

# Reclassement des tumeurs mésenchymateuses gastro-intestinales

## Reclassification of gastrointestinal mesenchymal tumors

Salma Kamoun, Issam M'sakni, Nada Mansouri, Basma Laabidi, Abdeljabbar Helali, Ahmed Nabil Gordah, Fathi Bougrine, Ammar Bouziani.

### RÉSUMÉ

**Prérequis :** Les tumeurs stromales gastro-intestinales communément appelées GIST, bien qu'elles soient rares par rapport à l'ensemble des tumeurs digestives, sont les tumeurs les plus fréquentes du mésenchyme. Leur description qui date de 1998 est due à la découverte d'un nouveau marqueur, la protéine C-kit. L'engouement scientifique pour ces tumeurs depuis quelques années s'explique essentiellement par les progrès en matière d'identification par immunohistochimie (IHC) et par l'avènement d'une thérapeutique moléculaire ciblée.

**But du travail :** Reclassement des tumeurs mésenchymateuses du tube digestif en utilisant les avancées de l'immunophénotypage.

**Méthodes :** Nous avons examiné les tumeurs du tube digestif opérées à l'hôpital militaire principal d'instruction de Tunis sur une période de 19 ans de 1992 à 2011.

**Résultats :** Nous avons recueilli 22 cas de tumeurs mésenchymateuses bénignes du tube digestif. Les tumeurs ont été initialement diagnostiquées comme léiomyomes (4 cas), schwannomes (2 cas), tumeurs stromales gastro-intestinales (14 cas), un léiomyoblastome et une tumeur mésenchymateuse à cellules fusiformes. L'étude immunohistochimique a permis de corriger certains diagnostics et, dans un cas, le bloc a été épuisé. Au total, nous avons sélectionné 18 cas de tumeur stromale gastro-intestinale, un schwannome et deux léiomyosarcomes entre 21 tumeurs mésenchymateuses. Le diagnostic final de GIST a été confirmé par la positivité de C-kit ou DOG1.

**Conclusions :** L'utilisation conjointe du C-kit et du DOG1 garantit un diagnostic pertinent des GIST. Le Dog1 a permis de détecter les 3 tumeurs stromales C-kit négatives. Cet anticorps a réalisé un gain diagnostique de 15%. Le taux de tumeurs étiquetées GIST passait de 71% à 86% parmi les tumeurs mésenchymateuses.

### Mots-clés

Tumeur mésenchymateuse, tumeur stromale, tube digestif, immunohistochimie, KIT

### SUMMARY

**Background:** Gastrointestinal stromal tumors - commonly called GISTs - are rare; yet, they represent an important type of mesenchymal tumors arising within the gastrointestinal tract. The acronym GIST was introduced in 1998 to define a well established pathological entity which bears a highly specific marker called KIT (CD117). Scientific interest for these tumors in recent years is mainly due to the progress in identification by immunohistochemistry and the advent of targeted molecular therapy.

**Aim:** To reclassify mesenchymal tumors of the digestive tract using advanced immunophenotyping.

**Methods:** We examined the digestive tissue tumors operated at the Principal Military Hospital of Instruction of Tunis over a 19-year period from 1992 to 2011.

**Results:** We collected 22 cases of benign mesenchymal tumors of the digestive tract. Tumors were initially diagnosed as leiomyomas (4 cases), schwannomas (2 cases), gastrointestinal stromal tumors (14 cases), a leiomyoblastoma and a mesenchymal tumor with fusiform cells. The immunohistochemical study has allowed to correct some diagnoses and, in one case, the block has been exhausted. In total, we selected 18 cases of gastrointestinal stromal tumor, a schwannoma and two leiomyosarcomas among 21 mesenchymal tumors. The final diagnosis of GIST was confirmed by the positivity of C-kit or DOG1.

**Conclusions:** The combined use of C-kit and DOG1 ensures accurate diagnosis of GIST. The DOG1 has allowed us to detect the 3 stromal tumors negative for C-kit. This antibody has achieved a diagnostic gain of 15%. The rate of GIST tumors labeled increased from 71% to 86% among mesenchymal tumors.

### Key- words

Mesenchymal tumor, stromal tumor, digestive tract, immunohistochemistry, KIT, Dog1.

Les tumeurs stromales gastro-intestinales communément appelées GIST pour Gastrointestinal Stromal Tumor, bien qu'elles soient rares par rapport à l'ensemble des tumeurs digestives, sont les tumeurs les plus fréquentes du mésenchyme. Elles constituent une entité pathologique et moléculaire de définition récente. Leur description qui date de 1998 est due à la découverte d'un nouveau marqueur, la protéine C-kit [1, 2].

L'engouement scientifique pour ces tumeurs depuis quelques années s'explique essentiellement par les progrès en matière d'identification par immunohistochimie (IHC) et par l'avènement d'une thérapeutique moléculaire ciblée.

Le but de notre travail consistait à reclasser les tumeurs mésenchymateuses du tube digestif diagnostiquées sur une période de 19 ans en utilisant le C-kit en premier et le DOG1 en second pour les tumeurs C-kit négatives.

## PATIENTS ET METHODES

Notre étude rétrospective portait sur les tumeurs conjonctives digestives réséquées. Elles étaient colligées dans le Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de l'Hôpital Militaire Principal d'Instruction de Tunis sur une période de 19 ans allant de Janvier 1992 à Mars 2011. Seules les tumeurs se développant au dépend du tube digestif étaient retenues, les tumeurs du mésentère étaient éliminées. L'étude d'IHC a été réalisée à l'aide de 7 anticorps : Desmine, Actine Muscle Lisse (AML), Protéine S100 (PS100), Cluster of Differentiation 34 (CD34), CD117 ou C-kit et Discovered On GIST 1 (DOG1) (tableau 1). Ont été considérées comme GIST et incluses dans l'étude les tumeurs C-kit positives et les tumeurs C-kit négatives et DOG1 positives. Nous avons ensuite utilisé les dossiers médicaux pour collecter les données sur ces patients.

Tableau 2 : Profil immunohistochimique des tumeurs étudiées

N°	Diagnostic initial	Desmine	PS100	AML	CD34	C-kit	DOG1	Diagnostic proposé
1	Léiomyome	-	-	-	+	+		GIST
2	Léiomyoblastome	-	-	-	-	+		GIST
3	Léiomyome	-	-	-	+	+		GIST
4	Léiomyome	-	-	-	+	+		GIST
5	Léiomyome	-	+	-	-	-	+	GIST
6	GIST	-	+	-	+	+		GIST
7	GIST	-	-	-	+	+		GIST
8	GIST	-	-	-	+	-	+	GIST
9	GIST	-	-	-	+	+		GIST
10	GIST	-	-	-	+	+		GIST
11	GIST	-	-	+	-	-	+	GIST
12	GIST	-	+	+	+	+		GIST
13	GIST	-	+	-	-	+		GIST
14	GIST	+	-	+	-	+		GIST
15	GIST	-	-	-	-	+		GIST
16	GIST	-	+	-	-	+		GIST
17	GIST	-	+	-	+	+		GIST
18	GIST	-	-	+	-	+		GIST
19	GIST	-	-	+	+	-	-	Léiomyosarcome
20	Schwannome	-	+	-	-	-	-	Schwannome
21	Tumeur conjonctive fusicellulaire	-	+	+	-	-	-	Léiomyosarcome
22	Schwannome	Bloc épuisé						

Tableau 1: Anticorps utilisés

Anticorps	Clone	Dilution	Source
Desmine	D33	1/50	DAKO
AML	1A4	1/1000	DAKO
PS100	Polyclonal Code N1573	1/400	DAKO
CD34	QBEnd-10	1/50	DAKO
CD117 ou C-kit	Polyclonal Code A4502	1/400	DAKO
DOG1	K9	Pré-dilué	NOVOCASTRA

## RESULTATS

Nous avons rassemblé 22 cas de tumeurs mésenchymateuses bénignes ou malignes. Elles provenaient des Services de Chirurgie Générale (20 cas) et de Gynécologie Obstétrique (2 cas). Il s'agissait de tumeurs initialement diagnostiquées comme étant des léiomyomes (4 cas), des schwannomes (2 cas), des GIST (14 cas), un léiomyoblastome et une tumeur mésenchymateuse à cellules fusiformes. L'étude par IHC sur coupe en paraffine utilisant les anticorps suscités montre le profil résumé dans le tableau 2.

Le tableau 3 présente le diagnostic initial et celui retenu après l'IHC. L'IHC a révélée 6 tumeurs C-kit négatives. Un supplément de marquage à l'anticorps anti-Dog1 a alors été effectué. Le Dog1 nous a permis de détecter 3 tumeurs stromales C-kit négatives. Le taux de GIST parmi les tumeurs mésenchymateuses était alors de 86% en utilisant le C-kit et le DOG1. Il était de 71% en utilisant le C-kit seul.

Au final, 18 tumeurs ont été étiquetées GIST parmi les 21 tumeurs mésenchymateuses digestives étudiées.

**Tableau 3 :** Reclassement des tumeurs mésoenchymateuses

Diagnostic initial	Diagnostic de relecture
4 léiomyomes	4 GIST
1 Léiomyoblastome	1 GIST
2 schwannomes	1 schwannome
	1 Bloc épuisé
14 GIST	13 GIST
	Léiomyosarcome
Tumeur conjonctive fusicellulaire non typée	Léiomyosarcome
<b>Total tumeurs mésoenchymateuses =22</b>	<b>Total GIST =18</b>

Pour les trois tumeurs doubles négatives, il s'agirait de 2 léiomyosarcomes et d'un schwannome.

Cette série de 18 patients porteur de GIST se composait de 6 hommes et 12 femmes avec un sex-ratio de 0,5. L'âge moyen était de 58 ans avec des extrêmes de 42 et de 79 ans. Les douleurs abdominales et les manifestations hémorragiques étaient les principaux signes d'appel. Il existait 11 tumeurs gastriques et 7 tumeurs intestinales. Il n'y avait pas de tumeurs stromales du colon ou de l'œsophage. La majorité des tumeurs étaient de grande taille avec une moyenne de 7,1 cm. Le traitement chirurgical consistait en une tumorectomie dans 22%, une gastrectomie dans 33%, une résection intestinale dans 28% et une résection élargie dans 17% des cas. Cinq patients avaient bénéficié d'un traitement complémentaire par l'imatinib.

## DISCUSSION

Du fait de leur rareté et de leur diversité morphologique, la fréquence réelle des tumeurs mésoenchymateuses est difficile à établir [3]. Ces tumeurs, longtemps diagnostiquées comme des tumeurs musculaires lisses ou des tumeurs nerveuses à cause de leur ressemblance, correspondent pour un grand nombre d'entre elles à des tumeurs stromales [4], ceci grâce à l'apport de l'IHC et parfois de la biologie moléculaire [5]. Ce fait est bien illustré dans notre étude ; 4 GIST étaient initialement identifiées comme des léiomyomes et une GIST comme un léiomyoblastome. Le diagnostic de GIST repose sur les caractéristiques histologiques et immunohistochimiques (expression de C-kit dans 95 % des cas, habituellement associée à l'expression de CD34, présente dans 60 à 70 % des cas). Le phénotype immunohistochimique : C-kit(+), CD34(+), Vimentine(+), PS100(-), Desmine(-) et AML(-), est généralement commun à l'ensemble des GIST. La comparaison entre nos résultats d'IHC et quelques études est illustrée dans le tableau 4.

La protéine C-kit découverte en 1998 est actuellement l'un des marqueurs diagnostiques des GIST. Le consensus international de 2002 la reconnaît expressément en recommandant de ne considérer comme GIST que les tumeurs C-kit positives, sauf cas exceptionnels [5]. Dans notre série, la positivité du C-kit est estimée à 83,3% (16/18). Ce pourcentage est similaire à celui retrouvé dans d'autres études évaluant entre 74% et 97% la positivité du C-kit [6-9]. Le C-kit à lui seul a permis de porter le diagnostic de GIST dans 16 cas parmi 21 cas de tumeurs mésoenchymateuses étudiées (76% de cas). Plusieurs séries ont procédé à la révision des tumeurs mésoenchymateuses digestives depuis l'avènement du C-kit. Le taux de GIST variait alors entre 66% et 82% [10-12]. Il existe des GIST authentiques où la protéine C-kit n'est pas détectable par IHC.

**Tableau 4 :** Résumé de quelques études par IHC de tumeurs stromales

Nombre de cas	AML	Desmine	PS100	CD34	c-kit	Etude
292	27%	4%	4%	77%	100%	Miettinen et al-2000[25]
-	30 à 40%	1 à 2%	5%	60 à 70%	95%	Blackstein et al-2006 [26]
22	15%	NE	10%	100%	100%	Trabelsi et al-2007[10]
370	NE	NE	NE	59%	74%	Espinosa et al-2008[7]
118	NE	NE	NE	72%	89%	Yu Na Kang et al-2010[8]
40	37%	NE	15%	87%	97%	Mercado et al-2011[27]
138	NE	NE	NE	69%	92%	Kang et al-2011[6]
18	22%	5%	33%	44%	83%	Notre étude

Avant de proposer le diagnostic de GIST C-kit négative, des précautions doivent être prises pour éliminer l'hypothèse d'un faux négatif. Plusieurs possibilités doivent être recherchées :

- Des lésions considérées inertes du point de vue de l'IHC (problèmes de fixation, lames blanches trop longtemps stockées, etc.).
- Des erreurs techniques (mauvaise dilution de l'anticorps primaire, erreur de procédure...).
- Un problème d'échantillonnage dans une lésion présentant une expression hétérogène de C-kit : c'est le cas notamment lors d'un diagnostic à partir d'une biopsie endoscopique ou de la microbiopsie d'une masse abdominale.

Il faut également connaître deux cas particuliers :

- Le cas des GIST ayant perdu, partiellement ou complètement, l'expression du C-kit, notamment lors d'évolutions clonales, souvent observées à la suite d'un traitement par l'imatinib[13], mais parfois aussi observées dans les lésions métastatiques.
- Le cas des GIST congénitales, qui n'expriment habituellement pas le C-kit, ni d'ailleurs le CD34 [14].

Ces causes de faux négatifs ayant été éliminées, il reste une faible proportion d'authentiques GIST (4-5%), habituellement typiques du point de vue morphologique, effectivement C-kit négatives [15-17]. Ces tumeurs peuvent être appelées GIST C-kit négatives ou, de manière plus prudente, « tumeurs stromales à cellules fusiformes ou épithélioïdes compatibles avec une GIST ». Dans notre étude, 6 tumeurs mésoenchymateuses étaient C-kit négatives. Nous avons alors complété l'étude immunohistochimique avec l'anticorps anti-Dog1 (clone K9). Trois tumeurs étaient positives au DOG1 soit un taux de positivité de 50%. Le DOG1 a permis de diagnostiquer 15% plus de tumeurs stromales par rapport au C-kit (15 GIST révélées par C-kit seul contre 18 GIST révélées par C-kit ou DOG1 parmi 21 tumeurs mésoenchymateuses). Une étude faite en 2010 par Lee et al a démontré que le DOG1 permet de détecter environ 6% plus de GIST par rapport au C-kit. L'anticorps DOG1 est plus sensible que le C-kit dans la détection des tumeurs stromales d'origine gastrique, les tumeurs avec une morphologie épithélioïde et les tumeurs présentant des mutations du PDGFRA. En outre, l'immunoréactivité DOG1 est rarement observée dans les autres tumeurs [18]. Dans la littérature, la positivité du DOG1 dans les GIST C-kit négatives est variable en fonction du clone d'anticorps utilisé : avec le DOG1.1 la positivité varie de 20 à 36% [19, 20], tandis qu'avec le clone K9 la positivité varie de 50 à 76% [19, 21], dans notre étude elle était de 50%. Le clone K9 du DOG1 est d'une plus grande sensibilité face aux GIST [6, 19, 21, 22]. Concernant les trois tumeurs restantes doubles négatives DOG1 et C-kit ; le cas N°19 était initialement classée en GIST à cause de la

positivité de l'anticorps anti-CD34. L'anticorps anti-C-kit n'était pas encore commercialisé. Vu la double négativité du C-kit et du DOG1 et la positivité de l'AML qui oriente vers l'origine musculaire lisse, elle est reclassée en léiomyosarcome. Le cas N°20 était C-kit négatif (le DOG1 n'était pas encore commercialisé) et classé comme schwannome car exprimait la PS100. Le marquage négatif par l'anticorps anti-DOG1 a confirmé ce diagnostic. Dans le cas N°21, on avait conclu à une tumeur mésoenchymateuse à cellules fusiformes sous réserve du C-kit qui n'était pas disponible. Cette tumeur était double négative DOG1 et C-kit mais positive à l'antigène AML. Elle est considérée comme un léiomyosarcome, malgré la positivité de l'antigène PS100 qui est peu spécifique.

Ces trois tumeurs doubles négatives devraient subir une analyse moléculaire à la recherche de mutations PDGFRA ou KIT pour déceler les cas éventuels de GIST.

Notre série se composait de 6 hommes et 12 femmes avec un sex-ratio de 0,5. Cette prédominance féminine restait inexpiquée par rapport aux études étrangères mais était conforme à celle des autres séries tunisiennes [23]. Les modalités d'exérèse dépendaient du siège et de l'extension tumorale. Une exérèse complète avec des marges de

sécurité constitue la principale recommandation.

Depuis l'année 2000, l'utilisation de l'imatinib a révolutionné la prise en charge de ces tumeurs jusque là particulièrement chimiorésistantes et dont le seul traitement potentiellement efficace était la chirurgie. Il est à noter que certaines tumeurs peuvent être résistantes à l'imatinib [24]. Ces tumeurs semblent alors présenter une plus grande fréquence de la mutation de l'exon 9 du gène C-kit.

## CONCLUSIONS

L'utilisation conjointe du C-kit et du DOG1 garantit un diagnostic pertinent des GIST. Le clone K9 de l'anticorps anti-DOG1 est un nouveau marqueur d'une grande sensibilité et spécificité dans la détection des GIST ; il a permis de détecter les 3 tumeurs stromales C-kit négatives. Cet anticorps a réalisé un gain diagnostique de 15%. Le taux de tumeurs étiquetées GIST passait de 71% à 86% parmi les tumeurs mésoenchymateuses. Actuellement, les paramètres génétiques sont d'un grand apport dans le diagnostic, l'évaluation du pronostic et de l'efficacité du traitement par les inhibiteurs des protéines kinases.

## Références

- Hirota S, Isozaki K, Moriyama Y, et al. Gain-of-function mutations of c-kit in human gastrointestinal stromal tumors. *Science* 1998; 279:577-80.
- Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F, Meis-Kindblom JM. Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 1998; 152:1259-69.
- Nilsson B, Bümming P, Meis-Kindblom JM, et al. Gastrointestinal stromal tumors: The incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era. *Cancer* 2005; 103:821-9.
- Miettinen M, Lasota J. Gastrointestinal stromal tumors—definition, clinical, histological, immunohistochemical, and molecular genetic features and differential diagnosis. *Virchows Archiv* 2001; 438:1-12.
- Fletcher CD, Berman JJ, Corless C, et al. Diagnosis of gastrointestinal stromal tumors: a consensus approach. *Inter J Surg Pathol* 2002; 10:81-9.
- Kang GH, Srivastava A, Kim YE, et al. DOG1 and PKC- $\theta$  are useful in the diagnosis of KIT-negative gastrointestinal stromal tumors. *Mod Pathol* 2011; 24:866-75.
- Espinosa I, Lee CH, Kim MK, et al. A novel monoclonal antibody against DOG1 is a sensitive and specific marker for gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg Pathol* 2008; 32:210-8.
- Kang YN, Jung HR, Hwang I. Clinicopathological and immunohistochemical features of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res Treat* 2010; 42:135-43.
- Gutierrez M, Dorronsoro M, Marco A, Pérez I, Villegas I, Virseda J. The role of the DOG1 antibody in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumours-GIST. *An Sist Sanit Navar* 2011; 34:245-51.
- Trabelsi A, Mestiri S, Stita W, et al. Les tumeurs mésoenchymateuses du tube digestif, apport de l'immunohistochimie. *Ann Bio Clin* 2007; 65:365-8.
- Lahmar Boufaoura A, Ben Salam S, Bouraoui S, et al. Révision de 32 tumeurs mésoenchymateuses avec le CD117. *Tun med* 2009; 87:133-6.
- Bellil K, Bouraoui S, Chelly I, et al. Apport du CD117 dans le diagnostic des tumeurs conjonctives du tube digestif. *Tun med* 2005; 83:669-71.
- Giuly JA, Picand R, Giuly D, Monges B, Nguyen-Cat R. Von Recklinghausen disease and gastrointestinal stromal tumors. *Am J Surg* 2003; 185:86-7.
- Corless CL, Fletcher JA, Heinrich MC. Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 2004; 22:3813-25.
- Liegl-Atzwanger B, Fletcher JA, Fletcher CDM. Gastrointestinal stromal tumors. *Virchows Arch* 2010; 456:111-27.
- Medeiros F, Corless CL, Duensing A, et al. KIT-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol* 2004; 28:889-94.
- Debiec-Rychter M, Wasag B, Stul M et al. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs) negative for KIT (CD117 antigen) immunoreactivity. *J Pathol* 2004; 202:430-8.
- Lee CH, Liang C, Espinosa I. The utility of discovered on gastrointestinal stromal tumor 1 (DOG1) antibody in surgical pathology-the GIST of it. *Adv Anat Pathol* 2010; 17:222-32.
- Lopes LF, West RB, Bacchi LM, van de Rijn M, Bacchi CE. DOG1 for the diagnosis of gastrointestinal stromal tumor (GIST): Comparison between 2 different antibodies. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010; 18:333-7.
- Liegl B, Hornick JL, Corless CL, et al. Monoclonal antibody DOG1.1 shows higher sensitivity than KIT in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumors, including unusual subtypes. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:437-46.
- Miettinen M, Wang ZF, Lasota J. DOG1 antibody in the differential diagnosis of gastrointestinal stromal tumors. A study of 1840 cases. *Am J Surg Pathol* 2009; 33:1401-7.
- Ríos-Moreno MJ, Jaramillo S, Pereira Gallardo S, et al. Gastrointestinal stromal tumors (GISTs): CD117, DOG-1 and PKC $\theta$  expression. Is there any advantage in using several markers? *Pathol Res Pract* 2012; 208:74- 81.
- Jarboui L, Daoud E, Ouled Hmeidi Y, et al. Imagerie en coupes des tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). *J Radiol* 2006:1466.
- Duffaud F, Blay J-Y. Gastrointestinal stromal tumors: biology and treatment. *Oncology* 2003; 65:187-97.
- Miettinen M, Sobin LH, Sarlomo-Rikala M. Immunohistochemical spectrum of GISTs at different sites and their differential diagnosis with a reference to CD117 (KIT). *Mod Pathol* 2000; 13:1134-42.
- Blackstein ME, Blay J-Y, Corless C, et al. Gastrointestinal stromal tumors: consensus statement on diagnosis and treatment. *Canadian journal of gastroenterology* 2006; 20:157.
- Gutierrez MR, Dorronsoro ML, Marco AM, Pérez IR, Villegas IA, Virseda JM. The role of the DOG1 antibody in the diagnosis of gastrointestinal stromal tumours-GIST. *An Sist Sanit Navar* 2010; 34:245-51.