

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Thèse

Pour l'obtention du diplôme de

Doctorat 3^{ème} cycle

Spécialité : Sciences biologiques

Option : Biologie de la Cellule Normale et Pathologique

Intitulé

Etude de l'hétérogénéité moléculaire des cancers du sein dans la région du nord-ouest de l'Algérie et identification de RAB25 comme cible thérapeutique potentielle du sous-type luminal B.

Présentée Par :

Mme BELHADJ BENNACEUR Amina

Soutenue le : 20/ 04 / 2017

Présidente :	MOULESSEHOUL Soraya	Professeur	UDL Sidi Bel Abbès
Examineurs :	ARIBI Mourad	Professeur	Université de Tlemcen
	SAHRAOUI Toufik	Professeur	Université d'Oran
	HAOUD Khadidja	MCA	UDL Sidi Bel Abbès
Directrice de thèse :	KLOUCHE Lynda	MCA	UDL Sidi Bel Abbès

Année Universitaire : 2016-2017

Dédicace

Je rends grâce à Dieu le tout puissant qui m'a permis de mener à bien ce projet de fin d'études.

A

Ceux pour qui mon amour est inestimable Maman et Papa qui m'ont inculqué une bonne éducation, le chemin de la dignité et la voie de la sagesse, qui m'ont encouragé et soutenue tout au long de mes études.

Mes adorables frères que Dieu les protège : Mustapha, Adel et Isaac

Mon très tendre et brave grand père « Chafai » merci pour l'immensité de ton cœur -que Dieu te prête longue vie-

Ma défunte et très chère grand-mère « Soltana » qui fut ma deuxième maman durant toutes mes années d'études universitaires -Que Dieu t'accueille en son vaste paradis-

Mes beaux parents et mes belles sœurs Amina et Leïla pour leur support moral

A mes belles sœurs Yasmine et Ikram

A tous les autres membres de la famille et à tous mes amis

A toi Amine, cher mari Aucun mot ne saurait t'exprimer mon profond attachement et ma reconnaissance pour l'amour, la tendresse et la gentillesse dont tu m'as toujours entouré, pour m'avoir soutenu et encouragé, grâce à ton aide et à ta patience avec moi ce travail a pu voir le jour

Je vous dédie ce travail.

Amina

Remerciements

Je tiens à exprimer ma reconnaissance à mon encadreur, **Dr. Addou-Klouche Lynda** qui m'a dirigé, conseillé et qui ma transmis son savoir et ses connaissances. Je tiens à la remercier pour ses excellents conseils scientifiques, sa disponibilité et sa patience tout au long de la réalisation de ce travail. Vous m'avez montré que la recherche toute exigeante quelle soit est une affaire de passionnés.

Pr. Moulessehoul Soraya, je vous remercie de l'honneur que vous me faites de présider le jury et en acceptant de juger mon travail de thèse. Je vous suis reconnaissante pour le temps que vous avez consacré à la lecture de mon manuscrit et pour vos conseils qui m'ont été précieux tout au cours de mon cursus. Soyez assurée de mon profond respect.

Pr. Aribi Mourad, je vous remercie vivement d'être l'un des examinateurs de ce travail, je suis honorée de votre présence dans mon jury de thèse.

Pr. Sahraoui Toufik, je tiens à vous témoigner toute ma reconnaissance et mes remerciements les plus sincères de l'honneur que vous me faites en siégeant à ce jury et d'avoir accepté l'examen de ce travail.

Je remercie également **Dr. Houd Khadidja**, d'avoir accepté d'évaluer ce travail et examiner mes connaissances, veuillez accepter madame mes sincères gratitude.

Cette étude a été réalisée au sein du laboratoire d'anatomie et pathologie de l'hôpital militaire d'Oran, dont je remercie le responsable Monsieur le **Dr. Medjamia Miloud** pour avoir accepté de m'accueillir au sein de son unité.

Je tiens à remercier vivement Monsieur le **Dr. Benammar Hamid** pour son soutien durant mes années de thèse et pour toutes ces centaines de lames lues.

Mes remerciements vont également à tous **les membres du laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital militaire d'Oran** - techniciens et ingénieurs -qui sans eux je n'aurai eu d'aussi merveilleuses coupes de lames pour l'immunohistochimie, pour leur aide, leur soutien moral et leur bonne humeur.

Je tiens à remercier également Monsieur le **Pr. DJILALI-louafi** chef de service d'Oncologie médicale du CHU d'Oran et Monsieur le **Pr. Larbaoui Blaha** chef de service d'oncologie médicale, ainsi que **leur personnel**, pour leur accueil chaleureux et d'avoir mis à ma disposition tous les dossiers des malades qui ont permis l'élaboration de cette thèse. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma gratitude.

RESUME

Introduction : Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène sur le plan biologique. Cette hétérogénéité tumorale, en partie responsable des échecs thérapeutiques serait le reflet de plusieurs entités cliniques dans les cancers du sein. Les différentes classes moléculaires permettent de définir des sous-types de cancer du sein de pronostics distincts pouvant bénéficier d'une prise en charge thérapeutique plus individualisée.

Objectifs : Afin de mieux comprendre la biologie tumorale inhérente à chaque sous-type moléculaire nous avons, dans un premier temps, procédé à la classification des cancers du sein par une approche immunohistochimique comme technique substitutive à l'analyse par microarray. Dans un second temps, nous avons pour objectif, d'identifier des marqueurs dérégulés et cibles thérapeutiques potentielles spécifiques de sous-types moléculaires particulièrement agressifs de cancer du sein et pour lesquels aucune thérapie ciblée n'existe à ce jour, tels que les luminaux B.

Matériel et méthodes : Une étude rétrospective a été menée sur 829 patientes de la région nord-ouest de l'Algérie, diagnostiquées avec un cancer du sein, entre janvier 2008 et décembre 2013. Le profil d'expression de différents marqueurs a permis de définir et de classer les cancers du sein. Enfin, le statut protéique de RAB25 a été déterminé par immunohistochimie. Des corrélations aux données histo-cliniques ont été établies. La survie sans métastase a été estimée en utilisant la méthode de Kaplan-Meier.

Résultats : Les patientes ont été diagnostiquées à un stade agressif (grades SBR II et III), 62% d'entre elles présentaient une infiltration des ganglions axillaires et 11% avaient des métastases à distance. 283 tumeurs (41.86%) appartenaient au sous-type luminal A, 102 (15.09%) au sous-type luminal B, 91 (13.46%) au sous-type HER2+ et 200 (29.58%) étaient des tumeurs triples négatives (TNBC). Les tumeurs de sous-type luminal B étaient significativement associées à la présence de micrométastases, à une taille tumorale plus élevée (T4) et une plus grande proportion de haut grade histologique (SBR III) est retrouvée en comparaison aux tumeurs lumineales A. La survie sans métastase à 5 ans était 70% (95CI= [0.62-0.78]). La surexpression de RAB 25 est spécifiquement associée au sous-type luminal B ($p=0.01$).

Conclusion : Notre étude a confirmé le caractère agressif des cancers du sein au niveau de la région nord-ouest de l'Algérie vraisemblablement par manque d'un dépistage précoce. Nous avons défini de nouvelles classes de cancer du sein dans des groupes de tumeurs d'apparence histo-clinique homogènes, mais hétérogènes sur le plan évolutif. Une telle classification moléculaire aura donc une implication thérapeutique. De plus, RAB25 pourrait constituer une cible thérapeutique potentielle intéressante et permettrait d'aboutir au développement d'une thérapie ciblée améliorant ainsi la prise en charge des patientes ayant un cancer du sein de sous-type luminal B.

Mots -clés : Cancer du sein- Sous types moléculaires- Luminal B- RAB 25- Cible thérapeutique

ABSTRACT

Introduction : Breast cancer is a biologically complex and heterogeneous disease. This tumor heterogeneity, partly responsible for treatment failure, would reflect several clinical breast cancer entities. The different molecular classes used to define breast cancer subtypes of distinct prognoses and may benefit from more individualized therapy.

Objectives: To understand the inherent tumor biology of each molecular subtype we, at first, classified breast cancer tumors by immunohistochemical approach as a proxy to technical analysis by microarray. Secondly, we aimed to identify deregulated markers and potential therapeutic targets specific to molecular subtypes in particularly aggressive breast cancer and for which no targeted therapy exists to this day, such as luminal B .

Materials and Methods: A retrospective study was conducted on 829 patients in the northwest region of Algeria, diagnosed with breast cancer between January 2008 and December 2013. The expression of different markers profile has defined and classify breast cancers. The RAB25 protein status was determined by immunohistochemistry. Correlations with histo-clinical data have been established. The metastasis-free survival was estimated using the Kaplan-Meier method.

Results: Patients were diagnosed with an aggressive stage (SBR grades II and III), 62% of them showed infiltration of axillary lymph nodes and 11% had distant metastases. 283 patients (41.86%) belonged to Luminal A subtype, 102 (15.09%) to Luminal B subtype, 91 (13.46%) to HER2 + subtype and 200 (29.58%) were triple negative breast cancer (TNBC). Tumors of Luminal B subtype were significantly associated with the presence of axillary nodes infiltrations (micrometastases). These tumors have higher tumor size (T4) and greater proportion of high histologic grade (SBR III) in comparison to Luminal A tumors. The metastasis-free survival at 5 years was 70% (95CI = [0.62-0.78]). Overexpression of RAB 25 is specifically associated with Luminal B subtype (p=0.01).

Conclusion: Our study confirmed the aggressiveness of tumors from patients with breast cancer at the north-western region of Algeria probably by lack of early detection in this region. We define new breast cancer classes in homogeneous appearance histo-clinical tumor groups, but evaluate differently. RAB25 could be a potential therapeutic target in the Luminal B subtype whose clinical development is particularly pejorative and for which no targeted therapy exists.

Key words : Breast cancer- Molecular subtypes- Luminal B- RAB 25- Therapeutic target

ملخص

مقدمة : سرطان الثدي هو مرض معقد و غير متجانس من الناحية البيولوجية. ان عدم التجانس البيولوجي لهذا النوع من الورم ، مسؤول جزئيا عن فشل العلاج مما يعكس تواجد عدة كيانات جزيئية لسرطان الثدي . الأنواع الجزيئية المختلفة تساعد في تحديد أنواع فرعية متميزة لسرطان الثدي يمكن أن تستفيد من إدارة علاجية أكثر فردية .

الأهداف : لغرض فهم بيولوجيا الورم الخاصة بكل نوع من أنواع سرطان الثدي قمنا بتصنيف سرطان الثدي بتقنية تحليل الكيمومناعية للأنسجة ، ثم قمنا بتحديد بروتينات غير منظمة و أهداف علاجية محتملة لسرطان الثدي و بشكل خاص العدوانية منه مثل سرطان الثدي من نوع luminalB، و الذي لا يوجد علاج موجه و خاص به إلى يومنا هذا.

الوسائل و الطرق : أجريت دراسة على 829 مريضة في المنطقة الشمالية الغربية من الجزائر ، شخصت إصابتهن بسرطان الثدي بين يناير 2008 وديسمبر 2013 و قد تم تحديد أصناف سرطان الثدي ثم تم تحديد تعبير البروتين RAB25 بتقنية تحليل الكيمومناعية للأنسجة .في الأخير تم تقديم الارتباطات مع البيانات السريرية وتقدير بقاء المريضة على قيد الحياة بدون ورم خبيث باستخدام تقنية كابلان ماير .

النتائج : تقدمت النساء إلى مصالحي العلاج في المرحلة العدوانية لسرطان الثدي ، وأظهرت 62% منهم تسلل الغدد الليمفاوية الإبطية. 283 ورم (41.86%) ينتمي إلى صنف luminal A ، 102 ورم (15.09%) luminal B ، 91 ورم (13.46%) HER2+ و 200 ورم (29.58%) من صنف TNBC. ارتبطت أورام luminal B بشكل كبير مع وجود العقد الإبطية المعنية، هذه الأورام لها أعلى حجم الورم (T4) ونسبة أكبر من SBR بالمقارنة مع الصنف luminal A. كان البقاء على قيد الحياة من دون ورم خبيث خلال 5 سنوات: 70% . يرتبط التعبير المرتفع للبروتين RAB 25 على وجه التحديد مع الأورام من الصنف luminal B.

الخلاصة : أكدت دراستنا عدوانية أورام المرضى الذين يعانون من سرطان الثدي في المنطقة الشمالية الغربية من الجزائر ربما بسبب عدم الكشف المبكر في هذه المنطقة. قمنا بتحديد فئات جديدة من سرطان الثدي في مجموعات ظاهريا متجانسة ، ولكن غير متجانسة من الناحية التطورية. يمكن أن يكون RAB25 هدفا علاجيا محتملا للأورام من النوع luminal B الذين لم يتم تأسيس أي علاج مستهدف لهم بعد.

الكلمات المفتاحية: سرطان الثدي - الأنواع الجزيئية - luminal B - RAB 25 - هدف علاجي -

Liste des Abréviations

ADN :	Acide désoxyribonucléique complémentaire
AIB1 :	Nuclear receptor coactivator
AKT :	Protéine kinase B
AR :	Androgène
ARE :	Apical recycling Endosome
Arf1 :	ADP-ribosylation factor 1
ARN :	Acide ribonucléique messenger
ATPases :	Des enzymes qui hydrolysent l'adénosine triphosphate
CCL :	C-C motif chemokine
CCNE1 :	Cycline E1
CCND1 :	Gène codant pour cycline D1
CCND2 :	Gène codant pour cycline D2
CCR :	Récepteur aux chemokines
CCV :	Clathrin-coated vesicle
CD25 :	La sous-unité alpha du récepteur à l'interleukine-2
Cdc 24 :	Rho family guanine nucleotide exchange factor
CDH :	Cadhérine
CDK 4 :	Cyclin-dependent kinase 4
CGH :	Comparative Genomic Hybridization
cKit :	Tyrosine-protein kinase
CLIC 3 :	Chloride intracellular channel protein 3
CMH :	Complexe majeur d'histocompatibilité
COX :	Cyclooxygenase
CSF1 :	Macrophage colony-stimulating factor 1
CXC :	Protéine chimiokine de type CXC
DAB :	Chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride
EGF :	Epidermal growth factor
EIF4E BP1 :	Eukaryotic translation initiation factor 4E binding protein 1
EMA :	European Medicines Agency
EP2 :	Prostaglandin E2 receptor 2
EPO :	Erythropoïétine
ER :	Estrogen receptor
ErbB	Famille de protéines contenant quatre récepteurs tyrosine kinases
ERE :	Estrogen response element
ERK :	Extracellular signal-regulated kinases
ESR1 :	Estrogen receptor 1
EXOC 6 :	Exocyst Complex Component 6
FDA :	Food and Drug Administration
FGF :	Fibroblast growth factor
FOXA1 :	Forkhead box protein M1

FOXM 1 :	Forkhead box protein A1
FoxP3 :	Forkhead box P3
FRS2 :	Fibroblast Growth Factor Receptor Substrate 2
GAP :	GTPase-Activating Proteins
GATA3 :	GATA Binding Protein 3
GDI :	GDP Dissociation Inhibitor
GDP :	Guanosine diphosphate protein
GEF :	Guanine nucleotide exchange factor
GGH :	Gamma glutamyl hydrolase
GGt :	Gammaglutamyl-transférases
GM-CSF :	Granulocyte macrophage colony-stimulating factor
GSTP1 :	Glutathione S-Transferase Pi 1
GTP :	Trimeric G-proteins
HER2 :	Human Epithelial growth factor Receptor
HIF -1 α :	Hypoxia-inducible factor 1
HOXA5 :	Homeobox A5
H-RAS :	Harvey Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
HRP :	Peroxydase de raifort
hRS7 :	Mammalian Master Molecule in Vesicular Transport
hTERT :	Human telomerase reverse transcriptase
IDO :	Indoleamine 2,3-dioxygenase
IFN- α :	Interferon type I
IGF-1 :	Insulin-like growth factor-1
IHC :	Immunohistochimie
IL :	Interleukine
iNOS :	Inducible nitric oxide synthase
INPP4B :	Inositol polyphosphate-4-phosphatase type II B
JAK :	Janus kinase
Ki-67 :	Index de prolifération mitotique
LAPTMB4:	Lysosome-associated transmembrane protein 4-beta
L3MBTL4:	L(3)Mbt-Like 4 (Drosophila)
LIV-1 :	Histidine-rich membrane proteins
LMW-E :	Low molecular weight of cycline E
LT :	Lymphocyte toxique
MAPK :	Mitogen-activated protein kinase
MAP3K1 :	Mitogen-activated protein kinase kinase kinase 1
MCF-7 :	Lignée de cellules tumorales mammaires
MCP-1 :	Monocyte chimoattractant protein 1
MDM2 :	E3 ubiquitine ligase
MDSCs :	Myeloid-derived Suppressor Cells
MMP9 :	Métalloprotéinase matricielle 9
MTOC :	Centre organisateur des microtubules

mTOR :	Mammalian target of rapamycin
MYC :	V-Myc Avian Myelocytomatosis Viral Oncogene Homolog
NF-Kappa B	Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
NHERF1 :	Sodium-hydrogen antiporter 3 regulator 1
NK :	Natural killer
OMS :	Organisation Mondiale de la santé
NSEP1 :	Nuclease sensitive element binding protein 1
P53 :	Cellular tumor antigen
PARP :	Poly(ADP-ribose) polymérase
PD- 1 :	Programmed cell death 1
PD- L1 :	Programmed death-ligand 1
PDGF :	Platelet-derived growth factor
PGE2 :	Prostaglandine E2
PI3K :	phosphoinositide 3-kinase
PIAS :	Protein inhibitor of activated STAT
PRE :	Endosome de recyclage périnucléaire
PTEN :	Phosphate and tensin homolog
RAB11FIP1 :	RAB11 Family Interacting Protein 1
RAB 25 :	Protein of Ras superfamily
RASSF1A :	Ras Association (RalGDS/AF-6) Domain Family Member 1
RB :	Rétinoblastome
RBA 3IP :	Mammalian ortholog of Sec2p
RCP :	Receptor component protein
RE :	Récepteur à l'oestrogène
RECQL4 :	Hélicase à acide désoxyribonucléique
REP :	Replication initiator protein
ROS :	Reactive oxygen species
RP :	Récepteur de la progestérone
RPS6KB :	Ribosomal Protein S6 Kinase
SBR :	Scarff Bloom et Richardson
SEC 15 :	Appelé également : EXOC6 exocyst complex component 6
SDF1 :	Stromal cell-derived factor 1
STAT3 :	Signal Transducers and Activators of Transcription
sTn-KLH	Theratope vaccin
T :	T-cell granules
TAA	Tumor-Associated Antigen
T47D :	Lignée cellulaire
TAM :	Tumeurs associées aux macrophages
TCR :	Récepteur des cellules T
TGFβ :	Transforming growth factor
Th :	T helper
THS :	Traitement hormonal substitutif

TLR :	Récepteur de type Toll
TMS1 :	Target of methylation-induced silencing
TNBC :	Triple négatif breast cancer
TNF :	Facteur de nécrose tumorale
TNM	Tumor Node Metastasis
TOX3 :	TOX High Mobility Group Box Family Member 3
Treg :	Les lymphocytes T régulateurs
Trop-2 :	Cell Surface Glycoprotein
VEGF :	Vascular endothelial growth factor
v-MYB :	Avian myeloblastosis viral oncogene homolog
WDR44 :	WD Repeat Domain 44
WNT5A :	Wingless-Type MMTV Integration Site Family, Member 5A
XBP1 :	X-box binding protein 1
YWHAZ :	Tyrosine 3-Monooxygenase/Tryptophan 5-Monooxygenase Activation Protein ZETA
ZNF217 :	Zinc finger protein 217
ZNF703 :	Zinc finger protein 703

Liste des Figures

Figure 1 :	Coupe sagittale du sein	4
Figure 2 :	Taux d'incidence et de mortalité standardisé du cancer du sein selon l'âge dans le monde	6
Figure 3 :	Taux d'incidence et de mortalité par cancer en Algérie	7
Figure 4 :	Regroupement hiérarchique de 115 tumeurs et de 7 tissus mammaires non cancérogène	16
Figure 5 :	Phénotypes des Macrophages et Tumorigénèse	25
Figure 6 :	Différentes voies oncogéniques comme cibles moléculaire dans la prévention du cancer du sein	35
Figure 7 :	Les grandes voies de trafic intra cellulaire vésiculaire et les protéines RAB associées	36
Figure 8 :	Le cycle d'activation des petites GTPases RAB	38
Figure 9 :	Interaction des protéines RAB avec les différents effecteurs	39
Figure 10 :	Réseau d'interaction de RAB 25 avec d'autres protéines	40
Figure 11 :	Interactions protéiques pour la régulation du trafic membranaire à travers les endosomes de recyclage	41
Figure 12 :	Principe de l'immunohistochimie indirecte	51
Figure 13 :	Répartition des cancers du sein selon l'âge des patientes.	54
Figure 14 :	Distribution de la fréquence de cancer du sein selon les tranches d'âge	54
Figure 15 :	Répartition des cancers du sein selon le type histologique	55
Figure 16 :	Répartition des patientes selon le type de thérapie administrée	56
Figure 17 :	Courbes de survie sans métastase des 738 patientes atteintes du cancer du sein	56
Figure 18 :	Distribution des cancers du sein par sous type moléculaire	57
Figure 19 :	Répartition des sous types moléculaires selon l'âge	60
Figure 20 :	Représentation des sous types moléculaires selon l'envahissement ganglionnaire	61
Figure 21	Représentation des sous types moléculaires selon le grade Scarff Bloom Richardson (SBR)	62
Figure 22 :	Représentation des sous types moléculaires selon la taille tumorale (T ₄), le grade SBR III et l'infiltration ganglionnaire axillaire (N ₊)	62
Figure 23 :	Distribution des cancers du sein par sous type moléculaire	76
Figure 24 :	Expression de la protéine RAB 25 par immunohistochimie	78
Figure 25 :	Répartition des sous types moléculaires selon le statut d'expression de RAB25	79
Figure 26 :	Expression de la protéine RAB 25 dans les sous types moléculaires du cancer du sein	80

Liste des tableaux

Tableau.1	Classification des tumeurs mammaires selon l’OMS 2003	13
Tableau.2	Classification TNM de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC)	14
Tableau.3	Caractéristiques clinicopathologiques de 829 patientes atteintes de cancer du sein	53
Tableau.4	Corrélation entre les sous types moléculaires du cancer du sein et les paramètres clinicopathologique	61
Tableau.5	Corrélation entre l’expression de RAB 25 et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des patientes	77

TABLE DES MATIERES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

Table des matières

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION	1
CHAPITRE I. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
I.1 RAPPELS SUR L'ANATOMIE DE LA GLANDE MAMMAIRE NORMALE	4
I.1.1 Structure histologique	4
I.1.2 Système sanguin et lymphatique de la glande mammaire	4
I.1.3 Innervation de la glande mammaire	5
I.2 EPIDEMIOLOGIE	5
I.3 FACTEURS DE RISQUES	7
I.3.1 L'âge	7
I.3.2 Héritéité et facteurs génétique	7
I.3.2.1 Gènes BRCA1 et BRCA2	8
I.3.2.2 Gène <i>P53</i>	8
I.3.2.3 Gène <i>PTEN</i>	8
I.3.3 Facteurs hormonaux	9
I.3.3.1 Hormones endogènes	9
I.3.3.2 Hormones exogènes	10
I.3.4 Adiposité, alcool et tabac, activité physique	11
I.4 CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE DES CANCERS DU SEIN	12
I.4.1 Types histologiques du cancer du sein	12
I.4.2 Classification TNM	12
I.4.3 Grade SBR	12

I.5 CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN	14
I.5.1 Sous types luminaux	15
I.5.1.1 Le sous-type luminal A	15
I.5.1.2 Le sous-type luminal B	16
I.5.2 Le sous- type basal like	17
I.5.3 Le sous-type dit « HER2+ »	17
I.6 IMPLICATION DE LA CLASSIFICATION MOLECULAIRE	18
I.6.1 Pertinence pronostique	18
I.6.2 Pertinence thérapeutique	18
I.7 ALTERATIONS GENOMIQUES DES CANCERS DU SEIN	18
I.7.1 Les altérations de nombre	19
I.7.2 Les altérations de structure	19
I.7.3 Altérations génomiques et sous types moléculaires	20
I.8 APPROCHES THERAPEUTIQUES	21
I.8.1 Chirurgie	21
I.8.2 Chimiothérapie	22
I.8.3 L'hormonothérapie	23
I.8.4 Radiothérapie	24
I.8.5 Immunothérapie	24
I.8.5.1 Exemples de cellules immunitaires pro-tumorigène	24
I.8.5.2 Les stratégies immunothérapeutiques	27
I.8.5.2.1 Les inhibiteurs de points de contrôle	27
I.8.5.2.2 Les vaccins	28
I.8.6 Thérapies ciblées	29
I.8.6.1 Le sous type luminal A	29
I.8.6.2 Le sous type luminal B	30
I.8.6.3 Le sous type HER2+	31
I.8.6.4 Le sous type BASAL LIKE (TN)	32
I.9 LES PROTEINES RAB 25	36
I.9.1 La Famille des protéines RAB	36

I.9.2 Régulation des protéines RAB	37
I.9.3 La protéine RAB25	38
I.9.3.1 Les interactions de la protéine RAB 25	39
I.9.3.2 Implication de RAB 25 dans la carcinogénèse	41
I.9.3.3 RAB 25 et les cancers du sein	42
I.9.3.4 Les thérapies ciblant les petites GTPases RAB dans les cancers	44
I.10 PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS	45
I.10.1 Problématique	45
I.10.2 Objectifs	45
CHAPITRE II : PRESENTATION DES TRAVAUX	47
CHAPITRE II.1. ARTICLE.	48
EPIDEMIOLOGICAL STUDY AND MOLECULAR BREAST CANCER SUBTYPES DISTRIBUTION AMONG WEST ALGERIAN PATIENTS	
II.1.1 MATERIELS ET METHODES	49
II.1.1.1 Patientes	49
II.1.1.2 Prélèvements et traitements	49
II.1.1.2.1 Fixation, inclusion en paraffine et coupe	49
II.1.1.2.2 Coloration à l'Hémalun-Eosine	49
II.1.1.3 Technique immunohistochimique (IHC)	50
II.1.1.3.1 Anticorps primaires	50
II.1.1.3.2 Protocole de la technique IHC sur tumeurs	50
II.1.1.3.3 Evaluation du statut immunohistochimique	51
II.1.1.4 Définition des sous types moléculaires	52
II.1.1.5 Analyses statistiques	52
II.1.2. RESULTATS	52
II.1.2.1 Caractéristiques histocliniques et moléculaires des tumeurs mammaires	52
II.1.2.2 Distribution des sous types moléculaires des cancers du sein et leur corrélation avec leurs caractéristiques histocliniques et moléculaires	57
II.1.3 DISCUSSION	63
II.1.3.1 Caractéristiques histocliniques et moléculaires des tumeurs mammaires	63
II.1.3.2 Distribution des sous types moléculaires des cancers du sein et leur corrélation avec leurs caractéristiques histocliniques et moléculaires	66

CHAPITRE II.2. ARTICLE EN PREPARATION	71
INCREASED EXPRESSION OF RAB25 CORRELATES WITH LUMINAL B BREAST CANCER MOLECULARS SUBTYPES AND COULD BE A POTENTIAL THERAPEUTIC TARGET	
II.1.1 MATERIELS ET METHODES	72
II.2.1.1 Patientes	72
II.2.1.2 Prélèvements et traitements	72
II.2.1.2.1 Fixation, inclusion en paraffine et coupe	72
II.2.1.2.2 Coloration à l'Hémalun-Eosine	72
II.2.1.3 Technique immunohistochimique (IHC)	73
II.2.1.3.1 Anticorps primaires	73
II.2.1.3.2 Protocole de la technique immunohistochimique	73
II.2.1.3.3 Evaluation du statut immunohistochimique	74
II.2.1.4 Définition des sous types moléculaires	75
II.2.1.5 Analyses statistiques	75
II .2.2 RESULTATS	75
II..2.2.1 Classification des cancers du sein en sous- types moléculaires	75
II.2.2.2 Corrélation de l'expression de RAB25 avec les paramètres histocliniques et moléculaires	76
II.2.2.3 Corrélation de l'expression de la protéine RAB 25 avec les sous types moléculaires des cancers du sein	78
II.2.3 DISCUSSION	81
CHAPITRE III : CONCLUSION ET PERSPECTIVES	84
CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	87

Introduction

Le cancer du sein est dans la plupart des pays, le cancer le plus fréquent chez la femme. Chaque année dans le monde, plus d'un million de nouveaux cas apparaissent, soit 30% des cas de cancer féminins dans les pays industrialisés et 14% dans les pays en voie de développement. C'est aussi la première cause de mortalité par cancer chez la femme avec 410 000 décès annuels (**Rochefort et al., 2008**). Plus de 9000 nouveaux cas de cancer du sein sont enregistrés chaque année en Algérie, il reste le motif principal des consultations en oncologie. La mortalité par cancer du sein est d'environ 3500 cas par an (**Abid et al., 2009**).

Cliniquement les cancers du sein sont très hétérogènes dans leurs présentations leur pronostics, leur réponses aux traitements et les classifications histologiques et cliniques actuelles ne permettent pas de prédire totalement leur évolution.

Bien que de nombreux gènes et protéines aient été étudiés dans ce cancer, actuellement seuls RE, RP et HER2 sont pris en compte pour le choix thérapeutique, (**Bekkouche et al., 2000 ; 2007**). Depuis quelques années, la classification et la compréhension de la carcinogenèse mammaire ont progressé grâce aux analyses des profils d'expression transcriptomique des carcinomes infiltrants du sein, (**Perou et al., 2000**). L'hétérogénéité clinique se voit renforcée par la mise en évidence d'une hétérogénéité histologique précisée à l'aide des outils moléculaires de haut débit, (**Sorlie et al., 2001 ; 2003**). L'analyse de ces résultats permet de regrouper les tumeurs en fonction de leur profil d'expression génique. L'étude de cette expression permet de proposer une nouvelle classification dite « moléculaire ou intrinsèque » et de classer les tumeurs mammaires en sous-types : luminal A, luminal B, ErbB2(HER2), basal-like et normal-like selon **Perou et Sorlie (2000)**

Par ailleurs, il existe une traduction morphologique du profil génomique de ces sous-types moléculaires en immunohistochimie avec l'utilisation de marqueurs biologiques précis. La technique immunohistochimique est plus accessible et permet donc la détermination du profil phénotypique de ces groupes moléculaires. La préoccupation majeure de cette classification moléculaire des cancers du sein est de déterminer le risque inhérent à chaque tumeur (paramètre pronostique) mais aussi quel sera le traitement le plus adapté à chaque patiente (paramètre prédictif). Parmi les patientes hormonopositives présentant un cancer du sein il existe une sous population résistante à l'hormonothérapie : les patientes de phénotype luminal B. De ce fait l'identification moléculaire d'oncogènes en vu d'en faire une cible

thérapeutique pour ce sous groupe est primordiale, nous nous sommes intéressés au cours de cette thèse à la protéine RAB 25

Dans cette thèse nous avons d'une part étudié les caractéristiques histocliniques et moléculaires d'une série de 829 tumeurs mammaires ainsi que leur distribution par sous groupes moléculaires et d'une autre part nous avons réalisé une étude immunohistochimique du profil d'expression de la protéine RAB25.

La première partie de notre mémoire est composée de rappels sur l'anatomie du sein normal, l'épidémiologie du cancer du sein dans le monde et en Algérie, la classification histologique et moléculaire de ce cancer, les altérations génomiques et moléculaires du cancer du sein ainsi que sa thérapeutique et enfin la présentation de la protéine RAB 25. La deuxième partie de ce manuscrit traite les résultats obtenus de nos travaux et leur discussion.

Une conclusion générale et les perspectives qui découlent de cette étude sont présentées à la fin de ce manuscrit.



Chapitre I : Revue Bibliographique

I.1 RAPPELS SUR L'ANATOMIE DE LA GLANDE MAMMAIRE NORMALE

I.2 EPIDEMIOLOGIE

I.3 FACTEURS DE RISQUES

I.4 CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE DES CANCERS DU SEIN

I.5 CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN

I.6 IMPLICATION DE LA CLASSIFICATION MOLECULAIRE

I.7 ALTERATIONS GENOMIQUES DES CANCERS DU SEIN

I.8 APPROCHES THERAPEUTIQUES

I.9 LES PROTEINES RAB 25

I.10 PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

I.1 RAPPELS SUR L'ANATOMIE DE LA GLANDE MAMMAIRE NORMALE

I.1.1. Structure histologique

La glande mammaire est une glande à sécrétion externe, elle comprend un système canalo-lobulaire bordé par une couche interne de cellules épithéliales luminales qui sont les cellules glandulaires et une couche externe de cellules myoépithéliales qui contribuent à la formation de la membrane basale (Rønnov-Jessen *et al.*, 1996).

La structure épithéliale est organisée en alvéoles, groupées en lobules, eux-mêmes rassemblés en lobe. Cette structure sécrétoire est drainée par un réseau de canalicules et de canaux lobulaires, lobaires et mammaires ces derniers débouchent au niveau du mamelon (Figure 1) (Thibault *et al.*, 2001).

Du tissu adipeux et du tissu conjonctif enveloppent et protègent les alvéoles, les canalicules et les canaux lactifères ; le tissu graisseux est nécessaire au développement de ces derniers pendant la mammogénèse. (Beaudrey *et al.*, 2006).

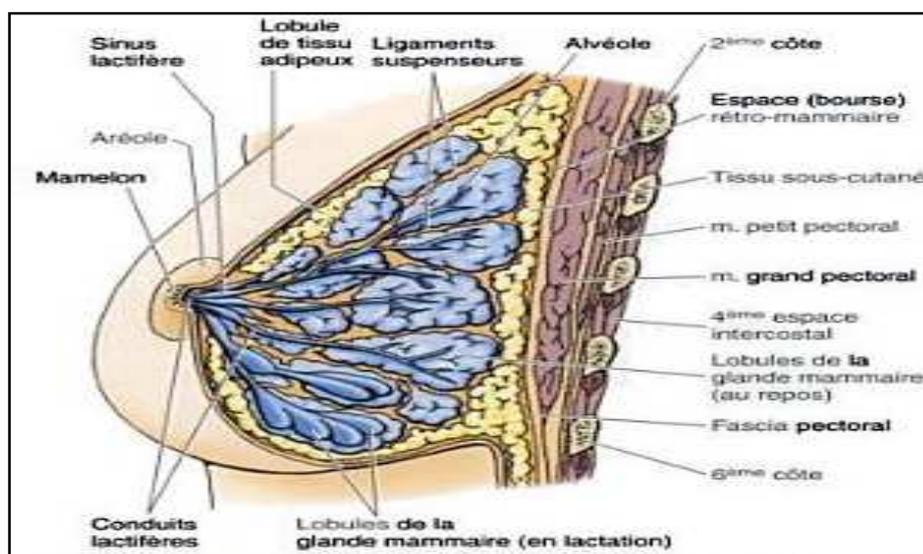


Figure 1. Coupe sagittale du sein (Moore *et al.*, 2001)

I.1.2. Systèmes sanguin et lymphatique de la glande mammaire

Le sein est un organe hautement vascularisé. Pendant la grossesse et l'allaitement la circulation sanguine s'accroît considérablement. Le sang artériel y amène les nutriments nécessaires, quant au veineux il assure l'évacuation des déchets du sein.

La lymphe contribue aussi à l'élimination des déchets. Au départ du mamelon, de l'aréole et des lobules glandulaires, la lymphe aboutit dans un plexus lymphatique subaréolaire (**Moore et al., 2001**).

I.1.3. Innervation de la glande mammaire

Le sein est innervé par les nerfs intercostaux (**Hassiotou et al., 2013**), c'est le quatrième nerf qui est responsable de la plus grande part des sensations, lorsque le bébé tète, il stimule le mamelon et l'aréole induisant la sécrétion des hormones de lactation par l'hypothalamus (**Moore et al., 2001**).

I.2 EPIDEMIOLOGIE

Le cancer du sein chez la femme est un véritable problème de santé mondiale, un sur dix nouveaux cancers diagnostiqués dans le monde est le cancer du sein chez la femme, il est aussi la première cause de mortalité chez la femme (**Ferlay et al., 2010**) avec l'estimation de 1.4 million de nouveaux cas et 458.000 décès en 2008 (**Jemal et al., 2010**), depuis ses dernières estimations, l'incidence a augmenté de plus de 20% et la mortalité de 14% (**Ferlay et al., 2013a**).

En Europe 463.800 nouveaux cas de cancer du sein ont été enregistrés avec un âge standardisé de 94.2/100.000 en 2012 et 131.200 de femmes décédées avec un âge standardisé de 23.1/100.000 durant la même année (**Ferlay et al., 2013b**).

Dans les pays arabe le cancer le plus fréquent chez la femme est celui du sein, il survient chez des femmes plus jeune que celles des pays de l'occident (**Najjar et al., 2010**), au nord de l'Afrique le cancer du sein représente 25% à 35% de tous les cancers avec une incidence comprise entre 16/100.000 habitants à Benghazi (Libye) (2003-2005) et 39/100.000 à Rabat (Maroc) en 2005 alors qu'à Sfax (Tunisie) l'incidence était de 25.2/100.000 habitants (2000-2002). L'incidence du cancer du sein dans le nord de l'Afrique demeure plus basse que celle de la France (**Corbex et al., 2014**).

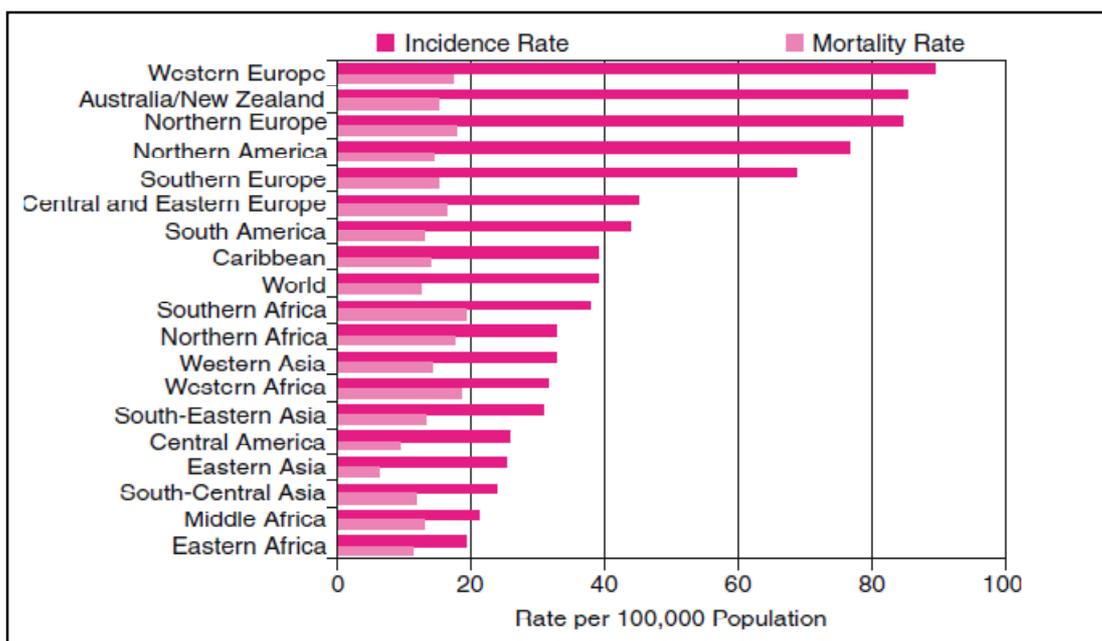


Figure 2. Taux d'incidence et de mortalité standardisé du cancer du sein selon l'âge dans le monde (Ferlay *et al.*, 2010)

La mise en place des registres régionaux en Algérie a permis d'obtenir une estimation de l'incidence globale du cancer dans le pays proche de la réalité. Son augmentation régulière durant les dernières décennies est réelle, passant en 20 ans d'une incidence globale de 100 pour 105 habitants à 120 pour 105 habitants (Abid *et al.*, 2009).

Les trois cancers les plus communs en Algérie (femmes, tout âge) sont ceux du : sein, col utérin et colon/rectum, dans l'ordre décroissant de l'incidence. Le cancer du sein est de ce fait le leader des causes de mortalité chez les femmes algériennes (Cherbal *et al.*, 2010) avec une incidence de 20.5/100.000 habitants à Sétif entre 2003-2007 et de 35.2/100.000 habitants à Annaba entre 2007 et 2009 (Corbex *et al.*, 2014).

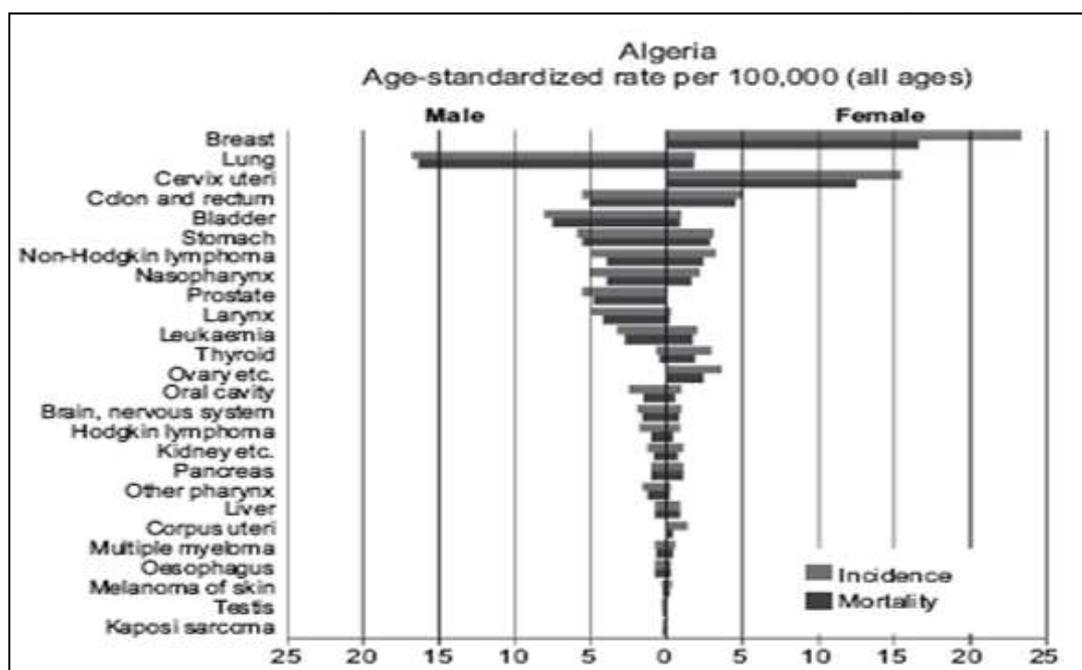


Figure 3. Taux d'incidence et de mortalité par cancer en Algérie (Abid *et al.*, 2009)

I.3 FACTEURS DE RISQUES

L'étiologie de la majorité des cancers du sein demeure inconnue, cependant de nombreux facteurs peuvent être impliqués lors de l'initiation de cette pathologie.

I.3.1 L'âge

Le cancer du sein est plus fréquent chez les personnes âgées. L'incidence de ce cancer augmente avec l'âge et 99% des tumeurs mammaires se développent chez des femmes (CGHF, 1997), ainsi, l'incidence du cancer du sein pour les femmes en Europe et en Amérique du Nord est d'environ 2,7 % à 55 ans, de 5 % à 65 ans et de 7,7 % à 75 ans (Key *et al.*, 2001).

I.3.2 Héritéité et facteurs génétique

L'histoire familiale de ce cancer est reconnue comme l'un des principaux facteurs de risque et son utilisation en clinique facilite grandement l'identification des personnes à risque

accru qui peuvent vraisemblablement bénéficier le plus des stratégies de prévention et de diagnostic précoce (**Guttmacher et al., 2004**).

Seuls 5 à 10% des cas de cancers sont liés à des anomalies génétiques héréditaires. La probabilité qu'une femme de 30 ans, ayant une mère ou une sœur atteinte d'un cancer du sein, développe cette pathologie avant l'âge de 70 ans est comprise entre 7% et 18% (**Sakorafas et al., 2002**). Plusieurs gènes impliqués dans la carcinogenèse mammaire héréditaire ont été identifiés (**Dumitrescu et al., 2005**).

1.3.2.1 Gènes BRCA1 et BRCA2

Parmi les modifications génétiques principales, les altérations des gènes *BRCA1* localisé sur le chromosome 17 et *BRCA2* localisé sur le chromosome 13 (**Wu et al., 2008**), sont responsables de 65% des formes familiales du cancer du sein. De telles prédispositions n'entraînent pas systématiquement la survenue d'un cancer mais elles en augmentent le risque. Ainsi une femme porteuse des gènes *BRCA* au cours de sa vie a un risque de cancer du sein de huit à dix fois supérieur à celui de la population générale (**Bochar et al., 2000**).

1.3.2.2 Gène P53

Le gène *p53* est situé en position 13.1 sur le bras court du chromosome 17. La protéine *p53* est une phosphoprotéine de 393 acides aminés de poids moléculaire 53 kDa. On la trouve en très petite quantité dans les cellules normales, mais en grande abondance dans les cellules transformées en culture ou dans les tumeurs humaine (**Soussi et al., 2000**). La mutation du gène *P53* va augmenter le risque de carcinome mammaire dans un contexte de syndrome de Li-Fraumeni. Ce syndrome se transmet de façon autosomique dominante et se caractérise principalement par la survenue de sarcomes, de carcinomes mammaires, de tumeurs cérébrales et de la surrenale (**Lakhani et al., 2012**).

1.3.2.3 Gène PTEN

Le gène *PTEN* est situé en bras long 23 du chromosome 10, fréquemment muté ou inactivé dans une grande proportion des cancers et spécialement dans les cancers du sein à plus de 30% entraînant une hyper activation de la voie de signalisation PI3K / Akt

(deGraffenried *et al.*, 2004), rendant les cancers du sein de mauvais pronostic et résistants à la chimiothérapie et à l'hormonothérapie (Garcia *et al.*, 1999, Campbell *et al.*, 2001).

I.3.3 Facteurs hormonaux

Certaines hormones stéroïdes sexuelles sont impliquées dans le développement de la glande mammaire, mais sont parfois aussi considérées comme facteur de risque du cancer du sein. On distingue les hormones endogènes (œstrogènes, progestérone, prolactine et IGF1) et les hormones exogènes pouvant être apportées par les contraceptifs oraux, les traitements hormonaux substitutifs ou encore les xénoœstrogènes.

I.3.3.1 Hormones endogènes

Plusieurs études montrent qu'il existe une relation entre les hormones et le risque de développer un cancer du sein chez la femme ménopausée. Ces études indiquent que les femmes, qui possèdent un taux sanguin très élevé en estradiol, ont deux fois plus de risque de développer un cancer du sein par rapport aux femmes qui présentent une faible concentration en cette hormone (Key *et al.*, 2001), ainsi l'incidence de ces carcinomes est de 8% par an avant la ménopause et en est de 2% par an après la ménopause où le taux d'hormones est plus faible car la production ovarienne d'oestrogènes et de progestérone va cesser et la production d'androgènes va diminuer (Colditz *et al.*, 2000).

Chez les femmes ménopausées, la production d'hormones stéroïdes périphériques persiste (par exemple par le tissu adipeux ou la surrénale) qui se traduit par des taux d'hormones plus ou moins important chez ces femmes. C'est ainsi qu'il a été constaté qu'après la ménopause plus la concentration sanguine des oestrogènes et des androgènes est importante plus le risque de développer des carcinomes mammaires augmente. Cette augmentation du risque est encore plus importante en ce qui concerne le développement des tumeurs positives pour le récepteur aux oestrogènes α (ER α) (Missmer *et al.*, 2004).

En ce qui concerne les femmes pré-ménopausées, le groupe « **Endogenous Hormones and Breast Cancer Collaborative Group., 2013** » a étudié l'association entre le risque de carcinome mammaire et les concentrations sanguines des hormones stéroïdes sexuelles ; il a été montré que le risque de carcinome mammaire était associé aux concentrations

d'hormones circulantes pour l'oestradiol, l'oestrone, l'androstenedione, la dehydroépiandrosterone sulphate et la testostérone alors que le risque de cancer mammaire n'était pas associé à la concentration circulante de progestérone.

Par ailleurs, dans d'autres études il a été montré que des concentrations élevées de prolactine sont aussi associées à un risque augmenté de carcinome mammaire chez la femme pré et post-ménopausée (**Tworoger et al., 2008 ; Su et al., 2009**). Enfin, les concentrations d'IGF-1 sont également associées au risque de carcinome mammaire chez la femme pré-ménopausée mais pas les femmes post-ménopausées (**Rehnan et al., 2006**).

I.3.3.2 Hormones exogènes

➤ Contraceptifs oraux, Les traitements de substitution

La contraception orale et les traitements hormonaux substitutifs chez les femmes ménopausées sont les deux sources d'hormones exogènes les plus étudiées.

Pendant longtemps les contraceptifs ont été soupçonnés d'augmenter le risque de carcinome mammaire. En 1996, le « **Collaborative group on Hormonal Factors in Breast Cancer** » a réalisé une étude sur 53 000 cas montrant qu'il n'y avait presque aucune augmentation du risque de cancer du sein chez les femmes ayant pris des contraceptifs, même pendant plus de dix ans. Par contre, il y avait une augmentation modérée du risque chez les femmes qui étaient en cours d'utilisation de contraceptifs oraux ou qui les avaient arrêtés depuis moins de 10 ans, en conclusion de ces études, l'International Agency for Research on Cancer (IARC), a classé les contraceptifs oraux comme des carcinogènes de type I, ces résultats ont été confirmés plus tard par (**Marchbanks et al., 2002**). Dans une étude récente, il a été trouvé que les femmes porteuses d'une mutation BRCA1 et utilisatrices de contraceptifs oraux n'ont pas un risque élevé significatif de développer un cancer du sein (**Iodice et al., 2010**).

Le traitement hormonal substitutif (THS) de la ménopause est prescrit pour pallier à la diminution du niveau des hormones ovariennes circulantes. Il a été démontré que les utilisatrices de THS, le risque de cancer du sein augmente avec la durée d'utilisation et s'arrêtait après l'arrêt du traitement et disparaissait au bout de 5 ans d'arrêt (**Collaborative group on hormonal factors in breast cancer, 1997 ; Beral et al., 2003**).

➤ **Les xénooestrogènes**

Les xénooestrogènes ou oestrogène-mimétiques sont des substances chimiques, d'origine naturelle ou synthétique, capables de se lier aux récepteurs des oestrogènes (ER) et d'induire ou moduler une réponse relayée par ces récepteurs. Les lignées de tumeurs mammaires MCF-7 et T47D, sensibles à l'oestradiol, se multiplient d'avantage en présence de ces molécules (**Soto *et al.*, 1995; Lascombe *et al.*, 2000**). Ces résultats suggèrent que ces molécules peuvent avoir un impact non négligeable sur l'incidence des cancers mammaires hormono-dépendants.

I.3.4 Adiposité, alcool et tabac, activité physique

L'obésité n'entraîne pas un risque accru de cancer du sein chez les femmes jeunes. En revanche, après la ménopause, ce risque est multiplié par deux chez les femmes obèses en raison de la production d'oestrogènes par le tissu adipeux. En effet un régime alimentaire riche en graisses favoriserait le développement d'une flore bactérienne colique capable de transformer ces corps gras en agents cancérigènes potentiels. Le surpoids et l'obésité ont été incriminés dans 10% des cas de carcinomes mammaires chez la femme ménopausée aux Etats Unis (**IARC, 2002 ; Lakhani *et al.*, 2012**).

Pour l'alcool, selon le « **Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer, 2002** », le Risque Relatif de carcinome mammaire augmente de 7,1% pour chaque 10g d'alcool ingéré par jour, ce qui implique que 4% de ces carcinomes sont, dans les pays développés, attribuables à l'alcool.

En ce qui concerne le tabagisme actif et passif il a été établi par une étude canadienne (**Johnson *et al.*, 2009**) qu'il était responsable d'une augmentation du risque de carcinomes mammaires chez les femmes pré et post ménopausées. Enfin, un niveau d'activités physiques élevées est corrélé avec une réduction du risque de cancer du sein (**IARC, 2002**), il est donc recommandé d'exercer une activité physique soutenue tout au long de la vie (**Maruti *et al.*, 2008**).

I.4 CLASSIFICATION HISTOLOGIQUE DES CANCERS DU SEIN

I.4.1 Types histologiques du cancer du sein

La classification actuellement utilisée est celle de l'OMS 2003 (**Tableau 1**), les tumeurs épithéliales malignes ou carcinomes représentent la majeure totalité des tumeurs malignes du sein. Les cancers du sein de type canalaire sont les plus fréquemment rencontrés (70 à 80% des cas) (**Bocker et al., 2002**).

I.4.2 Classification TNM

Le système de classification TNM (**Tableau 2**) est basé sur les caractéristiques de la tumeur primaire à savoir la taille tumorale (T), ganglions lymphatiques régionaux (N) et la présence des métastases (M). La principale fonction de cette classification TNM est d'évaluer le pronostic et ainsi déterminer un traitement adjuvant (**Singletary et al., 2006**).

I.4.3 Grade SBR

Au niveau anatomopathologique il faut prendre en considération le grade histopronostique SBR (Scarff-Bloom-Richardson) pour sa capacité d'évaluer le pléomorphisme nucléaire, l'index mitotique, formation ou différenciation des tubules (**Bloom et al., 1957 ; Le Doussal et al., 1989**), à chaque élément un score de 1 à 3 lui est attribué, le grade SBR résulte de l'addition de ses trois scores. Tumeurs avec scores 3, 4 ou 5 sont considérées comme bas grade ou grade I, celles avec scores 6 ou 7 sont de grades intermédiaire ou grade II et les tumeurs à score 8 ou 9 sont de haut grade ou grade III (**Bloom et al., 1957**).

Tableau 1 : Classification des tumeurs mammaires selon l'OMS 2003

Tumeurs épithéliales malignes
Carcinome non infiltrant (in situ) Carcinome intra-canaux sans autre indication Carcinome lobulaire in situ Carcinomes infiltrants Carcinome canalaire infiltrant sans forme commune Carcinome canalaire infiltrant avec composante intracanaux prédominante Carcinome lobulaire infiltrant Carcinome mucineux Carcinome médullaire Carcinome papillaire Carcinome tubuleux Carcinome adénoïde kystique Carcinome sécrétant Carcinome apocrine Carcinome métaplasique Carcinome riche en glycogène Carcinome à cellules en bague à chatons Carcinome à cellules riches en lipides Carcinome à différenciation neuro-endocrine Maladie de Paget du mamelon
Tumeurs malignes mixtes épithéliales et conjonctives
Sarcome phylloïde Carcinosarcome
Autres tumeurs malignes
Mélanome, Angiosarcome Autres sarcomes (sans autre indication) lymphomes
Métastases intra mammaires

Tableau 2 : Classification TNM de l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC).

T	Tumeur primitive
TX	Détermination de la tumeur primitive impossible
T0	Pas de signe de la tumeur primitive
Tis	Carcinome in situ
T1	Tumeur ≤ 2cm dans sa plus grande dimension
T1a	T1a ≥ 0,5 cm
T1b	T1b >0,5 cm et ≥ 1 cm
T1c	T1c >1 cm et ≥ 2 cm
T2	Tumeur >2 cm et ≤ 5 cm dans sa plus grande dimension
T3	Tumeur >5 cm dans sa plus grande taille
T4	Tumeur de toute taille avec extension directe à la paroi thoracique ou à la peau
T4a	T4a extension à la paroi thoracique
T4b	T4b œdème ou ulcération cutanée du sein
T4c	T4c à la fois 4a et 4b
T4d	T4d carcinome inflammatoire
N	Adénopathies régionales
NX	Appréciation impossible de l'atteinte ganglionnaire
N0	Absence de signes d'envahissement ganglionnaire régional
N1	Ganglions axillaires cliniquement suspects homolatéraux mobiles
N2N3	Ganglions axillaires homolatéraux fixés entre eux ou à d'autres structures
M	Métastases à distance
MX	Détermination impossible de l'extension métastatique
M0	Absence de métastases à distance
M1	Présence de métastases à distance

I.5 CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES CANCERS DU SEIN

La classification anatomoclinique utilisée pour optimiser la thérapeutique des cancers du sein est prise en défaut dans un certain nombre de cas du fait de l'hétérogénéité de ce cancer, ce qui est source de sur traitements ou de traitements inappropriés.

L'étude des altérations génomiques des cancers du sein a permis de mieux classer les tumeurs et de les séparer en « sous types intrinsèques » ou en « sous types moléculaire » dans le but d'une personnalisation thérapeutique. En **2000**, **Perou et son équipe** avaient identifiés quatre groupes de tumeurs ayant différentes caractéristiques moléculaires : RE+/ luminal-like, basal-like, HER2+ et normal like, ce dernier type fut ensuite écarté car il correspondait à un

biais de sélection de certaines tumeurs contaminées par du tissu mammaire non cancéreux (**Hu et al., 2006**); plus tard le groupe Luminal épithélial/ œstrogène positif a été divisé en deux sous groupes : Luminal A et Luminal B ; chacun de ces deux sous groupes a son propre profil moléculaire (**Sorlie et al., 2001**) (**Figure 4**) .

Les sous types basal like et HER2+ sont des cancers de haut grade, à index de prolifération élevé et représentent les cancers de plus mauvais pronostic. Ils sont plus sensibles aux chimiothérapies et aux traitements néoadjuvants que les cancers de type luminal (**Carey et al., 2007 ; Rouzier et al., 2005**). Plus récemment, un nouveau sous type moléculaire du cancer du sein « Claudin -low » a été identifié dans des tumeurs humaines et celles des souris (**Herschkowitz et al., 2007**) ainsi que dans des cellules souches du cancer du sein (**Prat et al., 2010**).

I.5.1 Sous types luminaux

Il est connu que toutes les tumeurs RE+ ne répondent pas à l'hormonothérapie mais on ne savait pas très bien lesquelles sauf à considérer le taux des RP qui est un facteur discriminant (**Lamy et al., 2002**). Les deux types luminaux A et B répondent à la question de l'hormonosensibilité : les tumeurs lumineales A sont des tumeurs de bon pronostic, hormonosensibles pures et les tumeurs lumineales B sont des tumeurs de mauvais pronostic chez qui le traitement anti-hormonal est insuffisant et qui pourrait relever de la chimiothérapie.

I.5.1.1 Le type luminal A

Représente 56 à 61% des cas, il est de bon pronostic, il exprime le plus fortement les RE et présente une forte expression du facteur nucléaire d'hypatocyte 3, de LIV-1 et des cytokératines lumineales 7, 8, 18, 19 ainsi que des mutations de gènes en plus grande proportion le PIK3CA (45%) suivi par MAP3K1, GATA3, TP53, CDH1, X-box binding protein 1 (XBP1) et MAP2K4 (**Garcia closas et al., 2007**).

I.5.1.2 Le type luminal B

Représente 9 à 16% des cas, il est de mauvais pronostic par rapport au type luminal A, il présente une expression faible ou modérée des gènes spécifiques du type luminal, mais d'avantage de mutations de la protéine p53 et PIK3CA (29% chacun) que le type A, il présente également une expression élevée des gènes liés à la prolifération tel que : avian myeloblastosis viral oncogene homolog (v-MYB), gamma glutamyl hydrolase (GGH), lysosome-associated transmembrane protein 4-beta (LAPTMB4), nuclease sensitive element binding protein 1 (NSEP1) et cycline E1 (CCNE1). Le type luminal B se caractérise aussi par l'expression, dans certains cas, de HER2 et de marqueurs de prolifération (Livasy *et al.*, 2006 ; Yersal *et al.*, 2014).

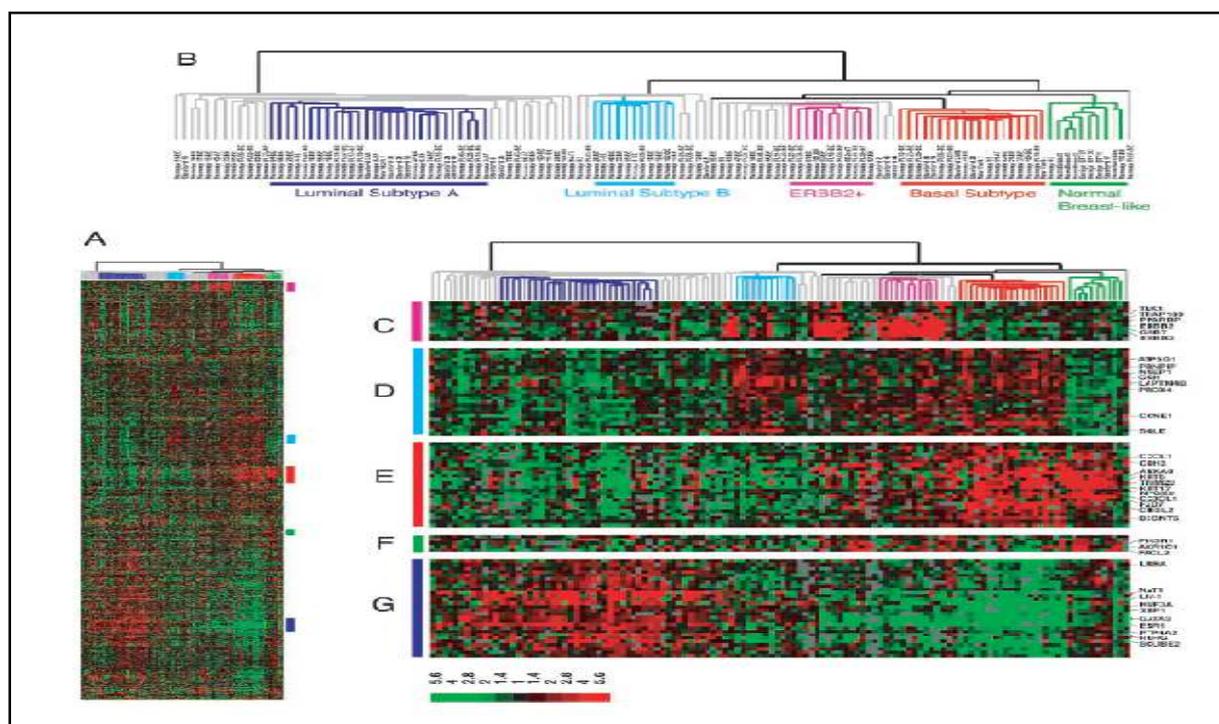


Figure 4. Regroupement hiérarchique de 115 tumeurs et de 7 tissus mammaires non cancérogène (Sørlie *et al.*, 2003)

(A). représentation réduite de l'ensemble des 534 gènes et 122 échantillons de tissus se basant sur des similarités dans l'expression des gènes. (B). le regroupement des tumeurs en cinq sous-groupes. (C) groupe de gènes montrant l'oncogène ErbB2 et d'autres gènes co-exprimés. (D) gènes associés au sous type luminal B. (E) groupe de gènes associés au sous-type basal. (F) Un groupe de gènes pertinents pour le groupe du sein de type normal. (G) Groupe de gènes, y compris le récepteur des oestrogènes (ESR1) fortement exprimé dans des tumeurs de sous-type luminal A. La barre d'échelle représente le changement pour tout gène donné par rapport au niveau médian de l'expression dans tous les échantillons.

I.5.2 Sous type basal like

Le type basal-like a la particularité de survenir chez des femmes jeunes et chez des femmes pré ménopausées d'origine africaine et américano africaine (**Carey et al., 2006**), il est associé aux cancers dit « triples négatifs » regroupe les tumeurs RE-, RP- et HER2-. Quatre-vingt-quinze pour cent des tumeurs basal-like sont RE négatives, 82 % d'entre elles présentent une mutation de p53 et incluent les tumeurs BRCA1 mutées. Elles surexpriment les cytokératines basales 5/6, 14, 17, la vimentine, l'EGFr et cKit (**Livasy et al., 2006**). Ces tumeurs sont caractérisées par une perte de PTEN et une activation de la voie de signalisation PI3K/AKT (**Andre et al., 2009**).

La CGH array a montré que le sous type basal est caractérisé par une instabilité du génome due à de fréquentes altérations des gènes de type gain-perte et par de moins fréquentes altérations de type amplifications-délétions (**Adélaïde et al., 2007 ; Korsching et al., 2002**) ainsi qu'à de fréquentes inactivations de la voie de signalisation RB (**Herschowitz et al., 2008**).

I.5.3 Sous type dit « HER2+ »

Appartenant à la famille des récepteurs de facteurs de croissance épidermique (ERB), le HER2 « Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 » est impliqué dans les voies de signalisation intracellulaire contrôlant notamment la prolifération cellulaire. Le gène codant pour la protéine HER2 est amplifié dans 18 à 20% des cancers du sein non métastatique (**Slamon et al., 1987, Ravdin et al., 1995**).

Le type HER2+ correspond au type possédant une amplification du HER2 (80%), des mutations au niveau du gène TP53 (72%) et de PIK3CA (39%) sont également observées. La surexpression de HER2 est le facteur prédictif concernant le bénéfice clinique pouvant être apporté par l'administration d'un anticorps monoclonal anti-HER2 (trastuzumab) (**Slamon et al., 2001**).

I.6 IMPLICATION DE LA CLASSIFICATION MOLECULAIRE

I.6.1 Pertinence pronostique

Le cancer du sein est une maladie hétérogène avec des sous-groupes moléculaires cliniquement pertinents ayant un impact pronostique propre surtout lorsqu'il s'agit des cancers du sein hormonopositifs de sous types luminaux A et B, c'est pourquoi la recherche d'altérations génétiques d'intérêt pronostique a été établis en utilisant des techniques d'analyse moléculaire à grande échelle telle que la CGH array .

I.6.2 Pertinence thérapeutique

Lors de cancer du sein infiltrant, l'indication de chimiothérapie adjuvante et de l'hormonothérapie est portée sur l'analyse des facteurs cliniques et histopronostiques « traditionnels », parallèlement, les profils d'expression de gènes ont permis de définir des tumeurs de pronostic différent, ouvrant la voie à des stratégies thérapeutiques adaptées au profil tumoral (**Boisserie-Lacroix et al., 2014**). La classification moléculaire n'a pas permis à ce jour d'avancer des traitements cibles pour les tumeurs lumineales B et triples négatives. La distinction entre les tumeurs hormonopositives lumineales A et lumineales B permet de suggérer que les tumeurs lumineales B qui répondent mal a l'hormonothérapie doivent bénéficier d'une autre thérapie spécifique qui les cible tel que ça a été fait pour les tumeurs de sous type HER2+.

La classification moléculaire des cancers du sein devrait être associée à l'identification des altérations génomiques propre à chaque sous type moléculaire afin d'identifier des marqueurs spécifiques qui pourraient être considérés comme des cibles thérapeutiques potentielles.

I.7 ALTERATIONS GENOMIQUES DES CANCERS DU SEIN

Les cancers se développent suite à des modifications du génome qui se manifestent par des altérations de structure, des altérations de nombre (**Lengauer et al., 1998**), l'activation d'oncogènes (exemple par amplification génique) et des inactivations de gènes suppresseurs

de tumeurs (**Sadikovic et al., 2008**), ces altérations génomiques s'avèrent être les principales causes de l'hétérogénéité du cancer du sein et donc de sa complexité.

I.7.1 Les altérations de nombre

Implique des pertes ou des gains de chromosomes, ces anomalies résultent d'une mauvaise ségrégation des chromosomes au cours de la division cellulaire mitotique causant la ploïdie cellulaire, l'aneuploïdie et la polyploïdie (**Lengauer et al., 1998**), spécialement, l'aneuploïdie est associée à un mauvais pronostic dans le cancer du sein (**Bottger et al., 1993**).

I.7.2 Les altérations de structure

Ces altérations impliquent : les translocations, les amplifications et les délétions.

➤ **Les translocations** sont des échanges réciproques de matériel chromosomique entre deux régions du chromosome ou entre chromosomes non réciproques (**Albertson et al., 2003**), dans le cancer du sein on assiste souvent à des translocations autour de 8p12 conduisant à la perte de la partie 8p (**Hoglund et al., 2001; Teixeira et al., 2002; Mitelman et al., 2003**), une autre translocation a été observée par **Adélaïde et al (2003)** décrivant les sites *FRA3B* et *FHIT* comme des cibles de translocations réciproques t(3;20)(p14;p11) dans les lignées cellulaires tumorales du sein BrCa-MZ-02.

➤ **Les amplifications** sont des formes d'instabilité du génome qui se traduisent par une augmentation du nombre de copies d'une région restreinte d'un bras chromosomique (**Albertson et al., 2006**). Dans le cancer du sein les amplifications sont très répandues et sont associées à la surexpression de gènes amplifiés.

Trois proto-oncogènes sont amplifiés dans plus de 15 % des tumeurs mammaires : le **Proto-oncogène MYC** localisé en 8q24, il code pour un facteur de transcription impliqué dans la croissance et la différenciation cellulaire et dans l'apoptose (**Kim et al., 2005**), les **Proto-oncogènes Erb-B** qui interviennent dans l'oncogenèse mammaire, seulement seul le gène Erb-B2 est significativement amplifié dans les tumeurs du sein (**Lacave et al., 2005**) et le **proto oncogène CCND1** qui code pour la cycline D1, la surexpression de ce gène a été

identifiée dans des adénocarcinomes mammaires des souris transgéniques (**Reis-Filho et al., 2006**).

Il a également été démontré que l'activation des voies FGF, PI3K/AKT, PIK3/MTOR est dû à des amplifications d'autres oncogènes tels que : *RPS6KB1*, *RPS6KB2*, *EIF4EBP1*, *FGFR1*, *FRS2* et *RAB11FIP1* l'effecteur de *RAB25*, ainsi qu'à une grande fréquence de mutations du *PIK3CA* (**Lacave et al., 2005 ; Zhang et al., 2009 ; Addou-Klouche et al., 2010 ; Ignatiadis et al., 2013 ; Corner et al., 2014**).

➤ **Les délétions** correspondent à la perte d'une région chromosomique qui peut être le siège d'un ou de plusieurs gènes suppresseurs de tumeur. Les délétions peuvent être à l'origine de l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs tel que *BRCA1* et *TP53* ce dernier impliqué dans environ 25 à 30 % des cas de cancers du sein (**Prives et al., 1999**).

I.7.3 Altérations génomiques et sous types moléculaires

Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène caractérisée par l'accumulation de multiples altérations moléculaires qui confèrent à chaque sous type un profil moléculaire différent. Des études (**Bergamaschi et al., 2006 ; Chin et al., 2006 ; Adélaïde et al., 2007**) ont rapportés les différentes altérations génomiques associées aux sous types moléculaires.

Pour les tumeurs hormonopositives, le sous type luminal A est caractérisé par un gain des régions 1q12-41 et 16p12-13, une perte du bras 16q et une amplification des régions 8p11-12, 11q13-14, 12q13-14, 17q11-12, 17q21-24 et 20q13, alors que le sous type luminal B est caractérisé par des amplifications des régions 8p12, 8q11-24, 11q13 et 20q13 ainsi qu'une perte de la région 8p21-23.

Dans les tumeurs de sous type basal ce sont des délétions qui sont retrouvées dans les régions 4p15, 4q31-35, 5q11-31, 14q32, et des gains dans les régions 6p21-25, 7q21-36, 10p12-15, 12p13. Les tumeurs HER2+ expriment pour la plupart des amplifications au niveau de la région 17q12-25 (**Letessier et al., 2006**).

L'identification de ces altérations génomiques pour chaque sous type moléculaire permet l'exploration de nouveaux marqueurs afin de mettre en place des traitements adaptés pour chaque sous type moléculaire notamment pour les sous types qui n'en ont pas tel que le sous type luminal B et le sous type basal.

I.8 APPROCHES THERAPEUTIQUES

La démarche thérapeutique doit tenir compte à la fois de la nécessité d'un traitement local et d'un traitement général. Les protocoles utilisés dans le traitement du cancer du sein varient selon le degré d'évolution de la tumeur (métastases ou non), de l'expression des récepteurs hormonaux sur les membranes des cellules cancéreuses, mais aussi de l'âge de la patiente et de son état général.

I.8.1 Chirurgie

Le traitement chirurgical du cancer du sein assure un rôle essentiel dans le contrôle mammaire de la maladie.

➤ Mastectomie

Les mastectomies totales s'opposent aux traitements conservateurs par le caractère quasi complet et radical de l'exérèse glandulaire. La principale indication de réalisation d'une mastectomie est la taille de la tumeur par rapport au volume mammaire (**Clough *et al.*, 2003**).

➤ Tumorectomie

Les premières études sur le traitement conservateur dans le cancer du sein avec des taux de survie globale encourageant datent des années 40-50. Atkins en 1972, était le premier à présenter une étude prospective randomisée comparant traitement conservateur et radiothérapie avec mastectomie (**Fitzal *et al.*, 2006**). Bien que longtemps controversé pour son risque de récurrence locale sans affecter la survie globale, le traitement conservateur en marges saines associé à une radiothérapie adjuvante est maintenant considéré comme aussi sûr que le traitement chirurgical radical (**Fisher *et al.*, 2002**).

➤ **Le curage axillaire**

Le curage axillaire fonctionnel est une intervention chirurgicale qui consiste à prélever les ganglions de la chaîne ganglionnaire axillaire. En cas de traitement conservateur, l'artère et la veine mammaires externes peuvent également être disséquées (**Garnier *et al.*, 1993**). Le curage se termine par la recherche de ganglions suspects résiduels.

La recherche du ganglion sentinelle a été développée pour éviter un curage inutile sur le plan thérapeutique à des patientes ne présentant aucun envahissement axillaire, tout en ne méconnaissant pas leur statut ganglionnaire. En 1994, Giuliano et al l'ont appliqué à la prise en charge du cancer du sein (**Giuliano *et al.*, 1994**).

I.8.2 Chimiothérapie

L'analyse post opératoire de la tumeur et éventuellement celle des ganglions axillaires guide le praticien dans le choix des traitements ultérieurs locorégionaux (radiothérapie) et généraux (chimiothérapie et hormonothérapie). La chimiothérapie est un traitement qualifié de systémique parce qu'elle concerne l'ensemble du corps, et non un organe particulier. Elle vise la destruction de toute cellule cancéreuse, quelle que soit sa localisation dans l'organisme, qu'elle ait été repérée ou non par un examen.

➤ **Chimiothérapie néoadjuvante.**

La chimiothérapie néoadjuvante ou préopératoire consiste à administrer un traitement cytotoxique avant la prise en charge locorégionale de la tumeur. Les indications principales de chimiothérapie néoadjuvante concernent des tumeurs du sein non métastatiques, supérieures à 3 cm, ou plus petites mais de position centrale, de stade II, III et IV de la classification TNM et pour lesquelles une chirurgie conservatrice d'emblée n'est pas envisageable (**Frénel *et al.*, 2010**).

➤ **Chimiothérapie adjuvante**

Une chimiothérapie adjuvante est classiquement recommandée après le traitement chirurgical quand il existe au moins l'un des facteurs péjoratifs suivants : une atteinte métastatique ganglionnaire axillaire, une taille tumorale supérieure ou égale à 2 cm, un grade

histologique élevé (SBR II ou III), l'absence d'expression des récepteurs hormonaux, un âge au diagnostic de moins de 35 ans (Namer *et al.*, 2005).

I.8.3 L'hormonothérapie

Certains cancers du sein sont hormono-dépendants: leur croissance est facilitée par les hormones et en particulier les œstrogènes et les androgènes qui agissent comme des facteurs de croissance impliqués dans la prolifération tumorale. Le but des traitements hormonaux sera d'empêcher l'action ou la production de ces hormones.

L'hormonothérapie est proposée en première ligne de traitement lorsque la patiente présente des RH positifs sur la biopsie et que la maladie métastatique évolue lentement. Elle reste un traitement mieux toléré et qui a moins d'effets secondaires que la chimiothérapie (Mauri *et al.*, 2006).

➤ **Les anti œstrogène**

La molécule la plus largement utilisée à l'heure actuelle est le tamoxifène⁵, première molécule à agir principalement par inhibition de la liaison de l'estradiol avec ses récepteurs au niveau du sein. Le torémifène ⁶ a été récemment commercialisé en France (septembre 2000) pour le traitement de première intention du cancer du sein hormonosensible. Enfin, L'ICI 182,780 (Faslodex[®]) ⁷ est présenté comme le chef de file d'une nouvelle classe thérapeutique, son affinité pour les récepteurs aux estrogènes est 100 fois supérieure à celle du tamoxifène d'après des études précliniques (Lucchi-Angellier *et al.*, 2001).

➤ **Les inhibiteurs de l'aromatase**

Depuis des dizaines d'années, de nombreux inhibiteurs de l'aromatase sont synthétisés et étudiés pour améliorer le traitement des patientes atteintes de cancer du sein et d'autres pathologies estrogéno-dépendantes. L'ensemble de ces inhibiteurs de l'aromatase peut être divisé en deux grandes catégories : les inhibiteurs stéroïdiens (**type I**) et les inhibiteurs non stéroïdiens (**type II**) (Miller *et al.*, 2004) .

➤ **Les progestatifs**

Ils sont représentés essentiellement par l'acétate de médroxyprogestérone (Farlutal[®], Prodason[®]) et l'acétate de mégestrol (Megace[®]). Le taux de réponse objectif varie entre 30 et 50 %.

I.8.4 Radiothérapie

La radiothérapie occupe une place importante dans le traitement des cancers du sein, quel que soit le stade d'évolution de la tumeur et quel que soit le protocole thérapeutique, car elle limite le risque de récurrence locale et réduit la mortalité à long terme (**Fourquet et al., 2008**).

I.8.5 Immunothérapie

L'immunothérapie du cancer est classée comme étant soit une stimulation spécifique du système immunitaire par immunisation active, avec des vaccins contre le cancer, ou le transfert passif des matériaux humorales ou cellulaires, tels que des anticorps spécifiques de la tumeur ou des lymphocytes T adoptives qui inhibent la fonction ou tuent les cellules tumorales (**Ruttinger et al., 2010**).

I.8.5.1 Exemples de cellules immunitaires pro-tumorigène

➤ **Les macrophages**

Les macrophages sont des cellules phagocytaires qui se différencient dans les tissus à partir des monocytes. Elles sont capables d'ingérer un pathogène, de le dégrader complètement et de présenter les antigènes associés au complexe majeur d'histocompatibilité (CMH) de type II aux LT CD4+, afin d'induire une réponse immunitaire spécifique.

Il est probable qu'au cours du développement de la tumeur des variations de l'environnement (inflammation, sécrétions de médiateurs solubles, hypoxie, pH) modifient le phénotype et les fonctions des macrophages infiltrés (**Zabuawala et al., 2010**).

Les macrophages sont présents dans de nombreux types de cancers et en fonction de leur état d'activation, ils peuvent avoir un effet anti-tumoral (M1) ou pro-tumoral (M2) (Qian et Pollard., 2010). L'augmentation de l'infiltration des macrophages dans les tumeurs est associée à un mauvais pronostic pour les patientes atteintes de cancer du sein (Leek *et al.*, 1996; Tsutsui *et al.*, 2005; Mahmoud *et al.*, 2012) et est inversement corrélés avec l'expression des récepteurs hormonaux (Campbell *et al.*, 2011).

TAMs (tumeurs associées aux macrophages) ont le pouvoir de promouvoir l'angiogénèse des tumeurs, la prolifération de cellules tumorales, la migration et les métastases, et de contribuer à la création d'un microenvironnement tumoral pro-inflammatoire et immunosuppresseur (Laoui *et al.* , 2011; Obeid *et al.*, 2013; Tang *et al.* , 2013) en produisant les VEGF(vascular endothelial growth Factor) et autres facteurs pro angiogénique qui favorisent l'angiogénèse du cancer du sein tels que l'interleukine (IL)-1, IL-8,et le (FGF)-2 (Leek *et al.*, 2000; Lewis *et al.*, 2000; Dirx *et al.*, 2006).

Les TAMs sont aussi connus de stimuler directement la prolifération des cellules cancéreuses du sein en produisant des facteurs de croissance tels que EGF, FGF-2, (TGF) β et PDGF (O'Sullivan *et al.*, 1993; Ribatti *et al.*, 2007).

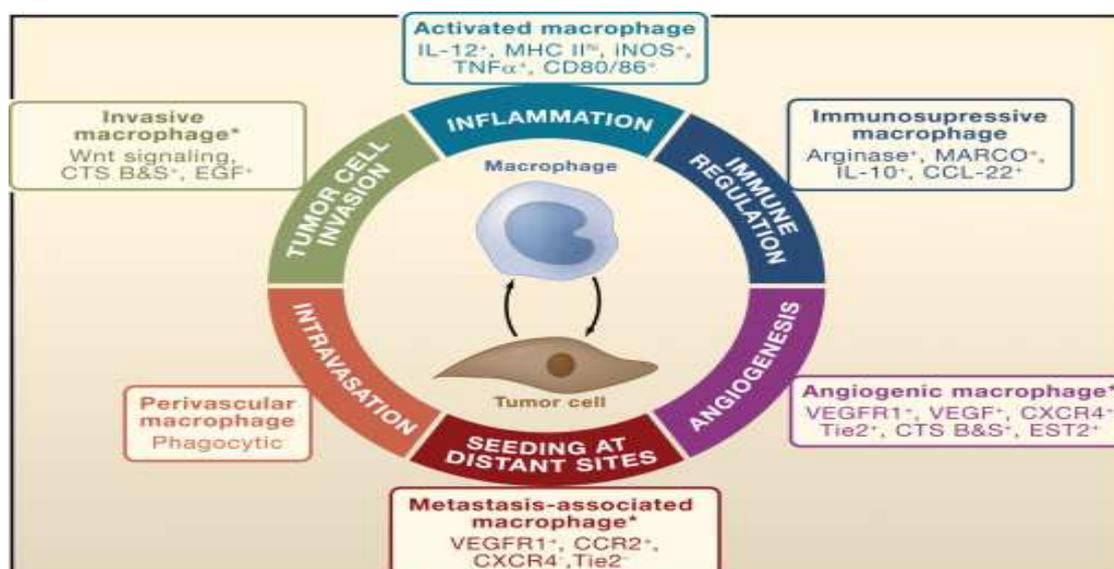


Figure 5. Phénotypes des Macrophages et Tumorigénèse (Qian *et al.*, 2010)

Les macrophages de type M2 peuvent exercer six fonctions pro-tumorales différentes qui correspondent chacune à une sous-population unique de macrophages M2.

Toutes ces données suggèrent que TAM joue un rôle crucial dans le développement du cancer du sein ce qui laisse place à plusieurs stratégies thérapeutiques qui peuvent être envisagées telles que:

- La suppression de la voie de signalisation du STAT3 (signal transducer and activator of transcription 3) par hydrazinocurcumin convertit le phénotype TAM (tumeurs associées aux macrophages) M1 en M2 et inhibe la progression et la métastase du cancer du sein (**Zhang X. et al., 2013**).
- l'inhibition de la cyclooxygénase (COX)-2 supprime aussi la progression du cancer du sein en prévenant la polarisation du phénotype M2 (**Na et al., 2013; Yang et al., 2014**).
- le blocage du CSF1 (macrophage colony-stimulating factor 1) ou son récepteur (CSF1R) diminue l'infiltration des macrophages et favorise la réponse Th1 à un stade avancé du cancer du sein et prolonge la survie des patientes (**DeNardo et al., 2011**).

➤ Les lymphocytes T régulateurs (Treg)

Les Treg sont des lymphocytes T CD4⁺ caractérisés par l'expression de CD25 et du facteur de transcription FoxP3. On distingue les Treg naturels (nTreg) qui apparaissent au cours de la sélection thymique et les Treg induits (iTreg) qui se développent en périphérie à partir de LT CD4⁺ naïfs dans certaines conditions environnementales. Les iTreg participent à la régulation des réponses immunitaires qui se mettent en place contre des pathogènes et dans les tumeurs.

L'infiltration des cellules Treg a été observé dans les cancers du sein et le nombre de ces cellules introduite dans les sites tumoraux a été associé à un **mauvais pronostic** (**Bates et al., 2006; Bohling et Allison, 2008; Ohara et al., 2009**).

Les cellules Treg circulantes peuvent être introduite dans les cancers du sein via multiples modes de signalisations PGE2/EP2 (EP4), CCL22/CCR4, SDF1/ CXCR4, et CCL5/CCR1, IFN- α (**Gobert et al., 2009; Tan et al., 2011; Yan et al., 2011; Karavitis et al., 2012, Sisirak et al., 2012**). Aussi, Treg peut être recruté par la stimulation de la

signalisation TGF β qui active les cellules dendritiques à produire CCL22 (**Hanks et al., 2013**).

Il a été montré que le tamoxifène induit l'expression du FOXP3 dans les tumeurs à infiltration lymphocytaire ce qui représente un mécanisme de la résistance hormonale via l'immunosuppression médiée par Treg (**Joffroy et al., 2010**). Les études citées ci-dessus suggèrent que les cellules Treg sont de puissantes régulatrices négatives de la réponse immunitaire anti tumorale et représentent une cible thérapeutique très prometteuse.

I.8.5.2 Les stratégies immunothérapeutiques

L'objectif d'une immunothérapie efficace est de stimuler l'immunité des cellules effectrices anti tumorale et de neutraliser les promoteurs de l'inflammation chronique tumorale (**Coussens et al., 2013**). Les cellules immunosuppressives présente dans le microenvironnement du cancer du sein sont de potentielles cibles thérapeutiques.

I.8.5.2.1 Les inhibiteurs de points de contrôle

PD1 est une protéine de la membrane de surface cellulaire exprimée par diverses cellules immunitaires, y compris les cellules T, est activée par ses ligands PDL1 et PDL2 exprimés soit par les cellules B, les macrophages ou les cellules dendritiques, après cette liaison protéine-ligand, la réponse immunitaire est inhibée, dans les cancers ceci représente l'un des mécanismes de l'échappement immunitaire des cellules tumorales (**Buque et al., 2015**).

Les données de deux essais d'anticorps ciblant la molécules inhibitrice des cellules-T : PD- 1 (programmed cell death receptor 1) ou de son ligand (PD- L1), ont été signalés lors de la réunion 2014 SABCS, le premier essai est : KEYNOTE – 012, une étude de phase Ib de l'anticorps anti- PD- 1 pembrolizumab chez les patientes atteintes de tumeurs métastatiques de sous type TNBC avec des tumeurs à différents degrés d'expression positive du PD- L1 (**Nanda et al., 2015**), le second essai était une étude de phase Ia de l'anticorps anti- PD - L1 atezolizumab chez les patientes de sous type TNBC avec PDL1 positif (**Emens et al., 2015** ;

Rhiannon et al., 2016). Les thérapies anti PDL-2 sont rares compte tenu de sa dépendance aux signaux environnementaux, les résultats peuvent être différents selon les modèles tumoraux et les différents types de tumeurs, ou même entre les patients avec le même type de tumeur (**Curran et al., 2010**), une seule thérapie est en cours de phase I, AMP-224 une protéine de fusion recombinante du PDL-2 et de la portion Fc de l'IgG (**Watch, 2010**).

Une expression élevée de la chimiokine CXCL1 a été observée dans le stroma du cancer du sein et a été corrélée à un mauvais pronostic des patientes (**Zou et al., 2014**), la curcumine un antioxydant diététique réduit les métastases du cancer du sein par l'inhibition de l'activation de I κ B, ce qui altère l'expression de deux cytokines prométastatiques, CXCL1 et -2, qui régulent l'expression d'une série de gènes promoteurs de métastases parmi lesquels CXCR4, le récepteur de SDF1 / CXCL12 (**Bachmeier et al., 2008**).

I.8.5.2.2 Les vaccins

Le vaccin thérapeutique est une autre stratégie pour stimuler le système immunitaire à supprimer la croissance de la tumeur. Le principe consiste à utiliser les antigènes associés aux tumeurs (TAAs) pour induire une attaque immunitaire contre les cellules tumorales. Dans le cancer du sein les vaccins thérapeutiques doivent être utilisés le plus tôt possible pour prévenir la récurrence et la diffusion des tumeurs (**Wiedermann et al., 2013**).

Miles et al (2011) ont montré que le vaccin thérapeutique, sialyl-TN-Keyhole limpet hemocyanin (STn-KLH) seul n'a pas d'incidence sur le temps de progression ou la survie globale. Toutefois, un essai clinique de phase III a montré que les patientes atteintes de métastases du cancer du sein recevant STn-KLH en plus d'une thérapie endocrinienne avaient beaucoup plus de temps de survie (**Ibrahim et al., 2013**).

Un autre essai clinique a montré que les patientes atteintes de cancer du sein métastatique traitées avec un vaccin comprenant une télomérase transcriptase inverse humaine (hTERT) et un anticorps anti-CD25 avaient beaucoup plus de survie globale que celles traitées avec le vaccin hTERT seul (**Rech et al., 2012**).

Une plus récente étude en phase III est en cours d'essai évaluant un agent immunothérapeutique dans le cancer du sein. L'essai « PRESENT » (prévention des

récidives des cancers du sein avec infiltration ganglionnaire positive à un stade précoce avec une expression faible à intermédiaire du HER2 avec le traitement NeuVaxTM) évalue le nelipepimut-S combiné avec le facteur granulocyte-macrophage colonie-stimulante (GM-CSF) en tant que vaccin simple, administré dans le traitement adjuvant pour prévenir la récurrence chez les patientes atteintes du cancer du sein quel que soit leur niveau d'expression du HER2 (Mittendorf *et al.*, 2014), les premières données de l'étude ont montré que les patientes qui avaient une faible à moyenne expression du HER2 avaient de robustes réponses immunitaires (Benavides *et al.*, 2009).

I.8.6 Thérapies ciblées

A cause des problèmes liés à la chimiothérapie conventionnelle et grâce à une meilleure compréhension de la biologie des cancers, des approches plus sélectives ont vu le jour: les thérapies ciblées. Elles apportent un réel espoir d'amélioration dans la prise en charge des patientes. Depuis trente ans, la mise en évidence d'anomalies caractéristiques de certaines cellules néoplasiques, telles que les translocations spécifiques, les mutations activatrices ou des amplifications géniques ont considérablement modifié les traitements.

Le cancer du sein n'est plus considéré comme une seule maladie. Les sous types moléculaires du cancer du sein présentent différents facteurs de risque (Millikan *et al.*, 2008 ; Phipps *et al.*, 2011) et différentes réponses aux thérapies systématiques et locales (Aebi *et al.*, 2011 ; Tang *et al.*, 2011) d'où l'importance d'envisager des thérapies propre à chacun de ces sous types demeure nécessaire.

I.8.6.1 Le sous type luminal A

Les cancers du sein luminaux (luminal A et luminal B) sont les deux sous types du cancer du sein considérés comme hormono positif (Higgins *et al.*, 2011).

L'étude génomique des cancers du sein de sous type luminal A, a permis d'identifier GATA3 et FOXA1 comme de prometteuses et potentielles cibles thérapeutiques (Mehta *et al.*, 2012), l'expression de FOXA1 a été positivement corrélée à l'expression de RE et particulièrement chez le sous type luminal A et négativement corrélée avec la taille et le grade

tumorale, le statut ganglionnaire et l'expression du Ki-67 et le HER2 (**Mehta et al., 2012 ; Hisamatsu et al., 2012**). Il est à noter qu'une autre étude a observé une corrélation entre une forte activité de : estrogen response element (ERE) et le cancer du sein luminal A (**Gohno et al., 2012**).

I.8.6.2 Le sous type luminal B

Les tumeurs Luminal B répondent mal aux thérapies hormonales et sont de mauvais pronostics, à ce jour aucune thérapie ciblée n'existe pour le sous type luminal B, cependant des cibles thérapeutiques potentielles peuvent exister pour les cancers du sein luminal B. Plusieurs essais cliniques ciblant les voies IGF, FGF et PI3K/AK ont été rapportés (**Tran et al., 2011**). Le ciblage de la voie PI3K/AKT/mTOR est l'une des plus prometteuses approches thérapeutiques pour les cancers du sein luminal B qui résistent à l'hormonothérapie (**Ignatiadis et al., 2013**).

Très récemment une équipe a observé que TOX3 a le potentiel de réguler l'expression des RE. Dans cette étude TOX3 jouait un rôle très significatif en rendant les tumeurs plus agressives et métastatiques, ce qui leur a permis de considérer TOX3 comme un nouveau biomarqueur potentiel pour les tumeurs lumineales B du cancer du sein (**Seksenyan et al., 2015**).

Une autre recherche préclinique a identifié un potentiel oncogène du cancer du sein impliqué dans le sous type luminal- B « ZNF703 ». Dans cette étude ZNF703 était amplifié dans les tumeurs luminal B et sa surexpression a été associée à un mauvais résultat clinique. Les chercheurs ont également observé que ZNF703 était un régulateur des récepteurs oestrogéniques et pouvait avoir un rôle dans l'autorenouvellement des cellules souches cancéreuses (**Sircoulomb et al., 2011**) suggérant l'inhibition de ZNF703 comme thérapie ciblée potentielle pour les tumeurs lumineales B.

La cycline D1 survient dans 10% des cancers du sein, elle a pour rôle d'induire la prolifération cellulaire en interagissant avec CDK 4, il a été suggéré que des inhibiteurs de la cycline D1 pouvaient avoir un effet sur les cancers du sein luminal B où la prolifération est importante, ces inhibiteurs sont en cours de développement (**Jeselsohn et al., 2010**).

Une autre protéine impliquée dans la résistance hormonale « RECQL4 » a été découverte par (Bergamaschi *et al.*, 2011) la considérant comme une cible thérapeutique potentielle dans le cancer du sein (Patel *et al.*, 2013 ; Fang *et al.*, 2013); aussi, le ciblage de YWHAZ et ses protéines co-régulatrices comme FOXM1 ou NHERF1 peut rétablir la sensibilité endocrine et réduire le risque de récurrence des cancers du sein (Tran *et al.*, 2011 ; Karn *et al.*, 2011 ; Bergamaschi *et al.*, 2011 ; Koo *et al.*, 2012 ; Wang *et al.*, 2011). Une étude a indiqué l'association entre les tumeurs luminal B et la surexpression de la protéine NHERF1 (sodium–hydrogen exchanger regulatory factor 1). L'expression de NHERF1 est associée à une résistance au traitement hormonal dans les cancers du sein RE-positif (Karn *et al.*, 2011). Il est donc a considéré NHERF1 comme une potentielle cible thérapeutique.

I.8.6.3 Le sous type HER2+

La surexpression de la protéine HER2 était corrélée à une résistance au traitement endocrinien et chimiothérapique de ce fait l'anticorps anti HER2 « Trastuzumab » a été développé. L'élaboration de cet anticorps fut la première approche thérapeutique basée sur le profil génomique du cancer du sein. Trastuzumab a un excellent effet anti-tumoral avec des effets secondaires bénins et a été approuvé par la « US Food and Drug Administration » en 1998 aux états unis. Lorsque Trastuzumab est combiné a la chimiothérapie, le taux de réponse globale a été augmenté ainsi qu'une observation d'une amélioration de 25% du temps de survie médiane par rapport au traitement chimiothérapeutique seul (Baselga *et al.*, 2001 ; Slamon *et al.*, 2001). L'équipe (Baselga *et al.*, 2012) a trouvé que le traitement qui combine les anticorps monoclonaux Pertuzumab et trastuzumab avec le docetaxel augmentait la survie sans progression des patientes HER2+ qui présentaient des métastases.

Un autre traitement anti HER2 existe appelé « Trastuzumab Emtansine : T-DM1 » qui selon (Verma *et al.*, 2012) a pour effet d'améliorer la survie globale chez les patientes qui continuaient à progresser même après un traitement à base de Trastuzumab et de taxane .

Le lapatinib est un inhibiteur réversible des tyrosines kinases de HER1 et HER2. Son bénéfice a été démontré en association à la capecitabine chez des patientes traitées pour un cancer du sein métastatique avec surexpression HER2, Geyer *et coll* (2006) ont rapporté les

résultats d'une cohorte de patientes traitées par lapatinib pour des cancers du sein Luminal A ou métastatique HER-2 positifs résistant au Trastuzumab et qui ont été randomisées entre recevoir capecitabine seule ou avec lapatinib. La combinaison capecitabine - lapatinib a réduit le risque de progression de la maladie de 51% comparée à la capecitabine seule.

I.8.6.4 Le sous type BASAL LIKE (TN)

Contrairement aux sous types luminal A et luminal B, le cancer du sein de sous type triple négatif à un taux de réponse plus élevé mais une survie sans maladie et une survie globale beaucoup moins courte (**Hudis et al., 2011**), actuellement la chimiothérapie est le principal traitement des patientes triples négatives. Ci-dessous plusieurs nouvelles approches thérapeutiques sont citées.

➤ **Inhibition du Poly (ADP-Ribose) Polymerase**

L'enzyme PARP joue un rôle important dans la réparation des cassures de l'ADN simple brin par la voie de base-réparation par excision en se liant directement aux sites de dommages à l'ADN et en recrutant d'autres enzymes de réparation d'ADN.

Dans les cellules cancéreuses porteuses de mutations des gènes BRCA1 et BRCA2 la recombinaison homologue (réparation des cassures double brin) n'est plus fonctionnelle, l'inhibition de la PARP conduit à une accumulation de cassures de l'ADN simple brin qui dégénère en cassures double brin entraînant la mort des cellules puisqu'elles sont incapables de réparer les dommages de l'ADN (**Helleday et al., 2005**). Des études ont montrés que les cellules déficientes en BRCA étaient sensibles aux inhibiteurs de PARP (**Farmer et al., 2005 ; Bryant et al., 2005**) ce qui a conduit à leur évaluation en monothérapie ou en combinaison avec des agents cytotoxiques dans le traitement des cancers du sein triple négatif. Un premier inhibiteur oral contre PARP a été approuvé par la FDA en décembre 2014 l'Olaparib en monothérapie, l'EMA a recommandé son utilisation dans le traitement d'entretien de rechute des tumeurs à BRCA muté (**Tutt et al., 2010**). Veliparib, un autre inhibiteur de la PARP par voie orale 1 et 2, a été abondamment évalué en combinaison avec plusieurs agents chimiothérapeutiques comme chimiopotentialisateur. En 2010, **Isakoff et son**

équipe ont mené une étude chez 41 patientes, le taux de réponse chez les porteuses de mutation BRCA a été de 37,5% (3/8), dont une réponse complète et deux réponses partielles.

À ce jour, les données suggèrent qu'une stratégie de traitement en monothérapie des inhibiteurs de PARP n'est pas efficace pour les cancers du sein triple négatif sporadiques, mais préférentiellement actif dans le cancer du sein BRCA-muté. Des approches sont en cours d'élaboration afin de sensibiliser les cancers du sein triple négatif à l'inhibition de la PARP (**Matulonis et al., 2014 ; Johnson et al., 2010**).

➤ Inhibition de la voie PI3K/AKT/mTOR

La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR est impliquée dans la survie cellulaire, le métabolisme, la prolifération, la motilité, la migration, l'invasion et l'angiogénèse (**Datta et al., 1999**). L'activation de la voie PI3K entraîne la perte du suppresseur de tumeur phosphatases inositol polyphosphate type 4 - phosphatase II (INPP4B) et la perte de la phosphatase et homologue de tensine (PTEN) (**Gewinner et al., 2009 ; Cancer Genome Atlas Network 2012**) alors que l'amplification de l' AKT et la translocation de AKT3 se produit dans un petit sous-ensemble des cancers du sein triple négatifs d'où la nécessité de cibler ces protéines (**Banerji et al., 2012**). ipatasertib (GDC-0068) est une nouvelle petite molécule inhibitrice des trois isoformes sérine / thréonine kinase AKT. En monothérapie il a montré une activité chez plusieurs modèles de xénogreffes avec l'activation de la voie AKT par une perte de PTEN et/ou la mutation de PI3KA (**Isakoff et al., 2014**).

➤ Facteurs de croissance surexprimés

Plusieurs récepteurs de facteurs de croissance sont surexprimés dans les cancers du sein triple négatifs dont EGFR et VEGFR. les essais cliniques en phase II et III des drogues qui interrompent la voie de signalisation de EGFR et VEGFR ne sont plus poursuivies pour des raisons de non sélection des cancers du sein triple négatifs (**Baselga et al., 2013 ; Cameron et al., 2013**). Cependant il existe plusieurs inhibiteurs anti kinase avec une influence relativement élevée contre les FGFRs dont dovitinib (TKI258), nintedanib (BIBF1120), ponatinib (AP24534), et lucitanib (CO-3810), aucune étude actuelle ne vise spécifiquement

la population des tumeurs triples négatives , un essai de phase II (NCT02202746) est en cours dans les cancers du sein métastatique pour évaluer lucitanib orale dans les tumeurs qui ont un FGFR1 amplifié ou une amplification 11q- , et les patientes de ce sous groupe sont admissibles (NCT02202746, 2015).

➤ **Thérapie ciblée du récepteur d'Androgène**

D'autres stratégies thérapeutiques sont en cours d'évaluation notamment celles qui ciblent le récepteur d'Androgène (AR) qui est exprimé dans 10% à 15% des cancers du sein triples négatifs (Neimeir *et al.*, 2010). Luminal AR est une sous classe des tumeurs triples négatives caractérisées par l'expression de gènes luminaux et par l'expression de AR (Lehmann *et al.*, 2011). Des études ciblant AR sont en cours d'études tels que le Bicalutamide (Gucalp *et al.*, 2013) , l'enzalutamide (Traina *et al.*, 2014) et l'orterone (TAK-700; NCT01990209) (Yamaoka *et al.*, 2012).

➤ **Thérapie ciblée du NOTCH**

La voie de signalisation NOTCH affecte de nombreux processus cellulaires tels que la prolifération, l'apoptose, l'angiogenèse et l'auto renouvellement des cellules souches (Harisson *et al.*, 2010). 13% des cancers du sein triples négatifs avec des mutations au niveau du domaine PEST des récepteurs NOTCH1 , NOTCH2, NOTCH3 étaient très sensibles à l'inhibiteur de gamma -sécrétase , PF- 03084014 (Wang *et al.*, 2015), ceci suggère que les inhibiteurs de gamma -sécrétase peuvent avoir un pouvoir prometteur dans le traitement d'un sous-ensemble des cancers du sein triples négatifs avec des altérations spécifiques de NOTCH.

➤ **Inhibition de la voie JAK2/STAT3**

Janus kinases (tyrosines kinases) et signal transducer and activation of transcription 3 (STAT3) sont des protéines qui entrent dans la composition de plusieurs récepteurs de cytokine qui régulent la croissance cellulaire et la survie (Aittomaki *et al.*, 2014). Ruxolitinib, est un inhibiteur oral puissant contre JAK1 et JAK2 , il est approuvé pour le traitement de la myélofibrose intermédiaire ou à haut risque et est maintenant en cours d'évaluation dans le cancer du sein (NCT02041429, 2015), ces essais permettront d'évaluer l'expression de

pSTAT3 dans les tumeurs triple négatives inflammatoires du cancer du sein avant et après traitement , avec une baisse attendue de l'expression pSTAT3 après le traitement.

➤ Ciblage de la protéine Trop-2

Trop-2 est une protéine de surface cellulaire surexprimée dans plusieurs cancers épithéliaux impliquée dans la régulation de l'adhésion cellulaire (Stepan *et al.*, 2011 ; Alberti *et al.*, 1992) associée à un mauvais pronostic dans les cancers du sein (Ambrogi *et al.*, 2014), des études sont en cours pour cibler Trop-2 chez les patientes à cancer du sein triple négatif, IMMU-132 (isactuzumab govitecan) est un anticorps conjugué contenant l'anticorps monoclonal humanisé anti Trop-2 : hRS7. Les données précliniques montrent que IMMU- 132 a donné lieu à une régression tumorale accrue chez MDA -MD- 468 modèles de xénogreffes triples négatif du cancer du sein (Goldenberg *et al.*, 2014). En Janvier 2014 la FDA attribue à l'IMMU- 132 la désignation « voie rapide » pour le traitement des patients triples négatives qui ont continués a développé des métastases.

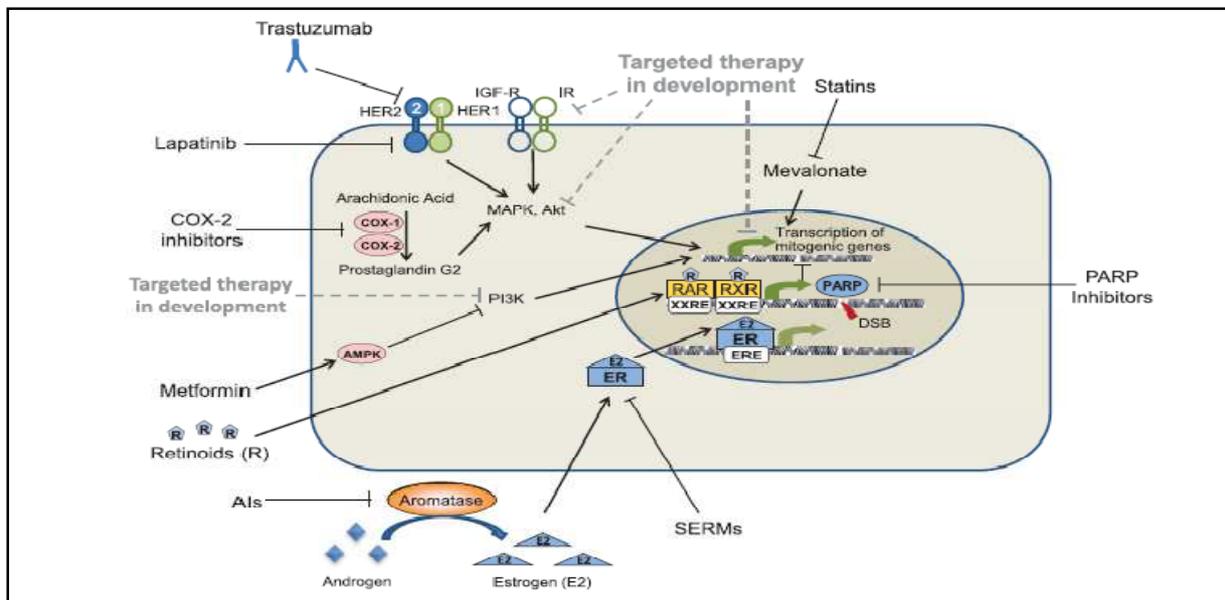


Figure 6. Différentes voies oncogéniques comme cibles moléculaire dans la prévention du cancer du sein. (Den Hollander *et al.*, 2013)

Lignes continues représentent les traitements et les cibles couramment utilisés dans la prévention du cancer du sein, les lignes discontinues représentent les traitements en cours de développement.

I.9 LES PROTEINES RAB 25

De nombreuses pathologies peuvent être attribuées à des altérations dans le trafic endocytaire, ce trafic est assuré par les protéines RAB ainsi que d'autres protéines associées. Les protéines RAB se retrouvent surexprimées dans un nombre de cancers dont celui du sein. Nous allons présenter les petites protéines GTPases RAB avant de nous intéresser aux protéines RAB 25.

I.9.1 La Famille des protéines RAB

Les protéines RAB sont les protéines les plus majoritaires de la super famille Ras des petites GTPases (Chavrier *et al.*, 1999). Il existe approximativement 60 protéines RAB codées par le génome humain en plus d'autres RAB générées par épissage alternatif (Pei *et al.*, 2002). La Figure « 7 » illustre les protéines RAB associées au trafic intracellulaire, treize de ces protéines sont impliquées dans le trafic endocytaire (RAB4, RAB5, RAB7, RAB9, RAB11, RAB14, RAB15, RAB17, RAB20, RAB22, RAB25, RAB34, RAB39).

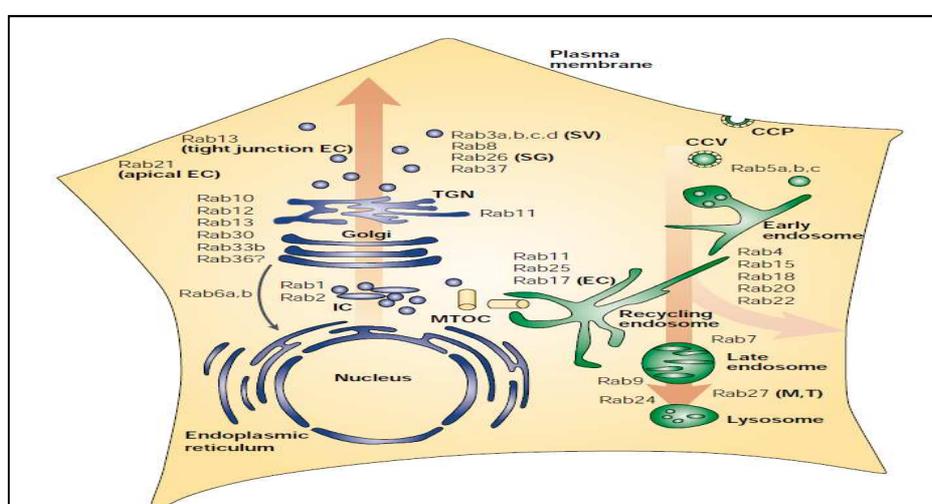


Figure 7. Les grandes voies de trafic intra cellulaire vésiculaire et les protéines RAB associées (Zerial *et al.*, 2001)

La participation des protéines RAB dans les différentes étapes du trafic intracellulaire sont représentées sur ce schéma. Certaines de ces protéines sont exprimées spécifiquement dans des tissus ou des types cellulaires particuliers. CCV : clathrin-coated vesicle; CCP : clathrin-coated pit; EC : epithelial cells; ER : endoplasmic reticulum; IC : ER-Golgi intermediate compartment; M : melanosomes; MTOC : microtubule-organizing centre; SG : secretory granules; SV : synaptic vesicles; T : T-cell granules; TGN : trans-golgi network

I.9.2 Régulation des protéines RAB

Les petites GTPases fonctionnent selon des cycles d'activation et d'inactivation dépendant de leur association au GDP (guanosindiphosphate) ou au GTP (guanosine triphosphate) tout ceci étant contrôlé par différentes protéines régulatrices des RAB. Les Petites GTPases alternent ainsi entre un état activé lié au GTP et une forme inactivée liée au GDP. L'activation de la petite GTPase est permise par l'échange du GDP par du GTP, étape catalysée par les facteurs d'échange GEF (guanine Exchange factors). La mise en place de la molécule de GTP induit des modifications conformationnelles de la structure tertiaire de la protéine RAB. Des domaines d'interaction avec des compartiments cellulaires et avec des effecteurs spécifiques sont exposés par les protéines RAB activées. Ce sont ces interactions qui permettront aux RAB d'exercer leurs fonctions (**Bourne *et al.*, 1991 ; Herrmann *et al.*, 2003**).

La capacité d'hydrolyse du GTP en GDP et la conversion vers un état inactif lié au GDP nécessite l'intervention de facteurs protéiques. Ces facteurs sont des protéines activatrices de l'activité GTPasique ou GAP (guanine-activating protein).

D'autres protéines modulent l'activité des RAB, les protéines GDI (GDP dissociation inhibitor), participent au maintien des RAB dans une forme inactive, mais aussi à leur localisation spécifique à la membrane de certains compartiments. Cet adressage des RAB dépend de la géranylgeranylation de leur domaine carboxy-terminal. Pour cela, les protéines RAB nouvellement synthétisées sont prises en charge par des protéines nommées REP (RAB escort protein) qui ont pour fonction de les présenter à des géranylgeranyltransférases (GGT). Par la suite, les RAB sont accompagnées dans le cytoplasme jusqu'à leur point d'arrivée par les protéines GDI qui jouent alors un rôle de protéine chaperonne. Les facteurs de dissociation des GDI, les GDF (GDI dissociation factor), participeraient à la spécificité d'adressage des RAB vers leur membrane cible en reconnaissant les GDI associées aux RAB. Ce sont ensuite les interactions hydrophobes entre les groupements géranylgeranyles des RAB et les lipides des bicouches lipidiques qui permettent aux protéines RAB de s'associer aux membranes des différents compartiments (**Figure 8**) (**Stenmark *et al.*, 2009**)

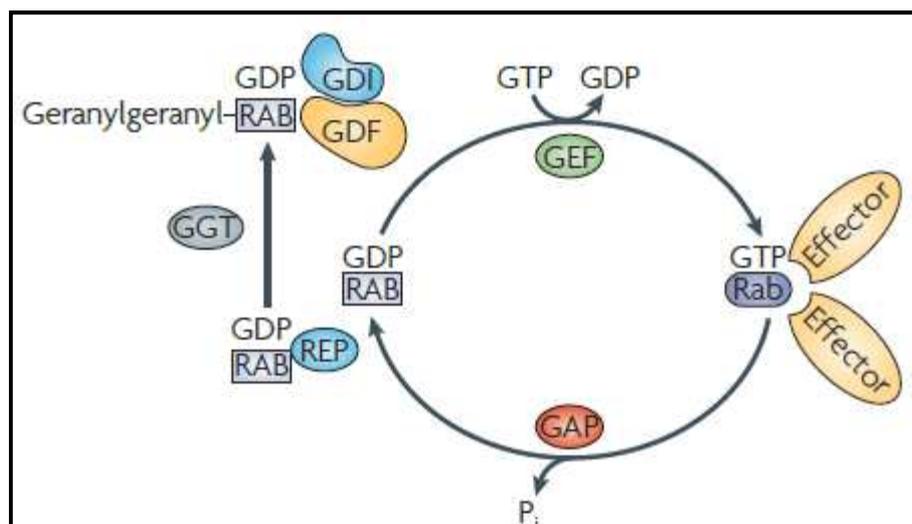


Figure 8. Le cycle d'activation des petites GTPases RAB
(Stenmark *et al.*, 2009)

L'endocytose est un processus cellulaire fondamental nécessaire pour l'absorption réglementée et le transport intracellulaire de macromolécules. Il ya de nombreux itinéraires lequels les molécules peuvent être internalisées y compris les récepteurs d'endocytose médiée par des vésicules recouvertes de clathrine, macropinocytose et la phagocytose (Conner *et al.*, 2003).

De nombreux exemples du rôle des RAB dans les transports intracellulaires pourraient être détaillés mais nous allons nous focaliser sur les protéines RAB 25 et leur rôle dans le transport endocyttaire ainsi que leur implication dans la carcinogénèse mammaire.

I.9.3 La protéine RAB25

RAB25 (également connue sous RAB11c ou CATX -8) a d'abord été isolée à partir des cellules pariétales gastriques du lapin. Contrairement à la plupart des RABs, qui sont exprimés de manière ubiquitaire, l'expression de RAB25 a été limitée à la muqueuse gastro-intestinale, poumon et du rein : les plus hauts niveaux d'expression étaient dans le côlon et l'épithélium iléal. Les protéines RAB11 exprimées de manière ubiquitaire (RAB11A et RAB11b), qui sont des homologues à la protéine de levure YPT3, sont les homologues les plus proches de RAB25, formant la sous famille RAB11 (Bourne *et al.*, 1991).

RAB11 et RAB25 sont détectées dans les ARE , l'endosome de recyclage périnucléaire (PRE) et le réseau de Golgi trans , ces protéines régulent les fonctions cellulaires , y compris la prolifération, la transduction des signaux , l'apoptose , L'organisation des microtubules , le recrutement de H⁺K⁺ ATPase , le recyclage du récepteur de la transferrine , la transcytose de l'immunoglobuline A et le trafic de l'intégrine (Cheng *et al.*, 2004 ; Cheng *et al.*, 2005 ; Yoon *et al.*, 2005).

I.9.3.1 Les interactions de la protéine RAB 25

La diversité des protéines qui interagissent avec les protéines RAB fournit un grand niveau de complexité (Figure 9 et Figure 10). Les petites GTPases peuvent interagir avec un large éventail de protéines effectrices dans le cadre du trafic vésiculaire. Ces protéines interagissant comprennent des classes de moteurs moléculaires (par exemple, myosines et kinésines) et des protéines d'échafaudage qui organisent des complexes multiprotéiques . Les protéines RAB-interacting peuvent coordonner les interactions avec les protéines moléculaire motrices, en s'associant avec d'autres petits GTPases.

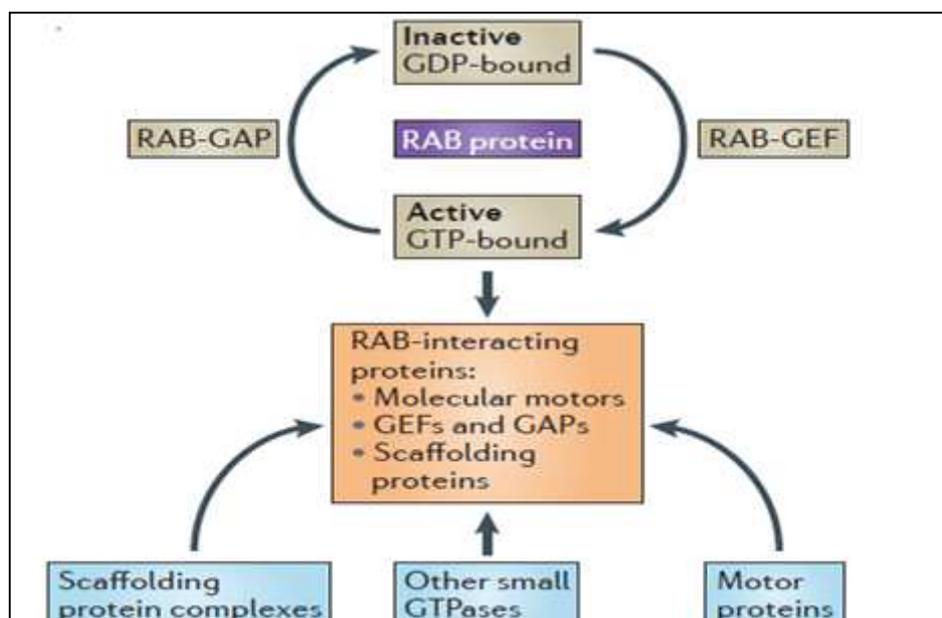


Figure 9. Interaction des protéines RAB avec les différents effecteurs (Goldenring *et al.*, 2013)

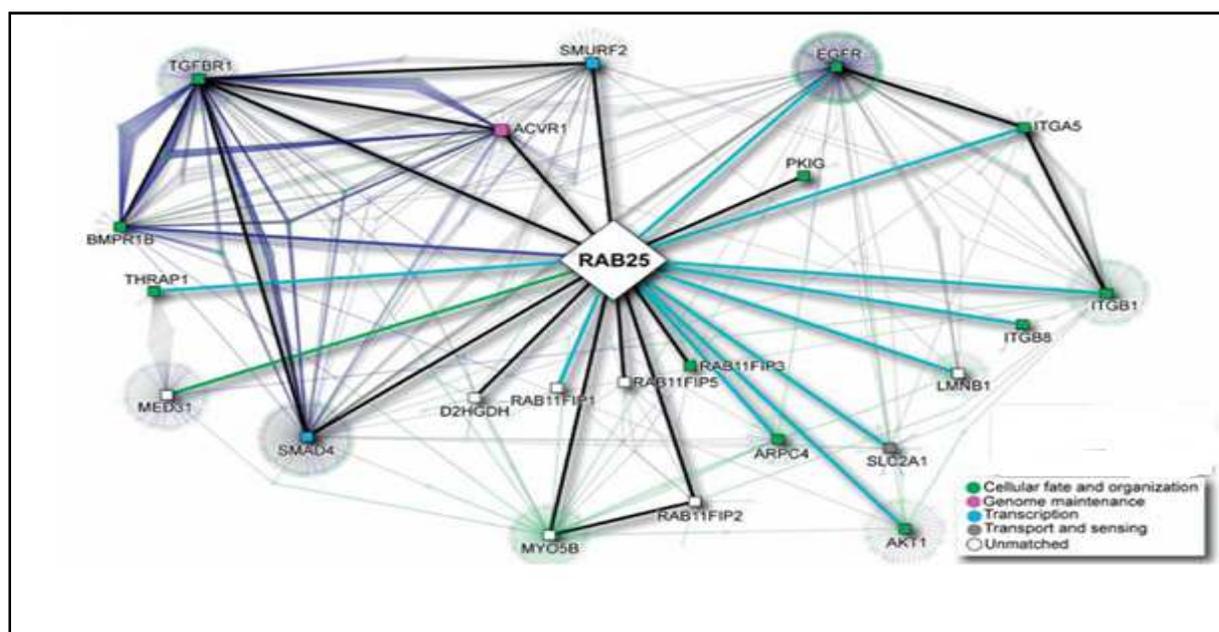


Figure 10. Réseau d'interaction de RAB 25 avec d'autres protéines (Agarwal *et al.*, 2009)

La figure « 11 » illustre un exemple d'un réseau d'interaction des membres de la famille des RAB11 (RAB11A, RAB11B, RAB25). Il ya actuellement au moins dix effecteurs pour les Rab11 (dont RAB25) ; sept protéines interactive de la famille des RAB11 (RAB11 - FIPs) (Hales *et al.*, 2001 ; Prekeris *et al.*, 2001), RAB11 protéine-liante (également connu sous Rabphilin 11 et WDR44) (Mammoto *et al.*, 1999), Myosine 5 α et Myosine 5 β (Lapierre *et al.*, 2001 ; Roland *et al.*, 2009), Rabin8(connu aussi sous RBA3IP) (Feng *et al.*, 2012 ; Knodler *et al.*, 2010) et SEC15 (également connu sous le nom EXOC6) (Wu *et al.*, 2005 ; Oztan *et al.*, 2007), toutes ces protéines peuvent être trouvées dans les mêmes cellules (Roland *et al.*, 2009 ; Jin *et al.*, 2006). Ainsi, des modifications dans l'abondance des effecteurs interagissant avec les petite GTPase pourraient changer la dynamique de la traite.

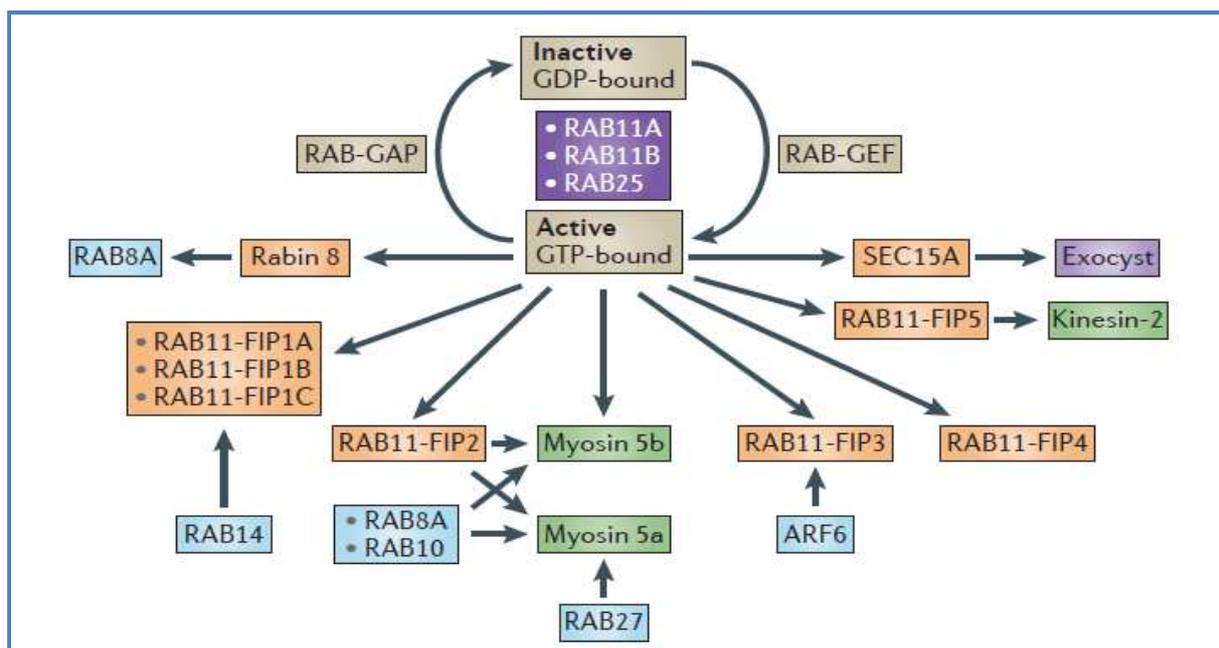


Figure 11. Interactions protéiques pour la régulation du trafic membranaire à travers les endosomes de recyclage (Membres de la famille RAB11 : RAB11A-RAB11B-RAB25) (Goldenring *et al.*, 2013)

I.9.3.2 Implication de RAB 25 dans la carcinogénèse

La dérégulation de la signalisation et du trafic des récepteurs est associée à un développement du cancer (Polo *et al.*, 2004 ; Bache *et al.*, 2004), et donc l'expression aberrante de RAB GTPases pourrait provoquer la tumorigénèse. Il est tentant de spéculer que cette carcinogénèse est causée par un recyclage aberrant des récepteurs de signalisation, étant donné le rôle établi de RAB25 dans le trafic à travers les endosomes de recyclage (Wang *et al.*, 2000).

Les études indiquent que les membres du recyclage RAB11A, RAB11B, RAB25 et leurs effecteurs exercent un rôle important dans de multiples cancers dont celui du sein, colon, vessie, poumon, les reins, l'ovaire, endomètre, prostate et les cancers de type carcinoïde (Mosesson *et al.*, 2008). RAB 25 est plus fréquemment impliqué dans la tumorigénèse que les autres membres du RAB 11 à cause de la présence de la séquence DTAGLE dans les sites du GTP lié au lieu du DTAGQE trouvé dans RAB 11 ainsi que dans la plupart des membres de la famille RAB (Mitra *et al.*, 2011).

Les études indiquent que RAB 25 est impliqué dans la tumorigénèse en régulant la localisation de l'intégrine recyclant des vésicules. Il a été observé que dans les cancers du sein et de l'ovaire, RAB 25 inhibe l'apoptose et augmente la prolifération et l'agressivité des cellules cancéreuses. La surexpression de RAB 25 a été reportée dans le cancer de l'ovaire (Cheng *et al.*, 2004 ; Liu *et al.*, 2012), la prostate (Calvo *et al.*, 2002), le sein (Wang *et al.*, 2004), le colon (Goldenring *et al.*, 1993), le foie (HE *et al.*, 2002) en plus de la vessie (Mor *et al.*, 2003 ; Zhang *et al.*, 2013) et de la tumeur de Wilms (Natrajan *et al.*, 2006), ce qui indique que dans ces situations RAB 25 agit comme un oncogène.

Par contre une perte de RAB 25 a été associée à une augmentation du développement tumoral ce qui indique que RAB 25 peut se comporter comme un gène suppresseur de tumeur dans le colon, cancers de l'œsophage et le cancer du sein de type triple négatif en régulant l'adhésion cellulaire, la polarité et les voies de signalisation (Cheng *et al.*, 2010). Très récemment des chercheurs ont démontré l'implication de la protéine CLIC3 (chloride intracellular channel protein 3) et de l'expression de l'effecteur de RAB 25 : RCP à déterminer si RAB 25 agirait comme promoteur ou suppresseur des cancers (Nam *et al.*, 2010 ; Dozynkiewicz *et al.*, 2012 ; Tang *et al.*, 2010).

I.9.3.3 RAB 25 et les cancers du sein

La surexpression de RAB 25 a été observée dans environ 50% des cancers du sein par amplification du chromosome 1q (Wang *et al.*, 2002 ; Cheng *et al.*, 2004 ; Chin *et al.*, 2006).

L'amplification du gène *RAB25* et la surexpression de l'ARNm , mesurés par aCGH et la réaction en chaine par polymérase , respectivement, sont en corrélation avec une survie globale plus courte dans le cancer du sein (Cheng *et al.*, 2004). l'ARNm du *RAB25* et sa protéine ont des niveaux d'expressions élevés dans les tumeurs positives aux récepteurs d'œstrogène et au HER2, une expression intermédiaire dans les tumeurs basales et une faible expression ou absente dans les cancers mammaires métaplasiques (Agarwal *et al.*, 2009), cela reflète les conclusions de Cheng *et al.* (2006) , qui ont observé une surexpression de RAB25 dans 92% (11 sur 12) des échantillons de ER positif et une perte apparente d'expression dans 83% (5 sur 6) d'échantillons ER- négatif et PR négatif. Le niveau

d'expression de RAB 25 été significativement élevé chez les patientes avec des métastases lymphatiques du carcinome canalaire invasif (Yin *et al.*, 2012).

RCP (RAB Coupling Protein ou RAB11FIP1) a d'abord été identifié comme un effecteur de RAB11/RAB4/RAB25, cette protéine a un rôle physiologique dans le trafic endosomal (Hales *et al.*, 2001 ; Peden *et al.*, 2004). RCP est localisé dans 8p11-12 une région fréquemment amplifiée dans les cancers du sein (10 à 25% des cas) (Ray *et al.*, 2004 ; Letessier *et al.*, 2006). Zhang *et al.*(2009) ont évalué l'expression du RCP par immunohistochimie dans les différents sous types moléculaire du cancer du sein, cette équipe a observé une expression élevée du RCP dans les tumeurs de type luminal B et une faible expression dans les tumeurs de type basal like, l'expression été intermédiaire chez les patientes luminal A et normal like, ces résultats indiquent que l'expression du RAB25 et du RCP est fortement corrélée à l'agressivité , l'invasion et la métastase du cancer du sien.

Il est plausible que les interactions du RCP avec Rab11 et / ou RAB25 favorisent le recyclage des protéines au cours de leurs dégradations, améliorant ainsi la fonctionnalité de protéines membranaires clés telles que les intégrines et les récepteurs de facteurs de croissance qui transmettent des signaux oncogéniques.

RAB25 est l'une des rares protéines RAB qui interagit directement avec une protéine transmembranaire, l'intégrine $\beta 1$. RAB 25 est capable de contrôler le recyclage du récepteur de la fibronectine, l'intégrine $\alpha 5\beta 1$ et ainsi faciliter la migration des cellules invasives. (Caswell *et al.*, 2007), une année plus tard Caswell et ses collègues ont rapporté le premier mécanisme détaillé du RCP qui pourrait augmenter la migration des cellules tumorales (Caswell *et al.*, 2008). Les auteurs ont montré que dans le contexte de l'inhibition de l'intégrine $\alpha_v\beta 3$, RCP pourrait former un complexe physique avec l'intégrine $\alpha 5\beta 1$ et EGFR1 et que ce complexe non seulement améliore le recyclage de EGFR1 mais également l'autophosphorylation de EGFR1 et de la signalisation en aval.

D'un autre coté il existe une relation entre d'un coté l'expression de RCP avec son activité de recyclage et de l'autre coté la phosphorylation de ERK et l'activation de H-RAS et donc la signalisation médiée par les récepteurs de facteurs de croissance, sachant que l'endocytose et le transport endosomal des protéines membranaires à travers le cytosol font

intervenir les MAPK par activation des récepteurs de croissance (Vieira *et al.*, 1996 ; Ceresa *et al.*, 2000).

I.9.3.4 Les thérapies ciblant les petites GTPases RAB dans les cancers

Plusieurs stratégies ciblant les membres de la superfamille Ras dans les cancers sont en cours de développement. Historiquement, les premiers essais cliniques étaient les thérapies anti HRAS (ISIS2503) et c-RAF1 (ISIS5132) ; Cependant , malgré une activité prometteuse dans les études préclinique et un manque relatif de toxicité dans des études de phase I , ces thérapies ne montrent pas une activité significative dans les études de phase II (Coudert *et al.*, 2001). Une autre stratégie était d'inhiber les petites GTPases en bloquant le recrutement membranaire en inhibant la prénylation des protéines (Sebti *et al.*, 2000) par les statins, bisphosphonates, les inhibiteurs des farnesyltransferases et des geranylgeranyltransferases comme SCH115777. Ces inhibiteurs n'ont pas montré une activité significative dans les tumeurs solides au niveau des essais cliniques de stade III (End *et al.*, 2001 ; Rao *et al.*, 2004). Par contre des modifications dans le recrutement des RAB GTPases dans le domaine du métabolisme de l'os ont été bénéfique ces agents sont NE10790 (nitrogen contenant bisphosphonate) qui a une capacité de la farnesylation de la protéine RAB 6 et l'acide zoledronic (Coxon *et al.*, 2001). Une autre approche a été décrite par Dong *et al* (2010) qui consistait en l'inhibition des interactions entre les protéines en inhibant l'Arf1 (ADP-ribosylation factor 1) par Brefeldin A.

Finalement, le développement de molécules ciblant les protéines RAB reste un défi en raison des éléments suivants : (i) superfamille Ras GTPases et leurs protéines de régulation au sein de chaque sous-famille sont très homologues ; (ii) les protéines régulatrices peuvent cibler plus d'un membre de la superfamille Ras et (iii) chaque superfamille Ras GTPase peut à son tour être régulée par des protéines régulatrices multiples , rendant l'identification des inhibiteurs spécifiques difficile (Agarwal *et al.*, 2009).

Une meilleure compréhension des mécanismes moléculaire des protéines régulatrices et des GTPases dans différents types et stades tumoraux seront nécessaires pour permettre un ciblage efficace des petites GTPases tels RAB25 pour une thérapie anticancéreuse.

I.10 PROBLEMATIQUE ET OBJECTIFS

I.10.1 PROBLEMATIQUE

Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène sur le plan biologique, histologique et en termes d'évolution clinique et de réponse aux traitements. Cette hétérogénéité tumorale, en partie responsable des échecs thérapeutiques serait le reflet de plusieurs entités cliniques dans les cancers du sein. L'analyse des profils d'expression transcriptomique a permis d'identifier de nouvelles classes de tumeurs dans des groupes morphologiquement homogènes mais hétérogènes du point de vue de leur évolution clinique. Cette technique est cependant loin d'être réalisable en routine.

Dans ce contexte, nous nous sommes proposé de classer les cancers du sein par une approche immunohistochimique comme technique substitutive à l'analyse par microarray. Mieux classer les cancers du sein permettrait

- une classification plus fine des tumeurs exprimant les récepteurs hormonaux en groupes de bon pronostic (Luminal A) et de mauvais pronostic (Luminal B),
- de mieux comprendre la biologie tumorale inhérente à chaque sous-type moléculaire de cancer du sein,
- d'identifier des marqueurs pronostiques et cibles thérapeutiques potentielles, pour affiner les indications thérapeutiques et améliorer la survie des patientes,
- de mieux traiter les patientes atteintes de sous-type moléculaire particulièrement agressif de cancer du sein, tel que le luminal B et pour lequel aucune thérapie ciblée n'existe à ce jour.

I.10.2 Objectifs

L'objectif premier de notre thèse était :

- d'étudier les caractéristiques histocliniques et moléculaires des tumeurs issues de patientes atteintes de cancer du sein dans la région du nord- ouest de l'Algérie,
- de classer les cancers du sein en plusieurs sous types moléculaires par une approche immunohistochimique,
- d'étudier la distribution des sous-types moléculaires du cancer du sein dans la région du nord- ouest de l'Algérie,

- d'établir des corrélations entre les sous-types moléculaires et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des tumeurs.

Nous avons pour second objectif :

- d'évaluer le niveau d'expression de RAB 25 dans les sous types moléculaires du cancer du sein,
- de corréler l'expression de RAB 25 avec les différents paramètres histocliniques et moléculaires,
- de corréler l'expression de RAB 25 aux sous types moléculaires du cancer du sein.

Chapitre II : PRESENTATION DES TRAVAUX

II.1. ARTICLE. EPIDEMIOLOGICAL STUDY AND MOLECULAR BREAST CANCER SUBTYPES DISTRIBUTION AMONG WEST ALGERIAN PATIENTS

II.2. ARTICLE EN PREPARATION. INCREASED EXPRESSION OF RAB25 CORRELATES WITH LUMINAL B BREAST CANCER MOLECULARS SUBTYPES AND COULD BE A POTENTIAL THERAPEUTIC TARGET

Chapitre II.1 : ARTICLE

EPIDEMIOLOGICAL STUDY AND MOLECULAR BREAST CANCER SUBTYPES DISTRIBUTION AMONG WEST ALGERIAN PATIENTS

Cette partie de la thèse a fait l'objet d'une publication internationale auprès d'une revue avec comité de lecture spécialisé.

« **Journal of International Research in Medical and Pharmaceutical Sciences** »



EPIDEMIOLOGICAL STUDY AND MOLECULAR BREAST CANCER SUBTYPES DISTRIBUTION AMONG WEST ALGERIAN PATIENTS

**AMINA BELHADJ^{1*}, LYNDIA ADDOU-KLOUCHE¹,
MERIEM KAOUTER BENYELLES¹, AMINA BENDAOU¹, IKRAM ZIANE¹,
BADRA ZAKMOUT¹, ISSAM BOUAKLINE², MILOUD MEDJAMIA²,
HAMID JELLOUL BENAMMAR³, SOFIANE BOUAZZA¹, ZOHEIR DAHMANI⁴,
MOHAMED BENALI¹ AND SORAYA MOULESSEHOUL¹**

¹Department of Biology, Biotoxicology Laboratory, University Djillali Liabes, BP 89 Avenue Larbi Ben Mehidi, Sidi Bel Abbes 22000, Algeria.

²Anatomy and Pathology Laboratory, Regional Military Hospital University, Oran, 31000, Algeria.

³Anatomy and Pathology Laboratory, University Hospital, Sidi Bel Abbes 22000, Algeria.

⁴Laboratory of Applied Molecular Biology and Immunology, University Abou Bakr Seddik, Tlemcen 13000, Algeria.

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

This work was carried out in collaboration between all authors. Authors IB, MM and HJB designed the study, wrote the protocol and interpreted the data. Authors SB and ZD anchored the field study, gathered the initial data and performed preliminary data analysis. While authors AMINA BELHADJ, LAK, MKB, AMINA BENDAOU, IZ and BZ managed the literature searches. Authors AMINA BELHADJ and LAK managed the literature searches and produced the initial draft.

All authors read and approved the final manuscript.

Received: 11th August 2015

Accepted: 31st August 2015

Published: 14th September 2015

Original Research Article

ABSTRACT

Purpose: Breast cancer is the leading cause of cancer death in women worldwide and in particular in Algeria. Breast cancer is a heterogenous disease; its molecular classification is based on gene expression and on proteomic profile to distinguish five major subtypes: luminal A, Luminal B, HER2+, basal like and normal like. We aimed in present study to achieve an epidemiologic study and to correlate molecular breast cancer subtypes with clinico pathological features among west Algerian patients.

Materials and Methods: We performed a retrospective study on 829 patients diagnosed with primary breast cancer who underwent initial surgery in west Algeria Hospitals between january 2008 and December 2013. Assessment of estrogen/progesterone receptors and HER2 protein expression on some cases was determined by immunohistochemistry. Molecular subtypes definitions were as follows: Luminal A (ER+, PR+/-, HER2-), luminal B (ER+, PR+/-, HER2+), Triple negative (ER-, PR-, HER2-), HER2+(ER-, PR-, HER+), they were correlated with some clinical characteristics: median age, histological type, SBR grade and pathological axillary lymph node status.

Results: The mean and median age of the 829 patients were 50.66 and 49 years respectively. 62% of the patients had positive lymph nodes and 11% had distant metastasis at diagnosis. Metastasis free survival at 5

*Corresponding author: Email: belhadj_ami@yahoo.fr;

years was 70%. Proportions of molecular subtypes were as follows: 41.86% luminal A, 29.58% triple negative breast cancer, 15.09% luminal B and 13.46% HER2+. A significant difference was noted with axillary lymph node ($P=0.038$), Invasive ductal carcinoma was predominant among all molecular subtypes, Luminal A patients represents the highest proportion of axillary lymph node, and all women represent to diagnosis at the intermediate or late stages of breast cancer.

Conclusions: The distribution of molecular subtypes of breast cancer differs when comparing to other countries, Luminal A subtype is the commonest subtype among West Algerian patients. Women were young and had an aggressive breast cancer profile this might be due to high prevalence of triple negative breast cancer subtype. This study will lead to enhance the care of patients.

Keywords: Breast cancer; West Algeria; molecular subtype; proportion.

1. INTRODUCTION

Breast cancer is the most commonly diagnosed cancer and the leading cause of cancer death in women worldwide [1], the incidence has increased more than 20% and mortality by 14% [2].

In Europe 463 800 new cases of breast cancer were recorded with a standardized age of 94.2 / 100,000 in 2012 and 131,200 dead women with a standardized age of 23.1 / 100,000 in the same year [3]. Approximately 50% of all women with newly diagnosed breast cancer in the United States are older than 63 years, while in many so-called developing countries almost half of women with newly diagnosed breast cancer are younger than 50 years of age [4]. For Algerian women the age standardized incidence per 100,000 for breast cancer in 2002 was 23, 5 [5] and about 11% of breast cancer cases occur in women \leq 35 years old, and 55% of cases at \leq 50 years [6]. Breast cancer can be divided into three major molecular subtypes: luminal, HER2+ and Triple negative tumors. Luminal tumors have been associated with the most favorable prognoses, while Her2-overexpressing and basal-like tumors, or their surrogate triple negative tumors, have been associated with the worst prognoses. There is a lack of information about breast cancer molecular subtypes distribution in west of Algeria. The present work analyses the epidemiological features and distribution of molecular subtypes associated with clinicopathological parameters among West Algerian patients diagnosed with breast cancer.

2. MATERIALS AND METHODS

2.1 Study Population

A retrospective study was performed on 829 women patients with primary adenocarcinoma who underwent initial surgery in West Algeria hospitals between January 1, 2008 and December 31, 2013. The main histoclinical characteristics of tumors were recorded from the oncological reports of patients hospitalized in three hospitals: Public hospital of Oran, Military hospital of Oran, Public hospital of Sidi Bel Abbes.

Each patient gave written informed consent and the study was approved by our institutional review committee.

2.2 Immunohistochemistry

The formalin-fixed paraffin-embedded tumor tissue slides were first deparaffinized twice in xylene for 10 minutes each. The slides were hydrated twice in alcohols for 10 minutes each, washed once in H₂O for 5 minutes, incubated in target retrieval solution Citrate (pH 6.0) in a boiling water-bath for 50 minutes.

The slides were cooled for 20 minutes. Following washing in phosphate-buffered saline (PBS), slides were incubated with 3% hydrogen peroxide in methanol for 10 min to block endogenous peroxidase activity and washed again in H₂O for 5 minutes and then incubated with a blocking serum for 10 minute.

The slides were incubated, Monoclonal Mouse Anti Human Estrogen Receptor α (Dako; clone 1D5), Monoclonal Mouse Anti-Human Progesterone Receptor (Dako; clone PgR 636), Monoclonal Mouse Anti-Human HER2-pY-1248 (Dako, clone PN2A); with a dilution of 1: 100, 1: 100, 1:100 respectively for 1 hour, washed in PBS for 5 minutes then incubated in secondary antibody (Dako REAL™ EnVision™ Detection System) at room temperature for 30 minutes. The slides were washed and developed in 3, 30-diaminobenzidine (Peroxidase_DAB, Rabbit_Mouse purchased from Dako.) under microscopic observation. The reaction was stopped in tap water and the tissues were counterstained with Mayer's hematoxylin, dehydrated, and mounted. The images were taken using Leica DFC 280 (Leica DM LB2). The evaluation of the IHC was conducted blindly by H.B and H.J.B.

2.3 Immunohistochemistry Scoring and Molecular Subtype Classification

The classification of positive immunoreactivity in tumor cells was carried out according to the

percentage of immunopositive cells: <10% was classified as negative and > 10% as positive for ER and PR nuclear markers. Membranous immunoreactivity of HER2 was scored as follow: 0 and 1+ indicates negative; 2+, indeterminate; and 3+, positive for overexpression.

We defined breast cancer molecular subtypes as follow:

Luminal A (ER+, PR+/-, HER2-), luminal B (ER+, PR+/-, HER2+), Triple negative (ER-, PR-, HER2-), HER2+(ER-, PR-, HER+).

2.4 Statistical Analysis

For statistical analysis, metastasis free survival (MFS) curves were estimated using the Kaplan-Meier method, the MFS follow-up times were measured from the date of diagnosis till the first occurrence of distant metastases. Median follow up, MFS after 5 years, its 95% confidence interval (CI) and median survival time were assessed. Statistical significance was determined with $P < .05$. The statistical analyses were performed with SPSS, version 20.0 (SPSS, Inc., Chicago IL).

3. RESULTS

3.1 Patients and Tumors Clinical Features

In the cohort of 829 tumors, 422 (62%) were from patients with lymph node – positive disease, and 11% had distant metastasis at diagnosis. The patients were aged 25- 88 years with a mean age of 50.66 and the median age of 49 years. The tumor histological types were as follows: 652 (83%) cases were of ductal carcinoma and 93 (12 %) cases of lobular carcinoma. Twenty three percent of the patients had stage 4, 15% had stage 3, 48% had stage 2 and 14% had stage 1 disease at the time of diagnosis. The SBR grade I (low grade) was found in 29 (4%) cases, 409 (55%) patients had a intermediated SBR grade II, and 299 (41%) cases were high stage III (Table 1). Table 2 summarizes differences in clinicopathological features between molecular subtypes, the distribution of the molecular subtypes was as follow: 283 (41.86%) luminal A, 102 (15.09%) luminal B, 91 (13.46%) HER2+ and 200 (29.58%) triple negative breast cancer (TNBC). There was not a significant difference in the median age at diagnosis among the breast cancer subtypes. Data for histological type were obtained for 688 patients, Ductal breast cancer was the most common between all molecular breast cancer subtypes in particular luminal A (39.6%). Molecular subtypes differed significantly by axillary lymph node status ($P= 0.038$). For SBR Grade, stage II was more

common in luminal A subtype (47.4%), while stage III was at 35.1%, 15.3%, 33.2% and 16.4% in luminal A, luminal B, TNBC and HER2+ subtypes respectively (Table 2).

Among a total set of 829 patients we performed a metastasis free survival curve on 738 patients, median follow up was 23.21 month. MFS after 5 years was 70% (95CI = [0.62–0.78]), we also estimated more than 11 years (138.6 months) the median survival time (Fig. 1).

Kaplan–Meier metastasis-free survival (MFS) curves (plain line) of the 738 breast cancer patients are presented with 95% confidence intervals (dashed line).

The 5-year MFS was 70% (95CI=[0.62-0.78]); 50% survival time (months) was 138.6 and the follow-up median (months) was 23.21.

3.2 Overview of Systemic and Local Therapies

709 (85.52%) patients received systemic chemotherapy (12.83%) and (95.20%) in the neoadjuvant and adjuvant settings, respectively. For their primary BC, 410 patients (52%) received cranial radiation (XRT), 117(14.11%). Herceptine targeted therapy and 222 (27%) received hormonal therapy.

4. DISCUSSION

This study conducted on Algerian breast cancer patients analyzed the epidemiological, clinical and outcome associated with breast cancer. The current study represents a large retrospective review of 829 patients diagnosed with primary breast cancer over 5-years period (2008 – 2013).

4.1 Breast Cancer Epidemiology

The epidemiological results of our 829 patients allowed us to observe that women with breast cancer in Algeria are younger than women with breast cancer in other countries such as United States [7] with 17.23% of patients under 40 years in our study against 6.6% in United states. The median age from our study is like that found in Sub Saharan Africans women (40-49 years) and Tunisia (47 years) [8,9] and is in contrast with the median age found in american and spanish women (61 and 59.6 years respectively) [10,11]. In terms of the average age found in our study it was the same as found in Tunisia (50 years) [12]. Our findings also demonstrate that breast cancer in Algeria had an aggressive behavior_because of it great proportions of pathological axillary lymph node, high SBR grade and the pathological tumor size. In current study breast cancer affected postmenopausal

patients (56.46%), this support studies in west countries and Asia [13,14] demonstrating that a large weight gains after the age of 18 is considered as a strong risk factor for breast cancer in postmenopausal women [15], for other countries (Tunisia [16], Egypt [17]) premenopausal women with breast cancer seems to be more common. Regarding SBR grade, patients were at 96% of aggressive stages (II, III) compared with those with SBR I (4%) this proves that most of patients were presented in advanced breast cancer stage, this result is in agreement with other studies [18,19] unlike European women who present when

the disease is still in its early stage and according to the North American Surveillance, Epidemiology, and End Results Program database reveals that 60% of breast cancers are diagnosed at stages 1 and 2 [20,21], this should lead Algerian government to intensify screening and prevention program against breast cancer. In our cohort the MFS rate for 5 years was 70% (95 CI, 0.62- 0.78) while 61% (95 CI, 0.58-0.64) in other study [22]. For the median follow-up our finding is in line with others [23], it can be explained by the lost of sight of patients, when it is at 79 months in other report [24].

Table 1. Clinicopathological features of 829 breast cancers patients

Var	Mod	N (%)
Age (median year, min-max)		49 (25-88)
Organ	Bilateral	10 (1%)
	Right	355 (50%)
	Left	348 (49%)
Tumor_type	IBC	33 (6%)
	NIBC	519 (94%)
T	T1	75 (14%)
	T2	264 (48%)
	T3	85 (15%)
	T4	130 (23%)
N	0	270 (50%)
	1	267 (50%)
M	0	370 (89%)
	1	48 (11%)
Histological type	Other	37 (5%)
	Ductal	652 (83%)
	Lobular	93 (12%)
SBR Grade	I	29 (4%)
	II	409 (55%)
	III	299 (41%)
Pathological axillary lymph node	Negative	254 (38%)
	Positive	422 (62%)
Pathological tumor size	pT1	216 (42%)
	pT2	253 (49%)
	pT3	43 (8%)
PR	Negative	370 (49%)
	Positive	378 (51%)
ER	Negative	337 (45%)
	Positive	414 (55%)
HER2	Negative	503 (71%)
	Positive	207 (29%)
Hormonal receptors	HR+/HER2-	260 (39%)
	HER2+	207 (31%)
	TN	202 (30%)
Radiotherapy	No	385 (48%)
	Yes	410 (52%)
Hormone therapy	No	604 (73%)
	Yes	222 (27%)
5-Year Metastasis-free survival (n=738)		70%, 95CI = [0.62-0.78]
Follow-up median (months)		23,21

Table 2. Correlation between breast cancer molecular subtypes and patient’s clinicopathological features

		Luminal A N (%)	Luminal B N (%)	Triple negative N (%)	HER2+ N (%)	P-value
Median Age N= 195		48 (24,61%)	46 (23,58%)	53 (27,17%)	48(24,61%)	0,908
Histological type N=688	Ductal	229 (39.6%)	90 (15.5%)	185 (32.0%)	75 (13.0%)	0,133
	Lobular	36 (47.4%)	7 (9.2%)	21(27.6%)	12 (15.8%)	
	Other	13 (39.4%)	3 (9.1%)	16 (48.5%)	1 (3.0%)	
Pathological axillary lymph node N=587	Negative	94 (42.5%)	19 (8.6%)	78 (35.3%)	30 (13.6%)	0,038
	Positive	158 (43.2%)	59 (16.1%)	102 (27.9%)	47 (12.8%)	
SBR grade N= 628	I	9 (45.0%)	1 (5.0%)	8 (40.0%)	2 (10.0%)	0,06
	II	164 (47.4%)	49 (14.2%)	91 (26.3%)	42 (12.1%)	
	III	92 (35.1%)	40 (15.3%)	87 (33.2%)	43 (16.4%)	

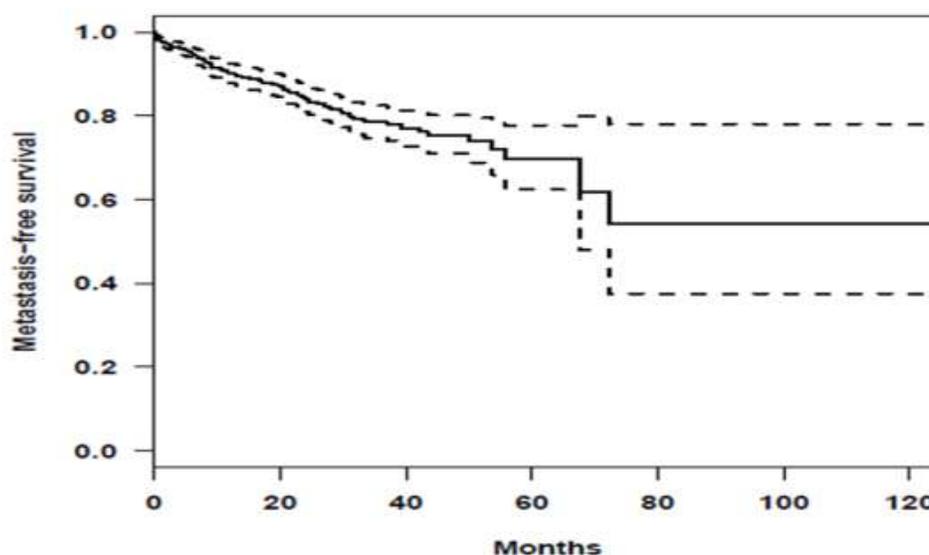


Fig. 1. Metastasis-free survival in 738 breast cancer patients

4.2 Molecular Subtypes Associations with Clinicopathological Parameters

The molecular subtypes distribution among West Algerian women is similar to that found on Tunisian population by Fourati A et al. [25] who have shown that proportion of Luminal A was 50.7%, TNBC 22.5%, Luminal B 13.4% and HER2+13.4%, interestingly different results have observed a highest proportion of luminal A and luminal B subtypes in European and Asian populations [11,26] while in Mali TNBC subtype was predominant at 46.49% [27]. According to our results the mean and median age at diagnosis in West Algerian cohort were 50,6 and 49 years respectively. These results are low and may be due to the high prevalence(in our cohort) of TNBC and inflammatory breast cancer (IBC) representing breast cancer molecular subtype and clinical entity known to be associated with a younger age whereas in other previous study women with the lowest mean

age were diagnosed with an ER+ and/or PR+ and HER2+^[11], in addition Bhargava et al. [28] have found that median age represents some differences with those found in our study : 53 years in Luminal A, 47, 49 and 48 years in Luminal B, Triple negative and HER2+ respectively. Concerning histological type, invasive ductal cancer was predominant in all molecular subtypes in our cohort followed by invasive lobular cancer, these findings are in agreement with the study conducted by Carey LA et al [29], However there are differences in axillary lymph node positivity by molecular subtypes and interestingly Luminal A tumors had a greater proportion in lymph node positivity than the other tumors which is not the case in another study [30]. Concerning SBR grade distribution between molecular subtypes, we interestingly observed that intermediate and late stages (Grade II and III) seem to be more frequent in Luminal A than in the other subtypes, our findings are the same as noted in Nottingham [31].

In summury we have shown that breast cancer in Algeria had an aggressive behavior and affect young women this will lead Algerian government to better organize breast cancer screening, we than establish the association of molecular breast cancer subtypes with some clinicopathological parameter among west Algerian patients.

To our knowledge this is the first study in West Algeria that realize an epidemiological study and association of molecular breast cancer subtypes with some clinicopathological parameter on patients hospitalized in three public hospitals: Public hospital of Oran, Military hospital of Oran, Public hospital of Sidi Bel Abbes.

5. CONCLUSION

This report document the clinicopathological experience of breast cancer subtypes in our institution. Our results suggest that most breast cancer subtypes characteristics in West Algerian patients are in accordance with literature data.

Molecular breast cancer subtypes have distinct behavior, Triple negative breast cancer subtype is found in large proportion in our study known to be associated with younger age. This classification could be useful in the clinical practice allowing for more accurate prognosis in breast cancer patients.

ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the team of oncology unit at the Hassani Abdelkader University Hospital for its help for the extraction of the data.

COMPETING INTERESTS

Authors have declared that no competing interests exist.

REFERENCES

- Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global Patterns of Cancer Incidence and Mortality Rates and trends. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*. 2010;19(8):1893-1907.
- Ferlay J, Autier P, Boniol M, Heanue M, Colombet M, Boyle P. Estimates of the cancer incidence and mortality in Europe in 2006. *Annals of Oncology*. 2007;18(3):581–592.
- Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JW, Comber H, et al. Incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European Journal of Cancer*. 2013;49(6):1374-1403.
- Rodriguez-Cuevas S, Macias CG, Franceschi D, Labastida S. Breast carcinoma presents a decade earlier in Mexican women than in women in the United States or European countries. *Cancer*. 2001;91(4):863-8.
- Cherbal F, Bakour R, Adane S, Boualga K, Benais-Pont G, Maillet P. BRCA1 and BRCA2 germline mutations screening in Algerian breast / ovarian cancer families. *Disease Markers*. 2010;28(6):377–384.
- WHO Global InfoBase: The Impact of Cancer in Algeria. Available:<http://www.who.int/infobase/report.aspx?iso=DZA>
- Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleye A. Breast cancer before age 40 years. *Semin Oncol*. 2009;36(3):237-49.
- Fregene A, Newman LA. Breast cancer in sub-Saharan Africa: How does it relate to breast cancer in African- American women? *Cancer*. 2005;103(8):1540-1550.
- Ben Abdelkrim S, Trabelsi A, Missaoui N, Beizig N, Bdioui A, Anjorin A, et al. Distribution of molecular breast cancer subtypes among Tunisian women and correlation with histopathological parameters: A study of 194 patients. *Pathol Res Pract*. 2010;206(11):772-775.
- Altekruse SF, Kosary CL, Krapcho M, Neyman N, Aminou R, Waldron W, et al. SEER cancer statistics review, 1975–2007. Bethesda, MD: National Cancer Institute ; 2010.
- Puig-Vives M, Sánchez MJ, Sánchez-Cantalejo J, Torrella-Ramos A, Martos C, Ardanaz E, et al. Distribution and prognosis of molecular breast cancer subtypes defined by immunohistochemical biomarkers in a Spanish population- based study. *Gynecol Oncol*. 2013; 130(3):609-614.
- Maalej M, Frikha H, Ben Salem S, Daoud J, Bouaouina N, Ben Abdallah M, et al. Breast cancer in Tunisia: Clinical and epidemiological study. *Bull Cancer*. 1999;86(3):302-6.
- Sariego J, Zrada S, Byrd M, Matsumoto T. Breast cancer in young patients. *American Journal of Surgery*. 1995;170(3):243–245.
- Leong SPL, Shen ZZ, Liu TJ, Agarwal G, Tajima T, Paik NS, et al. Is breast cancer the same disease in Asian and western countries? *World J Surg*. 2010;34(10):2308–2324.
- Bray F, McCarron P, Maxwell Parkin D. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast Cancer Research*. 2004;6(6):229-239.

16. Ayadi L, Khabir A, Amouri H, Karray S, Dammak A, Geurmazi M, et al. Correlation of HER-2 over-expression with clinicopathological parameter in TUNISIAN breast carcinoma. *World Journal of Surgical Oncology*. 2008;6(112):1-8.
17. Omar S, Khaled H, Gaafar R, Zekry AR, Eissa S, El -Khatib E. Breast cancer in Egypt: A review of disease presentation and detection strategies. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 2003;9(3):448-463.
18. Chasib TJ, Al-Hawaz M, Jasim NH. Evaluation of the estrogen and progesteron receptors in female breast cancer in respect to age, grade and stage. *Bas J Surg*. 2013;19(2):9-18.
19. Ben Abdallah M, Zehani S, Maalej M, Hsairi M, Hechiche M, Ben Romdhane K, et al. Breast cancer in Tunisia: epidemiologic characteristics and trends in incidence. *Tunis Med J*. 2009;87(7):417-25.
20. Grosclaude P, Colonna M, Hedelin G, Tretarre B, Arveux P, Lesech JM, et al. Survival of women with breast cancer in France: Variation with age, stage and treatment. *Breast Cancer Research and Treatment*. 2001;70(2):137-143.
21. Siegel R, DeSantis C, Virgo K, Stein K, Mariotto A, Smith T, et al. Cancer treatment and survivorship statistics. *CA Cancer J Clin*. 2012;62(4):220-41.
22. Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6(7):5449-64.
23. Turker I, Uyeturk U, Sonmez OU, Oksuzoglu B, Helvacı K, Yalcintas Arslan U, et al. Detection of circulating tumor cells in breast cancer patients: Prognostic predictive role. *Asian Pacific J Cancer Prev*. 2013;14(3):1601-1607.
24. Leissner P, Verjat T, Bachelot T, Paye M, Krause A, Puisieux A, et al. Prognostic significance of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 mRNA expression in lymph node and hormone receptor-positive breast cancer. *BMC Cancer*. 2006;31(6):216.
25. Fourati A, Boussen H, El May MV, Goucha A, Dabbabi B, Gamoudi A, et al. Descriptive analysis of molecular subtypes in Tunisian breast cancer. *Asia Pac J Clin Oncol*. 2014;10(2):69-74.
26. Clarke CA, Keegan TH, Yang J, Press DJ, Kurian AW, Patel AH, et al. Age-specific incidence of breast cancer sub subtypes: Understanding the black-white crossover. *J Natl Cancer Inst*. 2012;104(14):1094-1101.
27. Ly M, Antoine M, Dembélé AK, Levy P, Rodenas A, Touré BA, et al. High incidence of triple-negative tumors in sub-Saharan Africa: A prospective study of breast cancer characteristics and risk factors in Malian women seen in a Bamako University Hospital. *Oncology*. 2012;83(5):257-263.
28. Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, Ozbek U, Soran A, Johnson RR, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predictsn response to neoadjuvant chemotherapy. *Cancer*. 2010;116(6):1431-1439.
29. Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the carolina breast cancer study. *JAMA*. 2006;295(21):2492-2502.
30. Chengshuai S, Yiting J, Hongying W, Qiang Z. Association between molecular subtypes and lymph node status in invasive breast cancer. *Int J Clin Exp Pathol*. 2014;7(10):6800-6806.
31. Bane AL, Whelan TJ, Pond GR, Parpia S, Gohla G, Fyles AW, et al. Tumor factors predictive of response to hypofractionated radiotherapy in a randomized trial following breast conserving therapy. *Ann Oncol*; 2014.

II.1.1 MATERIELS ET METHODES

II.1.1.1 Patientes

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective portée sur 829 patientes diagnostiquées avec un cancer du sein entre janvier 2008 et Décembre 2013. Nous avons recueilli les données cliniques au niveau des services d'oncologie de trois hôpitaux du nord ouest de l'Algérie: Centre Hospitalier Universitaire d'Oran, Centre Hospitalier Universitaire Hassani Abdelkader de Sidi bel Abbes et l'Hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO).

II.1.1.2 Prélèvements et traitements

829 tumeurs ont été recueillies auprès des patientes atteintes de cancer du sein et ayant subi une mastectomie au niveau du Centre Hospitalier Universitaire d'Oran, du centre Hospitalier Universitaire Hassani Abdelkader de Sidi bel Abbes et de l'Hôpital militaire régional d'Oran.

Ces prélèvements de tumeurs ont été inclus en paraffine et les blocs de tumeurs ainsi obtenus ont été découpés au microtome et ont fait l'objet d'une étude histologique et immunohistochimique.

II.1.1.2.1 Fixation, inclusion en paraffine et coupe

Les prélèvements ont été fixés dans du formol à 10%, tamponné à la neutralité, pendant 24 heures ou plus et inclus en paraffine.

Des coupes sériées de 2 micromètres d'épaisseur de chaque tumeur ont été réalisées à l'aide d'un microtome et après récupération en milieu liquide (bain-Marie à 40°C) étalées sur des lames silanisées puis séchées à l'étuve à 56°C pendant 12 heures.

II.1.1.2.2 Coloration à l'Hémalun-Eosine

Pour chaque prélèvement, une des coupes a été colorée à l'Hémalun-Eosine afin d'établir le type histologique exact de la tumeur sur les critères histologiques standards.

II.1.1.3 Technique immunohistochimique (IHC)

II.1.1.3.1 Anticorps primaires:

Différents anticorps ont ainsi été utilisés avec leurs dilutions correspondantes:

- Un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur de l'oestrogène α (Dako; clone 1D5). **Dilution: 1/100**
- Un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur de la progestérone (Dako; clone PgR 636). **Dilution: 1/100**
- Un anticorps monoclonal dirigé contre HER2 (Dako, clone PN2A). **Dilution: 1/100**

II.1.1.3.2 Protocole de la technique IHC sur tumeurs

- Déparaffinage : les lames sont déparaffinées dans quatre bains successifs de xylène (4 fois pendant 5 minutes) puis réhydratées dans deux bains successifs d'acétone (2 fois pendant 5 minutes) et dans de l'eau courante pour 5 minutes.

-Les lames sont incubées dans la solution de démasquage (target retrieval solution Citrate pH 6.0. Ref S1699) dans un bain Marie bouillant pendant 50 min, puis elles sont déposées pour refroidir à température ambiante pendant 20 minutes et rincées à l'aide de Tampon Phosphate Salin (PBS. Ref. S3024 ; Dako, France)

- Inhibition de la peroxydase endogène: l'activité peroxydase endogène est inhibée par incubation des coupes dans une solution de méthanol à 1% de peroxyde d'hydrogène (30 Volumes) pendant 30 minutes puis rincée à l'eau pendant 5 minutes.

-Cerclage des coupes au stylo DakoPen (Dako SA, Trappes, France).

-Incubation avec les anticorps primaires: les anticorps primaires sont appliqués aux dilutions indiquées précédemment, pendant 1 heure. Il faut compter environ 250 microlitres d'anticorps dilué par lame ; ensuite on effectue quatre rinçages de 5 minutes dans du PBS.

- Incubation avec l'anticorps secondaire (HRP lapin/souris, Dako real envision; Réf.K5007, Dako, France) à température ambiante pendant 30 minutes.

- Révélation de l'activité peroxydase par application du chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB) pendant 15 à 20 minutes (Réf.K5007, Dako, France). Puis on rince à l'eau. Ce chromogène est oxydé par la peroxydase et donne un précipité brun insoluble dans l'eau et les solvants organiques

-Contre coloration avec l'Hématoxyline de Mayers pendant 15 secondes. Les noyaux se colorent en bleu.

- Montage avec lamelles dans un medium de montage permanent et aqueux (Micromount mounting medium ; Labonord, France).

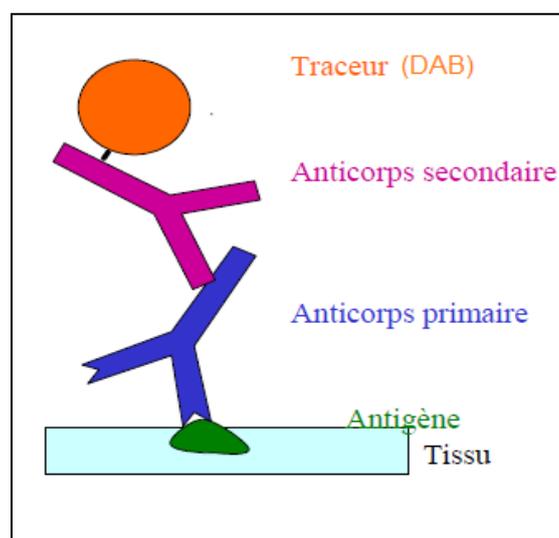


Figure 12. Principe de la technique immunohistochimique indirecte

II.1.1.3.3 Evaluation du statut immunohistochimique

La lecture des lames a été faite séparément par deux médecins anatomopathologistes, la classification des cellules tumorales a été établie en se basant sur le pourcentage des cellules immunopositives :

- ✓ <10% étaient classées comme négatives et > 10% comme positives pour des marqueurs nucléaires ER and PR
- ✓ L'immunoréactivité membranaire du HER2: 0 et 1+ marquage absent (à faible); 2+, marquage intermédiaire ; and 3+, marquage positif avec surexpression.

II.1.1.4 Définition des sous types moléculaires

Les sous types moléculaires du cancer du sein ont été définis sur la base de l'expression immunohistochimique des récepteurs hormonaux (RE, RP) et de HER2 :

Luminal A (ER+, PR+/-, HER2-),

Luminal B (ER+, PR+/-, HER2+),

Triple négatif (ER-, PR-, HER2-),

HER2+ (ER-, PR-, HER2+).

II.1.1.5 Analyses statistiques

Nous avons pu décrire les caractéristiques clinicopathologiques de cette population et réaliser une courbe de la survie sans métastase. Ensuite nous nous sommes intéressés au mode de distribution des sous types moléculaires du cancer du sein chez ces patientes issues de la région Nord Ouest de l'Algérie. Des corrélations entre les données histocliniques des patientes et de leurs tumeurs correspondantes et les sous-types moléculaires de cancer du sein ont été établies.

La survie sans métastase a été estimée en utilisant la méthode de Kaplan-Meier. Le seuil de significativité des tests retenu est le seuil classique de 5 %, les intervalles de confiance des moyennes sont à 95% (IC95%). Les analyses statistiques ont été réalisées avec la version du logiciel SPSS 20.0 (SPSS, Inc., Chicago IL, USA)

Les valeurs de $p < 0.005$ ont été considérées comme statistiquement significatives.

II.1.2 RESULTATS

II.1.2.1 CARACTERISTIQUES HISTOCLINIQUES ET MOLECULAIRES DES TUMEURS MAMMAIRES

Nous avons mené une étude épidémiologique rétrospective sur 829 patientes issues de la région du Nord Ouest de l'Algérie. Nous avons ainsi relevé des caractéristiques histocliniques et moléculaires des tumeurs mammaires. **Le tableau « 3 »** résume les caractéristiques clinicopathologiques des 829 patientes présentant un cancer du sein.

Les patientes étaient âgées de 25 à 88 ans, l'âge moyen de survenu du cancer du sein est de 50,66 et l'âge médian est de 49 ans (**Tableau 3**). Plus de la moitié (52.72%) de ces patientes étaient préménopausées au moment du diagnostic (**Figure 13**), les femmes dont l'âge est compris entre 40 et 50 ans étaient les plus représentées (**Figure 14**), notons que 7.23% des patientes sont des femmes jeunes (< 35 ans). Parmi les 829 patientes, 422 (62 %) d'entre elles présentaient une infiltration des ganglions axillaires, et 11 % avaient des métastases à distance au moment du diagnostic.

Tableau 3. Caractéristiques clinicopathologiques des 829 patientes atteintes de cancer du sein

Paramètres clinicopathologiques		N (%)
Age (Age médian)		49 (25-88)
Organe (n=713)	Bilatéral	10 (1%)
	Droit	355 (50%)
	Gauche	348 (49%)
Type tumoral (inflammatoire) (n=552)	IBC	33 (6%)
	NIBC	519 (94%)
T (n=554)	T1	75 (14%)
	T2	264 (48%)
	T3	85 (15%)
	T4	130 (23%)
N (n=537)	0	270 (50%)
	1	267 (50%)
M (n=418)	0	370 (89%)
	1	48 (11%)
Type Histologique (n=782)	Autre	37 (5%)
	canalaire	652 (83%)
	Lobulaire	93 (12%)
Grade SBR (n=737)	I	29 (4%)
	II	409 (55%)
	III	299 (41%)
Infiltration ganglionnaire (n=676)	négative	254 (38%)
	positive	422 (62%)
Taille pathologique de la tumeur (n=512)	pT1	216 (42%)
	pT2	253 (49%)
	pT3	43 (8%)
RP (n=748)	négatif	370 (49%)
	positif	378 (51%)
RE (n=751)	négatif	337 (45%)
	positif	414 (55%)
HER2 (n=710)	négatif	503 (71%)
	positif	207 (29%)
Statut immunohistochimique (RE, RP, HER2) (n=669)	RH+/HER2-	260 (39%)
	HER2+	207 (31%)
	TN	200 (30%)
Radiothérapie (n=795)	non	385 (48%)
	oui	410 (52%)
Hormonothérapie (n=826)	non	604 (73%)
	oui	222 (27%)
Survie sans métastase à 5 ans (n=738)		70%, 95CI = [0.62-0.78]
La médiane du suivi (Mois)		23,21

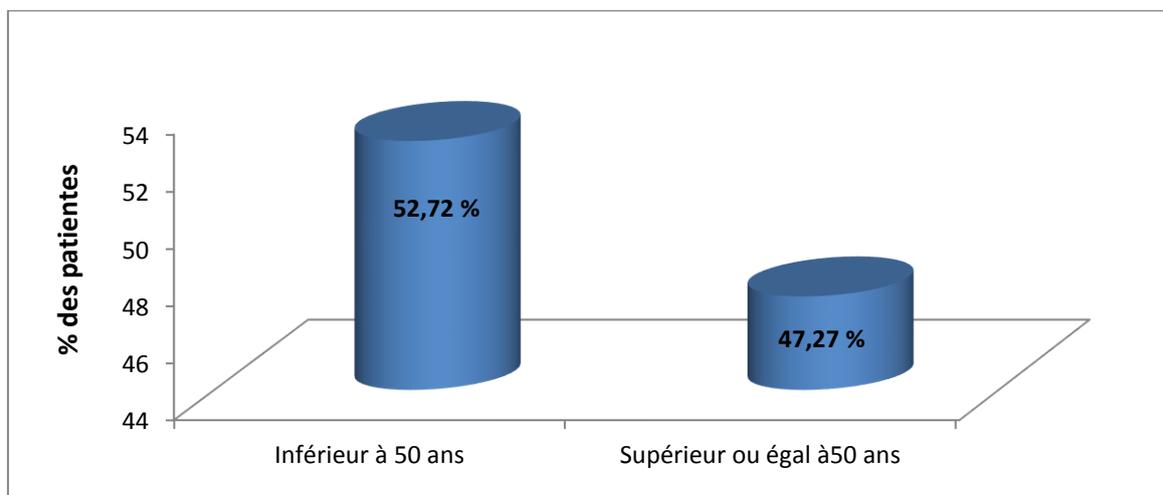


Figure 13. Répartition des cancers du sein selon l'âge des patientes.

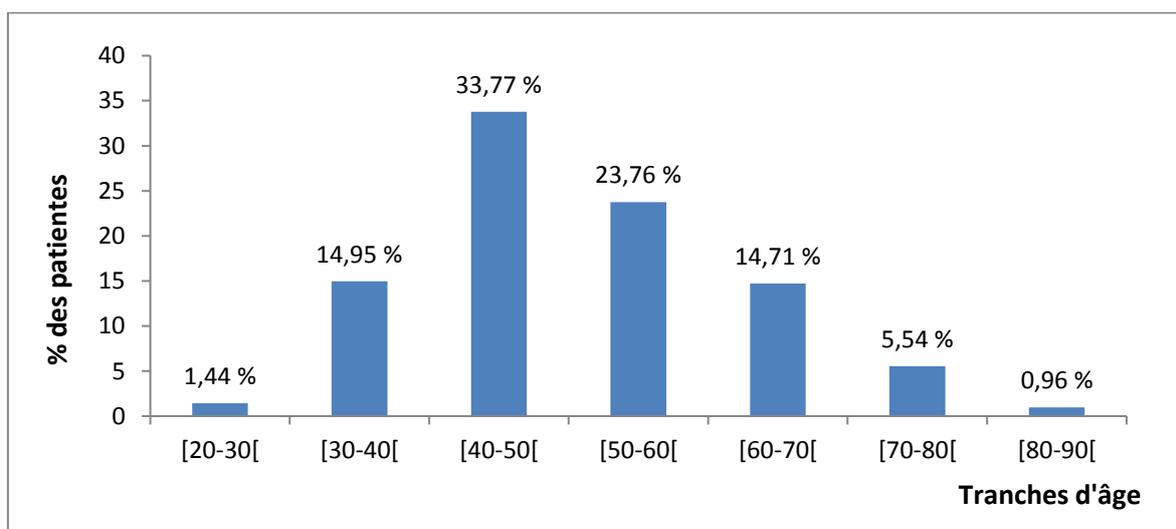


Figure 14. Distribution de la fréquence de cancer du sein selon les tranches d'âge

Les tumeurs issues des 829 patientes atteintes du cancer du sein étaient principalement de type histologique canalaire (83%) suivi des carcinomes lobulaires (12%), les autres types histologiques étaient représentés par une faible fréquence (5%) (Figure 15).

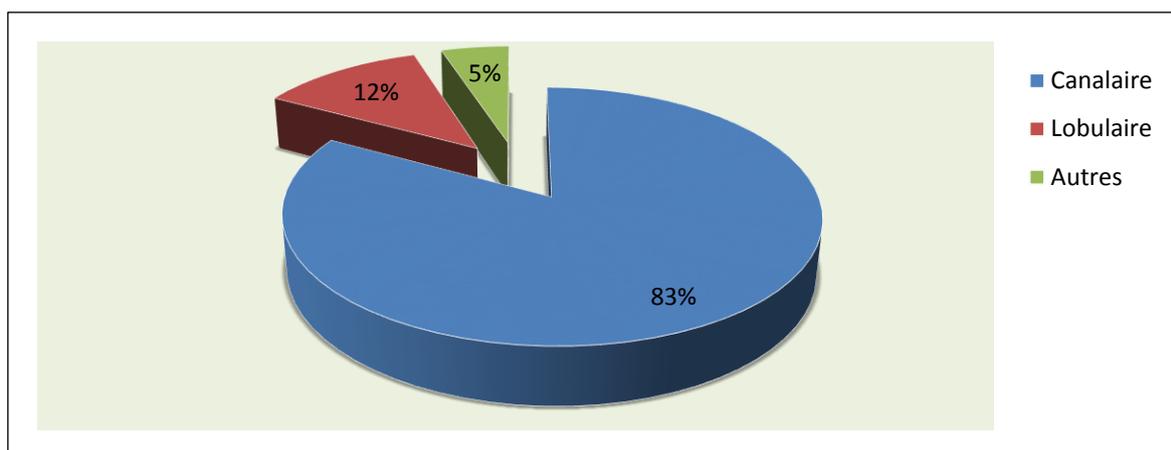


Figure 15. Répartition des cancers du sein selon le type histologique

La taille tumorale est un des paramètres majeurs concernant l'évolution du cancer du sein, nous avons noté un pourcentage élevé des tumeurs classées T₂ (48%), suivi des tumeurs T₄ (23%). Les tumeurs classées T₃ et T₁ sont représentées par des fréquences de 15% et 14% respectivement.

Le grade histologique des tumeurs est un paramètre biologique témoin du stade de la maladie. Dans notre étude le grade histologique intermédiaire (Grade SBR II) a été retrouvé dans 409 tumeurs (55%). 299 tumeurs (41%) présentaient un grade SBR élevé (Grade SBR III). Le grade SBR I (Bas grade) n'a été retrouvé que dans 29 tumeurs (4%) (**Tableau 3**).

Quant à la détermination du statut hormonal près de la moitié des patientes présentaient des tumeurs exprimant des récepteurs hormonaux (ER+ et PR+) avec des proportions respectives de 55% et 51%. 71% des tumeurs n'exprimaient pas le récepteur HER2 et 30% n'exprimaient ni le ER ni le PR ni le HER2. 709 patientes (85,52%) ont reçu une chimiothérapie adjuvante dès leur admission au service d'oncologie et 12,83 % ont bénéficié de chimiothérapie néoadjuvante. 410 patientes (52 %) ont été traité par radiothérapie alors que seulement 117 patientes (14,11%) étaient sous Herceptine et seulement 222 (27%) ont reçu un traitement hormonal. (**Figure 16**).

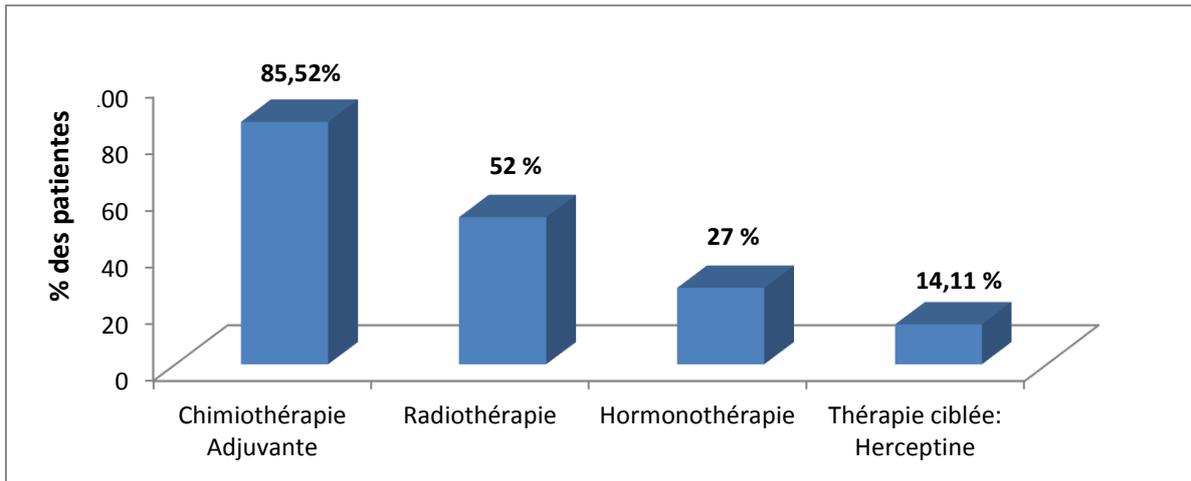


Figure 16. Répartition des patientes selon le type de thérapie administrée

Nous avons effectué une courbe de survie sans métastase sur 738 patientes, le suivi médian était de 23,21 mois. La survie sans métastase après 5 ans était de 70 % (95CI= [0,62 - 0,78]), nous avons également estimé à plus de 11 ans (138,6 mois) la médiane de survie (Figure 17).

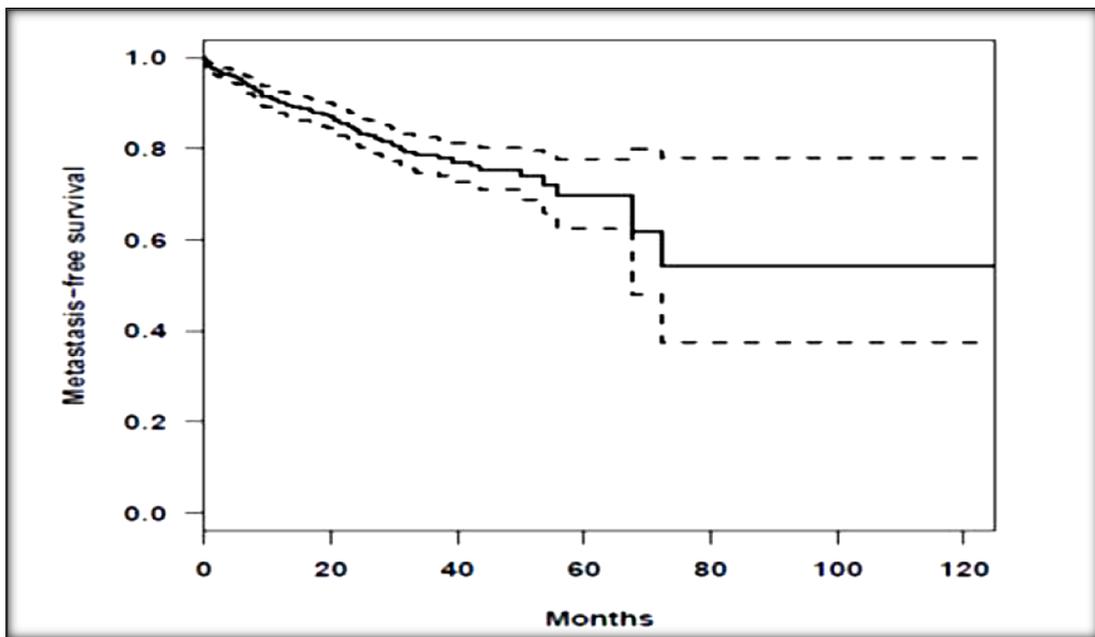


Figure 17. Courbes de survie sans métastase des 738 patientes atteintes du cancer du sein

Courbe Kaplan–Meier de la survie sans métastase (MFS) (Ligne continue).
Intervalle de confiance à 95% (Ligne discontinue).

II.1.2.2 DISTRIBUTION DES SOUS TYPES MOLECULAIRES DES CANCERS DU SEIN ET LEUR CORRELATION AVEC LEURS CARACTERISTIQUES HISTOCLINIQUES ET MOLECULAIRES

L'analyse moléculaire du profil d'expression génique des cancers du sein est loin d'être réalisable en routine. De ce fait, nous nous sommes proposés d'aborder une nouvelle classification moléculaire des cancers du sein par une approche immunohistochimique, validée comme technique substitutive à l'analyse par microarray.

Dans cette étude nous avons procédé au sous typage des cancers du sein et avons établi le profil immunohistochimique de 676 tumeurs. Cette analyse a permis d'identifier pour chaque tumeur le sous type moléculaire en fonction de son profil immunohistochimique (étude des récepteurs hormonaux et du statut de l'oncogène HER2).

Nous avons classé ces carcinomes en 4 sous types moléculaires : Luminal A, Luminal B, HER2 positif (HER2+) et triple négatif (TNBC). Les distributions étaient comme suit : 283 Luminal A (41.86%), 102 luminal B (15.09%), 91 (13.46%) HER2+ et 200 TNBC (29.58%). Dans un second temps, nous avons corrélé ces sous types moléculaire aux différentes caractéristiques histocliniques.

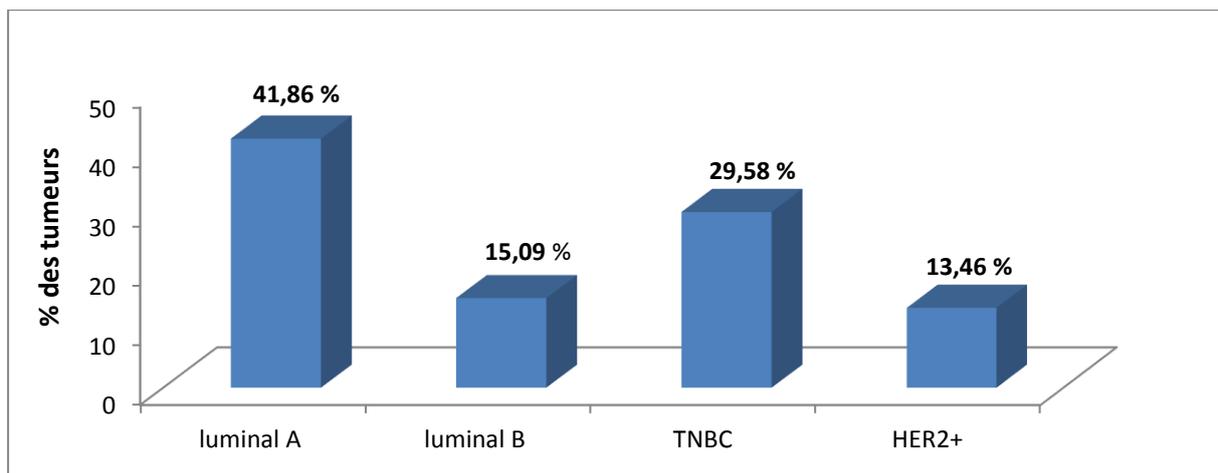


Figure 18. Distribution des cancers du sein par sous type moléculaire

L'analyse des sous types moléculaires des cancers du sein a montré que les tumeurs de sous types Luminal A, Luminal B et HER2 étaient retrouvées avec un pourcentage élevé chez les patientes préménopausées, le sous type Triple négatif affectait principalement les femmes de plus de 50 ans (**Figure 19**).

L'analyse des sous types moléculaires du cancer du sein a montré une corrélation significative ($P=.038$) avec le statut ganglionnaire (**Tableau 4**). L'absence d'infiltration ganglionnaire était particulièrement associée aux tumeurs de sous types moléculaire luminal A (42.5%) et les tumeurs triples négatives (35.3%).

L'absence de micro métastases était très faiblement représentée dans les tumeurs de sous types Luminal B (8.6%) et HER2+ (13.6%) (**Tableau 4**). En examinant le groupe des patientes de sous type Luminal B nous avons noté que 75.64% d'entre elles se présentaient avec des infiltrations ganglionnaires axillaires (**Figure 20**).

Au sein des tumeurs lumineales, ce sont les tumeurs lumineales B qui présentaient une plus grande proportion de haut grade SBR (SBRIII) par rapport aux tumeurs lumineales A (44.44% versus 34.71% respectivement) (**Figure 21**).

A l'inverse, un grade SBRII était plus fréquemment retrouvé au sein des tumeurs lumineales A (47.4%) plutôt que pour les lumineales B (14.2%) (**Tableau 4**).

➤ **Le Sous-type luminal A :**

- La plupart des patientes présentant des tumeurs de sous-type luminal A :
- étaient pré-ménopausées (**Figure 19**).
 - 62.69% d'entre elles présentaient des métastases ganglionnaires axillaires au moment du diagnostic, soulignant ainsi un caractère significativement lymphophile occupant la deuxième position après les tumeurs de sous type luminal B (75.64%) (**Figure 20**).
 - 35.1% des patientes présentaient des tumeurs à haut grade SBR (Grade SBR III)(**Tableau 4**)
 - La taille tumorale moyenne au moment du diagnostic était de 29.8 mm

➤ **Le Sous-type luminal B :**

Dans notre série les tumeurs de sous type Luminal B représentaient 15.09% de l'ensemble de la population étudiée, la plupart des patientes présentant des tumeurs de sous-type luminal B :

- étaient pré-ménopausées (**Figure 19**)
- présentaient surtout un carcinome de type canalaire infiltrant (16.30%).
- Nous avons pu dénombrer presque autant de tumeurs pT2 que de tumeurs pT4 avec des pourcentages respectifs de 37.33% et 33.33%.
- 75.64% des tumeurs lumineuses B présentaient des métastases ganglionnaires axillaires occupant ainsi la première place en termes de lymphophilie.
- Ces tumeurs sont associées à des grades SBR élevés, à savoir grade SBR II (14.2%) et grade SBR III (15.3%) (**Tableau 4**).

➤ **Le Sous-type HER2+ :**

Le sous type moléculaire HER2-positif occupe la dernière position en termes de fréquence par rapport à la population étudiée avec un pourcentage de 13,46% de l'ensemble des tumeurs mammaires. La majorité des tumeurs de sous-type moléculaire HER2+ correspondait :

- A des patientes dont l'âge se situe entre 40 et 49 ans, avec un pourcentage de 61.36% de patientes pré ménopausées (**Figure 19**).
- Dans notre série, la majorité des tumeurs HER2+ sont de type pT2 avec un pourcentage de 57.14%.
- Ce sous type occupe l'avant dernière place en terme de lymphophilie avec un pourcentage de métastases ganglionnaires axillaires de l'ordre de 61.03% (**Figure 20**).
- Ces tumeurs sont associées à des grades SBR élevés, à savoir grade SBR II (48.27%) et grade SBR III (49.42%) (**Tableau 4**).

➤ **Le Sous-type « Triple Négatif » :**

Nous avons pu dénombrer dans notre série 200 tumeurs « triples négatives » ce qui représente un pourcentage de 29.58%.

- Les patientes étaient pour la plupart ménopausées (59.16%) contrairement aux autres sous types moléculaires (**Figure 19**).
- Dans notre série plus de la moitié des patientes (56.66 %) présentaient des métastases ganglionnaires axillaires au moment du diagnostic (**Figure 20**),
- Il y'a presque autant de tumeurs TNBC avec un SBR II (Grade intermédiaire) (26.3%) qu'avec un SBR III (Haut grade) (33.2%) (**Tableau 4**).

Lorsque les quatre sous types moléculaires sont corrélés aux facteurs pronostic à savoir à la taille tumorale, à l'infiltration ganglionnaire axillaire et au grade SBR il en ressort que le sous-type qui a le plus mauvais pronostic est le sous type luminal B ; en effet, ce dernier est très fréquemment associés à une taille tumorale T4 (33.33 %) par rapport aux autres sous-types, un haut grade SBR (44.44%) par rapport aux tumeurs luminal A et à la plus importante proportion d'infiltration ganglionnaire axillaire (75.64%) (**Figure 22**).

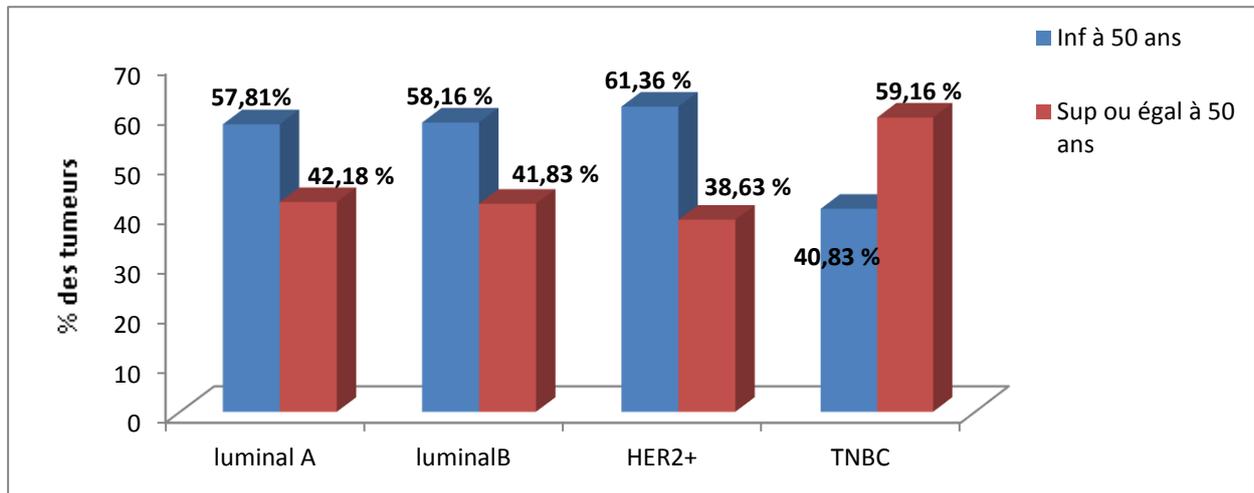


Figure 19. Répartition des sous types moléculaires selon l'âge

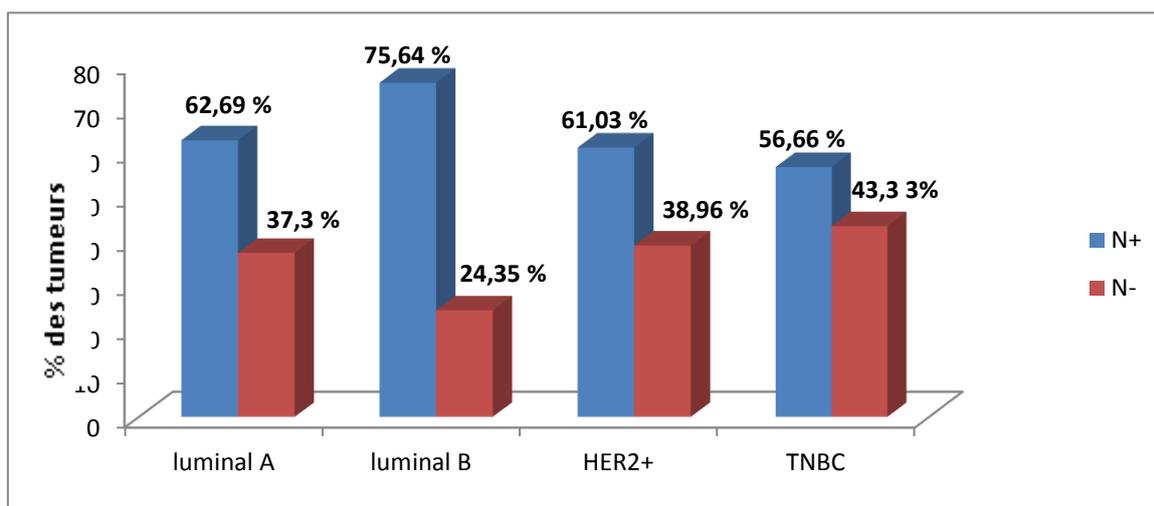


Figure 20. Représentation des sous types moléculaires selon l’envahissement ganglionnaire

Tableau.4 Corrélation entre les sous types moléculaires du cancer du sein et les paramètres clinicopathologiques

Paramètres clinico pathologiques		Luminal A 283(41.86%)	Luminal B 102(15.09%)	Triple Négatif 200(29.58%)	HER2+ 91(13.46%)	P- Value
Age Médian N=195		48(24,61%)	46(23,58%)	53(27,17%)	48(24,61%)	0,908
Types histologiques N= 688	Canalaire	229 (41.48%)	90(16.30%)	158(28.62%)	75(13,58%)	0,09
	Lobulaire	36(47,4%)	7(9,2%)	21(27,6%)	12(15,8%)	
	Autre	13(39,4%)	3(9,1%)	16(48,5%)	1(3,0%)	
Infiltration ganglionnaire N= 587	Négative	94(42,5%)	19(8,6%)	78(35,3%)	30(13,6%)	0,038
	Positive	158(43,2%)	59(16,1%)	102(27,9%)	47(12,8%)	
Grade SBR N=628	I	9(45,0%)	1(5,0%)	8(40,0%)	2(10,0%)	0,06
	II	164(47,4%)	49(14,2%)	91(26,3%)	42(12,1%)	
	III	92(35,1%)	40(15,3%)	87(33,2%)	43(16,4%)	

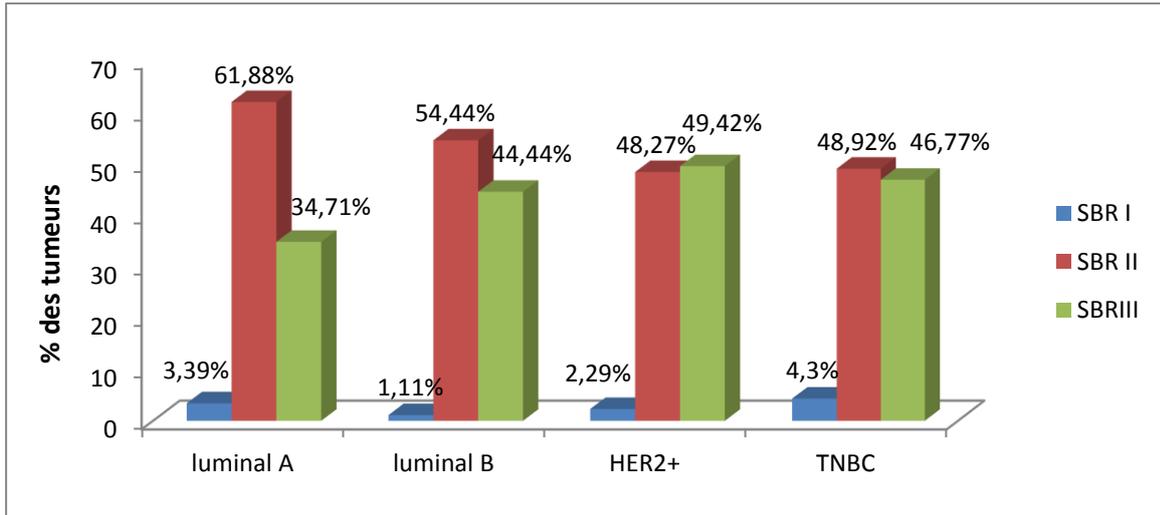


Figure.21 Représentation des sous types moléculaires selon le grade Scarff Bloom Richardson (SBR)

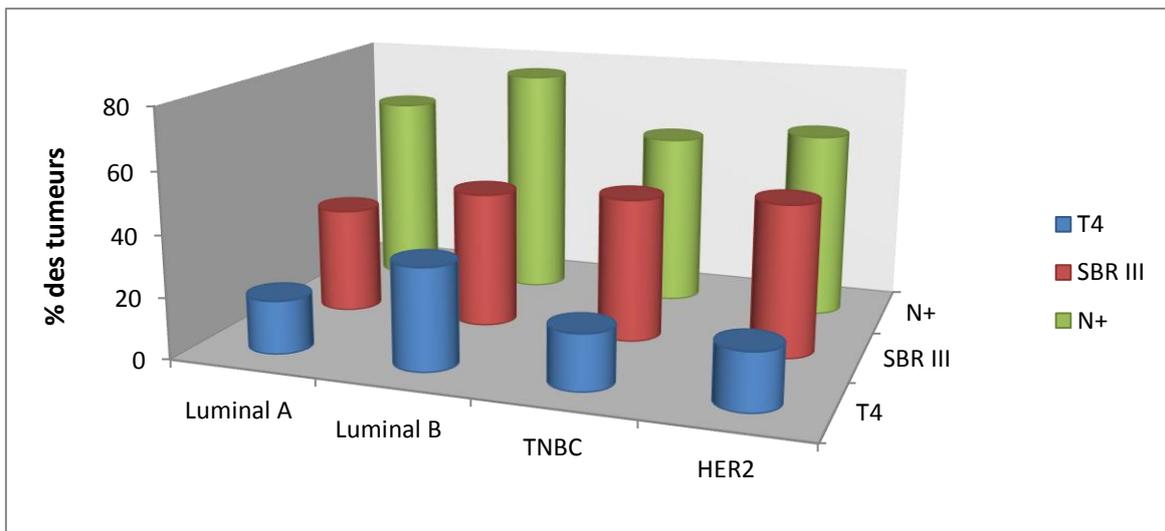


Figure 22. Représentation des sous types moléculaires selon la taille tumorale (T4), le grade SBR III et l'infiltration ganglionnaire axillaire (N+)

II.1.3 DISCUSSION

Nous avons abordé dans cette thèse un des cancers les plus meurtriers chez la femme, il s'agit du cancer du sein. En Algérie ce cancer occupe la première place parmi tous les cancers féminins et constitue la première cause de mortalité par cancer. Cette maladie est complexe et très hétérogène, il a été rapporté que les patientes classées dans un même « groupe » pronostic peuvent avoir des évolutions cliniques et des réponses différentes au même traitement **(EBCTC group, 2005)**.

La classification conventionnelle n'est pas suffisamment discriminante pour guider les choix thérapeutiques car elle ne tient pas assez compte de la très grande hétérogénéité des cancers du sein. Il est aussi de plus en plus évident de passer par une définition moléculaire de cette pathologie afin de mettre à jour de nouveaux marqueurs pronostiques et surtout prédictifs de réponse thérapeutique, ces marqueurs pourraient de plus constituer de nouvelles cibles thérapeutiques et ouvrir la voie à une génération de thérapies ciblées.

Une meilleure classification des cancers du sein en plusieurs sous types moléculaires permettraient d'identifier de nouvelles classes de tumeurs d'apparence histoclinique homogène mais hétérogène de point de vue de leur évolution clinique ou de leur réponse thérapeutique.

II.1.3.1 CARACTERISTIQUES HISTOCLINIQUES ET MOLECULAIRES DES TUMEURS MAMMAIRES

Dans un premier temps nous avons exploré les caractéristiques histologiques et moléculaires de nos patientes, nous avons constaté que le cancer du sein affectait aussi les femmes jeunes (moins de 35 ans) dans la région du nord-ouest de l'Algérie (7.23%) contre 6.6% aux Etats Unis **(Anders et al., 2009)**. L'âge moyen des patientes de notre étude atteintes du cancer du sein est de 50.66 ans ceci pourrait être dû à une prévalence élevée des tumeurs TNBC et inflammatoires qui sont associées à un jeune âge et il est clair que l'âge est le facteur étiologique le plus important dans le développement du cancer du sein **(Nkondjock & Ghadirian, 2005)** en effet, dans la population générale, la maladie est rare chez les femmes

moins de 30 ans [25cas pour 100,000; l'incidence du cancer du sein augmente par la suite de façon linéaire jusqu'à 80ans pour atteindre 500 cas pour 100,000 (**Kelsey et al., 1996; Krainer et al., 1997**).

Bekkouche et al (2000) rapportent l'âge des patientes compris entre 25 et 78 ans, l'âge moyen étant de 47 ans, dans une étude réalisée en 2007, ces mêmes auteurs retrouvent un âge moyen de 48 ans alors que l'étude de l'équipe tunisienne **Maalej et al (1999)** définit l'âge moyen au diagnostic à 50 ans. Les patientes étaient dans notre série en majorité pré-ménopausées ce qui est en accord avec des études réalisées en Tunisie et en Egypte où ce sont les femmes pré-ménopausées qui représentent la plus grande proportion de patientes atteintes cancer du sein (**Ayadi et al., 2008 ; Omar et al., 2003**) ; ceci pourrait être dû selon la littérature au tabagisme passif surtout chez les femmes jeunes [le risque est de 1.68] (**Johnson et al., 2005**). Par ailleurs en Asie et les pays occidentaux (**Sariego et al., 1995 ; Leong et al., 2010**) le cancer du sein affectait principalement des femmes ménopausées, ceci pourrait être dû selon **Bray et al (2004)** à un gain du poids après l'âge de 18 ans qui est considéré comme un facteur de risque majeur dans le développement du cancer du sein chez les femmes ménopausées.

Le type carcinome canalaire infiltrant représente la majeure partie des cancers invasifs du sein (**Fornage., et al 2004**) ce qui était le cas pour notre série, il a été retrouvé chez 652 de nos patientes avec un pourcentage de 83%. Le carcinome lobulaire infiltrant représente 5 à 15% de tous les carcinomes invasifs du sein, 12% de carcinome lobulaire infiltrant ont été retrouvé (93 patientes).

Nous avons également observé un caractère agressif du cancer du sein dans notre série vu les grandes proportions de haut grade SBR et le grade intermédiaire, des métastases ganglionnaires axillaires et de taille tumorale élevée. Les grades SBR II et III étaient représentés chez 96% de la population étudiée, ceci confirme l'étendue du cancer du sein de nos patientes à l'heure du diagnostic, ces résultats sont semblables à ceux de **Bekkouche et al (2000)** et de **Ben Abdallah et al (2009)** contrairement aux femmes européennes qui elles se présentent lorsque la maladie n'est qu'à ses débuts (**Grosclaude et al., 2001**). Ceci suggère que beaucoup reste à faire en terme de dépistage et de prévention contre le cancer du sein en Algérie.

La recherche des ganglions métastatiques est presque de règle dans l'étude histopathologique des cancers mammaires. Selon l'étude de **Raharisolo et al (2002)** plus de 80% de ganglions étaient envahis et sur l'ensemble des cas qui ont pu être typé histologiquement presque les deux tiers étaient au stade de carcinome canalaire infiltrant avec un SBR de grade III, ces résultats sont en partie en accord avec les nôtres puisque nous avons trouvé un envahissement de 422 ganglions envahis avec 348 cas présentant un carcinome canalaire infiltrant, ceci laisse entendre que les patientes arrivent avec un niveau d'évolution avancé du cancer du sein . La taille tumorale demeure facteur pronostic essentiel, plus la tumeur est grande, plus le risque de récurrence du cancer est grand ; la taille tumorale moyenne de nos patientes était de 33.3 mm alors qu'elle était de 44mm pour une autre étude (**Maalej et al., 1999**). La taille élevée de nos tumeurs au moment du diagnostic est certainement la conséquence d'un manque de dépistage et/ou d'une négligence de la part des patientes.

29% des patientes surexprimaient le récepteur HER2+, cependant seulement 13.75% ont bénéficié d'une thérapie ciblée (Herceptine). Ceci est regrettable lorsque l'on sait que de tels traitements permettent une meilleure évolution clinique.

Dans notre série la proportion des patientes en terme de survie sans métastases pour 5 ans était de 70% (95 CI, 0.62- 0.78) alors qu'elle était de 61% (95 CI, 0.58- 0,64) dans une autre étude (**Sabatier et al., 2015**). Pour le temps de suivi médian nos résultats sont en accord avec les travaux de **Turker et al (2013)** alors qu'ils sont en contradiction avec l'étude de **Leissner et al (2006)**.

En conclusion pour cette première partie de notre travail l'étude histopathologique et moléculaire reste le moyen le plus fondamental dans l'examen de la tumeur et son diagnostic pour confirmer ou pas sa malignité et procéder par la suite à une conduite thérapeutique adéquate.

II.1.3.2 DISTRIBUTION DES TUMEURS MAMMAIRES PAR SOUS TYPES MOLECULAIRES ET LEUR CORRELATION AVEC LEURS CARACTERISTIQUES HISTOCLINIQUES ET MOLECULAIRES

La distribution moléculaire du cancer du sein de notre série est similaire à celle trouvée dans la littérature chez la population Tunisienne avec des fréquences de 50.7% pour les luminaux A, 22.5% TNBC, 13.4% de tumeurs Luminales B et 13.4% de tumeurs HER2+ (**Fourati et al., 2014**) alors que dans la population Européenne et Asiatique ce sont les tumeurs luminales A et luminales B qui viennent en première place (**Puig-Vives et al., 2013 ; Clarke et al., 2012**) quant au Mali c'est le phénotype TNBC qui était prédominant à 46.49% (**Ly et al., 2012**).

Concernant les types histologiques, le carcinome canalaire infiltrant était le plus prédominant chez toutes les patientes qui représentaient les différents sous-types moléculaires du cancer du sein suivi du carcinome lobulaire infiltrant, ces résultats corroborent ceux d'une autre étude (**Carey et al., 2006**).

Dans notre étude, la majorité des tumeurs de sous-type luminal A étaient associées à des patientes dont l'âge médian était de 48 ans, considérées relativement plus jeunes comparativement aux résultats de la plupart des séries (**Bhargava et al., 2010**) ceci serait dû à facteurs génétiques. En plus en ayant recours à une analyse de la répartition des patientes selon le statut ménopausique, notre étude montre, qu'une majorité des tumeurs luminal A était préménopausées contrairement aux résultats retrouvés dans d'autres études (**Su et al., 2011 ; Ontilo et al., 2008**). La majorité des carcinomes de ce sous-type moléculaire était de type lobulaire infiltrant avec un pourcentage de 47.4%, alors que d'autres résultats avancent une proportion plus élevée de tumeurs luminales A de type : carcinome canalaire infiltrant (**Zaha et al., 2010**). Comme dans une étude réalisée à Nottingham (**Bane et al., 2014**) nous avons noté dans notre série que 47.4% des tumeurs luminales A correspondaient à des tumeurs moyennement différenciées (Grade SBR II) et 35.1% représentaient des tumeurs hautement différenciées, ceci pourrait être expliqué par l'arrivée tardive des patientes aux centres de dépistage car ces tumeurs sont dans la plupart des cas de bon pronostic.

Dans notre série, la position du sous-groupe moléculaire Luminal B sur l'ensemble des tumeurs mammaires correspondait à celle des études réalisées par **Zaha et al (2010)** et celle de **Cheang et al (2009)** avec un pourcentage de 18.49% dans cette dernière.

Les tumeurs de sous type Luminal B sont caractérisées par leur agressivité et leur mauvais pronostic (**Livasy et al., 2006**), l'âge médian des tumeurs de ce sous-groupe est de 46 ans du même ordre que celui retrouvé dans la population jordanienne (**Abalkail et al., 2003**), la tranche d'âge la plus représentée est comprise entre (40-49 ans), un âge relativement jeune associé à un mauvais pronostic pour ces tumeurs par rapport à l'âge rapporté par **Cheang et al (2009)** qui est de 60 ans. Sur le plan histologique la majorité des carcinomes de ce sous-type (90 cas sur 102) était agressive de type canalaire infiltrant, nos résultats et ceux de nombreuses séries de la littérature s'accordent à montrer que la majorité des tumeurs lumineuses B correspondait à des tumeurs moyennement à très bien différenciées (**Oh et al., 2006 ; Xue et al., 2012**), ces différentes tumeurs sont accompagnées de métastases ganglionnaires dans deux tiers des cas, tous ces paramètres associés font que ces tumeurs de sous-type luminal B sont agressives et requiert une thérapie ciblée.

L'infiltration ganglionnaire axillaire est un primordial facteur de pronostic et est associée à un mauvais pronostic lorsqu'elle est présente en grande proportion, ce qui est le cas dans notre série puisque 75.64% des carcinomes mammaires de sous-type luminal B présentaient des métastases ganglionnaires de même que pour d'autres études **Mazouni et al., 2013 ; Howland et al., 2013**) et selon **Liao et al (2014)**, la proportion de l'infiltration ganglionnaire axillaire est plus élevée dans les tumeurs lumineuses B que dans les tumeurs lumineuses A, ce qui a aussi été confirmé par notre étude (respectivement : 75.64% versus 62.69%), ces résultats confirment le caractère plus lymphophile et plus agressif des cancers « hormonodépendants » de sous-type luminal B par rapport au sous type luminal A. En ce qui concerne la taille tumorale, elle était considérablement plus élevée dans les lumineux B que dans les lumineux A (38.9 mm contre 29.8 mm respectivement), nos résultats corroborent ceux d'une étude portant sur 4046 patientes où 53.2% des tumeurs de sous-type Luminal B avait une taille tumorale comprise entre 2 et 5 cm contre 37.9% de tumeurs de sous-type Luminal A (**Cheang et al., 2009**). Toutes ces caractéristiques témoignent d'un mauvais pronostic pour le sous type Luminal B.

Dans l'étude de Cheang et al. de la série du BCCA (British Colombian Cancer Agency): comparativement au groupe luminal A, le groupe luminal B était significativement associé à:

- un âge jeune au moment du diagnostic
- Une taille tumorale et une atteinte ganglionnaire importantes
- Un grade histologique élevé
- Taux de survie sans récurrence à 10 ans=53% (70% pour les luminaux A)

Dans notre série le sous-type HER2+ occupe la dernière position en terme de fréquence avec un pourcentage de 13,46% de l'ensemble des tumeurs mammaires. Ce sous groupe occupe généralement le dernier rang après les groupes luminaux et le groupe basal dans la plupart des séries de la littérature (**Cheang et al., 2009 ; Spitale et al., 2009 ; Zaha et al., 2010**). Conformément aux classes moléculaires déjà présentées dans notre série, les tumeurs appartenant à la classe moléculaire HER2+ correspondaient à des patientes dont l'âge moyen était de 49.1 ans, nous avons pu noter des moyennes d'âge assez disparates dans la littérature : 51 ans et 62.3 ans (**Chuangsuwanich et al., 2014 ; Spitale et al., 2009**). Sur le plan histologique, la taille tumorale moyenne au moment du diagnostic pour les tumeurs de la classe moléculaire HER2+ était de 31,8 mm avec une proportion de 45.05 % de tumeurs de plus de 2 cm de diamètre, nos résultats sont différents de ceux de **Yang et al (2007)** puisque un pourcentage plus élevé (66%) a été observé. Nos résultats sont en accord avec ceux de la littérature en ce qui concerne le caractère très lymphophile du sous-type HER2+ puisque 61.03% de ces carcinomes mammaires présentaient des métastases ganglionnaires axillaires. On remarque donc dans notre étude comme le précise la littérature (**Scholl et al, 2001**) que les tumeurs de sous-type HER2+ sont souvent corrélées à des facteurs de mauvais pronostic.

Les tumeurs mammaires triple négatives sont définies par des tumeurs n'exprimant ni les récepteurs hormonaux, ni le HER2, elles sont caractérisées par un taux de mortalité élevé dans les deux premières années, alors qu'après 5 ans, le taux de mortalité le plus important revenait au groupe luminal B. (**Langerod et al., 2007**). De nombreuses études (**Bauer et al., 2007 ; Dent et al., 2007 ; Ferguson et al., 2013**) montrent que le cancer du sein de sous-type triple négatif touchait une population plus âgée, l'âge moyen des patientes de notre série appartenant à cette classe moléculaire correspondait à 53.32 ans et 40.83% des patientes étaient âgées de plus de 50 ans, ceci pourrait être dû aux dérèglements hormonaux liés à la

ménopause, une légère prédominance du sous-type triple négatif chez les femmes ménopausées a aussi été observé dans l'étude de **Voduc et al (2010)**.

L'infiltration ganglionnaire axillaire dans le sous groupe triple négatif était présente dans 56.66% des cas. La présence de ganglions axillaires infiltrés est associée à l'augmentation de la taille tumorale (**Dent et al., 2007**). La taille tumorale moyenne au moment du diagnostic pour les tumeurs triples négatives était assez grandes (37.05 mm), lorsque la taille tumorale est aussi importante elle est généralement de mauvais pronostic (**Anders et al., 2011**). Un dépistage tardif serait vraisemblablement responsable de la taille tumorale élevée retrouvée dans nos tumeurs. Des tumeurs moins volumineuses ont été rapportés par certains auteurs (**Spitale et al., 2009 ; Parise et al., 2009**). Comme l'indique la majorité des études (**Dent et al., 2007 ; Thike et al., 2010 ; Xue et al., 2012**), le cancer du sein triple négatif est moyennement à très bien différencié (Grade SBR II et III) ce qui est le cas dans notre série puisque 87 cas sur la totalité des patientes de ce sous-type présentaient des tumeurs de haut grade (SBR III) au moment du diagnostic du fait du caractère agressif de ce sous-type comme le confirme l'étude **Bauer et al (2007)**.

Le cancer du sein inflammatoire (IBC) est l'un des formes les plus agressives du cancer du sein (**Lee et al., 1996**), ces tumeurs ont une plus grande proportion de récurrence et de métastases en comparaison avec les tumeurs non- IBC (**Key et al., 2001**). Dans notre série 2.5% (5 cas) des tumeurs triples négatives étaient des tumeurs inflammatoires, la présence du cancer inflammatoire dans ce sous type moléculaire est l'une des causes de son agressivité et donc de son mauvais pronostic, cette hypothèse est rapportée par d'autres auteurs (**Li et al., 2011 ; Chaher et al., 2012**)

Lorsque les quatre sous-types moléculaires du cancer du sein ont été corrélés aux facteurs pronostic, les résultats ont montré que le sous groupe du plus mauvais pronostic et le plus agressif était le sous-type luminal B puisque celui-ci est associé à des tumeurs mammaires avec une large taille tumorale T4 par rapport aux autres sous-types moléculaires, un haut grade SBR par rapport aux tumeurs lumorales A et la plus importante proportion d'infiltration ganglionnaire axillaire. De plus, ce sous-type est celui qui affecte le plus les femmes jeunes âgées de 40 ans et moins (23.59%) suivi des sous-types luminal A (23%), TNBC (22.82%) et HER2-positif (14%).

Il ya là donc un besoin urgent à identifier des cibles thérapeutiques spécifiques au sous-type luminal B pour lequel aucune thérapie n'existe. Ceci permettrait d'améliorer le pronostic des patientes. Nous nous intéresserons donc dans le chapitre suivant aux protéines de la famille RAB et plus particulièrement à RAB25 qui est retrouvée surexprimée dans de nombreux cancers (**Wang *et al.*, 2002 ; Cheng *et al.*, 2004 ; Chin *et al.*, 2006**).

Chapitre II.2 : ARTICLE EN PREPARATION

**INCREASED EXPRESSION OF RAB25 CORRELATES WITH LUMINAL B
BREAST CANCER MOLECULARS SUBTYPES AND COULD BE A POTENTIAL
THERAPEUTIC TARGET**

II.2.1 MATERIELS ET METHODES

II.2.1.1 Patientes

57 tumeurs ont été recueillies auprès des patientes qui ont subi une mastectomie radicale et diagnostiqués avec un cancer du sein invasif. Les principales caractéristiques histocliniques des tumeurs (Type histologique, taille tumorale, infiltration ganglionnaire, Grade SBR, Récidive métastatique) ont été relevées à partir des dossiers des patientes au niveau du service d'oncologie de l'Hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO).

Les patientes avaient l'âge compris entre 27 et 88 ans, avec un âge médian de 54 ans.

II.2.1.2 Prélèvements et traitements

Les 57 blocs de tumeurs inclus en paraffine ont été colligés au niveau du laboratoire d'anatomie pathologie de l'hôpital militaire régional d'Oran (HMRUO). Ces tumeurs ont été découpées au microtome et ont fait l'objet d'une étude histologique et immunohistochimique

II.2.1.2.1 Fixation, inclusion en paraffine et coupe

Les prélèvements ont été fixés dans du formol à 10%, tamponné à la neutralité, pendant 24 heures ou plus et inclus en paraffine.

Des coupes sériées de 2 micromètres d'épaisseur de chaque tumeur sont réalisées à l'aide d'un microtome puis étalées sur des lames silanisées, les lames sont alors déposées dans une étuve à 56°C pendant 12 heures

II.2.1.2.2 Coloration à l'Hémalun-Eosine

Pour chaque prélèvement, une des coupes a été colorée à l'Hémalun-Eosine afin d'établir le type histologique exact de la tumeur sur les critères histologiques standards.

II.2.1.3 Technique immunohistochimique (IHC)

II.2.1.3.1 Anticorps

Différents anticorps ont ainsi été utilisés avec leurs dilutions correspondantes:

- Un anticorps monoclonal dirigé contre Antigen Ki67 (Dako; Clone MIB-1). **Dilution: 1/100**
- Un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur de l'œstrogène α (Dako; clone 1D5). **Dilution: 1/100**
- Un anticorps monoclonal dirigé contre le récepteur de la progestérone (Dako; clone PgR 636). **Dilution: 1/100**
- Un anticorps monoclonal dirigé contre HER2 (Dako, clone PN2A). **Dilution: 1/100**
- Un anticorps Anti-RAB25, (Sigma Aldrich). **Dilution: 1/200**

II.2.1.3.2 Protocole de la technique immunohistochimique

- Déparaffinage : les lames sont déparaffinées dans quatre bains successifs de xylène (4 fois pendant 5 minutes) puis réhydratées dans deux bains successifs d'acétone (2 fois pendant 5 minutes) et dans de l'eau courante pour 5 minutes.

-Les lames sont incubées dans la solution de démasquage (target retrieval solution Citrate pH 6.0. Réf S1699) dans un bain Marie bouillant pendant 50 min, puis elles sont déposées pour refroidir à température ambiante pendant 20 minutes et rincées à l'aide de Tampon Phosphate Salin (PBS. Ref. S3024 ; Dako, France)

- Inhibition de la peroxydase endogène: l'activité peroxydase endogène est inhibée par incubation des coupes dans une solution de méthanol à 1% de peroxyde d'hydrogène (30 Volumes) pendant 30 minutes puis rincée à l'eau pendant 5 minutes.

-Cerclage des coupes au stylo DakoPen (Dako SA, Trappes, France).

-Incubation avec les anticorps primaires: les anticorps primaires sont appliqués aux dilutions indiquées précédemment, pendant 1 heure. Il faut compter environ 250 microlitres d'anticorps dilué par lame ; ensuite on effectue quatre rinçages de 5 minutes dans du PBS.

- Incubation avec l'anticorps secondaire (HRP lapin/souris, Dako real envision; Réf.K5007, Dako, France) à température ambiante pendant 30 minutes.

- Révélation de l'activité peroxydase par application du chromogène 3,3'-diaminobenzidine tétrahydrochloride (DAB) pendant 15 à 20 minutes (Réf.K5007, Dako, France). Puis on rince à l'eau. Ce chromogène est oxydé par la peroxydase et donne un précipité brun insoluble dans l'eau et les solvants organiques

-Contre coloration avec l'Hématoxyline de Mayers pendant 15 secondes. Les noyaux se colorent en bleu.

- Montage avec lamelles dans un medium de montage permanent et aqueux (Micromount mounting medium ; Labonord, France).

II.2.1.3.3 Evaluation du statut immunohistochimique

La lecture des lames a été faite séparément par deux médecins anatomo-pathologistes, la classification des cellules tumorales a été établie en se basant sur le pourcentage des cellules immunopositives :

- ✓ <10% étaient classées comme négative et > 10% comme positive pour des marqueurs nucléaires ER and PR
- ✓ L'immunoréactivité membranaire du HER2: 0 et 1+ marquage absent; 2+ marquage intermédiaire ; et 3+, marquage positif avec surexpression
- ✓ Pour Ki67 un cut-off de 14% de cellules immunopositives a permis la discrimination entre les tumeurs de sous types moléculaires luminal A et luminal B.
- ✓ Pour RAB25, le marquage cytoplasmique était considéré comme positif. Un score H a été calculé en multipliant le pourcentage des cellules marquées avec les degrés d'intensité du marquage (0, 1+, 2+, or 3+). Les scores H étaient classés comme marquage: négatif (0 à 9), faible (10 à 100), moyen (101 à 200) ou fort (201 à 300) comme précédemment décrit (**Adamo *et al.*, 2011**).

II.2.1.4 Définition des sous types moléculaires

Les sous types moléculaires du cancer du sein ont été définis selon le statut immunohistochimique des récepteurs hormonaux de l'HER2 ainsi que l'index de prolifération Ki67.

Luminal A (ER+, PR+/-, HER2-, Ki 67 < 14%),

Luminal B (ER+, PR+/-, HER2+, Ki67 ≥ 14%),

Triple négatif (ER-, PR-, HER2-),

HER2+ (ER-, PR-, HER2+).

II.2.1.5 Analyses statistiques

Le test du χ^2 a été réalisé pour estimer la relation entre l'expression de la protéine RAB 25 et les principales caractéristiques clinico-pathologiques telles que le statut ganglionnaire axillaire, la taille pathologique de la tumeur, le grade SBR (I, II , III) et les sous-types moléculaires (luminal A, luminal B , HER2+ , TNBC) . Le seuil de significativité des tests retenu est le seuil classique de 5 %. Les analyses statistiques ont été réalisées avec la version du logiciel SPSS 20.0 (SPSS, Inc., Chicago IL, USA)

II.2.2 RESULTATS

II.2.2.1 CLASSIFICATION DES CANCERS DU SEIN EN SOUS TYPES MOLECULAIRES

Nous avons évalué l'expression de Ki67 chez les patientes hormono-positives pour différencier les tumeurs lumineales A des tumeurs lumineales B. Sur les 57 tumeurs mammaires : 21.05% étaient de sous type luminal A, 36.84% luminal B. 28.07% étaient des tumeurs de sous type moléculaire TNBC et 14.03% étaient de sous type HER2+ (**Figure 23**).

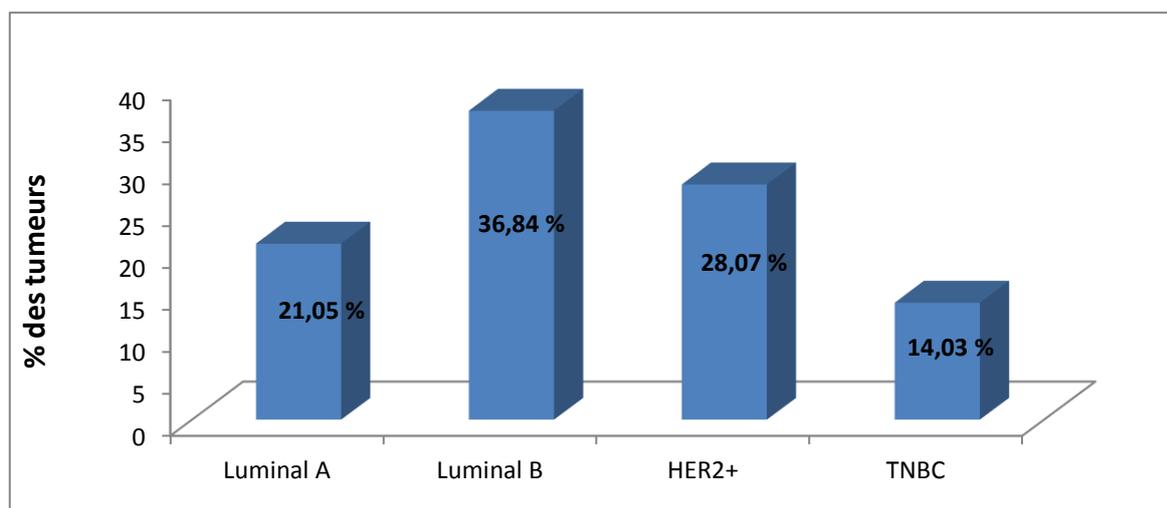


Figure 23. Distribution des cancers du sein par sous type moléculaire

II.2.2.2 CORRELATION DE L'EXPRESSION DE RAB 25 AVEC LES PARAMETRES HISTOCLINIQUES ET MOLECULAIRES

L'évaluation immunohistochimique du statut de RAB 25 a révélé une surexpression de RAB 25 dans 18 tumeurs (31.57%) alors que 39 tumeurs (68.42%) n'expriment pas cette protéine (**Tableau 5**).

La surexpression de RAB 25 dans les tumeurs ne semble pas liée au statut ménopausique des patientes. Nous avons constaté qu'il y'avait presque autant de femmes en préménopause (52.9%) que de femmes ménopausées (47.1%) qui surexprimaient la protéine RAB 25.

La surexpression de RAB 25 dans le cancer du sein était associée à une taille tumorale supérieure à 2 Cm. Dans cette étude nous avons pu trouvé une dérégulation de l'expression de RAB 25 associée aux tumeurs mammaires exprimant le récepteur aux oestrogènes ($P=.03$), 76% des tumeurs surexprimant RAB 25 sont associées au récepteur de l'oestrogène.

Tableau 5. Corrélation entre l'expression de RAB 25 et les caractéristiques histocliniques et moléculaires des patientes

Paramètres clinico-pathologiques		RAB 25 - (39) N(%)	RAB 25+ (18) N(%)	Valeur-P
Age (56)	≤ 50	22 (56.4%)	9 (52.9%)	0.81
	>50	17 (43.6%)	8 (47.1%)	
Types histologiques (57)	Canalaire	34(87.2%)	17(94.4 %)	0.48
	Lobulaire	2(5.1%)	1 (5.6%)	
	Autres	3 (7.7%)	0 (0%)	
Taille tumorale (54)	< 2CM	4 (10.8%)	1(5.9%)	0.56
	≥ 2 CM	33 (89.2%)	16 (94.1%)	
Infiltration ganglionnaire axillaire (55)	N-	11 (28.9%)	6(35.3 %)	0.63
	N+	27(71.1 %)	11 (64.7%)	
Grade SBR(54)	II	23(62.2 %)	10(58.8 %)	0.81
	III	14 (37.8%)	7 (41.2%)	
ER (56)	ER-	21(53.8%)	4 (23.5%)	0.036
	ER+	18(46.2%)	13 (76.5%)	
PR(56)	PR-	23 (59%)	6 (35.3%)	0.10
	PR+	16 (41%)	11 (64.7%)	
HER2(56)	HER2-	29(74.4%)	13 (76.5%)	0.86
	HER2+	10 (25.6%)	4 (23.5%)	
KI67(37)	KI67 < 14%	11 (45.8%)	2(15.4%)	0.06
	KI67 ≥ 14%	13(54.2%)	11(84.6%)	
Sous types moléculaires (57)	LUMINAL A	10 (25.6%)	2 (11.1%)	0.01
	LUMINAL B	9 (23.1%)	12 (66.7%)	
	HER2+	7 (17.9%)	1 (5.6%)	
	TNBC	13 (33.3%)	3 (16.7%)	
Récidive métastatique (28)	Non	9 (69.2%)	10 (66.7%)	0.88
	Oui	4(30.8%)	5 (33.3%)	

Pour les autres paramètres pronostic: l'infiltration ganglionnaire axillaire et le grade SBR n'avait pas d'association significative avec l'expression de RAB 25; nous avons remarqué que la majorité des tumeurs surexprimant la protéine RAB 25 présentaient des infiltrations ganglionnaires axillaires (64.7%) alors que seulement 35.3% de ce même groupe de patientes ne présentaient pas cette infiltration.

D'autre part les tumeurs surexprimant RAB 25 sont le plus souvent associées à un index de prolifération élevé (84.6%) plutôt qu'à un Ki67 faible (15.4%) ($P=.06$) (**Tableau 5**).

II.2.2.3 CORRELATION DE L'EXPRESSION DE LA PROTEINE RAB 25 AVEC LES SOUS TYPES MOLECULAIRES DES CANCERS DU SEIN

L'analyse de l'expression de RAB 25 dans notre étude révèle que cette protéine est exprimée dans les tumeurs mammaires mais aussi que RAB 25 est faiblement exprimée dans la glande mammaire normale (**Figure 24**).

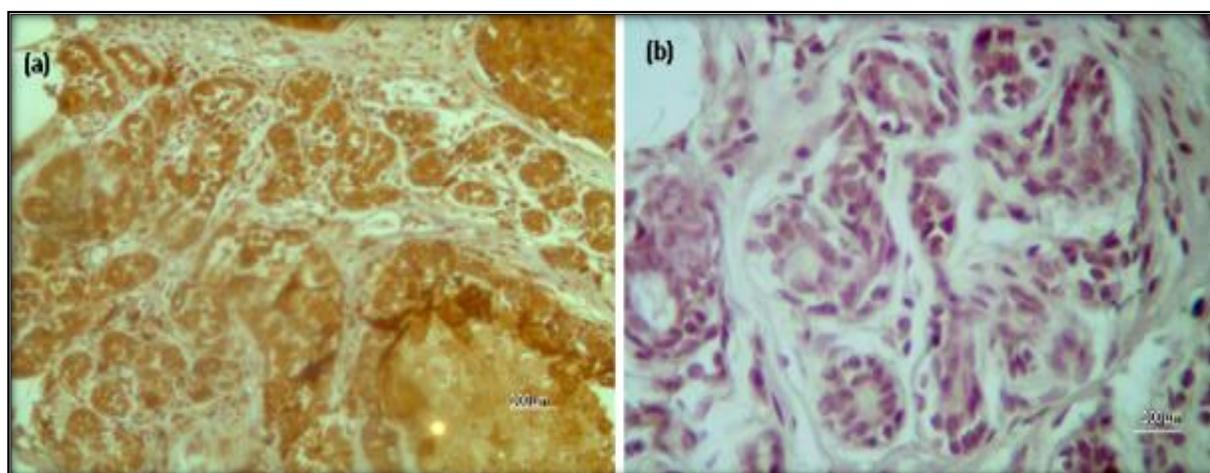


Figure 24. Statut immunohistochimique du niveau d'expression tissulaire de la protéine RAB 25.

(a) Expression de RAB 25 dans le cytoplasme des cellules d'une tumeur mammaire. Grossissement X40. (b) Expression de RAB 25 dans la glande mammaire normale. Grossissement X40.

Une différence hautement significative a été observée entre l'expression de RAB 25 et les différents sous types moléculaires ($P=.01$).

Les proportions d'expression de la protéine RAB 25 dans les sous types moléculaires sont représentées dans la « **Figure 25** », on note que la surexpression de RAB 25 est associée aux tumeurs mammaires hormonodépendantes les plus agressives à savoir celles de sous type moléculaire Luminal B (66.7%), tandis que les tumeurs des sous types luminal A « de bon pronostic », celles de phénotype HER2+ et les tumeurs triples négatives ne manifestaient pas de surexpression de la protéine RAB 25 (**Figure 26**).

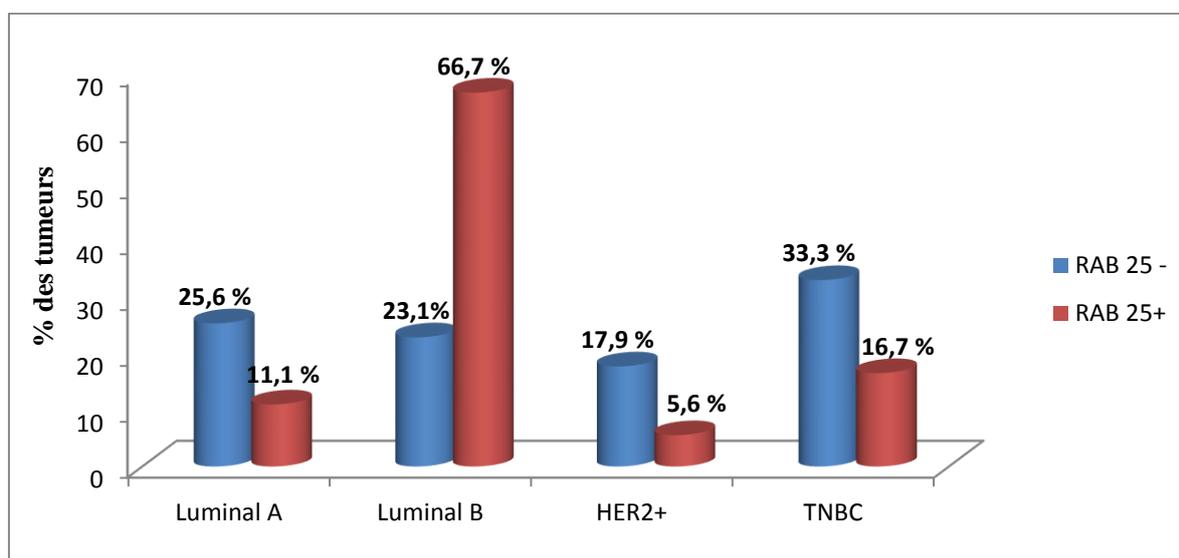


Figure 25. Répartition des sous types moléculaires selon le statut d'expression de RAB25

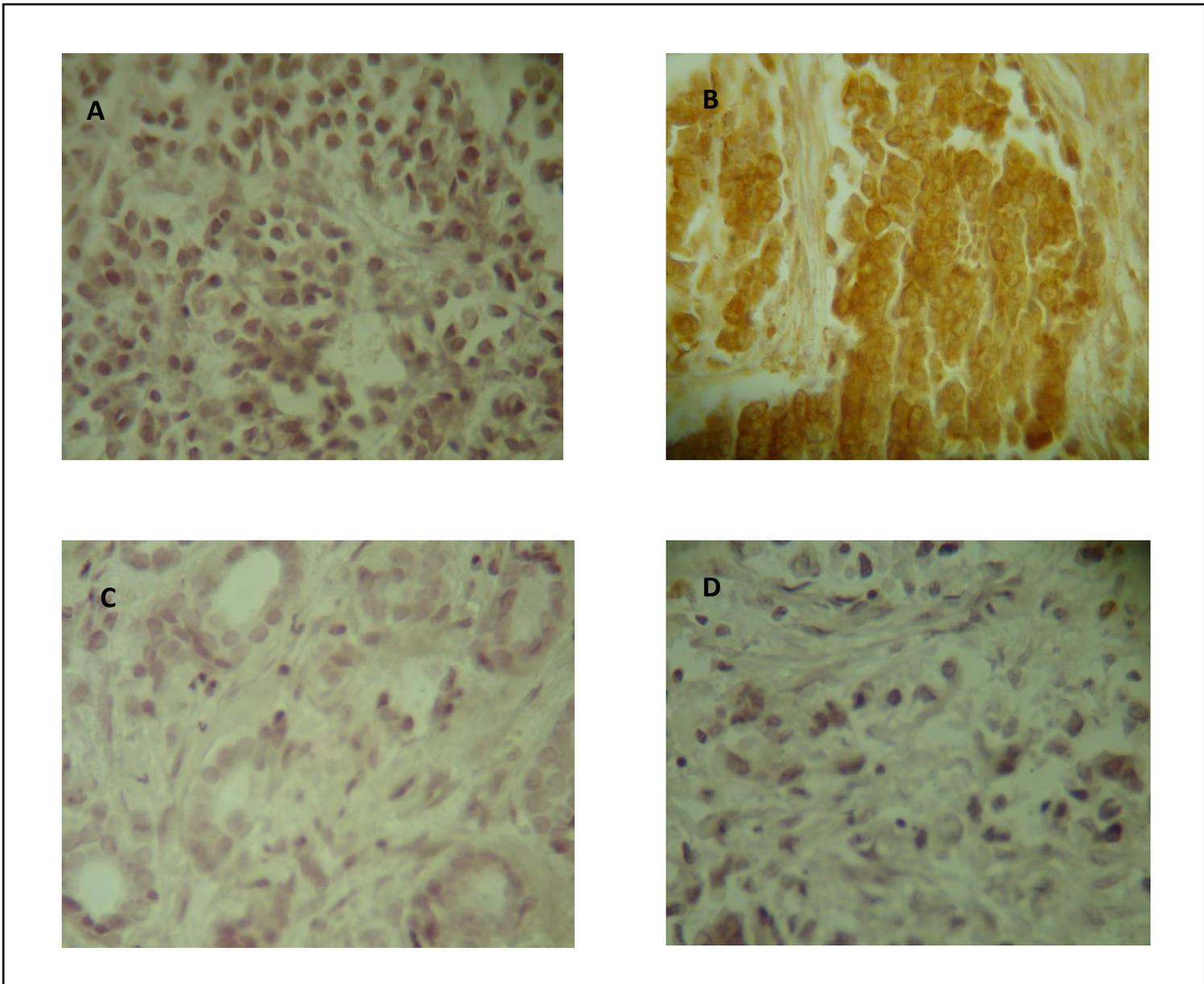


Figure 26. Expression de RAB 25 dans les sous types moléculaires du cancer du sein. (A) Absence d'expression de RAB 25 dans les tumeurs lumineales A (X40). (B) surexpression de RAB 25 dans les tumeurs lumineales B (X40). (C) Absence d'expression de RAB 25 dans les tumeurs HER2+ (X40). (D) Absence d'expression de RAB 25 dans les tumeurs triples negatives (X40).

II.2.3 DISCUSSION

Le cancer du sein est une maladie hétérogène tant sur le plan biologique, moléculaire, clinique que sur le plan évolutif (**Simpson et al., 2005**). La classification du cancer du sein en plusieurs sous-types devrait permettre de mieux les étudier, de mieux évaluer le pronostic et de proposer aux patientes une thérapie « sur mesure ». L'identification de tels marqueurs serait d'un grand intérêt, en particulier pour les sous-types de cancer du sein ER/PR-positifs, particulièrement agressifs tels que les tumeurs luminales B et pour lesquels aucune thérapie ciblée n'existe à ce jour.

L'expression aberrante des petites GTPases de la famille RAB dans les cancers solides a été rapporté dans de nombreuses études (**Mosesson et al., 2008 ; Shimada et al., 2005 ; Amillet et al., 2006 ; Gebhardt et al., 2005**). Parmi ces protéines, RAB 25 serait impliquée dans plusieurs cancers (**Agarwal et al., 2009 ; Tang et al., 2010 ; Liu et al., 2015 ; HE et al., 2002 ; Cheng et al., 2004 ; Zhang et al., 2013 ; Geng et al., 2016**). Dans ce contexte, nous avons procédé à l'évaluation du statut immunohistochimique de la protéine RAB 25 dans les différents sous-types moléculaires du cancer du sein.

L'analyse de l'expression de RAB 25 dans notre étude démontre comme dans la littérature que cette protéine est exprimée dans les tumeurs mammaires (**Cheng et al., 2006**) mais aussi que RAB 25 est faiblement exprimée dans la glande mammaire normale (**Cheng et al., 2010**). La technique aCGH révèle que 67% des cancers mammaires présentent une augmentation de l'expression de RAB 25 d'au moins 1.7 fois par rapport à celle qui est observée dans le tissu mammaire normal ce qui suggère que la surexpression de RAB 25 est un événement important dans la carcinogénèse (**Cheng et al., 2004**). Dans la présente étude comme dans celle de **Cheng et al (2010)**, la surexpression de RAB25 était liée aux tumeurs caractérisées par la présence d'expression du récepteur de l'œstrogène (ER) et l'absence de l'expression de HER2.

De plus, nous avons noté que l'index de prolifération Ki67 est beaucoup plus élevé dans les tumeurs surexprimant RAB 25. La protéine RAB 25 pourrait jouer un rôle dans la prolifération cellulaire. Elle activerait la voie PI3 Kinase/AKT/PTEN impliquée dans la survie et la croissance cellulaire (**Mitra et al., 2012**). La surexpression de Ki67 est un marqueur de

mauvais pronostic chez les patientes atteintes d'un cancer du sein (**Trihia et al.,2003**). Dans notre étude, ce paramètre témoigne donc du caractère hautement prolifératif et de l'agressivité des tumeurs surexprimant RAB 25 et qui sont pourtant pour la plupart des tumeurs ER+ connues pour être associées à un bon pronostic. Il est donc indispensable de mieux classifier les tumeurs ER+ pour améliorer la prise en charge thérapeutique des patientes.

Nos résultats montrent que les cancers du sein surexprimant RAB25 sont significativement associés à l'expression du récepteur de l'œstrogène (tumeurs ER+) plutôt qu'aux tumeurs ER-négatives. Ces résultats corroborent ceux de **Yin et al (2012)** qui confirment que la surexpression de RAB 25 a été observée dans les tumeurs ER et PR positives plutôt que dans les tumeurs ER et PR négatives.

La distribution moléculaire du cancer du sein de notre série de 57 tumeurs place les tumeurs luminales B en première place suivi par le sous type TNBC puis luminal A et en dernière position les tumeurs HER2+.

Dans notre étude, nous retrouvons que les tumeurs de sous-type triple négatif (TNBC) sont caractérisées par une absence d'expression de la protéine RAB25. Ces résultats rejoignent ceux de précédentes études qui suggèrent que RAB 25 peut avoir un rôle « suppresseur de tumeurs » dans les tumeurs « triples négatives » (**Cheng et al., 2010 ; Tong et al., 2012**) ainsi que dans le cancer du colon et le cancer colorectal (**Goldenring et al, 2011 ; Nam et al.,2010**). Nos résultats montrent que les tumeurs appartenant au sous type HER2+ et luminal A ne sont pas associées à une surexpression de **RAB25** ce qui est également rapporté dans l'étude de **Cheng et al (2006)**. Il a été récemment démontré que FIP1C un effecteur de RAB 25 agirait comme un suppresseur de tumeurs dans les tumeurs du sein de sous type HER2+ (**Boulay et al., 2016**).

Les études transcriptomiques ont permis de classifier les cancers du sein hormono-positifs en deux sous types : Luminal A et luminal B (**Perou et al., 2000**), les tumeurs luminales B sont hautement prolifératives et résistantes à la thérapie standard (**Paik et al.,**

2004). Il ya donc un besoin urgent à identifier une nouvelle cible thérapeutique pour le sous-type luminal B. De façon intéressante, nos résultats ont montré que l'expression de RAB25 était différente au sein des tumeurs exprimant les récepteurs hormonaux (ER/PR-positives) Luminal A et luminal B, suggérant que ces deux sous-types ont une biologie tumorale différente, nécessitant des approches thérapeutiques différentes. La surexpression de RAB25 est retrouvée dans 66,7% des tumeurs de sous-type luminal B alors que 11% seulement des tumeurs de sous-type luminal A surexprimaient cette protéine. Nous avons ainsi montré que la surexpression de RAB25 était spécifiquement et significativement corrélée ($P=.01$) au sous-type luminal B suggérant son implication potentielle dans la genèse de cette forme particulièrement agressive de cancer du sein. Les travaux de **Mitra et al (2012)** qui rapporte que les cellules tumorales qui surexpriment la protéine RAB25 sont plus agressives et associées à une moins bonne évolution clinique ; cette protéine pourrait donc représenter une nouvelle cible thérapeutique ou un marqueur de l'évolution tumorale pour les cancers du sein de sous-type luminal B.

En conclusion, dans cette étude, nous nous sommes intéressés à l'implication potentielle de la protéine RAB25 dans les cancers du sein. Nous avons démontré pour la première fois que l'expression de RAB25 était significativement élevée dans le cancer du sein de sous-type luminal B. Nous avons montré que la surexpression de RAB25 était associée à des tumeurs hautement prolifératives et agressives. RAB25 pourrait d'une part servir de marqueur pronostic dans les cancers du sein ; des études traitant des tumeurs solides rapportent que le phénotype des cellules tumorales RAB 25-positives est associé à l'agressivité et à une évolution clinique péjorative (**Cheng et al., 2004 ; Cheng et al., 2005**). D'autre part, RAB25 pourrait représenter une cible thérapeutique potentielle intéressante pour le cancer du sein de sous-type luminal B, souvent résistant à l'hormonothérapie et pour lequel aucune thérapie ciblée n'existe.

Chapitre III :
CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

Les travaux présentés dans cette thèse s'inscrivent dans la définition des sous-types moléculaires par approche immunohistochimique et l'identification de cible thérapeutique potentielle associée au sous-type luminal B.

Le cancer du sein est une maladie complexe qui est le reflet d'une hétérogénéité biologique à différents niveaux. Cette hétérogénéité a dans un premier temps été appréhendée au niveau transcriptionnel grâce à l'utilisation d'une technologie à haut débit. Cependant, la mise en place des techniques transcriptomiques en clinique est difficile, notamment à cause de la mauvaise qualité de conservation des ARN des échantillons tumoraux et du cout de la technique.

La définition immunohistochimique des sous-types moléculaires a permis de montrer que le cancer du sein est une maladie hétérogène qui regroupe des entités biologiquement différentes. Classifier les cancers du sein par approche immunohistochimique représenterait donc une approche substitutive à l'analyse par puces à ADN et permettrait d'intégrer la classification des cancers du sein au niveau clinique.

La mise en place d'une telle technique au sein de l'ensemble des hôpitaux contribuera à **mieux diagnostiquer** les différents sous-types moléculaires du cancer du sein suggérant de plus une **pertinence pronostique** ; en plus d'être différents sur le plan moléculaire, les sous-types définissent des groupes de patientes avec des évolutions cliniques différentes. Ceci est particulièrement bien représenté chez les patientes ayant des tumeurs « RE-positives » à savoir les lumorales A de bon pronostic, et lumorales B de mauvais pronostic.

Une telle classification aura une **implication thérapeutique** ; plusieurs thérapies ciblées existent déjà pour le traitement du cancer du sein. Le tamoxifène est un exemple d'hormonothérapie pour les patientes ayant des tumeurs exprimant le récepteur aux oestrogènes. Cependant la distinction pronostique entre sous-types luminal A et B, tous deux regroupant des tumeurs « RE-positives » suggère que l'hormonothérapie ne doit pas être envisagée pour toutes les tumeurs exprimant les récepteurs hormonaux.

Ainsi, nous suggérons que les tumeurs lumorales A et B doivent être considérées comme deux entités cliniques différentes et cela devra être pris en compte dans la décision thérapeutique.

L'analyse de l'expression de RAB25, une protéine de la famille RAB a révélé que c'est un marqueur du sous-type luminal B. RAB25 représenterait une **cible thérapeutique potentielle** intéressante et permettrait d'aboutir au développement d'une thérapie ciblée améliorant ainsi la prise en charge thérapeutique des patientes ayant un cancer du sein de sous-type luminal B.

Afin d'évaluer l'impact pronostique de la surexpression de RAB25 il serait intéressant d'établir des corrélations avec la survie des patientes. De plus, dans le but de déterminer le mécanisme responsable de la surexpression de RAB25, des analyses par CGH array devront être effectuées. La caractérisation des altérations récurrentes associées au sous-type luminal B améliorerait notre compréhension quant aux mécanismes biologiques impliqués et inhérents à ce sous-type de cancer du sein particulièrement agressif et associé à une évolution clinique péjorative.

Chapitre IV :
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abalkail AA, Zahawi HM, Almasri NM, Hameed OK. The role of young population structure in determining age distribution of breast cancer in Jordan. *J Bahrain Med Society*. 2003; 15: 28-33.

Abid L. Cancer epidemiology in Algeria: best use of cancer registers. *J Afr Cancer*. 2009;1 (2):98–103.

Acharyya S, Oskarsson T, Vanharanta S, Malladi S, Kim J, Morris PG, et al. A CXCL1 paracrine network links cancer chemoresistance and metastasis. *Cell*. 2012;150(1):165-78.

Adélaïde J, Huang HE, Murati A, Alsop AE, Orsetti B, et al. A recurrent chromosome translocation breakpoint in breast and pancreatic cancer cell lines targets the neuregulin/NRG1 gene. *Genes Chromosomes Cancer*. 2003;37(4):333-45.

Adelaide J, Finetti P, Bekhouche I, Repellini L, Geneix J, Sircoulomb F, et al. Integrated profiling of basal and luminal breast cancers. *Cancer research*. 2007;67(24):11565-75.

Aebi S, Davidson T, Gruber G, Cardoso F, Group EGW. Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2011;22 Suppl 6:vi12-24.

Agarwal R, Jurisica I, Mills GB, Cheng KW. The emerging role of the RAB25 small GTPase in cancer. *Traffic*. 2009;10(11):1561-8.

Aittomaki S, Pesu M. Therapeutic targeting of the Jak/STAT pathway. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2014;114(1):18-23.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Alberti S, Miotti S, Stella M, Klein CE, Fornaro M, Menard S, et al. Biochemical characterization of Trop-2, a cell surface molecule expressed by human carcinomas: formal proof that the monoclonal antibodies T16 and MOv-16 recognize Trop-2. *Hybridoma*. 1992;11(5):539-45.

Albertson DG, Collins C, McCormick F, Gray JW. Chromosome aberrations in solid tumors. *Nat Genet*. 2003; 34(4):369-76.

Albertson DG. Gene amplification in cancer. *Trends Genet*. 2006;22(8):447-55

Al-Kuraya K, Schraml P, Torhorst J, Tapia C, Zaharieva B, Novotny H, et al. Prognostic relevance of gene amplifications and coamplifications in breast cancer. *Cancer research*. 2004;64(23):8534-40.

Allavena P, Sica A, Garlanda C, Mantovani A. The Yin-Yang of tumor-associated macrophages in neoplastic progression and immune surveillance. *Immunological reviews*. 2008;222:155-61.

Ambrogi F, Fornili M, Boracchi P, Trerotola M, Relli V, Simeone P, et al. Trop-2 is a determinant of breast cancer survival. *PloS one*. 2014;9(5):e96993.

Amillet JM, Ferbus D, Real FX, Antony C, Muleris M, Gress TM et al. Characterization of human Rab20 overexpressed in exocrine pancreatic carcinoma. *Hum Pathol* 2006; 37(3): 256–63.

Anders CK, Johnson R, Litton J, Phillips M, Bleye A. Breast cancer before age 40 years. *Semin Oncol*. 2009;36(3):237-49.

Anders CK, Deal AM, Miller CR, et al. The prognostic contribution of clinical breast cancer subtype, age, and race among patients with breast cancer brain metastases. *Cancer*. 2011;117: 1602–11.

Andre F, Job B, Dessen P, Tordai A, Michiels S, Liedtke C, et al. Molecular characterization of breast cancer with high-resolution oligonucleotide comparative genomic hybridization

array. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2009;15(2):441-51.

Ayadi L, Khabir A, Amouri H, Karray S, Dammak A, Guermazi M, et al. Correlation of HER-2 over-expression with clinico-pathological parameters in Tunisian breast carcinoma. *World journal of surgical oncology*. 2008;6:112.

B

Bache KG, Slagsvold T, Stenmark H. Defective downregulation of receptor tyrosine kinases in cancer. *The EMBO journal*. 2004;23(14):2707-12.

Bachmeier BE, Mohrenz IV, Mirisola V, Schleicher E, Romeo F, et al. Curcumin downregulates the inflammatory cytokines CXCL1 and -2 in breast cancer cells via NFkappaB. *Carcinogenesis*. 2008;29(4):779-89.

Banerji S, Cibulskis K, Rangel-Escareno C, Brown KK, Carter SL, Frederick AM, et al. Sequence analysis of mutations and translocations across breast cancer subtypes. *Nature*. 2012;486(7403):405-9.

Baselga J, Cortes J, Kim SB, Im SA, Hegg R, Im YH, et al. Pertuzumab plus trastuzumab plus docetaxel for metastatic breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2012;366(2):109-19.

Baselga J, Gomez P, Greil R, Braga S, Climent MA, Wardley AM, et al. Randomized phase II study of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab with cisplatin versus cisplatin alone in patients with metastatic triple-negative breast cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2013;31(20):2586-92.

Baselga J. Clinical trials of Herceptin(R) (trastuzumab). *European journal of cancer*. 2001;37 Suppl 1:18-24.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Basu S, Nachat-Kappes R, Caldefie-Chezet F, Vasson MP. Eicosanoids and adipokines in breast cancer: from molecular mechanisms to clinical considerations. *Antioxidants & redox signaling*. 2013;18(3):323-60.

Bates GJ, Fox SB, Han C, Leek RD, Garcia JF, Harris AL, et al. Quantification of regulatory T cells enables the identification of high-risk breast cancer patients and those at risk of late relapse. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2006;24(34):5373-80.

Bauer KR, Brown M, Cress RD, Parise CA, Caggiano V. Descriptive analysis of estrogen receptor (ER)-negative, progesterone receptor (PR)-negative, and HER2-negative invasive breast cancer, the so-called triple-negative phenotype: a population-based study from the California cancer Registry *Cancer*. 2007;109(9):1721-8.

Baumgarten SC, Frasor J. Minireview: Inflammation: an instigator of more aggressive estrogen receptor (ER) positive breast cancers. *Molecular endocrinology*. 2012;26(3):360-71.

Beaudry M, Chiasson S, Lauzière J. *Biologie de l'allaitement : le sein, le lait, le geste ; 2006 ; PUQ. 43-47PP*

Bekkouche Z, Kahia-Tani S, Bendib A. Etude immunohistochimique des récepteurs hormonaux dans les carcinomes mammaires. 2000;X (5) : 242-247.

Bekkouche Z, Kahia-Tani. S, Ben Ali F. Evaluation du statut HER2 dans les carcinomes mammaires. *Forum de cancérologie de la société française du cancer*.2007. Eurocancer

Ben Abdallah M, Zehani S, Maalej M, Hsairi M, Hechiche M, Ben Romdhane K, et al. [Breast cancer in Tunisia: epidemiologic characteristics and trends in incidence]. *La Tunisie medicale*. 2009;87(7):417-25.

Benavides LC, Gates JD, Carmichael MG, Patil R, Holmes JP, Hueman MT, et al. The impact of HER2/neu expression level on response to the E75 vaccine: from U.S. Military Cancer Institute Clinical Trials Group Study I-01 and I-02. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2009;15(8):2895-904.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Ben-Baruch A. Host microenvironment in breast cancer development: inflammatory cells, cytokines and chemokines in breast cancer progression: reciprocal tumor-microenvironment interactions. *Breast cancer research : BCR.* 2003;5(1):31-6.

Benevides L, Cardoso CR, Tiezzi DG, Marana HR, Andrade JM, Silva JS. Enrichment of regulatory T cells in invasive breast tumor correlates with the upregulation of IL-17A expression and invasiveness of the tumor. *European journal of immunology.* 2013;43(6):1518-28.

Beral V, Million Women Study C. Breast cancer and hormone-replacement therapy in the Million Women Study. *Lancet.* 2003;362(9382):419-27.

Bergamaschi A, Kim YH, Wang P, Sørli T, Hernandez-Boussard T, et al. Distinct patterns of DNA copy number alteration are associated with different clinicopathological features and gene-expression subtypes of breast cancer. *Genes Chromosomes Cancer.* 2006; 45(11):1033-40.

Bergamaschi A, Christensen BL, Katzenellenbogen BS. Reversal of endocrine resistance in breast cancer: interrelationships among 14-3-3zeta, FOXM1, and a gene signature associated with mitosis. *Breast cancer research : BCR.* 2011;13(3):R70.

Bhargava R, Beriwal S, Dabbs DJ, Ozbek U, Soran A, et al. Immunohistochemical surrogate markers of breast cancer molecular classes predicts response to neoadjuvant chemotherapy: a single institutional experience with 359 cases. *Cancer.* 2010;116(6):1431-9

Bloom HJ, Richardson WW. Histological grading and prognosis in breast cancer; a study of 1409 cases of which 359 have been followed for 15 years. *Br J Cancer.* 1957;11(3):359-77.

Bochar DA, Wang L, Beniya H, Kinev A, Xue Y, Lane WS, et al. BRCA1 is associated with a human SWI/SNF-related complex: linking chromatin remodeling to breast cancer. *Cell.* 2000;102(2):257-65.

Bocker W. [WHO classification of breast tumors and tumors of the female genital organs: pathology and genetics]. *Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für Pathologie.* 2002;86:116-9.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bohling SD, Allison KH. Immunosuppressive regulatory T cells are associated with aggressive breast cancer phenotypes: a potential therapeutic target. *Modern pathology. an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc.* 2008;21(12):1527-32.

Boimel PJ, Smirnova T, Zhou ZN, Wyckoff J, Park H, Coniglio SJ, et al. Contribution of CXCL12 secretion to invasion of breast cancer cells. *Breast cancer research. BCR.* 2012;14(1):R23.

Boisserie-Lacroix M, Bullier B, Hurtevent-Labrot G, Ferron S, Lippa N, et al. Corrélations imagerie-facteurs pronostiques — classification moléculaire des cancers du sein. *Journal de Radiologie Diagnostique et Interventionnelle.* 2014 ; 95 : 230—236

Bottger TC, Potratz D, Stockle M, Wellek S, Klupp J, et al. Prognostic value of DNA analysis in colorectal carcinoma. *Cancer.* 1993 ; 72 : 3579-87.

Boulay PL, Mitchell L, Turpin J, Huot-Marchand JÉ, Lavoie C, et al. Rab11-FIP1C is a critical negative regulator in ErbB2-mediated mammary tumor progression. *Cancer Res.* 2016. DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-2782

Bourne HR, Sanders DA, McCormick F. The GTPase superfamily: conserved structure and molecular mechanism. *Nature.* 1991;349(6305):117-27.

Bray F, McCarron P, Parkin DM. The changing global patterns of female breast cancer incidence and mortality. *Breast cancer research : BCR.* 2004;6(6):229-39.

Britschgi A, Andraos R, Brinkhaus H, Klebba I, Romanet V, Muller U, et al. JAK2/STAT5 inhibition circumvents resistance to PI3K/mTOR blockade: a rationale for cotargeting these pathways in metastatic breast cancer. *Cancer cell.* 2012;22(6):796-811.

Bryant HE, Schultz N, Thomas HD, Parker KM, Flower D, Lopez E, et al. Specific killing of BRCA2-deficient tumours with inhibitors of poly(ADP-ribose) polymerase. *Nature.* 2005;434(7035):913-7.

Buque A, Bloy N, Aranda F, Castoldi F, Eggermont A, et al. Trial Watch: Immunomodulatory monoclonal antibodies for oncological indications. *Oncoimmunology* 2015; 4:e1008814.

C

Calvo A, Xiao N, Kang J, Best CJ, Leiva I, Emmert-Buck MR, et al. Alterations in gene expression profiles during prostate cancer progression: functional correlations to tumorigenicity and down-regulation of selenoprotein-P in mouse and human tumors. *Cancer research*. 2002;62(18):5325-35.

Cameron D, Brown J, Dent R, Jackisch C, Mackey J, Pivot X, et al. Adjuvant bevacizumab-containing therapy in triple-negative breast cancer (BEATRICE): primary results of a randomised, phase 3 trial. *The Lancet Oncology*. 2013;14(10):933-42.

Campbell RA, Bhat-Nakshatri P, Patel NM, Constantinidou D, Ali S, Nakshatri H. Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-mediated activation of estrogen receptor alpha: a new model for anti-estrogen resistance. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(13):9817-24

Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2012;490:61-70.

Carey LA, Dees EC, Sawyer L, Gatti L, Moore DT, Collichio F, et al. The triple negative paradox: primary tumor chemosensitivity of breast cancer subtypes. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2007;13(8):2329-34.

Carey LA, Perou CM, Livasy CA, Dressler LG, Cowan D, Conway K, et al. Race, breast cancer subtypes, and survival in the Carolina Breast Cancer Study. *Jama*. 2006;295(21):2492-502.

Caswell PT, Chan M, Lindsay AJ, McCaffrey MW, Boettiger D, Norman JC. Rab-coupling protein coordinates recycling of alpha5beta1 integrin and EGFR1 to promote cell migration in 3D microenvironments. *The Journal of cell biology*. 2008;183(1):143-55.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Caswell PT, Spence HJ, Parsons M, White DP, Clark K, Cheng KW, et al. Rab25 associates with alpha5beta1 integrin to promote invasive migration in 3D microenvironments. *Developmental cell*. 2007;13(4):496-510.

Ceran C, Cokol M, Cingoz S, Tasan I, Ozturk M, Yagci T. Novel anti-HER2 monoclonal antibodies: synergy and antagonism with tumor necrosis factor-alpha. *BMC cancer*. 2012;12:450.

Ceresa BP, Schmid SL. Regulation of signal transduction by endocytosis. *Current opinion in cell biology*. 2000;12(2):204-10.

Chaher N, Arias-Pulido H, Terki N, Qualls C, Bouzid K, Verschraegen C, et al. Molecular and epidemiological characteristics of inflammatory breast cancer in Algerian patients. *Breast cancer research and treatment*. 2012;131(2):437-44.

Chaturvedi P, Gilkes DM, Wong CC, Kshitiz, Luo W, Zhang H, et al. Hypoxia-inducible factor-dependent breast cancer-mesenchymal stem cell bidirectional signaling promotes metastasis. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(1):189-205.

Chavrier P, Goud B. The role of ARF and Rab GTPases in membrane transport. *Current opinion in cell biology*. 1999;11(4):466-75.

Cheang MC, Chia SK, Voduc D, Gao D, Leung S, et al. Ki67 index, HER2 status, and prognosis of patients with luminal B breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2009;101(10):736-50.

Chen EP, Smyth EM. COX-2 and PGE2-dependent immunomodulation in breast cancer. *Prostaglandins & other lipid mediators*. 2011;96(1-4):14-20.

Chen WC, Lai YH, Chen HY, Guo HR, Su IJ, Chen HH. Interleukin-17-producing cell infiltration in the breast cancer tumour microenvironment is a poor prognostic factor. *Histopathology*. 2013;63(2):225-33

Cheng JM, Ding M, Aribi A, Shah P, Rao K. Loss of RAB25 expression in breast cancer. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2006;118(12):2957-64.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Cheng JM, Volk L, Janaki DK, Vyakaranam S, Ran S, Rao KA. Tumor suppressor function of Rab25 in triple-negative breast cancer. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2010;126(12):2799-812.

Cheng KW, Lahad JP, Kuo WL, Lapuk A, Yamada K, Auersperg N, et al. The RAB25 small GTPase determines aggressiveness of ovarian and breast cancers. *Nature medicine*. 2004;10(11):1251-6.

Cheng KW, Lahad JP, Gray JW, Mills GB. Emerging role of RAB GTPases in cancer and human disease. *Cancer research*. 2005;65(7):2516-9.

Cherbal F, Bakour R, Adane S, Boualga K, Benais-Pont G, et al. BRCA1 and BRCA2 germline mutations screening in Algerian breast/ovarian cancer families. *Dis Markers*. 2010; 28(6):377-84.

Chin K, DeVries S, Fridlyand J, Spellman PT, Roydasgupta R, Kuo WL, et al. Genomic and transcriptional aberrations linked to breast cancer pathophysiologies. *Cancer cell*. 2006;10(6):529-41.

Chuangsuwanich T, Pongpruttipan T, O-Charoenrat P, Komoltri C, Watcharahirun S, et al. Clinicopathologic features of breast carcinomas classified by biomarkers and correlation with microvessel density and VEGF expression: a study from Thailand. *Asian Pac J Cancer Prev*. 2014;15(3):1187-92.

Clarke CA, Keegan TH, Yang J, Press DJ, Kurian AW et al. Age-specific incidence of breast cancer subtypes: understanding the black-white crossover. *J Natl Cancer Inst*. 2012 ; 104(14):1094-101

Clough K.B., Heitz D., Salmon R.J. Chirurgie locorégionale des cancers du sein, *Encycl Med Chir (Elsevier SAS, Paris)*, 2003, vol. Techniques chirurgicales - Gynécologie, n° 41-970.

Colditz GA, Rosner B. Cumulative risk of breast cancer to age 70 years according to risk factor status: data from the Nurses' Health Study. *American journal of epidemiology*. 2000;152(10):950-64.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. (1996). Breast cancer and hormonal contraceptives: further results. *Contraception*. 54: 1S-106S

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast Cancer. Alcohol, tobacco and breast cancer-collaborative reanalysis of individual data from 53 epidemiological studies, including 58,515 women with breast cancer and 95,067 women without the disease. *Br J Cancer*. 2002 ; 87: 1234-45

Collaborative Group on Hormonal Factors in Breast cancer. Breast cancer and hormone replacement therapy: collaborative reanalysis of data from 51 epidemiological studies of 52 705 women with breast cancer and 108 411 women without breast cancer. *Lancet*. 1997 ; 350: 1047–59

Conner SD, Schmid SL. Regulated portals of entry into the cell. *Nature*. 2003 ; 422(6927):37-44.

Corbex M, Bouzbid S, Boffetta P. Features of breast cancer in developing countries, examples from North-Africa. *European journal of cancer*. 2014;50(10):1808-18.

Corner.S, Guille. A, Adélaïde. J, Addou-Klouche.L, Finetti.P, et al. Candidate Luminal B Breast Cancer Genes Identified by Genome, Gene Expression and DNA Methylation Profiling. *PLOS ONE*. 2014 ; 9(1):e81843

Coudert B, Anthony A, Fiedler W, Droz JP, Dieras V, Borner M, et al. Phase II trial with ISIS 5132 in patients with small-cell (SCLC) and non-small cell (NSCLC) lung cancer. A European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Early Clinical Studies Group report. *European journal of cancer*. 2001;37(17):2194-8.

Courjal F, Theillet C. Comparative genomic hybridization analysis of breast tumors with predetermined profiles of DNA amplification. *Cancer research*. 1997;57(19):4368-77.

Coussens LM, Zitvogel L, Palucka AK. Neutralizing tumor-promoting chronic inflammation: a magic bullet? *Science*. 2013;339(6117):286-91.

Coxon FP, Helfrich MH, Larijani B, Muzylak M, Dunford JE, Marshall D, et al. Identification of a novel phosphonocarboxylate inhibitor of Rab geranylgeranyl transferase that specifically prevents Rab prenylation in osteoclasts and macrophages. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(51):48213-22.

Curran MA, Montalvo W, Yagita H, Allison JP. PD-1 and CTLA-4 combination blockade expands infiltrating T cells and reduces regulatory T and myeloid cells within B16 melanoma tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010 ; 107(9):4275-80

D

Datta SR, Brunet A, Greenberg ME. Cellular survival: a play in three Akts. *Genes & development*. 1999;13(22):2905-27.

DeGraffenried LA, Fulcher L, Friedrichs WE, Grunwald V, Ray RB, Hidalgo M. Reduced PTEN expression in breast cancer cells confers susceptibility to inhibitors of the PI3 kinase/Akt pathway. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2004;15(10):1510-6.

den Hollander P, Savage MI, Brown PH. Targeted therapy for breast cancer prevention. *Frontiers in oncology*. 2013;3:250.

DeNardo DG, Brennan DJ, Rexhepaj E, Ruffell B, Shiao SL, Madden SF, et al. Leukocyte complexity predicts breast cancer survival and functionally regulates response to chemotherapy. *Cancer discovery*. 2011;1(1):54-67.

Dent R, Trudeau M, Pritchard KI, HannaW, Kahn HK, et al. Triple-Negative Breast Cancer: Clinical Features and Patterns of Recurrence. *Clin Cancer Res*. 2007 ; 13 : 4429

Dethlefsen C, Hojfeldt G, Hojman P. The role of intratumoral and systemic IL-6 in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2013;138(3):657-64.

Dirkx AE, Oude Egbrink MG, Wagstaff J, Griffioen AW. Monocyte/macrophage infiltration in tumors: modulators of angiogenesis. *Journal of leukocyte biology*. 2006;80(6):1183-96.

Dong C, Zhang X, Zhou F, Dou H, Duvernay MT, Zhang P, et al. ADP-ribosylation factors modulate the cell surface transport of G protein-coupled receptors. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2010;333(1):174-83.

Dong C. Diversification of T-helper-cell lineages: finding the family root of IL-17-producing cells. *Nature reviews Immunology*. 2006;6(4):329-33.

Dozynkiewicz MA, Jamieson NB, Macpherson I, Grindlay J, van den Berghe PV, von Thun A, et al. Rab25 and CLIC3 collaborate to promote integrin recycling from late endosomes/lysosomes and drive cancer progression. *Developmental cell*. 2012;22(1):131-45.

Dumitrescu RG, Cotarla I. Understanding breast cancer risk -- where do we stand in 2005? *Journal of cellular and molecular medicine*. 2005;9(1):208-21.

E

EBCTCG. Effects of chemotherapy and hormonal therapy for early breast cancer on recurrence and 15-year survival: an overview of the randomised trials. *Lancet*. (2005) ; 365: 1687–1717.

Emens LA, Braiteh FS, Cassier P, et al. Inhibition of PD-L1 by MPDL3280A leads to clinical activity in patients with metastatic triple negative breast cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;75(suppl; abstr PD1-6).

End DW, Smets G, Todd AV, Applegate TL, Fuery CJ, Angibaud P, et al. Characterization of the antitumor effects of the selective farnesyl protein transferase inhibitor R115777 in vivo and in vitro. *Cancer research*. 2001;61(1):131-7.

Endogenous H, Breast Cancer Collaborative G, Key TJ, Appleby PN, Reeves GK, Travis RC, et al. Sex hormones and risk of breast cancer in premenopausal women: a collaborative reanalysis of individual participant data from seven prospective studies. *The Lancet Oncology*. 2013;14(10):1009-19.

F

Fang H, Nie L, Chi Z, Liu J, Guo D, Lu X, et al. RecQL4 helicase amplification is involved in human breast tumorigenesis. *PloS one*. 2013;8(7):e69600.

Farmer H, McCabe N, Lord CJ, Tutt AN, Johnson DA, Richardson TB, et al. Targeting the DNA repair defect in BRCA mutant cells as a therapeutic strategy. *Nature*. 2005;434(7035):917-21.

Feng S, Knodler A, Ren J, Zhang J, Zhang X, Hong Y, et al. A Rab8 guanine nucleotide exchange factor-effector interaction network regulates primary ciliogenesis. *The Journal of biological chemistry*. 2012;287(19):15602-9.

Ferguson NL, Bell J, Heide R, Lee S, Vanmeter S, Duncan L, et al. Prognostic value of breast cancer subtypes, Ki-67 proliferation index, age, and pathologic tumor characteristics on breast cancer survival in Caucasian women. *The breast journal*. 2013;19(1):22-30.

Ferlay J, Héry C, Autier P, Sankaranarayanan R. Global Burden of breast cancer. *Breast cancer epidemiology*. 2010 (in Christopher Li. *Breast cancer epidemiology*. 2009). Springer science and business media. 432p

Ferlay J, Soerjomataram I, Ervik M, Dikshit R, Eser S, et al. GLOBOCAN 2012 v1.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 11 [Internet]. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer; 2013a. Available from: <http://globocan.iarc.fr>

Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh J.W.W et al. incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *European journal of cancer*. 2013b; (49): 1374-1403

Fisher B, Anderson S, Bryant J, Margolese RG, Deutsch M, et al. Twenty-year followup of a randomized trial comparing total mastectomy, lumpectomy, and lumpectomy plus irradiation for the treatment of invasive breast cancer. *N Engl J Med*. 2002; 347(16): 1233-1241

Fitzal F, Gnant M. Breast conservation: evolution of surgical strategies. *The breast journal*. 2006;12(5 Suppl 2):S165-73.

Fornage BD, Sneige N, Ross MI, Mirza AN, Kuerer HM, Edeiken BS, et al. Small (< or = 2-cm) breast cancer treated with US-guided radiofrequency ablation: feasibility study. *Radiology*. 2004;231(1):215-24.

Fourati A, Boussen H, El May MV, Goucha A, Dabbabi B, Gamoudi A, et al. Descriptive analysis of molecular subtypes in Tunisian breast cancer. *Asia-Pacific journal of clinical oncology*. 2014;10(2):e69-74.

Fourquet A, Kirova Y, Bollet MA, Tournat H, Dendale R, Campana F. [Meta-analyses of the effects of radiotherapy in breast cancer: the ultimate evidence?]. *Cancer radiotherapie : journal de la Societe francaise de radiotherapie oncologique*. 2008;12(6-7):554-8.

Frenel JS, Campone M. [Chemotherapy for early breast cancer: practices in 2010]. *Journal de gynecologie, obstetrique et biologie de la reproduction*. 2010;39(8 Suppl):F79-84.

G

Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system. *Nature reviews Immunology*. 2009;9(3):162-74.

Gabrilovich DI, Ostrand-Rosenberg S, Bronte V. Coordinated regulation of myeloid cells by tumours. *Nature reviews Immunology*. 2012;12(4):253-68.

Garcia JM, Silva JM, Dominguez G, Gonzalez R, Navarro A, et al. Allelic loss of the PTEN region (10q23) in breast carcinomas of poor pathophenotype. *Breast Cancer Res Treat*. 1999; 57: 237–243.

Garcia-Closas M, Troester MA, Qi Y, Langerod A, Yeager M, et al. Common genetic variation in GATA-binding protein 3 and differential susceptibility to breast cancer by estrogen receptor alpha tumor status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. 2007; 16:2269–75.

Garnier JM, Hamy A, Classe JM, Laborde O, Sagot P, Lopes P, et al. [A new approach to the axilla: functional axillary lymphadenectomy and padding]. *Journal de gynecologie, obstetrique et biologie de la reproduction*. 1993;22(3):237-42.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Gebhardt C, Breitenbach U, Richter KH, Furstenberger G, Mauch C, Angel P et al. c-Fos-dependent induction of the small ras-related GTPase Rab11a in skin carcinogenesis. *Am J Pathol.* 2005; 167(1): 243–53

Geng D, Zhao W, Feng Y, Liu J. Overexpression of Rab25 promotes hepatocellular carcinoma cell proliferation and invasion. *Tumour Biol.* 2016;37(6):7713-8.

Gewinner C, Wang ZC, Richardson A, Teruya-Feldstein J, Etemadmoghadam D, Bowtell D, et al. Evidence that inositol polyphosphate 4-phosphatase type II is a tumor suppressor that inhibits PI3K signaling. *Cancer cell.* 2009;16(2):115-25.

Geyer CE, Forster J, Lindquist D, Chan S, Romieu CG, Pienkowski T, et al. Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *The New England journal of medicine.* 2006;355(26):2733-43.

Gil M, Seshadri M, Komorowski MP, Abrams SI, Kozbor D. Targeting CXCL12/CXCR4 signaling with oncolytic virotherapy disrupts tumor vasculature and inhibits breast cancer metastases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 2013;110(14):E1291-300.

Giuliano AE, Kirgan DM, Guenther JM, Morton DL. Lymphatic mapping and sentinel lymphadenectomy for breast cancer. *Annals of surgery.* 1994;220(3):391-8; discussion 8-401.

Gobert M, Treilleux I, Bendriss-Vermare N, Bachelot T, Goddard-Leon S, Arfi V, et al. Regulatory T cells recruited through CCL22/CCR4 are selectively activated in lymphoid infiltrates surrounding primary breast tumors and lead to an adverse clinical outcome. *Cancer research.* 2009;69(5):2000-9.

Gohn T, Seino Y, Hanamura T, Niwa T, Matsumoto M, Yaegashi N, et al. Individual transcriptional activity of estrogen receptors in primary breast cancer and its clinical significance. *Cancer medicine.* 2012;1(3):328-37.

Goldberg JE, Schwertfeger KL. Proinflammatory cytokines in breast cancer: mechanisms of action and potential targets for therapeutics. *Current drug targets.* 2010;11(9):1133-46.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Goldenberg DM, Vahdat LT, Starodub AN, et al. IMMU-132, a potential new antibody-drug conjugate for the treatment of triple-negative breast cancer: Preclinical and initial clinical results. 37th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. December 2014. Abstract P5-19-08.

Goldenring JR, Shen KR, Vaughan HD, Modlin IM. Identification of a small GTP-binding protein, Rab25, expressed in the gastrointestinal mucosa, kidney, and lung. *The Journal of biological chemistry*. 1993 ;268(25):18419-22.

Goldenring JR, Nam KT. Rab25 as a tumour suppressor in colon carcinogenesis. *Br J Cancer* 2011; 104(1): 33–6

Goldenring JR. A central role for vesicle trafficking in epithelial neoplasia: intracellular highways to carcinogenesis. *Nature reviews Cancer*. 2013;13(11):813-20.

Gordon S. Alternative activation of macrophages. *Nature reviews Immunology*. 2003;3(1):23-35.

Grosclaude P, Colonna M, Hedelin G, Tretarre B, Arveux P, et al. Survival of women with breast cancer in france: variation with age, stage and treatment. *Breast Cancer Res Treat*. 2001;70(2):137-43.

Gucalp A, Sparano JA, Caravelli J, Santamauro J, Patil S, Abbruzzi A, et al. Phase II trial of saracatinib (AZD0530), an oral SRC-inhibitor for the treatment of patients with hormone receptor-negative metastatic breast cancer. *Clinical breast cancer*. 2011;11(5):306-11.

Guttmacher AE, Collins FS, Carmona RH. The family history—more important than ever. *N Engl J Med*. 2004; 351 (22):2333-6

H

Hales CM, Griner R, Hobdy-Henderson KC, Dorn MC, Hardy D, Kumar R, et al. Identification and characterization of a family of Rab11-interacting proteins. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(42):39067-75.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Hales CM, Griner R, Hobdy-Henderson KC, Dorn MC, Hardy D, Kumar R, et al. Identification and characterization of a family of Rab11-interacting proteins. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(42):39067-75.

Hamidullah, Changkija B, Konwar R. Role of interleukin-10 in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2012;133(1):11-21.

Hanks BA, Holtzhausen A, Evans KS, Jamieson R, Gimpel P, Campbell OM, et al. Type III TGF-beta receptor downregulation generates an immunotolerant tumor microenvironment. *The Journal of clinical investigation*. 2013;123(9):3925-40.

Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, Turner H, Murphy TL, Murphy KM, et al. Interleukin 17-producing CD4⁺ effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages. *Nature immunology*. 2005;6(11):1123-32.

Harrison H, Farnie G, Howell SJ, Rock RE, Stylianou S, Brennan KR, et al. Regulation of breast cancer stem cell activity by signaling through the Notch4 receptor. *Cancer research*. 2010;70(2):709-18.

Hartman ZC, Poage GM, den Hollander P, Tsimelzon A, Hill J, Panupinthu N, et al. Growth of triple-negative breast cancer cells relies upon coordinate autocrine expression of the proinflammatory cytokines IL-6 and IL-8. *Cancer research*. 2013;73(11):3470-80.

Hassiotou F, Geddes D. Anatomy of the human mammary gland: Current status of knowledge. *Clinical anatomy*. 2013;26(1):29-48.

He H, Dai F, Yu L, She X, Zhao Y, Jiang J, et al. Identification and characterization of nine novel human small GTPases showing variable expressions in liver cancer tissues. *Gene expression*. 2002;10(5-6):231-42.

Helleday T, Bryant HE, Schultz N. Poly(ADP-ribose) polymerase (PARP-1) in homologous recombination and as a target for cancer therapy. *Cell cycle*. 2005;4(9):1176-8.

Herrmann C. Ras-effector interactions: after one decade. *Current opinion in structural biology*. 2003;13(1):122-9.

Herschkowitz JI, He X, Fan C, Perou CM. The functional loss of the retinoblastoma tumour suppressor is a common event in basal-like and luminal B breast carcinomas. *Breast cancer research : BCR*. 2008;10(5):R75.

Herschkowitz JI, Simin K, Weigman VJ, Mikaelian I, Usary J, Hu Z, et al. Identification of conserved gene expression features between murine mammary carcinoma models and human breast tumors. *Genome biology*. 2007;8(5):R76.

Higgins MJ, Baselga J. Targeted therapies for breast cancer. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(10):3797-803.

Hisamatsu Y, Tokunaga E, Yamashita N, Akiyoshi S, Okada S, Nakashima Y, et al. Impact of FOXA1 expression on the prognosis of patients with hormone receptor-positive breast cancer. *Annals of surgical oncology*. 2012;19(4):1145-52.

Hoglund M, Gisselsson D, Mandahl N, Johansson B, Mertens F, et al. Multivariate analyses of genomic imbalances in solid tumors reveal distinct and converging pathways of karyotypic evolution. *Genes Chromosomes Cancer*. 2001; 31:156 –171.

Howland NK, Driver TD, Sedrak MP, Wen X, Dong W, Hatch S, et al. Lymph node involvement in immunohistochemistry-based molecular classifications of breast cancer. *The Journal of surgical research*. 2013;185(2):697-703.

Hu Z, Fan C, Oh DS, Marron JS, He X, Qaqish BF, et al. The molecular portraits of breast tumors are conserved across microarray platforms. *BMC genomics*. 2006;7:96.

Hudis CA, Gianni L. Triple-negative breast cancer: an unmet medical need. *The oncologist*. 2011;16 Suppl 1:1-11.

I

IARC , International Agency for research on Cancer. Weight control and physical activity. IARC handbooks of cancer Prevention, 2002 ; Volume 6.IARC Press: Lyon

Ibrahim NK, Murray JL, Zhou D, Mittendorf EA, Sample D, Tautchin M, et al. Survival Advantage in Patients with Metastatic Breast Cancer Receiving Endocrine Therapy plus Sialyl Tn-KLH Vaccine: Post Hoc Analysis of a Large Randomized Trial. *Journal of Cancer*. 2013;4(7):577-84.

Ignatiadis M, Sotiriou C. Luminal breast cancer: from biology to treatment. *Nature reviews Clinical oncology*. 2013;10(9):494-506.

Iodice S, Barile M, Rotmensz N, Feroce I, Bonanni B, et al. Oral contraceptive use and breast or ovarian cancer risk in BRCA1/2 carriers: a meta-analysis. *Eur J Cancer*. 2010 ; 46(12):2275-84

Isakoff SJ, Bendell JC, Cervantes A, et al. Phase Ib dose-escalation study of an Akt inhibitor ipatasertib in combination with docetaxel or paclitaxel in patients with metastatic breast cancer. 37th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. December 2014. Abstract P6-12-02.

Isakoff SJ, Overmoyer B, Tung NM, et al. A phase II trial of the PARP inhibitor veliparib (ABT888) and temozolomide for metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*. 2010;28 (suppl; abstr 1019

Isola J, DeVries S, Chu L, Ghazvini S, Waldman F. Analysis of changes in DNA sequence copy number by comparative genomic hybridization in archival paraffin-embedded tumor samples. *The American journal of pathology*. 1994;145(6):1301-8.

J

Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*. 2010;19(8):1893-907.

Jeselsohn R, Brown NE, Arendt L, Klebba I, Hu MG, et al. Cyclin D1 kinase activity is required for the self-renewal of mammary stem and progenitor cells that are targets of MMTV-ErbB2 tumorigenesis. *Cancer Cell*. 2010 ; 17:65-76

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Jiang H, Chess L. Regulation of immune responses by T cells. *The New England journal of medicine*. 2006;354(11):1166-76.

Jiang X, Shapiro DJ. The immune system and inflammation in breast cancer. *Molecular and cellular endocrinology*. 2014;382(1):673-82.

Jin M, Goldenring JR. The Rab11-FIP1/RCP gene codes for multiple protein transcripts related to the plasma membrane recycling system. *Biochimica et biophysica acta*. 2006;1759(6):281-95.

Joffroy CM, Buck MB, Stope MB, Popp SL, Pfizenmaier K, Knabbe C. Antiestrogens induce transforming growth factor beta-mediated immunosuppression in breast cancer. *Cancer research*. 2010;70(4):1314-22.

Johnson KC. Accumulating evidence on passive and active smoking and breast cancer risk. *Int J cancer*. 2005 ; 117 :619-628

Johnson N, Shapiro GI. Cyclin-dependent kinases (cdks) and the DNA damage response: rationale for cdk inhibitor-chemotherapy combinations as an anticancer strategy for solid tumors. *Expert opinion on therapeutic targets*. 2010;14(11):1199-212.

K

Kakarala M, Wicha MS. Implications of the cancer stem-cell hypothesis for breast cancer prevention and therapy. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2008;26(17):2813-20.

Kallioniemi A, Kallioniemi OP, Piper J, Tanner M, Stokke T, Chen L, et al. Detection and mapping of amplified DNA sequences in breast cancer by comparative genomic hybridization. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1994;91(6):2156-60.

Karavitis J, Hix LM, Shi YH, Schultz RF, Khazaie K et al. Regulation of COX2 expression in mouse mammary tumor cells controls bone metastasis and PGE2-induction of regulatory T cell migration. *PLoS ONE*. 2012 ; 7(9):e46342

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Karn T, Ruckhaberle E, Hanka L, Muller V, Schmidt M, Solbach C, et al. Gene expression profiling of luminal B breast cancers reveals NHERF1 as a new marker of endocrine resistance. *Breast cancer research and treatment*. 2011;130(2):409-20.

Kelsey JL, Bernstein L. Epidemiology and prevention of breast cancer. *Annu Rev Public Health*. 1996; 17: 47-67

Key TJ, Verkasalo PK, Banks E. Epidemiology of breast cancer. *The Lancet Oncology*. 2001;2(3):133-40.

Kittiniyom K, Gorse KM, Dalbague F, Lichy JH, Taubenberger JK, Newsham IF. Allelic loss on chromosome band 18p11.3 occurs early and reveals heterogeneity in breast cancer progression. *Breast cancer research : BCR*. 2001;3(3):192-8.

Knodler A, Feng S, Zhang J, Zhang X, Das A, Peranen J, et al. Coordination of Rab8 and Rab11 in primary ciliogenesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010;107(14):6346-51.

Koo CY, Muir KW, Lam EW. FOXM1: From cancer initiation to progression and treatment. *Biochim Biophys Acta* 1819: 28–37

Korkaya H, Liu S, Wicha MS. Breast cancer stem cells, cytokine networks, and the tumor microenvironment. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(10):3804-9.

Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. *Annual review of immunology*. 2009;27:485-517.

Korsching E, Packeisen J, Agelopoulos K, Eisenacher M, Voss R, Isola J, et al. Cytogenetic alterations and cytokeratin expression patterns in breast cancer: integrating a new model of breast differentiation into cytogenetic pathways of breast carcinogenesis. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*. 2002;82(11):1525-33.

Krainer M, Silva-Arrieta S, FitzGerald MG, Shimada A, Ishioka C, Kanamaru R, et al. Differential contributions of BRCA1 and BRCA2 to early-onset breast cancer. *The New England journal of medicine*. 1997;336(20):1416-21.

Kuukasjarvi T, Karhu R, Tanner M, Kahkonen M, Schaffer A, Nupponen N, et al. Genetic heterogeneity and clonal evolution underlying development of asynchronous metastasis in human breast cancer. *Cancer research*. 1997;57(8):1597-604.

L

Lakhani SR, Ellis IO, Schnitt SJ, Tan PH, van de Vijver MJ, International Agency for Research on Cancer, World Health Organization, editors. *WHO Classification of Tumors of the Breast*. 4th ed. Lyon: International Agency for Research on Cancer. 2012

Lamy PJ, Pujol P, Thezenas S, Kramar A, Rouanet P, Guilleux F, et al. Progesterone receptor quantification as a strong prognostic determinant in postmenopausal breast cancer women under tamoxifen therapy. *Breast cancer research and treatment*. 2002;76(1):65-71.

Langerod A, Zhao H, Borgan O, Nesland JM, Bukholm IR, et al. TP53 mutation status and gene expression profiles are powerful prognostic markers of breast cancer. *Breast Cancer Res*. 2007 ; 9:R30

Laoui D, Movahedi K, Van Overmeire E, Van den Bossche J, Schouppe E, Mommer C, et al. Tumor-associated macrophages in breast cancer: distinct subsets, distinct functions. *The International journal of developmental biology*. 2011;55(7-9):861-7.

Lapierre LA¹, Kumar R, Hales CM, Navarre J, Bhartur SG et al. Myosin vb is associated with plasma membrane recycling systems. *Mol Biol Cell*. 2001;12(6):1843-57.

Lascombe I, Beffa D, Ruegg U, Tarradellas J, Wahli W. Estrogenic activity assessment of environmental chemicals using in vitro assays: identification of two new estrogenic compounds. *Environmental health perspectives*. 2000;108(7):621-9.

Le Doussal V, Tubiana-Hulin M, Friedman S, Hacene K, Spyrtos F, Brunet M. Prognostic value of histologic grade nuclear components of Scarff-Bloom-Richardson (SBR). An improved score modification based on a multivariate analysis of 1262 invasive ductal breast carcinomas. *Cancer*. 1989;64(9):1914-21.

Lee AH, Happerfield LC, Millis RR, Bobrow LG. Inflammatory infiltrate in invasive lobular and ductal carcinoma of the breast. *British journal of cancer*. 1996;74(5):796-801.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Leek RD, Hunt NC, Landers RJ, Lewis CE, Royds JA, Harris AL. Macrophage infiltration is associated with VEGF and EGFR expression in breast cancer. *The Journal of pathology*. 2000;190(4):430-6.

Leek RD, Lewis CE, Whitehouse R, Greenall M, Clarke J, Harris AL. Association of macrophage infiltration with angiogenesis and prognosis in invasive breast carcinoma. *Cancer research*. 1996;56(20):4625-9.

Lehmann BD, Bauer JA, Chen X, Sanders ME, Chakravarthy AB, Shyr Y, et al. Identification of human triple-negative breast cancer subtypes and preclinical models for selection of targeted therapies. *The Journal of clinical investigation*. 2011;121(7):2750-67.

Leissner P, Verjat T, Bachelot T, Paye M, Krause A, Puisieux A, et al. Prognostic significance of urokinase plasminogen activator and plasminogen activator inhibitor-1 mRNA expression in lymph node- and hormone receptor-positive breast cancer. *BMC cancer*. 2006;6:216.

Lengauer. C, Kinzler. K.W, Vogelstein. B. Genetic instabilities in human cancers. *NATURE*. 1998 ; 396 : 643-649

Leong SPL, Shen ZZ, Liu TJ, Agarwal G, Tajima T, et al. Is breast cancer the same disease in Asian and western countries? *World J Surg*. 2010;34(10):2308–2324.

Letessier A, Sircoulomb F, Ginestier C, Cervera N, Monville F, Gelsi-Boyer V, et al. Frequency, prognostic impact, and subtype association of 8p12, 8q24, 11q13, 12p13, 17q12, and 20q13 amplifications in breast cancers. *BMC cancer*. 2006;6:245.

Lewis JS, Landers RJ, Underwood JC, Harris AL, Lewis CE. Expression of vascular endothelial growth factor by macrophages is up-regulated in poorly vascularized areas of breast carcinomas. *J. Pathol.*2000 ; **192**(2):150-158.

Li J, Gonzalez-Angulo AM, Allen PK, Yu TK, Woodward WA, et al: Triple-negative subtype predicts poor overall survival and high locoregional relapse in inflammatory

Liao GS, Chou YC, Hsu HM, Dai MS, Yu JC. The prognostic value of lymph node status among breast cancer subtypes. *American journal of surgery*. 2015;209(4):717-24.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Liu Y, Tao X, Jia L, Cheng KW, Lu Y, Yu Y, et al. Knockdown of RAB25 promotes autophagy and inhibits cell growth in ovarian cancer cells. *Molecular medicine reports*. 2012;6(5):1006-12.

Liu Z, Lu Y, He Z, Chen L, Lu Y. Expression analysis of the estrogen receptor target genes in renal cell carcinoma. *Mol Med Rep*. 2015 ; 11(1):75-82

Livasy CA, Karaca G, Nanda R, Tretiakova MS, Olopade OI, Moore DT, et al. Phenotypic evaluation of the basal-like subtype of invasive breast carcinoma. *Modern pathology : an official journal of the United States and Canadian Academy of Pathology, Inc*. 2006;19(2):264-71.

Lucchi-Angellier E. [Hormone therapy and breast cancer: a review]. *La Revue de medecine interne / fondee par la Societe nationale francaise de medecine interne*. 2001;22(12):1213-24.

Ly M, Antoine M, Dembélé AK, Levy P, Rodenas A, et al. High Incidence of Triple-Negative Tumors in Sub-Saharan Africa: A Prospective Study of Breast Cancer Characteristics and Risk Factors in Malian Women Seen in a Bamako University Hospital. *Oncology*. 2012;83:257–263

M

Maalej M, Frikha H, Ben Salem S, Daoud J, Bouaouina N, Ben Abdallah M, et al. [Breast cancer in Tunisia: clinical and epidemiological study]. *Bulletin du cancer*. 1999;86(3):302-6.

Mahmoud SM, Lee AH, Paish EC, Macmillan RD, Ellis IO, Green AR. Tumour-infiltrating macrophages and clinical outcome in breast cancer. *Journal of clinical pathology*. 2012;65(2):159-63.

Mammoto A, Ohtsuka T, Hotta I, Sasaki T, Takai Y. Rab11BP/Rabphilin-11, a downstream target of rab11 small G protein implicated in vesicle recycling. *The Journal of biological chemistry*. 1999;274(36):25517-24.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Marchbanks PA, McDonald JA, Wilson HG, Folger SG, Mandel MG, Daling JR, et al. Oral contraceptives and the risk of breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2002;346(26):2025-32.

Markowitz J, Wesolowski R, Papenfuss T, Brooks TR, Carson WE, 3rd. Myeloid-derived suppressor cells in breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2013;140(1):13-21.

Maruti SS, Willett WC, Feskanich D, Rosner B, Colditz GA. A prospective study of age-specific physical activity and premenopausal breast cancer. *Journal of the National Cancer Institute*. 2008;100(10):728-37.

Matulonis U, Wulf GM, Birrer MJ, et al. Phase I study of oral BKM120 and oral olaparib for high-grade serous ovarian cancer or triple-negative breast cancer. *J Clin Oncol*. 2014;32 (suppl; abstr 2510).

Mauri D, Pavlidis N, Polyzos NP, Ioannidis JP. Survival with aromatase inhibitors and inactivators versus standard hormonal therapy in advanced breast cancer: meta-analysis. *Journal of the National Cancer Institute*. 2006;98(18):1285-91.

Mazouni C, Rimareix F, Mathieu MC, Uzan C, Bourgier C, Andre F, et al. Outcome in breast molecular subtypes according to nodal status and surgical procedures. *American journal of surgery*. 2013;205(6):662-7.

Mehta RJ, Jain RK, Leung S, Choo J, Nielsen T, Huntsman D, et al. FOXA1 is an independent prognostic marker for ER-positive breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2012;131(3):881-90.

Miles D, Roche H, Martin M, Perren TJ, Cameron DA, Glaspy J, et al. Phase III multicenter clinical trial of the sialyl-TN (STn)-keyhole limpet hemocyanin (KLH) vaccine for metastatic breast cancer. *The oncologist*. 2011;16(8):1092-100.

Miller WR. Biological rationale for endocrine therapy in breast cancer. *Best practice & research Clinical endocrinology & metabolism*. 2004;18(1):1-32.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Millikan RC, Newman B, Tse CK, Moorman PG, Conway K, Dressler LG, et al. Epidemiology of basal-like breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2008;109(1):123-39.

Missmer SA, Eliassen AH, Barbieri RL, Hankinson SE. Endogenous estrogen, androgen, and progesterone concentrations and breast cancer risk among postmenopausal women. *Journal of the National Cancer Institute*. 2004;96(24):1856-65.

Mitelman F, Johansson B, Mertens F, editors. *Mitelman database of chromosome aberrations in cancer*. 2003. <http://cgap.nci.nih.gov/Chromosomes/Mitelman>

Mitra S, Cheng KW, Mills GB. Rab GTPases implicated in inherited and acquired disorders. *Seminars in cell & developmental biology*. 2011;22(1):57-68.

Mitra S, Cheng KW, Mills GB. RAB 25 in cancer. *Biochem Soc Trans* 2012; 40 (6):1404-1408

Mittendorf EA, Clifton GT, Holmes JP, Schneble E, van Echo D, Ponniah S, et al. Final report of the phase I/II clinical trial of the E75 (nelipepimut-S) vaccine with booster inoculations to prevent disease recurrence in high-risk breast cancer patients. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO*. 2014;25(9):1735-42.

Montero AJ, Diaz-Montero CM, Deutsch YE, Hurley J, Koniaris LG, Rumboldt T, et al. Phase 2 study of neoadjuvant treatment with NOV-002 in combination with doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel in patients with HER-2 negative clinical stage II-IIIc breast cancer. *Breast cancer research and treatment*. 2012;132(1):215-23.

Moore KL, Dalley AF. *Anatomie médicale: aspects fondamentaux et applications cliniques*. 2001 ; 1177 PP

Mor O, Nativ O, Stein A, Novak L, Lehavi D, Shibolet Y, et al. Molecular analysis of transitional cell carcinoma using cDNA microarray. *Oncogene*. 2003;22(48):7702-10.

Mosesson Y, Mills GB, Yarden Y. Derailed endocytosis: an emerging feature of cancer. *Nature reviews Cancer*. 2008;8(11):835-50.

Mukherjee D, Zhao J. The Role of chemokine receptor CXCR4 in breast cancer metastasis. American journal of cancer research. 2013;3(1):46-57.

Muleris M, Almeida A, Gerbault-Seureau M, Malfoy B, Dutrillaux B. Identification of amplified DNA sequences in breast cancer and their organization within homogeneously staining regions. Genes, chromosomes & cancer. 1995;14(3):155-63.

N

Na YR, Yoon YN, Son DI, Seok SH. Cyclooxygenase-2 inhibition blocks M2 macrophage differentiation and suppresses metastasis in murine breast cancer model. PloS one. 2013;8(5):e63451.

Najjar H, Easson A. Age at diagnosis of breast cancer in Arab nations. International journal of surgery. 2010;8(6):448-52.

Nam KT, Lee HJ, Smith JJ, Lapierre LA, Kamath VP, Chen X, et al. Loss of Rab25 promotes the development of intestinal neoplasia in mice and is associated with human colorectal adenocarcinomas. The Journal of clinical investigation. 2010;120(3):840-9.

Namer M., Gligorov J., Luporsi E, Serin D. Cancer du sein: Recommandations pour la pratique clinique. ONCOLOGIE. 2005 ; p 342-379

Natrajan R, Williams RD, Hing SN, Mackay A, Reis-Filho JS, et al. Array CGH profiling of favourable histology Wilms tumours reveals novel gains and losses associated with relapse The Journal of Pathology.2006 ; 210(1) : 49–58

NCT02202746. A Study to Assess the Safety and Efficacy of the VEGFR-FGFR Inhibitor, Lucitanib, Given to Patients With FGF Aberrant Metastatic Breast Cancer.<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02202746>. Accessed March 12, 2015.

Niemeier LA, Dabbs DJ, Beriwal S, Striebel JM, Bhargava R. Androgen receptor in breast cancer: expression in estrogen receptor-positive tumors and in estrogen receptor-negative tumors with apocrine differentiation. Mod Pathol. 2010 ; 23(2):205-12

Nishizaki T, Chew K, Chu L, Isola J, Kallioniemi A, Weidner N, et al. Genetic alterations in lobular breast cancer by comparative genomic hybridization. *International journal of cancer* *Journal international du cancer*. 1997;74(5):513-7.

Nkondjock A, Ghadirian P. Facteurs de risque du cancer du sein *MEDECINE/SCIENCES*. 2005;21 : 175-80

Novitskiy SV, Pickup MW, Gorska AE, Owens P, Chytil A, Aakre M, et al. TGF-beta receptor II loss promotes mammary carcinoma progression by Th17 dependent mechanisms. *Cancer discovery*. 2011;1(5):430-41.

O

Obeid E, Nanda R, Fu YX, Olopade OI. The role of tumor-associated macrophages in breast cancer progression (review). *International journal of oncology*. 2013;43(1):5-12.

Oh DS, Troester MA, Usary J, Hu Z, He X, Fan C, et al. Estrogen-regulated genes predict survival in hormone receptor-positive breast cancers. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2006;24(11):1656-64.

Ohara M, Yamaguchi Y, Matsuura K, Murakami S, Arihiro K, Okada M. Possible involvement of regulatory T cells in tumor onset and progression in primary breast cancer. *Cancer immunology, immunotherapy : CII*. 2009;58(3):441-7.

Omar S, Khaled H, Gaafar R, Zekry AR, Eissa S, el-Khatib O. Breast cancer in Egypt: a review of disease presentation and detection strategies. *Eastern Mediterranean health journal = La revue de sante de la Mediterranee orientale = al-Majallah al-sihhiyah li-sharq al-mutawassit*. 2003;9(3):448-63.

Ontilo AA, Enget JM, Greenlee RT, Mukesh BN. Breast cancer subtypes based on ER/PR and HER-2/neu expression: Comparison of clinicopathologic features and survival. *Clinical Medicine & Research*. 2008; 7 (1-2) 4-13.

O'Sullivan C, Lewis CE, Harris AL, McGee JO. Secretion of epidermal growth factor by macrophages associated with breast carcinoma. *Lancet*. 1993;342(8864):148-9.

Ozsaran et al, staging of breast cancer . In: A. Haydaroglu and G. Ozyigit (eds.), Principles and Practice of Modern Radiotherapy Techniques in Breast Cancer. Springer 2013. 360p

Oztan A, Silvis M, Weisz OA, Bradbury NA, Hsu SC, Goldenring JR, et al. Exocyst requirement for endocytic traffic directed toward the apical and basolateral poles of polarized MDCK cells. *Molecular biology of the cell*. 2007;18(10):3978-92.

P

Paik S, Shak S, Tang G, Kim C, Baker J, Cronin M, et al. A multigene assay to predict recurrence of tamoxifen-treated, node-negative breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2004;351(27):2817-26.

Parise CA, Bauer KR, Brown MM, Caggiano V. Breast cancer subtypes as defined by the estrogen receptor (ER), progesterone receptor (PR), and the human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) among women with invasive breast cancer in California, 1999-2004. *Breast J*. 2009;15(6):593-602

Patel MN, Halling-Brown MD, Tym JE, Workman P, Al-Lazikani B. Objective assessment of cancer genes for drug discovery. *Nature reviews Drug discovery*. 2013;12(1):35-50.

Peden AA, Schonteich E, Chun J, Junutula JR, Scheller RH, Prekeris R. The RCP-Rab11 complex regulates endocytic protein sorting. *Molecular biology of the cell*. 2004;15(8):3530-41.

Pei L, Peng Y, Yang Y, Ling XB, Van Eyndhoven WG, Nguyen KC, et al. PRC17, a novel oncogene encoding a Rab GTPase-activating protein, is amplified in prostate cancer. *Cancer research*. 2002;62(19):5420-4.

Perou CM, Sorlie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Rees CA, et al. Molecular portraits of human breast tumours. *Nature*. 2000;406(6797):747-52.

Phipps AI, Chlebowski RT, Prentice R, McTiernan A, Stefanick ML, Wactawski-Wende J, et al. Body size, physical activity, and risk of triple-negative and estrogen receptor-positive breast cancer. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American*

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology. 2011;20(3):454-63.

Polo S, Pece S, Di Fiore PP. Endocytosis and cancer. *Current opinion in cell biology*. 2004;16(2):156-61.

Prat A, Parker JS, Karginova O, Fan C, Livasy C, Herschkowitz JI, et al. Phenotypic and molecular characterization of the claudin-low intrinsic subtype of breast cancer. *Breast cancer research : BCR*. 2010;12(5):R68.

Prekeris R, Davies JM, Scheller RH. Identification of a novel Rab11/25 binding domain present in Eferin and Rip proteins. *The Journal of biological chemistry*. 2001;276(42):38966-70.

Prives C, Hall PA. The p53 pathway. *J Pathol*. 1999 ; 187 : 112-26.

Puig-Vives M, Sánchez MJ, Sánchez-Cantalejo J, Torrella-Ramos A, Martos C, et al. Distribution and prognosis of molecular breast cancer subtypes defined by immunohistochemical biomarkers in a Spanish population-based study. *Gynecol Oncol*. 2013;130(3):609-14

Q

Qian BZ, Pollard JW. Macrophage diversity enhances tumor progression and metastasis. *Cell*. 2010;141(1):39-51.

Qian X, Gu L, Ning H, Zhang Y, Hsueh EC, Fu M, et al. Increased Th17 cells in the tumor microenvironment is mediated by IL-23 via tumor-secreted prostaglandin E2. *Journal of immunology*. 2013;190(11):5894-902.

R

Raharisolo CR, Rabarijiaona LP, Rajemiarimoeisoa C, Rasendramino M, Migliani R. "Assessment of Breast Cancers Diagnosed L'institut Pasteur de Madagascar from 1995 to 2001," *Archives de L'Institut Pasteur de Madagascar*. 2002.68 :104-108.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Rao S, Cunningham D, de Gramont A, Scheithauer W, Smakal M, Humblet Y, et al. Phase III double-blind placebo-controlled study of farnesyl transferase inhibitor R115777 in patients with refractory advanced colorectal cancer. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2004;22(19):3950-7.

Ravdin PM, Chamness GC. The c-erbB-2 proto-oncogene as a prognostic and predictive marker in breast cancer: a paradigm for the development of other macromolecular markers--a review. *Gene*. 1995;159(1):19-27.

Ray ME, Yang ZQ, Albertson D, Kleer CG, Washburn JG, Macoska JA, et al. Genomic and expression analysis of the 8p11-12 amplicon in human breast cancer cell lines. *Cancer research*. 2004;64(1):40-7.

Rech AJ, Mick R, Martin S, Recio A, Aqui NA, Powell DJ, Jr., et al. CD25 blockade depletes and selectively reprograms regulatory T cells in concert with immunotherapy in cancer patients. *Science translational medicine*. 2012;4(134):134ra62.

Reis-Filho JS, Savage K, Lambros MB, et al. Cyclin D1 protein overexpression and CCND1 amplification in breast carcinomas: an immunohistochemical and chromogenic in situ hybridisation analysis. *Mod Pathol*. 2006;19:999-1009

Renehan AG, Harvie M, Howell A. Insulin-like growth factor (IGF)-1, IGF binding protein-3, and breast cancer risk : eight years on. *Endocr Relat Cancer*. 2006; 13: 273-278

Ribatti D, Nico B, Crivellato E, Vacca A. Macrophages and tumor angiogenesis. *Leukemia*. 2007;21(10):2085-9.

Ried T, Just KE, Holtgreve-Grez H, du Manoir S, Speicher MR, Schrock E, et al. Comparative genomic hybridization of formalin-fixed, paraffin-embedded breast tumors reveals different patterns of chromosomal gains and losses in fibroadenomas and diploid and aneuploid carcinomas. *Cancer research*. 1995;55(22):5415-23.

Rocheffort H, Rouëssé J. How to reduce the incidence of breast cancer. *Bull Acad Natl Med*. 2008;192(1):161-79.

Roland JT, Lapierre LA, Goldenring JR. Alternative splicing in class V myosins determines association with Rab10. *The Journal of biological chemistry*. 2009;284(2):1213-23.

Ronnov-Jessen L, Petersen OW, Bissell MJ. Cellular changes involved in conversion of normal to malignant breast: importance of the stromal reaction. *Physiological reviews*. 1996;76(1):69-125.

Rouzier R, Perou CM, Symmans WF, Ibrahim N, Cristofanilli M, Anderson K, et al. Breast cancer molecular subtypes respond differently to preoperative chemotherapy. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2005;11(16):5678-85.

Ruttinger D, Winter H, van den Engel NK, et al. Immunotherapy of cancer: key findings and commentary on the Third Tegernsee Conference. *Oncologist*. 2010;15:112-18

S

Sabatier R, Finetti P, Mamessier E, Adelaide J, Chaffanet M, Ali HR, et al. Prognostic and predictive value of PDL1 expression in breast cancer. *Oncotarget*. 2015;6(7):5449-64.

Sadikovic.B, Al-Romaih. K, Squire .J.A, Zielenska.M. Cause and Consequences of Genetic and Epigenetic Alterations in Human Cancer. *Current Genomic.*, 2008 ; 9 : 394-408

Sakorafas GH, Krespis E, Pavlakis G. Risk estimation for breast cancer development; a clinical perspective. *Surgical oncology*. 2002;10(4):183-92.

Salgado R, Junius S, Benoy I, Van Dam P, Vermeulen P, Van Marck E, et al. Circulating interleukin-6 predicts survival in patients with metastatic breast cancer. *International journal of cancer Journal international du cancer*. 2003;103(5):642-6.

Sanlaville D, Lapierre JM, Turleau C, Coquin A, Borck G, Colleaux L, et al. Molecular karyotyping in human constitutional cytogenetics. *European journal of medical genetics*. 2005;48(3):214-31.

Sariego J, Zrada S, Byrd M, Matsumoto T. Breast cancer in young patients. *American journal of surgery*. 1995;170(3):243-5.

Scholl S, Beuzeboc P, Pouillart P. Targeting Her2 in other tumor types. *Annals of Oncology* 2001;(suppl.1):S81–7.

Schreiber RD, Old LJ, Smyth MJ. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science*. 2011;331(6024):1565-70.

Schwendel A, Richard F, Langreck H, Kaufmann O, Lage H, Winzer KJ, et al. Chromosome alterations in breast carcinomas: frequent involvement of DNA losses including chromosomes 4q and 21q. *British journal of cancer*. 1998;78(6):806-11.

Sebti SM, Hamilton AD. Farnesyltransferase and geranylgeranyltransferase I inhibitors and cancer therapy: lessons from mechanism and bench-to bedside translational studies. *Oncogene*. 2000;19(56):6584-93.

Seksenyan A, Kadavallore A, Walts AE, de la Torre B, Berel D, Strom SP, et al. TOX3 is expressed in mammary ER(+) epithelial cells and regulates ER target genes in luminal breast cancer. *BMC cancer*. 2015;15:22.

Shimada K, Uzawa K, Kato M, Endo Y, Shiiba M, Bukawa H et al. Aberrant expression of RAB1A in human tongue cancer. *Br J Cancer* 2005; 92 (10): 1915–21

Shin MS, Kim HS, Lee SH, Park WS, Kim SY, et al. Mutation of tumor necrosis factor--related apoptosis--inducing ligand receptor 1 (TRAIL--R1) and receptor 2 (TRAIL--R2) genes in metastatic breast cancers. *Cancer research*. 2001 ; 61 : 4942-4946.

Simpson PT, Reis-Filho JS, Gale T, Lakhani SR. Molecular evolution of breast cancer. *J Pathol*. 2005;205(2):248-54.

Singletary SE, Connolly JL. Breast cancer staging: working with the sixth edition of the AJCC Cancer Staging Manual. *CA: a cancer journal for clinicians*. 2006;56(1):37-47; quiz 50-1.

Sircoulomb F, Nicolas N, Ferrari A, Finetti P, Bekhouche I, Rousselet E, et al. ZNF703 gene amplification at 8p12 specifies luminal B breast cancer. *EMBO molecular medicine*. 2011;3(3):153-66.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Sisirak V, Faget J, Gobert M, Goutagny N, Vey N, Treilleux I, et al. Impaired IFN-alpha production by plasmacytoid dendritic cells favors regulatory T-cell expansion that may contribute to breast cancer progression. *Cancer research*. 2012;72(20):5188-97.

Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, Levin WJ, Ullrich A, McGuire WL. Human breast cancer: correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science*. 1987;235(4785):177-82.

Slamon DJ, Leyland-Jones B, Shak S, Fuchs H, Paton V, Bajamonde A, et al. Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *The New England journal of medicine*. 2001;344(11):783-92.

Somiari SB, Shriver CD, He J, Parikh K, Jordan R, Hooke J, et al. Global search for chromosomal abnormalities in infiltrating ductal carcinoma of the breast using array-comparative genomic hybridization. *Cancer genetics and cytogenetics*. 2004;155(2):108-18.

Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, et al. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001 ; 98(19):10869-74.

Sørli T, Tibshirani R, Parker J, Hastie T, Marron J.S et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *PNAS*.2003 ; 100(14) : 8418–8423

Soto AM, Sonnenschein C, Chung KL, Fernandez MF, Olea N, Serrano FO. The E-SCREEN assay as a tool to identify estrogens: an update on estrogenic environmental pollutants. *Environmental health perspectives*. 1995;103 Suppl 7:113-22.

Soussi T. p53: gène suppresseur de tumeur. *Bull. Cancer*. 2000 ; 87(10) : 691-2.

Spitale A, Mazzola P, Soldini D, Mazzucchelli L, Bordoni A. Breast cancer classification according to immunohistochemical markers: clinicopathologic features and short-term survival analysis in a population-based study from the South of Switzerland. *Ann Oncol*. 2009 ;20(4):628-35

Stenmark H. Rab GTPases as coordinators of vesicle traffic. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2009;10(8):513-25.

Stepan LP, Trueblood ES, Hale K, Babcook J, Borges L, Sutherland CL. Expression of Trop2 cell surface glycoprotein in normal and tumor tissues: potential implications as a cancer therapeutic target. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society.* 2011;59(7):701-10.

Su X, Harkinson SE, Clevenger CV, Eliassen AH, troworoger SS. Energy balance, early life body size, and plasma prolactin levels in postmenopausal women. *Cancer causes Control.*2009 ; 20: 253-262

Su Y, Zheng Y, Zheng W, Gu K, Chen Z, et al. Distinct distribution and prognostic significance of molecular subtypes of breast cancer in Chinese women: a population-based cohort study. *BMC Cancer.* 2011;11:292.

T

Tan W, Zhang W, Strasner A, Grivennikov S, Cheng JQ, Hoffman RM, et al. Tumour-infiltrating regulatory T cells stimulate mammary cancer metastasis through RANKL-RANK signalling. *Nature.* 2011;470(7335):548-53.

Tang BL. Is Rab25 a tumor promoter or suppressor–context dependency on RCP status?. *Tumour Biol.*2010;31:359–61

Tang G, Shak S, Paik S, Anderson SJ, Costantino JP, Geyer CE, Jr., et al. Comparison of the prognostic and predictive utilities of the 21-gene Recurrence Score assay and Adjuvant! for women with node-negative, ER-positive breast cancer: results from NSABP B-14 and NSABP B-20. *Breast cancer research and treatment.* 2011;127(1):133-42.

Tang, X. Tumor-associated macrophages as potential diagnostic and prognostic biomarkers in breast cancer. *Cancer Lett.* 2013 ; 332(1):3-10.

Teixeira MR, Pandis N, Heim S. Cytogenetic clues to breast carcinogenesis. *Genes Chromosomes Cancer.*2002 ; 33:1–16.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Thibault C, Levasseur MC. La reproduction chez les mammifères et l'homme. 2001 ; Editions Quae. 928PP

Thike AA, Cheok PY, Jara-Lazaro AR, Tan B, Tan P, Tan PH. Triple-negative breast cancer: clinicopathological characteristics and relationship with basal-like breast cancer. *Mod Pathol*. 2010;23(1):123-33.

Tirkkonen M, Johannsson O, Agnarsson BA, Olsson H, Ingvarsson S, et al. Distinct somatic genetic changes associated with tumour progression in carriers of BRCA and BRCA2 germline mutations. *Cancer Res*. 1997 ; 57: 1222-1227

Todorovic-Rakovic N, Milovanovic J. Interleukin-8 in breast cancer progression. *Journal of Interferon & Cytokine Research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*. 2013;33(10):563-70.

Tong M, Chan KW, Bao JY, Wong KY, Chen JN, et al. Rab25 is a tumor suppressor gene with antiangiogenic and anti-invasive activities in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res*, 2012. **72**(22): p. 6024-35.

Traina TA, O'Shaughnessy JO, Nanda R, et al. Stage 1 results from MDV3100-11: a 2-stage study of enzalutamide, an androgen receptor inhibitor, in advanced AR+ triple-negative breast cancer. 37th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. December 2014. Abstract P5-19-09

Tran B, Bedard PL. Luminal-B breast cancer and novel therapeutic targets. *Breast cancer research : BCR*. 2011;13(6):221.

Tran Y, Benbatoul K, Gorse K, Rempel S, Futreal A, Green M, et al. Novel regions of allelic deletion on chromosome 18p in tumors of the lung, brain and breast. *Oncogene*. 1998;17(26):3499-505.

Trihia H, Murray S, Price K, et al. Ki-67 expression in breast carcinoma: its association with grading systems, clinical parameters, and other prognostic factors — a surrogate marker? *Cancer*. 2003 ; 97 (5): 1321 – 1331

Tsutsui S, Yasuda K, Suzuki K, Tahara K, Higashi H, Era S. Macrophage infiltration and its prognostic implications in breast cancer: the relationship with VEGF expression and microvessel density. *Oncology reports*. 2005;14(2):425-31.

Turker I, Uyeturk U, Sonmez OU, Oksuzoglu B, Helvaci K, Arslan UY, et al. Detection of circulating tumor cells in breast cancer patients: prognostic predictive role. *Asian Pacific journal of cancer prevention : APJCP*. 2013;14(3):1601-7.

Tutt A, Robson M, Garber JE, Domchek SM, Audeh MW, Weitzel JN, et al. Oral poly (ADP-ribose) polymerase inhibitor olaparib in patients with BRCA1 or BRCA2 mutations and advanced breast cancer: a proof-of-concept trial. *Lancet*. 2010;376(9737):235-44.

Tworoger SS, Hankinson SE. Prolactin and breast cancer etiology: an epidemiologic perspective. *Journal of mammary gland biology and neoplasia*. 2008;13(1):41-53.

V

Verma S, Miles D, Gianni L, Krop IE, Welslau M, Baselga J, et al. Trastuzumab emtansine for HER2-positive advanced breast cancer. *The New England journal of medicine*. 2012;367(19):1783-91.

Vermeesch JR, Melotte C, Froyen G, Van Vooren S, Dutta B, Maas N, et al. Molecular karyotyping: array CGH quality criteria for constitutional genetic diagnosis. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 2005;53(3):413-22.

Vesely MD, Kershaw MH, Schreiber RD, Smyth MJ. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annual review of immunology*. 2011;29:235-71.

Vieira AV, Lamaze C, Schmid SL. Control of EGF receptor signaling by clathrin-mediated endocytosis. *Science*. 1996;274(5295):2086-9.

Voduc KD, Cheang MC, Tyldesley S, Gelmon K, Nielsen TO, Kennecke H. Breast cancer subtypes and the risk of local and regional relapse. *Journal of clinical oncology : official journal of the American Society of Clinical Oncology*. 2010;28(10):1684-91.

W

Wang K, Zhang Q, Li D, Ching K, Zhang C, Zheng X, et al. PEST domain mutations in Notch receptors comprise an oncogenic driver segment in triple-negative breast cancer sensitive to a gamma-secretase inhibitor. *Clinical cancer research : an official journal of the American Association for Cancer Research*. 2015;21(6):1487-96.

Wang M, Gartel AL. Micelle-encapsulated thioestrepton as an effective nanomedicine for inhibiting tumor growth and for suppressing FOXM1 in human xenografts. *Molecular cancer therapeutics*. 2011;10(12):2287-97.

Wang W, Goswami S, Lapidus K, Wells AL, Wyckoff JB, Sahai E, et al. Identification and testing of a gene expression signature of invasive carcinoma cells within primary mammary tumors. *Cancer research*. 2004;64(23):8585-94.

Wang W, Wyckoff JB, Frohlich VC, Oleynikov Y, Huttelmaier S, Zavadil J, et al. Single cell behavior in metastatic primary mammary tumors correlated with gene expression patterns revealed by molecular profiling. *Cancer research*. 2002;62(21):6278-88.

Wang X, Kumar R, Navarre J, Casanova JE, Goldenring JR. Regulation of vesicle trafficking in madin-darby canine kidney cells by Rab11a and Rab25. *The Journal of biological chemistry*. 2000;275(37):29138-46.

Watch D. GlaxoSmithKline and Amplimmune join forces on targeting PD1,”. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2010 ; 9(10) : 754.

Wendel C, Hemping-Bovenkerk A, Krasnyanska J, Mees ST, Kochetkova M, Stoeppler S, et al. CXCR4/CXCL12 participate in extravasation of metastasizing breast cancer cells within the liver in a rat model. *PloS one*. 2012;7(1):e30046.

Wiedermann U, Davis AB, Zielinski CC. Vaccination for the prevention and treatment of breast cancer with special focus on Her-2/neu peptide vaccines. *Breast cancer research and treatment*. 2013;138(1):1-12.

Wu S, Mehta SQ, Pichaud F, Bellen HJ, Quioco FA. Sec15 interacts with Rab11 via a novel domain and affects Rab11 localization in vivo. *Nature structural & molecular biology*. 2005;12(10):879-85.

Wu W, Koike A, Takeshita T, Ohta T. The ubiquitin E3 ligase activity of BRCA1 and its biological functions. *Cell division*. 2008;3:1.

x

Xue C, Wang X, Peng R, Shi Y, Qin T, Liu D, et al. Distribution, clinicopathologic features and survival of breast cancer subtypes in Southern China. *Cancer science*. 2012;103(9):1679-87.

y

Yamaoka M, Hara T, Hitaka T, Kaku T, Takeuchi T, Takahashi J, et al. Orteronel (TAK-700), a novel non-steroidal 17,20-lyase inhibitor: effects on steroid synthesis in human and monkey adrenal cells and serum steroid levels in cynomolgus monkeys. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*. 2012;129(3-5):115-28.

Yan M, Jene N, Byrne D, Millar EK, O'Toole SA et al. Recruitment of regulatory T cells is correlated with hypoxia-induced CXCR4 expression, and is associated with poor prognosis in basal-like breast cancers. *Breast Cancer Res*. 2011 ; 13(2): R47.

Yang J, Liao D, Chen C, Liu Y, Chuang TH, Xiang R, et al. Tumor-associated macrophages regulate murine breast cancer stem cells through a novel paracrine EGFR/Stat3/Sox-2 signaling pathway. *Stem cells*. 2013 ;31(2):248-58.

Yang J, Zhang Z, Chen C, Liu Y, Si Q, Chuang TH, et al. MicroRNA-19a-3p inhibits breast cancer progression and metastasis by inducing macrophage polarization through downregulated expression of Fra-1 proto-oncogene. *Oncogene*. 2014;33(23):3014-23.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Yang XR, Sherman ME, Rimm DL, Lissowska J, Brinton LA, Peplonska B, et al. Differences in risk factors for breast cancer molecular subtypes in a population-based study. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention : a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology.* 2007;16(3):439-43.

Yersal O, Barutca S. Biological subtypes of breast cancer: Prognostic and therapeutic implications. *World J Clin Oncol.* 2014 ;15(3):412-24.

Yin YX, Shen F, Pei H, Ding Y, Zhao H, Zhao M, et al. Increased expression of Rab25 in breast cancer correlates with lymphatic metastasis. *Tumour biology : the journal of the International Society for Oncodevelopmental Biology and Medicine.* 2012;33(5):1581-7.

Yoon SO, Shin S, Mercurio AM. Hypoxia stimulates carcinoma invasion by stabilizing microtubules and promoting the Rab11 trafficking of the alpha6beta4 integrin. *Cancer research.* 2005;65(7):2761-9.

Yu J, Du W, Yan F, Wang Y, Li H, Cao S, et al. Myeloid-derived suppressor cells suppress antitumor immune responses through IDO expression and correlate with lymph node metastasis in patients with breast cancer. *Journal of immunology.* 2013;190(7):3783-97.

Z

Zabuawala T, Taffany DA, Sharma SM, Merchant A, Adair B, Srinivasan R, et al. An ets2-driven transcriptional program in tumor-associated macrophages promotes tumor metastasis. *Cancer research.* 2010;70(4):1323-33.

Zaha DC, Lazar E, Lazureanu C. Clinicopathologic features and five years survival analysis in molecular subtypes of breast cancer. *Romanian journal of morphology and embryology = Revue roumaine de morphologie et embryologie.* 2010;51(1):85-9.

Zerial M, McBride H. Rab proteins as membrane organizers. *Nature reviews Molecular cell biology.* 2001;2(2):107-17.

CHAPITRE IV : REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Zhang J, Liu X, Datta A, Govindarajan K, Tam WL, Han J, et al. RCP is a human breast cancer-promoting gene with Ras-activating function. *The Journal of clinical investigation*. 2009;119(8):2171-83.

Zhang X, Tian W, Cai X, Wang X, Dang W, Tang H, et al. Hydrazinocurcumin Encapsuled nanoparticles "re-educate" tumor-associated macrophages and exhibit anti-tumor effects on breast cancer following STAT3 suppression. *PloS one*. 2013;8(6):e65896.

Zhang Y, Lv D, Kim HJ, Kurt RA, Bu W, Li Y, et al. A novel role of hematopoietic CCL5 in promoting triple-negative mammary tumor progression by regulating generation of myeloid-derived suppressor cells. *Cell research*. 2013a;23(3):394-408.

Zhou B, Damrauer JS, Bailey ST, Hadzic T, et al. Erythropoietin promotes breast tumorigenesis through tumor-initiating cell self-renewal. *The journal of clinical investigation*. 2014; (124): 553-563

Zou W, Restifo NP. TH17 cells in tumour immunity and immunotherapy. *Nat. Rev. Immunol.*2010 ; 10(4):248-256.

Zou W. Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nature reviews Immunology*. 2006;6(4):295-307.

RESUME

Introduction : Le cancer du sein est une maladie complexe et hétérogène sur le plan biologique. Cette hétérogénéité tumorale, en partie responsable des échecs thérapeutiques serait le reflet de plusieurs entités cliniques dans les cancers du sein. Les différentes classes moléculaires permettent de définir des sous-types de cancer du sein de pronostics distincts pouvant bénéficier d'une prise en charge thérapeutique plus individualisée.

Objectifs : Afin de mieux comprendre la biologie tumorale inhérente à chaque sous-type moléculaire nous avons, dans un premier temps, procédé à la classification des cancers du sein par une approche immunohistochimique comme technique substitutive à l'analyse par microarray. Dans un second temps, nous avons pour objectif, d'identifier des marqueurs dérégulés et cibles thérapeutiques potentielles spécifiques de sous-types moléculaires particulièrement agressifs de cancer du sein et pour lesquels aucune thérapie ciblée n'existe à ce jour, tels que les luminaux B.

Matériel et méthodes : Une étude rétrospective a été menée sur 829 patientes de la région nord-ouest de l'Algérie, diagnostiquées avec un cancer du sein, entre janvier 2008 et décembre 2013. Le profil d'expression de différents marqueurs a permis de définir et de classer les cancers du sein. Enfin, le statut protéique de RAB25 a été déterminé par immunohistochimie. Des corrélations aux données histo-cliniques ont été établies. La survie sans métastase a été estimée en utilisant la méthode de Kaplan-Meier.

Résultats : Les patientes ont été diagnostiquées à un stade agressif (grades SBR II et III), 62% d'entre elles présentaient une infiltration des ganglions axillaires et 11% avaient des métastases à distance. 283 tumeurs (41.86%) appartenaient au sous-type luminal A, 102 (15.09%) au sous-type luminal B, 91 (13.46%) au sous-type HER2+ et 200 (29.58%) étaient des tumeurs triples négatives (TNBC). Les tumeurs de sous-type luminal B étaient significativement associées à la présence de micrométastases, à une taille tumorale plus élevée (T4) et une plus grande proportion de haut grade histologique (SBR III) est retrouvée en comparaison aux tumeurs lumineales A. La survie sans métastase à 5 ans était 70% (95CI= [0.62-0.78]). La surexpression de RAB 25 est spécifiquement associée au sous-type luminal B ($p=0.01$).

Conclusion : Notre étude a confirmé le caractère agressif des cancers du sein au niveau de la région nord-ouest de l'Algérie vraisemblablement par manque d'un dépistage précoce. Nous avons défini de nouvelles classes de cancer du sein dans des groupes de tumeurs d'apparence histo-clinique homogènes, mais hétérogènes sur le plan évolutif. Une telle classification moléculaire aura donc une implication thérapeutique. De plus, RAB25 pourrait constituer une cible thérapeutique potentielle intéressante et permettrait d'aboutir au développement d'une thérapie ciblée améliorant ainsi la prise en charge des patientes ayant un cancer du sein de sous-type luminal B.

Mots -clés : Cancer du sein- Sous types moléculaires- Luminal B- RAB 25- Cible thérapeutique