



HAL
open science

Valeur pronostique de l'expression de la protéine MiniChromosome Maintenance 6 (MCM6) dans les cancers de l'endomètre de type endométrioïde

Judicaël Hotton

► **To cite this version:**

Judicaël Hotton. Valeur pronostique de l'expression de la protéine MiniChromosome Maintenance 6 (MCM6) dans les cancers de l'endomètre de type endométrioïde. Sciences du Vivant [q-bio]. 2017. hal-01932031

HAL Id: hal-01932031

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01932031>

Submitted on 23 Nov 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-thesesexercice-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>

THÈSE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR EN MÉDECINE

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

par

Judicaël HOTTON

le 10 Octobre 2017

Valeur pronostique de l'expression de la protéine MiniChromosome Maintenance 6 (MCM6) dans les cancers de l'endomètre de type endométrioïde

Membres du jury :

Président du jury :

M. le Professeur Guillaume GAUCHOTTE

Juges :

M. le Professeur Philippe JUDLIN

M. le Professeur Frédéric MARCHAL

M. le Professeur Olivier MOREL

M. le Docteur Mikaël AGOPIANTZ (directeur de thèse)

4 septembre 2017



**UNIVERSITÉ
DE LORRAINE**



FACULTÉ de MÉDECINE
NANCY

**Président de l'Université de Lorraine :
Professeur Pierre MUTZENHARDT**

**Doyen de la Faculté de Médecine :
Professeur Marc BRAUN**

Vice-doyens

Pr Karine ANGIOI-DUPREZ, Vice-Doyen

Pr Marc DEBOUVERIE, Vice-Doyen

Assesseurs :

Premier cycle : Pr Guillaume GAUCHOTTE

Deuxième cycle : Pr Marie-Reine LOSSER

Troisième cycle : Pr Marc DEBOUVERIE

Innovations pédagogiques : Pr Bruno CHENUÉL

Formation à la recherche : Dr Nelly AGRINIER

Affaires juridiques et Relations extérieures : Dr Frédérique CLAUDOT

Vie Facultaire et SIDES : Pr Laure JOLY

Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER

Chargés de mission

Bureau de docimologie : Dr Guillaume VOGIN

Commission de prospective facultaire : Pr Pierre-Edouard BOLLAERT

Orthophonie : Pr Cécile PARIETTI-WINKLER

PACES : Dr Mathias POUSSEL

Plan Campus : Pr Bruno LEHEUP

International : Pr Jacques HUBERT

=====

DOYENS HONORAIRES

Professeur Jean-Bernard DUREUX - Professeur Jacques ROLAND - Professeur Patrick NETTER - Professeur Henry COUDANE

=====

PROFESSEURS HONORAIRES

Etienne ALIOT - Jean-Marie ANDRE - Alain AUBREGE - Gérard BARROCHE - Alain BERTRAND - Pierre BEY - Marc-André BIGARD - Patrick BOISSEL - Pierre BORDIGONI - Jacques BORRELLY - Michel BOULANGE - Jean-Louis BOUTROY - Serge BRIANÇON - Jean-Claude BURDIN - Claude BURLET - Daniel BURNEL - Claude CHARDOT - Jean-François CHASSAGNE - François CHERRIER - Jean-Pierre CRANCE - Gérard DEBRY - Emile de LAVERGNE - Jean-Pierre DESCHAMPS - Jean DUHEILLE - Jean-Bernard DUREUX - Gilbert FAURE - Gérard FIEVE - Bernard FOLIGUET - Jean FLOQUET - Robert FRISCH - Alain GAUCHER - Pierre GAUCHER - Professeur Jean-Luc GEORGE - Alain GERARD - Hubert GERARD - Jean-Marie GILGENKRANTZ - Simone GILGENKRANTZ - Gilles GROSDIDIER - Oliéro GUERCI - Philippe HARTEMANN - Gérard HUBERT - Claude HURIET - Christian JANOT - Michèle KESSLER - François KOHLER - Jacques LACOSTE - Henri LAMBERT - Pierre LANDES - Marie-Claire LAXENAIRE - Michel LAXENAIRE - Alain LE FAOU - Jacques LECLERE - Pierre LEDERLIN - Bernard LEGRAS - Jean-Pierre MALLIÉ - Philippe MANGIN - Jean-Claude MARCHAL - Yves MARTINET - Pierre MATHIEU - Michel MERLE - Pierre MONIN - Pierre NABET - Patrick NETTER - Jean-Pierre NICOLAS - Pierre PAYSANT - Francis PENIN - Gilbert PERCEBOIS - Claude PERRIN - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL - Jean PREVOT - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - Michel RENARD - Jacques ROLAND - Daniel SCHMITT - Michel SCHMITT - Michel SCHWEITZER - Daniel SIBERTIN-BLANC - Claude SIMON - Danièle SOMMELET - Jean-François STOLTZ - Michel STRICKER - Gilbert THIBAUT - Gérard VAILLANT - Paul VERT - Hervé VESPIGNANI - Colette VIDAILHET - Michel VIDAILHET - Jean-Pierre VILLEMOT - Michel WEBER

=====

PROFESSEURS ÉMÉRITES

Professeur Etienne ALIOT - Professeur Gérard BARROCHE - Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Jean-Pierre CRANCE - Professeur Gilbert FAURE - Professeur Bernard FOLIGUET – Professeur Alain GERARD - Professeur Gilles GROSDIDIER
Professeur Philippe HARTEMANN - Professeur François KOHLER - Professeur Alain LE FAOU - Professeur Jacques LECLERE
Professeur Yves MARTINET – Professeur Patrick NETTER - Professeur Jean-Pierre NICOLAS – Professeur Luc PICARD - Professeur François PLENAT - Professeur Jean-François STOLTZ

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

(Disciplines du Conseil National des Universités)

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (*Anatomie*)

Professeur Marc BRAUN – Professeure Manuela PEREZ

2^{ème} sous-section : (*Histologie, embryologie et cytogénétique*)

Professeur Christo CHRISTOV

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

Professeur Jean-Michel VIGNAUD – Professeur Guillaume GAUCHOTTE

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

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

Professeur Gilles KARCHER – Professeur Pierre-Yves MARIE – Professeur Pierre OLIVIER

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

Professeur René ANXIONNAT - Professeur Alain BLUM - Professeur Serge BRACARD - Professeur Michel CLAUDON Professeure Valérie CROISÉ-LAURENT - Professeur Jacques FELBLINGER - Professeur Pedro GONDIM TEIXEIRA

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

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

Professeur Jean-Louis GUEANT - Professeur Bernard NAMOUR - Professeur Jean-Luc OLIVIER

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

Professeur Christian BEYAERT - Professeur Bruno CHENUÉL - Professeur François MARCHAL

4^{ème} sous-section : (*Nutrition*)

Professeur Didier QUILLIOT - Professeure Rosa-Maria RODRIGUEZ-GUEANT - Professeur Olivier ZIEGLER

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

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

Professeur Alain LOZNIEWSKI – Professeure Evelyne SCHVOERER

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

Professeure Marie MACHOUART

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

Professeur Thierry MAY - Professeure Céline PULCINI - Professeur Christian RABAUD

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

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

Professeur Francis GUILLEMIN - Professeur Denis ZMIROU-NAVIER

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*)

Professeure Eliane ALBUISSON - Professeur Nicolas JAY

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

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

Professeur Pierre FEUGIER

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

Professeur Thierry CONROY - Professeur François GUILLEMIN - Professeur Didier PEIFFERT - Professeur Frédéric MARCHAL

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

Professeur Marcelo DE CARVALHO-BITTENCOURT - Professeure Marie-Thérèse RUBIO

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-réanimation)

Professeur Gérard AUDIBERT - Professeur Hervé BOUAZIZ - Professeur Thomas FUCHS-BUDER
Professeure Marie-Reine LOSSER - Professeur Claude MEISTELMAN

2^{ème} sous-section : (Réanimation)

Professeur Pierre-Édouard BOLLAERT - Professeur Sébastien GIBOT - Professeur Bruno LÉVY

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

Professeur Pierre GILLET - Professeur Jean-Yves JOUZEAU

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

Professeur François PAILLE - Professeur Patrick ROSSIGNOL – Professeur Faiez ZANNAD

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

1^{ère} sous-section : (Neurologie)

Professeur Marc DEBOUVERIE - Professeur Louis MAILLARD - Professeur Luc TAILLANDIER - Professeure Louise TYVAERT

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

Professeur Jean AUQUE - Professeur Thierry CIVIT - Professeure Sophie COLNAT-COULBOIS - Professeur Olivier KLEIN

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

Professeur Jean-Pierre KAHN - Professeur Raymund SCHWAN

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

Professeur Bernard KABUTH

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

Professeur Jean PAYSANT

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

1^{ère} sous-section : (Rhumatologie)

Professeure Isabelle CHARY-VALCKENAERE - Professeur Damien LOEUILLE

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

Professeur Laurent GALOIS - Professeur Didier MAINARD - Professeur Daniel MOLE - Professeur François SIRVEAUX

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

Professeur Jean-Luc SCHMUTZ

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

Professeur François DAP - Professeur Gilles DAUTEL - Professeur Etienne SIMON

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

1^{ère} sous-section : (Pneumologie ; addictologie)

Professeur Jean-François CHABOT - Professeur Ari CHAOUAT

2^{ème} sous-section : (Cardiologie)

Professeur Edoardo CAMENZIND - Professeur Christian de CHILLOU DE CHURET - Professeur Yves JUILLIERE

Professeur Nicolas SADOUL

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

Professeur Thierry FOLLIGUET - Professeur Juan-Pablo MAUREIRA

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

Professeur Sergueï MALIKOV - Professeur Denis WAHL – Professeur Stéphane ZUILY

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

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

Professeur Jean-Pierre BRONOWICKI - Professeur Laurent PEYRIN-BIROULET

3^{ème} sous-section : (Néphrologie)

Professeur Luc FRIMAT - Professeure Dominique HESTIN

4^{ème} sous-section : (Urologie)

Professeur Pascal ESCHWEGE - Professeur Jacques HUBERT

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

1^{ère} sous-section : (Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; addictologie)

Professeur Athanase BENETOS - Professeur Jean-Dominique DE KORWIN - Professeure Gisèle KANNY
Professeure Christine PERRET-GUILLAUME – Professeur Roland JAUSSAUD – Professeure Laure JOLY

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

Professeur Ahmet AYAV - Professeur Laurent BRESLER - Professeur Laurent BRUNAUD

3^{ème} sous-section : (Médecine générale)

Professeur Jean-Marc BOIVIN – Professeur Paolo DI PATRIZIO

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

1^{ère} sous-section : (Pédiatrie)

Professeur Pascal CHASTAGNER - Professeur François FEILLET - Professeur Jean-Michel HASCOET
Professeur Emmanuel RAFFO - Professeur Cyril SCHWEITZER

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

Professeur Pierre JOURNEAU - Professeur Jean-Louis LEMELLE

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

Professeur Philippe JUDLIN - Professeur Olivier MOREL

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

Professeur Bruno GUERCI - Professeur Marc KLEIN - Professeur Georges WERYHA

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

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

Professeur Roger JANKOWSKI - Professeure Cécile PARIETTI-WINKLER

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

Professeure Karine ANGIOI - Professeur Jean-Paul BERROD

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

Professeure Muriel BRIX

=====

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

61^{ème} Section : GÉNIE INFORMATIQUE, AUTOMATIQUE ET TRAITEMENT DU SIGNAL

Professeur Walter BLONDEL

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Professeure Sandrine BOSCHI-MULLER - Professeur Pascal REBOUL

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Professeure Céline HUSELSTEIN

=====

PROFESSEUR ASSOCIÉ DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Professeur associé Sophie SIEGRIST

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

42^{ème} Section : MORPHOLOGIE ET MORPHOGENÈSE

1^{ère} sous-section : (Anatomie)

Docteur Bruno GRIGNON

2^{ème} sous-section : (Histologie, embryologie et cytogénétique)

Docteure Chantal KOHLER

43^{ème} Section : BIOPHYSIQUE ET IMAGERIE MÉDICALE

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

Docteur Antoine VERGER (stagiaire)

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

Docteur Damien MANDRY

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

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

Docteure Shyue-Fang BATTAGLIA - Docteure Sophie FREMONT - Docteure Isabelle AIMONE-GASTIN

Docteure Catherine MALAPLATE-ARMAND - Docteur Marc MERTEN - Docteur Abderrahim OUSSALAH

2^{ème} sous-section : (Physiologie)

Docteure Silvia DEMOULIN-ALEXIKOVA - Docteur Mathias POUSSEL – Docteur Jacques JONAS (stagiaire)

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

Docteure Véronique DECOT-MAILLERET

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

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

Docteure Corentine ALAUZET - Docteure Hélène JEULIN - Docteure Véronique VENARD

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

Docteure Anne DEBOURGOGNE

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

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

Docteure Nelly AGRINIER - Docteur Cédric BAUMANN - Docteure Frédérique CLAUDOT - Docteur Alexis HAUTEMANIÈRE

2^{ème} sous-section (*Médecine et Santé au Travail*)

Docteure Isabelle THAON

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

Docteur Laurent MARTRILLE

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

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

Docteure Aurore PERROT – Docteur Julien BROSEUS

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

Docteure Lina BOLOTINE – Docteur Guillaume VOGIN

4^{ème} sous-section : (*Génétique*)

Docteure Céline BONNET

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

2^{ème} sous-section : (*Réanimation ; Médecine d'urgence*)

Docteur Antoine KIMMOUN

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

Docteur Nicolas GAMBIER - Docteure Françoise LAPICQUE - Docteur Julien SCALA-BERTOLA

4^{ème} sous-section : (*Thérapeutique ; Médecine d'urgence ; addictologie*)

Docteur Nicolas GIRERD

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

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

Docteure Anne-Christine RAT

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

Docteure Anne-Claire BURSZEJN

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

Docteure Laetitia GOFFINET-PLEUTRET

51^{ème} Section : PATHOLOGIE CARDIO-RESPIRATOIRE ET VASCULAIRE

3^{ème} sous-section : (*Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire*)

Docteur Fabrice VANHUYSE

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

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

Docteur Jean-Baptiste CHEVAUX – Docteur Anthony LOPEZ (stagiaire)

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

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

Docteur Cyril PERRENOT (stagiaire)

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

Docteure Elisabeth STEYER

**54^{ème} Section : DEVELOPPEMENT ET PATHOLOGIE DE L'ENFANT, GYNECOLOGIE-
OBSTETRIQUE, ENDOCRINOLOGIE ET REPRODUCTION**

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

Docteure Isabelle KOSCINSKI

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

1^{ère} sous-section : (*Oto-Rhino-Laryngologie*)

Docteur Patrice GALLET

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

5^{ème} Section : SCIENCES ÉCONOMIQUES

Monsieur Vincent LHUILLIER

7^{ème} Section : SCIENCES DU LANGAGE : LINGUISTIQUE ET PHONETIQUE GENERALES

Madame Christine DA SILVA-GENEST

19^{ème} Section : SOCIOLOGIE, DÉMOGRAPHIE

Madame Joëlle KIVITS

64^{ème} Section : BIOCHIMIE ET BIOLOGIE MOLÉCULAIRE

Madame Marie-Claire LANHERS - Monsieur Nick RAMALANJAONA

65^{ème} Section : BIOLOGIE CELLULAIRE

Madame Nathalie AUCHET - Madame Natalia DE ISLA-MARTINEZ - Monsieur Jean-Louis GELLY - Madame Ketsia HESS Monsieur Hervé MEMBRE - Monsieur Christophe NEMOS

66^{ème} Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Pascal BOUCHE – Docteur Olivier BOUCHY - Docteur Arnaud MASSON – Docteur Cédric BERBE
Docteur Jean-Michel MARTY

=====

DOCTEURS HONORIS CAUSA

Professeur Charles A. BERRY (1982)
Centre de Médecine Préventive, Houston (U.S.A)
Professeur Pierre-Marie GALETTI (1982)
Brown University, Providence (U.S.A)
Professeure Mildred T. STAHLMAN (1982)
Vanderbilt University, Nashville (U.S.A)
Professeur Théodore H. SCHIEBLER (1989)
Institut d'Anatomie de Würzburg (R.F.A)
Université de Pennsylvanie (U.S.A)
Professeur Mashaki KASHIWARA (1996)
*Research Institute for Mathematical Sciences de
Kyoto (JAPON)*

Professeure Maria DELIVORIA-
PAPADOPOULOS (1996)
Professeur Ralph GRÄSBECK (1996)
Université d'Helsinki (FINLANDE)
Professeur Duong Quang TRUNG
(1997)
*Université d'Hô Chi Minh-Ville
(VIËTNAM)*
Professeur Daniel G. BICHET (2001)
Université de Montréal (Canada)
Professeur Marc LEVENSTON (2005)
Institute of Technology, Atlanta (USA)

Professeur Brian BURCHELL (2007)
Université de Dundee (Royaume-Uni)
Professeur Yunfeng ZHOU (2009)
Université de Wuhan (CHINE)
Professeur David ALPERS (2011)
Université de Washington (U.S.A)
Professeur Martin EXNER (2012)
Université de Bonn (ALLEMAGNE)

Remerciements

À notre Maître et Président du Jury

Monsieur le Professeur Guillaume GAUCHOTTE

Professeur d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Vous nous faites l'honneur d'accepter de présider ce jury et de juger cette thèse et nous vous en sommes très reconnaissant. Nous tenons à vous remercier pour votre disponibilité et votre soutien sans lesquels ce travail n'aurait pas été ce qu'il est. Nous vous remercions de votre confiance et de votre bienveillance. Votre conscience professionnelle et votre dévouement sont pour nous un exemple à suivre. Veuillez recevoir l'expression de nos sincères remerciements et de notre grand respect.

À nos Maitres et Juges

Monsieur le Professeur Philippe JUDLIN

Professeur de Gynécologie-Obstétrique

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger notre travail. Votre disponibilité et votre gentillesse ont marqué notre internat. Veuillez trouver ici le témoignage de notre plus grand respect et de notre gratitude.

Monsieur le Professeur Frédéric MARCHAL

Professeur de Cancérologie

Votre présence au sein de notre jury nous honore. Nous avons eu le privilège de bénéficier de vos précieux enseignements et de votre expérience durant cet internat. Vous nous avez appris les principes du raisonnement en cancérologie, ainsi que la rigueur du geste chirurgical. Nous vous remercions pour votre disponibilité et votre gentillesse. Veuillez trouver ici le témoignage de notre plus profond respect, et notre joie de pouvoir continuer à apprendre à vos côtés.

Monsieur le Professeur Olivier MOREL

Professeur de Gynécologie-Obstétrique

Merci d'avoir accepté de juger ce travail. Durant ces années d'internat, vous nous avez toujours soutenu dans la réalisation de nos projets professionnels ainsi que dans nos projets d'avenir et nous avez poussé à toujours accomplir plus. Nous vous remercions pour votre accompagnement, vos apprentissages et votre bienveillance à notre égard tout au long de notre internat. Que notre thèse soit la marque de notre profond respect et de notre gratitude.

Monsieur le Docteur Mikaël AGOPIANTZ

Docteur en Médecine en Gynécologie Médicale

Vous nous faites l'honneur de diriger et de juger cette thèse. Nous vous remercions pour votre soutien sans faille, votre écoute et votre grande disponibilité depuis plusieurs années. Nous tenons à vous remercier pour toute l'aide apportée à ce travail, sans laquelle il ne serait pas ce qu'il est. Merci d'accepter le témoignage de notre profond respect et de notre reconnaissance pour la confiance que vous nous témoignez.

À notre doyen Monsieur le Professeur Marc BRAUN,

À nos Maitres d'Internat successifs,

Monsieur le Docteur Didier HENRY,
Madame le Docteur Marie-Laure ESZTO,
Monsieur le Professeur Olivier MOREL,
Monsieur le Professeur Philippe JUDLIN
Monsieur le Professeur Gilles GROSDIDIER,
Monsieur le Docteur Éric WELTER,
Monsieur le Professeur François GUILLEMIN,
Monsieur le Professeur Frédéric MARCHAL
Monsieur le Professeur Guillaume GAUCHOTTE,
Monsieur le Professeur Fabrice LECURU,
Madame le Professeur Anne-Sophie BATS,
Monsieur le Professeur Didier PEIFFERT.

À l'ensemble des personnes ayant contribuées de près ou de loin à la réalisation de ce travail de thèse.

Pr Guillaume GAUCHOTTE,

Dr Mikaël AGOPIANTZ,

Recevez mes plus sincères remerciements pour vos précieux conseils et votre disponibilité qui ont permis l'élaboration et l'aboutissement de ce travail.

Pr Olivier MOREL,

Pour votre soutien, votre esprit scientifique et votre aide dans mon orientation dans le domaine de la recherche.

Dr Béatrice MARIE,

Pour votre disponibilité et vos enseignements lors de mes lectures de lames.

Pr Jean-Louis GUEANT,

Pour votre accueil au sein de votre unité U954.

Dr BATTAGLIA-HSU,

Pour votre soutien et votre relecture attentive.

Dr Agnès LEROUX, Dr CHARRA-BRUNAUD et Magali LEFEBVRE de l'Institut de Cancérologie de Lorraine,

Pour vos conseils et votre aide dans le recueil des données.

À toute l'équipe du service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques du CHU de Nancy, Merci à tous pour votre accueil chaleureux, votre aide très précieuse, votre efficacité et votre soutien lors de la réalisation de ce travail.

À toute l'équipe de l'Unité INSERM U954, Merci pour vos enseignement et votre disponibilité dans le cadre de mon Master 2 Recherche.

À tous les médecins ayant contribué à ma formation en Gynécologie-Obstétrique durant ses années d'internat :

Dr ABEL DECOLOGNE Fabienne, Pr BATS Anne-Sophie, Dr BENSAID Chérázade, Dr BOUSSOUF Saad, Dr CASSIER Thierry, Dr CHAMMAS Hanaa, Dr COLLIN Philippe, Dr CRISTINELLI Stéphane, Dr DAHLHOFF Sandra, Dr DANDACHI Nadia, Dr DELAPORTE Marie-Odile, Dr DELOMENIE Myriam, Dr DEMOULIN Géraldine, Dr DOLIVET Gilles, Dr DRICOT Jean-François, Dr FERDILUS Nélio, Dr GAILLET Jean, Dr GAUCHOTTE Émilie, Dr GUNTHER Michel, Dr HAWAT Samer, Dr HAYEK Georges, Dr HENRY Didier, Dr KUHEN Frédérique, Dr KOEBELE Antoine, Pr LECURU Fabrice, Dr LEMARIE Philippe, Dr LEUFFLEN Léa, Dr MAATOUK Alexis, Dr MARGINEANU Bogdan, Dr MASIAS Charlotte, Dr MEZAN DE MALARTIC Cécile, Dr MOZA Anca, Dr NGÔ Charlotte, Dr NOS Claude, Dr NTSIKOUBAKA Parfait, Dr OLIERIC Marie-France, Dr OREFICE Jacques, Dr PERDRIOLE GALET Estelle, Dr PEREZ Manuela, Dr RAUCH Philippe, Dr REIBEL Nicolas, Dr RENAUD Philippe, Dr ROUTIOT Thierry, Dr SIAT Joëlle, Dr TAOUAF Rachid, Dr TISSERAND Jean, Dr VERHAEGHE Jean-Luc, Dr VILLEROY de GHALAU Stanislas, Dr ZIMBRIS Laurent, Dr ZUILY-LAMY Catherine.

Avec toute ma reconnaissance pour vos enseignements.

À mes Chefs de Clinique et mes Assistants :

Dalila EL BAHJA, Delphine MORETTINI, Sophie KLINGLER, Aude SECONDÉ, Charlotte PATTE, Marion CHOSEROT, Marie MONCOLLIN, Elise LARDIN, Sandrine AZIZ, Alexandru AMARIUTEI, Laure-Emilie REBSTOCK, Shaghayegh AMELOOT, Élodie DEMBLOCK, Marie GOSSET, Léa ROSSI.

Aux équipes de la Maternité du CHU de Nancy. Pour votre accueil, votre disponibilité, votre bienveillance, votre bonne humeur et vos compétences. Pour tous ces bons moments passés en salle des naissances et au bloc opératoire et toutes ses nuits à vos côtés à apprendre et m'épanouir dans ma spécialité. Merci pour tout.

Aux équipes de la Maternité du CHR de Remiremont avec qui j'ai fait mes premiers accouchements, mes premiers pas qui m'ont confortés dans mes choix ; merci pour votre gentillesse, votre patience et votre disponibilité.

Aux services de Gynécologie-Obstétrique de l'Hôpital Maternité de Metz, et à l'ensemble des sages-femmes. Merci pour vos enseignements très riches, votre rigueur et la confiance que vous m'avez accordée.

Aux équipes de la Maternité du CHR de Thionville. Après avoir débuté le semestre en fanfare... J'ai pris vraiment goût à la chirurgie. J'ai énormément appris. Merci pour votre professionnalisme et votre joie de vivre.

Au département de chirurgie de l'institut de Cancérologie de Lorraine. À toutes les équipes médicales, paramédicales et du bloc opératoire. Vous m'avez appris le raisonnement et la rigueur chirurgicale. Merci pour vos enseignements, votre patience que ce soit au bloc opératoire ou lors des astreintes. Mon semestre a été très riche et ma conforté dans mes choix et mon orientation. C'est avec plaisir que l'aventure continuera à l'ICL en chirurgie.

Aux équipes de la Maternité Arc en Ciel à Epinal, aux sages-femmes, aux équipes soignantes et aux équipes du bloc opératoire, pour votre accueil et la confiance que vous m'avez accordée au bloc opératoire comme en salle des naissances.

Au service de Chirurgie Cancérologique Gynécologique et du Sein de l'Hôpital Européen Georges Pompidou et à l'ensemble de l'équipe soignante du 6C. Pour votre accueil, votre professionnalisme, vos enseignements, votre rigueur, et aussi votre bonne humeur. J'ai appris énormément. Merci de votre gentillesse et de votre générosité. Ce fût un réel plaisir de travailler à vos côtés durant ces 6 mois.

Au service de Chirurgie Générale et Urgences du CHU de Nancy et à l'ensemble de l'équipe soignante. Merci de votre bonne humeur et de votre expérience partagée.

Au département de Radiothérapie de l'Institut de Cancérologie de Lorraine : Pr PEIFFERT, Dr FAIVRE, Dr BAUMANN, Dr ROYER, Dr CHARRA-BRUNAUD, Dr LEVITCHI et à l'ensemble de l'équipe médicale, paramédicale, aux secrétaires sur le plateau technique, aux équipes du SISSPO et aussi toute l'équipe du 1^{er} Daum. Pour votre bonne humeur, votre bienveillance, votre courage et tous ces bons moments partagés. Merci pour votre soutien dans les bons comme dans les moments plus difficiles.

À tous mes co-internes de Gynécologie-Obstétrique qui m'ont accompagnés, formés coachés et soutenus pendant toute la durée de mon internat. Merci à tous !

À mes co-internes de chirurgie : Cyril, Brice, Roman, Corinne, Anne-Cécile, Kunga. Quels semestres ! Merci à vous tous !

À mes co-internes de radiothérapie : Alexander, Julien, Nathalie, Anaïs, Aude, Chloé, Paul et Médarine. Merci pour ce semestre sympa à vos côtés !

À la Team KOKO LOBO Laurène, Jellila, Sophie, Arthur, Matthieu. Je tenais tout particulièrement à m'excuser auprès de vous tous pour ces remerciements ! J'espère qu'ils seront à la hauteur de l'affection que je vous porte à tous. À nos journées de DES inoubliables, aux soirées pleines de fous rires, aux taquineries... Pour tous ses bons moments qu'on a passé ensemble, je suis désolé ;-)

Aux bisounours de Pompidou Jennifer, Anne-Sophie, Shervine et Johan. Merci pour votre bonne humeur constante et votre bienveillance durant ses 6 mois qui ont été formidable. Merci de m'avoir accueilli avec tant de générosité. Aux pauses cafés pluriquotidiennes, aux zumos, aux apéritifs-debriefs... Que de bons moments tous ensemble, ce fût un réel plaisir de travailler avec vous tous !

À Marion, co-internes à la maternité au début de l'internat puis en fin de parcours en radiothérapie. Content d'être ton futur co-chef à l'ICL.

À ma femme Céline,

Mon amour, ma plus fidèle supportrice, tu as toujours cru en moi, en mes choix. Tu n'as jamais doutée en mes possibilités. Tu as toujours su me réconforter dans les moments difficiles. Tu as été plus que présente durant toutes ces étapes importantes de ma carrière et de ma vie et tu m'as toujours appuyée et encouragée dans mes décisions. Tu as fait de moi l'homme que je suis. Je ne serais pas là aujourd'hui sans toi, sans ton soutien indéfectible. Tu me rends plus fort tous les jours. Je suis ravi d'avoir partagé toutes ses années avec toi. Pour toutes les belles années à venir... Je t'aime.

À mes enfants Clément et Pauline,

Clément, bientôt 5 ans que tu me combles de joie. Tu grandis tellement vite, mon petit bonhomme. Comme je suis fier de tout ce que je te vois accomplir.

Pauline, depuis maintenant 1 an que tu es née, je te vois faire des progrès chaque jour. Je suis tellement fier de toi.

Vous illuminez ma vie chaque jour. Vous faites de moi le plus heureux des pères. Ces années ont parfois été marquées par des temps d'absence plus ou moins long que je suis sûr que vous comprendrez... Vous pourrez toujours compter sur moi. Recevez tout mon amour.

À mes parents, *Merci d'avoir toujours cru en mes rêves et de m'avoir permis d'y accéder ;*

À mes grands-parents, présents et disparus ;

À Parrain, *Pour ta présence et ton soutien infailible depuis mon plus jeune âge ;*

À mes beaux-parents, *Pour votre générosité et votre accueil si chaleureux dans votre famille depuis maintenant bientôt 14 ans.*

À mes frères et sœurs : Ludivine, Ludovic, Amandine, Romuald et Gwennaëlle ;

À mes beaux-frères et belles-sœurs : Nathalie et Laurent, Valérie et Laurent, Vincent et Yann, Nicolas, Cécilia ;

À Aurélie et Nicolas,

Lucio. Une belle rencontre en P2 et une amitié grandissante tout au long de ses années. Parrain de Clément, puis témoin à mon mariage pour mon plus grand bonheur et cette chanson « Les Copains D'Abord » que l'on continue de fredonner. Organisateur de mon EVG : Legen...wait for it...dary. ; que de souvenirs et des défis plus fous et originaux les uns que les autres ;-) Malgré la distance, tu restes toujours disponible, attentif et à l'écoute. Ton amitié m'est dès plus chère. À toutes ses soirées passées à s'éclater jusqu'à point d'heures, à tous nos défis sportifs relevés et à tous ses superbes moments à venir...

Aurélie. À toutes ses années d'amitié. À notre première rencontre au Flunch avec Nico. Merci pour tous ses bons moments, à une pendaison de crémaillère dès plus arrosée (c'est moi qui ai gagné !!), aux vacances au Pays Basque ou encore en Toscane. Merci pour ta gentillesse, ta bonne humeur, ton franc parler et tes bons conseils.

À votre heureux événement à venir... Tous mes vœux de bonheur !

À Amandine et Jacques

Piwit. Pour ta gentillesse sans pareille, ta générosité, ta présence, et ton soutien sans faille. Que de qualités. Tu as le cœur sur le main! Aux marathons FIFA, aux parties de tennis endiablées, aux randos, aux soirées bières-foot, à toutes ses sorties. Que de souvenirs... Pour toutes ses années déjà passées et toutes celles à venir...

Amandine. Merci pour tous ses bons moments de partage depuis maintenant plus de 10 ans ; pour ta générosité, ta bonne humeur. Merci pour ta présence et ta disponibilité de tous les instants.

À votre belle Louise.

À Guillaume, *Que de bons moments depuis le début de nos études et 6 mois de colocation dans le XVème. À nos repas de 23h30 après avoir couru sur les Quais de Seine à 22h. A nos discussions jusqu'à points d'heures sur la meilleure des manières de publier. Aux Monty Python et au Spam®...*

À Julien Dd, *Pour tous ces moments inoubliables, les soirées dégustations, les cinés. Pour ta culture cinématographique légendaire. Pour tes talents de photographe (et toutes ses photos prises pour immortaliser nos soirées, parfois même à notre insu :-p) et pour tes talents de réalisateur et ce superbe montage de notre week end lyonnais.*

À Michaël, *MickMick, à tous ses moments mémorables, du « Qu'est ce que tu regardes ?... ÇA :-S » aux fous rires des « Allez viens, allez viens on est bien ! »*

À Grand Nico, Florian, Jo...

À toutes les personnes que j'ai oublié...

À tous,

Je vous dédie ce travail.

Serment d'Hippocrate

« **A**u 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 ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

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 déshonoré et méprisé si j'y manque ».

Table des matières

Liste des Professeurs	2
Remerciements.....	8
Serment d’Hippocrate.....	20
Table des matières	21
Introduction	23
Le cancer de l’endomètre	23
<i>Définition</i>	<i>23</i>
<i>Epidémiologie</i>	<i>23</i>
<i>Histoire naturelle</i>	<i>24</i>
<i>Facteurs de risque.....</i>	<i>24</i>
<i>Circonstances de découverte.....</i>	<i>25</i>
<i>Bilan initial et d’extension</i>	<i>26</i>
<i>Bilan pré thérapeutique</i>	<i>26</i>
<i>Diagnostic anatomopathologique et grades histologiques</i>	<i>26</i>
<i>Sous groupes moléculaires.....</i>	<i>29</i>
<i>Principes thérapeutiques.....</i>	<i>29</i>
<i>Pronostic</i>	<i>29</i>
Les marqueurs de prolifération.....	31
<i>La protéine Ki-67</i>	<i>31</i>
<i>La protéine MCM6 (MiniChromosome Maintenance protein 6).....</i>	<i>31</i>
The Cancer Genome Atlas.....	34
Objectifs	35
Développement du sujet.....	36
Title.....	37
Authors and affiliations	38
Corresponding author	38
Abstract.....	39
Key words.....	39
Introduction	40
Materials and Methods	42
<i>Population, Clinical Data, and Tissues</i>	<i>42</i>
<i>Ethics.....</i>	<i>42</i>
<i>Immunohistochemistry</i>	<i>42</i>
<i>Analyses of TCGA data.....</i>	<i>43</i>
<i>Statistical Analysis</i>	<i>44</i>
Results	45
<i>Population characteristics</i>	<i>45</i>
<i>MCM6 and Ki-67 protein expressions in endometrial adenocarcinoma.....</i>	<i>45</i>
<i>Survival analyses.....</i>	<i>46</i>
<i>Correlation between markers.....</i>	<i>46</i>
<i>Interobserver reproducibility.....</i>	<i>46</i>
<i>Benign endometrium</i>	<i>47</i>
<i>Prognostic value of levels of Ki-67 and MCM6 mRNA in TCGA database and correlation with molecular features.....</i>	<i>47</i>
Discussion.....	49
<i>Clinico-pathological prognostic factors in endometrioid type endometrial neoplasm</i>	<i>49</i>
<i>Significance of MCM6 LI expression vs. Ki-67 LI expression.....</i>	<i>49</i>
<i>Correlation of MCM6 and Ki-67 with molecular subgroups</i>	<i>50</i>
<i>Clinical perspectives.....</i>	<i>51</i>

Conclusion.....	52
Acknowledgements	53
References	54
Tables	58
<i>Table 1. Clinical and histological characteristics.</i>	59
<i>Table 2. MCM6 and Ki-67 mean labeling indexes (LI) according to histologic type, grade, and tumor stage.</i>	60
<i>Table 3. Top 10 GeneOntology functional annotations associated with the upregulation of MCM6 (sorted by fold enrichment)</i>	61
Figures	62
<i>Figure 1.</i>	63
<i>Figure 2.</i>	64
<i>Figure 3.</i>	65
Supplementary Figures	66
<i>Supplementary Figure S1.</i>	67
<i>Supplementary Figure S2.</i>	68
<i>Supplementary Figure S3.</i>	69
<i>Supplementary Figure S4.</i>	70
<i>Supplementary Figure S5.</i>	71
Discussion	72
<i>Facteurs pronostiques dans les adénocarcinomes endométriaux de type endométrioïde</i>	72
<i>Intérêt des marqueurs de prolifération.</i>	72
<i>Corrélation de MCM6 et Ki-67 avec les sous-groupes moléculaires</i>	74
<i>Perspectives cliniques</i>	75
Conclusion.....	76
Bibliographie.....	77
Annexe	83
Annexe Protocole et composition des tampons en immunohistochimie	84
Permis d'imprimer	86

Introduction

Le cancer de l'endomètre

Le cancer de l'endomètre est une pathologie très fréquente du tractus génital féminin, de bon pronostic à un stade précoce, mais l'incidence et la mortalité sont en augmentation chaque année depuis 15 ans (1). Le développement de nouveaux marqueurs pronostiques semble être une voie de recherche prometteuse pour évaluer au mieux ces tumeurs.

Définition

L'endomètre correspond à la muqueuse interne de l'utérus. Il est constitué d'un épithélium prismatique uni-stratifié (cilié ou non selon le stade fonctionnel) avec sa lame basale, des glandes utérines, et d'un tissu conjonctif (ou stroma) hautement spécialisé, riche en cellules contenant les vaisseaux sanguins, notamment les artères spiralées, branches des artères utérines, ainsi qu'un système de drainage veineux (2).

On distingue 2 couches :

- La couche fonctionnelle : elle siège au niveau des 2/3 supérieurs de la muqueuse, d'une épaisseur variable ; elle témoigne des modifications cycliques, et elle est régulièrement éliminée ;
- La couche basale : située en profondeur au niveau du 1/3 inférieur, elle est très peu influencée par le cycle et n'est pas éliminée par desquamation. C'est à partir de celle-ci que se renouvelle la couche fonctionnelle.

Le cancer de l'endomètre est une tumeur maligne primitive qui naît et se développe au dépens de cet endomètre. Il s'agit d'un épithélioma glandulaire, encore appelé adénocarcinome de l'endomètre.

Epidémiologie

C'est un des cancers gynécologiques les plus fréquents. Il se place au sixième rang des cancers chez la femme derrière le cancer du sein, colorectal, du poumon, de la thyroïde et le

mélanome cutané ; soit 4,4% des cancers chez la femme. Il se situe au deuxième rang des cancers gynécologiques, après le cancer du sein (3).

En France, son incidence estimée est de 8125 nouveaux cas en 2015 (soit 11,5 cas pour 100000 femmes) (4). L'âge moyen au diagnostic est de 62,7 ans (5). Il est la 6^{ème} cause de décès en France chez la femme avec 2180 décès recensés en 2015. L'âge moyen au moment du décès est de 76 ans (1).

Souvent diagnostiqué à un stade précoce, il est de relativement bon pronostic. Le risque de décès est associé aux stades avancés et à la présence de métastases (stades III et IV de la classification TNM). L'envahissement ganglionnaire est en lien avec le type histologique, le grade et le pourcentage d'envahissement myométrial (6,7).

Histoire naturelle

Le cancer de l'endomètre est hormono-dépendant, tout particulièrement dans son sous-type endométrioïde. L'hyper-oestrogénie est un facteur important dans son apparition, avec un rôle protecteur de la progestérone. Il se développe le plus souvent (85% des cas) à partir d'un endomètre hyperplasique présentant des atypies cellulaires. Dans 15% des cas, il peut survenir sur un endomètre atrophique (8).

Il se traduit le plus souvent par la survenue dans le temps, selon les différents facteurs d'exposition, de lésions dites précancéreuses ou « in situ ». Elles sont de deux types : l'hyperplasie non atypique (ou glandulo-kystique) évoluant rarement vers la malignité ; en opposition à l'hyperplasie atypique qui est la forme d'évolution la plus fréquente vers le cancer de l'endomètre (9).

Facteurs de risque

Les facteurs de risque sont nombreux et leur majorité est en lien avec un état d'hyper-oestrogénie relative ou absolue (8) :

- L'âge. C'est l'un des facteurs des plus important, 90% des cancers survenant après 50 ans ;
- L'obésité. Elle est présente dans 50 à 80% des cas. Le risque est proportionnel à l'indice de masse corporelle (IMC) et au degré d'obésité (10);
- Le diabète et l'hypertension artérielle (HTA), le syndrome métabolique. Ces pathologies sont trois fois plus présentes que dans la population générale ; étant en étroite liaison avec l'âge et le mode de vie des patientes atteintes (11,12);

- Une période d'activité ovarienne longue (incluant la ménopause tardive et la puberté précoce) et toutes les causes d'anovulation chronique, dont le syndrome des ovaires polykystiques (13);
- La prise d'une oestrogénothérapie post-ménopausique non compensée par un traitement progestatif favorise également le développement du cancer. Dans ce contexte, le risque est augmenté de 2 à 20 fois avec une corrélation en lien avec la durée d'utilisation du traitement ;
- La prise de Tamoxifène. Cette molécule est employée comme traitement adjuvant dans les cancers du sein hormono-dépendants. Le risque relatif (RR) de cancer de l'endomètre chez une patiente traitée pour un cancer du sein par Tamoxifène est de 2 à 3, avec une apparition dans les 4 ans après l'initiation du traitement (14) ;
- Les causes génétiques. Elles sont responsables de moins de 5% des atteintes endométriales. Les principaux gènes connus de prédisposition au cancer de l'endomètre sont les gènes dits MMR (pour mismatch repair) ; ce sont essentiellement les gènes MSH2, MLH1, MSH6 et PMS2, qui sont aussi des gènes de prédisposition au cancer colorectal dans le syndrome HNPCC (Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer). On connaît également d'autres gènes comme PTEN ou TP53 (15) ;
- Une histoire familiale de cancer de l'utérus. Ce risque est estimé à 1,5. Le syndrome de Lynch, ou HNPCC, augmente considérablement ce risque avec une survenue plus précoce (16) ;
- Les antécédents d'irradiation pelvienne ;
- A contrario, la contraception oestro-progestative aurait un effet protecteur avec un RR qui passerait à 0,4. Cet effet persiste quelques années après l'arrêt de la prise des oestro-progestatifs (17).

Circonstances de découverte

La circonstance classique de découverte est la présence de métrorragies post-ménopausiques. Elles sont spontanées, indolores, souvent peu abondantes et irrégulières. C'est le plus souvent le premier symptôme qui amène la consultation. Cela doit toujours faire évoquer ce diagnostic.

Il peut également se manifester par des leucorrhées ou une pyométrie, une pesanteur pelvienne, des troubles urinaires, ou encore une découverte fortuite lors d'un frottis de dépistage ou une échographie pelvienne (18).

Bilan initial et d'extension

Toute métrorragie, notamment post-ménopausique, ou la découverte d'un épaissement endométrial à l'échographique chez la femme ménopausée, nécessitent un examen général et gynécologique, ainsi qu'une exploration endo-utérine par la réalisation de biopsies de l'endomètre ; elles sont réalisées à l'aide d'une pipelle de Cornier ou d'une canule de Novak (19). Ce type de prélèvement permet d'affirmer le diagnostic sans toutefois l'éliminer de manière certaine s'il est négatif.

Le bilan d'imagerie associe une échographie pelvienne par voie endovaginale à un Doppler couleur, à la recherche d'une hypertrophie endométriale. Le seuil est fixé à 4 mm chez une femme ménopausée ; à 8 mm chez une femme ménopausée sous traitement hormonal substitutif ; à 15 mm chez une femme en période d'activité génitale (20).

L'hystérocopie permet une exploration visuelle de la cavité utérine, à but diagnostique. Elle permet de visualiser les lésions et d'évaluer leur extension en surface. Elle est également opératoire car elle permet la réalisation de prélèvements ciblés permettant la confirmation du diagnostic anatomo-pathologique (21).

Bilan pré thérapeutique

En plus de l'examen général et de l'examen gynécologique, comprenant un toucher vaginal et rectal pour évaluer l'envahissement locorégional, on réalisera un bilan d'opérabilité.

Une imagerie par résonance magnétique (IRM) abdominopelvienne étendue aux aires ganglionnaires lombo-aortiques permettra d'évaluer l'extension locorégionale de la tumeur en termes de profondeur d'envahissement du myomètre, et d'éventuels atteintes du stroma du col, du vagin, de la paroi vésicale ou rectale, et d'étudier les annexes. Cet examen permettra aussi l'évaluation du statut ganglionnaire, à la fois pelvien et lombo-aortique (22).

Diagnostic anatomopathologique et grades histologiques

Les cellules endométriales et le stroma sont respectivement à l'origine des adénocarcinomes et des sarcomes. De nombreux types histologiques ont été décrits, mais il faut cependant noter que les tumeurs épithéliales représentent 90% des tumeurs endométriales, parmi lesquelles la plupart sont des adénocarcinomes endométrioïdes. Les recommandations pour la pratique

clinique pour le cancer de l'endomètre éditées par l'Institut National du Cancer (INCa) rappellent la classification histologique des tumeurs de l'endomètre selon deux types :

- Type 1 : tumeurs endométrioïdes pour lesquelles l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a défini trois grades (le grade histopronostique en fonction de l'architecture de la prolifération épithéliale maligne en excluant le contingent épidermoïde, et des atypies).
- Type 2 : carcinomes à cellules claires, carcinomes papillaires / séreux et carcinosarcomes.

Dans notre étude, afin d'homogénéiser la cohorte, nous nous sommes intéressés uniquement aux adénocarcinomes endométrioïdes utérins.

Macroscopie

L'adénocarcinome endométrial survient dans le corps de l'utérus, mais peut également se localiser au niveau du segment inférieur. Indépendamment du type histologique, son apparence macroscopique est celle d'une masse dominante dans un utérus globalement augmenté de volume. Il est vu plus fréquemment au niveau du mur postérieur de la cavité utérine. Le carcinome de l'endomètre est typiquement exophytique, présente une surface souvent ulcérée sous laquelle une tumeur blanche molle ou dure pénètre superficiellement ou profondément dans le myomètre sous jacent.

Dans des cas avancés, la tumeur peut envahir jusqu'à la séreuse et s'étendre en voisinage. Dans de plus rares cas, la tumeur n'est pas visible macroscopiquement ; le carcinome est alors identifié en histologie.

Microscopie

Le carcinome endométrioïde est représenté par un spectre histologique allant du carcinome très différencié, difficile à distinguer de l'hyperplasie endométriale atypique, jusqu'à des tumeurs très peu différenciées.

Une particularité très caractéristique du carcinome endométrioïde est la présence de quelques structures glandulaires ou villo-glandulaires bordées par des cellules cylindriques simples ou pseudostratifiées dont leurs grands axes sont perpendiculaires à la membrane basale avec au moins quelques noyaux allongés polarisés dans la même direction.

Plus la différenciation glandulaire diminue et est remplacée par des amas cellulaires empacés (architecture massive), plus elle est classée comme moins bien différenciée (haut grade).

Classification FIGO

La Fédération Internationale de Gynécologie et Obstétrique (FIGO) a proposé une stadification anatomo-chirurgicale du cancer de l'endomètre qui repose sur le principe d'une prise en charge chirurgicale complète, comportant une hystérectomie totale avec annexectomie bilatérale, lymphadénectomies pelvienne bilatérale et lombo-aortique. Cette démarche part du fait que la connaissance du statut ganglionnaire est un facteur pronostique essentiel dans le cancer de l'endomètre. La dernière en date est de 2009 et est résumée dans la figure 1 (23).

Stade I		Tumeur limitée au corps utérin
	IA	Tumeur limitée à l'endomètre ou ne dépassant pas la moitié du myomètre
	IB	Tumeur envahissant la moitié ou plus du myomètre
Stade II		Tumeur envahissant le stroma cervical mais ne s'étendant pas au-delà de l'utérus
Stade III		Extensions locales et/ou régionales comme suit :
	IIIA	séreuses et/ou annexes
	IIIB	envahissement vaginal et/ou paramétrial
	IIIC	atteinte des ganglions lymphatiques régionaux
	IIIC1	ganglions pelviens
	IIIC2	ganglions para-aortiques ± ganglions pelviens
Stade IV		Extension à la muqueuse vésicale et/ou intestinale et/ou métastases à distance
	IVA	Extension à la muqueuse vésicale et/ou intestinale
	IVB	Métastases à distance incluant les métastases intra-abdominales et/ou ganglions inguinaux

Figure 1. Classification FIGO 2009 (Source OncoColor) (23)

Classification des niveaux de risque

Dans le cadre des dernières recommandations pour la pratique clinique, l'INCa a proposé une classification selon le niveau de risque pour les tumeurs de stade I (FIGO), tenant compte du stade FIGO, du type histologique et du grade (figure 2) (24). Elle a pour but de déterminer la population pour laquelle on pourrait surseoir à la réalisation d'un geste ganglionnaire. Il n'est pas réalisé chez les patientes placées dans le groupe à bas alors qu'il est effectué systématiquement chez les patientes du groupe à haut risque. Il est une option à discuter dans les cas intermédiaires.

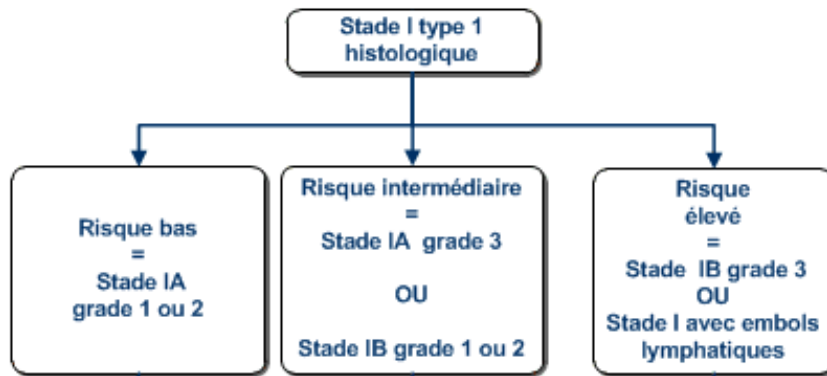


Figure 2. Classification ESMO 2016 (Source : Oncolor) (24)

Sous groupes moléculaires

Les caractéristiques génomiques récentes des carcinomes de l'endomètre permettent une classification en quatre catégories établies par l'équipe de Kandoth *et al.* (25) : POLE ultra-muté, instabilité des microsatellites hyper-muté, nombre de copies faible et nombre de copies élevé. Ces sous groupes moléculaires pourraient avoir un impact sur le traitement adjuvant.

Principes thérapeutiques

Le traitement est essentiellement chirurgical, la chirurgie constituant la première étape du traitement. Elle est le plus souvent associée à de la curiethérapie.

La surveillance comporte un examen clinique tous les 6 mois les trois premières années, puis tous les ans afin de rechercher une récurrence (fond vaginal, région sous urétrale) (26). Il n'y a pas d'indication à faire des examens complémentaires à la recherche de récurrences ou de métastases en l'absence de signes d'appel.

Pronostic

Les différents facteurs pronostiques connus sont :

- L'âge : le pourcentage de décès et de récurrences augmente avec l'âge. Le pronostic est lié à l'opérabilité qui diminue avec l'âge, alors que les taux de formes indifférenciées augmentent.
- Le stade clinique. Des résultats récents (FIGO 2009), portant sur environ 6000 patientes, montrent des taux de survie à 5 ans pour les stades IA, IB, II de 91, 81, 67% respectivement (5); le degré d'infiltration du myomètre, qualifie les stades IA et IB. La survie à 5 ans et le pourcentage de récurrences y sont étroitement corrélés.

- Le grade histologique et le degré de différenciation. Le pronostic est d'autant plus sombre que la tumeur est peu différenciée et le grade histologique élevé.
- L'envahissement ganglionnaire pelvien et lombo-aortique, étroitement corrélé au stade, au degré de différenciation et au degré de pénétration dans le myomètre (27).
- Le type histologique. On remarque 2 formes péjoratives : le carcinome papillaire séreux (qui doit être traité comme une tumeur de l'ovaire) et l'adénocarcinome à cellules claires (pronostic très péjoratif)

Les autres facteurs pronostics sont les critères d'opérabilité (obésité, HTA, diabète, état général, Score ASA). La base du traitement étant chirurgicale, il s'agit de facteurs importants.

Les marqueurs de prolifération

Les marqueurs de prolifération pourraient constituer des marqueurs pronostiques intéressants dans les cancers de l'endomètre. Il en existe différents types dont 2 seront développés dans cet exposé.

La protéine Ki-67

Il s'agit d'une protéine de 360 kDa, présente dans les cellules prolifératives. Elle fut décrite pour la première fois en 1983 par Gerdes *et al.*, suite à des manipulations de cellules de lymphome Hodgkinien chez la souris (28). Le gène codant pour Ki-67 est situé sur le chromosome 10 en position 10q25ter et comprend 15 exons (29).

Elle est exprimée lors de toutes les phases actives du cycle cellulaire (G1, S, G2 et M), et absente dans les phases de quiescence (G0) (30). Sa quantité augmente progressivement tout au long du cycle, en particulier à partir de la phase S, pour diminuer fortement lors des phases ultimes de la mitose (anaphase et télophase) (31,32). Son expression uniquement dans les cellules en cycle en fait un marqueur reconnu d'estimation de la prolifération tumorale. Son taux est corrélé, dans certaines études, à l'évolution clinique. Son niveau de marquage est même un argument décisionnel important dans la prise en charge d'autres cancers comme les carcinomes mammaires, ou les tumeurs neuroendocrines (33–36).

Dans le cancer de l'endomètre, ce marqueur a été étudié dans plusieurs séries et les résultats divergent. Dans la plupart de celles ci, Ki-67 est corrélé au grade, au stade FIGO et à la survie (37–39). Dans certaines d'entre elles, plus récentes, l'expression de Ki-67 n'est corrélée à aucune donnée anatomo-pathologique et n'impacte pas sur la survie (40,41).

La protéine MCM6 (MiniChromosome Maintenance protein 6)

Les protéines MCM sont des facteurs essentiels de l'initiation de la réplication de l'ADN, à l'origine identifiées comme des protéines nécessaires à l'entretien de minichomosomes dans les *Saccharomyces cerevisiae* (42). Les plus connues d'entre elles sont une famille de six protéines structurellement apparentées (MCM2-7), hautement conservées et interagissant les unes avec les autres (43). Elles forment un complexe hexamérique de protéines à l'origine de la réplication de l'ADN, formant une partie du complexe pré-répliatif (42,44–46). Elles seraient également impliquées dans la formation des fourches de réplication et dans le

recrutement d'autres protéines liées à la réplication de l'ADN. Ce complexe MCM a une activité hélicase et intervient au début de la phase S du cycle cellulaire, lors des étapes d'initiation et d'élongation (47–49). La corrélation entre la prolifération cellulaire et l'expression des protéines MCM a été utilisée comme un indicateur de carcinogenèse et pourrait se révéler être un outil pronostique efficace pour certains cancers (50,51).

MCM6 est la plus longue des 6 protéines, composée de 1017 AA (42). Son gène codant est situé sur le chromosome 2 en position 2q21. Il comprend 17 exons (52). MCM6 est donc directement impliquée dans le cycle cellulaire et joue un rôle crucial dans sa régulation. Elle est exprimée des phases G1 à M du cycle cellulaire, mais avec une expression plus précoce au cours de G1 que Ki-67, permettant d'obtenir un marquage d'une proportion plus importante de cellules en cycle (figure 3) (53,54).

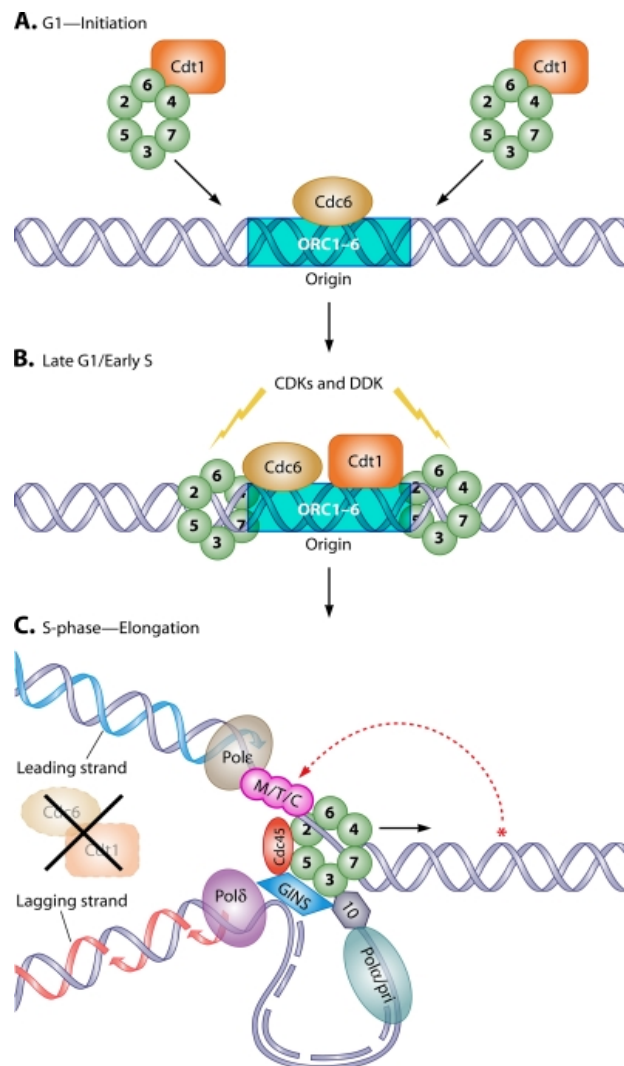


Figure 3. Rôle des protéines MCM 2 à 7 lors des différentes étapes du cycle cellulaire (54)

Dans 2 études réalisées au sein de notre unité de recherche, portant sur les méningiomes ainsi que dans les carcinomes bronchiques non à petites cellules, MCM6 était corrélée significativement au grade histologique ainsi qu'à la survie (55,56).

Deux équipes ont évalué l'intérêt de ce complexe protéique dans les cancers de l'endomètre. La première équipe, menée par Li, a recherché l'impact pronostique de la protéine MCM7 (57). Elle a montré une corrélation significative de MCM7 avec les grades histologiques plus élevés et la survie globale, étudié conjointement à la protéine Ki-67. Les auteurs concluaient en une supériorité de MCM7.

Dans l'étude de Kato *et al.*, l'expression de MCM2 et MCM3 étaient fortement corrélée à la prolifération cellulaire dans les tissus normaux et hyperplasiques, alors que dans les tissus cancéreux, l'expression était plus faible et moins fortement en lien avec la prolifération (58).

The Cancer Genome Atlas

La base de données du TCGA (The Cancer Genome Atlas) est un dispositif mis en place aux Etats-Unis par le National Cancer Institute (NCI) et le National Human Genome Research Institute (NHGRI), et correspond à un travail global et coordonné pour accélérer la compréhension des bases moléculaires du cancer, par l'application des technologies d'analyse du génome, y compris le séquençage à grande échelle.

L'objectif global du TCGA est d'améliorer nos capacités à diagnostiquer, traiter et prévenir le cancer.

Le projet initial consistait à développer et tester, dans un cadre de recherche, l'ensemble du spectre des modifications génomiques impliquées dans un grand nombre de cancers humains (59).

Actuellement, plus de 20 types de cancer ayant un impact important sur la santé individuelle et publique ont été analysés et comparés avec les tissus normaux sur plusieurs niveaux (variations nucléotidiques, nombre de copies de variation, niveau d'expression des gènes, modifications épigénétiques) à l'aide de technologies de pointe et de techniques à haut débit, par un grand consortium de laboratoires, universités et instituts fédéraux. Les données d'acquisitions et d'analyses de l'ADN et le séquençage des ARN constituent la collecte la plus importante dans le TCGA. L'ensemble des données regroupées est rendu accessible gratuitement afin de permettre à des chercheurs partout dans le monde de faire et de valider des recherches importantes (59).

Les participants étaient invités à faire don d'une partie du tissu tumoral qui a été supprimé dans le cadre de leur traitement, avec un échantillon de tissu normal (habituellement du sang). Les échantillons utilisés pour la recherche génomique devaient répondre à un ensemble de critères rigoureux de sorte que le matériel génétique (ADN et ARN) prélevé puisse être utilisé par les technologies d'analyse et de séquençage génomique de pointe.

Nous avons utilisé une cohorte intégrant de nombreuses données de biologie moléculaire (génomique intégrée, transcriptomique, protéomique) et la caractérisation de 373 carcinomes de l'endomètre, publiée dans Nature (25).

Objectifs

Le but de cette étude était de comparer la valeur pronostique et la reproductibilité de MCM6 et de Ki-67 dans les adénocarcinomes de l'endomètre.

Pour ce faire, nous avons corrélé leurs expressions correspondantes à des données clinico-pathologiques et de survie en utilisant une série d'adénocarcinomes endométriaux de type endométrioides à partir de notre cohorte locale composée de 89 cas.

Parallèlement, nous avons effectué des analyses statistiques des données clinico-pathologiques et de survie au sein de la série de carcinomes endométrioides du corps utérin recueillies dans le TCGA (The Cancer Genome Atlas) pour déterminer une corrélation entre les niveaux d'expression en ARNm de ces deux marqueurs et ces paramètres.

Enfin, nous avons étudié dans la cohorte TCGA les voies fonctionnelles associées à la régulation positive de MCM6.

Développement du sujet

Thèse-Article

Cette thèse d'exercice de médecine est présentée sous le format d'une thèse-article.

Title

Minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) expression correlates with histological grade and survival in endometrioid endometrial adenocarcinoma

Authors and affiliations

Judicaël HOTTON^{1,2}

Mikaël AGOPIANTZ, M.D.^{2,3}

*Agnès LEROUX, M.D.*⁴

*Claire CHARRA-BRUNAUD, M.D.*⁵

*Béatrice MARIE, M.D.*⁶

Hélène BUSBY-VENNER, M.D.^{2,6}

*Olivier MOREL, M.D., Ph.D.*¹

Jean-Louis GUEANT, M.D., Ph.D.^{2,7}

Jean-Michel VIGNAUD, M.D., Ph.D.^{2,6}

Shyue-Fang BATTAGLIA-HSU, Ph.D.^{2,7}

Guillaume GAUCHOTTE, M.D., Ph.D.^{2,6}

¹ Department of gynecology and obstetrics, CHRU de Nancy, Nancy, France

² INSERM U954, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

³ Department of medical gynecology, CHRU de Nancy, Nancy, France

⁴ Department of pathology, Institut de Cancérologie de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

⁵ Department of radiotherapy, Institut de Cancérologie de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

⁶ Department of pathology, CHRU de Nancy, Nancy, France

⁷ Department of molecular medicine and personalized therapeutics, department of biochemistry, molecular biology, nutrition and metabolism, CHRU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Corresponding author

Pr Guillaume GAUCHOTTE

Service d'anatomie et cytologie pathologiques

Hôpital Central, CHRU de NANCY

29, avenue de Lattre de Tassigny

54000 NANCY

France

Mail : g.gauchotte@chru-nancy.fr

Tél : +33 3 83 85 13 51

Fax : +33 3 83 85 13 31

Abstract

Minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) is involved in initiating DNA replication, and is upregulated during licensed G0 phase of the cell cycle. This early expression permits its labeling of more proliferating cells than those by Ki-67. Here using a cohort of 89 endometrioid adenocarcinoma, we report findings made on the prognostic value of MCM6 based on immunohistochemical labeling index (LI) of the protein in comparison with that of Ki67 as no such information is currently available. Additionally, we examined the prognostic values of these markers based on their mRNA expression using a cohort of uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC, n=307) taken from The Cancer Genome Atlas (TCGA) database. Our evidence indicated the presence of a positive correlation between the LI of MCM6 and the histological grade of endometrioid endometrial adenocarcinoma (grade I: 66.7%, grade II: 75.3%, grade III: 81.4%; $p < 0.001$), and an inverse correlation between the LI of MCM6 and the overall and progression-free survival ($p = 0.02$ for both). The LI of Ki-67 correlated with grade ($p < 0.001$), but not survival. The MCM6 and Ki-67 inter-observer intra-class correlation coefficients were excellent: 0.84 (95 % confidence interval, 0.83-0.91) and 0.84 (0.77-0.9), respectively. For *in-silico* analyses of the TCGA cohort, both univariate and multivariate Cox analyses ($p = 0.003$ and $p = 0.03$, respectively) revealed high MCM6 mRNA Z-scores associated with reduced overall survival. This association was absent for Ki-67. MCM6 is thus a highly reproducible marker of poor prognosis in endometrial cancer. Evaluation of MCM6 should thus be considered in daily practice for risk stratification.

Key words

Endometrioid adenocarcinoma

Endometrial carcinoma

Immunohistochemistry

Proliferation

MCM6

Ki-67

Introduction

Endometrial cancer is one of the most common gynecological cancers. It ranks fourth among the most frequent cancers in women, after breast, colorectal, and lung cancers [1]. In France, in 2012, the recorded number of new cases was 6852, and that of death was 2148. Its incidence has been increasing during the last 15 years [2]. Most of these cancers are diagnosed after menopause at a mean age of 62.7 years. The five-year overall survival rate is around 80%; however, studies predict that two thirds of the advanced stage patients will die [3, 4]. New markers are thus required to improve the risk assessment for these patients. Currently, histological grade and degree of myometrial invasion (included also in the FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) staging [5]) are the only pathological criteria used to predict the prognosis and to determine the therapeutic strategy. Tumor proliferation markers, including Ki-67, are not routinely used in endometrial cancer as previous studies failed to demonstrate their reliabilities as prognostic markers associated with either tumor progression or survival [6–9]. The most frequent mutations associated with these cancers include TP53. Interestingly, loss of expression of certain genes like MSH6 and PMS2 appear to increase the lifetime risk to endometrial cancers. Recent genomic features of endometrial carcinomas permit a classification into four categories: *POLE* ultramutated, microsatellite instability hypermutated, copy number low, and copy number high alterations that may impact adjuvant treatment.

MCM (Minichromosome Maintenance) family proteins are highly conserved hexameric complex of DNA-binding proteins [10]. MCMs initiate DNA replication once during the cell cycle and represent a convergence between the multiple signaling pathways involved in cell growth [10–12]. Unlike Ki-67, they are expressed prior to G1 phase of the cell cycle; consequently, anti-MCMs antibodies label more cells than anti-Ki-67 antibodies [12]. In lung carcinoma and meningioma, the immunohistochemical labeling index (LI) of minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) correlates positively with histological grade / subtype and inversely with survival [13, 14]. In endometrial cancer, the prognostic value of MCM6 has not yet been evaluated; however, two studies reported the prognostic value of other MCM complex [15, 16]. In the study by Li *et al.*, MCM7 expression correlated positively with histological grade and was inversely related to survival. In Kato *et al.*, the expressions of MCM2 and MCM3 correlated highly with cell proliferation in normal and hyperplastic tissues; however, in cancer tissues, the expression was weaker and less

strongly linked to proliferation [17]. The reproducibility of these markers, notably MCM6, was not evaluated in either study.

The purpose of this study was to compare the prognostic value and the reproducibility of MCM6 *vs.* Ki-67 in endometrial carcinoma. To do so, we correlated their expressions with the corresponding clinicopathological and survival data using a series of endometrioid endometrial adenocarcinoma from our local biobank (see Materials and Methods). In parallel, we performed *in silico* analyses in a series of uterine corpus endometrial carcinoma (UCEC) taken from TCGA (The Cancer Genome Atlas) to determine possible correlation between the mRNA levels of these two markers and the clinical parameters. Finally, we investigated in the TCGA cohort the functional pathways associated with MCM6 upregulation.

Materials and Methods

Population, Clinical Data, and Tissues

Eighty-nine consecutive cases of endometrioid endometrial adenocarcinoma between the 6th January 2000 and the 12th June 2008 were retrieved from the files of the Department of Pathology (CHRU, Nancy, France) (Table 1). Thirty-eight non-malignant endometrial samples were also retrieved, including normal endometrial tissues in proliferation phase (n=5) and in secretory phase (n=7), and cases of non-atypical (n=13) and atypical (n=13) hyperplasia.

The histological diagnosis was checked by microscope. For the cancer samples under consideration, their histological subtypes and grades based on the criteria of WHO (World Health Organization) classification, myometrial invasion, lymphovascular space, and local and nodal invasions were reviewed by two experienced pathologists. A representative formalin-fixed paraffin embedded tissue block was selected for each case.

The main clinical data were collected retrospectively from the Department of Gynecological Surgery (CHRU de Nancy, France) and the Department of Radiotherapy (Institut de Cancérologie de Lorraine, France). Tumor, node, metastases (TNM), and FIGO stages were determined. ESMO risk groups (European Society for Medical Oncology) in early stage endometrial cancer were defined as: low-risk group (type 1 histology stage IA grade 1-2 without lymphovascular space invasion), intermediate-risk group (type 1 histology stage IB grade 1-2 without lymphovascular space invasion), and high-risk group (type 1 histology stage IA–IB grade 3 and/or presence of lymphovascular space invasion) [18, 19].

Ethics

The experiments reported here were carried out according to the principles of the Declaration of Helsinki and in agreement with the French laws on biomedical research (institutional review board number DC2008-459; CNIL declaration number 1209171).

Immunohistochemistry

Paraffin sections (5 µm) were immersed in a 10mM sodium citrate buffer (pH 6) for 20 minutes at 97°C for dewaxing and antigen retrieval. Staining for MCM6 and Ki-67 was

achieved using primary anti-MCM6 (1/400; goat polyclonal, Santa Cruz Biotechnology, Heidelberg, Germany) and anti-Ki-67 (1/200; mouse monoclonal, MIB-1, Dako Cytomation, Glostrup, Denmark) antibodies. Immunohistochemistry was performed with Dako Autostainer Plus (Dako) and a Flex+Envision revelation system (Dako). Negative and positive controls were used throughout the experiment.

The LIs of MCM6 and Ki-67 were defined by the percentage of cells showing nuclear expression, counting 500 cells in hot spots [13]. Clear nuclear marking independent of its intensity was considered sufficient and positive. Scorings were performed independently by two observers (J.H. and M.A.) blinded to the condition and clinical data. Mean values were then calculated. The two observers re-evaluated samples with large discrepancies in ratings ($\geq 20\%$); mean values were taken after re-ratings. Reproducibility calculations were performed based on the initial ratings of all samples. Staining for p53, MSH6, and PMS2 were evaluated with the following primary antibodies: p53 (1/60; mouse monoclonal, DO7, Novocastra, Newcastle, UK), MSH6 (ready-to-use; rabbit monoclonal, EP49, Dako Cytomation, Glostrup, Denmark), and PMS2 (ready-to-use; rabbit monoclonal, EP51, Dako Cytomation). A tumor was scored positive for p53, when the nuclear labeling was moderate to strong in more than 80% of tumor cells [20, 21]. The expression of MSH6 and PMS2 was considered lost if their nuclear staining in tumor cells was completely absent under the presence of internal positive controls in normal endometrium, stromal cells, or lymphocytes [22, 23].

Analyses of TCGA data

Data from TCGA UCEC cohort, initially published in Nature, were retrieved using cBioPortal [24]. These included clinical information, main molecular features, mRNA Z-scores (RNASeqV2) of both MCM6 and MKI67 (Ki-67), and molecular subgroups (n=373) [24]. The correlations of Z-score with clinicopathological data were analyzed in 307 cases of endometrioid adenocarcinomas for both MCM6 and Ki67 after excluding serous and clear cell subtypes. In cases with MCM6 mRNA Z-scores greater than 1 (cBioPortal), the significantly enriched mRNAs in these cases were selected (cBioPortal enrichment tool [24]) for further analyses of their relevant functional pathways using Gene Ontology (GO) database [25].

Statistical Analysis

Wilcoxon (two modalities) and Kruskal-Wallis tests (more than two modalities) with Dunn's post-test analysis were used for quantitative variables. A p-value of 0.05 was accepted as significant. Correlation between markers was evaluated by Spearman score. To test the reliability of nuclear scoring between the two examiners, the intra-class correlation coefficient (ICC) was calculated, with the 95% confidence interval (CI 95%). Survival functions were performed with univariate and multivariate proportion hazard test Cox models, the Kaplan-Meier method, and the Log-rank test (threshold for quantitative variables: median and 75th percentile). All statistical analyses were performed using the free R software (version 3.2.4) and its additional packages: PMCMR (pairwise multiple comparisons of mean rank sums), survival, and ICC [26–29].

Results

Population characteristics

The clinical and histological characteristics of the cases of endometrial adenocarcinoma studied are shown in Table 1. The mean age of the patients at diagnosis is 66.8 years old. The patients presented classical risk factors for endometrial carcinomas, including obesity (43.8%), overweight (18%), hypertension (54%), and diabetes (18%). The large majority of patients were post-menopausal (80.9%).

The distribution of histological grade was 43.8%, 43.8%, and 12.4% for grade 1, grade 2, and grade 3, respectively. Most tumors were of FIGO stage I (79.8%), and 9% of the patients had metastasis. Myometrial invasion of greater than 50% was found in 40.4% of the cases. Forty-three patients (51.2%) were in low-risk ESMO group, and 19 (22.6%) intermediate-risk group and 22 (26.2%) high-risk group. Lymph node dissection was performed in 54 cases and was positive in four cases (7.4%). Ten (11.2%) women died as a result of endometrial carcinoma.

MCM6 and Ki-67 protein expressions in endometrial adenocarcinoma

The LI of MCM6 and Ki-67 in the endometrial endometrioid tumors retrieved were analyzed as described in Methods. The results are detailed in Table 2. The LIs were globally much greater for MCM6 (mean: 72.3%) than for Ki-67 (16.8%) (Figure 1). In addition, Ki-67 labeled cells increased moderately with grades (12.3% in grade 1, 19.6% in grade 2, and 23.1% in grade 3, $p < 0.001$; Dunn's post-test) (Figure 2). This correlation, however, is less dramatic than that observed for MCM6. The LI of the latter increased much steeply with grade, with 66.7%, 75.3% and 81.4% for grade 1, 2, and 3 endometrial endometrioid tumors, respectively ($p < 0.001$; Dunn's post-test) (Figure 2). Furthermore, MCM6 expression correlated significantly with the FIGO tumor stage (Kruskal-Wallis test, $p = 0.03$), with a mean expression of 70.8% in stage I vs. 78.8% in stages II/III and 77.4% in stage IV. No significant correlation between Ki-67 expression and FIGO tumor stage was found (Kruskal-Wallis test, $p = 0.06$). Finally, MCM6 LI was significantly associated with ESMO risk, with MCM6 LI of 78.1% in high-risk group vs. 70.4% in intermediate-risk groups and 69.3% in low-risk ($p = 0.01$; Kruskal-Wallis test). Similar correlation was found for Ki-67, however, with lower percentage of labeling in each risk group (19.9% in high-risk group vs. 14.8% in intermediate-risk and 14.6% in low-risk groups, $p = 0.04$; Kruskal-Wallis test).

We also performed immunohistochemistry for p53, MSH6 and PMS2. P53 was expressed in 10.7% of the cases (9/84). A loss of MSH6 and PMS2 expression was found in 8% (7/88) and 15.9% (14/88) of the cases, respectively. Interestingly, MCM6 LI ($p=0.003$) was significantly higher in p53 positive tumors, but no such association for Ki-67 LI ($p=0.23$) (Supplementary Figure S1). MCM6 LI correlated also significantly with a loss of MSH6 and / or PMS2 ($p=0.03$), but again no such association was found for Ki-67 ($p=0.41$) (Supplementary Figure S2).

Survival analyses

Vaginal extension, myometrial invasion, and FIGO tumor stage all correlated significantly with overall survival (OS, $p<0.001$; log-rank tests). The presence of metastases was also a significant marker of poor prognosis (OS, $p<0.001$; log-rank). Histological grade was correlated neither with OS (log-rank test, $p=0.1$; log-rank) nor with progression-free survival (PFS) ($p=0.5$; log-rank).

Using log-rank test, higher MCM6 LI correlated significantly with shorter OS ($p=0.02$) and PFS ($p=0.02$) (threshold: LI = 73%, median). Using univariate Cox model analysis, for cases with MCM6 LI above the median (73%), it correlated also significantly with OS (Hazard Ratio (HR) = 4.8 [CI 95%: 1.1 - 22.8], $p=0.04$), and showed a borderline significance for PFS (HR = 8.0 [CI 95%: 1 - 65], $p=0.05$). In multivariate Cox regression analysis, in a model combining grade and stage, MCM6 LI did not remain significantly associated with OS ($p=0.14$). In contrast, Ki-67 LI was correlated neither with OS (log-rank test, $p=0.79$) nor with PFS (log-rank test, $p=0.74$) (Figure 3).

Correlation between markers

The Spearman test showed a strong correlation between MCM6 and Ki-67, with a rho coefficient measured at 0.55 ($p<0.001$) (Supplementary Figure S3).

Interobserver reproducibility

The ICC was very good for MCM6 LI, with a value of 0.84 (CI 95% [0.83 - 0.91]), as well as for Ki-67 LI (0.84 [CI 95%: 0.77 - 0.90]).

Benign endometrium

In benign endometrial tissues, we found significantly higher LIs during proliferative phase compared secretory phase, for Ki-67 (41% vs. 6%, $p=0.002$) and MCM6 (93% vs. 57%, $p=0.001$). However, between atypical and non-atypical hyperplasia, the LIs of Ki-67 and MCM6 showed no significant difference (Ki-67: 15% vs. 16%, $p=0.8$; MCM6: 61% vs. 66% $p=0.8$). Similarly, no difference in the LI of Ki-67 vs. that of MCM6 was noted between atypical hyperplasia and grade 1 adenocarcinoma (Ki-67: 12% vs. 11%, $p=0.46$; MCM6: 61% vs. 69%, $p=0.43$).

Prognostic value of levels of Ki-67 and MCM6 mRNA in TCGA database and correlation with molecular features

Excluding non-endometrioid subtypes, 307 out of the 377 (82.3%) TCGA multicenter UCEC cohort are endometrioid carcinomas. The mean age of this cohort is 62 years. Among the 307 cases, 231 were FIGO stage classified: stage I (75.4%), 18 stage II (5.8%), 45 stage III (14.6%), 10 stage IV (3.2%), and three with unknown stage (1%). These include 89 (29%) cases of grade 1, 106 (34.5%) of grade 2, and 112 (36.5%) of grade 3.

Upon further analyses of the 307 cases, we identified a positive correlation between the mRNA level of both MCM6 and Ki-67 and the tumor grade (Kruskal-Wallis test, $p<0.001$ for both). In addition, using Cox model we found an association between high MCM6 mRNA Z-scores and shorter OS ($p=0.003$), but not PFS ($p=0.2$). Equally, with log-rank test we unveiled an inverse correlation between MCM6 mRNA level above the 75th percentile and OS (log-rank test: $p=0.04$), but not with PFS (log-rank test: $p=0.14$) (Supplementary Figure S4). Interestingly, Ki-67 mRNA Z-score correlated neither with OS ($p=0.2$) nor with PFS ($p=0.46$) (univariate Cox model). Regarding the 4 molecular subgroups defined in UCEC TCGA database, MCM6 and Ki-67 mRNA were significantly less expressed in the low copy-number alterations subgroup ($p<0.001$). There were no differences between the other subgroups ($p=1$) (Supplementary Figure S5) [24].

We examined further the functional annotations of the genes co-expressed with either MCM6 or Ki-67. In cases with MCM6 Z-score greater than 1, 1783 genes were found upregulated and 2375 downregulated. The most significant functional annotations of the upregulated genes associating with MCM6 overexpression included DNA strand elongation involved in DNA replication ($p=8.72E-7$), protein localization to chromosome centromeric region

($p=9.76E-5$), telomere maintenance via recombination ($p=2.19E-7$), CENP-A containing chromatin organization ($p=2.48E-9$), tRNA export from nucleus ($p=2.19E-10$), mitotic chromosome condensation ($p=4.4E-3$), and DNA replication initiation ($p=8.94E-11$) (fold enrichment > 8 for all) (Table 3). Functional annotations of the downregulated genes included regulation of cytosolic calcium ion concentration ($p=2.3E-2$), extracellular matrix organization ($p=7.41E-3$), G-protein coupled receptor signaling pathway ($p=1.48E-18$), cell-cell adhesion ($p=1.1E-3$), and inflammatory response ($p=9.85E-3$) (Table 3).

Discussion

Clinico-pathological prognostic factors in endometrioid type endometrial neoplasm

Endometrioid type endometrial adenocarcinoma, the most frequent histological type, has good prognosis since a large majority can be diagnosed at an early stage [30]. Five-year survival rate is about 80% for stage I, but decreases to 30% for stage III and 10% for stage IV [31].

The main prognostic factors are age, operability, histological grade, histological type, degree of myometrial invasion, presence of lymphovascular space invasion and lymph node invasion [32]. To date, no additional prognostic marker was validated in these tumors.

Significance of MCM6 LI expression vs. Ki-67 LI expression

Ki-67 is a proliferation marker whose prognostic value in endometrial cancer remains unclear. In several studies, a significant association between Ki-67 LI and histological criteria of malignancy and survival was reported [6–8], whereas in another no significant correlation was found [9]. In our study here, Ki-67 correlates indeed with histological grade, but shows no significant correlation with survival. Given the fact that the inter-observer reproducibility is general good for Ki-67, the variability reported by different groups [33] may stem from technical problems like variations in fixation time and antigen unmasking procedure, but it may also be caused by the relatively low labeling index. As Ki-67 is upregulated in late G1 phase, anti-Ki-67 antibody does not label all proliferating cells, particularly those exiting quiescent G0 for entry into early G1 phase [34]. Given that maximum Ki-67 labeled regions in tumor slices may be difficult to locate, differentiating cases of good from those of poor prognosis based on only few percentage of differences in Ki-67 LI can be a challenging task. This could probably explain the difficulties encountered in using Ki-67 for prognostic purpose in uterine tumors in clinical practice.

MCM, as part of the replicative complex, plays a critical role in initiation of DNA replication [12]. The proliferative index evaluated with anti-MCM6 antibodies correlates highly with that obtained via anti-Ki-67. However, MCM6 is superior marker in that much higher LI can be achieved [35, 36]. Indeed, MCM6 is expressed in the cell cycle much earlier [37, 38] than Ki-67. A couple of studies have analyzed other markers of the MCM complex such as MCM2, MCM3, and MCM7 in endometrial cancers. Li *et al.* demonstrated a positive correlation between MCM7 expression and histological grade, and an inverse correlation with survival.

They also compared MCM7 with Ki-67, and concluded that MCM7 was superior [16]. MCM2 and MCM3, studied by Kato *et al.*, correlated significantly with Ki-67 in normal and hyperplastic tissue, but to a lesser degree, in the cases of endometrial cancer. Paradoxically, these two markers were found expressed at higher level in endometrium during endometrial proliferative phase than in tumor tissue, suggesting the existence of abnormalities in the replication system in endometrial adenocarcinomas [15]. To the best of our knowledge, our study here represents the first evaluation on the expression of MCM6 in endometrial cancer. We found strong correlations between MCM6 labeling, histological grade, and tumor stage. This overexpression also correlated inversely with overall survival and recurrence-free survival. Our results, using immunohistochemistry on a French cohort, mirror those obtained using *in silico* analyses performed on the database of endometrioid endometrial adenocarcinoma stored in TCGA. On the contrary, no similar correlation on both the grade and survival can be found based on Ki-67 mRNA level reported in the TCGA UCEC cohort. Mechanistic reasons for the absence of correlation for Ki-67 may include alteration in translational efficacy for Ki-67 mRNA.

Correlation of MCM6 and Ki-67 with molecular subgroups

Alteration of certain gene expression may correlated with tumor grade and / or survival. Tumor suppressor gene TP53 encodes protein p53 essential for cell cycle regulation [39]. Its mutation is responsible for cell growth stimulation and tumor progression. Mutated TP53 is thus often overexpressed in tumors. In higher-grade endometrioid tumors, overexpression of mutated TP53 is not only widely observed [40], but also associated with high histological grades/stages and low survival [41–44]. In our study, p53 overexpression was found significantly associated with higher MCM6 and Ki-67 expressions. In addition to TP53 mutations, microsatellite instability stemmed from DNA mismatch repair (MMR) as a result of loss of function mutations of MMR regulatory genes, including MSH2, MLH1, MSH6, and PMS2, is linked to endometrioid cancers as well Lynch syndrome [45, 46]. It is worth noting that MSH6 gene mutations associate most often with familial endometrial cancer and the presence of deficient MMR in endometrioid type endometrial carcinoma is linked to poor prognosis and high tumor grade [47, 48]. In the cohort studied here, we indeed found a positive correlation between MCM6 overexpression and MMR protein deficiency ($p=0.03$). Finally, our analyses on the UCEC cohort of TCGA also support the positive correlation between MCM6 expression and tumors with pejorative molecular features. Indeed, MCM6

level was higher in POLE, MSI and high level of copy-number alterations groups than in the low copy number alteration molecular group [24]. Our analyses of the TCGA cohort revealed also that tumors with MCM6 overexpression have significant enrichments of mRNAs with functions like DNA replication and elongation, centromere and mitotic process, supporting thus the roles of MCM6 in cell cycle. Interestingly, the MCM6-enriched tumors expressed significantly less gene functions in matrix organization, cell adhesion and immune response. Mechanistic studies are needed to understand these original results [25].

Clinical perspectives

Our data here support the idea of using the labeling index of proliferation marker MCM6 in addition to the classically used criteria for prognostic determination of endometrioid endometrial carcinoma, and for follow-ups on interventions such as surgical and adjuvant therapies. Additionally, as reproducibility is an important factor in the evaluation of a new prognostic marker, we calculated the inter-observer reproducibility of MCM6 by calculating the ICC. Our results indicated that MCM6 is as good as Ki-67 in reproducibility (ICC=0.84 for both). However, further studies are needed to evaluate the inter-laboratory reproducibility. As MCM6 is a low cost, easy-to-use, and highly reproducible prognostic marker, it shall be considered as a new prognostic marker for a routine utilization in endometrial endometrioid carcinoma.

Conclusion

This study is the first to assess the prognostic value of MCM6 in endometrial cancer, and the results presented here indicate significant correlations existing between the level of the highly reproducible MCM6 labeling and the tumor grade as well as survival. MCM6, by virtue of its higher expression level, shows comparatively non-ambiguous labeling relative to Ki-67; it thus appears as a good candidate marker for the adoption for routine diagnostic distinction tool and for follow-ups for therapeutic interventions of endometrial adenocarcinoma.

Acknowledgements

The authors thank all members of Pathology Departments of CHRU (Nancy) and Institut de Cancérologie de Lorraine (Vandoeuvre-lès-Nancy) for their technical support, and Ms. Magali LEFEBVRE and Delphine CLABAUT for their advices.

Results are in part generated by the data extracted from the database of TCGA Research Network: <http://cancergenome.nih.gov/>.

Compliance with ethical standards

The experiments reported here were carried out according to the Declaration of Helsinki principles and in agreement with the French laws on biomedical research (institutional review board n°DC2008-459; CNIL declaration n°1209171).

Funding

No sources of funding were received for this study.

Conflict of interest statement

The authors declare that they have no conflict of interest.

References

1. Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2016) Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin* 66:7–30. doi: 10.3322/caac.21332
2. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, et al (2013) Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer Oxf Engl* 1990 49:1374–1403. doi: 10.1016/j.ejca.2012.12.027
3. Fleming GF, Brunetto VL, Cella D, et al (2004) Phase III trial of doxorubicin plus cisplatin with or without paclitaxel plus filgrastim in advanced endometrial carcinoma: a Gynecologic Oncology Group Study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 22:2159–2166. doi: 10.1200/JCO.2004.07.184
4. Thigpen JT, Brady MF, Homesley HD, et al (2004) Phase III trial of doxorubicin with or without cisplatin in advanced endometrial carcinoma: a gynecologic oncology group study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol* 22:3902–3908. doi: 10.1200/JCO.2004.02.088
5. Petru E, Lück H-J, Stuart G, et al (2009) Gynecologic Cancer Intergroup (GCIg) proposals for changes of the current FIGO staging system. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 143:69–74. doi: 10.1016/j.ejogrb.2008.12.015
6. Salvesen HB, Iversen OE, Akslen LA (1998) Identification of high-risk patients by assessment of nuclear Ki-67 expression in a prospective study of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res* 4:2779–2785.
7. Gassel AM, Backe J, Krebs S, et al (1998) Endometrial carcinoma: immunohistochemically detected proliferation index is a prognosticator of long-term outcome. *J Clin Pathol* 51:25–29.
8. Oreskovic S, Babic D, Kalafatic D, et al (2004) A significance of immunohistochemical determination of steroid receptors, cell proliferation factor Ki-67 and protein p53 in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol* 93:34–40. doi: 10.1016/j.ygyno.2003.12.038
9. Chakravarty D, Gupta N, Goda JS, et al (2010) Steroid receptors, HER2/neu and Ki-67, in endometrioid type of endometrial carcinoma: Correlation with conventional histomorphological features of prognosis. *Acta Histochem* 112:355–363. doi: 10.1016/j.acthis.2009.03.001
10. Tye BK (1999) MCM proteins in DNA replication. *Annu Rev Biochem* 68:649–686. doi: 10.1146/annurev.biochem.68.1.649
11. Ritzi M, Baack M, Musahl C, et al (1998) Human minichromosome maintenance proteins and human origin recognition complex 2 protein on chromatin. *J Biol Chem* 273:24543–24549.

12. Romanowski P, Madine MA (1997) Mechanisms restricting DNA replication to once per cell cycle: the role of Cdc6p and ORC. *Trends Cell Biol* 7:9–10. doi: 10.1016/S0962-8924(97)30077-4
13. Vigouroux C, Casse J-M, Battaglia-Hsu S-F, et al (2015) Methyl(R217)HuR and MCM6 are inversely correlated and are prognostic markers in non small cell lung carcinoma. *Lung Cancer Amst Neth* 89:189–196. doi: 10.1016/j.lungcan.2015.05.008
14. Gauchotte G, Vigouroux C, Rech F, et al (2012) Expression of minichromosome maintenance MCM6 protein in meningiomas is strongly correlated with histologic grade and clinical outcome. *Am J Surg Pathol* 36:283–291. doi: 10.1097/PAS.0b013e318235ee03
15. Kato K, Toki T, Shimizu M, et al (2003) Expression of replication-licensing factors MCM2 and MCM3 in normal, hyperplastic, and carcinomatous endometrium: correlation with expression of Ki-67 and estrogen and progesterone receptors. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol* 22:334–340. doi: 10.1097/01.pgp.0000092129.10100.5e
16. Li SS, Xue WC, Khoo US, et al (2005) Replicative MCM7 protein as a proliferation marker in endometrial carcinoma: a tissue microarray and clinicopathological analysis. *Histopathology* 46:307–313. doi: 10.1111/j.1365-2559.2005.02069.x
17. Sun H, Yan L, Tu R, et al (2016) Expression Profiles of Endometrial Carcinoma by Integrative Analysis of TCGA Data. *Gynecol Obstet Invest*. doi: 10.1159/000445073
18. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, et al (2016) ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc* 26:2–30. doi: 10.1097/IGC.0000000000000609
19. Ouldamer L, Bendifallah S, Body G, et al (2017) Call for Surgical Nodal Staging in Women with ESMO/ESGO/ESTRO High-Intermediate Risk Endometrial Cancer: A Multicentre Cohort Analysis from the FRANCOGYN Study Group. *Ann Surg Oncol* 24:1660–1666. doi: 10.1245/s10434-016-5731-0
20. Alkushi A, Lim P, Coldman A, et al (2004) Interpretation of p53 immunoreactivity in endometrial carcinoma: establishing a clinically relevant cut-off level. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol* 23:129–137.
21. Alvarez T, Miller E, Duska L, Oliva E (2012) Molecular profile of grade 3 endometrioid endometrial carcinoma: is it a type I or type II endometrial carcinoma? *Am J Surg Pathol* 36:753–761. doi: 10.1097/PAS.0b013e318247b7bb
22. Orbo A, Nilsen MN, Arnes MS, et al (2003) Loss of expression of MLH1, MSH2, MSH6, and PTEN related to endometrial cancer in 68 patients with endometrial hyperplasia. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol* 22:141–148.
23. Djordjevic B, Barkoh BA, Luthra R, Broaddus RR (2013) Relationship between PTEN, DNA mismatch repair, and tumor histotype in endometrial carcinoma: retained positive expression of PTEN preferentially identifies sporadic non-endometrioid carcinomas. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc* 26:1401–1412. doi: 10.1038/modpathol.2013.67

24. Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, et al (2013) Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 497:67–73. doi: 10.1038/nature12113
25. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al (2000) Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet* 25:25–29. doi: 10.1038/75556
26. R Core Team (2015) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
27. Therneau T (2015) *_A Package for Survival Analysis in S_*. version 2.38.
28. Pohlert T (2014) The Pariwise Multiple Comparison of Mean Ranks Package (PMCMR). R package.
29. Wolak ME, Fairbairn DJ, Paulsen YR (2012) Guidelines for Estimating Repeatability. *Methods in Ecology and Evolution* 3(1):129–137.
30. Sorosky JI (2008) Endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 111:436–447. doi: 10.1097/AOG.0b013e318162f690
31. Narducci F, Lambaudie E, Sonoda Y, et al (2003) [Endometrial cancer: what’s new?]. *Gynecol Obstet Fertil* 31:581–596.
32. Soslow RA, Bissonnette JP, Wilton A, et al (2007) Clinicopathologic analysis of 187 high-grade endometrial carcinomas of different histologic subtypes: similar outcomes belie distinctive biologic differences. *Am J Surg Pathol* 31:979–987. doi: 10.1097/PAS.0b013e31802ee494
33. Mengel M, von Wasielewski R, Wiese B, et al (2002) Inter-laboratory and inter-observer reproducibility of immunohistochemical assessment of the Ki-67 labelling index in a large multi-centre trial. *J Pathol* 198:292–299. doi: 10.1002/path.1218
34. Verheijen R, Kuijpers HJ, van Driel R, et al (1989) Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen. II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. *J Cell Sci* 92 (Pt 4):531–540.
35. Chatrath P, Scott IS, Morris LS, et al (2006) Immunohistochemical estimation of cell cycle phase in laryngeal neoplasia. *Br J Cancer* 95:314–321. doi: 10.1038/sj.bjc.6603262
36. Scott IS, Morris LS, Bird K, et al (2003) A novel immunohistochemical method to estimate cell-cycle phase distribution in archival tissue: implications for the prediction of outcome in colorectal cancer. *J Pathol* 201:187–197. doi: 10.1002/path.1444
37. Kingsbury SR, Loddo M, Fanshawe T, et al (2005) Repression of DNA replication licensing in quiescence is independent of geminin and may define the cell cycle state of progenitor cells. *Exp Cell Res* 309:56–67. doi: 10.1016/j.yexcr.2005.05.027
38. Eward KL, Obermann EC, Shreeram S, et al (2004) DNA replication licensing in somatic and germ cells. *J Cell Sci* 117:5875–5886. doi: 10.1242/jcs.01503

39. Levine AJ, Momand J, Finlay CA (1991) The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 351:453–456. doi: 10.1038/351453a0
40. Schultheis AM, Martelotto LG, De Filippo MR, et al (2016) TP53 Mutational Spectrum in Endometrioid and Serous Endometrial Cancers. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol* 35:289–300. doi: 10.1097/PGP.0000000000000243
41. Kohler MF, Carney P, Dodge R, et al (1996) p53 overexpression in advanced-stage endometrial adenocarcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 175:1246–1252.
42. Kohlberger P, Gitsch G, Loesch A, et al (1996) p53 protein overexpression in early stage endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 62:213–217. doi: 10.1006/gyno.1996.0218
43. Ozalp S, Yalcin OT, Tanir HM, et al (2003) p53 overexpression as a prognostic indicator in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 24:275–278.
44. Kudela M, Pilka R, Lubusky M, et al (2012) Prognostic importance of selected molecular immunohistochemical markers and DNA ploidy in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 33:159–163.
45. Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, et al (1997) Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 17:271–272. doi: 10.1038/ng1197-271
46. Nicolaides NC, Papadopoulos N, Liu B, et al (1994) Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 371:75–80. doi: 10.1038/371075a0
47. An HJ, Kim KI, Kim JY, et al (2007) Microsatellite instability in endometrioid type endometrial adenocarcinoma is associated with poor prognostic indicators. *Am J Surg Pathol* 31:846–853. doi: 10.1097/01.pas.0000213423.30880.ac
48. Nelson GS, Pink A, Lee S, et al (2013) MMR deficiency is common in high-grade endometrioid carcinomas and is associated with an unfavorable outcome. *Gynecol Oncol* 131:309–314. doi: 10.1016/j.ygyno.2013.08.003

Tables

Table 1. Clinical and histological characteristics.

Clinical data (n = 89)	Mean \pm SD (Standard Deviation) or percentage of patients (n)
Age (years)	66.8 \pm 11.0
Reproductive period (years)	38.3 \pm 4.6
Body Mass Index (kg/m ²)	29.7 \pm 7.7
Hypertension	54.5% (48)
Diabetes	18.2% (16)
Breast carcinoma	11.4% (10)
Mean menopausal age	51.9 \pm 3.6
Menopause hormone therapy	20.4% (18)
FIGO Stage	
I	79.8% (71)
II	2.2% (2)
III	9% (8)
IV	9% (8)
Histological Grade	
1	43.8% (39)
2	43.8% (39)
3	12.4% (11)
Histological Characteristics	
Myometrial invasion \geq 50%	40.4% (36)
Lymphovascular space invasion	20.2% (18)
Lymph nodes invasion	7.4% (4)
Adjuvant therapy	
Brachytherapy	80.7% (67)
Radiotherapy	21.9% (18)
Chemotherapy	7.1% (5)
Evolution	
Mean period of follow up (months)	47.5 \pm 34.6
Progression	9% (8)
Death	11.2% (10)

FIGO; International Federation of Gynecology and Obstetrics

Table 2. MCM6 and Ki-67 mean labeling indexes (LI) according to histologic type, grade, and tumor stage.

	N	MCM6		Ki-67	
		Mean LI	<i>p</i>	Mean LI	<i>p</i>
Histological type	89				
Endometrioid adenocarcinoma	89	72.9%		18.3%	
Histological grade	89				
Grade 1	39	66.7%		12.3%	
Grade 2	39	75.3%		19.6%	
Grade 3	11	81.4%	<0.001	23.1%	<0.001
FIGO tumor stage	89				
Stage I	71	70.7 %		15.7 %	
Stages II/III	10	78.8 %		22.4 %	
Stage IV	8	77.4%	0.03	19.4%	0.06

FIGO; International Federation of Gynecology and Obstetrics. MCM6; minichromosome maintenance complex component 6. Ki-67; marker of proliferation Ki-67.

Table 3. Top 10 GeneOntology functional annotations associated with the upregulation of MCM6 (sorted by fold enrichment)

GO biological process complete	Fold enrichment	<i>p-value</i>
Upregulated in MCM6 overexpressing tumors		
DNA strand elongation involved in DNA replication (GO:0006271)	9.78	8,72E-07
Protein localization to chromosome, centromeric region (GO:0071459)	9.39	9,76E-05
Telomere maintenance via recombination (GO:0000722)	8.72	2,19E-12
DNA strand elongation (GO:0022616)	8.67	3,19E-07
CENP-A containing chromatin organization (GO:0061641)	8.50	2,48E-09
tRNA export from nucleus (GO:0006409)	8.44	2,19E-10
mitotic chromosome condensation (GO:0007076)	8.38	4,40E-03
DNA replication initiation (GO:0006270)	8.28	8,94E-11
Centromere complex assembly (GO:0034508)	8.15	3,62E-11
Kinetochore organization (GO:0051383)	8.12	2,07E-02
Downregulated in MCM6 overexpressing tumors		
Regulation of cytosolic calcium ion concentration (GO:0051480)	<0.2	2,20E-02
Extracellular matrix organization (GO:0030198)	<0.2	7,41E-03
Humoral immune response (GO:0006959)	<0.2	5,14E-04
G-protein coupled receptor signaling pathway (GO:0007186)	0.22	1,48E-18
Leukocyte migration (GO:0050900)	0.23	3,24E-03
Adaptive immune response (GO:0002250)	0.26	2,32E-03
Cell-cell adhesion (GO:0098609)	0.27	1,10E-03
Inflammatory response (GO:0006954)	0.33	9,85E-03
Regulation of ion transport (GO:0043269)	0.35	4,01E-04
Cell surface receptor signaling pathway (GO:0007166)	0.64	1,49E-04

Figures

Figure 1.

Marker of proliferation Ki-67 (Ki-67), and minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) immunohistochemical staining. Moderate MCM6 labeling index in a case of grade 1 endometroid carcinoma (A, × 400 magnification). Strong staining for MCM6 in a grade 3 tumor (B, × 400). Low Ki-67 labeling index in grade 1 (C, × 400) and grade 3 (D, × 400) carcinoma samples.

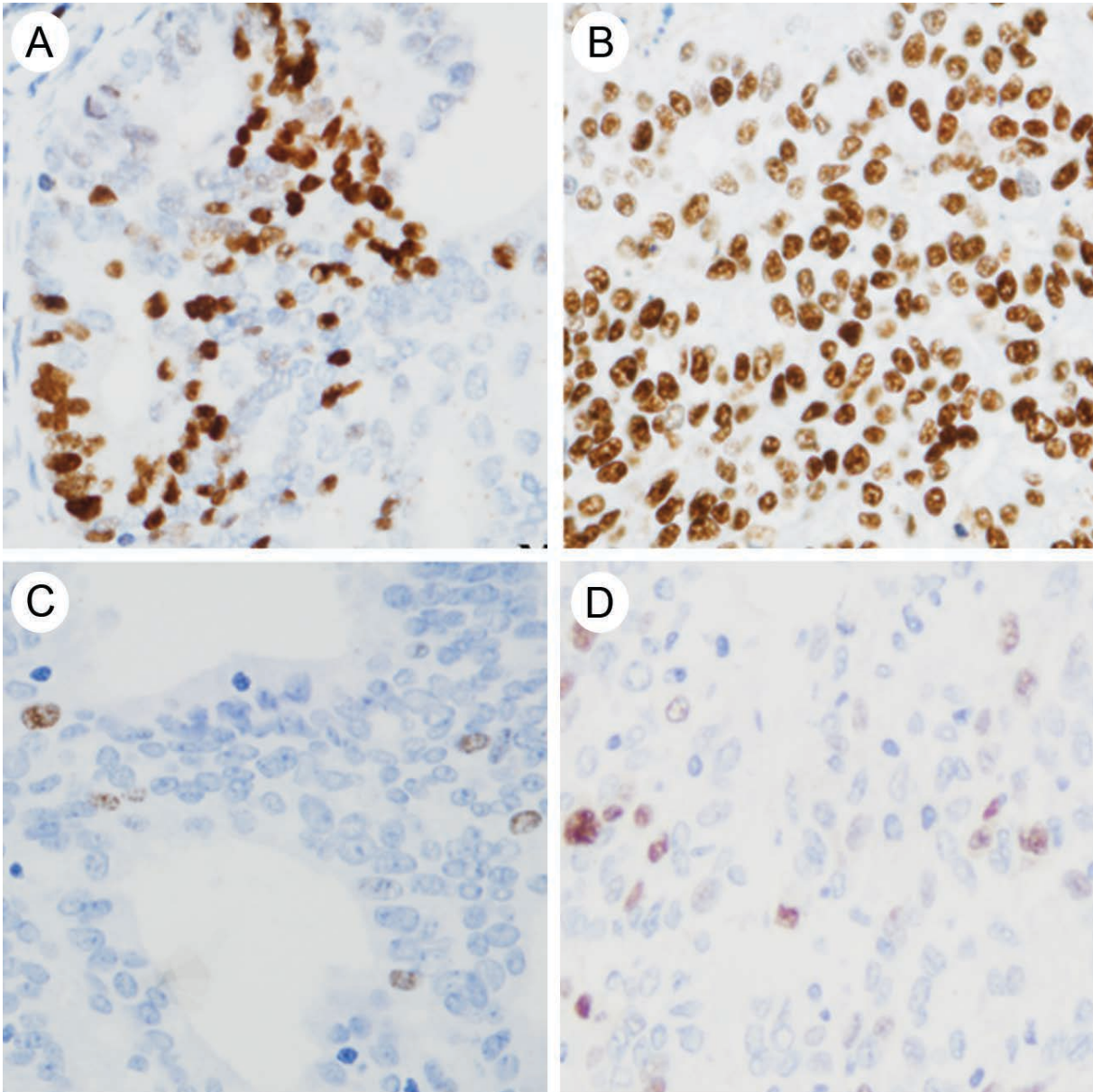


Figure 2.

Expression of MCM6 sorted by histological grade (A) ($p < 0.001$) and FIGO stage (B) ($p = 0.03$). Expression of Ki-67, sorted by histological grades (C) ($p < 0.001$) and by FIGO (International Federation of Gynecology and Obstetrics) stage (D) ($p = 0.06$) (boxplots; Kruskal-Wallis tests).

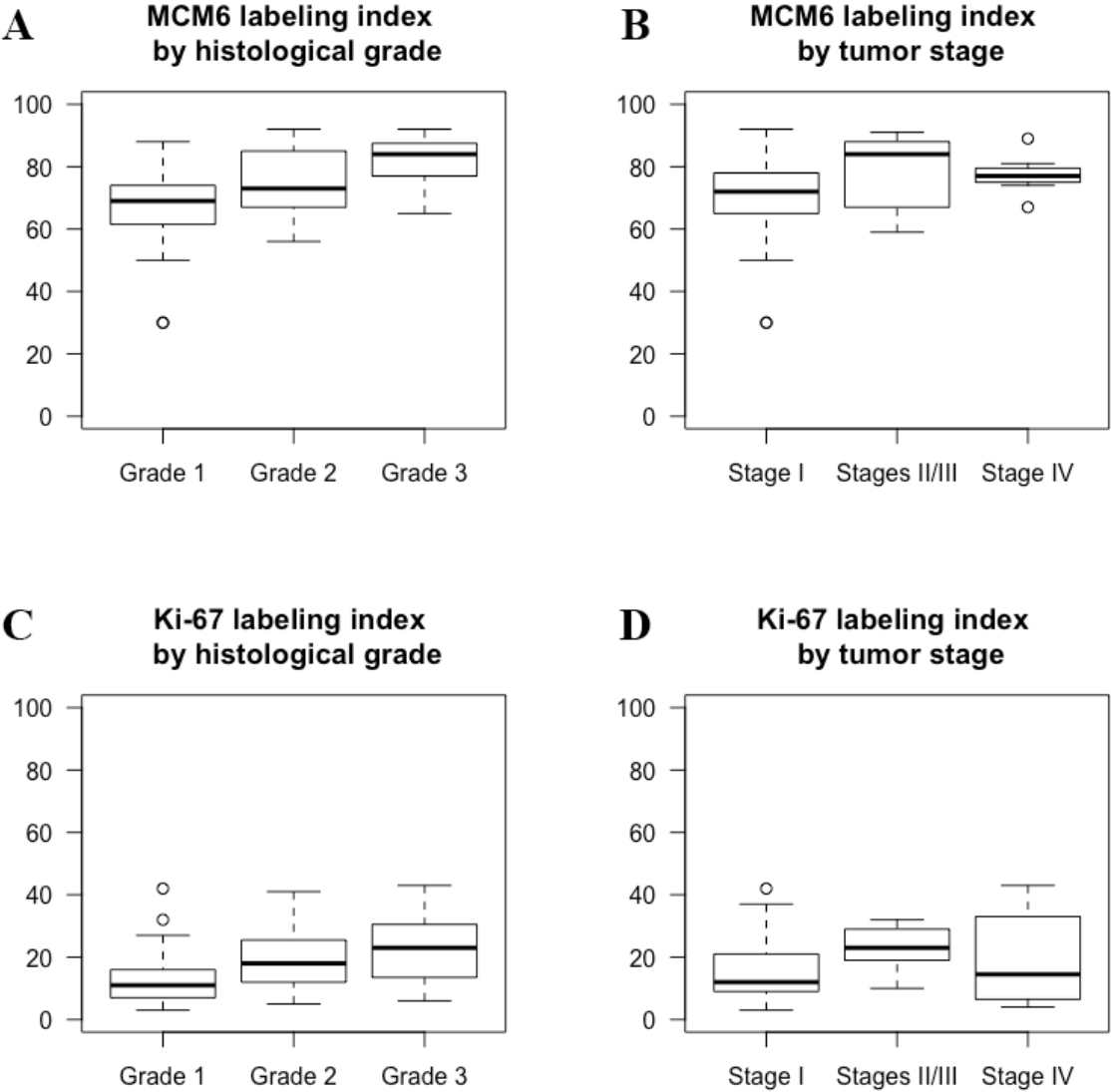
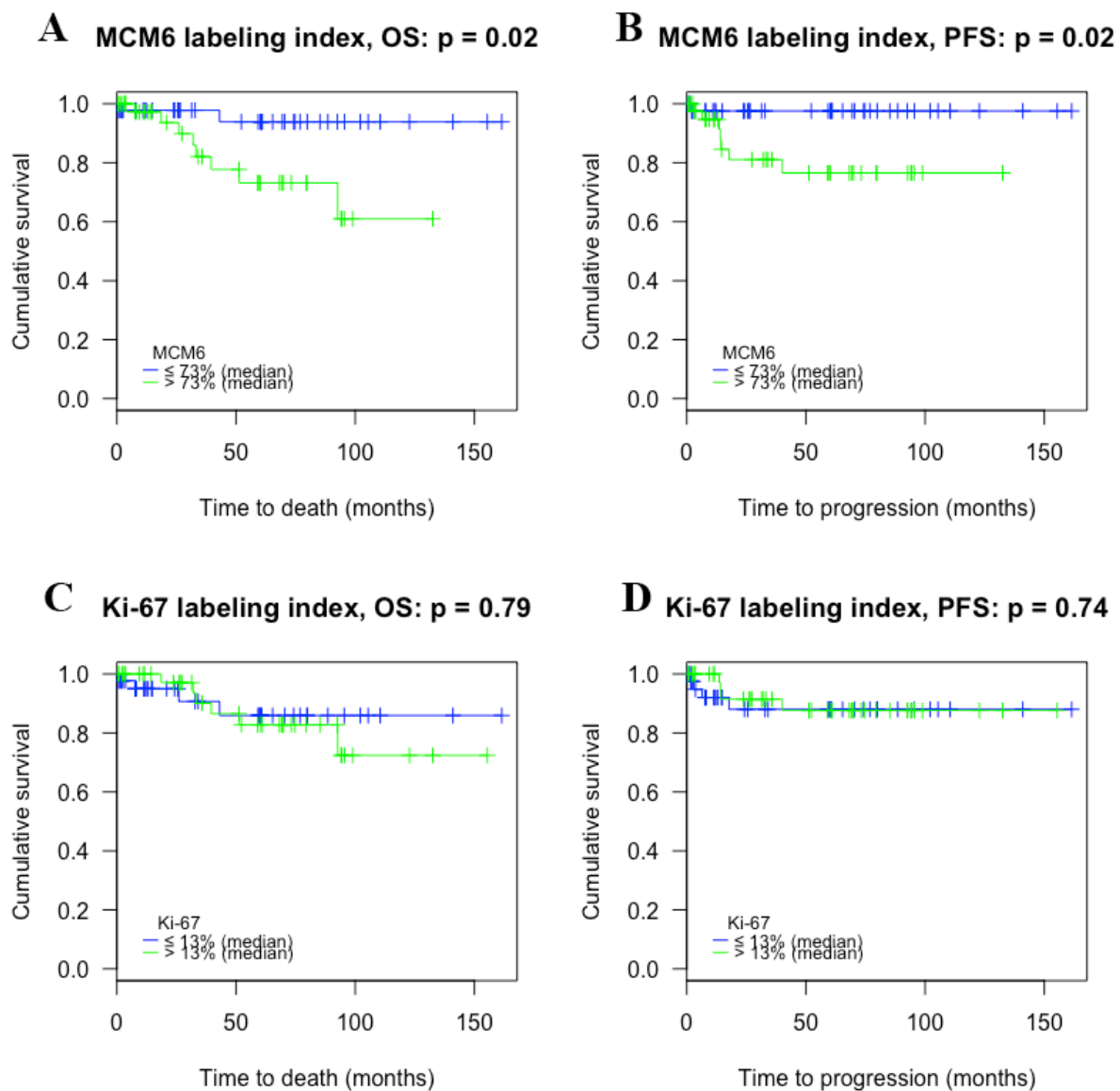


Figure 3.

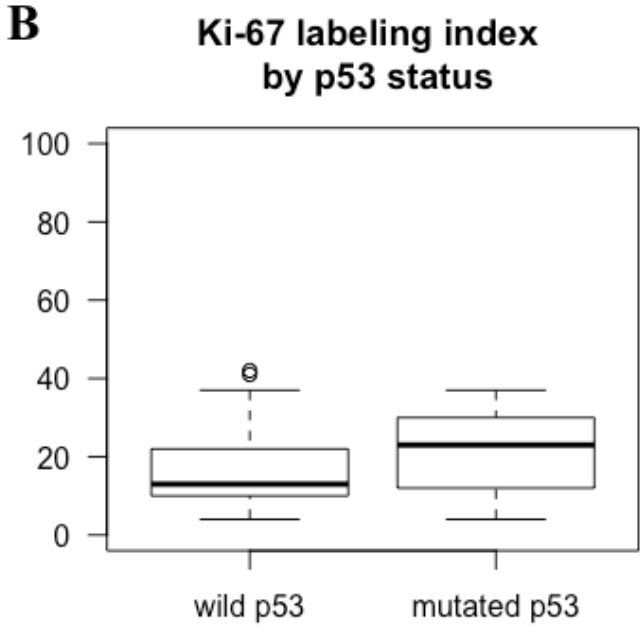
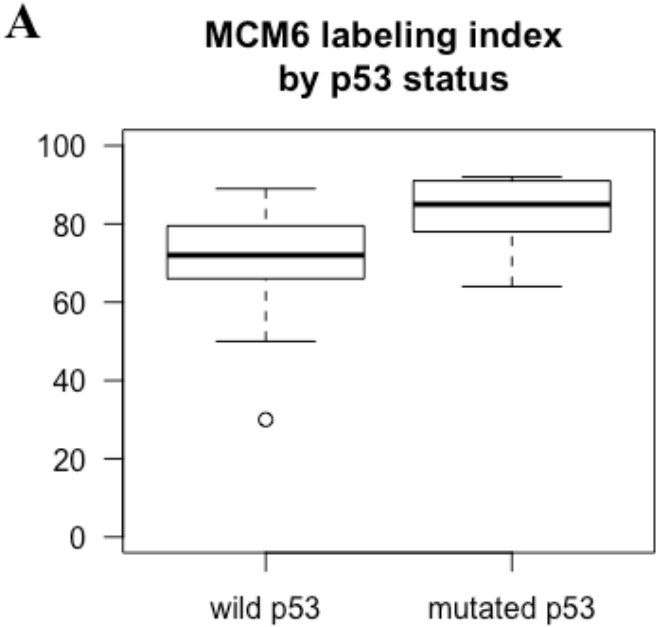
Survival analyses. Kaplan-Meier curves with log-rank tests. Correlation between minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) immunohistochemical labeling index and overall survival (A) ($p=0.02$) or progression-free survival (B) ($p=0.02$) (threshold: median, 73%). Lack of significant correlation between marker of proliferation Ki-67 (Ki-67), and overall survival (C) ($p=0.79$) or progression-free survival (D) ($p=0.74$) (threshold: median, 13%).



Supplementary Figures

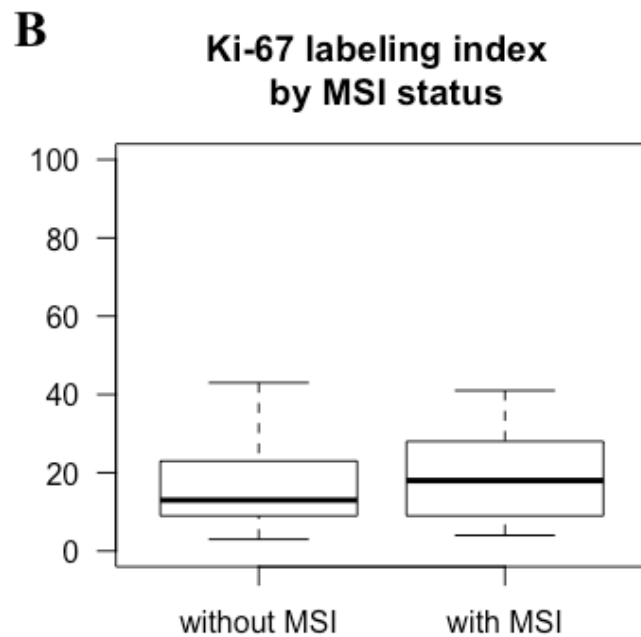
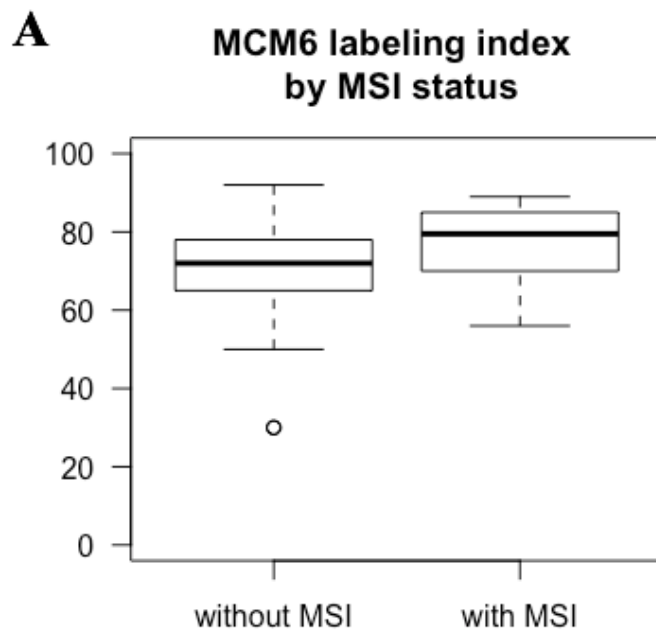
Supplementary Figure S1.

MCM6 and Ki-67 labeling index and p53 status. (A) Significant correlation between overexpression of MCM6 staining and p53 mutated status ($p=0.003$). (B) No association between Ki-67 labeling expression and p53 status ($p=0.23$) (boxplots; Wilcoxon tests).



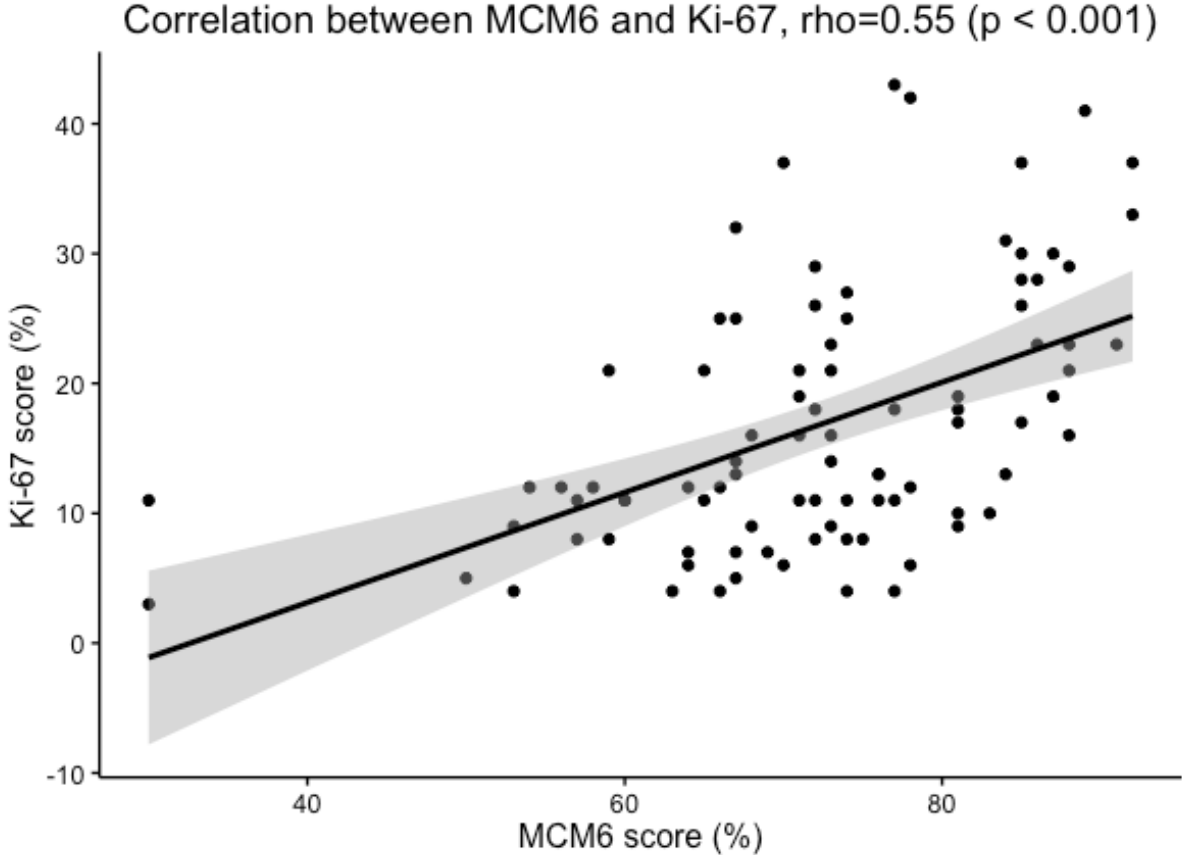
Supplementary Figure S2.

MCM6 and Ki-67 labeling index and microsatellite instability (MSI). (A) Significant correlation between overexpression of MCM6 staining and microsatellite instability ($p=0.03$). (B) No association between Ki-67 labeling expression and tumors showing loss of MSH6 and/or PMS2 ($p=0.41$) (boxplots; Wilcoxon tests).



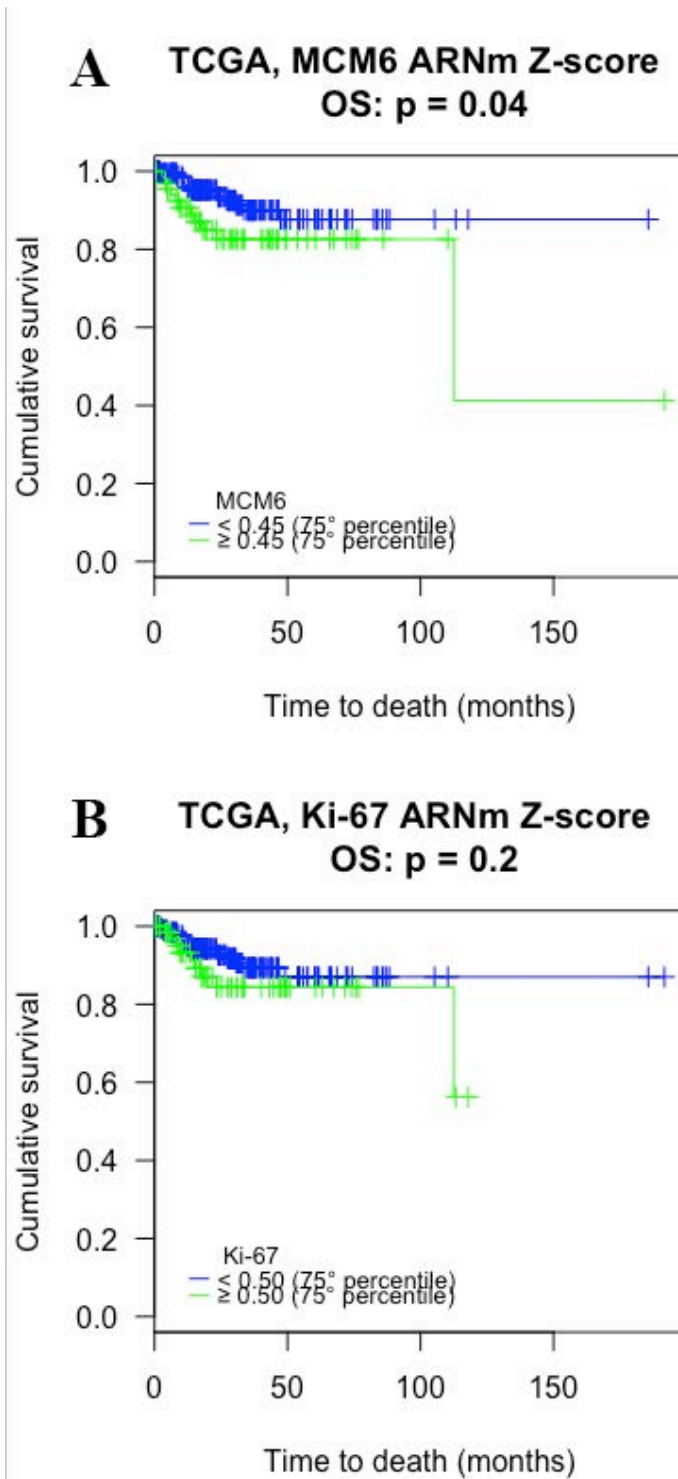
Supplementary Figure S3.

Correlation curve between marker of proliferation Ki-67 (Ki-67), and minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) expression in endometrioid endometrial adenocarcinoma ($\rho=0.55, p<0.001$) (Spearman's correlation test).



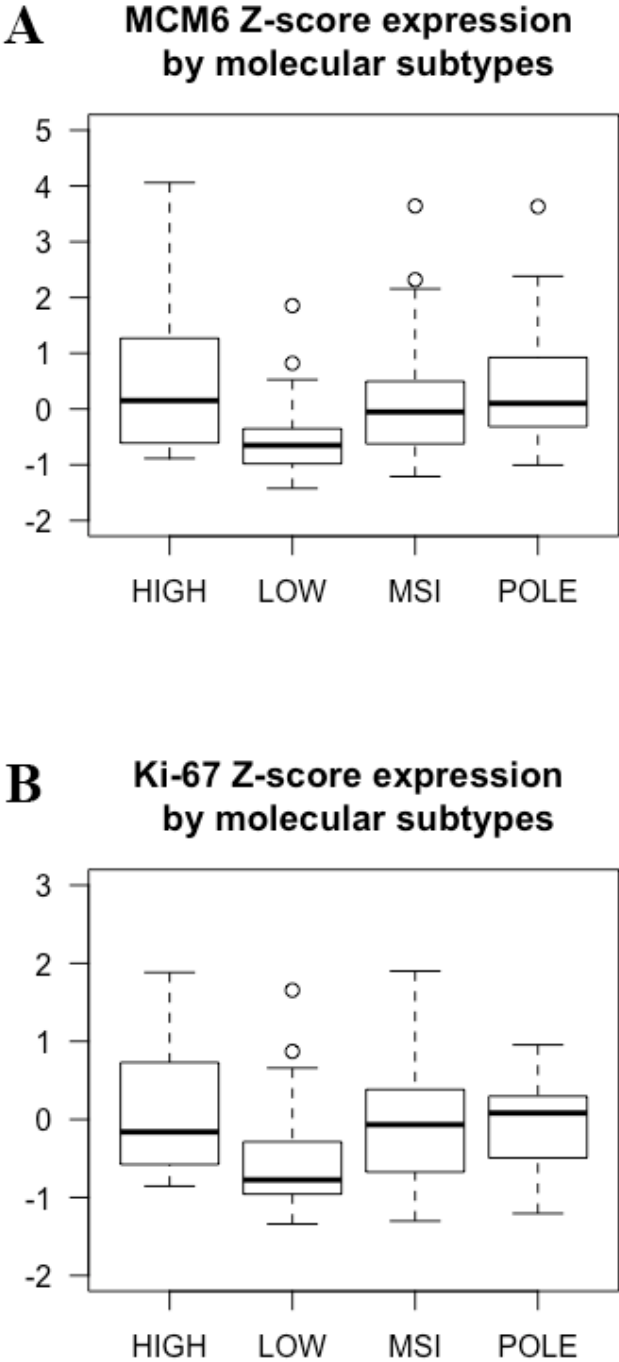
Supplementary Figure S4.

Survival analyses in the uterine corpus endometrioid carcinoma cohort of TCGA. Kaplan-Meier curves with log-rank tests. (A) Correlation between minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) mRNA Z-score and overall survival ($p=0.04$) (threshold: 75th percentile [0.45]). (B) Lack of significant correlation between marker of proliferation Ki-67 (Ki-67), mRNA Z-score and overall survival ($p=0.2$) (threshold: 75th percentile [0.50]).



Supplementary Figure S5.

Expression of minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) sorted by molecular subgroups (A) ($p < 0.001$). Expression of marker of proliferation Ki-67 (Ki-67), sorted by molecular subgroups (B) ($p < 0.001$) (boxplots; Kruskal-Wallis tests).



Discussion

Facteurs pronostiques dans les adénocarcinomes endométriaux de type endométrioïde

L'adénocarcinome endométrial de type endométrioïde, type histologique le plus fréquent, est une tumeur de bon pronostic car une large majorité peut être diagnostiquée à un stade précoce (60). Le taux de survie à cinq ans est d'environ 80% pour le stade I, mais diminue à 30% pour le stade III et 10% pour le stade IV (61).

Les principaux facteurs pronostiques sont l'âge, l'opérabilité, le grade histologique, le type histologique, le degré d'invasion du myomètre, la présence d'embolies lympho-vasculaires et l'invasion de ganglions lymphatiques (62). À ce jour, aucun marqueur pronostique supplémentaire n'a été validé pour ces tumeurs.

Intérêt des marqueurs de prolifération

Ki-67 est un marqueur de prolifération reconnu dont l'implication pronostique dans le cancer de l'endomètre reste controversée. Dans la plupart des études réalisées, il est retrouvé des liens significatifs entre son indice de prolifération, les critères histologiques de malignité des tumeurs et la survie (37–40), alors que dans d'autres, aucune corrélation significative n'a été trouvée (41). Dans notre étude, Ki-67 est corrélé au grade histologique, mais n'a pas d'impact sur la survie globale et sans récurrence.

Effectivement, il est influencé par de nombreux facteurs d'ordre technique. Il existe une bonne reproductibilité inter-observateur, mais une grande variabilité inter-laboratoire dans l'intensité et le pourcentage des cellules marquées a été décrite (63). Ces différences pourraient s'expliquer par des variations portant sur le démasquage antigénique et les étapes de détection immunohistochimique du signal. Comme Ki-67 est régulé à la hausse en phase G1 tardive, l'anticorps anti-Ki-67 ne marque pas toutes les cellules proliférantes, en particulier celles qui quittent la phase G0 de quiescence pour entrer dans la phase G1 précoce (64). Étant donné que les régions où le marquage maximal de Ki-67 dans certaines zones d'une tumeur peut être difficiles à localiser ; distinguer les cas de bon de ceux de mauvais pronostic basé sur seulement quelques pourcentages de différences dans l'expression de Ki-67 peut être une tâche difficile. Cela pourrait probablement expliquer les difficultés rencontrées dans l'utilisation de Ki-67 à des fins pronostiques dans les carcinomes de l'endomètre dans la pratique clinique.

Certaines études suggèrent également que Ki-67 n'interviendrait pas directement dans le cycle cellulaire mais jouerait un rôle dans la biosynthèse ribosomale (53,64).

MCM, dans le cadre du complexe répliatif, joue un rôle critique dans l'initiation de la synthèse et de la répliation de l'ADN. L'indice prolifératif évalué avec les anticorps anti-MCM6 est fortement corrélé avec Ki-67, mais est significativement plus élevé (65,66). En effet, cela s'explique par le fait que l'expression de MCM6 dans le cycle cellulaire est beaucoup plus précoce, dès l'initiation de la phase G1, et est inhibée de façon plus tardive (67,68).

Dans le domaine de la gynécologie, quelques études ont analysé certains des éléments du complexe (MCM2, MCM3 et MCM7) dans les cancers utérins.

Li *et al.* ont montré une corrélation entre l'expression de MCM7 et le grade et une corrélation inverse avec la survie (57). Ils ont comparé également MCM7 à Ki-67 et conclu que le premier était supérieur. Les marqueurs MCM2 et MCM3, étudiés par Kato *et al.*, étaient significativement corrélés à Ki-67 dans les tissus normaux et hyperplasiques, mais à un moindre degré dans les cas de cancer (58). Paradoxalement, mais de façon similaire à notre étude, ces deux marqueurs étaient plus élevés dans l'endomètre en phase proliférative que dans les tissus tumoraux, suggérant l'existence d'anomalies du système de répliation dans les carcinomes endométriaux.

Notre étude est, à notre connaissance, la première étude évaluant l'expression de MCM6 dans les cancers de l'endomètre. On note une forte corrélation entre MCM6, le grade histologique et le stade tumoral. Cette surexpression est également inversement corrélée à la survie globale et sans récidence pour des valeurs strictement supérieures à la médiane (73% de cellules marquées).

Nos résultats, en utilisant l'immunohistochimie sur une cohorte française, reflètent ceux obtenus en utilisant des analyses *in silico* effectuées sur la base de données de cancer de l'endomètre stockée dans le TCGA. Au contraire, aucune corrélation similaire sur le stade tumoral et la survie n'a été trouvée avec le niveau d'expression en ARNm de Ki-67. Les raisons mécaniques de l'absence de corrélation pour Ki-67 pourraient correspondre à une altération de l'efficacité translationnelle de l'ARNm de Ki-67.

Corrélation de MCM6 et Ki-67 avec les sous-groupes moléculaires

L'altération de l'expression de certains gènes peut être corrélée avec le stade tumoral et/ou la survie. Le gène suppresseur de tumeur TP53 code pour la protéine p53, essentielle dans la régulation du cycle cellulaire (69). Sa mutation est responsable de la stimulation de la croissance cellulaire et de la progression tumorale. Le gène TP53 muté est donc souvent surexprimé dans les tumeurs. Dans les tumeurs endométrioïdes de haut grade, la surexpression du TP53 muté n'est pas seulement largement observée (70), mais il est aussi associée à des grades histologiques plus élevés et à une faible survie (71-74).

Dans notre étude, la surexpression de p53 était significativement associée à des taux d'expression de MCM6 et de Ki-67 plus élevés.

En plus des mutations TP53, l'instabilité des microsatellites secondaire à la dysfonction des mécanismes de réparation des mésappariements de l'ADN (MMR), résultat des mutations des gènes régulateurs du système MMR, comprenant MSH2, MLH1, MSH6 et PMS2, est liée aux cancers endométrioïdes entrant dans le syndrome de Lynch (75,76). Il convient de noter que les mutations du gène MSH6 sont associées le plus souvent au cancer de l'endomètre familial. La présence d'une instabilité des microsatellites par dysfonction du système MMR dans le carcinome endométrial de type endométrioïde est un facteur de mauvais pronostic et associé à des tumeurs de plus haut grade histologique (77,78).

Dans la cohorte étudiée, nous avons effectivement trouvé une corrélation positive entre la surexpression de MCM6 et la non-expression des gènes MSH6 et/ou PMS2 impliqués dans la réparation des mésappariements de l'ADN ($p=0,03$).

Enfin, nos analyses sur la cohorte du TCGA retrouvaient également une corrélation positive entre l'expression de MCM6 et les tumeurs aux caractéristiques moléculaires péjoratives.

En effet, le niveau d'expression de MCM6 était plus élevé dans les groupes POLE, MSI et à niveau élevé de nombre de copies, que dans le groupe moléculaire à nombre de copies faible (25). Nos analyses de la cohorte du TCGA révélaient également que les tumeurs présentant une surexpression de MCM6 avaient des enrichissements d'ARNm significatifs, correspondant à des voies de fonctionnement comme la réplication et l'allongement de l'ADN, le centromère et le processus mitotique, confirmant ainsi le rôle de MCM6 dans le cycle cellulaire. Fait intéressant, les tumeurs surexprimant MCM6 avaient moins de fonctions génétiques impliquées dans l'organisation matricielle, l'adhésion cellulaire et la réponse immunitaire.

Des études mécanistiques semblent nécessaires pour comprendre ces résultats originaux (79).

Perspectives cliniques

Nos données confortaient l'idée d'utiliser l'indice d'expression cellulaire du marqueur de prolifération MCM6 en plus des critères classiquement utilisés pour la détermination pronostique du carcinome endométrial de type endométrioïde et pour le suivi de la prise en charge comprenant les traitements chirurgicaux et adjuvants.

De plus, comme la reproductibilité est un facteur important dans l'évaluation d'un nouveau marqueur pronostique, nous avons calculé la reproductibilité inter-observateur de MCM6 en calculant le coefficient de corrélation intra-classe (ICC). Nos résultats indiquaient que MCM6 était aussi bon que Ki-67 en terme de reproductibilité inter-observateur (ICC=0,84 pour les deux).

Cependant, d'autres études sont nécessaires pour évaluer la reproductibilité inter-laboratoire.

Étant donné que MCM6 est un marqueur pronostique peu coûteux, facile à utiliser et hautement reproductible, il doit être considéré comme un nouveau marqueur pronostique pour une utilisation en routine dans le carcinome endométrial de type endométrioïde.

Conclusion

Notre étude est la première à évaluer la valeur pronostique de MCM6 dans le cancer de l'endomètre, et les résultats indiquent des corrélations significatives existant entre le niveau d'expression de MCM6, hautement reproductible, et le grade histologique, le stade tumoral, ainsi que la survie. MCM6, en raison de son niveau d'expression plus élevé, présente un marquage comparativement moins ambigu par rapport à Ki-67; il apparaît comme un bon candidat à sa réalisation en routine et dans sa prise en compte dans la prise en charge thérapeutique et de suivi des adénocarcinomes utérin.

Bibliographie

1. Ferlay J, Steliarova-Foucher E, Lortet-Tieulent J, Rosso S, Coebergh JWW, Comber H, et al. Cancer incidence and mortality patterns in Europe: estimates for 40 countries in 2012. *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2013 Apr;49(6):1374–403.
2. Bayer SR, DeCherney AH. Clinical manifestations and treatment of dysfunctional uterine bleeding. *JAMA*. 1993 Apr 14;269(14):1823–8.
3. Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*. 2016 Feb;66(1):7–30.
4. Leone N, Voirin N, Roche L, Binder-Foucard F, Woronoff A, Delafosse P, et al. Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2015. Rapport technique. 2015;
5. Creasman WT, Odicino F, Maisonneuve P, Quinn MA, Beller U, Benedet JL, et al. Carcinoma of the corpus uteri. FIGO 26th Annual Report on the Results of Treatment in Gynecological Cancer. *Int J Gynaecol Obstet Off Organ Int Fed Gynaecol Obstet*. 2006 Nov;95 Suppl 1:S105–43.
6. Ballester M, Canlorbe G, Cortez A, Gonin J, Laas E, Bendifallah S, et al. Histological and immunohistochemical profiles predict lymph node status in women with low-intermediate risk endometrial cancer. *Gynecol Oncol*. 2013 Sep;130(3):457–62.
7. Canlorbe G, Laas E, Bendifallah S, Daraï E, Ballester M. Contribution of immunohistochemical profile in assessing histological grade of endometrial cancer. *Anticancer Res*. 2013 May;33(5):2191–8.
8. Seror J, Bats A-S, Chamming's F, Ngo C, Bensaïd C, Douay-Hauser N, et al. Cancer de l'endomètre : diagnostic et bilan préthérapeutique.
9. Brun J., Cortez A, Donnadiou A-C, Bazot M, Driguez P-A, Merviel P. Pathologie tumorale endométriale bénigne et lésions frontières de l'endomètre.
10. Törnberg SA, Carstensen JM. Relationship between Quetelet's index and cancer of breast and female genital tract in 47,000 women followed for 25 years. *Br J Cancer*. 1994 Feb;69(2):358–61.
11. Parazzini F, La Vecchia C, Negri E, Riboldi GL, Surace M, Benzi G, et al. Diabetes and endometrial cancer: an Italian case-control study. *Int J Cancer*. 1999 May 17;81(4):539–42.
12. Soler M, Chatenoud L, Negri E, Parazzini F, Franceschi S, la Vecchia C. Hypertension and hormone-related neoplasms in women. *Hypertens Dallas Tex* 1979. 1999 Aug;34(2):320–5.
13. Brinton LA, Berman ML, Mortel R, Twiggs LB, Barrett RJ, Wilbanks GD, et al. Reproductive, menstrual, and medical risk factors for endometrial cancer: results from a case-control study. *Am J Obstet Gynecol*. 1992 Nov;167(5):1317–25.

14. Bernstein L, Deapen D, Cerhan JR, Schwartz SM, Liff J, McGann-Maloney E, et al. Tamoxifen therapy for breast cancer and endometrial cancer risk. *J Natl Cancer Inst.* 1999 Oct 6;91(19):1654–62.
15. Zorn KK, Bonome T, Gangi L, Chandramouli GVR, Awtrey CS, Gardner GJ, et al. Gene expression profiles of serous, endometrioid, and clear cell subtypes of ovarian and endometrial cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 2005 Sep 15;11(18):6422–30.
16. Win AK, Reece JC, Ryan S. Family history and risk of endometrial cancer: a systematic review and meta-analysis. *Obstet Gynecol.* 2015 Jan;125(1):89–98.
17. Remontet L, Estève J, Bouvier A-M, Grosclaude P, Launoy G, Menegoz F, et al. Cancer incidence and mortality in France over the period 1978-2000. *Rev Épidémiologie Santé Publique.* 2003 Feb;51(1 Pt 1):3–30.
18. INCa. Recommandations pour la pratique clinique - Cancer de l'endomètre. 2010 Nov;
19. Batista TP, Cavalcanti CLC, Tejo A a. G, Bezerra ALR. Accuracy of preoperative endometrial sampling diagnosis for predicting the final pathology grading in uterine endometrioid carcinoma. *Eur J Surg Oncol J Eur Soc Surg Oncol Br Assoc Surg Oncol.* 2016 Sep;42(9):1367–71.
20. Goldstein RB, Bree RL, Benson CB, Benacerraf BR, Bloss JD, Carlos R, et al. Evaluation of the woman with postmenopausal bleeding: Society of Radiologists in Ultrasound-Sponsored Consensus Conference statement. *J Ultrasound Med Off J Am Inst Ultrasound Med.* 2001 Oct;20(10):1025–36.
21. Dubinsky TJ, Parvey HR, Maklad N. The role of transvaginal sonography and endometrial biopsy in the evaluation of peri- and postmenopausal bleeding. *AJR Am J Roentgenol.* 1997 Jul;169(1):145–9.
22. Aalders JG, Thomas G. Endometrial cancer--revisiting the importance of pelvic and para aortic lymph nodes. *Gynecol Oncol.* 2007 Jan;104(1):222–31.
23. Petru E, Lück H-J, Stuart G, Gaffney D, Millan D, Vergote I, et al. Gynecologic Cancer Intergroup (GCIG) proposals for changes of the current FIGO staging system. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* 2009 Apr;143(2):69–74.
24. Colombo N, Creutzberg C, Amant F, Bosse T, González-Martín A, Ledermann J, et al. ESMO-ESGO-ESTRO Consensus Conference on Endometrial Cancer: Diagnosis, Treatment and Follow-up. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc.* 2016 Jan;26(1):2–30.
25. Cancer Genome Atlas Research Network, Kandoth C, Schultz N, et al (2013) Integrated genomic characterization of endometrial carcinoma. *Nature* 497:67-73. doi: 10.1038/nature12113
26. Fung-Kee-Fung M, Dodge J, Elit L, Lukka H, Chambers A, Oliver T, et al. Follow-up after primary therapy for endometrial cancer: a systematic review. *Gynecol Oncol.* 2006 Jun;101(3):520–9.

27. Fleming ND, Soliman PT, Westin SN, dos Reis R, Munsell M, Klopp AH, et al. Impact of Lymph Node Ratio and Adjuvant Therapy in Node-Positive Endometrioid Endometrial Cancer. *Int J Gynecol Cancer Off J Int Gynecol Cancer Soc.* 2015 Oct;25(8):1437–44.
28. Gerdes J, Schwab U, Lemke H, Stein H. Production of a mouse monoclonal antibody reactive with a human nuclear antigen associated with cell proliferation. *Int J Cancer.* 1983 Jan 15;31(1):13–20.
29. Duchrow M, Schlüter C, Wohlenberg C, Flad HD, Gerdes J. Molecular characterization of the gene locus of the human cell proliferation-associated nuclear protein defined by monoclonal antibody Ki-67. *Cell Prolif.* 1996 Jan;29(1):1–12.
30. Gerlach C, Sakkab DY, Scholzen T, Dassler R, Alison MR, Gerdes J. Ki-67 expression during rat liver regeneration after partial hepatectomy. *Hepatology Baltim Md.* 1997 Sep;26(3):573–8.
31. Bruno S, Darzynkiewicz Z. Cell cycle dependent expression and stability of the nuclear protein detected by Ki-67 antibody in HL-60 cells. *Cell Prolif.* 1992 Jan;25(1):31–40.
32. Du Manoir S, Guillaud P, Camus E, Seigneurin D, Brugal G. Ki-67 labeling in postmitotic cells defines different Ki-67 pathways within the 2c compartment. *Cytometry.* 1991;12(5):455–63.
33. Ishihara M, Mukai H, Nagai S, Onozawa M, Nihei K, Shimada T, et al. Retrospective analysis of risk factors for central nervous system metastases in operable breast cancer: effects of biologic subtype and Ki67 overexpression on survival. *Oncology.* 2013;84(3):135–40.
34. Sorbye SW, Kilvaer TK, Valkov A, Donnem T, Smeland E, Al-Shibli K, et al. Prognostic impact of Jab1, p16, p21, p62, Ki67 and Skp2 in soft tissue sarcomas. *PloS One.* 2012;7(10):e47068.
35. Ciancio N, Galasso MG, Campisi R, Bivona L, Migliore M, Di Maria GU. Prognostic value of p53 and Ki67 expression in fiberoptic bronchial biopsies of patients with non small cell lung cancer. *Multidiscip Respir Med.* 2012;7(1):29.
36. Strosberg JR, Nasir A, Hodul P, Kvols L. Biology and treatment of metastatic gastrointestinal neuroendocrine tumors. *Gastrointest Cancer Res GCR.* 2008 May;2(3):113–25.
37. Salvesen HB, Iversen OE, Akslen LA. Identification of high-risk patients by assessment of nuclear Ki-67 expression in a prospective study of endometrial carcinomas. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res.* 1998 Nov;4(11):2779–85.
38. Salvesen HB, Iversen OE, Akslen LA. Prognostic significance of angiogenesis and Ki-67, p53, and p21 expression: a population-based endometrial carcinoma study. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 1999 May;17(5):1382–90.
39. Konstantinos K, Marios S, Anna M, Nikolaos K, Efstratios P, Paulina A. Expression of Ki-67 as proliferation biomarker in imprint smears of endometrial carcinoma. *Diagn Cytopathol.* 2013 Mar;41(3):212–7.

40. Oreskovic S, Babic D, Kalafatic D, Barisic D, Beketic-Oreskovic L. A significance of immunohistochemical determination of steroid receptors, cell proliferation factor Ki-67 and protein p53 in endometrial carcinoma. *Gynecol Oncol.* 2004 Apr;93(1):34–40.
41. Chakravarty D, Gupta N, Goda JS, Srinivasan R, Patel FD, Dhaliwal L. Steroid receptors, HER2/neu and Ki-67, in endometrioid type of endometrial carcinoma: Correlation with conventional histomorphological features of prognosis. *Acta Histochem.* 2010 Jul;112(4):355–63.
42. Tye BK. MCM proteins in DNA replication. *Annu Rev Biochem.* 1999;68:649–86.
43. Bell SP, Dutta A. DNA replication in eukaryotic cells. *Annu Rev Biochem.* 2002;71:333–74.
44. Chong JP, Mahbubani HM, Khoo CY, Blow JJ. Purification of an MCM-containing complex as a component of the DNA replication licensing system. *Nature.* 1995 Jun 1;375(6530):418–21.
45. Kubota Y, Mimura S, Nishimoto S, Takisawa H, Nojima H. Identification of the yeast MCM3-related protein as a component of *Xenopus* DNA replication licensing factor. *Cell.* 1995 May 19;81(4):601–9.
46. Tanaka T, Knapp D, Nasmyth K. Loading of an Mcm protein onto DNA replication origins is regulated by Cdc6p and CDKs. *Cell.* 1997 Aug 22;90(4):649–60.
47. Labib K, Tercero JA, Diffley JF. Uninterrupted MCM2-7 function required for DNA replication fork progression. *Science.* 2000 Jun 2;288(5471):1643–7.
48. Lee JK, Hurwitz J. Isolation and characterization of various complexes of the minichromosome maintenance proteins of *Schizosaccharomyces pombe*. *J Biol Chem.* 2000 Jun 23;275(25):18871–8.
49. You Z, Komamura Y, Ishimi Y. Biochemical analysis of the intrinsic Mcm4-Mcm6-mcm7 DNA helicase activity. *Mol Cell Biol.* 1999 Dec;19(12):8003–15.
50. Hiraiwa A, Fujita M, Nagasaka T, Adachi A, Ohashi M, Ishibashi M. Immunolocalization of hCDC47 protein in normal and neoplastic human tissues and its relation to growth. *Int J Cancer.* 1997 Apr 22;74(2):180–4.
51. Hiraiwa A, Fujita M, Adachi A, Ono H, Nagasaka T, Matsumoto Y, et al. Specific distribution patterns of hCDC47 expression in cutaneous diseases. *J Cutan Pathol.* 1998 Jul;25(6):285–90.
52. Harvey CB, Wang Y, Darmoul D, Phillips A, Mantei N, Swallow DM. Characterisation of a human homologue of a yeast cell division cycle gene, MCM6, located adjacent to the 5' end of the lactase gene on chromosome 2q21. *FEBS Lett.* 1996 Dec 2;398(2-3):135–40.
53. MacCallum DE, Hall PA. The location of pKi67 in the outer dense fibrillary compartment of the nucleolus points to a role in ribosome biogenesis during the cell division cycle. *J Pathol.* 2000 Apr;190(5):537–44.

54. Bochman ML, Schwacha A. The Mcm complex: unwinding the mechanism of a replicative helicase. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR*. 2009 Dec;73(4):652–83.
55. Gauchotte G, Vigouroux C, Rech F, Battaglia-Hsu S-F, Soudant M, Pinelli C, et al. Expression of minichromosome maintenance MCM6 protein in meningiomas is strongly correlated with histologic grade and clinical outcome. *Am J Surg Pathol*. 2012 Feb;36(2):283–91.
56. Vigouroux C, Casse J-M, Battaglia-Hsu S-F, Brochin L, Luc A, Paris C, et al. Methyl(R217)HuR and MCM6 are inversely correlated and are prognostic markers in non small cell lung carcinoma. *Lung Cancer Amst Neth*. 2015 Aug;89(2):189–96.
57. Li SS, Xue WC, Khoo US, Ngan HYS, Chan KYK, Tam IYS, et al. Replicative MCM7 protein as a proliferation marker in endometrial carcinoma: a tissue microarray and clinicopathological analysis. *Histopathology*. 2005 Mar;46(3):307–13.
58. Kato K, Toki T, Shimizu M, Shiozawa T, Fujii S, Nikaido T, et al. Expression of replication-licensing factors MCM2 and MCM3 in normal, hyperplastic, and carcinomatous endometrium: correlation with expression of Ki-67 and estrogen and progesterone receptors. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol*. 2003 Oct;22(4):334–40.
59. NCI, NHGRI. The Cancer Genome Atlas (TCGA) Data Portal Use Case Workshop. 2008;
60. Sorosky JI (2008) Endometrial cancer. *Obstet Gynecol* 111:436–447. doi: 10.1097/AOG.0b013e318162f690
61. Narducci F, Lambaudie E, Sonoda Y, et al (2003) [Endometrial cancer: what's new?]. *Gynecol Obstet Fertil* 31:581–596.
62. Soslow RA, Bissonnette JP, Wilton A, et al (2007) Clinicopathologic analysis of 187 high-grade endometrial carcinomas of different histologic subtypes: similar outcomes belie distinctive biologic differences. *Am J Surg Pathol* 31:979–987. doi: 10.1097/PAS.0b013e31802ee494
63. Mengel M, von Wasielewski R, Wiese B, Rüdiger T, Müller-Hermelink HK, Kreipe H. Inter-laboratory and inter-observer reproducibility of immunohistochemical assessment of the Ki-67 labelling index in a large multi-centre trial. *J Pathol*. 2002 Nov;198(3):292–9.
64. Verheijen R, Kuijpers HJ, van Driel R, Beck JL, van Dierendonck JH, Brakenhoff GJ, et al. Ki-67 detects a nuclear matrix-associated proliferation-related antigen. II. Localization in mitotic cells and association with chromosomes. *J Cell Sci*. 1989 Apr;92 (Pt 4):531–40.
65. Chatrath P, Scott IS, Morris LS, Davies RJ, Bird K, Vowler SL, et al. Immunohistochemical estimation of cell cycle phase in laryngeal neoplasia. *Br J Cancer*. 2006 Aug 7;95(3):314–21.

66. Scott IS, Morris LS, Bird K, Davies RJ, Vowler SL, Rushbrook SM, et al. A novel immunohistochemical method to estimate cell-cycle phase distribution in archival tissue: implications for the prediction of outcome in colorectal cancer. *J Pathol*. 2003 Oct;201(2):187–97.
67. Kingsbury SR, Loddo M, Fanshawe T, Obermann EC, Prevost AT, Stoeber K, et al. Repression of DNA replication licensing in quiescence is independent of geminin and may define the cell cycle state of progenitor cells. *Exp Cell Res*. 2005 Sep 10;309(1):56–67.
68. Eward KL, Obermann EC, Shreeram S, Loddo M, Fanshawe T, Williams C, et al. DNA replication licensing in somatic and germ cells. *J Cell Sci*. 2004 Nov 15;117(Pt 24):5875–86.
69. Levine AJ, Momand J, Finlay CA (1991) The p53 tumour suppressor gene. *Nature* 351:453–456. doi: 10.1038/351453a0
70. Schultheis AM, Martelotto LG, De Filippo MR, et al (2016) TP53 Mutational Spectrum in Endometrioid and Serous Endometrial Cancers. *Int J Gynecol Pathol Off J Int Soc Gynecol Pathol* 35:289–300. doi: 10.1097/PGP.0000000000000243
71. Kohler MF, Carney P, Dodge R, et al (1996) p53 overexpression in advanced-stage endometrial adenocarcinoma. *Am J Obstet Gynecol* 175:1246–1252.
72. Kohlberger P, Gitsch G, Loesch A, et al (1996) p53 protein overexpression in early stage endometrial cancer. *Gynecol Oncol* 62:213–217. doi: 10.1006/gyno.1996.0218
73. Ozalp S, Yalcin OT, Tanir HM, et al (2003) p53 overexpression as a prognostic indicator in endometrial carcinoma. *Eur J Gynaecol Oncol* 24:275–278.
74. Kudela M, Pilka R, Lubusky M, et al (2012) Prognostic importance of selected molecular immunohistochemical markers and DNA ploidy in endometrial cancer. *Eur J Gynaecol Oncol* 33:159–163.
75. Miyaki M, Konishi M, Tanaka K, et al (1997) Germline mutation of MSH6 as the cause of hereditary nonpolyposis colorectal cancer. *Nat Genet* 17:271–272. doi: 10.1038/ng1197-271
76. Nicolaidis NC, Papadopoulos N, Liu B, et al (1994) Mutations of two PMS homologues in hereditary nonpolyposis colon cancer. *Nature* 371:75–80. doi: 10.1038/371075a0
77. An HJ, Kim KI, Kim JY, et al (2007) Microsatellite instability in endometrioid type endometrial adenocarcinoma is associated with poor prognostic indicators. *Am J Surg Pathol* 31:846–853. doi: 10.1097/01.pas.0000213423.30880.ac
78. Nelson GS, Pink A, Lee S, et al (2013) MMR deficiency is common in high-grade endometrioid carcinomas and is associated with an unfavorable outcome. *Gynecol Oncol* 131:309–314. doi: 10.1016/j.ygyno.2013.08.003
79. Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al (2000) Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium. *Nat Genet* 25:25–29. doi: 10.1038/75556

Annexe

Annexe. Protocole et composition des tampons en immunohistochimie

- Après inclusion en paraffine, réalisation coupes fines (5µm) montées à l'eau sur des lames de verre Polysine™ (LABONORD S.A, Templemars, France)
- Séchage pendant 5 min sur une platine chauffante à 58°C puis placées à l'étuve à 56 °C pendant quelques heures
- Déparaffinage et démasquage des sites antigéniques dans l'appareil PT Link (Dako) en tampon citrate pH 6,0 pendant 20 minutes à 97°C
- Dilution des anticorps primaires dans le diluant EnVision™ FLEX Antibody Diluent (DM 830)
- Technique Flex + en automate Dako Autostainer Plus :
 - o Rinçage avec une solution saline de tampon Tris contenant du Tween 20, pH 7,6 (± 0,1) pendant 5 min
 - o Blocage des peroxydases endogènes avec le réactif EnVision™ FLEX Peroxidase Blocking Reagent (SM 801) soit avec un tampon phosphate contenant du peroxyde d'hydrogène, NaN₃ 15mmol/L et un détergent pendant 5 min
 - o Rinçage pendant 5 min
 - o Incubation avec l'anticorps primaire pendant 1h
 - o Rinçage pendant 5 min
 - o Incubation de l'anticorps secondaire EnVision™ FLEX+ Rabbit (LINKER) (SM 805) pendant 15 min
 - o Rinçage pendant 5 min
 - o Dépôt d'un polymère marqué avec EnVision™ FLEX/HRP (SM802) (dextrane couplé à des molécules de peroxydase et à des molécules secondaires de chèvre dirigées contre les immunoglobulines de lapin et de souris dans une solution tamponnée contenant une protéine stabilisante et un agent conservateur) pendant 20 min
 - o Rinçage pendant 2 x 5 min
 - o Révélation chromogénique avec EnVision™ FLEX Substrate Buffer (SM 803) (solution tamponnée diluant une solution contenant du 117 peroxyde d'hydrogène et le chromogène diaminobenzidine (DAB) et un agent conservateur) pendant 10 min
 - o Rinçage pendant 5 min
 - o Contre coloration avec EnVision™ FLEX Hematoxylin (SM 806) soit une solution aqueuse d'hématoxyline pendant 5 min

- o Rinçage pendant 5 min à l'eau distillée
- o Montage à l'Eukitt® (LABONORD S.A., Templemars, France) après déshydratation par des bains successifs d'éthanol à 70°, 96° et 100°.

VU

NANCY, le 11 septembre 2017
Le Président de Thèse

Professeur Guillaume GAUCHOTTE

NANCY, le 14 septembre 2017
Pour le Doyen de la Faculté de Médecine
Le Vice-Doyen,

Professeur Marc DEBOUVERIE

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/ 10 017

NANCY, le 21 septembre 2017

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,

Pierre MUTZENHARDT

RÉSUMÉ DE LA THÈSE

Introduction : La 6^{ème} protéine du complexe hexamérique MiniChromosome Maintenance (MCM6) est impliquée dans l'initiation et la réplication de l'ADN. Elle est augmentée dès l'entrée en phase G1 du cycle cellulaire. Cette expression précoce permet un marquage plus important de cellules proliférantes que Ki-67.

Méthode : Dans une cohorte de 89 adénocarcinomes endométrioïdes endométriaux, nous avons étudié la valeur pronostique, en immunohistochimie, du marquage cellulaire de MCM6 par rapport à Ki-67. Nous avons aussi évalué l'expression de ses marqueurs sur la base d'ARNm à l'aide de la cohorte de carcinomes endométriaux de la base de données de The Cancer Genome Atlas (TCGA, n=307).

Résultats : Il existait une corrélation positive entre le marquage de MCM6 et le grade histologique (grade I: 66,7%, grade II: 75,3%, grade III : 81,4%, $p < 0,001$) et une corrélation inverse entre le marquage de MCM6 et la survie globale et sans progression ($p = 0,02$). L'expression de Ki-67 était corrélée au grade ($p < 0,001$), pas à la survie. Les coefficients de corrélation inter-observateur pour MCM6 et Ki-67 étaient excellents : 0,84 (intervalle de confiance de 95%, 0,83-0,91) et 0,84 (0,77-0,9), respectivement. Dans la cohorte du TCGA, les analyses de Cox à la fois univariées et multivariées ($p = 0,003$ et $p = 0,03$, respectivement) ont révélé des scores élevés d'ARNm de MCM6 associés à une survie globale réduite, non retrouvées pour Ki-67.

Conclusion : MCM6 est donc un marqueur hautement reproductible de mauvais pronostic dans le cancer de l'endomètre. L'évaluation de MCM6 pourrait donc être considérée dans la pratique quotidienne pour la stadification du risque.

TITRE EN ANGLAIS : Minichromosome maintenance complex component 6 (MCM6) expression correlates with histological grade and survival in endometrioid endometrial adenocarcinoma.

THÈSE : MÉDECINE SPÉCIALISÉE – ANNÉE 2017

MOTS CLES : adénocarcinome endométrioïde, carcinome de l'endomètre, immunohistochimie, prolifération, MCM6, Ki-67

INTITULÉ ET ADRESSE :

UNIVERSITÉ DE LORRAINE
Faculté de Médecine de Nancy
9, avenue de la Forêt de Haye
54500 VANDOEUVRE LES NANCY
