



Etude de l'expression des récepteurs de l'acide rétinoïque et de rétinoïde X dans les carcinomes thyroïdie: étude anatomo-clinique de 59 cas

Guillaume Granier

► To cite this version:

Guillaume Granier. Etude de l'expression des récepteurs de l'acide rétinoïque et de rétinoïde X dans les carcinomes thyroïdie: étude anatomo-clinique de 59 cas. Sciences du Vivant [q-bio]. 2002. hal-01739157

HAL Id: hal-01739157

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01739157>

Submitted on 20 Mar 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



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>

**THESE**

pour obtenir le grade de

Docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Guillaume GRANIER

le 11 octobre 2002

**ETUDE DE L'EXPRESSION DES RECEPTEURS DE L'ACIDE
RETINOIQUE ET DE RETINOIDE X DANS
LES CARCINOMES THYROIDIENS**

Etude anatomo-clinique de 59 cas.

Examineurs de la thèse :

M. J.M. VIGNAUD	Professeur	)	Président
M. F. PLENAT	Professeur	)	
M. M. KLEIN	Professeur	)	Juges
M. B. TOUSSAINT	Praticien hospitalier	)	





THESE

pour obtenir le grade de

Docteur en Médecine

Présentée et soutenue publiquement
dans le cadre du troisième cycle de Médecine Spécialisée

par

Guillaume GRANIER

le 11 octobre 2002

ETUDE DE L'EXPRESSION DES RECEPTEURS DE L'ACIDE RETINOIQUE ET DE RETINOIDE X DANS LES CARCINOMES THYROIDIENS

Etude anatomo-clinique de 59 cas.

Examineurs de la thèse :

M. J.M. VIGNAUD	Professeur	)	<i>Président</i>
M. F. PLENAT	Professeur	)	
M. M. KLEIN	Professeur	)	<i>Juges</i>
M. B. TOUSSAINT	Praticien hospitalier	)	

UNIVERSITÉ HENRI POINCARÉ, NANCY I

FACULTÉ DE MÉDECINE DE NANCY

Président de l'Université : Professeur Claude BURLET

Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Jacques ROLAND

Vice-Doyen de la Faculté de Médecine : Professeur Hervé VESPIGNANI

Assesseurs

du 1^{er} Cycle :

du 2^{ème} Cycle :

du 3^{ème} Cycle :

de la Vie Facultaire :

Mme le Docteur Chantal KOHLER

Mr le Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

Mr le Professeur Henry COUDANE

Mr le Professeur Bruno LEHEUP

DOYENS HONORAIRES

Professeur Adrien DUPREZ – Professeur Jean-Bernard DUREUX

Professeur Georges GRIGNON

PROFESSEURS HONORAIRES

Louis PIERQUIN – Etienne LEGAIT – Jean LOCHARD – René HERBEUVAL – Gabriel FAIVRE – Jean-Marie FOLIGUET
Guy RAUBER – Paul SADOUL – Raoul SENAULT – Pierre ARNOULD – Roger BENICHOX – Marcel RIBON
Jacques LACOSTE – Jean BEUREY – Jean SOMMELET – Pierre HARTEMANN – Emile de LAVERGNE
Augusta TREHEUX – Michel MANCIAUX – Paul GUILLEMIN – Pierre PAYSANT
Jean-Claude BURDIN – Claude CHARDOT – Jean-Bernard DUREUX – Jean DUHEILLE – Jean-Pierre GRILLIAT
Pierre LAMY – Jean-Marie GILGENKRANTZ – Simone GILGENKRANTZ
Pierre ALEXANDRE – Robert FRISCH – Michel PIERSON – Jacques ROBERT
Gérard DEBRY – Georges GRIGNON – Pierre TRIDON – Michel WAYOFF – François CHERRIER – Oliéro GUERCI
Gilbert PERCEBOIS – Claude PERRIN – Jean PREVOT – Pierre BERNADAC – Jean FLOQUET
Alain GAUCHER – Michel LAXENAIRE – Michel BOULANGE – Michel DUC – Claude HURIET – Pierre LANDES
Alain LARCAN – Gérard VAILLANT – Daniel ANTHOINE – Pierre GAUCHER – René-Jean ROYER
Hubert UFFHOLTZ – Jacques LECLERE – Francine NABET – Jacques BORRELLY
Michel RENARD – Jean-Pierre DESCHAMPS – Pierre NABET – Marie-Claire LAXENAIRE – Adrien DUPREZ – Paul VERT

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS -
PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Jacques ROLAND – Professeur Gilles GROSDIDIER

Professeur Pierre LASCOMBES – Professeur Marc BRAUN

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

Professeur Bernard FOLIGUET

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

Professeur François PLENAT – Professeur Jean-Michel VIGNAUD – Professeur Eric LABOUYRIE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

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

Professeur Alain BERTRAND – Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE

2^{ème} sous-section : (*Radiologie et imagerie médicale*)

Professeur Jean-Claude HOFFEL – Professeur Luc PICARD – Professeur Denis REGENT

Professeur Michel CLAUDON – Professeur Serge BRACARD – Professeur Alain BLUM

Professeur Jacques FELBLINGER

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

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

Professeur Jean-Pierre NICOLAS

Professeur Jean-Louis GUÉANT – Professeur Jean-Luc OLIVIER

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Professeur Jean-Pierre CRANCE – Professeur Jean-Pierre MALLIE

Professeur François MARCHAL – Professeur Philippe HAOUZI

3^{ème} sous-section : (*Biologie cellulaire*)

Professeur Claude BURLET

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Olivier ZIEGLER

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – virologie : hygiène hospitalière*)

Professeur Alain LE FAOU

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Professeur Bernard FORTIER

3^{ème} sous-section : (*Maladies infectieuses : maladies tropicales*)

Professeur Philippe CANTON – Professeur Thierry MAY – Professeur Christian RABAUD

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Professeur Philippe HARTEMANN – Professeur Serge BRIANÇON

Professeur Francis GUILLEMIN – Professeur Denis ZMIROU

2^{ème} sous-section : (*Médecine et santé au travail*)

Professeur Guy PETIET

3^{ème} sous-section : (*Médecine légale et droit de la santé*)

Professeur Henry COUDANE

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication*)

Professeur Bernard LEGRAS – Professeur François KOHLER

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie : transfusion*)

Professeur Christian JANOT – Professeur Thomas LECOMPTE – Professeur Pierre BORDIGONI

Professeur Pierre LEDERLIN – Professeur Jean-François STOLTZ

2^{ème} sous-section : (*Cancérologie : radiothérapie*)

Professeur François GUILLEMIN – Professeur Thierry CONROY

Professeur Pierre BEY – Professeur Didier PEIFFERT

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Professeur Gilbert FAURE – Professeur Marie-Christine BENE

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Professeur Philippe JONVEAUX – Professeur Bruno LEHEUP

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{ère} sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Professeur Claude MEISTELMAN – Professeur Dan LONGROIS – Professeur Hervé BOUAZIZ – Professeur Paul-Michel MERTEZ

2^{ème} sous-section : (*Réanimation médicale*)

Professeur Henri LAMBERT – Professeur Alain GERARD – Professeur Bruno LÉVY

Professeur Pierre-Edouard BOLLAERT

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Professeur Patrick NETTER – Professeur Pierre GILLET

4^{ème} sous-section : (*Thérapeutique*)

Professeur François PAILLE – Professeur Gérard GAY – Professeur Faiez ZANNAD

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

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Michel WEBER – Professeur Gérard BARROCHE – Professeur Hervé VESPIGNANI

Professeur Xavier DUCROCQ

2^{ème} sous-section : (Neurochirurgie)

Professeur Henri HEPNER – Professeur Jean-Claude MARCHAL – Professeur Jean AUQUE

Professeur Thierry CIVIT

3^{ème} sous-section : (Psychiatrie d'adultes)

Professeur Jean-Pierre KAHN

4^{ème} sous-section : (Pédopsychiatrie)

Professeur Colette VIDAILHET – Professeur Daniel SIBERTIN-BLANC

5^{ème} sous-section : (Médecine physique et de réadaptation)

Professeur Jean-Marie ANDRE

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

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeur Jacques POUREL – Professeur Isabelle VALCKENAERE

2^{ème} sous-section : (Chirurgie orthopédique et traumatologique)

Professeur Daniel SCHMITT – Professeur Jean-Pierre DELAGOUTTE – Professeur Daniel MOLE

Professeur Didier MAINARD

3^{ème} sous-section : (Dermato-vénéréologie)

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ – Professeur Annick BARBAUD

4^{ème} sous-section : (Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique)

Professeur François DAP

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIORESPIRATOIRE et VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie)

Professeur Jean-Marie POLU – Professeur Yves MARTINET

Professeur Jean-François CHABOT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Etienne ALIOT – Professeur Yves JUILLIERE – Professeur Nicolas SADOUL –

Professeur Christian de CHILLOU de CHURET

3^{ème} sous-section : (Chirurgie thoracique et cardiovasculaire)

Professeur Pierre MATHIEU – Professeur Jean-Pierre VILLEMOT

Professeur Jean-Pierre CARTEAUX – Professeur Loïc MACE

4^{ème} sous-section : (Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire)

Professeur Gérard FIEVE

52^{ème} Section : MALADIES DES APPAREILS DIGESTIF et URINAIRE

1^{ère} sous-section : (Gastroentérologie ; hépatologie)

Professeur Marc-André BIGARD

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI

2^{ème} sous-section : (Chirurgie digestive)

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Michèle KESSLER – Professeur Dominique HESTIN (Mme)

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Philippe MANGIN – Professeur Jacques HUBERT

53^{ème} Section : MÉDECINE INTERNE, GÉRIATRIE et CHIRURGIE GÉNÉRALE

1^{ère} sous-section : (Médecine interne)

Professeur Gilbert THIBAUT – Professeur Francis PENIN

Professeur Denise MONERET-VAUTRIN – Professeur Denis WAHL

Professeur Jean DE KORWIN KROKOWSKI – Professeur Pierre KAMINSKY – Professeur Athanase BENETOS

Professeur Gisèle KANNY

2^{ème} sous-section : (Chirurgie générale)

Professeur Patrick BOISSEL – Professeur Laurent BRESLER

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

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Danièle SOMMELET – Professeur Michel VIDAILHET
Professeur Pierre MONIN – Professeur Jean-Michel HASCOET – Professeur Pascal CHASTAGNER

2^{ème} sous-section : (Chirurgie infantile)

Professeur Michel SCHMITT – Professeur Gilles DAUTEL

3^{ème} sous-section : (Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale)

Professeur Michel SCHWEITZER – Professeur Jean-Louis BOUTROY

Professeur Philippe JUDLIN – Professeur Patricia BARBARINO

4^{ème} sous-section : (Endocrinologie et maladies métaboliques)

Professeur Pierre DROUIN – Professeur Georges WERYHA – Professeur Marc KLEIN

5^{ème} sous-section : (Biologie et médecine du développement et de la reproduction)

Professeur Hubert GERARD

55^{ème} Section : PATHOLOGIE DE LA TÊTE ET DU COU

1^{ère} sous-section : (Oto-rhino-laryngologie)

Professeur Claude SIMON – Professeur Roger JANKOWSKI

2^{ème} sous-section : (Ophtalmologie)

Professeur Antoine RASPILLER – Professeur Jean-Luc GEORGE – Professeur Jean-Paul BERROD

3^{ème} sous-section : (Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie)

Professeur Michel STRICKER – Professeur Jean-François CHASSAGNE

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

27^{ème} section : INFORMATIQUE

Professeur Jean-Pierre MUSSE

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeur Daniel BURNEL

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ

Épidémiologie, économie de la santé et prévention

Professeur Tan XIAODONG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON – Docteur Jean-Pascal FYAD

2^{ème} sous-section : (Cytologie et histologie)

Docteur Edouard BARRAT – Docteur Jean-Claude GUEDENET

Docteur Françoise TOUATI – Docteur Chantal KOHLER

3^{ème} sous-section : (Anatomie et cytologie pathologiques)

Docteur Yves GRIGNON – Docteur Béatrice MARIE

Docteur Laurent ANTUNES

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

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

Docteur Marie-Hélène LAURENS – Docteur Jean-Claude MAYER

Docteur Pierre THOUVENOT – Docteur Jean-Marie ESCANYE – Docteur Amar NAOUN

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

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

Docteur Xavier HERBEUVAL – Docteur Jean STRACZEK

Docteur Sophie FREMONT – Docteur Isabelle GASTIN – Dr Bernard NAMOUR

2^{ème} sous-section : (*Physiologie*)

Docteur Gérard ETHEVENOT – Docteur Nicole LEMAU de TALANCE – Christian BEYAERT

45^{ème} Section : MICROBIOLOGIE, MALADIES TRANSMISSIBLES ET HYGIÈNE

1^{ère} sous-section : (*Bactériologie – Virologie ; hygiène hospitalière*)

Docteur Francine MORY – Docteur Michèle WEBER – Docteur Christine LION

Docteur Michèle DAILLOUX – Docteur Alain LOZNIOWSKI – Docteur Véronique VENARD

2^{ème} sous-section : (*Parasitologie et mycologie*)

Docteur Marie-France BIAVA – Docteur Nelly CONTET-AUDONNEAU

46^{ème} Section : SANTÉ PUBLIQUE, ENVIRONNEMENT ET SOCIÉTÉ

1^{ère} sous-section : (*Epidémiologie, économie de la santé et prévention*)

Docteur Mickaël KRAMER – Docteur François ALLA

4^{ème} sous-section : (*Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication (type biologique)*)

Docteur Pierre GILLOIS

47^{ème} Section : CANCÉROLOGIE, GÉNÉTIQUE, HÉMATOLOGIE, IMMUNOLOGIE

1^{ère} sous-section : (*Hématologie ; transfusion*)

Docteur Jean-Claude HUMBERT – Docteur François SCHOONEMAN

3^{ème} sous-section : (*Immunologie*)

Docteur Marie-Nathalie SARDA

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteur Christophe PHILIPPE

**48^{ème} Section : ANESTHÉSIOLOGIE, RÉANIMATION, MÉDECINE D'URGENCE,
PHARMACOLOGIE ET THÉRAPEUTIQUE**

1^{ère} sous-section : (*Anesthésiologie et réanimation chirurgicale*)

Docteur Jacqueline HELMER – Docteur Gérard AUDIBERT

3^{ème} sous-section : (*Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique*)

Docteur Françoise LAPICQUE – Docteur Marie-José ROYER-MORROT

Docteur Damien LOEUILLE

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

5^{ème} sous-section : (*Biologie et médecine du développement et de la reproduction*)

Docteur Jean-Louis CORDONNIER

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

19^{ème} section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Michèle BAUMANN

32^{ème} section : CHIMIE ORGANIQUE, MINÉRALE, INDUSTRIELLE

Monsieur Jean-Claude RAFT

40^{ème} section : SCIENCES DU MÉDICAMENT

Monsieur Jean-Yves JOUZEAU

60^{ème} section : MÉCANIQUE, GÉNIE MÉCANIQUE ET GÉNIE CIVILE

Monsieur Alain DURAND

64^{ème} section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Odile PERRIN – Mademoiselle Marie-Claire LANHERS

65^{ème} section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Mademoiselle Françoise DREYFUSS – Monsieur Jean-Louis GELLY – Madame Anne GERARD
Madame Ketsia HESS – Monsieur Pierre TANKOSIC – Monsieur Hervé MEMBRE

67^{ème} section : BIOLOGIE DES POPULATIONS ET ÉCOLOGIE

Madame Nadine MUSSE

68^{ème} section : BIOLOGIE DES ORGANISMES

Madame Tao XU-JIANG

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS

Médecine Générale

Docteur Alain AUBREGE

Docteur Louis FRANCO

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Georges GRIGNON – Professeur Michel PIERSON

Professeur Michel BOULANGÉ – Professeur Alain LARCAN – Professeur Michel DUC

Professeur Michel WAYOFF – Professeur Daniel ANTHOINE – Professeur Claude HURIET

Professeur Hubert UFFHOLTZ – Professeur René-Jean ROYER

Professeur Pierre GAUCHER – Professeur Claude CHARDOT – Professeur Adrien DUPREZ

=====

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)

Wanderbilt University, Nashville (U.S.A)

Professeur Harry J. BUNCKE (1989)

Université de Californie, San Francisco (U.S.A)

Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)

Institut d'Anatomie de Würzburg (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)*

Remerciements

A notre Maître et Président de Thèse,

Monsieur le Professeur J.M. VIGNAUD

Professeur d'Anatomie et de cytologie pathologiques

Vous m'avez fait l'immense privilège d'accepter la présidence du jury de cette thèse.

Il me serait difficile en quelques lignes d'exprimer tout ce que je vous dois. L'étendue de vos connaissances, votre approche exaltée de la recherche, m'ont permis de mener à bien ce travail. Au cours de mon internat j'ai pu bénéficier de votre grande expérience en anatomie pathologique.

Que ce travail soit l'expression de ma respectueuse admiration.

A notre maître et juge,

Monsieur le professeur F. PLENAT

Professeur d'Anatomie et de Cytologie pathologiques (option biologie)

Je tiens à vous remercier d'avoir accepté de juger mon travail.

Au cours de mes études j'ai pu apprécier l'intérêt et le dynamisme dont vous faites preuve en faveur des techniques histologiques et immunohistochimiques, ainsi que votre esprit critique et votre rigueur scientifique.

A nos Juges,

Monsieur le Professeur M. KLEIN

Professeur d'Endocrinologie et Maladies métaboliques

Je tiens à vous témoigner ma gratitude pour avoir accepté avec enthousiasme de juger mon travail. Veuillez trouver ici l'expression de mon plus profond respect.

Monsieur le Docteur B. TOUSSAINT

Praticien hospitalier d'Oto-Rhino-Laryngologie

Je tiens à vous adresser mes plus sincères remerciements pour avoir accepté de juger ce travail.

A mes maîtres successifs,

**Monsieur le Professeur P. LEDERLIN,
Monsieur le Professeur A. DUPREZ,
Monsieur le Professeur J.M. VIGNAUD,
Monsieur le Docteur R.M. PARACHE,
Monsieur le Professeur F. PLENAT,
Monsieur le Professeur E. LABOUYRIE,
Madame le Docteur A. LEROUX.**

Dédicace particulière :

Madame le Professeur C. MARTY DOUBLE

Professeur d'anatomie et de cytologie pathologiques, chef de service au CHU de Nîmes.

Vous m'avez fait l'honneur de m'accepter, avec beaucoup d'enthousiasme, comme futur chef de clinique au sein de votre équipe. Votre grande expérience en anatomie pathologique me permettra, sous votre autorité, d'étendre mes connaissances.

Veillez trouver ici la manifestation de ma sincère reconnaissance.

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

Plus particulièrement à Mme Evelyne PICARD pour ses conseils avisés, sa rigueur scientifique, son esprit critique mais tout d'abord pour sa gentillesse et sa franchise.

A Melle Virginie CAHN pour sa gentillesse, sa disponibilité et le soutien moral dont elle a fait preuve tout au long de ce travail.

Soyez toutes deux assurées de ma profonde amitié.

A Lydia, à Catherine, et à tous les membres des laboratoires d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques de Messieurs les Professeurs J.M. VIGNAUD, F. PLENAT et du Docteur A. LEROUX.

A mes collègues et amis.

A mes parents,

Pour leur soutien durant ces longues études. Qu'ils trouvent ici le témoignage de ma profonde affection.

A tous je leur dédie ce travail.

Serment

« Au moment d'être admis 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 et de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et moraux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état et 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.

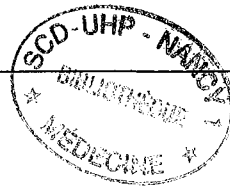
Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me sont confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne 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 »

Tables des matières



	Page
<i>Remerciements</i>	8
<i>Serment</i>	14
<i>Tables des matières</i>	16
<i>Introduction</i>	22

Première partie : Rappels bibliographiques

<i>Chapitre 1 : Caractéristiques des carcinomes thyroïdiens</i>	25
I. Epidémiologie	25
II. Facteurs de risque	26
1. <i>Carcinomes de la thyroïde</i>	26
2. <i>Autres variétés de cancers de la thyroïde</i>	28
III. Classification histologique des cancers thyroïdiens	28
1. <i>Les tumeurs carcinomateuses</i>	28
2. <i>Les tumeurs non carcinomateuses</i>	31
3. <i>Les tumeurs secondaires</i>	32
IV. Aspects cliniques et facteurs pronostics des cancers thyroïdien	32
1. <i>Aspects cliniques</i>	32
2. <i>facteurs pronostiques</i>	33
V. Données sur l'oncogénèse des carcinomes thyroïdiens	37
1. <i>Les principaux oncogènes</i>	38
2. <i>Les principaux gènes suppresseurs de tumeur</i>	42
VI. Aspects thérapeutiques	43

	Page
<i>Chapitre 2 : Métabolisme de la vitamine A et de ses protéines de transport.....</i>	47
I. La vitamine A.....	47
II. Métabolisme et stockage de la vitamine A.....	48
III. Protéine de transport de l'acide rétinoïque.....	51
<i>Chapitre 3 : Les récepteurs nucléaires de l'acide rétinoïde.....</i>	55
I. Rappels des récepteurs nucléaires.....	55
II. Caractéristique des récepteurs nucléaires.....	56
III. Récepteurs de l'acide rétinoïque et récepteurs du rétinoïde X.....	56
<i>Chapitre 4 : Rôles de l'acide rétinoïde et de ses récepteurs.....</i>	58
I. Acide rétinoïque et développement.....	58
II. Action anti-tumorale de l'acide rétinoïque.....	59
III. Rôles de l'acide rétinoïque dans la cancérogenèse.....	63

Deuxième partie : Matériels et méthodes

<i>Chapitre 1 : Matériel, caractéristiques de la population étudié.....</i>	65
<i>Chapitre 2 : Méthodes.....</i>	68
I. Préparation des tissus pour les différentes techniques de notre étude.....	68
II. Etude histologique.....	68
III. Etude immunohistochimique.....	69
1. Caractéristiques des anticorps dirigés contre les récepteurs RAR α , β et RXR α et β	69
2. Technique immunohistochimique en trois couches avec amplification par un conjugué tyramine.....	70

	Page
IV. Western Blot.....	72
1. Extraction des protéines cytosoliques et nucléaires.....	72
2. Immunoblotting.....	73
V. Etude statistique.....	74

Troisième partie : Résultats

I. Expression des récepteurs RAR α, RAR β et RXR α dans les carcinomes thyroïdiens.....	76
1. Analyse semi-quantitative du signal immunohistochimique	76
2. Expression de RAR α , RAR β et RXR α dans le tissu thyroïdien normal et les cellules de la stroma réaction.....	77
3. Expression de RAR α , RAR β et RXR α dans les cellules carcinomateuses thyroïdiennes.....	77
II. Mise en évidence des récepteurs RARs et RXRs dans les cellules thyroïdiennes par techniques de Western-Blot.....	81

<i>Quatrième partie : Discussion.....</i>	86
---	-----------

<i>Conclusion.....</i>	93
------------------------	-----------

<i>Annexes.....</i>	95
---------------------	-----------

<i>Références bibliographiques.....</i>	100
---	------------

Tableaux

	Page
- Tableau n°1 : Classification des tumeurs malignes thyroïdiennes selon l'OMS.....	36
- Tableau n°2 : Classification TNM.....	37
- Tableau n°3 : Arguments en faveur d'une thyroïdectomie totale ou partielle dans les carcinomes papillaires de la thyroïde.....	45
- Tableau n°4 : Paramètres cliniques et anatomopathologiques des patients...	65
- Tableau n°5 : Séquence immunogène et spécifique des anticorps anti-RARs et anti-RXR.....	69
- Tableau n°6 : Dilution des anticorps RARs et RXR.....	72
- Tableau n°7 : Niveau d'expression des récepteurs à l'acide rétinoïde et du récepteur au rétinol X versus le parenchyme sain	77
- Tableau n°8 : Expression immunohistochimique des RAR α et β et du RXR α dans les cellules tumorales versus les cellules du parenchyme sain.....	81

Figures

- Figure n°1 : Gènes ou famille de gènes participants à la cancérogenèse des carcinomes thyroïdiens.....	43
- Figure n°2 : Métabolisme de la vitamine A.....	49
- Figure n°3 : Organisation des récepteurs nucléaires.....	55
- Figure n°4 : Mécanisme de régulation du cycle cellulaire par l'acide rétinoïque tout-trans.....	62
- Figure n°5 : Expression des RAR α , RAR β , et du RXR α	80

Planches photographiques

	Page
- Planche n°1 : Niveau d'expression des récepteurs à l'acide rétinoïde et aux rétinoïdes X.....	83
- Planche n°2 : Détection des récepteurs à l'acide rétinoïque et aux rétinoïdes X par Western blot.....	85

Abréviations

Gy :	Gray
TNM :	Tumor-Nodes-Metastase
OMS :	Organisation mondiale de la santé
EGF :	Epidermal growth factor
EGF-R :	Epidermal growth factor receptor
TGF β :	Transforming growth factor
IGF1 :	Insuline growth factor 1
PDGF-R :	Plaquetted derivated growth factor receptor
TSH :	Thyroid stimulating hormon
ARN :	Acide désoxyribonucléique
ADN :	Acide ribonucléique
AR :	Acide rétinoïque
REH :	Rétinol-ester-hydrolase
RBP :	Rétinol binding protein
TTR :	Transthyrétine
CRBP :	Cellular retinol binding protein
CRABP :	Cellular retinoic acid binding protein
HES :	Hématoxyline Eosine Safran



Introduction

La vitamine A et ses dérivés les acides rétinoïques (acide rétinoïque tout-trans et acide rétinoïque 9-cis) ont un rôle essentiel dans le contrôle de la différenciation et la prolifération cellulaire au niveau de nombreux tissus. Les effets biologiques de l'acide rétinoïque sont relayés par deux familles de récepteurs nucléaires appartenant à la super-famille des récepteurs hormonaux thyroïdiens et stéroïdiens : les récepteurs de l'acide rétinoïque (RARs) et les récepteurs des rétinoïde X (RXRs). Chaque famille comprend trois isoformes codant pour des gènes différents α , β et γ . Les RARs se lient à l'acide rétinoïde tout-trans et 9-cis, tandis que les RXRs ne se lient qu'à l'acide rétinoïque 9-cis. Ces récepteurs actifs à l'état d'hétérodimère associant un RXR et un RAR, agissent comme des facteurs transcriptionnels ligand dépendants.

L'altération de l'activité de ces récepteurs nucléaires est identifiée comme jouant un rôle important dans le processus de cancérogenèse, en particulier dans les leucémies aiguës promyélocytaires, les cancers pulmonaires, les cancers de la tête et du cou, cutanés ou mammaires. Les relations entre les rétinoïdes et la thyroïde sont suspectées depuis plusieurs années. Quelques études ont révélé l'existence d'une relation étroite entre l'acide rétinoïque et les hormones thyroïdiennes. Ces différentes observations nous ont conduit à évaluer le niveau d'expression des récepteurs RARs et RXRs, au travers d'une étude anatomo-clinique portant sur 59 cas de carcinomes thyroïdiens, par des techniques immunohistochimiques et de Western-Blot.

Les principales caractéristiques des carcinomes thyroïdiens, les données concernant l'oncogenèse de la glande thyroïde, le métabolisme de la vitamine A, et les récepteurs nucléaires de l'acide rétinoïque et du rétinoïde X ainsi que leurs fonctions biologiques seront présentés dans la première partie de ce travail. Dans une deuxième partie, nous exposerons notre étude anatomo-clinique qui a consisté à analyser par technique immunohistochimie semi-quantitative et Western-Blot le niveau d'expression des RAR α et β et RXR α 59 carcinomes thyroïdiens (papillaire, vésiculaire, indifférencié). Les résultats seront analysés et confrontés aux données actuelles de la littérature.

Première partie :
Rappels bibliographiques

Chapitre 1 : Caractéristiques des carcinomes thyroïdiens

I. Epidémiologie

Les carcinomes thyroïdiens sont estimés à 1% de l'ensemble des tumeurs malignes. En Europe et aux Etats Unis, trois personnes sur 100.000 développent un cancer thyroïdien, cependant il existe d'importantes disparités entre les zones géographiques ¹.

Les cancers de la thyroïde se rencontrent plus volontiers chez les sujets de sexe féminin, avec un sexe ratio de 2 à 3 femmes pour un homme. Quatre types histologiques représentent à eux seuls plus de 98% de toutes les tumeurs thyroïdiennes : carcinome papillaire, carcinome vésiculaire, carcinome indifférencié (ou anaplasique) et carcinome médullaire.

Le carcinome papillaire est le plus fréquemment rencontré. Dans les régions non carencées en iode, il représente jusqu'à 80% des tumeurs thyroïdiennes de l'adulte avec un pic de fréquence entre 30 et 50 ans. Il représente 90% des carcinomes thyroïdiens de l'enfant.

Le carcinome vésiculaire est plus fréquent dans les régions de carence en Iode, représentant 30 à 40% des tumeurs thyroïdiennes. Cependant toutes régions confondues, il ne correspond qu'à 10 à 20% des cancers thyroïdiens. Cette entité regroupe plusieurs variantes morphologiques : la variante à cellules de Hürthle, la variante à cellules claires et le carcinome insulaire. Le carcinome vésiculaire apparaît autour de 40 à 50 ans, soit dix ans après l'âge moyen de survenue du carcinome papillaire.

Le carcinome indifférencié ou anaplasique, moins de 10% des tumeurs thyroïdiennes, s'observe principalement chez des femmes de plus de 60 ans. Sa présentation clinique est particulière et correspond dans la majeure partie des cas au développement d'une masse engainant rapidement la région thyroïdienne évoluant vers un véritable « blindage » de l'ensemble du cou. Son pronostic est effroyable.

Le carcinome médullaire est rare. Son incidence est mal appréciée. Il correspondrait à environ 4% des cancers thyroïdiens ¹. Dans 20 à 30% des cas il est associé aux néoplasies endocrines multiples de type 2 (NEM 2).

II. Facteurs de risque

Il faut distinguer les facteurs de risque des carcinomes et les facteurs de risque des autres variétés de cancers thyroïdiens.

1. Carcinomes thyroïdiens

☐ *Age*

En présence d'un nodule thyroïdien, le risque de malignité est plus important chez l'adulte de plus de 60 ans et de moins de 20 ans, et chez l'enfant.

☐ *Sexe*

La femme est 2 à 3 fois plus fréquemment atteinte d'un cancer de la thyroïde que l'homme. Toutefois en présence d'un nodule thyroïdien, le risque que celui-ci soit malin est quatre fois plus important chez l'homme ². Le fait de mener à terme une grossesse augmente de façon significative le risque de cancer papillaire de la thyroïde. Les mécanismes supportant ce facteur de risque ne sont pas caractérisés. Le rôle respectif des hormones de la gestation et de la carence iodée inhérente à la grossesse reste à démontrer.

☐ *Apport iodé*

L'influence du niveau d'apport iodé est un facteur déterminant dans la genèse des cancers de la thyroïde. Ainsi la carence iodée est à l'origine d'une augmentation de la fréquence de survenu des nodules et des cancers thyroïdiens ^{2,3}. L'influence de l'apport iodé peut vraisemblablement influencer sur la nature histologique des néoplasies, puisqu'en zone d'apport iodé normal, le carcinome papillaire représente les trois quarts des carcinomes thyroïdiens, contrairement aux régions de carence où le carcinome vésiculaire pourrait devenir prépondérant. Le carcinome indifférencié serait plus fréquent en zone d'endémie goitreuse par rapport aux régions d'apport iodé normal³. Une observation plus récente de l'influence de la balance iodée dans la genèse des cancers thyroïdiens est la constatation d'une augmentation des carcinomes papillaires de la thyroïde secondaire à l'administration d'iode à titre prophylactique du goitre endémique en zone carencée⁴.

□ *Radiations ionisantes*

Toutes les sources de radiations ionisantes, qu'elles soient naturelles, médicales, accidentelles ou volontaires (armes de guerre), pénétrant jusqu'à la thyroïde, sont potentiellement carcinogènes. Le risque de carcinome différencié (papillaire ou vésiculaire) est multiplié par 15 à 50. Le risque est dépendant de la dose et d'autant plus grand que l'irradiation a été subie par un patient jeune^{5,6}. Chez des patients irradiés dans l'enfance pour des raisons médicales ou non, la surveillance de cohorte pendant plusieurs décennies a permis de calculer que le risque relatif supplémentaire du cancer de la thyroïde était de 7,7 Gy (Gray). Des situations quasi expérimentales telles que les retombées de la bombe atomique à Hiroshima ou celles liées à l'accident nucléaire de Tchernobyl confirment de manière dramatique ces notions. Dans une étude rétrospective portant sur les résultats d'autopsies, effectuées entre 1951 et 1985, concernant des personnes ayant survécu à la bombe atomique d'Hiroshima, le risque de retrouver un cancer thyroïdien occulte (<1,5 cm) était 1,4 fois supérieures chez les patients ayant subi une irradiation de 1 Gy par rapport à ceux non irradiés⁷.

L'exemple le plus marquant des dernières décennies est représenté par la catastrophe de la centrale nucléaire de Tchernobyl. Contrairement à ce qui a été observé à Hiroshima, l'irradiation rejetée, quoique 100 fois plus importante que celle des bombes nucléaires utilisées au cours de la seconde Guerre mondiale, n'a touché de façon directe « que » 240 personnes, mais a entraîné une importante irradiation interne. Lorsque celle-ci s'effectue sous forme d'Iode, la thyroïde est le principal organe touché avec une irradiation 1 000 fois plus importante que le reste de l'organisme. On comprend donc aisément que l'incidence des cancers thyroïdiens ait été multipliée par 10 à 20 suivant les localités de Biélorussie⁸. Ces cancers sont avant tout des cancers papillaires pédiatriques, caractérisés par leur caractère agressif. Ces tumeurs, aussi nombreuses chez les garçons que chez les filles, ont une tendance à la multifocalité au sein du parenchyme thyroïdien, connaissent une extension locale rapide et il existe des métastases ganglionnaires précoces dans 88% des cas⁹. En France, aucune relation entre les retombées de l'accident de Tchernobyl et une quelconque augmentation des cancers de la thyroïde n'a pu être établie de façon scientifique à ce jour.

2. Autres variétés de cancers de la thyroïde

Les facteurs de risque des autres cancers de la thyroïde sont surtout connus pour les lymphomes thyroïdiens. Un des principaux facteurs de risque du lymphome malin non-hodgkinien est la thyroïdite lymphocytaire chronique. Ainsi le risque relatif de lymphome thyroïdien est multiplié par un facteur 67 à 80 en présence d'une telle thyroïdite¹⁰. Environ 25% des lymphomes de la thyroïde surviendraient dans un contexte de thyroïdite lymphocytaire chronique, et en cas de thyroïdite chronique de Hashimoto, un lymphome se développe dans 1,5 à 5% des cas¹¹. L'introduction d'une supplémentation iodée dans les régions carencées en iode, où sévit le goitre endémique, a pu être corrélée à une augmentation de la fréquence des thyroïdites et des lymphomes⁴.

III. Classification histologique des cancers thyroïdiens

1. Les carcinomes

Les tumeurs épithéliales représentent environ 99% de l'ensemble des lésions néoplasiques thyroïdiennes. Nous développerons les quatre types histologiques les plus fréquemment rencontrés : carcinomes papillaires, vésiculaires, indifférenciés et médullaires. (tableau n°1)

□ Carcinome papillaire

Il s'agit de tumeurs malignes épithéliales, de souche vésiculaire, typiquement constituée de formations papillaires et (ou) vésiculaires et comportant des modifications nucléaires caractéristiques. Macroscopiquement, ces cancers se présentent comme des tumeurs dures, blanchâtres et invasives. Parfois kystiques (10%), ils sont souvent multifocaux et bilatéraux avec une fréquence qui varie selon les séries.

Microscopiquement, on observe des papilles et des vésicules. Chaque papille est formée par un axe conjonctivo-vasculaire bordée de cellules dont les noyaux apparaissent chevauchant, clivés, clair au centre, en verre dépoli. Dans 80% des cas, il existe une pseudo-inclusion intranucléaire, correspondant à une invagination cytoplasmique. On observe souvent des concrétions calcaires caractéristiques, appelées calcosphérites ou psammomes.

L'envahissement ganglionnaire est fréquent et précoce (25 à 30 %). Les adénopathies récurrentielles sont les plus souvent atteintes. L'invasion vasculaire est plus rare, les métastases se rencontrent chez 5 à 17% des malades, principalement pulmonaire et osseuse. 15 à 20% des carcinomes papillaires présentent des caractéristiques histologiques moins typiques, mais sont classés dans les carcinomes papillaires en raison de leurs aspects cytologiques.

On distingue ainsi cinq sous-types :

- *le carcinome papillaire sclérosant* : rare, préférentiellement observé chez le sujet jeune, il s'étend à tout un lobe, voire à l'ensemble de la thyroïde. L'aspect peut en imposer pour une thyroïdite. On observe une infiltration tumorale dont le caractère papillaire peut être difficile à affirmer en raison d'une métaplasie malpighienne fréquente.

- *la variante vésiculaire* : on décrit deux sous-types. La forme macrovésiculaire encapsulée, faite d'un mélange de glandes vésiculaires d'allure normale et de petites vésicules d'allure tumorale, de bon pronostic et la forme vésiculaire diffuse. Cette dernière atteint toute la thyroïde et s'accompagne d'un taux élevé de métastases viscérales.

- *le carcinome à cellules oxyphiles (cellules de Hürthle)* : il représente 3% des carcinomes thyroïdiens. L'architecture est le plus souvent papillaire. Les noyaux sont hyperchromatiques, nucléolés, le cytoplasme abondant fortement éosinophile et granuleux à la coloration HES, riche en mitochondries. Les facteurs pronostics sont identiques à ceux du papillaire classique. Il survient à un âge plus avancé.

- *le microcarcinome papillaire* : tumeur de moins de 10 mm, soit symptomatique découvert lors de l'exploration d'un nodule, soit occulte de découverte fortuite. Histologiquement d'architecture vésiculaire ou papillaire, plusieurs sous-types sont définis en fonction du mode d'encapsulation, de la multifocalité.

- *le carcinome papillaire encapsulé* : dans la majeure partie des cas l'interface entre la tumeur et le parenchyme thyroïdien résiduel est irrégulière. Dans quelques cas, moins de 10% des cas de carcinomes papillaires on peut mettre en évidence une capsule fibreuse délimitant le carcinome. Cette dernière peut être le siège ou non de nombreuses invasions minimales¹². Du fait de la présence d'une capsule limitant l'extension tumorale, cette variante possède un excellent pronostic. Les métastases sont exceptionnelles et la survie à 10 ans est de 100%¹³.

□ *Carcinome vésiculaire*

Tumeur maligne épithéliale de souche vésiculaire qui ne présente pas les caractéristiques cytologiques des cancers papillaires. Macroscopiquement, les carcinomes vésiculaires se présentent sous la forme d'un nodule isolé, unique dans 90% des cas, ferme et de coloration beige. Ils peuvent être kystiques multifocaux. Microscopiquement, du fait d'un important degré de ressemblance avec la thyroïde normale, le diagnostic anatomo-pathologique est difficile, il n'existe en effet aucun critère cellulaire formel permettant d'affirmer la malignité. Les critères de malignité sont la présence d'emboles vasculaires et d'effraction capsulaire.

On distingue :

- *le carcinome à invasion minime* : il représente plus de 50% des cancers vésiculaires. Histologiquement, il s'agit d'un nodule hypercellulaire, trabéculaire ou microvésiculaire. Le diagnostic de malignité repose sur la découverte de signes d'invasion des vaisseaux et (ou) d'infiltration de la capsule, limitant en périphérie le nodule.

- *le carcinome largement invasif* : le diagnostic de malignité est plus facile en raison de l'important envahissement vasculaire, du tissu thyroïdien périlésionnel ou extra-thyroïdien. Parfois bien différencié, les cellules sont le plus souvent atypiques avec une anisocaryose et une activité mitotique élevée. Le cancer vésiculaire dissémine par voie hématogène, plus rarement lymphatique. Les sites métastatiques préférentiels sont le poumon, les os et plus rarement le cerveau. Il existe trois variantes du carcinome vésiculaire, en fonction de la présence de cellules oxyphiles (cellules de Hürthle), de cellules claires et enfin une variante dite carcinome insulaire. Le carcinome insulaire présente des caractères morphologiques et évolutifs intermédiaires entre le carcinome vésiculaire et anaplasique. Très invasif, il se différencie du carcinome anaplasique par la présence de foyers tantôt vésiculaires tantôt papillaires.

□ *Carcinome indifférencié*

Très agressif, il correspond au stade terminal de la dédifférenciation d'une tumeur vésiculaire. Il représente moins de 10% des cancers thyroïdiens, il est plus fréquent dans les régions où domine la carence iodée. La tumeur est macroscopiquement volumineuse, hémorragique, infiltrant la thyroïde et le tissu adjacent. Microscopiquement, il s'agit de cellules fusiformes, polygonales. L'immunohistochimie permet d'éliminer un lymphome, un cancer médullaire ou un cancer vésiculaire peu différencié. L'extension locale est importante, avec envahissement des structures du cou. Les métastases les plus fréquentes sont

pulmonaires. Plus de 40% des cas sont métastatiques au moment du diagnostic et seulement 13% ne connaissent qu'un développement purement local.

□ *Carcinome médullaire*

Il se développe à partir des cellules C para-folliculaires et représente approximativement 4% des tumeurs de la thyroïde. On décrit la forme sporadique survenant à tout âge et la forme familiale qui représente 20 à 30 % des carcinomes médullaires de la thyroïde. Macroscopiquement, il se présente comme une tumeur de taille variable, souvent localisée à la jonction des tiers supérieur et moyen des lobes thyroïdiens. Bien limité, il peut parfois présenter un aspect infiltrant et envahir les tissus adjacents. Microscopiquement, la forme typique représente 80 % des lésions. Les cellules sont rondes ou polyédriques. Les mitoses sont rares. Certains noyaux présentent une inclusion cytoplasmique intranucléaire. Les granules neurosecrétoires sont mis en évidence en microscopie optique ou par analyse immunohistochimique avec un anticorps anti-chromogranine A. Le stroma tumoral, parfois parsemé de calcosphérites, est fait d'un mélange de substance hyaline et amyloïde. Ces cellules présentent une immunoréactivité pour la calcitonine.

Des variantes mal individualisées sont décrites, reposant sur l'aspect des cellules, qui peuvent être oxyphiles ou géantes, ou l'existence d'un matériel sécrétoire qui peut être du mucus ou de la mélanine. Dans les formes très indifférenciées, c'est un immunomarquage positif pour la calcitonine ou l'antigène carcino-embryonnaire (ACE) qui permet le diagnostic^{12,14}.

□ *Autres carcinomes*

Les autres carcinomes thyroïdiens correspondent au carcinome mucineux, mucoépidermoïde et squameux. Il s'agit de tumeurs exceptionnelles, moins de 1% des tumeurs épithéliales de la thyroïde.

2. *Les tumeurs non carcinomateuses*

Les deux néoplasmes non carcinomateux les plus fréquemment rencontrés dans le parenchyme thyroïdien sont les lymphomes et les sarcomes primitifs de la thyroïde.

□ *lymphomes thyroïdiens*

Ils représentent 2% des lymphomes extra-ganglionnaires et moins de 5% de tumeurs malignes de la thyroïde. Ils peuvent être hodgkiniens ou non-hodgkiniens. De rares cas de lymphomes de Burkitt ou de plasmocytomes thyroïdiens ont été décrits. La prévalence féminine reste manifeste, avec un sexe ratio de 3 à 4 femmes pour 1 homme. Les formes pédiatriques sont rares et la maladie touche plus volontiers des adultes autour de la soixantaine. Il s'agit le plus souvent de lymphomes diffus, à grandes cellules, de phénotype B et d'origine centro-folliculaire. La majorité se développe à partir d'une thyroïdite auto-immune. Le pronostic est médiocre^{4,12}.

□ *sarcome primitif*

La distinction avec le cancer anaplasique est difficile. L'étude immunohistochimique est une aide diagnostique capitale. Quelques cas de fibrosarcomes, léiomyosarcomes, liposarcomes et angiosarcomes ont été rapportés^{15,16}.

3. *Les tumeurs secondaires*

La thyroïde peut être envahie par contiguïté à partir d'un cancer locorégional (cancer parathyroïdien ou cancer des voies aérodigestives supérieures) ou représenter un site d'implantation métastatique. Les tumeurs solides métastasent avec la plus grande fréquence dans la thyroïde sont les cancers du rein, du sein et bronchiques ainsi que les mélanomes malins. Par ailleurs 10 à 15% des hémopathies malignes ont une localisation thyroïdienne.

IV. Aspects cliniques et facteurs pronostiques des cancers thyroïdiens

1. *Aspects cliniques*

Dans un nombre non négligeable de cas, le diagnostic de tumeur maligne thyroïdienne est posé, de manière fortuite, en post opératoire, sur des pièces de thyroïdectomies. Dans les cas où le diagnostic est suspecté en préopératoire, le symptôme le plus souvent rapporté est la présence d'un nodule thyroïdien palpable. Il s'agit dans la majeure partie des cas d'un nodule froid à la scintigraphie. Des métastases sont présentes au moment du diagnostic dans 50% des

cas (pulmonaires, osseuses ou cérébrales), tous types histologiques confondus. Une localisation ganglionnaire cervicale métastatique est parfois le seul signe clinique patent, c'est le cas en particulier des carcinomes vésiculaires ou papillaires. Certains signes cliniques associés peuvent orienter vers une origine histologique précise. La présence d'une diarrhée accompagnant un nodule thyroïdien suspect doit faire évoquer le diagnostic de carcinome médullaire. La présentation clinique du carcinome indifférencié est particulière. Il se présente comme un goitre ou une formation nodulaire rapidement évolutif. Des signes fonctionnels à type de compression (dyspnée, dysphagie, dysphonie) ou de gêne cervicale sont fréquents. A la palpation, ce goitre ou ce nodule est dur voire ligneux et fixé fréquemment aux structures adjacentes.

1. Facteurs pronostiques

Un grand nombre de facteurs pronostiques ont été mis en évidence pour les tumeurs épithéliales thyroïdiennes, comme le type histologique, le sous-type, la différenciation cellulaire, le stade TNM, certains facteurs cliniques comme l'âge ou le sexe, l'expression cellulaire de E-cadhérine ou du CD97, l'aneuploïdie ¹ et enfin des facteurs de croissance angiogène (VEGF).

Les facteurs les plus fréquemment utilisés sont le stade TNM, les facteurs cliniques et le type histologique précis.

□ Le stade TNM

La variable la plus prédictive de la durée de survie d'un patient est la classification TNM. Cette dernière est obtenue en combinant la taille de la tumeur primitive avec l'extension éventuelle en dehors de la glande thyroïdienne (T1 à T4), l'envahissement ganglionnaire (N0 à N1) et la dissémination métastatique (tableau n°2). Cette stadification TNM est fondée sur des examens d'imagerie tomodensitométrique (TDM) et préférentiellement sur l'imagerie par résonance magnétique (IRM) ou l'endoscopie (oesophagienne ou respiratoire), afin d'apprécier au mieux l'extension éventuelle à la trachée ou à l'œsophage. La scintigraphie n'a de rôle que pour la recherche d'une localisation secondaire principalement osseuse. Il existe une corrélation pronostique inversement proportionnelle au stade de la maladie.

Ces différents examens permettent l'étude de:

✓ L'extension tumorale :

Les résultats de l'imagerie permettent de distinguer une extension au-delà de la glande thyroïdienne, classé T4.

✓ L'extension ganglionnaire :

Avant d'être considérée comme métastatique une adénopathie, découverte en imagerie ou à l'examen clinique, nécessite un contrôle histologique. Certaines études n'ont cependant pas prouvé que la présence au diagnostic de métastases ganglionnaires a une influence significative sur la survie²¹.

✓ L'extension métastatique :

La tomодensitométrie (TDM), l'imagerie par résonance magnétique (IRM) et la scintigraphie ont une place de choix dans la recherche de métastases, avec une certaine spécificité d'organes pour chacun.

L'obtention du stade TNM par des moyens cliniques et d'imagerie est parfois imprécise. Les constatations fournies par l'examen macroscopique sur pièce fraîche et microscopique peuvent apporter quelques nuances au TNM clinique. Cette correction éventuelle est importante car elle permet d'optimiser le traitement. Toutefois le TNM préopératoire reste un facteur pronostique essentiel et facilement reproductible.

□ *Facteurs pronostiques cliniques*

Seul l'âge est reconnu comme un facteur pronostique clinique incontestable, des carcinomes différenciés de la thyroïde^{22,23}. Quel que soit le type histologique, la mortalité liée au cancer de la thyroïde augmente lorsque celui-ci survient chez un sujet âgé. Par ailleurs, les cancers de la thyroïde survenant chez l'enfant sont souvent étendus. L'envahissement ganglionnaire et les métastases, principalement pulmonaires sont fréquents.

Ce facteur pronostique permet d'individualiser deux groupes de patients. Les malades âgés de moins de 45 ans ont une survie à long terme excellente. Les métastases à distance et les rechutes cervicales sont le plus souvent contrôlées et la mortalité est de moins de 2%. Les malades âgés de plus de 45 ans ont un pronostic plus sombre. Les rechutes cervicales et les métastases sont moins bien contrôlées et la mortalité liée au cancer de la thyroïde est d'environ 30%.

Pour le cas particulier du carcinome médullaire, outre l'âge, le sexe masculin est également reconnu comme un facteur de mauvais pronostic clinique. La concentration sérique

de la calcitonine postopératoire n'a pas de rôle pronostic important, par contre une ascension progressive de l'ACE en postopératoire signe en règle générale l'apparition de métastases à distance²⁴.

□ *Type histologique*

Le type histologique ainsi que son sous-type précis sont d'excellents facteurs pronostiques des carcinomes thyroïdiens¹.

Le carcinome papillaire est de bon pronostic, la survie à 10 ans de plus de 95%. En ce qui concerne le carcinome vésiculaire, toutes variantes confondues, son pronostic est bon, entre 75 et 90% de survie à 10 ans, à une seule nuance près. Quand il existe une invasion massive de la glande, l'espérance de survie n'est que 20 à 45% à 10 ans. Cette survie à 10 ans, pour les rares cas de carcinomes médullaires sporadiques, avoisine les 90%. Seul le carcinome indifférencié est de très mauvais pronostic. La majorité des patients décède dans l'année qui suit le diagnostic, quel que soit le traitement proposé. Pour les autres types de tumeurs épithéliales, les cas sont si rares qu'il est impossible d'établir une survie à 5 ans.

La présence d'une effraction capsulaire, pour un carcinome encapsulé, et d'embolies vasculaires sont des facteurs péjoratifs indépendant du type histologique.

Tableau n° 1 : Classification des tumeurs malignes thyroïdiennes
selon l'OMS 1996 (19)

Tumeurs épithéliales

1. Carcinomes papillaires
 - Forme classique
 - Microcarcinome
 - Carcinome papillaire encapsulé
 - Variante vésiculaire
 - Variante sclérosante
 - Variante à cellules oxyphiles
2. Carcinomes vésiculaires
 - Variante à cellules claires
 - Variante à cellules de Hürthle
 - Carcinome insulaire
3. Carcinomes médullaires
 - Forme classique
 - Carcinome composé médullaire et folliculaire
4. Carcinome indifférencié ou anaplasique
5. Autres carcinomes rares
 - Carcinome mucineux
 - Carcinome mucoépidermoïde
 - Carcinome squameux

Tumeurs non épithéliales

1. Sarcomes
2. Lymphomes malins non hodgkiniens
3. Tumeurs exceptionnelles
4. Tumeurs non classables

Tumeurs secondaires

Tableau n°2 : Classification TNM (20)

T - Tumeur primitive :

Tx	La tumeur primitive ne peut être évaluée
T0	La tumeur primitive n'est pas décelable
T1	T < 1 cm dans sa plus grande dimension, limitée à la thyroïde
T2	1 cm < T < 4 cm dans sa plus grande dimension, limitée à la thyroïde
T3	T > 4 cm dans sa plus grande dimension, limitée à la thyroïde
T4	Tumeur de taille variable, ayant franchi la capsule de la thyroïde

N – Adénopathies régionales

Nx	Les adénopathies ne peuvent être évaluées
N0	Absence d'adénopathie régionale métastatique
N1	Adénopathies régionales métastatiques
N1a	Adénopathie(s) métastatique(s) régionale(s) cervicale(s), homolatérale(s)
N1b	Adénopathie(s) métastatique(s) cervicale(s), bilatérale(s), médiane(s) ou controlatérale(s), ou métastase(s) ganglionnaire(s) médiastinale(s).

M – Métastases

M0	Absence de métastase à distance
M1	Métastase(s) à distance

V. Données sur l'oncogenèse des carcinomes thyroïdiens

Le taux de prolifération des cellules thyroïdiennes, très faible à l'état normal, est sous la dépendance d'un ensemble de facteurs extra- et intracellulaires qui jouent un rôle stimulateur ou inhibiteur. Les différentes étapes de la cancérogenèse épithéliale thyroïdienne sont déterminées par des mutations ou des réarrangements de gènes régulateurs de cette croissance ²⁵. Les étapes de la cancérogenèse épithéliale thyroïdienne sont encore mal déterminées. Elles consistent, comme cela a été démontré au niveau du colon ou de la bronche, en l'accumulation séquentielle d'altérations géniques, portant sur les gènes clés du contrôle de la prolifération cellulaire de l'apoptose et de l'angiogenèse.

Les gènes altérés appartiennent à deux classes :

- **Les oncogènes** sont des gènes cellulaires présents à l'état normal sous forme de proto-oncogènes dont les produits d'expression physiologique ont un rôle prépondérant dans la croissance et/ou la différenciation cellulaire. Les proto-oncogènes peuvent subir des événements génétiques portant sur l'un de leurs allèles les activant et les transformant en oncogènes par des mutations ponctuelles, amplification génique intra- ou extra-chromosomique, transposition ou par insertion-promotion. Ces modifications génétiques ont un effet dominant sur les cellules tumorales et sont responsables d'une prolifération cellulaire anormale.

- **Les gènes suppresseurs de tumeurs** sont des gènes ubiquitaires, présents à l'état normal, qui codent pour des protéines régulant négativement la prolifération cellulaire. Les gènes suppresseurs de tumeurs sont impliqués de manière physiologique dans l'inhibition de la prolifération cellulaire et la régulation de l'apoptose. L'inactivation d'un gène suppresseur de tumeurs s'exprime habituellement selon un mode récessif, par opposition aux oncogènes à expression dominante.

Six gènes ou familles de gène, intervenant par des voies d'activation différente, ont été impliqués de manière spécifique dans le processus de cancérogenèse thyroïdienne, chaque voie paraît spécifique d'une catégorie de tumeur.

1. Principaux oncogènes

□ Facteurs de croissance

Un grand nombre de facteurs de croissance ainsi que leurs récepteurs sont impliqués dans la tumorigenèse thyroïdienne. Les cellules cancéreuses peuvent produire leurs propres facteurs de croissance, réalisant ainsi une boucle autocrine, si les récepteurs correspondants sont exprimés à leur surface. Un mécanisme paracrine peut également se rencontrer, faisant intervenir des cellules de la stroma-réaction et favorisant ainsi la prolifération tumorale.

L'**EGF** (Epidermal growth factor) et son récepteur (EGF-R) ont été mis en évidence par immunohistochimie dans les néoplasmes thyroïdiens mais sont absents dans les lésions bénignes^{26,27}. L'EGF-R correspond à une tyrosine kinase membranaire codée par l'oncogène c-erb B1. Ce récepteur exprimé par les cellules épithéliales participe au développement d'une boucle autocrine.

Dans la variante anaplasique, une production plus importante d'EGF-R que dans les autres formes histologiques a pu être détectée, où l'EGF paraît également avoir une valeur

pronostique. Dans les tumeurs où le taux d'EGF est élevé les récurrences sont plus fréquentes²⁷.

Le **TGF β** (transforming growth factor β) est également produit par les tumeurs thyroïdiennes, à un taux plus élevé dans les tumeurs cancéreuses par rapport aux lésions bénignes. L'expression de récepteurs du TGF β a un rôle, ubiquitaire, capital dans la progression tumorale, rôle qui a été rapporté pour d'autres tumeurs comme les adénocarcinomes gastriques ou les carcinomes épidermoïdes des voies aérodigestives supérieures^{28,29}.

L'**IGF 1** (insulin growth factor 1) est produit aussi bien par les tumeurs malignes que bénignes.

Enfin le récepteur, **PDGFR β** , facteur de croissance dérivé des plaquettes, a pu être mis en évidence dans les carcinomes anaplasiques de la thyroïde²⁶.

□ *Oncogène Ras*

Les oncogènes Ha-, Ki- et N-ras, situés sur des chromosomes différents, codent pour 3 protéines G, d'un poids moléculaire de 21000 daltons, qui assurent la transmission des signaux intracellulaires à partir de récepteurs membranaires à tyrosine-kinase. Il s'agit d'une voie majeure d'activation cellulaire fréquemment impliquée dans les processus néoplasiques. Cet oncogène ras intervient dans la prolifération et la différenciation cellulaire.

Des mutations activatrices des trois gènes ont été rapportées dans les tumeurs thyroïdiennes, mais avec des fréquences et des corrélations histopathologiques très variables, probablement en raison d'approches techniques différentes et d'un manque d'homogénéité dans les critères de classification des tumeurs. Les données récentes sur la recherche d'une mutation de ras dans les tumeurs thyroïdiennes retrouvent une incidence moindre que pour les premières études²⁷ et sont restreintes à certaines classes de tumeur. Les plus fréquentes concernent le codon 61 de N-ras, muté dans 20% des adénomes atypiques et des cancers vésiculaires, ainsi que dans 1 à 3 % des carcinomes papillaires à variante vésiculaire ou à cellules de Hürthle^{27,30}. Dans les carcinomes papillaires de forme classique cette mutation n'a pas été retrouvée. Cette mutation de l'oncogène ras semble donc être impliquée dans les premières étapes de la transformation des tumeurs d'architecture vésiculaire et dans leur évolution vers la malignité³¹.

Les autres types de mutation des gènes ras sont beaucoup moins fréquents et de signification plus floue³². Approximativement 12% des adénomes non atypiques présentent une mutation touchant les codons 12-13 de Ha-ras. Cette mutation est également retrouvée

dans 2 à 3% des néoplasmes thyroïdiens (2,7% des carcinomes papillaires)³³. Par contre la mutation touchant le codon 61 de Ha-ras affecte presque exclusivement les tumeurs malignes.

□ *Oncogène RET et TRK*

Le gène RET code pour le récepteur membranaire d'un facteur de croissance de cellules nerveuses, le GDNF (glial derived neurotrophic factor). Il s'agit d'une enzyme à activité tyrosine-kinase capable *in vitro* de transformer les cellules thyroïdiennes qui le surexpriment de manière constitutionnelle.

A l'état normal ce gène RET est peu ou pas exprimé par les cellules thyroïdiennes, alors qu'il est surexprimé dans 50 à 70% des cancers papillaires, dans une proportion variable selon les études (de 5 à 84% des cas). Cette surexpression est liée à la présence de réarrangement génique entraînant la fusion du domaine tyrosine-kinase du gène RET avec la partie activatrice de divers gènes domestiques, aboutissant à la formation de l'oncogène RET/PTC : Huit variétés ont pour l'instant été décrites. Ces réarrangements du gène RET n'ont été retrouvés *in vivo* que dans les carcinomes papillaires³⁵. Les expériences de Bond et coll³⁶ ont montré que les réarrangements de l'oncogène RET étaient un événement précoce dans les carcinomes papillaires.

Le RET/PTC1 est plus souvent retrouvé chez des patients ayant été exposés à des radiations ionisantes³⁶. Les oncogènes PTC1-PTC2-PTC4 ont été identifiés comme des inversions para-centriques du bras long du chromosome 10, entraînant une activation des gènes H4 et ELE1 situé respectivement sur le locus 10q21 et 10q11-2. L'oncogène PTC3 est induit par une translocation entre les chromosomes 10 et 17 (t(10;17)(q11-2;q23)) conduisant à la fusion du domaine tyrosine kinase avec le proto-oncogène RET, avec inhibition de RI α AMPc kinase dépendante³⁷. L'oncogène PTC5 est le résultat d'un réarrangement chromosomique entre l'extrémité 5' du gène RFG5 avec le domaine tyrosine kinase de RET. La fusion entre le domaine tyrosine de RET et le gène hTIF1 conduit à la formation de l'oncogène PTC6. La forme activée de PTC7 correspond à la fusion de RFG7 avec le domaine tyrosine kinase de RET. Enfin l'oncogène PTC8, récemment mis en évidence, est du à une translocation entre les chromosomes 10 et 14 (t(10;14)(q11.2;q22.1)) conduisant à la fusion du domaine tyrosine kinase de RET avec le gène KTN1. Pour l'instant seul le RET/PTC3 apparaît plus spécifique dans les cancers papillaires radio-induits de l'enfant^{1,25}.

Dans certaines études, le taux de réarrangements de type RET/PTC, trouvés dans les cancers papillaires, est très variable, alors que la majorité des tumeurs exprime fortement l'enzyme tyrosine kinase liée à RET. D'autres mécanismes d'activation sont sûrement en

cause. Il pourrait s'agir soit de réarrangements non encore décrits, soit de variants résultants de phénomène de « splicing » alternatif³⁸.

Récemment des réarrangements de type RET/PTC1 ont été détectés dans des adénomes trabéculaires hyalinisants, suggérant que ces tumeurs, qui présentent certains traits communs avec les carcinomes papillaires, pourraient suivre une même voie histogénique³⁹.

Le gène TRK qui code pour le récepteur du NGF (nerve growth factor) est activé dans 5 à 15% des carcinomes papillaires spontanés par un mécanisme similaire de réarrangements avec la partie activatrice de plusieurs gènes codant pour des protéines de structure.

□ *Oncogène GSP et récepteur à la TSH*

Ces deux protéines commandent l'étape initiale de la voie de signalisation spécifique des cellules vésiculaires, voie de l'AMPC, qui induit à la fois la prolifération et la différenciation des cellules vésiculaires. Dans les adénomes toxiques, cette voie est activée de manière constitutive et les cellules prolifèrent indépendamment de la régulation de la TSH, en gardant leur différenciation et leur fonction²⁵. La majorité de ces adénomes présente des mutations ponctuelles de GSP ou du récepteur de la TSH dans des zones critiques sur le plan fonctionnel, conduisant à un changement de conformation de la molécule, simulant une stimulation par la TSH.

□ *Oncogène Met*

L'oncogène Met est amplifié dans 70% des carcinomes papillaires et des carcinomes peu différenciés, et dans plus de 25% des carcinomes vésiculaires. Cependant il n'a pas été détecté d'amplification de l'oncogène Met dans les carcinomes anaplasiques ou médullaires. Pour cet oncogène, seule une amplification a pu être mise en évidence, sans mutation associée.

□ *Oncogène PAX8/PPAR γ 1*

Des translocations t(2;3)(q13;p25) entraînant une fusion du gène de transcription des cellules thyroïdiennes pax8 avec le gène PPAR gamma 1 (peroxisome proliferator-activator receptor) ont été depuis peu rapportées dans une majorité de carcinomes vésiculaires et non dans les adénomes vésiculaires ou les carcinomes papillaires⁴⁰. PAX8-PPAR s'accumule dans les cellules où il entraîne une inhibition de la transactivation par PPAR gamma 1, de manière dominante. Son accumulation intranucléaire a pu être identifiée à l'aide d'anticorps spécifique anti PPAR gamma 1.

2. Gènes suppresseurs de tumeurs

Deux gènes suppresseurs de tumeurs ont pu être mis en évidence dans les carcinomes thyroïdiens. Il s'agit du gène de la protéine p53 et du gène du rétinoblastome.

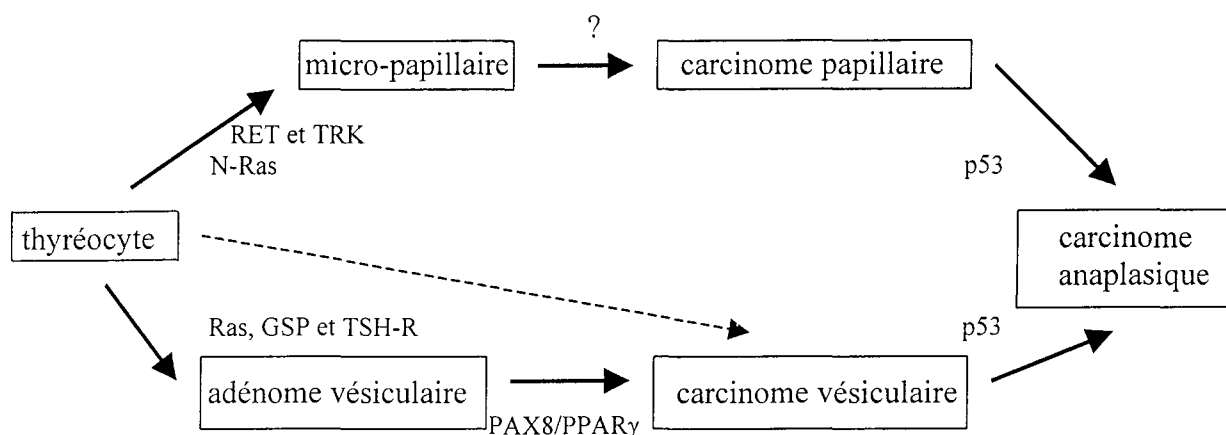
□ Gène de la protéine p53

Le gène de la protéine p53 est situé sur le bras court du chromosome 17 (17p13). La protéine p53 intervient dans la régulation du cycle cellulaire, l'activation transcriptionnelle. Elle induit également l'apoptose des cellules qui présentent des lésions irréversibles de l'ADN. Elle intervient dans le contrôle de l'expression de certains gènes de l'angiogenèse (VEGF, thrombospondine), ou dans le contrôle de la matrice extracellulaire. Des mutations inactivatrices de p53 sont présentes dans 15 à 25% des carcinomes indifférenciés et anaplasiques. Ces mutations seraient liées à l'instabilité génique qui s'accroît au fil de l'évolution des tumeurs. Leur fréquence est identique dans les tumeurs spontanées ou radio-induites^{25,41}. La responsabilité de la disparition de la protéine p53 fonctionnelle dans la transformation anaplasique des carcinomes papillaires induite par RET/PTC a été démontrée expérimentalement chez les souris transgéniques p53 -/-⁴².

□ Gène du rétinoblastome

Le gène suppresseur du rétinoblastome (Rb) est retrouvé dans 55% des carcinomes thyroïdiens avec présence d'une délétion ou d'une mutation. Cette mutation n'est pas retrouvée dans les lésions bénignes. Il s'agit d'une délétion de la partie C terminale ou d'un splicing anormal de l'ARNm⁴³. Les anomalies géniques les plus fréquentes sont la délétion de l'exon 21 ou la fusion entre les exons 20 et 22.

Figure n°1: gènes ou famille de gènes participant à la cancérogenèse des carcinomes thyroïdiens (1, 24)



VI. Aspects thérapeutiques

Le traitement fait appel avant tout à la chirurgie. Il existe cependant d'autres armes thérapeutiques comme la radiothérapie externe et le traitement par l'iode 131.

□ Chirurgie

Le traitement de choix des carcinomes thyroïdiens est chirurgical. L'intervention de base est la thyroïdectomie totale avec curage ganglionnaire à la recherche d'une métastase ganglionnaire associée. En cas de carcinome papillaire, carcinome le plus fréquemment rencontré, l'attitude européenne est la thyroïdectomie totale. Une thyroïdectomie partielle serait plus volontiers réalisée aux Etats Unis ⁴⁴. Toutefois en Europe, la lobo-isthmectomie serait considérée comme suffisante en cas de cancer unifocal de petites dimensions (< 1,5 cm) sans effraction capsulaire et sans envahissement ganglionnaire ⁴. Les arguments en faveur d'une thyroïdectomie totale sont récapitulés dans le tableau n°3.

L'envahissement ganglionnaire sus-claviculaire confirmé par un examen extemporané implique la réalisation d'un curage jugulo-carotidien conservateur, respectant le muscle sterno-cléido-mastoïdien, la veine jugulaire et le nerf spinal. En cas d'envahissement récurrentiel, une exploration du médiastin antérieur sera effectuée. Cette exploration

ganglionnaire doit être bilatérale en cas de cancer bilatéral. En cas d'adénopathie métastatique jugulo-carotidienne palpable, le curage jugulo-carotidien conservateur est effectué.

Cette attitude permet d'éviter les réinterventions et de réduire ainsi la morbidité opératoire : paralysie récurrentielle ou spinale et surtout l'hypoparathyroïdie définitive qui peut également être évitée grâce au repérage par le bleu de méthylène et à l'autotransplantation.

Pour un carcinome vésiculaire, la thyroïdectomie est le traitement de choix établi de manière consensuelle. Les métastases hématogènes sont plus fréquentes et ne peuvent pas être traitées de manière efficace par l'iode radioactif s'il persiste du parenchyme thyroïdien.

Dans le cas d'un carcinome indifférencié de la thyroïde, une thyroïdectomie totale semble indispensable, mais elle n'est pas toujours réalisable. Le but dans ce genre de tumeur est de contrôler l'extension locale de la tumeur et d'ainsi prévenir l'obstruction de la trachée et de l'œsophage. En général cela n'est possible qu'au prix d'une stratégie thérapeutique mutilante associant chirurgie, radiothérapie externe et chimiothérapie⁴⁵.

La chirurgie est également le traitement de choix des carcinomes médullaires sporadiques ou héréditaires. Le succès de la chirurgie, correspondant à l'exérèse complète de la tumeur, est lié à la mesure peropératoire de la calcitonine^{46,47}. Elle nécessite un chirurgien expérimenté afin d'en limiter la morbidité. Le consensus sur le geste chirurgical⁴⁸ en France est le suivant :

- Thyroïdectomie totale bilatérale ;
- Cellulo-lymphadénectomie complète du compartiment central du cou, entre les deux axes jugulo-carotidiens, de l'os hyoïde aux troncs veineux brachiocéphaliques ;
- Curage jugulo-carotidien et spinal bilatéral en cas de tumeur de plus de 2 cm et (ou) si l'examen extemporané des ganglions lymphatiques centraux ou latéraux est positif. Dans les formes familiales, on ne serait faire l'économie d'un curage récurrentiel bilatéral, même si les tumeurs sont petites. Une exploration du médiastin antérieure pourra être réalisée en cas de présence de ganglions métastatiques centrocervical ou controlatéral¹.

Tableau n°3 : Arguments en faveur d'une thyroïdectomie totale ou partielle dans les carcinomes papillaires de la thyroïde (1)

Les arguments en faveur d'une thyroïdectomie totale sont :

1. Multifocalité dans un quart des cas
 2. Haut risque de morbidité pour thyroïdectomie complémentaire sur des remaniements thyroïdiens postopératoires.
 3. Les petites lésions peuvent avoir un caractère plus agressif et un potentiel de dédifférenciation supérieure aux volumineuses lésions.
 4. Une thyroïdectomie partielle peut être la cause de récurrence locale.
 5. Un chirurgien expérimenté peut réaliser une thyroïdectomie totale avec de minimales complications à court terme.
 6. L'irradiation par l'iode 131 d'un résidu thyroïdien important s'accompagne de douleurs.
 7. Iode radioactif peut être utilisé pour le diagnostic et le traitement complémentaire des métastases à distance après une thyroïdectomie totale.
 8. La mesure de la thyroglobuline peut être utilisée en peropératoire.
-

La thyroïdectomie partielle est recommandée pour les raisons suivantes :

1. la survenue d'une récurrence tumorale sur le lobe thyroïdien restant est peu fréquente
 2. Faible risque de transformation (<1%) d'un carcinome papillaire en un carcinome indifférencié (anaplasique).
 3. Pas de différence en terme de survie entre une thyroïdectomie totale ou partielle.
 4. Une récurrence locale peut bénéficier d'une réintervention.
 5. Morbidité moindre après une thyroïdectomie partielle.
 6. Si nécessaire, la destruction du parenchyme thyroïdien restant peut être réaliser par iode radioactif sans morbidité.
-

□ *Traitements complémentaires*

Les traitements complémentaires sont basés sur la radiothérapie externe et le traitement par l'iode radioactif ¹³¹I.

La radiothérapie externe est indiquée quand l'exérèse chirurgicale initiale du tissu néoplasique cervical a été incomplète car impossible ^{49,50}. Chez ces patients, elle permet d'obtenir un taux de survie de 70% à 5 ans et de 57% à 10 ans. Habituellement, l'irradiation englobe le cou en totalité et le médiastin supérieur et délivre 50 Gy en 5 semaines, soit 25 séances. En cas de reliquat tumoral macroscopique, un complément d'irradiation de 5 Gy est effectué. Pour les carcinomes médullaires, une radiothérapie externe peut être également entreprise. Cependant, ses effets antitumoraux sont faibles, même avec des doses de 50 Gy ou plus.

Le traitement complémentaire par l'iode ¹³¹I consiste à administrer 3,7 GBq (100 mCi) après stimulation par la TSH. Deux indications sont indiscutables : l'existence de métastases à distance et l'exérèse chirurgicale incomplète du tissu néoplasique cervical. Dans ce cas le traitement par l'iode ¹³¹I radioactif précède la radiothérapie transcutanée, lorsque celle-ci a été décidée. Après exérèse complète du tissu tumoral, l'intérêt de l'administration systématique de l'iode ¹³¹I est double : la destruction des reliquats thyroïdiens augmente la spécificité du dosage de la thyroglobuline dans le sérum et la sensibilité des scintigraphies corps entier à l'iode ¹³¹I pendant la surveillance ; l'irradiation par l'iode ¹³¹I peut détruire des foyers néoplasiques résiduels. Ce traitement diminue le taux de rechute et la mortalité après exérèse complète d'une tumeur thyroïdienne mesurant 1,5 cm ou plus, qu'elle soit ou non associée à des métastases ganglionnaires. Un traitement post-opératoire par l'iode ¹³¹I est donc indiqué dans deux circonstances : soit en cas de chirurgie incomplète ou douteuse, en raison de l'extension locorégionale de la maladie, soit après chirurgie complète en cas de facteurs pronostiques défavorables : âge supérieur à 45 ans, cancer peu différencié, tumeur supérieure à 1,5 cm de diamètre, effraction de la capsule thyroïdienne, métastases ganglionnaires. A distance de l'intervention chirurgicale, ce traitement complémentaire est indiqué en cas de persistance d'un taux sérique élevé de thyroglobuline. Un examen scintigraphique corps entier est systématiquement pratiqué 6 semaines après l'intervention. La découverte d'un foyer de fixation au niveau des aires ganglionnaires cervicales, sur la scintigraphie, après traitement par l'iode ¹³¹I doit faire envisager leur exérèse chirurgicale. La destruction des reliquats thyroïdiens est plus souvent obtenue lorsque la taille est faible, ce qui justifie la pratique d'une thyroïdectomie totale lorsqu'un traitement par l'iode ¹³¹I est envisagé.

A l'inverse, ce traitement n'est pas indispensable chez les sujets jeunes dont la tumeur thyroïdienne était de petites dimensions (<1,5 cm) et localisée à la thyroïde.

Ces traitements complémentaires sont peu efficaces dans les cancers médullaires. L'iode 131 n'a pas d'utilité dans les cancers médullaires, en effet les cellules C n'ont pas d'affinité pour l'iode. La radiothérapie externe pourra être indiquée dans le cas où il persisterait localement du tissu tumoral. Cependant ces effets antitumoraux sont faibles même avec des doses élevées. La chimiothérapie n'a qu'une efficacité limitée et sera donc réservée aux formes métastatiques évolutives.

Chapitre 2 : Métabolisme de la vitamine A et de ses protéines de transport

Le terme de vitamine A englobe plusieurs métabolites actifs dérivés des caroténoïdes, incluant le rétinol, le rétinaldéhyde et l'acide rétinoïque. Les sources nutritionnelles de la vitamine A sont les caroténoïdes d'origine végétale, les esters de rétinol et le rétinol d'origine animale ⁵¹. Une cinquantaine de caroténoïdes sur les 600 identifiés sont métabolisés en vitamine A.

I. La vitamine A

La vitamine A est un terme générique désignant l'ensemble des composants structurellement apparentés à l'activité biologique vitaminique A. Ces composés appartiennent à la classe des rétinoïdes, dont le motif de base comporte une partie cyclique apolaire, le noyau β -ionone (ou cycle triméthyl cyclohexenyl) et une chaîne latérale méthylée insaturée polaire (chaîne isoprénoïde). Selon les degrés d'insaturation du noyau β -ionone, on distingue la vitamine A1 (ou rétinol) de formule brute $C_{20}H_{30}O$, 9,13-diméthyl-7-(1,1,5-triméthyl-6cyclohexène-5yl)7,9,11,13nonatetra15-ol et la vitamine A2 (ou 3 déhydrorétinol) de formule brute $C_{20}H_{28}O$, qui est l'analogue déshydrogéné en 3 du rétinol (le 3,4-dihydrorétinol).

La fonction alcool primaire en C15 est le siège des réactions suivantes :

- Réactions d'oxydation conduisant au rétinol (vitamine A aldéhyde) et à l'acide rétinoïque (vitamine A acide).
- Réactions d'estérification avec différents acides (rétinyl-palmitate, rétinyl-acétate, rétinyl-succinate).

II. Métabolisme et stockage de la vitamine A

□ Métabolisme de la vitamine A

Les caroténoïdes, représentés majoritairement par le β carotène sont absorbés au niveau des entérocytes et métabolisés par voie enzymatique successivement en rétinol, en rétinol, puis estérifié et incorporé aux chylomicrons du système lymphatique⁵².

Les esters de rétinol d'origine alimentaire sont hydrolysés dans la lumière intestinale, puis absorbés par les entérocytes grâce à un mécanisme de diffusion facilitée. Le rétinol estérifié par les enzymes à activité acyl coenzyme A (retinol-acid-transferase) dans les entérocytes est acheminé jusqu'à la circulation sanguine via les chylomicrons. Dans les vaisseaux capillaires, les chylomicrons sont métabolisés par la lipoprotéine lipase. Les fantômes de chylomicrons, petites particules riches en cholestérol, qui en résulte, acheminent majoritairement les esters de rétinol jusqu'au foie, où ils sont stockés dans les hépatocytes et les cellules de Ito sous forme d'esters. Ces fantômes de chylomicrons peuvent également transporter les esters de rétinol vers certains tissus extra-hépatiques comme la moelle hématopoïétique, le rein et le muscle squelettique⁵².

Le rétinol libéré par la rétinol-ester-hydrolase est sécrété et véhiculé au sein de la circulation sanguine par un complexe protéique comportant une retinol-binding-protein (RBP) associée à la transthyrétine. L'absorption du complexe rétinol/RBP/transthyrétine par les cellules cibles, semble être relayée par un récepteur membranaire spécifique du complexe RBP-rétinol⁵³. L'acide rétinoïque est produit à partir du rétinol tout-trans grâce à deux étapes oxydatives successives. La première étape correspond à l'oxydation du rétinol tout-trans en rétinol tout-trans par une rétinol-déshydrogénase, suivie d'une deuxième étape irréversible, l'oxydation du rétinol tout-trans en acide rétinoïque tout-trans par une rétinolaldéhyde déshydrogénase. D'autres stéréo-isomères de l'acide rétinoïque, comme l'acide rétinoïque 9-cis, sont retrouvés dans les cellules.

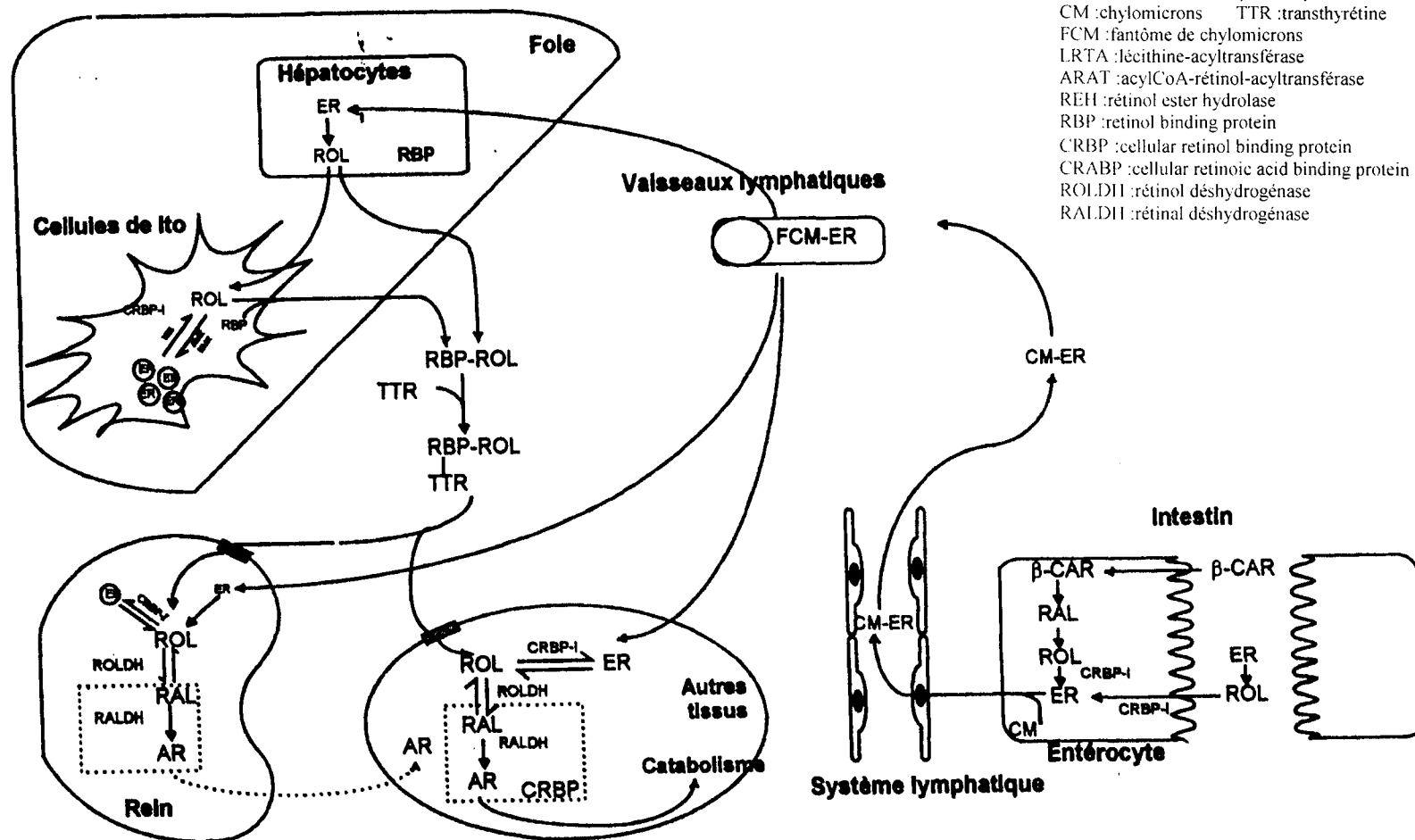
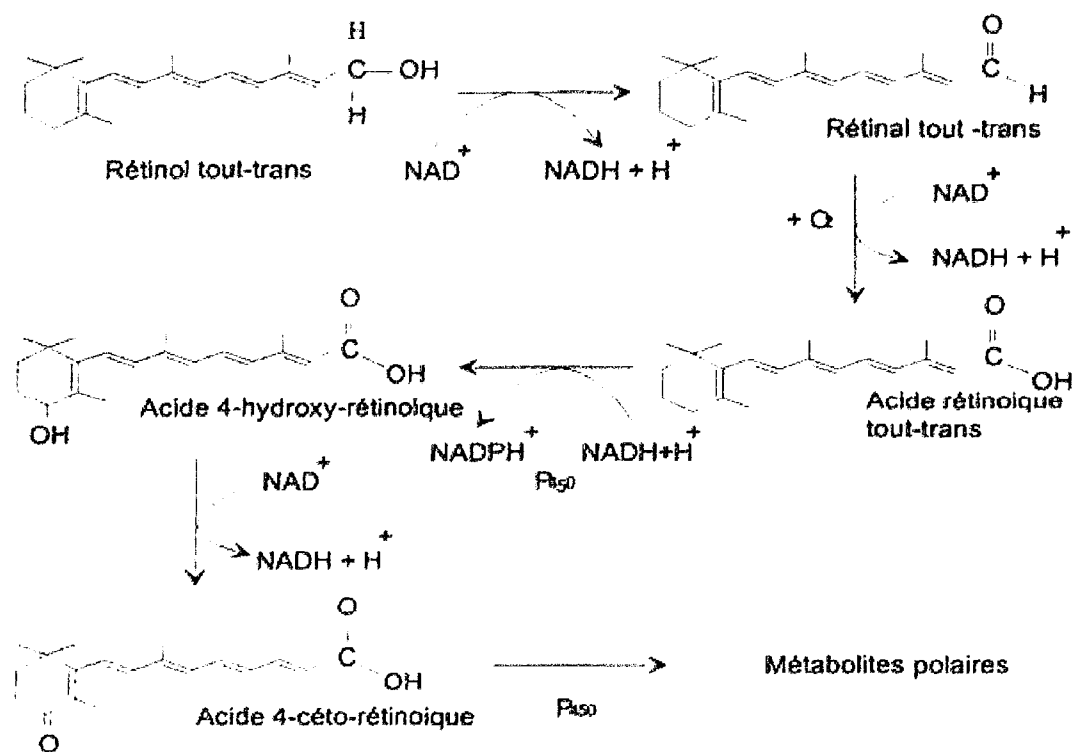


Figure n°2 : Métabolisme de la vitamine A

Ce métabolite peut également être produit à partir du rétinol 9-cis par l'oxydation première en rétinal 9-cis puis l'oxydation en acide rétinoïque 9-cis. L'acide rétinoïque tout-trans et l'acide rétinoïque 9-cis peuvent être catabolisés en composés actifs et inactifs selon le mécanisme schématisé ci dessous :



□ *Stockage des esters de rétinol*

Environ 90% de la vitamine A est stockée dans le foie. Les esters de rétinol sont les formes prédominantes du stockage hépatique. Les hépatocytes qui interviennent majoritairement dans la captation des fantômes de chylomicrons et dans la synthèse des RBP sont connus pour stocker quelques esters de rétinol. La quantité de vitamine A stockée dans les cellules de Kuppfer représente approximativement 4% du stock hépatique. Les esters de rétinol plasmatique, captés par les hépatocytes sont transférés dans les cellules de Ito afin d'être stockés. Une étude menée chez le rat a montré que plus de 90% de la vitamine A est stockée dans les cellules de Ito, moins de 10% étant stockés dans les hépatocytes⁵⁴.

Le rein joue un rôle majeur dans la captation initiale des esters de rétinol à partir des chylomicrons. Il semblerait que le rétinol libre accumulé dans le rein s'estérifie plus tardivement.

Le rétinol plasmatique peut être capté, estérifié et stocké sous forme de gouttelettes lipidiques dans la rétine. Chez le rat, 96% de la vitamine A de la rétine est stockée dans l'épithélium pigmenté des cônes et des bâtonnets sous forme estérifiée.

III. Protéines de transport de l'acide rétinoïque

Différentes protéines peuvent lier spécifiquement le rétinol, le rétinol ou l'acide rétinoïque. Leur rôle est associé à l'absorption, à la mise en réserve, au transport et au métabolisme de l'acide rétinoïque. Ce sont la RBP (retinol-binding-protein) qui lie le rétinol plasmatique; les protéines cytosoliques de type I (CRBP I, cellular retinol-binding-protein I) et de type II (CRBP II) qui lient le rétinol; les protéines cytosoliques de type I et II qui lient l'acide rétinoïque (CRABP I et II).

□ Protéine plasmatique de transport du rétinol : la RBP

Le transporteur du rétinol vers les tissus cibles est assuré exclusivement par une protéine de transport plasmatique, la RBP. Cette dernière correspond à un polypeptide de 21.000 Dalton qui possède un site de fixation pour une seule molécule de rétinol-tout-trans. Dans la circulation sanguine la RBP est complexée à la transthyrétine avec un rapport molaire de 1/1. Le taux normal de RBP dans le sérum sanguin humain est entre 40 et 60 µg/ml dans les conditions physiologiques normales.

✓ Structure du gène codant pour la RBP

Le gène RBP, localisé en 10q23-24, est présent à l'état de simple copie au sein d'un génome haploïde. Les gènes humains et murins sont organisés de façon similaire⁵⁵. Le gène RBP humain occupe une région de 10 kb d'ADN génomique et comprend 6 exons et 5 introns. Les exons sont relativement courts, entre 69 et 213 paires de bases. La séquence du sixième exon a été individualisée chez le rat et non chez l'homme. Le premier exon est non codant, le site d'initiation (AUG) est situé dans le deuxième exon qui code pour les 19 premiers acides aminés. Au total la protéine comporte 171 acides aminés. Les introns mesurent respectivement 131, 110, 165, 8000 et 1200 pb. La région du promoteur est localisée 218 paires de bases en amont du site d'initiation AUG et la séquence consensus TATAAT est retrouvée à la position (-27).

✓ Localisation tissulaire

La RBP est essentiellement synthétisée dans les hépatocytes et en plus faible quantité dans les cellules de Ito. La présence de l'ARN messager correspondant à cette protéine a été retrouvée par technique Northern-Blot dans le rein. La quantité de RBP produite au niveau rénal correspondrait à 5 à 10% de celle synthétisée dans le foie du rat. Le poumon, le cerveau, la rate, le muscle squelettique et le tissu adipeux sont également le siège d'une production mineure de RBP (1 à 3% de la production hépatique) ⁵⁵.

✓ Fonctions physiologiques de la RBP

Une étude réalisée chez des souris transgéniques RBP -/- a montré le rôle essentiel de la RBP dans le transport plasmatique du rétinol, stocké dans le foie ⁵⁶. Les souris RBP -/- sont viables et fertiles, elles présentent des anomalies visuelles, un défaut sévère d'acheminement du rétinol vers tous les tissus cibles, avec pour corollaire une forte diminution de la concentration plasmatique du rétinol, environ 12% par rapport aux souris RBP +/+. Les résultats de cette étude semblent démontrer le rôle physiologique principal de la RBP dans le maintien de la fonction cellulaire normale ⁵⁶.

□ Protéine de liaison intracellulaire du rétinol et de l'acide rétinoïque : CRBP et CRABP

Au sein des cellules cibles, le transport et l'action de la vitamine A nécessitent des protéines ayant une affinité spécifique pour l'acide rétinoïque. Ces protéines cytosoliques ont été identifiées comme des protéines cellulaires de type I (CRBP I) et de type II (CRBP II) qui lient le rétinol, et les protéines cellulaires de type I et II (CRABP I et II) qui lient l'acide rétinoïque. Les propriétés des spectres d'absorption des protéines CRBP I et II ne sont pas superposables, l'un étant déplacé de 2 nm par rapport à l'autre ⁵⁷.

✓ Structure des gènes

Les gènes codant pour la CRABP, CRBP I et II sont situés sur le chromosome 3 humain. Chaque gène contient 4 exons et 3 introns, de respectivement 19,5 kb et 0,6 kb. Les gènes CRBP II et CRABP II contiennent une séquence consensus TATA au niveau du promoteur du gène, la TATA-box étant absente au niveau des deux gènes CRBP I et CRABP I. Le gène CRBP I qui est inductible par l'acide rétinoïque, comporte un élément de réponse à l'acide rétinoïque. Cette séquence de réponse à l'acide rétinoïque est une séquence hautement conservée, localisée en amont du site d'initiation de la transcription, consistant en une répétition directe avec un espace de deux nucléotides. Il est montré que cet élément de

réponse à l'acide rétinoïque est activé *in vitro* des hétérodimères des récepteurs de l'acide rétinoïque RAR α et RAR β . Le promoteur du gène CRBP II contient également un élément de réponse à l'acide rétinoïque similaire, composé de cinq répétitions en tandem d'une séquence AGGTCA séparée l'une de l'autre par un seul nucléotide et activé par un homodimère RXR. Le gène CRBP I présente des sites de fixation pour les facteurs de transcription AP-2 et SP1, et des éléments de réponse à des récepteurs des glucocorticoïdes.

✓ Localisation tissulaire

L'abondance des protéines CRBP et/ou CRABP est parallèle à la richesse en acide rétinoïque dans les cellules cibles ; l'énergie de l'interaction protéine /ligand servant à séquestrer l'acide rétinoïque, faiblement soluble en phase aqueuse. Le foie, riche en CRBP, semble donc jouer un rôle essentiel dans le métabolisme de la vitamine A.

- Protéine de transport intracellulaire du rétinol : la distribution tissulaire de la CRBP I est différente dans les tissus humains et murins. La CRBP I est exprimé de façon prédominante dans les hépatocytes et les cellules de Ito. La distribution cellulaire relative, déterminée par une méthode radio-immunologique, montre qu'un hépatocyte contient en valeur absolue deux fois plus de CRBP qu'une cellule de Ito. Toutefois, l'abondance relative des CRBP est cinq fois plus importante dans les cellules de Ito que dans les hépatocytes. Les études immunohistochimiques, réalisées sur le tissu rénal, ont mis en évidence la CRBP I et la RBP dans les tubes contournés proximaux. Le niveau d'expression élevé de la RBP dans les tubes contournés proximaux pourrait être consécutif à une filtration glomérulaire de la protéine et à sa réabsorption tubulaire. Dans le testicule et l'épididyme, la CRBP I est retrouvée dans les cellules péri-tubulaires et les cellules de Sertoli. L'expression de la protéine cytosolique est cyclique, corrélée avec le cycle de la spermatogenèse. La CRBP I pourrait donc être impliquée dans le transport transcellulaire du rétinol. Les cellules de Sertoli sont capables d'incorporer le rétinol à partir de complexes rétinol-RBP-transthyréine sans rétention ou co-incorporation apparente de RBP.

- La CRBP II est contenue presque exclusivement dans les entérocytes de l'intestin grêle. Elle est présente en quantité 500 fois plus faible dans le sérum et les autres tissus comme le colon, le foie et l'œil ⁵⁹.

- Protéine de transport intracellulaire de l'acide rétinoïde : la CRABP I est présente dans les tissus renfermant peu de ligands de la protéine : testicules, ovaires, utérus, cerveau et œil.

La CRABP II est fortement exprimée pendant l'embryogenèse dans l'épiderme et dans le derme.

✓ Propriétés des protéines de liaison intracellulaire du rétinol et de l'acide rétinoïque

La CRBP I fixe spécifiquement le rétinol par rapport au rétinal, à l'acide rétinoïque et aux esters de rétinol. Elle fixe préférentiellement les isomères tout-trans et 13-cis du rétinol par rapport aux isomères 9-cis et 9,13-di-cis rétinol ⁶⁰.

La CRBP II fixe également préférentiellement le rétinol au rétinal et ne fixe ni l'acide rétinoïque, ni les esters de rétinol. Elle fixe les isomères 3-déhydrorétinol et 13-cis rétinol mais ne fixe pas les isomères 9-cis et 11-cis-rétinol et tous les isomères en cis du rétinal ⁶¹.

La CRABP I fixe l'acide rétinoïque mais ne fixe ni le rétinol, ni le rétinal, ni les esters de l'acide rétinoïque. Elle présente une affinité faible pour l'isomère 13-cis versus l'isomère tout-trans ⁶².

La CRABP II présente les mêmes propriétés que la CRABP I. Elle fixe l'acide rétinoïque tout-trans avec une affinité plus faible que la CRABP I, et ne fixe ni le rétinol, ni le rétinal, ni l'isomère 13-cis de l'acide rétinoïque.

✓ Régulation de l'expression des protéines de transport

Chez les rats carencés en vitamine A, on observe une diminution des concentrations de CRBP/rétinol qui est accompagnée de l'augmentation du taux des CRBP ⁵⁷ ; cette augmentation du taux de CRBP stimule l'activité rétinol ester hydrolase et par conséquent la libération du rétinol, servant ainsi de substrat aux rétinol et rétinal déshydrogénases qui synthétisent l'acide rétinoïque. Chez les rats en hypervitaminose A, il existe une augmentation du métabolisme du rétinol. L'augmentation du taux d'acide rétinoïque qui en résulte, s'accompagne d'une diminution du taux de CRBP et de l'activité rétinol ester hydrolase, ainsi que d'une stimulation de l'activité lécithine rétinyl acyl transférase, conduisant à l'estérification du rétinol.

En présence d'acide rétinoïque, la synthèse de CRBP et CRABP est augmentée dans les lignées cellulaires F9 et P19 ^{63,64}.

Chez le rat, l'expression des CRBP I et II est modulée par les modifications hormonales survenant au cours de la gestation et de la lactation.

✓ Rôles physiologiques des protéines de transport

Leurs fonctions principales seraient de permettre la solubilité du rétinol circulant, de protéger la membrane cytoplasmique des cellules vis à vis du potentiel cytotoxique de l'acide rétinoïque et de prévenir les transformations chimiques non enzymatiques de ces dernières ⁵⁷.

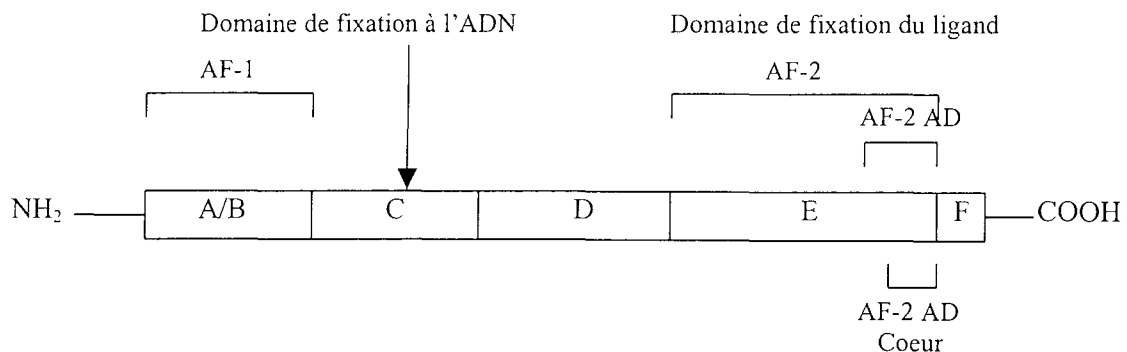
Chapitre 3 : Les récepteurs nucléaires de l'acide rétinoïque et des rétinoïdes X

Les récepteurs des hormones stéroïdiennes (œstrogènes, progestérone, etc.) et les récepteurs des hormones non stéroïdiennes (thyroïdiennes, acide rétinoïque, rétinoïdes X, vitamine D3, etc.) qui constituent la grande famille des récepteurs nucléaires possèdent des rôles clefs dans le développement, la différenciation cellulaire et la morphogenèse. A ce jour, plus de 150 membres de cette superfamille ont été individualisés ^{65,68}.

I. Caractéristiques générales de l'organisation des récepteurs nucléaires

Les récepteurs nucléaires sont constitués de plusieurs domaines fonctionnels, organisés en modules autonomes.

Figure n° 3 : organisation des récepteurs nucléaires (69)



Le domaine de liaison de l'ADN, encore appelé module C, est situé dans la région centrale de la protéine. Ce domaine, le mieux conservé entre les différentes familles des

récepteurs, assure l'essentiel de l'activité de liaison de ces récepteurs sur les séquences cibles spécifiques d'ADN. Un autre domaine, qui assure la liaison des hormones, encore appelé module E, exerce de multiples fonctions ; outre la spécificité de son mode de liaison à son ligand, il est impliqué dans la dimérisation des récepteurs en solution et comporte une séquence activatrice de la transcription (domaine AF-2) dont l'activation dépend de la présence du ligand. Un troisième module, identifié dans la région amino-terminale des récepteurs comporte dans sa séquence une fonction activatrice de la transcription (domaine AF-1), région fortement phosphorylée et dont l'activité est indépendante du ligand.

II. Principaux récepteurs nucléaires

La superfamille des récepteurs nucléaires peut se diviser en deux groupes : les récepteurs aux hormones stéroïdiennes et les récepteurs aux hormones non stéroïdiennes. Les récepteurs des hormones stéroïdiennes comportent les récepteurs des oestrogènes, des progestérone, des androgènes, des glucocorticoïdes et des minéralocorticoïdes. Cette famille de récepteurs se lie à une séquence d'ADN dupliquée, inversée ou palindromique. Le second groupes est constitué des récepteurs de l'acide rétinoïque, des rétinoïdes X, d'hormones thyroïdiennes, de la vitamine D₃, et des proliférateurs de la péroxysome ⁶⁸. Ce second groupe comporte également des récepteurs orphelins qui ne possèdent pas de ligand endogène, ou dont le ligand n'a pas été encore identifié. Il est d'usage de classer les récepteurs non stéroïdiens en trois sous-groupes selon leur mode de liaison à l'ADN. Il y a tout d'abord les récepteurs nucléaires orphelins qui lient l'ADN sous forme de monomère, ensuite, les récepteurs orphelins qui lient l'ADN sous forme d'homodimères. Enfin les récepteurs qui ont besoin de former un complexe hétérodimérique avec le récepteur RXR pour lier l'ADN avec une forte affinité.

III. Récepteurs à l'acide rétinoïque (RAR) et récepteurs de rétinoïdes X (RXR)

Deux sous-groupes de récepteurs à l'acide rétinoïque ont été individualisés : les RARs qui présentent une affinité élevée pour l'acide rétinoïque tout-trans et les RXRs qui présentent une affinité élevée pour l'acide rétinoïque 9-cis. Ce stéréo-isomère de l'acide rétinoïque tout-

trans lie aussi les RARs , mais avec une affinité plus faible. Chaque famille RAR et RXR comporte trois isotypes α , β , γ , qui sont codés par trois gènes distincts. Le rôle physiologique des trois isotypes n'est pas clairement identifié, mais peut expliquer en partie la diversité des processus biologiques contrôlés par l'acide rétinoïque tout trans.

Les RARs et RXRs montrent des domaines de fonctions et de structures analogues à ceux des récepteurs nucléaires. Ces récepteurs de l'acide rétinoïque et des rétinoïdes X présentent une région amino-terminale de longueur variable, un domaine de liaison à l'ADN (module C) localisé dans la région centrale et un domaine de liaison du ligand (module E), proche de l'extrémité carboxy-terminale de la protéine. Les modules C et E sont reliés entre eux par une région charnière (module D).

Le module C est hautement conservé entre les trois isotypes de RAR et RXR. Il peut être subdivisé en deux régions fonctionnelles, dont l'une correspond au « cœur » du domaine de liaison de l'ADN, contenant deux doigts de zinc (Zn^{2+}). Le domaine de liaison du ligand ou module E est également hautement conservé entre les différents isotypes de RARs et RXRs. Ce module E est aussi impliqué dans la dimérisation des récepteurs ainsi que dans la régulation de la transcription dépendante du ligand ⁷⁰.

Le module A/B comporte la fonction activatrice de la transcription, appelée AF-1, région hyperphosphorylée dans la région amino-terminale des récepteurs . Cette région transcriptionnelle est indépendante de la présence du ligand. L'hyperphosphorylation de AF-1 est montrée par l'équipe de Taneja et coll ⁷¹ comme indispensable à la différenciation cellulaire pariétale dans la lignée F9 ; l'équipe de C. Egly-Rochette et coll ⁷² a également montré l'hyperphosphorylation de la région A du récepteur β à l'acide rétinoïque ainsi que des sites d'hyperphosphorylation dans la région AF-1 de récepteur γ 2 à l'acide rétinoïque, qui sont essentiels à la différenciation des cellules primitives de la même lignée F9 ⁷¹ . Il est clairement établi *in vitro*, pour les RARs comme pour les RXRs, que la fonction AF-1 d'un isoforme donné pouvait avoir une action synergique dans l'activation de la transcription avec un AF-2 du même ou d'un autre isotype ⁷⁰.

Chapitre 4 : Rôles biologiques de l'acide rétinoïque et de ses récepteurs

I. Acide rétinoïque et développement

La carence en vitamine A ainsi qu'une hypervitaminose entraînent des anomalies physiologiques. Les principaux effets tissulaires d'une carence ou d'un apport excédentaire de vitamine A sont rapportés.

□ Effets d'une carence en vitamine A

Les études menées *in vivo* chez les animaux ont montré qu'une carence en vitamine A peut entraîner des anomalies osseuses, comme une fusion des première et deuxième côtes, des anneaux trachéaux, l'absence des glandes lacrymales ⁷³. Elle peut également entraîner des malformations craniofaciales et axiales, comme des fentes labiopalatines, une hypoplasie mandibulaire, un raccourcissement de la colonne lombo-sacrée et des fusions des côtes flottantes. Il est également rapporté des anomalies oculaires, cutanée, du système nerveux central (hydrocéphalie, dégénérescence nerveuse), endocriniennes (kystes hypophysaires), respiratoires (bronchites, métaplasie bronchique), digestives (gastrites, leukokératose), urinaire et de l'appareil reproductif (atrophies testiculaires et ovariennes, hyperkératose des muqueuses vaginale et utérine). La carence en vitamine A a enfin des effets tératogènes.

□ Effets d'une hypervitaminose A

Les études conduites chez les souris soumises à un apport excédentaire d'acide rétinoïque tout-trans, ont mis en évidence un effet tératogène, avec anomalies céphaliques à types d'hydrocéphalie, de dysplasie cortico-cérébrale et cérébelleuse, cardiaques (malformation des gros vaisseaux et du septum interventriculaire), respiratoires et des membres (raccourcissement et malformation des os longs) ⁷⁴.

□ Anomalies du développement

Ces anomalies résulteraient d'une perte de contrôle normal de l'expression des gènes impliqués dans le développement secondaire à l'apport excessif d'acide rétinoïque. Certaines études ont démontré le rôle de l'expression de RAR alpha dans la différenciation

embryonnaire épithéliale trachéale, intestinale et génitale. L'observation d'un effet délétère de l'acide rétinoïque sur le développement neuronal associé à un niveau d'expression élevé du RAR bêta dans le système nerveux central, suggère le rôle de ce dernier dans le contrôle de la régulation des gènes cibles des acides rétinoïques, intervenant dans la différenciation neuronale normale ⁷⁵. Le rôle du RAR gamma dans la chondrogenèse et dans la différenciation du revêtement épidermique et des muqueuses malpighiennes. Le RAR alpha intervient dans la différenciation cellulaire des cellules hématopoïétiques : le récepteur alpha de l'acide rétinoïque muté chez des souris transgéniques inhibe la différenciation cellulaire et bloque le développement de différentes lignées cellulaires hématopoïétiques ⁷⁶. Les RXRs ont un rôle essentiel dans l'embryogenèse précoce comme l'ont montré les études de Kastner et col ⁷⁷. Ces différentes études suggèrent que les récepteurs RARs et RXRs ont un rôle clé dans l'embryogenèse, leur dérégulation entraîne la perte de contrôle des gènes cibles aux acides rétinoïques, avec pour conséquence une perte de la différenciation cellulaire normale et une organogenèse perturbée.

II. Mécanismes biologiques antitumoraux de l'acide rétinoïque

L'acide rétinoïque intervient dans de nombreux processus biologiques fondamentaux : inhibition de la prolifération cellulaire, induction de la différenciation cellulaire, induction de l'apoptose, immunomodulation et contrôle de l'expression de certains oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs (tableau n°4).

□ Modulation d'expression de certains facteurs de croissance, facteurs de transcription et de certaines enzymes cellulaires

L'acide rétinoïque active l'expression des facteurs de croissance, tels que le TGF β , NGF, IL-8, IL-1 β , IGF-II, aFGF, bFGF et inhibe l'expression des TGF α , PDGF, INF γ , IL-2, IGF-I, kFGF. L'acide rétinoïque régule également certains facteurs de la transcription comme AP-2, Rex-1, des hormones de croissance : ocytocine, hormones thyroïdiennes, glucocorticoïde, parathormone et progestérone. L'acide rétinoïque tout-trans régule la transcription des gènes codant pour différentes enzymes cellulaires : phosphoénolpyruvate carboxykinase, alcool déshydrogénase, protéines kinases, ornithine décarboxylase et les transglutaminases ⁷⁴.

Tableau n°4 : Effets biologiques de l'acide rétinoïque

Induction de la différenciation cellulaire
Inhibition de la prolifération cellulaire
Stimulation de la réponse immunitaire
Augmentation de la cytotoxicité lymphocytaire
Inhibition de l'expression de certains oncogènes
Induction de l'apoptose
Inhibition de l'angiogenèse
Diminution de la production de certaines protéases intervenant dans le processus métastatique
Réduction du potentiel de migration et d'adhérence des cellules transformées
Activité anti-oxydante et désactivation des radicaux libres
Augmentation de la synthèse de certains facteurs de croissance (EGF, TGF β et TNF)

□ *Modulation d'expression des oncogènes*

L'acide rétinoïque inhibe, dans des lignées de cellules de mélanome, l'activité du promoteur tumorigène TPA intervenant dans l'induction du gène fos⁷⁵. D'autres oncogènes comme N-myc dans des lignées de neuroblastomes, les oncogènes E6 et E7 du virus HPV dans des cellules HeLa et les oncogènes c-jun et c-fos voient leur expression diminuée par l'acide rétinoïque^{76,77}.

□ *Gènes suppresseurs de tumeurs*

Quelques hypothèses ont été suggérées par Shin et coll.⁷⁸ afin d'expliquer l'association clinique entre la p53 et RAR β : absence de co-facteurs AF-2 spécifiques des lignées cellulaires de carcinomes bronchiques⁷⁹ ; induction de l'expression de p21waf1, après traitement des lignées cellulaires de carcinome de prostate avec l'acide rétinoïque 9-cis, entraînant l'apoptose⁸⁰ ; interaction de l'antigène T de SV40 avec différentes protéines régulatrices : p53, p16, p17, p27 et Rb⁸¹.

□ *Inhibition de la prolifération cellulaire*

L'acide rétinoïque tout-trans inhibe, dans certaines lignées cellulaires bronchiques (BEAS-2B), la synthèse de la cycline D1, provoquant l'interruption de la croissance par l'arrêt du

cycle cellulaire en phase G1⁸². L'acide tout-trans rétinolique semble intervenir dans l'inhibition de l'expression de la cycline E, entraînant l'arrêt de la croissance cellulaire, au sein de la même lignée BEAS-2B⁸³.

□ *Induction de la différenciation cellulaire*

In vitro, l'acide rétinolique inhibe l'expression de certains marqueurs de la différenciation épidermoïde. Le récepteur RAR β relayerait la régression de la différenciation épidermoïde dans une lignée de carcinome ORL (SqCC/Y1), traitée par l'acide rétinolique (tout-trans, 9-cis), entraînant une diminution de l'expression des cytokératines, Tgase 1 et involucrine⁸⁴.

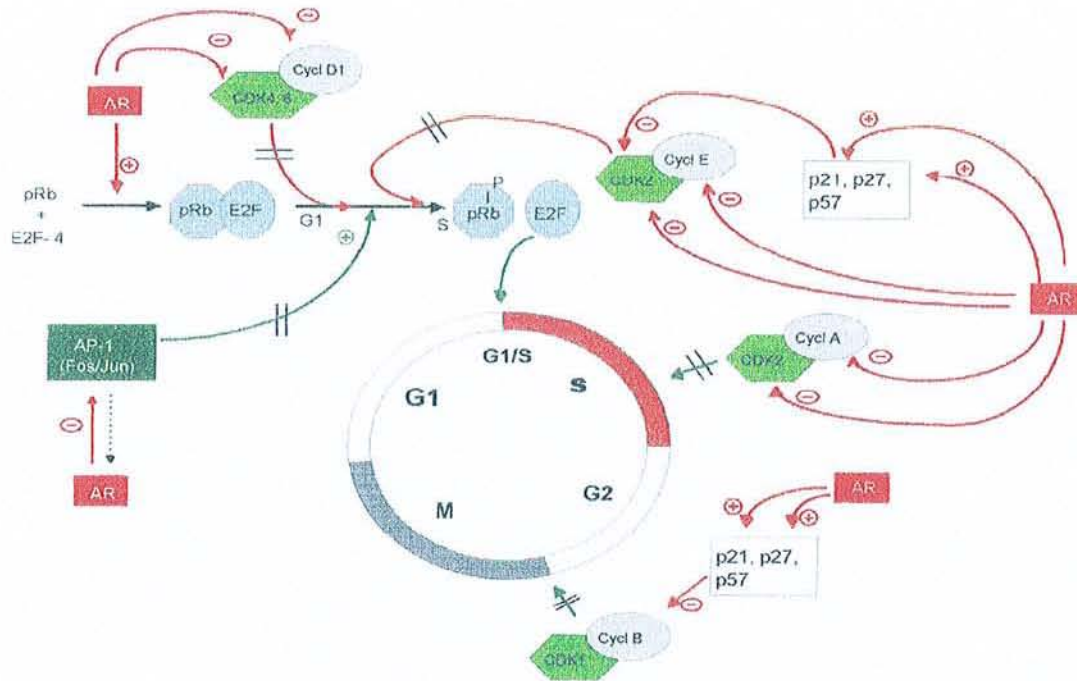
□ *Modulation de la production de protéinases intervenant dans le processus métastatique*

L'acide rétinolique inhibe *in vitro*, la synthèse de l'activateur du plasminogène et de la synthèse de nombreuses protéases. L'acide tout-trans inhibe plus particulièrement l'expression de la collagénase de type IV et la stromélysine 3 dans les lignées hématopoïétiques⁸⁵, synoviales⁸⁶ et fibroblastiques⁸⁷.

L'inhibition de la synthèse de stromélysine 3 semblerait être dépendante de la concentration de l'acide rétinolique. En effet l'inhibition de l'expression des ARN messagers de la stromélysine dans les fibroblastes (HFL1), en présence de 1 μ M d'acide 9-cis rétinolique a été mis en évidence *in vitro* par Guerin et coll⁸⁸. Toutefois, au sein de la même lignée cellulaire, une autre étude a montré l'inhibition l'expression de la stromélysine 3 pour des concentrations supra-physiologiques de 10 μ M d'acide rétinolique⁸⁹. Cet acide rétinolique active par ailleurs la synthèse d'inhibiteurs des métallo-protéases tels que les « Tissues Inhibitors of Metallo-Proteinase » ou TIMP, ainsi que l'activité du promoteur de l'interleukine 2⁹⁰.

In vivo, l'acide tout-trans rétinolique inhibe la capacité de dégradation des membranes basales des cellules tumorales. Il régule la synthèse et l'activité des enzymes protéolytiques, la formation de la matrice extra-cellulaire ainsi que le processus d'invasion et de néovascularisation.

Figure n°4 : mécanisme de régulation du cycle cellulaire par l'acide rétinoïque tout-trans (82)



□ Induction de l'apoptose

L'induction de l'apoptose par l'acide tout-trans rétinoïque a été observée pour plusieurs lignées carcinomateuses mammaires ⁹¹, oesophagienne ⁹², et pour les carcinomes embryonnaires ⁹³. Pour ces lignées, une augmentation du récepteur RAR bêta, avec augmentation simultanée de l'apoptose, a pu être obtenue par 5 jours de traitement par l'acide rétinoïque tout-trans, à la dose de 1 µg/jour. Par contre les lignées cellulaires résistantes à l'acide rétinoïque tout-trans ne montrent pas d'augmentation du récepteur RAR bêta ni d'induction d'apoptose. Enfin un autre mécanisme d'induction de l'apoptose par l'intermédiaire du récepteur RAR gamma existe.⁹³

Au total, il apparaît que l'origine cellulaire déterminerait son propre mécanisme d'induction de l'apoptose, et que l'apport simultané d'un rétinoïde agoniste de RAR et RXR aurait un effet synergique ⁹⁴.

III. Rôles des récepteurs de l'acide rétinoïque dans la cancérogenèse

Les effets anti-prolifératifs de l'acide rétinoïque associés à l'absence du récepteur RAR bêta, dans les cellules des carcinomes épidermoïdes ORL et bronchiques, ont suggéré la fonction « gène suppresseur de tumeurs » du RAR bêta. Le rôle de RAR bêta dans l'inhibition de la croissance tumorale a été démontré chez les souris transgéniques. La transfection du gène RAR bêta dans une lignée de cellules de carcinome bronchique non à petites cellules bloque la carcinogenèse chez les souris nues ⁹⁵, tandis que les souris transgéniques exprimant un ARN RAR bêta antisens développent un cancer bronchique ⁹⁶. Il a été suggéré que la restauration de l'expression de RAR bêta pourrait faire régresser les lésions précancéreuses. Cette restauration de l'expression de RAR bêta a pu être obtenue pour des lésions précancéreuses ORL, avec rémission clinique, suite à un apport quotidien de 1,5 mg/kg d'isotrétinoïne ⁹⁷, pour des lésions pré-invasives bronchiques ⁹⁸, après 6 mois d'administration quotidienne de 1 mg/kg d'isotrétinoïne. Toutefois l'étude de Xu et coll ⁹⁸ n'a pas observé de différence statistiquement significative entre l'augmentation d'expression de RAR bêta et la régression des lésions pré-invasives.

Enfin en 1993, l'étude conduite par Bradley ⁹⁹ a montré que la perte d'expression de RAR bêta 2 est un événement précoce dans la cancérogenèse des tumeurs ORL, et plus fréquente chez les patients à haut risque. Cette même équipe a obtenu la restauration de l'expression de RAR bêta 2 par l'administration quotidienne pendant 6 mois d'acide 13-cis rétinoïque à la dose de 30 mg. Bradley a donc suggéré que l'acide 13-cis rétinoïque avait un rôle dans la chimioprévention des cancers ORL.

Deuxième partie :
Matériels et Méthodes

Chapitre 1 : Matériels et Méthodes

La population étudiée comporte 59 patients opérés entre 1997 et 2002 d'un carcinome primitif thyroïdien dans les services d'ORL du Pr Simon, de Chirurgie Thoracique du Pr Grosdidier et de Chirurgie Générale Viscérale du Pr Boissel. Toutes les pièces opératoires ont été examinées dans les deux services d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques du CHU de Nancy.

Parmi les 59 patients retenus pour notre étude, 47 sont de sexe féminin et 12 de sexe masculin. L'âge de ces patients est compris entre 13 et 78 ans, avec un âge moyen de 51 ans. Les cancers présentés par ces patients se répartissent ainsi : 38 carcinomes papillaires dont 3 carcinomes d'architecture vésiculaire, 12 carcinomes micro-papillaires et 23 de type classique ; 9 carcinomes vésiculaires, répartis en 4 à invasion minime, 3 largement invasif et 2 à variante oncocytaire ; enfin 12 carcinomes indifférenciés.

Les différentes données ont été recueillies à partir des comptes rendus d'anatomie pathologique et des dossiers des patients. Les principaux facteurs de risque (âge, sexe, taille de la tumeur, métastases ganglionnaires, effraction capsulaire) sont rapportés dans le tableau n°4.

Tableau n° 4

Paramètres cliniques et anatomo-pathologiques des patients

Cas n°	Sexe	Age	Type Histol	taille	Met GGI	EC
1	F	24	1	11	-	-
2	M	54	1	5	-	-
3	F	67	1	11	-	-
4	F	41	1	14	-	+
5	F	30	1	45	-	+
6	F	46	1	22	-	-
7	F	40	1	14	-	-
8	F	32	2	17	-	-
9	F	13	1	25	-	+
10	F	71	1	30	-	+
11	F	41	1	20	+	+
12	F	47	1	5	-	-

Cas n°	Sexe	Age	Type Histol	Taille	Met GGI	EC
13	F	62	1	8	-	-
14	M	50	1	14	+	+
15	F	60	1	8	-	-
16	F	59	1	10	-	-
17	F	33	1	35	+	-
18	F	25	1	45	-	-
19	F	49	1	10	-	-
20	F	42	2	10	-	-
21	F	61	1	18	-	-
22	F	61	1	16	-	+
23	F	32	1	70	-	-
24	F	63	1	15	-	+
25	M	32	1	15	-	-
26	F	50	1	8	-	-
27	M	16	1	25	-	-
28	F	49	1	8	-	-
29	F	58	1	35	+	-
30	F	62	1	28	-	+
31	M	31	1	16	+	-
32	M	20	1	15	-	-
33	M	70	1	10	-	-
34	M	64	1	10	+	-
35	F	71	1	8	-	-
36	F	15	1	20	-	-
37	F	47	1	25	-	-
38	F	47	3	50	-	+
39	M	77	3	20	+	+
40	F	68	3	60	+	+
41	F	58	3	50	-	+
42	F	68	3	35	-	+
43	F	76	3	30	-	+
44	F	57	3	60	-	+
45	F	64	3	45	-	-
46	F	63	3	85	+	+
47	F	66	3	40	-	-
48	F	68	3	80	-	+
49	F	72	3	20	-	-
50	F	29	4	30	-	-
51	F	39	5	18	-	-
52	M	25	6	85	-	+

Cas n°	Sexe	Age	Type Histol	Taille	Met GG	EC
53	F	22	6	50	+	+
54	M	54	2	15	-	-
55	F	79	6	35	+	+
56	M	23	4	80	-	+
57	F	63	5	30	-	-
58	F	77	5	40	-	-
59	F	52	5	9	-	-

Age : en années

Sexe : M : masculin

Met GG : Métastase(s) ganglionnaire(s)

F : féminin

EC : Effraction capsulaire

Taille : Taille de la tumeur en mm

Type Histol: Type histologique 1 : Papillaire / 2 : Papillaire d'architecture vésiculaire / 3 : Indifférencié/
4 : Vésiculaire variante oncocytaire / 5 : Vésiculaire variante à invasion minimale / 6 : Vésiculaire.

Chapitre 2 : Méthodes d'analyse

I. Préparation des tissus pour les différentes techniques de notre étude

Les pièces opératoires sont adressées sans délais au laboratoire d'anatomie pathologique où l'examen macroscopique est réalisé. A chaque fois que la tumeur est de taille suffisante, des fragments de tissu tumoral ainsi que du tissu sain avoisinant sont congelés par immersion dans de l'isopentane refroidi dans de l'azote liquide, puis stockés à - 80°C, à des fins d'extraction d'ARN, d'ADN ou de protéines. Le reste du prélèvement est fixé dans du formol tamponné à 10% afin d'établir un diagnostic histologique.

II. Etude histologique

Après une fixation de 16 heures dans du formol 10% ou du liquide de Bouin alcoolique, selon les cas, les prélèvements ont été inclus dans de la paraffine dans un automate d'inclusion de type V.I.P (Tissu-Teck, Shandon, Eragny, France) selon les méthodes standards. Les prélèvements sont ensuite débités en coupes de 5 μ m d'épaisseur et montés soit sur lames ordinaires à l'eau albuminée, soit sur des lames Superfrost à l'eau distillée. Après séchage à l'étuve à 37°C pendant deux heures, les lames ont été déparaffinées dans trois bains successifs de toluène, puis réhydratées par passage dans des bains d'alcool de concentration décroissante et de l'eau non distillée, pour être enfin colorées à l'hématoxyline éosine safran (HES), avant le montage de la lamelle à l'Eukitt (Labonord). Cette coloration à l'HES a été effectuée pour établir un diagnostic histologique précis. Toutes les tumeurs ont été classées en utilisant la classification OMS de 1996 ¹⁹.

III. Etude immunohistochimique.

1. Caractéristiques des anticorps dirigés contre les récepteurs *RARα* et *β* et *RXRα*

Les anticorps utilisés, pour notre étude, anti-*RARα* et *β* et l'anticorps anti-*RXRα*, fournis par le Dr C. Egly (IGBMC, Strasbourg), ne permettent pas la discrimination des différentes isoformes. L'anticorps anti-*RARα*, monoclonal (Ab9_α(F)9_α9A6) est dirigé contre la région F de *RAR α*, l'anticorps anti-*RXRα*, polyclonal (RPRX_α) est dirigé contre la région A de *RXRα*, enfin l'anticorps anti-*RARβ*, polyclonal (RP_β(F)₂) est dirigé contre la région F de *RARβ*.

Anticorps	Antigènes
Anti- <i>RARα</i>	Protéine de fusion (DHFR) dans laquelle est fusionnée la région F (acides aminés 420-462)
Anti- <i>RARβ</i>	Protéine de fusion (DHFR) dans laquelle est fusionnée la région F (acides aminés 413-448)
Anti- <i>RXRα</i>	SPB 105, région A (acides aminés 1-27)

Tableau n° 5 : Séquences immunogènes spécifiques des anticorps
anti-RARs et *anti-RXRs*

Les anticorps anti-*RARs* et anti-*RXRs* sont obtenus après sélection d'une séquence d'acides aminés immunogènes et spécifiques d'une région des récepteurs *RARs* et *RXRs* (Tableau n°5). L'injection de ces peptides à des souris ou à des lapins conduit à la production respective d'hybridomes ou d'anticorps polyclonaux spécifiques. La spécificité de ces anticorps monoclonaux ou polyclonaux a été vérifiée par immunoprécipitation et Western-Blot à partir de cellules transfectées COS-1, par l'équipe du Dr Egly. Les anticorps monoclonaux anti-*RARs* et anti-*RXRs* correspondent à des IgG1 Kappa.

2. Technique immunohistochimique en trois couches avec amplification par un conjugué tyramine

Ce procédé de révélation a été retenu pour sa grande sensibilité, confirmé par une étude préalable : l'amplification Biotine-Streptavidine standard ne permettant pas la mise en évidence des différents récepteurs, exprimés à un niveau très faible.

L'amplification est basée sur un dépôt d'un complexe tyramide-biotine près du site de fixation d'une streptavidine peroxydase au sein de la cellule étudiée. La technique consiste dans un premier temps à réaliser une technique classique immunohistologique sur une coupe tissulaire fixée et déparaffinée. Cette technique immunohistochimique correspond à la mise en évidence indirecte des anticorps primaires par l'intermédiaire d'un montage classique associant l'utilisation d'anticorps biotinés monoclonaux de souris ou polyclonaux de lapin, selon les caractéristiques propres à chaque anticorps primaire et d'une streptavidine peroxydase.

Les coupes tissulaires étalées sur des lames Superfrost sont déparaffinées, après séchage à l'étuve à 37 °C pendant deux heures. Le déparaffinage est obtenu par un passage successif dans deux bains de toluène, de 7 minutes chacun. Les lames sont ensuite réhydratées par passage dans des bains d'alcool absolu, puis 97%, avant d'être immergées dans un tampon TBS.

La première partie de la technique immunohistochimique est réalisée manuellement. Les coupes déparaffinées font l'objet d'un prétraitement, visant à inverser la fixation formolée, par chauffage à l'autocuiseur à 100 °C, dans un tampon citrate 10 mM, pH 6, pendant 15 minutes. Les lames sont ensuite immergées dans de l'eau courante (~ 1 mn), puis transférées dans du TBS. Afin d'éviter l'accrochage non spécifique des anticorps primaires sur les coupes tissulaires, les lames sont recouvertes, à la température du laboratoire et pendant 30 minutes, de la solution bloquante TNC suivante : 50 mM Tris HCL pH 7,6, 150 mM NaCl, 1% Caséine, 0,05% Tween 20.

Après 30 minutes les lames sont égouttées, mais non rincées. Les anticorps primaires anti-RAR α , β et anti-RXR α dilués sont déposés sur les coupes tissulaires et incubées en chambre humide à +4 °C durant toute la nuit.

Le second temps est réalisé à l'aide d'un automate (Dakotech, DAKO) dans une pièce climatisée à 21°C, permettant une parfaite reproductibilité par rapport aux techniques manuelles. L'anticorps secondaire biotiné, anti-souris pour les anticorps monoclonaux (DAKO, Trappes, France, réf. : E₄₃₃) et anti-lapin pour les anticorps polyclonaux (DAKO,

réf. : E₃₅₃), dilué extemporanément au 1/150^{ème} dans du TNC, est appliqué sur les coupes pendant 30 minutes. Après un lavage des coupes dans du TBS, les activités peroxydases endogènes sont bloquées par l'immersion des coupes, pendant 10 minutes, dans de l'eau oxygénée à 30 volumes. Après rinçage avec du TBS pendant 10 minutes, les coupes sont recouvertes de streptavidine peroxydase (DAKO, réf. : P₃₉₇) diluée de manière extemporanée au 1/250^{ème} dans du TNC.

Au terme de cette incubation et après lavage, la préparation tissulaire est incubée pendant 15 minutes dans une solution de Tyramide-biotine. L'interaction de ce complexe avec la peroxydase en présence d'H₂O₂ permet sa fixation sur le complexe antigène-anticorps et la protéine tissulaire en contact immédiat. La solution de Tyramide-biotine est diluée au 1/150^{ème} dans un tampon Tris HCl 0,2 M, pH 8,8 imidazole, contenant de l'eau oxygénée 30 volumes.

Tyramide-biotine

Tris HCl 0,2M, pH 8,8 imidazole	1ml
Tyramide-biotine 1mg/ml	20 µl
H ₂ O ₂ 30%	4 µl

Après un lavage dans une solution de TBS Tween, il est effectué une nouvelle incubation des coupes dans une solution de streptavidine peroxydase diluée au 1/250^{ème} pendant 30 minutes.

L'activité peroxydasique est ensuite révélée par l'immersion dans la solution suivante : Tris HCl 0,05M pH 7,6, 0,06% DAB (3,3 diaminobenzidine-tétrahydrochloride-dihydrate), 0,001% H₂O₂ additionné de 200 µl de MR-50X.

Les lames sont ensuite déshydratées et plongées dans du toluène, puis montées à l'Eukitt, sans contre-coloration.

Deux dilutions pour chaque anticorps ont été réalisées. En premier lieu, pour une vingtaine de cas, des concentrations relativement élevées d'anticorps primaires RAR α , RAR β et RXR α ont été utilisées dans le but de mettre en évidence la présence de ces récepteurs dans le tissu sain et le stroma. La présence à un niveau semblant constant de ces récepteurs dans le tissu thyroïdien normal et la stroma réaction nous a permis de les considérer comme

un standard interne. Dans un second temps des dilutions optimisées, élevées des anticorps primaires ont été utilisées, permettant une étude immunohistochimique semi-quantitative.

Tableau n°6 : Dilution des anticorps primaires

Anticorps	Dilution pour mise en évidence des récepteurs	Dilution pour étude semi-quantitative
RAR α	1/1500	1/6000
RAR β	1/1000	1/4000
RXR α	1/1000	1/4000

IV. Western-Blot.

Une vérification de la spécificité de l'anticorps et de la spécificité du marquage cytoplasmique observé avec certains anticorps dans les carcinomes thyroïdiens a été réalisée par technique Western-Blot, permettant également une appréciation semi-quantitative de l'expression de ces récepteurs.

La technique de Western-Blot comporte deux étapes. La première correspond à l'extraction des protéines cytosoliques et nucléaires à partir de tissus congelés, la seconde à la migration puis à la révélation de la protéine recherchée.

1. *Extraction des protéines cytosoliques et nucléaires.*

L'extraction des protéines cytosoliques et nucléaires est effectuée à partir de 100 mg de tissus thyroïdiens sains et tumoraux, congelés à -80°C, coupés à 40 μ m au cryostat. Les coupes ainsi obtenues, avant de pouvoir être exploitées, doivent être lavées dans un tampon afin d'éliminer l'hémoglobine, qui contaminerait quantitativement les autres protéines cytoplasmiques et nucléaires. Le lavage des coupes tissulaires se fait par l'adjonction de 1 ml de tampon C froid (cytosolic - low salt), suivi d'une centrifugation à 4000 tr/mn pendant 5 minutes. Cette manipulation est réalisée jusqu'à ce que le surnageant soit clair. Les coupes tissulaires lavées sont placées dans 800 μ l de tampon C froid avant d'être broyées à l'aide d'un broyeur de Dounce (piston A), qui respecte l'intégrité des noyaux. La lyse cellulaire est

vérifiée au microscope optique. Ce broyat cellulaire est placé dans un tube Eppendorf de 1,5 ml et centrifugé pendant 5 minutes à 2500 tr/mn à 4°C. Le surnageant (S1), contenant les protéines cytosoliques, est conservé sur de la glace. Le culot est remis en suspension dans 1 ml de tampon N (Nuclear - high salt), puis broyé à l'aide d'un broyeur de Dounce (piston B). Après vérification de la lyse nucléaire au microscope optique, le mélange, transféré dans un tube Eppendorf de 1,5 ml, est centrifugé pendant 30 minutes à 14000 tr/mn à 4°C. Le surnageant (S2) ainsi obtenu, contenant les protéines nucléaires, est conservé sur de la glace. Les surnageants S1 (protéines cytosoliques) et S2 (protéines nucléaires) sont transférés dans des centricons pour concentration (Millipore, Amicon : ref 4208), retenant les protéines de poids moléculaire de plus de 30 kD, puis centrifugés à 4000 tr/mn à 4°C. Les concentrations de ces solutions protéiques sont estimées à partir de 1 µl de solution protéique + 1 ml de solution d'IgG (Precision Protein TM Standard Biorad) diluée au 1/5 à 595 nm, en comparaison à une courbe d'étalonnage. Toutes les solutions utilisées, préparations d'extraits cytosoliques et nucléaires réalisées contiennent entre 6 et 10 µg de protéines pour 1 µl de solution.

2. Immunoblotting.

Les plaques de l'appareil à électrophorèse (ref : Bioed Miniprotean III) sont tout d'abord lavées, dégraissées, séchées puis assemblées. Le gel d'acrylamide à 12,5 % est ensuite préparé. Il comporte un gel de séparation, le premier à être coulé dans la partie inférieure des plaques jusqu'à 1 cm de l'extrémité supérieure des plaques. La surface de ce gel est homogénéisée par quelques gouttes d'eau distillée. Après polymérisation de ce gel, la couche d'eau est enlevée. Dans un second temps, à la partie supérieure du gel, on coule un gel de concentration. Rapidement avant la polymérisation du gel de concentration, un peigne à puits est inséré au gel de concentration. Les plaques sont placées sur la cuve d'électrophorèse, les échantillons à analyser sont préalablement préparés, et subissent une dénaturation à 100°C pendant 5 minutes, puis 10 µl de chaque échantillon et disposés dans chaque puits. Une échelle de poids moléculaire est également disposée dans l'un des puits pour servir de référence. Les extraits nucléaires et cytoplasmiques, ainsi que l'échelle de poids moléculaire sont séparés par électrophorèse à une puissance de 100 Volts dans un tampon d'électrophorèse. Après 15 minutes, la puissance est augmentée à 200 Volts pendant 90 minutes. Après séparation, les protéines sont transférées pendant 60 minutes à 110 Volts, sur une feuille de nitrocellulose, dans un tampon de transfert. A la suite de ce transfert les

membranes sont immergées dans une solution TNC (0,1% Tween) -5% de lait pendant 2 heures pour blocage du bruit de fond.

Les membranes sont ensuite incubées pendant 12 heures à 4°C, avec les anticorps polyclonaux anti-RXR α et anti-RAR β et monoclonal anti-RAR α , dilués au 1/1500. Après un lavage d'une heure (quatre passages d'un quart d'heure) dans du TBS, sous agitation lente, les complexes spécifiques sont révélés par un kit de chimiluminescence, avec des anticorps secondaires polyclonaux ou monoclonaux couplés à la peroxydase, dilués au 1/1500^{ème}. Les membranes sont ensuite appliquées sur un film radiographique à révélation argentique (ECL^o film), qui est développé au bout de 10 minutes.

V. Etude statistique

Une étude statistique de notre série a été réalisée, par Melle Moser du service d'épidémiologie clinique et de statistique, afin de déterminer la présence d'une différence statistiquement significative d'expression des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïdes X dans les carcinomes thyroïdiens versus le parenchyme sain adjacent pris comme référence, ainsi que dans chaque sous type histologique étudié (papillaire, vésiculaire, indifférencié). Cette étude a été réalisée selon la loi de Ki 2 d'égalité. Nous avons recherché également la présence d'un lien entre les récepteurs à l'acide rétinoïque testés, par le test de Fisher. Enfin nous avons, à l'aide d'analyse de variance, essayer de mettre en évidence un lien entre la variation d'expression des récepteurs à l'acide rétinoïque ou de rétinoïdes X et un des facteurs reconnu de mauvais pronostic dans les carcinomes thyroïdiens (âge, sexe, type histologique, taille de la tumeur, effraction capsulaire, métastases ganglionnaire).

Troisième partie :
Résultats

I. Expression des récepteurs RAR α , RAR β et RXR α dans les carcinomes thyroïdiens

1. Analyse semi-quantitative du signal immunohistochimique

Dans un premier temps, avant d'évaluer de manière semi-quantitative le signal immunohistochimique, une étude avec des dilutions des anticorps primaires du 1/500^{ème} au 1/10 000^{ème} a été réalisée à partir d'une vingtaine de cas, dans le but d'optimiser la détection des récepteurs RAR α et β et RXR α dans le tissu thyroïdien sain.

Dans un second temps 10 cas ont été analysés avec une gamme de dilutions d'un facteur 2 à 10. Cette analyse a permis de déterminer une dilution optimale, pour laquelle, on obtient un signal franc au sein du parenchyme thyroïdien péri-lésionnel ainsi que dans les cellules de la stroma réaction, associé à une nette diminution ou une absence d'expression par les cellules carcinomateuses.

Pour l'évaluation semi-quantitative, le signal au niveau des cellules du parenchyme thyroïdien normal (thyrocytes, leucocytes, cellules endothéliales, fibroblastes) ainsi qu'au sein de la stroma réaction (fibroblastes, leucocytes, cellules endothéliales) a été considéré comme témoin interne. L'expression des récepteurs de l'acide rétinoïque ont été quantifiés de la manière suivante :

0 : absence complète d'expression

1 : diminution d'intensité du marquage nucléaire dans les cellules carcinomateuses

2 : intensité de marquage identique dans les cellules carcinomateuses par rapport au témoin interne

3 : marquage plus intense dans les noyaux de cellules tumorales par rapport au témoin interne.

Pour de nombreux cas, il existait un marquage cytoplasmique granulaire. Ce dernier a été coté « C ». Dans quelques cas ce marquage cytoplasmique était plus intense que le marquage nucléaire du parenchyme sain adjacent.

2. *Expression de RAR α , β et RXR α dans le tissu thyroïdien normal et les cellules de stroma réaction.*

Nous avons constaté une remarquable homogénéité d'expression des 3 récepteurs d'un échantillon à un autre et au sein de chaque échantillon dans le tissu thyroïdien sain apparié à chaque tumeur. Cette homogénéité est également observée au sein de cellules de la stroma réaction. Enfin il faut souligner le caractère ubiquitaire de l'expression des récepteurs, exprimés au niveau de tous les types cellulaires, excepté les macrophages (planche photographique).

3. *Expression de RAR α , β et RXR α dans les cellules carcinomateuses thyroïdiennes.(tableau n°7)*

Tableau n° 7 : Niveau d'expression des récepteurs à l'acide rétinoïde et du récepteur au rétinol X versus le parenchyme sain

Cas n°	Histologie	RAR α	RAR β	RXR α
1	1	NI	2	2
2	1	2	NI	2
3	1	NI	1	NI
4	1	NI	0/1	0/1
5	1	0	1	2
6	1	C	1	2
7	1	NI	1	1
8	2	NI	0	0/1
9	1	1	0/1	2
10	1	NI	1	1
11	1	NI	2	2
12	1	C	0/1	2
13	1	NI	1	1
14	1	C+	1	2

Cas n°	Type Histol	RAR α	RAR β	RXR α
15	1	0	0/1	C
16	1	NI	0	1
17	1	NI	2	1
18	1	C	1	2
19	1	NI	1	0
20	2	C	C	NI
21	1	C+	1	1
22	1	C	2	NI
23	1	NI	2	2
24	1	NI	0	NI
25	1	NI	1	2
26	1	NI	2	NI
27	1	NI	1	0
28	1	C	0	0
29	1	NI	0/1	0
30	1	C	2	C
31	1	C+	0	0
32	1	NI	NI	2
33	1	C	2	0/1
34	1	C	1	1
35	1	NI	1	1
36	1	C	0/1	1
37	1	C	1	0
38	3	NI	2	1
39	3	NI	1	1
40	3	C+	2	1
41	3	C	1	0
42	3	C	2	2
43	3	C	2	0
44	3	NI	2	2
45	3	2	1	1

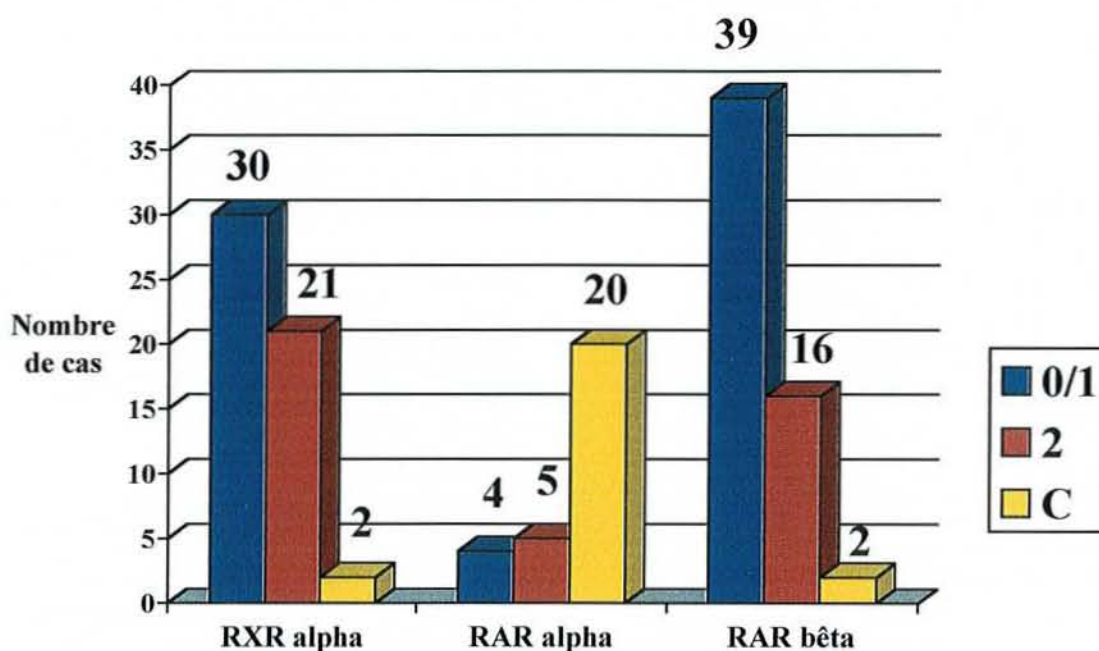
Cas n°	Type Histol	RAR α	RAR β	RXR α
46	3	2	2	2
47	3	2	1	2
48	3	NI	2	2
49	3	NI	2	2
50	4	C+	0	0
51	5	1	1	1
52	6	NI	1	1
53	2	NI	1	2
54	6	C+	C+	0
55	6	NI	1	NI
56	4	NI	1	2
57	5	NI	1	0
58	5	NI	1	0
59	5	2	1	2

Type Histol : Type histologique 1 : Papillaire / 2 : Papillaire d'architecture vésiculaire / 3 : Anaplasique / 4 : Vésiculaire variante oncocytaire / 5 : Vésiculaire variante à invasion minime / 6 : Vésiculaire largement invasif.
Expression : 0 : absence d'expression / 1 : expression diminuée / 2 : expression identique / C : expression cytoplasmique / C+ : hyper-expression cytoplasmique.

RAR α : Parmi les 59 patients étudiés, 39 présentent des résultats interprétables. 34% de ces tumeurs révèlent une expression cytoplasmique de RAR α , pour un tiers d'entre elles, il s'agit d'un marquage cytoplasmique plus intense que celui obtenu au niveau des noyaux de cellules du parenchyme sain péri-lésionnel et aux cellules stromales; (planche photographique n° 1 : 3B et 3C) ; 7% des échantillons étudiés ont une diminution ou une absence d'expression du RAR α et 8% une expression identique au parenchyme sain.

RAR β : Concernant l'étude par l'anticorps anti-RAR β , 57 cas sont interprétables. 66% des tumeurs étudiées présentent une diminution d'expression de RAR β dans les cellules tumorales (planche photographique n° 1 : 1C), tandis que 27 % des échantillons l'expriment de manière identique au parenchyme sain (planche photographique n° 1 : 1B). Dans d'exceptionnels cas (3%) il existe une expression cytoplasmique du RAR β .

RXR α : 53 cas sont interprétables. 51% des cas étudiés présentent une diminution ou une absence d'expression du RXR α dans les cellules tumorales par rapport aux cellules stromales et au tissu sain adjacent (planche photographique n° 1 : 2B et 2C). 36% possèdent un niveau d'expression identique. D'exceptionnels cas (3%) montrent une expression cytoplasmique.



0/1 : Diminution d'expression nucléaire partielle ou complète par rapport au témoin interne.

2 : Expression nucléaire identique par rapport au témoin interne.

C : Expression cytoplasmique.

Figure n°5 : Expression des RAR α , RAR β et du RXR α

	Niveau d'expression	Carcinomes thyroïdiens	Carcinomes papillaires	Carcinomes vésiculaires	Carcinomes anaplasiques
RAR α		100% (29/29)	100% (18/18)	100% (4/4)	100% (7/7)
	Identique	17% (5/29)	5% (1/18)	25% (1/4)	43% (3/7)
	Diminué ou absent	14% (4/29)	17% (3/18)	25% (1/4)	/
	Cytoplasmique	69% (20/29) *	78% (14/18) *	50% (2/4)	57% (4/7)
RAR β		100% (57/57)	100% (35/35)	100% (10/10)	100% (12/12)
	Identique	28% (16/57)	23% (8/35)	/	77% (8/12)
	Diminué ou absent	68,5% (39/57) *	74% (26/35) *	90% (9/10)	33% (4/12)
	Cytoplasmique	3,5% (2/57)	3% (1/35)	10% (1/10)	/
RXR α		100% (53/53)	100% (32/32)	100% (9/9)	100% (12/12)
	Identique	51% (27/53)	37,5% (12/32)	33% (3/9)	50% (12/12)
	Diminué ou absent	56% (30/53) *	56% (18/32) *	77% (6/9)	50% (6/12)
	Cytoplasmique	3% (2/53)	6,5% (2/32)	/	/

* $p < 0,0001$

Tableau n°8 : Résultats de l'analyse immunohistochimique de l'expression des RAR α et β et du RXR α dans les cellules tumorales de carcinomes thyroïdiens versus les cellules du parenchyme sain.

II. Mise en évidence des récepteurs RARs et RXRs dans les cellules thyroïdiennes par technique Western-Blot.

Afin de confirmer les résultats de l'analyse immunohistochimique et de s'assurer de la spécificité des anticorps pour le tissu considéré, une étude par Western-Blot sur tissus congelés à partir de la tumeur et du tissu thyroïdien sain apparié a été réalisée. La technique de Western-Blot a permis de confirmer les résultats concernant les niveaux d'expression des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïdes X.

Cette étude par Western-Blot a confirmé la localisation nucléaire de RAR β et sa fréquente diminution d'expression dans les cancers. De façon comparable, le RXR α est mis en évidence dans les extraits nucléaires de thyrocytes sains et tumoraux, avec une fréquente diminution d'expression dans les extraits nucléaires de tissus tumoraux. Le RAR α dans le tissu thyroïdien normal est présent exclusivement dans les extraits nucléaires, mais retrouvé de façon exclusive dans le cytoplasme, ou en association avec une bande minoritaire nucléaire d'extraits tumoraux.

Planche photographique n°1 : Evaluation semi-quantitative par analyse immunohistochimique, recourant à l'utilisation de conjugués de Tyramine, du niveau d'expression des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïdes X.

RAR β

- 1A- Expression nucléaire du RAR β dans le parenchyme thyroïdien normal.
- 1B- Expression nucléaire normale du RAR β dans un carcinome papillaire de la thyroïde (les cellules épithéliales tumorales présentent un marquage nucléaire d'intensité identique à celui des cellules du tissu conjonctif formant l'axe de la papille).
- 1C- Diminution d'expression nucléaire du RAR β dans un carcinome papillaire de la thyroïde (la stroma réaction adjacente présente un marquage nucléaire plus intense que celui de la tumeur et identique au tissu sain apparié).

RXR α

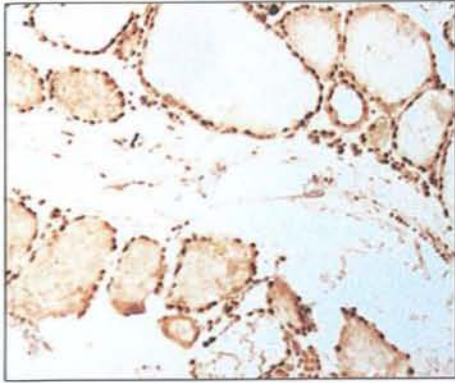
- 2A- Expression nucléaire du RXR α dans le parenchyme thyroïdien normal.
- 2B- Diminution d'expression nucléaire du RXR α dans un carcinome papillaire (les cellules épithéliales atypiques bordant une papille tumorale présentent une expression diminuée du RXR α par rapport aux cellules du tissu conjonctivovasculaire non tumoral formant l'axe de la papille).
- 2C- Absence d'expression nucléaire du RXR α dans un carcinome vésiculaire de la thyroïde (les vésicules tumorales ne présentent pas d'expression du RXR α , à la différence des cellules de la stroma réaction adjacente).

RAR α

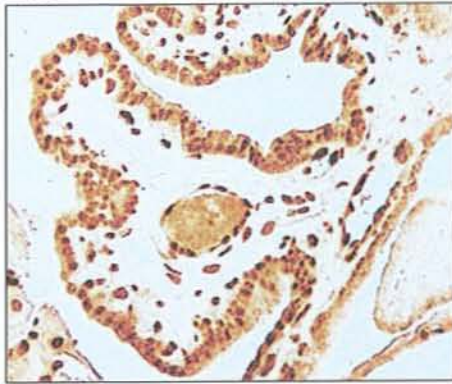
- 3A- Expression nucléaire du RAR α dans du parenchyme thyroïdien normal.
- 3B- Expression cytoplasmique du RAR α dans un carcinome papillaire de la thyroïde
- 3C- Hyper-expression cytoplasmique du RAR α dans un carcinome papillaire (les cellules épithéliales bordant les papilles tumorales présentent une hyper-expression du RAR α *versus* les cellules de la stroma réaction adjacente, non marquée compte tenu d'une dilution très élevée de l'anticorps)

RAR β

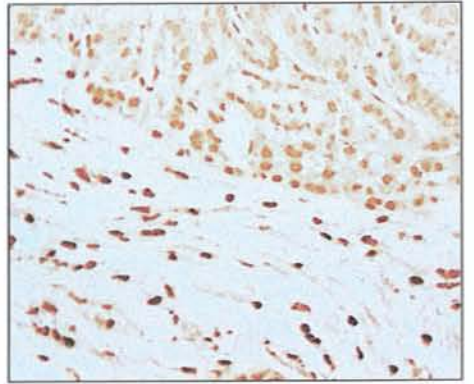
1A



1B

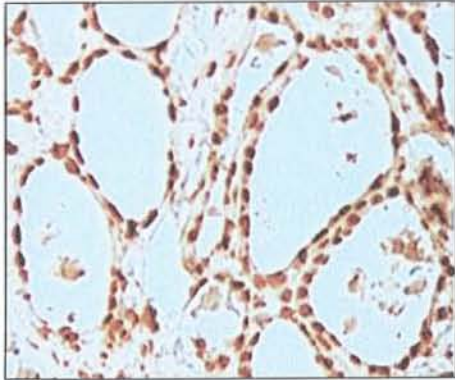


1C

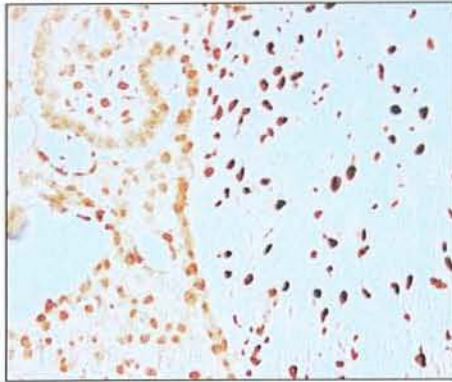


RXR α

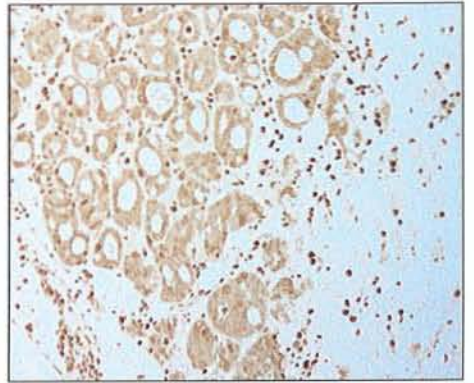
2A



2B

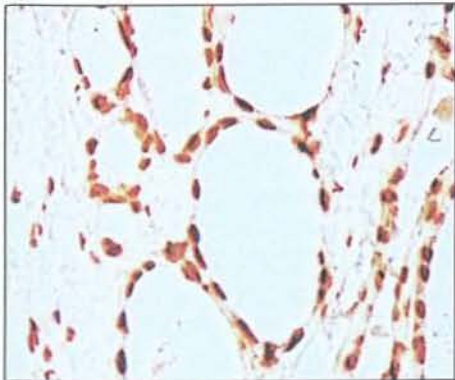


2C

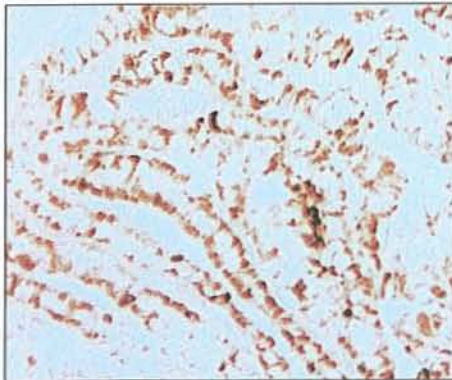


RAR α

3A



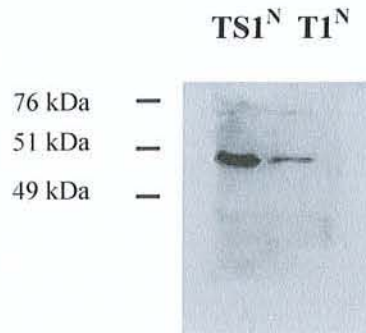
3B



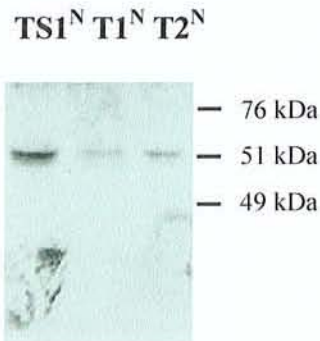
3C



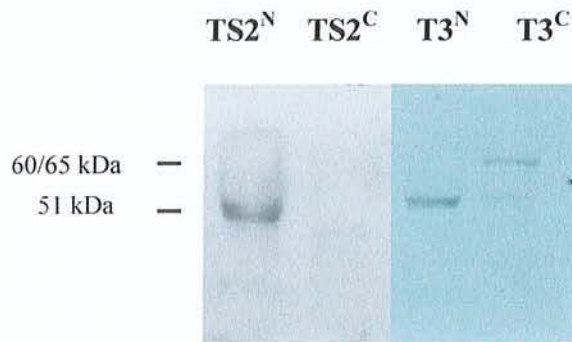
Mise en évidence d'une diminution d'expression de RAR β dans des extraits de protéines nucléaires d'un carcinome papillaire



Mise en évidence d'une diminution d'expression de RXR α dans des extraits de protéines nucléaires d'un carcinome papillaire



Mise en évidence d'une expression cytosolique et nucléaire de RAR α dans un carcinome vésiculaire



TS1, TS2 = Tissue thyroïdien sain
T1, T2, T3 = Tissue tumoral

C = protéines cytoplasmiques
N = protéines nucléaires

Planche photographique n° 2 : Analyse par Western-Blot de l'expression des RAR α , RAR β et RXR α dans des extraits cytoplasmiques et nucléaires de carcinomes thyroïdiens.

Quatrième partie :
Discussion

Il est admis que la dérégulation des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïde X intervient dans la cancérogenèse de nombreux tissus. L'implication démontrée de RAR β dans plusieurs types de carcinomes et de RAR α dans les leucémies aiguës promyélocytaires illustrent parfaitement cette implication. La fréquente diminution ou l'absence d'expression du RAR β observée dans les carcinomes ORL, bronchiques, mammaires¹⁰⁰, la réversion du phénotype tumoral des lignées cellulaires de cancers ORL et bronchiques par un vecteur d'expression de RAR β et l'augmentation marquée de la fréquence de survenue des cancers chez la souris transgénique ko RAR β -/-¹⁰⁰ font considérer le gène RAR β comme un gène suppresseur de tumeur. Par ailleurs les remarquables succès thérapeutiques obtenus dans les leucémies aiguës promyélocytaires avec l'acide rétinoïque tout-trans, qui permet une différenciation normale des cellules blastiques¹⁰¹ (cette différenciation étant bloquée par une protéine de fusion associant RAR α et la protéine PML) démontent l'interaction entre rétinoïdes et cancérogenèse.

La vitamine A par l'intermédiaire de ses métabolites, les acides rétinoïdes, jouent également un rôle important dans le fonctionnement de la glande thyroïde, *in vivo* et *in vitro*, tant du point de vue de la différenciation que de la prolifération cellulaire. Les études menées par R. Schrek et coll en 1994¹⁰², sur des lignées cellulaires de carcinomes vésiculaires thyroïdiens FTC-133, ont montré que l'acide rétinoïque induisait l'activation de la Iodothyronine 5' deiodinase. Il s'agit d'une isoenzyme responsable de la transformation de la prohormone L-T4 en 3,3',5-triiodothyronine. Cette isoenzyme est un marqueur spécifique de la différenciation des thyrocytes. Les isoformes 9-cis, 13-cis et tout-trans de l'acide rétinoïque sont capables, sur les mêmes lignées cellulaires, d'induire l'activation de la Iodothyronine 5' deiodinase. Cette activation est plus importante avec l'acide rétinoïque 9-cis. R. Schrek n'est toutefois pas parvenu à déterminer clairement quelles isoformes des récepteurs RAR et RXR étaient impliquées dans ce processus. Leurs résultats établis à partir de Northern-Blots suggéreraient la participation de RAR α et/ou de RAR β dans la constitution de l'hétérodimère fonctionnel.

Del Seno¹⁰³ a mis en évidence, par la technique de Northern-Blot, une diminution de l'expression de l'ARNm RAR α dans une lignée cellulaire de carcinome vésiculaire thyroïdien, sans toutefois pouvoir mettre en évidence d'expression de RAR α et γ .

Une autre étude, conduite par C. Schmutzle et coll¹⁰⁴, en 1996, confirme l'induction du même marqueur de la différenciation des thyrocytes, la Iodothyronine 5' deiodinase, par

l'acide rétinoïque dans des lignées cellulaires de carcinomes vésiculaires mais pas dans les lignées cellulaires de carcinome indifférencié. Enfin C. Schmutzle émet l'hypothèse¹⁰⁵ d'une éventuelle participation du RXR β dans la physiopathogénie des cancers thyroïdiens. Par des techniques de Northern blot portant sur 12 cancers de la thyroïde (3 vésiculaires, 3 oncocytaires et 6 papillaires), elle observait une diminution du RXR β dans 9 cas. Pour les autres isoformes son étude n'était pas concluante.

Une seule étude, rapportée dans la littérature, s'est intéressée à l'expression *in vivo* du RAR β dans les carcinomes thyroïdiens et dans les maladies goitreuses de la thyroïde, par des techniques immunohistochimiques et de Western-Blot. Cette étude menée par Ph. Rochaix¹⁰⁶ a porté sur 18 carcinomes thyroïdiens (16 carcinomes papillaires et 2 carcinomes vésiculaires). Une diminution du niveau d'expression du RAR β a pu être observée dans 12 cas de carcinomes papillaires et dans un des deux cas de vésiculaires. Ces résultats n'étaient pas statistiquement significatifs.

Notre série, incluant 59 cas et portant sur l'étude de trois des six isoformes des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïde X, comporte un nombre suffisant de cas, pour se prêter à une analyse statistique, du moins pour les carcinomes papillaires. Les résultats obtenus par l'analyse immunohistochimique semi-quantitative et la technique de Western-Blot sont concordants. Il faut souligner la remarquable homogénéité d'expression des 3 récepteurs au sein de chaque échantillon et d'un échantillon à un autre, dans le tissu thyroïdien sain apparié. Cette homogénéité est également observée au sein de cellules de la stroma réaction. Enfin on peut également souligner le caractère ubiquitaire de l'expression des récepteurs, retrouvés au niveau de tous les types cellulaires, excepté les macrophages.

Dans les carcinomes papillaires, l'étude révèle une fréquente diminution ou une absence d'expression d'une ou plusieurs des trois isoformes des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïde X étudiés: avec 83% d'anomalies d'expression pour le RAR α , 72% pour le RAR β et 59% pour le RXR α . Les résultats ainsi obtenus sont statistiquement significatifs avec un $p < 0,0001$. Ces anomalies d'expression sont également retrouvées dans les carcinomes vésiculaires et indifférenciés. L'analyse statistique ne montre toutefois, probablement du fait d'un nombre insuffisant de cas étudiés, qu'une tendance à la « significativité » des anomalies d'expression de RAR α , RAR β et RXR α constatées [3/7 cas de carcinome vésiculaires et 4/4 cas de carcinomes indifférenciés ont une expression perturbée du RAR α . Pour le RAR β tous les cas de carcinomes vésiculaires et 4/12 cas de carcinomes indifférenciés présentent

une expression diminuée ou cytoplasmique. Enfin pour le RXR α 6/9 cas de carcinomes vésiculaires et 6/12 cas de carcinomes indifférenciés ont une expression diminuée].

Indépendamment de la diminution d'expression d'un ou plusieurs récepteurs simultanément, cette étude a mis en évidence pour un grand nombre d'échantillons (69%) une expression cytoplasmique du RAR α dans les cellules carcinomateuses thyroïdiennes en l'absence d'expression nucléaire détectable. Le parenchyme sain en regard présentait une localisation nucléaire exclusive de ce récepteur. Cette délocalisation cytoplasmique est très rarement observée pour le RAR β et RXR α , respectivement 3,5% et 3% ($p < 0,002$) et n'a pas été rapporté dans d'autres pathologies.

L'analyse en Western-Blot montre que dans les échantillons tumoraux exprimant RAR α en situation intracytoplasmique, la protéine migre plus haut dans le gel, sa masse est évaluée à 60/65 kDa, nettement plus élevée que la forme nucléaire du récepteur (54 kDa). Ceci peut témoigner d'un transcrit anormal en rapport avec un épissage alternatif de l'ARNm, [il a été identifié par RT-PCR, par un membre du laboratoire, dans des cellules bronchiques deux transcrits de RAR α : une forme courte et une forme longue], ou de modifications post-transcriptionnelles (absence de clivage d'une forme longue de la protéine, si tenté qu'elle existe, constitution de dimères intracytoplasmiques par association à une autre protéine, s'opposant à un transfert nucléaire, etc...).

Un déficit d'expression simultané de plusieurs récepteurs en créant un déficit en hétérodimère fonctionnel, engendre l'équivalent d'une carence en rétinol et est responsable d'une perturbation du contrôle de plusieurs voies de transduction, contrôlant différentes familles de gènes, intervenant dans la différenciation cellulaire, l'apoptose et l'angiogenèse. Cette situation a pu être mise en évidence dans les carcinomes non à petites cellules du poumon¹⁰⁷, les cancers mammaires et ORL. L'étude de Picard E. notamment, a révélé une diminution de manière parallèle des RAR β et RXR β , les conduisant à avancer l'hypothèse que l'hétérodimère intervenant dans la physiopathogénie des carcinomes non à petites cellules du poumon soit le RAR β / RXR β . Notre étude n'apporte pas de preuve en faveur des deux isoformes des récepteurs à l'acide rétinol et de rétinol X prenant part à la constitution du ou des hétérodimères fonctionnels. En effet, notre série n'est pas suffisamment importante pour retrouver un lien statistiquement significatif entre deux des trois isoformes étudiées, de plus il paraît assez vraisemblable que l'une des isoformes participant à la constitution de l'hétérodimère fonctionnel dans de la thyroïde puisse correspondre à un des trois autres

récepteurs non encore étudiés (RAR γ , RXR γ et RXR β). Une étude complémentaire doit être conduite à cette fin.

Les mécanismes responsables de la diminution d'expression des récepteurs de l'acide rétinoïque dans les cancers thyroïdiens restent à caractériser. Il est à noter qu'aucune mutation touchant le gène de RAR β , et notamment son promoteur n'a été documentée dans aucun des tissus tumoraux analysés. Par contre dans la quasitotalité des travaux publiés, la diminution d'expression des différents récepteurs, établie à partir de Northern-Blot, a montré une diminution d'expression des ARNm correspondants, suggérant une anomalie de transcription. Cette anomalie a pu être rapportée, en ce qui concerne le RAR β à une hyperméthylation du promoteur du gène. Une étude de 1998 sur les cancers du colon, a montré le rôle de l'hyperméthylation du promoteur dans l'inactivation du gène codant pour le RAR β 2¹⁰⁸. Côté¹⁰⁹ a montré que 6 adénocarcinomes coliques sur les 14 que comportait l'étude étaient le siège d'une hyperméthylation des îlots CpG du promoteur du gène RAR β 2. Par la suite les mêmes constatations ont été effectuées dans les cancers bronchiques et les cancers du sein. Ce statut de méthylation, associé à une chromatine condensée ferait obstacle à une transcription efficace, peut être en empêchant la fixation du facteur de transcription AP-2. Actuellement le statut de méthylation du promoteur des gènes des récepteurs de l'acide rétinoïque dans les tumeurs thyroïdiennes est inconnu. Il serait intéressant de conduire une étude corrélant le niveau d'expression des RARs et RXRs avec l'état de méthylation des promoteurs des gènes correspondants.

Enfin à partir de travaux effectués sur des lignées cellulaires, il a été montré que la RXR γ peut faire l'objet d'une dégradation intracytoplasmique accélérée par le protéasome après ubiquitination.¹¹⁰ Aucun résultat *in vivo* n'a pour l'instant été publié pour confirmer cette donnée.

Au total nos résultats suggèrent que la dérégulation des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïde X, puisse participer à la transformation des cellules thyroïdiennes. Notre étude, la première réalisée dans cette pathologie a révélé de nombreuses anomalies statistiquement significatives pour les trois isoformes, expression diminuée, absente ou intra-cytoplasmique. Cette étude doit être évidemment complétée par l'analyse des trois autres isoformes RAR γ , RXR β et RXR γ , qui est en cours. Les récepteurs étudiés semblent jouer un rôle critique dans la voie des signaux de la différenciation et du contrôle de la division cellulaire dans le parenchyme thyroïdien. Il n'a pas été retrouvé de lien statistiquement significatif entre

l'expression de l'acide rétinoïque et le type histologique, la taille de la tumeur, l'effraction capsulaire, l'âge, le sexe et la présence de métastases ganglionnaires.

Des essais thérapeutiques, précédés par des études *in vitro*, basés sur le rôle présumé de l'acide rétinoïque dans le contrôle de la différenciation cellulaire des thyrocytes par l'intermédiaire de la Iodothyronine 5' deiodinase, ont été récemment entrepris, sans connaissance préalable du niveau d'expression des récepteurs aux acides rétinoïques et aux rétinoïdes X. Les traitements consistaient en un apport d'acide rétinoïque quotidien ou hebdomadaire à des doses variables selon les études. Schrek et al en 1994¹⁰² ont traité une lignée cellulaire de carcinome vésiculaire (UCLA RO 82 W-1) à raison de 10 µmol/L d'acide rétinoïque 13-cis pendant 6 semaines, observant alors une augmentation de la Iodothyronine 5' deiodinase, mais avec une toxicité non négligeable (50% de mort cellulaire). En 1998 Simon et coll ont rapporté les premiers résultats des essais thérapeutiques portant sur 20 patients. Pour huit d'entre eux il a pu être mis en évidence une augmentation de la Iodothyronine 5' deiodinase, toutefois il n'était pas observé clairement d'efficacité thérapeutique. Enfin en 1998 C. Schmützler¹⁰⁵ a proposé une étude multicentrique afin de juger du potentiel thérapeutique de l'acide rétinoïque dans les cancers thyroïdiens. 75 patients porteurs de carcinomes indifférenciés inopérables et/ou non traitables par l'iode radioactif ont été inclus dans le protocole thérapeutique. Ce dernier consistait en l'administration de 1 à 1,5 mg/kg/jour d'acide rétinoïque 13-cis. Pour 36 patients on observait une régression tumorale et pour 11 patients de plus une absence de progression tumorale transitoire. Chez 28 patients il n'était pas observé d'efficacité thérapeutique et pour l'un d'entre eux le traitement a dû être rapidement stoppé pour cause de toxicité hépatique. Ces résultats quoique encourageant doivent être confrontés aux données de la littérature. En effet R. Schrek¹⁰² a montré que l'acide rétinoïque 9-cis avait une efficacité supérieure au 13-cis sur les lignées FTC-133 et C. Schmützler¹⁰⁴ n'a pas mis en évidence d'efficacité de l'acide rétinoïque sur des lignées de cellules de carcinomes indifférenciés mais uniquement sur les lignées de carcinomes différenciés, papillaire ou vésiculaires. Une partie des résistances observées peut être la conséquence des anomalies d'expression des RARs et RXRs dans les cancers des patients, qui n'ont pas été évaluées préalablement à la mise en route du traitement.

Le développement de rétinoïdes synthétiques moins toxiques et à activité plus sélective (proapoptotique notamment),¹¹¹ capable de vaincre certaines des résistances observées à l'acide rétinoïque tout-trans, laisse entrevoir la possibilité de démarches thérapeutiques plus efficace. Ces démarches thérapeutiques pourront être d'autant mieux ciblées que le statut RARs et RXRs de la tumeur de chaque patient sera identifié. Ceci peut,

comme nous l'avons montré, être aisément réalisé par technique immunohistochimique. Le remarquable succès du traitement des leucémies aiguës promyélocytaires par l'acide rétinoïque tout-trans démontre que les rétinoïdes sont une classe de médicaments prometteurs qui pourrait élargir les champs des agents anticancéreux.

Conclusion

Afin d'apprécier le rôle des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïde X dans le processus de cancérogenèse de la glande thyroïdienne nous avons étudié le niveau d'expression des récepteurs RAR α , RAR β et RXR α dans 59 cas de carcinomes thyroïdiens. Cette étude a été réalisée par technique immunohistochimique semiquantitative et de Western-Blot. Les résultats, statistiquement significatifs, nous ont permis de montrer que les carcinomes thyroïdiens sont le siège de fréquentes anomalies d'expression d'un ou plusieurs récepteurs de l'acide rétinoïque, consistant à une diminution, une absence d'expression ou une délocalisation cytoplasmique. Ces récepteurs, ayant un rôle clé dans la régulation de nombreux gènes participants au contrôle de la différenciation cellulaire, de la prolifération cellulaire, de l'apoptose et de l'angiogenèse, les anomalies d'expression constatées suggèrent leur contribution à la cancérogenèse thyroïdienne, comme cela a été démontré pour de nombreux tissus. Le(s) mécanisme(s) responsable(s) de la diminution d'expression des récepteurs dans cet organe reste à identifier par des études à venir. Ces travaux devront s'intéresser en particulier au statu de méthylation des promoteurs des gènes des récepteurs à l'acide rétinoïque et de rétinoïde X.



Annexes

IMMUNOHISTOCHEMIE



□ **Solution de dilution des anticorps (TNC 1%)**

Tris 50 mM à pH 7,4, NaCl 150 mM, Caséine 1 % Polyoxyéthylène-sorbitant-monolaurate (Tween 20) 0,05%.

□ **Tampon de lavage : TBS Tween**

Tris HCl 50 mM pH 7,6, NaCl 150 mM, Tween 20 500 µl.

□ **Solution de Tyramide Biotine**

Tris HCl 0,2 M pH 8,8, Imidazole 10 mM pH 8,8 ; Tyramide-Biotine 20 µg/ml, H₂O₂ 0,03%.

□ **Solution de révélation des anticorps**

- | | |
|---|--------|
| • Tris HCl 50 mM pH 7,6 | 10 ml |
| • 3,3 Diaminobenzidine-tetrahydrochloride-dihydrate (DAB) | 6 mg |
| • MR-50X | 200 µl |
| • H ₂ O ₂ 30% | 3 µl |

□ **Solution MR-50X**

- | | |
|--------------------------|---------|
| • Brij 35 (solution 30%) | 14,5 ml |
| • Saponine | 500 mg |
| • Tween 20 | 2,5 ml |
| • H ₂ O qsp | 50 ml |

□ **Tampon citrate 10 M pH 6,0**

- | | |
|--------------------------------------|-------|
| • Acide citrique à 21,01 g/L | 18 ml |
| • Citrate de sodium à 29,41 g/l | 82 ml |
| • compléter à 1000ml d'eau distillée | |

WESTERN BLOT

□ Gel de concentration 4%

- Solution A : 1 ml
- SDS 10% filtré : 0,1 ml
- Solution C : 2,4 ml
- TEMED : 15 µl
- APS 10% : 100 µl
- H₂O : 6,4 mL

□ Gel de séparation 12,5 %

- Solution A : 7,9 ml
- SDS 10% filtré : 0,25 ml
- Solution B : 3,12 ml
- TEMED : 30 µl
- APS 10% : 200 µl
- H₂O: 13,5 ml

□ Tampon d'électrophorèse

- Solution D : 200 ml
- SDS 10% : 10 ml
- H₂O : 790 ml

□ Tampon de transfert

- Solution D : 40 ml
- Méthanol : 150 ml
- H₂O : 810 ml

□ **Solution A**

- Acrylamide : 40%
- Bisacryl : 0,15%
- H₂O : QSP 100 ml

□ **Solution B**

- Tris base : 36,6 g
- HCl 1 M : 48 ml
- H₂O : QSP 100ml

□ **Solution C**

- Tris base : 6 g
- HCl 1 M : 48 ml
- H₂O : QSP 100 ml

□ **Solution D**

- Tris base : 30,3 g
- Glycine : 144 g
- H₂O : QSP 1000 ml

PREPARATION DES DES PROTEINES CYTOPLASMIQUES ET NUCLEAIRES

□ **Tampon C (Cytosolic – low salt)**

- Tris HCl 10 mM pH 8 : 100 µl
- KCL 20 mM : 60 µl
- EDTA 1,5 mM : 30 µl
- Cocktail inhibiteur : 20 µl

(leupeptine, apotinine, pepsine, antitrypsine, chymostatine concentration 0,5 pg/ml pour chacundes composants)

- PMSF 1 mM : 100 μ l
- MgCl₂ 1 mM : 10 μ l
- Glycerol 10% : 1250 μ l
- Eau distillée (qsp 10 ml) : 8,43 ml



□ **Tampon N (Nuclear – high salt)**

- Tris HCl 10 mM pH 8 : 100 μ l
- KCl 0,5 M : 1660 μ l
- EDTA 1,5 mM : 30 μ l
- Cocktail inhibiteur : 20 μ l
- PMSF 1 mM : 100 μ l
- Eau distillée (qsp 10 ml) : 8,09 ml

Références bibliographiques



1. **Gimm O.**
Thyroid cancer : mini-review.
Cancer letters. 2001 ; 163 : 143-56.
2. **Leclère J., Weryha G., Pascal V., Duquenne M., Duriez T.**
Epidémiologie des tumeurs thyroïdiennes.
Ann. Endocrinol. 1993 ; 54 : 213-17.
3. **G.B. Salabe.**
Aetiology of thyroid cancer : an epidemiological overview.
Thyroidol. Clin. Exp. 1994 ; 6 : 11-19.
4. **Mahoudeau J.**
Tumeurs du corps thyroïdien : monographie.
Revue du Prat. 1996 ; 46 : 2285-334.
5. **Hancock S.L., MacDougall I.R., Constine L.S.**
Thyroid abnormalities after therapeutic external radiations.
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1995 ; 31 : 1165-70.
6. **D.L. Fraker.** Radiation exposure and other factors that predispose to human thyroid neoplasia. *Surg. Clin. North Am.* 1995 ; 75 : 365-75.
7. **Yoshimoto Y., Ezaki H., Etoh R., Hiraoka T., Akiba S.**
Prevalence rate of thyroid diseases among autopsy cases of the atomic bomb survivors in Hiroshima, 1951-1985.
Radiat. Res. 1995 ; 141 : 278-86.
8. **Bertin M., Lallemand J.**
Augmentation des cancers de la thyroïde de l'enfant en Bélarus.
Ann. Endocrinol. 1992 ; 53 : 173-77.
9. **Nikiforov Y., Gnepp D.R.**
Pediatric thyroid cancer after the Tchernobyl disaster. Pathomorphologic study of 84 cases (1991-1992) from the republic of Belarus.
Cancer. 1994 ; 74 : 748-66.
10. **Holm L.E., Blomgren H., Lowhagen T.**
Cancer risk in patients with chronic lymphocytic thyroiditis.
N. Engl. J. Med. 1985 ; 312 : 601-4.

11. **Matsubayashi S., Tamai H., Nagai K., Kuma K., Nakagawa T.**
Monoclonal gammopathy in Hashimoto's thyroiditis and malignant lymphoma of the thyroid. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1986 ; 63 : 1136-39.
12. **Rosai J., Carcangui M.L., DeLellis R.A.**
Atlas of tumor pathology : Tumeur of the thyroid gland. 1992.
13. **Evans H.L.**
Encapsuled papillary neplasms of the thyroid. A study of 14 cases followed for a minimum of 10 years.
Am. J. Surg. Pathol. 1987 ; 11 : 592-97.
14. **Andrieu J.M, Baldet L., Jaffiol C.**
Cancers de la thyroïde : anatomie pathologique et diagnostic.
Revue du prat. 1998 ; 48 : 875-79.
15. **Saaman N.A., Ordonez N.G.**
Uncommon types of thyroid cancer.
Endocrinol. Metab. Clin. North Am. 1990 ;19 : 637-48.
16. **Clark O.H., Duh Q.Y.**
Thyroid cancer. *Med. Clin. North Am.* 1991 ; 75 : 211-34.
17. **Vignaud J.M., Marie B., Picard E., Nabil K., Siat J., Gallateu-Salle F. et al.**
Tumor stroma formation in lung cancer. Clinical and biological basis of the lung cancer. Basel/ Switzerland : Ed by Y. Martinet, F.R. Hirsch, N. Martinet, J.M. Vignaud. Mulshine. Birkäuser Verlag, 1998. P 57-66.
18. **Vignaud J.M, Martinet Y., Martinet N.**
Role of growth factors in the stromal reaction in non-small cell lung carcinoma.
In : Lung tumors. Fundamental biology and clinical management.
New-york : Marcel Dekker, Inc. 1998.
19. **Hedinger C.**
Histological typing of thyroid tumor.
Baltimore : World Health Organisation. 1996.
20. **Hermaneck P., Hutter R.V.P, Sobin L.H.**
TNM atlas.
Paris : Springer. 2000 (Union Internationale Contre le Cancer)

21. **Hughes C.J, Shaha A.R, Shah J.P, Loree T.R.**
Impact of lymph node metastasis in differentiated carcinoma of the thyroid : a matched-pair analysis.
Head Neck. 1996 ; 18 : 127-132.
22. **Tubiana M., Schlumberger M., Rougier P.**
Long-term results and pronostic factors in patients with differentiated thyroid carcinoma.
Cancer. 1985 ; 55 : 794-804.
23. **Mazzaferri E.L, Jhiang S.M.**
Long-term impact of initial surgical and medical therapy on papillary and follicular thyroid cancer.
Am. J. Med. 1994 ; 97 : 418-28.
24. **Modigliani E., Cohen E., Franc B. et al.**
Les facteurs pronostics du cancer médullaire de la thyroïde.
Rev. Fr. Endocrinol. Clin. 1995 ; 36 : 405-15.
25. **de Mico C.**
Bases moléculaires de la tumérogenèse thyroïdienne.
CDP 2001 ; S57-59.
26. **Stephaneau L., Sasano H. and Kovacs K.**
Thyroid gland.
In : Molecular and cellular endocrine pathology.
Paris : Masson, 2000 ; 137-159.
27. **Mizukami Y., Nonomura A., Hashimoto T. and al.**
Immunohistochemical demonstration of Epidermal Growth Factor and C-myc oncogene product in normal, benign and malignant thyroid tissues.
Histopathology. 1991 ; 18 . 11-18.
28. **Park K., Kim S.I., Bang Y.J. et al.**
Genetic changes in the transforming growth factor- β (TGF- β) type II receptor gene in human gastric cancer cells: correlation with sensitivity to growth inhibition by TGF- β .
Proc Natl Acad Sci USA. 1994 ; 91 : 8772-76.
29. **Garrigue-Antar L., Munoz-Anatonia T., Antonia S.J., Gesmader J., Velluci V.F., Reiss M.**
Missense mutations of the transforming growth factor β type II receptor in human head and neck squamous cell carcinoma cells.

- Cancer Res.* 1995 ; 55 : 3982-87.
30. **Shark C., Fulton N., Jacoby R.F., Westbrook C.A. et al.**
N-ras 61 oncogene mutation in Hürthle cell tumors.
Surgery. 1990 ; 108 : 994-1000.
31. **Vasko V., Ferrand M., Franc J., Carayon P., Henry J., de Mico C.**
Restricted pattern of ras oncogenes mutations in thyroid follicular tumors.
Endocrine J. 2000 ; 47 : 216-18
32. **Esapa C.T., Johnson S.J., Kendall-taylor P., Lennard T.W.J., Harris P.E.**
Prevalence of ras mutations in the thyroid neoplasia.
Clin Endocrinol. 1999 ; 50 : 529-35.
33. **Namba H., Gutman R.A., Matsuo K., Alvarez A., Fagin J.A.**
H-ras protooncogene mutation in human thyroid neoplasms.
J Clin Endocrinol Metab. 1990 ; 71 : 223-29.
34. **Soares P., Fonseca E., Wynford-Thomas D., Sobrinho-Simoes M.**
Sporadic ret-rearranged papillary carcinoma of the thyroid : a subset of slow growing, less aggressive thyroid neoplasm ?
J Pathol. 1998 ; 185 : 71-78.
35. **Bond J.A., Wyllie F.S., Rowson J., Radulescu A., Windford-Thomas D.**
In vitro reconstruction of tumor initiation in human epithelium.
Oncogene. 1994 ; 9 : 281-290.
36. **Fugazzola L., Pilotti S., Pinchera A., Vironstova T.V., Mondellini P., Bongorzone I. et al.**
Oncogene rearrangements of the ret proto-oncogene in papillary carcinomas from children exposed to the Chernobyl nuclear accident.
Cancer Res. 1995 ; 55 : 5617-20.
37. **Salassitdis K., Bruch J., Zitzelberger H., Lengfelder E., Kellerer A.M., Bauchinger M.**
Translocation t(10;14)(q11.2;q22.1) fusing the kinectin to ret gene creates a novel rearranged from (PTC8) of the ret proto-oncogene in radiation-induced childhood papillary carcinoma.
Cancer Res. 2000 ; 60 : 2786-89.
38. **Fluge O., Hangen D.R., Akslen L.A. et al.**
Expression and alternative splicing of ret RNA in papillary thyroid carcinomas.
Oncogene. 2001 ; 20 : 885-92.

39. **Papotti M., Volante M., Guilano A. et al.**
RET/PTC activation in hyalinizing trabecular tumors of the thyroid.
Am J Surg Pathol. 2000 ; 24 : 1615-21.
40. **Kroll T.G., Sarraf P., Pecciarini L. et al.**
PAX8-PPAR gamma 1 fusion in oncogene human thyroid carcinoma.
Science. 2000 ; 289 : 1357-60.
41. **Fagin A.J., Matsuo K., Kamakar A., Chen D.L., Tang S.H., Koeffler H.P.**
High prévalence of mutation of the p53 gene in poorly defferenciated human thyroid carcinoma.
J Clin Invest. 1993 ; 91 : 179-84.
42. **La Perle K.M.D., Jhiang S.M., Capen C.C.**
Loss of p53 promote anaplastic and local invasion in RET/PTC1 induced thyroid carcinomas.
Am J Pathol. 2000 ; 157 : 671-77.
43. **Zou M.J., Shi Y.F., Farid N.R., Alsedairy S.T.**
Inverse associated between cycline D1 overexpression and rétinoblastome gene mutation in thyroid carcinoma.
Endocrine. 1998 ; 8 : 61-64.
44. **Holzer S., Reiners C., Mann K., Bamberg M., Rothmund M., Dudeck J.**
Patterns of care for patients with primary differentiated carcinoma of the thyroid gland treated in Germany during 1996.
Cancer. 2000 ; 89 : 192-201.
45. **Ain K.B.**
Anaplastic thyroid carcinoma : a therapeutic challenge.
Semin. Surg. Oncol. 1999 ; 16 : 64-69.
46. **Dottorini M.E, Assi A., Sironi M., Sangalli G., Spreafico G., Colombo L.**
Multivariate analysis of patients with medullary thyroid carcinoma. Prognostic significance and impact on treatment of clinical and pathologic variables.
Cancer. 1996 ; 77 : 1556-65.
47. **Machens A., Gimm O., Ukkat J., Hinze R., Schneyer U., Dralle H.**
Improved prediction of calcitonin normalizatio in medullary thyroid carcinoma patients by quantitative lymph node analysis.
Cancer. 2000 ; 88 : 1909-15.

48. **Proye C., Marmousez T.**
Cancer médullaire de la thyroïde : moyens thérapeutiques, chirurgie de première intention.
In : C. Calmettes, J.M. Guliana (eds). Medullary Thyroid carcinoma. John Libbey Eurotext Ltd. 1991 ; 211 : 199-205.
49. **Simpson W.J., Panzarella T., Carruthers J.S, Gospodarowicz M.K., Sutcliffe S.B.**
Papillary and follicular thyroid cancer : impact of treatment in 1578 patients.
Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 1988 ; 14 : 1063-75.
50. **Tubiana M., Haddad E., Schlumberger M., Hill C., Rougier P., Sarrazin D.**
External radiotherapy in thyroid cancers.
Cancer. 1985 ; 55 : 2062-71.
51. **Blomhoff R., Green M.H., Berg T., Norum K.R.**
Transport and storage of vitamin A.
Science. 1990 ; 250 ; 399-404.
52. **Blaner W.S., Olson J.A.**
Retinol and retinoic metabolism.
In : Sporn M.B., Roberts A.B., Goodman D.S., editors. The retinoids : biology, chemistry and medicine, second edition. Raven Press ; 1994 : 229-255.
53. **Bavik C.O., Busch C., Erickson U.**
Characterization of plasma retinol-binding protein membrane receptor expressed in the retinal pigment epithelium.
J Biol Chem. 1992 ; 267 : 23035-42.
54. **Knook D., Sleyster E.**
Isolated parenchymal, Kupffer and endothelial rat liver cells characterized by their lysosomal enzyme content.
Biochem Biophys Res Commun. 1980 ; 96 : 250-257.
55. **Quadro L., Blaner W., Salchow D., Vogel S., Piantedosi R., Gourras P. et al.**
Impaired retinal function and vitamin A availability in mice lacking retinol-binding protein.
EMBO J. 1999 ; 18 : 4633-44.
56. **Napoli J.**
Retinoic acid biosynthesis and metabolism.
FASEB J. 1996 ; 10 : 993-1001.

57. **Aström A., Tavakkol A., Petresson U., Cromie M., Elder J.T., Voorhees J.J.**
Molecular cloning of two retinoic acid binding protein (CRABP).
J Biol chem. 1991 ; 266 : 17662-66.
58. **Ong D.E., Chytil F.**
Specificity of cellular retinol-binding protein for compounds with vitamin A activity.
Nature. 1975 ; 255 : 74-75.
59. **Mac Donald P.N., Ong D.E.**
Binding specificities of cellular retinol-binding protein and cellular retrinol binding protein type II.
J Biol Chem. 1987 ; 262 : 10550-556.
60. **Fiorella P.D., Napoli J.L.**
Expression of cellular retinoic acid binding protein (CRABP) in *Escherichia coli*.
J Biol Chem. 1991 ; 266 : 16572-579.
61. **Eriksson U., Hansson E., Nilsson M., Jonsson K.H., Sundelin J., Peterson P.A.**
Increased levels of several retinoid binding proteins resulting from retinoic acid induced differentiation of F9 cells.
Cancer Res. 1986 ; 46 ; 717-722.
62. **Wei L.N., Blaner W.S., Goodman D.S, Nguyen-Huu M.C**
Regulation of the celular retinoid binding proteins and their messenger ribonucleic acid during P19 embryonal carcinoma cell differenciatioin induced by retinoic acid.
Mol Endocrinol. 1989 ; 3 : 454-63.
63. **Mangdelsdorf D.J., Evens R.M.**
The RXR heterodimers and orphan receptors.
Cell. 1995 ; 83 : 841-850.
64. **Mangdelsdorf D.J., Thummel C., Beato M., Herrlich P., Schutz G., Umesono K. et al.**
The nuclear receptor superfamilly : the second decade.
Cell. 1995 ; 83 : 835-39.
65. **Chambon P.**
A decade of molecular biology of retinoic acid receptors.
FASEB J. 1996 ; 10 : 940-54.
66. **Nagpal S., Frinat S., Nakshatri H., Chambon P.**
RARs and RXRs : evidence for two autonomous transactivations functions (AF-1 and AF-2) and heterodimerization *in vivo*.

- EMBO J. 1993 ; 12 : 2349-60
67. **Taneja R., Rochette-Egly C., Plassat J.L., Penna L., Gaub M.P. et al.**
Phosphorylation of activation functions AF-1 and AF-2 of RAR α and RAR γ is indispensable for differentiation of F9 cells upon retinoic acid and cAMP treatment.
EMBO J. 1997 ; 16 : 6452-65.
68. **Rochette-Egly C., Gaub M.P., Lutz Y., Ali S., Scheuer I., Chambon P.**
Retinoic acid receptor-beta : immunodetection and phosphorylation on tyrosine residues.
Mol Endocrinol. 1992 ; 6 : 2197-202.
69. **Lohnes D., Kastner P., Dierich A., Mark M., LeMeur M., Chambon P.**
Function of retinoic acidreceptor gamma in the mouse.
Cell. 1993 ; 73 : 643-58.
70. **Sucov H., Izpisua-belmonte J., Ganan Y., Evans R.**
Mouse embryos lacking RXR alpha are resistant to retinoic acid induce limbs defects.
Development. 1995 ; 121 : 3997-4003.
71. **Maden M., Holder N.**
The involvement of retinoic acid in the development of the vertebrate central nervous system.
Development. 1991 ; S2 : 87-94.
72. **Espeseth A., Murphy S., Linney E.**
Retinoic acid receptor expression vector inhibits differentiation of F9 embryonal carcinoma cells.
Genes Dev. 1989 ; 3 : 1647-56.
73. **Gudas L., Sporn M.B., Roberts A.B.**
Cellular biology and biochemistry of the retinoids.
In : Sporn M.B., Roberts A.B.; Goodman D.S., editors. The retinoids : biology, chemistry and medecine, 2nd edition. Raven Press. 1994 : 443-520.
74. **Kastner P., Mark M., Ghyselinck N., Krezel W., Dupe V., Grondona J. et al.**
Genetic evidence that the retinoid signal is transduced by heterodimeric RXR/RAR functional units during mouse development.
Development. 1997 ; 124 : 313-26.
75. **Busman K.J., Roberts A.B., Sporn M.B.**
Inhibition of mitogen induce c-fos expression in melanoma cells by retinoic acid involves the serum response element.
J. Biol. Chem. 1992 ; 267 : 19971-77.

76. **Schüle R., Rangarnjan P., Yang N., Kliever S., Ransone L., Balado J. et al.**
Retinoic acid is a negative regulator of AP-1 responsive genes.
Proc. Natl. Acad. Sci. 1991 ; 88 : 6092-96.
77. **Yang-Yen H.F., Zhang X.K., Graupner G., Tzukerman M., Sakamoto B., Karin M. et al.**
Antagonism between retinoic acid receptors and AP-1 : implications for tumor promotion and inflammation.
New. Biol. 1991 ; 3 : 1206-19.
78. **Shin D., Xu X.C., Lippman S., Lee J.J., Lee J.S., Batsakis J. et al.**
Accumulation of p53 protein and retinoic acid receptor β in retinoid chemoprevention.
Clin. Cancer Res. 1997 ; 3 : 875-80.
79. **Moghal N., Neel B.**
Evidence for impaired retinoic acid receptor-thyroid hormone receptor AF-2 cofactor activity in human lung cancer.
Mol. Cell. Biol. 1995 ; 15 : 3945-59.
80. **Tompson K., Hwang M., Ahn C.**
Induction of pWAF1 and apoptosis by a RXR selective retinoid in human prostate cancer cell.
Proc. Am. Assoc. Cancer Res. 1996 ; 37 : 230.
81. **Greenblatt M., Bennett W., Hollstein M., Harris C.**
Mutation in the p53 tumor suppressor gene : clues to cancer etiology and molecular pathogenesis.
Cancer Res. 1994 ; 54 : 4855-78.
82. **Boyle J., Langenfeld J., Lonardo F., Sekula D., Reczek P., Rusch V. et al.**
Cyclin D1 proteolysis : a retinoid chemoprevention signal in normal, immortalized and transformed human bronchial epithelial cells.
J. Natl. Cancer Inst. 1999 ; 13 : 1983-90.
83. **Langenfeld J., Lonardo F., Kiyokawa H., Passalaris T., Ahn M.J., Rusch V. et al.**
Inhibited transformation of immortalized human bronchial epithelium cells by retinoic acid is linked to cycline E down regulation.
Oncogene. 1996 ; 13 : 1983-90.

84. **Wan H., Oridate N., Lotan D., Hong W., Lotan R.**
Overexpression of retinoid acid receptor beta in head and neck squamous cell carcinoma cells increases their sensitivity to retinoid-induced suppression of squamous differentiation by retinoids.
Cancer Res. 1999 ; 59 : 3518-26.
85. **Ohta A., Louie J., Uitto J.**
Retinoid metabolism of collagenase production by adherent human mononuclear cells in culture.
Ann. Rheum. Dis. 1987 ; 46 : 357-62.
86. **Brinckerhoff C., Auble D.**
Regulation of collagenase gene expression in symovial fibroblasts.
Ann. N.Y. Acad. Sci. 1990 ; 580 : 355-74.
87. **Clark S., Kobayashi D., Welgus H.**
Regulation of the expression of tissue inhibitor of the metalloproteinases and collagenase by retinoids and glucocorticoids in human fibroblasts.
J. Clin. Invest. 1987 ; 80 : 1280-88.
88. **Anderson I., Sugarbaker D., Ganju R., Tsarwhas D., Richards W., Sunday M. et al.**
Stomelysin-3 is overexpressed by stromal elements in primary non-small cell lung cancers and regulated by retinoic acid in pulmonary fibroblasts.
Cancer Res. 1995 ; 55 : 4120-126.
89. **Guérin E., Ludwig M.P., Basset P., Anglard P.**
Stromelysin-3 induction and interstitial collagenase repression by retinoic acid.
J. Biol. Chem. 1997 ; 272 : 11088-95.
90. **Felli M.P., Vacca A., Meco D., Screpanti I., Farina A.R., Maroder M. et al.**
Retinoic aid induced down-regulation of the interleukine 2 promoter via cis-regulatory sequences containing an octamer motif.
Mol. Cel. Biol. 1991 ; 11 : 4771-78.
91. **Mangiaroti R., Donova M., Alberici R., Pellicciari C.**
All-trans retinoic acid induced apoptosis preceded by G1 arrest in human MCF-7 breast cancer.
Br. J. Cancer. 1998 ; 77 : 186-91.
92. **Xu X., Liu X., Tahara E., Lippman S., Lotan R.**
Expression and up-regulation oinoic acid receptor beta is associated with retinoid sensivity and colony formation in oesophageal cancer cells lines.

- Cancer Res.* 1999 ; 59 : 2477-83.
93. **Boylan J., Lufkin T., Achkar C., Teneja R., Chambon P., Goudas L.**
Targeted disruption of retinoic acid receptor α results in receptor-specific alterations in retinoic acid mediated differentiation and retinoic acid metabolism.
Mol. Cell. Biol. 1995 ; 15 : 843-51.
94. **Spanjaard R.A., Ikeda M., Lee P.J., Charpentier B., Chin W.W., Eberlein T.J. et al.**
Specific activation of retinoic acid receptors (RARs) and retinoid X receptors reveals a unique role for RAR γ in induction of differentiation and apoptosis of S91 melanoma cells.
J. Biol. Chem. 1997 ; 272 : 18990-99.
95. **Houle B., Rochette-Egly C., Bradley W.E.C.**
Tumor suppressive effect of the retinoic acid receptor β in human epidermoid lung cancer cells.
Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1993 ; 90 : 985-989.
96. **Berard J., Laboune F., Mukuna M., Masse S., Kothary R., Bradley W.E.C.**
Lung tumor in mice expressing an antisense RAR β 2 transgene.
FASEB J. 1996 ; 10 : 1091-97.
97. **Lotan R., Xu X., Lippman S., Ro J., Lee J., Hong W.**
Suppression of retinoic acid receptor β in premalignant oral lesion and its up-regulation by isotretinoin.
N. Engl. J. Med. 1995 ; 332 : 1405-10.
98. **Xu X., Lee J.S., Lee J.J., Morice R., Liu X., Lippman S. et al.**
Nuclear retinoic acid receptor β in bronchial epithelium of smokers before and during chemoprevention.
J. Natl. Cancer Inst. 1999 ; 91 : 1317-21.
99. **Rita J.F., Bradley W., Cormier Y., Meyer D., Ayoub J.**
Abnormalities of the retinoic acid receptor β in bronchial epithelium of individuals at high risk of developing lung cancer.
Chest. 1998 ; 114 : 249S.
100. **Liu Y., Lee M.O., Wang H.G., Li Y., Hashimoto Y., Klaus M. et al.**
Retinoic acid receptor β mediates the growth inhibitory effect of retinoic acid by promoting apoptosis in human breast cancer cells.
Mol. Cell. Biol. 1994 ; 16 : 1138-49.

101. **Robertson K.A., Emami B., Collins S.J.**
Retinoic-acid-resistant HL60R cells harbour a point mutation in the retinoic-acid-receptor-ligand-binding domain that confers dominant negative activity.
Blood. 1992 ; 80 : 1885-89.
102. **Schrek R., Schneiders F., Schmützler C., Köhrle J.**
Retinoids stimulate type I Iodothyronine 5'-Deiodinase activity in human follicular thyroid carcinoma cell lines.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 1994 ; 79 : 791-798.
103. **Del Senno L., Rossi R., Franceschetti P., Delgi Uberti E.C.**
Expression of all trans retinoic acid receptor RNA in human thyroid cells.
Biochem. Mol. Biol. Int. 1994 ; 33 : 1107-1115.
104. **Schmützler C., Brtko J., Bienert K., Köhrle J.**
Effects of retinoids and role of retinoic acid receptors in human thyroid carcinomas and cell lines derived therefrom.
Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes. 1996 ; 104 Suppl 4 : 16-19.
105. **Shmützler C., Brtko J., Winzer R., Jakobs T.C., Meisssner-Weigl J., Simon D., Köhrle J.**
Functional retinoid and thyroid hormone receptors in human thyroid-carcinoma cell lines and tissues.
Int. J. Cancer. 1998 ; 76 : 368-76.
106. **Rochaix Ph., Monteil-Onteniente S., Rochette-Egly C., Caratero C., Voigt J.J., Jozan S.**
Reduce expression of retinoic acid receptor beta protein (RAR β) in human papillary thyroid carcinoma : immunohistochemical and Western blot study.
Hystopathology. 1998 ; 33 : 337-43.
107. **Picard E., Seguin C., Monhoven N., Rochette-Egly C., Siat J., Borrelly J., Vignaud J.M.**
Expression of retinoid receptor genes and proteins in Non-Small-Cell Lung Cancer.
J. Natl. Cancer Inst. 1999 ; 91 (12) : 1059-66.
108. **Simon D., Köhrle J., Reiners C., Boerner A., Schmützler C., Mainz K., Goretzki P.E. et Röher H.D.**
Redifferentiation therapy with retinoids – A therapeutic option inn advanced follicular and papillary thyroid carcinoma ?
World J. Surg. 1998 ; 89 : 624-629.

109. **Coté S., Sinnett D., Momparler R.L.**

Demethylation by 5-aza-2'-deoxycytidine of specific 5-methylcytosine sites in the promotor region of the retinoic acid receptor β gene in human colon carcinoma cells.

Anti. Cancer Drugs. 1998 ; 9 : 743-50.

110. **Kopf E., Plassat J.C., Vivat V., De Thé Y., Chambon P. et Rochette-Egly C.**

Dimerization with Retinoid X receptors and Phosphorylation Modulate the retinoic acid induced degradation of retinoic acid receptors α and γ through the ubiquitin-Protéasome pathway.

J. Biol. Chemest. 2000. 275 ; 43 : 33280-88

111. **Altucci L., Gronemeyer H.**

The promise of retinoid to fight against cancer.

Nat. Rev. Cancer. 2001 ; 1 : 181-93.



VU

NANCY, le 18 septembre 2002
Le Président de Thèse

NANCY, le 20 septembre 2002
Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur J.M. VIGNAUD

Professeur J. ROLAND

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE

NANCY, le 26 septembre 2002

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE NANCY 1

Professeur C. BURLET

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Les acides rétinoïques, dérivés de la vitamine A, exercent des effets biologiques essentiels par le contrôle qu'ils exercent sur différentes familles de gènes régulant la différenciation la prolifération cellulaire et l'apoptose. Ces effets sont relayés par deux familles de récepteurs nucléaires : les récepteurs à l'acide rétinoïque (RAR α , β et γ) et les récepteurs aux rétinoïdes X (RXR α , β et γ), fonctionnels sous forme d'hétérodimère, associant un RAR et un RXR. La contribution au processus de cancérogenèse de la dérégulation de ces récepteurs, bien mise en évidence dans divers tissus a été peu étudiée pour la thyroïde. Les rares résultats reposent sur l'évaluation du niveau d'expression des ARN messagers, à partir de lignées cellulaires de carcinomes thyroïdiens. Nous avons étudié 59 cas de carcinomes thyroïdiens par une technique immunohistochimique identifiant trois des récepteurs (RAR α , RAR β et RXR α) couplée à une analyse par Western-Blot. Les résultats obtenus montrent une diminution complète ou partielle des trois isoformes des récepteurs à l'acide rétinoïque et aux rétinoïdes X dans les tumeurs : dans 72% des cas pour le RAR β , 59% pour le RXR α et 83% pour le RAR α . Pour le RAR α le fait dominant est une délocalisation cytoplasmique partielle ou complète du récepteur. Les résultats ainsi obtenus sont statistiquement significatifs avec un $p < 0,0001$. Il n'a pas pu être dégagé de différences significatives ces anomalies observées entre les trois variantes carcinomateuses papillaire, vésiculaire et indifférenciée du fait d'une série de carcinomes vésiculaires et indifférenciés insuffisante. L'analyse par Western-Blot d'extraits protéiques cytoplasmiques et nucléaires des tumeurs et du tissu sain apparié a permis de confirmer ces données. La spécificité des anticorps étant validé par la révélation d'une bande unique, de taille attendue. Cette technique a également permis de montrer que la protéine RAR α délocalisée dans le cytoplasme migre plus haut dans le gel d'électrophorèse suggérant un épissage alternatif anormal ou des modifications post-transcriptionnelles. La constatation d'une diminution de l'expression simultanée de plusieurs récepteurs notamment RAR β et RXR α suggère que cet hétérodimère pourrait être l'hétérodimère fonctionnel dans les cellules thyroïdiennes normales. Notre étude suggère que la dérégulation des récepteurs aux acides rétinoïques pourrait contribuer à la cancérogenèse thyroïdienne.

TITRE EN ANGLAIS : Expression of retinoid acid receptor proteins in thyroid carcinomas. A retrospective study of 59 cases.

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE – ANNÉE 2002

MOTS CLÉS : ANATOMIE PATHOLOGIQUE – RECEPTEURS DE L'ACIDE RÉTINOÏQUE – IMMUNOHISTOCHEMIE – WESTERN BLOT - CARCINOMES THYROÏDIENS

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'U.F.R. :

Faculté de Médecine de Nancy

9, avenue de la Forêt de Haye

54505 – VANDOEUVRE LES NANCY Cédex
