

UNIVERSITE DE LIMOGES
FACULTE DE LIMOGES

ANNEE 1990

THESE N° 46

LA CATHEPSINE D 52 K - FACTEUR PREDICTIF
DE L'EVOLUTIVITE DES CANCERS DU SEIN

T H E S E

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

présentée et soutenue publiquement le 8 juin 1990

par

Jean-Michel BARRET

né le 11 novembre 1956 à Angoulême (CHARENTE)

EXAMINATEURS DE LA THESE

Monsieur le Professeur VANDROUX.....	Président
Monsieur le Professeur CATANZANO.....	Juge
Monsieur le Professeur Jean-Philippe DUMAS.....	Juge
Monsieur le Professeur OLIVIER.....	Juge

FACULTE DE MEDECINE

- DOYEN DE LA FACULTE : Monsieur le Professeur BONNAUD
- ASSESSEURS : Monsieur le Professeur PIVA
Monsieur le Professeur COLOMBEAU

PERSONNEL ENSEIGNANT

. PROFESSEURS DES UNIVERSITES

ADENIS Jean-Paul	Ophtalmologie
ALAIN Luc	Chirurgie infantile
ARCHAMBEAUD Françoise	Médecine interne
ARNAUD Jean-Paul	Chirurgie orthopédique et traumatologique
BARTHE Dominique	Histologie, Embryologie
BAUDET Jean	Clinique obstétricale et Gynécologie
BENSAID Julien	Clinique médicale cardiologique
BONNAUD François	Pneumo-Phtisiologie
BONNETBLANC Jean-Marie	Dermatologie
BOULESTEIX Jean	Pédiatrie
BOUQUIER Jean-José	Clinique de Pédiatrie
BRETON Jean-Christian	Biochimie
CAIX Michel	Anatomie
CATANZANO Gilbert	Anatomie pathologique
CHASSAIN Albert	Physiologie
CHRISTIDES Constantin	Chirurgie thoracique et cardiaque
COLOMBEAU Pierre	Urologie
CUBERTAFOND Pierre	Clinique de Chirurgie digestive
de LUMLEY WOODYEAR Lionel	Pédiatrie
DENIS François	Bactériologie-Virologie
DESCOTTES Bernard	Anatomie
DESPROGES-GOTTERON Robert	Clinique thérapeutique et rhumatologique
DUDOGNON Pierre	Rééducation fonctionnelle
DUMAS Michel	Neurologie
DUMAS Jean-Philippe	Urologie
DUMONT Daniel	Médecine du Travail
DUNOYER Jean	Clinique de Chirurgie ortho- pédique et traumatologique
DUPUY Jean-Paul	Radiologie
FEISS Pierre	Anesthésiologie et Réanimation chirurgicale
GAROUX Roger	Pédopsychiatrie
GASTINNE Hervé	Réanimation médicale
GAY Roger	Réanimation médicale
GERMOUTY Jean	Pathologie médicale et respiratoire
GUERET Pascal	Cardiologie et Maladies vasculaires

LABADIE Michel	Biochimie
LABROUSSE Claude	Rééducation fonctionnelle
LAUBIE Bernard	Endocrinologie et Maladies métaboliques
LEGER Jean-Marie	Psychiatrie d'Adultes
LEROUX-ROBERT Claude	Néphrologie
LIOZON Frédéric	Clinique médicale A
LOUBET René	Anatomie pathologique
MALINVAUD Gilbert	Hématologie
MENIER Robert	Physiologie
MERLE Louis	Pharmacologie
MOREAU Jean-Jacques	Neurochirurgie
NICOT Georges	Pharmacologie
OLIVIER Jean-Pierre	Radiothérapie et Cancérologie
OUTREQUIN Gérard	Anatomie
PECOUT Claude	Chirurgie orthopédique et traumatologique
PESTRE-ALEXANDRE Madeleine	Parasitologie
PILLEGAND Bernard	Hépatologie-Gastrologie- Entérologie
PIVA Claude	Médecine légale
RAVON Robert	Neurochirurgie
RIGAUD Michel	Biochimie
ROUSSEAU Jacques	Radiologie
SAUVAGE Jean-Pierre	Oto-Rhino-Laryngologie
TABASTE Jean-Louis	Gynécologie-Obstétrique
TREVES Richard	Thérapeutique
VALLAT Jean-Michel	Neurologie
VANDROUX Jean-Claude	Biophysique

SECRETAIRE GENERAL DE LA FACULTE - CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS

CELS René

A Pascale et à notre futur petit Pierre.

A mes parents.

A mes beaux-parents.

A Bernadette et Gérard, Philippe et Valérie.

A ma famille et à tous mes amis.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

Monsieur le Professeur VANDROUX

Professeur des Universités de Biophysique.

Biologiste des Hopitaux.

Chef de Service.

Vous nous faites le grand honneur d'accepter la présidence de cette thèse.

Vous nous en avez inspiré le sujet et nous vous remercions infiniment pour la collaboration chaleureuse et la qualité de votre aide qui nous ont permis de réaliser cette thèse.

Veillez trouver ici, l'expression de notre profond respect.

Monsieur le Professeur CATANZANO

Professeur des Universités d'Anatomie Pathologique.

Biologiste des Hôpitaux.

Chef de Service.

Nous sommes très sensible à l'honneur que vous nous faites
de siéger parmi nos juges et nous vous en remercions.

Veillez trouver ici, l'expression de notre profonde et
respectueuse gratitude.

Monsieur le Professeur DUMAS

Professeur des Universités d'Urologie.

Chirurgien des Hôpitaux.

Nous vous remercions d'avoir bien voulu vous intéresser à ce travail et d'avoir accepté de siéger dans ce jury.

Veillez trouver ici, le témoignage de notre admiration et de notre respectueuse amitié.

A NOS JUGES :

Monsieur le Professeur OLIVIER

Professeur des Universités de Cancérologie-Radiothérapie.

Electroradiologiste des Hôpitaux.

Chef de Service.

Nous vous remercions pour l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail.

Dans votre service, en tant qu'externe, nous avons pu apprécier vos qualités pédagogiques et votre grande rigueur intellectuelle.

Veillez trouver ici, l'expression de notre profonde et respectueuse gratitude.

Nous remercions également le Personnel du Laboratoire de Médecine Nucléaire, qui nous a aidé dans la réalisation de ce travail et tout particulièrement Madame CHEBROUX, pour son aide précieuse, son accueil bienveillant et sa grande disponibilité.

Tous nos remerciements également à Madame Muriel PAQUIT qui en a assuré la dactylographie.

Enfin, merci à Philippe qui s'est chargé de l'impression de cet ouvrage.

P L A N

- I N T R O D U C T I O N

- C H A P I T R E I : F A C T E U R S P R O N O S T I Q U E S D U C A N C E R D U S E I N

1.1. LES FACTEURS CLINIQUES

1.1.1. Classification TNM (10)

1.1.2. La poussée évolutive ou Pev (32)

1.1.3. La localisation de la tumeur
dans le sein

1.1.4. L'âge des malades (40)

1.2. LE TYPE HISTOLOGIQUE

1.2.1. Grade histologique de Scarff,
Bloom et Richardson ou grade SBR

1.2.2. Valeur pronostique de l'associa-
tion : stade - grade

1.3. LES FACTEURS BIOLOGIQUES

1.3.1. Les récepteurs hormonaux (36)

1.3.2. L'antigène carcino-embryonnaire
(ACE)

1.3.3. CA 15.3 (3)

1.4. LES TROIS GROUPE DE RISQUES

1.4.1. Groupe I ou groupe de risque
faible

1.4.2. Groupe II ou groupe de risque
moyen

1.4.3. Groupe III ou groupe de risque
élevé

1.4.4. Tableau récapitulatif n° 3

- CHAPITRE II : LA CATHEPSINE D 52 K

2.1. INTRODUCTION - GENERALITES

2.2. OESTROGENES ET CROISSANCE MAMMAIRE

2.2.1. Généralités

2.2.2. Action mitogène des oestrogènes

2.2.3. Une protéase impliquée dans la
régulation autocrine des
cellules MCF7

2.3. LA PROTEASE LYSOSOMIALE 52 K Da SECRETEE PAR LES CANCERS DU SEIN : STRUCTURE, REGULATION, FONCTION.

2.3.1. Structure

2.3.2. Régulation

2.3.3. Fonction

2.4. CATHEPSINE P 52 K DANS L'ORGANISME (14)

2.4.1. Les tissus sains

2.4.2. Les tissus pathologiques

2.5. TECHNIQUE DE DOSAGE DE LA CATHEPSINE
D 52 K DA

2.5.1. Principe

2.5.2. Protocole

2.6. CHOIX DU SEUIL DE CATHEPSINE D

2.7. ETUDE RETROSPECTIVE A PROPOS DE 122 CAS
(16)

2.7.1. Résultats de l'analyse
univariable Cathepsine D

2.7.2. Résultats de l'analyse multi-
variable de Cox (16)

- CHAPITRE III : OBSERVATIONS

3.1. CRITERES DE SELECTION DES MALADES

3.2. TABLEAUX D'OBSERVATION

3.3. CLASSIFICATION PAR GROUPES DE RISQUE

3.4. TABLEAU D'ANALYSE UNIVARIABLE

3.4.1. Sans métastase

3.4.2. Avec métastase

- CHAPITRE IV : DISCUSSION

- CONCLUSION

- INDEX

- BIBLIOGRAPHIE

- TABLE DES MATIERES

Introduction

Les cancers du sein sont les cancers les plus fréquents de la femme et restent les plus meurtriers.

Malgré cette constatation, tous n'ont pas le même pronostic évolutif.

Prévoir l'évolution permet d'adapter le traitement, ce qui présente un intérêt majeur lorsqu'on sait les effets secondaires et le retentissement psychologique de certaines thérapeutiques.

Nous avons jusque là, pour nous aider, un certain nombre de facteurs cliniques, biologiques et anatomopathologiques. Ils conservent tous leur intérêt, mais à l'heure actuelle, un nouveau marqueur, la **Cathepsine-D-52K**, semble ouvrir une nouvelle voie.

Après un rappel des facteurs pronostiques classiques, nous présenterons ce nouveau marqueur, en nous référant aux résultats de la littérature.

Puis nous analyserons les valeurs de ce marqueur dans une population de 62 malades porteuses d'un adénocarcinome du sein suivies et traitées au **CHU de Limoges**.

**Facteurs
pronostiques
du
cancer du sein**

I - LES FACTEURS PRONOSTIQUES DES CANCERS DU SEIN

Ces facteurs regroupent des éléments cliniques (classification TNM, poussée évolutive, siège de la tumeur, âge de la malade), des éléments anatomo-pathologiques (classification de Scarff, Bloom et Richardson) et des éléments biologiques (récepteurs hormonaux, ACE, CA 15.3).

L'association de ces différents éléments nous permettra, plus tard, de classer nos malades en trois groupes (d'après le Groupe de Radiothérapie et d'Oncologie du Centre Ouest).

Rappelons ces éléments.

1.1. LES FACTEURS CLINIQUES

1.1.1. Classification TNM (10)

La classification clinique selon l'UNION INTERNATIONALE CONTRE LE CANCER (U.I.C.C.) est utilisée depuis 1960 mais a subi des améliorations depuis 1973 grâce aux différents progrès techniques comme la mammographie. Elle comprend :

1.1.1.1. Tumeur primitive ou T

Il est très important d'évaluer le volume de la tumeur par mensuration de ses deux plus grands diamètres.

Nous avons :

- T₀ : on ne retrouve pas de tumeur perceptible.
- T₁ : tumeur dont la plus grande dimension est inférieure à 2 cm.
- T₂ : tumeur dont la dimension est comprise entre 2 et 5 cm.
- T₃ : la dimension est supérieure à 5 cm.
- T₄ : tumeur de quelque dimension que ce soit avec un envahissement direct de la paroi thoracique. Nous trouvons une subdivision en "a" pour la fixation à la peau, en "b" pour la présence d'œdème, d'infiltration, d'ulcération et de nodules de perméation ; en "c" s'il existe les deux critères à la fois.

A noter que pour les tumeurs classées T₁, T₂, T₃ on retrouve une subdivision en "a" pour l'absence de fixation au muscle pectoral et en "b" pour la présence de celle-ci.

Par ailleurs, il peut exister également au niveau des tumeurs T₁, T₂, T₃ une fossette cutanée, une rétraction du mamelon et de la peau sans pour cela de modification de la classification.

La taille clinique de la tumeur est une valeur pronostique importante et les différents travaux ont montré une décroissance nette de la survie avec l'augmentation de la taille de la tumeur.

1.1.1.2. Adénopathie régionale ou N (9)

L'étude des adénopathies est un facteur pronostique qui, pour de nombreux auteurs, est le plus important.

Nous avons :

- N₀ : il n'y a pas de ganglion axillaire ni susclaviculaire.
- N₁ : il existe une adénopathie axillaire palpable mobile avec N_{1a} si elle n'est pas suspecte d'envahissement et N_{1b} si elle est suspecte.
- N₂ : on retrouve une adénopathie axillaire homolatérale fixée en bloc ou aux organes voisins.
- N₃ : il y a un ganglion sus ou rétro-claviculaire homolatéral perçu ou un oedème du bras.

La palpation seule présente des limites car près de 30 % des cancers classés N₀ sont en fait N₁ à l'histologie alors que 30 % des cancers classés N₁ sont en fait N₀.

Le nombre de ganglions histologiquement positifs influe aussi sur le pronostic : celui-ci sera plus défavorable et l'on retrouve plus de 3 ganglions envahis.

Le nombre de ganglions examinés par l'anatomo-pathologiste devra être le plus élevé possible mais si ce chiffre est insuffisant, nous tiendrons compte du pourcentage de ganglions envahis.

1.1.1.3. Métastase ou M

Nous avons :

- M₀ : il n'y a pas de métastase à distance décelable
- M₁ : il existe une ou des métastases, y compris l'envahissement de la peau au-delà de la région du sein.
- M_x : on ne peut dire s'il existe une métastase ou pas.

C'est le facteur de pronostic le plus défavorable d'où l'intérêt de la prescription de traitements complémentaires afin d'empêcher leur survenue ou de retarder leur apparition.

De plus c'est parfois par leur découverte que le diagnostic de la tumeur est fait : le pronostic est alors le plus défavorable et le traitement médical est le seul possible et sera à visée curative.

Dans le cancer du sein, nous pouvons retrouver des métastases de siège variable, soit osseux, soit pulmonaire, soit hépatique et même cérébral. L'apparition de nodules de perméation cutanés entre également dans le cadre d'une dissémination métastatique.

1.1.1.4. Regroupement par stade

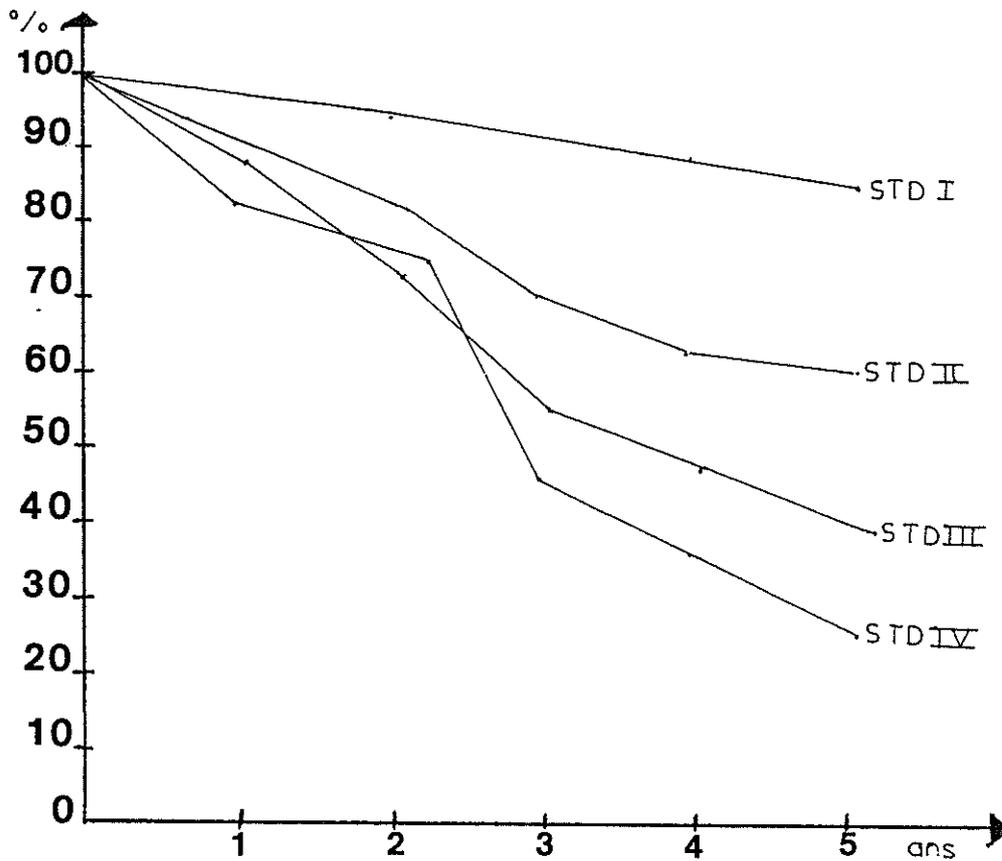
L'Union Internationale contre le Cancer a défini quatre stades qui regroupent les paramètres de la classification TNM et, que le tableau suivant résume :

Stade I	T _{1a} , T _{1b}	N ₀ , N _{1a}	M ₀
Stade II	T ₀ , T _{1a} , T _{1b}	N ₀ , N ₁	M ₀
	T _{2a} , T _{2b}	N ₀ , N _{1a} , N _{1b}	M ₀
Stade III	T _{3a} , T _{3b}	N ₀ , N ₁	M ₀
	T quelconque	N ₂	M ₀
Stade IV	T quelconque	N ₃	M ₀
	T _{4a,b,c}	N ₂	M ₀
	T quelconque	N quelconque	M ₁

TABLEAU N° 1 : Les quatre stades cliniques du cancer du sein

selon l'U.I.C.C.

VILCOQ (40) a montré d'après une étude portant sur 864 cas suivis pendant 5 ans, la variation du taux de survie en fonction du stade.



COURBE N° 1 : Courbe de survie brute selon le stade clinique

d'après VILCOQ

Il est évident que le pronostic s'assombrit quand le stade augmente. Cela résume les pronostics évolutifs de chaque élément pris séparément.

Nous verrons que les paramètres étudiés plus loin modifient largement ce seul critère de pronostic.

1.1.2. La poussée évolutive ou Pev (32)

Il est important d'individualiser les tumeurs dites "inflammatoires", c'est-à-dire à temps de doublement rapide. Il existe plusieurs présentations évolutives des cancers du sein :

- Pev₀ : tumeurs "non inflammatoires", ce sont statistiquement les plus fréquentes.
- Pev₁ : tumeur ayant doublé de volume dans les 3 mois précédant l'interrogatoire mais sans signes inflammatoires locaux.
- Pev₂ : le temps de doublement est plus rapide et il s'accompagne de signes inflammatoires locaux au niveau de la tumeur et/ou des adénopathies.
- Pev₃ : il y a une mastite carcinomateuse accompagnée de signes inflammatoires locaux et de signes généraux.

L'individualisation de ces différentes présentations de la maladie est avant tout clinique avec l'aide précieuse de la thermographie.

Cette classification en Pev possède une valeur pronostique importante qui d'après l'école de Villejuif est indépendante de celle de la TNM.

1.1.3. La localisation de la tumeur dans le sein (12)

Le siège de la tumeur est le plus souvent externe (33%) mais aussi interne (24 %) ou central rétro-aréolaire (19 %) et parfois diffus (4 %). Il est aussi possible de retrouver une tumeur au niveau du prolongement axillaire. Par ailleurs, il est important de savoir si la tumeur siège au niveau d'un cadran supérieur ou inférieur pour chaque localisation.

De nombreux auteurs ont cherché à savoir si le siège de la tumeur avait une importance dans l'évolution des cancers du sein. Ils s'accordent aujourd'hui à penser que c'est un facteur pronostique en ceci qu'il conditionne le taux d'envahissement ganglionnaire.

Pour Fisher (12) les pourcentages d'envahissement axillaire sont les suivants pour les différentes localisations :

- externe..... 52 %
- interne..... 38 %
- centrale..... 41 %
- diffuse..... 63 %.

Les localisations internes et centrales semblent présenter les mêmes risques d'envahissement ganglionnaire.

Les tumeurs rétro-aréolaires et celles de siège diffus s'accompagnent d'un envahissement ganglionnaire le plus souvent supérieur à 4 ganglions, donc elles apparaissent comme d'un pronostic très sombre.

VILCOQ (40) conclut au meilleur pronostic des tumeurs du prolongement axillaire et au plus mauvais des tumeurs centrales.

Le pronostic est lié surtout à l'importance de l'envahissement ganglionnaire axillaire plus qu'à celui de la chaîne mammaire interne ; le diagnostic de ce dernier restant difficile cliniquement et radiologiquement.

1.1.4. L'âge des malades (40)

Classiquement, les cancers du sein des femmes jeunes sont d'évolution sévère. Ce sont des cancers rares, aux caractères anatomo-pathologiques particuliers. Les formes peu différenciées et de classe histopronostique élevée sont plus fréquentes que chez les femmes âgées.

Les cancers en poussée évolutive sont également plus fréquents chez les femmes jeunes. Pour JAKES (19), 21 % des malades de moins de 40 ans sont en poussée évolutive contre 6 à 7 % de poussée évolutive parmi les autres tranches d'âge.

Les tumeurs malignes du sein chez les femmes jeunes semblent donc avoir un potentiel malin plus important que les cancers du sein des femmes plus âgées, ce qui explique leur mauvais pronostic mais l'âge en soi n'intervient pas dans le pronostic.

1.2. LE TYPE HISTOLOGIQUE

Le type histologique le plus fréquemment rencontré est le carcinome canalaire infiltrant, plus ou moins différencié.

Notre étude portera uniquement sur ce type, car il est le seul classable selon les paramètres de Scarff, Bloom et Richardson, classement qui servira à l'analyse de notre groupe de malades.

1.2.1. *Grade histologique de Scarff Bloom et Richardson ou grade SBR :*

Ce grade utilise un système numérique simple basé sur plusieurs critères :

- l'aptitude plus ou moins grande à réaliser des formes tubulées,
- le pléiomorphisme des noyaux,
- l'activité mitotique et l'hyperchromatisme nucléaire.

A partir de ces éléments anatomo-pathologiques, 3 grades de malignité croissante seront définis :

- le grade SBR I d'évolutivité faible,
- le grade SBR II d'évolutivité modérée,
- le grade SBR III d'évolutivité grande.

Pour chacun des 3 critères, 3 cotes différentes seront déterminées dont la somme réalisera les 3 grades SBR.

Pour la différenciation glandulaire :

- cote 1 si différenciation bien marquée,
- cote 2 si différenciation modérée,
- cote 3 si différenciation faible ou nulle.

Pour le pléiomorphisme des noyaux :

- cote 1 si les noyaux sont homogènes et bien réguliers,
- cote 2 s'il existe une inégalité nucléaire modérée
- cote 3 s'il existe un polymorphisme marqué.

Pour l'activité mitotique :

- cote 1 s'il existe une mitose ou un noyau hyperchromatique par champ.
- cote 2 s'il y a 2 mitoses ou noyaux,
- cote 3 s'il en existe 3 au plus.

D'où le grading SBR correspondant à la somme des cotes de chacun des 3 critères avec :

- grade I pour les cotes 3, 4, 5,
- grade II pour les cotes 6 et 7,
- grade III pour les cotes 8 et 9.

A noter : Les tumeurs irradiées avant le geste chirurgical ne peuvent être classées en grade.

1.2.2. Valeur pronostique de l'association stade - grade

Toujours d'après BLOOM (4), le tableau suivant montre le taux de survie à 5 ans en fonction du grade et du stade clinique à propos de 1400 cas.

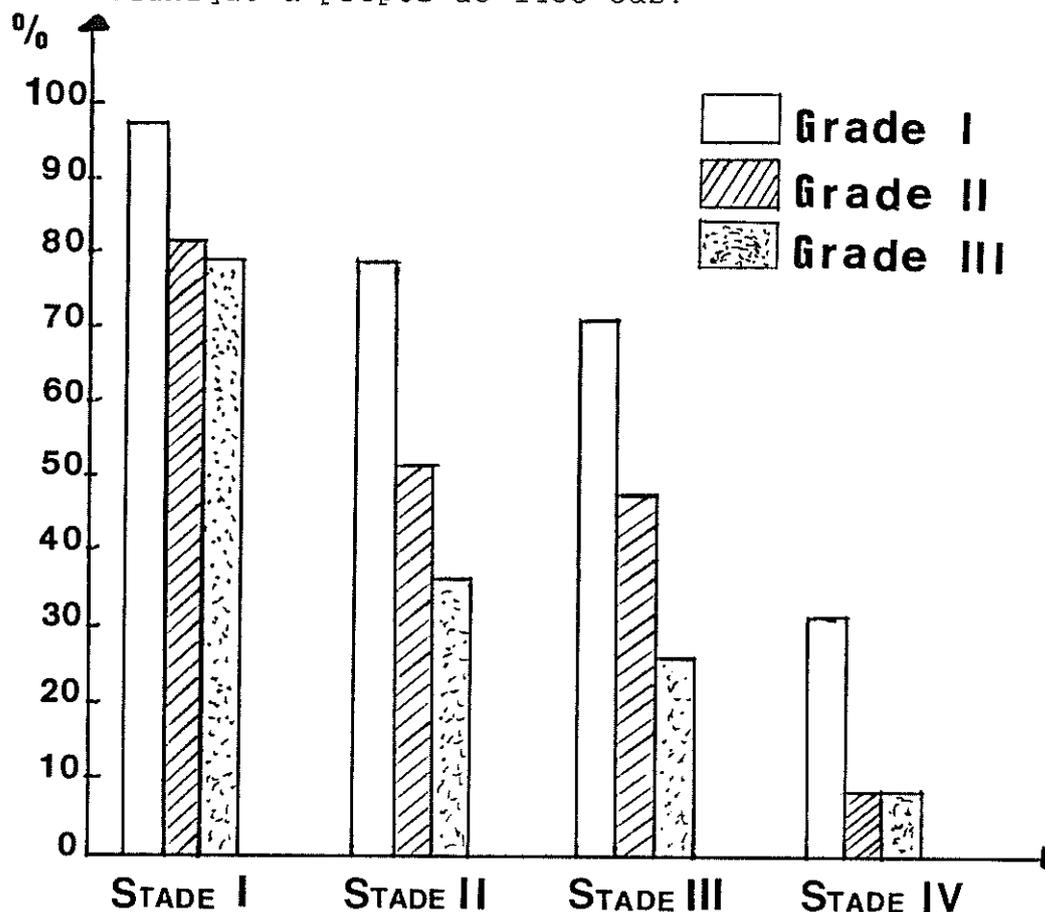


TABLEAU N° 2 : Tableau de survie à 5 ans, d'après BLOOM

en fonction du grade et du stade clinique

Ces éléments nous permettent d'évaluer le risque évolutif pour chaque cas. Ils montrent de façon claire l'importance de la disparité du pronostic (par exemple, si l'on considère la survie à 5 ans, les chances sont divisées par 10 entre un cancer stade I, grade I et un cancer stade IV, grade III). Nous verrons si notre nouveau marqueur modifie cette échelle prédictive.

1.3. LES FACTEURS BIOLOGIQUES

1.3.1. Les récepteurs hormonaux (36)

1.3.1.1. Les récepteurs oestrogènes

Il s'agit d'une glycoprotéine présente dans le cytosol cellulaire des carcinomes hormono-dépendants sur laquelle se fixe électivement le 17 β oestradiol pour former un complexe récepteur hormone. Le complexe se déplace alors vers le noyau où le récepteur cytosolique se fixe sur le récepteur chromatinien.

L'activation de ce récepteur chromatinien va être suivie de la synthèse d'ARN messager et de protéines.

Trois types de réponses sont observées :

- 1) Stimulation de la prolifération cellulaire.
- 2) Induction des récepteurs à la progestérone.
- 3) Induction d'une glycoprotéine sécrétée.

Les carcinomes hormono-dépendants possèdent des récepteurs hormonaux à des taux élevés alors que le tissu mammaire normal en est dépourvu.

Actuellement pour établir une classification des tumeurs, on a considéré comme possédant des récepteurs (ER +, PR +), celles dont le nombre de sites spécifiques de liaison est supérieur à un seuil de 10 Fmole par gramme de tissu.

Pour les résultats faiblement positifs (entre 10 et 20) il semble nécessaire de faire intervenir l'homogénéité et la densité cellulaire (si la densité cellulaire est élevée, le résultat serait considéré comme négatif et inversement).

1.3.1.2. Les récepteurs à la progestérone

Ces récepteurs sont considérés comme des marqueurs de l'activité fonctionnelle des récepteurs aux oestrogènes, car induits par eux (cf paragraphe précédent). L'association des deux types de récepteurs serait nécessaire pour avoir une réponse au traitement hormonal.

1.3.1.3. Valeur pronostique des récepteurs hormonaux

Il existe de fréquentes contradictions dans la littérature en ce qui concerne la valeur pronostique des récepteurs hormonaux. Les auteurs semblent tout de même de plus en plus concordants pour attribuer une valeur pronostique moindre à E.R.

Si, d'après VEITH (36), le pourcentage de récurrences précoces est plus élevé chez les malades ER - et le taux de survie plus faible, d'après AAMDA (1), ER - n'aurait une valeur péjorative que s'il existe déjà des ganglions axillaires envahis. Cela est repris par SPIRATOS (Centre René HUGUENIN St Cloud 1988) lors d'une analyse multivariable à propos de 1262 cas.

Par contre, toujours d'après SPIRATOS, PR - est un facteur pronostic majeur dans l'apparition de métastases à 2 ans et à 5 ans, notamment chez les sujets chez qui une chimiothérapie a été entreprise.

Il apparaît par ailleurs dans cette étude, une forte corrélation entre PR + et les effets du traitement adjuvant chimiothérapique.

1.3.2. L'antigène carcino-embryonnaire (ACE)

L'antigène carcino-embryonnaire est un antigène appartenant au groupe des antigènes oncofoetaux isolé pour la première fois par GOLD et FREEDMAN en 1965 (17). Son dosage se fait par méthode radio-immunologique (valeur normale < 10 nano g/ml). Seule la variation des taux d'ACE au cours de l'évolution de la maladie a une valeur pronostique.

E. FAURE (13) a noté dans 73 % des cas de son étude une concordance entre la courbe d'ACE et l'évolution clinique. Dans 10 % des cas l'ascension des taux d'ACE précède les signes cliniques, biologiques ou scintigraphiques, cette ascension se faisant 1 à 7 mois avant l'apparition des signes cliniques. Dans 60 % des cas, l'augmentation est concomitante des signes cliniques. 30 % des rechutes apparaissent avant toute modification du taux d'ACE, celui-ci augmentant ultérieurement.

Ainsi l'ACE est digne d'intérêt dans le suivi des cancers du sein, mais ne trouve pas d'utilité dans le pronostic à long terme (15). Nous l'utiliserons tout de même, notamment dans les cancers semblant en évolution dans notre étude.

1.3.3. CA 15.3 (3)

L'antigène carbohydrate CA 15.3. est un antigène circulant défini par deux anticorps monoclonaux obtenus par hybridation lymphocytaire.

La concentration sérique en CA 15.3 est exprimée en unité/ml. Le seuil de la normalité communément admis est de 30 unités/ml.

D'après GAUTRON (15), c'est un marqueur du cancer du sein qui possède une bonne sensibilité, une assez bonne corrélation avec la clinique, une grande spécificité et une bonne anticipation pour le diagnostic de métastase.

C'est donc un élément important dans le suivi du cancer du sein que nous prendrons en compte dans notre étude.

1.4. LES TROIS GROUPES DE RISQUES

Grace aux différents paramètres revus ci-dessus et apportant chacun une valeur pronostique, nous avons repris la classification établie par le groupe de Radiothérapie et d'Oncologie du Centre Ouest (repris par PATURAUD -26-). Nous classerons plus tard nos malades dans ces trois groupes.

1.4.1. Groupe I ou groupe de risque faible

Ce groupe réunit les tumeurs classées T₁, T₂, T₃ sans dissémination métastatique ni poussée évolutive, de grade SBR I ou SBR II, possédant des récepteurs hormonaux R.E. (+) et R.P. (+).

De plus, pour les tumeurs siégeant au niveau du quadrant externe, le nombre de ganglions envahis doit être inférieur à 4 ou à 25 % de l'ensemble des ganglions examinés.

Par contre, si la tumeur est de siège central ou au niveau du quadrant interne, aucun ganglion ne doit être retrouvé envahi.

1.4.2. Groupe II ou groupe de risque moyen

Ce groupe rassemble toutes les tumeurs classées T₁, T₂, T₃ sans métastase, avec au moment du diagnostic :

- soit un grade histologique SBR I ou SBR II, l'absence de poussée évolutive, un nombre de ganglions envahis compris entre 4 et 8 (soit entre 25 % et 66 %) si la tumeur est au niveau du quadrant externe ; inférieur à 4 (soit 25 %) si la tumeur siège dans un quadrant interne,

- soit un grade histologique SBR III ou une poussée évolutive Pev₁ : dans ce cas le nombre de ganglions sera inférieur à 4 (25 %) ; et négatif si la tumeur est centrale ou au niveau du quadrant interne.

Donc, par rapport au 1er groupe, celui-ci va se différencier soit par un nombre de ganglions envahis plus important, soit par la présence d'une Pev associée à un grade SBR III.

1.4.3. Groupe III ou groupe de risque élevé

Dans ce groupe on distingue trois types de tumeurs

- les tumeurs classées T_4 ou présentant une dissémination métastatique au moment du diagnostic, ou bien ayant une poussée évolutive Pev_2 ou Pev_3 : ou encore classés N_2 ou N_3 dans la classification TNM de l'U.I.C.C.
- les tumeurs classées T_1 , T_2 , T_3 avec M_0 et SBR I ou SBR II, Pev_0 mais un nombre de ganglions supérieur à 8 (c'est-à-dire à 66 %) pour les tumeurs du quadrant externe ; ou supérieur à 4 (à 25 %) pour les tumeurs du quadrant interne,
- enfin les tumeurs T_1 , T_2 , T_3 , M_0 mais sur SBR III ou Pev_1 et un nombre de ganglions supérieur à 4 (25 %) pour les tumeurs externes ; et la présence de ganglions envahis pour les tumeurs internes.

Ce groupe réunit tous les paramètres de plus mauvais pronostic.

1.4.4. Tableau récapitulatif n° 3

					pN en ggs envahis axillaires	
	T.	M.	SBR.	Pev	quadrants externes	quadrants internes Tm centr.
Groupe I risque faible	T1 T2 T3	MO	SBR I ou SBR II et ER+ PR+	Pev0	pN < 4 (25 %)	pN = 0
Groupe II risque moyen	T1 T2 T3	MO	SBR I ou SBR II	Pev0	4 < pN < 8 25% 66%	pN < 4 25 %
			SBR III	Pev1	pN < 4 25 %	pN = 0
Groupe III risque élevé	T4 ou M1		ou	Pev2	ou N2	N3
	T1 T2 T3	MO	SBR I SBR II	Pev0	pN > 8 66 %	pN > 4 25 %
			SBR III	ou Pev1	pN > 4 25 %	pN > 0

**La Cathepsine
D 52 K**

II - LA CATHEPSINE D 52 K

2.1. INTRODUCTION - GENERALITES

Les progrès récents de la biologie cellulaire et moléculaire ont permis d'entrevoir les mécanismes par lesquels la prolifération et l'invasion des cellules cancéreuses sont contrôlées.

Pour qu'une cellule puisse répondre aux signaux de régulation intracellulaire (hormones, facteurs de croissance...) elle doit contenir leurs récepteurs fonctionnels (qu'ils soient nucléaires pour les hormones stéroïdes ou membranaires pour le facteur de croissance).

Très souvent, lors de la transformation cancéreuse, les concentrations cellulaires de ces récepteurs sont augmentées. De plus, outre la capacité que les cellules cancéreuses ont à répondre à ces signaux, via leurs récepteurs fonctionnels, elles ont parfois, la capacité de les produire, en particulier facteur de croissance et protéases mitogènes. Quand la cellule produit à la fois le facteur de croissance et son récepteur elle peut s'autostimuler selon un processus dit autocrine (33). Si la cellule produit des facteurs de croissance qui agissent sur les cellules voisines, similaires ou différentes, la régulation est alors paracrine (18). Ces deux types de régulations s'opposent aux régulations endocrines pour

lesquelles le signal est secrété par des cellules endocrines spécialisées et transporté à plus ou moins longue distance par le sang circulant.

Pour démontrer une régulation autocrine, il faut donc à la fois montrer la synthèse du facteur de croissance considéré en quantifiant son ARN messenger par des sondes d'ADN complémentaires spécifiques et montrer que les mêmes cellules expriment les récepteurs membranaires pour ce facteur.

2.2. OESTROGENES ET CROISSANCE MAMMAIRE

2.2.1. Généralités

En ce qui concerne le contrôle hormonal de la croissance des cellules mammaires et de leur migration, le rôle primordial des oestrogènes est démontré depuis longtemps mais les mécanismes cellulaires et moléculaires ne font que commencer à être disséqués.

Les oestrogènes agissent via leurs récepteurs nucléaires pour induire des protéines spécifiques. Parmi celles-ci, ROCHEFORT (30) et son équipe ont supposé l'existence de facteurs mitogènes secrétés par les cellules cancéreuses, pouvant servir de médiateurs ou de seconds messagers extra cellulaires pour stimuler leur propre croissance (régulations autocrines) ou celle de cellules voisines (régulations paracrines).

Alors que les régulations paracrines sont vraisemblablement les plus importantes pour rendre compte du développement normal de la glande mammaire, les régulations autocrines pourraient être prépondérantes dans celui des cellules cancéreuses qui, au cours de la progression tumorale, tendent à devenir de plus en plus autonomes et apprennent à se passer ou à surpasser l'influence des cellules avoisinantes (33).

Dans la glande mammaire normale les récepteurs des oestrogènes paraissent être localisés dans les cellules canalaire et lobulaires, mais le mécanisme d'action des oestrogènes à ce niveau est encore mystérieux.

Par contre, dans les cancers du sein, les connaissances ont progressé depuis que l'on dispose des modèles d'étude précieux que sont les lignées cellulaires métastatiques de cancer du sein humain (MCF 7, T 47 D, 2R75-1 ou BT 20, MDA, MB 23, R 27 (21). Les premières contiennent des récepteurs aux oestrogènes et à la progestérone, leur croissance est stimulée par les oestrogènes et inhibée par les progestins et antioestrogènes synthétiques (21). Les seconds sont insensibles aux oestrogènes et aux hormones stéroïdes. Dans les deux cas, ces cellules cancéreuses peuvent autostimuler leur croissance par régulation autocrine.

2.2.2. Action mitogène des oestrogènes

Dans les cellules contenant des récepteurs aux oestrogènes, la notion d'une régulation autocrine oestrogéno-régulée a été introduite (30) et pourrait expliquer l'action mitogène des oestrogènes par un mécanisme en cascade comprenant plusieurs étapes :

- 1) Interaction des oestrogènes avec leurs récepteurs,
- 2) Induction d'ARN messagers codant pour des protéines douées d'activité mitogène (facteurs de croissance, proteases),
- 3) Sécrétion de ces facteurs protéiques,
- 4) Interaction de ces facteurs sur des récepteurs membranaires,
- 5) Couplage et libération de seconds messagers (Ca⁺⁺ IP3, phosphorylation etc...) qui stimulent finalement la synthèse de l'ADN et des mitoses.

Ce concept a été consolidé expérimentalement par la démonstration d'une activité mitogène dans des milieux conditionnés contenant des protéines et peptides induits par les oestrogènes (38). Il a fallu ensuite préciser quels étaient, parmi les diverses protéines oestrogéno-induites, les facteurs responsables de cette activité autocrine.

Deux principaux groupes de facteurs ont été décrits à ce jour : les facteurs de croissance classiques principalement étudiés par LIPPMAN (22) et les protéines étudiées par ROCHEFORT (27) à Montpellier qui nous intéressent tout spécialement dans cette étude.

2.2.3. Une protéase impliquée dans la régulation autocrine des cellules MCF 7.

Dans les cellules MCF 7, les oestrogènes augmentent l'activité enzymatique de la forme tissulaire de l'activateur du plasminogène (6) (31). Cette sérine protéase pourrait ensuite à pH physiologique activer la plasmine et donc les mitoses. Il n'y a cependant aucune évidence qu'elle ait un rôle biologique critique dans les cancers du sein car son dosage ne semble pas avoir de valeur pronostique.

Des collagénases sont également sécrétées par les cellules cancéreuses MCF 7 mais ne sont pas contrôlées par les oestrogènes.

Par contre, ROCHEFORT et WESTLEY (42) ont montré que les oestrogènes induisaient la synthèse et stimulaient la sécrétion d'une glycoprotéine de 52 K Da. Cette protéine a la particularité d'être mitogène et d'être régulée par les antioestrogènes, notamment dans les cellules MCF 7 où l'inhibition de production de la protéine précédait l'inhibition de croissance (27).

Dans les lignées, hormono-indépendantes, il a été montré que la protéine pouvait exister et était alors fabriquée constitutivement, et, par exemple dans les cellules R 27 ou RTx 6, sa synthèse était induite par le tamoxifène (41) (39).

Ces premières données ont incité de nombreuses équipes à se focaliser sur cette protéine (dont celle du Pr ROCHEFORT à Montpellier) pour en étudier la structure, la régulation et les activités biologiques.

2.3. LA PROTEASE LYSOSOMIALE 52 K Da SECRETEE PAR LES CANCERS DU SEIN : STRUCTURE, REGULATION, FONCTION.

2.3.1. Structure

A l'aide d'anticorps monoclonaux, la protéine a été purifiée et caractérisée. Il a été établi qu'elle portait des signaux Mannose-6-Phosphate et qu'elle pouvait interagir sur les récepteurs Mannose-6-Phosphate localisés à la surface des cellules MCF 7 (7), ce qui laisse présumer une destinée lysosomiale.

Il a été montré par ailleurs qu'elle était douée d'activité mitogène (37) et que sa concentration à l'intérieur des cellules MCF 7 était corrélée avec leur vitesse de multiplication. Puis elle a été identifiée à une pro-cathepsine D (25) qui, après séquençage de l'ADN complémentaire de son m-ARN, est identique à la structure de

la pro-cathepsine D des tissus normaux (en dehors d'un acide aminé ALA remplacé par un VAL dans la région du pro-fragment) (2).

Son gène codeur est localisé à l'extrémité du petit bras du chromosome 11 proche de l'oncogène H-Ras et de l'IGF2.

2.3.2. Régulation

Dans les cellules cancéreuses, la régulation par les oestrogènes de la protéine passe par une accumulation accrue de son ARN messager. La protéase 52 kDa correspond en fait à une pro-cathepsine D qui normalement est maturée en formes de 48 kDa et 14 kDa, lesquelles sont les formes normalement actives dans les lysosomes.

Ce sont des protéases acides dont le pH optimum est généralement compris entre 3,5 et 5. Le transport intracellulaire de cette protéase est médié par le récepteur Mannose-6-Phosphate depuis le Golgi jusqu'aux lysosomes, en passant par les endosomes (20).

Dans les cellules cancéreuses mammaires la maturation et le trafic intracellulaire paraissent très perturbés, ce qui aboutit à une sécrétion accrue du précurseur 52 kDa pro-cathepsine D à l'extérieur de la cellule et à une diminution d'accumulation de l'enzyme mature (48 kDa + 14 kDa) dans les lysosomes (8).

2.3.2. Fonction

La raison de cette déviation pathologique d'un trafic normal est encore inconnue. Cependant, les conséquences pourraient être importantes parmi la cascade d'évènements qui favorisent l'initiation et la progression des cancers mammaires.

D'une part, cette pro-protéase étant sécrétée à distance a le potentiel d'agir à la fois comme facteur autocrine et paracrine. D'autre part, ce précurseur a deux activités biologiques qui peuvent s'avérer redoutables en cancérologie :

1) elle est douée d'une activité mitogène (37), observée à pH physiologique sur les cellules MCF 7 privées d'oestrogènes. Le mécanisme de l'activité mitogène est inconnu, mais pourrait faire intervenir l'activation du récepteur Mannose-6-Phosphate de 250 kDa.

2) Dans la mesure où elle se trouve dans un micro-environnement acide, elle peut s'autoactiver et agir comme protéase pour digérer les matrices extracellulaires des cellules à proximité des cellules cancéreuses (5). Cela pourrait, si l'on en croit les premiers résultats cliniques, faciliter à la fois la prolifération cellulaire et l'envahissement métastatique.

2.4. CATHEPSINE P 52 K DANS L'ORGANISME (14)

En dehors du cancer mammaire et du sein normal ou la protéine a été dosée par méthode radioimmunométrique à des taux variables (toujours bas dans le sein normal), elle a été retrouvée dans différents tissus sains et pathologiques de l'organisme.

2.4.1. Les tissus sains

Surtout le parenchyme hépatique avec une partie de la production passant dans le sang, mais, aussi à des taux moindres, on la retrouve dans les glandes sébacées et sudoripares. Tous les organes sensibles aux oestrogènes (utérus, ovaire, placenta ...) ont été testés et ont donné des résultats négatifs.

2.4.2. Les tissus pathologiques

- Par immuno-radiométrie, la protéine a été retrouvée au niveau de certains liquides biologiques à des concentrations parfois élevées notamment dans certains kystes et dans des liquides d'épanchements pleuraux, liés à des cancers du sein.

- Dans les tumeurs bénignes, elle a été détectée dans 42 % des mastopathies bénignes et dans certaines gynécomasties.

- Dans les tumeurs malignes, seul le mélanome malin semble producteur. Il s'agit alors d'une cathepsine C.

Donc devant l'intérêt que suscite cette protéine et son exploitation clinique, un dosage facilement utilisable en laboratoire a été mis au point.

2.5. TECHNIQUE DE DOSAGE DE LA CATHEPSINE D 52 K DA

2.5.1. Principe

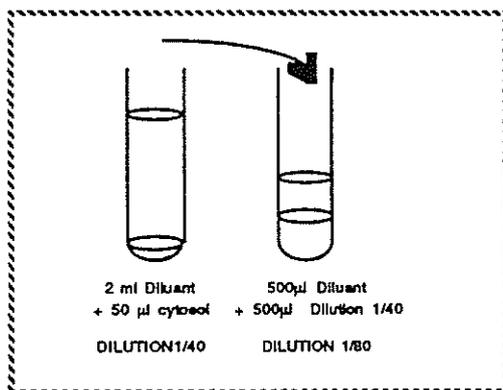
Le dosage actuellement disponible (réf:ELSA-CATH D International CIS France) propose une détermination par méthode immunoradiométrique de la Cathepsine D totale (formes 52 k Da, 48 KD et 34 KD) sur les cytosols de tumeurs préparés pour le dosage des récepteurs hormonaux.

Ce dosage utilise deux anticorps monoclonaux, le premier absorbé sur la phase solide ELSA et le second marqué à l'iode 125. La méthode est rapide, ne nécessitant qu'une incubation de 3 heures.

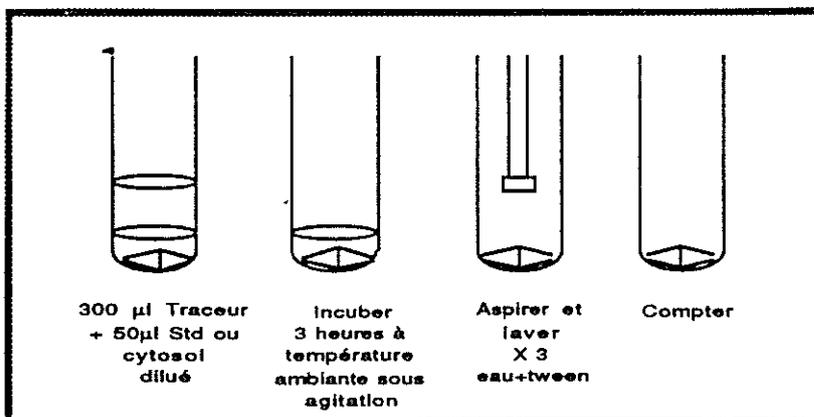
Les taux de Cathepsine D sont très stables dans les cytosols congelés et donc permettent des dosages a posteriori fiables. Le fait que le foie fabrique et sécrète dans le sang cette protéine, rend sans valeur son dosage sérique.

2.5.2. Protocole

a) Dilution des cytosols au 1/40 et 1/80



b) Protocole de dosage

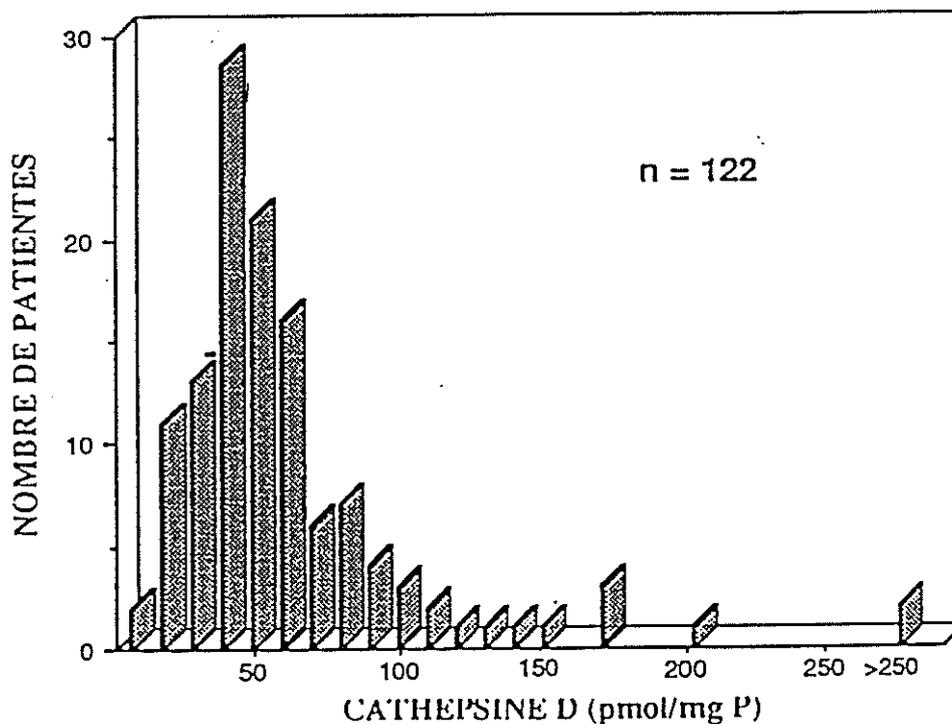


- 1) 300 µl TRACEUR (L-CAR ND-TRA) + 50 µl de cytosol dilué dans un tube ELSA (tube revêtu d'Ac monoclonal anti-cathépsine D totale.
- 2) incubation 3 heures à température ambiante sous agitation
- 3) Aspiration + 3 lavages (eau + tween)
- 4) Comptage direct par un compteur γ ajusté à la mesure de l'iode 125.

2.6 CHOIX DU SEUIL DE CATHEPSINE D

Donc, des taux élevés de Cathepsine D semblent avoir un rôle péjoratif dans le pronostic des cancers du sein. Mais à partir de quel seuil peut-on dire que le taux est élevé ou que le risque est grand ? L'équipe du Centre René HUGUENIN s'est penché sur ce problème en étudiant de façon rétrospective une population de 122 cancers primitifs du sein (16) et en prenant comme critère pronostique la survie sans métastases.

La répartition de la population en fonction des différents taux de Cathépsine D a été la suivante :



Le seuil semblant être le plus intéressant a été déterminé par méthode de classification de FISCHER, isolant deux groupes où la variance intraclasse est minimisée et la variance interclasse maximalisée.

Il a été estimé à 70 pmol/mg de protéine.

Un autre seuil peut être envisagé, il s'agit de la médiane de distribution calculée à 45 pmol/mgP dans cette population de malades.

Dans notre étude, il nous est apparu moins exploitable que le précédent pour répartir nos patientes, mais il reste une valeur de référence que nous utiliserons dans notre discussion.

Par ailleurs, dans les tumeurs bénignes du sein ou dans le sein normal, les taux sont compris entre 3 et 12 pmol/mgP (14), ce dernier chiffre pourrait donc servir de seuil de normalité ; le seuil 70 pmol/mgP étant considéré comme seuil de gravité ou de mauvais pronostic.

2.7. ETUDE RETROSPECTIVE A PROPOS DE 122 CAS (16)

L'équipe du Centre René HUGUENIN a dosé a posteriori le taux de Cathépsine D sur 122 cytosols appartenant à des malades porteuses d'adénocarcinome du sein. Dans chaque cas, le dosage a été pratiqué sur un cytosol congelé datant de la première observation.

Dans un premier temps, la population a été répartie suivant le seuil 70 pmol/mg P. Puis chaque facteur pronostique a été étudié séparément (analyse univariable). Les résultats sont reportés dans le tableau n° 4 page suivante.

Dans chaque groupe (≤ 70 ou > 70) l'observation initiale a servi à établir la première colonne. Le nombre des malades, chez qui, dans les 8 ans ayant suivi l'observation, une métastase est apparue, a été porté dans la 2ème colonne. Puis ces résultats ont été étudiés suivant une analyse multivariable de COX, ce qui a permis d'évaluer la place du taux de Cathépsine D par rapport aux autres facteurs pronostiques.

2.7.1. Résultats de l'analyse univariante

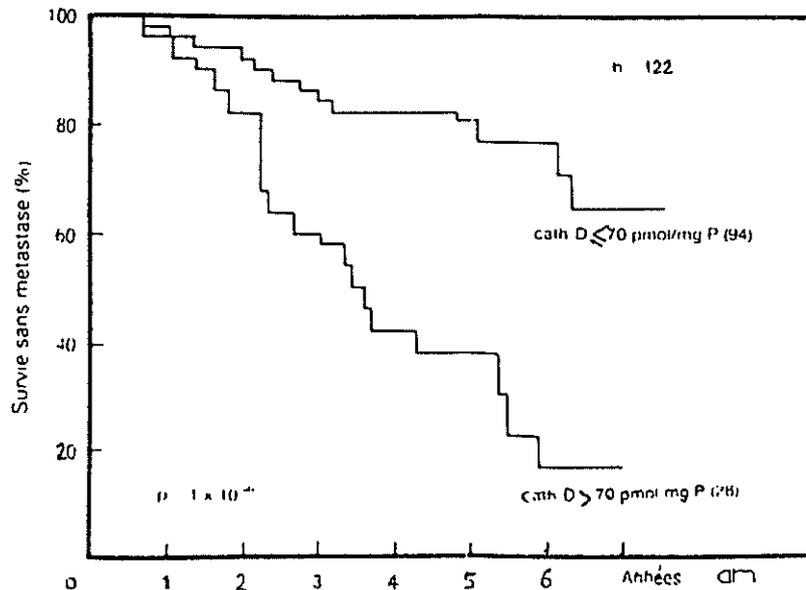
	< 70 pmol/mg		> 70 pmol/mg	
	Nbre de patientes	Nbre de métastases	Nbre de patientes	Nbre de métastases
<u>Toutes les patientes</u>	94 (77 %)	20	28 (23 %)	20
<u>Age</u>				
< 50	22 (76 %)	7	7 (24 %)	4
50 - 64	45 (76 %)	9	14 (24 %)	11
> 64	27 (80 %)	4	7 (20 %)	5
<u>Stade UICC</u>				
I	3 (60 %)	0	2 (40 %)	1
II	66 (78,5%)	15	18 (21,5%)	12
III	25 (76 %)	5	8 (24 %)	7
<u>Taille de la tumeur</u>				
< 25 mm	47 (76 %)	6	15 (24 %)	12
26 - 39 mm	29 (78 %)	9	9 (22 %)	4
> 40 mm	18 (78 %)	5	5 (22 %)	4
<u>Grade histologique (SBR)</u>				
I	3 (60 %)	0	2 (40 %)	1
II	61 (77 %)	14	18 (23 %)	13
III	30 (79 %)	6	8 (21 %)	6
<u>Taux RE</u>				
< 10 fmol/mg (RE-)	35 (83 %)	9	7 (17 %)	5
> 10 fmol/mg (RE+)	59 (74 %)	11	21 (26 %)	15
<u>Taux RP</u>				
< 10 fmol/mg (RP-)	58 (79 %)	14	15 (21 %)	12
> 10 fmol/mg (RP+)	36 (73,5%)	6	13 (26,5%)	8
<u>Ménopause</u>				
Pré	36 (75 %)	9	12 (25 %)	9
Post	58 (78 %)	11	16 (22 %)	11
<u>Envahissement ganglionnaire</u>				
N-	57 (84 %)	7	11 (16 %)	8
N+	37 (68,5%)	13	17 (31,5%)	12

TABLEAU N° 4 : Etude des facteurs pronostiques par analyse univariante après répartition de la population étudiée en fonction du seuil de Cath D 70 pmol/mgP.

- Exemple de lecture du tableau n° 4 : ligne grade histologique SBR II :

Sur les 122 malades, 61 malades présentaient un grade SBR II associé à un taux de Cathépsine D \leq 70 pmol/mg P (soit 77 % du nombre total des SBR II) et parmi ces 61 malades 14 d'entre elles ont présenté une métastase dans les 8 ans qui ont suivi l'observation.

- La même étude peut être présentée différemment en établissant des courbes de survie sans métastase toujours dans les 8 années ayant suivi l'observation et le dosage, toujours en fonction du seuil 70 pmol/mg P.



Courbe n° 2 : Courbes de survie sans métastase en fonction du seuil 70 pmol/mg P.

- L'étude de la valeur pronostique de la Cathepsine D par cette analyse univariable est déjà très révélatrice.

- Par exemple, entre la deuxième et la quatrième année, le taux de survie sans métastase passe de 80 % à 63 % dans le groupe ≤ 70 pmol/mgP), alors qu'il descend de 80 % à 38 % dans le groupe > 70 .

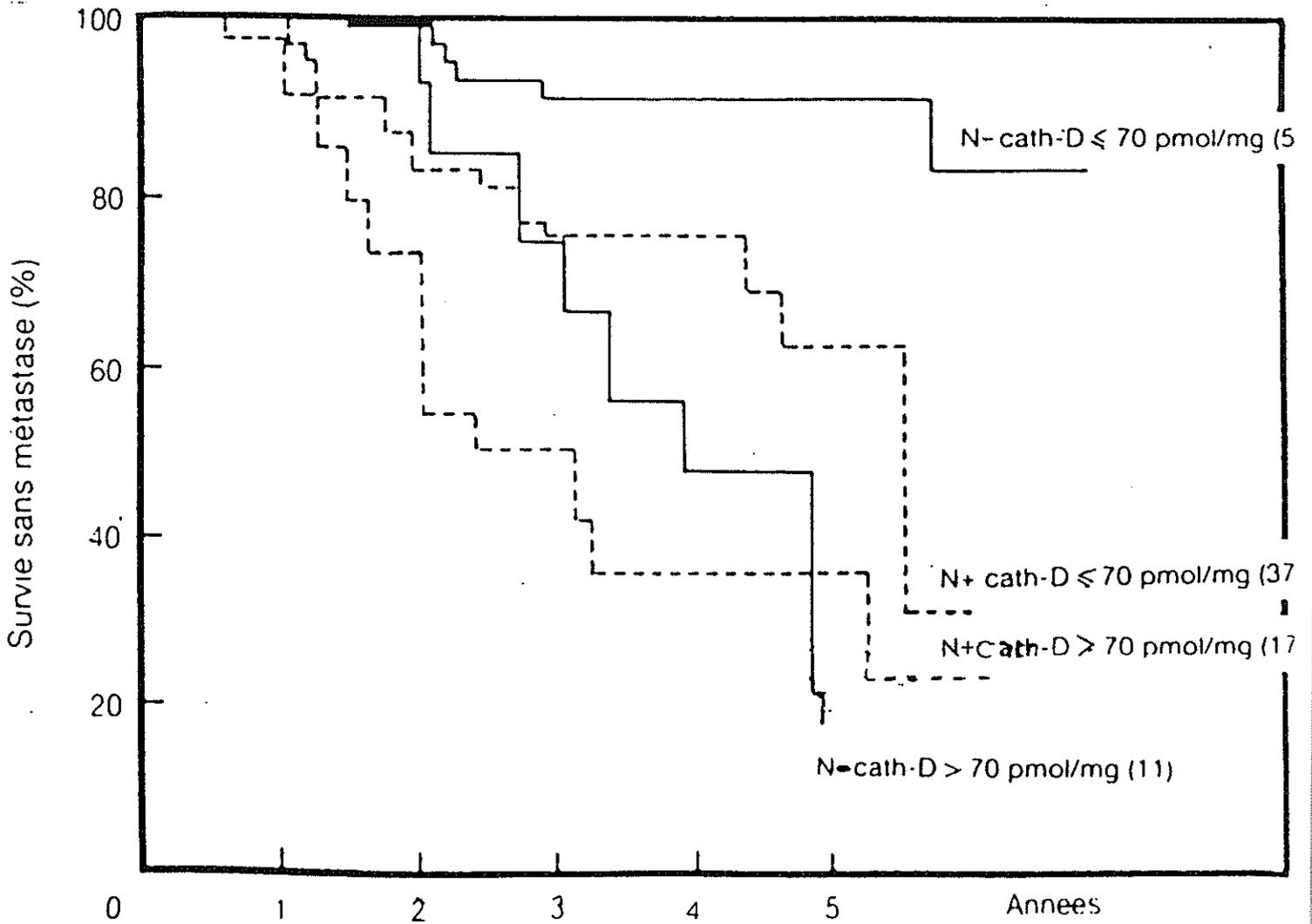
- Autre aspect, à 8 ans, le taux de survie sans métastase dans le premier groupe est de 63 %, alors qu'il n'est que de 18 % dans le second.

2.7.2. Résultats de l'analyse multivariable de Cox (16)

Le modèle d'analyse de COX permet de détacher la valeur de chacun des facteurs pronostiques, par rapport aux autres réunis. Ainsi, il est ressorti de cette étude que :

- la cathepsine D est un facteur indépendant des autres facteurs de risque,
- les taux élevés de cathépsine D (notamment >70 pmol/mg de P) sont significativement liés à une survie sans métastase plus courte,
- la cathepsine D est le premier facteur significatif devant l'envahissement ganglionnaire, ce dernier point étant discuté par certains auteurs (34).

Par contre de nombreux auteurs (16) semblent intéressés par l'association des facteurs Cathépsine D - Envahissement ganglionnaire ; ces deux facteurs étant indépendants et chacun de grande valeur prédictive. D'où établissement des 4 courbes (n° 3) suivantes (N+ + Cath D <70 ; N+ + Cath D >70 N- + Cath D <70 ; N- + Cath D >70) présentant le taux de survie sans métastase sur 8 ans.



Courbes n° 3 : Taux de survie sur 8 ans en fonction de l'association des facteurs Cath D / N.

- Plusieurs points peuvent être soulignés :

* Le bon pronostic des tumeurs N- Cath ≤ 70.

* A partir de la 3ème année le pronostic des cancers

N- Cath + est plus mauvais que celui des cancers N+ Cath -.

Ce qui semble montrer, d'une part que le caractère Cath + est plus péjoratif que le caractère N+, d'autre part que le caractère Cath + assombrit très nettement le pronostic des malades N-, jusque là considéré comme assez bon (cf Chapitre I, courbes de VILCOQ).

* Enfin, le sombre pronostic des tumeurs, Cath + N+.

Nous allons voir comment ces résultats, obtenus par l'équipe du Centre René HUGUENIN avec cette analyse rétrospective, vont nous aider à avoir une vision prospective de l'évolution du cancer du sein dans notre groupe de patientes.

Dans un premier temps, nous allons présenter les observations de ces malades.

Observations

III - OBSERVATIONS

3.1. CRITERES DE SELECTION DES MALADES

Les 62 malades retenues dans notre étude ont été sélectionnées en fonction des différents critères suivants :

- Dossier disponible dans le Service de Cancérologie-Radiothérapie et/ou Médecine Nucléaire du CHU de LIMOGES.

- Présence d'un adénocarcinome mammaire pur unilatéral.

- Absence de toute autre pathologie cancéreuse, en dehors des métastases liées au cancer du sein, si elles existent.

- Quantité suffisante de cytosol (prélevé lors de l'exérèse chirurgicale de la tumeur) pour doser :

* RE

* RP

* Cath D.

- Dosage sanguin de l'ACE et du CA 15-3 concomitant du prélèvement du cytosol.

- Les numéros des dossiers ainsi que ceux des cytosols correspondants sont portés en index.

- Pour être analysées de façon synthétique, les observations seront présentées sous forme de tableaux.

3.2. TABLEAUX D'OBSERVATION

Donc, les tableaux suivants (n° 4, 5, 6, 7) résument les 62 observations que nous avons étudiées.

Ils dégagent les facteurs pronostiques précédemment cités, suivants :

- l'âge des patientes,
- l'état ovarien (M : Ménopausée ou NM : non ménopausée)
- la taille de la tumeur (T),
- la classification TNM,
- le stade UICC,
- le grade SBR,
- la localisation intra-mammaire,
- la poussée évolutive,
- les récepteurs hormonaux (RE, RP),
- les marqueurs ACE et CA 15-3,
- enfin le taux de Cath D.

Les dosages des 3 derniers facteurs ont été effectués dans le service de Médecine Nucléaire du CHU de Limoges.

TABLEAU N° 4

N° mal	Age	M ou NM	T mm	TNM	STD	GRD	Loc *	RE RP Fmol/g	Pev	ACE nanog/ml CA15/3 U/ml	Cath D pmol/ mg P
1	38	NM	40	T2a N1b M1	IV	II	QSIG	24 45		1,5 12	83
2	43	NM	80	T4c N1b M1	IV	II	QSIG	17 210		3,4 583	96
3	88	M	50	T2a No Mo	II	II	QSIG	15 32		↓ ↓	24
4	71	M	50	T2a No Mo	II	II	QSIG	58 13		↓ ↓	36
5	31	NM	35	T2a 5N1bMo	II	II	QSED		Pev0	- 37	75
6	63	M	25	T2a N1b Mo	II	II	QSED	173 >1000		↓	60
7	77	M	150	T3b N1b Mo	III	III	QSEG	< 10 < 10		9,63 100	119
8	35	NM	30	T2a No Mo	II	II	QSEG	< 10 < 10	Pev1	↓	100
9	59	M	40	T2a N1b Mo	II	II	QSIG	< 10 < 10		↓	79
10	58	M	5	T2a N1b Mo	II	II	QIEG	< 10 < 10		↓	56
11	59	M	90	T4c N1b Mo	III	II	QSID			2,4 36	21
12	61	M	100	T4b N1b M1	IV	III	QSID	181 73		↓	52
13	52	M	20	T1a No Mo	I	II	QSID	< 10 < 10	Pev0	0 22	39
14	78	M	2x20	T1a No Mo	I	II	QS	< 10 < 10		2,9 33	58
15	67	M	40	T2a No Mo	II	II	QSED	278 38		2,8 38	73
16	56	M	40	T2a No Mo	II	II	QSEG	17 420		2 20	45
17	55	M	40	T2a N1b Mo	II	II	QSEG	127 <10		1,6 18	165

TABLEAU N° 5

N° mal	Age	M ou NM	T mm	TNM	STD	GRD	Loc *	RE RP Fmol/g	Pev	ACE nanog/ml CA15/3 U/ml	Cath D pmol/ mg P
18	58	M	40	T2A No Mo	II	II	QSID	< 10 < 10		1,8 29	75
19	81	M	40x2	T2a No Mo	II	III	QIE MULTI FOCAL	307 109		0,64 12	27
20	62	M	>40	Tx N+ M+	IV	III	Sein Gche	52 14		11 92	188
21	49	NM	30	T2a No Mo	II	I	QIG	< 10 < 10		2 12	15
22	82	M	80	T4c No M1 (05)	IV	III	Sein Gche Tot.	49 10		23 36	50
23	61	M	40	T2a No Mo	II	II	QSID	< 10 < 10		0 25	72
24	57	M	20	T1a No Mo	I	II	QSID	10 107		10 28	55
25	78	M	30	T2a N1bMo	II	II	QSED	31 14		4,8 36	74
26	67	M	30	T2a N1bMo	II	II	QSED	633 122		3,8 22	87
27	46	NM	40	T2a No Mo	II	I	QSEG	< 10 20		1,1 7,5	17
28	70	M	20	T1a No Mo	I	I	QIID	11 11		1,1 26	21
29	53	NM	40	T2a No Mo	II	II	QSIG	< 10 19		0,96 35	38
30	70	M	30	T2a No Mo	II	II	QSEG	< 10 < 10		0 41	34
31	59	M	30	T2a N1bMo	II	II	QSEG	17 23		3 19	22
32	77	M	40	T2a N1bMo	II	II	Jonc. QS	362 22			158
33	53	M	30	T2a N1bMo	II	II	QSED	211 213		0,69 22	47

TABLEAU N° 6

N° mal	Age	M ou NM	T mm	TNM	STD	GRD	Loc *	RE RP Fmol/g	Pev	ACE nanog/ml CA15/3 U/ml	Cath D pmol/ mg P
34	63	M	50	T2a N2bMo	III	II	QSED	>217 24		0,98 28	273
35	77	M	30	T2a No Mo	II	II	QSEG	21 91		10	39
36	66	M	40	T2a N2 Mo	III	II	Cent.	< 10 < 10		9,5 39	120
37	57	M	40	T2b N1bMo	II	III	QSED	33		4,5 39	49
38	66	M	40	T2b N1bM1	IV	II	QSED	< 10 < 10		2,9 18	69
39	27	NM	20	T1a N1aMo	I	I	QSIG	175 42		1,3 14	26
40	40	NM	30	T2a No Mo	II	III	QSIG	< 10 < 10		1,2 27	50
41	48	NM	20	T1a No Mo	I	I	QSIG	36 < 10	Pev0	0 21	13
42	67	M	40	T2a No Mo	II	II	QSIG	< 10 < 10		4,2 22	55
43	76	M	50	T4c N1 M1	IV	III	Sein Sur- numG	< 10 < 10		4,5 41	>211
44	38	NM	40	T2aN1aMo	II	II	QSED	< 10 47	Pev0	00 1,4	72
45	85	M	+100	T4c N3 M+	IV	III	Sein DT + paroi	209 15		0,53 23	91
46	49	NM	15	T1a No Mo	I	I	QIEG	< 10 < 10	Pev0	0,2 21	75
47	65	M	6	T2a N1 Mo	II	II	Q	< 10 < 10	Pev0	2,5 13	57
48	82	M	10	T1a No Mo	I	I	Jonc des QS	17 14		4,9 14	32
49	40	NM	25	T2a N1bMo	II	II	Mal lim	26 <1000		0,34 23	52

TABLEAU N° 7

N° mal	Age	M ou NM	T mm	TNM	STD	GRD	Loc *	RE RP Fmol/g	Pev	ACE nanog/ml CA15/3 U/ml	Cath D pmol/mg P
50	87	M	20	T1 No Mo	I	II	QSE	< 10 < 10		3,8 21	53
51	82	M	15	T1a N1bMo	II	II	QSIG	25 34			35
52	46	NM	100	T4c N3 M1	IV	III	Sein tot.	15 29	Pev1	61 496	93
53	53	M	20	T1a No Mo	I	I	QIED	404 291	Pev0	0,62 14	54
54	56	M	70	T4c N1bMo	III	III	Cent	1000 334	Pev0	3,5 116	47
55	35	NM	30	T2a No Mo	II	II	QSED	48 81		2,8 31	59
56	58	M	60	T4b N1bMo	III	II	QSED	38 < 10	Pev3	1,8 7,6	103
57	33	NM	10	T1a No Mo	I puis	I puis	QSID	< 10 35	Pev0		7
58	56	M	60	T3a N1bMo	III	II	QESD	23 266		0,56 30	62
59	74	M	20	T2a N1bM1	II	II	QESD	265 83	**	3,8 50	173
60	45	NM	15	T1aNo Mo	I	II	QESD	< 10 28	Pev0	1 23	19
61			7	T1a No Mo	I	I	QESD	103 < 10		1,8 17	55
62	83	M	70	T3 N1b Mo	III	II	QSED	200 76		19 0,04	34

* Localisation : Q : quadrant
S : supérieur I : inférieur
E : externe I : interne
D : droit G : gauche

** Malade n° 59 : Métastase osseuse apparue 3 mois après dosage

3.3. CLASSIFICATION PAR GROUPE DE RISQUE

Reprenant la classification par groupe de risque établie par le Groupe de Radiothérapie et d'Oncologie du Centre Ouest, précédemment décrit, nous avons classé notre population en 3 groupes :

- Groupe I : Groupe de risque faible,
- Groupe II : Groupe de risque modéré,
- Groupe III : Groupe de risque élevé, dans lequel nous avons déterminé deux sous-groupes :

- * l'un rassemblant les malades sans métastase au moment du dosage,
- * l'autre réunissant celles chez qui une métastase existait déjà au moment du dosage.

Le tableau n° 8 fait apparaître la composition des ces groupes avec en face du n° du malade son taux de Cathépsine :

GROUPE I soit 26 malades		GROUPE II soit 19 malades		GROUPE III soit 17 malades (8 + 9)	
N° de malade	Taux Cath D	N° de malade	Taux Cath D	N° de malade	Taux Cath D
				<u>sans métastase</u>	
3	24	5	75	7	119
4	36	6	60	11	21
13	39	8	100	36	120
14	58	9	79	37	49
15	73	10	56	34	273
16	45	17	165	54	47
18	75	23	72	56	103
19	27	25	74	58	62
21	15	26	87		
24	55	31	22	<u>avec métastase</u>	
27	17	32	158		
28	21	33	47	12	52
29	38	40	50	1	83
30	34	42	55	2	96
35	39	44	72	20	188
39	26	47	57	22	50
41	13	49	52	38	69
46	75	59	173	43	211
50	53	62	34	45	91
51	36			52	93
53	54				
55	59				
57	7				
60	19				
61	55				

Tableau n° 8 : Classification par groupe de risque

3.4. TABLEAU D'ANALYSE UNIVARIABLE

Afin de mieux pouvoir comparer notre étude avec celle citée dans le chapitre II, nous avons réalisé le tableau d'analyse univariante identique, retenant les mêmes facteurs et le même seuil de 70 pmol/mg P de Cath D.

Par ailleurs, pour que la comparaison soit possible ont été exclues de ce tableau les malades présentant des métastases au moment du dosage de la Cath D.

TABLEAU N° 8 : Analyse univariable en fonction du taux
 ----- Cath D > 70 pmol/mgP (malades sans métastase).

	< 70 pmol/mg	> 70 pmol/mg
	Nbre de patientes	Nbre de patientes
<u>Toutes les patientes</u>		
<u>Age</u>		
< 50	9 (70 %)	4 (30 %)
50 - 64	14 (74 %)	5 (26 %)
> 64	13 (65 %)	7 (35 %)
<u>Stade UICC</u>		
I	11 (90 %)	1 (10 %)
II	20 (62 %)	12 (38 %)
III	5 (62 %)	30 (38 %)
<u>Taille de la tumeur</u>		
< 25 mm	10 (80 %)	2 (20 %)
26 - 39 mm	14 (77 %)	4 (23 %)
> 40 mm	12 (54 %)	10 (46 %)
<u>Grade histologique</u>		
(SBR) I	7 (87 %)	1 (13 %)
II	24 (67 %)	12 (33 %)
III	5 (62 %)	3 (38 %)
<u>Taux RE</u>		
< 10 fmol/mg (RE-)	14 (66 %)	7 (34 %)
> 10 fmol/mg (RE+)	22 (70 %)	9 (30 %)
<u>Taux RP</u>		
< 10 fmol/mg (RP-)	15 (70 %)	7 (30 %)
> 10 fmol/mg (RP+)	21 (70 %)	9 (30 %)
<u>Ménopause</u>		
Pré	7 (70 %)	3 (30 %)
Post	29 (70 %)	13 (30 %)
<u>Envahissement ganglionnaire</u>		
N-	24 (82 %)	5 (18 %)
N+	12 (53 %)	11 (17 %)

Discussion

IV - DISCUSSION

Dans un premier temps, nous nous intéresserons à la valeur et à la répartition des taux de Cath D dans les différents groupes de risque.

4.1. CATH D ET GROUPES DE RISQUE

Nous pouvons résumer les résultats obtenus dans le tableau suivant (tableau n° 10) :

Groupes	Moyenne
Groupe I (26 malades)	39,1
Groupe II (19 malades)	78,3
Groupe III (17 malades)	101,5
- Hors métastase (8 malades)	99,2
- Avec métastase (9 malades)	103,6

La différence entre les moyennes de chaque groupe est assez révélatrice et semble confirmer la corrélation entre le taux de Cath D et les autres facteurs de risque (au moins ceux ayant servi à la classification en groupe).

Les groupes sont assez homogènes mais dans chacun d'entre eux, certaines valeurs du taux de Cath D surprennent.

C'est peut-être un des intérêts de ce marqueur, d'attirer l'attention sur ces dossiers discordants. Nous allons donc les revoir plus en détail.

4.1.1. Dans le Groupe I

Seuls les dossiers n° 15 et 46 ont un taux de Cath D supérieur au seuil de 70 pmol/mgP. Nous verrons plus tard ce qui apporte cette nuance dans le pronostic de ces cancers No.

Nous nous pencherons, ici, sur le dossier n° 57 dans lequel le taux de Cath D est égal à 7 pmol/mgP, taux habituellement réservé au sein normal.

A l'examen anatomo-pathologique, la tumeur a été classée une première fois adénocarcinome mammaire, grade I, mais, après une deuxième analyse systématique, la malade ayant déjà commencé son traitement, l'aspect malin n'a pas été retrouvé.

Ce taux bas, si sa détermination avait été contemporaine de la première analyse, aurait pu susciter, de façon plus précoce, l'examen de vérification.

4.1.2. Dans le groupe II

Quatre malades présentent des taux de Cath D, nettement supérieurs à la moyenne du groupe.

Il s'agit des dossiers n° 8, 17, 32 et 59.

Ces patientes sont toutes stade II, grade II. D'après BLOOM (tableau n° 2), elles présentent un pronostic assez favorable (80 % de survie à 5 ans).

La malade n° 8, âgée de 35 ans, est porteuse d'un cancer du quadrant supéro externe gauche, stade II sans adénopathie mais en poussée évolutive. Ses taux d'ACE et de CA 15-3 sont pourtant normaux. Les récepteurs hormonaux sont négatifs.

Ce dossier a été considéré comme suspect en raison de la pev et traité en fonction. Dans ce cas, le taux de Cath D ne vient que confirmer l'existence du risque évolutif.

Chez les patientes n° 17, 32 et 59, le seul critère prédictif péjoratif est l'envahissement ganglionnaire axillaire (N b pour les 3 malades)

1

Un événement a, ici, une importance capitale, c'est la survenue, 3 mois après l'observation et le prélèvement du cytosol de la malade n° 59, d'une métastase osseuse. Par identification, les malades 17 et 32 deviennent donc des malades à haut risque et, donc, susceptibles d'être bénéficiaires d'une surveillance toute particulière.

4.1.3. Dans le groupe III

Une valeur est étonnante avec 21 pmol/mgP. Il s'agit de la malade n° 11, âgée de 59 ans, ménopausée, classée T4c N1b Mo, grade II. Nous verrons que ce taux faible de Cath D "attendrit" légèrement le pronostic lié à la présence de ganglions envahis et d'un stade III, estimé par BLOOM à 50 % de survie à 5 ans. Mais la discussion quant au pronostic est de moindre intérêt, la thérapeutique étant de toute façon maximale.

4.2. COMPARAISON DES 2 POPULATIONS DE MALADES

En comparant point par point les tableaux 4 et 9, nous avons été frappés par leur très grande similitude (les quelques différences pouvant facilement être imputables à la taille des deux populations).

Ce qui laisse supposer que l'évolution de la maladie chez nos malades sera identique à celle observée pendant 8 ans chez les malades du Centre René HUGUENIN. Les courbes de survies hors métastase (n° 2 et 3) pourraient donc être applicables à notre population.

Lorsque le taux de Cath D ne vient que confirmer le risque évolutif déterminé par les autres facteurs, il ne présente qu'un intérêt réduit, car ne modifie pas le comportement du médecin.

Par contre, lorsqu'il y a discordance, il se révèle être un examen complémentaire précieux. En dehors des cas isolés que nous avons détaillés, dans les paragraphes précédents, un groupe est particulièrement concerné par ce point : il s'agit des femmes No (donc jusque là classées, dans leur majorité, parmi les malades à bon pronostic -9-) chez qui il a été trouvé un taux de Cath D > 70 pmol/mgP.

Cela concerne nos malades n° 8, 15, 18, 23 et 46.

A part la patiente n° 8, évoquée précédemment, qui était en poussée évolutive, les autres malades étaient stade I ou II et grade II donc avec des chances de survie brute à 5 ans de l'ordre de 60 à 80 % (tableau n° 2).

En considérant les courbes n° 3, pour les memes malades, le taux de survie sans métastase à 5 ans n'est plus que de 22 % (ces chiffres ne pouvant tout de meme pas etre directement comparables, les uns tenant compte de la survie brute, l'autre de la survie sans métastase).

Par contre les malades No, Cath \leq 70 pmol/mgP présentent sous ce nouveau jour, un taux de survie sans métastase à 5 ans excellent avec presque 90 %.

D'autre part, les malades N+ Cath \leq 70 pmol/mgP peuvent être considérées comme moins à risque que lorsque le seul critère N était pris en compte.

Enfin le groupe N+ Cath $>$ 70 devient à très haut risque métastatique mais pourrait peut-être bénéficier des recherches thérapeutiques visant à inhiber la fabrication et l'action de la cathepsine.

4.3. NOUVEAU CLASSEMENT PAR GROUPE DE RISQUE

Ainsi, nous pouvons établir un nouveau classement que le tableau suivant résume :

Groupe à risque faible Cath < 70 No	Groupe à risque élevé		Groupe à risque majeur N+ Cath+
	N+ Cath-	No Cath+	
3	6	8	5
4	10	15	7
13	11	18	9
14	31	23	17
16	33	46	25
19	37		26
21	39		32
24	47		34
27	49		36
28	51		44
29	54		56
30	58		59
35	62		
40			
41			
42			
48			
50			
53			
55			
57			
60			
61			

TABLEAU N° 11 : Classification en fonction des critères
----- Cath D - Envahissement ganglionnaire.

Ainsi, certains pronostics au regard de ce nouveau critère ont évolué.

Les malades de la première colonne ont un pronostic qui passe de bon à très bon.

Celles qui étaient classée groupe II voient apparaitre une nuance favorable ou défavorable en fonction du taux de Cath D, notamment les dossiers n° 5, 9, 17, 25, 26, 32, 44, 59 qui passent d'un risque moyen à un risque majeur.

Enfin, le cas des dossiers 15, 18 et 28 qui avaient été classés groupe I et qui voient leur pronostic s'assombrir de façon importante.

C'est pour ces malades que le dosage de la Cathepsine est le plus intéressant, car il peut motiver une conduite thérapeutique plus agressive.

Conclusion

La convergence des renseignements fournis par les recherches biologiques sur les lignées cellulaires et les études cliniques, permet de supposer que la Cathepsine D joue un rôle dans la croissance et la dissémination des cancers du sein.

Son dosage dans les cytosols de cancer du sein semble apporter une information pronostique complémentaire pour orienter la thérapeutique (détection des cancers invasifs). Le rôle possible de cette protéase dans la croissance et l'invasion tumorale suggère aussi de nouvelles voies thérapeutiques visant à neutraliser son action.

En effet, alors que les antioestrogènes n'agissent que sur les cancers ayant des récepteurs oestrogènes, des composés visant à inhiber l'action de facteurs mitogènes tels que les facteurs de croissance ou cette protéase pourraient de façon générale agir sur les cancers oestrogène-sensibles ou pas, la Cathepsine D 52 k étant produite et sécrétée de façon constitutive dans les cancers du sein n'ayant pas de récepteurs oestrogènes.

Ainsi s'ouvre devant nous une voie de recherche clinique et thérapeutique qui, si elle tient ses promesses, pourrait changer l'avenir de certains cancers jusque là de pronostic très sombre.

Bibliographie

1. **AAMDAL S. BORMER O, JORGENSENO, et al .**

ER and long term prognosis in breast cancer

Cancer 53 : 2525 - 2529 - 1984

2. **AUGEREAU P., GARCIA M., MATTEI M.G., CAVAILLES V.,
DEPAVOVA F., DEROCQ D., CAPONY F., FERRARA P and
ROCHEFORT H.**

Cloning and sequencing of the 52 K Cathepsin D cDNA of
MCF 7 breast cancer cells and mapping on chromosome 11

Mal. Endocrinal 1988, 2, 186 - 192.

3. **BARRET B.**

Le CA 15-3 marqueur tumoral du sein.

Fev. 87

4. **BLOOM HJG., FIELD JP.**

Impact of tumor grade and Prost resistance on survival
of women with breast cancer.

Cancer 1971, 28,6, 1580 -1589

5. **BRIOZZO P., MORISSET M., CAPONY F., ROUGEOT AND
ROCHEFORT H.**

In vitro degradation of extracellular matrix with
Mr 52.000 cathepsin D secreted by breast cancer cells.

Cancer Res. 1988, 48, 3688 - 3692

6. **BUTLER W.B., KIRLAND W.L and JORGENSEN TL.**

Induction of plasminogen activator by oestrogen in a
human breast cancer all line (MCF 7).

Biochem. Biophys Res. Commun 1979, 90, 1328 - 1334

7. **CAPONY F., MORISSET M., BARRETT A.J., CAPONY JP.,
BROQUET P., VIGNON F., CHAMBON M., LOUISOT P. and
ROCHEFORT H.**

Phosphorylation, glycosylation and proteolytic activity
of the 52 kDa estrogen-induced protein secreted by MCF 7
cells.

J. Cell. Biol. 1987, 104, 253 - 262.

8. **CAPONY F., ROUGEOT C., MONTCOURRIER P., CAVAILLES V., SALAZAR G. and ROCHEFORT H.**

Increased secretion and altered processing of 52 kD pro-cathepsin D in breast cancer cells compared to normal epithelial mammary cells.

Submitted for publication.

9. **CONTESSO G., ROUESSE J., GENIN J.**

L'envahissement ganglionnaire loco-régional des cancers du sein.

Bull. Cancer 1975, 62,4 : 359 - 372.

10. **DANA M., NARES S., TREBUCQ B.**

Classification des tumeurs malignes selon le code TNM.

Conc. Med. 1981, Suppl. au n° 42 : 46 - 48

11. **DIKE MC., SUTERI P.K. and WELSCH C.W.**

Banbury Report - Hormones and Breast Cancer

CHS Laboratory 1981

12. **FISHER B.**

Localisation of breast carcinoma and prognostic.

Surg. Gynec. Obst. 1969, 129, 705 - 716

13. **FOURNO (Evelyne FAURE, Mme)**

Antigène carcino embryonnaire et microglobuline.

Thèse Med. Limoges 1981 n° 41

14. **GARCIA M, SALAZAR RETANA G., PAGES A., RICHER G.**

Cancer Res., 46, 3734 - 3438, July 1986

15. **GAUTRON**

Intéret clinique des marqueurs tumoraux
CA 15.3 - CA50 et ACE dans le suivi des cancers du sein

Thèse Méd. Limoges 1987 n° 193

16. GERMAIN F., SAUVAGE C., SERTOIR J., FERHENBACKER S.,
SPYRATOS F., ANDRIEU C, HACENIK, BRUNET M.

Cis Bioindustries - International Cis -
Centre René HUGUENIN.

Mode d'expression de la cath D, d'après l'analyse
multivariable de Cox (Stade uicc, age, taille macro-
scopique, grade SBR, envahissement ganglionnaire, RE
RP, état hormonal) à propos d'une population de 122
malades porteuses d'un cancer du sein.

17. GOLD P., FREEDMAN MD.,

Specific carcino embyonic antigen of the human digestive
system.

J. Exp. Med. 1985, 122, 467 - 481

18. HELDIN CH., WESTERMAR B.

Growth factors mecanism of action and relation to
oncogene cell 37, 9, 1984.

19. JAQUES M.

Evaluation du risque métastatique du cancer du sein

Thès méd. Paris - Créteil 1977 n° 2820

20. KORNFELD S.

Trafficking of lysomal enzymes

FASEB J. 1987, I, 462 - 468

21. LIPPMAN ME., BOLAN A. and HUFF K.

The effect of oestrogens and antioestrogens on hormone
responsive human breast cancer in long term tissue
culture.

Cancer Res. 1976, 4595 - 4601

22. LIPPMAN ME., DIKSON RB., BATES S., KNABBE C., HUFF K.,
SWAIN S., MC MANAWAY M., BRONZERT D., KASID A and
GELMANN E.P.

Autocrine and paracrine growth regulation of human
breast cancer.

Breast Cancer Res Treat 1986, 1, 59 - 70.

23. MAUDELONDE T., KHALAF S., GARCIA M., FREISS G.,
DUPORTE J., BEVATIA M., ROCIER H., PUJOL H.,
Immuno enzymatic assay of 52 K Cathepsin D in 182 breast
cancers cytosols.
Cancer Res. 1988, 48, 462 - 466
24. Mc GUIRE NL.
Recent progress in hormone research vol. 36
Academic Press 1980 New York, pp 135 - 146
25. MORISSET M., CAPONY F. and ROCHEFORT H.
The 52-kDa estrogen-induced protein secreted by MCF 7
cells is a lysosomal acid protease.
Biochem. Biophys. Res. Commun. 1986, 138
26. PATURAUD
Le traitement adjuvant du cancer du sein.
Thèse Méd. Limoges 1985 n° 25
27. ROCHEFORT H., AUGEREAU P., BRIOZZO P., CAPONY F.,
CAVAILLES V., FREISS G., MAUDELONDE T., MORISSET M.
and VIGNON F.
Structure, function, regulation and clinical significance
of 52 k Pro-cathepsin D secreted by breast cancer
cells.
Biochimie 70, 943949 - 1988
28. ROCHEFORT H., CAPONY F., AUGEREAU P., CAVAILLES V.,
GARCIA M., MORISSET M., FREISS G., MAUDELONDE M.,
VIGNON F.
Nucl. Med. Biol 14 - 4 - 377 - 384, 1987
29. ROCHEFORT H., CAPONY F., GARCIA M., CAVAILLES V.,
FREISS G., CHAMBON M., MORISSET M. and VIGNON F.
Estrogen-induced lysosomal proteases secreted by
breast cancer cells. A role in carcinogenesis ?
Jall. Biochem. 1987, 35, 17 - 29

30. ROCHEFORT H., COEZY E., JOLY E., WESTLEY B. and VIGNON F.
Hormones and cancer-Roven Press 1980, New York pp 21-29
31. RYAN TJ., SEEGER JL., KUMAR SA and DICKERMANN HW.
Estradiol preferentially enhances extracellular tissue plasminogen activators of MCF 7 breast cancer cells.
J. Biol. chem 1984, 259, 14324 - 14327
32. SARRAZINO, MOURIESSE M.
Cancers du sein en poussée évolutive
Rev. Prat. Paris 1978, 28 : 999 - 1009
33. SPORN MB and TOGARO GJ.
Autocrine secretion and malignant transformation of cells - New England
J. Med, 1980, 303, 873 - 880
34. TANDON A., CLARK G., CHIRGUIN J. and MC GUIRE W.
Cathepsin D predicts relapse and survival in node negative breast cancer.
Pro Amer Assoc-Cancer Res 30, 352, 1989
35. THORPE SM., ROCHEFORT H., GARCIA M., FREISS G., GRISTENSEN IJ., KHALAF S., PAOLUCCI F; , PAU B.
High concentrations of 52 k Cathepsin D predict poor.
36. VEITH F., ROCHEFORT H.
Récepteurs des hormones stéroïdes dans les cancers.
Rev. Médecine 1982, 23, 6 : 265 - 269
37. VIGNON F., CAPONY F., CHAMBON M., FREISS G., GARCIA M. and ROCHEFORT H.
Autocrine growth stimulation of the MCF 7 breast cancer cells by the estrogen regulated 52K proteins.
Endocrinology, 1986, 118, 1537 - 1545

38. VIGNON R., DEROCQ D., CHAMBON M., ROCHEFORT H.

Les protéines oestrogènes induites sécrétées par les cellules cancéreuses mammaires humaines MCF 7 stimulent leur prolifération.

CR Acad. Sci, 1983, 296, 151 - 156

39. VIGNON F., LIPPMAN ME., NAWATA H., DEROCQ D. and ROCHEFORT H.

Induction of two estrogen responsive proteins by antioestrogen in R 27 a tamoxifen resistant clone of CF 7 cells.

Conc. Res. 1984, 44, 2084 - 2088

40. VILCOQ J.R.

Facteurs pronostiques des épithéliomas mammaires

Bull Cancer 1977, 64, 4 : 487 - 504

41. WESTLEY B., MAYFE B., BROWN AMC KRUSTA CHAMBON P, LIPPMAN ME. and ROCHEFORT H.

Effects of antiestrogens on the estrogen, regulated P 52 RNA, 52 k-Da and 160 k-Da proteins in MCF 7 cells and two tamoxifen resisted sublines.

J. Biol. Chem. 1984, 259, 10030 - 10035

42. WESTLEY B. and ROCHEFORT H.

A secreted glycoprotein induced by oestrogen in human breast cancer cells lines.

Cell 1980, 20 - 353 - 362

Index

REFERENCES DES DOSSIERS

N° Malade dans l'étude	N° Dossier	N° Cytosol
1	83676	8375
2	17134	80681
3	87329	8905
4	90454	625
5	84084	17
6	85626	1790
7	83672	2534
8	85108	4167
9	53213	12611
10	94726	12217
11	93532	10068
12	89687	14710
13	94800	11919
14	FMN	9233
15	043022	21823
16	FMN	20332
17	100526	5174
18	FMN	3547
19	077703	7146
20	044121	7494
21	102055	8054

(suite)

N° Malade dans l'étude	N° Dossier	N° Cytosol
22	104264	13572
23	FMN	21803
24	100443	4187
25	022671	15590
26	FMN	15868
27	FMN	21824
28	069832	22577
29	084472	24999
30	046802	23732
31	FMN	21659
32	FMN	4327
33	FMN	6073
34	FMN	5874
35	61135	90690
36	FMN	9839
37	096837	5873
38	099373	4437
39	100715	5768
40	101409	6511
41	104458	15866
42	102437	13462
43	097887	2636

N° Malade dans l'étude	N° Dossier	N° Cytosol
44	099858	3689
45	027425	6510
46	70897	
47	101647	4438
48	031967	15867
49	101141	6074
50	67028	7474
51	88575	16376
52	87284	11979
53	31663	2655
54	97375	19646
55	27965	23010
56	87896	13883
57	96857	18263
58	97376	19645
59	32213	21802
60	81148	19325
61	95920	15046
62	95435	14389

Table des Matières

- PLAN.....	p	9
- INTRODUCTION.....	p	14
- CHAPITRE I :		
FACTEURS PRONOSTIQUES DU CANCER DU SEIN.....	p	16
1.1. LES FACTEURS CLINIQUES.....	p	16
1.1.1. Classification TNM (10).....	p	16
1.1.1.1. Tumeur primitive ou T.....	p	16
1.1.1.2. Adénopathie régionale ou N.....	p	18
1.1.1.3. Métastase ou M.....	p	19
1.1.1.4. Regroupement par stade.....	p	21
1.1.2. La poussée évolutive ou Pev (32).....	p	23
1.1.3. La localisation de la tumeur dans le sein	p	24
1.1.4. L'âge des malades (40).....	p	25
1.2. LE TYPE HISTOLOGIQUE	p	26
1.2.1. Grade histologique de Scarff, Bloom et Richardson ou grade SBR.....	p	26
1.2.2. Valeur pronostique de l'association stade - grade.....	p	29

1.3. LES FACTEURS BIOLOGIQUES.....	p	30
1.3.1. Les récepteurs hormonaux (36).....	p	30
1.3.1.1. Les récepteurs oestrogènes.....	p	30
1.3.1.2. Les récepteurs à la progestérone.....	p	31
1.3.1.3. Valeur pronostique des récepteurs hormonaux.....	p	31
1.3.2. L'antigène carcino-embryonnaire (ACE)....	p	32
1.3.3. CA 15.3 (3).....	p	33
1.4. LES TROIS GROUPE DE RISQUES.....	p	34
1.4.1. Groupe I ou groupe de risque faible.....	p	34
1.4.2. Groupe II ou groupe de risque moyen.....	p	35
1.4.3. Groupe III ou groupe de risque élevé....	p	36
1.4.4. Tableau récapitulatif n° 3.....	p	37

- CHAPITRE II :

LA CATHEPSINE D 52 K.....	p	39
2.1. INTRODUCTION - GENERALITES.....	p	39
2.2. OESTROGENE ET CROISSANCE MAMMAIRE	p	40
2.2.1. Généralités.....	p	40
2.2.2. Action mitogène des oestrogènes.....	p	42
2.2.3. Une protéase impliquée dans la régulation autocrine des cellules MCF7.....	p	43
2.3. LA PROTEASE LYSOSOMIALE 52 kDa SECRETEE PAR LES CANCERS DU SEIN : STRUCTURE, REGULATION, FONCTION.....	p	44
2.3.1. Structure	p	44
2.3.2. Régulation.....	p	45
2.3.3. Fonction.....	p	46
2.4. CATHEPSINE P 52 K DANS L'ORGANISME (14)...	p	47
2.4.1. Les tissus sains.....	p	47
2.4.2. Les tissus pathologiques.....	p	47

2.5. TECHNIQUE DE DOSAGE DE LA CATHEPSINE	
D 52 kDa.....	p 48
2.5.1. Principe.....	p 48
2.5.2. Protocole.....	p 48
2.6. CHOIX DU SEUIL DE CATHEPSINE D.....	
	p 50
2.7. ETUDE RETROSPECTIVE A PROPOS DE 122 CAS...	
	p 52
2.7.1. Résultats de l'analyse univariabile	
Cathepsine D.....	p 53
2.7.2. Résultats de l'analyse multivariabile	
de Cox	p 56
- CHAPITRE III :	
OBSERVATIONS.....	p 60
3.1. CRITERES DE SELECTION DES MALADES.....	p 60
3.2. TABLEAUX D'OBSERVATION.....	p 61
3.3. CLASSIFICATION PAR GROUPE DE RISQUE.....	p 66
3.4. TABLEAU D'ANALYSE UNIVARIABLE.....	p 68

- CHAPITRE IV :	
DISCUSSION.....	p 71
4.1. CATH D ET GROUPES DE RISQUE.....	p 71
4.1.1. Dans le groupe I.....	p 72
4.1.2. Dans le groupe II.....	p 72
4.1.3. Dans le groupe III.....	p 73
4.2. COMPARAISON DES 2 POPULATIONS DE MALADES.....	p 74
4.3. NOUVEAU CLASSEMENT PAR GROUPE DE RISQUE.....	p 76
- CONCLUSION.....	p 79
- BIBLIOGRAPHIE.....	p 81
- INDEX.....	p 88
- TABLE DES MATIERES.....	p 92

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des maîtres de cette école, de mes condisciples, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail.

Admis à l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les moeurs ni à favoriser les crimes.

Reconnaissant envers mes maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères et s'ils devaient entreprendre la Médecine ou recourir à mes soins, je les instruirai et les soignerai sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné à jamais de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole, et que je me parjure, puissè-je avoir un sort contraire.

BON A IMPRIMER N° 46

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE

Vu, le Doyen de la Faculté

VU et PERMIS D'IMPRIMER

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ