UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

UNIVERSITE HENRI POINCARE NANCY 1 FACULTE DE MEDECINE DE NANCY

2011 N°

THÈSE

Pour obtenir le grade de

Docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement

dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Camille DELAUNAY LEMARIÉ

le 14 juin 2011

INTÉRÊT DE L'ANALYSE DU NIVEAU D'EXPRESSION DE C1CP ET C2CP PAR TECHNIQUE IMMUNOHISTOCHIMIQUE POUR LE DIAGNOSTIC DIFFÉRENTIEL ENTRE CHONDROME ET CHONDROSARCOME

Examinateurs de la thèse :

M. Jean-Michel VIGNAUD	Professeur	Président
M. Alain BLUM	Professeur	Juges
M. François SIRVEAUX	Professeur	
M^{me} Béatrice MARIE	Docteur en Médecine	
M. Jean-Baptiste VINCOURT	Docteur en Biologie moléculaire et cellulaire	

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY 1

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Jean-Pierre FINANCE

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Henry COUDANE

Vice Doyen *Mission « sillon lorrain »* : Professeur Annick BARBAUD
Vice Doyen *Mission « Campus »* : Professeur Marie-Christine BÉNÉ
Vice Doyen *Mission « Finances » :* Professeur Marc BRAUN
Vice Doyen Mission « *Recherche* » : Professeur Jean-Louis GUÉANT

Assesseurs :	
- Pédagogie :	**Professeur Karine ANGIOÏ-DUPREZ**
- 1er Cycle :	**Professeur Bernard FOLIGUET**
- « Première année commune aux études de santé (PACES) et universitarisation études para-médicales »	**M. Christophe NÉMOS**
- 2ème Cycle :	**Professeur Marc DEBOUVERIE**
- 3ème Cycle :	
« DES Spécialités Médicales, Chirurgicales et Biologiques »	**Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI**
« DES Spécialité Médecine Générale	**Professeur Francis RAPHAËL**
- Filières professionnalisées :	**M. Walter BLONDEL**
- Formation Continue :	**Professeur Hervé VESPIGNANI**
- Commission de Prospective :	**Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT**
- Recherche :	**Professeur Didier MAINARD**
- Développement Professionnel Continu :	**Professeur Jean-Dominique DE KORWIN**

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX
Professeur Jacques ROLAND – Professeur Patrick NETTER

==========

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre ALEXANDRE – Jean-Marie ANDRE - Daniel ANTHOINE - Alain BERTRAND - Pierre BEY - Jacques BORRELLY
Michel BOULANGE - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT Jean-Pierre CRANCE -
Gérard DEBRY - Jean-Pierre DELAGOUTTE - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS
Michel DUC - Jean DUHEILLE - Adrien DUPREZ - Jean-Bernard DUREUX - Gérard FIEVE - Jean FLOQUET - Robert FRISCH
Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ
Oliéro GUERCI - Pierre HARTEMANN - Claude HURIET - Christian JANOT - Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT
Pierre LANDES - Alain LARCAN - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN
Bernard LEGRAS - Michel MANCIAUX - Jean-Pierre MALLIÉ – Philippe MANGIN - Pierre MATHIEU
Denise MONERET-VAUTRIN - Pierre NABET - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN Gilbert PERCEBOIS
Claude PERRIN - Guy PETIET - Luc PICARD - Michel PIERSON - Jean-Marie POLU – Jacques POUREL Jean PREVOT
Antoine RASPILLER - Michel RENARD - Jacques ROLAND - René-Jean ROYER - Paul SADOUL - Daniel SCHMITT
Michel SCHWEITZER - Jean SOMMELET - Danièle SOMMELET - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT Augusta TREHEUX
Hubert UFFHOLTZ - Gérard VAILLANT - Paul VERT - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Michel WAYOFF
Michel WEBER

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS
PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE
1ère sous-section : *(Anatomie)*
Professeur Gilles GROSDIDIER
Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN
2ème sous-section : *(Cytologie et histologie)*
Professeur Bernard FOLIGUET

3ème sous-section : ***(Anatomie et cytologie pathologiques)***
Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE
1ère sous-section : ***(Biophysique et médecine nucléaire)***
Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER
2ème sous-section : ***(Radiologie et imagerie médicale)***
Professeur Denis REGENT – Professeur Michel CLAUDON
Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM – Professeur Jacques FELBLINGER
Professeur René ANXIONNAT

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION
1ère sous-section : ***(Biochimie et biologie moléculaire)***
Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER – Professeur Bernard NAMOUR
2ème sous-section : ***(Physiologie)***
Professeur François MARCHAL – Professeur Bruno CHENUEL – Professeur Christian BEYAERT
3ème sous-section : ***(Biologie Cellulaire)***
Professeur Ali DALLOUL
4ème sous-section : ***(Nutrition)***
Professeur Olivier ZIEGLER – Professeur Didier QUILLIOT

45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE
1ère sous-section : ***(Bactériologie – virologie ; hygiène hospitalière)***
Professeur Alain LE FAOU - Professeur Alain LOZNIEWSKI
3ème sous-section : ***(Maladies infectieuses ; maladies tropicales)***
Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ
1ère sous-section : ***(Épidémiologie, économie de la santé et prévention)***
Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Francis GUILLEMIN
Professeur Denis ZMIROU-NAVIER – Professeur François ALLA
2ème sous-section : ***(Médecine et santé au travail)***
Professeur Christophe PARIS
3ème sous-section : ***(Médecine légale et droit de la santé)***
Professeur Henry COUDANE
4ème sous-section : ***(Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication)***
Professeur François KOHLER – Professeur Éliane ALBUISSON

47ème Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE
1ère sous-section : ***(Hématologie ; transfusion)***
Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI
Professeur Jean-François STOLTZ – Professeur Pierre FEUGIER
2ème sous-section : ***(Cancérologie ; radiothérapie)***
Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY
Professeur Didier PEIFFERT – Professeur Frédéric MARCHAL
3ème sous-section : ***(Immunologie)***
Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE
4ème sous-section : ***(Génétique)***
Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE
1ère sous-section : ***(Anesthésiologie et réanimation chirurgicale ; médecine d'urgence)***
Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Hervé BOUAZIZ
Professeur Paul-Michel MERTES – Professeur Gérard AUDIBERT
2ème sous-section : ***(Réanimation médicale ; médecine d'urgence)***
Professeur Alain GERARD - Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT

Professeur Bruno LÉVY – Professeur Sébastien GIBOT

3ème sous-section : ***(Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie)***

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4ème sous-section : ***(Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie)***

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD - Professeur Patrick ROSSIGNOL

49ème Section : PATHOLOGIE NERVEUSE ET MUSCULAIRE, PATHOLOGIE MENTALE, HANDICAP et RÉÉDUCATION

1ère sous-section : ***(Neurologie)***

Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ – Professeur Marc DEBOUVERIE

2ème sous-section : ***(Neurochirurgie)***

Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE

Professeur Thierry CIVIT

3ème sous-section : ***(Psychiatrie d'adultes ; addictologie)***

Professeur Jean-Pierre KAHN – Professeur Raymund SCHWAN

4ème sous-section : ***(Pédopsychiatrie ; addictologie)***

Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC – Professeur Bernard KABUTH

5ème sous-section : ***(Médecine physique et de réadaptation)***

Professeur Jean PAYSANT

50ème Section : PATHOLOGIE OSTÉO-ARTICULAIRE, DERMATOLOGIE et CHIRURGIE PLASTIQUE

1ère sous-section : ***(Rhumatologie)***

Professeur Isabelle CHARY-VALCKENAERE – Professeur Damien LOEUILLE

2ème sous-section : ***(Chirurgie orthopédique et traumatologique)***

Professeur Daniel MOLE - Professeur Didier MAINARD

Professeur François SIRVEAUX – Professeur Laurent GALOIS

3ème sous-section : ***(Dermato-vénéréologie)***

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4ème sous-section : ***(Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie)***

Professeur François DAP – Professeur Gilles DAUTEL

51ème Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1ère sous-section : ***(Pneumologie ; addictologie)***

Professeur Yves MARTINET – Professeur Jean-François CHABOT – Professeur Ari CHAOUAT

2ème sous-section : ***(Cardiologie)***

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL

Professeur Christian de CHILLOU

3ème sous-section : ***(Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)***

Professeur Jean-Pierre VILLEMOT - Professeur Jean-Pierre CARTEAUX

4ème sous-section : ***(Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)***

Professeur Denis WAHL – Professeur Sergueï MALIKOV

52ème Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1ère sous-section : ***(Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie)***

Professeur Marc-André BIGARD - Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI – Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

2ème sous-section : ***(Chirurgie digestive)***

3ème sous-section : ***(Néphrologie)***

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN – Professeur Luc FRIMAT

4ème sous-section : ***(Urologie)***

Professeur Jacques HUBERT – Professeur Pascal ESCHWEGE

53ème Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1ère sous-section : ***(Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie)***

Professeur Jean-Dominique DE KORWIN – Professeur Pierre KAMINSKY

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Gisèle KANNY – Professeur Christine PERRET-GUILLAUME

2ème sous-section : ***(Chirurgie générale)***

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER
Professeur Laurent BRUNAUD – Professeur Ahmet AYAV

54ème Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION

1ère sous-section : ***(Pédiatrie)***

Professeur Pierre MONIN - Professeur Jean-Michel HASCOET - Professeur Pascal CHASTAGNER
Professeur François FEILLET - Professeur Cyril SCHWEITZER

2ème sous-section : ***(Chirurgie infantile)***

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Pierre JOURNEAU – Professeur Jean-Louis LEMELLE

3ème sous-section : ***(Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)***

Professeur Jean-Louis BOUTROY - Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

4ème sous-section : ***(Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale)***

Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN – Professeur Bruno GUERCI

55ème Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1ère sous-section : ***(Oto-rhino-laryngologie)***

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI – Professeur Cécile PARIETTI-WINKLER

2ème sous-section : ***(Ophtalmologie)***

Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD – Professeur Karine ANGIOI-DUPREZ

3ème sous-section : ***(Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)***

Professeur Jean-François CHASSAGNE – Professeur Etienne SIMON

==========

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

64ème Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Sandrine BOSCHI-MULLER

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42ème Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1ère sous-section : ***(Anatomie)***

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Thierry HAUMONT – Docteur Manuela PEREZ

2ème sous-section : ***(Cytologie et histologie)***

Docteur Edouard BARRAT - Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3ème sous-section : ***(Anatomie et cytologie pathologiques)***

Docteur Aude BRESSENOT

43ème Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

1ère sous-section : ***(Biophysique et médecine nucléaire)***

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER
Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE

2ème sous-section : (Radiologie et imagerie médicale)

Docteur Damien MANDRY

44ème Section : BIOCHIMIE, BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLÉCULAIRE, PHYSIOLOGIE ET NUTRITION

1ère sous-section : ***(Biochimie et biologie moléculaire)***

Docteur Jean STRACZEK – Docteur Sophie FREMONT
Docteur Isabelle GASTIN – Docteur Marc MERTEN – Docteur Catherine MALAPLATE-ARMAND
Docteur Shyue-Fang BATTAGLIA

3ème sous-section : ***(Biologie Cellulaire)***

Docteur Véronique DECOT-MAILLERET

4ème sous-section : ***(Nutrition)***

Docteur Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT

45ème Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE
1ère sous-section : ***(Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière)***
Docteur Francine MORY – Docteur Véronique VENARD
2ème sous-section : ***(Parasitologie et mycologie)***
Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU – Madame Marie MACHOUART

46ème Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ
1ère sous-section : ***(Epidémiologie, économie de la santé et prévention)***
Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE – Docteur Frédérique CLAUDOT
3ème sous-section ***(Médecine légale et droit de la santé)***
Docteur Laurent MARTRILLE
4ère sous-section : ***(Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication***
Docteur Nicolas JAY

47ème Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE
2ème sous-section : ***(Cancérologie ; radiothérapie : cancérologie (type mixte : biologique)***
Docteur Lina BOLOTINE
3ème sous-section : ***(Immunologie)***
Docteur Marcelo DE CARVALHO BITTENCOURT
4ème sous-section : ***(Génétique)***
Docteur Christophe PHILIPPE – Docteur Céline BONNET

48ème Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE, PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE
3ème sous-section : ***(Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique)***
Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT – Docteur Nicolas GAMBIER

50ème Section : RHUMATOLOGIE
1ère sous-section : ***(Rhumatologie)***
Docteur Anne-Christine RAT
3ème sous-section : ***(Dermato-vénéréologie)***
Docteur Anne-Claire BURSZTEJN

54ème Section : DÉVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNÉCOLOGIE-OBSTÉTRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION
3ème sous-section :
Docteur Olivier MOREL
5ème sous-section : ***(Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale)***
Docteur Jean-Louis CORDONNIER

==========

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5ème section : SCIENCE ÉCONOMIE GÉNÉRALE
Monsieur Vincent LHUILLIER

40ème section : SCIENCES DU MÉDICAMENT
Monsieur Jean-François COLLIN

60ème section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE
Monsieur Alain DURAND

61ème section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Monsieur Jean REBSTOCK – Monsieur Walter BLONDEL

64ème section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE
Mademoiselle Marie-Claire LANHERS – Monsieur Pascal REBOUL – Mr Nick RAMALANJAONA

65ème section : BIOLOGIE CELLULAIRE
Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY
Madame Ketsia HESS – Monsieur Hervé MEMBRE – Monsieur Christophe NEMOS - Madame Natalia DE ISLA
Madame Nathalie MERCIER

66ème section : PHYSIOLOGIE
Monsieur Nguyen TRAN

67ème section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE
Madame Nadine MUSSE

========

PROFESSEURS ASSOCIÉS

Médecine Générale
Professeur associé Alain AUBREGE
Professeur associé Francis RAPHAEL

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale
Docteur Jean-Marc BOIVIN
Docteur Jean-Louis ADAM
Docteur Elisabeth STEYER
Docteur Paolo DI PATRIZIO
Docteur Sophie SIEGRIST

========

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Jean-Marie ANDRÉ - Professeur Daniel ANTHOINE - Professeur Pierre BEY - Professeur Michel BOULANGÉ
Professeur Jean-Pierre CRANCE – Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE - Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ
Professeur Simone GILGENKRANTZ - Professeur Henri LAMBERT - Professeur Alain LARCAN
Professeur Denise MONERET-VAUTRIN - Professeur Jean-Pierre NICOLAS - Professeur Luc PICARD
Professeur Michel PIERSON - Professeur Jacques POUREL - Professeur Jacques ROLAND – Professeur Michel STRICKER
Professeur Gilbert THIBAUT - Professeur Hubert UFFHOLTZ - Professeur Paul VERT - Professeur Colette VIDAILHET
Professeur Michel VIDAILHET

========

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Norman SHUMWAY (1972)
Université de Stanford, Californie (U.S.A)
Professeur Paul MICHIELSEN (1979)
Université Catholique, Louvain (Belgique)
Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeur Mamish Nisbet MUNRO (1982)
Massachusetts Institute of Technology (U.S.A)
Professeur Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Harry J. BUNCKE (1989)
Université de Californie, San Francisco (U.S.A)
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume Uni)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würtzburg (R.F.A)
Professeur Maria DELIVORIA-PAPADOPOULOS (1996)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
Research Institute for Mathematical Sciences de Kyoto (JAPON)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur James STEICHEN (1997)
Université d'Indianapolis (U.S.A)
Professeur Duong Quang TRUNG (1997)
Centre Universitaire de Formation et de Perfectionnement des Professionnels de Santé d'Hô Chi Minh-Ville (VIÊTNAM)

Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Remerciements

A notre Maître et Président de thèse,

Monsieur le Professeur Jean-Michel VIGNAUD

Professeur d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Vous nous avez fait l'honneur de nous confier ce travail et d'accepter la présidence du jury de cette thèse,

Pour vos précieux conseils qui nous ont permis de mener à bien ce travail,

Pour votre riche enseignement durant les années d'internat,

Veuillez trouver ici le témoignage de notre sincère reconnaissance et de notre profonde admiration.

A nos Maîtres et Juges,

Monsieur le Professeur François SIRVEAUX

Professeur de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse,

Pour vos conseils et vos encouragements qui nous ont permis de mener à bien ce travail,

Veuillez recevoir l'expression de notre grand respect et de notre sincère reconnaissance.

Monsieur le Professeur Alain BLUM

Professeur de Radiologie et Imagerie médicale

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse,

Veuillez recevoir l'expression de notre grand respect et de nos sincères remerciements.

A notre Maître et Juge,

Madame le Docteur Béatrice MARIE

Docteur en Anatomie et Cytologie Pathologiques

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse,

Nous vous remercions sincèrement pour l'enseignement que vous nous avez apporté pendant notre internat. Vous nous avez fait partager votre engagement pour cette spécialité et pour les patients.

Veuillez trouver ici le témoignage de notre profonde reconnaissance et de notre plus grande estime.

A notre Juge,

Monsieur le Docteur Jean-Baptiste VINCOURT

Docteur en Biologie moléculaire et cellulaire

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de juger cette thèse,

Pour votre précieuse collaboration et votre soutien dans la réalisation de ce travail,

Pour vos encouragements,

Pour nous avoir fait confiance,

Veuillez trouver ici la manifestation de notre profonde reconnaissance et de notre plus grand respect.

A notre Maître,

Monsieur le Professeur François PLÉNAT

Professeur d'Anatomie et Cytologie Pathologiques (option biologie)

Vous avez participé à notre formation dès les premières années de faculté de médecine.

Pour votre riche enseignement délivré avec enthousiasme pendant notre internat,

Veuillez trouver ici la manifestation de notre profond respect et notre plus grande gratitude.

A nos Maîtres successifs,

Madame le Professeur Gisèle KANNY

Monsieur le Docteur Bernard CHAUDIER

Monsieur le Professeur Jean-Michel VIGNAUD

Monsieur le Professeur François PLÉNAT

Monsieur le Professeur Thomas LECOMPTE

Madame le Docteur Agnès LEROUX

Nous remercions tous ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail :

L'équipe du laboratoire du Docteur Jacques Magdalou (équipe UMR 7561) et plus particulièrement Madame Stéphanie Etienne,

Pour ta très grande participation à ce travail et ta disponibilité.

Madame le docteur Phi Linh Nguyen Thi et madame le docteur Elodie Speyer, du Service d'Epidémiologie et Evaluation Cliniques du CHU de Nancy,

Merci pour votre disponibilité et votre collaboration à ce travail.

Mesdames les techniciennes et les secrétaires du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de l'Hôpital Central,

Merci à vous toutes pour votre aide et pour votre soutien tout au long de ce travail.

Mesdames les techniciennes et les secrétaires du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de l'Hôpital de Brabois et plus particulièrement Madame Denise Thiebault,

Merci pour votre précieuse aide à la réalisation de ce travail.

Mesdames et messieurs les techniciens et les secrétaires du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du Centre Alexis Vautrin,

Merci pour votre soutien et vos encouragements.

Monsieur le Docteur Guillaume Lux,

Qui a sélectionné pour nous ses plus beaux dossiers de radiologie.

Monsieur Sébastien Messager,

Qui nous a aidés pour notre mise en page photographique.

Monsieur le Professeur Lascombes, chef de service de chirurgie infantile orthopédique, Monsieur le Professeur Dautel, chef de service de chirurgie plastique et reconstructrice de l'appareil locomoteur, Monsieur le Professeur Molé, chef de service de chirurgie orthopédique et traumatologique, Monsieur le Professeur Grosdidier, chef de service de chirurgie générale et urgences - chirurgie thoracique, Monsieur le Professeur Mainard, chef de service de chirurgie orthopédique et traumatologique, Monsieur le Professeur Auque, chef de service de neurochirurgie, Monsieur le Professeur Coudane, chef de service de chirurgie

traumatologique et arthroscopique de l'appareil locomoteur, Monsieur le professeur Simon, chef de service de Chirurgie ORL, Monsieur le professeur Chassagne, chef de service de chirurgie maxillo-faciale et toutes les secrétaires des différents services cités.

Qui nous ont permis d'avoir accès aux dossiers cliniques des patients inclus dans ce travail.

A tous les médecins qui ont contribué à ma formation en Anatomie et Cytologie Pathologiques, et en particulier :

Madame le Docteur Jacqueline Champigneulle

Vous nous avez appris la rigueur et la précision du diagnostic. Apprendre à vos côtés est une chance pour nous.

Madame le Docteur Aude Bressenot

Merci pour ton accueil chaleureux dans cette équipe, pour ton dynamisme et ton engagement dans l'enseignement.

Madame le Docteur Karine Montagne

Merci pour ton riche enseignement lors de mes stages à Brabois et pour ta disponibilité.

Monsieur le Docteur Guillaume Gauchotte

Merci de m'avoir si bien accueillie lors de mon premier stage en anatomopathologie.

Madame le Docteur Amandine Rousseau, Madame le Docteur Nathalie Marcon, Madame le Docteur Nicole Ehmann-Krier, Madame le Docteur Virginie Hennequin,

Soyez assurées de ma profonde reconnaissance pour votre enseignement au cours de mon internat.

Madame le Docteur Agnès Leroux, Monsieur le Docteur Pascal Genin, Madame le Docteur Catherine Barlier-Pagel, Mademoiselle le Docteur Colette Migeon,

C'est à vos côtés que j'apprends actuellement. Je vous remercie sincèrement pour votre compagnonnage et votre riche enseignement.

A mes co-internes :

Manu, Sandrine, Sébastien, Assia, Julien, Carole, Maud, Joséphine, Anne-Lise,

Pour votre bonne humeur et le plaisir que j'ai eu à travailler avec vous.

Olivia, Claire, Marie-Pierre, Charlène et Mathieu,

Pour tous les fous rires et les bons moments passés ensemble

Pour votre aide, votre soutien et votre gentillesse

J'espère sincèrement continuer à travailler à vos côtés.

A mon mari, Jérémie,

Pour ta générosité, l'aide que tu m'apportes dans les difficultés,

Pour ton écoute, ton soutien et tes conseils,

Pour le bonheur d'avancer à tes côtés,

Reçois le témoignage de tout mon amour.

A ma fille, Léa,

Tu es une grande source de motivation,

Reçois le témoignage de tout mon amour.

A mes parents,

Pour votre soutien aux différentes étapes des études et de la vie,

Pour vos conseils, vos encouragements et votre dévouement

Recevez le témoignage de tout mon amour et de ma profonde reconnaissance.

A ma sœur,

Pour ton soutien dans les études et la bienveillance que tu as toujours à mon égard,

A mes frères,

Pour m'avoir supportée pendant les études et notamment pendant la première année de médecine…

A ma grand-mère,

Pour m'avoir soutenue pendant les études et pour l'intérêt que tu portes à tes petits-enfants,

A ma belle famille,

Pour votre gentillesse et votre soutien,

A mon beau-frère,

A toute ma famille,

A tous les amis et en particulier :

A mes amis des bancs de P1, Caroline S, Isabelle D, Isabelle P, Pauline, Maxime, Nicolas, Marie et Juliette,

Pour tous les bons moments passés ensemble et votre amitié de longue date.

A Jean-Marc, Céline, Alexandre, Christelle, François, Sophie, Guillaume, Caroline L, Jean, Amélie, Geoffrey, Camille, Fanny, Jérôme,

Pour votre précieuse amitié et ses nombreux témoignages.

A Damien, Carole, Jean-Baptiste, Vincent,

Pour votre constante bonne humeur et votre talent à la communiquer.

A Anne et Isabelle,

Pour votre amitié sincère et votre présence même si vous êtes loin.

Et à tous les autres,

Je dédie cette thèse.

Serment

"Au moment d'être admise à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admise dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçue à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les moeurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque".

REMERCIEMENTS **8**

SERMENT **20**

INTRODUCTION **24**

I. PARTIE I : RAPPELS **25**

A. PHYSIOLOGIE DU CARTILAGE 25

1. Définitions *25*

2. La croissance osseuse, la plaque de croissance *25*

a) L'ossification endo-membraneuse 26

b) L'ossification enchondrale 26

3. Le cartilage articulaire *26*

a) Rôle et propriétés 26

b) Organisation 26

4. Composition *27*

a) Les chondrocytes 27

b) La matrice extracellulaire 27

c) Les collagènes 28

d) Les protéines non-collagéniques 29

5. Le vieillissement articulaire *30*

6. Le cartilage arthrosique *31*

B. PATHOLOGIE 33

1. Les tumeurs cartilagineuses bénignes *33*

a) Les ostéochondromes (ou exostoses ostéogéniques) 33

b) Les enchondromes 35

c) L'enchondromatose, (ou maladie des chondromes multiples, ou maladie d'Ollier) 38

d) Le chondrome périosté, ou juxtacortical 39

2. Les tumeurs cartilagineuses malignes, chondrosarcomes *40*

a) Définitions 40

b) Epidémiologie 41

c) Localisation 41

d) Clinique 42

e) Imagerie 42

f) Anatomopathologie 42

g) Diagnostic différentiel 44

h) Génétique 44

i) Evolution 45

j) Les chondrosarcomes périostés ou juxtacorticaux 45

k) Les chondrosarcomes mésenchymateux 47

l) Les chondrosarcomes à cellules claires 48

m) Les chondrosarcomes dédifférenciés 50

n) Traitement 51
C. ANOMALIES MOLÉCULAIRES, ANOMALIES GÉNÉTIQUES DES TUMEURS CARTILAGINEUSES 53
1. La plaque de croissance 53
2. Génétique des chondrosarcomes secondaires centraux 54
3. Génétique des chondrosarcomes secondaires périphériques 56
D. DIFFICULTÉ DU DIAGNOSTIC ENTRE CHONDROMES ET CHONDROSARCOMES DE BAS GRADE 59
1. Imagerie 62
2. Anatomopathologie 63
3. Marqueurs diagnostiques 69
E. CONNAISSANCES ACTUELLES SUR C1CP ET C2CP 70
1. Synthèse des collagènes 1 et 2 70
2. Cas particulier de l'isoforme homotrimérique du collagène 1 71
3. Synthèse et nature de C1CP et C2CP 72
4. Fonctions de C3 (grande similarité avec C1CP) 72
a) physiologie 72
b) pathologie 72
5. Fonctions de C2CP 73
6. Pourquoi s'intéresser à ces deux protéines ? 73
a) Etude par western-blot 73
b) Quantification des ARN messagers par RT-PCR 74
c) Etude de C1CP et C2CP par protéines recombinantes 75
PARTIE II : MATÉRIEL ET MÉTHODE 78
A. CONSTITUTION D'UNE POPULATION DE PATIENT 78
1. Caractéristiques des échantillons étudiés, critères d'inclusion dans l'étude 78
a) Chondrosarcomes 78
b) Chondromes 79
c) Cartilages sains et cartilages arthrosiques 79
B. IMMUNOHISTOCHIMIE 83
1. Préparation des lames 83
2. Inversion des conséquences de la fixation formolique 83
3. Digestion enzymatique 83
4. Blocage des peroxydases endogènes 83
5. Détection des anticorps primaires : incubation de l'anticorps secondaire couplé à la biotine 84
6. Révélation avec la solution chromogène-substrat (DAB : di-amino-benzidine) 84
7. Montage des lames 85
8. Témoins négatifs 85
C. ANALYSE 85
D. STATISTIQUES 86
PARTIE III : RÉSULTATS 87

A. CARACTÉRISTIQUES DE LA POPULATION 87
1. Chondromes *87*
2. Chondrosarcomes *87*
a) Chondrosarcomes de grade 1 (n=9) 87
b) Chondrosarcomes de grade 2 (n=22) 88
c) Chondrosarcomes de grade 3 (n=5) 89
d) Chondrosarcomes dédifférenciés (n=4) 90
e) Chondrosarcomes mésenchymateux (n=2) 91
f) Chondrosarcome à cellules claires (n=1) 91
B. IMMUNOHISTOCHIMIE 91
1. Tableaux des résultats de C1CP et C2CP *91*
2. Comparaison chondromes versus chondrosarcomes *94*
3. Comparaison tumeurs de bon pronostic versus tumeurs de mauvais pronostic *97*
4. Comparaison chondromes versus chondrosarcomes de grade 1 ..... *100*
5. Cartilage normal *103*
6. Cartilage arthrosique *103*

PARTIE IV : DISCUSSION 128

A. LES LIMITES RENCONTRÉES LORS DE NOTRE ÉTUDE 128
1. Sélection d'un bloc tumoral, notion de représentativité du prélèvement *128*
2. Difficultés techniques des prélèvements de nature cartilagineuse *128*
3. Spécificité des anticorps *129*
4. Marquage de C1CP et C2CP intracellulaire *129*
B. CORRÉLATIONS ENTRE CROISSANCE CARTILAGINEUSE NORMALE ET TUMORALE 129
C. C1CP MARQUEUR DE MAUVAIS PRONOSTIC ? 131
1. C1CP présent dans les zones bien vascularisées *131*
2. C1CP positif dans les travées d'ostéogenèse réactionnelles *132*
D. C2CP MARQUEUR DE BON PRONOSTIC ? 132
E. RÔLES DE C1CP ET C2CP MÉDIÉS PAR LES INTÉGRINES ? 132

CONCLUSION 134

BIBLIOGRAPHIE 135

Introduction

Les chondrosarcomes posent des difficultés diagnostiques différentes en fonction de leur grade histologique et de leur différenciation. Si la malignité des chondrosarcomes de grade 2 et 3 ne fait pas de doute pour le pathologiste, elle est souvent plus difficile à affirmer dans le cas des chondrosarcomes de grade 1. Aucune anomalie génétique ni aucun marqueur diagnostique permettant de distinguer de façon fiable un chondrome d'un chondrosarcome n'a encore été identifié. Le diagnostic de chondrosarcome repose sur des critères morphologiques, cytologiques et architecturaux, et sur la confrontation avec les données cliniques et radiologiques. La carte protéomique et les analyses par western-blot réalisées par le Docteur Jean-Baptiste Vincourt au sein de l'équipe CNRS UMR 7561, à partir de chondromes et de chondrosarcomes amènent à penser que deux protéines présentent un niveau d'expression et une distribution pouvant contribuer à distinguer les chondromes et les chondrosarcomes. C2CP serait présent dans la matrice extracellulaire de tous les chondromes et C1CP serait présent dans la matrice extracellulaire des chondrosarcomes et absent dans celle des chondromes. Le but de ce travail est d'analyser le niveau d'expression de ces deux protéines dans une série de chondromes et de chondrosarcomes avec l'espoir de confirmer *in vivo* les résultats des travaux expérimentaux. Nous étudierons ces deux protéines par technique immunohistochimique sur du matériel provenant de chondromes et de chondrosarcomes inclus en paraffine afin d'établir un score d'expression pour chacune d'entre elles en fonction de la distribution et de l'intensité du marquage et ainsi pouvoir vérifier cette hypothèse.

I. Partie I : Rappels

A. Physiologie du cartilage

1. Définitions

Le cartilage est une variété de tissu conjonctif dont les éléments cellulaires et fibreux sont contenus dans une substance fondamentale compacte et avasculaire.

- **Cartilage articulaire ou cartilage hyalin :** il s'agit d'un tissu nacré et lisse recouvrant les surfaces osseuses des articulations mobiles.
- **Cartilage de conjugaison :** il correspond au cartilage séparant chez l'enfant la diaphyse et l'épiphyse des os longs, dont il permet la croissance longitudinale.
- **Cartilage fibreux ou fibrocartilage** : ce cartilage constitue la charpente de divers organes (oreille, larynx, trachée par exemple).

Il existe trois types d'articulations dans le corps humain :

- **Les synathroses** : ce sont des articulations non mobiles dépourvues de cartilage (exemple : articulations des os du crâne).
- **Les amphiarthroses** : ce sont des articulations à mobilité limitée, sans cavité articulaire, dans lesquelles les surfaces osseuses sont recouvertes de cartilage mais sont dépourvues de membrane synoviale et unies entre elles par des ligaments (exemple : les disques inter-vertébraux et la symphyse pubienne).
- **Les diarthroses :** ce sont des articulations mobiles dans lesquelles les surfaces osseuses sont recouvertes de cartilage hyalin et comprenant une membrane synoviale et une capsule périphérique fibreuse. Ce sont les articulations les plus répandues. Dans certaines localisations peut s'interposer du fibrocartilage pour augmenter la congruence (exemple : l'articulation fémoro-tibiale).

2. La croissance osseuse, la plaque de croissance

L'os est formé soit par ossification « endochondrale » (ou « enchondrale ») qui nécessite une étape cartilagineuse et concerne la majorité des os du corps humain, soit par ossification « endomembraneuse » dans laquelle l'os se forme directement à partir de tissu fibreux et concerne les os plats (os iliaque, scapula). Pour les os longs la croissance en longueur se fait par ossification endochondrale et la forme de l'os est modelée par ossification endomembraneuse(1).

a) L'ossification endo-membraneuse

Dans ce type d'ossification, les cellules mésenchymateuses situées dans un tissu conjonctif très vascularisé prolifèrent et se différencient directement en préostéoblastes puis en ostéoblastes. Ces cellules synthétisent une matrice ayant des caractères particuliers. Les fibres collagène n'ont pas d'orientation préférentielle mais ont un aspect de faisceaux irréguliers. Les ostéocytes sont volumineux et très nombreux. La minéralisation est retardée et désordonnée, formant des plaques calcifiées à distribution hétérogène. Ce type d'os est appelé os fibreux. A la périphérie, les cellules mésenchymateuses continuent de se différencier. Les vaisseaux sanguins sont incorporés entre les travées d'os tissé et forment la moelle osseuse hématopoïétique. Par la suite, cet os tissé est remodelé, selon la séquence ARF (activation, résorption, formation), et est remplacé progressivement par de l'os lamellaire.

b) L'ossification enchondrale

La plaque de croissance est constituée de plusieurs couches cellulaires. La couche superficielle est la zone proliférative où les chondroblastes se divisent en colonnes et synthétisent de la matrice. En dessous se trouve la couche hypertrophique où les chondroblastes sont plus gros et sont disposés chacun dans une logette. Puis se trouve la couche de calcification où le tissu matriciel se calcifie, les chondrocytes deviennent vacuolés et meurent par apoptose.

L'ossification enchondrale aboutissant à la croissance osseuse cesse chez l'adulte mais le même processus existe en pathologie. Ainsi le corps calleux de réparation fracturaire, et l'ostéochondrome (ou exostose) sont formés par ossification enchondrale.

3. Le cartilage articulaire

a) Rôle et propriétés

Le cartilage articulaire permet la mobilité articulaire en réduisant les forces de frottement entre les surfaces osseuses. Il joue un rôle d'amortisseur par son élasticité et absorbe des pressions importantes en fonction des articulations. Cette élasticité est due aux protéoglycanes, qui par leur hydrophilie permettent un mouvement d'eau dans la matrice cartilagineuse. En revanche la rigidité du cartilage est due aux fibrilles de collagène de type 2 enchevêtrées entre elles.

b) Organisation

Chez les sujets jeunes le cartilage hyalin est translucide et de couleur bleu-gris. Chez les sujets âgés il devient plus jaune et opaque. Il est classiquement décrit en quatre couches successives qui diffèrent selon leurs propriétés biochimiques et anatomiques(2).

- Le cartilage est recouvert en surface par une couche acellulaire qui permet sa nutrition à partir du liquide synovial et sa protection vis-à-vis de radicaux libres.

- **La couche superficielle :** les chondrocytes sont petits et plats. Les fibres de collagène sont disposées de façon parallèle à la surface articulaire. Cette couche résiste aux forces de pression. Elle est pauvre en protéoglycanes et riche en fibronectine.

- **La couche intermédiaire** ou moyenne : les chondrocytes sont gros et sphériques. Le réseau de collagène n'a pas d'organisation particulière.

- **La couche profonde** ou radiale : les chondrocytes sont disposés en colonnes perpendiculaires à la surface articulaire. Les fibres de collagène s'agencent parallèlement aux colonnes. Cette couche est riche en protéoglycanes.

- **La couche calcifiée :** elle est séparée de la couche profonde par la ligne de démarcation qui constitue un obstacle à la pénétration des vaisseaux à partir du tissu osseux. En profondeur elle vient au contact de l'os sous-chondral. Elle est riche en calcium et pauvre en protéoglycanes.

4. Composition

a) Les chondrocytes

Le cartilage hyalin contient un seul type cellulaire : les chondrocytes. Il s'agit de cellules arrondies de 30 à 40 µm de diamètre isolées les une des autres par la matrice extracellulaire. Ils occupent en moyenne 10% du volume total du cartilage. Les chondrocytes ont un noyau central. Ils ne migrent pas et ne se divisent pas ou peu dans le cartilage articulaire. Ils fonctionnent principalement en anaérobie, excepté les chondrocytes de la couche superficielle qui peuvent bénéficier de la diffusion de l'oxygène par le liquide synovial. La couche superficielle est la plus riche en chondrocytes. Les chondrocytes maintiennent un équilibre entre synthèse et dégradation des protéines structurales de la matrice extracellulaire.

b) La matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire est composée d'eau pour 65 à 80 % du poids total et de macromolécules (protéines et glycosaminoglycanes) pour 20 à 35 %. On distingue l'espace matriciel péricellulaire, directement au contact des chondrocytes et l'espace matriciel interterritorial.

(1) Espace péri-cellulaire

Il contient du collagène de type 6, des protéoglycanes en voie de transport vers l'espace inter matriciel, de l'acide hyaluronique, des molécules non collagéniques comme l'anchorine et la fibronectine. Chaque groupe de protéine est attachée au chondrocyte par des récepteurs transmembranaires correspondant principalement à des intégrines. Le chondrocyte adapte son métabolisme en fonction des informations qu'il reçoit par l'intermédiaire de ces intégrines. Au sein de cet espace se trouvent également des enzymes dont l'activité sera favorisée par le pH acide qui y règne.

(2) Espace interterritorial

Le pH est neutre. Dans cette zone s'agencent principalement des fibres de collagène de type 2 et des protéoglycanes.

c) Les collagènes

Les collagènes forment une famille de protéines qui s'agencent au sein de la matrice extracellulaire. Actuellement 18 collagènes différents sont identifiés. Ils sont regroupés en fonction de leur structure et de leur séquence en acides aminés en différentes catégories.

- **Collagènes formant des fibres :** type 1, type 2, type 3, type 5, type 11. Ils ont une fonction de résistance aux tensions exercées.
- **Collagènes associés aux collagènes formant des fibres**, FACIT (*Fibril Associated Collagens with Interrupted Triple helices)* : type 9, type 12, type 14.
- **Collagènes formant des structures hexagonales régulières :** type 8, type 10.

Le collagène de type 2 représente 95 % des collagènes du cartilage. C'est un homotrimère de trois chaînes alpha $[\alpha1(II)]_3$. Les chaînes alpha forment une triple hélice droite. Chaque chaîne alpha est composée d'un ou plusieurs domaines collagéniques (COL) et de domaines non collagéniques (NC), situés aux extrémités de la molécule ou entre deux domaines collagéniques.

Un domaine collagénique est constitué de la répétition d'un triplet d'acides aminés associant la Glycine, la Proline et l'Hydroxyproline. Il en existe deux formes différentes en fonction de l'épissage de l'exon 2, le collagène 2A et le collagène 2B. Le collagène 2A est la forme la plus longue et est exprimé par les chondrocytes pendant le développement. Le collagène 2B est la forme dépourvue de l'exon 2 et est exprimé dans le cartilage adulte.

On trouve d'autres types de collagène dans la matrice cartilagineuse :

- Le collagène de type 11 est un collagène fibrillaire qui est étroitement associé au collagène de type 2 et joue un rôle dans la conformation tridimensionnelle des fibrilles de collagène de type 2. Il est composé de trois chaînes alpha différentes [α1(XI) α2(XI) α3(XI)].

- Le collagène de type 6 se situe dans l'espace péricellulaire et ne présente pas d'interaction directe avec le collagène de type 2.
- Le collagène de type 9 est associé au collagène de type 2. C'est un hétérotrimère de chaînes alpha [α1(IX) α2(IX) α3(IX)]. Il contient trois domaines collagéniques triples hélices et quatre domaines non collagéniques. Il est lié à la surface du collagène de type 2 de façon antiparallèle(3).
- Le collagène de type 10 est un homotrimère alpha1 $[\alpha1(X)]_3$ qui est exprimé dans la zone d'hypertrophie des chondrocytes de la plaque de croissance et dans la zone minéralisée du cartilage articulaire. Il serait impliqué dans la minéralisation du cartilage.

d) Les protéines non-collagéniques

Les protéoglycanes sont classés en macroprotéoglycanes, de haut poids moléculaire (l'agrécane) et en protéoglycanes de bas poids moléculaire (décorine, biglycane, fibromoduline)

- Le monomère d'agrécane représente 90 % des protéoglycanes du cartilage. Elle est constituée d'une protéine axiale (*core protein*) liée à des glycosaminoglycanes (GAG) de type chondroïtine sulfate et kératane sulfate. L'extrémité N-terminale est liée à une molécule d'acide hyaluronique. Cette liaison est stabilisée par une glycoprotéine (*link protein*). Une molécule d'acide hyaluronique peut être pontée par des centaines de molécules d'agrécane. Les agrécanes jouent un rôle de maintien des fibrilles de collagène de type 2.
- Parmi les protéoglycanes de bas poids moléculaire, la décorine et le biglycane peuvent se lier aux collagènes de type 2 et de type 6, à la fibronectine et à de nombreux facteurs de croissance. La fibromoduline peut aussi de lier au collagène de type 2 et joue un rôle dans la fibrillogenèse du collagène 2.

Il existe par ailleurs de nombreuses glycoprotéines dont les fonctions ne sont pas toujours connues(2).

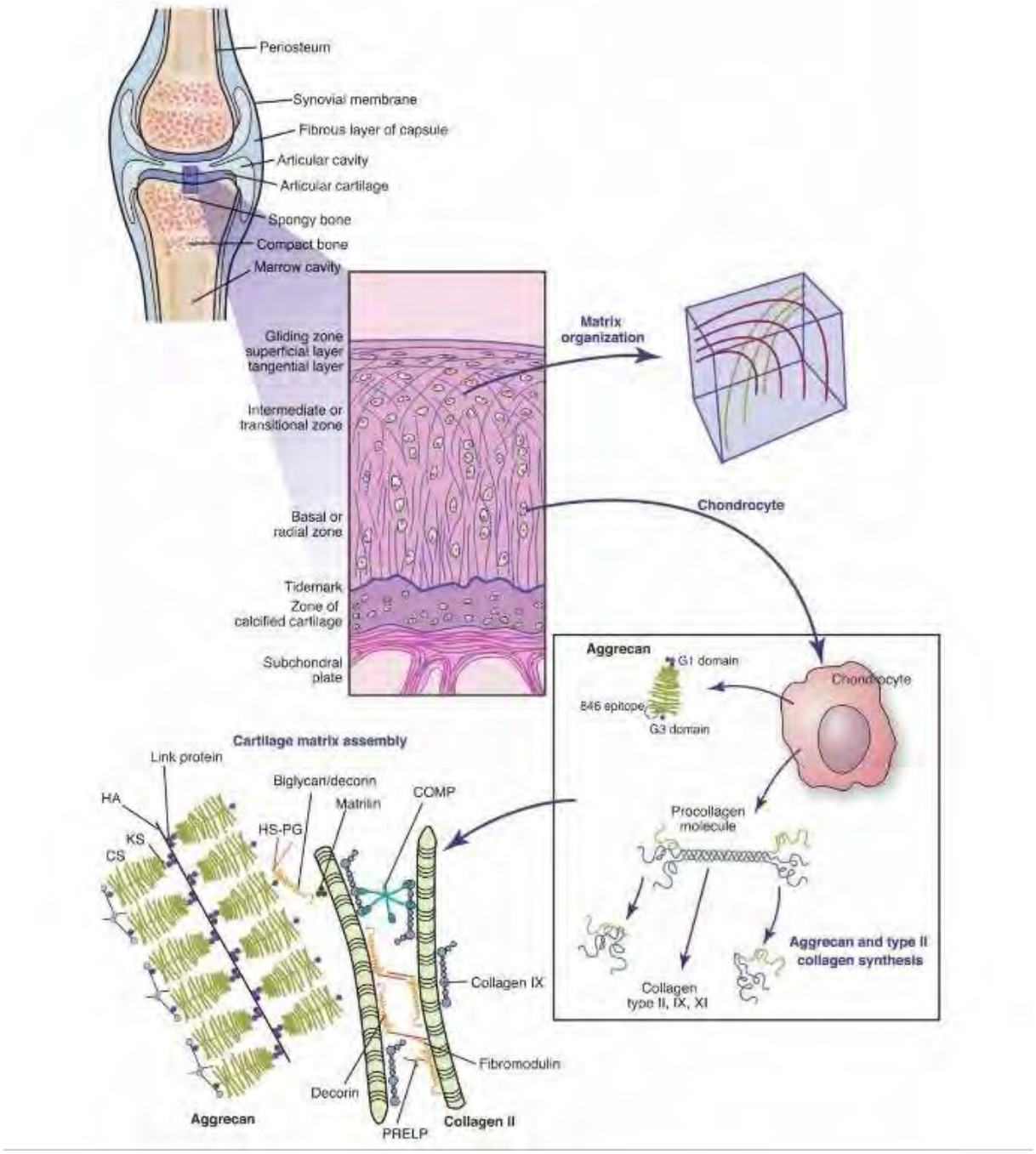


Figure 1 : le cartilage articulaire, architecture et composition(1)

5. Le vieillissement articulaire

Avec l'âge, l'épaisseur du cartilage articulaire diminue. Il prend une couleur jaunâtre. Il peut apparaître à sa surface des lésions macroscopiques à type de fissures qui ne sont pas toujours symptomatiques.

Du point de vue histologique, il existe une diminution du nombre de chondrocytes, surtout dans la couche superficielle, un aspect irrégulier de l'organisation des fibres de collagène, un amincissement de la couche calcifiée et des irrégularités de la zone de démarcation entre la couche calcifiée et la couche profonde.

Du point de vue biochimique, il existe une diminution de la teneur en eau et en protéoglycanes, une augmentation de la concentration en acide hyaluronique et une diminution de la longueur de la chaîne de l'acide hyaluronique.

Il semble exister une diminution de la teneur en collagène de type 2 dans le cartilage articulaire avec l'âge(2,4).

Du point de vue cellulaire, les chondrocytes sont d'abord dans une phase de croissance qui aboutit à l'ossification enchondrale puis ils deviennent hypertrophiques et meurent par apoptose. Quelques-uns survivent et restent quiescents dans le cartilage articulaire en phase GO non réplicative. Ils peuvent par l'intermédiaire de la matrice extracellulaire (MEC) être stimulés par des facteurs de croissance à l'occasion d'un traumatisme et entrer dans une phase de réparation. Avec l'âge les réponses aux facteurs de croissance sont défaillantes. Le monoxyde d'azote (NO) et le stress oxydatif sont les principaux facteurs incriminés. Le NO serait un facteur pro-apoptotique et les radicaux libres favoriseraient la mort du chondrocyte par nécrose.

Avec l'âge il existe un défaut de réparation du cartilage par rapport à un adulte jeune. Le chondrocyte vieillissant est plus sensible aux cytokines pro-inflammatoires pour la production de métalloprotéases. Il existe une baisse de la réponse aux facteurs de croissance *transforming growth factor* (TGF-β) et *insulin-like growth factor* (IGF-1) du chondrocyte âgé.

Le vieillissement du cartilage s'accompagne également de phénomènes de sénescence péri-articulaire comme l'atrophie musculaire, les troubles neurologiques, la calcification des ménisques et des modifications biochimiques et physiques de l'os sous-chondral.

6. Le cartilage arthrosique

L'arthrose est une maladie dégénérative fréquente, conduisant à la destruction progressive et lente du cartilage articulaire. Elle touche principalement les personnes âgées et les articulations soumises à de fortes contraintes mécaniques (hanche, genou, vertèbres, inter-phalangiennes des mains et des pieds). De nombreux facteurs concourent à la formation de l'arthrose : les facteurs mécaniques (les contraintes, le poids, les traumatismes articulaires), les facteurs cellulaires et biochimiques (diminution du nombre de chondrocytes et modifications de la matrice extracellulaire) et les influences génétiques. Il existe une dégradation progressive du cartilage associée à des signes de réparation concomitants. Cliniquement, il s'agit d'une pathologie douloureuse, avec raideur matinale et qui est soulagée par le repos. Radiologiquement, en fonction du stade d'avancement de la maladie, l'arthrose se caractérise initialement par un amincissement progressif de l'interligne articulaire correspondant à la perte de l'épaisseur du cartilage articulaire. Dans les stades avancés, l'os sous-chondral s'épaissit, des kystes sous-chondraux apparaissent ainsi que des ostéophytes. Les signes anatomopathologiques dépendent également du stade de la maladie.

- Au stade précoce, le cartilage devient fibrillaire. Au sein de la MEC, il existe une augmentation de la quantité d'eau et une diminution de la teneur en protéoglycanes(1). Les chondrocytes meurent par apoptose(5). En réaction, les chondrocytes se multiplient et se groupent en îlots.
- Au stade suivant, le cartilage se fissure et le liquide synovial pénètre dans les fissures.
- Puis quand le nombre de fissures augmente, des fragments de cartilage se détachent et sont alors libres dans l'articulation. Ils suscitent une réaction inflammatoire résorptive au sein de la membrane synoviale.
- Par la suite, le tissu osseux sous-chondral s'épaissit par néo-ossification réactionnelle. Il peut ensuite, lui aussi, se fissurer et subir des remaniements avec l'apparition de foyers de dégénérescence myxoïde, et de foyers d'ostéonécrose sous-chondrale.
- Au stade ultime, se forment des ostéophytes à la périphérie de la surface articulaire.

Les mécanismes biochimiques mis en jeu dans le développement de l'arthrose sont nombreux. Il existe une augmentation de synthèse des cytokines pro-inflammatoires en particulier IL1-β et des enzymes protéolytiques et notamment la métalloprotéinase 13 (MMP13) encore appelée Collagénase-3, qui induisent la dégradation des composants matriciels tels que le collagène2(6). Dans le cartilage arthrosique la capacité de synthèse de collagène 2 par les chondrocytes semble être accrue dans les zones de dégénérescence arthrosique modérée par rapport aux zones de dégénérescence avancée(7). Cela suggère que jusqu'à un certain stade lésionnel dans le processus arthrosique, les chondrocytes seraient capables de contrebalancer la dégradation excessive matricielle de collagène 2.

B. Pathologie

1. Les tumeurs cartilagineuses bénignes

Nous décrirons les ostéochondromes, les enchondromes et les chondromes périostés.

a) Les ostéochondromes (ou exostoses ostéogéniques)

(1) Localisation, épidémiologie

Il s'agit des tumeurs osseuses les plus fréquentes(8). Ils touchent les enfants et les adultes dans les trois premières décennies. Ils siègent au niveau de la métaphyse des os longs (fémur, humérus, tibia, fibula) ou moins fréquemment au niveau de l'os iliaque et de la scapula (sauf dans la maladie des exostoses multiples). Différentes formes sont décrites :

- Les ostéochondromes solitaires
- Les ostéochondromes multiples (dans le cadre la maladie des exostoses multiples). Il s'agit d'une maladie autosomique dominante due à une mutation des gènes EXT 1 et EXT 2 (gènes suppresseurs de tumeur) dans respectivement 45% et 30% des cas.
- Les ostéochondromes post-irradiation
- Les ostéochondromes épiphysaires
- La Lésion de NORA (prolifération ostéochondromateuse bizarre parostéale)
- Les ostéochondromes subunguéaux
- Les ostéochondromes para-articulaires des tissus mous

Nous décrirons les ostéochondromes solitaires ou multiples.

(2) Clinique

Ce sont des tumeurs en majorité asymptomatiques. Leur découverte sera le plus souvent le fait de complications mécaniques (fracture, bursite).

(3) Imagerie

Il s'agit d'une excroissance osseuse sessile ou pédiculée. L'os cortical et l'os spongieux de l'exostose sont respectivement en continuité avec l'os sous-jacent. La coiffe cartilagineuse est radiotransparente et peut contenir des foyers de calcifications.

(4) Anatomopathologie

(a) Macroscopie

Il s'agit d'une tumeur sessile ou pédiculée recouverte d'une fine coiffe cartilagineuse. Une coiffe irrégulière et épaisse de plus de deux centimètres et lobulée doit faire suspecter une transformation sarcomateuse(9).

(b) Microscopie

La lésion est recouverte d'une mince lame fibreuse en périphérie qui repose sur une coiffe cartilagineuse qui donne en profondeur naissance à un tissu osseux d'architecture trabéculaire par ossification enchondrale. La coiffe cartilagineuse, qui rappelle le cartilage de conjugaison, est composée de chondrocytes non atypiques. Il faut suspecter une transformation maligne devant toute modification de l'architecture de l'ostéochondrome, de sa coiffe cartilagineuse en particulier si elle devient lobulée par des septums fibreux. La présence de foyers myxoïdes, une hypercellularité, l'activité mitotique, des atypies chondrocytaires importantes, et des foyers de nécrose sont des signes à rechercher pour éliminer une transformation maligne.

(5) Pronostic, évolution

Le risque de transformation maligne est faible, de 1% en cas d'ostéochondrome solitaire et de 3% en cas de maladie des exostoses multiples(8).

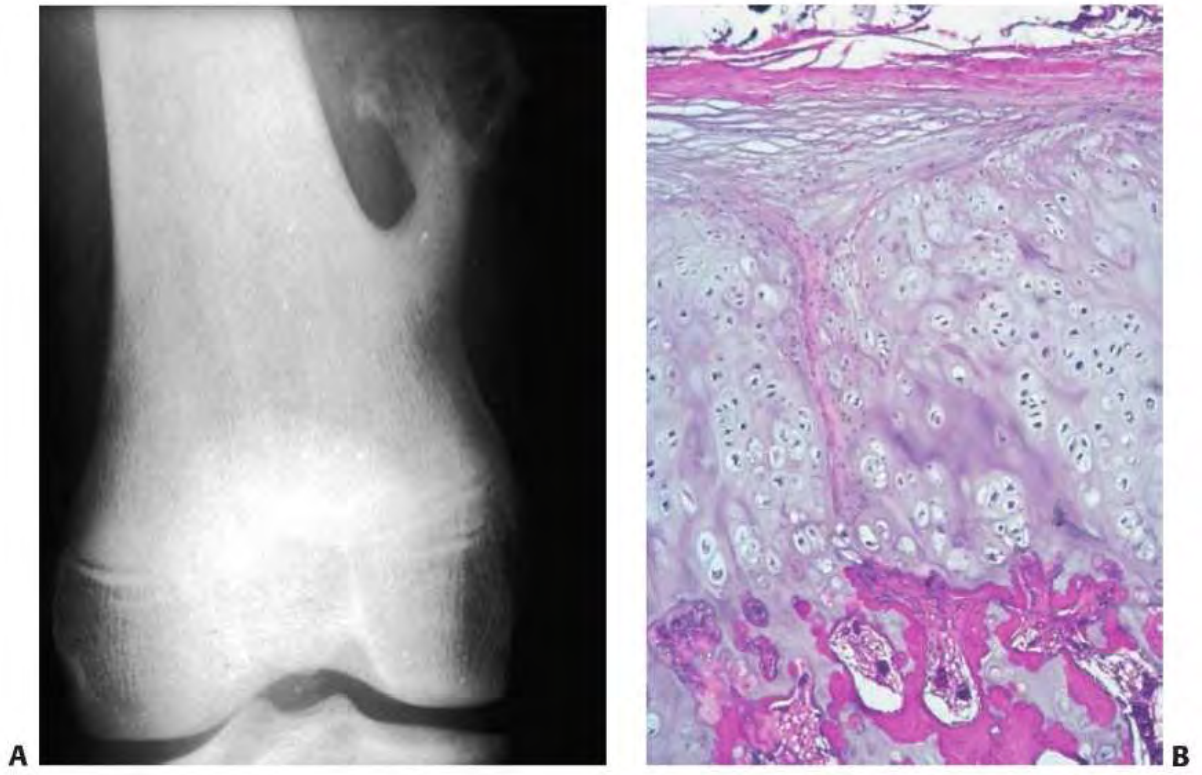


Figure 2 : ostéochondrome. A : masse métaphysaire pédiculée ; B : coiffe cartilagineuse avec ossification endochondrale(1)

b) Les enchondromes

(1) Localisation, épidémiologie

Ils correspondent à 10 à 25% des tumeurs osseuses bénignes. Ils se situent dans la région métaphysaire intra-médullaire des os à ossification enchondrale. Ils siègent à proximité des cartilages les plus fertiles. Les os de la main sont les sites les plus touchés, puis viennent l'humérus, le fémur, le tibia, la fibula et le radius(10). Ils sont exceptionnels au niveau du pelvis, de l'omoplate, des vertèbres, des côtes et du sternum et ces localisations doivent faire suspecter un chondrosarcome. Ils peuvent être séparés en quatre entités clinico-pathologiques(1) :

- l'enchondrome solitaire
- les enchondromes des mains et des pieds
- la maladie d'Ollier (ou enchondromatose)
- le syndome de Mafucci

(2) Clinique

Ces tumeurs sont souvent asymptomatiques et cela s'explique par leur croissance lente et leur petite taille. Cependant on peut observer une tuméfaction, un œdème et ils peuvent également être douloureux. Ils peuvent être découverts de façon fortuite ou plus rarement à l'occasion d'une fracture pathologique.

(3) Imagerie

En radiographie standard il s'agit d'une lésion radiotransparente de localisation métaphyso-diaphysaire, à contours nets et d'architecture lobulée, cernée d'un fin liseré d'ostéosclérose. La corticale peut être soufflée mais reste intacte. Généralement il n'est pas observé de réaction périostée. On décrit parfois une image en « pop corn » due aux calcifications intra-tumorales radio-opaques.

(4) Anatomopathologie

(a) Macroscopie

La chirurgie consiste en un curetage-comblement de la lésion. Le produit de curetage parvient fragmenté au laboratoire d'anatomopathologie. Il a un aspect cartilagineux blanc ou bleu, nacré, légèrement translucide avec parfois des foyers de calcifications durs et jaunâtres.

(b) Microscopie

Il s'agit d'une prolifération de chondrocytes de petite taille, monomorphes aux noyaux ronds et réguliers. Les mitoses sont rares voire absentes. Classiquement on trouve un chondrocyte par logette. Entre les logettes se trouve la matrice extracellulaire de nature chondroïde. On peut observer des travées d'os métaplasique d'épaisseur variable en périphérie des lobules cartilagineux. On peut également observer des dépôts calciques ou des plages de nécrose. Les enchondromes peuvent contenir des foyers d'ossification enchondrale. Ils peuvent contenir des plages de remaniements myxoïde qui restent minimes et ponctuels. La cellularité des enchondromes varie beaucoup en fonction du site anatomique de la lésion. Au niveau des doigts, les chondrocytes peuvent présenter une cellularité élevée, des binucléations, une anisocytose, et un pléiomorphisme qu'il faut interpréter en fonction de la localisation. Le principal diagnostic différentiel est le chondrosarcome de bas grade qui peut se présenter avec une cytologie comparable à l'enchondrome. Il faut rechercher une résorption de l'os spongieux, ou une perméation de l'os lamellaire qui sont des critères majeurs de malignité. De plus la lyse corticale et l'extension aux parties molles sont des arguments forts pour la malignité, excepté en cas d'enchondromatose multiple où les corticales ont parfois disparu. On recherche également une kystisation tumorale, une nécrose spontanée (c'est-à-dire non rapportée aux calcifications), et des remaniements myxoïdes étendus en faveur de la malignité.

(5) Diagnostic différentiel

En imagerie, il comporte :

- **L'infarctus osseux.** Il est de siège métaphysaire ou diaphysaire. En radiologie standard il s'agit d'une lésion opaque irrégulière stable dans le temps. En IRM il prend l'aspect d'une

plage centromédullaire de signal hétérogène, délimitée par une zone périphérique en hyposignal le plus souvent irrégulière.

- **Le fibrome chondro-myxoïde.** Il s'agit d'une lésion douloureuse d'évolution lente. En radiologie il correspond à une lésion ostéolytique métaphysaire arrondie ou ovalaire qui amincit et souffle la corticale. La lacune contient des logettes denses curvilignes correspondant à des crêtes d'os sain entre les lobules tumoraux. Elle est bordée d'un liseré scléreux. Des calcifications peuvent apparaitre au sein de la matrice. En IRM il s'agit d'une lésion hétérogène dont les aspects dépendent de la répartition des composantes myxoïdes, fibreuses, et de la présence de zones hémorragiques ou kystiques. Histologiquement il s'agit d'une lésion nodulaire à cellules fusiformes dans une trame myxoïde, plus cellulaire en périphérie des nodules. La matrice extracellulaire est fibro-cartilagineuse ou chondroïde. Les cellules géantes sont fréquentes.
- **Le kyste anévrysmal.** Il s'agit d'une lésion le plus souvent métaphysaire constituée de multiples cavités à paroi fine de sang non coagulé. En radiologie il s'agit d'une lésion ostéolytique, soufflant la corticale, excentrée, à contenu hétérogène, non calcifiée. Elle peut s'étendre aux parties molles. Au scanner et en IRM on peut parfois observer des niveaux liquides.
- **La dysplasie fibreuse.** En radiologie il s'agit d'une lacune en verre dépoli, souvent bordée d'ostéosclérose avec un épaississement de la corticale ou un amincissement avec soufflure corticale. Histologiquement la dysplasie fibreuse correspond à une lésion d'aspect fibreux au sein de laquelle se disposent des travées d'os plus ou moins immature, de forme particulière, formant des figures géométriques et des caractères alphabétiques.

(6) Traitement

Il dépend du contexte clinique, de la localisation, de la symptomatologie. Deux alternatives sont possibles :

- la surveillance régulière
- le curetage-comblement de la lésion.

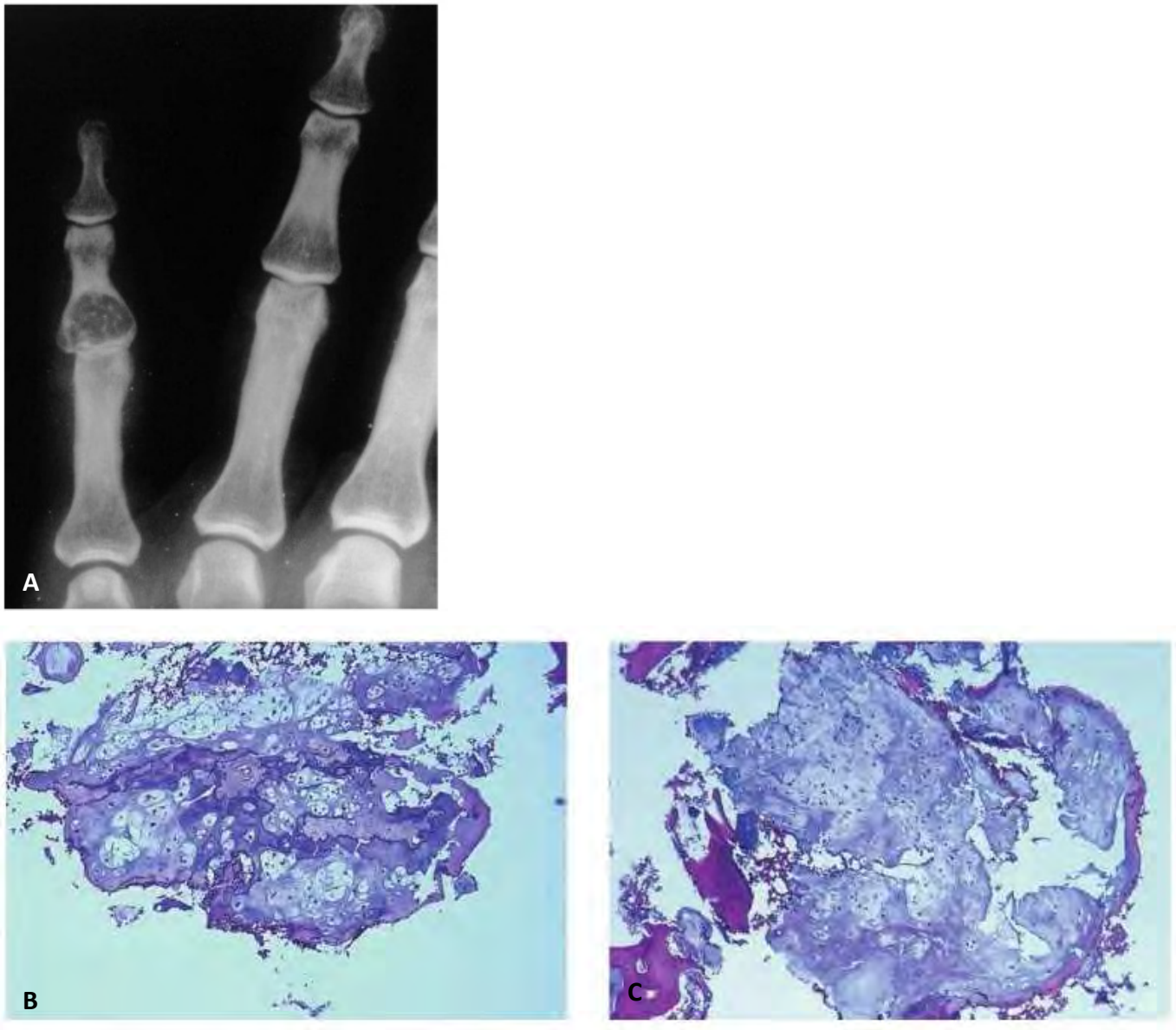


Figure 3 : A : enchondrome radiotransparent, bien circonscrit ; B et C : lobules faits de chondrocytes non atypiques avec calcifications en périphérie des lobules(1)

c) L'enchondromatose, (ou maladie des chondromes multiples, ou maladie d'Ollier)

(1) Définition

Il s'agit d'une affection correspondant à une dysplasie osseuse par altération de l'ossification enchondrale avec prolifération hétérotopique de chondroblastes, soit à partir du cartilage métaphysaire, soit à partir de la couche profonde du périoste. Il n'y a pas de caractère héréditaire ou familial. Une forme particulière correspond au syndrome de Maffucci, caractérisé par des lésions vasculaires comme l'hémangiome capillaire ou caverneux, des phlébectasies, des phlébolithes, des lymphangiomes.

(2) Localisation, épidémiologie

Cette affection est découverte dans les trois premières années de vie. Il existe une légère prédominance masculine. Les localisations chondromateuses sont asymétriques et souvent métaphysaires. Les os les plus atteins sont le fémur et le tibia, puis l'os iliaque et les os des mains et des pieds.

(3) Clinique

Les symptômes débutent dès les premières années de vie et la croissance de l'enfant est un élément important dans l'évolution tumorale et dans la prise en charge des chondromes.

Les symptômes correspondent à des déformations osseuses, des raccourcissements osseux, des déviations axiales pouvant être importantes.

(4) Imagerie

Elle permet de caractériser les lésions centrales et périphériques, de suivre leur évolution et de rechercher des signes de transformation sarcomateuse. Les lésions périostées sont souvent plus volumineuses que dans le cas des chondromes périostés solitaires. La corticale est souvent soufflée et le cartilage peut faire saillie dans les parties molles. Les radiographies permettent de caractériser les déformations des os atteints.

(5) Anatomopathologie

Les lésions sont similaires à celles observées dans les chondromes solitaires mais la cellularité est souvent plus élevée. Les chondrocytes ont souvent des noyaux plus grands, ils sont fréquemment binucléés, ce qui explique la difficulté diagnostique entre chondrome et chondrosarcome.

(6) Traitement, évolution, pronostic

Il y a un risque de récidive et de transformation maligne. Celui-ci est plus élevé que dans le cas des chondromes solitaires. Ce risque est difficile à quantifier. Il pourrait atteindre 20 à 50%(10). Les signes devant faire suspecter une transformation chondrosarcomateuse sont une effraction corticale, une réaction périostée, une fracture spontanée, une anaplasie évidente et une infiltration des parties molles ou de la moelle osseuse.
Au traitement des chondromes s'ajoute celui des déformations osseuses.

d) Le chondrome périosté, ou juxtacortical

(1) Localisation, épidémiologie

Il s'agit d'une prolifération de cartilage hyalin entre le tissu périosté et la corticale osseuse. Ils siègent plus fréquemment en regard des zones d'insertion ligamentaire et tendineuse. Ils sont moins

fréquents que les enchondromes et représentent moins de 2% de l'ensemble des chondromes. Leur distribution anatomique est différente, ils se situent plus souvent au niveau des os longs qu'au niveau des mains et des pieds.

(2) Clinique

Etant plus superficiels, ils sont plus facilement détectés par l'examen clinique que les enchondromes. Les symptômes douloureux sont rares.

(3) Imagerie

Ils forment classiquement une empreinte radio-transparente en demi lune parfois polycyclique avec une ostéosclérose périphérique radio-opaque. On peut observer des calcifications intra-lésionnelles radio-opaques mais de façon moins fréquente que dans le cas des enchondromes.

(4) Anatomopathologie

(a) Macroscopie

Ils sont d'aspect cartilagineux blanc nacré avec des lobulations. Ils peuvent contenir des calcifications et des plages d'ossification enchondrale.

(b) Microscopie

Il s'agit d'une prolifération de nature cartilagineuse, d'architecture lobulée. On peut observer des foyers d'ossification et des calcifications. Ces lésions sont en général plus cellulaires que les enchondromes, et les chondrocytes peuvent plus fréquemment présenter des binucléations et un pléomorphisme, d'où un diagnostic différentiel difficile avec le chondrosarcome périosté. Ce dernier sera classiquement plus grand (plus de 5 centimètres).

(5) Traitement

Il existe plusieurs alternatives thérapeutiques :

- la surveillance régulière
- l'exérèse par curetage-comblement, mais il y a un risque de récidive.
- en raison des similitudes cliniques, radiologiques et anatomopathologiques avec le chondrosarcome périosté, une exérèse carcinologique peut être discutée.

2. Les tumeurs cartilagineuses malignes, chondrosarcomes

a) Définitions

Décrits pour la première fois en 1943 par Lichtenstein(11), ils sont définis comme des tumeurs malignes dont les cellules tumorales sont associées à une matrice cartilagineuse. Cette composante cartilagineuse peut s'associer à un contingent fibroblastique. La formation d'os ne peut être qu'une

ossification réactionnelle par ossification enchondrale mais ne correspond pas, par définition, à de l'os tumoral. Il existe différentes classifications des chondrosarcomes :

Ces tumeurs sont soit **centrales** (développées à partir de la médullaire osseuse) soit **périphériques** ou juxtacorticales (développées à partir de la surface de l'os).

On distingue également en fonction de leur mode d'apparition les chondrosarcomes **primaires** et **secondaires**. Ces derniers se développent à partir de chondromes ou d'ostéochondromes préexistants.

- **Les chondrosarcomes secondaires à des chondromes :** Ils sont très rares et encore plus aux extrémités. Cette fréquence augmente en cas de maladie d'Ollier ou de syndrome de Maffucci pour atteindre jusqu'à 50%(10). Ces patients sont en général plus jeunes que ceux atteints de chondrosarcome primaire. Les signes cliniques évocateurs de transformation sarcomateuse sont principalement l'apparition d'une douleur ou l'augmentation de taille d'une lésion connue.
- **Les chondrosarcomes secondaires à des ostéochondromes :** Ils sont rares. Dans la maladie des exostoses multiples le risque de transformation chondrosarcomateuse est de 3 à 5%. En général, il s'agit de chondrosarcomes de bas grade. On doit suspecter une transformation sarcomateuse en cas d'augmentation de volume de l'exostose, de coiffe cartilagineuse épaisse de plus de deux centimètres(9), et en cas de lobulation de la coiffe.

Enfin, sur le plan histologique on distingue les chondrosarcomes **conventionnels** classés en trois grades croissants et les chondrosarcomes **non conventionnels**, qui regroupent le chondrosarcome mésenchymateux, le chondrosarcome à cellules claires, le chondrosarcome dédifférencié. Les chapitres suivants sont consacrés aux chondrosarcomes « conventionnels ».

b) Epidémiologie

Il s'agit de la tumeur osseuse maligne la plus fréquente après le myélome et l'ostéosarcome. Ils représentent 20% des tumeurs malignes osseuses. L'âge de survenue est compris entre 40 et 70 ans avec un pic de survenue à 50 ans. Il existe une discrète prédominance masculine. L'incidence serait de 1 pour 200000 par an(12).

c) Localisation

Tout le squelette peut être atteint mais ces tumeurs sont plus fréquemment situées au niveau :

- du pelvis (24 à 38%)
- du fémur proximal (16 à 27%)
- de l'humérus proximal (9%)
- des côtes (8%)
- du fémur distal (6%)

- de la scapula
- du tibia proximal

Les localisations rachidiennes sont rares (<7%).
Les chondrosarcomes des mains et des pieds sont très rares ; ils représentent moins de 1% de tous les chondrosarcomes et surviennent en général dans un contexte d'enchondromatose.
Les chondrosarcomes centraux sont plus souvent localisés aux os longs ; les chondrosarcomes périphériques sont plus souvent localisés au niveau des os plats (bassin, scapula, côtes).

d) Clinique

La symptomatologie est habituellement d'installation progressive en raison de la croissance lente de ces tumeurs. Il peut s'agir d'une douleur, d'une tuméfaction. Parfois ils sont découverts lors d'une fracture pathologique.

e) Imagerie

Elle permet de distinguer, comme pour les chondromes, les formes centrales et les formes périphériques. Les formes centrales sont en général localisées aux os longs et siègent au niveau de la métaphyse ou de la diaphyse. Il s'agit de tumeurs ostéolytiques. Dans les formes de haut grade, les limites sont souvent moins nettes et la corticale est souvent rompue. Les chondrosarcomes correspondent à des lésions radio-transparentes contenant des zones radio-opaques correspondant à des calcifications intra-tumorales donnant un aspect floconneux ou en « pop corn ». Les critères d'agressivité sont la présence d'encoches endostéales profondes (plus des 2/3 de la corticale) et étendues (plus des 2/3 de la hauteur de la tumeur)(13), une rupture corticale, l'extension de la masse tumorale dans les parties molles, une réaction périostée, un rehaussement précoce après injection de produit de contraste.

f) Anatomopathologie

(1) Macroscopie

Il s'agit de tumeurs cartilagineuses lobulées. Les lobules cartilagineux sont blanc, nacrés ou bleu avec parfois des zones myxoïdes. Ces tumeurs peuvent contenir des foyers d'ossification plus ou moins étendus. On peut également distinguer des zones de nécrose, des kystes intra-tumoraux. On peut apprécier l'extension aux parties molles, l'effraction de la corticale ou son refoulement.

(2) Microscopie

Il s'agit de lobules cartilagineux de taille et de forme irrégulières, délimités par de fins septums fibreux. Des fragments d'os spongieux peuvent être englobés par la tumeur. Les chondrosarcomes sont plus cellulaires que les chondromes. Les chondrocytes sont plus atypiques, et présentent des

binucléations et un pléomorphisme. Les mitoses sont possibles. Il peut exister des zones de nécrose. La matrice extracellulaire peut être chondroïde ou myxoïde. L'existence de zones myxoïdes représentant plus de 20% de la surface tumorale est considérée par certains auteurs comme un élément de mauvais pronostic(14,15). Les chondrosarcomes dits « conventionnels » sont gradés de 1 à 3, selon la classification proposée en 1952 par O' Neal et Ackerman(16) et reprise par Evans(17).

- **Chondrosarcome de grade 1 :** Il correspond à une tumeur cartilagineuse très bien différenciée posant le problème du diagnostic différentiel avec un chondrome. La cellularité est légèrement augmentée par rapport à un chondrome, avec des noyaux hyperchromatiques, des binucléations occasionnelles. On trouve de volumineuses calcifications. Les remaniements myxoïdes sont réduits. Il n'y a pas d'activité mitotique.
- **Chondrosarcome de grade 2** : Il correspond à une tumeur de nature cartilagineuse et manifestement maligne. La cellularité est plus élevée que pour le grade 1, en particulier en périphérie des lobules. Les atypies nucléaires sont plus importantes, les noyaux sont hyperchromatiques et augmentés de taille. On trouve des remaniements nécrotiques et myxoïdes.
- **Chondrosarcome de grade 3 :** Il correspond à une tumeur manifestement maligne dont la nature cartilagineuse est difficile à établir. La lésion est très cellulaire (plus que le grade 2) avec un pléomorphisme et des atypies plus importantes que pour le grade 2. Il existe des plages à cellules fusiformes. Les mitoses sont facilement authentifiées. Les calcifications sont rares ou absentes. Les remaniements myxoïdes et nécrotiques sont marqués.

Les critères de malignité d'une tumeur cartilagineuse sont :

- **Cytologiques :**
  - Cellularité
  - Taille augmentée des noyaux ; anisonucléose
  - Densification chromatinienne ; chromatine vésiculeuse ; nucléole bien visible
  - Pluri-nucléations
  - Mitoses
- **Architecturaux :**
  - Organisation en lobules de grande taille, irréguliers, séparés d'épais septums fibreux
  - La résorption des travées osseuses médullaires (encoches de résorption) et l'englobement des travées osseuses résiduelles par la tumeur
  - L'atteinte corticale (rupture, résorption, perméation)
  - L'extension aux parties molles

- **Remaniements :**
    - Les remaniements myxoïdes extensifs
    - La nécrose spontanée (en dehors des territoires de calcification de la matrice)
    - La présence de kystes (liée aux remaniements myxoïdes et nécrotiques)

g) Diagnostic différentiel

Les chondrosarcomes à matrice myxoïde ont pour diagnostic différentiel le fibrome chondro-myxoïde, qui présente paradoxalement un pléomorphisme cellulaire moins marqué, une cellularité plus importante en périphérie des lobules et des cellules géantes en plus grand nombre dans les septums fibreux.

Les chondrosarcomes dédifférenciés sont distingués des chondrosarcomes conventionnels de haut grade par la démarcation abrupte qui sépare la composante chondroïde (de bas grade) et la composante mésenchymateuse.

L'ostéosarcome chondroblastique doit être à l'esprit du pathologiste, surtout si le patient est jeune. L'ostéosarcome est une tumeur maligne caractérisée par la production d'os ou d'ostéoïde par les cellules tumorales. Le diagnostic repose sur l'identification d'une prolifération de cellules sarcomateuses et d'une ostéogenèse d'origine tumorale. L'aspect cytologique d'un ostéosarcome est très variable. L'ostéogenèse tumorale peut être plus ou moins abondante. L'os tumoral est souvent immature organisé en fines travées conférant un aspect en « dentelle ». L'ostéosarcome conventionnel produit une quantité variable de matrice cartilagineuse et de tissu fibreux ce qui correspond à trois sous-types histologiques :

- L'ostéosarcome ostéoblastique : l'os et l'ostéoïde sont prédominants.
- L'ostéosarcome chondroblastique : la matrice cartilagineuse est prédominante. Elle correspond à du cartilage tumoral de haut grade de malignité.
- L'ostéosarcome fibroblastique : l'aspect est celui du fibrosarcome. Il existe quelques foyers de matrice osseuse avec ou sans cartilage.

Devant une prolifération cartilagineuse tumorale de haut grade, la mise en évidence d'un foyer d'ostéogenèse tumorale, aussi minime soit-il, permet de porter le diagnostic d'ostésarcome chondroblastique. Ces foyers sont recherchés en périphérie des lobules cartilagineux. La prise en charge thérapeutique est différente (chimiothérapie première pour les ostéosarcomes). Il est donc important de ne pas méconnaître un foyer d'ostéogenèse tumorale.

h) Génétique

Les anomalies génétiques des chondrosarcomes centraux et périphériques sont décrites dans le chapitre ultérieur correspondant.

i) Evolution

Les métastases sont le plus souvent pulmonaires et peuvent aussi être osseuses, cérébrales ou ganglionnaires. Le risque de récidive locale, de métastase et la survie globale sont corrélées au grade histologique. Il existe quelques variations quantitatives entre les différentes études réalisées. Les taux de survie à 10 ans en fonction du grade histologique sont reportés dans le tableau ci-dessous.

En 1977, Evans a réalisé une étude sur 71 chondrosarcomes. Le facteur prédictif principal de récidive locale n'était pas le grade histologique mais la qualité de l'exérèse chirurgicale.

Dans l'étude publiée dans EMC 2001 incluant 180 patients, la survie était corrélée au grade histologique, à la récidive locale, à la localisation (une localisation pelvienne était péjorative), au volume tumoral, à l'aneuploïdie de la tumeur, et à l'âge avancé du patient.

Tableau 1 : survie à 10 ans des patients atteints de chondrosarcome en fonction du grade histologique.

Survie à 10 ans	Etude d'Evans en 1977(17)	Article Anract, de Pinieux *et al.* en 2001(14)
Chondrosarcomes grade 1	83%	83%
Chondrosarcomes grade 2	64%	60%
Chondrosarcomes grade 3	29%	5%

j) Les chondrosarcomes périostés ou juxtacorticaux

(1) Localisation, épidémiologie

Il s'agit de tumeurs cartilagineuses malignes qui se développent à la surface de l'os. La moyenne d'âge de survenue est de 40 ans. Ces chondrosarcomes sont rares et représentent 1 à 2% des chondrosarcomes. Ils siègent plus particulièrement au niveau du fémur distal et des os longs.

(2) Clinique

En raison de leur localisation périphérique ces chondrosarcomes sont souvent symptomatiques. Ils se manifestent par une douleur et/ou une tuméfaction. Ils sont plus volumineux que les chondromes périostés (plus de 5 centimètres en moyenne).

(3) Imagerie

Ce sont des lésions radio-transparentes comportant des zones radio-opaques correspondant à des calcifications intra-tumorales.

(4) Anatomopathologie

Sur le plan histologique, ils sont classés de la même façon que les chondrosarcomes conventionnels.

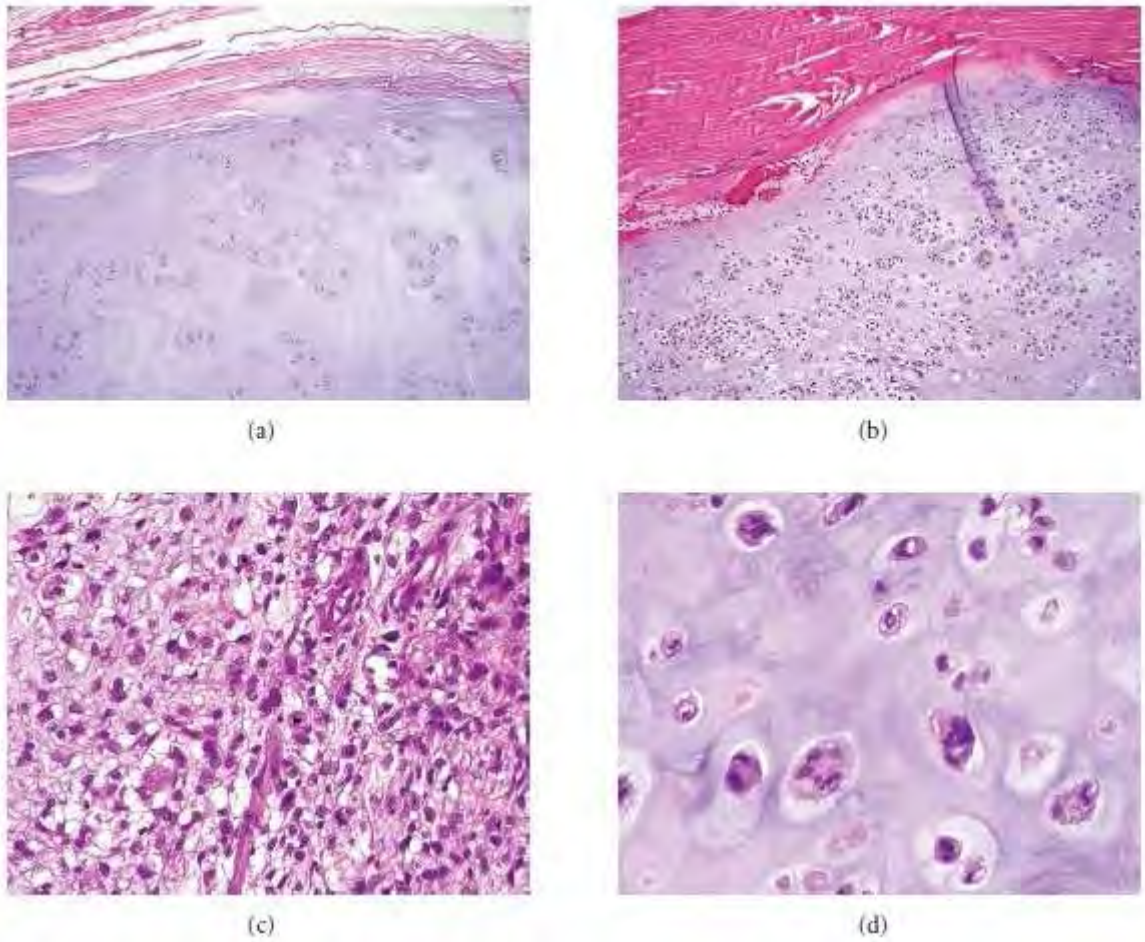


Figure 4 : a : chondrosarcome de grade 1 ; b : chondrosarcome de grade 2 ; c et d : chondrosarcome de grade 3(12)

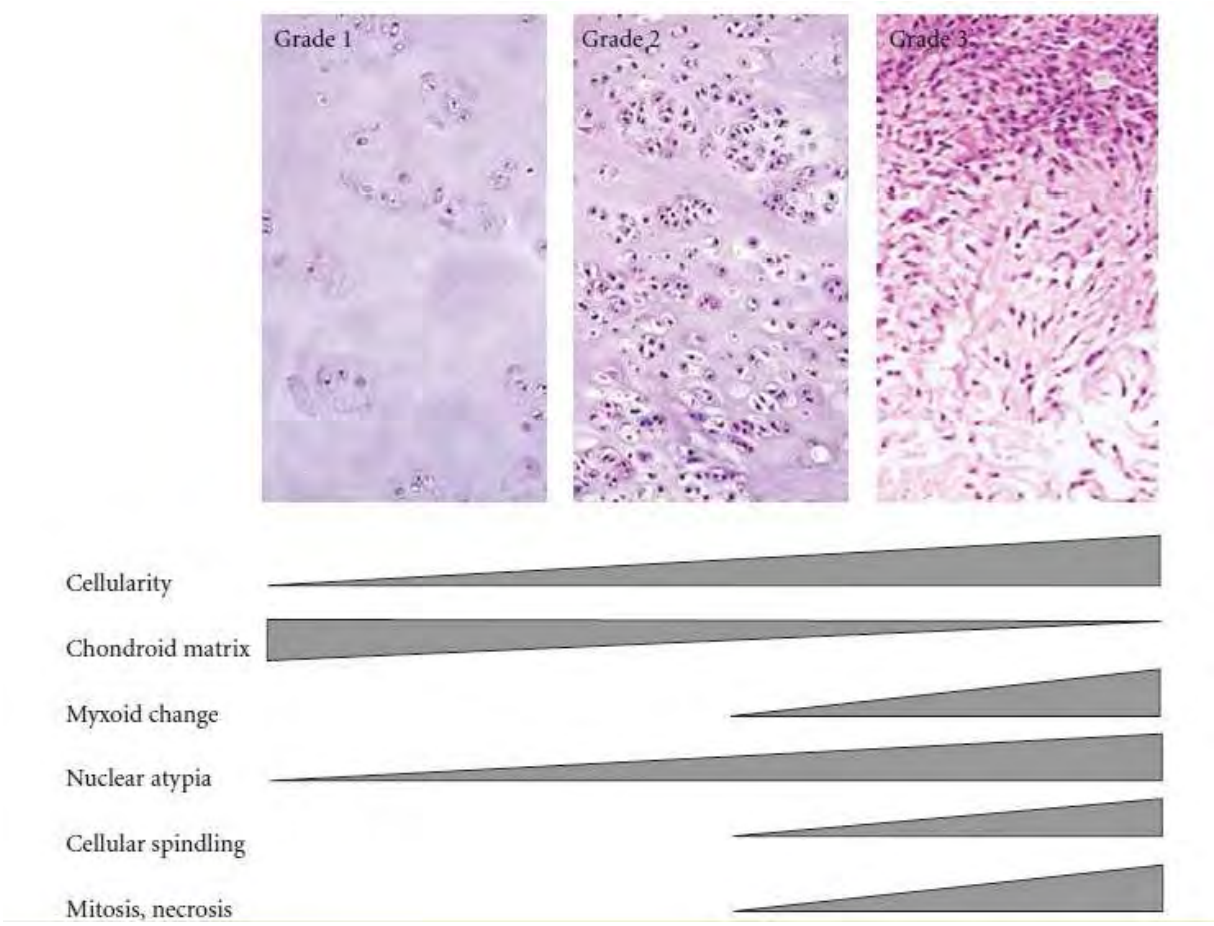


Figure 5 : « grading » histologique des chondrosarcomes(12)

k) Les chondrosarcomes mésenchymateux

(1) Définition, épidémiologie

Il s'agit de tumeurs malignes rares caractérisées par leur bi-morphisme histologique. Elles sont composées d'un contingent indifférencié à petites cellules rondes et d'un contingent bien différencié composé d'îlots de cartilage hyalin. Ces deux composantes n'ont pas de limite de démarcation nette entre elles, à la différence des chondrosarcomes dédifférenciés. Les chondrosarcomes mésenchymateux représentent 2% des chondrosarcomes. L'âge de survenue est moins élevé que pour les chondrosarcomes conventionnels, en moyenne de 26 ans. La présentation clinique n'est pas spécifique par rapport aux autres chondrosarcomes.

(2) Imagerie

Ils correspondent à des lésions ostéolytiques aux limites imprécises avec ostéolyse corticale et extension possible aux parties molles. Les calcifications intra-tumorales radio-opaques sont peu fréquentes.

(3) Anatomopathologie

(a) Macroscopie

Ces tumeurs sont d'aspect blanc-gris à gris-rose, formant des masses variant entre 3 et 30 cm de diamètre. L'aspect lobulé est rare.

(b) Microscopie

Ils correspondent à l'association d'un contingent chondrosarcomateux de bas grade à un contingent indifférencié à cellules rondes. La vascularisation est de type hémangiopéricytaire. Ces deux contingents ne sont pas démarqués l'un de l'autre de façon nette. On peut voir des cellules géantes multinuclées ostéoclaste-like.

(4) Génétique

Une translocation Robertsonienne a été décrite intéressant les chromosomes 13 et 21 (der(13 ;21)(q10 ;q10)) et correspondant à un réarrangement caractéristique de cette tumeur(18). La translocation t(11 ;22) du sarcome d'Ewing n'est pas présente. Bien que 60% de ces tumeurs présentent une surexpression de p53, aucune mutation n'a été trouvée dans les régions des exons 5 à 9 du gène p53(19).

(5) Diagnostic différentiel

Sur une biopsie n'intéressant que le contingent à petites cellules rondes, les diagnostics différentiels sont le sarcome d'Ewing, l'ostéosarcome à petites cellules, le synovialosarcome, une PNETs (peripheral neuroendocrine tumor), l'hémangiopéricytome et le rhabdomyosarcome. Le collagène de type 2 a été proposé comme marqueur diagnostique spécifique du chondrosarcome mésenchymateux devant une biopsie posant la question du diagnostic différentiel d'une tumeur à petites cellules rondes(20).

(6) Pronostic

Ils sont considérés comme des chondrosarcomes de haut grade de malignité. Les métastases sont assez fréquentes. Le risque de récidive et de métastases est élevé même après un long recul post-chirurgie. Les sites métastatiques sont le poumon, les os, les tissus mous et les ganglions.

l) Les chondrosarcomes à cellules claires

(1) Définition, épidémiologie, localisation

Ces sont des chondrosarcomes associant un contingent à cellules claires majoritaire et un contingent cartilagineux hyalin. Ce sont des tumeurs rares. Elles représentent 2 à 6% des chondrosarcomes. Le sexe ratio est de trois hommes pour une femme. L'âge de survenue est compris entre 25 et 50 ans et

la moyenne d'âge de survenue est de 34 ans. Ils sont préférentiellement situés au niveau de l'épiphyse des os longs. Par ordre de fréquence ils atteignent l'épiphyse proximale du fémur, l'épiphyse proximale de l'humérus, l'épiphyse proximale du tibia. Les atteintes du fémur et de l'humérus représentent plus des 2/3 des chondrosarcomes à cellules claires. Les autres sites décrits sont les vertèbres, les côtes et la scapula. La présentation clinique n'est pas spécifique par rapport aux autres chondrosarcomes.

(2) Imagerie

Ils correspondent à des lésions ostéolytiques bien limitées au niveau de l'épiphyse des os longs avec un contour scléreux périphérique. Des calcifications intra-tumorales radio-opaques peuvent être présentes dans 30 à 50% des cas. Ces lésions sont de siège épiphysaire et s'étendent vers la métaphyse. Les effractions corticales sont rares. Le diagnostic différentiel radiologique est principalement le chondroblastome.

(3) Anatomopathologie

(a) Macroscopie

Il s'agit de lésions cartilagineuses de 2 à 13 cm de diamètre. L'aspect peut être rugueux et associé à des aires kystiques.

(b) Microscopie

Les cellules tumorales ont un cytoplasme abondant, clarifié et des limites membranaires bien visibles. Elles s'organisent en cordons et en lobules délimités par de fins septums conjonctivo-vasculaires. Quelques cellules ont un cytoplasme éosinophile pâle. Les mitoses sont rares. On peut voir des cellules géantes multinuclées ostéoclaste-like. Il s'y associe des zones de chondrosarcome conventionnel de bas grade avec parfois des calcifications ou des zones d'ossification réactionnelle. Les cellules claires sont marquées en immunohistochimie par l'anticorps anti-PS100 et anti-Collagène 2.

(4) Génétique

Une étude a décrit une surexpression de p53 dans plus de 40% des tumeurs étudiées sans toutefois détecter de mutation dans les exons 5-9 du gène de p53(21).

(5) Pronostic, évolution

Ils sont considérés comme des chondrosarcomes de bas grade de malignité. Les récidives et les métastases sont peu fréquentes. Les localisations métastatiques sont le poumon, le cerveau et les os. Le risque de transformation en chondrosarcome de haut grade est exceptionnel.

m) Les chondrosarcomes dédifférenciés

(1) Définition, épidémiologie

Ces chondrosarcomes sont composés de deux contingents tumoraux bien distincts avec « transition abrupte » :

- un contingent cartilagineux bien différencié de bas grade
- un contingent sarcomateux de haut grade

Ils représentent 10 à 17% des chondrosarcomes. Le sexe ratio est de 1:1. Ils siègent au niveau du pelvis, du fémur et de l'humérus. L'âge de survenue est le même que pour les chondrosarcomes conventionnels. La présentation clinique n'est pas spécifique, cependant l'évolution tumorale est plus rapide que pour les chondrosarcomes conventionnels.

(2) Imagerie

Il s'agit d'une lésion ostéolytique bien limitée, souvent associée à une effraction corticale avec extension extra-osseuse.

(3) Anatomopathologie

(a) Macroscopie

Classiquement on distingue une composante cartilagineuse centrale d'aspect cartilagineux bleu-gris et lobulée et une composante périphérique extra-osseuse, hémorragique.

(b) Microscopie

La composante cartilagineuse correspond en général à un chondrosarcome de bas grade. La composante sarcomateuse peut correspondre à un histiocytofibrome malin, à un ostéosarcome, à un fibrosarcome, ou à un rhabdomyosarcome.

(4) Génétique

Les études réalisées sont en faveur de l'origine commune des deux composantes tumorales. Les deux composantes présentaient des altérations génétiques communes, en particulier une surexpression de p53 et une délétion identique sur l'exon 7 du gène de p53. De nombreuses altérations génétiques différentes étaient également trouvées au sein des deux composantes(22).

(5) Pronostic

Il s'agit de tumeurs de mauvais pronostic. La survie à 5 ans est de moins de 10%(12). Les métastases sont fréquentes, de localisation pulmonaire puis viscérale et osseuse. 90% des patients décèdent dans les 2 ans qui suivent le diagnostic(8).

n) Traitement

Les dossiers des patients sont toujours examinés en réunion de concertation pluridisciplinaire et la conduite thérapeutique est décidée de façon collégiale.

(1) Chirurgie

Le seul traitement efficace est la chirurgie carcinologique c'est-à-dire l'exérèse complète avec marges chirurgicales saines. L'abord chirurgical et la qualité de l'exérèse varient en fonction du site atteint, en particulier lorsque la tumeur atteint le pelvis ou les vertèbres. La résection est autant que possible conservatrice, et nécessite une reconstruction par ostéosynthèse, greffe, et mise en place d'une prothèse. Une alternative au traitement conservateur, lorsque celui-ci est impossible, est l'amputation de membre. La chirurgie des métastases pulmonaires est possible. Elles ne sont pas considérées comme sensibles à la radiothérapie, ni à la chimiothérapie.

Différentes études tendent à démontrer que dans le cas des chondrosarcomes de grade 1, une alternative à la chirurgie pourrait associer le curetage intra-lésionnel, la cryothérapie à l'azote liquide et l'application de polyméthylmétacrylate(23-25).

(2) Radiothérapie

Classiquement les chondrosarcomes ne sont pas sensibles à la radiothérapie car il s'agit de tumeurs à croissance lente. Toutefois la radiothérapie conventionnelle peut être proposée dans deux situations :

- après résection chirurgicale incomplète, pour un contrôle local maximal.
- lorsque la tumeur n'est pas résécable.

Dans un but curatif, des doses de plus de 60 Grays sont recommandées, cependant de telles doses ne peuvent être administrées aux chondrosarcomes de la base du crâne et des vertèbres en raison des effets secondaires neurologiques. Or ce sont souvent dans ces localisations que l'indication sera discutée puisque la chirurgie en marge saine sera plus difficile.

La radiothérapie par émission de protons a l'avantage d'être moins nocive pour les tissus environnants est pourra être indiquée dans les chondrosarcomes de la base du crâne ou de localisation rachidienne.

Les chondrosarcomes non résécables et douloureux présentent une indication à une radiothérapie palliative. Les chondrosarcomes mésenchymateux sont les plus radiosensibles(26).

(3) Chimiothérapie

Elle n'a pas montré d'effet sur les chondrosarcomes conventionnels de bas grade, les chondrosarcomes à cellules claires et les chondrosarcomes périostés mais peut être proposée pour les chondrosarcomes de haut grade. Une des explications pouvant être apportée au sujet de la

chimiorésistance de ces tumeurs, est la surexpression du gène « multidrug resistance-1 » au sein des cellules chondrosarcomateuses(27). On peut toutefois proposer une polychimiothérapie de type ostéosarcome pour les chondrosarcomes dédifférenciés et les chondrosarcomes mésenchymateux(26).

(4) Perspectives thérapeutiques

Actuellement un essai thérapeutique de phase deux intitulé « CHONDROG » teste l'efficacité d'un inhibiteur de la voie de signalisation Hedgehog (cf. chapitre I.C, page suivante) chez les patients atteints d'un chondrosarcome métastatique ou inopérable.

C. Anomalies moléculaires, anomalies génétiques des tumeurs cartilagineuses

1. La plaque de croissance

La plaque de croissance est composée de chondrocytes à différents stades de différenciation, aboutissant à la croissance longitudinale de l'os. Ce phénomène est régulé par la voie de signalisation IHH (Indian Hedgehog)/PTHLH (ou PTHrp :parathyroid hormone-related protein). La protéine IHH est exprimée par les chondrocytes de la zone de transition, où elle est trouvée sous forme « diffuse » puis sous forme « de patchs » dans la zone hypertrophique, stimulant l'expression de PTHLH. PTHLH se lie à son récepteur dans la zone de transition et sur-exprime Bcl-2, qui inhibe la différenciation des chondrocytes et diminue la sécrétion de IHH. Par ailleurs, les gènes EXT codent pour des glycosyltransférases impliquées dans la synthèse de chaînes d'héparane sulfate qui vont entrer dans la composition des protéoglycanes. Ces protéoglycanes héparanes sulfates (HSPGs) ont un rôle dans la diffusion des protéines Hedgehog, et PTHLH dans la matrice et dans l'interaction du FGF (fibroblast growth factor) avec son récepteur. De plus une baisse ou l'absence d'expression du gène EXT entraine une diffusion anormale de IHH, conduisant à la formation d'ostéochondromes(12).

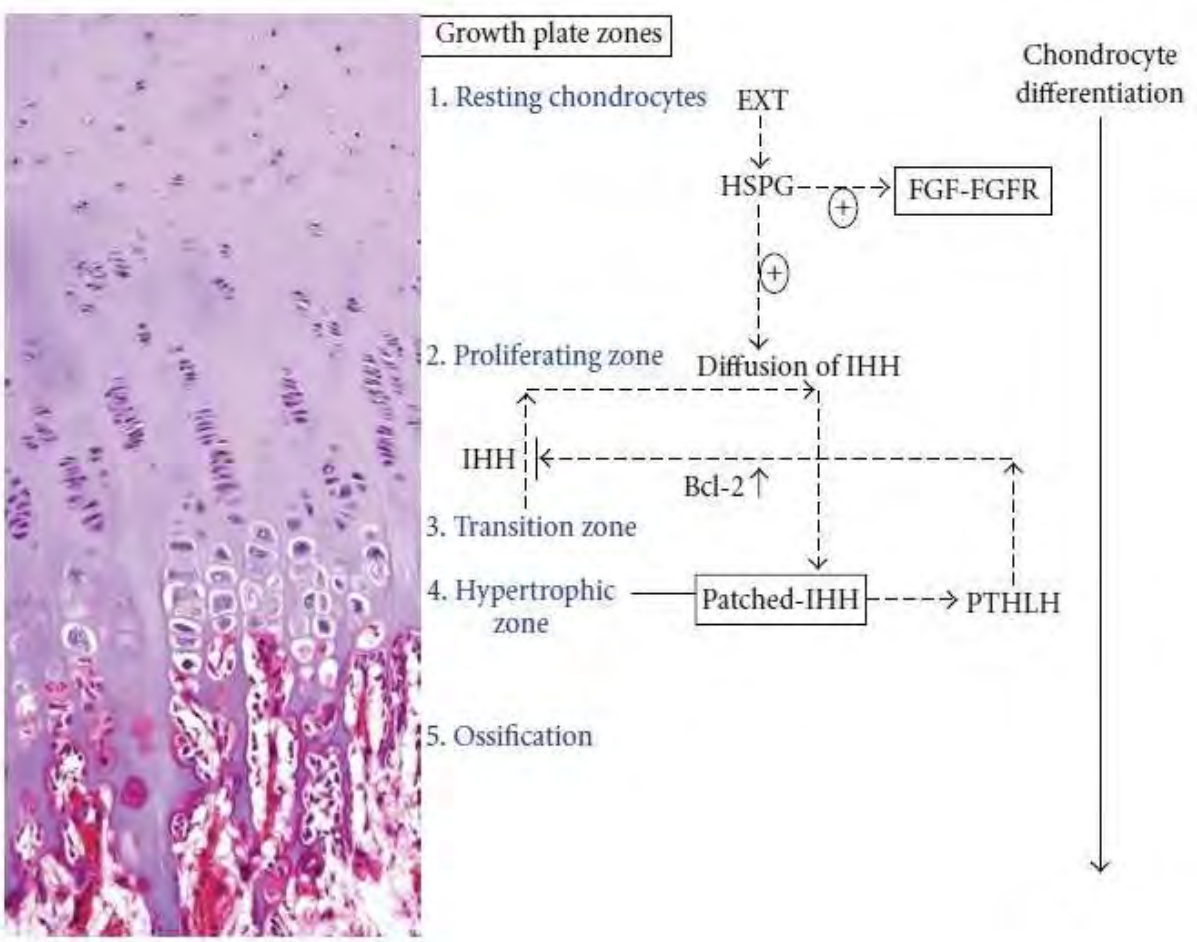


Figure 6 : représentations des signaux d'IHH/PTHLH au sein de la plaque de croissance (12)

2. Génétique des chondrosarcomes secondaires centraux

Aucune anomalie chromosomique récurrente de cette maladie n'a été mise en évidence à travers les quelques études cytogénétiques réalisées. Cependant des mutations du gène PTHR1 ont été trouvées chez des patients présentant une enchondromatose. Une mutation de ce gène entraine une altération de la voie de signalisation IHH/PTHLH(28,29). Dans la majorité des enchondromes, les mécanismes génétiques et épigénétiques n'ont pas encore été élucidés.

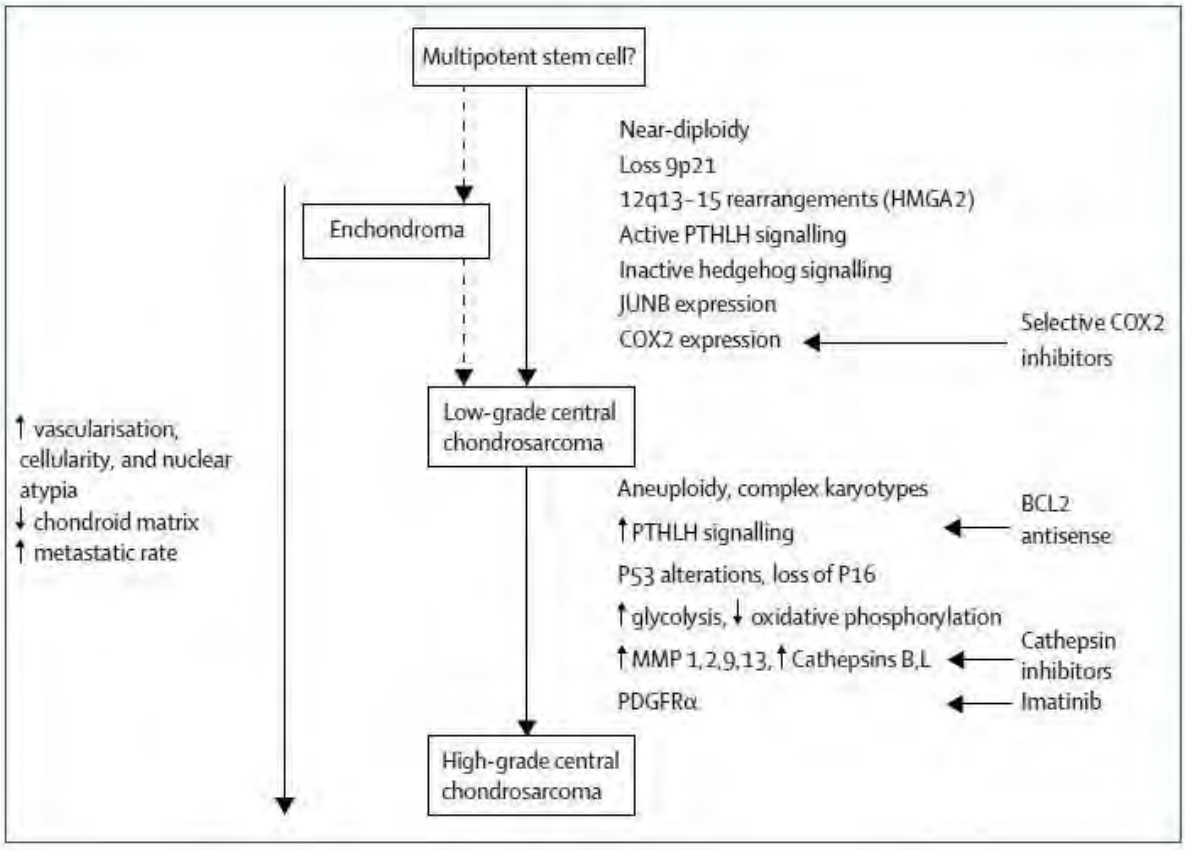


Figure 7 : modèle génétique proposé par Bovée pour le développement des chondrosarcomes centraux(30)

La voie de signalisation Hedgehog qui intervient dans le développement des enchondromes et des chondrosarcomes centraux est une voie thérapeutique potentielle(31,32).

Bien qu'il n'y ait pas d'anomalie des gènes EXT dans les chondrosarcomes centraux, la biosynthèse du protéoglycane héparane sulfate est perturbée, ce qui perturbe la diffusion de IHH(33).

Le rôle de p53 n'est pas encore élucidé. Cependant la surexpression de p53 et les mutations du gène de p53 trouvées dans les chondrosarcomes de haut grade suggèrent qu'il s'agit d'un évènement tardif dans l'oncogenèse(31).

Des études montraient que l'amplification de MDM2 (oncogène inhibant l'activité de p53) et la perte d'expression de INK4A/p16 (inhibiteur de kinase cycline dépendante) étaient observées dans les chondrosarcomes de haut grade, suggérant que ces anomalies pourraient avoir un rôle dans la progression tumorale(31,34).

La surexpression de la cyclooxygénase-2 a été décrite comme facteur de mauvais pronostic, associée au grade histologique et à la survie dans les chondrosarcomes(35). Cependant les essais évaluant l'efficacité thérapeutique des antiCox-2 *in vivo* n'ont pas montré de résultat à long terme sur la croissance tumorale des chondrosarcomes(36).

3. Génétique des chondrosarcomes secondaires périphériques

La maladie des exostoses multiples est due à une mutation d'un des deux gènes exostosin-1 (EXT-1) ou exostosin-2 (EXT-2). EXT-1 est situé sur le chromosome 8 (8q24.11-q24.13) et EXT-2 est situé sur le chromosome 11 (11p11-12). La plupart des mutations de ces gènes sont des mutations inactivatrices, entrainant une perte de fonction de la protéine correspondante(37,38). Selon le modèle de Knudson, les deux allèles du gène EXT doivent être inactivés pour entrainer la formation d'un ostéochondrome. Dans la forme familiale un des deux allèles hérité est déjà muté et l'allèle normal compense sa perte de fonction jusqu'à ce qu'il soit muté lui aussi. En cas d'ostéochondrome sporadique, les deux allèles subissent une mutation somatique.

Dans la plaque de croissance IHH et PTHLH régulent la prolifération et la différenciation des chondrocytes par mécanisme paracrine. Les anomalies de régulation d'IHH sont impliquées dans la pathogenèse des ostéochondromes. Les gènes EXT codent pour des glycosyltranférases impliquées dans la synthèse des chaînes d'héparane sulfate, qui elles-mêmes sont nécessaires à la diffusion de IHH, PTHLH et fibroblast growth factor (FGF). Les mutations inacrivatrices de EXT-1 ou EXT-2 vont donc entrainer une dérégulation de la voie IHH/PTHLH et favoriser le développement d'ostéochondromes.

Bovée a montré que PTH-rp et Bcl-2 (B-cell leukemia protein-2) pouvait caractériser de manière significative en immunohistochimie la transformation maligne des ostéochondromes en chondrosarcomes périphériques de faible ou haut grade (PTH-rp : $p<0,003$; Bcl-2 : $p<0,001$). Concernant la tumorogenèse des chondrosarcomes centraux leur surexpression n'intervient que pour les chondrosarcomes de haut grade(39).

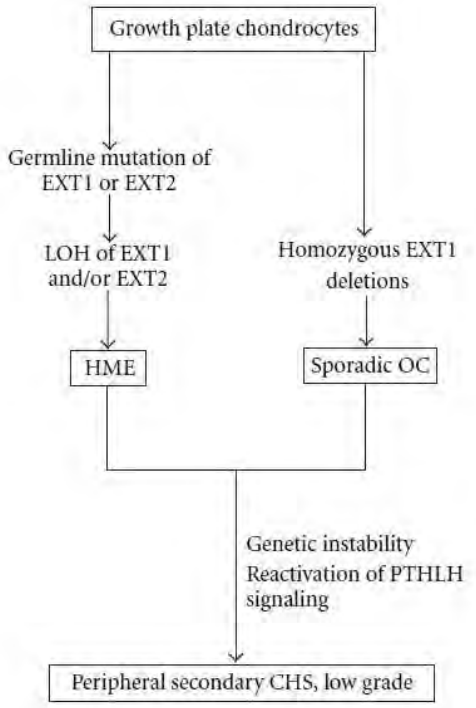


Figure 8 : Chondrosarcomes périphériques ; un des gènes EXT est inactivé pour la formation d'ostéochondromes dans les ostéochondromes solitaires et multiples. L'instabilité génétique et la réactivation de la voie PTHLH caractérise la transformation maligne des ostéochondromes(12)

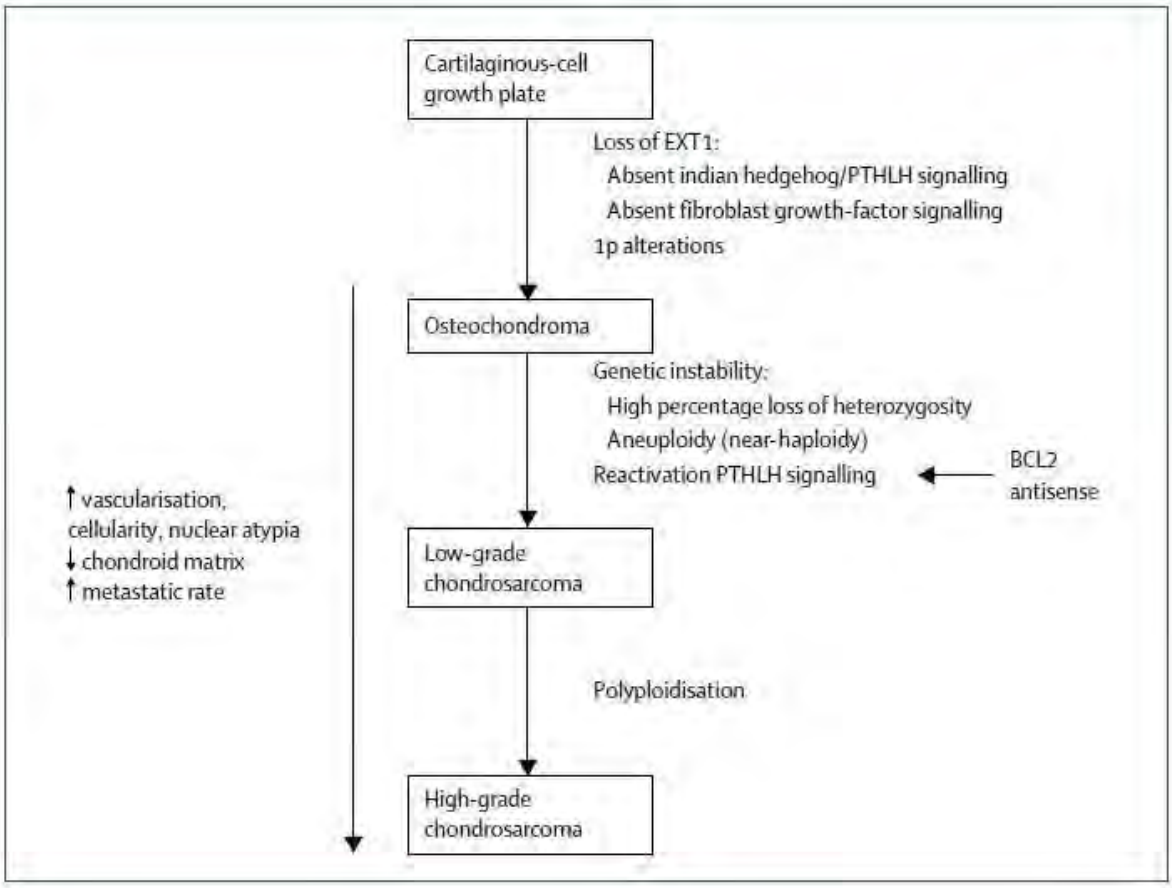


Figure 9 : modèle proposé par Bovée pour le développement des chondrosarcomes périphériques (34)

D. Difficulté du diagnostic entre chondromes et chondrosarcomes de bas grade

Le diagnostic entre chondromes et chondrosarcomes de bas grade ainsi que la classification des chondrosarcomes en différents grades de malignité est difficile même pour les radiologues et pathologistes expérimentés(40). Eefting *et al.* a réalisé une étude sur la variabilité inter observateur dans le diagnostic des tumeurs cartilagineuses centrales. 16 cas ont été analysés par 18 pathologistes spécialisés en pathologie osseuse ayant à leur disposition les clichés d'imagerie et utilisant pour classer les tumeurs les critères d'Evans. Cette étude a mis en évidence une variation importante dans les réponses des pathologistes entre enchondromes et chondrosarcomes de grade 1 (kappa 0.54). La distinction entre chondrosarcomes de grade 1 et 2 était également sujette à variations (kappa : 0,80)(15).

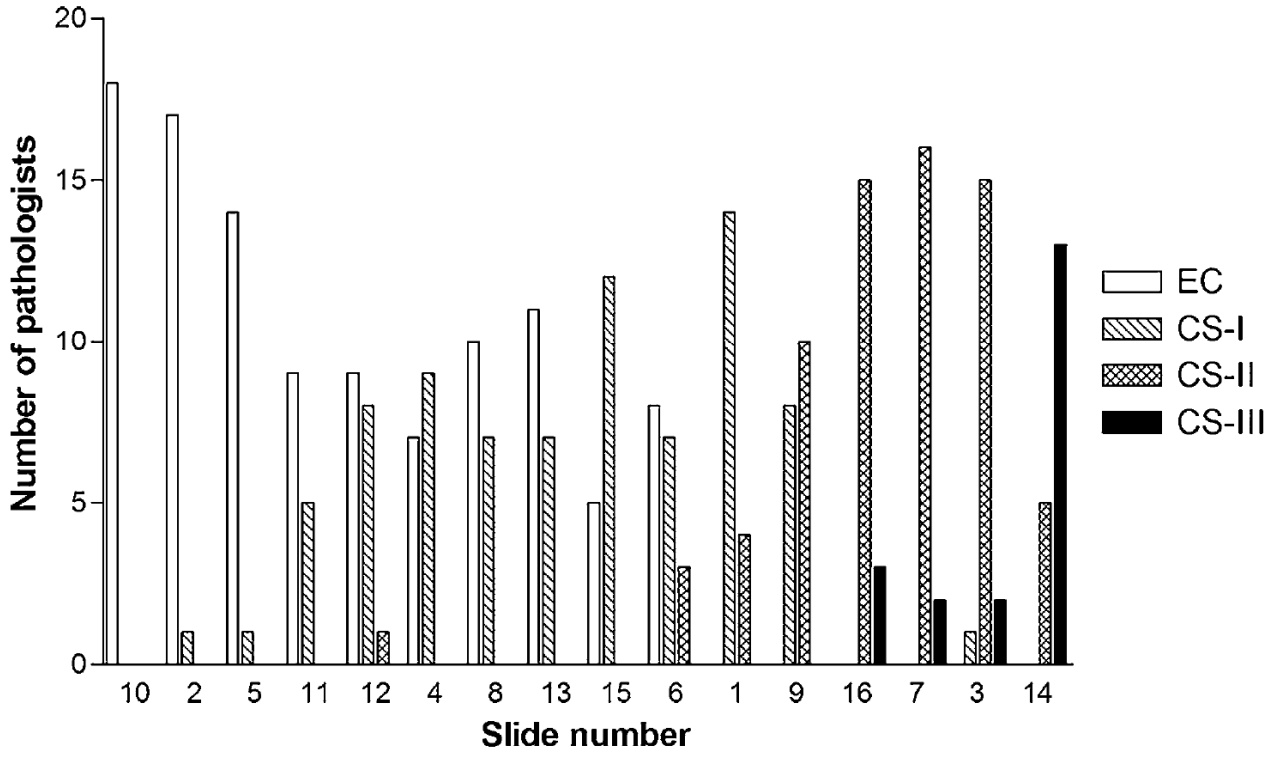


Figure 10 : diagnostics des 18 pathologistes par cas analysé (EC : enchondrome ; CS : chondrosarcome)(15)

Dans un deuxième temps 57 tumeurs comprenant des enchondromes et des chondrosarcomes de grade 1 ont été analysées par les pathologistes selon des critères cytologiques et architecturaux précis afin d'évaluer le pouvoir diagnostique de chaque critère. Pour chaque tumeur, ils disposaient d'un suivi minimal du patient de 10 ans.

	Enchondromas (n = 20)		Chondrosarcomas (n = 37)			Positive Predicting Value (%) (CCS I)
	No.	%	No.	%	*P*	
Cytology						
Binucleated cells (No)						
≤2	14	70.0	6	16.2	0.000*	30.0
> 2	6	30.0	31	83.8		83.8
Nuclear polymorphism						
Slight	16	80.0	7	18.9	0.000*	30.4
Marked	4	20.0	30	81.1		88.2
Condensed nuclei						
Present	5	25.0	26	70.3	0.001*	83.9
Absent	15	75.0	11	29.7		42.3
Open chromatin						
Present	8	40.0	29	78.4	0.004*	78.4
Absent	12	60.0	8	21.6		40.0
Mitosis						
Present	0	0.0	1	2.7	0.458	100.0
Absent	20	100.0	36	97.3		64.3
Histology						
Distribution of cells						
Regularly	14	70.0	2	5.4	0.000*	12.5
Irregularly	6	30.0	35	94.6		85.4
Cellularity						
Moderate	17	85.0	11	29.7	0.000*	39.3
High	3	15.0	26	70.3		89.7
Secondary bone formation						
Present	16	80.0	32	86.5	0.522	66.7
Absent	4	20.0	5	13.5		55.6
Calcification						
Present	18	90.0	33	89.2	0.924	64.7
Absent	2	10.0	4	10.8		66.7
Encasement						
Present	11	55.0	20	54.1	0.189	64.5
Absent	3	15.0	12	32.4		80.0
Unobservable	6	30.0	5	13.5		
Host bone entrapment						
Present	1	5.0	32	86.5	0.000*	97.0
Absent	16	80.0	3	8.1		15.8
Unobservable	3	15.0	2	5.4		
Cortical extension						
Present	0	0.0	16	43.2	0.001*	100.0
Absent	9	45.0	6	16.2		40.0
Unobservable	11	55.0	15	40.5		

*Statistically significant.
CCS I indicates central chondrosarcoma grade I.

Figure 11 : paramètres cytologiques et architecturaux analysés sur les biopsies de 57 patients présentant un enchondrome ou un chondrosarcome de grade 1(15)

Les critères cytologiques analysés étaient :

- La présence de cellules binucléées (à partir de 2 cellules)
- Le pléomorphisme nucléaire (léger ou marqué)
- La condensation nucléaire (présente ou absente)
- La chromatine déréprimée (« *open chromatine* » ; présente ou absente)
- Les mitoses (présentes ou absentes)

Les critères histologiques analysés étaient :

- La distribution des cellules (régulière ou irrégulière)
- La cellularité (modérée ou élevée)
- L'ossification secondaire (présente ou absente)
- Les calcifications (présentes ou absentes)

- Un englobement des lobules cartilagineux par les travées osseuses sans encoche de résorption (« *encasement* » ; présent, absent ou non observable)
- La présence d'os lamellaire englobé dans la tumeur (« *host bone entrapment* » ; (présent, absent, non observable)
- L'extension corticale (présente, absente, non observable)

Les paramètres les plus discriminants ($p<0,001$) étaient :

- La présence d'un « *host bone entrapment* » (VPP = 97%)
- Le pléomorphisme nucléaire marqué (VPP = 88,2%)
- La cellularité élevée (VPP = 89,8%)
- La distribution irrégulière des cellules (VPP = 85,4%)

Par ailleurs un arbre diagnostique simple basé sur la présence de remaniements myxoïdes de la matrice extracellulaire ≥ 20% et / ou la présence d'un « *host bone entrapment* » pour classer une tumeur en tumeur maligne permet de classer correctement 54 tumeurs sur 57 (soit 94,7%).

Ce groupe de pathologistes propose donc une combinaison de critères histopathologiques afin d'optimiser la performance diagnostique et par conséquent thérapeutique. Il s'agit de :

- La cellularité (modérée ou élevée)
- La présence d'un « *host bone entrapment* »
- La chromatine déréprimée (« *open chromatine* » ; présente ou absente)
- La présence de remaniements myxoïdes dans la matrice extracellulaire
- L'âge de plus de 45 ans

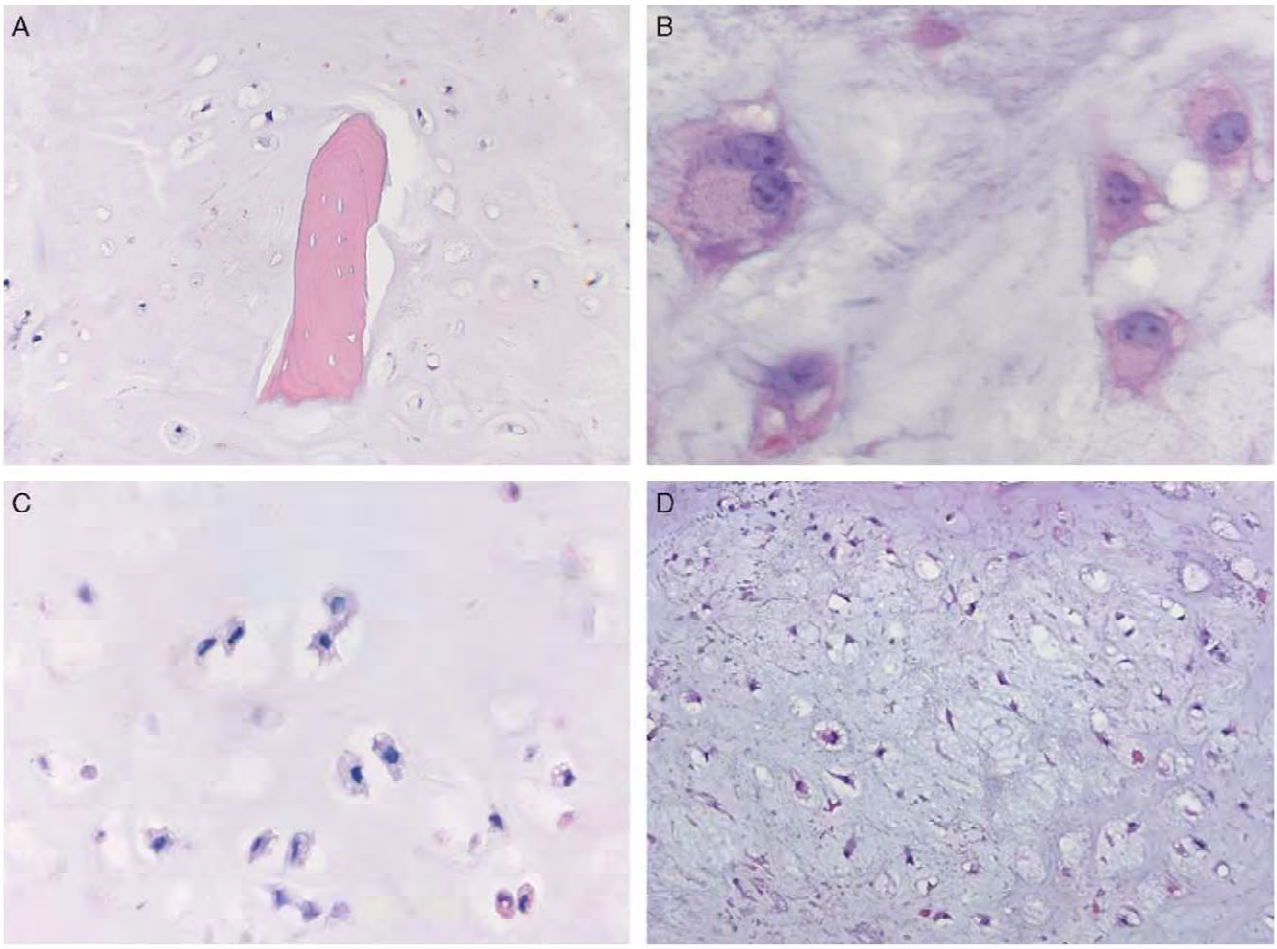


Figure 12 : A : host bone entrapment ; B : open chromatine; C: cellularité élevée ; D : remaniements myxoïdes de la matrice extracellulaire(15)

1. Imagerie

Les critères diagnostiques les plus discriminants pour différencier un chondrome et un chondrosarcome sont (41):

- La présence de signes de résorption osseuse endostéale. Il s'agit de zones de résorption endostéale cupuliformes étendues (plus des 2/3 de la hauteur de la lésion) et profondes (plus des 2/3 de l'épaisseur de la corticale) en alternance avec des zones d'épaississement de la corticale.
- Une rupture de la corticale osseuse
- Un envahissement des parties molles
- Une réaction périostée
- Une fixation scintigraphique de la lésion, plus importante que la fixation de la crête iliaque.

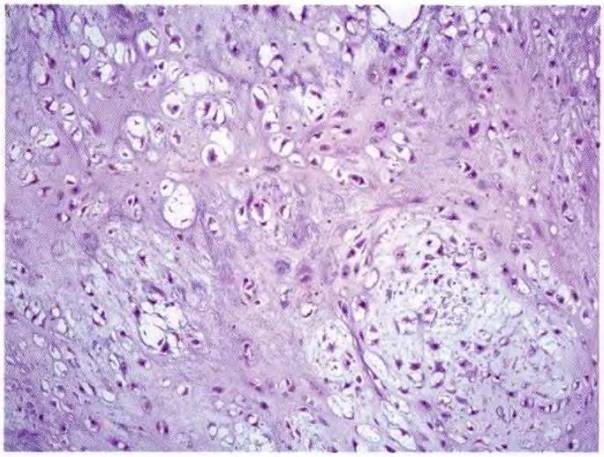
Ces signes sont très évocateurs d'un chondrosarcome. Cependant ils peuvent également poser des difficultés d'interprétation et la biopsie reste indispensable pour le diagnostic.

2. Anatomopathologie

Cytologiquement, les chondrosarcomes de grade 1 vont se distinguer des chondromes par une légère augmentation de la cellularité, la présence de légères atypies nucléaires, l'augmentation du nombre de binucléations. On n'observe pas de mitose dans les chondrosarcomes de grade 1. Ces différences cytologiques sont difficiles à évaluer et subjectives. De plus elles varient en fonction de l'âge du patient, de la localisation de la tumeur, du contexte fracturaire ou non. Les critères cytologiques sont également dépendants de la qualité de la fixation et du fixateur utilisé.

Les critères architecturaux sont plus discriminants. Il s'agit de l'étude du rapport entre la tumeur et l'os préexistant. Elle nécessite une décalcification du prélèvement afin de pouvoir caractériser la structure lamellaire ou fibrillaire de l'os sous-jacent. Dans le cas d'un chondrome, l'os préexistant se remodèle et se moule à la surface des lobules cartilagineux tumoraux (*encasement*). Il persiste des espaces médullaires libres entre les lobules cartilagineux. Dans le cas d'un chondrosarcome, la tumeur agresse l'os préexistant (os lamellaire), formant des encoches de résorption et englobant des fragments d'os résiduels. Sur un prélèvement biopsique, le matériel tumoral est fragmenté et les rapports entre la tumeur et l'os sont difficiles à évaluer. Il est très important pour le diagnostic différentiel de distinguer l'os préexistant englobé dans la tumeur (os lamellaire) de foyers d'ossification secondaire intra-tumoraux (os fibrillaire).

La présence de remaniements myxoïdes occupant plus de 20% de la surface tumorale a été décrit comme un signe témoignant du caractère malin de la tumeur(15). La nécrose chondrocytaire dans la matrice cartilagineuse non calcifiée est également un signe en faveur de la malignité si elle est étendue. Toutes les illustrations ci-dessous sont empruntées du bulletin de l'académie internationale de pathologie N° 52 (42).



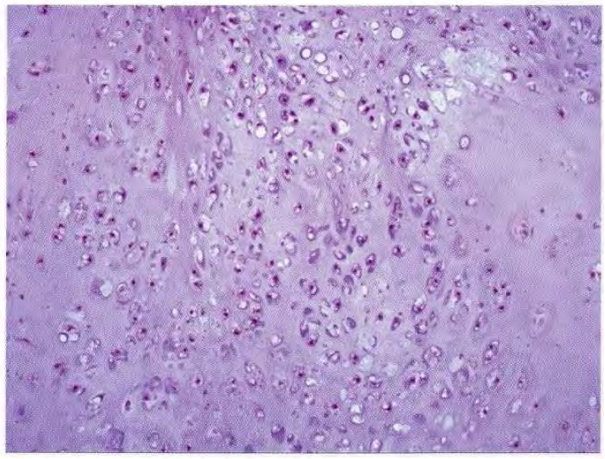


Fig. 2a et 2b - Hypercellularité dans un chondrosarcome de grade 1 (HES).

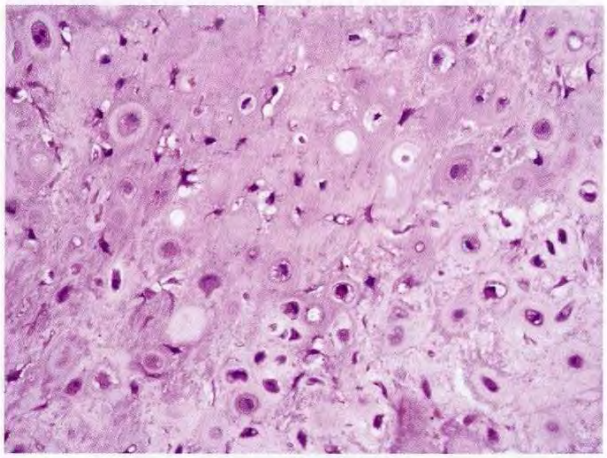


Fig. 2c - Atypies nucléaires modérées (HES).

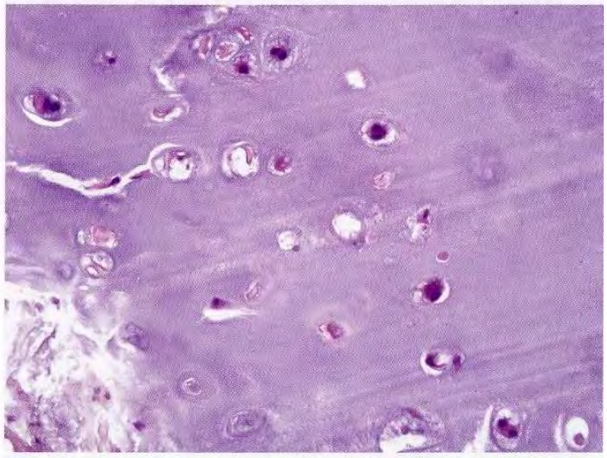


Fig. 2d - Augmentation du nombre de binucléations (HES).

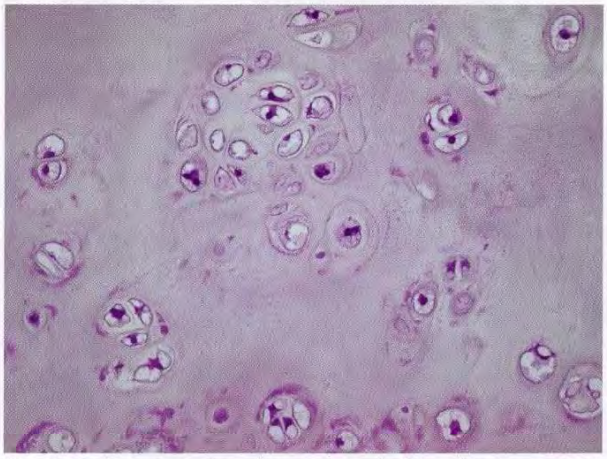


Fig. 2e - Augmentation du nombre de binucléations : 3 à 4 chondrocytes tumoraux binucléés sont présents dans un même champ (HES).

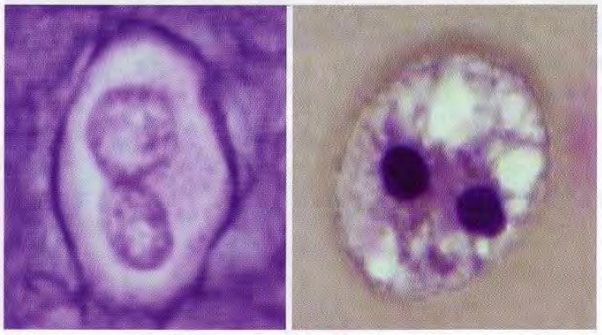


Fig. 2f - Aspect vésiculeux ou dense des noyaux (HES).

Fig. 2 (a à f) - Aspects cytologiques pouvant être observés au sein d'un chondrosarcome de grade 1 développé aux dépens d'un os long.

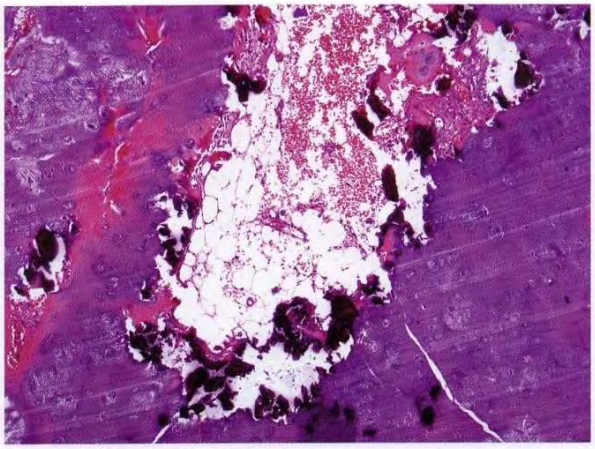


Fig. 3 - Echantillon biopsique non ou insuffisamment décalcifié. Les rapports entre la tumeur et l'os, ainsi que la texture fibrillaire ou lamellaire de l'os ne peuvent pas être déterminés, rendant tout diagnostic impossible. De nouveaux niveaux de coupes doivent être réalisés après décalcification du bloc (HES).

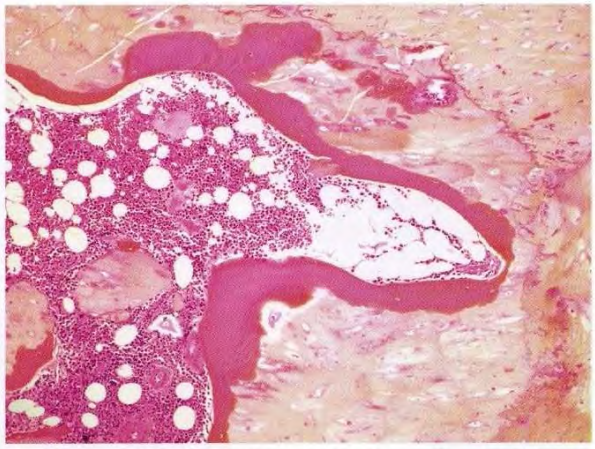
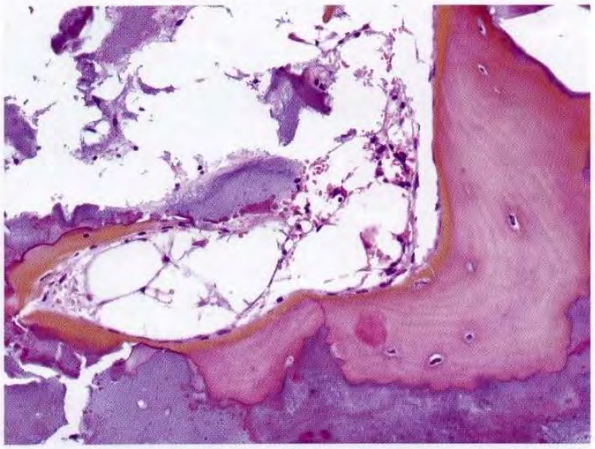


Fig. 4 - Ostéo-intégration d'un enchondrome. L'os lamellaire se remodèle pour épouser la forme du tissu tumoral cartilagineux, par ce fait bien limité. Des espaces de moelle hématopoïétique persistent entre les lobules tumoraux (HES).



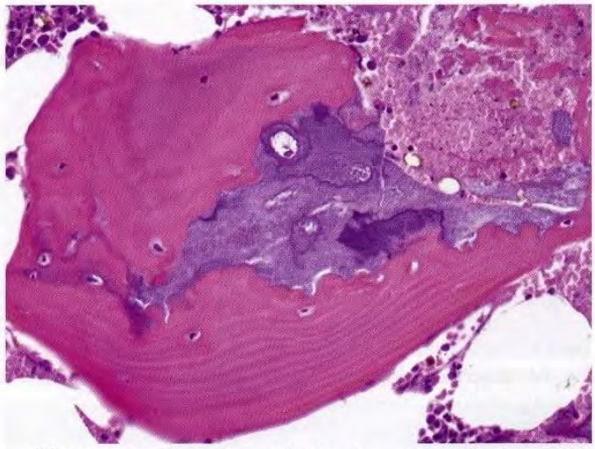


Fig. 5 et 6 - Ostéo-intégration d'un enchondrome. L'os lamellaire se remodèle pour épouser la forme du tissu tumoral cartilagineux, par ce fait bien limité (HES).

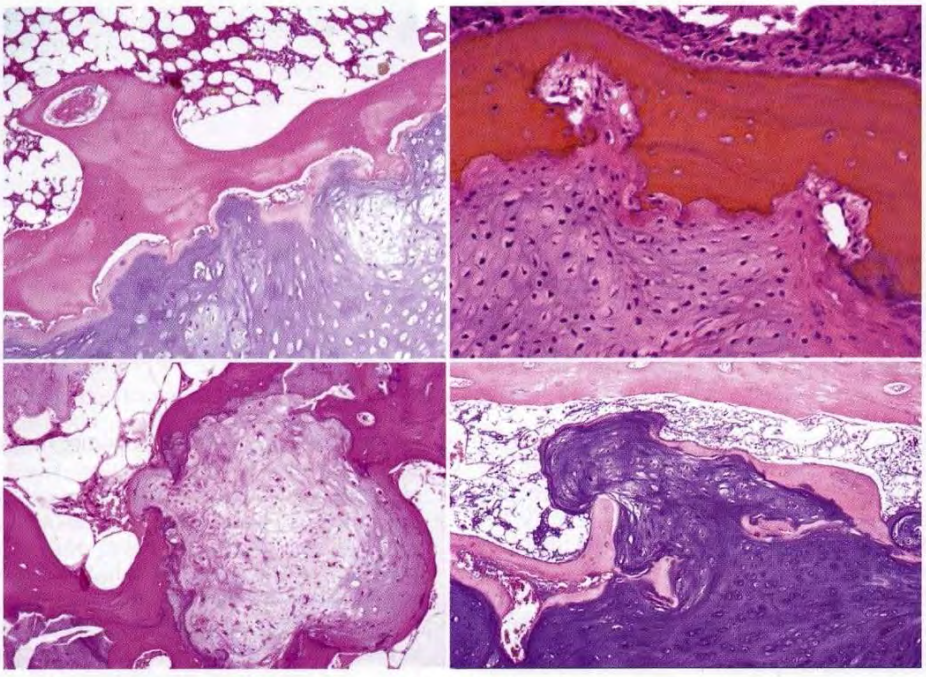


Fig. 7a - Résorption du tissu osseux trabéculaire préexistant ("de l'hôte") par un chondrosarcome de grade 1. Encoches de résorption plus ou moins profondes, creusées par la tumeur dans une travée osseuse, aboutissant à la rupture de la travée et à l'irruption tumorale dans l'espace médullaire voisin (HES).

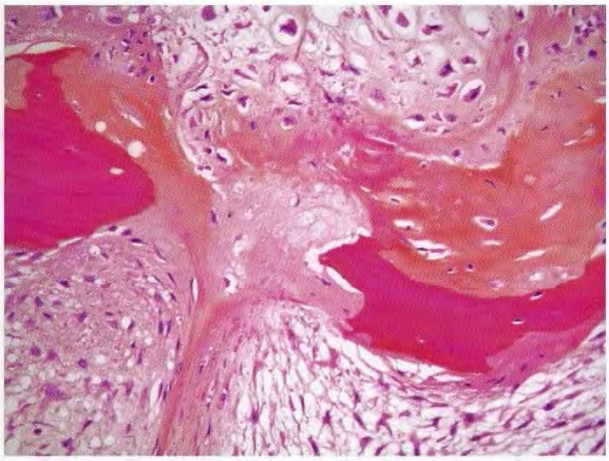


Fig. 7b - Résorption du tissu osseux trabéculaire préexistant ("de l'hôte") par un chondrosarcome de grade 1. Rupture complète d'une travée osseuse avec présence de tissu tumoral de part et d'autre (HES).

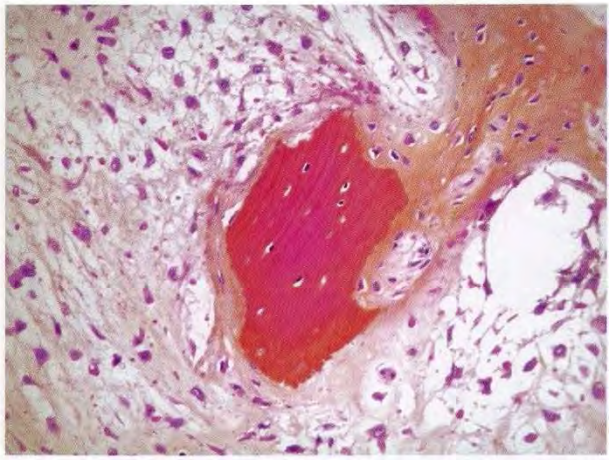


Fig. 7c - Résorption du tissu osseux trabéculaire préexistant ("de l'hôte") par un chondrosarcome de grade 1. Englobement complet d'un fragment résiduel d'une travée osseuse résorbée par la tumeur (HES).

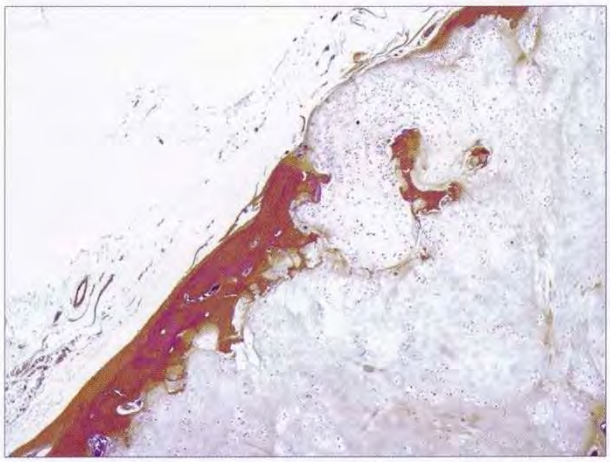


Fig. 8a - Résorption complète de la corticale par un chondrosarcome de grade 1 (HES).

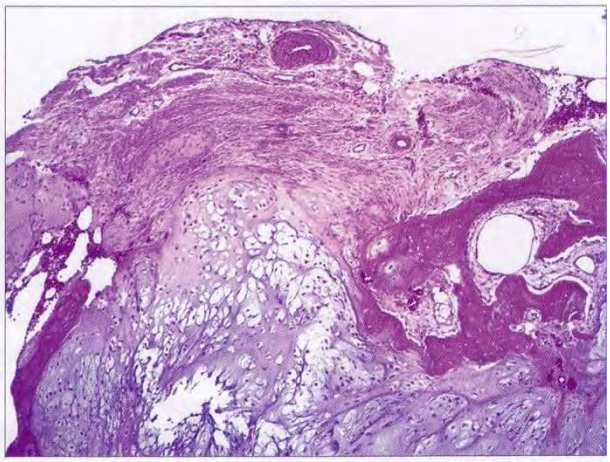


Fig. 8b - Résorption complète de la corticale par un chondrosarcome de grade 1. Extension extra-osseuse de ce dernier (HES).

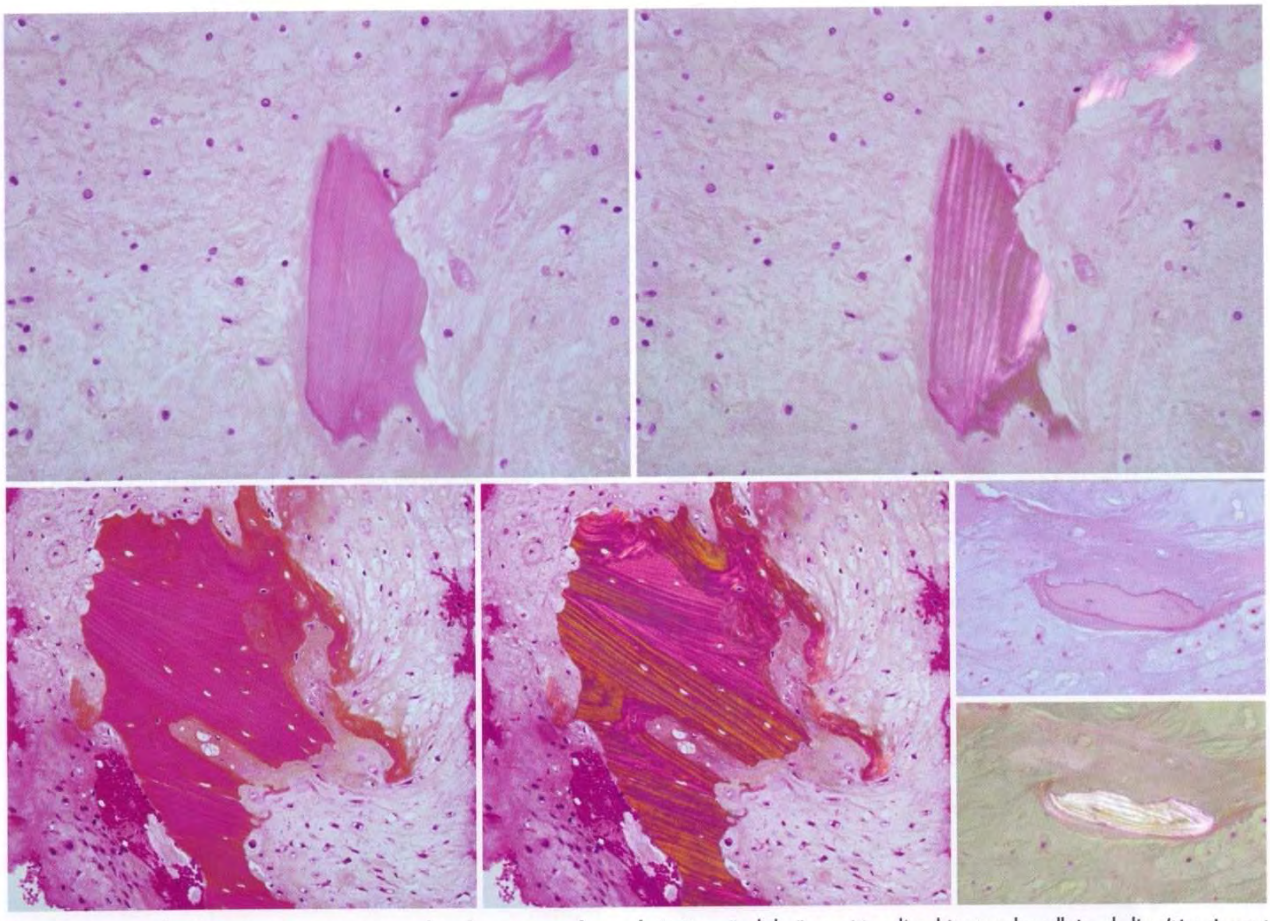


Fig. 10 - Images de résorption osseuse par un chondrosarcome de grade 1. Pour "valider" ce critère, l'architecture lamellaire de l'os (témoignant de son caractère préexistant à la tumeur) doit impérativement pouvoir être démontrée (HES, étude en lumière polarisée).

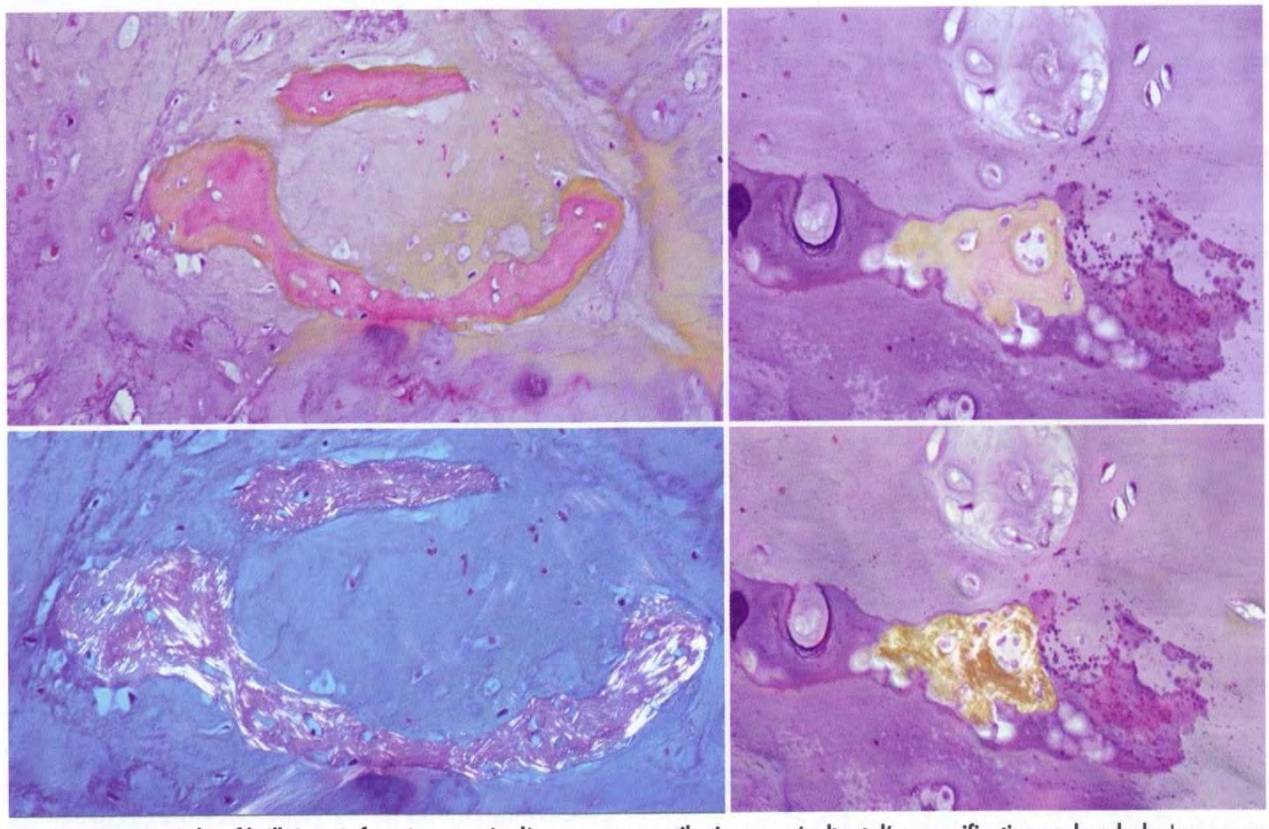
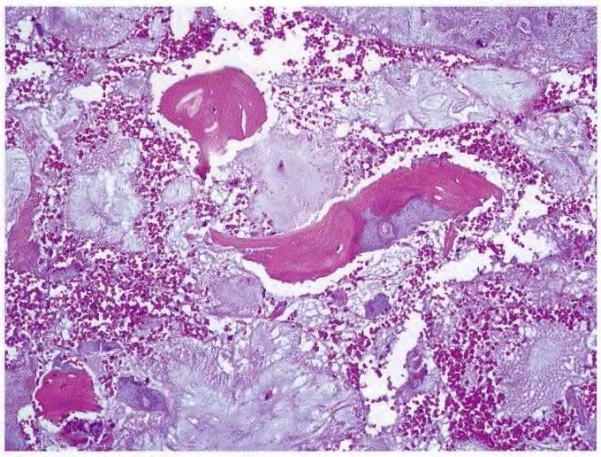


Fig. 11 - "Travées" d'os fibrillaire néoformées au sein d'une tumeur cartilagineuse, résultant d'une ossification enchondrale. Image sans valeur diagnostique ne devant pas être interprétée comme correspondant à une résorption tumorale osseuse (HES, étude en lumière polarisée).



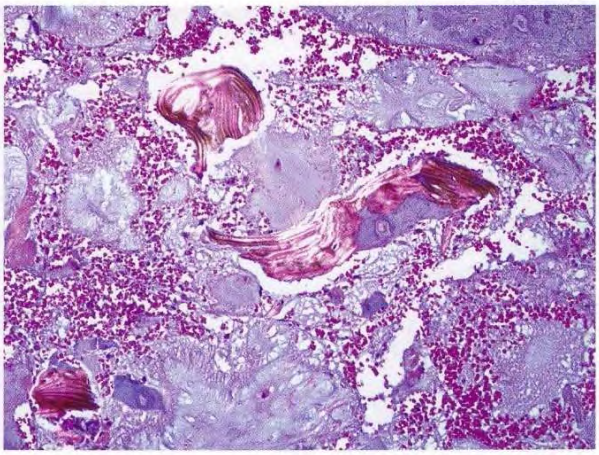
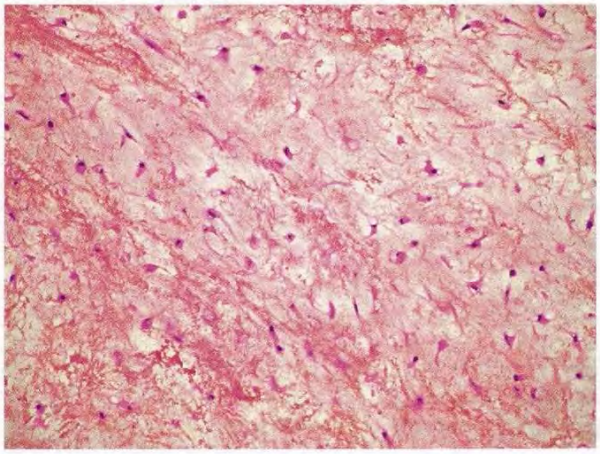


Fig. 12 a et b - Curetage d'une tumeur cartilagineuse. Travées osseuses lamellaires qui se sont imbriquées dans le tissu tumoral lors du prélèvement. Elle ne doivent également pas être interprétées comme correspondant à une résorption tumorale osseuse (a : HES ; b : HES + lumière polarisée).



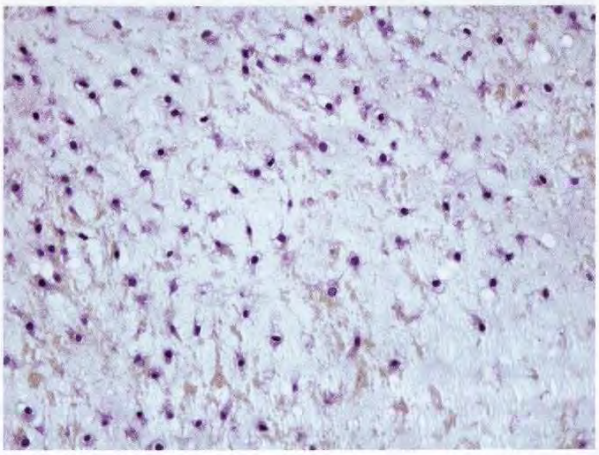


Fig. 13 a et b - Remaniements myxoïdes au sein d'un chondrosarcome de grade 1. Les chondrocytes tumoraux, peu ou pas atypiques, ne sont plus dans une logette mais "flottent" dans une matrice myxoïde (HES).

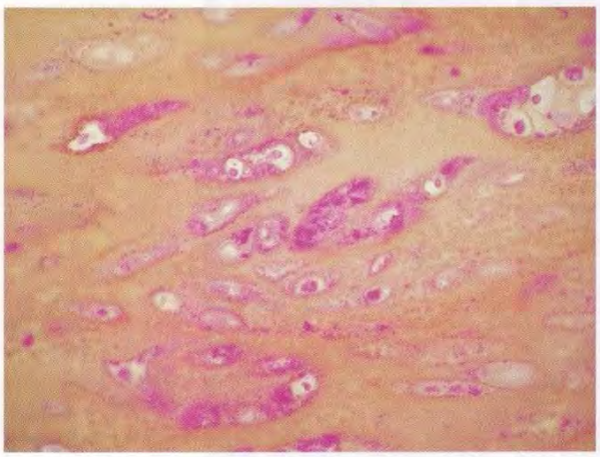


Fig. 14a - Nécrose chondrocytaire dans un secteur de calcification de la matrice cartilagineuse. Absence de valeur diagnostique (processus "physiologique" d'apoptose des chondrocytes lors de la minéralisation de la matrice les entourant) (HES).

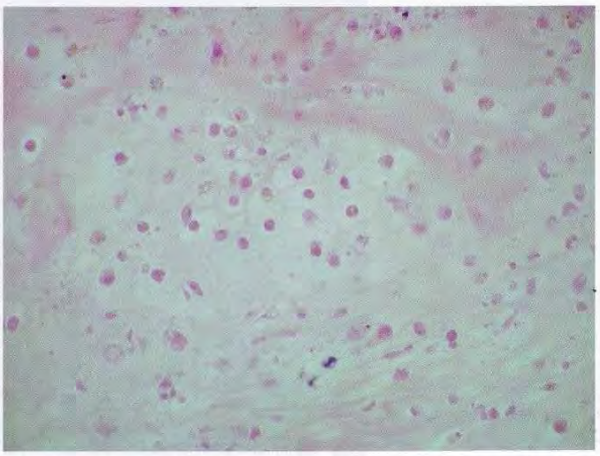


Fig. 14b - Nécrose chondrocytaire en l'absence de minéralisation de la matrice cartilagineuse. Valeur diagnostique péjorative si la nécrose est étendue (HES).

Figure 13 : illustrations des critères cytologiques et architecturaux des chondromes et chondrosarcomes, empruntées du bulletin de l'académie internationale de pathologie N°52(42)

3. Marqueurs diagnostiques

PTRrP et Bcl-2 pourraient aider à différencier les ostéochondromes et les chondrosarcomes périphériques (39).

Le marqueur de prolifération Ki-MCM6 (*minichromosome maintenance protein 6*) a fait l'objet d'une étude comme marqueur diagnostique entre les chondromes et les chondrosarcomes sur 31 tumeurs. Il apparait que l'indice de marquage des cellules par MCM-6 serait corrélé au grade histologique de la tumeur et permettrait de différencier de manière significative enchondromes et chondrosarcomes de grade 1($p=0,016$)(43).

E. Connaissances actuelles sur C1CP et C2CP

1. Synthèse des collagènes 1 et 2

Les collagènes 1 et 2 sont des collagènes qui appartiennent à la famille des collagènes fibrillaires. Le collagène 1 est un hétérotrimère composé de deux chaînes α1 et d'une chaîne α2. Le collagène 2 est un homotrimère de trois chaînes alpha $[\alpha 1(II)]_3$ Les chaînes α sont formées par la répétition de trois acides aminés : la glycine, la proline et l'hydroxyproline. Dans le noyau de la cellule, l'ADN des gènes COL1 et COL2 est transcrit en ARN messager. Les pré-prochaînes alpha s'assemblent dans les polyribosomes du réticulum endoplasmique granuleux. Dans l'appareil de Golgi les trois chaînes alpha interagissent par l'intermédiaire de ponts disulfures, formant ainsi la triple hélice de procollagène. Le procollagène est excrété dans les vésicules au sein de l'espace extracellulaire. Les procollagènes peptidases clivent les deux propeptides N et C terminaux situés aux extrémités de la molécule de procollagène. C'est pendant cette étape de clivage enzymatique que le procollagène devient le tropocollagène. Les faisceaux de tropocollagène s'assemblent pour former les fibrilles de collagène.

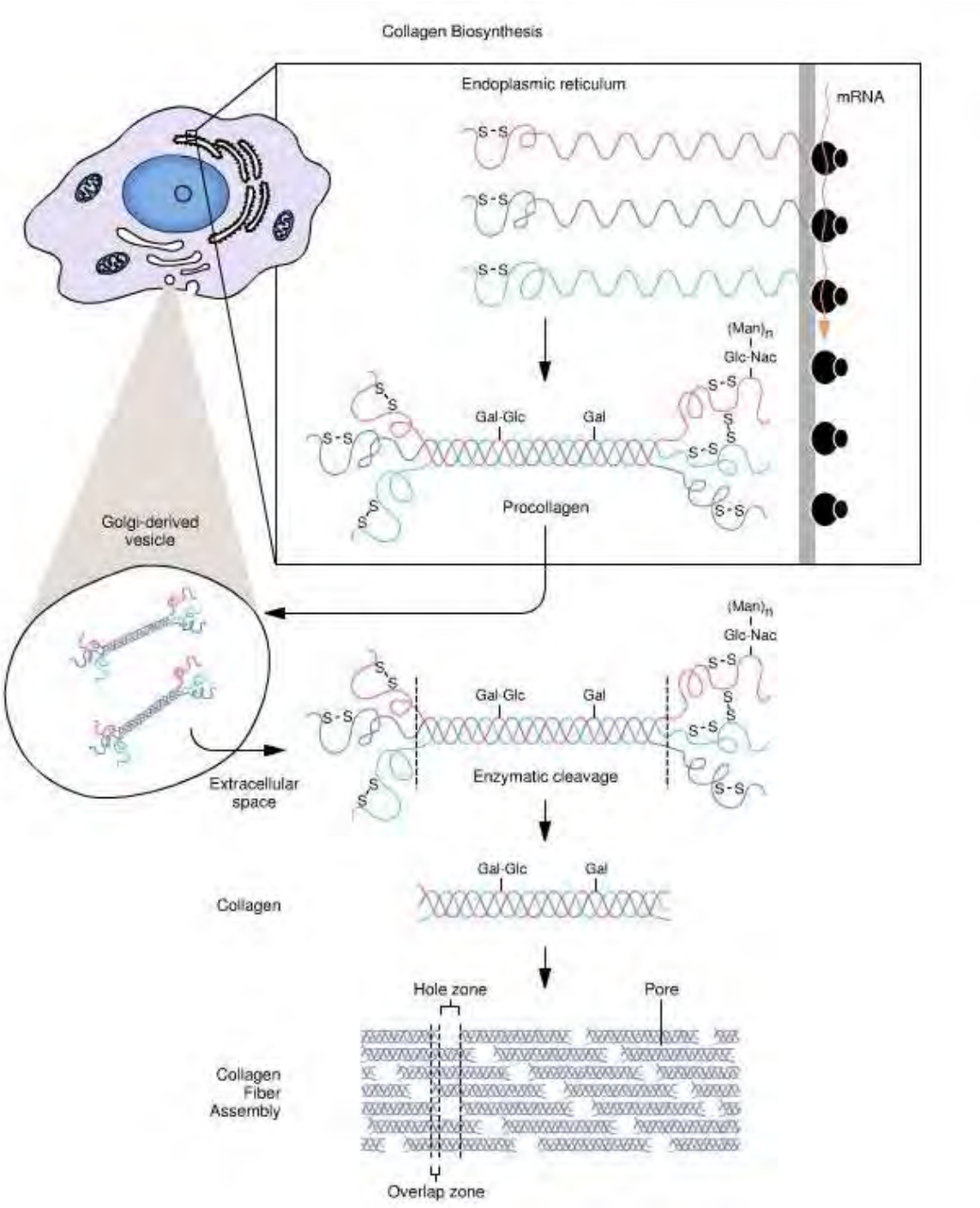


Figure 14 : synthèse du collagène(1)

2. Cas particulier de l'isoforme homotrimérique du collagène 1

Une forme particulière de collagène 1 correspond à un homotrimère de trois chaînes α1 qui dans la population générale ne compose qu'une fraction minime du collagène1. Il se trouve en quantité augmentée dans diverses pathologies comme l'ostéoporose, l'ostéogenèse imparfaite(44), ou certains cancers(45). Ses propriétés mécaniques sont différentes du collagène 1 hétérotrimérique, en particulier ses capacités de fibrillogenèse qui sont moindres que celles du collagène 1

hétérotrimérique(46). La chaîne α 2 augmente les interactions hydrophobes entre les molécules de collagène 1 hétérotrimérique, ce qui facilite la fibrillogenèse(47).

Le collagène 1 homotrimérique présente la particularité d'être résistant aux collagénases même après stimulation par des cytokines pro-inflammatoires. De plus des études expérimentales montrent que les cellules carcinomateuses mammaires synthétisent du collagène 1 homotrimérique. Elles prolifèrent et migrent plus vite à la surface des fibres de collagène 1 homotrimérique. Ceci qui pourrait peut-être expliquer une partie du potentiel d'invasion de ces tumeurs(45,48).

3. Synthèse et nature de C1CP et C2CP

C1CP (COOH-terminal propeptide of procollagen Iα1) et C2CP (COOH-terminal propeptide of procollagen IIα1) proviennent respectivement du clivage des extrémités carboxyl-peptide (COOH) du procollagène de type 1α1 (homotrimérique) et de type 2α1. Cette extrémité carboxyl-peptide est clivée par une peptidase spécifique pendant la maturation extracellulaire, avant l'étape de fibrillation du collagène. C3 correspond à l'extrémité C-terminal du collagène 1 hétérotrimérique. Il existe une grande similarité entre C3 et C1CP. C2CP est un homotrimère de chaînes α1(II). C1CP et C2CP présentent 85% d'homologie entre eux.

4. Fonctions de C3 (grande similarité avec C1CP)

a) physiologie

- C3 participe à la formation de la triple hélice de procollagène.
- Il a un rôle de régulation de la fibrillogenèse du collagène. Il maintient le procollagène 1 à l'état soluble avant son excrétion extracellulaire. Après son clivage le procollagène devient une protéine insoluble, le tropocollagène.
- Il entraine un rétrocontrôle sur la synthèse du collagène par liaison avec les intégrines α2β1 et α1β1 à la surface des chondrocytes(49).

b) pathologie

- C3 induit de façon spécifique la migration de cellulles endothéliales et de cellules de cancer du sein(50,51).
- C3 active des cascades de signalisation pro-angiogéniques et pro-migratoires dans les cellules carcinomateuses de cancers du sein en induisant l'expression de VEGF-A (Vascular Endothelial Growth Factor-A) et CXCR4 (Chemokin recepor type 4), qui est le récepteur de CXCL12 (chemokine (C-X-C motif) ligand 12))(52). CXCR4 est connu pour être un facteur impliqué dans la progression tumorale de plusieurs tumeurs hématologiques et épithéliales(53). De plus VEGF-A et CXCL12 ont un effet autocrine régulateur positif l'un sur l'autre. VEGF-A favorise la mobilité cellulaire des cellules carcinomateuses en induisant

la surexpression de CXCR4. Le couple CXCL12/CXCR4 augmente l'expression de VEGF-A par les cellules tumorales.

5. Fonctions de C2CP

- C2CP est aussi appelé chondrocalcine, cette protéine se lie aux cristaux d'hydroxyapatite dans la plaque de croissance(54).
- Le clivage de C2CP se produit dans la zone hypertrophique (dilatation du réticulum endoplasmique) participant ainsi à la calcification du cartilage de la plaque de croissance et à l'ossification endochondrale(55).
- C2CP est également présent dans les cartilages hyalins non calcifiés comme le *nucléus pulposus* du disque intervertébral(56).
- Il est le témoin de la synthèse de collagène 2 dans le cartilage arthrosique, plus particulièrement dans les zones modérément atteintes par le processus dégénératif(7).
- C2CP a été observé au niveau nucléaire suggérant un rôle de régulation de la transcription du gène COL2(7).
- Il peut adhérer aux chondrocytes par liaison avec l'intégrine α2β1(49).

6. Pourquoi s'intéresser à ces deux protéines ?

Le Docteur Jean-Baptiste Vincourt (CNRS ; équipe UMR 7561) a réalisé une cartographie des protéines provenant de cartilage articulaire normal, arthrosique, de chondromes et de chondrosarcomes par électrophorèse bi-dimensionnelle puis spectrométrie de masse MALDI-TOF. Deux protéines d'intérêt C1CP et C2CP ont été identifiées par cette approche(57,58).

a) Etude par western-blot

Ces deux protéines ont été analysées en western-blot dans deux échantillons de cartilage articulaire, huit échantillons de chondromes, deux tumeurs cartilagineuses non classées (bénignes ou malignes), douze chondrosarcomes conventionnels et quatre chondrosarcomes indifférenciés(58).

C2CP était fortement exprimé dans les échantillons de cartilage articulaire, dans les chondromes, dans les deux tumeurs inclassées, dans 6 chondrosarcomes sur douze. Il n'était pas détecté dans les chondrosarcomes dédifférenciés.

C1CP était faiblement exprimé dans quatre chondrosarcomes conventionnels sur douze, dans un des deux cartilages articulaires, dans deux des quatre chondrosarcomes dédifférenciés. Il n'était pas détecté dans les chondromes et les tumeurs inclassées.

On peut penser que l'étude de ces deux protéines pourrait aider à caractériser des profils d'expressions au sein des différentes tumeurs cartilagineuses.

b) Quantification des ARN messagers par RT-PCR

Comme C1CP et C2CP sont les produits des gènes COL1a1 et COL2a1, les taux d'ARNm de COL1 et COL2 ont été comparés aux taux de protéines C1CP et C2CP dans différentes sortes d'échantillons à savoir du cartilage d'ostéoarthrite, des enchondromes et des chondrosarcomes conventionnels de grade 2. Le Docteur Jean-Baptiste Vincourt *et al.* a trouvé un niveau élevé d'ARNm de COL2 dans les enchondromes, un niveau moins élevé dans le cartilage articulaire, et bas dans les chondrosarcomes. Ces résultats étaient corrélés aux résultats de C2CP en western-blot.
En revanche les taux d'ARNm de COL1 étaient bas dans les trois catégories d'échantillons sans différence significative entre eux, ce qui n'était pas superposable aux résultats de C1CP en western blot. Cela amenait à penser que le taux élevé de C1CP trouvé dans les chondrosarcomes en western-blot n'était pas dû à une surexpression du gène COL1.

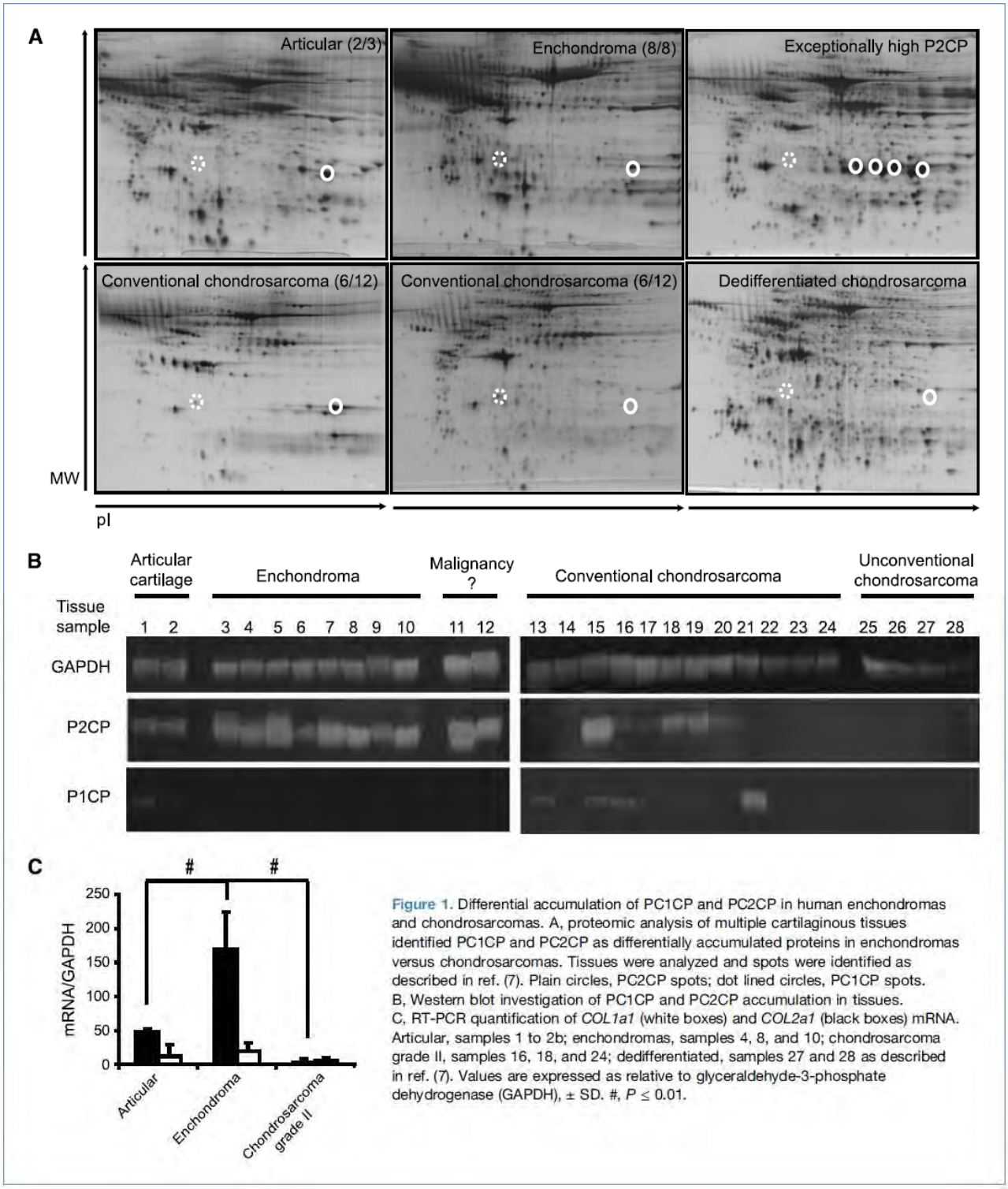


Figure 15 : A : électrophorèse en deux dimensions ; B : western-blot ; C : RT-PCR. Vincourt *et al.* Cancer Research(58)

c) Etude de C1CP et C2CP par protéines recombinantes

Jean-Baptiste Vincourt *et al.* a montré que C2CP sous forme immobilisée uniquement (pas sous forme soluble) induisait une apoptose des cellules endothéliales et des cellules chondrosarcomateuses, et C1CP n'avait pas cet effet(58). Ils ont étudié le pouvoir d'induction migratoire de C1CP et C2CP sur les cellules endothéliales. Seul C1CP avait une capacité

d'induction de migration des cellules endothéliales. L'hypothèse qui résulte de ces résultats est que C2CP pourrait avoir un rôle anti-tumoral, et que C1CP pourrait avoir un rôle pro-tumoral.

Comme C3 induit l'expression de VEGF-A et CXCR4 dans les cellules carcinomateuses des cancers du sein(52) et que la métalloprotéinase 13 (MMP-13) également appelée Collagénase-3[1] pourrait être impliquée dans la croissance tumorale des chondrosarcomes(59), Jean-Baptiste Vincourt *et al.* a étudié le taux de VEGF-A, CXCR4 et MMP13 après incubation avec C1CP et C2CP sous forme soluble et immobilisée.

Les deux protéines C1CP et C2CP sous forme immobilisée n'avaient pas d'effet sur la synthèse de ces trois protéines.

Sous forme soluble, C1CP et C2CP induisaient l'expression de VEGF-A de manière similaire. Seul C2CP induisait l'expression de MMP13. CXCR4 était surexprimé avec un facteur 10 par C1CP et un facteur 200 par C2CP.

C2CP sous forme soluble semblait favoriser l'expression de gènes corrélés au développement de la vascularisation et au pouvoir métastatique des cellules chondrosarcomateuses de manière plus évidente que C1CP. Ces résultats n'allaient pas dans le sens d'un rôle anti-tumoral de C2CP.

[1] La MMP-13 est exprimée par les chondrocytes humains pendant l'ossification fœtale, ainsi que dans les pathologies inflammatoires et dégénératives des articulations comme l'arthrose. Elle dégrade la triple hélice des collagènes fibrillaires en particulier le collagène de type 2.

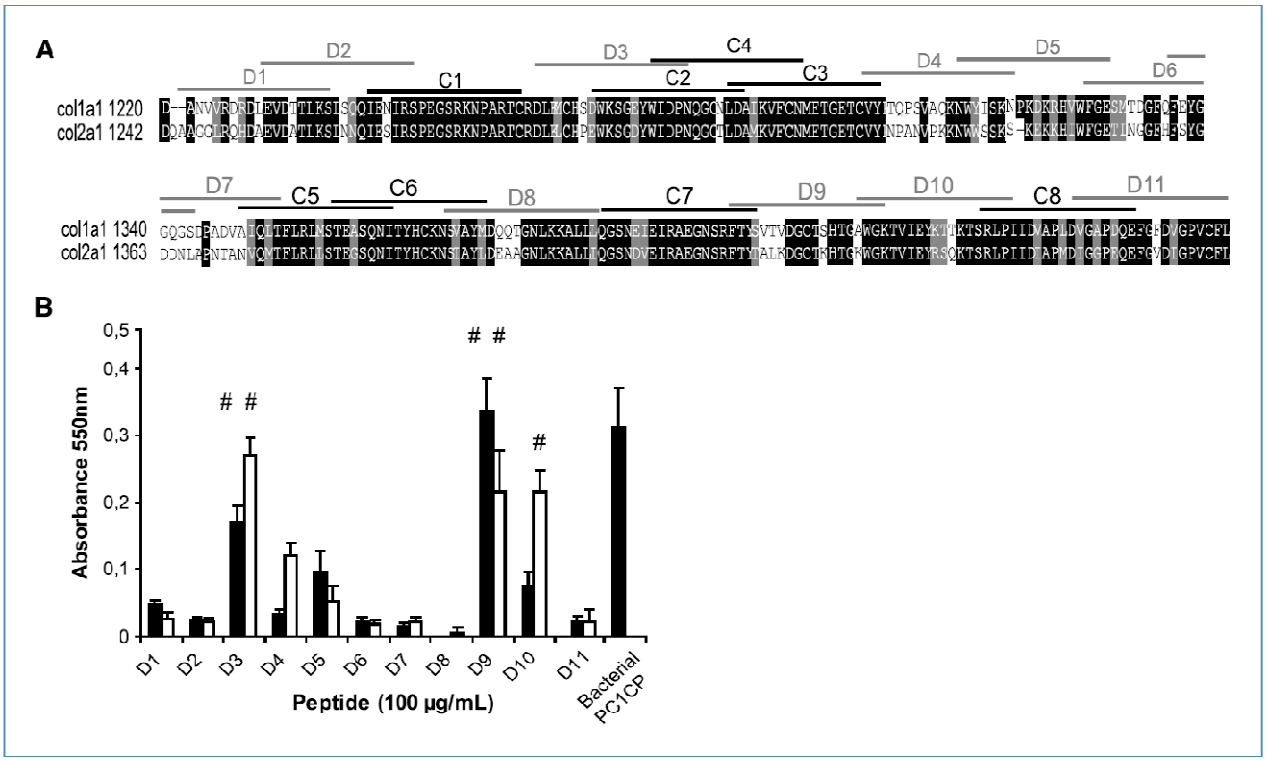


Figure 4. Peptides corresponding to divergent regions of PC1CP and PC2CP induce PHC attachment. A, alignment of PC1CP and PC2CP primary sequences. Amino acid positions were numbered according to their positions in the corresponding procollagens. Amino acids boxed in black are identical in polypeptides and those boxed in gray are conserved. Peptide sequences derived from either PC1CP or PC2CP are shown by lines at the top of the sequences. Peptides conserved between the two proteins are annotated C1 (for conserved) to C8. Peptides corresponding to divergent regions are annotated D1 (for divergent) to D11. The threshold defining conservation was that a maximum of one amino acid should be functionally divergent. B, PHC attachment assay after coating of the indicated divergent peptides or PC1CP produced from bacteria at 100 µg/mL. Black boxes, peptides from PC1CP; white boxes: peptides from PC2CP. Columns, mean; bars, SD. #, $P < 0.01$ versus control.

Figure 16 : séquences en acides-aminés de C1CP et C2CP. Vincourt *et al.* Cancer Research(58)

Partie II : Matériel et méthode

A. Constitution d'une population de patient

1. Caractéristiques des échantillons étudiés, critères d'inclusion dans l'étude

80 échantillons ont été analysés, 34 chondromes, 46 chondrosarcomes, 5 prélèvements de cartilage arthrosique, et 6 prélèvements de cartilage sain.

Les échantillons étudiés provenaient de pièces opératoires, de biopsies chirurgicales, ou de biopsies scanno-guidées. Nous avons travaillé sur du matériel inclus en paraffine. Nous avons d'abord recherché les patients pour lesquels le diagnostic de chondrosarcome avait été porté entre 2000 et 2009. Puis pour chaque patient, nous avons relu les lames afin de choisir celle qui représentait le mieux les caractéristiques morphologiques de la tumeur. Enfin nous n'avons retenu dans notre sélection que les patients pour lesquels nous ne risquions pas d'épuiser le matériel archivé.

Nous avons procédé de la même façon pour les chondromes. La moyenne du suivi des patients est de 38 mois.

a) Chondrosarcomes

Entre 2000 et 2009, nous avons recensé 50 tumeurs pour 48 patients. Sur les 50 prélèvements analysés, 4 ont été exclus de notre étude.

- Deux prélèvements ont été exclus car il s'agissait uniquement de matériel biopsique sans pièce opératoire. Nous avons considéré qu'il n'y avait pas assez de matériel pour notre étude.
- Deux prélèvements ont été techniqués et exclus secondairement car ils étaient ininterprétables en raison du décollement de la lame.

Nous avons donc retenus 46 tumeurs pour 44 patients :

- 10 chondrosarcomes de grade 1 pour 9 patients (pour un patient nous avons analysé la biopsie ainsi que la pièce opératoire).
- 24 chondrosarcomes de grade 2 pour 23 patients (pour un patient nous avons analysé la pièce de résection puis la biopsie de la récidive trois ans plus tard).
- 5 chondrosarcomes de grade 3 pour 5 patients.
- 2 chondrosarcomes mésenchymateux pour 2 patients.
- 4 chondrosarcomes dédifférenciés pour 4 patients.
- 1 chondrosarcome à cellules claires.

b) Chondromes

Entre 2000 et 2009, 169 patients ont été opérés et pour certains d'entre eux à plusieurs reprises. 134 patients ont été exclus dès le début car il y avait peu de matériel et celui-ci était trop fragmenté. Nous avons sélectionné 36 tumeurs pour 35 patients. Après les étapes techniques, 34 tumeurs pour 33 patients sont retenues. Deux prélèvements ont été exclus pour décollement.

c) Cartilages sains et cartilages arthrosiques

Notre sélection de cartilages sains provient de pièces opératoires de patients amputés dans un contexte d'ostéosarcome restant situé à distance du cartilage articulaire. Notre sélection de cartilages arthrosiques provient d'interventions d'arthroplasties de hanche ou de genou avec mise en place de prothèses.

Tableau 2 : données cliniques

N°	SEXE	AGE	LOCALISATION	GRADE	TRAITEMENT	RADIOTHERAPIE	CHIMIO	RECIDIVE	METASTASE	SUIVI (MOIS)
1	F	12	fémur gauche	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	40
2	F	6	tibia gauche	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	94
3	F	13	fémur droit	0	exérèse	non	non	non	N	30
4	F	9	tibia gauche	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	61
5	F	24	humérus gauche	0	curetage	non	non	non	N	28
6	M	13	humérus gauche	0	curetage greffe	non	non	non	N	1
7	F	13	métacarpe droit	0	exérèse comblement	non	non	non	N	38
8	M	42	P1D5G	0	exérèse curetage	non	non	non	N	0
9	M	41	P1D4D	0	curetage comblement	non	non	non	N	0
10	F	37	tibia droit	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	59
11	F	44	humérus gauche	0	curetage	non	non	non	N	0
12	F	18	3eme cote D	0	chirurgie élargie	non	non	non	N	72
13	M	43	fémur gauche	0	curetage comblement	non	non	non	N	72
14	F	39	fémur droit	0	curetage	non	non	?	?	0
15	M	27	humérus droit	0	curetage comblement	non	non	non	N	6
16	F	57	humérus gauche	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	16
17	F	40	fémur droit	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	30
18	F	48	fibula gauche	0	curetage	non	non	non	N	7
19	M	33	P1,2,3 D2G	0	curetage comblement	non	non	non	N	3
20	F	46	humérus droit	0	exérèse comblement	non	non	non	N	12
21	F	53	fibula gauche	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	28
22	M	61	P1D1G pied	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	1
23	M	51	humérus droit	0	exérèse comblement	non	non	non	N	23
24	F	52	tibia droit	0	curetage comblement	non	non	non	N	17
25	M	50	fémur gauche	0	biopsie exérèse	non	non	non	N	26
26	M	42	P1D2D	0	curetage comblement	non	non	non	N	0
27	M	63	P1D1G pied	0	curetage comblement	non	non	non	N	3
28	F	45	4^{e} métacarpe gauche	0	curetage comblement	non	non	non	N	10
29	F	51	P2D4D	0	curetage greffe	non	non	non	N	14
30	M	23	P1D4G	0	exérèse comblement	non	non	oui	N	3
31	M	26	fémur droit	0	curetage	non	non	non	N	11
32	F	39	humérus gauche	0	biopsie sous scanner	non	non	?	?	0
33	M	33	P2D4G	0	curetage comblement	non	non	non	N	5

34	M	59	P2D3D	0	curetage	non	non	non	N	1
35	**M**	**50**	**fémur gauche**	**1**	**chirurgie marges +**	**non**	**non**	**oui**	**O**	**113**
36	M	48	humérus gauche	1	chirurgie élargie	non	non	non	N	78
37	F	74	fémur droit	2	chirurgie élargie	non	non	non	N	111
38	M	39	humérus droit	3	chirurgie élargie	non	non	non	N	59
39	F	27	tibia droit	més	chirurgie élargie	non	non	non	N	105
40	F	73	tibia droit	CC	curetage	oui	non	oui	O	82
41	F	39	côte 2 gauche	2	chirurgie marges proches	oui	non	non	N	101
42	F	36	mandibule gauche	3	chirurgie marges +	?	oui	?	?	0
43	M	55	ischion gauche	1	chirurgie marges +	non	non	non	O	19
44	M	61	bassin droit	2	chirurgie marges +	non	non	non	N	46
45	M	55	3e métacarpe gauche	2	chirurgie élargie	oui	oui	oui	O	74
46	F	54	bassin gauche	2	chirurgie élargie	non	non	non	N	106
47	F	50	paroi thoracique droite	3	chirurgie marges +	oui	non	oui	N	95
48	M	52	fémur gauche	2	chirurgie élargie	non	non	non	O	5
49	M	56	tibia gauche	2	curetage	oui	non	oui	O	92
50	F	46	mandibule gauche	2	chirurgie marges non évaluables	oui	non	non	N	84
51	M	29	tibia droit	1	chirurgie élargie	non	non	non	N	86
52	F	39	extraosseux, jambe droite	2	chirurgie élargie	non	non	non	N	46
53	F	68	fémur droit	2	chirurgie élargie	non	non	non	N	1
54	M	42	cotyle gauche	1	chirurgie marges proches	non	non	non	N	79
55	M	68	cotyle gauche	2	chirurgie marges +	oui	non	non	N	74
56	M	75	côtes 5,6,7,8 gauches	2	chirurgie élargie	non	non	non	N	51
57	**M**	**49**	**humérus gauche**	**dédif**	**chirurgie marges non évaluables**	**non**	**non**	**non**	**O**	**2**
58	M	55	bassin gauche	2	chirurgie marges +	oui	non	non	N	65
59	M	65	bassin droit	3	chirurgie élargie	oui	non	oui	O	19
60	M	73	extrasquelettique cuisse gauche	2	chirurgie marges proches	oui	non	non	N	61
61	F	45	fémur droit	més	chirurgie élargie	oui	oui	oui	O	33
62	M	30	fémur gauche	1	Curetage comblement	non	non	non	N	54
63	M	75	humérus gauche	2	chirurgie élargie	non	non	non	N	5
64	M	81	mandibule droite	dédif	chirurgie marges +	non	non	oui	N	24
65	F	74	radius gauche	1	chirurgie marges non évaluables	non	non	non	N	49
66	M	59	tibia gauche	2	chirurgie élargie	non	non	non	O	47
67	M	50	vertèbres T7T8	1	chirurgie élargie	non	non	non	N	48
68	F	56	humérus gauche	2	chirurgie marges proches	non	non	non	N	49

69	**F**	**77**	**cotes 3,4,5 droites**	**dédif**	**chirurgie marges +**	**oui**	**non**	**oui**	**O**	**14**
70	F	67	ethmoïde gauche	2	chirurgie sans autre info	non	non	oui	N	158
71	**F**	**86**	**fémur droit**	**dédif**	**chirurgie marges +**	**non**	**non**	**non**	**N**	**2**
72	**M**	**78**	**vertèbre T3**	**2**	**chirurgie marges +**	**oui**	**non**	**oui**	**N**	**44**
73	M	28	tibia gauche	2	perdu de vue	?	?	?	?	0
74	F	58	fémur gauche	3	chirurgie marges +	non	non	non	O	5
75	F	56	cubitus droit	1	biopsie exérèse	non	non	non	N	31
76	F	56	cubitus droit	1	chirurgie marges +	non	non	non	N	31
77	M	53	P1D2D pied	2	chirurgie élargie	non	non	non	N	24
78	F	53	fémur gauche	2	chirurgie élargie	non	non	non	O	33
79	**M**	**74**	**ethmoïde droit**	**2**	**chirurgie marges non évaluables**	**non**	**non**	**oui**	**N**	**6**
80	F	58	scapula gauche	2	chirurgie marges +	non	non	non	N	18

Grade 0 = chondromes ; grades 1,2,3 = chondrosarcomes de grades 1,2,3 ; CC = chondrosarcome à cellules claires ; més = chondrosarcome mésenchymateux ; dédif = chondrosarcome dédifférencié ; lignes en gras = patient décédé

B. Immunohistochimie

1. Préparation des lames

La détection de C1CP et C2CP est réalisée sur coupes épaisses de 5 µm, montées à l'eau distillée sur des lames Superfrost plus (LABONORD), séchées pendant une heure sur une platine chauffante à 40°C puis placées à l'étuve une nuit à 37°C. Les coupes sont déparaffinées par immersion dans du Tissue clear (MEDITE) pendant dix minutes, puis réhydratées par passage dans des bains successifs d'éthanol de concentration décroissante (alcool absolu, alcool 95° , alcool 70°) pendant cinq minutes, puis immergées dans l'eau courante cinq minutes.

2. Inversion des conséquences de la fixation formolique

Les lames, disposées dans un porte lames, sont plongées dans un récipient contenant un tampon citrate 0,1M pH 6,0 comportant pour 500ml : 9ml d'acide citrique 0,1M, 41ml de citrate de sodium 0,1M et 450ml d'eau distillée pour compléter. L'ensemble est placé au bain-marie à 65°C pendant trente minutes. Les lames sont ensuite rincées à l'eau distillée. Les coupes sont cerclées au vernis hydrophobe afin de limiter l'écoulement des solutions d'anticorps. Les lames sont ensuite immergées dans un tampon TBST pH 7,4 pendant 5 minutes, puis égouttées et disposées à l'horizontal dans des chambres humides. Le tampon TBST est composé pour 1L de 12.1g de tris HCL, de 8.77g de NaCl, de 50µl de Tween 20.

3. Digestion enzymatique

La digestion enzymatique est nécessaire pour couper les protéoglycanes de la matrice extracellulaire afin de faciliter la diffusion de l'anticorps primaire. Les enzymes sont conservées au congélateur à -20°C. Les lames sont disposées dans des chambres humides. Le milieu de digestion à base de hyaluronidase (500U/ml) et chondroïtinase (1U/ml) est déposée sur chaque lame. L'incubation dure 2 heures à 37°C. Les lames sont ensuite rincées deux fois de suite par immersion dans le tampon TBST pendant 5 minutes.

4. Blocage des peroxydases endogènes

Le blocage des peroxydases endogènes se fait en chambre humide. Des gouttes du kit de blocage (*kit dako LSAB + system-HRP K0679*) sont déposées sur chaque lame. L'incubation dure 20 minutes en chambre humide à température ambiante. Les lames sont ensuite rincées trois fois de suite dans le tampon TBST pendant cinq minutes.

Le blocage des sites non spécifiques se fait en chambre humide. Des gouttes de la solution BSA 5% (5g d'albumine diluée dans 100ml de tampon citrate) sont déposées sur chaque lame. L'incubation dure 1 à 2 heures à température ambiante en chambre humide.

Les coupes sont ensuite incubées avec l'anticorps primaire dilué dans la solution de BSA 5%, pendant une nuit, en chambre humide, à 4°C, à l'abri de la lumière.

Tableau 3 : anticorps utilisés en immunohistochimie et conditions techniques

anticorps	caractéristiques	dilutions	Références commerciales
C1CP	Polyclonal de poulet	1/200	**Eurogentech**
C2CP	Polyclonal de lapin	1/200	**Eurogentech**

Les lames sont ensuite rincées dans le tampon TBST pendant 5 minutes quatre fois de suite.

5. Détection des anticorps primaires : incubation de l'anticorps secondaire couplé à la biotine

Pour C1CP l'anticorps secondaire (anticorps anti-poulet de chèvre biotiné, Santacruz biotechnology) est dilué au 1/100. L'anticorps est déposé sur chaque lame et l'incubation dure 30 minutes en chambre humide à température ambiante.

Pour C2CP l'anticorps secondaire anti lapin du kit dako LSAB + system-HRP K0679 est déposé sur chaque lame et l'incubation dure 30 minutes en chambre humide à température ambiante. Les lames sont ensuite rincées dans le tampon TBST pendant 5 minutes quatre fois de suite.

La solution de streptavidine *(kit dako LSAB + system-HRP K0679*) est déposée sur chaque lame. L'incubation dure 30 minutes en chambre humide à température ambiante. Les lames sont ensuite rincées dans le tampon TBST pendant 5 minutes quatre fois de suite. Les lames sont ensuite rincées dans l'eau distillée pendant 5 minutes deux fois de suite.

6. Révélation avec la solution chromogène-substrat (DAB : di-amino-benzidine)

L'étape de révélation est effectuée sous contrôle microscopique, après dépôt de quelques gouttes de solution de DAB *(kit dako)*. Lorsque l'intensité du signal est satisfaisante, en moyenne entre 5 et 8 minutes, la réaction est stoppée par immersion dans l'eau distillée pendant cinq minutes deux fois de suite.

7. Montage des lames

Les lames sont contre-colorées pendant 10 secondes dans l'hématoxyline, puis sont rincées deux fois de suite à l'eau distillée pendant 5 minutes. Après déshydratation dans l'éthanol absolu, trois fois de suite, pendant cinq minutes, les lames sont ensuite immergées dans un bain de toluène pendant cinq minutes, trois fois de suite, et les lamelles sont montées à l'Eukitt® (LABONORD).

8. Témoins négatifs

Des lames ont été réalisées comme témoins négatifs d'une part sans anticorps primaire et d'autre part sans anticorps secondaire.

C. Analyse

Les lames d'immunohistochimie ont été lues de façon indépendante par deux observateurs (JMV, CLD). L'évaluation a porté sur les critères suivants :

- **La distribution** du marquage dans la matrice extracellulaire a été cotée de 1 à 4 en fonction du pourcentage de surface marquée :
    - 1 : 0 à 5% de la surface marquée
    - 2 : 6 à 25% de la surface marquée
    - 3 : 26 à 50% de la surface marquée
    - 4 : plus de 50% de la surface marquée
- **L'intensité** du marquage dans la matrice extracellulaire a été cotée de 1 à 3 :
    - 1 : marquage léger
    - 2 : marquage modéré
    - 3 : marquage fort
- **Un score** a été calculé pour chaque protéine en multipliant l'intensité par la distribution.
- **Le marquage intra-cytoplasmique** a été analysé en fonction de sa répartition et de son intensité en quatre classes :
    - marquage focal de faible intensité
    - marquage diffus de faible intensité
    - marquage focal de forte intensité
    - marquage diffus de forte intensité

D. Statistiques

La saisie des données a été réalisée à l'aide du logiciel EXEL. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de madame le docteur Phi Linh Nguyen Thi et de madame le docteur Elodie Speyer, du Service d'Epidémiologie et Evaluation Cliniques du CHU de Nancy.

Les données qualitatives font l'objet d'une comparaison par test de Chi-2, ou par test exact de Fischer en cas de faible effectif. Les données quantitatives font l'objet d'une comparaison par test de Wilcoxon. Le résultat est considéré comme significatif si la valeur de p est inférieure à 5%.

Partie III : Résultats

A. Caractéristiques de la population

1. Chondromes

34 tumeurs pour 33 patients ont été analysées.

Localisation : 12 chondromes des extrémités ; 21 chondromes des os longs ; 1 chondrome costal.

Enchondromatose : 4 patients présentaient une maladie d'Ollier, 1 patient présentait un syndrome de Maffucci.

Traitement : Tous les patients présentant un chondrome ont été traités par curetage, exérèse et comblement par ciment. Ils n'ont pas reçu de radiothérapie ou de chimiothérapie adjuvante.

Récidives : Un des patients a développé une récidive, il s'agissait d'un chondrome des extrémités.

2. Chondrosarcomes

a) Chondrosarcomes de grade 1 (n=9)

Traitement reçu en première ligne	Nombre de patients
Chirurgie (marges saines)	3
Chirurgie (marges tumorales)	1rm, 1m, 1
Chirurgie (marges saines mais proches)	1
Chirurgie (marges non évaluables)	1
Curetage comblement	1 (Ollier)

r : récidive ; m : métastase.

Localisation : 6 étaient situés au niveau des os longs ; 2 étaient situés au niveau du bassin ; 1 était situé au niveau des vertèbres.

Traitement : 1 a été traité par curetage comblement, 3 ont été traités par chirurgie élargie, 3 ont été traités par chirurgie avec marges positives, 1 a été traité par chirurgie (marges saines mais proches), 1 a été traité par chirurgie (marges non évaluables). Ils n'ont pas reçu de radiothérapie ou de chimiothérapie adjuvante.

Récidives : Sur les neuf patients, un a présenté une récidive, il s'agissait d'un chondrosarcome des os longs ayant bénéficié d'une chirurgie avec marges positives. La récidive correspondait à un chondrosarcome de grade 2.

Métastases : Sur les neuf patients deux ont développé des métastases, il s'agissait pour l'un d'entre eux du patient ayant également présenté une récidive. Pour le second patient, il s'agissait d'un chondrosarcome du bassin.

b) Chondrosarcomes de grade 2 (n=22)

Traitement reçu en première ligne	Nombre de patients/évolution
Curetage/radiothérapie	1rmc
Chirurgie (marges saines)	2m, 7
Chirurgie (marges saines)/radiothérapie/chimiothérapie	1rm
Chirurgie (marges tumorales)	2
Chirurgie (marges tumorales) radiothérapie	2, 1r
Chirurgie (marges proches)	1
Chirurgie (marges proches) radiothérapie	2
Chirurgie (marges non évaluables)	1r
Chirurgie (marges non évaluables) radiothérapie	1
Chirurgie (sans autre information)	1r
Perdu de vue après la biopsie	1(Ollier)

r : récidive ; c : chirurgie ; m : métastase.

Localisation : 8 étaient situés au niveau des os longs ; 4 étaient situés au niveau du bassin ; 3 étaient situés au niveau des os de la face ; 2 étaient situés au niveau des extrémités ; 2 étaient situés en extra-squeletique ; 2 étaient situés au niveau des côtes ; 1 était situé au niveau de la scapula ; 1 était situé au niveau d'une vertèbre.

Traitement : 10 ont bénéficié d'une chirurgie élargie première et un de ces patients a reçu une radiothérapie et une chimiothérapie, a présenté une récidive et développé des métastases, il s'agissait d'un chondrosarcome du métacarpe. Deux autres patients ont développé des métastases, il s'agissait de chondrosarcomes des os longs.

1 patient a bénéficié d'un curetage/radiothérapie initialement sur des critères radiologiques (non obtenus). Il a présenté une récidive deux ans plus tard, a été opéré par chirurgie élargie. Il a également développé des métastases. Il s'agissait d'un chondrosarcome du tibia.
1 a été perdu de vue après le diagnostic. Il présentait une maladie d'Ollier.
5 patients ont été opérés avec des marges chirurgicales positives. 3 des 5 ont bénéficié d'une radiothérapie. 1 des 3 a présenté une récidive, il s'agissait d'un chondrosarcome de localisation vertébrale.
3 patients ont été opérés avec des marges saines mais proches de la tumeur. 2 des 3 ont bénéficié de radiothérapie adjuvante. Aucun patient n'a présenté de récidive.
Pour 2 patients les marges n'étaient pas évaluables. 1 des 2 a bénéficié d'une radiothérapie adjuvante et le second a présenté une récidive.
Pour un patient, le traitement a consisté en une chirurgie sans autre indication sur les marges (chirurgie ancienne et lieu inconnu). Il a présenté une récidive. Il s'agissait d'un chondrosarcome de l'ethmoïde.
Récidives : 5 patients ont présenté une récidive, il s'agissait du patient traité initialement par curetage/radiothérapie (chondrosarcome du tibia), d'un patient opéré avec marges chirurgicales saines (lésion du métacarpe), d'un patient traité par chirurgie avec marges chirurgicales positives (lésion de la vertèbre T3), d'un patient traité par chirurgie dont les marges n'étaient pas évaluables (lésion de l'ethmoïde), et d'un patient traité par chirurgie sans autre information sur les marges chirurgicales (lésion de l'ethmoïde).
Métastases : 4 patients ont développé des métastases. Il s'agissait du patient traité initialement par curetage/radiothérapie, et de 2 patients traités par chirurgie élargie (lésion du métacarpe et lésion du fémur pour 2 patients).

c) Chondrosarcomes de grade 3 (n=5)

Traitement de première ligne	**Nombre de patients / évolution**
Chirurgie (marges saines)	1, 1rmR
Chirurgie (marges tumorales)	1m (Ollier)
Chirurgie (mages tumorales) / radiothérapie	1r
Chirurgie (marges tumorales) / chimiothérapie	1 ?

R : radiothérapie ; r : récidive ; m : métastase ; c : chirurgie.

Localisation : 2 étaient situés au niveau des os longs. 1 était situé au niveau de la paroi thoracique. 1 était situé au niveau du bassin. 1 était situé au niveau du maxillaire inférieur.

Enchondromatose : 1 des 2 chondrosarcomes des os longs concernait un patient présentant une maladie d'Ollier.

Traitement : 2 patients ont bénéficié d'une chirurgie élargie avec marges saines. 1 des 2 a présenté une récidive, développé des métastases et a bénéficié de radiothérapie sur la récidive. 3 patients ont bénéficié d'une chirurgie avec marges positives. 1 des trois a présenté une récidive malgré la radiothérapie adjuvante. Le second atteint de maladie d'Ollier a développé des métastases. Le troisième avait reçu une chimiothérapie préalable, nous n'avons pas pu obtenir de données cliniques ultérieures à la chirurgie.

Récidives : 2 patients ont récidivé, un avait bénéficié d'une chirurgie avec marges saines (bassin) et l'autre avait bénéficié d'une chirurgie avec marges en zone tumorale (fémur, maladie d'Ollier).

Métastases : 3 patients ont développé des métastases. 1 avait bénéficié de la chirurgie élargie et les 2 autres avaient bénéficié d'une chirurgie avec marges en zone tumorale.

d) Chondrosarcomes dédifférenciés (n=4)

Traitement de première ligne	Nombre de patients / évolution
Chirurgie avec marges tumorales	1r, 1
Chirurgie avec marges tumorales/ radiothérapie	1rm
Chirurgie avec marges non évaluables	1m

r : récidive ; m : métastase.

Localisation : 2 étaient situés sur les os longs, 1 sur la mandibule et 1 sur l'arc costal.

Traitement : 3 ont été opérés et les marges chirurgicales étaient en zone tumorale. 1 des 3 a bénéficié d'une radiothérapie (localisation costale). 1 a été opéré et les marges chirurgicales n'étaient pas évaluables (humérus).

Récidives : 2 ont présenté une récidive. Il s'agissait du chondrosarcome costal (marges positives, radiothérapie) et du chondrosarcome de la mandibule (marges positives).

Métastases : 2 ont développé des métastases. Il s'agissait du chondrosarcome costal (marges positives, radiothérapie) et du chondrosarcome de l'humérus (marges non évaluables).

e) Chondrosarcomes mésenchymateux (n=2)

Traitement de première ligne	Nombre de patients
Chirurgie marges saines	1
Chirurgie marges saines/radiothérapie/chimiothérapie	1rm

r : récidive ; m : métastase.

Localisation : les 2 étaient localisés aux os longs.

Traitement : les 2 ont bénéficié d'une chirurgie élargie avec marges saines. 1 des 2 a bénéficié d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie.

Récidives : 1 des 2 a présenté une récidive. Il s'agissait du patient ayant reçu les thérapies adjuvantes.

Métastases : 1 des 2 a développé des métastases. Il s'agissait du patient ayant reçu les thérapies adjuvantes.

f) Chondrosarcome à cellules claires (n=1)

Localisation : il était situé au niveau du tibia.

Traitement : Il a bénéficié d'un curetage et de radiothérapie.

Récidives et métastases: Il a présenté une récidive, a développé des métastases, et a bénéficié d'une chirurgie élargie après la récidive.

B. Immunohistochimie

1. Tableaux des résultats de C1CP et C2CP

Tableau 4 : résultats du marquage en immunohistochimie

cas	grade	C1CP Distrib	C1CP Intensité	C1CP Score	C1CP IC	C2CP Distrib	C2CP Intensité	C2CP Score	C2CP IC
1	0	2	3	6	0	3	1*	3	1F
2	0	4	2	8	0	1	1*	1	1F
3	0	2	3	6	0	0	0	0	2D
4	0	3	3	9	0	2	1	2	2D
5	0	3	2	6	0	2	1	2	1D
6	0	1	1	1	0	0	0	0	1F
7	0	1	3	3	0	0	0*	0	1D
8	0	4	2	8	2D	0	0*	0	1D
9	0	4	3	12	0	2	1	2	1D
10	0	4	3	12	1F	3	3	9	1F
11	0	1	1	1	0	3	3	9	1D
12	0	1	2	2	0	2	2	4	1D
13	0	4	3	12	0	2	2*	4	1F
14	0	1	2	2	0	1	1	1	0
15	0	3	3	9	0	1	1	1	1D
16	0	2	1	2	0	3	2	6	1F
17	0	3	2	6	1F	4	3	12	1D
18	0	2	2	4	0	4	3*	12	2F
19	0	1	1	1	0	0	0	0	2D
20	0	3	2	6	1F	2	3*	6	1F
21	0	2	3	6	0	0	0*	0	2D
22	0	4	3	12	0	4	1	4	2D
23	0	1	1	1	1F	0	0	0	1F
24	0	2	3	6	1F	1	3*	3	1F
25	0	1	1	1	1F	2	3*	6	2F
26	0	3	3	9	2D	0	0	0	2D
27	0	1	2	2	1F	1	2	2	2D
28	0	2	3	6	2D	4	2	8	2D
29	0	2	2	4	0	3	2	6	2D
30	0	3	2	6	1D	3	1	3	2D
31	0	3	1	3	0	2	3*	6	1F
32	0	2	2	4	1F	2	3	6	2D
33	0	3	3	9	0	2	1	2	2D
34	0	1	1	1	1F	1	1	1	2D
35	I	2	2	4	1F	1	1	1	1F
36	I	2	2	4	0	2	2	4	1D
37	II	1	2	2	0	0	0	0	2D
38	III	2	2	4	0	0	0	0	1D
39	més	4	3	12	0	3	3	9	0
40	c. cl	4	3	12	0	1	1	1	1F
41	II	4	3	12	0	0	0	0	1D
42	III	3	3	9	0	3	2	6	1F
43	I	4	1	4	2D	0	0	0	2F
44	II	3	2	6	0	0	0	0	1F
45	II	3	2	6	1F	0	0	0	0
46	II	4	3	12	1F	4	3	12	2D
47	III	1	2	2	1F	0	0	0	1D
48	II	3	2	6	1F	4	2	8	2D
49	II	1	1	1	1F	0	0	0	1F
50	II	4	3	12	2D	1	1	1	1F
51	I	4	3	12	0	4	3	12	2D

52	II	4	3	12	2D	3	1	3	1D
53	II	3	1	3	0	0	0	0	0
54	I	3	3	9	1F	0	0	0	1D
55	II	4	2	8	2D	1	1	1	2D
56	II	4	3	12	0	1	1	1	1D
57	dédif	2	2	4	0	0	0	0	1D
58	II	2	2	4	0	2	2	4	2D
59	III	2	2	4	0	0	0	0	1F
60	II	1	1	1	1D	0	0	0	1D
61	més	3	1	3	1D	0	0	0	1F
62	I	3	3	9	2D	0	0	0	2D
63	II	1	3	3	0	0	0	0	1D
64	dédif	4	3	12	0	0	0	0	1F
65	I	3	3	9	2D	2	1	2	2D
66	II	4	3	12	1D	1	1	1	1D
67	I	4	3	12	0	1	1	1	1D
68	II	4	2	8	2D	0	0	0	2D
69	dédif	4	2	8	0	3	2	6	1D
70	II	4	3	12	1D	0	0	0	2F
71	dédif	2	2	4	1D	2	1	2	1F
72	II	4	3	12	0	4	3	12	2D
73	II	4	2	8	2D	0	0	0	2D
74	III	0	0	0	1F	0	0	0	2D
75	I	3	2	6	1F	3	2	6	2D
76	I	0	0	0	1F	2	3	6	0
77	II	3	2	6	0	0	0	0	1D
78	II	4	2	8	1D	4	3*	12	2D
79	II	4	3	12	0	0	0	0	2D
80	II	4	3	12	2D	1	2*	2	2F

Légende : Distrib = distribution ;IC = intra-cytoplasmique ; 0 = chondrome ; I = chondrosarcome de grade1 ; II = chondrosarcome de grade 2 ; III = chondrosarcome de grade 3 ; dédif = chondrosarcome dédifférencié ; c.cl = chondrosarcome à cellules claires ; més = chondrosarcome mésenchymateux ; D = diffus ; F = focal ; * = zones C2CP intenses .

2. Comparaison chondromes versus chondrosarcomes

- **Distribution de C1CP :** 82,4% des chondromes présentent moins de 50% de leur surface marquée. 45% des chondrosarcomes présentent plus de 50% de leur surface marquée (p=0,0097).
- **Intensité de C1CP :** Il n'y a pas de différence significative. 76,5% des chondromes et 84,8% des chondrosarcomes présentent un marquage modéré à fort de la matrice.
- **score de C1CP :** la moyenne des scores des chondromes est de 5,5. La moyenne des scores des chondrosarcomes est de 7,2. Ce résultat n'est pas significatif (p=0,054) mais il montre une tendance à un score plus élevé dans les chondrosarcomes.
- **C1CP intra-cytoplasmique :** Il n'y a pas de différence significative.
- **Distribution de C2CP :** On observe que 50% des chondrosarcomes n'ont pas de marquage avec C2CP.
- **Intensité de C2CP :** 71,7% des chondrosarcomes ont un marquage absent ou de faible intensité avec C2CP.
- **Score de C2CP :** La moyenne des scores de C2CP dans les chondromes est de 3,6. La moyenne des scores de C2CP dans les chondrosarcomes est de 2,5. Cette différence est significative (p=0,0279).
- **C2CP intra-cytoplasmique :** Le marquage des C2CP intra-cytoplasmique concerne 97,1% des chondromes et 91,3% des chondrosarcomes. Il n'y a pas de différence significative.

Tableau 5 : comparaison entre les chondromes et les chondrosarcomes

	Chondromes N=34 (42.5%)			Chondrosarcomes N=46 (57.5%)			
	N	%/moy	ET*	N	%/moy	ET*	p**
sexe							0,3656
Homme	15	44,1		25	54,3		
Femme	19	55,9		21	45,7		
grade							<0,0001
chondrome	34	100		.			
Grade 1	.			10	21,7		
Grade 2	.			24	52,2		
Grade 3	.			5	10,9		
Mésenchymateux	.			2	4,3		
Cellules claires	.			1	2,2		
Dédifférencié	.			4	8,7		
Distribution de C1CP dans la matrice en 5 classes							**0,0227**
Pas de marquage	.			2	4,3		
1 à 5% de la surface marquée	10	29,4		5	10,9		
6 à 25% de la surface marquée	9	26,5		7	15,2		
26 à 50% de la surface marquée	9	26,5		11	23,9		
> 50% de la surface marquée	6	17,6		21	45,7		
Distribution de C1CP dans la matrice en 2 classes							**0,0097**
0 à 50% de la surface marquée	28	82,4		25	54,3		
plus de 50% de la surface	6	17,6		21	45,7		
Intensité de C1CP dans la matrice en 4 classes							0,3574
Pas de marquage	.	.		.	.		
Léger	8	23,5		5	10,9		
Modéré	12	35,3		19	41,3		
Fort	14	41,2		20	43,5		
Intensité de C1CP dans la matrice en 2 classes							0,3942
Peu ou pas de marquage	8	23,5		7	15,2		
Marquage modéré à fort	26	76,5		39	84,8		
Score de C1CP							0,0664
0	.			2	4,3		
1	6	17,6		2	4,3		
2	4	11,8		2	4,3		
3	2	5,9		3	6,5		
4	3	8,8		8	17,4		
6	9	26,5		5	10,9		
8	2	5,9		5	10,9		
9	4	11,8		4	8,7		
12	4	11,8		15	32,6		
Score total C1CP	34	**5,5**	3,6	46	**7,2**	4,1	**0,054**
C1CP intra-cytoplasmique en 5 classes							0,1894
pas de marquage	21	61,8		21	45,7		
diffus faible	1	2,9		6	13		
focal faible	9	26,5		10	21,7		
diffus fort	3	8,8		9	19,6		
focal fort	.	.		.	.		
C1CP intra-cytoplasmique en 3 classes							0,1018
pas de marquage	21	61,8		21	45,7		
diffus	4	11,8		15	32,6		
focal	9	26,5		10	21,7		

	Chondromes N=34 (42.5%)			**Chondrosarcomes** N=46 (57.5%)			
	N	%/moy	ET*	N	%/moy	ET*	p**
Distribution de C2CP dans la matrice en 5 classes							0,0926
Pas de marquage	8	23,5		23	50		
1 à 5% de la surface marquée	6	17,6		8	17,4		
6 à 25% de la surface marquée	10	29,4		5	10,9		
26 à 50% de la surface marquée	6	17,6		5	10,9		
> 50% de la surface marquée	4	11,8		5	10,9		
Distribution de C2CP dans la matrice en 2 classes							1
0 à 50% de la surface marquée	30	88,2		41	89,1		
> 50% de la surface marquée	4	11,8		5	10,9		
Intensité de C2CP dans la matrice en 4 classes							0,0948
Pas de marquage	8	23,5		23	50		
Léger	11	32,4		10	21,7		
Modéré	6	17,6		7	15,2		
Fort	9	26,5		6	13		
Intensité de C2CP dans la matrice en 2 classes							0,1614
Peu ou pas de marquage	19	55,9		33	71,7		
Marquage modéré à fort	15	44,1		13	28,3		
Score C2CP							0,2405
0	8	23,5		23	50		
1	4	11,8		7	15,2		
2	5	14,7		3	6,5		
3	3	8,8		1	2,2		
4	3	8,8		2	4,3		
6	6	17,6		4	8,7		
8	1	2,9		1	2,2		
9	2	5,9		1	2,2		
12	2	5,9		4	8,7		
Score total C2CP	34	**3,6**	3,5	46	**2,5**	3,8	**0,0279**
C2CP intra-cytoplasmique en 5 classes							0,7651
pas de marquage	1	2,9		4	8,7		
diffus faible	8	23,5		14	30,4		
focal faible	10	29,4		10	21,7		
diffus fort	13	38,2		15	32,6		
focal fort	2	5,9		3	6,5		
C2CP intra-cytoplasmique en 3 classes							0,5365
pas de marquage	1	2,9		4	8,7		
Diffus	21	61,8		29	63		
Focal	12	35,3		13	28,3		
métastases							0,0004
Métastases présentes	.			13	29,5		
Pas de métastase	32	100		31	70,5		
Manquant	2			2			

* écart-type

** Test du Chi-2 ou test exact de Fisher pour variables qualitatives, test de Wilcoxon pour les variables quantitatives

3. Comparaison tumeurs de bon pronostic versus tumeurs de mauvais pronostic

Le groupe « bon pronostic » comprend les chondromes, les chondrosarcomes de grade 1 et le chondrosarcome à cellules claires.

Le groupe « mauvais pronostic » comprend les chondrosarcomes de grade 2 et 3, les chondrosarcomes mésenchymateux et les chondrosarcomes dédifférenciés.

- **Distribution de C1CP :** 77,8% des tumeurs de bon pronostic ont moins de 50% de leur surface marquée par C1CP. 48,6% des tumeurs de mauvais pronostic ont plus de 50% de leur surface marquée par C1CP. Ce résultat est significatif (p=0,0177).
- **Intensité de C1CP :** Il n'y a pas de différence significative. 77,8% des tumeurs de bon pronostic et 85,7% des tumeurs de mauvais pronostic ont un marquage modéré à fort par C1CP.
- **Score de C1CP :** La moyenne des scores de C1CP dans les tumeurs de bon pronostic est de 5,9. La moyenne des scores de C1CP dans les tumeurs de mauvais pronostic est de 7,2. Cette différence n'est pas significative.
- **C1CP intra-cytoplasmique :** Il n'y a pas de différence significative. Cependant on note que 55,6% des tumeurs de bon pronostic et 48,6% des tumeurs de mauvais pronostic n'ont pas de marquage intra-cytoplasmique avec C1CP.
- **Distribution de C2CP :** 57,1% des tumeurs de mauvais pronostic n'ont pas de marquage avec C2CP. Il existe une différence significative par rapport au groupe des tumeurs de bon pronostic (p=0,0169).
- **Intensité de C2CP :** 57,1% des tumeurs de mauvais pronostic n'ont pas de marquage avec C2CP. Il existe une différence significative par rapport au groupe des tumeurs de bon pronostic (p=0,0253).
- **Score de C2CP :** La moyenne des scores de C2CP dans les tumeurs de bon pronostic est de 3,4. La moyenne des scores de C2CP dans les tumeurs de mauvais pronostic est de 2,3. Cette différence est significative (p=0,0152).
- **C2CP intra-cytoplasmique :** Il n'y a pas de différence significative. Cependant on note que 95,6% des tumeurs de bon pronostic et 91,4% des tumeurs de mauvais pronostic ont un marquage intra-cytoplasmique avec C2CP.

Tableau 6 : comparaison entre les tumeurs de bon pronostic (chondromes, chondrosarcomes de grade 1 et chondrosarcome à cellules claires) et les tumeurs de mauvais pronostic (chondrosarcomes de grade 2, 3, dédifférenciés et mésenchymateux)

	Bon pronostic N=45 (56.3%)			**Mauvais pronostic** N=35 (43.8%)			
	N	%/moy	ET*	N	%/moy	ET*	p**
sexe							0,822
Homme	22	48,9		18	51,4		
Femme	23	51,1		17	48,6		
grade							<0,0001
chondrome	34	75,6		.			
Grade 1	10	22,2		.			
Grade 2	.			24	68,6		
Grade 3	.			5	14,3		
Mésenchymateux	.			2	5,7		
Cellules claires	1	2,2		.			
Dédifférencié	.			4	11,4		
Distribution de C1CP dans la matrice en 5 classes							0,146
Pas de marquage	1	2,2		1	2,9		
1 à 5% de la surface marquée	10	22,2		5	14,3		
6 à 25% de la surface marquée	11	24,4		5	14,3		
26 à 50% de la surface marquée	13	28,9		7	20		
>50% de la surface marquée	10	22,2		17	48,6		
Distribution de C1CP dans la matrice en 2 classes							**0,018**
0 à 50% de la surface marquée	35	77,8		18	51,4		
>50% de la surface marquée	10	22,2		17	48,6		
Intensité de C1CP dans la matrice en 4 classes							0,624
Pas de marquage	1	2,2		1	2,9		
Léger	9	20		4	11,4		
Modéré	15	33,3		16	45,7		
Fort	20	44,4		14	40		
Intensité de C1CP dans la matrice en 2 classes							0,404
Peu ou pas de marquage	10	22,2		5	14,3		
Marquage modéré à fort	35	77,8		30	85,7		
Score C1CP							0,156
0	1	2,2		1	2,9		
1	6	13,3		2	5,7		
2	4	8,9		2	5,7		
3	2	4,4		3	8,6		
4	6	13,3		5	14,3		
6	10	22,2		4	11,4		
8	2	4,4		5	14,3		
9	7	15,6		1	2,9		
12	7	15,6		12	34,3		
Score total C1CP	45	5,9	3,7	35	7,2	4,1	0,19
C1CP intra-cytoplasmique en 5 classes							0,098
pas de marquage	25	55,6		17	48,6		
diffus faible	1	2,2		6	17,1		
focal faible	13	28,9		6	17,1		
diffus fort	6	13,3		6	17,1		
Focal fort	.	.		.	.		
C1CP intra-cytoplasmique en 3 classes							0,119
pas de marquage	25	55,6		17	48,6		
diffus	7	15,6		12	34,3		
focal	13	28,9		6	17,1		

	Bon pronostic N=45 (56.3%)			**Mauvais pronostic** N=35 (43.8%)			
	N	%/mou	ET*	N	%/moy	ET*	P**
Distribution de C2CP dans la matrice en 5 classes							0,017
Pas de marquage	11	24,4		20	57,1		
1 à 5% de la surface marquée	9	20		5	14,3		
6 à 25% de la surface marquée	13	28,9		2	5,7		
26 à 50% de la surface marquée	7	15,6		4	11,4		
> 50% de la surface marquée	5	11,1		4	11,4		
Distribution de C2CP dans la matrice en 2 classes							1
0 à 50% de la surface marquée	40	88,9		31	88,6		
> 50% de la surface marquée	5	11,1		4	11,4		
Intensité de C2CP dans la matrice en 4 classes							**0,027**
Pas de marquage	11	24,4		20	57,1		
Léger	15	33,3		6	17,1		
Modéré	8	17,8		5	14,3		
Fort	11	24,4		4	11,4		
Intensité de C2CP dans la matrice en 2 classes							0,159
Peu ou pas de marquage	26	57,8		26	74,3		
Marquage modéré à fort	19	42,2		9	25,7		
Score C2CP							0,172
0	11	24,4		20	57,1		
1	7	15,6		4	11,4		
2	6	13,3		2	5,7		
3	3	6,7		1	2,9		
4	4	8,9		1	2,9		
6	8	17,8		2	5,7		
8	1	2,2		1	2,9		
9	2	4,4		1	2,9		
12	3	6,7		3	8,6		
Score total C2CP	45	**3,4**	3,5	35	**2,3**	3,8	**0,015**
C2CP intra-cytoplasmique en 5 classes							0,892
pas de marquage	2	4,4		3	8,6		
diffus faible	11	24,4		11	31,4		
focal faible	12	26,7		8	22,9		
diffus fort	17	37,8		11	31,4		
focal fort	3	6,7		2	5,7		
C2CP intra-cytoplasmique en 3 classes							0,758
pas de marquage	2	4,4		3	8,6		
diffus	28	62,2		22	62,9		
focal	15	33,3		10	28,6		
métastases							0,012
Métastases présentes	3	7		10	30,3		
Pas de métastases	40	93		23	69,7		
Manquant	2			2			

* écart-type

** Test du Chi-2 ou test exact de Fisher pour variables qualitatives, test de Wilcoxon pour les variables quantitatives

4. Comparaison chondromes versus chondrosarcomes de grade 1

- **Distribution de C1CP :** Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. On note que 82,4% des chondromes et 70% des chondrosarcomes de grade1 ont moins de 50% de leur surface marquée.
- **Intensité de C1CP :** Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. On note que 76,5% des chondromes et 80% des chondrosarcomes de grade1 ont un marquage modéré à fort avec C1CP.
- **Score de C1CP :** La moyenne des scores de C1CP dans les chondromes est de 5,5. La moyenne des scores de C1CP dans les chondrosarcomes de grade 1 est de 6,9. Cette différence n'est pas significative.
- **C1CP intra-cytoplasmique :** Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. Cependant on note que 61,8% des chondromes et 30% des chondrosarcomes de grade 1 n'ont pas de marquage intra-cytoplasmique avec C1CP.
- **Distribution de C2CP :** Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. 88,2% des chondromes et 90% des chondrosarcomes de grade 1 ont moins de 50% de leur surface marquée par C2CP.
- **Intensité de C2CP :** Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. 55,9% des chondromes et 60% des chondrosarcomes de grade 1 ont un marquage léger ou absent par C2CP.
- **Score de C2CP :** La moyenne des scores de C2CP dans les chondromes est de 3,6. La moyenne des scores de C2CP dans les chondrosarcomes de grade 1 est de 3,2. Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes.
- **C2CP intra-cytoplasmique :** Il n'y a pas de différence significative entre les deux groupes. Cependant on note que 97,1% des chondromes et 90% des chondrosarcomes de grade 1 ont un marquage intra-cytoplasmique avec C2CP.

Tableau 7: comparaison entre les chondromes et les chondrosarcomes de grade 1

	chondromes N=34 (77.3%)			**Grade 1** N=10 (22.7%)			
	N	%/moy	ET*	N	%/moy	ET*	p**
sexe							0,2806
Homme	15	44,1		7	70		
Femme	19	55,9		3	30		
Distribution de C1CP dans la matrice en 5 classes							0,1044
Pas de marquage	.			1	10		
1 à 5% de la surface marquée	10	29,4		.			
6 à 25% de la surface marquée	9	26,5		2	20		
26 à 50% de la surface marquée	9	26,5		4	40		
> 50% de la surface marquée	6	17,6		3	30		
Distribution de C1CP dans la matrice en 2 classes							0,4024
0 à 50% de la surface marquée	28	82,4		7	70		
> 50% de la surface marquée	6	17,6		3	30		
Intensité de C1CP dans la matrice en 4 classes							0,4039
Pas de marquage	.			1	10		
Léger	8	23,5		1	10		
Modéré	12	35,3		3	30		
Fort	14	41,2		5	50		
Intensité de C1CP dans la matrice en 2 classes							1
Peu ou pas de marquage	8	23,5		2	20		
Marquage modéré à fort	26	76,5		8	80		
Score C1CP							0,1235
1	6	17,6		.			
2	4	11,8		.			
3	2	5,9		.			
4	3	8,8		3	30		
6	9	26,5		1	10		
8	2	5,9		.			
9	4	11,8		3	30		
12	4	11,8		2	20		
Score total C1CP	34	5,5	3,6	10	6,9	3,9	0,2814
C1CP intra-cytoplasmique en 5 classes							0,1576
pas de marquage	21	61,8		3	30		
diffus faible	1	2,9		.			
focal faible	9	26,5		4	40		
diffus fort	3	8,8		3	30		
focal fort	.	.		.	.		
C1CP intra-cytoplasmique en 3 classes							0,1096
pas de marquage	21	61,8		3	30		
diffus	4	11,8		3	30		
fort	9	26,5		4	40		

	chondromes N=34 (77.3%)			Grade 1 N=10 (22.7%)			
	N	%/moy	ET*	N	%/moy	ET*	p**
Distribution de C2CP dans la matrice en 5 classes							1
Pas de marquage	8	23,5		3	30		
1 à 5% de la surface marquée	6	17,6		2	20		
6 à 25% de la surface marquée	10	29,4		3	30		
26 à 50% de la surface marquée	6	17,6		1	10		
> 50% de la surface marquée	4	11,8		1	10		
Distribution de C2CP dans la matrice en 2 classes							1
0 à 50% de la surface marquée	30	88,2		9	90		
> 50% de la surface marquée	4	11,8		1	10		
Intensité de C2CP dans la matrice en 4 classes							1
Pas de marquage	8	23,5		3	30		
Léger	11	32,4		3	30		
Modéré	6	17,6		2	20		
Fort	9	26,5		2	20		
Intensité de C2CP dans la matrice en 2 classes							1
Peu ou pas de marquage	19	55,9		6	60		
Marquage modéré à fort	15	44,1		4	40		
Score C2CP							0,9976
0	8	23,5		3	30		
1	4	11,8		2	20		
2	5	14,7		1	10		
3	3	8,8		.			
4	3	8,8		1	10		
6	6	17,6		2	20		
8	1	2,9		.			
9	2	5,9		.			
12	2	5,9		1	10		
Score total C2CP	34	3,6	3,5	10	3,2	3,9	0,6292
C2CP intra-cytoplasmique en 5 classes							0,5825
pas de marquage	1	2,9		1	10		
diffus faible	8	23,5		3	30		
focal faible	10	29,4		1	10		
diffus fort	13	38,2		4	40		
focal fort	2	5,9		1	10		
C2CP intra-cytoplasmique en 3 classes							0,4498
pas de marquage	1	2,9		1	10		
diffus	21	61,8		7	70		
focal	12	35,3		2	20		
métastases							0,0523
Métastases présentes	.			2	20		
Pas de métastases	32	100		8	80		
Manquant	2			.			

* écart-type

** Test exact de Fisher pour variables qualitatives, test de Wilcoxon pour les variables quantitatives

5. Cartilage normal

Dans les échantillons de cartilage normal C1CP est observé dans la couche superficielle du cartilage articulaire au sein de la matrice, sans marquage intra-cytoplasmique.

C2CP n'est pas observé dans 4 cas sur 6. Dans un cas on note un marquage intra-cytoplasmique et dans un cas on note un marquage matriciel dans les couches profondes et superficielles.

6. Cartilage arthrosique

Sur les 5 cas sélectionnés, seul quatre ont été analysables, un s'est fortement décollé.

Nous notons que C1CP est présent dans différentes couches du cartilage arthrosique en fonction des échantillons (zones superficielle et intermédiaire) sans marquage intra-cytoplasmique.

C2CP est présent en situation péri-chondrocytaire dans le cartilage pathologique de façon hétérogène.

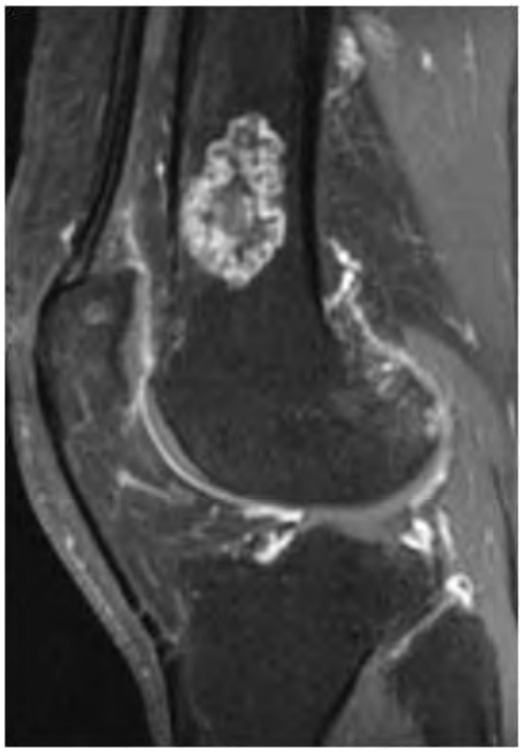
CHONDROME



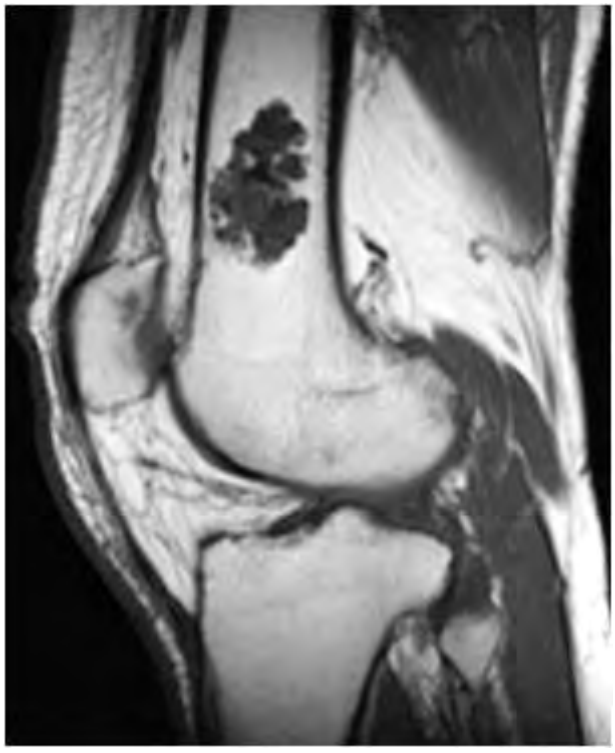
chondrome radio



chondrome scanner sagittal

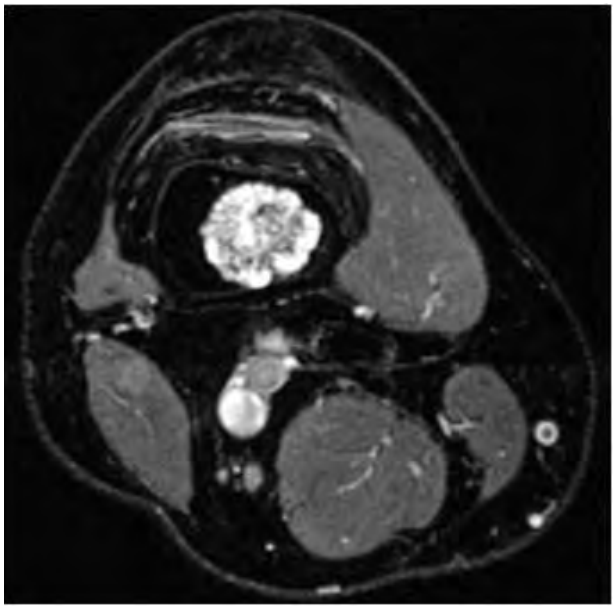


IRM sagittal T1 gado FS

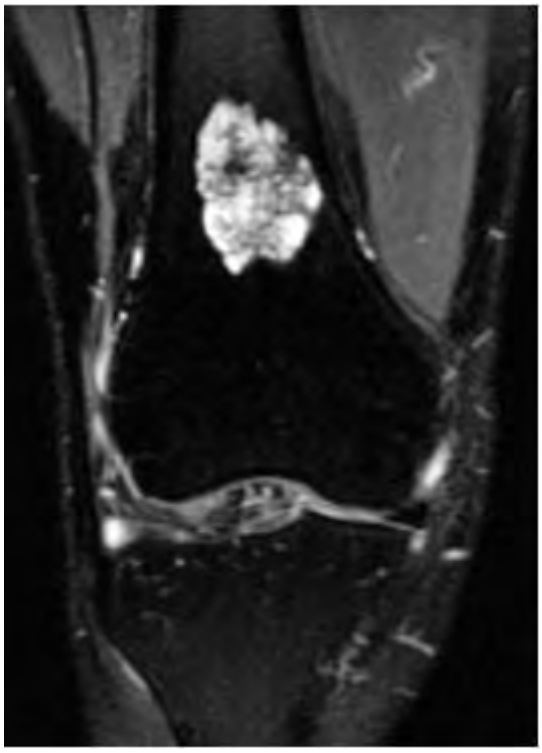


IRM sagittal T1

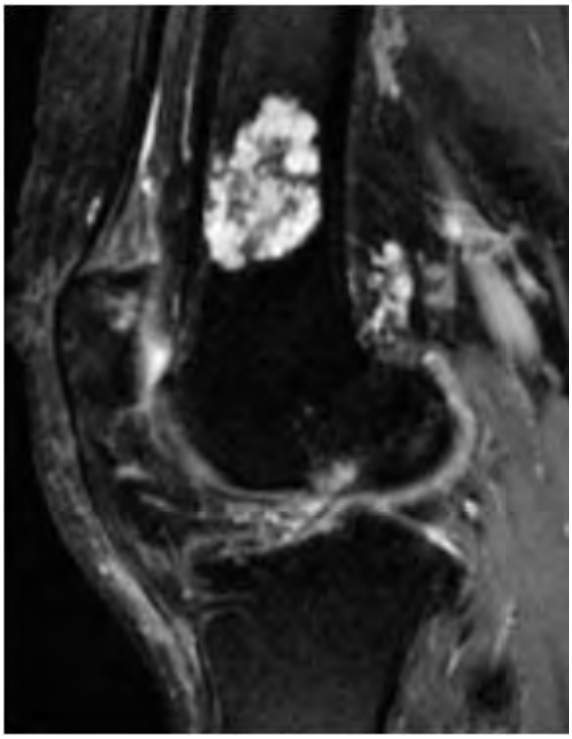
CHONDROME



IRM T2 FS axial

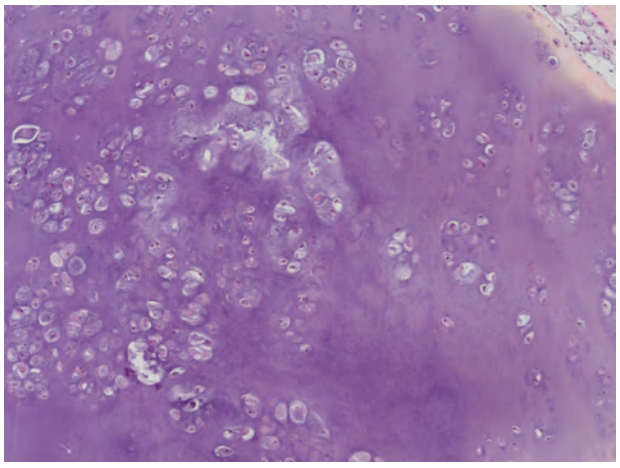


IRM T2 FS frontal

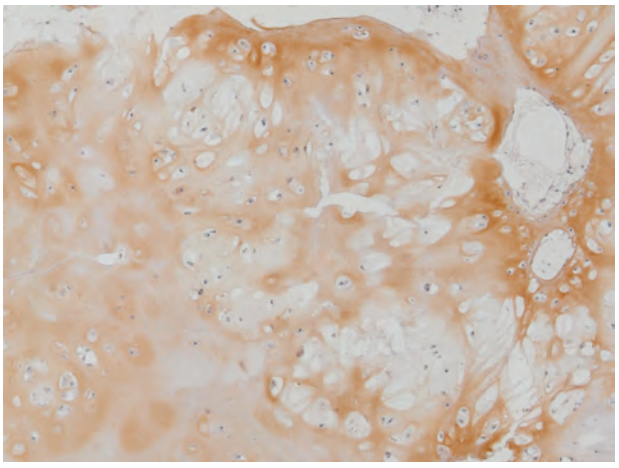


IRM T2 FS sagittal

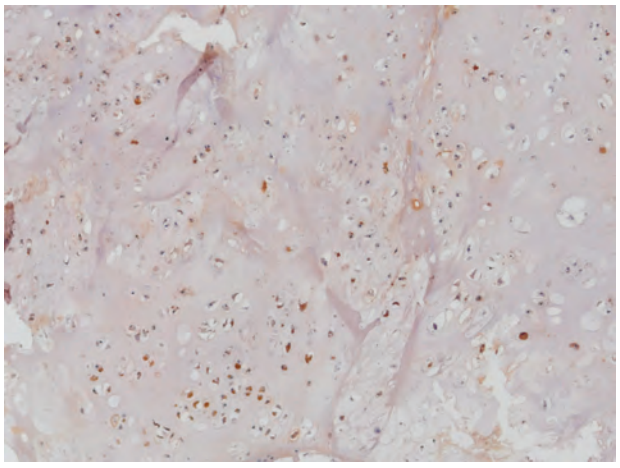
CHONDROME1



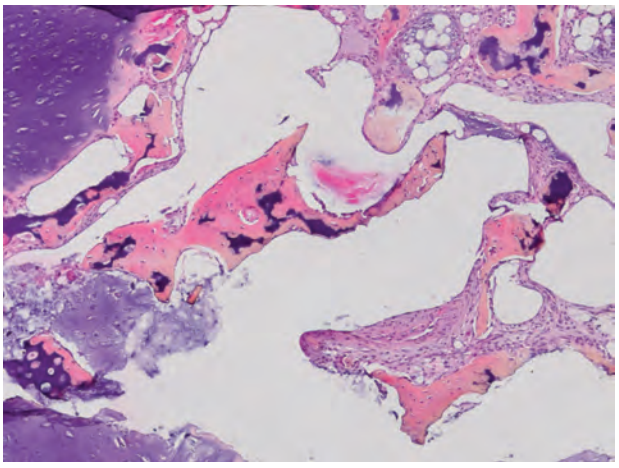
cas n°3 HES X10



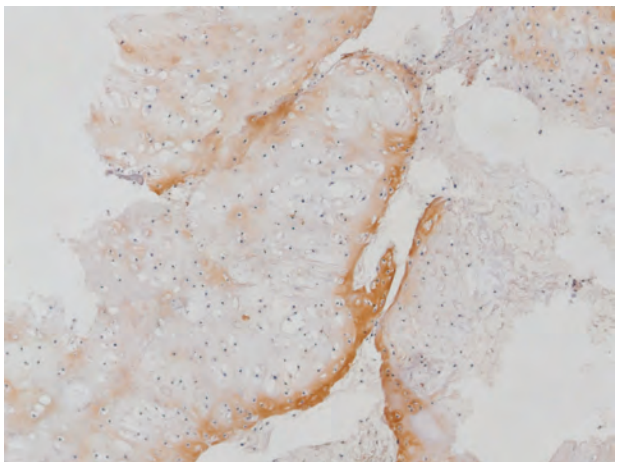
cas n°3 C1CP X10
distribution 2; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique



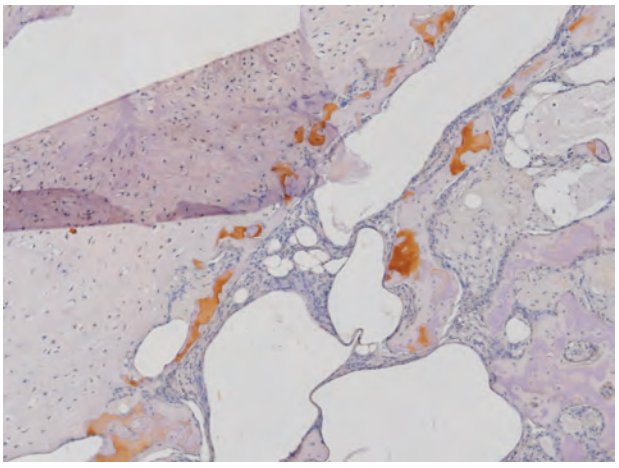
cas n°3 C2CP X10
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



cas n°7 HES X10

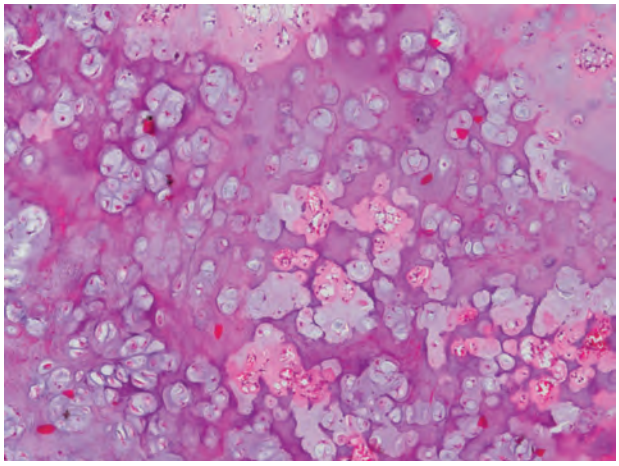


cas n°7 C1CP X10
distribution 1; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique

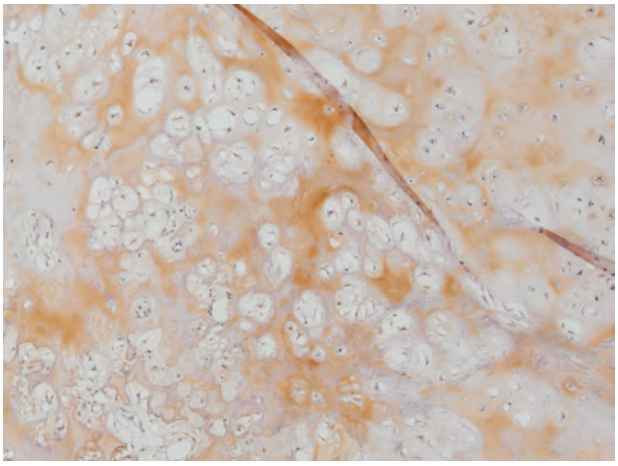


cas n°7 C2CP X10; zones denses;
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 1 diffus

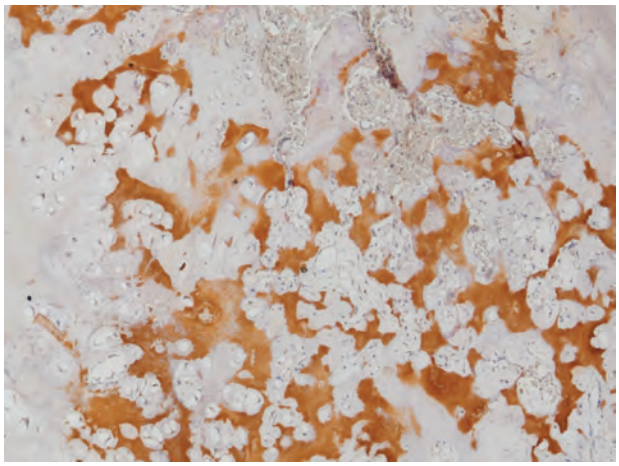
CHONDROME



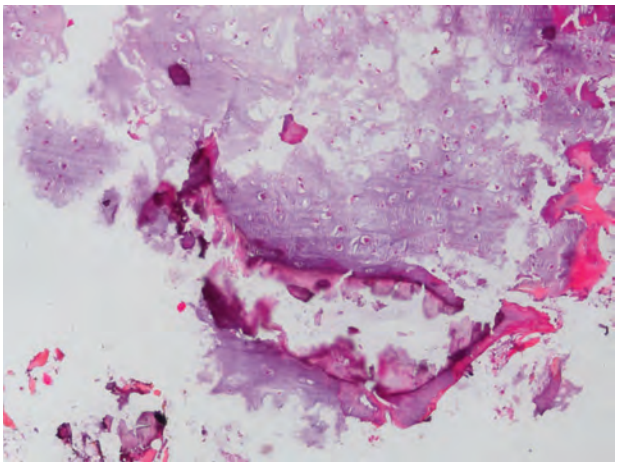
cas n°20 HES X10



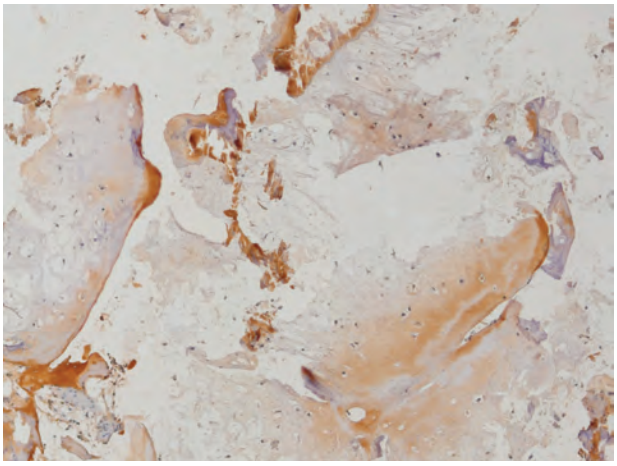
cas n°20 C1CP X10
distribution 3; intensité 2
marquage intra-cytoplasmique 1 focal



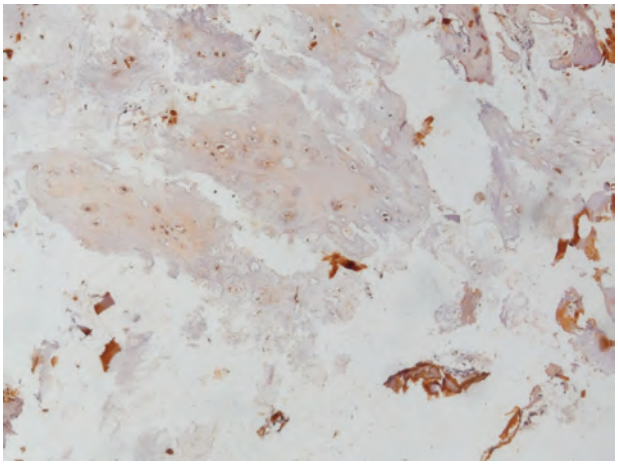
cas n°20 C2CP X10; zones denses
distribution 2; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 1 focal



cas n°21 HES X10

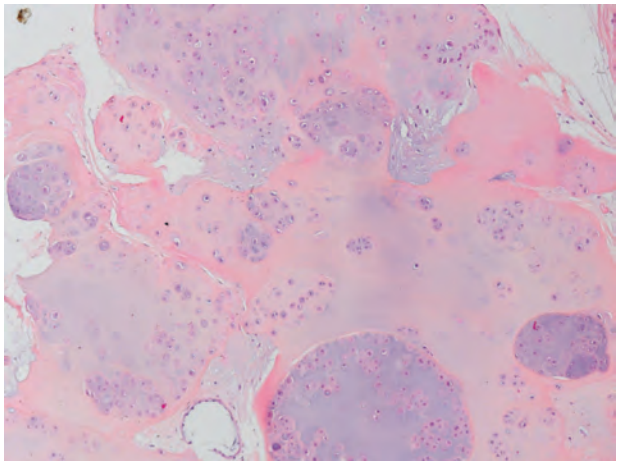


cas n°21 C1CP X10
distribution 2; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique

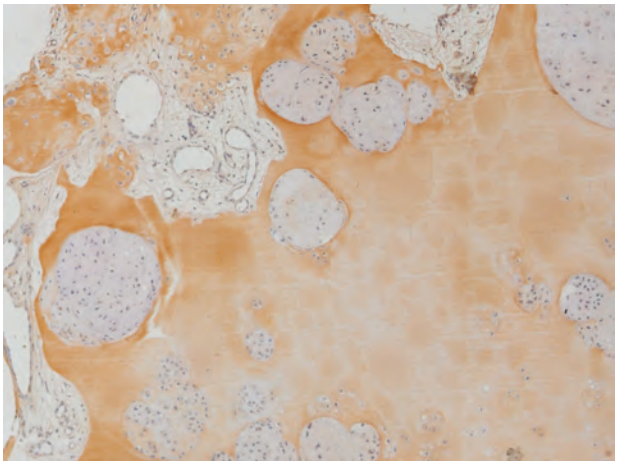


cas n°21 C2CP X10; zones denses
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus

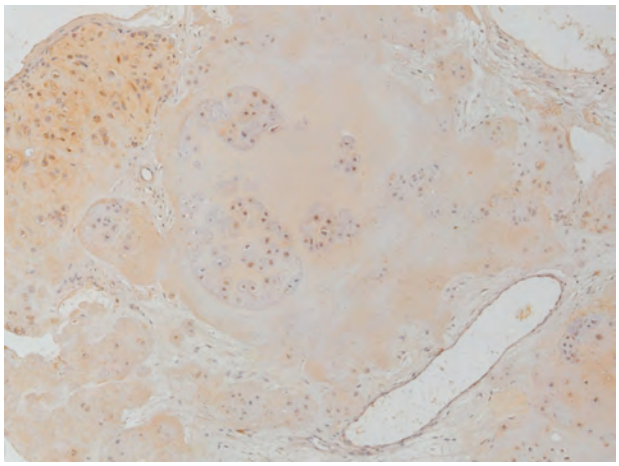
CHONDROME



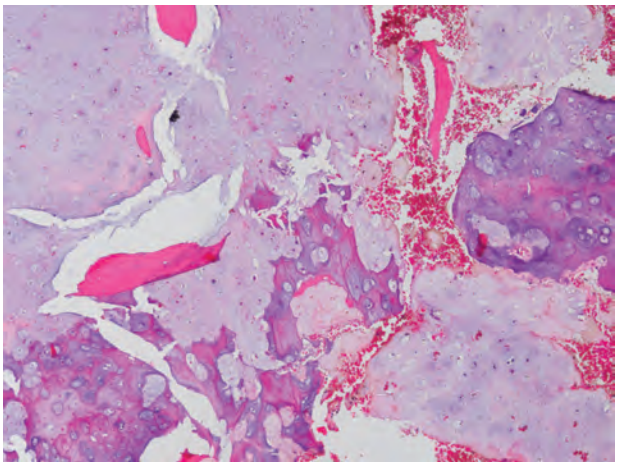
cas n°22 HES X10



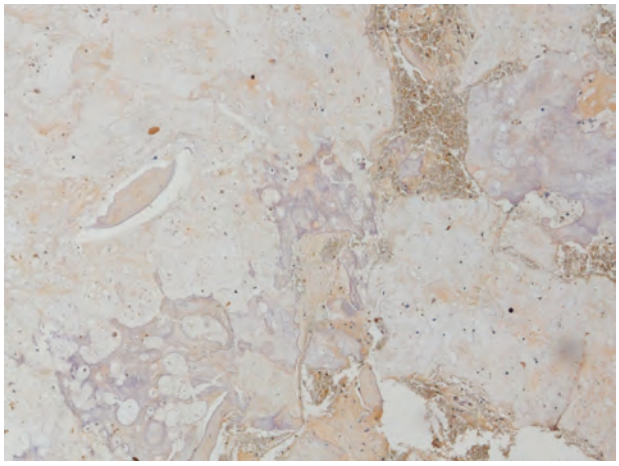
cas n°22 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique



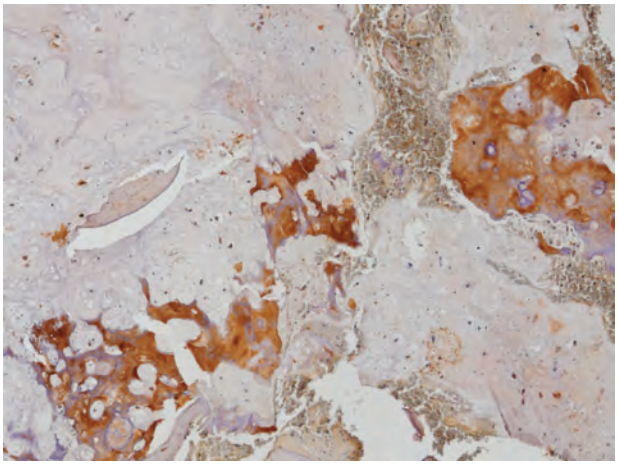
cas n°22 C2CP X10
distribution 4; intensité 1
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



cas n° 25 HES X10

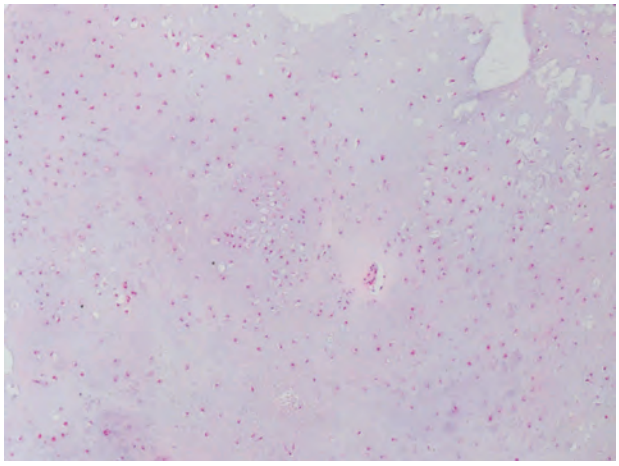


cas n°25 C1CP X10
distribution 1; intensité 1
marquage intra-cytoplasmique 1 focal

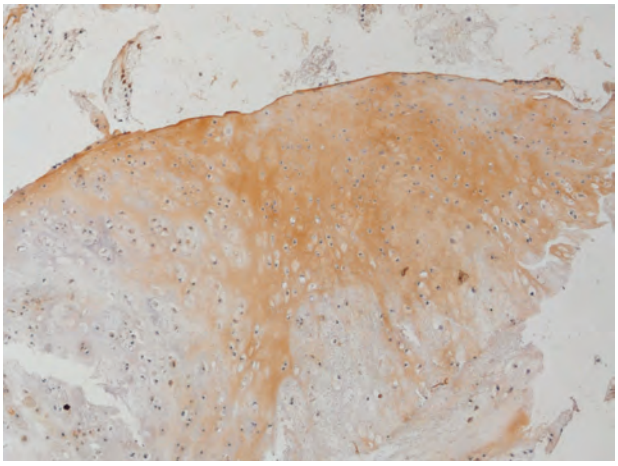


cas n°25 C2CP X10; zones denses
distribution 2; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 2 focal

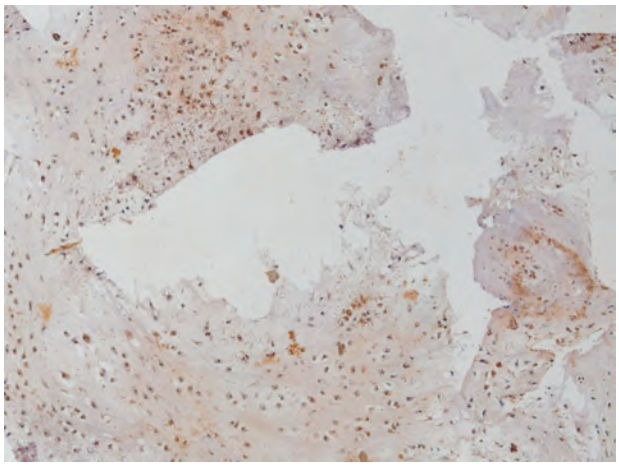
CHONDROME



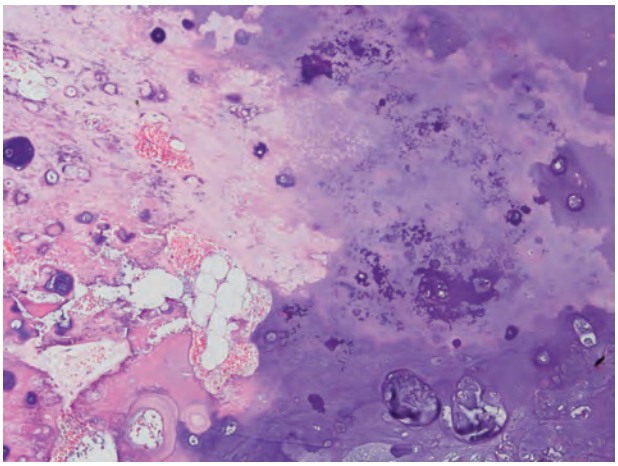
cas n°26 HES X10



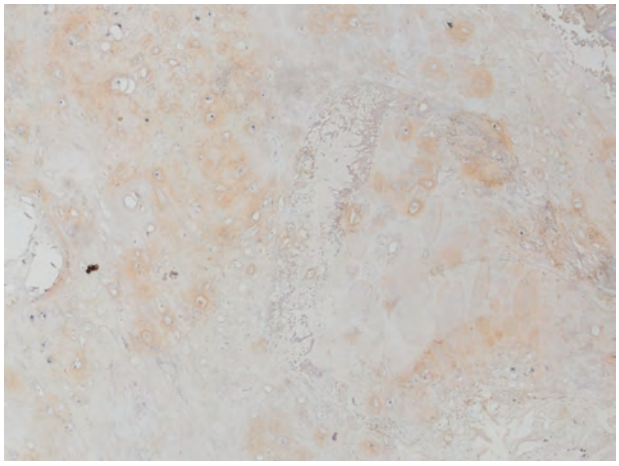
cas n°26 C1CP X10
distribution 3; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



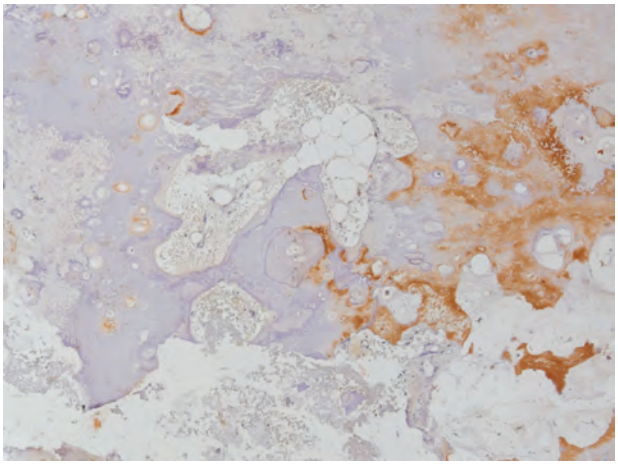
cas n°26 C2CP X10
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



cas n°31 HES X10

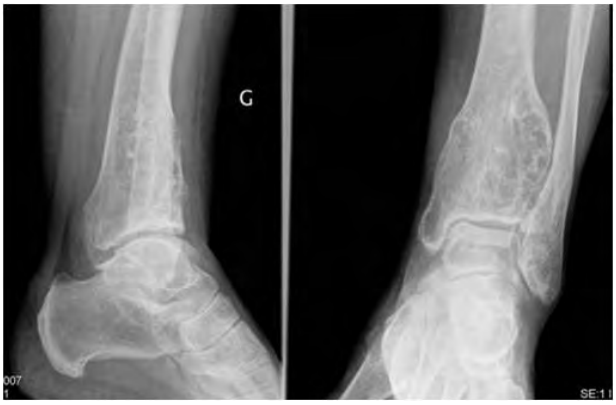


cas n°31 C1CP X10
distribution 3; intensité 1
pas de marquage intra-cytoplasmique

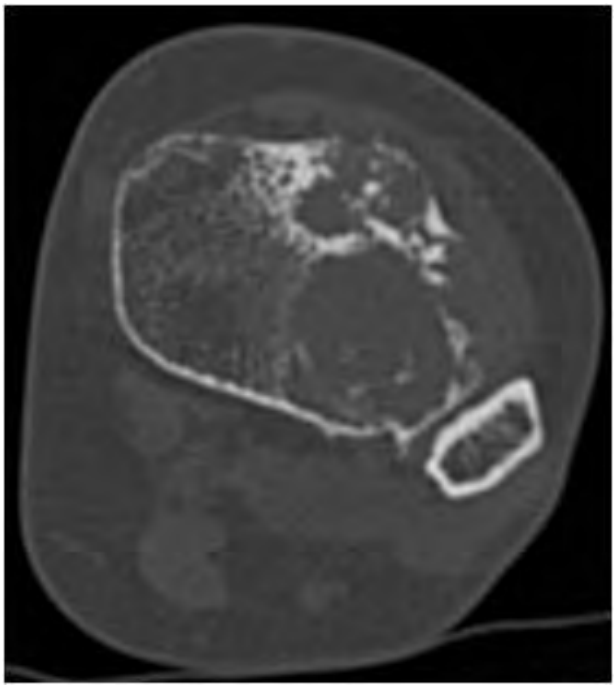


cas n°31 C2CP X10; zones denses
distribution 2; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 1 focal

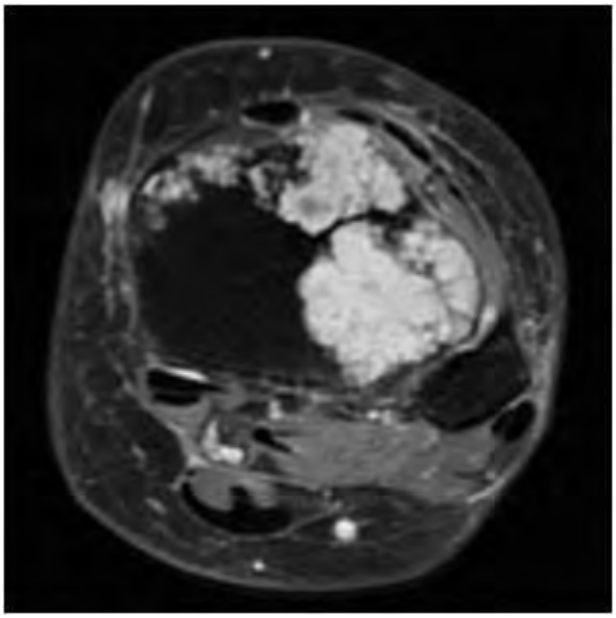
CHONDROSARCOME GRADE 1



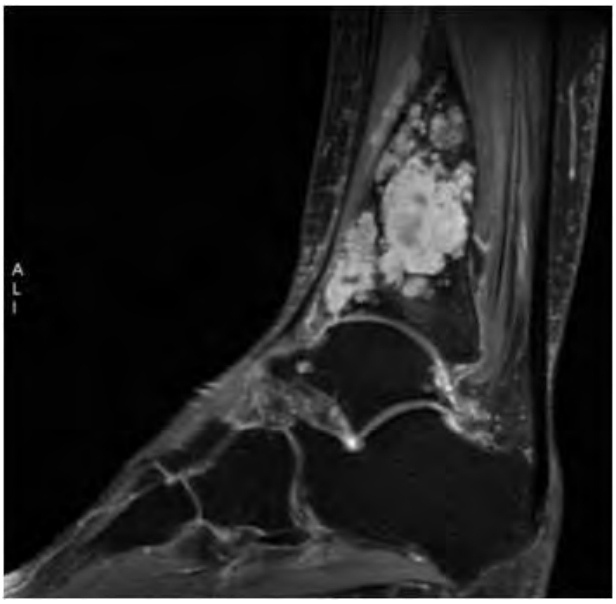
chondrosarcome grade 1 radio



chondrosarcome grade 1 scanner axial

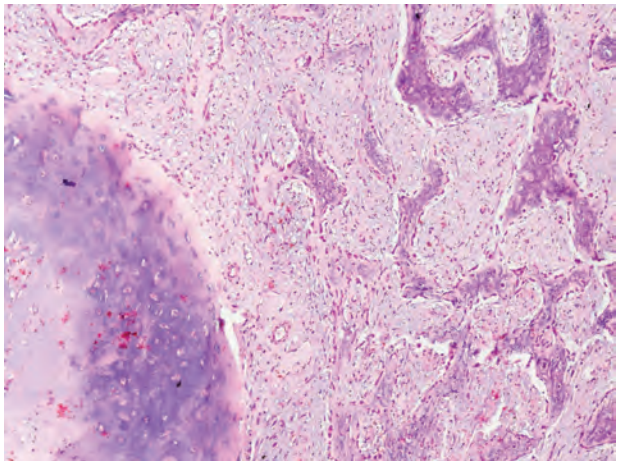


chondrosarcome grade 1 IRM axial T2 FS

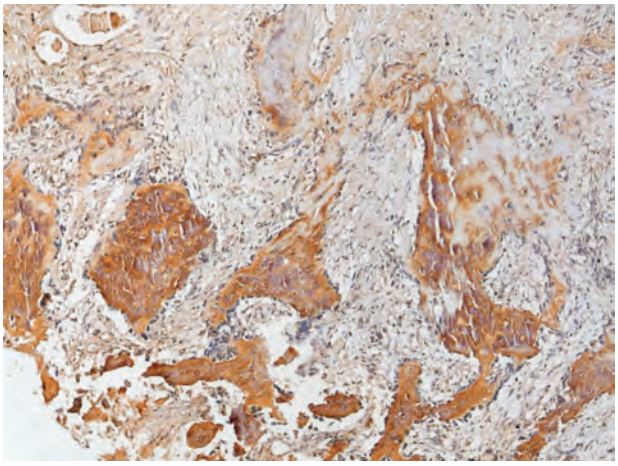


chondrosarcome grade 1 IRM sagittal T2 FS

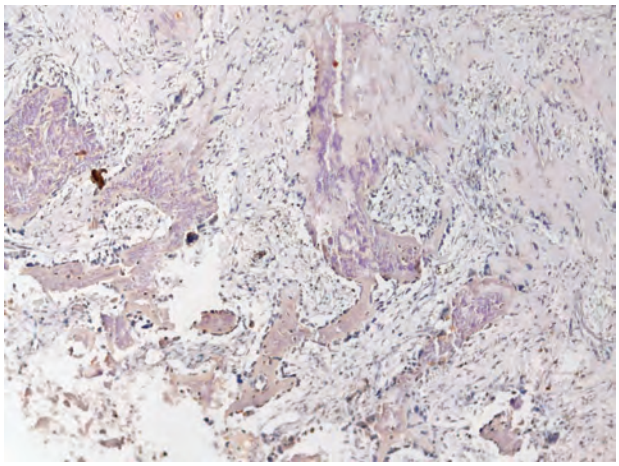
CHONDROSARCOME GRADE 1



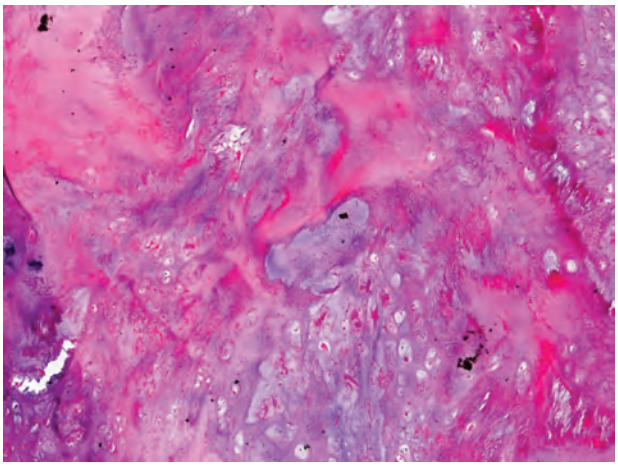
cas n°35 HES X10



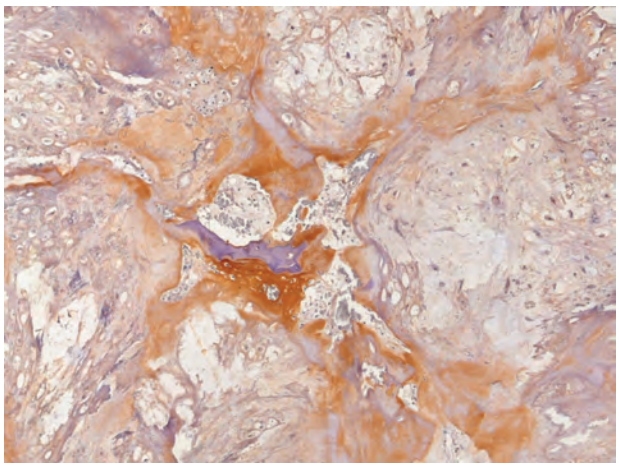
cas n°35 C1CP X10
distribution 2; intensité 2
marquage intra-cytoplasmique 1 focal



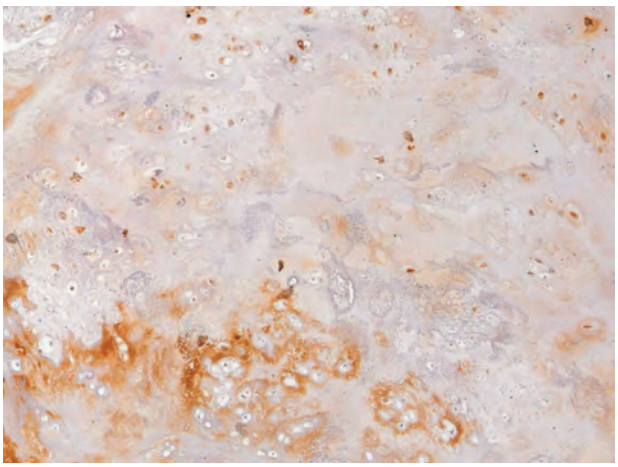
cas n°35 C2CP X10
distribution 1; intensité 1
marquage intra-cytoplasmique 1 focal



cas n°36 HES X10

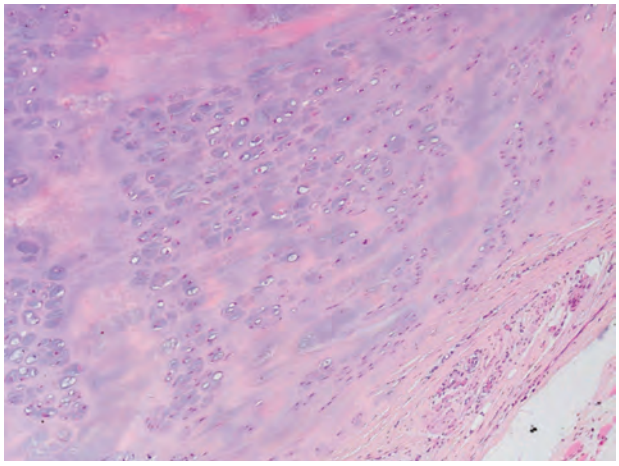


cas n°36 C1CP X10
distribution 2; intensité 2
pas de marquage intra-cytoplasmique

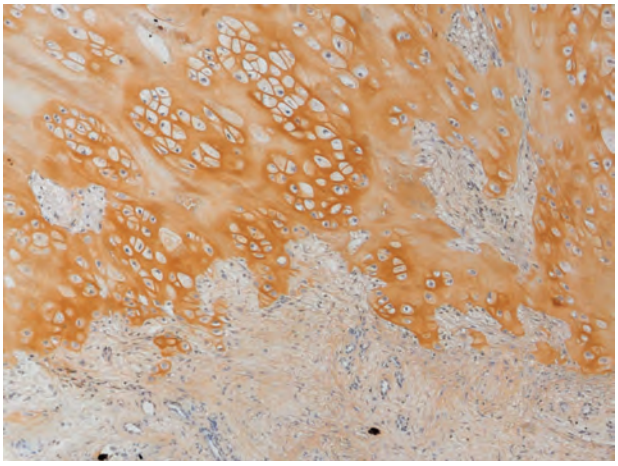


cas n°36 C2CP X10
distribution 2; intensité 2
marquage intra-cytoplasmique 1 diffus

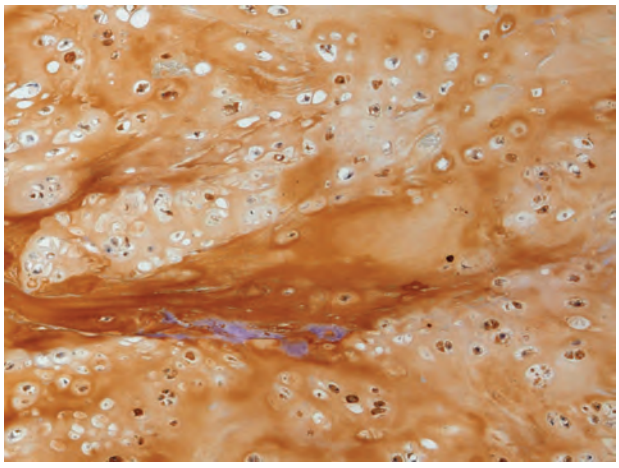
CHONDROSARCOME GRADE 1



cas n°51 HES X10



cas n°51 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique

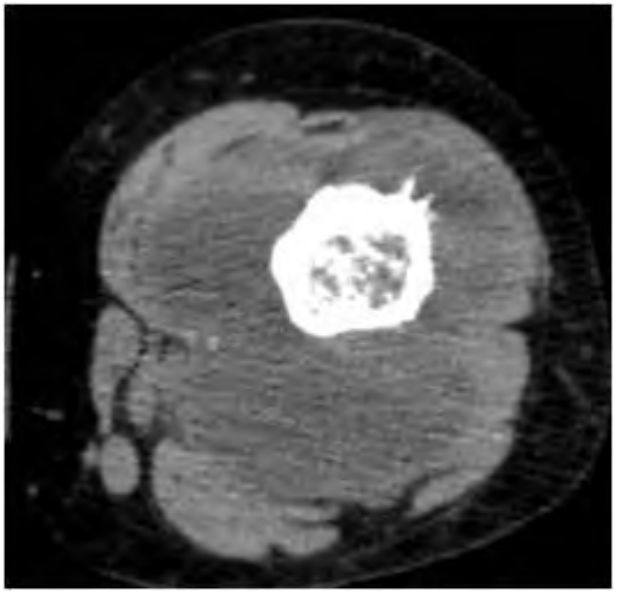


cas n°51 C2CP X10
distribution 4; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus

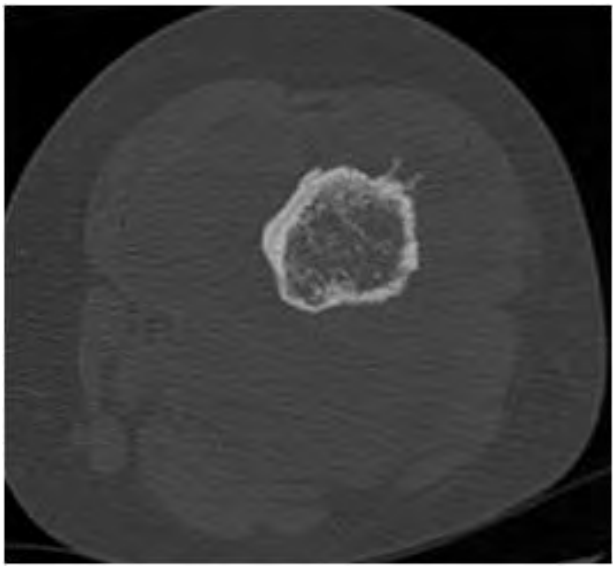
CHONDROSARCOME GRADE 2



chondrosarcome grade 2 radio

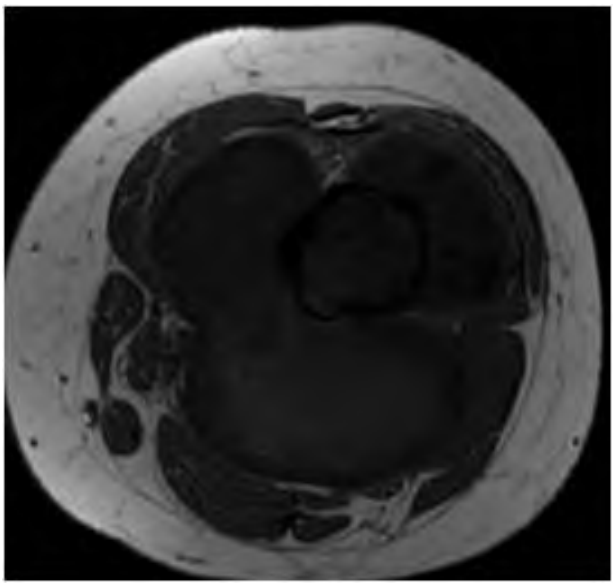


chondrosarcome grade 2 scanner axial

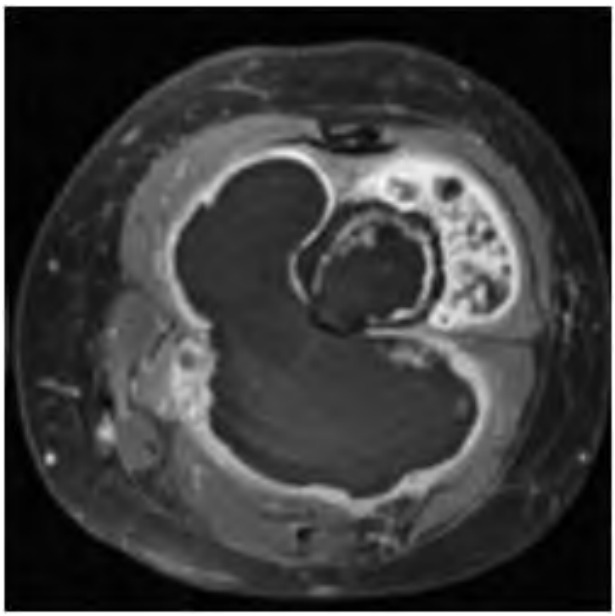


chondrosarcome grade 2 scanner axial

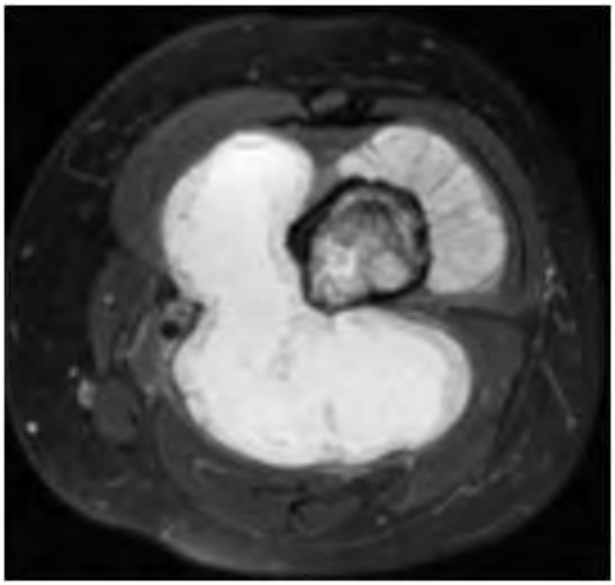
CHONDROSARCOME GRADE 2



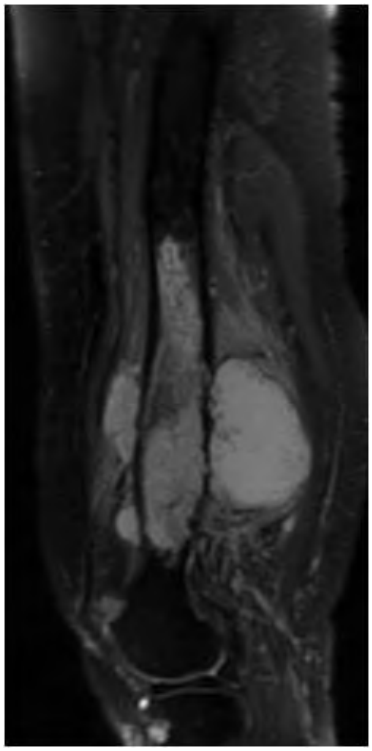
chondrosarcome grade 2 IRM axial T1



chondrosarcome grade 2 IRM axial T1 gado FS

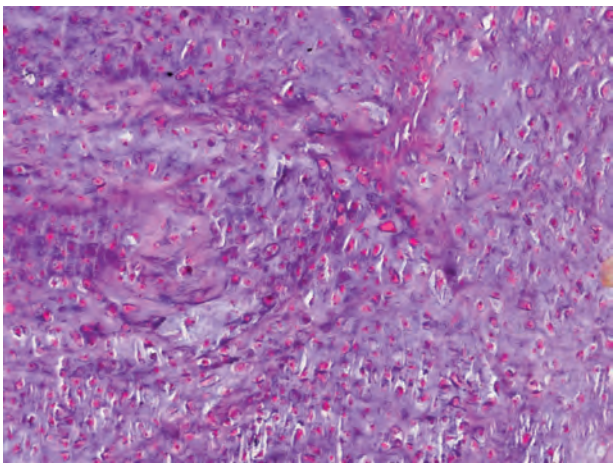


chondrosarcome grade 2 IRM axial T2 FS

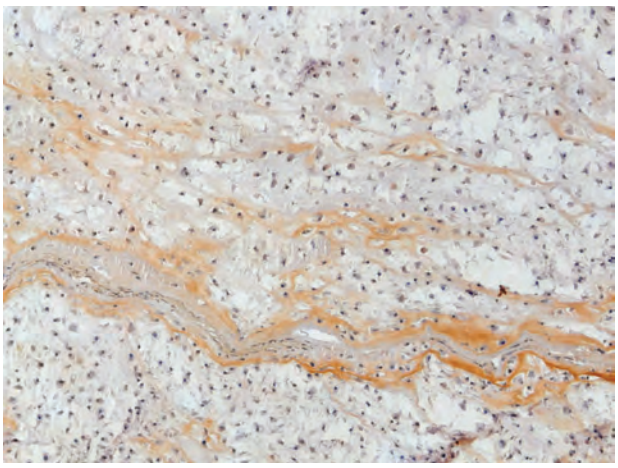


chondrosarcome grade 2 IRM sagittal T2 FS

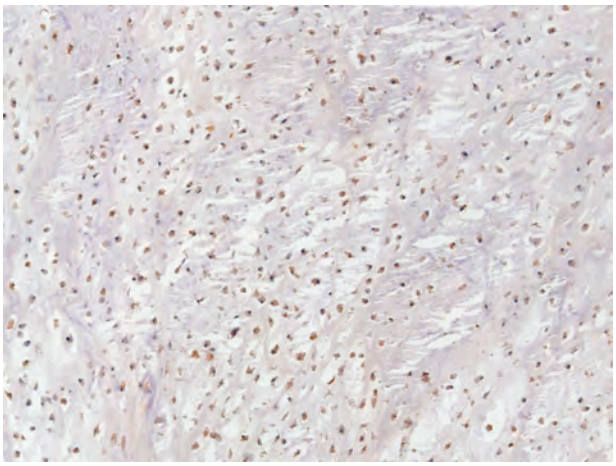
CHONDROSARCOME GRADE 2



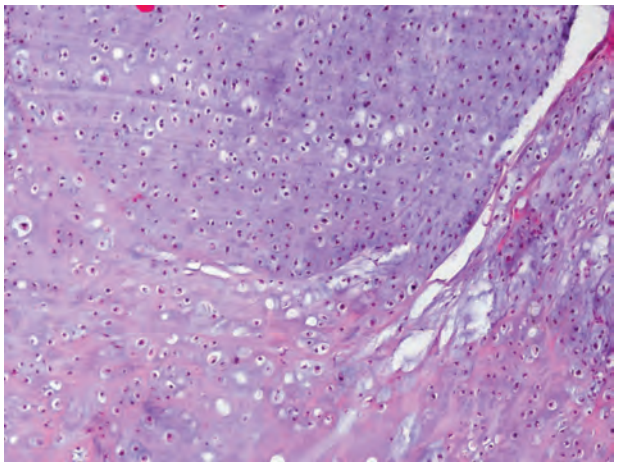
cas n°37 HES X10



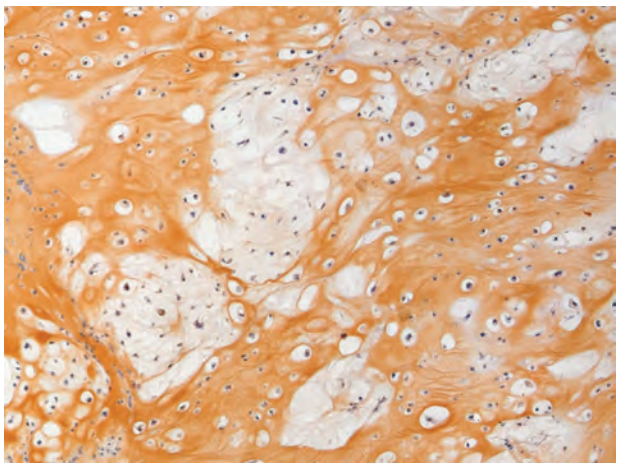
cas n°37 C1CP X10
distribution 1; intensité 2
pas de marquage intra-cytoplasmique



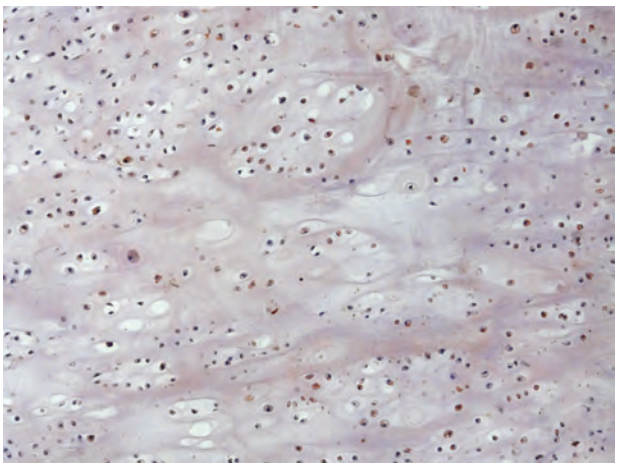
cas n°37 C2CP X10
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



cas n°41 HES X10

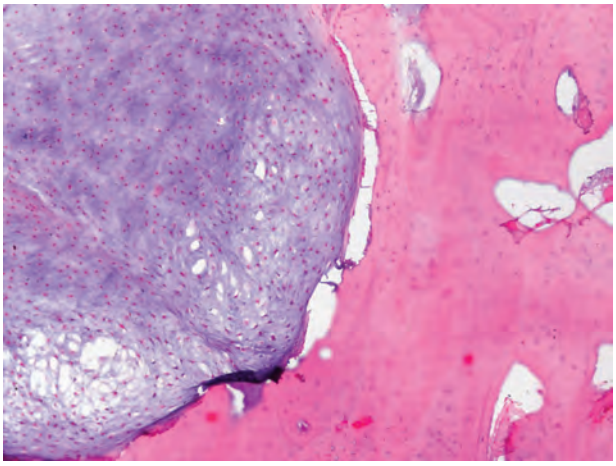


cas n°41 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique



cas n°41 C2CP X10
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 1 diffus

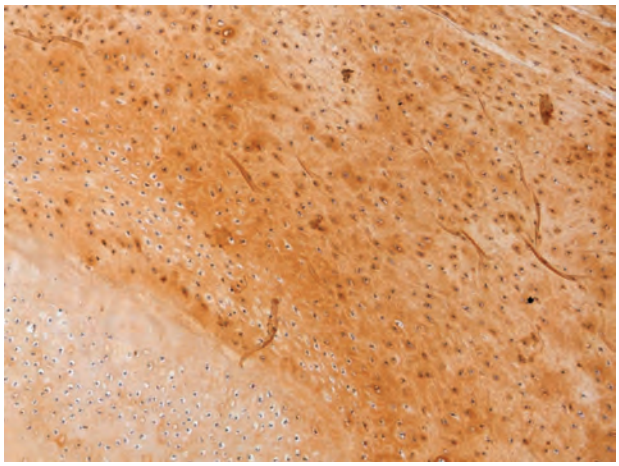
CHONDROSARCOME GRADE 2



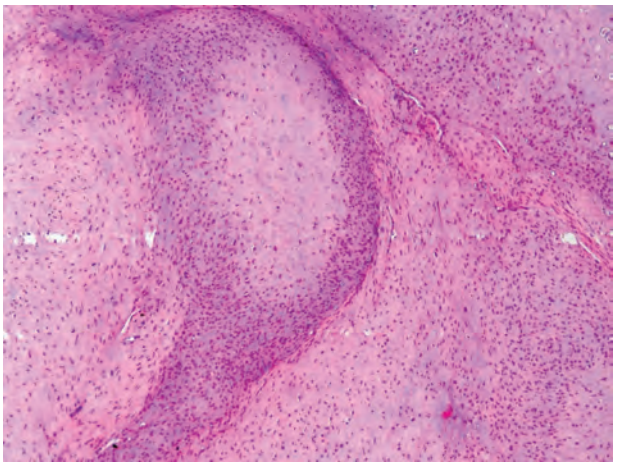
cas N°46 HES X10



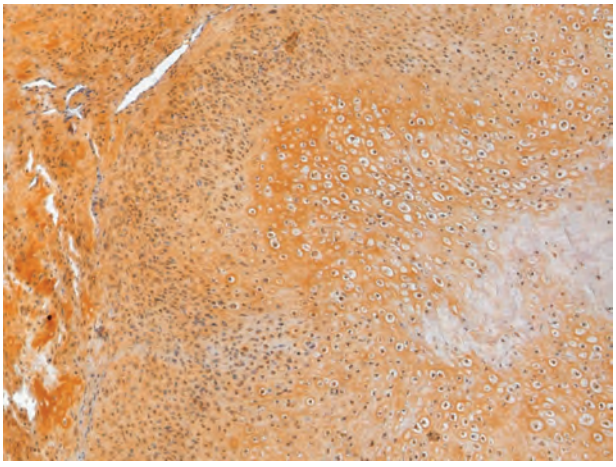
cas n°46 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 1 focal



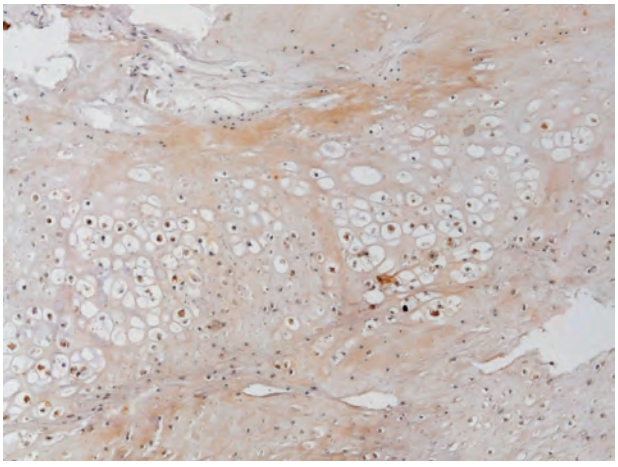
cas n°46 C2CP X10
distribution 4; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



cas n°50 HES X10

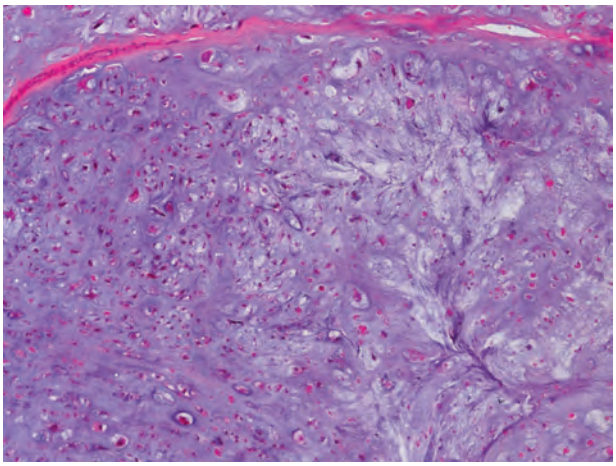


cas n°50 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus

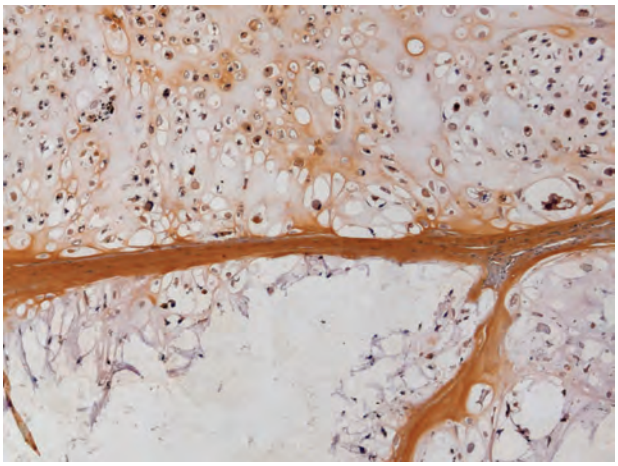


cas n°50 C2CP X10
distribution 1; intensité 1
marquage intra-cytoplasmique 1 focal

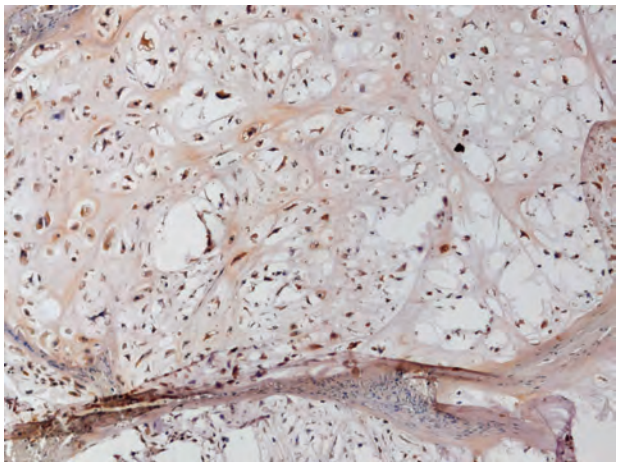
CHONDROSARCOME GRADE 2



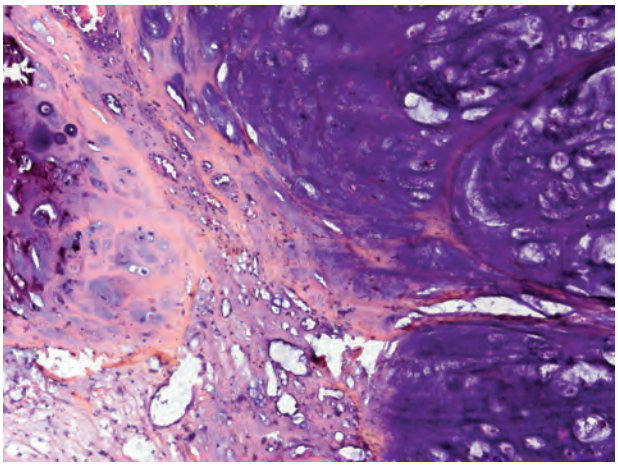
cas n°55 HES X10



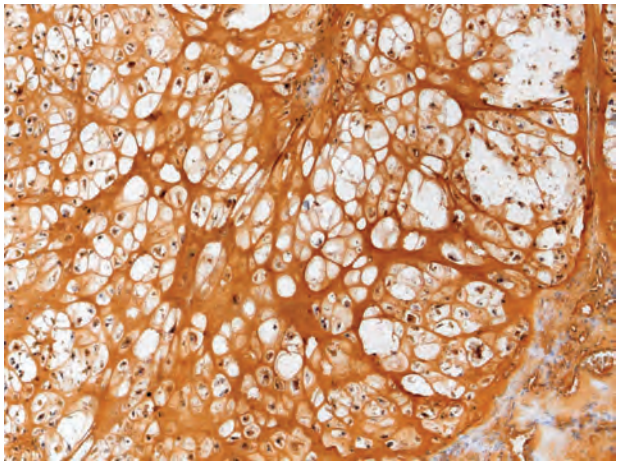
cas n°55 C1CP X10
distribution 4; intensité 2
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



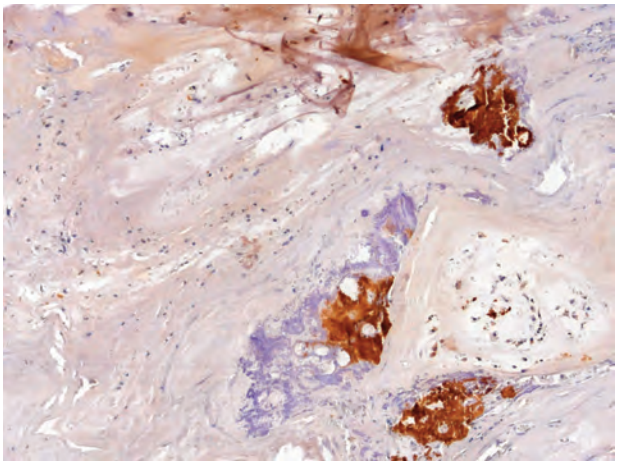
cas n°55 C2CP X10
distribution 1; intensité 1
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus



cas n°80 HES X10

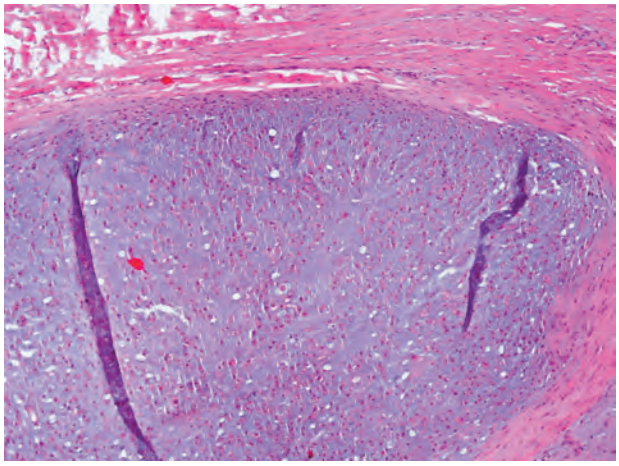


cas n°80 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
marquage intra-cytoplasmique 2 diffus

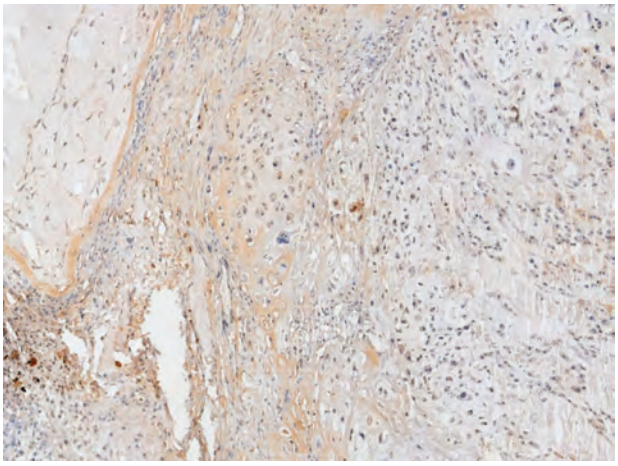


cas n°80 C2CP X10; zones denses
distribution 1; intensité 2
marquage intra-cytoplasmique 2 focal

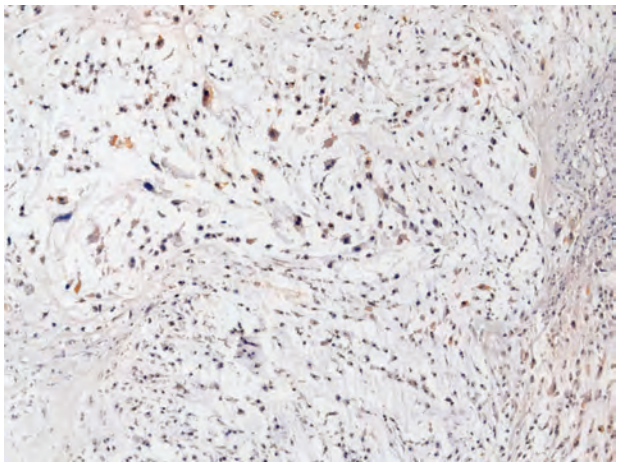
CHONDROSARCOME GRADE 3



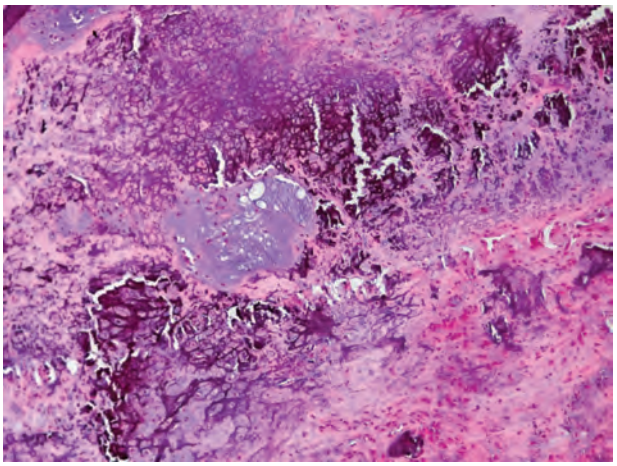
cas n°38 HES X10



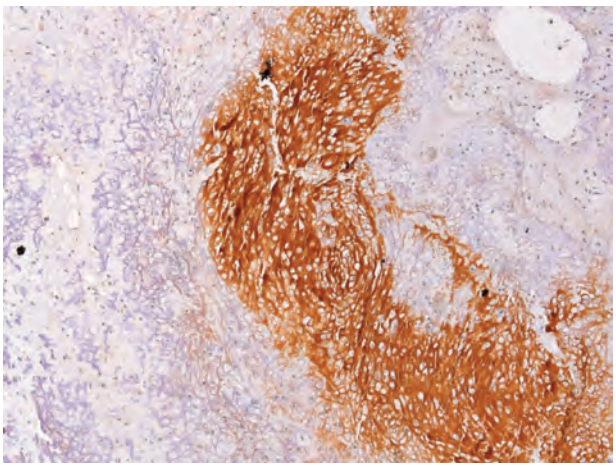
cas n°38 C1CP X10
distribution 2; intensité 2
pas de marquage intra-cytoplasmique



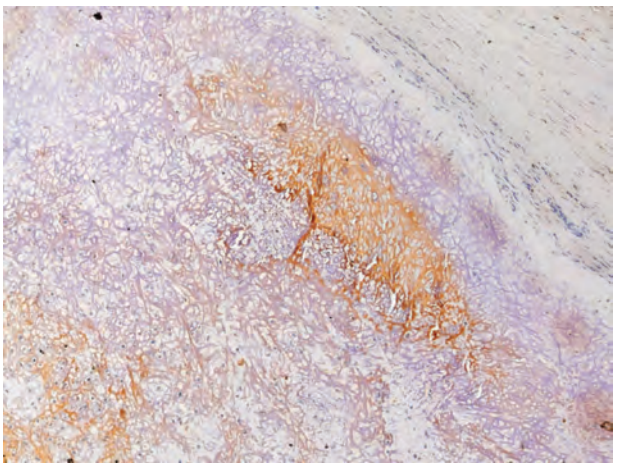
cas n°38 C2CP X10
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 1 diffus



cas n°42 HES X10

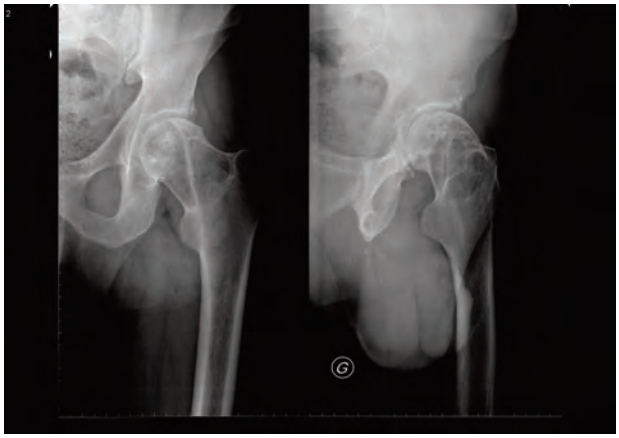


cas n°42 C1CP X10
distribution 3; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique



cas n°42 C2CP X10
distribution 3; intensité 2
marquage intra-cytoplasmique 1 focal

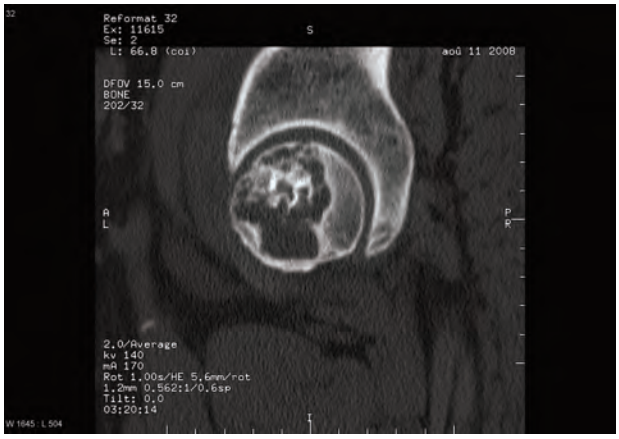
CHONDROSARCOME CELLULES CLAIRES



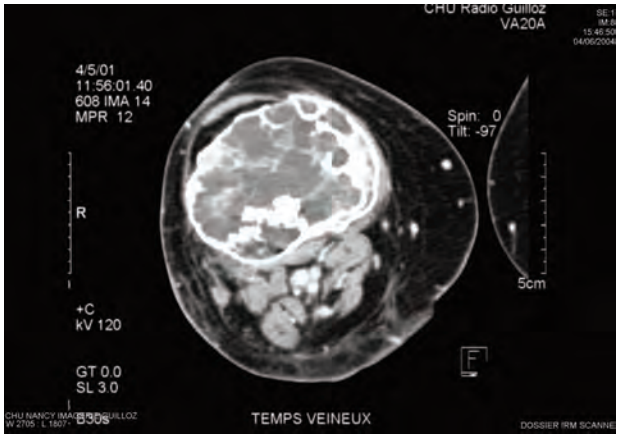
CS cellules claires radio



CS cellules claires scanner

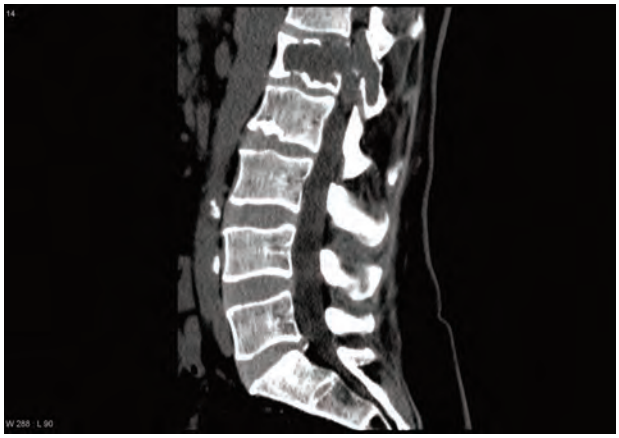


CS cellules claires scanner

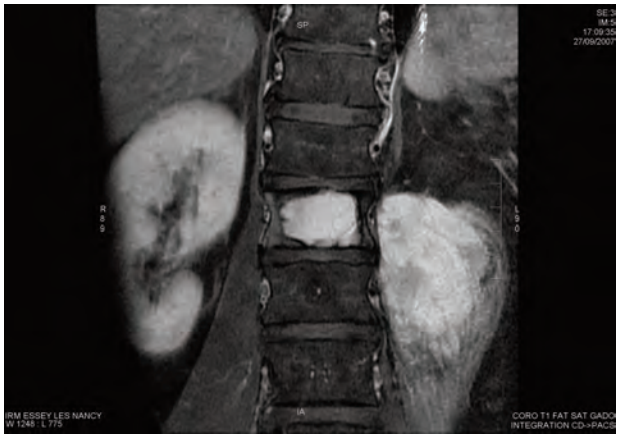


CS cellules claires scanner

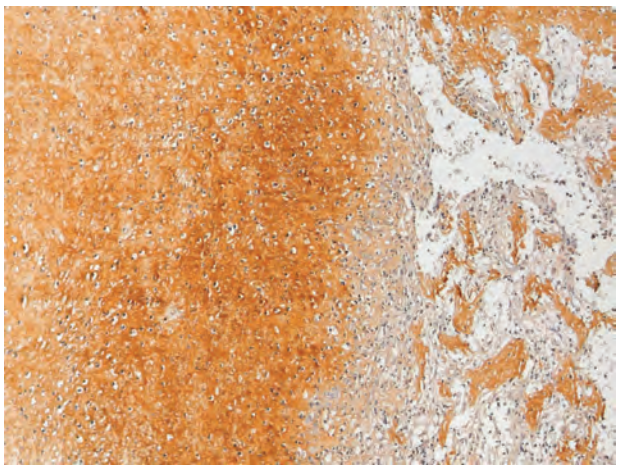
CHONDROSARCOME CELLULES CLAIRES



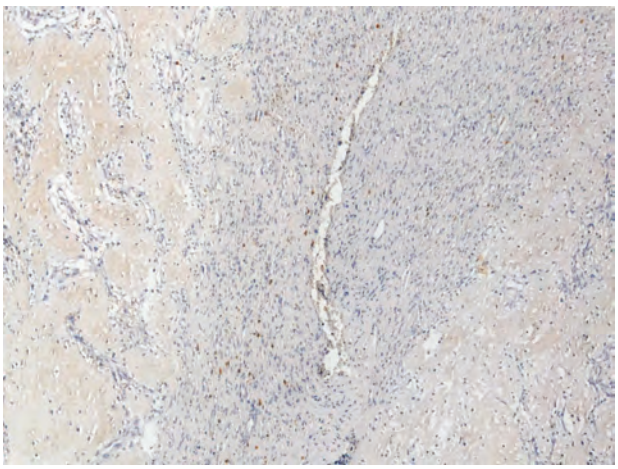
CS cellules claires scanner sagittal



CS cellules claires IRM T1 frontal gado FS



cas n°40 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique

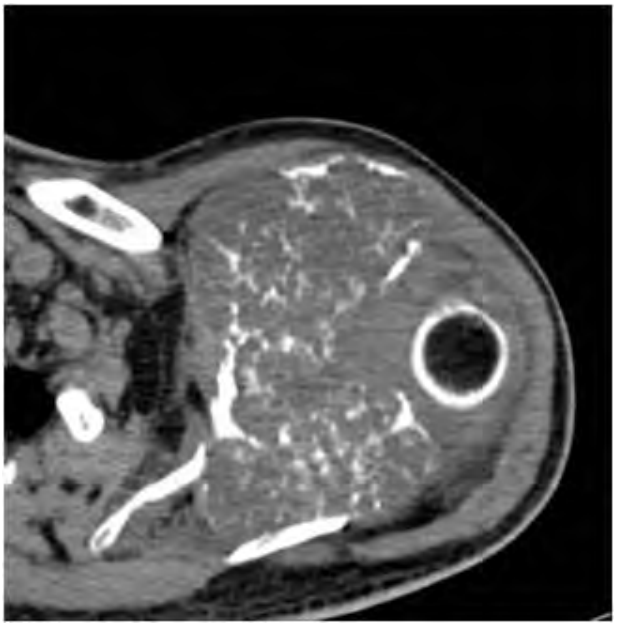


cas n°40 C2CP X10
distribution 1; intensité 1
marquage intra-cytoplasmique 1 focal

CHONDROSARCOME DEDIFFERENCIE



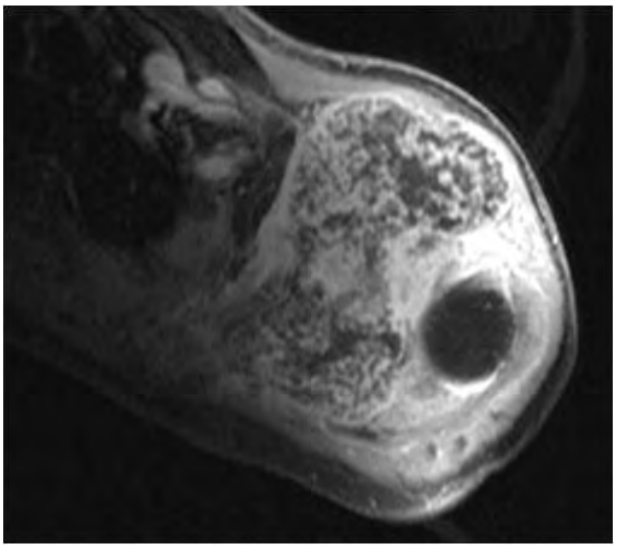
CS dédifférencié radio



CS dédifférencié scanner

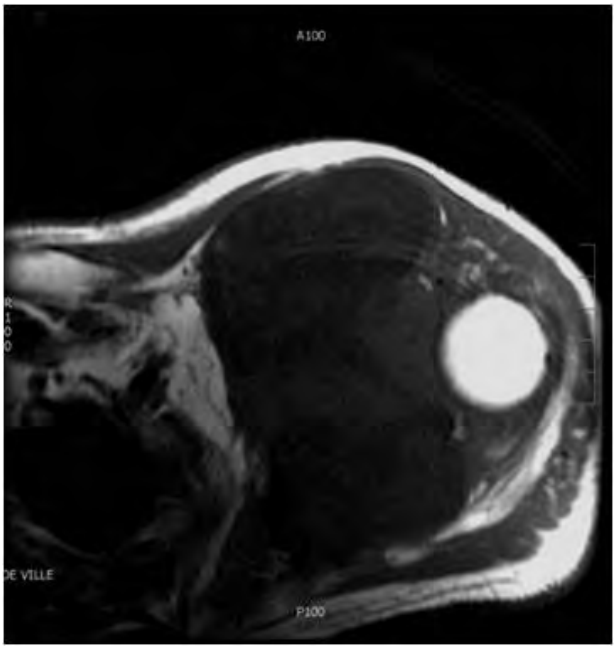


CS dédifférencié scanner

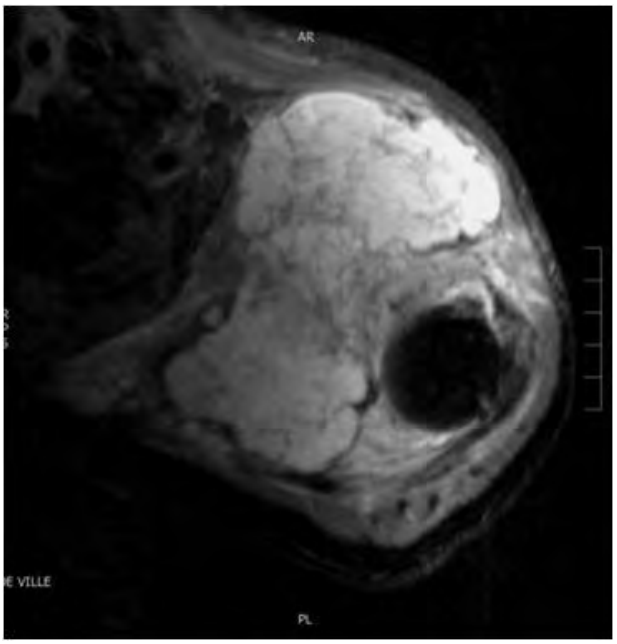


CS dédifférencié IRM axial T1 gado FS

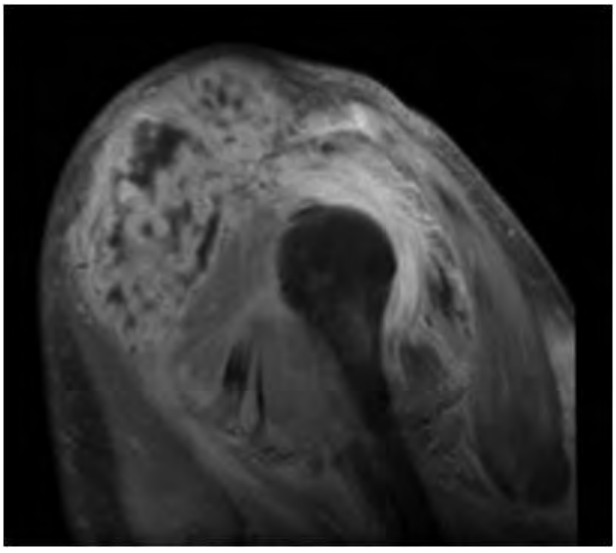
CHONDROSARCOME DEDIFFERENCIE



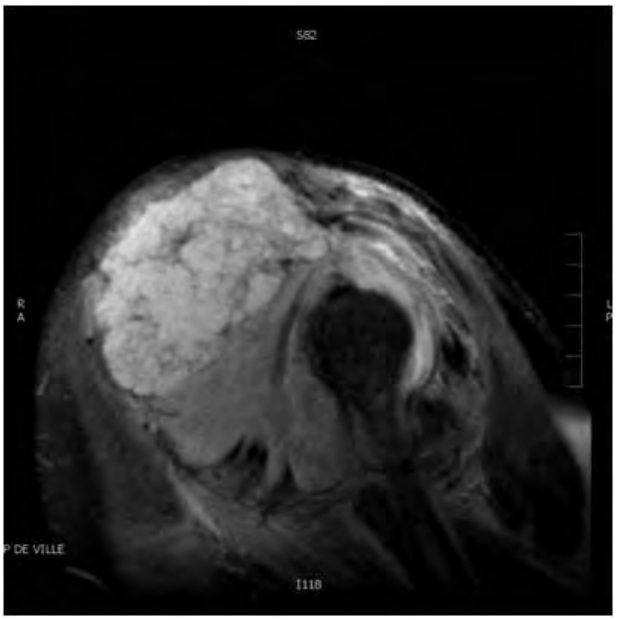
CS dédifférencié IRM axial T1



CS dédifférencié IRM axial T2 FS

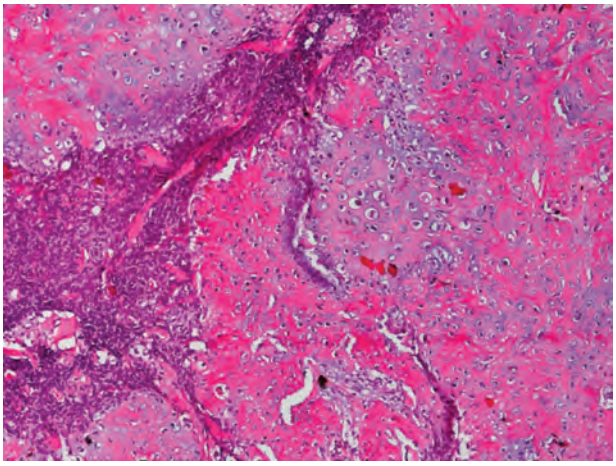


CS dédifférencié IRM sagittal T1 gado

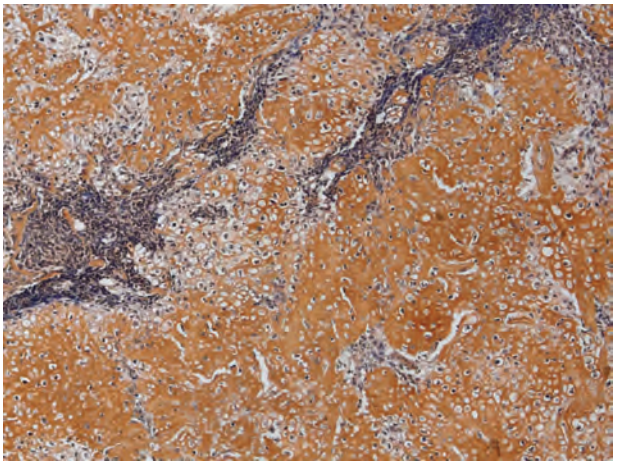


CS dédifférencié IRM sagittal T2 FS

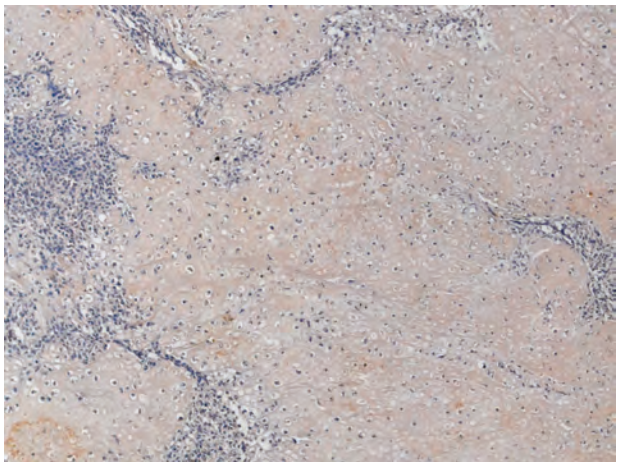
CHONDROSARCOME DEDIFFERENCIE



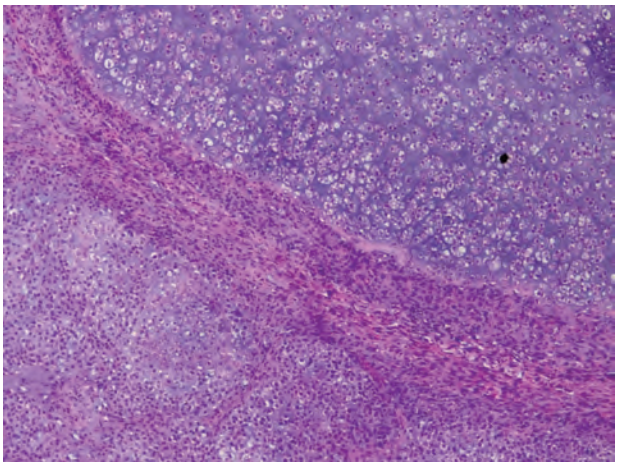
cas n°64 HES X10



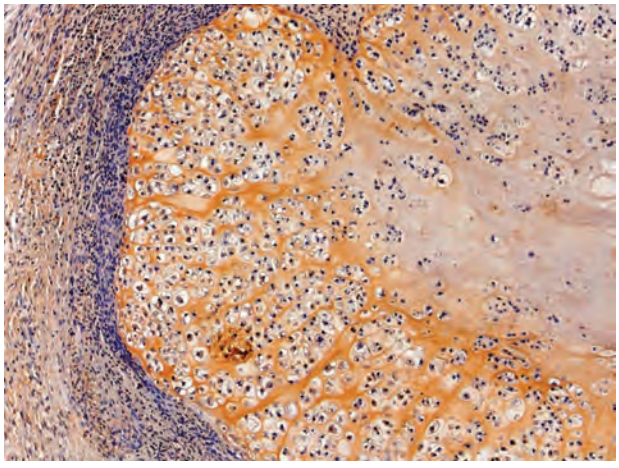
cas n°64 C1CP X10
distribution 4; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique



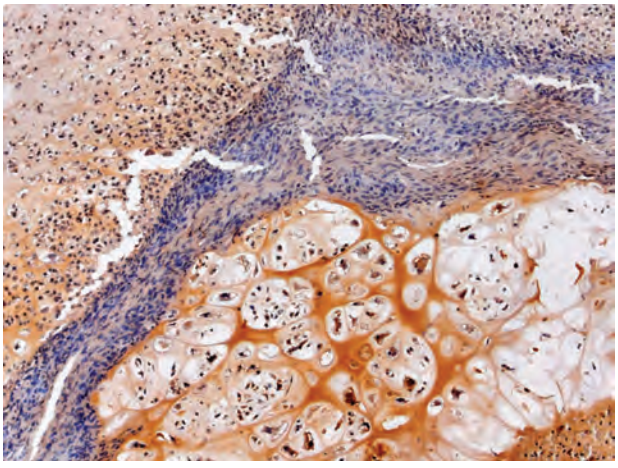
cas n°64 C2CP X10
distribution 0; intensité 0
marquage intra-cytoplasmique 1 focal



cas n°69 HES X10

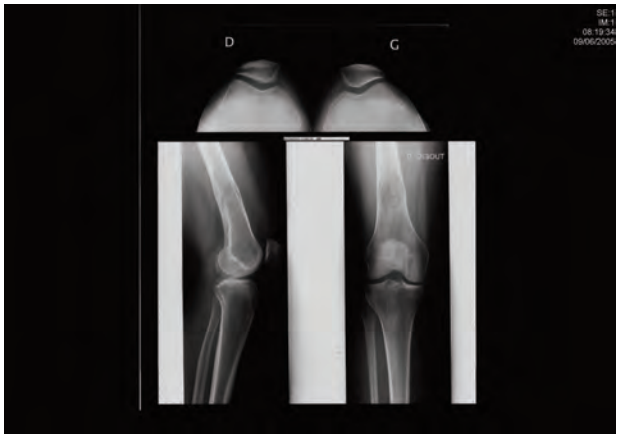


cas n°69 C1CP X10
distribution 4; intensité 2
pas de marquage intra-cytoplasmique

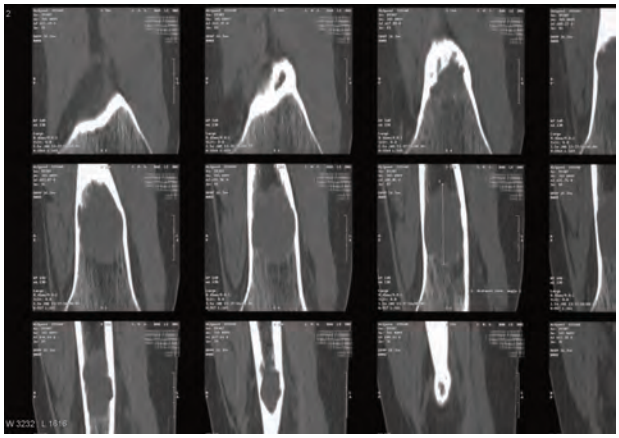


cas n°69 C2CP X10
distribution 3; intensité 2
marquage intra-cytoplasmique 1 diffus

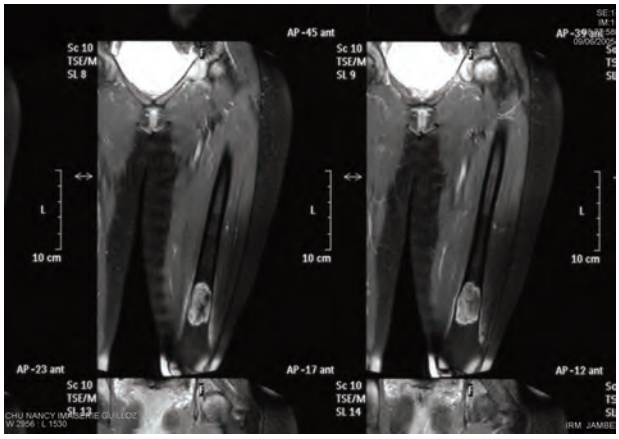
CHONDROSARCOME MESENCHYMATEUX



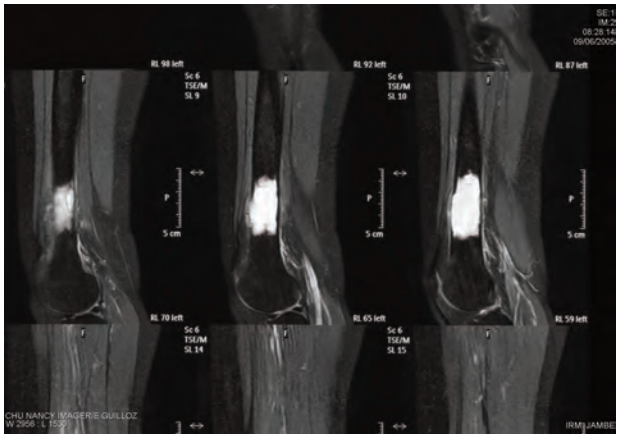
CS mésenchymateux radio



CS mésenchymateux scanner

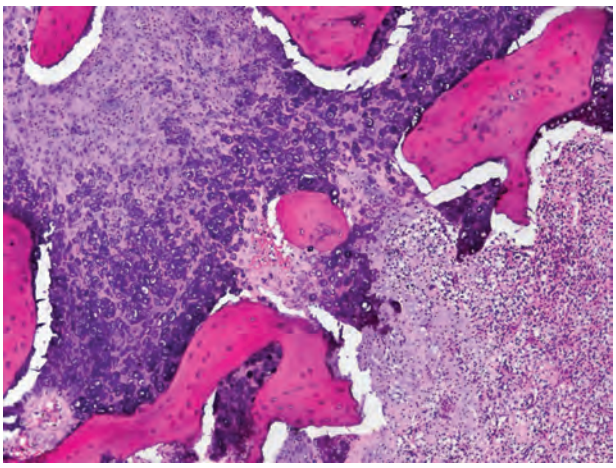


CS mésenchymateux IRM frontal T1 gado FS

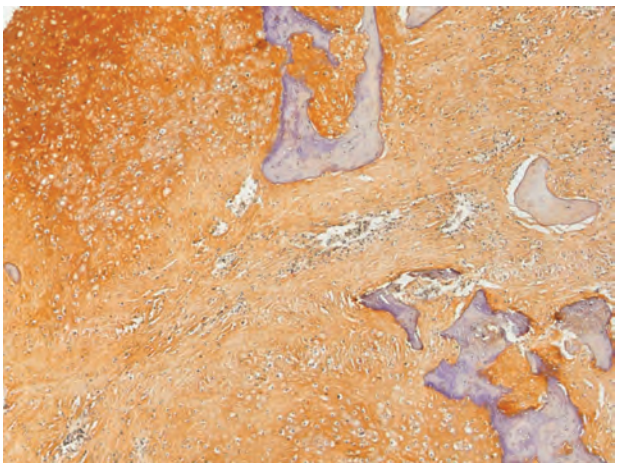


CS mésenchymateux IRM sagittal T2 FS

CHONDROSARCOME MESENCHYMATEUX



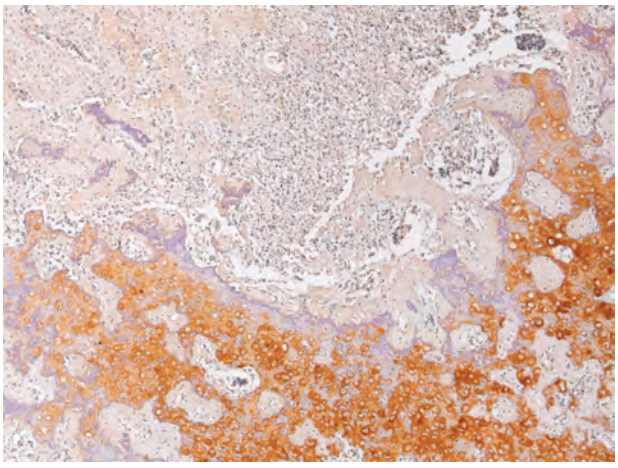
cas n°39 HES X10



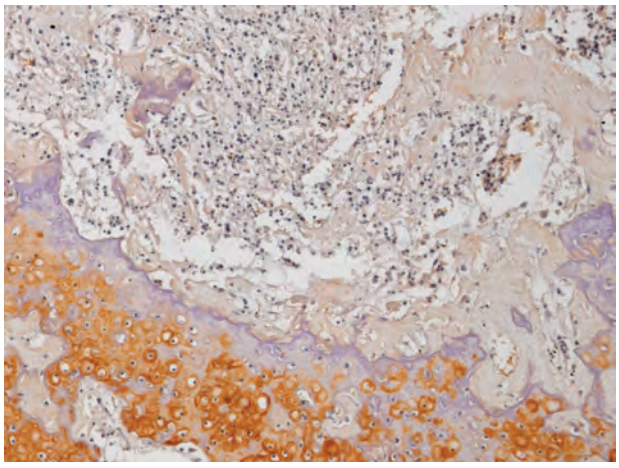
cas n°39 C1CP X10 zones cartilagineuses
distribution 4; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique



cas n°39 C1CP X10
zones mésenchymateuses

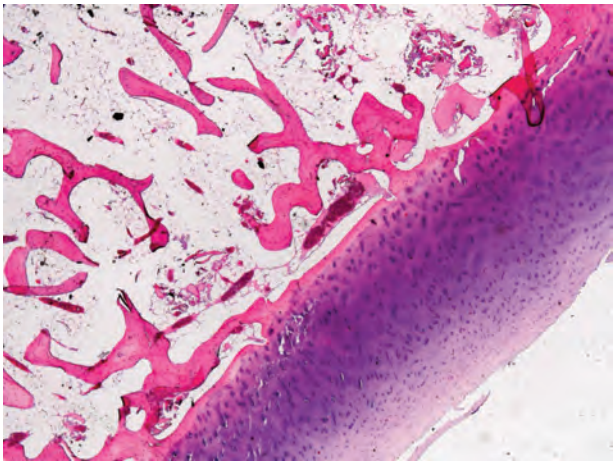


cas n°39 C2CP X10
distribution 3; intensité 3
pas de marquage intra-cytoplasmique

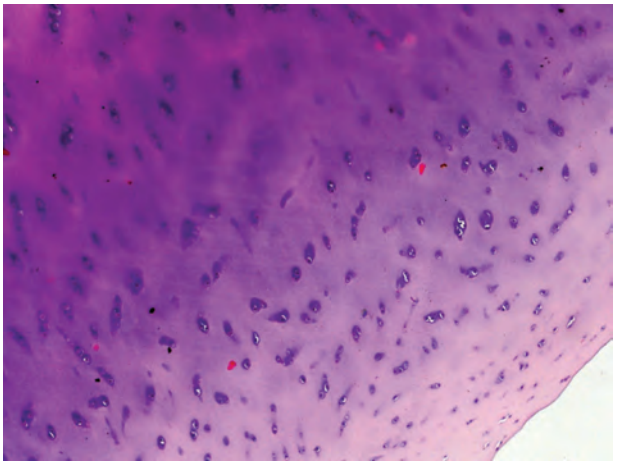


cas n°39 C2CP X20

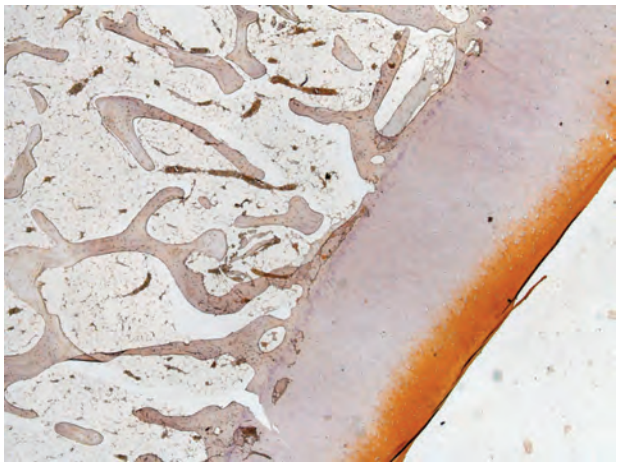
CARTILAGE NORMAL



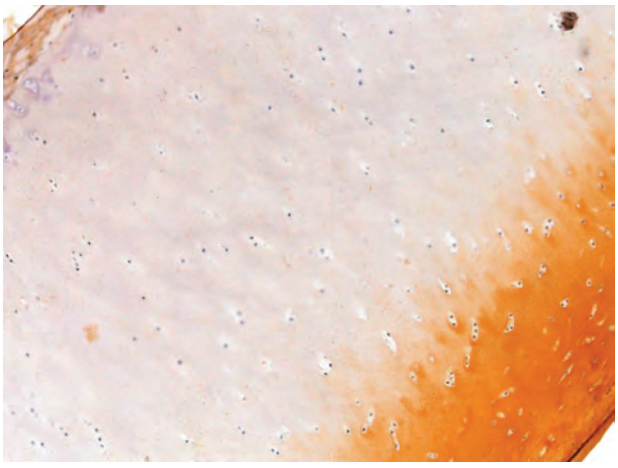
HES X 2,5



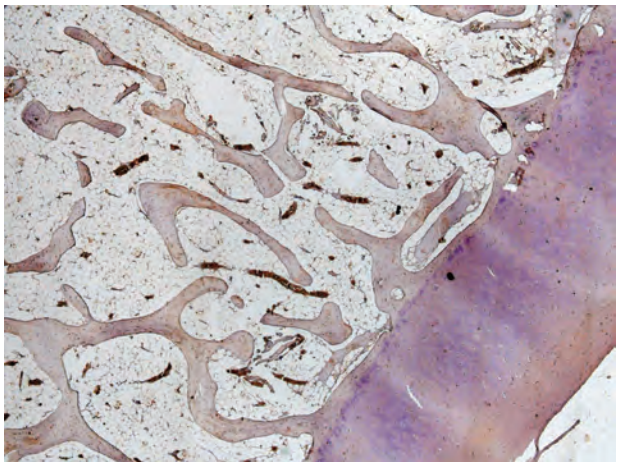
HES X 10



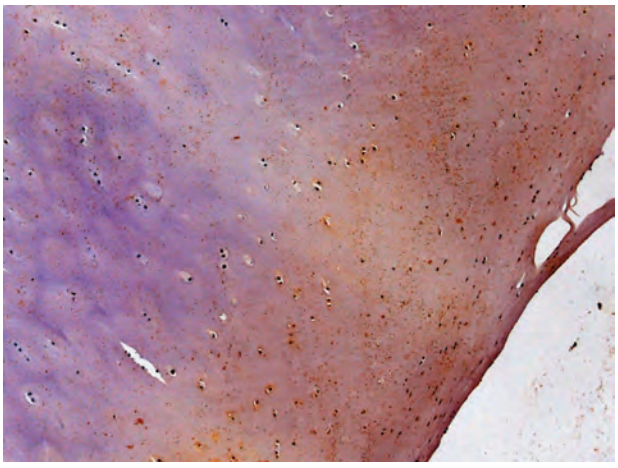
C1CP X 2,5



C1CP X 10

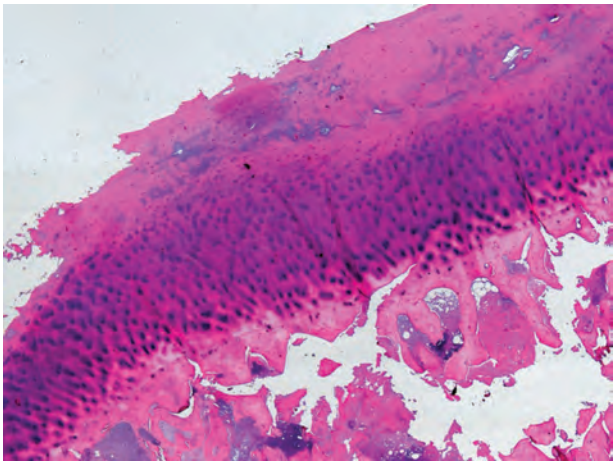


C2CP X 2,5

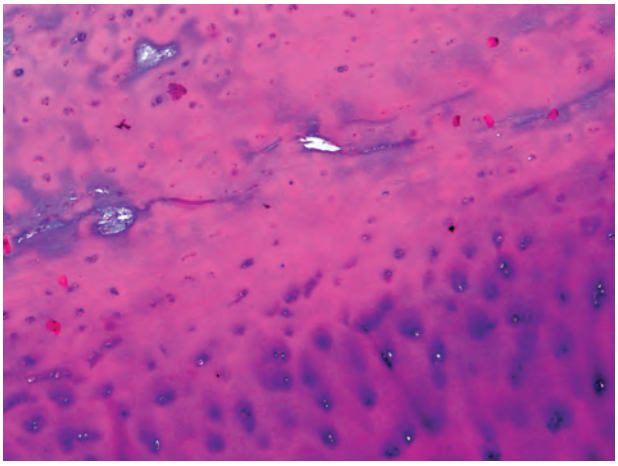


C2CP X 10

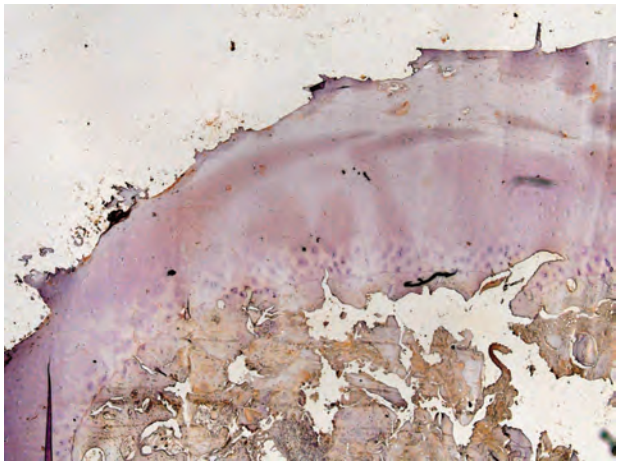
ARTHROSE



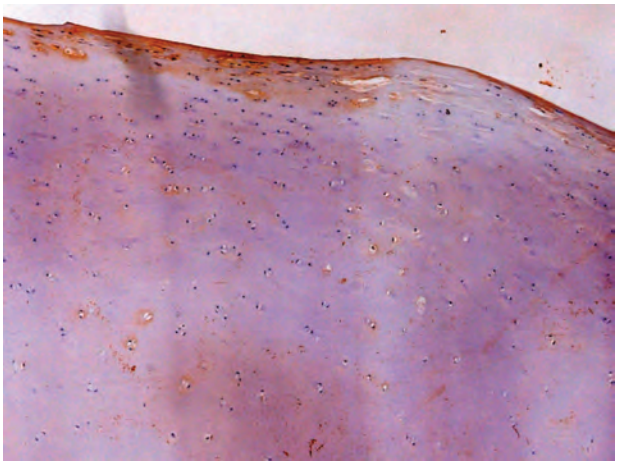
HES X 2,5



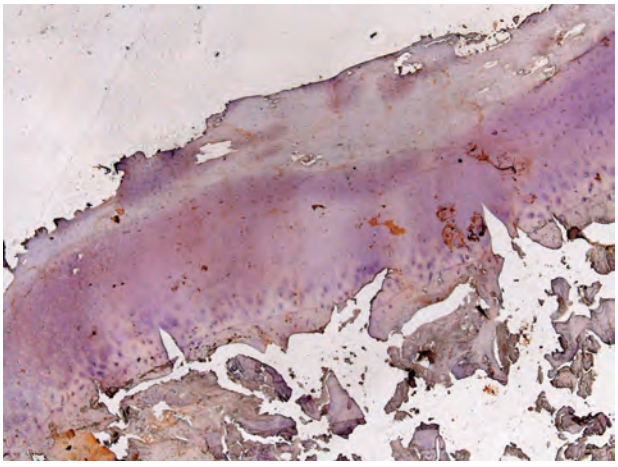
HES X 10



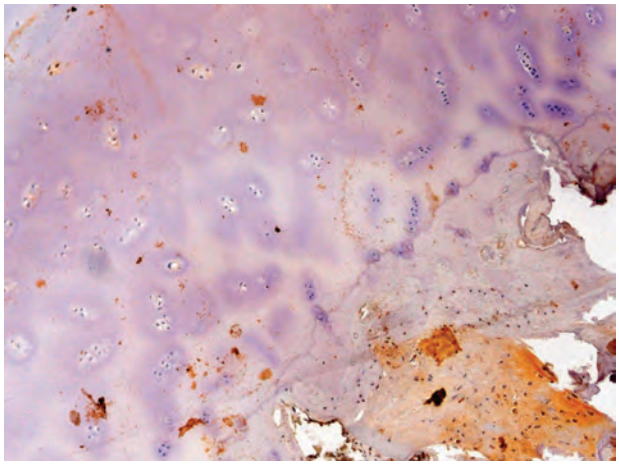
C1CP X 2,5



C1CP X 10



C2CP X 2,5



C2CP X 10

Partie IV : Discussion

A. Les limites rencontrées lors de notre étude

1. Sélection d'un bloc tumoral, notion de représentativité du prélèvement

Nous avons choisi un bloc de paraffine pour chaque tumeur. Pour les chondromes, le matériel biopsique étant souvent de petite taille, il n'est pas rare de ne réaliser qu'un seul bloc de paraffine avec le matériel reçu au laboratoire. Dans ce cas toute la tumeur est analysée. Cependant pour les chondrosarcomes et les chondromes plus volumineux, nous n'avons sélectionné qu'un seul bloc de paraffine. Ce choix a été fait après avoir relu l'ensemble des lames afin de sélectionner le bloc le plus représentatif. De plus dans les cas des tumeurs comportant plusieurs composantes histologiques différentes nous avons choisi d'analyser en priorité la composante comportant de la matrice extracellulaire cartilagineuse.

2. Difficultés techniques des prélèvements de nature cartilagineuse

L'adhérence des tissus cartilagineux sur la silice est très mauvaise en dépit de l'utilisation de lames présentant une charge positive permanente.

De plus le protocole d'immunohistochimie comporte des étapes de démasquage antigénique à forte température et de digestion enzymatique favorisant la mauvaise tenue du prélèvement sur la lame.

Les chondromes sont reçus au laboratoire sous forme fragmentée car leur exérèse consiste en un curetage de la lésion. Dans la majorité des cas il s'agit de lésions de petite taille et le matériel recueilli est donc peu abondant en comparaison avec les chondrosarcomes. Les chondromes analysés se sont souvent décollés en partie ou en totalité de la lame. Lorsqu'ils étaient trop décollés nous les avons exclus de notre étude car nous les avons considérés comme non représentatifs de la lésion initiale.

Les mêmes contraintes techniques de décollement pouvaient être observées avec les chondrosarcomes mais ceux-ci présentaient l'avantage d'être des lésions plus volumineuses et opérées en bloc. Cela nous permettait de réaliser des blocs de paraffine contenant un seul fragment de tumeur ce qui réduisait les risques de décollement.

3. Spécificité des anticorps

Les anticorps primaires ont été validés en western-blot préalablement dans les travaux du Docteur Jean-Baptiste Vincourt sur différents prélèvements de cartilage articulaire, enchondromes et chondrosarcomes.

4. Marquage de C1CP et C2CP intracellulaire

Il a été observé un marquage intra-cytoplasmique fréquent avec C2CP et plus rare avec C1CP. Ce marquage était diffus ou focal. Or C1CP et C2CP sont clivées respectivement du procollagène 1 et 2 lors de leur excrétion dans la matrice extracellulaire. Nous pouvons penser que la protéine marquée en intra-cytoplasmique correspond au procollagène 1 et 2. Une autre hypothèse serait que C1CP et C2CP puissent rentrer dans la cellule par endocytose et peut-être avoir un rôle intranucléaire comme cela a déjà été suggéré pour C2CP(7).

B. Corrélations entre croissance cartilagineuse normale et tumorale

En 1980 Mankin *et al.* étudiaient différentes tumeurs cartilagineuses et concluaient à un lien entre la composition biochimique et l'aspect histologique des tumeurs(26,60). D'autres études ont caractérisé in vivo différents phénotypes de différenciation chondrocytaire au sein des tumeurs cartilagineuses en étudiant la nature de la matrice extracellulaire synthétisée par les chondrocytes tumoraux(61).

A l'état physiologique, les cellules chondro-progénitrices synthétisent du collagène 2A. Les chondrocytes matures synthétisent du collagène 2B, 9 et 11. Les chondrocytes hypertrophiques synthétisent du collagène 10 et les chondrocytes bien différenciés (post-hypertrophiques ou ostéoblaste-like) synthétisent du collagène 1(62).

Aigner a proposé un nouveau schéma de classification des chondrosarcomes basé sur les caractéristiques biochimiques de la matrice extracellulaire et leurs anomalies moléculaires(62,63) Le chondrosarcome mésenchymateux correspondrait à une prolifération tumorale de chondrocytes indifférenciés au stade préchondrogénique subissant une différenciation chondrogénique multifocale. Les enchondromes, les ostéochondromes et les chondrosarcomes conventionnels correspondraient à des proliférations tumorales de chondrocytes bien différenciés. Le chondrosarcome à cellules claires correspondrait à une prolifération tumorale de chondrocytes hypertrophiques. Enfin il propose que les chondrosarcomes dédifférenciés puissent être liés à une « transdifférenciation » de certaines cellules tumorales vers un phénotype tumoral d'une autre lignée cellulaire mésenchymateuse que la lignée chondrocytaire. En 2002, il suggère que la présence de collagène 1 dans la

matrice extracellulaire de ces tumeurs serait un indicateur de mauvais pronostic et permettrait

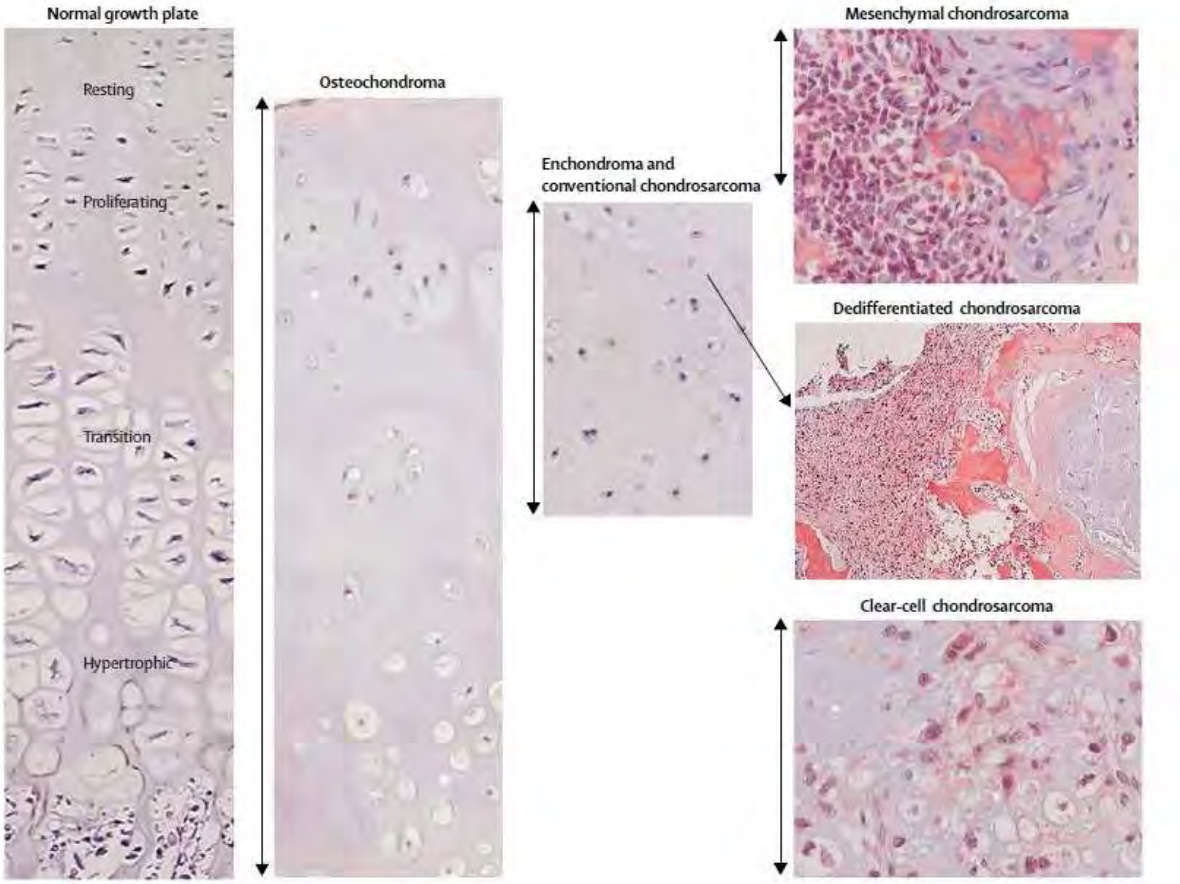


Figure 17 : plaque de croissance et différents sous-types de tumeurs cartilagineuses (30)

de différencier de manière significative les enchondromes et les chondrosarcomes(64).

En 2010, Aigner et Bovée étudient les chondrosarcomes dédifférenciés en fonction des caractéristiques morphologiques des différentes composantes tumorales. Le collagène 1 apparait être un marqueur corrélé à la dédifférenciation car il n'est pas retrouvé dans les aires chondroïdes bien différenciées et il est présent dans les aires chondroïdes moyennement différenciées, et dans les aires non chondroïdes dédifférenciées(65).

C. C1CP marqueur de mauvais pronostic ?

Nos résultats montrent que l'anticorps anti-C1CP marque plus de 50% de la surface tumorale dans 45,7% des chondrosarcomes (p=0,009) et que ce marquage est d'intensité modéré à marquée dans 84,8% des chondrosarcomes.

Le score de C1CP étant en moyenne de 5,5 pour les chondromes et de 7,2 pour les chondrosarcomes, il montre une tendance à la limite de la significativité (p=0,054) à avoir un score plus bas pour les chondromes que pour les chondrosarcomes.

Nos résultats montrent que 77,8% des tumeurs de bon pronostic ont moins de 50% de leur surface marquée par l'anticorps anti-C1CP et que 48,6% des tumeurs de mauvais pronostic ont plus de 50% de leur surface marquée (p=0,018).

Le score de C1CP non significatif (p=0,19) est plus élevé dans les tumeurs de mauvais pronostic (7,2) que dans les tumeurs de bon pronostic (5,9).

1. C1CP présent dans les zones bien vascularisées

Nous avons observé que C1CP était souvent localisé au sein des chondrosarcomes dans les zones de fibrose en périphérie des lobules cartilagineux, là où l'on observe les vaisseaux.

Kalinski a étudié la régulation des signaux d'angiogénèse dans les tumeurs cartilagineuses et a mis en évidence le rôle régulateur de l'interleukine 1β (Il-1β) sur le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF-A) et l'angiopoietin1 (Ang-1) suggérant ainsi la possibilité de traitements par des antagonistes de Il-1β(66).

Il a étudié en immunohistochimie l'index de prolifération capillaire (IPC) au sein de différentes tumeurs cartilagineuses mettant en évidence un IPC plus élevé au sein des chondrosarcomes de grade 2 et 3 qu'au sein des enchondromes et des chondrosarcomes de garde 1. L'IPC au sein des chondrosarcomes dédifférenciés était comparable aux enchondromes et chondrosarcomes de grade 1(67).

De façon comparable, le procollagène 1 se trouve en quantité importante dans les fibroblastes de la réaction stromale associée aux carcinomes mammaires(68,69) de même que CXCL12(70).

De plus si l'on admet la forte similarité entre C3 et C1CP, la présence de C1CP dans les zones bien vascularisées des tumeurs cartilagineuses n'est pas surprenante et suggère un rôle dans l'angiogenèse tumorale.

Par ailleurs le collagène de type 1 homotrimérique étant connu pour être résistant aux collagénases, la présence de C1CP dans les travées fibreuses péri lobulaires vient également

étayer l'hypothèse formulée précédemment que cette forme de collagène pourrait participer au potentiel d'agressivité local des tumeurs dans lesquelles il se trouve.

2. C1CP positif dans les travées d'ostéogenèse réactionnelles

Dans un des chondrosarcomes de grade 1 analysés, on observe des travées d'os néoformé, réactionnel en périphérie des lobules tumoraux. Ces travées sont marquées par l'anticorps anti-C1CP. Si l'on considère que C1CP est un témoin de synthèse du collagène 1α1, sa présence au sein de travées osseuses serait un témoin de la synthèse de collagène 1α1 au sein de ces travées osseuses.

D. C2CP marqueur de bon pronostic ?

Le score de C2CP est plus élevé dans les chondromes (3,6) que dans les chondrosarcomes (2,5) (p=0,0279). Le score de C2CP est plus élevé dans les tumeurs de bon pronostic (3,4) que dans les tumeurs de mauvais pronostic (2,3) (p=0,015). Nos résultats montrent que C2CP n'est pas présent dans la matrice de 57,1% des tumeurs de mauvais pronostic (p=0,017). Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus en western-blot par le Docteur Jean-Baptiste Vincourt.

Par ailleurs nous avons observé avec l'anticorps anti C2CP des zones fortement marquées dont nous n'avons pas tenu compte dans la cotation du marquage matriciel. Ces aspects ont été observés dans onze chondromes et deux chondrosarcomes de grade 2. Les zones fortement marquées correspondent à des zones fortement minéralisées voir calcifiées. On sait qu'un des rôles de C2CP est de se fixer aux cristaux d'hydroxyapatite, ce qui peut expliquer cette localisation. Ce fort marquage de C2CP pourrait être lié à l'état soluble ou immobilisé de la protéine(58).

E. Rôles de C1CP et C2CP médiés par les intégrines ?

Le Docteur Jean-Baptiste Vincourt a montré que C1CP et C2CP recombinantes sous forme immobilisée se liaient à la surface cellulaire des cellules cartilagineuses par l'intermédiaire de la sous-unité β1 des intégrines(58). Comme C2CP sous forme immobilisée induit l'apoptose des cellules endothéliales et des chondrocytes, on peut penser que C2CP sous forme immobilisée pourrait avoir un rôle anti-tumoral. Or C2CP sous forme soluble semble favoriser l'expression de gènes liés au développement de la vascularisation et au pouvoir métastatique de façon encore plus importante que C1CP. Nous pouvons émettre l'hypothèse que C2CP pourrait alors se trouver plutôt sous forme soluble dans les chondrosarcomes et sous forme immobilisée dans les enchondromes. Les observations du marquage intense et

focal de C2CP précédemment décrites pourraient alors correspondre à C2CP sous forme immobilisée ?

Les intégrines et les molécules interagissant avec les intégrines sont des acteurs importants dans l'adhésion entre la matrice extracellulaire et les cellules, ainsi que dans la mobilité cellulaire, la croissance et la survie des cellules. L'integrin–linked kinase (ILK) interagit avec les domaines β1 et β3 des intégrines. L'ILK joue un rôle de stabilisation des liaisons entre la cellule et la matrice extracellulaire et d'autre part joue un rôle de transmetteur de signal sérine-tyrosine kinase à ses partenaires cellulaires. Leur implication dans la pathogenèse des chondrosarcomes a été étudiée montrant que l'ILK et ses partenaires sont exprimés dans la majorité des chondrosarcomes et dans une petite proportion des enchondromes.

Conclusion

L'évaluation du niveau d'expression de C1CP et C2CP par technique immunohistochimique dans les chondromes et les chondrosarcomes s'avère difficile en raison des contraintes techniques liées à la nature cartilagineuse des prélèvements. Nos résultats montrent néanmoins des différences significatives entre les tumeurs bénignes et malignes. En effet le score calculé en fonction de la distribution du marquage dans la matrice extracellulaire et de son intensité montre des différences significatives entre les groupes chondromes versus chondrosarcomes et entre les groupes des tumeurs de bon pronostic (chondromes, chondrosarcomes de grade 1, chondrosarcome à cellules claires) versus tumeurs de mauvais pronostic (chondrosarcomes de grade 2 et 3, dédifférenciés et mésenchymateux). Nos résultats ne montrent aucune différence significative entre les groupes chondromes et chondrosarcomes de grade 1. Cependant si le score établi pour C1CP et C2CP est significatif sur notre population, il ne l'est pas à l'échelon individuel. Nous ne pouvons pas établir de score diagnostique fiable à l'aide de C1CP et C2CP par technique immunohistochimique. D'autres études sur les fonctions de ces protéines sont nécessaires afin de mieux comprendre leurs rôles dans le cartilage et leurs éventuelles implications dans les voies de signalisation cellulaires.

Bibliographie

1. Vigorita VJ, Ghelman B, Mintz D. Orthopaedic Pathology. Lippincott Williams & Wilkins; 2007.
2. chevalier X, richette p. cartilage articulaire normal: anatomie, physiologie, métabolisme, vieillissement. Dans: emc appareil locomoteur.
3. Thomas JT, Ayad S, Grant ME. Cartilage collagens: strategies for the study of their organisation and expression in the extracellular matrix. Annals of the rheumatic diseases. 1994;53(8):488.
4. Chevalier X. Les mécanismes du vieillissement normal et pathologique de l'articulation. Revue du Rhumatisme. 2004 juin;71(6):455-461.
5. Goggs R, Carter SD, Schulze-Tanzil G, Shakibaei M, Mobasheri A. Apoptosis and the loss of chondrocyte survival signals contribute to articular cartilage degradation in osteoarthritis* 1. The Veterinary Journal. 2003;166(2):140–158.
6. Laadhar L, Zitouni M, Kalle-Sellami M, Mahjoub M, Sellami S, Makni S. Physiopathology of osteoarthritis. From normal cartilage to osteoarthritic cartilage: risk factors and inflammatory mechanisms]. La Revue de médecine interne/fondée... par la Société nationale francaise de médecine interne. 2007;28(8):531.
7. Hotta H, Yamada H, Takaishi H, Abe T, Morioka H, Kikuchi T, et al. Type II collagen synthesis in the articular cartilage of a rabbit model of osteoarthritis: expression of type II collagen C-propeptide and mRNA especially during early-stage osteoarthritis. Journal of Orthopaedic Science. 2005;10(6):595–607.
8. Fletcher CDM, Unni KK, Mertens F. Pathology and genetics of tumours of soft tissue and bone. World Health Organization; 2002.
9. Bernard SA, Murphey MD, Flemming DJ, Kransdorf MJ. Improved differentiation of benign osteochondromas from secondary chondrosarcomas with standardized measurement of cartilage cap at CT and MR imaging. Radiology. 2010 juin;255(3):857-865.
10. gouin F, venet guillaume, moreau anne. chondromes. Encycl Méd Chir. 2001;14(720):10p.
11. Lichtenstein L, Jaffe HL. Chondrosarcoma of bone. The American Journal of Pathology. 1943;19(4):553.
12. Mi-Jung K, Alberto G, others. Chondrosarcoma: With Updates on Molecular Genetics. Sarcoma. 2011;2011.
13. Murphey MD, Flemming DJ, Boyea SR, Bojescul JA, Sweet DE, Temple HT. Enchondroma versus chondrosarcoma in the appendicular skeleton: differentiating features. Radiographics. 1998;18(5):1213 -1237.
14. Anract P, de Pinieux G, Tomeno B. Chondrosarcomes intraosseux. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris). Appareil locomoteur. 2001;14:716.
15. Eefting D, Schrage YM, Geirnaerdt MJA, Le Cessie S, Taminiau AHM, Bovée JVMG, et al. Assessment of interobserver variability and histologic parameters to improve reliability in classification and grading of central cartilaginous tumors. Am. J. Surg. Pathol. 2009 janv;33(1):50-57.
16. O'Neal LW, Ackerman LV. Chondrosarcoma of bone. Cancer. 1952;5(3):551–577.
17. Evans HL, Ayala AG, Romsdahl MM. Prognostic factors in chondrosarcoma of bone. A clinicopathologic analysis with emphasis on histologic grading. Cancer. 1977;40(2):818-831.
18. Naumann S, Krallman PA, Unni KK, Fidler ME, Neff JR, Bridge JA. Translocation der(13;21)(q10;q10) in skeletal and extraskeletal mesenchymal chondrosarcoma. Mod. Pathol. 2002 mai;15(5):572-576.

19. Park YK, Park HR, Chi SG, Kim CJ, Sohn KR, Koh JS, et al. Overexpression of p53 and rare genetic mutation in mesenchymal chondrosarcoma. Oncol. Rep. 2000 oct;7(5):1041-1047.
20. Müller S, Söder S, Oliveira AM, Inwards CY, Aigner T. Type II collagen as specific marker for mesenchymal chondrosarcomas compared to other small cell sarcomas of the skeleton. Modern Pathology. 2005;18(8):1088–1094.
21. Park YK, Park HR, Chi SG, Ushigome S, Unni KK. Overexpression of p53 and absent genetic mutation in clear cell chondrosarcoma. Int. J. Oncol. 2001 août;19(2):353-357.
22. Bovée JV, Cleton-Jansen AM, Rosenberg C, Taminiau AH, Cornelisse CJ, Hogendoorn PC. Molecular genetic characterization of both components of a dedifferentiated chondrosarcoma, with implications for its histogenesis. J. Pathol. 1999 déc;189(4):454-462.
23. Ahlmann ER, Menendez LR, Fedenko AN, Learch T. Influence of cryosurgery on treatment outcome of low-grade chondrosarcoma. Clin. Orthop. Relat. Res. 2006 oct;451:201-207.
24. van der Geest ICM, de Valk MH, de Rooy JWJ, Pruszczynski M, Veth RPH, Schreuder HWB. Oncological and functional results of cryosurgical therapy of enchondromas and chondrosarcomas grade 1. J Surg Oncol. 2008 nov 1;98(6):421-426.
25. Souna BS, Belot N, Duval H, Langlais F, Thomazeau H. No recurrences in selected patients after curettage with cryotherapy for grade I chondrosarcomas. Clin. Orthop. Relat. Res. 2010 juill;468(7):1956-1962.
26. Gelderblom H, Hogendoorn PCW, Dijkstra SD, van Rijswijk CS, Krol AD, Taminiau AHM, et al. The Clinical Approach Towards Chondrosarcoma. Oncologist. 2008 mars 1;13(3):320-329.
27. Wyman JJ, Hornstein AM, Meitner PA, Mak S, Verdier P, Block JA, et al. Multidrug resistance-1 and p-glycoprotein in human chondrosarcoma cell lines: Expression correlates with decreased intracellular doxorubicin and in vitro chemoresistance. Journal of Orthopaedic Research. 1999;17(6):935–940.
28. Couvineau A, Wouters V, Bertrand G, Rouyer C, Gerard B, Boon LM, et al. PTHR1 mutations associated with Ollier disease result in receptor loss of function. Human molecular genetics. 2008;17(18):2766.
29. Rozeman LB, Sangiorgi L, Bruijn IH, Mainil-Varlet P, Bertoni F, Cleton-Jansen AM, et al. Enchondromatosis (Ollier disease, Maffucci syndrome) is not caused by the PTHR1 mutation p. R150C. Human mutation. 2004;24(6):466–473.
30. Bovée JVMG, Cleton-Jansen AM, Taminiau AHM, Hogendoorn PCW. Emerging pathways in the development of chondrosarcoma of bone and implications for targeted treatment. The Lancet Oncology. 2005;6(8):599–607.
31. Bovée JVMG, Hogendoorn PCW, Wunder JS, Alman BA. Cartilage tumours and bone development: molecular pathology and possible therapeutic targets. Nat. Rev. Cancer. 2010 juill;10(7):481-488.
32. Rozeman LB, Hameetman L, Cleton-Jansen A-M, Taminiau AHM, Hogendoorn PCW, Bovée JVMG. Absence of IHH and retention of PTHrP signalling in enchondromas and central chondrosarcomas. J. Pathol. 2005 mars;205(4):476-482.
33. Schrage YM, Hameetman L, Szuhai K, Cleton-Jansen AM, Taminiau AHM, Hogendoorn PCW, et al. Aberrant heparan sulfate proteoglycan localization, despite normal exostosin, in central chondrosarcoma. American Journal of Pathology. 2009;174(3):979.
34. van Beerendonk HM, Rozeman LB, Taminiau AHM, Sciot R, Bovée JVMG, Cleton-Jansen A-M, et al. Molecular analysis of the INK4A/INK4A-ARF gene locus in conventional (central) chondrosarcomas and enchondromas: indication of an important gene for tumour progression. J. Pathol. 2004 mars;202(3):359-366.

35. Endo M, Matsumura T, Yamaguchi T, Yamaguchi U, Morimoto Y, Nakatani F, et al. Cyclooxygenase-2 overexpression associated with a poor prognosis in chondrosarcomas. Human pathology. 2006;37(4):471–476.
36. Schrage YM, Machado I, Meijer D, Briaire-de Bruijn I, van den Akker BE, Taminiau AHM, et al. COX-2 expression in chondrosarcoma: A role for celecoxib treatment? European Journal of Cancer. 2010;46(3):616–624.
37. Jennes I, Pedrini E, Zuntini M, Mordenti M, Balkassmi S, Asteggiano CG, et al. Multiple osteochondromas: mutation update and description of the multiple osteochondromas mutation database (MOdb). Human Mutation. 2009;30(12):1620–1627.
38. Terek RM. Recent advances in the basic science of chondrosarcoma. Orthop. Clin. North Am. 2006 janv;37(1):9-14.
39. Bovée JVMG, van den Broek LJCM, Cleton-Jansen AM, Hogendoorn PCW. Up-regulation of PTHrP and Bcl-2 expression characterizes the progression of osteochondroma towards peripheral chondrosarcoma and is a late event in central chondrosarcoma. Laboratory Investigation. 2000;80(12):1925–1933.
40. Skeletal Lesions Interobserver Correlation among Expert Diagnosticians (SLICED) Study Group. Reliability of Histopathologic and Radiologic Grading of Cartilaginous Neoplasms in Long Bones. J Bone Joint Surg Am. 2007 oct 1;89(10):2113-2123.
41. Mirra JM, Gold R, Downs J, Eckardt JJ. A new histologic approach to the differentiation of enchondroma and chondrosarcoma of the bones: a clinicopathologic analysis of 51 cases. Clinical orthopaedics and related research. 1985;201:214.
42. de Pinieux G. chondrosarcome osseux de grade 1: critères diagnostiques. bulletin n°52 de la division française de l'académie internationale de pathologie. 2010 déc;:39-48.
43. Helfenstein A, Frahm SO, Krams M, Drescher W, Parwaresch R, Hassenpflug J. Minichromosome maintenance protein (MCM6) in low-grade chondrosarcoma: distinction from enchondroma and identification of progressive tumors. Am. J. Clin. Pathol. 2004 déc;122(6):912-918.
44. Pace JM, Wiese M, Drenguis AS, Kuznetsova N, Leikin S, Schwarze U, et al. Defective C-propeptides of the proalpha2(I) chain of type I procollagen impede molecular assembly and result in osteogenesis imperfecta. J. Biol. Chem. 2008 juin 6;283(23):16061-16067.
45. Han S, Makareeva E, Kuznetsova NV, DeRidder AM, Sutter MB, Losert W, et al. Molecular mechanism of type I collagen homotrimer resistance to mammalian collagenases. J. Biol. Chem. 2010 juill 16;285(29):22276-22281.
46. Han S, McBride DJ, Losert W, Leikin S. Segregation of type I collagen homo- and heterotrimers in fibrils. J. Mol. Biol. 2008 oct 31;383(1):122-132.
47. Miles CA, Sims TJ, Camacho NP, Bailey AJ. The role of the alpha2 chain in the stabilization of the collagen type I heterotrimer: a study of the type I homotrimer in oim mouse tissues. J. Mol. Biol. 2002 août 30;321(5):797-805.
48. Makareeva E, Han S, Vera JC, Sackett DL, Holmbeck K, Phillips CL, et al. Carcinomas contain a matrix metalloproteinase-resistant isoform of type I collagen exerting selective support to invasion. Cancer Res. 2010 juin 1;70(11):4366-4374.
49. Daviesz D, Calderwood DA, Weston SA, Takigawa M, Humphries MJ. Molecular Characterisation of Integrin–Procollagen C-Propeptide Interactions. European Journal of Biochemistry. 1997;246(2):274–282.
50. Palmieri D, Camardella L, Ulivi V, Guasco G, Manduca P. Trimer Carboxyl Propeptide of Collagen I Produced by Mature Osteoblasts Is Chemotactic for Endothelial Cells. Journal of Biological Chemistry. 2000 oct 20;275(42):32658 -32663.

51. Palmieri D, Poggi S, Ulivi V, Casartelli G, Manduca P. Pro-collagen I COOH-terminal trimer induces directional migration and metalloproteinases in breast cancer cells. J. Biol. Chem. 2003 févr 7;278(6):3639-3647.
52. Palmieri D, Astigiano S, Barbieri O, Ferrari N, Marchisio S, Ulivi V, et al. Procollagen I COOH-terminal fragment induces VEGF-A and CXCR4 expression in breast carcinoma cells. Exp. Cell Res. 2008 juill 1;314(11-12):2289-2298.
53. Burger JA, Kipps TJ. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. Blood. 2006 mars 1;107(5):1761-1767.
54. Poole AR, Pidoux I, Reiner A, Choi H, Rosenberg LC. Association of an extracellular protein (chondrocalcin) with the calcification of cartilage in endochondral bone formation. J. Cell Biol. 1984 janv;98(1):54-65.
55. Lee ER, Matsui Y, Poole AR. Immunochemical and immunocytochemical studies of the C-propeptide of type II procollagen in chondrocytes of the growth plate. Journal of Histochemistry and Cytochemistry. 1990;38(5):659.
56. Niyibizi C, Wu JJ, Eyre DR. The carboxypropeptide trimer of type II collagen is a prominent component of immature cartilages and intervertebral-disc tissue. Biochim. Biophys. Acta. 1987 déc 18;916(3):493-499.
57. Vincourt JB, Lionneton F, Kratassiouk G, Guillemin F, Netter P, Mainard D, et al. Establishment of a reliable method for direct proteome characterization of human articular cartilage. Molecular & Cellular Proteomics. 2006;5(10):1984.
58. Vincourt JB, Etienne S, Cottet J, Delaunay C, Malanda B, Lionneton F, et al. C-Propeptides of Procollagens Iα1 and II that Differentially Accumulate in Enchondromas versus Chondrosarcomas Regulate Tumor Cell Survival and Migration. Cancer Research. 2010;70(11):4739.
59. Uría JA, Balbín M, López JM, Alvarez J, Vizoso F, Takigawa M, et al. Collagenase-3 (MMP-13) Expression in Chondrosarcoma Cells and Its Regulation by Basic Fibroblast Growth Factor. Am J Pathol. 1998 juill;153(1):91-101.
60. Mankin HJ, Cantley KP, Schiller AL, Lippiello L. The biology of human chondrosarcoma. II. Variation in chemical composition among types and subtypes of benign and malignant cartilage tumors. The Journal of Bone and Joint Surgery. 1980;62(2):176.
61. Aigner T, Dertinger S, Vornehm SI, Dudhia J, Von der Mark K, Kirchner T. Phenotypic diversity of neoplastic chondrocytes and extracellular matrix gene expression in cartilaginous neoplasms. The American journal of pathology. 1997;150(6):2133.
62. Aigner T. Towards a new understanding and classification of chondrogenic neoplasias of the skeleton-biochemistry and cell biology of chondrosarcoma and its variants. Virchows Archiv. 2002;441(3):219–230.
63. Aigner T, Dertinger S, Neureiter D, Kirchner T. De-differentiated chondrosarcoma is not a'de-differentiated'chondrosarcoma. Histopathology. 1998;33(1):11–19.
64. Aigner T, M\üller S, Neureiter D, Illstrup DM, Kirchner T, Bj\örnsson J. Prognostic relevance of cell biologic and biochemical features in conventional chondrosarcomas. Cancer. 2002;94(8):2273–2281.
65. Dornauer K, Söder S, Inwards CY, Bovee JVMG, Aigner T. Matrix biochemistry and cell biology of dedifferentiated chondrosarcomas. Pathol. Int. 2010 mai;60(5):365-372.
66. Kalinski T, Krueger S, Sel S, Werner K, Ropke M, Roessner A. Differential expression of VEGF-A and angiopoietins in cartilage tumors and regulation by interleukin-1beta. Cancer. 2006 mai 1;106(9):2028-2038.
67. Kalinski T, Sel S, Kouznetsova I, Röpke M, Roessner A. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in cartilage tumors. Pathol. Res. Pract. 2009;205(5):339-345.

68. Kauppila S, Stenb\äck F, Risteli J, Jukkola A, Risteli L. Aberrant type I and type III collagen gene expression in human breast cancer in vivo. The Journal of Pathology. 1998;186(3):262–268.
69. Jukkola A, T\ähtel\ä R, Th\ölix E, Vuorinen K, Blanco G, Risteli L, et al. Aggressive breast cancer leads to discrepant serum levels of the type I procollagen propeptides PINP and PICP. Cancer research. 1997;57(24):5517.
70. Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, et al. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. Cell. 2005;121(3):335–348.

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

Cancer Research

C-Propeptides of Procollagens Iα1 and II that Differentially Accumulate in Enchondromas versus Chondrosarcomas Regulate Tumor Cell Survival and Migration

Jean-Baptiste Vincourt, Stéphanie Etienne, Justine Cottet, et al.

Cancer Res 2010;70:4739-4748. Published OnlineFirst May 11, 2010.

Updated Version Access the most recent version of this article at: doi:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

Supplementary Material Access the most recent supplemental material at: http://cancerres.aacrjournals.org/content/suppl/2010/05/10/0008-5472.CAN-10-0046.DC1.html

Correction A correction to this article has been published. It is appended to this PDF and can also be accessed at: http://cancerres.aacrjournals.org/content/70/13/5639.3.full.pdf

Cited Articles This article cites 29 articles, 8 of which you can access for free at: http://cancerres.aacrjournals.org/content/70/11/4739.full.html#ref-list-1

Citing Articles This article has been cited by 1 HighWire-hosted articles. Access the articles at: http://cancerres.aacrjournals.org/content/70/11/4739.full.html#related-urls

E-mail alerts Sign up to receive free email-alerts related to this article or journal.

Reprints and Subscriptions To order reprints of this article or to subscribe to the journal, contact the AACR Publications Department at pubs@aacr.org.

Permissions To request permission to re-use all or part of this article, contact the AACR Publications Department at permissions@aacr.org.

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

Cancer Research

C-Propeptides of Procollagens Iα1 and II that Differentially Accumulate in Enchondromas versus Chondrosarcomas Regulate Tumor Cell Survival and Migration

Jean-Baptiste Vincourt[1], Stéphanie Etienne[1], Justine Cottet[1], Camille Delaunay[2], Bantsimba Malanda[1], Frédéric Lionneton[1], François Sirveaux[3], Patrick Netter[1], François Plénat[2], Didier Mainard[1], Jean-Michel Vignaud[2], and Jacques Magdalou[1]

Abstract

Chondrogenic tumors that exhibit benign or malignant behaviors synthesize variable amounts of cartilage-like extracellular matrix. To define the regulators of these phenotypes, we performed a proteomic comparison of multiple human chondrogenic tumors, which revealed differential accumulation of the C-propeptides of procollagens Iα1 and II (PC1CP and PC2CP) in malignant versus benign tumors, respectively. Expression patterns of PC1CP correlated with levels of tumor vascularization, whereas expression patterns of PC2CP suggested its susceptibility to immobilization within the extracellular matrix. Prompted by these observations, we investigated the functions of recombinant PC1CP and PC2CP in the extracellular matrix in soluble or immobilized states. Each induced β1 integrin–mediated chondrocyte adhesion by distinct domains and efficacies, suggesting that they initiated distinct signaling pathways. Indeed, immobilized PC2CP, but not PC1CP, induced apoptosis of primary chondrocytes and EAhy926 endothelial cells. In contrast, soluble PC1CP, but not PC2CP, induced the migration of EAhy926 cells and increased vascular endothelial growth factor (*VEGF*) and *CXCR4* expression in chondrocytes. Soluble PC2CP also increased *VEGF* expression, but along with a more pronounced effect on *CXCR4* and matrix metalloproteinase 13 expression. Our findings suggest that PC1CP favors angiogenesis and tumor progression, but that PC2CP acts in a more complex manner, exerting antitumor and antiangiogenic properties through apoptosis induction when immobilized, but progression and metastasis when soluble. In summary, the relative levels of PC1CP and PC2CP and their interactions within the extracellular matrix contribute to tumor progression, angiogenesis, and metastasis in chondrogenic tumors.
Cancer Res; 70(11); 4739–48. *©2010 AACR.*

Introduction

Cartilaginous tumors are characterized by the formation of cartilage-like extracellular matrix by neoplastic cells exhibiting a chondrocytic gene expression profile. Most chondrogenic tumors are benign (enchondromas) as they remain phenotypically very similar to differentiated chondrocytes, in respect of their gene expression profile and matrix composition (1, 2). Their malignant counterparts, chondrosarcomas, are divided into subgroups relating their matrix composition and behavior. The most distant from enchondromas in terms of behavior and phenotype, grouped under the term "unconventional chondrosarcoma," exhibit phenotypes related to early, late, or dedifferentiation stages of chondrocytes (1). Conventional chondrosarcomas, which partly share the differentiated chondrocytic phenotype of enchondroma, tend to grow faster and produce metastases (2). They are classified into histologic grades, which tentatively relate their potential aggressiveness. The functional features distinguishing enchondromas from low-grade chondrosarcomas remain unidentified, however. The understanding of low-grade chondrosarcoma progression is poor (2) and the differential diagnosis of chondrosarcoma versus enchondroma remains difficult (3, 4).

We investigated the proteomes of multiple human enchondromas and chondrosarcomas of all types and grades in the search for molecular markers and regulators of chondrogenic tumors. We identified COOH-terminal propeptides of procollagen Iα1 (PC1CP) and IIα1 (PC2CP) as differentially accumulated polypeptides in malignant

Authors' Affiliations: [1]UMR 7561 Centre National de la Recherche Scientifique-Nancy Université, Faculté de Médecine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France; [2]Laboratoire d'Anatomie Pathologique, CHU Nancy, Nancy Cedex, France; and [3]Clinique Orthopédique, CHU Nancy, France

Note: Supplementary data for this article are available at Cancer Research Online (http://cancerres.aacrjournals.org/).

Current address for F. Lionneton: IFR122, 1919 Route de Mende, 34293 Montpellier Cedex 5, France.

Corresponding Author: Jean-Baptiste Vincourt, UMR 7561 Centre National de la Recherche Scientifique Universite Nancy, 9, avenue foret de Haye, Vandoeuvre cedex 54505 France. Phone: 333-83-68-39-50; Fax: 333-83-68-39-59; E-mail: Jean-Baptiste.Vincourt@medecine.uhp-nancy.fr.

doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

©2010 American Association for Cancer Research.

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

versus benign tumors. Therefore, we investigated their molecular functions *in vitro* as purified recombinant proteins.

Materials and Methods

Tissue procurement and processing, proteomic analysis, and protein spot identification

This study was performed in conformity with the Declaration of Helsinki principles. Written informed consent was obtained from the patients. Tissue preparation, protein extraction, two-dimensional electrophoresis, gel staining and analysis, protein spot identification, and Western blots were performed as described previously (5).

Antibodies

Chick anti-PC1CP and rabbit anti-PC2CP were generated at Eurogentech using the following peptides as immunogens: NH_2-CWYISKNPKDKRHXWF-COOH (PC1CP), and NH_2-SSKSKEKKHIWFC-COOH and NH_2-ADQAAGGLRQHDAEC-COOH (PC2CP). Other antibodies were rabbit anti-G3PDH, goat anti–matrix metalloproteinase 13 (MMP13), and mouse anti-CD34 (QBEnd 10, DAKO).

Immunohistochemistry

Immunohistochemistry was performed on formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections using the streptavidin-biotin-peroxydase set up (DAKO). Antigen retrieval was processed in a Tris-citrate buffer (pH 6.0) for 30 minutes at 65°C. Proteoglycans were digested with 500 U/mL hyaluronidase and 1 U/mL chondroitinase ABC (Sigma). Anti-PC1CP and anti-PC2CP were diluted 1:200 and diaminobenzidine was used as a chromogen. Images were captured on a DMD108 microscope (Leica).

Reverse transcription and molecular cloning

RNA was extracted from cell cultures or tissues using the RNeasy kit (Qiagen). Reverse transcription was performed from 500 ng total RNA using M-MLV (Invitrogen). Open reading frames encoding PC1CP and PC2CP (as described in Fig. 4A) were cloned in pET15b (Novagen) or in pcDNA3.1 downstream of the MATN3 signal peptide (amino acids 1–28) and a 6xHis tag.

Protein production and purification

Bacterial PC1CP and PC2CP were produced and purified from the insoluble fraction in a urea-containing buffer on Ni-NTA columns (Qiagen). pcDNA3-PC1CP and pcDNA3-PC2CP plasmids were transfected into SW1353 cells using Exgen500 (Euromedex). For production, clones were grown as suggested by Ruggiero and Koch (6). Conditioned medium was clarified; equilibrated to 1 mol/L NaCl, 0.2% Triton X-100, and 5 mmol/L imidazole at 4°C; and incubated overnight with Ni-NTA resin. The resin was washed in dPBS containing 1 mol/L NaCl and 20 mmol/L imidazole, and elution was performed stepwise with dPBS containing 500 mmol/L NaCl and 500 mmol/L imidazole. Proteins were dialyzed into serum-free culture medium or PBS. We verified their identities by mass spectrometry and did not detect any known polypeptide other than PC1CP or PC2CP, respectively.

Real-time PCR

Quantitative PCR was performed as described in a previous publication (7). *GAPDH* was used as internal standard. Primers used were as follows: GAPDH_FOR, CGACCACTTTGTCAAGCTCA; GAPDH_REV, AGGGGAGATTCAGTGTGGTG; COL2_FOR, ATGACAATCTGGCTCCCAAC; COL2_REV, GAACCTGCTATTGCCCTCTG; COL1_FOR, GGCCCAGAAGAACTGGTACA; COL1_REV, CGCTGTTCTTGCAGTGGTAG; MMP13_FOR, AATTGTCCGGTTTGTCTTGGA MMP13_REV, GGGAAGTGCTGGGGGATTTT; CXCR4_FOR, GGTGGTCTATGTTGGCGTCT; CXCR4_REV, TGGAGTGTGACAGCTTGGAG; VEGF_FOR, GCAGAATCATCACGAAGTGG; and VEGF_REV, GCATGGTGATGTTGGACTCC.

Primary human chondrocyte and cell line culture

Primary human chondrocyte (PHC) handling and culture were performed as previously described (7). SW1353 and EAhy926 human cell lines were procured from the American Type Culture Collection and grown accordingly.

Cell adhesion assays

The colorimetric assay was described by Davies and colleagues (8). Blocking antibodies were used at 10 μg/mL. Anti-β1, anti-β3, and anti-α5β1 (MAB1959, MAB1957Z, and MAB1969) were from Millipore. Anti-α1 and anti-α2 (5E8D9 and P1E6) were from Santa Cruz. For morphologic analysis, plastic coverslips were coated with proteins overnight, rinsed in PBS, and nonspecific binding was blocked in 1% (w/v) bovine serum albumin (BSA). Cells (5×10^4) were added in 500 μL culture medium for 30 45 minutes. Attached cells were fixed with 4% (w/v) PFA, rinsed, and permeabilized in 0.2% (v/v) Triton X-100. Phalloidin-Alexa 488 (1 U/mL; Invitrogen) was added in 5% (w/v) BSA for 1 hour. Coverslips were rinsed four times and mounted on 4′,6-diamidino-2-phenylindole (DAPI)–containing Vectashield (Vector Laboratories). Images were captured on a DMI3000B microscope (Leica).

Cell death/proliferation assays

Cells (1×10^4) were grown in protein precoated 96-well plates for 48 hours in serum-containing medium, with 20 μg/mL bromodeoxyuridine (BrdUrd) for the last 24 hours, rinsed in PBS, and processed for Click-IT terminal deoxynucleotidyl transferase–mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) Alexa488 assay (Invitrogen). Monoclonal anti-BrdUrd (Invitrogen, 1:200) was added in 5% (w/v) BSA in PBS for 2 hours. Secondary goat anti-mouse alexa594 (Invitrogen, 1:200) was incubated for 1 hour in blocking buffer. Cell enumeration and rates of TUNEL-positive and BrdUrd-positive cells were performed by fluorescence microscopy.

Cell migration assays

Boyden Chamber assays were directly derived from Palmieri and colleagues (9) except that 4×10^4 cells were used per insert.

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

Statistical analysis

All experiments were analyzed in triplicate and performed at least three times; experiments using PHCs were performed from three independent patients. *P* values were calculated by the paired or unpaired Student's *t* test in accordance with the situation.

Results

Differential accumulation of C-propeptides of PC1CP and PC2CP in malignant versus benign chondrogenic tumors

Differential proteomic analysis of multiple human cartilage tumors and articular cartilage tissues was performed

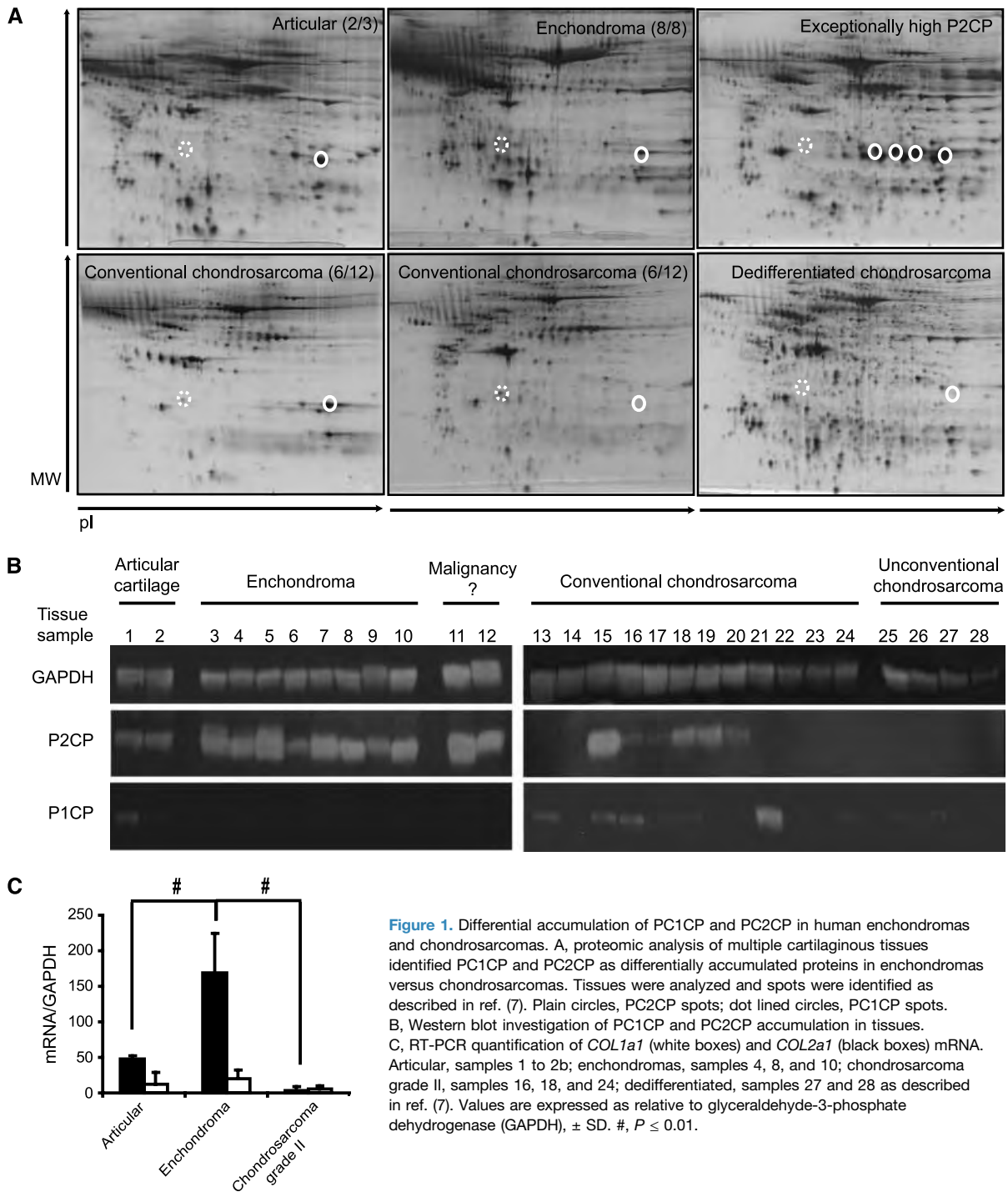


Figure 1. Differential accumulation of PC1CP and PC2CP in human enchondromas and chondrosarcomas. A, proteomic analysis of multiple cartilaginous tissues identified PC1CP and PC2CP as differentially accumulated proteins in enchondromas versus chondrosarcomas. Tissues were analyzed and spots were identified as described in ref. (7). Plain circles, PC2CP spots; dot lined circles, PC1CP spots. B, Western blot investigation of PC1CP and PC2CP accumulation in tissues. C, RT-PCR quantification of *COL1a1* (white boxes) and *COL2a1* (black boxes) mRNA. Articular, samples 1 to 2b; enchondromas, samples 4, 8, and 10; chondrosarcoma grade II, samples 16, 18, and 24; dedifferentiated, samples 27 and 28 as described in ref. (7). Values are expressed as relative to glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH), ± SD. #, $P \leq 0.01$.

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

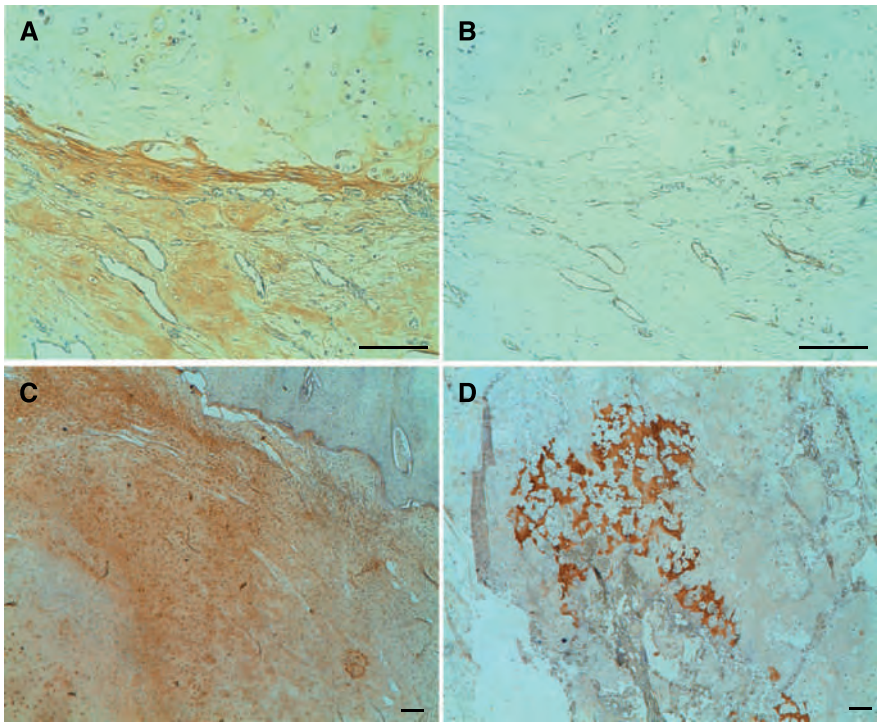


Figure 2. Immunohistochemical analysis of PC1CP and PC2CP localization. PC1CP (A), CD34 (B), and PC2CP (C and D). Captures were performed using ×10 (A and B) or ×4 (C, D) objectives. Bar, 100 μm. Samples used are annotated in Supplementary Table S1.

using a previously described method (5). Thirty-four samples (7), including articular cartilage, enchondromas, conventional chondrosarcomas of all grades, and nonconventional chondrosarcomas, were subjected to proteomic comparison by bidimensional electrophoresis.

One spot with a molecular weight (MW) of 34 kDa and an isolelectric point (pI) of ~8.0 (Fig. 1A), identified from five tissues by mass spectrometry fingerprinting as the C-propeptide of PC2CP, was observed from all enchondromas and from 6 of 12 conventional chondrosarcomas of all grades (Fig. 1A, bottom right). Strikingly, in most enchondromas and one grade I chondrosarcoma, amounts of PC2CP reached levels much higher than in articular cartilage, as illustrated in Fig. 1A (top right). In contrast, 6 of 12 conventional chondrosarcomas (Fig. 1A, bottom center) and atypical chondrosarcomas (Fig. 1A, bottom right) lacked PC2CP.

Another spot with a MW of 34 kDa and a pI of ~5.8 (Fig. 1A), identified from three tissues as the C-propeptide of PC1CP, was observed in 10 of 12 conventional chondrosarcomas of all grades (Fig. 1A, bottom), but not in any enchondroma. Based on these observations, we hypothesized that concomitant high PC1CP and low PC2CP levels might be signs of severity in chondrogenic tumors. We confirmed by Western blot (Fig. 1B) that PC1CP was restricted to malignant tumors, whereas PC2CP was absent from certain chondrosarcomas but not from any enchondroma.

Because PC1CP and PC2CP are products of *COL1a1* and *COL2a1* genes, their protein levels are considered to reflect mRNA levels of the corresponding gene (10, 11). This hypothesis was challenged by quantitative PCR from three tissue groups: osteoarthritic articular cartilage, enchondroma, and conventional chondrosarcoma grade II (Fig. 1C). *COL2a1* expression followed PC2CP levels as enchondromas exhibited significantly higher mRNA levels than articular cartilage and chondrosarcomas (Fig. 1C). However, levels of *COL1a1* mRNA in the three groups were not significantly different. Therefore, increased PC1CP levels in chondrosarcomas could not be attributed to elevated gene expression.

PC1CP accumulates in regions of highest vascularization

We investigated the immunohistochemical localizations of PC1CP and PC2CP in 72 chondrogenic tumors (Supplementary Data S1). Based on proteomic findings, it could have been suggested that tumors that exhibit either low PC2CP levels or high PC1CP levels would have a significant risk of malignancy. However, immunohistochemical observations did not confirm a straight relation between respective PC1CP or PC2CP expression and malignancy. PC2CP immunostaining was not detected in 4 of 29 enchondromas. In addition, PC1CP was found not only in the vast majority of chondrosarcoma samples, but also in many enchondromas (17 of 29, example shown in Supplementary Data S2). Therefore, the presence or absence of PC1CP and PC2CP did not allow distinction between benign and malignant tumors. In general, however, the staining for PC1CP increased with tumor grade (Supplementary Data S2). Interestingly, in most conventional chondrosarcomas (29 of 35), PC1CP staining was restricted to particular tumor compartments, which seemed less

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

differentiated in terms of cell morphology and matrix content (Fig. 2A). Further, these compartments also exhibited higher vascularization, as estimated by the density of CD34 staining (Fig. 2B). Therefore, PC1CP was suspected to participate in tumor angiogenesis.

PC2CP either diffuses through the tumor or concentrates locally

PC2CP was observed in 14 conventional chondrosarcomas of all grades and in 25 of 29 enchondromas. PC2CP systematically localized to most differentiated cartilage-like areas, but exhibited highly variable repartition through the tissue. In 12 of 14 positive chondrosarcomas, its repartition was homogeneous throughout a tumor compartment (Fig. 2C). In contrast, in 11 of 25 positive enchondromas and in two low-grade chondrosarcomas, the staining was intensely concentrated to specific matrix areas (Fig. 2D). These very different staining patterns suggested that PC2CP either diffused freely through the tissue or was immobilized to particular extracellular components, depending on the tumor considered. Therefore, we investigated the functions of PC1CP and PC2CP as soluble and as immobilized proteins.

Characterization of the disulfide bonding of recombinant PC1CP and PC2CP produced in bacteria or human cells

To characterize the functions of PC1CP and PC2CP, we first purified them as recombinant proteins from bacteria. As shown by their apparent MW under nonreducing conditions (Fig. 3A), bacterial products exhibited two conformations: one with a MW identical to that observed under reducing conditions, suggesting that it was devoid of disulfide bonds, and the other with a lower MW, suggesting that it contained only intramolecular disulfide bonds. This, together with the fact that these proteins were purified under denaturing conditions, led us to suspect that PC1CP and PC2CP produced in bacteria would not possess all structural features of their natural counterparts. Therefore, PC1CP and PC2CP were produced in chondrosarcoma cell cultures, as secreted proteins. Under nonreducing conditions, the resulting proteins predominantly migrated

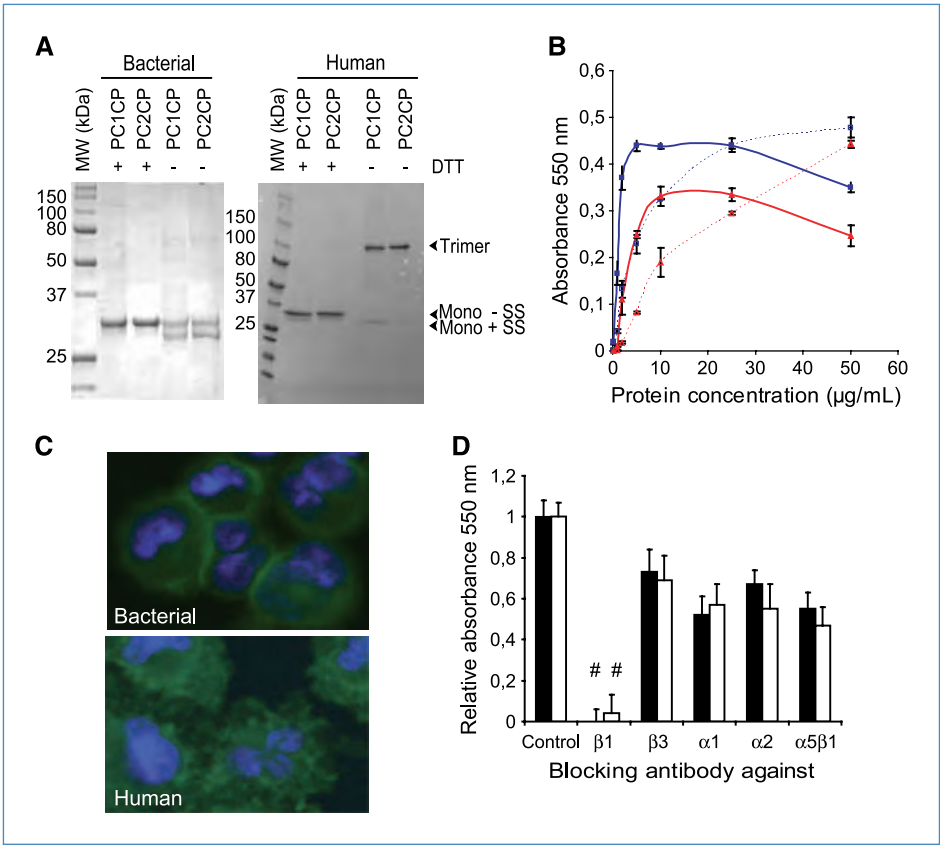


Figure 3. Functional characterization of the adhesive properties of recombinant PC1CP and PC2CP. A, SDS-PAGE analysis of recombinant PC1CP and PC2CP produced in bacteria or in SW1353 cells under reducing (+DTT) or nonreducing (–DTT) conditions. Arrows, expected MW of trimeric, intramolecularly disulfide, and intermolecularly disulfide linked (trimer), monomeric without any disulfide bonds (mono –SS) and monomeric, intramolecularly disulfide bonded (mono +SS) proteins, respectively. B, dose-dependent induction of PHC attachment. Full blue line, PC1CP from human cells; dotted blue line, bacterial PC1CP; full red line, PC2CP from human cells; dotted red line, bacterial PC2CP. C, fluorescent labeling of polymerized actin (green) and DNA (blue) of cells attached to 50 μg/mL immobilized PC2CP produced in bacteria or in human cells. D, effect of anti-integrin blocking antibodies on PC1CP- and PC2CP-induced cell attachment. Proteins were coated at 50 μg/mL and cell attachment was measured after 15-min preincubation of cells with the indicated antibodies. Black boxes, PC1CP; white boxes, PC2CP. Columns, mean; bars, SD. #, $P < 0.01$ versus control.

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

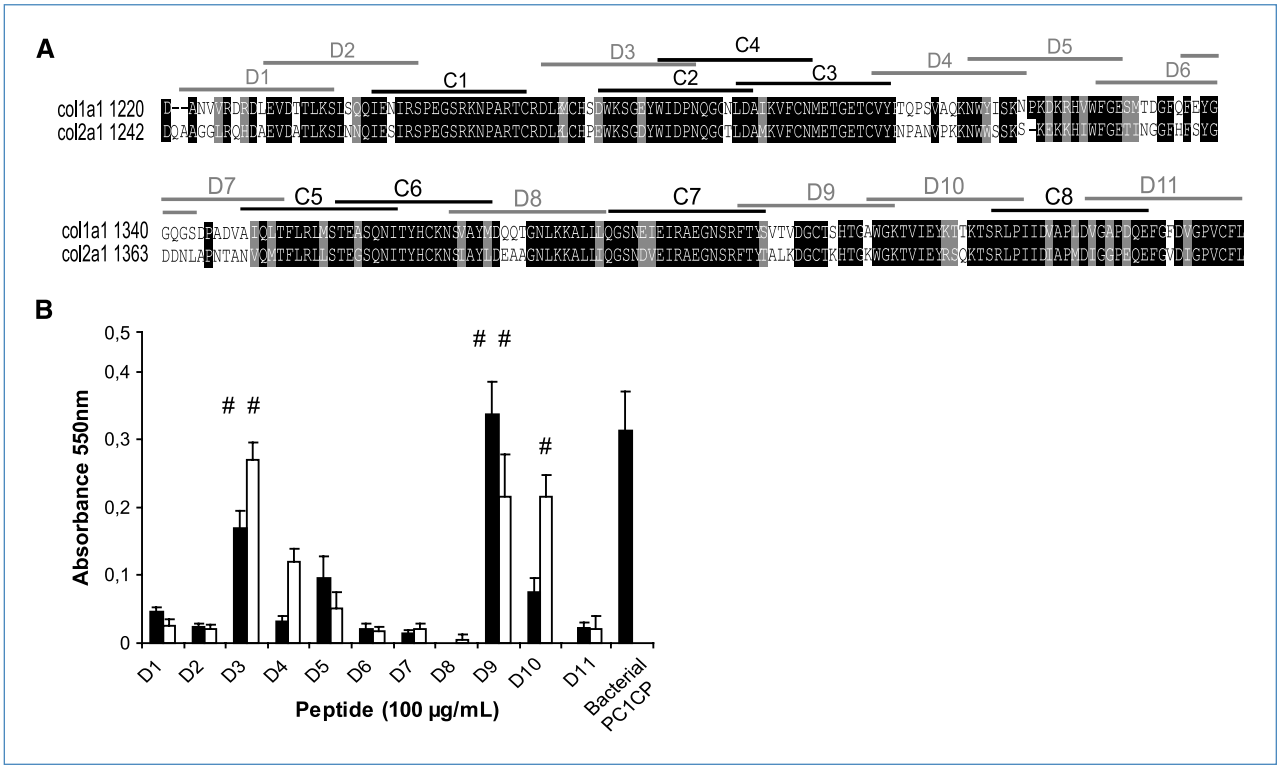


Figure 4. Peptides corresponding to divergent regions of PC1CP and PC2CP induce PHC attachment. A, alignment of PC1CP and PC2CP primary sequences. Amino acid positions were numbered according to their positions in the corresponding procollagens. Amino acids boxed in black are identical in polypeptides and those boxed in gray are conserved. Peptide sequences derived from either PC1CP or PC2CP are shown by lines at the top of the sequences. Peptides conserved between the two proteins are annotated C1 (for conserved) to C8. Peptides corresponding to divergent regions are annotated D1 (for divergent) to D11. The threshold defining conservation was that a maximum of one amino acid should be functionally divergent. B, PHC attachment assay after coating of the indicated divergent peptides or PC1CP produced from bacteria at 100 µg/mL. Black boxes, peptides from PC1CP; white boxes: peptides from PC2CP. Columns, mean; bars, SD. #, $P < 0.01$ versus control.

with a MW close to 100 kDa (Fig. 3A), suggesting that they were trimeric, possessing intermolecular disulfide bonds, like their natural counterparts.

Immobilized recombinant PC1CP and PC2CP produced in bacteria induce cell attachment, whereas those produced in human cells induce adhesion through β1-integrin

Earlier studies showed that endogenous PC1CP and PC2CP were capable of inducing dose-dependent cellular attachment when immobilized to plastic surfaces (8). Therefore, the capacity of recombinant PC1CP and PC2CP produced in bacteria or human cells to promote PHC adhesion was investigated. (Fig. 3B). PC1CP and PC2CP from human cells induced saturating, dose-dependent cellular attachment with different capacities: first, the plateau value for PC1CP was 30% higher than that for PC2CP; in addition, the dose required to induce significant attachment was slightly lower for PC1CP. Recombinant PC1CP and PC2CP produced in bacteria also induced dose-dependent cell attachment. Here, in addition, the required concentration to achieve significant cell binding was slightly higher for PC2CP. Furthermore, the doses required to achieve significant attachment were 5-fold higher for proteins from bacteria than those from human cells. To define whether the receptor(s) for PC1CP and PC2CP were specifically expressed by PHCs, similar experiments were conducted using EAhy926 endothelial cells. The protein doses required to achieve significant EAhy926 cell attachment were approximately four times higher (data not shown) than for PHCs but remained convincing. Therefore, the receptor(s) for PC1CP and PC2CP was not specific to PHCs. We then compared the morphologies of attached cells induced by saturating doses of PC2CP from either bacteria or human cells (Fig. 3C). PHCs attached to bacterial PC2CP exhibited limited polymerized actin staining, which surrounded cell membranes. When attached to PC2CP from human cells, their polymerized actin staining was more intense and exhibited protrusions suggestive of adhesive structures. Similar results were obtained with PC1CP. In conclusion, PC1CP and PC2CP procured from bacteria were capable of interacting with cells, but not, like native PC1CP and PC2CP, of triggering proper adhesion. To gain insights into the identity of the molecular receptors of PC1CP and PC2CP, cell attachment experiments were performed after the incubation of cells with blocking antibodies directed against specific integrin subunits (Fig. 3D). Only an anti-β1 subunit antibody completely blocked cell attachment by either PC1CP or PC2CP. We concluded that

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

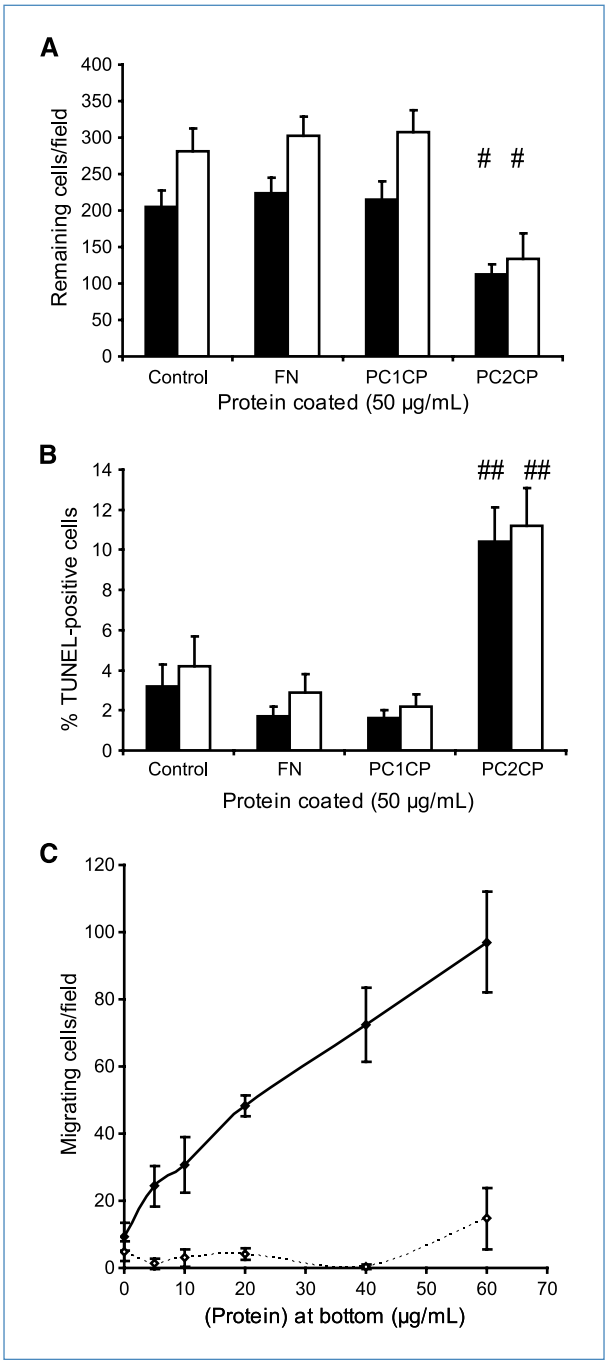


Figure 5. Immobilized PC2CP induces apoptosis of endothelial cells and PHCs, whereas soluble PC1CP promotes endothelial cell migration. A and B, immobilized PC2CP but not PC1CP induces EAhy926 endothelial cell (white boxes) and PHC (black boxes) apoptosis. Cells (1×10^4) were cultured for 48 h in 96-well plates after coating with the indicated proteins. Remaining cells were fixed and processed for TUNEL analysis. Cells per field (A) and the proportion of TUNEL-positive cells (B) were counted based on DAPI and TUNEL observation. FN, fibronectin. #, $P < 0.05$. ##, $P < 0.01$ versus control. C, standard Boyden chamber migration assay. PC1CP (full line) or PC2CP (dotted line) were added at the indicated concentrations in the bottom chamber and 4×10^4 EAhy926 cells were allowed to migrate for 4 hours. Cells that had reached to bottom surface of the membrane were counted per field. Bars indicate SD.

adhesion promotion by PC1CP and PC2CP was dependent on β1 subunit–containing integrins. We could not ascertain whether they bound all β1-containing integrins independently on their α subunit, as antibodies directed against several specific α subunits were not tested.

Distinct peptides corresponding to PC1CP and PC2CP are capable of inducing cell attachment

To better understand the structural basis of the different capacities of PC1CP and PC2CP to induce cellular adhesion, we generated a library of 18-mer peptides encompassing whole primary structures of PC1CP and PC2CP, and challenged their respective abilities to promote cell attachment. The peptides were classified as corresponding to either conserved or divergent regions between PC1CP and PC2CP (Fig. 4A). None of the conserved peptides induced significant cell adhesion (data not shown). In contrast, several divergent peptides did. In particular, peptides D3 and D9, from both PC1CP and PC2CP, induced significant but differentially efficient cell attachment (Fig. 4B). Further, peptide D10 from PC2CP, but not that from PC1CP, induced significant cell attachment, suggesting that this region of the two proteins might participate in the discriminating structural features of PC1CP and PC2CP. Cells attached to peptides remained round and lacked apparent actin reorganization (data not shown). We concluded that the cell-adhesive properties of PC1CP and PC2CP originated from distinct structural determinants contained at least in regions D3, D9, and D10, the coordinated action of which was not fully recapitulated in bacterial proteins due to misfolding of the polypeptide or the lack of covalent multimers. The combined differential binding of these protein regions to their receptor(s), which seem to include β1 integrin subunit, may constitute the structural basis of the differential adhesive properties of PC1CP and PC2CP, and possibly of their downstream signaling functions.

Immobilized PC2CP but not PC1CP induces the apoptosis of PHCs and endothelial EAhy926 cells

The functional consequences of cellular adhesion promoted by PC1CP and PC2CP were then investigated. PC1CP, PC2CP, or fibronectin were coated in 96-well plates at concentrations allowing optimal adhesion and either PHCs or human endothelial EAhy926 cells were cultured on coated surfaces. Because there was a marked decrease of cell number remaining in PC2CP-coated wells, we performed cell enumeration and TUNEL/BrdUrd incorporation experiments. After a 48 hours of culture, the number of cells of both types remained at similar levels in control, fibronectin-, and PC1CP-coated wells, but decreased by ~50% in PC2CP-coated wells (Fig. 5A). The proportion of remaining cells, which were positive for BrdUrd incorporation, was similar in all groups (data not shown). In the TUNEL assay (Fig. 5B), remaining cells grown on fibronectin or PC1CP exhibited a slightly, but nonsignificant decrease in apoptosis compared with controls, whereas those grown on PC2CP exhibited an ~3-fold increase in apoptosis rate. We concluded that immobilized PC2CP, but not PC1CP, induced apoptosis of both PHCs and endothelial EAhy926 cells, without obviously affecting cell

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

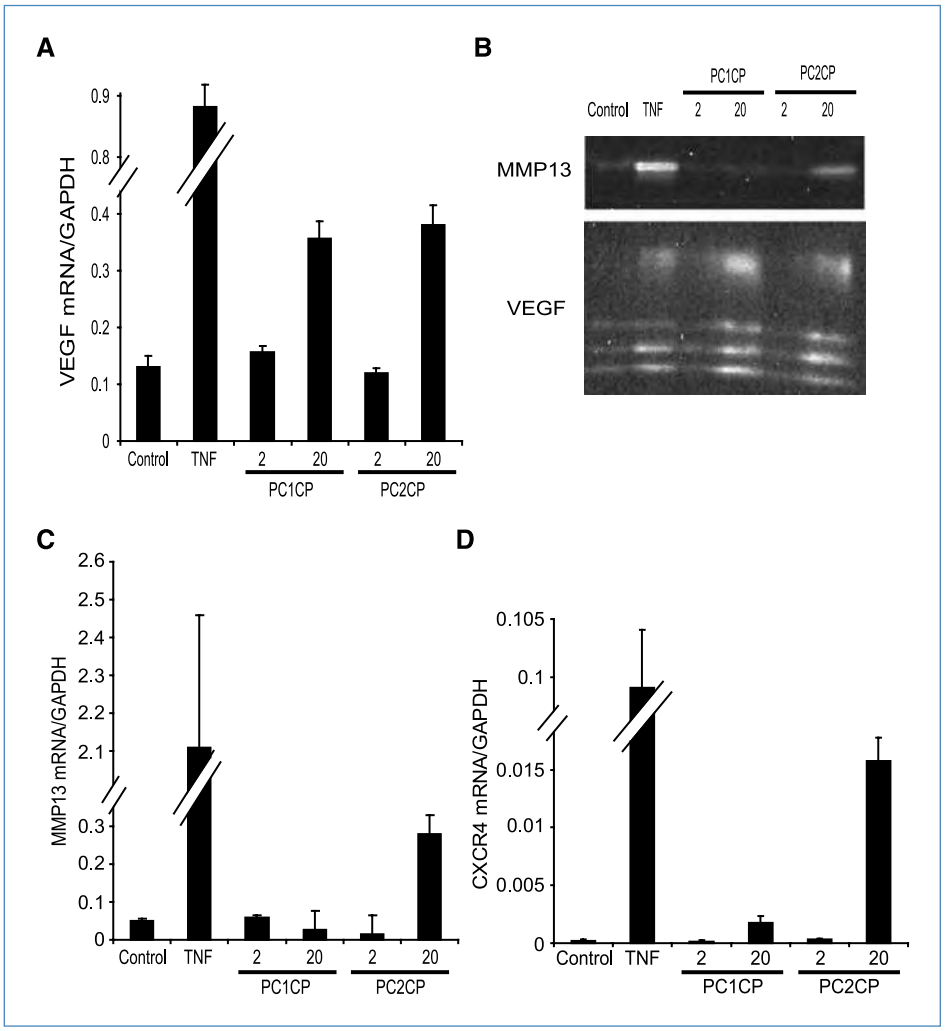


Figure 6. Differential gene regulation of PHCs by PC1CP and PC2CP. Confluent PHCs were inoculated at 5×10^5 cells per well in six-well culture plates in 10% FCS. After 1 d, cells were rinsed in SFM and left nonstimulated in SFM (control), or stimulated with 100 ng/mL tumor necrosis factor (TNF), PC1CP, or PC2CP at either 2 or 20 μg/mL. After 2 d, culture supernatants were precipitated with TCA for Western blot analysis (D) and cells were processed for gene expression analysis of VEGF (A), MMP-13 (B), and CXCR4 (C).

growth per se. When PC2CP was administered as a soluble protein, or when bacterial PC2CP was used instead, no changes were observed. Therefore, apoptosis induction by PC2CP required its native structure and immobilization.

PC1CP, but not PC2CP, promotes migration of EAhy926 cells

The heterotrimeric COOH-terminal propeptide of procollagen I, which is very similar to PC1CP, induces chemotactism of EAhy926 cells (9). Therefore, we investigated the capacity of PC1CP and PC2CP to promote migration in a classic Boyden chamber assay (Fig. 5C). PC1CP induced obvious promotion of EAhy926 migration in a dose-dependent manner. In contrast, PC2CP induced little, if any, migration, even at the highest doses tested. We concluded that PC1CP, but not PC2CP was capable of inducing migration of these cells. We asked whether PC2CP was able to inhibit the PC1CP-induced migration of EAhy926 cells but could not show such inhibition (data not shown). These data suggested that PC1CP, but not PC2CP, might promote angiogenesis through induction of endothelial cell motility.

Soluble PC1CP and PC2CP differentially modulate gene expression in PHCs

The downstream signaling of PC1CP and PC2CP was then investigated in terms of gene expression regulation. Again based on previous data about the heterotrimeric COOH-terminal propeptide of procollagen I, we focused our investigations on VEGF, MMPs, and CXCR4, which were previously found upregulated by this molecule and involved in tumor metastasis and vascularization (12–15). When chondrocytes were stimulated with immobilized PC1CP and PC2CP in serum-free medium (SFM), no obvious changes in their gene expression could be evidenced (data not shown). When stimulated with 20 μg/mL soluble PC1CP or PC2CP, chondrocytes exhibited gene regulation, however (Fig 6). Both PC1CP and PC2CP significantly induced *VEGF* expression with comparable efficacies (Fig. 6). PC2CP, but not PC1CP, induced *MMP13* expression (Fig. 6). Finally, *CXCR4* mRNA was increased 10-fold by PC1CP, but 200-fold by PC2CP (Fig. 6). No significant differences in the expression of cartilaginous extracellular matrix components were observed. These data show that soluble PC1CP and PC2CP differentially modulated in PHCs the

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

expression of genes potentially implicated in vascularization and metastasis of chondrosarcoma. Soluble PC2CP favors the expression of genes that are considered as acting toward extracellular matrix destruction, vascularization, and metastasis to an even greater extent than PC1CP.

Discussion

Over the years, extracellular matrix degradation fragments and by-products have been considered as important signaling molecules. In the context of cancer, fragments of several collagen types modulate tumor behavior. Endostatin (16, 17), the COOH-terminal fragment of Collagen XVIII, inhibits endothelial cell migration and is a potent inhibitor of angiogenesis *in vitro* and *in vivo*. Fragments of collagen IVα decrease the proliferation and induce the apoptosis of endothelial cells *in vitro* and inhibit tumor growth *in vivo* (17, 18). Conversely, the heterotrimeric propeptide of procollagen I, also termed C3, induces migration (9, 12) *in vitro* and favors breast carcinoma tumor vascularization in xenograft mice (15). Therefore, either protumoral or antitumoral functions have been attributed to polypeptides of collagen origin. Although the detailed mechanisms of function of these polypeptides remain controversial, they all apparently imply integrin signaling (9, 17, 18).

Physiologically, the C-propeptide of procollagen I consists primarily in a heterotrimer of two α1 and one α2 subunits, also termed C3 (9). An imbalance in the levels of *COL1a1* and *COL1a2* expressions can result in the synthesis of procollagen I devoid of the Iα2 subunit (19), however. Our proteomic search for proteins upregulated in chondrosarcoma revealed increased C-propeptide of PC1CP (Fig. 1), but not Iα2. RT-PCR measurements of the expression of Iα2 in chondrogenic tumors suggested that it was 30 or more times lower than that of Iα1 (data not shown). Therefore, in the context of chondrogenic tumors, investigating the function of PC1CP was more pertinent than that of C3. We postulated, however, based on the strong homology between these two proteins, that PC1CP might favor angiogenesis and tumor progression.

Cartilage is an avascular tissue and therefore has been proposed as a source for antiangiogenic factors (20). PC2CP, also termed chondrocalcin, is one of the most highly synthesized proteins of articular cartilage as part of procollagen II (21) and was found in our proteomic study to accumulate mainly in benign tumors (Fig. 1). Therefore, we thought that it would be a good candidate as an inhibitor of angiogenesis from cartilaginous origin. There is a well-accepted relationship between the differentiation level of chondrogenic tumors and their potential malignancy (1, 3). However, a direct functional link between the two is lacking. PC1CP and PC2CP are translated as part of the precursors of COL1α1 and COL2, respectively, and they act as structural scaffolds important for the trimeric assembly of procollagens (22). Upon secretion, PC1CP and PC2CP are cleaved from their respective procollagen molecules to allow fibrillation (23). COL2 is considered the best marker of articular chondrocyte differentiation, whereas COL1 is a marker of chondrocytic dedifferentiation (3, 24). This is in accordance with our observations, as PC1CP seems to increase whereas PC2CP decreases with dedifferentiation (Figs. 1 and 2). Further, in most chondrosarcomas, PC1CP localized primarily to most dedifferentiated tumor areas, which also exhibited higher vascularization (Fig. 2). More surprisingly, depending on the tumor considered, PC2CP either localized diffusely throughout the tumor or concentrated to very particular sites (Fig. 2C and D). Based on these observations, we investigated the functions of either soluble or immobilized (on plastic), purified, recombinant PC1CP and PC2CP. We preferred to use PHCs as a cellular model rather than available immortalized chondrosarcoma cell lines, which exhibit profoundly dedifferentiated phenotypes (25) and most likely defective cell death regulation.

When immobilized, recombinant, native PC1CP and PC2CP induced cellular adhesion in a β1 subunit in an integrin-dependent manner (Fig. 3) with different efficacies. Their adhesive properties depended on the structural arrangement of at least three distinct, divergent subdomains (Fig. 4). We did not determine whether both proteins bind identical or respectively distinct subsets of β1 integrins. Nevertheless, it was likely that the PC1CP- or PC2CP-mediated adhesion would result in differential downstream signaling. Indeed, immobilized PC2CP induced apoptosis of PHCs and EAhy926 cells, whereas immobilized PC1CP did not (Fig. 5A and B). This finding favored the hypothesis that PC2CP, but not PC1CP, acted against tumor progression and vascularization when immobilized. We could not show a function of immobilized PC1CP. Indeed, in tumors, PC1CP was never observed in such a concentrated pattern as PC2CP. Soluble PC1CP, however, induced the dose-dependent migration of EAhy926 endothelial cells in the Boyden chamber assay (Fig. 5C), as earlier shown for C3 (9), whereas PC2CP did not. Soluble PC1CP induced the expression of *VEGF* and *CXCR4* (Fig. 6). VEGF is a major actor of angiogenesis and its expression correlates to chondrosarcoma grade and proliferating capillary index (26). CXCR4 and its cognate chemokine SDF-1/CXCL12 contribute to local and distant metastasis and to angiogenesis in a variety of cancers (27) and promote chondrosarcoma cell invasion *in vitro* (13). Therefore, all observed functions of PC1CP suggested that it could favor chondrogenic tumor vascularization and progression, whereas immobilized PC2CP could inhibit it. However, soluble PC2CP induced *VEGF* expression by chondrocytes similarly to PC1CP (Fig. 6). Not only so, but it induced *CXCR4* expression to a much higher extent (Fig. 6) and that of *MMP13*, whereas PC1CP did not. MMP13 is a major catabolic enzyme of cartilage extracellular matrix, which was proposed as contributing to chondrosarcoma progression (28). Therefore, although immobilized PC2CP induced the apoptosis of PHCs and endothelial cells, soluble PC2CP regulated gene expression in chondrocytes in a manner that may favor tumor progression and angiogenesis to a greater extent than PC1CP. Of note, the intratumor localization of PC2CP suggested that it was predominantly immobilized in enchondroma, whereas its diffusing appearance was better represented in chondrosarcoma. Our data do not prove that the differential localizations of PC2CP translate variable

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

solubility. Nevertheless, the localization patterns observed for PC2CP in many tumors were impressively stringent (Fig. 2D). Furthermore, our functional data suggest differential functions of soluble and immobilized PC2CP. This was also observed for Endostatin, which exerted antagonistic functions toward cell survival and migration through integrin receptors, depending on whether it was administered as soluble or immobilized (29). Altogether, our data point to previously underestimated consequences of collagen metabolism over chondrogenic tumor behaviors. Not only the respective levels of PC1CP and PC2CP in chondrogenic tumors, but also their interactions with the surrounding extracellular matrix may modulate tumor progression, angiogenesis, and metastasis.

Disclosure of Potential Conflicts of Interest

No potential conflicts of interest were disclosed.

Grant Support

Fondation pour la Recherche Médicale, Association pour la Recherche contre le Cancer, Ligue Régionale contre le Cancer, Région Lorraine and Fédération de Recherche 3209.

The costs of publication of this article were defrayed in part by the payment of page charges. This article must therefore be hereby marked *advertisement* in accordance with 108 U.S.C. Section 1734 solely to indicate this fact.

Received 01/12/2010; revised 03/08/2010; accepted 03/12/2010; published OnlineFirst 05/11/2010.

References

1. Aigner T. Towards a new understanding and classification of chondrogenic neoplasias of the skeleton-biochemistry and cell biology of chondrosarcoma and its variants. Virchows Arch 2002;441:219–30.
2. Bovee JV, Cleton-Jansen AM, Taminiau AH, Hogendoorn PC. Emerging pathways in the development of chondrosarcoma of bone and implications for targeted treatment. Lancet Oncol 2005;6:599–607.
3. Aigner T, Muller S, Neureiter D, Illstrup DM, Kirchner T, Bjornsson J. Prognostic relevance of cell biologic and biochemical features in conventional chondrosarcomas. Cancer 2002;94:2273–81.
4. Rozeman LB, Hogendoorn PC, Bovee JV. Diagnosis and prognosis of chondrosarcoma of bone. Expert Rev Mol Diagn 2002;2:461–72.
5. Vincourt JB, Lionneton F, Kratassiouk G, et al. Establishment of a reliable method for direct proteome characterization of human articular cartilage. Mol Cell Proteomics 2006;5:1984–95.
6. Ruggiero F, Koch M. Making recombinant extracellular matrix proteins. Methods 2008;45:75–85.
7. Vincourt JB, Vignaud JM, Lionneton F, et al. Increased expression of matrilin-3 not only in osteoarthritic articular cartilage but also in cartilage-forming tumors, and down-regulation of SOX9 via epidermal growth factor domain 1-dependent signaling. Arthritis Rheum 2008;58:2798–808.
8. Davies D, Tuckwell DS, Calderwood DA, Weston SA, Takigawa M, Humphries MJ. Molecular characterisation of integrin-procollagen C-propeptide interactions. Eur J Biochem 1997;246:274–82.
9. Palmieri D, Camardella L, Ulivi V, Guasco G, Manduca P. Trimer carboxyl propeptide of collagen I produced by mature osteoblasts is chemotactic for endothelial cells. J Biol Chem 2000;275:32658–63.
10. Mahonen A, Jukkola A, Risteli L, Risteli J, Maenpaa PH. Type I procollagen synthesis is regulated by steroids and related hormones in human osteosarcoma cells. J Cell Biochem 1998;68:151–63.
11. Hotta H, Yamada H, Takaishi H, et al. Type II collagen synthesis in the articular cartilage of a rabbit model of osteoarthritis: expression of type II collagen C-propeptide and mRNA especially during early-stage osteoarthritis. J Orthop Sci 2005;10:595–607.
12. Palmieri D, Poggi S, Ulivi V, Casartelli G, Manduca P. Pro-collagen I COOH-terminal trimer induces directional migration and metalloproteinases in breast cancer cells. J Biol Chem 2003;278:3639–47.
13. Lai TH, Fong YC, Fu WM, Yang RS, Tang CH. Stromal cell-derived factor-1 increase αvβ3 integrin expression and invasion in human chondrosarcoma cells. J Cell Physiol 2009;218:334–42.
14. Palmieri D, Astigiano S, Barbieri O, et al. Procollagen I COOH-terminal fragment induces VEGF-A and CXCR4 expression in breast carcinoma cells. Exp Cell Res 2008;314:2289–98.
15. Visigalli D, Palmieri D, Strangio A, et al. The carboxyl terminal trimer of procollagen I induces pro-metastatic changes and vascularization in breast cancer cells xenografts. BMC Cancer 2009;9:59.
16. O'Reilly MS, Boehm T, Shing Y, et al. Endostatin: an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth. Cell 1997;88:277–85.
17. Sudhakar A, Sugimoto H, Yang C, Lively J, Zeisberg M, Kalluri R. Human tumstatin and human endostatin exhibit distinct antiangiogenic activities mediated by α v β 3 and α 5 β 1 integrins. Proc Natl Acad Sci U S A 2003;100:4766–71.
18. Mundel TM, Kalluri R. Type IV collagen-derived angiogenesis inhibitors. Microvasc Res 2007;74:85–9.
19. Couchourel D, Aubry I, Delalandre A, et al. Altered mineralization of human osteoarthritic osteoblasts is attributable to abnormal type I collagen production. Arthritis Rheum 2009;60:1438–50.
20. Brem H, Folkman J. Inhibition of tumor angiogenesis mediated by cartilage. J Exp Med 1975;141:427–39.
21. Niyibizi C, Wu JJ, Eyre DR. The carboxypropeptide trimer of type II collagen is a prominent component of immature cartilages and intervertebral-disc tissue. Biochim Biophys Acta 1987;916:493–9.
22. McLaughlin SH, Bulleid NJ. Molecular recognition in procollagen chain assembly. Matrix Biol 1998;16:369–77.
23. Hulmes DJ. Building collagen molecules, fibrils, and suprafibrillar structures. J Struct Biol 2002;137:2–10.
24. Soderstrom M, Bohling T, Ekfors T, Nelimarkka L, Aro HT, Vuorio E. Molecular profiling of human chondrosarcomas for matrix production and cancer markers. Int J Cancer 2002;100:144–51.
25. Gebauer M, Saas J, Sohler F, et al. Comparison of the chondrosarcoma cell line SW1353 with primary human adult articular chondrocytes with regard to their gene expression profile and reactivity to IL-1β. Osteoarthritis Cartilage 2005;13:697–708.
26. Kalinski T, Sel S, Kouznetsova I, Ropke M, Roessner A. Heterogeneity of angiogenesis and blood vessel maturation in cartilage tumors. Pathol Res Pract 2009;205:339–45.
27. Burger JA, Kipps TJ. CXCR4: a key receptor in the crosstalk between tumor cells and their microenvironment. Blood 2006;107:1761–7.
28. Uria JA, Balbin M, Lopez JM, et al. Collagenase-3 (MMP-13) expression in chondrosarcoma cells and its regulation by basic fibroblast growth factor. Am J Pathol 1998;153:91–101.
29. Rehn M, Veikkola T, Kukk-Valdre E, et al. Interaction of endostatin with integrins implicated in angiogenesis. Proc Natl Acad Sci U S A 2001;98:1024–9.

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

Published OnlineFirst May 11, 2010; DOI:10.1158/0008-5472.CAN-10-0046

Correction

Cancer Research

Correction: C-Propeptides of Procollagens Iα1 and II that Differentially Accumulate in Enchondromas versus Chondrosarcomas Regulate Tumor Cell Survival and Migration

In this article (Cancer Res 2010;70:4739–48), which was published in the June 1, 2010 issue of *Cancer Research* (1), the name of the fifth author is incorrect. The correct name is Claudie Bantsimba Malanda.

Reference

1. Vincourt J-B, Etienne S, Cottet J, et al. C-propeptides of procollagens Iα1 and II that differentially accumulate in enchondromas versus chondrosarcomas regulate tumor cell survival and migration. Cancer Res 2010;70:4739–48.

Published OnlineFirst 06/15/2010.
©2010 American Association for Cancer Research.
doi: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1763

Downloaded from cancerres.aacrjournals.org on February 1, 2011
Copyright © 2010 American Association for Cancer Research

VU

NANCY, le **17 mai 2011**

Le Président de Thèse

Professeur J.M.VIGNAUD

NANCY, le **17 mai 2011**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur H. COUDANE

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/*3627*

NANCY, le **19 mai 2011**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur J.P. FINANCE

RÉSUMÉ DE LA THÈSE :

Le diagnostic différentiel entre les chondromes et les chondrosarcomes est difficile même pour des pathologistes spécialisés et nécessite une collaboration entre les cliniciens, les radiologues et les pathologistes. Pour poser le diagnostic de tumeur bénigne ou maligne, le pathologiste ne dispose à l'heure actuelle d'aucun marqueur immunohistochimique discriminant et validé. C1CP et C2CP (COOH terminal propeptides of procollagen 1α1 et 2α1) sont proposés pour être des marqueurs différentiels entre les chondromes et les chondrosarcomes.

Le travail présenté a pour objectif d'étudier ces deux protéines par technique immunohistochimique sur des chondromes et des chondrosarcomes afin de vérifier cette hypothèse. Le marquage de ces deux protéines a été étudié selon sa distribution et son intensité dans la matrice extracellulaire. Nous avons sélectionné 46 chondrosarcomes et 34 chondromes entre 2000 et 2009. Nous avons comparé le marquage de C1CP et de C2CP dans trois situations : chondromes versus chondrosarcomes, tumeurs de bon pronostic (chondromes, chondrosarcomes de grade 1 et chondrosarcome à cellules claires) versus tumeurs de mauvais pronostic (chondrosarcomes de grade 2 et 3, chondrosarcomes dédifférenciés, chondrosarcomes mésenchymateux), et chondromes versus chondrosarcomes de grade 1.

Il existe des différences significatives entre chondromes et chondrosarcomes ($p<0,05$) et entre tumeurs de bon pronostic et tumeurs de mauvais pronostic ($p<0,05$). Aucune différence significative n'a été mise en évidence entre chondromes et chondrosarcomes de grade 1.

L'étude de C1CP et C2CP par technique immunohistochimique présente de nombreuses difficultés techniques et n'apporte pas d'argument fiable au diagnostic différentiel. Si l'étude du marquage de C1CP et de C2CP fait apparaitre des valeurs significatives au sein de notre population, elle ne permet pas de classer une tumeur en chondrome ou chondrosarcome. Cependant d'autres méthodes de détection de ces protéines comme l'étude de leur immobilisation, ou de leur solubilisation, voire même leur circulation, pourraient peut-être donner des résultats plus significatifs?

TITRE EN ANGLAIS :

Interest of analysis of C1CP and C2CP expression by immunohistochemistry for the differential diagnosis between chondromas and chondrosarcomas.

THÈSE :

MÉDECINE SPÉCIALISÉE-ANNÉE 2011

MOTS CLEFS :

chondrome ; chondrosarcome ; C-propeptide ; procollagène ; immunohistochimie.

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'U.F.R. :

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY-1

Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye

54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex