



HAL
open science

Tumeurs à cellules géantes osseuses traitées par dénosumab : étude clinico-pathologique d'une série de 35 patients du Groupe Français de Pathologie Osseuse

Mathilde Treffel

► To cite this version:

Mathilde Treffel. Tumeurs à cellules géantes osseuses traitées par dénosumab : étude clinico-pathologique d'une série de 35 patients du Groupe Français de Pathologie Osseuse. Médecine humaine et pathologie. 2018. hal-03297408

HAL Id: hal-03297408

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297408>

Submitted on 23 Jul 2021

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

Mathilde TREFFEL

le 25 Septembre 2018

**Tumeurs à cellules géantes osseuses traitées par dénosumab : étude
clinico-pathologique d'une série de 35 patients du Groupe Français
de Pathologie Osseuse.**

Examineurs de la thèse :

Monsieur Le Professeur Vignaud
Monsieur Le Professeur Sirveaux
Monsieur Le Professeur Gauchotte
Madame Le Docteur Rios
Madame Le Docteur Marie

Président
Juge
Juge
Juge
Juge et directrice de thèse

12 juillet 2018



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 : Dr Julien SCALA-BERTOLA

Deuxième cycle : Pr Marie-Reine LOSSER

Troisième cycle : Pr Marc DEBOUVERIE

Président de Conseil Pédagogique : Pr Bruno CHENUÉL

Formation à la recherche : Dr Nelly AGRINIER

SIDES : Pr Laure JOLY

Relations Grande Région : Pr Thomas FUCHS-BUDER

CUESIM : Pr Stéphane ZUILY

Chargés de mission

Bureau de docimologie : Dr Guillaume VOGIN

Commission de prospective facultaire : Pr Karine ANGIOI-DUPREZ

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 - 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 - Claude PERRIN - Luc PICARD - François PLENAT - Jean-Marie POLU - Jacques POUREL - Francis RAPHAEL - Antoine RASPILLER - Denis REGENT - 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 Pierre BEY - Professeur Serge BRIANÇON - Professeur Jean-Pierre CRANCE⁽¹⁾ Professeur Gilbert FAURE - Professeur Bernard FOLIGUET – Professeur Alain GERARD – Professeur Jean-Marie GILGENKRANTZ - Professeure Simone GILGENKRANTZ - Professeur Gilles GROSDIDIER
Professeur Philippe HARTEMANN - Professeur Michèle KESSLER - 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 ALBUSSON - 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 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 HAUTEMANIERE

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-vénérologie*)

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 Christophe NEMOS

66^{ème} Section : PHYSIOLOGIE

Monsieur Nguyen TRAN

=====

MAÎTRES DE CONFÉRENCES ASSOCIÉS DE MÉDECINE GÉNÉRALE

Docteur Pascal BOUCHE – Docteur Olivier BOUCHY - 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

A notre Maître et Président du Jury,

Monsieur le Professeur Jean-Michel VIGNAUD
Professeur d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Vous me faites l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail.

Je vous remercie de m'avoir guidée dans l'élaboration de ce travail, et m'avoir éclairée de vos connaissances en pathologie osseuse.

Je vous remercie également de votre pédagogie et tout ce dont vous m'avez appris pendant mon internat. Je suis bien consciente de la chance que j'ai eu d'avoir pu travailler à vos côtés.

Veillez recevoir l'expression de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur François SIRVEAUX

Professeur de Chirurgie orthopédique et traumatologique

Vous me faites l'honneur de faire partie de ce jury de thèse et de juger mon travail.

En espérant que ce travail vous intéressera, veuillez recevoir, Monsieur, l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A notre Maître et Juge

Monsieur le Professeur Guillaume GAUCHOTTE
Professeur d'Anatomie et Cytologie Pathologiques

Je suis très honorée que tu aies accepté de participer à mon jury de thèse.

Je te remercie de ton aide précieuse pour l'élaboration de ce travail, et de m'avoir guidée pour l'écriture de l'article scientifique. J'admire ta rigueur, ton dévouement pour l'enseignement, ta passion et ton assiduité pour la recherche. Pouvoir réaliser les statistiques au sein du service, en comprenant au plus près les problématiques des pathologistes est un atout. Ta facilité pour les statistiques m'impressionne, et m'a sauvé la vie dans ce travail !

A notre juge

**Madame le Docteur Maria RIOS,
Docteur en Oncologie médicale**

Vous me faites l'honneur de faire partie de ce jury de thèse et de juger mon travail.
En espérant que ce travail vous intéressera, veuillez recevoir, Madame, l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A notre juge et directrice de thèse

**Madame le Docteur Béatrice MARIE,
Docteur en Anatomie et cytologie pathologiques**

Vous m'avez fait l'honneur de me proposer ce sujet et de diriger cette thèse.

Je vous suis très reconnaissante pour votre disponibilité, votre rigueur dans la relecture des cas, votre pertinence dans l'élaboration de ce travail et votre expertise en pathologie osseuse. J'ai bien conscience du temps que vous m'avez consacré, toujours dans une ambiance chaleureuse et bienveillante, je vous remercie. Je garderai un excellent souvenir de nos échanges pour ce travail. Vous avez su me transmettre le goût de la pathologie osseuse, et je suis reconnaissante de tout ce que vous m'avez appris.

J'ai été très heureuse de travailler à vos côtés.

Aux personnes qui ont contribué à la réalisation de ce travail,

Aux pathologistes du groupe RESOS, de nous avoir confié leurs cas, et pour leur conseils avisés dans la construction de ce travail.

Delphine, pour ton aide dans la réception des cas des différents centres, et de m'avoir initiée et accompagnée dans les difficultés administratives que pose un travail multicentrique.

Emilie, pour ta rigueur dans les comptes des paramètres en immuno-histochimie, et pour ta bonne humeur.

Cécile et Maxime, pour la réalisation des techniques de biologie moléculaire.

Aux radiologues du service de Guilloz, pour m'avoir transmis les images illustrant cette thèse, et plus particulièrement à Romain et Christophe.

Aux cliniciens et attachés de recherche clinique des différents centres ayant participé à l'étude, pour votre aide lors du recueil de données cliniques.

A l'ensemble de l'équipe du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de Central, notamment à **Amale, Aurélie, Pauline et Claudine**, pour les techniques immuno-histochimiques.

A tous les Médecins pathologistes de Nancy, qui ont contribué à ma formation en Anatomie et Cytologie Pathologiques, et en particulier à,

Madame le Docteur Agnès LEROUX,

Pour votre enseignement en pathologie mammaire et tissus mous, vous avez su m'enseigner des choses difficiles toujours avec clarté et précision. Votre rigueur, et l'étendue de vos connaissances m'impressionnent. Je vous suis très reconnaissante de m'avoir fait confiance et j'ai hâte de commencer mon assistantat dans votre service.

Madame le Docteur Jacqueline CHAMPIGNEULLE,

Pour votre enseignement, votre pédagogie et votre bienveillance. J'ai démarré mon cursus en anatomopathologie par un semestre à Brabois, où vous m'avez inculqué les bases, dans une spécialité où il est si difficile de commencer, je m'en souviendrai. Je suis très heureuse d'avoir pu travailler à vos côtés.

Madame le Docteur Catherine BARLIER,

Pour votre enseignement et votre expertise en pathologie mammaire. J'admire votre dévouement, et votre sens de l'organisation. Je vous suis très reconnaissante de m'avoir fait confiance et de tout ce que vous m'avez appris ! Je suis heureuse de pouvoir me spécialiser en pathologie mammaire, et ce grâce à vous, merci.

Madame le Docteur Hélène BUSBY-VENNER,

Pour ton enseignement, ta sympathie, ton dynamisme et ta franchise. Tu m'as appris beaucoup, notamment en hémato-pathologie. Sache que j'ai beaucoup d'admiration pour toi, tu es un modèle pour moi !

Madame le Docteur Charlène VIGOUROUX,

Pour ta sympathie, ton enseignement en dermatopathologie, et ta présence ce dernier semestre à central. J'aurais aimé travailler plus avec toi pendant mon internat, mais nous nous sommes croisées entre Brabois et Central.

Madame le Docteur Claire BASTIEN,

Pour ta gentillesse, et ton enseignement. Tes connaissances en hémato-pathologie m'ont fait avancer dans ce domaine. Je regrette que tu sois partie du CHU, et que nous ne puissions plus travailler ensemble.

Monsieur Xavier SASTRE,

Pour votre expérience, et votre enseignement.

Monsieur le Docteur Claude DEPARDIEU,

Pour votre enseignement et le partage de vos cas.

Monsieur le Docteur Antoine MAX,

Pour ton sérieux, et ton calme à toute épreuve.

Aux médecins du centre de Pathologie Emile Gallé, de m'avoir si bien accueillie lors de mon semestre dans votre structure. Avoir pu découvrir pendant mon internat l'activité en secteur privé est un privilège, merci.

Madame le Docteur Véronique HURIET, pour votre gentillesse. Déjeuner avec vous tous les midis était bien sympathique.

Monsieur le Docteur Philippe LEROUX, pour votre bienveillance et votre disponibilité. Vous avez toujours pu me consacrer du temps à discuter des cas difficiles, je m'en souviendrai !

Madame le Docteur Karine MONTAGNE, pour ta rigueur et ta patience. Tu expliques les choses avec clarté, tout paraît facile avec toi, merci !

Madame le Docteur Virginie HENNEQUIN, pour ta disponibilité et ta bonne humeur en toutes circonstances, merci !

Madame le Docteur Maud OUNNOUGHENE, pour ton dynamisme et ton efficacité. J'admire ton sens de l'organisation et tes compétences de gestion d'équipe.

Monsieur le Docteur Stéphane KIRCHNER, pour votre accessibilité et votre franchise. J'admire votre capacité à savoir tout faire.

Monsieur le Docteur Philippe BEUREY, pour votre enseignement en dermato-pathologie, et votre sens clinique, merci !

Madame le Docteur Florence NODARI, pour votre disponibilité et votre gentillesse. Vous m'avez beaucoup appris, toujours avec précision.

Et aux médecins remplaçants du CPEG, Céline et Dan, pour votre sympathie. Nos pauses repas ensemble étaient bien chaleureuses !

A mes futurs co-assistants,

Charlie, Jacques, Emilie, Clémence et Celso,

Je suis ravie de savoir que je travaillerai à vos côtés, et j'espère que nous saurons nous serrer les coudes !

A mes co-internes,

Catherine et Céline, comme je vous regrette à Nancy ! Je me souviendrai de ce semestre passé ensemble toutes les trois, vous incarnez la joie de vivre.

Lucie, Nozha, Chloé, ce dernier semestre 100% féminin à vos côtés était bien agréable, merci de m'avoir soutenue !

Stéphane, Philippe, Florian, Mikael, Ludovic, Camille, Héloïse, Agnès, merci pour votre sympathie à tous, j'ai beaucoup apprécié travailler à vos côtés !

A toute l'équipe technique et aux secrétaires des laboratoires d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de Brabois et Central, merci pour votre gentillesse et votre disponibilité.

A toute l'équipe technique, aux secrétaires du laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologiques de l'Institut de Cancérologie de Lorraine, merci pour votre gentillesse et votre bienveillance. Je me fais une joie de venir travailler à vos côtés.

A toute l'équipe technique, aux secrétaires, et cadres du laboratoire du Centre de Pathologie Emile Gallé, et particulièrement à **Félicien,** pour ton enseignement en cytologie.

A l'ensemble des équipes médicales et infirmières des différents services où j'ai effectué mes stages hors anatomo-cyto-pathologie, de m'avoir accueillie comme si j'étais une interne de votre spécialité.

A toute l'équipe du service de Pneumologie du CHR de Mercy,

A toute l'équipe du service de Néphrologie du CHU,

A toute l'équipe du laboratoire d'Hématologie du CHU.

Je tiens à remercier chacun d'entre vous, d'avoir été présent durant mon parcours, et vous exprime toute ma gratitude.

A ma famille,

A Guillaume,

Ma plus belle rencontre, la vie est si douce à tes côtés. Merci pour tout.

A mes parents, et à Louis et Emma, mon noyau familial si précieux.

A mes grands-parents, toujours présents pour moi.

A la famille JAY, si gentille, merci de m'avoir accueillie aussi chaleureusement.

A mes amis de longue date,

A Dalila, mon amie de toujours, ma confidente, tu fais partie de ma famille ! Merci de ton soutien pendant toutes ces années.

A Marie, chaque moment avec toi est une véritable bouffée d'air frais. Merci !

A Camille, la petite voisine rue Vauban, et devenue ma plus vieille amie. Nous avons grandi ensemble ! Merci d'être toujours là pour moi.

Justine, Léa, Romain.

A ces bandes d'amis que j'aime tant,

Caroline, Matthieu, Benjamin, Clémence, Moreau, Gioia, Boris, Raphaëlle, Noomane, pour toutes les soirées, vacances, bons moments entre copains. Ces parenthèses ensemble sont si importantes, merci !

Charlotte, Guillaume P, Delphine, Christophe, Margot, Mathieu, Mika, Chloé, Manon et François. C'est si rare les amis avec qui on apprécie autant l'effet de groupe que chaque personne individuellement. Nos différences à tous mettent en valeur les personnalités de chacun, quel mélange détonnant, j'adore !

Aux co-internes devenues amies,

Charlotte, ma première co-interne, et désormais tellement plus que ça ! Je n'oublierai jamais ce début d'internat avec toi, une révélation amicale, merci ! Je n'ai aucun doute quant à la longévité de notre amitié.

Arielle, une belle rencontre durant ce semestre en néphrologie. Tu étais un rayon de soleil dans le service de dialyse, merci !

Lauriane, Hélène, Anaëlle, merci pour ce semestre en biologie en si bonne compagnie, tellement girly.

Aux copains rencontrés il n'y a pas si longtemps, mais pas moins importants,

Margaux T, Guillaume O, Alix et Thibaud, on ne se connaît depuis pas si longtemps que ça, et pourtant je vous apprécie déjà beaucoup. Le début d'une belle amitié, j'en suis sûre !

A toutes les personnes que je n'ai pas citées, merci à vous.

SERMENT

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

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

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

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonorée et méprisée si j'y manque ».

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	22
PARTIE I: INTRODUCTION	23
GENERALITES / AVANT PROPOS	23
I. LES TUMEURS A CELLULES GEANTES OSSEUSES	25
A. Définition et introduction	25
B. Physiopathologie	25
C. Données cliniques	27
D. Imagerie.....	28
E. Anato-mo-pathologie et données moléculaires	31
F. Principes de prise en charge et stratégies thérapeutiques.....	35
II. PLACE DU DENOSUMAB DANS LES TCG	36
A. Généralités sur le dénosumab.....	36
B. Effets secondaires du dénosumab	37
C. Introduction du dénosumab dans la stratégie thérapeutique des TCG.....	39
D. Effets thérapeutiques du dénosumab.....	40
OBJECTIFS PRINCIPAL ET SECONDAIRES	42
PARTIE II: ARTICLE	43
ABSTRACT	43
INTRODUCTION	44
MATERIALS AND METHODS	46
RESULTS	49
DISCUSSION	53
FIGURES, TABLES AND LEGENDS	57
REFERENCES	68
PARTIE III : DISCUSSION	71
CONCLUSION	74
BIBLIOGRAPHIE	75

ABREVIATIONS

HPF: High Per Field

HES: Hematoxylin Eosine Safran

ICC : Intraclass Correlation Coefficient

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IHC: Immuno-Histochimie

LI: labelling Index

OPG : Ostéoprotégérine

ONM : Ostéonécrose de la mâchoire

PFS : Progression Free Survival

TCG : Tumeurs à Cellules Géantes osseuses

TDM: Tomodensitométrie

RANK: Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B

RANKL: Receptor Activator of Nuclear factor Kappa B Ligand

WHO: World Health Organization

PARTIE I: INTRODUCTION

GENERALITES / AVANT PROPOS

Les Tumeurs à cellules géantes osseuses (TCG) sont des tumeurs osseuses primitives ostéolytiques, de malignité intermédiaire et d'agressivité locale. Relativement peu fréquentes (4 à 5% des tumeurs osseuses primitives), elles touchent les adultes jeunes (20-45 ans) et préférentiellement l'épiphyse des os longs. Elles sont constituées de deux contingents cellulaires principaux, représentés par des cellules géantes plurinucléées ostéoclastiques exprimant RANK, et des cellules mononucléées, correspondant au contingent néoplasique, exprimant RANKL (1).

Le traitement de référence est la chirurgie (curetage, exérèse monobloc). Cependant, certaines lésions ne sont pas accessibles à la chirurgie dans un premier temps du fait de leur localisation (rachis, péri-articulaire...), ou de la morbidité importante du geste chirurgical. Les TCG sont des lésions à potentiel récidivant, 27 à 65% de récidives après curetage, 12 à 27 % après curetage associé à un traitement adjuvant, et 12% après résection monobloc. Pour ces différentes raisons, la prise en charge de ces tumeurs s'avère complexe (2).

Le dénosumab, un anticorps monoclonal humain anti RANKL, a été introduit récemment dans la prise en charge de ces lésions. Il est indiqué lorsque la chirurgie n'est pas réalisable en première intention, ou expose à une morbidité trop importante. Il agit en inhibant la résorption osseuse, et permet un contrôle de la maladie. En imagerie, on observera une stabilisation de la taille de la tumeur, avec une ossification, et une meilleure délimitation de la lésion facilitant un geste chirurgical ultérieur. Histologiquement, on observe une diminution voire une disparition complète des cellules géantes, au bénéfice d'un tissu fibreux et d'une néo-ossification (3).

Dans ce travail, nous nous sommes intéressés à la réponse des TCG au dénosumab, en adoptant une analyse globale, morphologique, immuno-histochimique et moléculaire. S'il existe déjà quelques études dans la littérature avec cet objectif, notre série regroupe, à notre connaissance, le plus grand nombre de cas comparant pour chaque patient les prélèvements avant et après dénosumab (4-6) .

Nous avons évalué les critères morphologiques suivants : fibrose, ossification, nécrose, population macrophagique, index mitotique et quantification des cellules géantes. En immuno-histochimie, nous avons utilisé les anticorps anti-RANKL, P63 et H3F3A pour étudier la population tumorale, difficile à distinguer sur le plan morphologique des précurseurs ostéoclastiques ou des histiocytes. Nous avons également recherché en biologie moléculaire la présence de la mutation diagnostique G34W (H3F3A).

Le recueil de ces paramètres et la confrontation avec les données cliniques recueillies nous a permis d'évaluer la valeur prédictive de ces différents critères en pré-dénosumab sur la réponse histologique, ainsi que leur valeur pronostique. Nous avons également évalué la corrélation de la réponse histologique, avec les réponses cliniques et radiologiques, et la reproductibilité inter-observateur.

I. LES TUMEURS A CELLULES GEANTES OSSEUSES

A. Définition et introduction

Les Tumeurs à cellules géantes osseuses sont des tumeurs osseuses primitives, de malignité intermédiaire, et d'agressivité locale. Il s'agit de tumeurs ostéolytiques, composées d'une population de cellules mononucléées, et de cellules géantes ostéoclastiques. Relativement rares, elles représentent 4 à 5% des tumeurs osseuses primitives, avec une fréquence un peu plus marquée au sein des populations chinoises et indiennes, où elles peuvent représenter jusqu'à 10% des tumeurs osseuses primitives. Elles surviennent le plus souvent chez les jeunes adultes, entre 20 et 45 ans, avec un pic autour de 30 ans, et une discrète prédominance féminine (F/H : 56%) (1,7).

B. Physiopathologie

A l'état normal, l'homéostasie osseuse est le résultat d'une balance équilibrée entre formation osseuse et résorption osseuse. Les ostéoclastes d'origine hématopoïétique sont responsables de la résorption osseuse, et les ostéoblastes d'origine mésenchymateuse de la formation osseuse. Parmi la famille des ligands TNF (Tumor Necrosis Factor), RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B) et son ligand RANKL (Receptor Activator of nuclear factor kappa B Ligand), jouent un rôle crucial dans la différenciation et l'activation ostéoclastique, régulées négativement par OPG (ostéoprotégérine), un récepteur soluble et inhibiteur de RANKL.

RANKL est une protéine transmembranaire, qui existe également sous forme libre par clivage ou épissage alternatif. RANKL agit par l'intermédiaire de son récepteur membranaire RANK, exprimé à la surface des cellules ostéoclastiques et de leurs précurseurs. RANKL stimule la fusion des précurseurs ostéoclastiques pour la formation de cellules géantes multinucléées ostéoclastiques et ainsi l'activité de résorption mais également l'attachement des ostéoclastes au tissu osseux, et la survie de ces derniers (8).

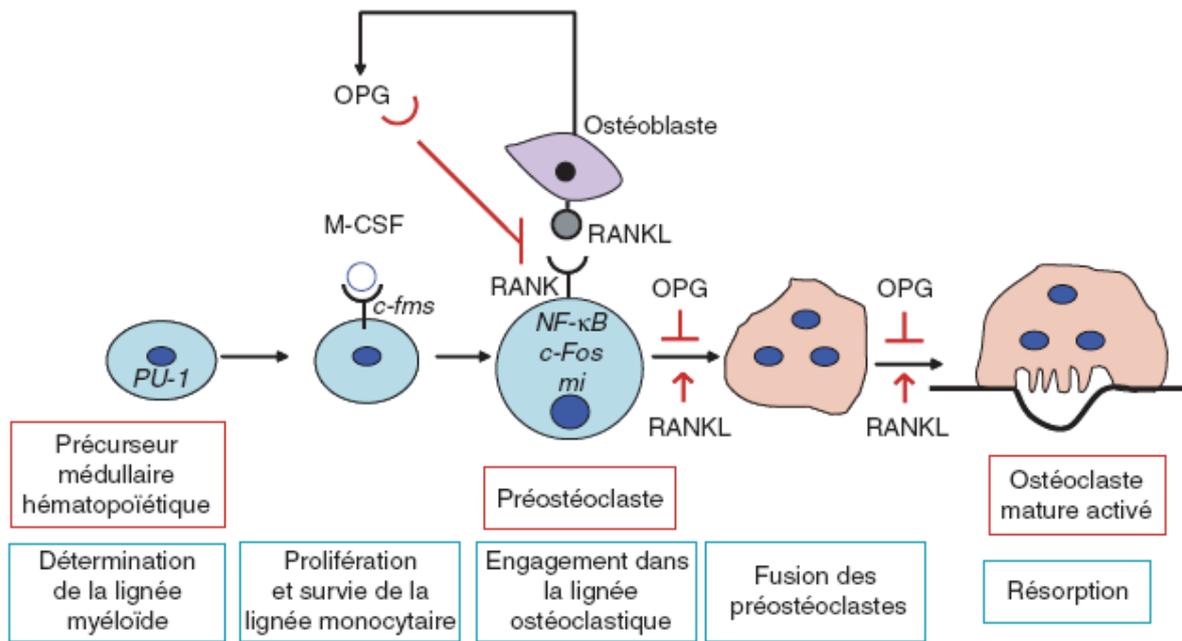


Figure 6. Différenciation des cellules ostéoclastiques (Source : Thomas et al. 2008).

Dans les TCG, cette balance entre formation et résorption osseuse est fortement déséquilibrée du fait de la surexpression de RANKL à la surface des cellules néoplasiques (9). Cette surexpression est expliquée par la sécrétion de cytokines et de facteurs de croissance par les cellules néoplasiques, tels que des interleukines, prostaglandines et TNF alpha, qui vont augmenter le niveau d'expression de RANKL et diminuer le niveau d'expression d'OPG (ostéoprotégérine). L'augmentation du ratio RANKL/OPG mène à l'augmentation de la différenciation et de l'activité ostéoclastique.

L'activité des ostéoclastes est régulée par trois voies de signalisation, activées par M-CSF, RANKL et une voie de co-stimulation ITAM dépendante (Immunoreceptor Tyrosine Based Activation Motif). Les interactions entre RANKL et RANK induisent la transduction de signaux qui activent de nombreux facteurs, dont les facteurs de transcription NF-KB et NFATc1. Ces facteurs modulent l'expression de gènes effecteurs impliqués dans la survie, la différenciation et l'activation des ostéoclastes.

De par son rôle prépondérant, la voie RANKL-RANK représente une cible thérapeutique potentielle dans ces pathologies (10).

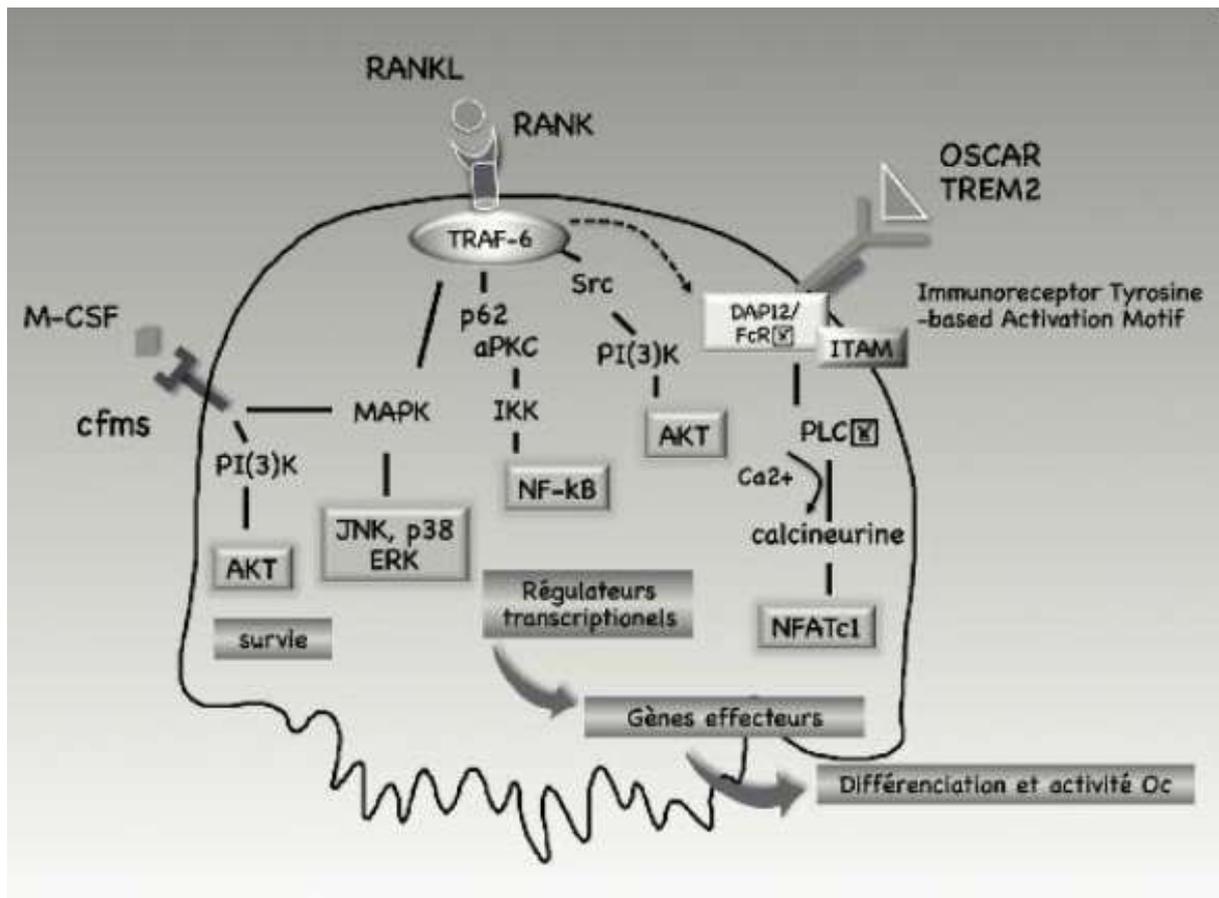


Figure 7. Signalisation induite par RANKL (Source : *Le système RANKL-RANK et ostéoprotégérine, Réflexions Rhumatologiques, Sophie Roux*).

C. Données cliniques

a. Topographie lésionnelle

Majoritairement situées au niveau de l'épiphyse des os longs (fémur distal, tibia proximal, radius distal, humérus proximal), les TCG peuvent s'étendre à la métaphyse. Plus rarement, elles siègent au niveau du squelette axial, et des os plats. (1,7)

b. Symptomatologie

La douleur est le symptôme le plus fréquent, accompagné ou non d'un gonflement et d'une raideur articulaire, une fracture pathologique survenant dans 5 à 10% des cas. La découverte d'une tumeur à cellules géantes osseuse est rarement fortuite. L'évolution de ces lésions au niveau du sacrum ou du rachis peut être à l'origine de symptômes neurologiques. (1,7)

c. Evolution et pronostic

Depuis 2013, les TCG sont considérées comme des tumeurs de malignité intermédiaire, localement agressives, rarement métastasiantes. Le potentiel récidivant, ainsi que l'agressivité de ces tumeurs rendent leur prise en charge difficile. Les récidives surviennent dans environ 25 à 35% des cas après curetage (1).

Des métastases pulmonaires sont décrites dans 2% des cas, survenant en moyenne 3 à 4 ans après le premier diagnostic. Ces métastases, aussi appelées implants pulmonaires, sont à distinguer des vraies métastases observées dans les TCG malignes. Elles ont un comportement et des caractéristiques radiologiques et histologiques différents. Elles progressent très lentement, et n'altèrent pas le pronostic, certains de ces implants pouvant régresser spontanément. L'aspect histologique est superposable à celui de la tumeur primitive. Le comportement de ces implants pulmonaires reste imprévisible, et exceptionnellement à l'origine du décès (1,11).

Les TCG malignes sont exceptionnelles de novo. Les transformations malignes de TCG conventionnelles sont décrites le plus souvent sur des lésions précédemment irradiées. Dans les autres cas, il s'agit d'un processus de dédifférenciation en sarcome de haut grade, survenant généralement au cours d'une récidive, sur le site de la TCG précédemment diagnostiquée. Le pronostic des patients avec une transformation maligne de TCG est le même que celui des patients atteints d'un sarcome de haut grade (12).

D. Imagerie

a. La Radiographie standard

Elle permet le plus souvent d'évoquer le diagnostic, devant l'aspect d'une ostéolyse pure, excentrée, le plus souvent épiphysaire, ou métaphyso-épiphysaire. L'ostéolyse peut s'étendre et atteindre l'os sous-chondral. Les contours de la lésion sont parfois soulignés par un fin liseré de condensation, cependant souvent absent, sans sclérose périphérique. La corticale est longtemps respectée, puis soufflée avec un aspect perméatif dans les formes agressives. Il peut être observé des pseudo-cloisons en nid d'abeilles, dues à une résorption osseuse inégale. Il n'y a classiquement pas de calcifications, d'ossification ou de réaction périostée (2,12).



Figure 1. Tumeur à cellules géantes de l'extrémité proximale du tibia gauche. Lésion ostéolytique métaphyso-épiphysaire excentrée du plateau tibial latéral gauche en radiographie standard de face (**a**), de profil (**b**) (*Source : CHRU Nancy*).

b. Tomodensitométrie

La tomodensitométrie intervient en complément de la radiographie standard et permet de préciser les caractéristiques décrites plus haut. Elle vérifie l'absence de calcifications, l'intégrité de la corticale, l'extension dans les parties molles, et les rapports avec le cartilage articulaire (13).



Figure 2. Tumeur à cellules géantes de l'extrémité proximale du tibia gauche. Lésion ostéolytique métaphyso-épiphysaire excentrée du plateau tibial latéral gauche sur une reconstruction coronale de scanner avec injection de produit de contraste
(Source : CHRU Nancy).

c. IRM

L'IRM précise l'extension tumorale, en intra-articulaire et au sein des parties molles. La lésion est le plus souvent iso- ou hypo-intense en T1. Le signal intra-lésionnel en T2 est souvent hétérogène, avec des plages d'hyposignal liées à la présence de fibrose ou d'hémosidérine (14). Les portions tissulaires de la TCG sont rehaussées par l'injection de gadolinium (15).

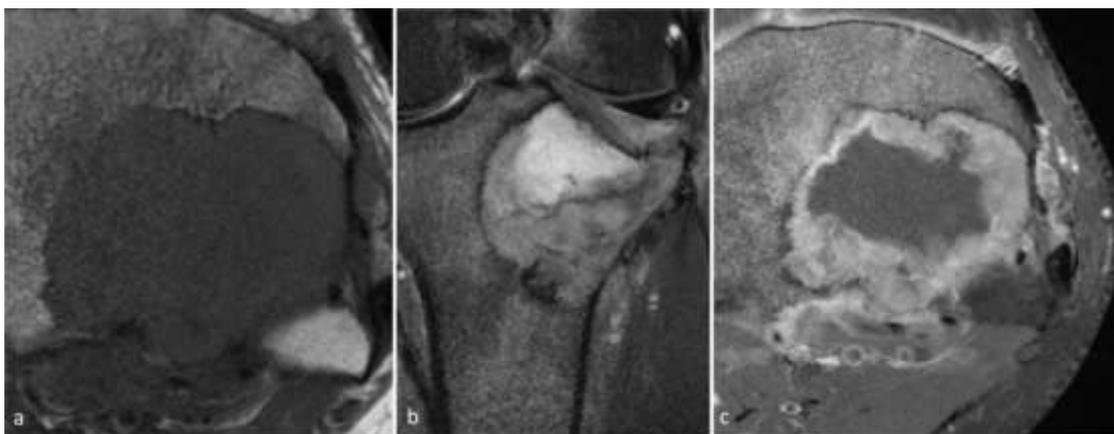


Figure 3. Tumeur à cellules géantes de l'extrémité proximale du tibia gauche : en hypo signal T1 (a, coupe axiale en pondération T1), hyper signal T2 (b, coupe coronale en pondération T2 fat sat). Rehaussement après injection de gadolinium (c, coupe axiale en pondération T1 après saturation du signal de la graisse et injection de gadolinium) (Source : CHRU Nancy).

E. Anato-pathologie et données moléculaires

a. Macroscopie

Le matériel le plus adapté pour le diagnostic provient d'un geste de curetage. Il présente l'aspect d'un tissu friable, de consistance molle, de teinte brunâtre assez typique. Il peut comporter des zones plus fibreuses, blanchâtres, ou jaunâtres xanthélasmiées (7).

Sur les pièces de résection, la lésion est généralement bien limitée par une fine capsule fibro-ossuse, présentant des limites nettes avec le canal médullaire. La corticale peut être amincie, voire envahie. L'aspect de la lésion est hémorragique, nécrotique avec de possibles remaniements kystiques (12).



Figure 4. Tumeurs à cellules géantes : aspect macroscopique. Tumeur de l'extrémité distale du fémur A. Lésion bien limitée, cortex intact. B. Tumeur expansive, avec amincissement du cortex et fracture pathologique. (Source : *Dorfman and Czerniak Bone Tumors*).

b. Microscopie

Histologiquement, la lésion est composée de deux contingents cellulaires :

- Un contingent mononucléé, constitué de cellules fusiformes, rondes ou ovales, correspondant d'une part aux cellules néoplasiques ostéoblastiques, et d'autre part aux cellules mononucléées précurseurs ostéoclastiques (16). Les cellules néoplasiques expriment à leur surface RANKL. Certaines cellules précurseurs ostéoclastiques expriment à leur surface RANK. Sur le plan morphologique il est très difficile de distinguer ces deux types cellulaires, souvent confondus, mais l'étude immuno-histochimique aide à les différencier. L'index mitotique au sein des cellules mononucléées peut être élevé, sans figures de mitoses atypiques.
- Un contingent multinucléé, constitué de cellules géantes multinucléées ostéoclastiques, responsables de la résorption osseuse, et qui expriment RANK à leur surface. Elles ont pour caractéristique de se répartir de façon homogène et diffuse au sein de la lésion. Leurs noyaux sont vésiculeux avec un nucléole proéminent, au sein d'un cytoplasme éosinophile. Les cellules géantes peuvent être de taille variable avec un nombre de noyaux allant de 20 à parfois plus de 50. Les noyaux des cellules géantes présentent le même aspect que ceux des cellules mononucléées précurseurs ostéoclastiques. Elles sont en effet le résultat de leur fusion. Il est parfois visualisé en plus de ces deux contingents, des cellules bi ou trinuéclées, qui suggèrent une transition progressive entre les cellules mononucléées précurseurs ostéoclastiques et les cellules géantes multinucléées. Il n'y a pas d'activité mitotique au sein des cellules géantes.
- Le stroma tumoral est plus ou moins fibreux, collagénisé, avec le plus souvent de nombreuses suffusions hémorragiques, et parfois une composante osseuse immature d'aspect réactionnel. (1,7)
- L'aspect microscopique classique des TCG peut être modifié dans certains cas où la lésion est le siège de remaniements fibro-histiocytaires, hémorragiques et/ou nécrotiques. Certaines lésions très fibrosées avec un contingent storiforme et une réaction xanthogranulomateuse, ont été documentées. Dans ces cas de TCG remaniées, où la réaction fibro-histiocytaire remplace massivement le contingent tumoral sous-jacent, il faut évoquer de principe certains diagnostics différentiels, et notamment le fibrome non ossifiant (12).

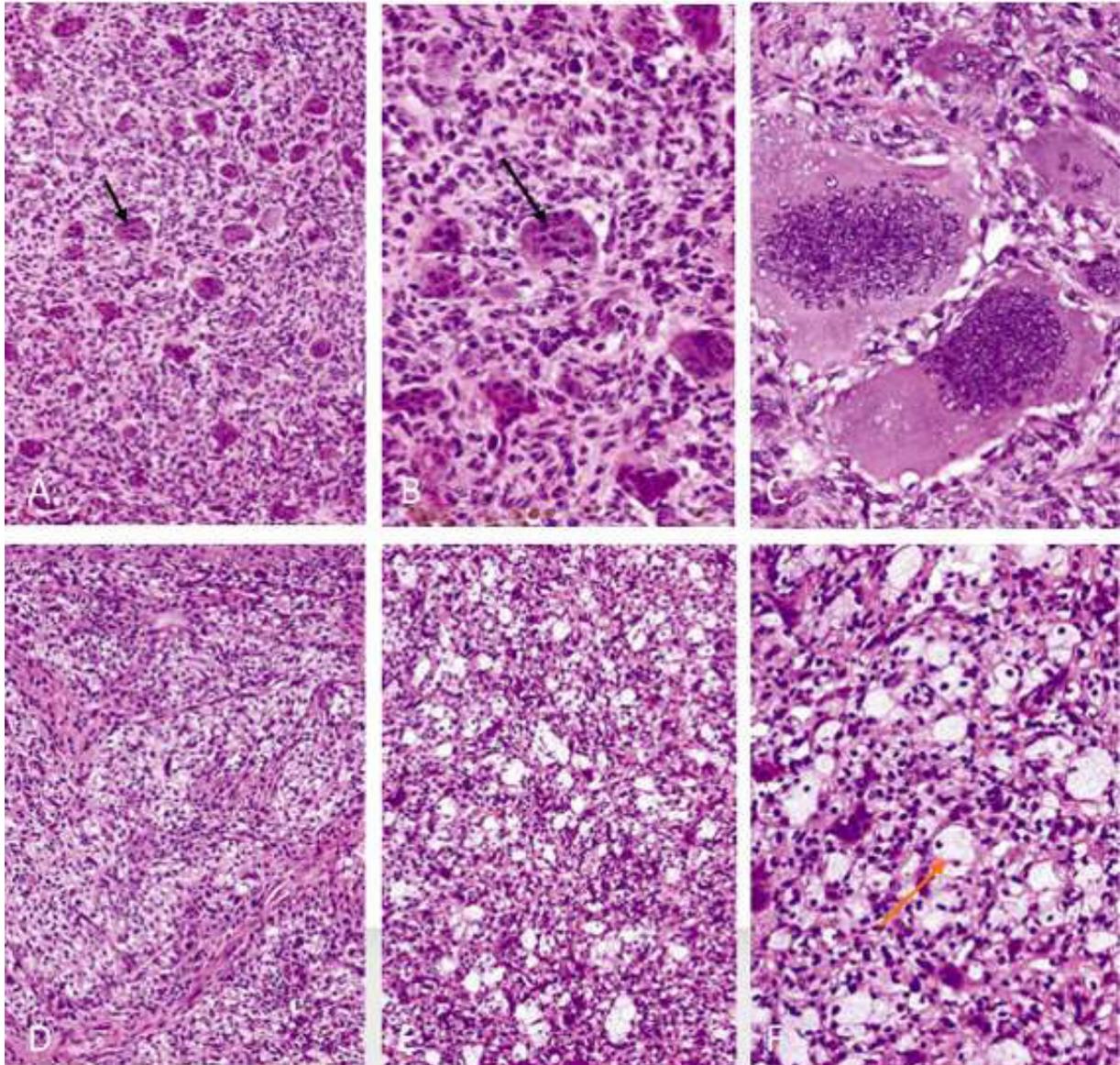


Figure 4. Tumeurs à Cellules Géantes osseuses : aspect microscopique. A (HES x 100) et B (HES x 200) : aspect classique avec la disposition homogène des cellules géantes (flèche noire). C (HES x 200) : Volumineuses cellules géantes avec plus de 100 noyaux. D, E (HES x 100) et F (HES x 200) : Tumeur à cellules géantes remaniée : fibrose (D) et macrophages spumeux (flèche orange) (E et F) (*Source : Dorfman and Czerniak Bone Tumors*).

c. Immuno-histochimie :

Jusqu'à présent, l'immuno-histochimie était peu contributive pour le diagnostic, mais utile pour le diagnostic différentiel des lésions riches en cellules géantes (chondroblastome, fibrome non ossifiant, kyste anévrysmal, tumeur brune de l'hyperparathyroïdie...), en association avec les données cliniques et radiologiques (17).

Bien que non spécifique, la présence de plus de 50% des cellules tumorales exprimant p63 est un argument en faveur du diagnostic de TCG (18,19).

Les anticorps anti-RANK et RANKL ne sont pas utilisés en routine pour le diagnostic, mais en recherche clinique facilitent la compréhension du comportement de ces tumeurs, en différenciant les cellules tumorales du contingent mononucléé des cellules ostéoclastiques (20).

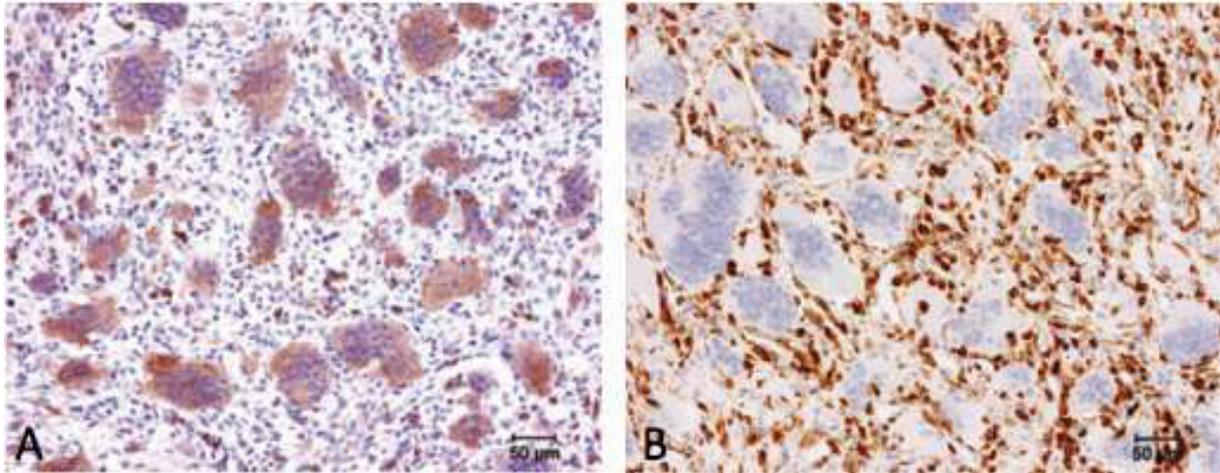


Figure 5. Expression de RANK et RANKL dans les Tumeurs à Cellules Géantes. A. (HES x 20) RANK est exprimé par les cellules géantes et par les précurseurs ostéoclastiques. B. (HES x 20) RANKL est exprimé par les cellules mononucléées tumorales (*Source : Dorfman and Czerniak Bone Tumors*).

L'approche diagnostique des TCG a changé avec la découverte récente d'une mutation spécifique de H3F3A (G34W) codant pour l'histone H3.3, et le développement d'un anticorps identifiant cette mutation, opérationnel en immuno-histochimie (21).

d. Données moléculaires

Les histones sont des protéines qui ont un rôle important dans l'empaquetement de l'ADN. Il existe plusieurs variants de l'histone H3. Parmi ceux-ci, le variant H3.3 est codé par le gène H3F3A, situé sur le chromosome 1 (22).

La mutation G34W de H3F3A a été mise en évidence (séquençage Sanger) par Sam Behjati *et al* en 2013, dans 92% des cas de TCG. Cette mutation est identifiée au sein de la population mononucléée néoplasique, mais n'est pas détectée au sein des cellules ostéoclastiques (23).

D'autres études ont confirmé la spécificité de cette mutation en ne la détectant pas au sein d'autres lésions riches en cellules géantes (24,25).

D'autres mutations minoritaires de H3F3A sont cependant possibles, G34R, G34V, G34L, et G34M, détectées en biologie moléculaire (26), avec la mise sur le marché très récente d'anticorps G34R et G34V pour la détection de ces mutations minoritaires en immunohistochimie (27).

La présence de la mutation est un marqueur sensible et spécifique des TCG, il s'agit d'une avancée majeure pour le diagnostic.

F. Principes de prise en charge et stratégies thérapeutiques

a. Chirurgie :

Le traitement chirurgical conservateur par curetage est l'approche de choix pour la prise en charge des TCG. Le but est d'obtenir l'exérèse la plus complète possible de la lésion, tout en préservant une bonne fonctionnalité chez ces patients le plus souvent jeunes. Le curetage peut être réalisé seul ou associé à un comblement. Il doit être de bonne qualité, afin de limiter au maximum le résidu tumoral (8). Plusieurs matériaux sont utilisés en cas de comblement associé : l'autogreffe, l'allogreffe, le ciment acrylique, les biomatériaux. En pratique, le ciment acrylique (polyméthylmétacrylate) est le plus utilisé, en raison de son faible coût, et d'une bonne stabilité mécanique immédiate. Le taux de récurrence après curetage seul ou associé à un comblement est de 30 à 55% au prix d'un sacrifice fonctionnel moindre qu'une résection en bloc (2,28).

L'association d'adjuvants physiques ou chimiques aux curetages est également possible, et a pour objectif de diminuer la fréquence des récurrences locales après curetages simples (28).

Les résections ne sont discutées que si elles n'exposent pas à des séquelles fonctionnelles ou lorsqu'un curetage ne peut être réalisé de façon complète. La résection en bloc de la tumeur lorsqu'elle est complète donne le plus faible taux de récurrence : 0% lorsque les marges sont saines, et 8 % pour une résection marginale. La contrepartie de cette chirurgie est de nécessiter une reconstruction prothétique, par arthrolyse ou allogreffe, donnant de moins bons résultats et parfois de lourdes séquelles fonctionnelles. Elle doit donc être réservée à des situations particulières (formes étendues à l'articulation, fracturées, ou localisation à fort risque de récurrences comme au niveau du radius distal) (7,12).

b. Traitements non chirurgicaux :

En pré-opératoire, afin de limiter le risque hémorragique, l'embolisation artérielle peut être indiquée (volumineuses tumeurs de localisation difficile, comme le rachis, le sacrum, et le bassin...) (29).

La radiothérapie était utilisée en adjuvant d'un geste chirurgical incomplet, mais ne semble plus avoir sa place, surtout depuis l'apparition des thérapeutiques médicales anti-ostéoclastiques. En effet, elle engendrait un risque de transformation maligne ou l'apparition d'un sarcome post-radique (30).

Des travaux récents ont montré l'intérêt potentiel des traitements anti-ostéoclastiques en adjuvant dans les TCG de l'os. Les bi-phosphonates peuvent être utilisés dans la prise en charge des TCG, bien que les résultats rapportés reposent sur des séries rétrospectives et non contrôlées ou des cases reports (31–33). Ils augmenteraient le taux de cellules apoptotiques pour les cellules géantes et les cellules stromales (34).

Le dénosumab, qui fait l'objet de ce travail, supplante ces traitements adjuvants pour améliorer la prise en charge des lésions pour lesquelles la prise en charge initiale chirurgicale est difficile.

La chimiothérapie est réservée aux exceptionnelles formes malignes et TCG dédifférenciées (sarcomes de haut grade) (8).

II. PLACE DU DENOSUMAB DANS LES TCG

A. Généralités sur le dénosumab

Le dénosumab est un anticorps monoclonal IgG2 humain ciblant le ligand du récepteur RANK (RANKL), qui inhibe la résorption osseuse en empêchant l'interaction de RANK, exprimé à la surface des cellules ostéoclastiques, et de RANKL à la surface des cellules ostéoblastiques. Il reproduit l'action physiologique de l'ostéoprotégérine (OPG) et agit rapidement et profondément sur le remodelage osseux en réduisant le nombre et la fonction des ostéoclastes, diminuant de ce fait la résorption et la destruction osseuse.

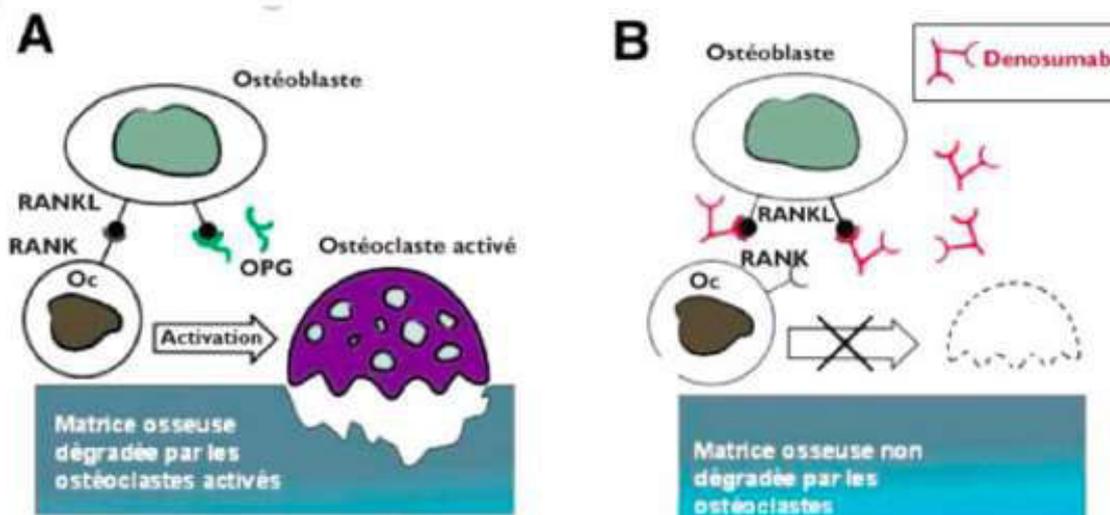


Figure 8. Mode d'action du dénosumab. A. En situation normale, l'ostéoclaste (Oc) doit être activé par l'ostéoblaste, (intéraction RANK-RANKL), pour résorber la matrice osseuse. B. En présence de dénosumab, anticorps monoclonal neutralisant de RANKL, cette activation est bloquée. (Source : *Revue Médicale Suisse B. Auvry-Rozier*).

Le dénosumab est utilisé dans de nombreuses indications où le remodelage osseux est un mécanisme pathogénique central. C'est le cas de l'ostéoporose, des affections néoplasiques telles que le myélome, des métastases osseuses de tumeurs solides, mais aussi dans certaines arthrites chroniques érosives (35).

Il existe sous deux formes commerciales différentes, XGEVA®, réservé aux patients atteints de métastases osseuses ou Prolia®, réservé à la prévention de l'ostéoporose. La posologie recommandée est de 120 mg en injection sous-cutanée toutes les quatre semaines, avec une dose supplémentaire à J8 et J15.

B. Effets secondaires du dénosumab

Le dénosumab est à l'origine d'effets secondaires importants, notamment de troubles métaboliques tels que l'hypocalcémie et l'hypophosphatémie. La prescription de ce traitement doit toujours s'accompagner d'une supplémentation en calcium et en vitamine D. Une surveillance de la calcémie est recommandée, avant chaque injection (35,36).

Classe MedDRA de système d'organe	Catégorie de fréquence	Effet indésirable
Infections et infestations	Peu fréquent	Cellulite ¹
Affections du système immunitaire	Peu fréquent	Hypersensibilité au médicament
Troubles du métabolisme et de la nutrition	Fréquent	Hypocalcémie ¹
	Fréquent	Hypophosphatémie
Affections respiratoires, thoraciques et médiastinales	Très fréquent	Dyspnée
Affections gastro-intestinales	Très fréquent	Diarrhée
	Fréquent	Extraction dentaire
Affections de la peau et du tissu sous-cutané	Fréquent	Hyperhydrose
Affections musculo-squelettiques et systémiques	Fréquent	Ostéonécrose de la mâchoire ¹

Figure 9. Effets indésirables rapportés du dénosumab (*Source : Vidal*).

Risques identifiés	Hypocalcémie Ostéonécrose de la mâchoire Réactions d'hypersensibilité Fracture fémorale atypique Douleur musculosquelettique
Risques potentiels	Infection Evénement cardiovasculaire Tumeur maligne Ostéonécrose d'une zone autre que la mâchoire Immunogénicité Cataracte chez les hommes avec un cancer de la prostate sous traitement antiandrogénique Trouble de la fonction thyroïdienne
Informations manquantes	Risque pendant la grossesse et l'allaitement Population pédiatrique Myélome multiple Patients avec des dysfonctions hépatiques Patients précédemment traités par bisphosphonates Sécurité du traitement au long court et suivi à long termes chez les adultes et les adolescents à maturité squelettique avec une TCG Utilisation hors AMM chez les patients avec une TCG résécable ou l'opération n'entraînerait pas à priori de morbidité sévère

Figure 10. Risques identifiés ou potentiels du dénosumab dans le cadre du plan de gestion des risques Européens (*Source : HAS Commission de transparence dénosumab*).

L'un des effets secondaires les plus redoutés est l'ostéonécrose de la mâchoire, c'est pourquoi le traitement ne peut être instauré qu'après un bilan dentaire, associé aux soins nécessaires. Une surveillance est également nécessaire tout au long du traitement, et la moindre pathologie

dentaire peut nécessiter l'arrêt temporaire ou définitif du traitement. Une hygiène bucco-dentaire rigoureuse est primordiale tout au long du traitement pour limiter ce risque. Une évaluation individuelle du rapport bénéfice/risque doit être effectuée préalablement à l'instauration d'un traitement par dénosumab chez les patients présentant des facteurs de risque inévitables d'ONM et chez les patients ayant développé une ONM au cours d'un traitement par dénosumab. C'est pourquoi la prescription de ce traitement nécessite un consentement éclairé du patient, une éducation et un accompagnement (37–39).

C. Introduction du dénosumab dans la stratégie thérapeutique des TCG

Depuis 2010, le dénosumab a été introduit dans la stratégie thérapeutique des TCG osseuses (36). En ciblant le ligand du récepteur RANK (RANKL) surexprimé par les cellules mononucléées néoplasiques qui activent les cellules géantes, le dénosumab diminue l'activité ostéoclastique des cellules géantes et prévient la progression de la maladie.

Le dénosumab est proposé lorsque le traitement chirurgical de première intention est impossible à réaliser, ou au prix d'une morbidité trop importante.

Chez les patients opérables, le dénosumab a pour but de faciliter le geste chirurgical pour permettre la résection de la tumeur dans un second temps. Le traitement devra ensuite être poursuivi pendant 6 mois. Chez les patients non opérables, le dénosumab a pour objectif de stabiliser la maladie, mais il n'y a pas de recommandations pour la durée de traitement dans cette indication.

Deux études non comparatives ont étudié l'efficacité et la tolérance du dénosumab dans les TCG osseuses (3,36). Thomas D *et al* ont utilisé un critère de jugement composite, radiologique et histologique. Trente des 35 patients inclus ont répondu au critère d'efficacité composite. Chawla *et al* apportent un complément d'information sur l'efficacité du dénosumab dans les TCG osseuses à partir de critères secondaires et exploratoires. Vingt et un patients sur les 251 inopérables avaient une progression de la maladie.

L'apport du dénosumab dans la prise en charge des TCG osseuses évalué dans ces deux études a permis l'obtention de l'AMM pour l'indication concernée : « Traitement des adultes et des adolescents à maturité squelettique atteints de tumeurs osseuses, non résécables ou pour lesquels la résection chirurgicale est susceptible d'entraîner une morbidité sévère » (40).

D. Effets thérapeutiques du dénosumab

a. En imagerie

Le traitement par dénosumab entraîne des modifications de l'aspect radiologique. Le critère de jugement principal radiologique choisi dans l'étude de Thomas D *et al.* (36) pour l'évaluation de la réponse au dénosumab était l'absence de progression radiologique de la lésion cible, la progression étant définie comme une augmentation de la taille supérieure de 20% par rapport à la valeur initiale, mesurée par tomodensitométrie ou IRM à la 25^{ème} semaine de traitement. Dix des 15 patients évalués par imagerie n'ont pas présenté de progression.

Les modifications radiologiques secondaires au traitement, rapportées dans la littérature sont la disparition des foyers d'ostéolyse, la formation d'un liseré d'ossification en périphérie de la lésion, un épaississement de la corticale, avec une matrice fibreuse et une ossification de la lésion sans modification de la taille lésionnelle. En IRM il est observé une modification du signal, avec une diminution de la prise de contraste (4,41,42).

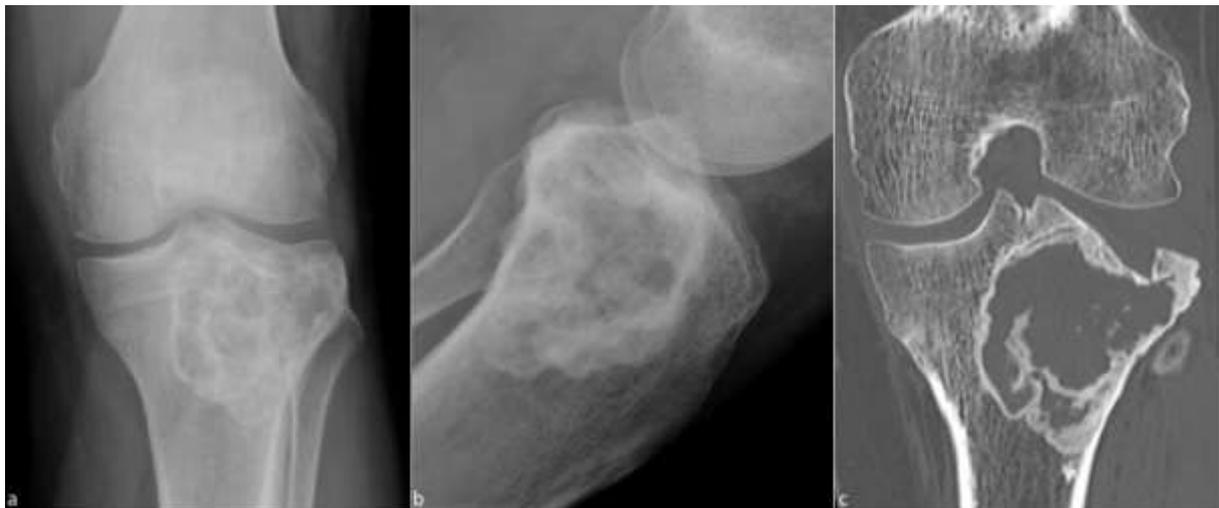


Figure 11. Ossification lésionnelle périphérique au cours d'un traitement par dénosumab en radiographie standard de face (a), de profil (b) et en reconstruction coronale de scanner sans injection de produit de contraste (c) (Source : CHRU Nancy).

b. En histologie

Le dénosumab entraîne des modifications histologiques parfois très marquées de l'aspect de la tumeur initiale. Le pathologiste doit impérativement être informé d'un traitement en cours, pour l'analyse des prélèvements per et post traitement.

Le critère de jugement principal histologique retenu dans l'étude de Thomas D *et al.* (36) pour l'évaluation de la réponse au dénosumab est la disparition d'au moins 90% des cellules géantes, ce qui est le cas de la totalité des patients évalués dans cette étude.

Plusieurs publications ont décrit les modifications histologiques secondaires au traitement par dénosumab. La modification majeure est l'importante diminution voire la disparition totale des cellules géantes, au bénéfice d'une ossification immature, d'une matrice fibreuse, avec une prolifération cellulaire monomorphe, storiforme, de densité variable, dépourvue d'atypies cyto-nucléaires, avec parfois des remaniements macrophagiques ou inflammatoires (42–44).

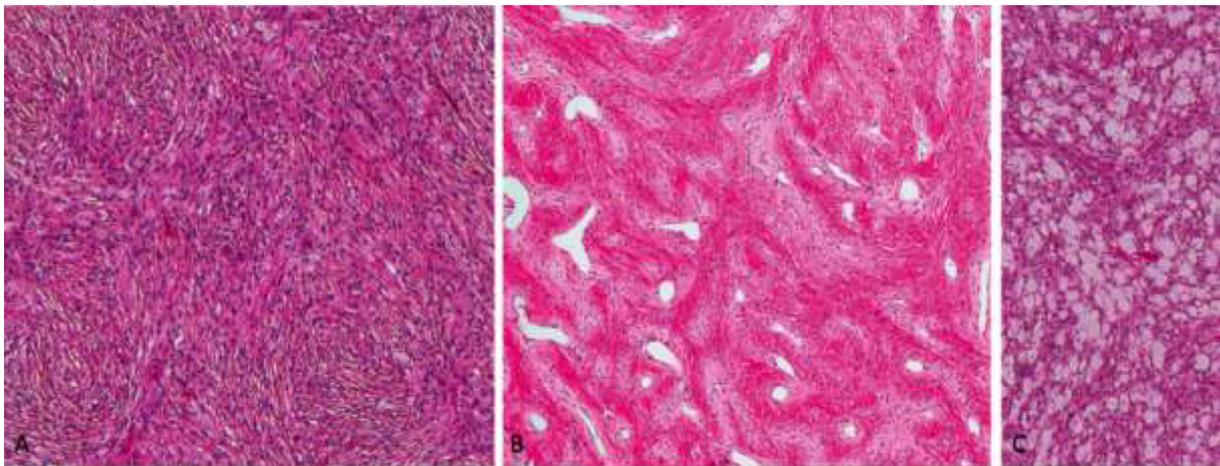


Figure 12. Tumeur à cellules géantes osseuse traitée par dénosumab : aspects microscopiques. A. Prolifération cellulaire monomorphe avec disparition des cellules géantes. B. Ossification immature. C. Remaniements macrophagiques. (*Source : John Wojcik et al.*)

Les premières études ont privilégié l'analyse des cellules géantes ostéoclastiques. Les cellules mononucléées qui représentent le contingent néoplasique de la lésion ont été en revanche peu étudiées après dénosumab.

Dans ce travail, nous allons évaluer la réponse histologique au dénosumab avec une approche globale, morphologique, immuno-histochimique, et moléculaire avant et après traitement.

OBJECTIFS PRINCIPAL ET SECONDAIRES

TITRE :

Tumeurs à Cellules Géantes Osseuses traitées par dénosumab : étude clinico-pathologique d'une série de 35 cas du Groupe Français de Pathologie Osseuse.

OBJECTIF PRINCIPAL :

- Evaluer la réponse histologique, immuno-histochimique et moléculaire des tumeurs à cellules géantes au dénosumab.
- c.

OBJECTIFS SECONDAIRES :

- Etudier la valeur prédictive des critères histologiques, immuno-histochimiques et moléculaires suivants dans la réponse histologique au traitement par dénosumab :
 - o Fibrose, macrophages, nécrose, ossification, index mitotique, quantification des cellules géantes
 - o Expression en immuno-histochimie de RANKL, p63, H3F3A, et Ki67
 - o Présence de la mutation G34W en biologie moléculaire
- Evaluer la valeur pronostique de ces différents paramètres sur la survenue de récurrences.
- Confirmer la bonne sensibilité et spécificité de l'anticorps G34W H3F3A pour la détection de la mutation.
- Evaluer la corrélation de la réponse clinique, radiologique, et histologique au dénosumab.

PARTIE II: ARTICLE

Denosumab treated Giant cell tumors of bone.

Clinicopathologic Analysis of 35 cases from the French Group of Bone Pathology.

Mathilde Treffel (1), Emilie Lardenois (1), Frédérique Larousserie (2), Marie Karanian (3), Anne Gomez-Brouchet (4), Corinne Bouvier (5), Sébastien Aubert (6), Gonzague de Pinieux (7), Maria Rios (8), François Sirveaux (9), Jean-Michel Vignaud (1,10), Guillaume Gauchotte (1,10), Béatrice Marie (1).

- (1) Département de Pathologie, CHRU, Nancy, France.
- (2) Département de Pathologie, Cochin hospital, Paris, France.
- (3) Département de Pathologie, Leon-Berard Center, Lyon, France.
- (4) Département de Pathologie, IUCT Oncopole, Toulouse, France.
- (5) Département de Pathologie, CHU Timone, Marseille, France.
- (6) Département de Pathologie, CHRU, Tours, France.
- (7) Département de Pathologie, CHR, Lille, France.
- (8) Département de Oncologie, ICL, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.
- (9) Surgical center Emile Gallé, CHRU, Nancy, France.
- (10) INSERM U1256, Université de Lorraine, Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

ABSTRACT

Denosumab, a monoclonal antibody directed against the receptor activator of nuclear factor- κ B ligand (RANKL), has recently been introduced in the treatment strategy of giant cell tumor of bone (GCTB). The aim of this study was to assess the tumor changes induced by denosumab in a multicentric and retrospective series of 35 cases from the French Group of Bone Pathology (RESOS).

For all patients, tissue specimens collected before and after denosumab treatment were available. They were investigated for RANKL, H3.3 G34W, p63, and MIB1 expression using immunohistochemistry, and for H3F3A G34W mutation using sequencing. These parameters

were confronted with clinical and radiological presentation in order to identify prognostic factors and more specifically predictive markers of a histological complete response to denosumab (recognized as a $\geq 90\%$ loss in giant cells with parallel fibrosis and ossification).

The main changes in post treatment specimens were an induction of immature ossification ($P=2. 10^{-5}$), an increased fibrosis ($P=3. 10^{-5}$) and a major decrease in giant cells number ($P=6. 10^{-11}$). No significant change in mononuclear tumor cell density as well as in patterns of expression of RANKL ($P=0.061$) and H3F3A G34W was observed ($P=0.061$). For the first time, we showed that a complete histological response to denosumab was correlated with a better progression free survival (PFS) ($P=0.010$ in univariate analyses and $P=0.040$ in multivariate analyses), and that a high number of giant cells in the initial sample correlated with a better histological response to treatment ($P=0.016$).

In summary, denosumab caused profound changes in the tumor. The so-called complete histological response, despite the absence of objective regression of the tumor contingent, is an indicator of prolonged PFS. Only a high density of giant cells in the initial sample seemed to be predictive of a complete histological response to denosumab.

Key Words:

Giant cell tumor of bone, denosumab, histological response, H3F3A G34W, RANKL.

INTRODUCTION

Giant cell tumor of bone (GCTB) is a primitive and rare bone tumor of intermediate malignancy and locally aggressive. This is an osteolytic tumor, defined by the presence of two histological contingents: a population of osteoclast-like giant cells expressing the receptor activator of nuclear factor- κ B (RANK), and a contingent of mononuclear cells which represent the neoplastic contingent, expressing the receptor activator of nuclear factor- κ B

ligand (RANKL). This tumor occurs most often in young adults, around 30 years of age, and is generally localized in the epiphyses of long bones (1). The diagnosis is histologic but is not always easy because there are many differential diagnoses, such as chondroblastoma, aneurysmal bone cyst, non-ossifying-fibroma, or brown tumor of hyperparathyroidism (2,3). The diagnosis may be even more difficult, when performed on small biopsy specimens. The recent discovery of the mutation G34W in the H3F3A gene, which codes for histone H3.3 and specific to these tumors, facilitates the diagnosis. This mutation is restricted to the neoplastic mononuclear population while it is not detected in osteoclast cells (4-6). Recently, a monoclonal antibody specific to the H3F3A G34W mutation has been developed, showing good sensitivity and specificity (7).

The treatment of reference is surgery, by simple curettage, or margin-free surgical resection. However, some tumors cannot be surgically resected due to particular locations or high risk of morbidity (8).

Denosumab, a human anti-RANKL monoclonal antibody, has been recently introduced in the management of these lesions. It is indicated when the surgery is not possible initially, or achievable at the cost of too much morbidity (9). It acts by inhibiting bone resorption, and allows a control of the disease. At medical imaging, it induces a stabilization of the tumors' size, with ossification and a better delimitation of the lesion facilitating a later surgical procedure (10). Histologically, it induces a decrease or complete disappearance of giant cells, with replacement by fibrous tissue and neo-ossification (9,11). Changes induced by denosumab may be difficult to interpret for pathologists, at the risk of misdiagnosing osteosarcoma (12,13). That is why it is important to know and understand the histological features of GCTBs treated by denosumab.

In this study, we examined the histological, immunohistochemical and molecular modifications induced by denosumab in a multicentric and retrospective series of 35 GCTB,

comparing samples before and after denosumab for each case. Then, we tried to assess the prognostic value of histological and immunohistochemical features. Finally, we searched for predictive factors of a complete histological response.

MATERIALS AND METHODS

Patients

The design of this retrospective study was done in agreement with the requirements for the use of biological material in research proposed by our institutional ethics guidelines.

In this study, we analyzed samples of GCTB before and after denosumab from a multicentric and retrospective series of 35 patients. All cases were reviewed by the French Bone Pathology Group network (RESOS) between December 2009 and February 2018. For all cases, tissue samples collected before and after denosumab treatment were available. Tumor samples were fixed in 10% formalin, except nine, fixed in acetic formalin, and all were embedded in paraffin. None of them was decalcified. All patients received 120 mg of denosumab on days 8 and 15 of the first month of therapy, then subcutaneous injections of 120 mg every 4 weeks. Clinical data were collected by a retrospective review of the patients' files.

Histological evaluation

Tissue sections (H&E) were independently evaluated by two pathologists (M.T, B.M) in order to evaluate the inter-observer reproducibility. They were blinded to the clinical data. In cases of disagreement, a consensus was reached by revision of the slides, using a double-headed microscope.

The following morphologic features were evaluated by the two raters according to a semi-quantitative scale (0 for absence, 1 for mild, 2 for moderate, and 3 for abundant): fibrosis,

ossification, necrosis, and the presence of foamy macrophages. Giant cells and mitosis were counted on 10 consecutive standard fields in areas with the highest density (field surface: 0.1734 mm²). The same parameters were evaluated from post denosumab specimens. No histological response was defined as an unmodified lesion after denosumab, partial histological response as a slightly modified lesion, with a persistence of giant cells (less than 90% reduction) with variable fibrosis or immature ossification, and a complete histological response as a $\geq 90\%$ loss in giant cells with marked fibrosis and ossification.

Immunohistochemistry (IHC)

From each case, a representative block of the fixed paraffin embedded tissue was selected. Five μm paraffin sections were immersed in a 10-mM sodium citrate buffer (pH 6) for 20 minutes at 97°C for dewaxing and antigen retrieval. The following primary antibodies were used: anti- Ki-67 (1/200; mouse monoclonal, clone MIB-1, Dako Cytomation, Glostrup, Denmark), H3F3A G34W (1/1000 ; rabbit monoclonal, clone RM263, 31-1145-00, RevMab Biosciences, San Francisco, CA, USA), RANKL (1/1000 ; rabbit polyclonal, reference ab 9957, Abcam, Cambridge, UK), anti- p63 (ready to use ; mouse monoclonal, clone DAK-p63, Dako). Immunohistochemistry was performed with a Dako Autostainer Plus (Dako) automate, using a Flex+ Envision revelation system (Dako). Appropriate positive and negative controls were used throughout the experiment.

The quantification of H3F3A G34W and RANKL positive cells was performed by counting the number of positive cells among a total of 500 mononucleated cells. Additionally, p63 immunostaining was rated as focal (<50% of stained cells) or diffuse ($\geq 50\%$).

The Ki67 labelling index (LI) was defined as the percentage of cells displaying nuclear staining, by counting a total of 500 cells.

The counting was performed independently by two observers (MT, EL) under blinded conditions. A mean value for labeling index was calculated.

Mutational analyses of H3F3A

For 9 patients, samples before and after denosumab were fixed in acetic formol, so molecular biology could not be performed. For the others (26 patients), specimens before and after denosumab were analyzed as follows. DNA was obtained with KingFisher mL extractor (Thermolab System) according to the manufacturer's instructions. Exon 1 of H3F3A was amplified by polymerase chain reaction (PCR) with the following primer sets: H3F3A forward, 5'-TAAAGCACCCAGGAAGCAAC-3'; H3F3A reverse, 5'-CAAGAGAGACTTTGTCCCATTTTT-3'. The sequencing could not be realized for 3 samples before denosumab and 4 after denosumab because the DNA was degraded. PCR conditions were as follows: 95°C for 7 min; 40 cycles at 95°C for 30 s; 60°C for 45 s; and an extension step of 45 s at 72°C; and a last cycle at 72°C for 10 min. After purification, the DNA was labelled with the Big Dye Terminator v1.1, and sequencing was performed with the 3130 Genetics Analyzer.

Statistical analyses

Statistical analyses were performed using IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

To assess denosumab effects on morphological and immuno-histochemical criteria, we used the paired Wilcoxon test for quantitative variables (non-parametric), the paired T-test for quantitative variables that pass the Kolmogorov-Smirnov normality test, and Khi 2 or Fisher's test for qualitative variables. To research predictive criteria for a complete histological response, we used Mann-Whitney for ordinal or quantitative variables, and Fisher for qualitative variables. We realized a ROC curve for significant variables to determinate a

predictive threshold of complete histological response. Fisher's test was used to study the correlation between histological, radiological, and clinical responses.

The progression-free survival (PFS) analysis was performed with a Kaplan-Meier estimation with log-rank test, and the Cox model, using univariate analysis, for the following variables: age, sex, localization, tumor size, synchronous pulmonary localization, de novo tumor, post-denosumab complete surgery, pre-denosumab H3F3A G34W mutation, significant clinical response, significant radiological response, fibrosis increase, macrophages increase, necrosis increase, ossification increase, mitotic >50% decrease, giant cells >50% decrease, histological response to denosumab, RANKL >50% decrease, p63 decrease, Ki67 >50% decrease, post-denosumab number of giant cells. For the quantitative variables, in order to separate the patients into two groups for the log-rank tests, the median was arbitrarily used as a threshold. For Cox multivariate analyses, variables for which p was lesser than 0.10 on univariate analyses were integrated into the model.

Inter-observer reproducibility was evaluated with the Kappa coefficient for qualitative variables (fibrosis, ossification, necrosis, and the presence of foamy macrophages) and the intraclass correlation coefficient (ICC) for quantitative variables (number of giant cells, mitotic index, H3F3A, RANKL, p63, Ki-67 LI).

A p value less than 0.05 was considered to be statistically significant.

RESULTS

Clinical findings

Clinical data are summarized in Table 1. The patients were fifteen women and twenty men, ranging from 16 to 72 years old. Tumors locations were at the metaphysis or epiphysis of long

bones in 78% (27/35) of cases, in the pelvis in 11% (4/35) of cases, and were uncommon in 11% (4/35) of cases (metacarpus, metatarsus, vertebrae, hyoid bone). Tumor specimens obtained before treatment were biopsies (n=28) and curettages (n=7), and, after denosumab, complete surgical excisions (n=11), incomplete surgical excisions (n=4), curettages (n=19), and biopsy (n=1). At the time of the initiation of treatment, four patients presented a synchronous pulmonary tumor and 12 a relapsing tumor.

The duration of neoadjuvant denosumab therapy ranged from 3 to 53 months. Forty percent of patients (14/35) received adjuvant denosumab, with a duration ranging from 4 to 47 months. After denosumab treatment, 89% of patients (31/35) presented a significant clinical response, defined as a decrease in pain, functional impotence, and clinical size of the tumor. At medical imaging, 92% (32/35) showed a significant radiological response, defined as size stabilization, ossification, and disappearance of osteolysis foci. Clinical response was significantly correlated with radiological response ($p=0.0006$) (Table 2). Seventeen percent of patients (6/35) presented significant side effects, including 2 osteonecrosis of the jaw.

A recurrence was observed for 35 % of patients (11/31) occurring on an average of 14 months after the surgery, and 13 months after the end of denosumab treatment.

Two patients were lost for follow-up and two, recently diagnosed, and could not be considered for this purpose.

Denosumab effects on morphological and immuno-histochemical criteria

Denosumab effects were morphologically important (Figure 1), with a significant increase of fibrosis in 63% of cases (22/35) ($p = 3.10^{-5}$), immature ossification in 86% of cases (30/35) ($p = 2.10^{-5}$), a higher number of macrophages in 46% of cases (16/35) ($p = 0.001$), and a significant decrease of giant cell density (>50% reduction) in 74% of cases (26/35) ($p = 6.10^{-11}$). Mitotic index of mononuclear cells was also significantly decreased, with a mean index of

6.5/10 high power fields (HPF) before treatment, and 2.1/10 HPF after treatment ($p = 3.10^{-5}$) (Table 2). Finally, 69% of patients presented a complete histological response (24/35), 23% (8/35) a partial response, and 8% (3/35) no histological response. The histological response was significantly correlated with the radiological response ($p = 0.025$) (Table 3), but not clinical response ($p = 0.575$).

Regarding the immunohistochemical analysis, H3F3A G34W could not be performed in 3 cases (specimen fixed in acetic formalin), and one post denosumab sample could not be analyzed for p63 and Ki67 (no more material available). Ninety-one percent of cases expressed H3.3 G34W before denosumab treatment.

Denosumab did not significantly modified the immunohistochemical profile (figure 2). We observed a decrease of RANKL expression (mean labelling index from 33% before denosumab to 22% after denosumab), and H3F3A G34W expression (mean index from 55% before denosumab to 47% after denosumab), but not significantly ($p = 0.061$). P63 expression was significantly decreased: 77% of cases (26/34) presented a diffuse (>50%) staining before denosumab *versus* 32% (11/34) after denosumab ($p = 0.0003$). The Ki-67 proliferative index was also significantly reduced ($p = 0.0001$) (Table 2).

Mutational status of H3F3A

For 3/26 cases (11%) H3F3A G34W mutation was not found by molecular biology. The immuno-histochemical study was in agreement, showing an absence of labeling with the H3.3 G34W antibody. The G34W mutation was detected by sequencing in 89% of cases (23/26) before and after denosumab, fully matching with immunohistochemistry results. Sensitivity and specificity of the antibody for the detection of the mutation are therefore 100%.

Prediction of histological response

In the group with complete histological response, the pre-denosumab number of giant cells was significantly ($p = 0.016$) higher (mean number: 273/10 HPF) than in the group with no or partial histological response (129/10 HPF). In order to define an optimal threshold to predict the response to denosumab, a ROC curve was realized. It allowed to determinate an optimal threshold of 180 giant cells for 10 HPF, with a positive predictive value of 83%, and a negative predictive value of 63%. There was no significant difference between these two groups regarding other morphological criteria and IHC (Table 4).

Survival analyses

Survival analyses showed that (1) male gender, (2) post-denosumab complete surgery, (3) mitotic index >50% decrease, (4) giant cells >50% decrease and (5) a complete histological response to denosumab were significantly correlated with a longer PFS ($p = 0.034, 0.002, 0.021, 0.025, \text{ and } 0.010$, respectively) (Table 5 and Figure 3), whereas radiological and clinical response were not correlated with PFS ($p = 0.208$ and $p = 0.757$, respectively). Multivariate analyses showed that only a complete histological response remained significantly correlated with PFS ($p = 0.04$) (Table 6).

Inter-observer reproducibility

Inter-observer reproducibility was almost perfect with ICC > 0.8 for all immunohistochemical markers (ranging from 0.877 to 0.981) and was also high for the pre- and post-denosumab number of giant cell count (0.750 and 0.815). Inter-observer reproducibility was substantial for mitotic index (ICC 0.655 and 0.663).

Concerning the qualitative variables, the assessment of morphologic changes had a poorer reproducibility, ranging from a kappa coefficient of 0.079 for the evaluation of post-denosumab fibrosis to 0.704 for the histological response evaluation (Table 7).

DISCUSSION

Since the 2013 WHO classification, GCTB, initially classified as benign tumors, have been reconsidered into intermediate malignant tumors because of their potentially aggressive behavior (1). Surgical treatment is the standard treatment. However, it is not adapted in certain cases (particular topography, highly evolved lesion, risk for the joint,...), for which denosumab is indicated (14). The main modifications induced by denosumab (ossification, fibrosis, marked decrease or even disappearance of giant cells) are intended to facilitate the surgical treatment in a second time, when possible (9-11,15,16).

Despite very encouraging results, the occurrence of recurrence after stopping denosumab (17,18), the lack of precise recommendations for the duration of treatment (19), and the severity of certain side effects (20-23) urged us to be cautious in denosumab prescription. In this context, an evaluation of histopathological effects of denosumab and screening for predictive markers of response to denosumab seemed to be necessary. The French multicenter series (French group of bone pathology, RESOS) with 35 cases of TCG with pre and post denosumab samples for each case, is to our knowledge the most important cases series (16,24), and was adapted for this purpose.

In this series, we observed an important heterogeneity in the modalities of prescription of denosumab. The duration of the treatment varied from 3 to 53 months in neoadjuvant context, and 4 to 47 months in adjuvant prescription. Not all patients received adjuvant therapy (40%). Variability of practices within expert centers reflects the lack of official recommendations, due to a lack of consensus (14,19).

Among the various morphological criteria that we have chosen to evaluate, the current results confirmed the data from the literature (9-11,16). The very significant decrease of giant cells after denosumab ($p= 6.10^{-11}$) was in agreement with the expected mechanism of denosumab, controlling osteolysis. Other expected morphological changes such as fibrosis and ossification were significantly present (respectively $p= 3.10^{-5}$ and 2.10^{-6}). It was difficult to differentiate fibrosis and immature ossification in some cases, resulting in a relatively low inter-observer reproducibility (kappa coefficient ranging from 0.079 to 0.682). The necrosis, macrophages evaluation, and mitotic count were not relevant.

It is imperative to inform the pathologist of a treatment by denosumab. The modifications induced by denosumab can lead to difficulties in histopathological analysis. We notably observed pseudo-sarcomatous aspects that could lead to an erroneous diagnosis of osteosarcoma (12,13,25).

Previous studies focused on denosumab effects on giant osteoclastic cells (9-11,16). More recently, it has been pointed out on the persistence of mononuclear tumor cells (24). In this study we confirm this data, by showing the absence of significantly modified patterns of expression of P63, RANKL and H3F3A ($p= 0.061$) after denosumab neoadjuvant therapy. Denosumab modifies the tumor without treating it, partly explaining the occurrence of recurrence after stopping treatment (figure 4).

Molecular study confirmed these data with the persistence of the G34W mutation after denosumab, when it was initially present (in 19/22 cases), in perfect correlation with immunohistochemistry performed with the anti-H3F3A G34W antibody. Showing 100% sensitivity and specificity, this antibody is now an essential tool for the diagnosis of GCTB (7,26).

Our study demonstrated for the first time that, after treatment with denosumab, (a) a complete surgical resection, (b) a decrease of more than 50% of the giant cells, and (c) a complete histological response, were correlated with progression-free survival (respectively $p = 0.002$, $p = 0.025$ and $p = 0.010$), and that the histological response was an independent factor in multivariate analysis ($p = 0.040$). The decrease of tumor cells density, evaluated by immunohistochemistry using RANKL, p63 and H3.3 G34W, was not correlated with progression-free survival. We did not show either any correlation between radiological, or clinical responses and progression-free survival ($p = 0.208$ and $p = 0.757$, respectively) (Table 5).

The complete histological response to denosumab (notably peripheral ossification), despite the persistence of tumor mononuclear cells, remained an important criterion, probably ensuring better surgical resection and thus improving progression-free survival.

This series of 35 patients included a case of malignant transformation into undifferentiated high-grade sarcoma after denosumab. Other similar cases were reported (27,28). Disturbingly, in this observation the initial aspect of the lesion (surgical biopsy) did not allow to predict such an evolution. The G34W mutation, researched afterwards, was present in the pre-denosumab, post-denosumab, and malignant transformation samples.

Given the severity of some side effects, we were interested in finding predictive factors of a good response to denosumab. To date, no morphological, immunohistochemical or molecular criteria predictive of a complete histological response to denosumab has been identified. Our study showed that only a high number of giant cells in the initial sample seemed to be predictive of a good response to denosumab ($p = 0.0016$). Further prospective studies should be investigated to determine if these criteria can be used to select patients who can benefit from denosumab.

In conclusion, in this study, we have confirmed that denosumab induces decrease of giant cells, responsible for bone lysis, without noticeable effect on the contingent of neoplastic mononuclear cells. For the first time, we showed that the decrease of more than 50% of giant cells, compared to the initial sample, as well as the global histological response after denosumab, were correlated with the progression-free survival.

Only a high number of giant cells on the initial sample seemed to be predictive of a good response to denosumab, but this requires further investigations. The important point for the management of GCTB remains surgery. Denosumab should be associated as much as possible to a complete surgical excision. In all cases, multidisciplinary consultation is imperative, and requires care in a specialized environment.

FIGURES, TABLES AND LEGENDS

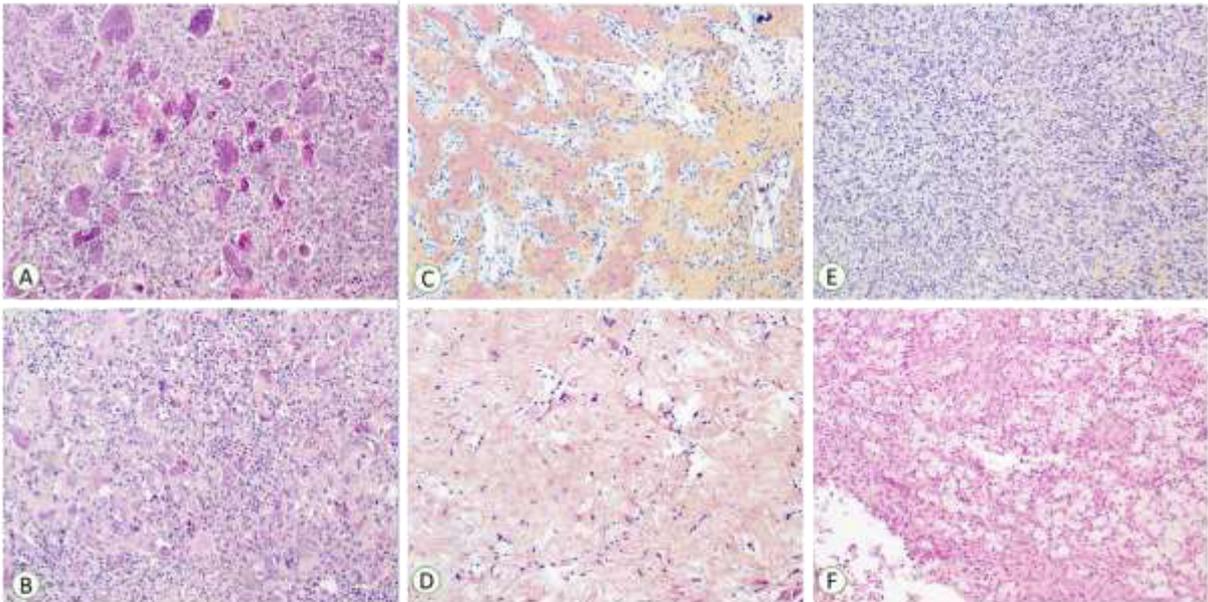


Figure 1. Denosumab effects on morphological criteria. (A) Giant cell tumor of bone (GCTB) before denosumab: numerous giant cells associated with mononuclear cells. (B) Pre-denosumab GCTB: remodeled tumor showing and lesser giant cells. (C) Post-denosumab GCTB, with immature ossification. (D) Post-denosumab GCTB with fibrosis. (E) Post-denosumab GCTB, showing a high cellular density of mononuclear cells, with disparition of giant cells. (F) Post-denosumab GCTB showing numerous foamy macrophages.

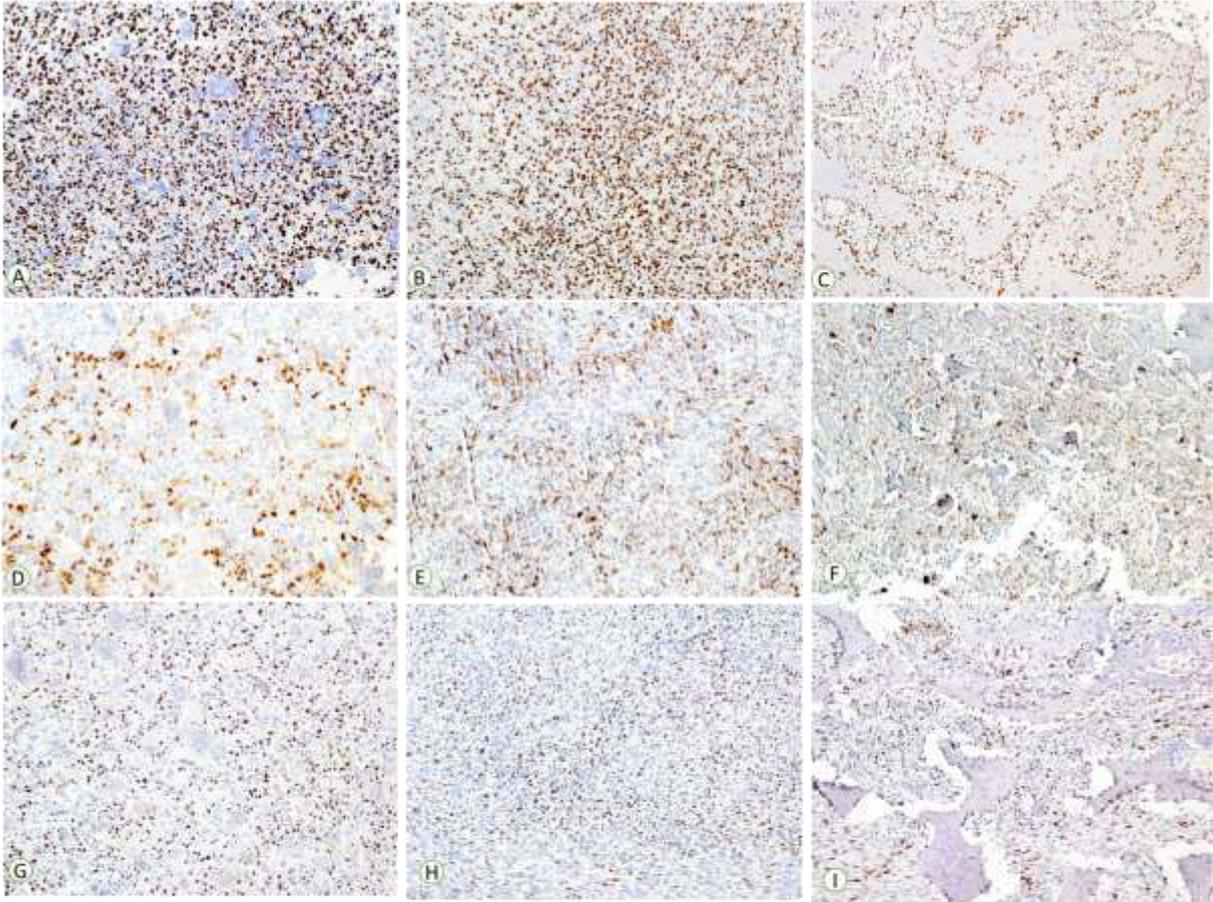


Figure 2. Denosumab effects on immunohistochemical criteria. Expression of H3.3 G34W by neoplastic cells before denosumab (A), and after denosumab in areas with high cellular density (B), and in area with immature ossification (C). Expression of RANKL by neoplastic cells before denosumab (D), and after denosumab in area with high cellular density (E), and in area with immature ossification (F). Staining for p63 before denosumab (G), and after denosumab in area with high cellular density (H), and in area with immature ossification (I).

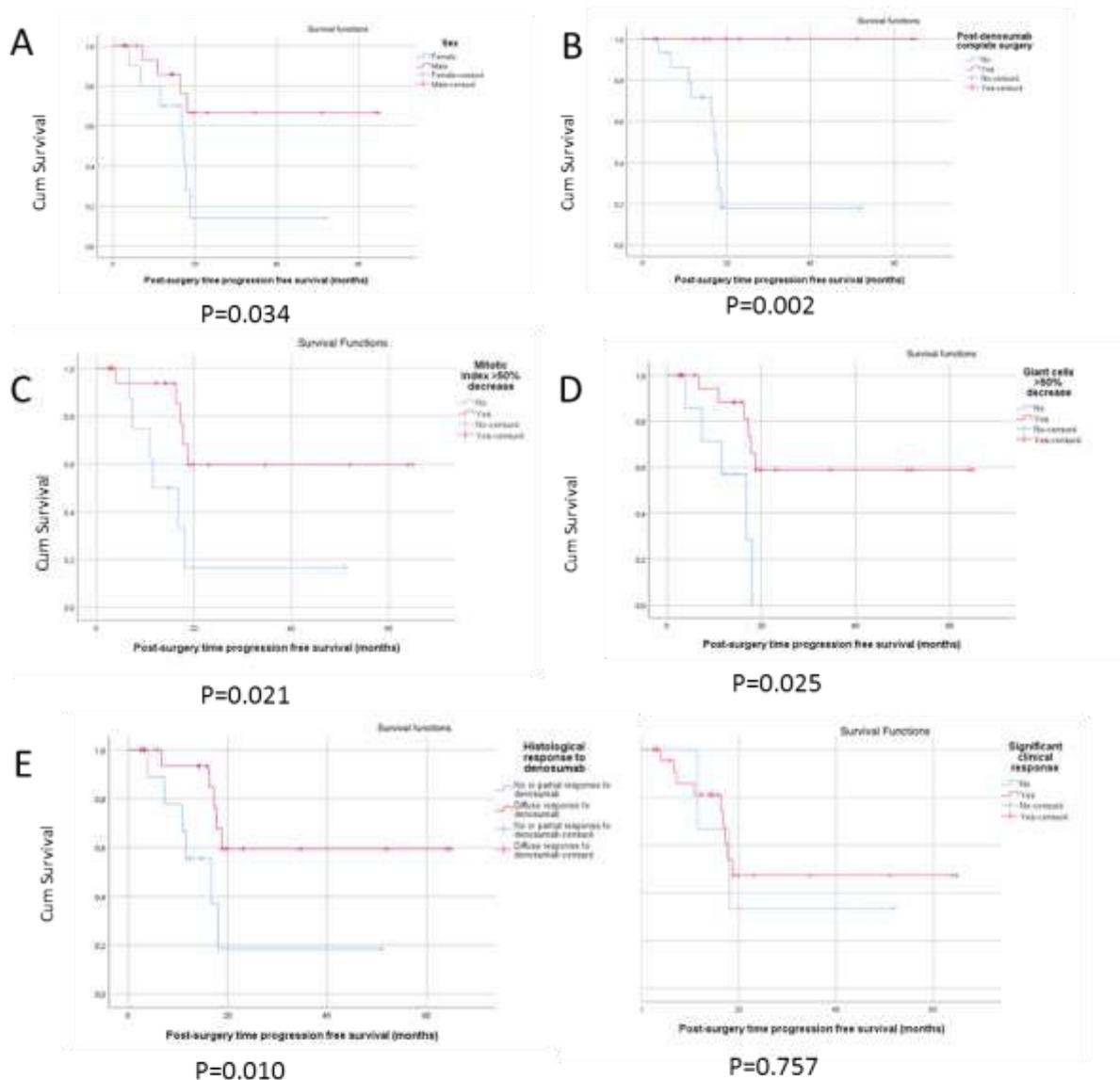


Figure 3. Kaplan-Meier curves for progression-free survival (log-rank test). (A) Sex ($p=0.034$). (B) Post-denosumab complete surgery ($p=0.002$). (C) Mitotic index >50% decrease ($p=0.021$). (D) Decrease > 50% of giant cells number ($p=0.025$). (E) Complete histological response ($p=0.010$). (F) Significant clinical response ($p=0.757$).

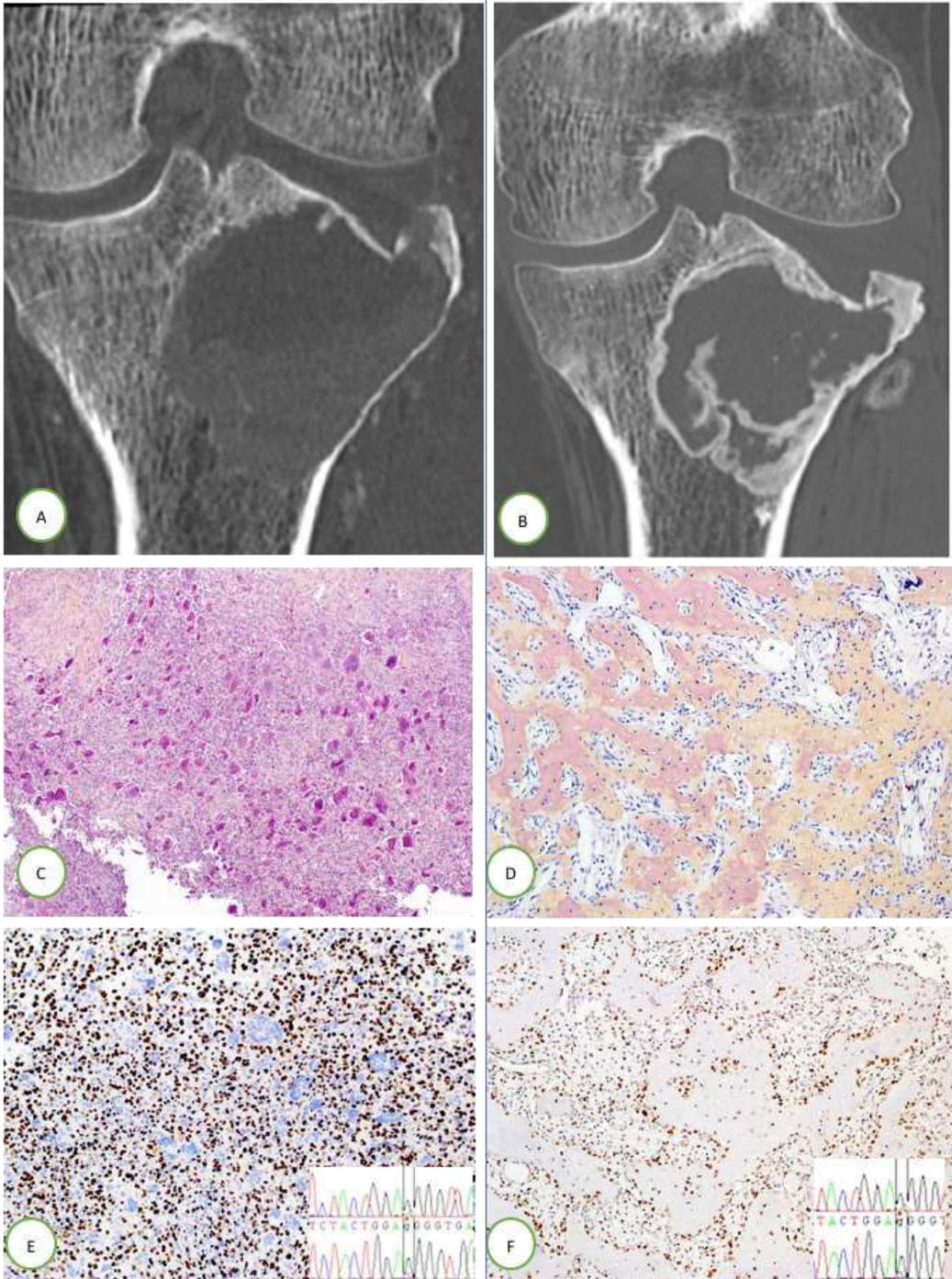


Figure 4. Modifications induced by denosumab. (A) Pre-denosumab CT scan. (B) Post-denosumab CT scan. (C) Pre-denosumab histology showing numerous giant cells. (D) Post-denosumab histology showing immature ossification and disappearance of giant cells. (E,F) Pre and post-denosumab immunohistochemical staining for H3F3A G34W, showing the persistence of mutant neoplastic cells (inserts: 103 G>T mutation, Sanger sequencing).

Table 1. Clinical data.

Variables (n=35)	Results
Age (mean ; min-max)	36 ; 16-72 years old
Sex (%)	Female: 43% (15/35) Male: 57% (20/30)
Tumor Size (mean ; min-max)	50; 15-99 mm
Localization (%)	Distal femur: 17% (6/35) Proximal tibia: 20% (7/35) Distal radius: 11% (4/35) Proximal femur: 3% (1/35) Distal tibia: 3% (1/35) Proximal humerus: 6% (2/35) Distal humerus: 6% (2/35) Other long bones: 9% (3/35) Pelvis: 11% (4/35) Other: 11% (4/35)
Synchronous pulmonary localization (%)	11% (4/35)
Recurrent tumor before denosumab (%)	34% (12/35)
Pre-denosumab samples (%)	Biopsy: 20% (7/35) Curettage: 80% (28/35)
Post-denosumab samples (%)	Biopsy: 3% (1/35) Curettage: 55% (19/35) Complete surgical excision: 31% (11/35) Incomplete surgical excision: 11% (4/35)
Denosumab indications (%)	Surgery not possible initially: 3% (1/35) To reduce surgery invasiveness: 97% (34/35)
Neoadjuvant denosumab duration (mean ; min-max)	12 ; 3-53 months
Post-denosumab surgery (%)	97% (34/35)
Adjuvant denosumab (%)	40% (14/35)
Adjuvant denosumab duration (mean ; min-max)	13 ; 4-47 months
Clinical response (%)	Significant response: 89% (31/35) No significant response: 11% (4/35)
Radiological response (%)	Significant response: 92% (32/35) No significant response: 8% (3/35)
Side effects (%)	No side effects: 82% (29/35) Hypocalcemia: 6% (2/35) Osteomuscular pain: 6% (2/35) Osetonecrosis of the jaw: 6% (2/35)
Progression/ relapse (%)	35% (11/31)

Table 2. Denosumab effects on morphological and immuno-histochemical criteria (paired T-test for quantitative variables that pass normality test; Khi2 or Fisher's exact test for qualitative variables).

Variables	Pre-denosumab	Post-denosumab	P-value
Fibrosis	No fibrosis: 20.0% (7/35) Mild: 62.8% (22/35) Moderate: 17.2% (6/35) Abundant: 0.0% (0/35)	No fibrosis: 5.7% (2/35) Mild: 37.1% (13/35) Moderate: 40.0% (14/35) Abundant: 17.2% (6/35)	3×10^{-5} *
Significant macrophagic infiltration	Absent: 85.8% (30/35) Mild: 8.5% (3/35) Moderate: 5.7% (2/35) Abundant: 0.0% (0/35)	Absent: 45.7% (16/35) Mild: 28.6% (10/35) Moderate: 20.0% (7/35) Abundant: 5.7% (2/35)	0.001 *
Necrosis	Absent: 57.1% (20/35) Mild: 28.6% (10/35) Moderate: 11.5% (4/35) Abundant: 2.8% (1/35)	Absent: 54.3% (19/35) Mild: 28.6% (10/35) Moderate: 14.3% (5/35) Abundant: 2.8% (1/35)	1
Ossification	Absent: 37.2% (13/35) Mild: 57.1% (20/35) Moderate: 5.7% (2/35) Abundant: 0% (0/35)	Absent: 8.5% (3/35) Mild: 8.5% (3/35) Moderate: 31.5% (11/35) Abundant: 51.5% (18/35)	2×10^{-6} *
Number of giant cells /10 HPF (mean; min-max)	245 ; 31-498	45 ; 0-218	6×10^{-11} *
Mitotic index /10 HPF (mean; min-max)	6.5 ; 0-22	2.1 ; 0-9	3×10^{-5} *
RANKL labelling index (mean; min-max)	33% ; 6-70%	22% ; 0-89%	0.061
H3F3A G34W labelling index (mean ; min-max)	54.5% ; 0-97%	46.9 ; 0-99%	0.061
Ki67 labelling index (mean; min-max)	36.6% ; 2-48%	13.3% ; 0-42%	0.0001*
P63 diffuse (>50%) staining	76.5% (26/34)	32.3% (11/34)	0.0003 *

HPF: high power field (0.1734 mm²; *p<0.05. Paired Wilcoxon test used for quantitative variables (non-parametric).

TABLE 3. Correlation between histological criteria, clinical response, and radiological response (Fisher's exact test).

Variables	Significant radiological response	No significant radiological response	P-value
Fibrosis increase	62.5% (20/32)	66.6% (2/3)	1
Macrophages increase	46.9% (15/32)	33.3% (1/3)	1
Necrosis increase	25.0% (8/32)	33.3% (1/3)	1
Ossification increase	87.5% (28/32)	66.6% (2/3)	0.380
Giant cells >50% decrease	81.3% (26/32)	0.0% (0/3)	0.013 *
Mitotic index >50% decrease	75.0% (24/32)	0.0% (0/3)	0.025 *
RANKL >50% decrease	59.3% (19/32)	0.0% (0/3)	0.086
H3F3A >50% decrease	6.6% (2/30)	0.0% (0/2)	1
Ki67 >50% decrease	62.5% (20/32)	33.3% (1/3)	0.551
P63 decrease	22.6% (7/31)	33.3% (1/3)	1
Significant clinical response	96.9% (31/32)	0.0% (0/3)	0.0006 *
Complete histological response	75.0% (24/32)	0.0% (0/3)	0.025 *

* <0.05.

TABLE 4. Predictive factors of complete histological response (Mann-Whitney test for ordinal or quantitative variables; Fisher's exact test for qualitative variables).

Variables	No or partial histological response	Complete histological response	P-value
Age (mean; min-max)	37; 16-64	36; 16-72	0.633
Tumor size (mm) (mean; min-max)	51; 23-75	49; 15-99	0.713
Sex	F: 4/11 (36.4%) H:7/11 (63.6%)	F: 11/24 (45.8%) H: 13/24 (54.2%)	0.721
Pre-denosumab fibrosis	No fibrosis: 27.3% (3/11) Mild: 63.7% (7/11) Moderate: 9.0% (1/11) Abundant: 0.0% (0/11)	No fibrosis: 16.7% (4/24) Mild: 62.5% (15/24) Moderate: 20.8% (5/24) Abundant: 0.0% (0/24)	0.409
Pre-denosumab significant macrophagic infiltration	No: 63.6% (7/11) Mild: 18.2% (2/11) Moderate: 18.2% (2/11) Abundant: 0.0% (0/11)	No: 96.0% (23/24) Mild: 4.0% (1/24) Moderate: 0.0% (0/24) Abundant: 0.0% (0/24)	0.409
Pre-denosumab necrosis	No: 54.6% (6/11) Mild: 27.4% (3/11) Moderate: 9.0% (1/11) Abundant: 9.0% (1/11)	No: 58.3% (14/24) Mild: 29.2% (7/24) Moderate: 12.5% (3/24) Abudant: 0.0% (0/24)	0.766
Pre-denosumab ossification	No: 54.6% (6/11) Mild: 45.4% (5/11) Moderate: 0.0% (0/11) Abundant: 0.0% (0/11)	No: 29.2% (7/24) Mild: 62.5 (15/24) Moderate: 8.3% (2/24) Abundant: 0.0% (0/24)	0.326
Pre-denosumab number of giant cells/10 HPF (mean; min-max)	129 ; 1-317	273 ; 60-498	0.016 *
Pre-denosumab mitotic index /10 HPF (mean; min-max)	5 ; 1-9	7 ; 1-22	0.903
Pre-denosumab RANKL labelling index (mean; min-max)	31 ; 6-70	35 ; 7-54	0.390
Pre-denosumab H3F3A labelling index (mean; min-max)	61 ; 36-74	54 ; 27-97	0.254
Pre-denosumab Ki67 labelling index (mean; min-max)	28 ; 12-40	34 ; 8-63	0.308
Pre-denosumab P63 diffuse staining	63.6% (7/11)	79.2% (19/24)	0.382

HPF: High power field: 0.1734 mm²; *p<0.05.

TABLE 5. Log rank survival analyses.

Variables	Log Rank P-value	PFS	
		Mean survival	95% CI
Sex	0.034 *		
	Male	47.8	34.0-61.7
	Female	19.4	9.5-29.2
Age	0.907		
	Age < 30 years	22.5	14.5-30.6
	Age ≥ 30 years	38.3	24.4-52.2
Localization	0.705		
	Femur	22.1	5.3-39.0
	Tibia	15.3	11.4-19.2
	Radius	18.2	10.1-26.3
	Humerus	25.7	13.3-38.1
	Other	45.0	27.3-62.6
Tumor size	0.774		
	Tumor size < 5cm	38.7	23.8-53.5
	Tumor size ≥ 5cm	34.5	17.1-51.9
Synchronous pulmonary localization	0.591		
	No	38.0	26.2-49.8
	Yes	16.7	16.7-16.7
De novo	0.817		
	No	32.4	18.4-46.4
	Yes	36.2	21.8-50.5
Post-denosumab complete surgery	0.002 *	All cases are censored	All cases are censored
	No		
	Yes		
Pre-denosumab H3F3A G34W mutation	0.281		
	No	14.5	7.4-21.5
	Yes	41.3	23.7-58.9
Significant clinical response	0.757		
	No	27.2	7.1-47.2
	Yes	38.0	25.5-50.4
Significant radiological response	0.208		
	No	14.8	8.4-21.2
	Yes	39.5	27.4-51.6
Fibrosis increase	0.362		
	No	41.3	24.3-58.3
	Yes	28.3	16.9-39.8
Macrophages increase	0.621		
	No	34.2	19.5-48.9
	Yes	40.7	23.4-57.9
Necrosis increase	0.251		
	No	41.3	28.1-54.5
	Yes	21.1	7.4-34.8
Ossification increase	0.284		
	No	22.0	4.7-39.4
	Yes	39.5	26.8-52.3
Mitotic index >50% decrease	0.016 *		
	No	18.8	7.6-30.1
	Yes	44.9	31.3-58.6
Giant cells >50% decrease	0.010 *		
	No	13.2	8.8-17.6
	Yes	44.4	31.6-57.1
Post-denosumab number of giant cells	0.028 *	All cases are censored	All cases are censored
	< 1 giant cell/10HPF vs. ≥ 1 giant cell/10HPF		
Histological response to denosumab	0.025 *		
	No or partial response	19.6	7.6-31.6
	Complete response	45.0	31.3-58.6
RANKL >50% decrease	0.428		
	No	27.0	14.9-39.0
	Yes	41.2	25.8-56.7
P63 decrease	0.088		
	No	43.0	29.6-56.3
	Yes	18.9	6.1-31.7
Ki67 decrease	0.064		
	No	19.9	10.2-29.8
	Yes	46.8	32.4-61.2

CI: confidence interval ; PFS: progression free survival ; *p<0.05.

TABLE 6. Multivariate survival analyses for progression free survival (Cox regression test).

Variables	HR	95% CI	P-value
Sex	1.331	0.634-2.791	0.450
Post-denosumab complete surgery	0.000	0.000-2.203.10 ¹⁷⁹	0.950
Histological response to denosumab	0.046	0.002-0.870	0.040 *
Post-denosumab mitotic index (/10HPF)	0.770	0.506-1.170	0.221

CI : confidence interval ; HR : hazard ratio ; HPF : high power field. *<0.05.

TABLE 7. Inter-observer reproducibility.

Qualitative variables	Kappa	95% CI
Pre-denosumab fibrosis	0.386	0.147-0.625
Post-denosumab fibrosis	0.079	0-0.287
Pre-denosumab macrophages	0.327	0-0.682
Post-denosumab macrophages	0.566	0.352-0.780
Pre-denosumab necrosis	0.436	0.168-0.704
Post-denosumab necrosis	0.559	0.326-0.792
Pre-denosumab ossification	0.337	0.059-0.615
Post-denosumab ossification	0.682	0.488-0.876
Histological response to denosumab	0.704	0.490-0.918
Pre-denosumab P63 diffuse staining	1.000	1.000-1.000
Post-denosumab P63 diffuse staining	1.000	1.000-1.000
Quantitative variables	ICC	95% CI
Pre-denosumab number of giant cells	0.750	0.560-0.866
Post-denosumab number of giant cells	0.815	0.665-0.902
Pre-denosumab mitotic index	0.655	0.415-0.810
Post-denosumab mitotic index	0.663	0.428-0.815
Pre-denosumab RANKL labelling index	0.877	0.770-0.936
Post-denosumab RANKL labelling index	0.958	0.919-0.979
Pre-denosumab H3F3A labelling index	0.962	0.924-0.981
Post-denosumab H3F3A labelling index	0.981	0.961-0.991
Pre-denosumab Ki67 labelling index	0.940	0.883-0.970
Post-denosumab Ki67 labelling index	0.958	0.919-0.979

CI: confident interval ; ICC: intraclass correlation coefficient.

REFERENCES

1. Athanasou NA, Bansal M, Forsyth R et al. Giant cell tumor of bone. In: Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, et al. *World Health Organization. Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone*. Fourth Edition. Lyon: IARC Press. 2013; 321-324.
2. Unni K, Inwards C, Bridge J Et al. Giant cell tumor. In: *Tumors of the bones and Joints Afip Atlas of tumor pathology Series 4*. ARP Press; 2005.
3. Macagno N, Caselles K, Aubert S, et al. Benign and malignant giant-cell rich lesions of bone : Pathological diagnosis with special emphasis on recent immunohistochemistry and molecular techniques. *Ann Pathol*. 2018; 38(2):92-102.
4. Behjati S, Tarpey PS, Presneau N, et al. Distinct H3F3A and H3F3B driver mutations define chondroblastoma and giant cell tumor of bone. *Nat Genet*. 2013; 45(12):1479-82.
5. Presneau N, Baumhoer D, Behjati S, et al. Diagnostic value of H3F3A mutations in giant cell tumour of bone compared to osteoclast-rich mimics. *J Pathol Clin Res*. 2015; 1(2):113-23.
6. Cleven AHG, Höcker S, Briaire-de Bruijn I, et al. Mutation Analysis of H3F3A and H3F3B as a Diagnostic Tool for Giant Cell Tumor of Bone and Chondroblastoma. *Am J Surg Pathol*. 2015; 39(11):1576-83.
7. Lüke J, von Baer A, Schreiber J, et al. H3F3A mutation in giant cell tumour of the bone is detected by immunohistochemistry using a monoclonal antibody against the G34W mutated site of the histone H3.3 variant. *Histopathology*. 2017; 71(1):125-33. 2017; 71(1):125-33.
8. Bogdan Czerniak, MD, PhD. *Dorfman and Czerniak's Bone Tumors*, Second edition. Elsevier; 1998.
9. Thomas D, Henshaw R, Skubitz K, et al. Denosumab in patients with giant-cell tumour of bone: an open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2010; 11(3):275-80.
10. Branstetter DG, Nelson SD, Manivel JC, et al. Denosumab induces tumor reduction and bone formation in patients with giant-cell tumor of bone. *Clin Cancer Res*. 2012 ; 18(16):4415-24.

11. Hakozaki M, Tajino T, Yamada H, et al. Radiological and pathological characteristics of giant cell tumor of bone treated with denosumab. *Diagn Pathol.* 2014; 9:111.
12. Wojcik J, Rosenberg AE, Bredella MA, et al. Denosumab-treated Giant Cell Tumor of Bone Exhibits Morphologic Overlap With Malignant Giant Cell Tumor of Bone. *Am J Surg Pathol.* 2016; 40(1):72-80.
13. Roitman PD, Jauk F, Farfalli GL, et al. Denosumab-treated giant cell tumor of bone. Its histologic spectrum and potential diagnostic pitfalls. *Hum Pathol.* 2017; 63:89-97.
14. Haute Autorité de Santé - XGEVA (denosumab), anticorps monoclonal [Internet]. July 1, 2015. Available at : https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2046978/fr/xgeva-denosumab-anticorps-monoclonal. Accessed April 27, 2018.
15. Traub F, Singh J, Dickson BC, et al. Efficacy of denosumab in joint preservation for patients with giant cell tumour of the bone. *Eur J Cancer.* 2016; 59:1-12.
16. Girolami I, Mancini I, Simoni A, et al. Denosumab treated giant cell tumour of bone: a morphological, immunohistochemical and molecular analysis of a series. *J Clin Pathol.* 2016; 69(3):240-7.
17. Matcuk GR, Patel DB, Schein AJ, et al. Giant cell tumor: rapid recurrence after cessation of long-term denosumab therapy. *Skeletal Radiol.* 2015; 44(7):1027-31.
18. Errani C, Tsukamoto S, Leone G, et al. Denosumab May Increase the Risk of Local Recurrence in Patients with Giant-Cell Tumor of Bone Treated with Curettage. *J Bone Joint Surg Am.* 2018; 100(6):496-504.
19. Palmerini E, Chawla NS, Ferrari S, et al. Denosumab in advanced/unresectable giant-cell tumour of bone (GCTB) : For how long ? *Eur J Cancer.* 2017; 76:118-24.
20. Chawla S, Henshaw R, Seeger L, et al. Safety and efficacy of denosumab for adults and skeletally mature adolescents with giant cell tumour of bone: interim analysis of an open-label, parallel-group, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2013; 14(9):901-8.
21. Errani C, Tsukamoto S, Mavrogenis AF. How safe and effective is denosumab for bone giant cell tumour? *Int Orthop.* 2017;41(11):2397-2400.

22. Gaston CL, Grimer RJ, Parry M, et al. Current status and unanswered questions on the use of Denosumab in giant cell tumor of bone. *Clin Sarcoma Res.* 2016 ;6(1) :15.
23. Müller DA, Beltrami G, Scoccianti G, et al. Risks and benefits of combining denosumab and surgery in giant cell tumor of bone-a case series. *World J Surg Oncol.* 2016 ;14(1) :281.
24. Kato I, Furuya M, Matsuo K, et al. Giant cell tumours of bone treated with denosumab: histological, immunohistochemical and H3F3A mutation analyses. *Histopathology.* 2018 ;72(6) :914-922.
25. Sanchez-Pareja A, Larousserie F, Boudabbous S, et al. Giant Cell Tumor of Bone With Pseudosarcomatous Changes Leading to Premature Denosumab Therapy Interruption: A Case Report With Review of the Literature. *Int J Surg Pathol.* 2016; 24(4):366-72.
26. Amary F, Berisha F, Ye H, et al. H3F3A (Histone 3.3) G34W Immunohistochemistry: A Reliable Marker Defining Benign and Malignant Giant Cell Tumor of Bone. *Am J Surg Pathol.* 2017; 41(8):1059-68.
27. Aponte-Tinao LA, Piuizzi NS, Roitman P, et al. A High-grade Sarcoma Arising in a Patient With Recurrent Benign Giant Cell Tumor of the Proximal Tibia While Receiving Treatment With Denosumab. *Clin Orthop.* 2015; 473(9):3050-5.
28. Tsukamoto S, Righi A, Vanel D, et al. Development of high-grade osteosarcoma in a patient with recurrent giant cell tumor of the ischium while receiving treatment with denosumab. *Jpn J Clin Oncol.* 2017 ; 47(11) :1090-6.

PARTIE III : DISCUSSION

Depuis la classification OMS de 2013, les TCG, initialement classées comme tumeurs bénignes, ont été reconsidérées en tumeurs de malignité intermédiaire en raison de leur potentiel d'agressivité (1). Le traitement chirurgical est le traitement de référence. Il est cependant non adapté dans certains cas (topographie particulière, lésion très évoluée, risque pour l'articulation...), pour lesquels le dénosumab trouve ses indications (37).

Les principales modifications induites par le dénosumab (ossification, fibrose, diminution voire disparition des cellules géantes) ont pour but de faciliter le traitement chirurgical dans un second temps, lorsque ce dernier est réalisable (3–5,41,42).

Après des résultats très encourageants, la survenue de récurrences à l'arrêt du traitement (45,46), le manque de recommandations précises quant à la durée du traitement (47), ainsi que la gravité de certains effets secondaires (36,48–50), ont incité à nuancer le bénéfice du dénosumab dans les TCG. Dans ce contexte, une mise au point nous paraissait nécessaire. Cette série française multicentrique (Groupe Français de Pathologie Osseuse) regroupant 35 cas de TCG ayant bénéficié de prélèvements pré et post dénosumab, représente à notre connaissance la plus importante (43,50).

D'emblée, il est apparu au sein de cette série une grande hétérogénéité dans les modalités d'application du traitement par dénosumab. La durée du traitement varie de 3 à 53 mois en néo-adjuvant et de 4 à 47 mois en adjuvant, tous les patients ne bénéficiant pas du traitement adjuvant (14/35). Cette variabilité des pratiques au sein de centres experts, reflète le manque de recommandations et de consensus (40,47).

Parmi les différents critères que nous avons choisi d'évaluer, les résultats observés soulignent l'intérêt particulier de certains d'entre eux pour notre réflexion.

De façon très significative ($p= 6.10^{-11}$), la raréfaction, voire la disparition complète des cellules géantes après traitement dans la très grande majorité des cas, est en accord avec le mécanisme attendu du traitement et les objectifs de contrôle de l'ostéolyse.

D'autres modifications morphologiques attendues comme la fibrose et l'ossification, sont présentes de façon significative (respectivement $p= 3.10^{-5}$ et 2.10^{-6}). A noter la difficulté pour différencier fibrose et ossification immature dans certains cas, se traduisant par une mauvaise reproductibilité inter-observateur (κ à 0.4 et 0.3 respectivement). L'évaluation de la

nécrose, la quantification des macrophages, et du nombre de mitoses n'a pas apporté d'éléments pertinents à notre étude (respectivement $p = 1$, 0.001 , et 3.10^{-5}).

Il est impératif dans la pratique que le pathologiste soit informé d'un traitement par dénosumab, les modifications induites par le traitement pouvant conduire à des difficultés d'interprétation. Nous avons ainsi observé des aspect pseudo-sarcomateux pouvant conduire à un diagnostic erroné d'ostéosarcome (41,42,51).

Les premières études se sont intéressées préférentiellement aux effets du dénosumab sur les cellules géantes ostéoclastiques (3–5,42). Plus récemment, la persistance des cellules tumorales représentées par le continent mononucléé de la lésion a été souligné (50).

Dans notre étude, en IHC nous avons confirmé cette donnée en montrant l'absence de modification significative de l'expression de RANKL et H3F3A ($p = 0.061$). Le dénosumab modifie la tumeur, sans la traiter, expliquant en partie la survenue de récidives après l'arrêt du traitement.

Nos résultats en biologie moléculaire ne font que confirmer ces données avec la persistance de la mutation G34W après traitement, lorsqu'elle était présente initialement (dans 19/22 des cas), en corrélation parfaite avec l'immuno-histochimie (H3F3A). La sensibilité de cet anticorps en fait désormais un outil essentiel pour le diagnostic initial (21,26).

Notre étude a démontré pour la première fois, qu'après traitement par dénosumab, une exérèse chirurgicale complète (1), une diminution de plus de 50% des cellules géantes (2) ainsi qu'une réponse histologique complète (3) étaient corrélées à la survie sans progression ($p = 0.002$, 0.025 et 0.010 respectivement), et que la réponse histologique était un facteur indépendant des autres variables en multivarié ($p = 0,040$).

La diminution des cellules tumorales, évaluée en immuno-histochimie à l'aide de RANKL, p63 et G34W n'était en revanche pas corrélée à la survie sans progression. Nous n'avons pas mis en évidence non plus de corrélation entre les réponses radiologiques, cliniques et la survie sans progression (respectivement $p = 0.208$ et $p = 0.757$).

La bonne réponse morphologique au traitement (notamment l'ossification périphérique), malgré la persistance de cellules mononucléées tumorales, reste un élément majeur, en permettant une meilleure survie sans progression.

Notre série de 35 patients comportait un cas de transformation maligne en sarcome indifférencié de haut grade après dénosumab. D'autres cas similaires sont décrits (51,52). De façon déroutante, dans cette observation l'aspect initial de la lésion ne laissait en rien présager d'une telle évolution. La mutation G34W, recherchée à postériori, était présente au sein des prélèvements pré, post-dénosumab, et de la transformation maligne.

Devant la gravité de certains effets secondaires et la survenue de sarcomes de haut grade lors de l'arrêt du dénosumab, nous nous sommes intéressés à rechercher des facteurs prédictifs d'une bonne réponse au dénosumab. Aucun critère morphologique, immuno-histochimique ou moléculaire prédictif d'une bonne réponse histologique au traitement n'avait pour l'instant été retenu. Notre étude prenant en considération de nombreux critères, a montré que seul un nombre élevé de cellules géantes sur le prélèvement initial semblait être prédictif d'une bonne réponse ($p=0.0016$). D'autres études, prospectives, sont nécessaires afin de déterminer si ce critère pourrait être utilisé en pratique pour cibler les patients qui pourraient bénéficier d'un traitement par dénosumab.

CONCLUSION

Dans cette étude, nous avons confirmé que le dénosumab agissait en supprimant le contingent de cellules géantes multinucléées responsable de la lyse osseuse, sans effet notable sur le contingent de cellules mononucléées néoplasiques. Nous avons montré pour la première fois que la diminution de plus de 50% des cellules géantes par rapport au prélèvement initial ainsi que la réponse histologique au dénosumab étaient corrélées à la survie sans progression.

Les effets indésirables ainsi que les observations décrites de transformations malignes sous dénosumab, doivent inciter à en limiter les indications (chirurgie impossible en première intention, ou réalisable au prix d'une morbidité trop importante). Seul un nombre élevé de cellules géantes sur le prélèvement initial semble être prédictif d'une bonne réponse histologique au dénosumab, mais d'autres investigations sont nécessaires avant d'exploiter cette donnée. La clef de la prise en charge de cette lésion reste la chirurgie. Le traitement par dénosumab est indissociable d'une exérèse chirurgicale dans un second temps, lorsque celle-ci est réalisable. Dans tous les cas, la concertation pluri-disciplinaire est impérative, et la prise en charge de ces lésions doit se faire en milieu spécialisé.

BIBLIOGRAPHIE

1. Athanasou NA, Bansal M, Forsyth R et al. Giant cell tumor of bone. In: Fletcher CDM, Bridge JA, Hogendoorn PCW, et al. *World Health Organization. Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone*. Fourth Edition. Lyon: IARC Press. 2013; 321-324.
2. Sobti A, Agrawal P, Agarwala S, et al. Giant Cell Tumor of Bone - An Overview. *Arch Bone Jt Surg*. 2016 ;4(1) :2-9.
3. Thomas D, Henshaw R, Skubitz K, et al. Denosumab in patients with giant-cell tumour of bone: an open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2010 ;11(3) :275-80.
4. Branstetter DG, Nelson SD, Manivel JC, et al. Denosumab induces tumor reduction and bone formation in patients with giant-cell tumor of bone. *Clin Cancer Res*. 2012 ;18(16) :4415-24.
5. Girolami I, Mancini I, Simoni A, et al. Denosumab treated giant cell tumour of bone: a morphological, immunohistochemical and molecular analysis of a series. *J Clin Pathol*. 2016 ;69(3) :240-7.
6. Kato I, Furuya M, Matsuo K, et al. Giant cell tumours of bone treated with denosumab: histological, immunohistochemical and H3F3A mutation analyses. *Histopathology*. 2018 ;72(6) :914-922.
7. Unni K, Inwards C, Bridge J Et al. Giant cell tumor. In: *Tumors of the bones and Joints Afip Atlas of tumor pathology Series 4*. ARP Press; 2005.
8. Morgan T, Atkins GJ, Trivett MK, et al. Molecular profiling of giant cell tumor of bone and the osteoclastic localization of ligand for receptor activator of nuclear factor kappaB. *Am J Pathol*. 2005 ;167(1) :117-28.
9. Atkins GJ, Haynes DR, Graves SE, et al. Expression of osteoclast differentiation signals by stromal elements of giant cell tumors. *J Bone Miner Res*. 2000 ;15(4) :640-9.
10. Wu P-F, Tang J, Li K. RANK pathway in giant cell tumor of bone : pathogenesis and therapeutic aspects. *Tumour Biol*. 2015 ;36(2):495-501.

11. Dominkus M, Ruggieri P, Bertoni F, et al. Histologically verified lung metastases in benign giant cell tumours--14 cases from a single institution. *Int Orthop*. 2006;30(6):499-504.
12. Bogdan Czerniak, MD, PhD. *Dorfman and Czerniak's Bone Tumors*, Second edition. Elsevier; 1998.
13. Gouin F, Odri G, Revert R, et al. Tumeurs à cellules géantes des os. *EMC-Appareil locomoteur*. 2012 ;7(1) :1-13.
14. Murphey MD, Nomikos GC, Flemming DJ, et al. From the archives of AFIP. Imaging of giant cell tumor and giant cell reparative granuloma of bone: radiologic-pathologic correlation. *Radiographics*. 2001 ;21(5) :1283-309.
15. Pereira HM, Marchiori E, Severo A. Magnetic resonance imaging aspects of giant-cell tumours of bone. *J Med Imaging Radiat Oncol*. 2014 ;58(6) :674-8.
16. Salerno M, Avnet S, Alberghini M, et al. Histogenetic Characterization of Giant Cell Tumor of Bone. *Clin Orthop*. 2008 ;466(9) :2081-91.
17. Macagno N, Caselles K, Aubert S, et al. Benign and malignant giant-cell rich lesions of bone : Pathological diagnosis with special emphasis on recent immunohistochemistry and molecular techniques. *Ann Pathol*. 2018 ;38(2) :92-102.
18. Dickson BC, Li S-Q, Wunder JS, et al. Giant cell tumor of bone express p63. *Mod Pathol*. 2008 ;21(4) :369-75.
19. Paula AMD, Vasiljevic A, Giorgi R, et al. A diagnosis of giant cell-rich tumour of bone is supported by p63 immunohistochemistry, when more than 50 % of cells is stained. *Virchows Arch*. 2014 ;465(4) :487-94.
20. Roux S, Amazit L, Meduri G, et al. RANK (receptor activator of nuclear factor kappa B) and RANK ligand are expressed in giant cell tumors of bone. *Am J Clin Pathol*. 2002 ;117(2) :210-6.
21. Lüke J, von Baer A, Schreiber J, et al. H3F3A mutation in giant cell tumour of the bone is detected by immunohistochemistry using a monoclonal antibody against the G34W mutated site of the histone H3.3 variant. *Histopathology*. 2017 ;71(1) :125-33.

22. Yuen BTK, Knoepfler PS. Histone H3.3 Mutations: A Variant Path to Cancer. *Cancer Cell*. 2013 ;24(5) :567-74.
23. Behjati S, Tarpey PS, Presneau N, et al. Distinct H3F3A and H3F3B driver mutations define chondroblastoma and giant cell tumor of bone. *Nat Genet*. 2013 ;45(12) :1479-82.
24. Cleven AHG, Höcker S, Briaire-de Bruijn I, et al. Mutation Analysis of H3F3A and H3F3B as a Diagnostic Tool for Giant Cell Tumor of Bone and Chondroblastoma. *Am J Surg Pathol*. 2015 ;39(11) :1576-83.
25. Kervarrec T, Collin C, Larousserie F, et al. H3F3 mutation status of giant cell tumors of the bone, chondroblastomas and their mimics: a combined high resolution melting and pyrosequencing approach. *Mod Pathol*. 2017 ;30(3) :393-406.
26. Amary F, Berisha F, Ye H, et al. H3F3A (Histone 3.3) G34W Immunohistochemistry: A Reliable Marker Defining Benign and Malignant Giant Cell Tumor of Bone. *Am J Surg Pathol*. 2017 ;41(8) :1059-68.
27. Yamamoto H, Iwasaki T, Yamada Y, et al. Diagnostic utility of histone H3.3 G34W, G34R, and G34V mutant-specific antibodies for giant cell tumors of bone. *Hum Pathol*. 2018 ;73 :41-50.
28. Skubitz KM. Giant cell tumor of bone: current treatment options. *Curr Treat Options Oncol*. 2014 ;15(3):507-18.
29. Turcotte RE. Giant cell tumor of bone. *Orthop Clin North Am*. 2006 ;37(1) :35-51.
30. Turcotte RE, Sim FH, Unni KK. Giant cell tumor of the sacrum. *Clin Orthop*. 1993;(291) :215-21.
31. Balke M, Campanacci L, Gebert C, et al. Bisphosphonate treatment of aggressive primary, recurrent and metastatic Giant Cell Tumour of Bone. *BMC Cancer*. 2010 ;10 :462.
32. Chaudhary P, Khadim H, Gajra A, et al. Bisphosphonate therapy is effective in the treatment of sacral giant cell tumor. *Onkologie*. 2011;34(12):702-4.
33. Gille O, Oliveira B de A, Guerin P, et al. Regression of giant cell tumor of the cervical spine with bisphosphonate as single therapy. *Spine*. 2012 ;37(6): E396-399.

34. Cheng YY, Huang L, Lee KM, et al. Bisphosphonates induce apoptosis of stromal tumor cells in giant cell tumor of bone. *Calcif Tissue Int.* 2004 ;75(1) :71-7.
35. VIDAL - XGEVA 120 mg sol inj - Synthèse [web site]. Available at : <https://www.vidal.fr/Medicament/xgeva-108977.htm>. Accessed April 2018.
36. Chawla S, Henshaw R, Seeger L, et al. Safety and efficacy of denosumab for adults and skeletally mature adolescents with giant cell tumour of bone: interim analysis of an open-label, parallel-group, phase 2 study. *Lancet Oncol.* 2013 ;14(9):901-8.
37. Lan R, Hadj-Saïd M, Foletti J-M, et al. Osteonecrosis of the jaw in patients treated by denosumab for malignant bone disease : Descriptive study on 9 cases. *Med Oral Patol Oral Cirurgia Bucal.* 2018.
38. Sivoilella S, Lumachi F, Stellini E, et al. Denosumab and anti-angiogenetic drug-related osteonecrosis of the jaw : an uncommon but potentially severe disease. *Anticancer Res.* 2013 ;33(5) :1793-7.
39. Uday S, Gaston CL, Rogers L, et al. Osteonecrosis of the Jaw and Rebound Hypercalcemia in Young People Treated With Denosumab for Giant Cell Tumor of Bone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 ;103(2) :596-603.
40. Haute Autorité de Santé - XGEVA (denosumab), anticorps monoclonal [Internet]. July 1, 2015. Available at : https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2046978/fr/xgeva-denosumab-anticorps-monoclonal. Accessed April 27, 2018.
41. Traub F, Singh J, Dickson BC, et al. Efficacy of denosumab in joint preservation for patients with giant cell tumour of the bone. *Eur J Cancer.* 2016 ;59 :1-12.
42. Hakozaiki M, Tajino T, Yamada H, et al. Radiological and pathological characteristics of giant cell tumor of bone treated with denosumab. *Diagn Pathol.* 2014 ;9 :111.
43. Roitman PD, Jauk F, Farfalli GL, et al. Denosumab-treated giant cell tumor of bone. Its histologic spectrum and potential diagnostic pitfalls. *Hum Pathol.* 2017 ;63 :89-97.
44. Wojcik J, Rosenberg AE, Bredella MA, et al. Denosumab-treated Giant Cell Tumor of Bone Exhibits Morphologic Overlap With Malignant Giant Cell Tumor of Bone. *Am J Surg Pathol.* 2016 ;40(1) :72-80.

45. Matcuk GR, Patel DB, Schein AJ, et al. Giant cell tumor: rapid recurrence after cessation of long-term denosumab therapy. *Skeletal Radiol.* 2015 ;44(7) :1027-31.
46. Errani C, Tsukamoto S, Leone G, et al. Denosumab May Increase the Risk of Local Recurrence in Patients with Giant-Cell Tumor of Bone Treated with Curettage. *J Bone Joint Surg Am.* 2018 ;100(6) :496-504.
47. Palmerini E, Chawla NS, Ferrari S, et al. Denosumab in advanced/unresectable giant-cell tumour of bone (GCTB): For how long? *Eur J Cancer.* 2017;76:118-24.
48. Errani C, Tsukamoto S, Mavrogenis AF. How safe and effective is denosumab for bone giant cell tumour? *Int Orthop.* 2017;41(11):2397-2400.
49. Gaston CL, Grimer RJ, Parry M, et al. Current status and unanswered questions on the use of Denosumab in giant cell tumor of bone. *Clin Sarcoma Res.* 2016;6(1):15.
50. Müller DA, Beltrami G, Scoccianti G, et al. Risks and benefits of combining denosumab and surgery in giant cell tumor of bone-a case series. *World J Surg Oncol.* 2016 ;14(1) :281.
51. Aponte-Tinao LA, Piuze NS, Roitman P, et al. A High-grade Sarcoma Arising in a Patient With Recurrent Benign Giant Cell Tumor of the Proximal Tibia While Receiving Treatment With Denosumab. *Clin Orthop.* 2015;473(9):3050-5.
52. Tsukamoto S, Righi A, Vanel D, et al. Development of high-grade osteosarcoma in a patient with recurrent giant cell tumor of the ischium while receiving treatment with denosumab. *Jpn J Clin Oncol.* 2017;47(11):1090-6.

VU

NANCY, le **12 juillet 2018**

Le Président de Thèse

NANCY, le **16 juillet 2018**

Le Doyen de la Faculté de Médecine

Professeur Jean-Michel VIGNAUD

Professeur Marc BRAUN

AUTORISE À SOUTENIR ET À IMPRIMER LA THÈSE/ 10355

NANCY, le **19 juillet 2018**

LE PRÉSIDENT DE L'UNIVERSITÉ DE LORRAINE,

Professeur Pierre MUTZENHARDT

RESUME DE LA THESE

Introduction : Les tumeurs à cellules géantes osseuses sont des tumeurs osseuses primitives, ostéolytiques, de malignité intermédiaire. Le dénosumab, un anticorps monoclonal anti-RANKL, a récemment été introduit dans la prise en charge de ces lésions. L'objectif de ce travail était d'évaluer les modifications tumorales induites par le dénosumab sur une série multicentrique, rétrospective de 35 patients, issue du Groupe Français de Pathologie Osseuse (RESOS).

Matériels et méthodes : Pour tous les patients, des prélèvements pré et post-dénosumab étaient disponibles. En immuno-histochimie, nous avons évalué l'expression de H3F3A G34W, RANKL, p63 et MIB1. En biologie moléculaire, nous avons recherché la présence de la mutation H3F3A G34W par séquençage. Nous avons confronté ces paramètres aux données clinico-radiologiques afin d'identifier des facteurs pronostiques et plus spécifiquement des facteurs prédictifs d'une réponse histologique complète au dénosumab (disparition de plus de 90% des cellules géantes, associée à une ossification et une fibrose).

Résultats : Les principales modifications observées après dénosumab sont l'ossification immature ($p=2.10^{-5}$) l'augmentation de la fibrose ($p=3.10^{-11}$), ainsi qu'une diminution significative des cellules géantes ($p=6.10^{-11}$). Aucun changement significatif de la densité des cellules tumorales mononucléées n'a été mis en évidence par l'expression de H3F3A G34W ($p=0.061$) et RANKL ($p=0.061$). Pour la première fois, nous avons montré qu'une réponse histologique complète au dénosumab était corrélée à une meilleure survie sans progression ($p=0.010$ en analyse univariée et $p=0.040$ en analyse multivariée), et qu'un nombre élevé de cellules géantes sur le prélèvement initial était corrélé à une meilleure réponse histologique ($p=0.016$).

Conclusion : Le dénosumab entraîne de profondes modifications morphologiques de la tumeur. La réponse histologique dite complète, malgré l'absence de régression objective du contingent tumoral, est un indicateur d'une meilleure survie sans progression. Seule une forte densité de cellules géantes sur le prélèvement initial semble prédictive d'une réponse histologique complète au dénosumab.

TITRE EN ANGLAIS : Denosumab treated Giant cell tumors of bone. Clinicopathologic Analysis of 35 cases from the French Group of Bone Pathology.

THESE: MEDECINE SPECIALISEE en Anatomie et Cytologie Pathologiques- Année 2018.

MOTS CLES : Tumeur à cellules géantes osseuses, dénosumab, réponse histologique, H3F3A G34W, RANKL.

INTITULE ET ADRESSE :

UNIVERSITE DE LORRAINE
Faculté de Médecine de Nancy
9, Avenue de la Forêt de Haye
54505 VANDOEUVRE LES NANCY Cedex
