

## Recommandations pour les indications d'Immunohistochimie dans les tumeurs conjonctives des tissus mous et des viscères

### 3 facteurs interviennent lors des demandes d'immunohistochimie

- **La quantité de matériel disponible : il est nécessaire de hiérarchiser les demandes** surtout dans le cadre d'un prélèvement exigü (petites biopsies ou microbiopsies) afin de ne pas épuiser le matériel qui fera alors défaut pour des techniques complémentaires de biologie moléculaire.
  - *Il ne faut pas inclure la totalité du matériel dans un seul bloc s'il existe plusieurs fragments.*
  - *Un seul plan de coupe par lames*
  - *Il est souhaitable de réserver quelques lames blanches en premier si les microbiopsies sont peu nombreuses ou de petite taille en vue d'éventuelles études moléculaires (voir recommandations prise en charge microbiopsies).*
- **La nécessité d'avoir un panel d'anticorps suffisamment étendu** pour vérifier la cohérence du profil immunohistochimique et assurer la précision diagnostique.
- **La nécessité a contrario de ne pas demander des anticorps inutiles** pour le diagnostic afin de ne pas gaspiller un matériel précieux et pour des raisons de coût.

**Chaque situation possible du champ complexe de la pathologie conjonctive ne pouvant être balayée dans document, seuls les cas de figure les plus fréquents sont envisagés.**

1. Absence d'orientation diagnostique évidente sur la morphologie : on ne cherche pas à valider une hypothèse hautement probable mais à identifier une ligne de différenciation non évidente. Le panel d'anticorps sera assez large et variera en fonction du grand groupe morphologique auquel on réfère la lésion. Suivant le degré d'urgence on peut être amené à effectuer ces marquages en un ou deux temps :

■ **Tumeurs à cellules rondes indifférenciées**

● **Panel**

- Marqueurs lymphoïdes : CD45, CD3/CD20 pour éliminer un lymphome. Elargir aux autres marqueurs lymphoïdes (CD30), voire myéloïdes et plasmocytaires. Attention, se souvenir de la possibilité d'hémopathies CD45 négatives et CD99+
- Desmine et myogénine
- CKAE1/AE3, EMA
- S100

Elargir dans un deuxième temps

- CD99
- INI1. On recherche une perte d'expression

● **Objectifs :**

- Éliminer en premier un lymphome surtout chez l'enfant, un mélanome ou un carcinome à petites cellules chez l'adulte
- Rechercher les sarcomes à cellules rondes les plus fréquents qu'il faudra authentifier secondairement par l'anomalie moléculaire caractérisée, majoritairement à type de translocation.
- PNET/Ewing : retenir que le CD99 n'est pas spécifique mais que sa négativité ou l'absence de marquage membranaire (marquage golgien par exemple) plaide contre un diagnostic de PNET
- Synoviosarcome à cellules rondes (CKAE1/AE3+, EMA+)
- Rhabdomyosarcome alvéolaire (desmine+, myogénine+)
- Tumeur desmoplastique à cellules rondes (CK+, desmine+, myogénine-).

- Tumeur rhabdoïde (attention la négativité de l'anticorps INI1 reflet de la délétion est décrite dans d'autres entités)

## ■ Tumeurs à cellules fusiformes

### • Panel

- Panel initial : CKAE1/AE3, EMA, actine musculaire lisse, desmine, caldesmone, S100, CD34, Kit /DOG1 en intra-abdominal.
- En deuxième ligne : myogénine si desmine+, CD31/ERG, MDM2

### • Objectifs :

- Eliminer un éventuel carcinome sarcomatoïde (chez l'adulte et surtout dans certaines topographies, ORL, rein, vessie par exemple) ou un mélanome
- Authentifier une ligne de différenciation
  - musculaire lisse,
  - myofibroblastique,
  - musculaire striée,
  - stromale digestive
  - nerveuse,
  - vasculaire
- penser aux rares tumeurs à cellules dendritiques folliculaires (CD21, CD23, CNA42).

## ■ Tumeurs à cellules pléomorphes

### • Panel

- CKAE1/AE3, EMA, desmine, caldesmone, PS100, CD34, MDM2 surtout en cas de topographie rétropéritonéale.
- Compléter par myogénine si desmine positive de façon isolée
- Compléter par CK5/6 et P63 surtout en cas de topographie cutanée et ORL
- En deuxième intention, fonction de la morphologie et en cas de doute seulement, CD30, +/- CD45 (Hodgkin, LNH anaplasique)

### • Objectifs

- Eliminer carcinome et mélanome en premier

- Essayer de trouver une ligne de différenciation bien qu'elle soit souvent absente
- Dans le rétropéritoine, faire systématiquement MDM2 pour rattacher le sarcome à cellules pléomorphes à un liposarcome dédifférencié

## ■ Tumeurs myxoïdes hypocellulaires, faiblement ou peu atypiques

- **Panel**

- EMA, actine musculaire lisse, S100, CD34, Ki67, MUC4 (marqueur du sarcome fibromyxoïde de bas grade)

- **Objectifs :**

- **Rechercher** les entités les plus fréquentes

Myxome (CD34+/-, MUC4-, Ki67 bas). Attention même profil qu'un myxofibrosarcome de bas grade

Périneuriome (EMA+, CD34 souvent +, Ki67 bas)

Neurofibrome (PS100++, CD34+/-, Ki67 bas)

Fasciite nodulaire myxoïde (actine+)

Sarcome fibromyxoïde de bas grade (EMA+ faible, MUC4+++, CD34-, Ki67 bas)

## ■ Tumeurs épithélioïdes

- **Panel**

- En première ligne : CKAE1/AE3, EMA, S100, CD34

- En deuxième ligne : CK5/6, P63, chromogranine / synaptophysine, INI1, CD31 / ERG.

- En intra-abdominal KIT, DOG1 (GIST épithélioïde)

- **Objectifs**

- En premier lieu éliminer le carcinome, penser au carcinome neuroendocrine et aux tumeurs annexielles cutanées

- Rattacher la lésion à un sarcome

- Sarcome épithélioïde (CK+, CD34+, INI1-)
- Angiosarcome épithélioïde (ERG+, CD31+, CD34+)
- MPNST épithélioïde (PS100+ diffus)

- Penser aux tumeurs de type paragangliome (chromogranine+, CK-), tumeur glomique (actine muscle lisse+, caldesmone+), PECome (HMB45 +, actine et caldesmone+)

2 L'examen morphologique conduit à une forte présomption diagnostique : inutile de multiplier le nombre d'anticorps dans un premier temps. Le panel d'anticorps sera revu si les résultats ne valident pas la première hypothèse

■ **Pour confirmer un rhabdomyosarcome**

- Se contenter de la desmine et de la myogénine dans un premier temps. Si myogénine négative revenir au panel tumeur à cellules rondes indifférenciée.
- *Passer rapidement à la Biologie moléculaire* (FISH/RT-PCR sont quasiment systématiques dans un but protocolaire et surtout en cas de RMS indifférencié à cellules rondes et/ou myogénine élevée pour authentifier un RMS alvéolaire).

■ **Pour confirmer une tumeur PNET/ EWING très probable :**

- Le CD99 doit être positif membranaire mais n'est pas spécifique
- *En fait il faut donner la priorité à la biologie moléculaire sur l'immunohistochimie* (la RT-PCR sur tissu congelé de préférence) et la FISH à défaut surtout en cas de matériel restreint

■ **Pour confirmer un synovialosarcome :** CKAE1/AE3, EMA, CD34 (pour en vérifier la négativité) *puis confirmer par la biologie moléculaire.*

■ **Pour confirmer un schwannome typique ou un neurofibrome :** PS100 (elle doit être positive de façon diffuse)

■ **Pour confirmer la nature vasculaire d'une prolifération tumorale :** CD31, CD34, ERG

■ **Pour confirmer un sarcome de kaposi :** HHV8

■ **Pour confirmer une tumeur musculaire lisse :** actine musculaire lisse, desmine, caldesmone et de principe RE et RP chez la femme en région intra-abdominale, rétropéritonéale, pelvienne ou pulmonaire.

■ **Pour confirmer une GIST :** KIT, DOG1.

- Ki67 peut aider à l'évaluation de l'activité proliférative.
- A noter CD34 et caldesmone souvent positifs.

■ **Pour confirmer une tumeur fibreuse solitaire :** STAT6.

■ **Pour confirmer une fibromatose desmoïde :** actine, desmine pour authentifier la nature myofibroblastique (dans les formes intra-abdominales ces 2 marqueurs peuvent rester négatifs). La bêta caténine n'est ni spécifique, ni fiable. Privilégier l'analyse moléculaire (recherche de mutation de l'exon 3 de *CTNNB1*).

■ **Pour confirmer la nature tumorale d'un tissu adipeux sur un matériel biopsique :** HMGA2 peut être utile pour confirmer la nature tumorale (bénigne ou maligne) d'un tissu adipeux orthoplasique et le différencier d'un tissu adipeux natif

(positif dans 80% des cas s'il s'agit d'un processus tumoral). En cas de positivité de HMGA2, on pourra alors s'appuyer sur la FISH (*MDM2*) pour distinguer un lipome d'un liposarcome bien différencié. Néanmoins la vérification de la cohérence avec l'imagerie reste primordiale.

### 3. Savoir tenir compte de la topographie :

#### ■ Tumeur à cellules fusiformes intra-abdominales :

- KIT et/ou DOG1 pour les tumeurs intra-abdominales, pour caractériser ou éliminer de principe une GIST (valeur presque médicolégale compte-tenu des implications thérapeutiques).
- RE/RP pour les tumeurs intra-abdominales chez la femme, élargir à CD10, inhibine, calrétinine pour ne pas méconnaître un sarcome du stroma endométrial ou une tumeur de cordons sexuels en l'absence de différenciation musculaire lisse (auquel cas, actine musculaire lisse+, desmine+, caldesmone+). Il faut savoir penser à ces deux types de lésions qui peuvent donner des localisations très tardives intra-abdominales alors que l'antécédent de tumeur utérine ou ovarienne a été «oublié» ou non mentionné.

#### ■ Tumeurs rétropéritonéales :

- Faire MDM2 à la recherche d'un liposarcome dédifférencié, sarcome le plus fréquemment observé dans cette région.

### 4. Les marqueurs peu ou pas utiles qu'il faut éviter car non spécifiques

- Ki67 si les mitoses se comptent facilement. Utile seulement en cas d'index mitotique faible (moins de 5 pour 10 champs ou sur une microbiopsie sans mitoses)
- KIT hors contexte digestif ou intra-abdominal
- CD56 sans caractère spécifique en pathologie conjonctive
- BCL2
- Vimentine
- Myoglobine à remplacer par la myogénine
- CD99 si tumeur à cellules fusiformes ou pléomorphes

- CD68 (seule indication du CD68 (clone PGM1) et du CD163 : reconnaître une population histiocytaire non tumorale ou une tumeur à cellules géantes des gaines et des tendons.

## 5. Quelques remarques propres à certains anticorps

- **Actine musculaire lisse** peu spécifique en elle-même, mais doit être interprétée en fonction de la morphologie
  - Peut être positive dans les carcinomes sarcomatoïdes
  - Est diffusément positive avec peu ou pas de desmine dans une fasciite nodulaire
  - Ne suffit pas de façon isolée à authentifier une différenciation musculaire lisse
- **CD34** marque «34» entités
  - Dermatofibrosarcome de Darier et Ferrand
  - Tumeur fibreuse solitaire
  - GIST (70%)
  - En réseau de cellules dendritiques dans les neurofibromes,
  - Certains perineuriomes
  - Lipome à cellules fusiformes, liposarcomes dédifférencié ou et sclérosant,
  - Myxome et myxofibrosarcome
  - Sarcome épithélioïde
  - Angiosarcome (attention ERG et CD31 plus spécifiques)
  - La positivité du CD34 est un bon indicateur qu'il ne s'agit pas d'un carcinome (exception faite des tumeurs germinales vitellines)
- **CD31** : seul un marquage membranaire franc est vraiment spécifique de la différenciation vasculaire. Attention au marquage cytoplasmique constant des histiocytes ainsi que des plasmocytes et à une faible positivité cytoplasmique peu spécifique.
- **ERG** est un marqueur vasculaire nucléaire sensible et assez spécifique. Il est une bonne alternative au CD31, étant d'interprétation plus facile (attention il est positif dans certains carcinomes prostatiques)

## ■ Desmine

- Peut être positive dans les proliférations myofibroblastiques mais de façon minoritaire
- Est généralement positive dans les proliférations musculaires lisse et striée
- Mais aussi dans les histiocytofibromes angiomatoïdes, les tumeurs desmoplastiques intra-abdominales.

## ■ Myogénine

- Spécifique de la différenciation musculaire striée mais pas de la malignité (attention positif dans le muscle régénératif)

## ■ PS100

- Positif et diffus
  - dans les mélanomes, schwannomes, neurofibromes, MPNST épithélioïdes
- Positif focal
  - MPNST classique
  - Synoviosarcome de façon inconstante
  - PNET rarement
  - Myoépithéliome,
  - Chondrosarcome myxoïde

## ■ MDM2

- Sa positivité n'est pas synonyme d'amplification du gène mais peut correspondre à une simple hyperexpression (volontiers présente dans les myxofibrosarcomes)
- Il faut se méfier d'un marquage non spécifique d'éléments histiocytophagiques notamment de cellules géantes dans le cadre de lipomes remaniés

## ■ CD99

- PNET

Peut être positif également dans :

- LNH
- Synoviosarcome,



- Chondrosarcome mésoenchymateux,
- RMS

### ■ P63

- Carcinome sarcomatoïde (inconstant)
- Myoépithéliome (inconstant)

■ **STAT6** : Pratiquement spécifique des tumeurs fibreuses solitaires.

■ **INI1** : On recherche une perte d'expression nucléaire (possibilité de marquage cytoplasmique non spécifique associé).

Par fréquence décroissante :

- Tumeur rhabdoïde
- Sarcome épithélioïde
- MPNST épithélioïde
- Tumeur myoépithéliale

■ **BRG1** : On recherche une perte d'expression nucléaire dans les tumeurs intra-thoraciques à cellules rondes déficientes en SMARCA1.