle associée à la mutation *KRAS*, prédominant dans le colon gauche (Figure 9)

Cette voie, moins bien connue, serait initiée par des adénomes festonnés traditionnels, de bas grade puis de haut grade de dysplasie, évoluant vers des adénocarcinomes festonnés. Ces cancers surviendraient plus fréquemment dans le colon distal et le rectum. Ces lésions seraient tout d'abord associées à la mutation activatrice *KRAS*, puis présenteraient un degré de méthylation croissant, mais qui

resterait d'un niveau plus bas que dans la voie festonnée sessile (CIMP-Low). Les carcinomes infiltrants sont généralement de génotype stable (MSS) ou faiblement instable (MSI-Low), ainsi *hMLH1* reste généralement actif, mais *MGMT* peut être inactivé. L'élément clef de leur évolution semble être l'instabilité chromosomique, avec une mutation des gènes suppresseurs de tumeur dont *TP53* (Sawyer et coll., 2002 ; Chan et coll., 2003 ; O'Brien et coll., 2006 ; Mäkinen 2007).



**Figure 9.** Illustration schématique des voies festonnées (adapté du schéma de Huang et coll., 2011).

#### 4. Cascades de régulation impliquées dans la cancérogenèse colorectale et méthodes d'exploration

Différentes voies de régulation sont altérées dans la cancérogenèse colorectale, notamment la voie *APC/Wnt/β-caténine*, la voie *P53*, et la voie *EGFR/KRAS/BRAF*. Pour chaque cascade de régulation, différents gènes sont impliqués et leur altération peut être explorée par des méthodes simples de biologie moléculaire ou d'immunohistochimie.

Dans de nombreux adénomes et cancers colorectaux, le gène *APC* est muté, ce qui empêche la dégradation habituelle de la protéine  $\beta$ -caténine, et induit l'accumulation nucléaire de cette protéine, avec une activation constitutive de la voie *Wnt*. La localisation nucléaire anormale de la  $\beta$ -caténine peut donc être utilisée comme un témoin de la mutation d'*APC*. Elle est appréciée par une technique d'immunochimie à l'aide d'anticorps monoclonaux dirigé contre la  $\beta$ -caténine. En l'absence d'anomalie d'*APC*, la  $\beta$ -caténine est localisée à la membrane des cellules tumorales. En cas d'inactivation d'*APC* ou de ces partenaires, la  $\beta$ -caténine s'accumule dans le noyau et le cytoplasme des cellules tumorales, ce qui est aisément détecté en immunohistochimie.

La mutation du gène suppresseur de tumeur *TP53* induit la production d'une protéine *p53* anormale, présentant une demi-vie allongée. L'accumulation anormale de la protéine *p53* mutante dans le noyau devient alors détectable en immunohistochimie. Ce phénomène est le plus souvent observé dans les adénomes en dysplasie de haut grade, les adénomes vilieux, ou dans les territoires de dysplasie de haut grade, et peut indiquer un certain potentiel de malignité de la lésion (Karamitopoulou et coll., 1995 ; Ishii et coll., 2011).

En ce qui concerne la voie de l'*EGFR*, une mutation de l'oncogène *KRAS* est retrouvée dans 30 à 40% des cancers colorectaux sporadiques, tous types confondus.

Le gène *Ras* (Rat Sarcoma Virus) appartient à la superfamille des petites protéines *G* se liant au *GTP*, qui sont des éléments clefs dans la majorité des voies de

signalisation. Deux sous-types de la famille *Ras*, *Ha-Ras* (Harvey) et *Ki-Ras* (Kristen) sont mutés dans de nombreux cancers humains. La protéine Ras existe sous deux formes : une forme inactive, liée au GDP, et une forme active, liée au GTP. *KRAS* est un transducteur de signal, situé en aval du récepteur EGFR. Suite à un stimuli extracellulaire comme un stress ou un agent mitogène, et à la fixation de son ligant, le récepteur à l'EGFR se dimérise, et phosphoryle une série de résidus 3' tyrosine. La protéine *KRAS* passe d'une forme inactive à une forme active pendant une courte période. Elle induit ainsi l'activation de différentes voies de signalisations en aval, notamment les voies MAPK/ERK, SAPK/JNK et P38. L'activation de ces cascades de signalisation induit l'activation de gènes impliqués dans la progression du cycle cellulaire, la survie cellulaire, l'angiogenèse et le potentiel métastatique. Une mutation du gène *KRAS*, le plus souvent située au niveau des codons 12 et 13 de l'exon 2 (dans plus de 96% des cas), induit la production d'une protéine constitutionnellement active, une stimulation non régulée des voies de signalisations sous jacentes, et entraîne une prolifération et une survie cellulaire incontrôlée.

Le gène *BRAF* est localisé en aval de *KRAS* dans la cascade de signalisation, et peut transmettre les signaux de prolifération indépendamment du statut mutationnel *KRAS*. La mutation *BRAF* survient moins fréquemment que la mutation *KRAS* (5 à 20% des cancers colorectaux), et les mutations *KRAS* et *BRAF* sont mutuellement exclusives.

Les mutations des gènes *KRAS* et *BRAF* peuvent être mises en évidence par différentes techniques après extraction de l'ADN tumoral. Les deux techniques les plus couramment utilisées sont :

- le séquençage direct, réalisé sur un automate de séquençage, en utilisant des amorces spécifiques de la région du gène comportant le « point chaud » de mutation (codons 12 et 13 de l'exon 2 pour le Gène *KRAS*, codon 600 de l'exon 15 pour *BRAF*)
- la PCR en temps réel spécifique d'allèle, en utilisant les amorces spécifiques des mutations recherchées.

## **BUT DE L'ETUDE**

Les tumeurs villeuses, au sens strict du terme, c'est à dire des tumeurs planes ou sessiles, d'aspect macroscopique ou endoscopique vilieux, sont très peu étudiées dans la littérature récente, et leurs caractéristiques morphologiques et moléculaires ne sont pas décrites.

Le but de ce travail était d'étudier les caractéristiques histologiques, immunohistochimiques et moléculaires des lésions décrites en endoscopie comme des tumeurs villeuses du rectum et du sigmoïde au cours des ces 10 dernières années au CHU de Nantes. Cette évaluation a été faite sur la base des données récentes de la littérature sur les polypes coliques. Dans notre série de tumeurs villeuses, nous avons étudié le statut mutationnel des gènes *BRAF* et *KRAS*, le statut d'instabilité microsatellitaire, l'expression des protéines MLH1, MGMT et p16, l'expression nucléaire de la protéine  $\beta$ -caténine, et l'expression du gène suppresseur de tumeur *TP53*. Nous montrons que ce groupe particulier de tumeurs villeuses est associé à des entités histologiques différentes et à des caractéristiques cliniques et moléculaires spécifiques.

## **MATERIEL ET METHODES**

### **1. Patients sélectionnés**

En interrogeant le fichier informatique du service d'anatomopathologie du CHU de Nantes, nous avons recherché tous les cas ayant été étiquetés en endoscopie « tumeur villeuse » du colon gauche et du rectum entre janvier 2000 et mai 2010. Les tumeurs étudiées étaient réséquées chirurgicalement ou par mucosectomie sous endoscopie. La taille importante (> 1 cm) des prélèvements permettait d'obtenir une quantité de matériel suffisante pour les études en biologie moléculaire. Vingt-deux tumeurs villeuses ont été finalement sélectionnées. Une relecture des lames a été effectuée afin de classer les lésions selon les critères de la dernière version 2010 de la classification de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

Les caractéristiques cliniques des 22 patients annotés étaient l'âge au moment du diagnostic, le sexe, les signes cliniques ayant porté l'indication de la coloscopie, le site anatomique, l'aspect endoscopique et la taille du polype, la présence et le type histologique de polypes synchrones ou métachrones lors du suivi. Ces caractéristiques ont été relevées dans les dossiers cliniques informatiques, les comptes-rendus endoscopiques et anatomopathologiques de chaque patient.

### **2. Etude histologique**

Des lames colorées par l'hématoxyline – éosine – safran ont été réalisées à partir des pièces opératoires ou de mucosectomies fixées dans du formol tamponné. Les lames des 22 tumeurs villeuses ont été analysées par deux pathologistes dont un expert en gastroentérologie (Pr J.-F. Mosnier). L'analyse a permis de préciser plusieurs caractéristiques histologiques : le pourcentage de villosités et de tubes a été déterminé, ainsi que le pourcentage d'aspects festonnés, la présence de microcryptes (epithelial crypt foci), l'existence d'un ancrage des cryptes à la musculature muqueuse, la base des villosités perpendiculaire ou horizontales par rapport à la musculature muqueuse.

Cette analyse a également permis de préciser la cytologie des cellules, notamment le

pourcentage de cellules mucosécrétantes et de cellules cylindriques éosinophiles. La présence de lésions de dysplasie, de type conventionnel ou de type festonné, ainsi que le degré de dysplasie (haut grade ou bas grade) et la présence de carcinome in situ ou infiltrant associé à été précisé.

Les classifications utilisées sont celles de l'OMS 2010. Les critères architecturaux et cytologiques ont permis de classer ces polypes en quatre catégories : adénomes vilieux, adénomes tubulo-vilieux, adénomes festonnés traditionnels et polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques.

### **3. Etude immunohistochimique**

Pour chacune de 22 tumeurs, un bloc de paraffine représentatif a été choisi. L'étude immunohistochimique a été réalisée à partir de coupes de 4 µm d'épaisseur de tissu fixé en formol tamponné et inclus en paraffine. La technique standard du complexe streptavidine – biotine est utilisée sur des lames déparaffinées, à l'aide d'un automate Menarini. Les anticorps utilisés et leurs caractéristiques sont résumés dans le tableau 1.

L'immunomarquage nucléaire avec les anticorps anti-MLH1, MSH2, MSH6, P16 et MGMT a été interprété de la façon suivante : une perte d'expression est définie par une perte du marquage dans plus de 90% des cellules épithéliales. L'immunomarquage avec l'anticorps anti-P53 a été évalué en recherchant une surexpression de la protéine p53, définie par la présence d'au moins 30% noyaux des cellules épithéliales marquées. L'immunomarquage nucléaire avec l'anticorps anti-β-caténine était interprété comme positif si au moins 20% des noyaux des cellules épithéliales sont marqués. L'immunomarquage avec les anticorps anti-MUC2 et MUC5AC était considéré comme positif si plus de 30% des cellules épithéliales étaient marquées.

	Fournisseur	référence	type d'anticorps	pré traitement	dilution	fonction
<b>MUC2</b>	Novocastra, Newcastle, UK	NCL-MUC-2	monoclonal de souris	tampon citrate pH6	1/300e	mucines de type intestinal
<b>MUC5AC</b>	Dr J. Bara, INSERM U482, hôpital St Antoine, Paris	Ac anti-MUC5AC	monoclonal de souris	tampon citrate pH6	1/100e	mucines de type gastrique
<b>MLH1</b>	Biosciences, Palo Alto, CA USA	554072	monoclonal de souris	tampon Target Retrieval Solution+	1/100e	protéine de réparation de l'ADN
<b>MSH2</b>	Calbiochem, San Diego, CA, USA	NA26	monoclonal de souris	tampon Target Retrieval Solution+	1/20e	protéine de réparation de l'ADN
<b>MSH6</b>	Zymed Laboratories Invitrogen, San Francisco, USA	81374	monoclonal de souris	tampon Target Retrieval Solution+	prédilué	protéine de réparation de l'ADN
<b>P16</b>	CINtec mtm laboratories, Heidelberg, Germany	9511	monoclonal de souris	tampon pH9	1/2e	gène supresseur de tumeur
<b>MGMT</b>	Merck Millipore, Billerica, MA	MT3.1	monoclonal de souris	tampon citrate pH6	1/200e	réparation de l'ADN/méthylation
<b>β-caténine</b>	Zymed Laboratories Invitrogen, San Francisco, USA	CAT-5H10	monoclonal de souris	tampon pH9	1/100e	voie de signalisation Wnt
<b>P53</b>	DAKO, Glostrup, Denmark	M7001	monoclonal de souris	tampon pH9	1/200e	gène supresseur de tumeur

**Tableau 1.** Résumé des anticorps utilisés pour l'étude immunohistochimique.

## 4. Analyse moléculaire

### 4.1 Extraction d'ADN

L'ADN des 22 tumeurs villeuses ainsi que des composantes carcinomateuses était extrait à partir de coupes épaisses de 10 microns d'épaisseur effectuées sur les blocs de paraffine ayant servi pour l'étude immunohistochimique, après avoir sélectionné les zones d'intérêt par l'examen des lames correspondantes colorées par l'HES. Pour chaque tumeur, différentes zones d'intérêt ont été identifiées : les zones de dysplasie, et les zones carcinomateuses. Les coupes épaisses étaient alors macro-disséquées à l'aide d'un scalpel au niveau de la zone d'intérêt. Le matériel ainsi prélevé était ensuite déparaffiné puis digéré pendant 48 heures par la protéinase K à 60°C. L'ADN extrait était ensuite purifié une première fois avec un mélange phénol/chloroforme/alcool isoamylique, puis une deuxième fois avec du chloroforme. Enfin l'ADN était lavé et concentré sur des filtres Amicon 50.

## 4.2 Détermination du profil d'instabilité microsatellitaire

Le statut d'instabilité microsatellitaire (MSI) a été déterminé pour les 22 tumeurs villeuses et les carcinomes infiltrants éventuellement associés. L'ADN des lésions était co-amplifié au cours d'une PCR pentaplex pour 5 séquences microsatellitaires validées, de type mononucléotide (Suraweera et coll., 2002) : BAT25, BAT26, NR21, NR22 et NR24. Les conditions de réalisation de la PCR étaient les suivantes : dénaturation à 94°C pendant 2 minutes, 35 cycles de dénaturation à 94°C pendant 30 secondes, hybridation à 57°C pendant 60 secondes et élongation à 72°C pendant 1 minute. Les produits de PCR étaient ensuite analysés sur l'automate de génotypage ABIPRISM 3130XL. La fluorescence de chaque produit de PCR était analysée par Genscan Analysis puis sur Genotyper (Genotyper 3.7 Applied Biosystem). L'instabilité d'un nucléotide était définie par une diminution du nombre de répétition du nucléotide. La lésion était considérée comme instable (MSI) si elle montrait une instabilité d'au moins 2 des 5 loci, et stable (MSS) si aucun des loci n'était instable.

## 4.3 Détermination du statut mutationnel KRAS

La détermination du statut mutationnel du gène *KRAS* a été réalisée par amplification de l'ADN tumoral par PCR puis séquençage direct. L'amplification a été réalisée en utilisant la technique de COLD-PCR (Li et coll., 2008). Les dimères d'amorces ont été choisis de manière à amplifier toute la séquence codante de l'exon 2 du gène *KRAS*, et notamment les codons 12 et 13. Les séquences des amorces utilisées sont les suivantes :

KRAS-2F: 5'-TGTA AACGACGGCCAGTAGGCCTGCTGAAAATGACTG-3'

KRAS-2R: 5'-CAGGAAACAGCTATGACCTTGGATCATATTCGTCCACAA-3'.

Les produits de PCR ont ensuite été analysés par séquençage direct, réalisé sur un automate de séquençage ABI PRISM 3130XL DNA Sequencer® (Applied Biosystems). L'analyse des résultats a été effectuée sur le logiciel Seqscape.

#### 4.4 Détermination du statut mutationnel *BRAF*

La technique utilisée pour la détermination du statut mutationnel *BRAF* des lésions était la PCR en temps réel spécifique d'allèle. Cette PCR était réalisée avec les amorces spécifiques du gène *BRAF* présentant ou non la mutation V600E :

Amorces sens *BRAF* sauvage : 5'-AGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGT-3'

Amorce sens *BRAF* muté V600E : 5'-AGGTGATTTTGGTCTAGCTACAGA-3'

Amorce antisens *BRAF* : 5'-TAGTAACTCAGCAGCATCTCAGGGC-3'

Pour chaque échantillon, 2 amplifications étaient réalisées. La PCR réalisée avec les amorces sens « *BRAF* non muté » et antisens fonctionnait si le gène *BRAF* ne portait pas la mutation V600E. Dans ce cas, l'amorce sens « *BRAF* muté » s'hybridait mais l'absence d'appariement entre les 2 derniers nucléotides empêchait toute amplification. Inversement, si le gène *BRAF* était muté, l'amplification était réalisée uniquement avec l'amorce « *BRAF* muté ». Chaque série de PCR était comparée à un témoin positif. Les paramètres de chaque amplification étaient les suivants : température d'hybridation : 66°C, Température de mesure de fluorescence 82°C. La taille de l'amplicon est 149 paires de bases. Le mélange réactionnel utilisé pour chaque échantillon était le suivant : 10.3 µl d'eau RNase free, 2 µl de tampon, 10X BD Titanium, Taq PCR buffer, 0.5 µl de dNTP 10mM, 0.5 µl d'amorce 10 µM, 1 µl de SYBRGreen 1/1000 RMB, 0.2 µl de Taq DNA polymerase Titanium 50X BD. Les conditions de réalisation de la PCR étaient les suivantes : dénaturation à 95°C pendant 5 minutes, 45 cycles de dénaturation à 95°C pendant 5 secondes, hybridation à 66°C pendant 10 secondes, élongation à 72°C pendant 15 secondes, puis pré-acquisition à 82°C pendant 15 secondes. Le programme était utilisé sur un Rotorgene 2000® (Corbett Research). Les résultats étaient analysés sur le logiciel Rotorgene 6.

# RESULTATS

## 1. Etude histologique

La recherche des cas a été effectuée à l'aide du logiciel informatique du service d'Anatomie Pathologique du CHU de Nantes, de 2000 à 2010. Après confrontation des données endoscopiques puis relecture des lames, 22 « tumeurs villeuses » ont été identifiées, sélectionnées initialement sur des critères endoscopiques et macroscopiques de tumeurs planes ou sessiles, d'aspect vilieux du rectum et du sigmoïde. Sur cette même période, 7310 polypes colorectaux, tous types confondus, ont été analysés. Les « tumeurs villeuses » représentaient 0,3% des polypes colorectaux analysés durant cette période.

Parmi les 22 tumeurs villeuses, 9 tumeurs (41%) correspondaient à des **adénomes vilieux** (Figure 10 A, B, C), dont l'architecture présentait plus de 75% de villosités. Les villosités étaient tapissées de cellules mucosécrétantes. La mucosécrétion était localisée au pôle apical des cellules. Ces tumeurs présentaient des lésions de dysplasie de bas grade et de haut grade. Trois d'entre elles étaient associées à un adénocarcinome NOS (sans autre spécificité) intra-muqueux.

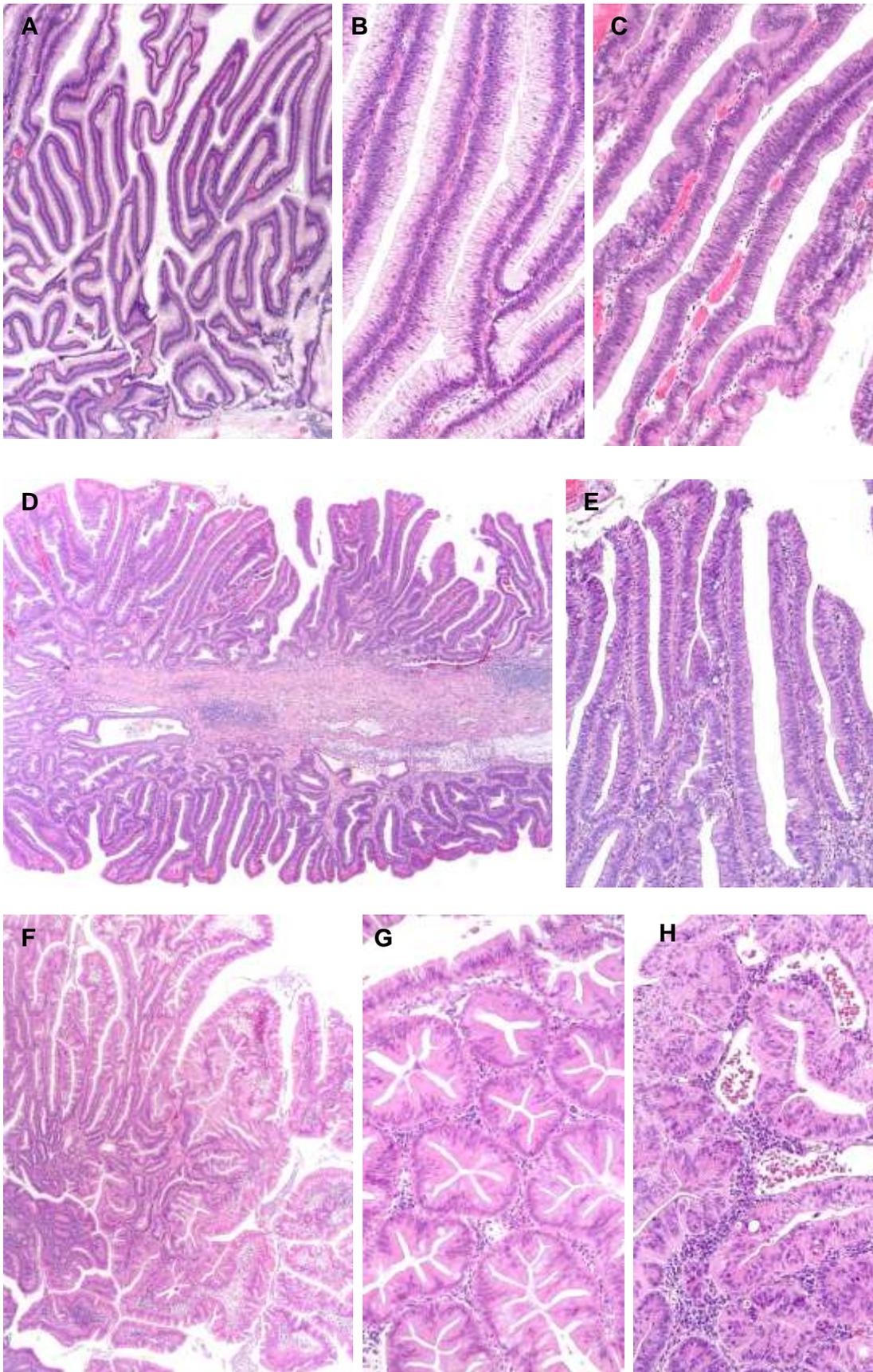
Six autres « tumeurs villeuses » (27%) correspondaient à des **adénomes tubulovilleux** (figure 10 D, E) comportant une composante vilieuse importante (25% à 75% de villosités). La moitié présentait uniquement des lésions de dysplasie conventionnelle de bas grade, l'autre moitié des lésions de dysplasie conventionnelle de bas et haut grade. Les cellules apparaissaient rarement mucosécrétantes. Un seul était associé à un adénocarcinome NOS intra-muqueux.

Trois autres « tumeurs villeuses » (14%) correspondaient à des **adénomes festonnés traditionnels** (figure 10 F, G, H): il s'agissait de lésions comportant des glandes d'architecture festonnée ou crénelée, rappelant l'architecture des glandes des polypes hyperplasiques. Ces polypes étaient faits de structures vilieuses ou « filiformes » (pourcentage de villosités entre 60 et 70%) bordées d'un épithélium festonné sur plus de 80% de leur surface. Ces adénomes se distinguaient par la présence de cellules caliciformes mucosécrétantes immatures, au noyau présentant

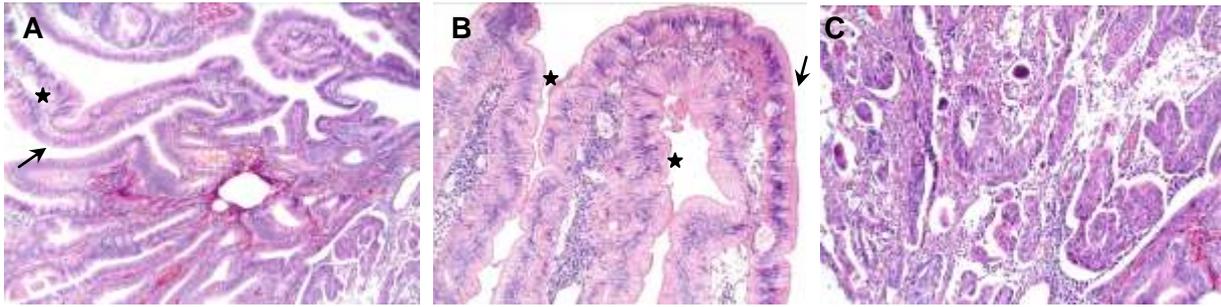
un nucléole proéminent, et de cellules pénicillées, éosinophiles. Les cellules des adénomes festonnés traditionnels présentaient les caractéristiques de la dysplasie festonnée, différente de la dysplasie conventionnelle. Les noyaux étaient pseudo-stratifiés, mais moins tassés, moins nombreux, plus petits et plus arrondis que dans un adénome ordinaire. On notait également la présence de mini-cryptes ou cryptes ectopiques au niveau des villosités. Deux de ces 3 adénomes festonnés traditionnels étaient le siège de dysplasie de haut grade, et 1 était associé à un adénocarcinome festonné peu différencié infiltrant la sous-séreuse, métastatique ganglionnaire et hépatique.

Quatre « tumeurs villeuses » (18%) correspondaient à des « **polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques** » (Longacre et coll., 1990) (figure 11 A, B), présentant des aspects d'adénome festonné traditionnel et des aspects d'adénome conventionnel, parfois intimement mêlés. Ces polypes mixtes présentaient majoritairement une architecture vilieuse (de 50% à 90% de villosités), et présentaient tous des lésions de dysplasie de bas grade et de haut grade. L'un d'entre eux était associé à un adénocarcinome mucineux infiltrant la musculature. Un autre était associé à un adénocarcinome festonné et mucineux (figure 11C), initialement classé pT1N0M0, mais récidivant 3 ans plus tard sous forme d'un nodule du pelvis, puis métastatique 5 ans plus tard au poumon.

Au terme de cette analyse histologique, 4 groupes de polypes étaient constitués : les adénomes vilieux (n=9), les adénomes tubulo-vilieux (n=6), les adénomes festonnés traditionnels (n=3), et les polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques (n=4) (Tableau 2).



**Figure 10.** Aspects histologiques d'un **adénome vilieux** (A, B, C), avec plus fort grossissement sur les zones de dysplasie conventionnelle de bas grade (B) et de haut grade (C); d'un **adénome tubulovilleux** (D, E), avec plus fort grossissement sur la dysplasie conventionnelle de haut grade (E); et d'un **adénome festonné traditionnel** (F, G, H) avec plus fort grossissement sur la dysplasie festonnée de bas grade (G), et de haut grade (H).



**Figure 11.** Aspects histologiques d'un **polype mixte** adénomateux et hyperplasique (A, B) avec plus fort grossissement sur l'association des zones de dysplasie conventionnelle (flèche) et festonnée (étoile) et sa composante carcinomateuse festonnée et mucineuse associée (C).

## **2. Etude des données cliniques (tableau 2)**

Les 22 patients rassemblaient 12 femmes et 10 hommes. Dix-huit polypes de l'étude étaient localisés dans le rectum (82%) et 4 dans le sigmoïde (18%). En endoscopie, 18 se présentaient comme des nappes sessiles, c'est-à-dire des lésions étendues, de plusieurs centimètres-carré (82%) et 4 comme des polypes sessiles de taille plus réduite (18%). Leur taille était comprise entre 1 cm et 14 cm de grand axe. Onze patients (50%) présentaient d'autres adénomes du colon, d'apparition synchrone ou métachrone. Ces adénomes étaient le plus souvent des adénomes conventionnels en dysplasie de bas grade ou de haut grade, de type tubuleux, tubulo-villeux ou vilieux. Deux patients, atteints d'adénome festonné traditionnel et de polype mixte, présentaient dans leurs antécédents des adénomes festonnés.

Dans le groupe des adénomes vilieux, on dénombrait 5 femmes et 4 hommes. L'âge moyen au moment du diagnostic était de 78 ans. Parmi ces 9 patients, 5 (55%) présentaient des diarrhées hydriques, et l'un d'entre eux présentait des troubles hydroélectriques, notamment une hypokaliémie. Tous ces adénomes correspondaient macroscopiquement à des nappes sessiles, de grande taille, en moyenne 7,5 cm (de 2,5 à 14 cm).

Dans le groupe des adénomes tubulo-villeux, on dénombrait 4 femmes et 2 hommes. L'âge moyen au moment du diagnostic était de 71 ans. Les symptômes cliniques révélateurs étaient des diarrhées hydriques pour l'un d'entre eux et des rectorragies pour 3 d'entre eux. Cinq de ces adénomes correspondaient à des nappes sessiles en endoscopie, et un à un polype sessile. La taille moyenne de ces adénomes était de 4,5 cm (de 2 à 6,5 cm).

Dans le groupe des adénomes festonnés traditionnels, on dénombrait 2 femmes et 1 homme. L'âge moyen au moment du diagnostic était de 73 ans. Un de ces patients était âgé de 40 ans. En endoscopie, les adénomes se présentaient sous la forme de nappe sessile (n=1) ou de polypes sessiles d'aspect vilieux (n=2). La taille moyenne des adénomes était de 1,8 cm (de 1 à 3,5 cm).

Dans le groupe des polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques, on dénombrait 1 femme et 3 hommes. L'âge moyen au diagnostic était de 65 ans. 2 de ces patients étaient âgés de moins de 60 ans. En endoscopie, les polypes mixtes se présentaient sous la forme de nappes sessiles (n=3) ou de polype sessile d'aspect vilieux (n=1). La taille moyenne des polypes était de 3,8 cm (de 1,5 à 5,5 cm) (Tableau 2).

PATIENT N°	ASPECT ENDOSCOPIQUE	TAILLE DE L'ADENOME	LOCALISATION	SEXE	AGE AU DIAGNOSTIC	INDICATION DE LA COLOSCOPIE	TYPE HISTOLOGIQUE	POURCENTAGE DE VILLOSITES	DYSPLASIE	AUTRES POLYPES du rectosigmoïde
1	nappe sessile	6 cm	rectum	M	77 ans	amécédent de CIS	Ad vilieux	80%	DBG+DHG	Ad Tv DBG, Ad TV CIS
2	nappe sessile	10 cm	rectum	M	83 ans	diarrhées hydriques, hypokaliémie	Ad vilieux	100%	DBG+DHG	NON
3	nappe sessile	14 cm	rectum	M	76 ans	diarrhées hydriques, rectorragies	Ad vilieux	80%	DBG+DHG	Ad TV DBG
4	nappe sessile	3 cm	rectum	F	82 ans	découverte fortuite	Ad vilieux	90%	DBG+DHG	Ad V DBG
5	nappe sessile	6 cm	sigmoïde	F	72 ans	non connue	Ad vilieux	80%	DHG-CIS	NON
6	nappe sessile	2,5 cm	rectum	F	72 ans	diarrhées hydriques	Ad vilieux	80%	DBG+DHG	Ad TV DBG
7	nappe sessile	7,5 cm	rectum	F	87 ans	diarrhées hydriques abondantes	Ad vilieux	100%	DBG+DHG	Ad V DBG+DHG
8	nappe sessile	12 cm	rectum	M	79 ans	diarrhées hydriques	Ad vilieux	100%	DBG+DHG	Ad T DBG
9	nappe sessile	7 cm	rectum	F	78 ans	découverte fortuite	Ad vilieux	100%	DHG+CIS	NON
10	nappe sessile	4 cm	rectum	F	70 ans	rectorragies	Ad tubulovilleux	50%	DHG-CIS	NON
11	nappe sessile	4,5 cm	rectum	M	75 ans	non connue	Ad tubulovilleux	30%	DBG	NON
12	nappe sessile	6,5 cm	rectum	F	57 ans	non connue	Ad tubulovilleux	30%	DBG	NON
13	nappe sessile	2 cm	rectum	F	76 ans	rectorragies	Ad tubulovilleux	25%	DBG	NON
14	nappe sessile	6 cm	rectum	F	83 ans	diarrhées hydriques	Ad tubulovilleux	25%	DBG+DHG	Ad T et TV DBG
15	polype sessile	3 cm	rectum	M	64 ans	rectorragies	Ad tubulovilleux	30%	DBG+DHG	Ad DBG
16	nappe sessile	3,5 cm	sigmoïde	F	82 ans	troubles du transit	Ad festonné traditionnel	80%	DBG+DHG	NON
17	polype sessile vilieux	1 cm	rectum	F	84 ans	découverte fortuite	Ad festonné traditionnel	70%	DBG+DHG	NON
18	polype sessile vilieux	1 cm	sigmoïde	M	42 ans	découverte fortuite	Ad festonné traditionnel	60%	DBG	AFT, Ad T DBG
19	polype sessile vilieux	1,5 cm	rectum	M	79 ans	rectorragies	polype mixte	90%	DBG+DHG	Ad T DBG+DHG
20	nappe sessile	3 cm	sigmoïde	M	55 ans	rectorragies	polype mixte	70%	DBG+DHG	NON
21	nappe sessile	5 cm	rectum	M	77 ans	rectorragies	polype mixte	50%	DBG+DHG	Ad V DHG, 2 AFT
22	nappe sessile	5,5 cm	rectum	F	50 ans	diarrhées hydriques	polype mixte	70%	DBG+DHG	NON

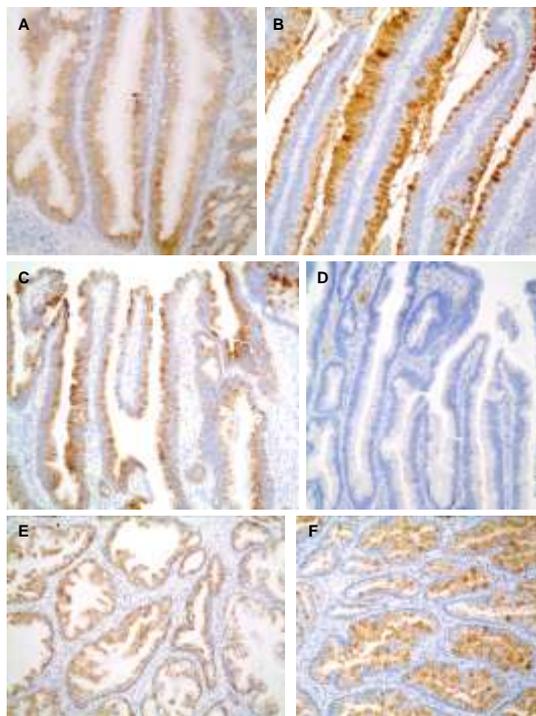
**Tableau 2.** Caractéristiques endoscopiques, cliniques et histologiques des tumeurs vilieuses étudiées. Ad : adénome; T : tubuleux; TV : tubulovilleux; V : vilieux; DBG : dysplasie de bas grade; DHG : dysplasie de haut grade; CIS : carcinome in situ; AFT : adénome festonné traditionnel; ADK : adénocarcinome.

### 3. Etude immunohistochimique et moléculaire (Figure 14)

#### 3.1. Profil d'expression des mucines

L'expression du gène MUC 2 était globalement assez forte dans toutes les catégories d'adénomes, puisque la grande majorité d'entre eux (8 (88%) adénomes vilieux, 5 (83%) adénomes tubulovilleux, 3 (100%) adénomes festonnés traditionnels et 3 (75%) polypes mixtes) présentaient un marquage positif. Dans certains cas, on observait un marquage intra-cytoplasmique diffus et non pas un marquage péri-vacuolaire.

MUC5AC était diffusément et fortement exprimé dans 8 des 9 adénomes vilieux (89%). Par contre, un seul adénome tubulo-villeux (17%) présentait un marquage positif. Dans les adénomes festonnés traditionnels et les polypes mixtes, l'expression de MUC5AC était fréquente puisque 2 adénomes festonnés traditionnels (66%) et 3 polypes mixtes (75%) présentaient un marquage positif (Figure 12).

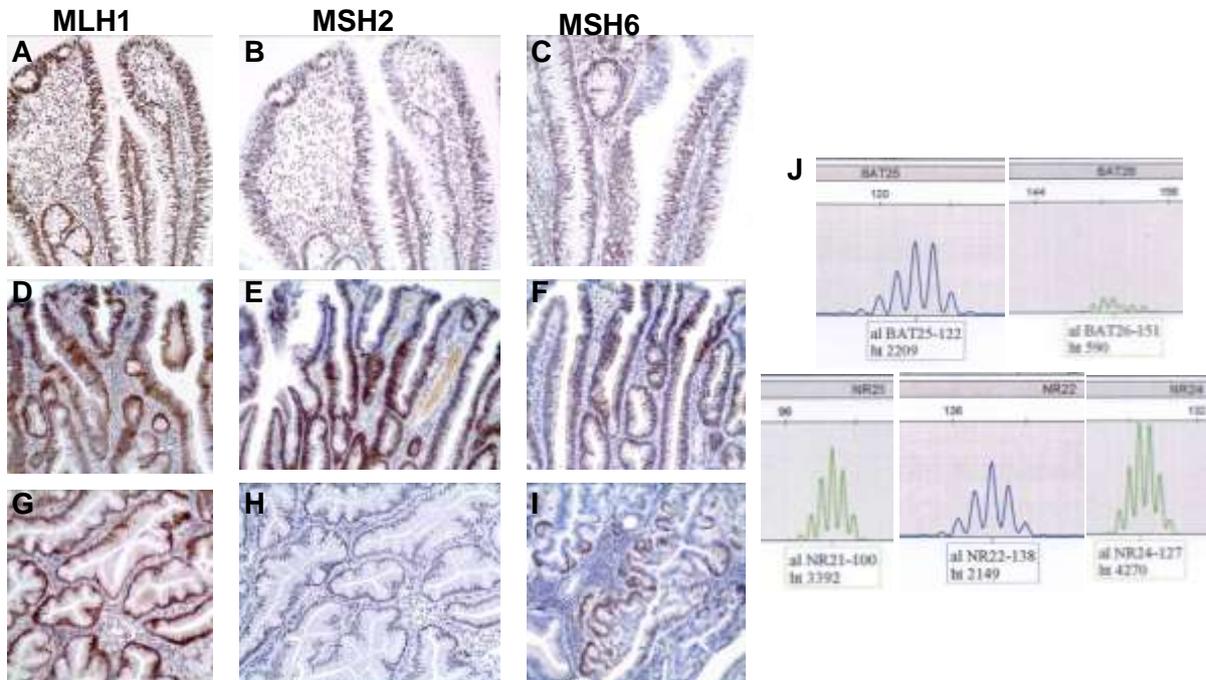


**Figure 12.** Immunohistochimie réalisée avec les anticorps anti-MUC2 (A, C, E) et MUC5AC (B, D, F). Cet adénome vilieux (A, B) présente un marquage péri-vacuolaire avec le MUC2 (A) et un marquage vacuolaire avec le MUC5AC (B), tout comme cet adénome festonné traditionnel (E, F). Cet adénome tubulovilleux (C, D) présente un marquage péri-vacuolaire avec le MUC2 (C) et une absence de marquage avec le MUC5AC (D).

### 3.2. Profil d'instabilité microsatellitaire

L'étude par immunohistochimie du profil d'expression des protéines de réparation de l'ADN MLH1, MSH2 et MSH6 montrait que ces protéines étaient exprimées dans tous les adénomes vilieux, tubulo-villeux, festonnés traditionnels et tous les polypes mixtes, et également dans les cancers associés aux adénomes. Dans de rares cas, l'expression de MSH2 ou MSH6 était diminuée, mais aucun adénome et aucun cancer ne présentait de perte totale de l'expression de ces protéines.

Le phénotype MSI a été déterminé pour tous les adénomes et les cancers éventuellement associés, par une technique de biologie moléculaire recherchant des répétitions de séquence de 5 microsatellites validés. Tous les adénomes vilieux, tubulo-villeux, festonnés traditionnels et tous les polypes mixtes, ainsi que tous les cancers, présentaient un phénotype MSS. Il n'a pas été détecté avec la technique utilisée de forme MSI-High ou MSI-Low (Figure 13).



**Figure 13.** Statut d'instabilité microsatellitaire évalué par immunohistochimie avec les anticorps MLH1, MSH2 et MSH6 sur un adénome vilieux (A, B, C), un adénome tubulovilleux (D, E, F), un adénome festonné traditionnel (G, H, I), et par biologie moléculaire (J). Tous les adénomes vilieux, tubulovilleux et festonnés présentaient une conservation de l'expression des protéines du système MMR MLH1 (A, D, G), MSH2 (B, E, H) et MSH6 (C, F, I). L'étude de ces adénomes par biologie moléculaire (J) montrait qu'ils étaient tous stables (MSS).

### 3.3. Profil d'expression des protéines p16 et MGMT

Dans le groupe des adénomes vilieux, trois (33%) présentaient une perte d'expression de p16 et/ou de MGMT. Dans le groupe des adénomes tubulovilleux, un (17%) présentait une perte d'expression de p16 et/ou de MGMT. Dans le groupe des adénomes festonnés traditionnels, deux (66%) présentaient une perte d'expression de p16 et/ou de MGMT. Dans le groupe des polypes mixtes, aucun adénome ne présentait de perte d'expression de p16 et/ou de MGMT (Figure 14).

### 3.4. Statut mutationnel du gène *KRAS*

Le statut mutationnel du gène *KRAS* a pu être déterminé dans tous les adénomes étudiés (Figure 14), ainsi que dans les cancers éventuellement associés (tableau 3). Dans le groupe des adénomes vilieux, 7 adénomes (78%) présentaient une mutation du gène *KRAS*. Tous les cancers associés à ces adénomes étaient également associés à la même mutation de *KRAS*, et l'un d'entre eux présentait une deuxième mutation surajoutée sur un nucléotide adjacent. Dans le groupe des adénomes tubulovilleux, 2 adénomes (33%) présentaient une mutation de *KRAS*. Le cancer associé à un des adénomes présentait la même mutation. Dans le groupe des adénomes festonnés traditionnels, aucun adénome ni aucun cancer ne présentait de mutation de *KRAS*. Dans le groupe des polypes mixtes, 3 adénomes (75%) et un des cancers associés présentaient une mutation de *KRAS*.

Globalement, la majorité des adénomes, tous groupes confondus, présentaient une mutation du gène *KRAS* (55%). Tous les cancers associés à ces adénomes mutés présentaient la même mutation du gène *KRAS* que celle identifiée dans les adénomes précurseurs.

### 3.5. Statut mutationnel du gène *BRAF*

Le statut mutationnel du gène *BRAF* a pu être déterminé dans tous les adénomes étudiés (Figure 14), ainsi que dans les cancers associés (tableau 3).

Dans le groupe des adénomes villosus, aucun adénome ne présentait de mutation de *BRAF*. Dans le groupe des adénomes tubulovilleux, un adénome (17%) présentait la mutation de *BRAF*. Dans le groupe des adénomes festonnés traditionnels, tous les adénomes étaient mutés pour *BRAF*. Le cancer associé à un de ces adénomes mutés (un adénocarcinome festonné peu différencié) présentait également la mutation V600E de *BRAF*. Dans le groupe des polypes mixtes, un adénome (25%) était muté pour *BRAF*. Le cancer associé à cet adénome (un adénocarcinome festonné et mucineux) présentait également la mutation V600E de *BRAF*.

Globalement, cinq adénomes, tous groupes confondus (23%) présentaient la mutation V600E du gène *BRAF*. Les cancers associés présentaient également la mutation du gène *BRAF*.

PATIENT N°	LESION CONTIGUE	TYPE HISTOLOGIQUE DU CANCER ASSOCIE	STADE TNM	STATUT MSI/MSS	STATUT KRAS de l'adénome et du cancer	STATUT BRAF de l'adénome et du cancer
3	Ad villosus	ADK NOS	pTisNxM0	MSS	mutés	sauvages
5	Ad villosus	ADK NOS	pT1N0M0	MSS	mutés	sauvages
9	Ad villosus	ADK NOS	pT1N0M0	MSS	mutés (1)	sauvages
15	Ad tubulovilleux	ADK NOS	pT1N0M0	MSS	mutés	sauvages
16	Ad festonné traditionnel	ADK festonné peu différencié	pT3N1M1a	MSS	sauvages	mutés
20	polype mixte	ADK mucineux	pT2N0M0	MSS	mutés	sauvages
22	polype mixte	ADK festonné et mucineux	pT1N0M0	MSS	sauvages	mutés

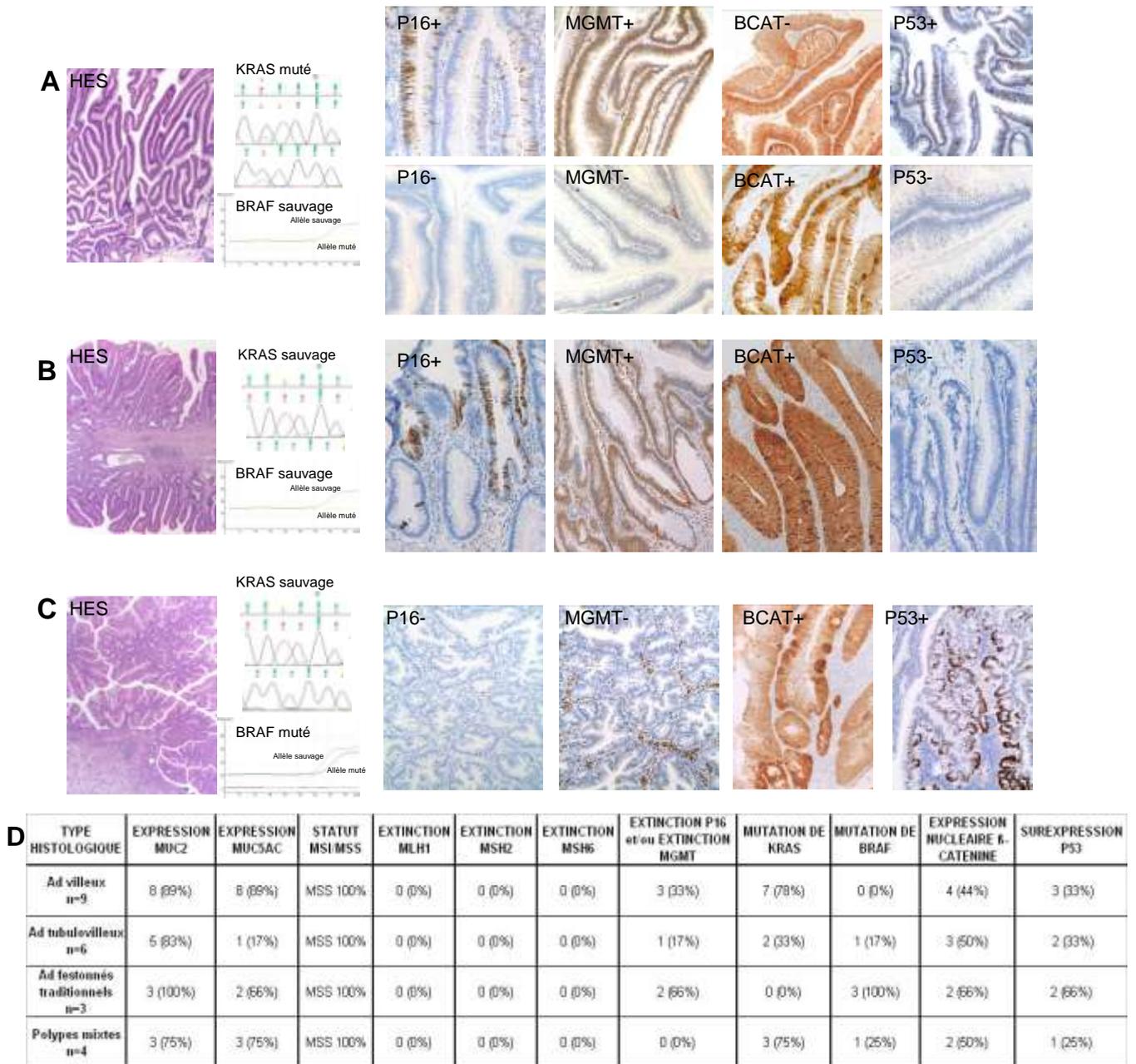
**Tableau 3.** Type histologique, stade TNM et caractéristiques moléculaires des cancers associés aux tumeurs villosus étudiées. Ad : adénome; ADK : adénocarcinome. NOS : sans spécificité. (1) : l'adénocarcinome présentait une mutation supplémentaire sur un nucléotide adjacent.

### 3.6. Profil d'expression nucléaire de la protéine $\beta$ -caténine

Dans le groupe des adénomes villosus, 4 adénomes (44%) présentaient une expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine. Dans le groupe des adénomes tubulovilleux, 3 adénomes (50%) présentaient une expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine. Dans le groupe des adénomes festonnés traditionnels, 2 adénomes (66%) présentaient une expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine. Dans le groupe des polypes mixtes, 2 adénomes (50%) présentaient une expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine (Figure 14).

### 3.7. *Profil d'expression de la protéine P53*

Dans le groupe des adénomes vilieux, 3 adénomes (33%) présentaient une surexpression de la protéine P53. Dans le groupe des adénomes tubulovilleux, 2 adénomes (33%) présentaient une surexpression de la protéine P53. Dans le groupe des adénomes festonnés traditionnels, 2 adénomes (66%) présentaient une surexpression de la protéine P53. dans le groupe des polypes mixtes, 1 adénome (25%) présentait une surexpression de la protéine P53 (Figure 14).



**Figure 14.** Caractéristiques immunohistochimiques et moléculaires des tumeurs vilieuses étudiées, selon leurs catégories histologiques (tableau D).

Les adénomes vilieux (A) sont le plus souvent mutés pour le gène *KRAS* (78% des cas, analyse par séquençage direct), et sauvages pour le gène *BRAF* (100% des cas, analyse par PCR allèle spécifique). L'expression de la P16 et/ou de MGMT est hétérogène, le plus souvent conservée (66% des cas). Ces adénomes présentent dans certains cas une expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine et une surexpression de la P53 ( $\beta$ -caténine positive dans 44% des cas, et la P53 est surexprimée dans 33% des cas).

Les adénomes tubulo-vilieux (B) présentent globalement peu d'anomalies moléculaires : 50% des cas présentent une expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine ; ils sont souvent sauvages pour *KRAS* et *BRAF*, ils ne présentent pour la plupart pas de perte d'expression de P16 ou de MGMT, et pas de surexpression de la P53.

Les adénomes festonnés traditionnels (C) sont tous sauvages pour le gène *KRAS*, et tous mutés pour le gène *BRAF*. L'expression de la P16 est le plus souvent éteinte (2 cas sur 3), et l'expression de la protéine MGMT est éteinte dans un des cas. Ces adénomes présentent une expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine dans 2 cas sur 3, et la P53 est surexprimée dans 2 cas sur 3.

## DISCUSSION

Ce travail a étudié les tumeurs vilieuses résectionnées par voie endoscopique ou chirurgicale au CHU de Nantes entre 2000 et 2010. Les critères d'inclusion étaient macroscopiques, les tumeurs incluses étant des tumeurs planes ou sessiles, étendues, d'aspect vilieux en endoscopie. Ces critères d'inclusion ont finalement abouti à l'étude de tumeurs vilieuses très hétérogènes d'un point de vue histologique et moléculaire.

La première constatation de notre étude est que les tumeurs vilieuses du rectosigmoïde sont des tumeurs rares. Dans notre étude, les tumeurs vilieuses ne représentaient dans la période de 10 ans que 0,3% des polypes colorectaux diagnostiqués au CHU de Nantes. Cette notion peu connue a déjà été rapportée par Konishi et Morson (1982) qui rapportaient que les adénomes vilieux ne représentaient pas plus de 3 % des adénomes. Toutefois dans cette étude n'étaient inclus que les adénomes, définis peu de temps auparavant sur des critères histologiques par Morson et Sobin (OMS, 1976). Dans notre étude, l'utilisation des critères utilisés par Konishi et Morson aboutit à la démonstration que les adénomes vilieux se présentant sous la forme de tumeurs vilieuses en endoscopie ne représentent pas plus de 0,1% des polypes colorectaux et sont par conséquent des entités exceptionnelles.

La seconde constatation de notre étude est que les tumeurs vilieuses du sigmoïde et du rectum sont très hétérogènes histologiquement. Les tumeurs vilieuses du colon et du rectum avaient toutes en commun un aspect vilieux au moins partiel. Toutefois, les villosités étaient tapissées d'un épithélium architecturalement et cytologiquement varié, permettant de distinguer 4 grands groupes de tumeurs vilieuses : les adénomes vilieux, des adénomes tubulo-vilieux, des adénomes festonnés traditionnels filiformes, et des polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques selon la définition de Longacre et Fenoglio (1990). Notre étude est la première à comparer de façon systématique les aspects endoscopiques et les aspects histologiques des tumeurs vilieuses du colon et du rectum depuis la description récente des polypes festonnés. Elle repose sur la classification des tumeurs digestives de l'OMS (Snover et coll., 2010). Lorsque nous avons entrepris cette étude, notre but était, à partir des

critères d'inclusion utilisés, de sélectionner exclusivement les adénomes vilieux. De façon inattendue, les adénomes vilieux représentaient moins de 50% de l'ensemble des tumeurs vilieuses du colon et du rectum.

Notre étude montre que chacun des 4 grands groupes de tumeurs vilieuses du sigmoïde et du rectum que nous avons isolés est associé à des caractéristiques clinico-pathologiques et moléculaires particulières. Ces caractéristiques se traduisent par des modes de révélation particuliers, des associations avec une transformation carcinomateuse spécifique ou des profils moléculaires évocateurs.

Dans notre étude, le premier groupe de tumeur est tout de même représenté par les adénomes vilieux. Notre étude rappelle qu'un signe révélateur fréquent de ces tumeurs est la diarrhée hydrique ou syndrome de McKittrick - Wheelock, qui lui est assez spécifiquement associé. Dans notre étude nous avons appliqué une définition très stricte des critères diagnostiques des adénomes vilieux, c'est à dire une composition de plus de 75% de villosités, bordées de cellules dysplasiques conventionnelles, qui conservent toutefois une mucosécrétion notable. La mucosécrétion distingue d'un point de vue histologique les adénomes vilieux des adénomes tubuleux et tubulo-vilieux avec dysplasie conventionnelle décrits par Morson et Sobin (1976). En effet, dans la dysplasie conventionnelle tapissant les adénomes tubuleux et les adénomes tubulo-vilieux, la persistance de la mucosécrétion est rare. De plus, les adénomes vilieux se distinguent des adénomes tubuleux et tubulo-vilieux conventionnels par le profil des mucines produites. Les adénomes vilieux et les adénomes tubulo-vilieux présentent tous les deux une forte expression de la mucine de type intestinal MUC2, mais comme le montre notre étude, la mucine de type gastrique MUC5AC est fortement exprimée dans les adénomes vilieux et rarement exprimée dans les adénomes tubulo-vilieux. La surexpression de MUC5AC a déjà été rapportée dans les adénomes vilieux (Buisine et coll., 1996). MP Buisine rapporte l'expression du gène MUC5AC détectée par hybridation in situ dans 22 adénomes d'architecture vilieuse, recto-sigmoïdiens, mais l'histologie exacte de ces tumeurs n'est pas précisée, et cet article est antérieur à la description des lésions festonnées. La forte expression de la mucine de type gastrique MUC5AC dans la totalité de la tumeur vilieuse semble être un argument diagnostique en faveur de l'adénome vilieux.

Notre étude montre que des adénomes festonnés traditionnels peuvent être d'architecture vilieuse et prendre un aspect endoscopique de tumeur vilieuse.

Néanmoins, la majorité d'entre eux donnent des tumeurs villeuses plus petites et saillantes que les adénomes vilieux. Ces adénomes festonnés traditionnels représentaient 14% des tumeurs villeuses de notre série, et 32% des tumeurs villeuses si on inclut les polypes mixtes. D'un point de vue histologique, les adénomes festonnés traditionnels sont aisément reconnaissables par l'architecture indentée et l'éosinophilie de leur épithélium. Les adénomes festonnés traditionnels et les polypes mixtes se distinguent des autres groupes par la présence d'une composante adénomateuse festonnée. Ils se distinguent des adénomes tubuleux et tubulo-vilieux conventionnels par leur fréquente production de MUC5AC, ce qui est en accord avec des études précédentes (Biemer-Hüttmann et coll., 1999 ; Kim et coll., 2005). Enfin, les adénomes festonnés traditionnels de notre étude, détectés par l'inclusion de tumeurs d'aspect vilieux en endoscopie, semblent reproduire les adénomes festonnés filiformes décrits par Yantiss et coll. (2007) et les polypes avec différenciation entérocytaire décrits par Yokoo et coll. (1999). Ces auteurs décrivent dans ces deux articles, sous des dénominations différentes, des polypes festonnés d'architecture vilieuse. Ils incluent d'ailleurs dans leurs petites séries des polypes ayant des aspects mixtes adénomateux et festonnés identiques à ceux que nous avons regroupés dans le groupe des polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques.

Notre étude fait apparaître que la définition des tumeurs villeuses par leur seul aspect macroscopique aboutit à l'inclusion d'adénomes tubulo-vilieux conventionnels. Le diagnostic de ces adénomes tubulo-vilieux n'est pas toujours aisé car les critères les définissant ne sont pas facile à évaluer, en particulier le pourcentage de villosités lorsqu'il est élevé. Il apparaît néanmoins que l'aspect cytologique de la dysplasie conventionnelle, plus basophile et moins mucosécrétante, facilite leur diagnostic différentiel des adénomes vilieux.

L'étude moléculaire des tumeurs villeuses du sigmoïde et du rectum montre leur hétérogénéité génétique. Leur profil génétique est globalement corrélé à leur type histologique. Dans ce contexte, le profil génétique peut par conséquent être considéré comme une aide diagnostique et un outil complémentaire pour la classification des tumeurs villeuses colorectales.

Toutes les tumeurs villeuses du sigmoïde et du rectum de notre étude, quelque soit leur type histologique, étaient stables pour les microsatellites. Dans la littérature, le génotype MSS est généralement attribué aux adénomes vilieux et tubulo-vilieux

(Kakar et coll., 2008). Le génotype MSI est souvent rapporté dans les adénomes festonnés (Iino et coll., 1999). Toutefois, le génotype MSI est plus souvent associé aux adénomes festonnés sessiles, localisés dans le colon droit, tumeurs bien différentes des adénomes festonnés traditionnels observés dans notre étude. Les adénomes festonnés traditionnels sont plutôt connus pour être MSS (Mäkinen, 2007) et les adénomes festonnés filiformes rapportés par Yantiss et coll (2007), forme particulière d'adénome festonné traditionnel mentionnée plus haut, étaient tous de phénotype MSS comme dans notre étude.

Nous avons observé une perte d'expression de MGMT et de p16<sup>INK4a</sup> dans les adénomes festonnés traditionnels et dans certains adénomes vilieux. L'inactivation de ces gènes survient le plus souvent par hyperméthylation de leur promoteur (Esteller et coll., 1999 ; Whitehall et coll., 2001). Cette observation suggère que les adénomes festonnés traditionnels et certains adénomes vilieux sont le siège d'une méthylation des îlots CpG (CIMP). Hormis le gène de réparation du mésappariement de l'ADN *MLH1* (Gazzoli et coll., 2002), peu d'études ont étudié l'impact de l'hyperméthylation du promoteur d'un gène sur l'expression de la protéine qu'il code. Toutefois, Prall et coll. (2006) ont rapporté que dans les cancers du colon, la disparition de l'expression de p16<sup>INK4a</sup> était toujours associée à l'hyperméthylation du promoteur du gène *P16<sup>INK4a</sup>*. La perte d'expression de p16<sup>INK4a</sup> est corrélée au statut MSI des cancers coliques sporadiques (Shima et coll., 2011), ayant perdu l'expression du gène *MLH1* par hyperméthylation. Néanmoins l'hyperméthylation de *P16<sup>INK4a</sup>* est aussi observée dans une proportion de cancers colorectaux MSS, ainsi que dans des tumeurs vilieuses MSS, comme le montre notre étude. D'après Jass et coll., les carcinomes colorectaux MSS CIMP+ auraient une évolution plus péjorative (Jass, 2007).

La recherche des mutations de *BRAF* et de *KRAS* dans les tumeurs vilieuses de notre série établit une corrélation très franche entre mutation de *BRAF* et adénome festonné traditionnel et entre mutation de *KRAS* et adénome vilieux. Cette observation montre que dans ces lésions, ces deux types de mutations sont précoces au cours de la cancérogenèse. Il faut noter que les mutations de ces gènes étaient moins fréquentes dans le groupe des adénomes tubulo-vilieux conventionnels. D'après O'Brien et coll. (2006), la mutation *BRAF* est fortement associée à la morphologie festonnée (O'Brien et coll., 2006). Dans d'autres papiers, la mutation du gène *KRAS* est associée aux adénomes festonnés traditionnels (Kim

et coll., 2010). Kim et coll. arguent que l'origine ethnique pourrait intervenir dans la nature des mutations observées dans les adénomes festonnés puisque dans leur cohorte, essentiellement d'origine coréenne, les mutations de *KRAS* étaient prédominantes. Néanmoins l'analyse de cet article montre que ces auteurs ont inclus dans leur série beaucoup de lésions festonnées mêlant des aspects d'adénome festonné traditionnel et d'adénomes conventionnels. Dans notre travail, nous avons analysé quatre de ces tumeurs (les polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques) et comme Kim et coll., nous avons noté que ces lésions portaient souvent la mutation *KRAS* et plus rarement *BRAF*. Nos observations montrent que la mutation de *BRAF* n'est pas par conséquent l'apanage des adénomes festonnés sessiles, et peut être observée dans les adénomes festonnés traditionnels. Des articles décrivent en effet deux voies festonnées en insistant sur la dichotomie *BRAF/KRAS*: adénomes festonnés sessiles du colon droit *BRAF* mutés, et adénomes festonnés traditionnels du colon gauche *KRAS* mutés (Mäkinen, 2007, Huang et coll., 2011). Nos observations vont par conséquent à l'encontre de la voie *KRAS* de ce schéma, qui est encore loin d'être reconnue (Snover, 2011).

Notre étude montre par ailleurs que les adénomes vilieux présentent en général une mutation du gène *KRAS*. Ces données s'accordent avec celles de la littérature : la mutation du gène *KRAS* a été fréquemment associée à l'architecture vilieuse des adénomes, ainsi qu'à des lésions de dysplasie de haut grade, et une taille importante de l'adénome (Jass et coll., 2006 ; Kakar et coll., 2008, Ishii et coll., 2011).

Nos observations ne montrent pas de corrélation franche entre la surexpression de p53 ou l'expression de la  $\beta$ -caténine et le type histologique des tumeurs vilieuses. D'autre part, ces anomalies apparaissent somme toutes peu fréquentes dans l'ensemble des tumeurs vilieuses étudiées. L'accumulation nucléaire de la  $\beta$ -caténine témoigne souvent de la mutation du gène *APC*, alors que la surexpression de la protéine p53 témoigne d'une accumulation nucléaire anormale liée à la mutation du gène suppresseur de tumeur *TP53*. L'expression nucléaire de la  $\beta$ -caténine n'a pas été spécifiquement rapportée dans une population homogène d'adénomes vilieux. La mutation du gène *TP53* a été plus souvent décrite dans les adénomes vilieux en dysplasie de haut grade et semble accompagner la transformation carcinomateuse (Einspahr et coll., 2006 ; Kaklamanis et coll., 1993, Karamitopoulou et coll., 1995 ; Pignatelli et coll., 1992). Curieusement, dans notre série, ces anomalies apparaissent

plus fréquemment dans les adénomes festonnés traditionnels, souvent associés à une hyperméthylation. Il faut noter qu'*APC* constitue une cible potentielle de l'hyperméthylation dans la phase précoce de la carcinogenèse (Leong et coll., 2011). Notre étude confirme que les tumeurs villeuses sont associées à une transformation carcinomateuse fréquente. Un tiers des cas de notre série était en effet associé à un cancer. Les critères généralement considérés comme péjoratifs dans les polypes sont réunis dans les tumeurs villeuses : architecture villeuse et grande taille. Il est intéressant de noter que dans notre série les carcinomes colorectaux conservaient généralement le profil histologique et moléculaire de la tumeur villeuse initiale. En effet, les adénocarcinomes festonnés, issus d'adénomes festonnés traditionnels ou de polype mixte adénomateux et hyperplasique, conservaient la même mutation *BRAF* que la lésion initiale ; et les adénocarcinomes issus d'adénomes villeux conservaient les mêmes mutations *KRAS* que la tumeur initiale. Il est à noter que tous les adénocarcinomes étaient MSS, qu'ils portent la mutation *BRAF* ou *KRAS*, et qu'ils présentent ou non des arguments en faveur d'un CIMP.

En conclusion, les tumeurs villeuses du sigmoïde et du rectum constituent un groupe hétérogène de tumeurs, évoluant selon une séquence « lésion dysplasique de type morphologique varié - carcinome », enrichissant la diversité de la carcinogenèse colique. Cette diversité des formes morphologiques de lésions pré-cancéreuses est subordonnée à des anomalies génétiques récurrentes dont le décryptage devrait fournir des outils diagnostiques, pronostiques et thérapeutiques « personnalisés ». Globalement, les tumeurs villeuses du colon et du rectum appartiennent au groupe des « polypes évolués » par leur grande taille et leur aspect villeux, et sont associées à une fréquente transformation carcinomateuse dont l'hétérogénéité morphologique et moléculaire est aussi notable que celle de la tumeur initiale. Plus spécifiquement, les adénomes villeux ne constituent qu'une petite partie des tumeurs villeuses du colon et du rectum, avec des aspects cliniques, morphologiques et moléculaires qui leurs sont propres et les adénomes festonnés traditionnels filiformes / adénocarcinomes festonnés constituent un groupe non négligeable de tumeurs villeuses du colon et du rectum au génotype MSS / *BRAF*+ / CIMP+ de pronostic défavorable (van Rijnsoever et coll., 2003 ; Ward et coll., 2003).

## BIBLIOGRAPHIE

Aaltonen LA, Peltomaki P, Leach FS, Sistonen P, Pylkkanen L, Mecklin JP, Jarvinen H, Powell SM, Jen J, Hamilton SR, et al. Clues to the pathogenesis of familial colorectal cancer. *Science*. 1993;260:812-6.

Appel MF, Spjut HJ, Estrada RG. The significance of villous component in colonic polyps. *Am J Surg*. 1977;134:770-1.

Bara J, Chastre E, Mahiou J, Singh RL, Forgue-Lafitte ME, Hollande E, Godeau F. Gastric M1 mucin, an early oncofetal marker of colon carcinogenesis, is encoded by the MUC5AC gene. *Int J Cancer*. 1998;75:767-73.

Bodmer WF, Bailey CJ, Bodmer J, Bussey HJ, Ellis A, Gorman P, Lucibello FC, Murday VA, Rider SH, Scambler P, et al. Localization of the gene for familial adenomatous polyposis on chromosome 5. *Nature*. 1987;328:614-6.

Buisine MP, Janin A, Maunoury V, Audié JP, Delescaut MP, Copin MC, Colombel JF, Degand P, Aubert JP, Porchet N. Aberrant expression of a human mucin gene (MUC5AC) in rectosigmoid villous adenoma. *Gastroenterology*. 1996;110:84-91.

Castelman B, Krickstein HI. Do adenomatous polyps of the colon become malignant? *N Engl J Med*. 6;267:469-75.

Chan TL, Zhao W, Leung SY, Yuen ST; Cancer Genome Project. BRAF and KRAS mutations in colorectal hyperplastic polyps and serrated adenomas. *Cancer Res*. 2003;63:4878-81.

Cripps WH. Traumatic Malignancy. *Br Med J*. 1882;1:653-4.

David VC. Papillomata of the large bowel. *Ann Surg*. 1925;82:109-30.

Dukes CE. An Explanation of the Difference Between a Papilloma and an Adenoma of the Rectum. *Proc R Soc Med*. 1947;40:829-30.

Dukes CE. Familial Intestinal Polyposis. *J Clin Pathol*. 1947;1:34-8.

Einspahr JG, Martinez ME, Jiang R, Hsu CH, Rashid A, Bhattacharrya AK, Ahnen DJ, Jacobs ET, Houlihan PS, Webb CR, Alberts DS, Hamilton SR. Associations of Ki-ras proto-oncogene mutation and p53 gene overexpression in sporadic colorectal adenomas with demographic and clinicopathologic characteristics. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2006;15:1443-50.

Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res*. 1999;59:793-7.

- Fearon ER, Vogelstein B. A genetic model for colorectal tumorigenesis. *Cell*. 1990;61:759-67.
- Fenoglio-Preiser CM. *Gastrointestinal pathology, an atlas and text*. 3rd ed. LWW, 2008, 1296 p.
- Ferraro LR, Ross ST. Evaluation of villous pattern in tumors of the colon and rectum. *Dis Colon Rectum*. 1965;8:144-8.
- Fujita K, Hirahashi M, Yamamoto H, Matsumoto T, Gushima M, Oda Y, Kishimoto J, Yao T, Iida M, Tsuneyoshi M. Mucin core protein expression in serrated polyps of the large intestine. *Virchows Arch*. 2010;457:443-9.
- Gazzoli I, Loda M, Garber J, Syngal S, Kolodner RD. A hereditary nonpolyposis colorectal carcinoma case associated with hypermethylation of the MLH1 gene in normal tissue and loss of heterozygosity of the unmethylated allele in the resulting microsatellite instability-high tumor. *Cancer Res*. 2002 Jul;62:3925-8.
- Gibson JA, Hahn HP, Shahsafaei A, Odze RD. MUC Expression in Hyperplastic and Serrated Colonic Polyps: Lack of Specificity of MUC6. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:742-9.
- Grinnell RS, Lane N. Benign and malignant adenomatous polyps and papillary adenomas of the colon and rectum; an analysis of 1,856 tumors in 1,335 patients. *Int Abstr Surg*. 1958;106:519-38.
- Groden J, Thliveris A, Samowitz W, Carlson M, Gelbert L, Albertsen H, Joslyn G, Stevens J, Spirio L, Robertson M, et al. Identification and characterization of the familial adenomatous polyposis coli gene. *Cell*. 1991;66:589-600.
- Hamilton SR, Bosman FT, Boffetta P, Ilyas M, Morreau H, Nakamura SI, Quirke P, Riboli E, Sobin LH. Carcinoma of the colon and rectum. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. *WHO classification of tumours of the digestive system*. 4<sup>th</sup> ed. Lyon : IARC, 2010, 417 p.
- Hawkins NJ, Ward RL. Sporadic colorectal cancers with microsatellite instability and their possible origin in hyperplastic polyps and serrated adenomas. *J Natl Cancer Inst*. 2001;93:1307-13.
- Herrera L, Kakati S, Gibas L, Pietrzak E, Sandberg AA. Gardner syndrome in a man with an interstitial deletion of 5q. *Am J Med Genet*. 1986;25:473-6.
- Helwig EB. The evolution of adenomas of the large intestine and their relation to carcinoma. *Surg Gynecol Obstet*. 1947;84:36-49.
- Ho SB, Niehans GA, Lyftogt C, Yan PS, Cherwitz DL, Gum ET, Dahiya R, Kim YS. Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues. *Cancer Res*. 1993;53:641-51.
- Huang CS, Farraye FA, Yang S, O'Brien MJ. The clinical significance of serrated polyps. *Am J Gastroenterol*. 2011;106:229-40.

Iino H, Jass JR, Simms LA, Young J, Leggett B, Ajioka Y, Watanabe H. DNA microsatellite instability in hyperplastic polyps, serrated adenomas, and mixed polyps: a mild mutator pathway for colorectal cancer? *J Clin Pathol*. 1999;52:5-9.

Ionov Y, Peinado MA, Malkhosyan S, Shibata D, Perucho M. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis. *Nature*. 1993;363:558-61.

Ishii T, Notohara K, Umapathy A, Mallitt KA, Chikuba H, Moritani Y, Tanaka N, Rosty C, Matsubara N, Jass J, Leggett B, Whitehall V. Tubular adenomas with minor villous changes show molecular features characteristic of tubulovillous adenomas. *Am J Surg Pathol*. 2011;35:212-20.

Jass JR, Stewart SM. Evolution of hereditary non-polyposis colorectal cancer. *Gut*. 1992;33:783-6.

Jass JR. Serrated adenoma and colorectal cancer. *J Pathol*. 1999;187:499-502.

Jass JR, Young J, Leggett BA. Hyperplastic polyps and DNA microsatellite unstable cancers of the colorectum. *Histopathology*. 2000;37:295-301.

Jass JR. Serrated route to colorectal cancer: back street or super highway? *J Pathol*. 2001;193:283-5.

Jass JR, Whitehall VL, Young J, Leggett BA. Emerging concepts in colorectal neoplasia. *Gastroenterology*. 2002;123:862-76.

Jass JR, Baker K, Zlobec I, Higuchi T, Barker M, Buchanan D, Young J. Advanced colorectal polyps with the molecular and morphological features of serrated polyps and adenomas: concept of a 'fusion' pathway to colorectal cancer. *Histopathology*. 2006;49:121-31.

Kaklamani L, Gatter KC, Mortensen N, Baigrie RJ, Heryet A, Lane DP, Harris AL. p53 expression in colorectal adenomas. *Am J Pathol*. 1993;142:87-93.

Kakar S, Deng G, Sahai V, Matsuzaki K, Tanaka H, Miura S, Kim YS. Clinicopathologic characteristics, CpG island methylator phenotype, and BRAF mutations in microsatellite-stable colorectal cancers without chromosomal instability. *Arch Pathol Lab Med*. 2008;132:958-64.

Karamitopoulou E, Perentes E, Diamantis I, Vogt U, Wegmann W. p53 protein expression in colorectal adenomas: an immunohistochemical study using an antigen retrieval system. *Histopathology*. 1995;27:517-23.

Kim DH, Kim JW, Cho JH, Baek SH, Kakar S, Kim GE, Sleisenger MH, Kim YS. Expression of mucin core proteins, trefoil factors, APC and p21 in subsets of colorectal polyps and cancers suggests a distinct pathway of pathogenesis of mucinous carcinoma of the colorectum. *Int J Oncol*. 2005;27:957-64.

Kim KM, Lee EJ, Kim YH, Chang DK, Odze RD. KRAS mutations in traditional serrated adenomas from Korea herald an aggressive phenotype. *Am J Surg Pathol*. 2010;34:667-75.

Kinzler KW, Nilbert MC, Vogelstein B, Bryan TM, Levy DB, Smith KJ, Preisinger AC, Hamilton SR, Hedge P, Markham A, et al. Identification of a gene located at chromosome 5q21 that is mutated in colorectal cancers. *Science*. 1991;251:1366-70.

Kinzler KW, Nilbert MC, Su LK, Vogelstein B, Bryan TM, Levy DB, Smith KJ, Preisinger AC, Hedge P, McKechnie D, et al. Identification of FAP locus genes from chromosome 5q21. *Science*. 1991;253:661-5.

Koike M, Inada K, Nakanishi H, Matsuura A, Nakamura S, Tatematsu M. Cellular differentiation status of epithelial polyps of the colorectum: the gastric foveolar cell-type in hyperplastic polyps. *Histopathology*. 2003;42:357-64.

Konishi F, Morson BC. Pathology of colorectal adenomas: a colonoscopic survey. *J Clin Pathol*. 1982;35:830-41.

Konishi K, Yamochi T, Makino R, Kaneko K, Yamamoto T, Nozawa H, Katagiri A, Ito H, Nakayama K, Ota H, Mitamura K, Imawari M. Molecular differences between sporadic serrated and conventional colorectal adenomas. *Clin Cancer Res*. 2004;10:3082-90.

Lan MS, Khorrami A, Kaufman B, Metzgar RS. Molecular characterization of a mucin-type antigen associated with human pancreatic cancer. The DU-PAN-2 antigen. *J Biol Chem*. 1987;262:12863-70.

Lane N, Kaplan H, Pascal RR. Minute adenomatous and hyperplastic polyps of the colon: divergent patterns of epithelial growth with specific associated mesenchymal changes. Contrasting roles in the pathogenesis of carcinoma. *Gastroenterology*. 1971;60:537-51.

Lee EJ, Choi C, Park CK, Maeng L, Lee J, Lee A, Kim KM. Tracing origin of serrated adenomas with BRAF and KRAS mutations. *Virchows Arch*. 2005;447:597-602.

Leong KJ, Wei W, Tannahill LA, Caldwell GM, Jones CE, Morton DG, Matthews GM, Bach SP. Methylation profiling of rectal cancer identifies novel markers of early-stage disease. *Br J Surg*. 2011;98:724-34.

Li J, Wang L, Mamon H, Kulke MH, Berbeco R, Makrigiorgos GM. Replacing PCR with COLD-PCR enriches variant DNA sequences and redefines the sensitivity of genetic testing. *Nat Med*. 2008;14:579-84.

Lindblom A, Tannergard P, Werelius B, Nordenskjöld M. Genetic mapping of a second locus predisposing to hereditary non-polyposis colon cancer. *Nat Genet*. 1993;5:279-82.

- Longacre TA, Fenoglio-Preiser CM. Mixed hyperplastic adenomatous polyps/serrated adenomas. A distinct form of colorectal neoplasia. *Am J Surg Pathol.* 1990;14:524-37.
- Lynch HT, Shaw MW, Magnuson CW, Larsen AL, Krush AJ. Hereditary factors in cancer. Study of two large midwestern kindreds. *Arch Intern Med* 1966;117:206-12.
- Mäkinen MJ, George SM, Jernvall P, Mäkelä J, Vihko P, Karttunen TJ. Colorectal carcinoma associated with serrated adenoma--prevalence, histological features, and prognosis. *J Pathol.* 2001;193:286-94.
- Mäkinen MJ. Colorectal serrated adenocarcinoma. *Histopathology.* 2007;50:131-50.
- McKittrick LS, Wheelock FC. Carcinoma of the colon. 1954. *Dis Colon Rectum.* 1997;40:1494-6.
- Morson BC. Some peculiarities in the histology of intestinal polyps. *Dis Colon Rectum.* 1962;5:337.
- Morson BC, Sobin LH (Eds). The typing of intestinal tumours. 1976;15. World Health Organisation, Geneva.
- Morson BC. Genesis of colorectal cancer. *Clin Gastroenterol.* 1976;5:505-25.
- Morson BC. The polyp story. *Postgrad Med J.* 1984;60:820-4.
- Morson BC, Bussey HJ. Predisposing causes of intestinal cancer. *Curr Probl Surg.* 1970:1-46.
- Muto T, Bussey HJ, Morson BC. The evolution of cancer of the colon and rectum. *Cancer.* 1975;36:2251-70.
- Netzer P, Forster C, Biral R, Ruchti C, Neuweiler J, Stauffer E, Schönegg R, Maurer C, Hüsler J, Halter F. Risk factor assessment of endoscopically removed malignant colorectal polyps. *Gut.* 1998;43:669-74.
- Nusko G, Mansmann U, Partzsch U, Altendorf-Hofmann A, Groitl H, Wittekind C, Eil C, Hahn EG. Invasive carcinoma in colorectal adenomas: multivariate analysis of patient and adenoma characteristics. *Endoscopy.* 1997;29:626-31.
- O'Brien MJ, Yang S, Clebanoff JL, Mulcahy E, Farraye FA, Amorosino M, Swan N. Hyperplastic (serrated) polyps of the colorectum: relationship of CpG island methylator phenotype and K-ras mutation to location and histologic subtype. *Am J Surg Pathol.* 2004;28:423-34.
- O'Brien MJ, Yang S, Mack C, Xu H, Huang CS, Mulcahy E, Amorosino M, Farraye FA. Comparison of microsatellite instability, CpG island methylation phenotype, BRAF and KRAS status in serrated polyps and traditional adenomas indicates separate pathways to distinct colorectal carcinoma end points. *Am J Surg Pathol.* 2006;30:1491-501.

Peltomäki P, Aaltonen LA, Sistonen P, Pylkkanen L, Mecklin JP, Jarvinen H, Green JS, Jass JR, Weber JL, Leach FS, et al. Genetic mapping of a locus predisposing to human colorectal cancer. *Science*. 1993;260:810-2.

Pignatelli M, Stamp GW, Kafiri G, Lane D, Bodmer WF. Over-expression of p53 nuclear oncoprotein in colorectal adenomas. *Int J Cancer*. 1992;50:683-8.

Quénu E, Landel G. Des tumeurs villeuses ou épithéliomas superficiels vagatants du rectum. *Rev de Gynéc. et de Chi. Abdom.* 1899;3:95-126.

Sawyer EJ, Cerar A, Hanby AM, Gorman P, Arends M, Talbot IC, Tomlinson IP. Molecular characteristics of serrated adenomas of the colorectum. *Gut*. 2002;51:200-6.

Sheridan TB, Fenton H, Lewin MR, Burkart AL, Iacobuzio-Donahue CA, Frankel WL, Montgomery E. Sessile serrated adenomas with low- and high-grade dysplasia and early carcinomas: an immunohistochemical study of serrated lesions "caught in the act". *Am J Clin Pathol*. 2006;126:564-71.

Shima K, Nosho K, Baba Y, Cantor M, Meyerhardt JA, Giovannucci EL, Fuchs CS, Ogino S. Prognostic significance of CDKN2A (p16) promoter methylation and loss of expression in 902 colorectal cancers: Cohort study and literature review. *Int J Cancer*. 2011;128:1080-94.

Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol*. 2011;42:1-10.

Snover DC, Ahnen DJ, Burt RW, Odze RD. Serrated polyps of the colon and rectum and serrated polyposis. Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND (Eds). *WHO classification of tumours of the digestive system*. 4<sup>th</sup> ed. Lyon : IARC, 2010, 417 p.

Soetikno RM, Kaltenbach T, Rouse RV, Park W, Maheshwari A, Sato T, Matsui S, Friedland S. Prevalence of nonpolypoid (flat and depressed) colorectal neoplasms in asymptomatic and symptomatic adults. *JAMA*. 2008;299:1027-35.

Spratt JS Jr, Ackerman LV, Moyer CA. Relationship of polyps of the colon to colonic cancer. *Ann Surg*. 1958;148:682-98.

Sunderland DA, Binkley GE. Papillary adenomas of the large intestine; a clinical and morphological study of 48 cases. *Cancer*. 1948;1:184-207.

Suraweera N, Duval A, Reperant M, Vaury C, Furlan D, Leroy K, Seruca R, Iacopetta B, Hamelin R. Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology*. 2002;123:1804-11.

Tateyama H, Li W, Takahashi E, Miura Y, Sugiura H, Eimoto T. Apoptosis index and apoptosis-related antigen expression in serrated adenoma of the colorectum: the saw-toothed structure may be related to inhibition of apoptosis. *Am J Surg Pathol*. 2002;26:249-56.

Torlakovic E, Snover DC. Serrated adenomatous polyposis in humans. *Gastroenterology*. 1996;110:748-55.

Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, Torlakovic G, Nesland JM. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol*. 2003;27:65-81.

Torlakovic EE, Gomez JD, Driman DK, Parfitt JR, Wang C, Benerjee T, Snover DC. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol*. 2008;32:21-9.

Thibodeau SN, Bren G, Schaid D. Microsatellite instability in cancer of the proximal colon. *Science*. 1993;260:816-9.

Urbanski SJ, Kossakowska AE, Marcon N, Bruce WR. Mixed hyperplastic adenomatous polyps--an underdiagnosed entity. Report of a case of adenocarcinoma arising within a mixed hyperplastic adenomatous polyp. *Am J Surg Pathol*. 1984;8:551-6.

Van Rijnsoever M, Elsaleh H, Joseph D, McCaul K, Iacopetta B. CpG island methylator phenotype is an independent predictor of survival benefit from 5-fluorouracil in stage III colorectal cancer. *Clin Cancer Res*. 2003;9:2898-903.

Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, Nakamura Y, White R, Smits AM, Bos JL. Genetic alterations during colorectal-tumor development. *N Engl J Med*. 1988;319:525-32.

Ward RL, Cheong K, Ku SL, Meagher A, O'Connor T, Hawkins NJ. Adverse prognostic effect of methylation in colorectal cancer is reversed by microsatellite instability. *J Clin Oncol*. 2003;21:3729-36.

Warner AS, Glick ME, Fogt F. Multiple large hyperplastic polyps of the colon coincident with adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol*. 1994;89:123-5.

Warthin AS. Hereditary with reference to carcinoma. *Arch Intern Med* 1913;12:546-55.

Welch CE. Management of polypoid diseases. *Cancer*. 1971;28:145.

Welch JP, Welch CE. Villous adenomas of the colorectum. *Am J Surg*. 1976;131:185-91.

Whitehall VL, Walsh MD, Young J, Leggett BA, Jass JR. Methylation of O-6-methylguanine DNA methyltransferase characterizes a subset of colorectal cancer with low-level DNA microsatellite instability. *Cancer Res*. 2001;61:827-30.

Wolff WI, Shinya H. A new approach to the management of colonic polyps. *Adv Surg*. 1973;7:45-67.

Yang S, Farraye FA, Mack C, Posnik O, O'Brien MJ. BRAF and KRAS Mutations in hyperplastic polyps and serrated adenomas of the colorectum: relationship to histology and CpG island methylation status. *Am J Surg Pathol*. 2004;28:1452-9.

Yantiss RK, Oh KY, Chen YT, Redston M, Odze RD. Filiform serrated adenomas: a clinicopathologic and immunophenotypic study of 18 cases. *Am J Surg Pathol.* 2007;31:1238-45.

Yao T, Kouzuki T, Kajiwara M, Matsui N, Oya M, Tsuneyoshi M. 'Serrated' adenoma of the colorectum, with reference to its gastric differentiation and its malignant potential. *J Pathol.* 1999;187:511-7.

Yokoo H, Usman I, Wheaton S, Kampmeier PA. Colorectal polyps with extensive absorptive enterocyte differentiation: histologically distinct variant of hyperplastic polyps. *Arch Pathol Lab Med.* 1999;123:404-10.

**Titre de Thèse : Hétérogénéité histopathologique et moléculaire des tumeurs villeuses recto-sigmoïdiennes.**

## RESUME

Les tumeurs villeuses, définies macroscopiquement, sont des lésions étendues, sessiles, d'aspect vilieux, siégeant préférentiellement dans le sigmoïde et le rectum. Ces tumeurs ont été assimilées aux adénomes vilieux après la publication de la classification de l'OMS en 1976. La littérature a depuis négligé ces lésions, et leurs caractéristiques morphologiques et moléculaires sont peu connues. Cette étude a évalué cliniquement, histologiquement, immunohistochimiquement et génétiquement, toutes les lésions décrites en endoscopie comme des nappes ou polypes vilieux du sigmoïde et du rectum sur ces dix dernières années. L'évaluation a été faite sur la base des données récentes de la littérature des polypes coliques, incluant les polypes festonnés. Nous avons étudié le statut mutationnel des gènes *BRAF* et *KRAS*, le statut d'instabilité microsatellitaire, l'expression des protéines MLH1, MGMT et p16<sup>INK4A</sup>, l'expression nucléaire de la protéine  $\beta$ -caténine, et l'expression du gène suppresseur de tumeur *TP53* dans une série de tumeurs villeuses (n=22). Les tumeurs villeuses du rectum et du sigmoïde étaient rares (0,3%). Isolées à partir d'une population homogène macroscopiquement, les tumeurs villeuses se révélaient hétérogènes histologiquement et génétiquement. Les tumeurs villeuses étaient divisées en 4 groupes: adénomes vilieux (n=9), adénomes tubulo-vilieux (n=6), adénomes festonnés traditionnels filiformes (n=3) et polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques (n=4). Ces groupes étaient souvent associés à des caractéristiques cliniques et moléculaires spécifiques. Toutes les tumeurs villeuses, quelque soit leur histologie, étaient stables pour les microsatellites. Les adénomes vilieux étaient fréquemment mutés pour le gène *KRAS* alors que tous les adénomes festonnés traditionnels étaient mutés pour le gène *BRAF* et présentaient souvent des arguments pour un phénotype CIMP. Les polypes mixtes adénomateux et hyperplasiques étaient tantôt *KRAS*, tantôt *BRAF* mutés. La transformation carcinomateuse des tumeurs villeuses était fréquente et avait les mêmes caractéristiques histologiques et moléculaires que la tumeur vilieuse précessive.

En conclusion, l'aspect endoscopique vilieux ne garantit pas le diagnostic d'adénome vilieux, l'aspect histologique des tumeurs villeuses recto-sigmoïdiennes, subordonné à un profil génétique particulier, doit être soigneusement étudié, car il a un impact clinique, évolutif et thérapeutique.

## MOTS-CLEFS

Tumeur vilieuse, adénome vilieux, cancer colorectal, adénome festonné, génétique