

Université de Montréal

Étude de l'infiltration leucocytaire et de l'hétérogénéité du carcinome intracanalair de la prostate

*Par*

Mame Kany Diop

Faculté de médecine

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de *Philosophia Doctor* (Ph. D.)

en biologie moléculaire, option générale

Avril 2023

© Mame Kany Diop, 2023

Université de Montréal

Faculté de médecine

---

*Cette thèse intitulée*

**Étude de l'infiltration leucocytaire et de l'hétérogénéité du carcinome intracanalair de la prostate**

*Présenté par*

**Mame Kany Diop**

*A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes*

**Moutih Rafei, Ph. D.**

Président-rapporteur

**Dominique Trudel, M.D., Ph. D.**

Directrice de recherche

**Anne-Marie Mes-Masson, Ph. D.**

Codirectrice

**Dorothée Dal Soglio, M.D., Ph. D.**

Membre du jury

**Marilyne Labrie, Ph. D.**

Examinatrice externe

**David Knapp, Ph. D.**

Représentant de la doyenne

## Résumé

Le carcinome intracanalair de la prostate (*intraductal carcinoma of the prostate*, IDC-P) est un variant histologique agressif du cancer de la prostate retrouvé dans environ 20% des spécimens de prostatectomie radicale. L'incidence de l'IDC-P augmente avec l'évolution de la maladie, elle passe de 2% chez les patients avec des cancers localisés à faible risque à plus de 50% chez les patients avec des cancers métastatiques ou récurrents. Malgré l'association de l'IDC-P à la récurrence biochimique, au développement de métastases, au décès lié au cancer et à une mauvaise réponse aux traitements standards, environ 40% des hommes avec des IDC-P n'ont pas encore récidivé après cinq ans de suivi. Une portion des hommes avec des IDC-P auraient donc une forme moins agressive de la maladie qui ne nécessite pas de traitement immédiat. Nous avons émis l'hypothèse que l'IDC-P possède des caractéristiques qui permettent de stratifier les patients en catégories pertinentes pour la prise en charge. Nos objectifs étaient de (1) comparer l'infiltration leucocytaire de l'IDC-P à celui du cancer invasif habituel et le tissu bénin et (2) identifier des critères morphologiques dans l'IDC-P qui sont associés à la récurrence.

La première étude a été réalisée sur les spécimens de prostatectomie radicale provenant d'une cohorte de 96 patients avec des cancers de la prostate localement avancés. Nous avons marqué par immunohistochimie les cellules exprimant CD3 (lymphocytes T), CD8 (lymphocytes T cytotoxiques), CD45RO (lymphocytes T mémoires), FoxP3 (lymphocytes T régulateurs), CD68 (macrophages), CD163 (macrophages M2), CD209 (cellules dendritiques immatures) et CD83 (cellules dendritiques matures). Le nombre de cellules positives par mm<sup>2</sup> a ensuite été calculé dans le tissu bénin, au niveau des marges tumorales, dans le cancer et dans l'IDC-P. L'IDC-P a été retrouvé chez 33 patients (34%). Dans l'ensemble, l'infiltrat immunitaire était similaire chez les patients IDC-P-positifs et IDC-P-négatifs. Cependant, les lymphocytes T FoxP3<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ), les macrophages CD68<sup>+</sup> et CD163<sup>+</sup> ( $p < 0,001$  pour les deux) et les cellules dendritiques CD209<sup>+</sup> et CD83<sup>+</sup> ( $p = 0,002$  et  $p = 0,013$ , respectivement) étaient moins abondants dans l'IDC-P que dans le cancer invasif adjacent. De plus, les patients ont été stratifiés selon la densité de cellules immunitaires dans l'ensemble de l'IDC-P ou dans les points chauds immunitaires, en patients avec des IDC-P immunologiquement « froids » ou « chauds », avec une tendance vers un meilleur

pronostic pour les patients avec des IDC-P « froids ». Un point chaud immunitaire a été défini comme la densité de cellules immunitaires la plus élevée dans les plus grandes lésions d'IDC-P. Par ailleurs, les points chauds immunitaires CD68/CD163/CD209 sont associés au développement de métastases ( $p = 0,014$ ) et aux décès liés au cancer de la prostate ( $p = 0,009$ ).

Dans la deuxième étude, la morphologie de l'IDC-P a été examinée sur des tissus, colorés à l'hématoxyline et l'éosine, provenant de spécimens de prostatectomies radicales de 108 hommes avec des IDC-P. Dans la cohorte test ( $n = 39$ ), nous avons trouvé cinq critères morphologiques associés à une récurrence biochimique précoce (avant 18 mois) : les canaux plus larges ( $> 573 \mu\text{m}$  de diamètre), la présence de cellules avec des noyaux à contours irréguliers, un score mitotique élevé ( $> 1,81$  mitoses/ $\text{mm}^2$ ), la présence de petits vaisseaux sanguins et la présence de comédonécrose. Dans la cohorte de validation ( $n = 69$ ), deux de ces critères, la présence de cellules avec des noyaux à contours irréguliers et de vaisseaux sanguins, étaient indépendamment associés à un risque accru de récurrence biochimique (rapport de risque = 2,32, intervalle de confiance à 95% = 1,09–4,96,  $p = 0,029$ ). De plus, lorsque nous combinons les critères, la présence de cellules avec des noyaux à contours irréguliers, de vaisseaux sanguins, de scores mitotiques élevés ou de comédonécrose est plus fortement associée à la récurrence biochimique (rapport de risque = 2,74, intervalle de confiance à 95% = 1,21–6,19,  $p = 0,015$ ).

Notre étude sur l'infiltration leucocytaire de l'IDC-P est la première étude décrivant l'environnement immunitaire de l'IDC-P. Nos résultats suggèrent que l'infiltration immunitaire des IDC-P est distinct de celui du cancer invasif habituel. Nous avons montré que l'IDC-P peut être classé comme immunologiquement « froid » ou « chaud », selon les densités de cellules immunitaires. Dans notre étude, les points chauds immunitaires CD68/CD163/CD209 ont prédit la progression vers une maladie métastatique et la survie spécifique au cancer. D'autres études dans de plus grandes cohortes sont nécessaires pour évaluer l'utilité clinique d'analyser l'infiltration immunitaire de l'IDC-P pour mieux prédire le pronostic des patients et améliorer l'immunothérapie chez les patients avec des cancers de la prostate mortels. Par ailleurs, nos résultats sur les critères morphologiques de l'IDC-P suggèrent que l'IDC-P peut être classé comme à faible ou à haut risque de récurrence. Nous proposons de combiner deux à quatre critères, dont la présence sont des prédicteurs indépendants de récurrence biochimique, pour stratifier les hommes

avec des IDC-P en fonction de leur statut de risque. Les critères morphologiques délétères identifiés peuvent être facilement évalués et devront être intégrés pour une application clinique après validation dans de plus grandes cohortes.

**Mots-clés** : cancer de la prostate, carcinome intracanalair de la prostate, pronostic du cancer de la prostate, prostatectomie radicale, lymphocytes T, cellules présentatrices de l'antigène, critères morphologiques, récurrence biochimique.

## Abstract

Intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P) is an aggressive histological variant of prostate cancer detected in approximately 20% of radical prostatectomy specimens. The incidence of IDC-P increases with disease progression, from 2% in patients with low-risk localized cancers to more than 50% in patients with metastatic or recurrent disease. Despite the association of IDC-P with biochemical recurrence, the development of metastases, cancer-related death, and poor response to standard treatments, roughly 40% of men with IDC-P remain biochemical recurrence-free after 5 years of follow-up, therefore not necessarily needing the “aggressive” label. We hypothesized that IDC-P possesses features that allow patients to be stratified into relevant categories for cancer management. Our objectives were to (1) compare the leukocyte infiltration in the IDC-P to the one found in invasive cancer and in benign tissues and (2) identify morphological features in IDC-P that are associated with recurrence.

The first study included radical prostatectomy specimens from a cohort of 96 patients with locally advanced prostate cancer. Immunohistochemical staining of CD3 (T lymphocytes), CD8 (cytotoxic T lymphocytes), CD45RO (memory T lymphocytes), FoxP3 (regulatory T lymphocytes), CD68 (macrophages), CD163 (M2 macrophages), CD209 (immature dendritic cells) and CD83 (mature dendritic cells) was performed. For each slide, the number of positive cells per mm<sup>2</sup> in the benign tissues, tumor margins, cancer and IDC-P was calculated. IDC-P was found in a total of 33 patients (34%). Overall, the immune infiltrate was similar in the IDC-P-positive and the IDC-P-negative patients. However, FoxP3<sup>+</sup> T cells ( $p < 0.001$ ), CD68<sup>+</sup> and CD163<sup>+</sup> macrophages ( $p < 0.001$  for both), and CD209<sup>+</sup> and CD83<sup>+</sup> dendritic cells ( $p = 0.002$  and  $p = 0.013$ , respectively) were less abundant in the IDC-P than in the adjacent invasive cancer. Moreover, the patients were classified as having immunologically “cold” or “hot” IDC-P, according to the immune-cell densities averaged in the total IDC-P or in the immune hotspots. An immune hotspot was defined as the highest immune-cell density in the largest IDC-P lesions. Interestingly, the CD68/CD163/CD209-immune hotspots predicted metastatic dissemination ( $p = 0.014$ ) and PCa-related death ( $p = 0.009$ ) in a Kaplan–Meier survival analysis.

In the second study, IDC-P morphology was analyzed on tissues, stained with hematoxylin and eosin, from radical prostatectomy specimens of 108 men with IDC-P. In the test cohort ( $n = 39$ ), we found five morphological criteria associated with early biochemical recurrence (before 18 months): larger duct size ( $> 573 \mu\text{m}$  in diameter), the presence of cells with irregular nuclear contours, a high mitotic score ( $> 1.81$  mitoses/ $\text{mm}^2$ ), the presence of small blood vessels and the presence of comedonecrosis. In the validation cohort ( $n = 69$ ), two of these criteria, the presence of cells with irregular nuclear contours and blood vessels, were independently associated with an increased risk of biochemical recurrence (hazard ratio = 2.32, 95% confidence interval = 1.09–4.96,  $p = 0.029$ ). Additionally, when combining the criteria, the presence of any cells with irregular nuclear contours, blood vessels, high mitotic score, or comedonecrosis showed a stronger association with biochemical recurrence (hazard ratio = 2.74, confidence interval = 1.21–6.19,  $p = 0.015$ ).

Our study on the leukocyte infiltration of IDC-P is the first report describing the immune cell landscape of IDC-P. Our results suggest that the immune infiltrate of IDC-P is distinct from the one in the associated invasive prostate cancer. We showed that IDC-P can be classified as immunologically “cold” or “hot”, depending on the immune-cell densities. In our study, CD68/CD163/CD209-immune hotspots predicted progression to metastatic disease and cancer-specific survival. Further studies in larger cohorts are necessary to evaluate the clinical utility of assessing specific immune infiltrates in IDC-P with regards to patient prognosis and outcomes, and eventually, the use of immunotherapy for patients with lethal prostate cancers. Furthermore, our study on the morphology of IDC-P suggests that IDC-P can be classified as low versus high-risk of recurrence. We propose combining two to four criteria, whose presence are independent predictors of biochemical recurrence, to stratify men with IDC-P according to their risk status. The defined morphologic criteria can be easily assessed and should be integrated for clinical application following validation in larger cohorts.

**Keywords:** prostate cancer, intraductal carcinoma of the prostate, prostate cancer prognosis, radical prostatectomy, T-lymphocytes, antigen-presenting cells, morphologic criteria, biochemical recurrence.

# Préface

Cette thèse qui porte sur l'infiltration leucocytaire et la morphologie du carcinome intracanalair de la prostate est divisée en quatre chapitres. Le chapitre 1 correspond à une introduction générale sur la prostate, le cancer de la prostate, l'immunothérapie dans le traitement du cancer de la prostate et le carcinome intracanalair de la prostate.

Les chapitres 2 et 3 incluent les articles suivants, insérés aux chapitres indiqués ci-dessous :

## ***Leukocytic infiltration of intraductal carcinoma of the prostate: an exploratory study***

Inséré comme Chapitre 2 tel que publié dans le journal *Cancers* (Basel), 2023 Apr 9; 15(8), 2217; doi: [10.3390/cancers15082217](https://doi.org/10.3390/cancers15082217), à l'exception de la numérotation des tableaux et des figures qui a été adaptée pour faciliter la lecture.

**Premier auteur :** Mame-Kany Diop <sup>1,2</sup>

**Co-auteurs :** Oscar Eduardo Molina <sup>3</sup>, Mirela Birlea <sup>1</sup>, Hélène LaRue <sup>3</sup>, Hélène Hovington <sup>3</sup>, Bernard Têtu <sup>3</sup>, Louis Lacombe <sup>3,4</sup>, Yves Fradet <sup>3,4</sup>, Alain Bergeron <sup>3,4</sup> et Dominique Trudel <sup>1,2,5\*</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (axe Cancer) et Institut du cancer de Montréal, 900 Saint-Denis, Montréal, QC H2X 0A9, Canada

<sup>2</sup> Département de Pathologie et Biologie Cellulaire, Université de Montréal, 2900 Boulevard Édouard-Montpetit, Montréal, QC H3T 1J4, Canada

<sup>3</sup> Laboratoire d'Uro-Oncologie Expérimentale, Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval (axe Oncologie), Hôpital L'Hôtel-Dieu de Québec, 10 McMahan, Québec, QC G1R 3S1, Canada

<sup>4</sup> Département de chirurgie, Université Laval, 2325 rue de l'Université, Québec, QC G1V 0A6, Canada

<sup>5</sup> Département de pathologie, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, 1051 Sanguinet, Montréal, QC H2X 0C1, Canada

\* Auteur correspondant



**Contribution** : Conceptualisation, **M.-K.D.** et D.T.; Méthodologie, **M.-K.D.** et D.T.; Analyses des lames/quantification, **M.-K.D.**, O.E.M., M.B., H.L., B.T. et D.T.; Analyses statistiques : **M.-K.D.**; Ressources (biobanque, accès aux tissus et aux données des patients), H.H., Y.F. et A.B.; Écriture — Rédaction du manuscrit, **M.-K.D.** et D.T.; Rédaction — Révision et édition, **M.-K.D.**, M.B., B.T., L.L., Y.F. et A.B. et D.T.; Visualisation, **M.-K.D.** et D.T. ; Supervision, D.T., A.B. et Y.F.; Obtention de financement, L.L., Y.F., A.B. et D.T.

***Identification of morphologic criteria associated with biochemical recurrence in intraductal carcinoma of the prostate***

Inséré comme Chapitre 3 tel que publié dans le journal *Cancers* (Basel), 2021 Dec 13; 13(24), 6243; doi: [10.3390/cancers13246243](https://doi.org/10.3390/cancers13246243), à l'exception de la numérotation des tableaux et des figures qui a été adaptée pour faciliter la lecture.

**Premier auteur** : Mame-Kany Diop <sup>1,2</sup>

**Co-auteurs** : Roula Albadine <sup>2,3</sup>, André Kougioumoutzakis <sup>3</sup>, Nathalie Delvoye <sup>1</sup>, Hélène Hovington <sup>4</sup>, Alain Bergeron <sup>4,5</sup>, Yves Fradet <sup>4,5</sup>, Fred Saad <sup>1,6</sup> et Dominique Trudel <sup>1,2,3\*</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (axe Cancer) et Institut du cancer de Montréal, 900 Saint-Denis, Montréal, QC H2X 0A9, Canada

<sup>2</sup> Département de pathologie et biologie cellulaire, Université de Montréal, 2900 Boulevard Édouard-Montpetit, Montréal, QC H3T 1J4, Canada

<sup>3</sup> Département de pathologie, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, 1051 Sanguinet, Montréal, QC H2X 0C1, Canada

<sup>4</sup> Laboratoire d'uro-oncologie expérimentale, Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval (axe Oncologie), Hôpital L'Hôtel-Dieu de Québec, 10 McMahan, Québec, QC G1R 3S1, Canada

<sup>5</sup> Département de chirurgie, Université Laval, 2325 rue de l'Université, Québec, QC G1V 0A6, Canada

<sup>6</sup> Département d'urologie, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, 1051 Sanguinet, Montréal, QC H2X 0C1, Canada

\* Auteur correspondant

**Contribution** : Conceptualisation, **M.-K.D.** et D.T.; Méthodologie, **M.-K.D.**, R.A. et D.T.; Analyses des lames, **M.-K.D.** et D.T.; Analyses statistiques : **M.-K.D.** ; Validation : A.K. ; Ressources (biobanques, accès aux tissus et aux données des patients), N.D., H.H., A.B., Y.F. et F.S.; Écriture — Rédaction du manuscrit, **M.-K.D.** et D.T.; Rédaction — Révision et édition, **M.-K.D.**, R.A., A.K., A.B., F.S. et D.T.; Visualisation, **M.-K.D.** et D.T. ; Supervision, D.T.; Obtention de financement, D.T.

Le Chapitre 4 correspond à la discussion générale de la thèse.

L'article de revue suivant est présenté en tant qu'Annexe 1 :

***Intraductal Carcinoma of the Prostate as a Cause of Prostate Cancer Metastasis: A Molecular Portrait***

Tel que publié dans le journal *Cancers* **2022**, 14(3), 820; doi: [10.3390/cancers14030820](https://doi.org/10.3390/cancers14030820), à l'exception de la numérotation des tableaux et des figures qui a été adaptée pour faciliter la lecture.

**Co-premier auteur** : Helen Pantazopoulos<sup>1,2,3</sup> et Mame-Kany Diop<sup>1,2,3</sup>

**Co-auteurs** : Andrée-Anne Grosset<sup>1,2,3</sup>, Frédérique Rouleau-Gagné<sup>1,2,3</sup>, Afnan Al-Saleh<sup>1,2,3</sup>, Teodora Boblea<sup>1,2</sup> et Dominique Trudel<sup>1,2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), 900 Saint-Denis, Montréal, Québec, H2X 0A9, Canada

<sup>2</sup> Institut du cancer de Montréal, 900 Saint-Denis, Montréal, Québec, H2X 0A9, Canada

<sup>3</sup> Département de pathologie and biologie cellulaire, Université de Montréal, 2900 Boulevard Édouard-Montpetit, Montréal, Québec, H3T 1J4, Canada

<sup>4</sup> Département de pathologie, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), 1051 Sanguinet, Montréal, Québec, H2X 0C1, Canada

\* Auteur correspondant

**Contribution** : Conceptualisation, D.T. et A.-A.G.; Écriture - Rédaction du manuscrit, H.P., **M.-K.D.**, A.-A.G., F.R.-G., A.A.-S. et T.B.; Rédaction—Révision et édition, H.P., **M.-K.D.** et D.T.

# Table des matières

<b>Résumé .....</b>	<b>3</b>
<b>Abstract.....</b>	<b>6</b>
<b>Préface .....</b>	<b>8</b>
<b>Table des matières.....</b>	<b>11</b>
<b>Liste des tableaux .....</b>	<b>19</b>
<b>Liste des figures .....</b>	<b>21</b>
<b>Liste des sigles et abréviations .....</b>	<b>24</b>
<b>Remerciements.....</b>	<b>30</b>
<b>Chapitre 1 – Introduction .....</b>	<b>31</b>
1.1. La prostate.....	31
1.1.1. Localisation.....	31
1.1.2. Anatomie.....	32
1.1.2.1. Anatomie macroscopique normale .....	32
1.1.2.2. Anatomie microscopique normale .....	33
1.1.3. Fonctions .....	35
1.2. Le cancer de la prostate .....	35
1.2.1. Épidémiologie.....	35
1.2.2. Facteurs de risque .....	36
1.2.2.1. Âge .....	36
1.2.2.2. Ethnicité .....	36
1.2.2.3. Antécédents familiaux et facteurs génétiques .....	37
1.2.2.4. Diète.....	38

1.2.2.5.	Autres facteurs.....	38
1.2.3.	Diagnostic.....	39
1.2.3.1.	Dépistage précoce.....	39
1.2.3.2.	Antigène prostate spécifique (PSA).....	39
1.2.3.3.	Toucher rectal.....	40
1.2.3.4.	Biopsie.....	40
1.2.4.	Histopathologie.....	41
1.2.4.1.	Lésions précancéreuses.....	41
1.2.4.2.	Adénocarcinome infiltrant et grade histologique.....	42
1.2.4.3.	Stade.....	47
1.2.5.	Pronostic.....	48
1.2.5.1.	Évènements d'intérêt avant le décès : récurrence biochimique, récurrence clinique et résistance à la castration.....	48
1.2.5.2.	Survie selon l'étendue du cancer.....	50
1.2.5.3.	Stratification du risque.....	50
1.2.5.4.	Outils pronostiques.....	51
1.2.6.	Traitement.....	53
1.2.6.1.	Stade précoce.....	54
1.2.6.1.1.	Surveillance active.....	54
1.2.6.1.2.	Chirurgie.....	54
1.2.6.1.3.	Radiothérapie externe et interne (brachythérapie).....	55
1.2.6.2.	Stade avancé.....	56
1.2.6.2.1.	Hormonothérapie.....	56
1.2.6.2.2.	Chimiothérapie.....	60

1.2.6.2.3.	Radiothérapie interne : radium-223 .....	60
1.2.6.2.4.	Inhibiteurs de PARP .....	61
1.3.	Cancer de la prostate et immunothérapie.....	62
1.3.1.	Système immunitaire et cancer .....	62
1.3.1.1.	Immunité innée et adaptative .....	62
1.3.1.2.	Le concept d'immunoédition.....	64
1.3.2.	Immunothérapie et cancer de la prostate .....	69
1.3.3.	Limites actuelles et espoir de l'immunothérapie dans le traitement du cancer de la prostate.....	71
1.4.	Le carcinome intracanalair de la prostate (IDC-P) .....	79
1.4.1.	Définition et incidence .....	79
1.4.1.1.	Définition .....	79
1.4.1.2.	Incidence.....	81
1.4.2.	Impact clinique du carcinome intracanalair de la prostate et réponse au traitement.....	82
1.4.2.1.	Impact clinique.....	82
1.4.2.2.	Réponse au traitement .....	82
1.4.3.	Diagnostic différentiel .....	83
1.4.3.1.	Hyperplasie cribriforme à cellules claires .....	84
1.4.3.2.	Néoplasie intra-épithéliale prostatique de haut-grade (HGPIIN).....	84
1.4.3.3.	Adénocarcinome invasif acinaire.....	84
1.4.3.4.	Adénocarcinome canalaire .....	85
1.4.3.5.	Carcinome urothélial intracanalair .....	85
	<b>Hypothèses et objectifs de recherche.....</b>	<b>87</b>

<b>Chapitre 2 – Infiltration leucocytaire du carcinome intracanalair de la prostate : une étude exploratoire.....</b>	<b>88</b>
2.1. Résumé en français .....	88
2.2. Introduction.....	89
2.3. Materials and methods .....	90
2.3.1. Patients and ethics .....	90
2.3.2. Selection of the representative blocks and identification of IDC-P .....	90
2.3.3. Immunohistochemistry .....	91
2.3.4. Quantification of immunohistochemistry staining .....	91
2.3.5. Clinical-data collection and endpoints .....	92
2.3.6. Statistical analysis.....	93
2.4. Results .....	93
2.4.1. Clinicopathological characteristics of patients .....	93
2.4.2. Quantification of CD3 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> , CD45RO <sup>+</sup> , FoxP3 <sup>+</sup> , CD68 <sup>+</sup> , CD163 <sup>+</sup> , CD209 <sup>+</sup> and CD83 <sup>+</sup> cells in benign tissues, margins, cancer and IDC-P.....	95
2.4.3. Correlation between immune-cell densities in IDC-P .....	98
2.4.4. Clustering of IDC-P-positive patients according to immune-cells densities .....	100
2.5. Discussion .....	107
2.6. Conclusion .....	111
2.7. Authorship, acknowledgements and disclosure .....	111
2.7.1. Author contributions.....	111
2.7.2. Acknowledgments.....	112
2.7.3. Conflicts of interest .....	112
2.8. Supplementary materials .....	113

2.8.1. Supplementary figures .....	113
<b>Chapitre 3 – Identification de critères morphologiques associés à la récurrence biochimique dans le carcinome intracanalair de la prostate.....</b>	<b>115</b>
3.1. Résumé en français .....	115
3.2. Introduction.....	116
3.3. Materials and methods .....	117
3.3.1. Patients and ethics .....	117
3.3.2. Histologic evaluation .....	117
3.3.3. Cohorts .....	118
3.3.4. Clinical data collection and endpoints .....	118
3.3.5. Interobserver agreement .....	119
3.3.6. Statistical analysis.....	119
3.4. Results .....	120
3.4.1. Clinicopathological characteristics of patients .....	120
3.4.2. IDC-P feature descriptions .....	122
3.4.3. Association between larger duct size, CINC, high mitotic score, blood vessels, comedonecrosis, and early BCR in the test cohort.....	125
3.4.4. Validation of time to BCR according to identified adverse criteria .....	125
3.5. Discussion.....	129
3.6. Conclusions.....	132
3.7. Authorship, acknowledgements and disclosure .....	132
3.7.1. Author contributions.....	132
3.7.2. Acknowledgments.....	133
3.7.3. Conflicts of interest .....	133

3.8. Supplementary materials .....	134
3.8.1. Supplementary figures .....	134
3.8.2. Supplementary tables .....	137
<b>Chapitre 4 – Discussion .....</b>	<b>139</b>
4.1. Populations.....	139
4.2. Marquage par immunohistochimie .....	141
4.3. Évènements d'intérêt.....	142
4.4. Description de l'infiltration leucocytaire du carcinome intracanalair de la prostate .....	143
4.4.1. Infiltration leucocytaire du carcinome intracanalair de la prostate comparativement au cancer invasif conventionnel.....	143
4.4.2. Associations entre l'infiltration leucocytaire du cancer de la prostate et le pronostic dans la littérature .....	145
4.4.3. Résultats préliminaires de l'association entre l'infiltration leucocytaire du carcinome intracanalair de la prostate et le pronostic.....	150
4.5. Description de critères morphologiques associés à la récurrence biochimique dans le carcinome intracanalair de la prostate .....	153
4.5.1. Critères morphologiques retenus .....	153
4.5.2. Critères morphologiques délétères et pronostic du carcinome intracanalair de la prostate dans la littérature .....	155
4.5.3. Critères morphologiques délétères et pronostic du carcinome intracanalair de la prostate dans notre étude .....	156
4.6. Perspectives .....	157
<b>Conclusion .....</b>	<b>160</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>162</b>
<b>Annexes.....</b>	<b>194</b>



Annexe 1 – Article de revue sur le carcinome intracanalair de la prostate.....	195
Abstract .....	195
A1.1. Introduction .....	196
A1.2. IDC-P is an independent parameter for metastasis and survival .....	198
A1.2.1. IDC-P predicts the presence of lymph node metastasis.....	198
A1.2.2. IDC-P predicts the occurrence of distant metastasis.....	200
A1.2.3. IDC-P predicts poor prognosis in men with metastatic prostate cancer .....	202
A1.2.4. IDC-P predicts death from prostate cancer .....	203
A1.3. Treatment response.....	204
A1.3.1. Response to neoadjuvant chemotherapy, androgen-deprivation therapy and androgen receptor axis-targeted therapy.....	205
A1.3.2. Response to chemotherapy or androgen receptor axis-targeted therapy .....	206
A1.3.3. Response to adjuvant radiation therapy .....	207
A1.4. Molecular markers of IDC-P .....	207
A1.4.1. IDC-P without associated invasive carcinoma .....	207
A1.4.2. IDC-P compared to high-grade intraepithelial neoplasia (HGPI) and to adjacent invasive carcinoma .....	209
A1.4.2.1. PTEN and ERG (TMPRSS2:ERG) .....	210
A1.4.2.2. Multimarker studies.....	212
A1.4.2.3. Novel diagnostic biomarker: raman microspectroscopy.....	213
A1.4.3. Cases with IDC-P compared to cases without IDC-P.....	213
A1.4.4. IDC-P and deleterious germline and somatic alterations of DNA-damage repair genes .....	216
A1.4.5. IDC-P and its impact on prostate cancer outcome .....	219
A1.4.6. Commercial classification assays .....	220

A1.5. Conclusions .....	222
A1.6. Authorship, acknowledgements and disclosure .....	222
A1.6.1. Author contributions.....	222
A1.6.2. Acknowledgments.....	222
A1.6.3. Conflicts of interest.....	223
A1.7. Supplementary tables .....	225
A1.8. Annexe 1 reference list .....	233
Annexe 2 – Autre article publié.....	246

# Liste des tableaux

## Chapitre 1

<b>Tableau 1–1.</b> Taux d’incidence du cancer de la prostate en fonction de l’âge au Canada en 2020 .....	36
<b>Tableau 1–2.</b> Taux d’incidence en 2019 et de mortalité en 2020 du cancer de la prostate en fonction de la race aux États-Unis .....	37
<b>Tableau 1–3.</b> Les groupes de grade .....	45
<b>Tableau 1–4.</b> Définitions des critères TNM de l’AJCC .....	47
<b>Tableau 1–5.</b> Lignes directrices du <i>National Comprehensive Cancer Network</i> <sup>®</sup> (NCCN <sup>®</sup> ) pour la stratification initiale du risque pour les cancers de la prostate cliniquement localisés .....	51
<b>Tableau 1–6.</b> Principaux tests génomiques disponibles pour prédire l’évolution du cancer de la prostate .....	52
<b>Tableau 1–7.</b> Résultats d’essais cliniques en immunothérapie de phases II et III sur les cancers de la prostate complétées aux cours des cinq dernières années ( <a href="https://clinicaltrials.gov/">https://clinicaltrials.gov/</a> , en date du 29 décembre 2022) .....	73
<b>Tableau 1–8.</b> Principaux essais cliniques en immunothérapie de phases II et III en cours sur les cancers de la prostate ( <a href="https://clinicaltrials.gov/">https://clinicaltrials.gov/</a> , en date du 29 décembre 2022) .....	75

## Chapitre 2

<b>Table 2–1.</b> Primary antibodies used in this study .....	91
<b>Table 2–2.</b> Clinicopathological characteristics of patients according to the presence or absence of intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P) on representative slides .....	94
<b>Table 2–3.</b> Association of clinical and pathological variables with immunologically “cold”, “intermediate” or “hot” IDC-P .....	106

### Chapitre 3

<b>Table 3–1.</b> Clinicopathological characteristics of patients .....	121
<b>Table 3–2.</b> Univariate Cox regression analysis for the prediction of BCR in the validation cohort .....	127
<b>Table 3–3.</b> Cox regression analysis for the prediction of BCR in the validation cohort according to the presence of CINC and vessels in IDC-P .....	128
<b>Table 3–4.</b> Interobserver agreement between two observers for criteria assessment .....	129
<b>Table 3–S1.</b> Cox regression analysis for the prediction of BCR in the validation cohort according to the presence of three to four proposed criteria for IDC-P .....	137
<b>Table 3–S2.</b> Association of each proposed criteria with grade group, pT stage and surgical margin status in the test and validation cohorts .....	138

### Chapitre 4

<b>Tableau 4–1.</b> Résumé des études ayant évalué l’association entre l’infiltration immunitaire du cancer de la prostate et le pronostic, sur des tissus marqués par immunohistochimie .....	146
<b>Tableau 4–2.</b> Liste des critères morphologiques évalués dans l’IDC-P .....	153

# Liste des figures

## Chapitre 1

<b>Figure 1–1.</b> Anatomie de la prostate et des organes avoisinants .....	31
<b>Figure 1–2.</b> Anatomie macroscopique de la prostate .....	32
<b>Figure 1–3.</b> Histologie de la prostate .....	34
<b>Figure 1–4.</b> Exemples de néoplasies intra-épithéliales prostatiques de haut grade (HGPIN) .....	42
<b>Figure 1–5.</b> Diagrammes schématiques du système de classification de Gleason original (à gauche) et du système de classification de Gleason actuel (à droite) .....	44
<b>Figure 1–6.</b> Patrons histologiques du cancer de la prostate .....	46
<b>Figure 1–7.</b> Thérapies approuvées par l’agence américaine des produits alimentaires et des médicaments ( <i>Food and Drug Administration, FDA</i> ) pour le traitement du cancer de la prostate .....	53
<b>Figure 1–8.</b> Synthèse d’androgène et sa régulation par les testicules et les glandes surrénales chez l’homme .....	58
<b>Figure 1–9.</b> Caractéristiques du cancer .....	65
<b>Figure 1–10.</b> Le concept d’immunoédition du cancer : élimination, équilibre, échappement .....	67
<b>Figure 1–11.</b> Régulation immunitaire au sein du microenvironnement tumoral .....	69
<b>Figure 1–12.</b> Exemples de lésions de carcinome intracanaire de la prostate (IDC-P) .....	80
<b>Figure 1–13.</b> Exemples d’hyperplasie cribriforme à cellules claires (a), d’adénocarcinome canalaire (b) et de carcinome urothélial intracanaire (c) .....	83

## Chapitre 2

<b>Figure 2–1.</b> Example of immunohistochemical staining for CD3, CD8, CD45RO, FoxP3, CD209, CD83, CD68 and CD163 in cancer, including intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P, asterisks), of the same tissue block .....	95
<b>Figure 2–2.</b> Leucocyte densities depending on IDC-P status .....	96
<b>Figure 2–3.</b> Parallel coordinate plots showing the changes in cell density for each IDC-P-positive patient between the IDC-P compartment and benign tissues (a), margins (b) and cancer (c) .....	98

<b>Figure 2–4.</b> Linear regression and Pearson correlation for cell densities between the different cell types in IDC-P .....	99
<b>Figure 2–5.</b> Bar charts representing the mean number of positive T cells (a) and antigen-presenting cells (b) in the total IDC-P according to patients’ outcomes five and ten years post-surgery .....	101
<b>Figure 2–6.</b> Hierarchical clustering of the eight immune-cell markers according to average cell densities in the total IDC-P (a) and Kaplan–Meier curves exploring survival rates of patients with immunologically “cold” IDC-P (blue) and patients with immunologically “hot/intermediate” IDC-P (red) (b) .....	102
<b>Figure 2–7.</b> Bar charts representing the mean number of positive T cells (a) and antigen-presenting cells (b) in IDC-P-immune hotspots according to patients’ outcomes five- and ten-years post-surgery .....	104
<b>Figure 2–8.</b> Hierarchical clustering of the three selected immune-cell markers according to cell densities in hotspots (a) and Kaplan–Meier curves exploring survival rates of patients with immunologically “cold/intermediate” IDC-P (blue) and patients with immunologically “hot” IDC-P (red), depending on the density in hotspots (b) .....	105
<b>Figure 2–S1.</b> Parallel coordinate plots showing the changes in immune-cell density between the cancer compartments and benign tissues (a), margins (b) and IDC-P (c) in patients with IDC-P .....	113
<b>Figure 2–S2.</b> Parallel coordinate plots showing the changes in immune-cell density between the margin and benign tissues (a), cancer regions (b) and IDC-P (c) in patients with IDC-P .....	114

### Chapitre 3

<b>Figure 3–1.</b> Study workflow .....	120
<b>Figure 3–2.</b> Proposed criteria to distinguish aggressive IDC-P .....	124
<b>Figure 3–3.</b> Kaplan–Meier curves of biochemical recurrence (BCR)-free survival according to the presence or absence of the five proposed criteria for IDC-P in the validation cohort: (a) Duct size, (b) CINC, (c) Mitotic score, (d) Blood vessels, and (e) Comedonecrosis .....	126

<b>Figure 3–4.</b> Kaplan–Meier curves of BCR-free survival according to the presence of CINC and the presence of vessels in IDC-P in the validation cohort .....	128
<b>Figure 3–S1.</b> Other morphologic criteria evaluated .....	134
<b>Figure 3–S2.</b> Kaplan–Meier curves of BCR-free survival according to the number ( <b>a, c</b> and <b>e</b> ) or the presence or absence ( <b>b, d</b> and <b>f</b> ) of three to four proposed criteria for IDC-P in the validation cohort .....	135
<b>Figure 3–S3.</b> Distribution of criteria according to the four combinations of criteria in the validation cohort .....	136

## Chapitre 4

<b>Figure 4–1.</b> Coupe histologique d’une zone contenant des cellules cancéreuses et un foyer d’inflammation dans la prostate .....	149
<b>Figure 4–2.</b> Exemple de la distribution de cellules CD8 <sup>+</sup> dans l’IDC-P sur une coupe de tissu de prostate .....	157

# Liste des sigles et abréviations

## 0–9

<sup>223</sup> Ra	Radium-223	<i>Radium-223</i>
3D	Trois dimensions	<i>Three dimensional</i>
95% CI	Intervalle de confiance à 95%	<i>95% Confidence interval</i>

## A

ADN	Acide désoxyribonucléique	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
ADT	Thérapie de déprivation des androgènes	<i>Androgen deprivation therapy</i>
AJCC		<i>American Joint Committee on Cancer</i>
AMACR	$\alpha$ -méthylacyl-CoA racémase	<i><math>\alpha</math>-methylacyl-CoA racemase</i>
APC	Cellules présentatrices de l'antigène	<i>Antigen-presenting cells</i>
AR	Récepteurs aux androgènes	<i>Androgen receptors</i>
ARN	Acide ribonucléique	<i>Ribonucleic acid</i>
ARNm	Acide ribonucléique messager	<i>Messenger ribonucleic acid</i>
AUC	Association des urologues du Canada	<i>Canadian Urological Association (CUA)</i>

## B

BCR	Récidive biochimique	<i>Biochemical recurrence</i>
-----	----------------------	-------------------------------

## C

CAPRA		<i>Cancer of the Prostate Risk Assessment</i>
CD	Classe de différenciation	<i>Cluster of differentiation</i>
CDK12	Kinase 12 dépendante de la cycline	<i>Cyclin-dependent kinase 12</i>
Cellules NK	Cellules tueuses naturelles	<i>Natural killer cells</i>
CHUQc-UL	CHU de Québec-Université Laval	
CHUM	Centre hospitalier de l'Université de Montréal	
CINC	Cellules avec des noyaux à contours irréguliers	<i>Cells with irregular nuclear contours</i>



<b>CIRC</b>	Centre International de Recherche sur le Cancer	<i>International Agency for Research on Cancer (IARC)</i>
<b>CRPC</b>	Cancer de la prostate résistant à la castration	<i>Castration-resistant prostate cancer</i>
<b>CTC</b>	Cellules tumorales circulantes	<i>Circulating tumor cells</i>
<b>CTLA-4</b>	Antigène 4 du lymphocyte T cytotoxique	<i>Cytotoxic T-lymphocyte antigen-4</i>
<b>CUOG</b>	Groupe canadien d'urologie oncologie	<i>Canadian Urologic Oncology Group</i>
<b>CYP17</b>	Cytochrome P450 17 $\alpha$ -hydroxylase/C17,20-lyase	<i>Cytochrome P450 17<math>\alpha</math>-hydroxylase/C17,20-lyase</i>
<b>CyTOF</b>	Cytométrie de masse	<i>Cytometry by time of flight</i>

## D

<b>DAB</b>	3,3'-Diaminobenzidine	<i>3,3'-Diaminobenzidine</i>
<b>DAMPs</b>	Motifs moléculaires associés aux dégâts	<i>Damage-associated molecular patterns</i>
<b>DC</b>	Cellule dendritique	<i>Dendritic cell</i>
<b>dMMR</b>	Déficiences du système de réparation des erreurs d'appariements de l'ADN	<i>Deficient in DNA mismatch repair</i>

## E

<b>EPE</b>	Extension extra-prostatique	<i>Extraprostatic extension</i>
------------	-----------------------------	---------------------------------

## F

<b>FDA</b>	Agence américaine des produits alimentaires et des médicaments	<i>Food and Drug Administration</i>
<b>FFPE</b>	Fixé dans la formaldéhyde et enrobé de paraffine	<i>Formalin-fixed paraffin-embedded</i>
<b>FoxP3</b>		<i>Forehead box P3</i>
<b>FSH</b>	Hormone folliculo-stimulante	<i>Follicle stimulating hormone</i>

## G

<b>GG</b>	Groupe de grade	<i>Grade Group</i>
<b>GPS</b>	Score génomique de la prostate	<i>Genomic Prostate Score</i>

## H

<b>H&amp;E</b>	Hématoxyline et éosine	<i>Hematoxylin and eosin</i>
----------------	------------------------	------------------------------

<b>HDR</b>	Déficit de la recombinaison homologue	<i>Homologous recombination <b>d</b>eficiency</i>
<b>HER2</b>		<i>Human Epidermal Growth Factor Receptor-2</i>
<b>HGPIN</b>	Néoplasie intra-épithéliale prostatique de haut grade	<i>High-<b>g</b>rade <b>p</b>rostatic <b>i</b>ntraepithelial <b>n</b>eoplasia</i>
<b>HMWCK</b>	Cytokératines de haut poids moléculaire	<i>High <b>m</b>olecular <b>w</b>eight <b>c</b>ytokeratins</i>
<b>HPS</b>	Hématoxyline <b>p</b> hloxine safran	<i>Hematoxylin <b>p</b>hloxine <b>s</b>affron</i>
<b>HR</b>	Rapport de risque	<i>Hazard <b>r</b>atio</i>
<b>HRP</b>	Peroxydase de raifort	<i>Horseradish <b>P</b>eroxidase</i>

## I

<b>IDC-P</b>	Carcinome intracanalair de la prostate	<i>Intra<b>d</b>uctal <b>c</b>arcinoma of the <b>p</b>rostate</i>
<b>IHC</b>	Immunohistochimie	<i>Immunohistochemistry</i>
<b>IL-6</b>	Interleukine 6	<i>Interleukin <b>6</b></i>
<b>IL-8</b>	Interleukine 8	<i>Interleukin <b>8</b></i>
<b>IL-10</b>	Interleukine 10	<i>Interleukin <b>10</b></i>
<b>IL-12</b>	Interleukine 12	<i>Interleukin <b>12</b></i>
<b>INF-γ</b>	Interféron <b>g</b> amma	<i>Interferon <b>g</b>amma</i>
<b>iPARP</b>	Inhibiteurs de poly (ADP-ribose) polymérase	<i>Poly (ADP-ribose) polymerase inhibitors</i>
<b>IQR</b>	Écart interquartile	<i>Inter<b>q</b>uartile <b>r</b>ange</i>
<b>IRM</b>	Imagerie par résonance magnétique	<i>Magnetic resonance imaging</i>
<b>ISUP</b>	Société internationale d'urologie	<i>International <b>S</b>ociety of <b>U</b>rological <b>P</b>athology</i>

## L

<b>LDN</b>	Lymphadénectomie	<i>Lymphad<b>e</b>nectomy</i>
<b>LGPIN</b>	Néoplasie intra-épithéliale prostatique de bas grade	<i>Low-<b>g</b>rade <b>p</b>rostatic <b>i</b>ntraepithelial <b>n</b>eoplasia</i>
<b>LH</b>	Hormone lutéisante	<i>Luteinizing <b>h</b>ormone</i>
<b>LH-RH</b>	Hormone de libération de la lutéinostimuline	<i>Luteinizing <b>h</b>ormone releasing <b>h</b>ormone</i>
<b>Lymphocyte T<sub>C</sub></b>	Lymphocyte T cytotoxique	<i>Cytotoxic <b>T</b> lymphocyte</i>
<b>Lymphocyte T<sub>H</sub></b>	Lymphocyte T auxiliaire	<i>Helper <b>T</b> lymphocyte</i>

<b>Lymphocyte T<sub>REG</sub></b>	Lymphocyte T régulateur	<i>Regulatory T lymphocyte</i>
-----------------------------------	-------------------------	--------------------------------

**M**

<b>mCRPC</b>	Cancer de la prostate métastatique résistant à la castration	<i>Metastatic castration-resistant prostate cancer</i>
<b>MDSC</b>	Cellule myéloïde suppressive	<i>Myeloid-derived suppressor cell</i>
<b>MHC</b>	Complexe majeur d'histocompatibilité	<i>Major histocompatibility complex</i>
<b>MSI-H</b>	Instabilité microsatellitaire élevée	<i>Microsatellite instability high</i>

**N**

<b>N/A</b>	Non applicable	<i>Not applicable</i>
<b>NCCN</b>		<i>National Comprehensive Cancer Network</i>
<b>nmCRPC</b>	Cancer de la prostate résistant à la castration non métastatique	<i>Non-metastatic castration-resistant prostate cancer</i>

**O**

<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la Santé	<i>World Health Organization (WHO)</i>
------------	-----------------------------------	--

**P**

<b>PAP</b>	Phosphatase acide prostatique	<i>Prostatic acid phosphatase</i>
<b>PARP</b>	Poly (ADP-ribose) polymérase	<i>Poly (ADP-ribose) polymerase</i>
<b>PCa</b>	Cancer de la prostate	<i>Prostate cancer</i>
<b>PD-1</b>	Protéine de mort cellulaire programmée 1	<i>Programmed cell death 1</i>
<b>PD-L1</b>	Ligand de mort cellulaire programmé	<i>Programmed cell death-ligand 1</i>
<b>PET</b>	Tomographie par émission de positrons	<i>Positron emission tomography</i>
<b>PIN</b>	Néoplasie intra-épithéliale prostatique	<i>Prostatic intraepithelial neoplasia</i>
<b>PSA</b>	Antigène prostate spécifique	<i>Prostate-specific antigen</i>
<b>PSMA</b>	Antigène membranaire spécifique de la prostate	<i>Prostate-specific membrane antigen</i>

**R**

<b>RP</b>	Prostatectomie radicale	<i>Radical prostatectomy</i>
-----------	-------------------------	------------------------------

## S

<b>SD</b>	Écart type	<i>Standard deviation</i>
<b>SE</b>	Erreur standard	<i>Standard error</i>
<b>SEER</b>		<i>Surveillance, Epidemiology and End Results program</i>

## T

<b>TGF-<math>\beta</math></b>		<i>Transforming growth factor <math>\beta</math></i>
<b>TILs</b>	Lymphocytes infiltrant la tumeur	<i>Tumor infiltrating lymphocytes</i>
<b>TLR</b>	<i>Toll-like receptors</i>	
<b>TMA</b>	Micromatrice tissulaire	<i>Tissue microarray</i>
<b>TNM</b>	Tumeur-Ganglions-Metastases	<i>Tumor-Nodes-Metastasis</i>
<b>TURP</b>	Résection transurétrale de la prostate	<i>Transurethral resection of the prostate</i>

## U

<b>UICC</b>	Union Internationale Contre le Cancer	<i>Union for International Cancer Control</i>
-------------	---------------------------------------	---

*Aux patients qui ont contribué à la recherche présentée dans cette thèse*

## Remerciements

Les travaux décrits dans cette thèse n'auraient pas été possibles sans l'aide de mes collègues et collaborateurs.

Je tiens d'abord à remercier ma directrice de recherche, Dominique Trudel. Merci Dominique pour ces huit dernières années. Merci d'avoir eu autant confiance en moi. Merci de toujours être enthousiasmé par l'inattendu. Merci pour toute la science mais aussi de m'avoir aidé à prendre confiance en moi.

Merci aux membres du laboratoire, actuels et anciens, Helen, Afnan, Fatimah, Assia, Lucrese, Raphaële, Tien, André, Kelly, Feryel, et spécialement Andrée-Anne et Mirela, d'avoir rendu cette aventure agréable. Merci pour tous les fous rires et les beaux moments que nous avons passés ensemble.

Merci à ma co-directrice, Anne-Marie Mes-Masson, et aux membres de mon comité de suivi, Louis Gaboury et Philip Wong, pour leurs précieux conseils et encouragements durant mon doctorat.

Merci à Alain Bergeron, Yves Fradet, Hélène Hovington, Oscar Eduardo Molina, Hélène LaRue, Louis Lacombe et Bernard Têtu du CHU de Québec-Université Laval, à Roula Albadine et Mathieu Latour du département de pathologie au CHUM, et à Fred Saad, Nathalie Delvoe et Réjean Lapointe du CRCHUM, pour leur collaboration et leurs précieux conseils.

Merci aux filles des plateformes du CRCHUM, Liliane Meunier, Véronique Barrès et Gabriela Fragoso de la plateforme de pathologie moléculaire, Aurélie Cleret-Buhot de la plateforme d'imagerie cellulaire et Cécilia Vargas et Claudia Syed de la plateforme des biobanques, pour leur expertise et aide indispensables. Merci aussi à Patrick Laplante et Mélanie Borie du CRCHUM et Mélanie Girouard du CHUM pour leur disponibilité et leur grande aide.

Merci à Dorothée Dal Soglio, Marilyne Labrie, Moutih Rafei et David Knapp d'avoir accepté et pris le temps d'évaluer ma thèse.

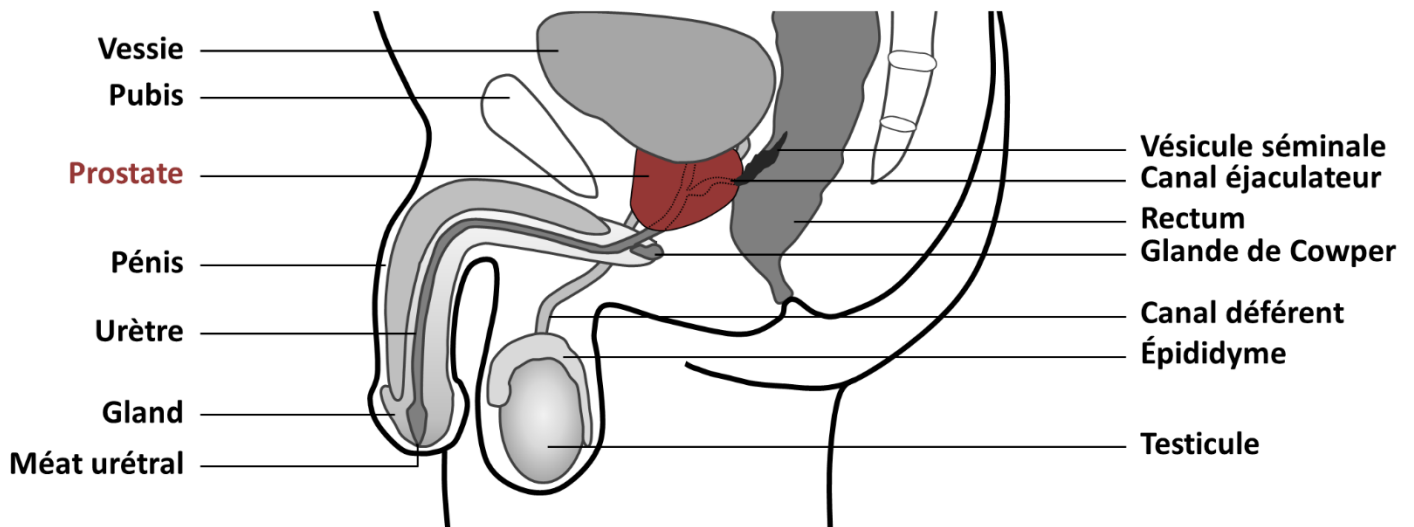
Finalement, j'aimerais remercier ma famille et mes amis qui, de loin ou de près, m'ont soutenu durant toutes ces années.

# Chapitre 1 – Introduction

## 1.1. La prostate

### 1.1.1. Localisation

La prostate est située dans le pelvis de l'homme, immédiatement sous la vessie, au-dessus du plancher périnéal, en avant du rectum et en arrière de la symphyse pubienne (**Figure 1–1**) [1]. Elle est traversée sur sa longueur par l'urètre : le canal qui lie la vessie au pénis et qui permet d'éliminer l'urine du corps [1]. Deux vésicules séminales émergent de chaque côté de la région postéro-supérieure de la prostate. Les vésicules séminales sécrètent une partie du liquide séminal à l'intérieur des canaux déférents qui deviennent les canaux éjaculateurs avant de déboucher dans l'urètre prostatique au sommet du *veru montanum* ou *colliculus seminalis* [1]. Les canaux déférents transportent ainsi les spermatozoïdes des testicules, où ils sont produits, vers la prostate. Les glandes de Cowper se trouvent sous la prostate. Elles sécrètent le liquide pré-éjaculatoire ou pré-séminal qui est transporté dans l'urètre via des canaux excréteurs [1].



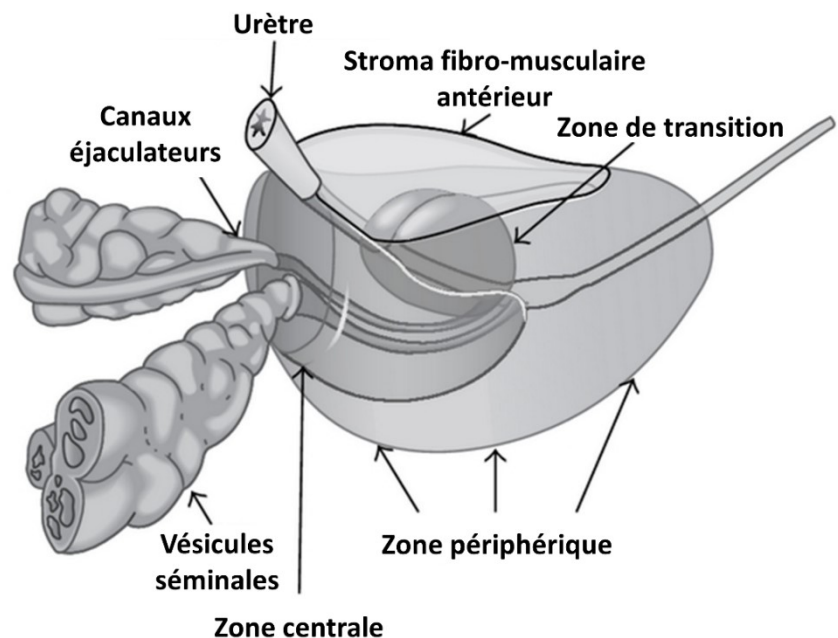
**Figure 1–1.** Anatomie de la prostate et des organes avoisinants. Inspirée de Saad et McCormack (2019) [2].

## 1.1.2. Anatomie

### 1.1.2.1. Anatomie macroscopique normale

La prostate est une glande blanchâtre et ferme de la taille et de la forme d'une châtaigne [3]. La face supérieure de la prostate, c'est-à-dire celle en contact avec la vessie, correspond à sa base; tandis que sa face inférieure représente son apex (**Figure 1-1**) [1].

La prostate est divisée en quatre zones anatomiques : la zone périphérique, la zone de transition, la zone centrale et le stroma fibro-musculaire antérieur (**Figure 1-2**) [4,5]. La zone périphérique est la plus volumineuse, elle représente environ 70% du volume de la prostate et regroupe la majorité des glandes [4]. Elle comprend les régions postérieures et latérales de la prostate (proches de la paroi rectale) et la région de l'apex entourant l'urètre prostatique distal. Quarante-vingts à 85% des cancers de la prostate (*prostate cancer*, PCa) se développent dans la zone périphérique [6]. La zone de transition constitue autour de 20% du volume de la prostate et est située dans la région antéro-latérale qui entoure la partie proximale de l'urètre [4]. Dix à 15% des PCa proviennent de la zone de transition [6]. La zone centrale, quant à elle, représente 10% du volume et entoure les canaux éjaculateurs; et seulement cinq à 10% des PCa prennent naissance dans cette zone [4,6]. Contrairement aux trois zones précédentes, le stroma fibro-musculaire antérieur n'est pas une zone glandulaire. Il contribue à la forme convexe antérieure de la prostate [4].



**Figure 1-2.** Anatomie macroscopique de la prostate. Adaptée de Bhavsar et Verma (2014) [7].



### 1.1.2.2. Anatomie microscopique normale

La prostate est constituée de tissu épithélial glandulaire qui forme les glandes et les canaux, et de tissu conjonctif fibro-musculaire (aussi appelé stroma prostatique) qui remplit les espaces entre les glandes et les canaux [3]. Les glandes prennent naissance au centre de l'urètre prostatique, sur sa partie postérieure, et s'étendent de manière proximale et latérale [4]. Les glandes prostatiques sont constituées de deux couches de cellules épithéliales : les cellules luminales en contact avec la lumière des glandes et les cellules basales en périphérie [3].

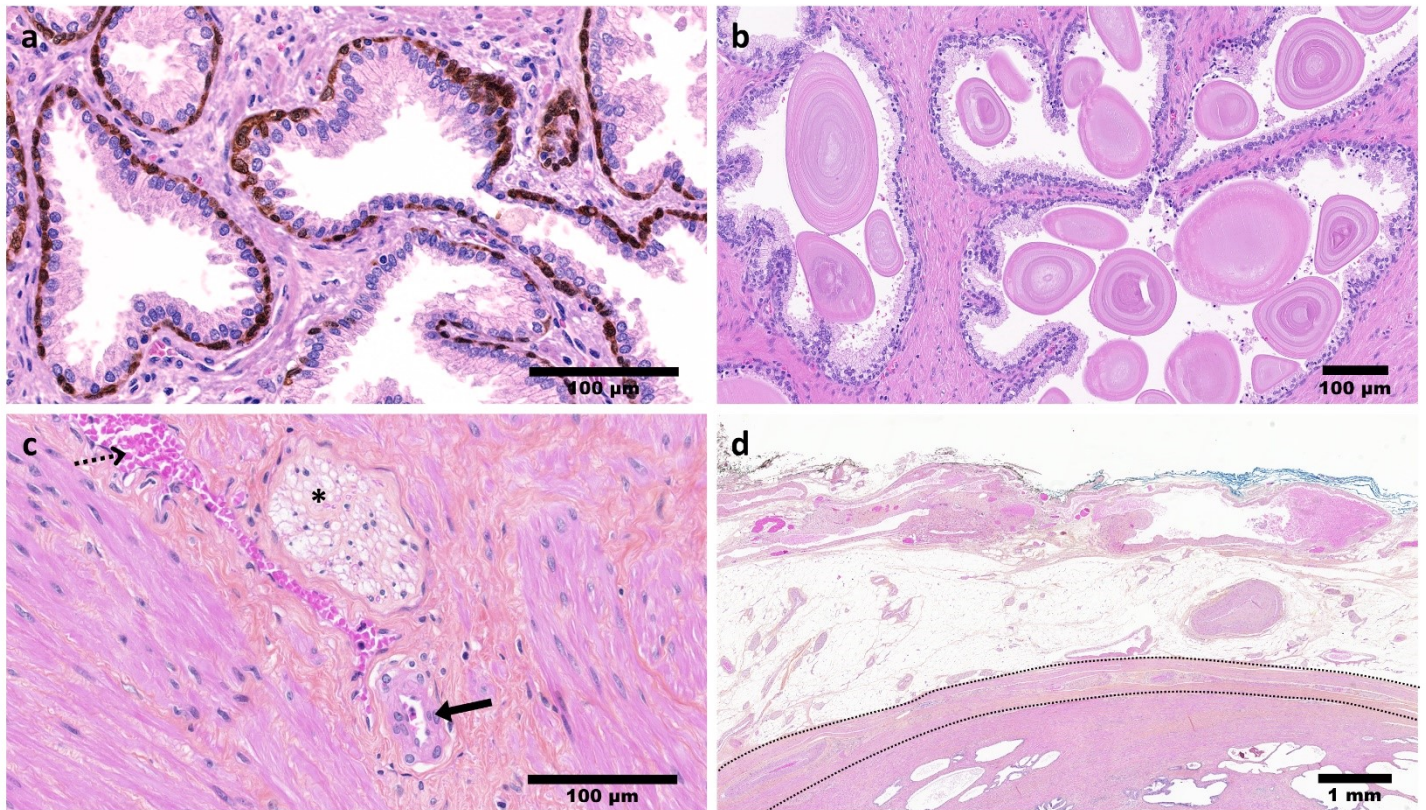
Les cellules luminales sont les cellules sécrétoires des acini et canaux, elles ont généralement un aspect cylindrique avec un cytoplasme clair, un petit noyau en position basale et un nucléole peu visible (**Figure 1–3a**) [3]. Les cellules basales, alignées à la membrane basale, entourent les cellules luminales. Elles ont souvent un aspect aplati avec un haut rapport nucléo-cytoplasmique et de petits nucléoles [3]. La présence de cellules basales peut être mise en évidence par immunohistochimie (IHC) en utilisant des anticorps anti-p63 et/ou -cytokératines de haut poids moléculaire (*high molecular weight cytokeratins*, HMWCK) (**Figure 1–3a**). On retrouve aussi un autre type de cellules épithéliales dans la prostate, les cellules neuroendocrines [3]. Ces cellules, peu nombreuses parmi les cellules épithéliales, se trouvent plus souvent proches du *veru montanum* et sont difficiles à distinguer sans coloration spéciale [3].

Par ailleurs, on observe parfois des dépôts éosinophiles, appelés corps amylicés ou sympexions, dans la lumière des glandes prostatiques. Ces dépôts sont des concrétions lamellaires concentriques (**Figure 1–3b**) [3].

Entre les glandes, un tissu de soutien, ou stroma, forme une trame tridimensionnelle principalement constituée de fibres de collagène et de cellules musculaires lisses, mais aussi de vaisseaux sanguins, nerfs et cellules inflammatoires (**Figure 1–3c**) [3].

La zone la plus externe du tissu prostatique, parfois appelée « capsule prostatique » [*sic*], ne correspond pas à une capsule anatomique puisqu'elle est en continuité avec le stroma prostatique et le tissu extra-prostatique. Il s'agit plutôt d'une zone de condensation du stroma fibro-musculaire, plus ou moins épaisse, contenant des vaisseaux et des nerfs de calibre moyen [3]. Le tissu extra-prostatique contient des vaisseaux et des nerfs de calibres moyen et gros et du

tissu adipeux (**Figure 1–3d**). On y retrouve également des bandelettes neuro-vasculaires en postéro-latéral [3].



**Figure 1–3.** Histologie de la prostate. **(a)** Glandes bénignes avec les cellules basales marquées en brun (anti-p63 et anti-HMWCK) par immunohistochimie (IHC), contre coloration hématoxyline et éosine (H&E); **(b)** Glandes bénignes avec des corps amylicés dans les lumières, coloration H&E; **(c)** Stroma prostatique : les fibres de collagènes sont colorées en orange et les fibres musculaires en rose, un nerf est identifié par l’astérisque et des vaisseaux sanguins (globules rouges en fuchsia) par les flèches, coloration hématoxyline phloxine safran (HPS) **(d)** Coupe qui montre, en bas, du tissu prostatique et, en haut, du tissu extra-prostatique contenant de nombreuses cellules adipeuses et des vaisseaux et nerfs de calibres moyen et gros. Les lignes pointillées mettent en évidence la zone entre le stroma prostatique et le tissu extra-prostatique. L’encre bleue (à droite) et l’encre noire (à gauche) visibles à la surface du tissu sont ajoutées lors de la macroscopie pour pouvoir orienter les spécimens après la découpe, coloration HPS.

### **1.1.3. Fonctions**

La prostate participe à la formation et à la maturation des spermatozoïdes. Elle produit un liquide laiteux qui représente 30 à 35% du liquide séminal [8]. Le reste du liquide séminal est produit par les vésicules séminales [9]. Le liquide séminal est constitué de protéines, d'enzymes et de minéraux qui vont protéger et nourrir les spermatozoïdes [10]. Les nombreuses fibres musculaires présentes dans le stroma de la prostate vont pouvoir se contracter pour acheminer les sécrétions prostatiques jusqu'à l'urètre. Dans l'urètre, les sécrétions prostatiques et séminales vont se combiner aux spermatozoïdes pour former le sperme [1].

La croissance, la différenciation et le maintien de l'activité optimale de la prostate sont principalement contrôlés par des androgènes [11]. La testostérone est le principal androgène circulant. Plus de 95% de la production de testostérone est accomplie par les cellules de Leydig, présentes dans les testicules, et en quantité beaucoup plus faible par les glandes surrénales [12]. Les androgènes favorisent la prolifération des cellules cancéreuses dans la prostate [13]. Ce contrôle hormonal est à la base des thérapies de déprivation des androgènes (ADT) pour le traitement du PCa [13]. Les ADT sont décrites dans la section [1.2.6.2.1. Hormonothérapie](#).

## **1.2. Le cancer de la prostate**

### **1.2.1. Épidémiologie**

Avec 1 414 259 nouveaux cas de PCa en 2020, le PCa est le deuxième cancer le plus fréquemment diagnostiqué chez les hommes dans le monde, représentant 14,1% des nouveaux cas de cancers et causant 6,8% (375 304 nouveaux décès) de tous les décès par cancer chez l'homme en 2020 [14]. Le taux d'incidence et de mortalité du PCa varie selon les régions et les populations [15]. Chez l'homme, le PCa est le cancer le plus répandu dans plus de la moitié des pays du monde (112/185) : les taux d'incidence du PCa les plus élevés sont reportés en Europe du Nord et de l'Ouest, dans les Caraïbes, en Australie/Nouvelle-Zélande, en Amérique du Nord et en Afrique australe; et les taux les plus bas en Asie et en Afrique du Nord [14].

Au Canada, en excluant les cancers de la peau autres que les mélanomes, le PCa est le cancer le plus souvent diagnostiqué chez les hommes et la troisième cause de décès par cancer [16]. Il a été estimé qu'en 2022, 24 600 hommes recevront un diagnostic de PCa et 4 600 en mourront, soit 20% des nouveaux cas de cancer et 10% des nouveaux cas de décès par cancer chez les hommes [16].

## 1.2.2. Facteurs de risque

### 1.2.2.1. Âge

L'âge est un facteur de risque reconnu pour le PCa [17]. La majorité des PCa sont diagnostiqués à partir de 50 ans et le taux d'incidence augmente fortement avec l'âge [18]. Le **Tableau 1-1** présente les taux d'incidence du PCa au Canada en 2020 selon les groupes d'âge.

**Tableau 1-1.** Taux d'incidence du cancer de la prostate en fonction de l'âge au Canada en 2020. Les données proviennent du Centre international de recherche sur le cancer (CIRC), GLOBOCAN 2020 [15].

Âge	Taux standardisé sur l'âge (pour 100 000 hommes)
Moins de 50 ans	2,9
Entre 50 et 54 ans	128,5
Entre 55 et 59 ans	290,5
Entre 60 et 64 ans	481,7
65 ans et plus	581,1

### 1.2.2.2. Ethnicité

La prévalence du PCa est plus élevée chez les noirs ou afro-américains (**Tableau 1-2**) [19]. Les hommes afro-américains sont également au moins deux fois plus susceptibles de mourir d'un PCa que les hommes de n'importe quelle autre race/origine ethnique [19]. Ces différences seraient liées à des facteurs biologiques mais aussi socioéconomiques, tels que l'accès aux soins, le niveau de scolarité et le revenu du ménage [20,21]. Plusieurs études ont montré que les afro-américains possèdent plus fréquemment des variants du chromosome 8q24 qui sont associés à une

augmentation du risque de développer un PCa [22-24]. Les afro-américains détiennent aussi un taux élevé de variations dans les gènes suppresseurs de tumeur ou régulateurs de l'apoptose comme *EphB2* [25] et *BCL2* [26], respectivement. De plus, il a été suggéré que les hommes noirs aux États-Unis et au Canada reçoivent des soins de santé de moins bonne qualité et sont donc moins susceptibles de se faire dépister [21,27].

**Tableau 1–2.** Taux d'incidence en 2019 et de mortalité en 2020 du cancer de la prostate en fonction de la race aux États-Unis. Les données proviennent du *Surveillance, Epidemiology and End Results program* (SEER) [19].

Race / Ethnicité	Taux d'incidence standardisé sur l'âge pour 100 000 hommes (95% IC) <sup>1</sup>	Taux de mortalité standardisé sur l'âge pour 100 000 hommes (95% IC) <sup>2</sup>
Toutes les races	123,1 (122,3–123,9)	18,5 (18,3–18,8)
Hommes noirs	203,2 (200,0–206,5)	36,7 (35,7–37,8)
Hommes blancs	123,0 (122,1–123,9)	17,7 (17,4–17,9)
Hommes hispaniques	94,2 (92,4–96,0)	14,4 (13,8–15,0)
Hommes d'origine asiatique/insulaire du Pacifique	67,3 (65,3–69,3)	8,8 (8,2–9,5)
Hommes indiens d'Amérique/natifs de l'Alaska	88,3 (75,8–102,0)	16,7 (13,4–20,5)

<sup>1</sup> Pour 22 régions surveillées par le SEER; <sup>2</sup> *US Mortality Files, National Center for Health Statistics, CDC*. 95% CI : intervalle de confiance à 95%.

### 1.2.2.3. Antécédents familiaux et facteurs génétiques

Plusieurs études épidémiologiques ont démontré que les frères et les fils d'hommes atteints de PCa ont un risque au moins deux fois plus élevé de développer un PCa; ce risque augmente lorsque le parent affecté a développé un PCa avant l'âge de 55 ans [28]. Des antécédents familiaux sont observés dans 10 à 20% des cas de PCa [18,29]. Par ailleurs, des similitudes dans les habitudes de vie ainsi que l'exposition aux mêmes cancérogènes environnementaux seraient aussi des facteurs de risque [18].

Des altérations génétiques dans les systèmes de réparation de l'ADN, incluant notamment les gènes *BRCA2*, *BRCA1* et *ATM*, sont associées à une augmentation de l'incidence du PCa et sont retrouvées plus fréquemment chez les hommes avec des PCa métastatiques résistants à la

castration (*metastatic castration-resistant prostate cancer*, mCRPC), suggérant une association entre ces altérations et la progression de la maladie [30].

Par ailleurs, des études d'associations pangénomiques ont identifié une centaine de loci de susceptibilité qui seraient impliqués dans le risque de développer un PCa [31-33]. Ces variants génétiques contribuent à jusqu'à 40% de la forme familiale du PCa [28].

#### **1.2.2.4. Diète**

Les facteurs environnementaux jouent un rôle crucial dans le développement du PCa. Plusieurs études démontrent l'importance des facteurs alimentaires en observant que les hommes qui immigrerent d'une région à faible risque (pays en développement) à une région à haut risque (pays industrialisé) ont plus de chance de développer un PCa [18,34,35]. Par exemple, Hsing et al. [34] ont rapporté une incidence de PCa 16 fois plus élevée chez les chinois qui résident aux États-Unis par opposition aux hommes qui résident en Chine. De même, Chu et al. [35] ont trouvé que l'incidence du PCa est jusqu'à 40 fois plus élevée chez les hommes noirs originaires d'Afrique subsaharienne qui résident aux États-Unis comparativement à ceux qui résident en Afrique. Un mode de vie « occidentalisé » serait donc lié au développement de PCa.

#### **1.2.2.5. Autres facteurs**

D'autres facteurs seraient associés au développement de PCa, mais leur association n'est pas toujours claire ou faible au niveau clinique et nécessite des enquêtes plus approfondies [18]. Par exemple, une consommation élevée de sélénium [36-38] seraient bénéfique pour réduire le risque de développer un PCa tandis qu'une déficience en vitamine D [39-42] et de fortes concentrations de vitamine B12 et folate [43] auraient l'effet contraire. De même, l'abus d'alcool [44,45] et le tabagisme [46-48] pourraient augmenter le risque de développer un PCa tandis qu'une forte consommation de café diminuerait ce risque [49]. L'obésité et un indice de masse corporelle élevé seraient quant à eux plus fortement liés à la progression et à l'agressivité du PCa [50].

Parmi les autres facteurs potentiels de risque du PCa, on note : l'inflammation chronique [51] et la prostatite (inflammation de la prostate) [52-55], l'insuline [56-59], les maladies sexuellement transmissibles [60,61], l'exposition aux rayonnements ionisants (radiographie, imagerie nucléaire, tomodensitométrie) [62] et l'exposition à des carcinogènes (insecticides, herbicides) [63-67].

### **1.2.3. Diagnostic**

#### **1.2.3.1. Dépistage précoce**

La Société canadienne du cancer recommande aux hommes d'environ 50 ans de discuter avec leur médecin des bénéfices et risques liés au dépistage précoce du PCa [68]. Pour les hommes présentant un risque plus élevé de développer un PCa (par exemple, les hommes noirs et ceux avec des antécédents familiaux), il est conseillé de discuter de la nécessité d'un dépistage dès l'âge de 45 ans [69]. Les deux tests les plus utilisés pour la détection précoce du PCa sont la mesure de l'antigène prostate spécifique (*prostate-specific antigen*, PSA) et le toucher rectal.

#### **1.2.3.2. Antigène prostate spécifique (PSA)**

Le PSA est une sérine protéase appartenant à la famille des kallikréines [3]. Cette enzyme, produite par les cellules luminales des glandes prostatiques, hydrolyse les composantes structurales du coagulum séminal pour le rendre liquide [3,70]. Le PSA circule dans le sang sous deux formes : une forme libre et une forme conjuguée à d'autres protéines [3]. Le dosage de la concentration sérique de PSA, qui inclut les deux formes de PSA, est spécifique à la prostate mais pas au cancer. En effet, le taux de PSA peut augmenter en cas d'inflammation de la prostate, en présence de lésions bénignes de la prostate, en cas d'infection urinaire ou à la suite d'une intervention chirurgicale pratiquée sur ou proche de la prostate, telle qu'une biopsie ou une résection transurétrale de la prostate [3,71,72]. Le taux de PSA augmente avec l'âge et il n'y a pas de consensus quant au taux de PSA qui devrait être considéré comme « normal ».

Cependant, un taux de PSA supérieur à 4 ng/mL est généralement considéré comme étant suspect et requiert des tests additionnels [3,69]. Les fréquences pour le dépistage varient et devraient être individualisées en fonction du taux de PSA précédent [69]. Les hommes avec un taux de PSA < 1 ng/mL ont un faible risque de développer un PCa sur 10 ans : pour ces hommes il est recommandé de mesurer le taux de PSA environ chaque quatre ans [69]. Les hommes avec un taux de PSA entre 1 et 3 ng/mL ont un risque intermédiaire de développer un PCa [73] et devraient se faire dépister chaque deux ans [69]. Enfin, à partir de 3 ng/mL de PSA [74], des tests de PSA plus fréquents sont conseillés, en plus de tests complémentaires, pour aider à évaluer la nécessité d'effectuer une biopsie [69]. Les tests complémentaires peuvent inclure une évaluation du rapport du PSA libre

sur le PSA total : en cas de rapport < 15%, on suspecte un adénocarcinome alors qu'en cas de rapport > 20% on suspecte une affection bénigne [3]. La densité de PSA, ratio de PSA sur le volume échographique de la prostate, possède aussi un intérêt diagnostique : une valeur  $\geq 0,2$  suggère un PCa [3].

#### **1.2.3.3. Toucher rectal**

Le toucher rectal est généralement réalisé après avoir mesurer la concentration de PSA car il peut provoquer une augmentation du taux de PSA [75]. La position de la prostate permet au médecin de pouvoir la palper indirectement en passant par le rectum (**Figure 1-1**). Le toucher rectal permet donc de détecter des cancers dans la zone qui est la plus proche du rectum, la zone périphérique, dans laquelle la majorité des PCa prennent naissance (**Figure 1-2**) [5,10]. Les cancers détectables par toucher rectal sont généralement des cancers de gros volume. Un toucher rectal suspect requiert donc d'effectuer une biopsie même s'il n'y a pas d'élévation du taux de PSA [3].

#### **1.2.3.4. Biopsie**

Une biopsie est une intervention chirurgicale qui consiste à prélever de petits échantillons de tissus qui seront ensuite examinés par un pathologiste pour fournir un diagnostic [3]. Au début des années 1990, les techniques de biopsie à l'aiguille transpérinéale (à travers le périnée, entre l'anus et le scrotum) ouverte ou guidée par les doigts étaient les plus fréquemment utilisées pour obtenir des échantillons de prostate [76]. La technique ouverte était cependant très invasive et associée à l'incontinence et à la dysfonction érectile; et la méthode guidée par les doigts trop imprécise [77]. Le développement de l'échographie transrectale pour visualiser la prostate et guider l'aiguille de biopsie (à travers le rectum) a été une grande avancée pour le diagnostic du PCa [78]. Le nombre de carottes ou cylindres biopsiques prélevés lors d'une biopsie transrectale guidée par échographie est passée de six à 12 afin d'améliorer l'échantillonnage des régions antérieures et latérales [79,80]. La prostate est virtuellement divisée en six sextants et deux séries consécutives de biopsies par sextant, guidées par échographie, sont effectuées [76].

Plus tard, la fusion de l'imagerie par résonance magnétique (IRM) multiparamétrique avec l'échographie en temps réel pour guider la biopsie a rendu l'échantillonnage plus efficace en augmentant la détection des cancers à haut risque et en diminuant la détection des cancers à



faible risque [81]. Depuis plusieurs années, la biopsie périnéale refait surface en dehors des États-Unis grâce à la capacité d'échantillonnage qui est supérieure et au risque d'infection qui est moins élevé qu'avec une biopsie transrectale [82].

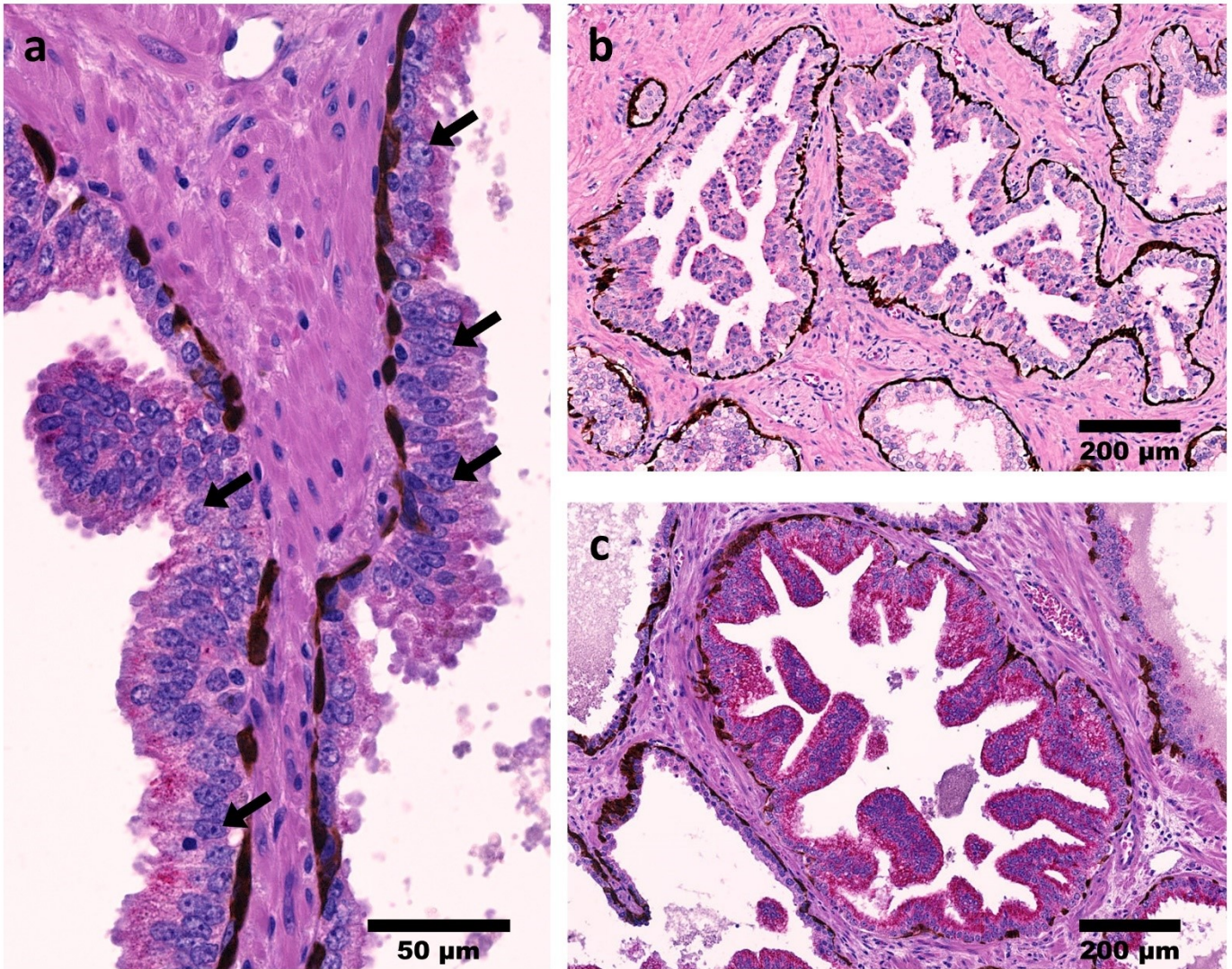
## 1.2.4. Histopathologie

### 1.2.4.1. Lésions précancéreuses

La néoplasie intra-épithéliale prostatique (*prostatic intraepithelial neoplasia*, PIN) est une prolifération intra-glandulaire dont la prévalence augmente avec l'âge et qui est retrouvée principalement dans la zone périphérique [3]. Il existe deux types de PIN, le PIN de bas grade (*low-grade PIN*, LGPIN) et le PIN de haut grade (*high-grade PIN*, HGPIN) [3].

Le LGPIN se manifeste histologiquement par un épithélium glandulaire légèrement hyperplasique avec souvent une organisation pseudostratifiée de la couche de cellules luminales [3]. Le LGPIN n'est plus diagnostiquée aujourd'hui [83].

Dans le cas du HGPIN, les atypies architecturales et cytologiques sont plus marquées : la taille des noyaux est augmentée, la chromatine est dense et les nucléoles, plus ou moins proéminents, sont visibles (**Figure 1–4**). Le HGPIN peut se présenter sous différents patrons : micro-papillaire, en touffes, cribriforme ou unistratifié. Dans le LGPIN et le HGPIN, la couche de cellules basales est maintenue [3]. Sur les biopsies, en présence de plusieurs foyers de HGPIN ou d'un foyer étendu de HGPIN, le risque de trouver du cancer sur une nouvelle série de biopsies est accru [3].



**Figure 1–4.** Exemples de néoplasies intra-épithéliales prostatiques de haut grade (HGPIN). Les cellules basales sont marquées en brun (anti-p63 et anti-HMWCK) et l' $\alpha$ -méthylacyl-CoA racémase (AMACR, enzyme souvent surexprimé dans les cancers de la prostate) en rouge par IHC. (a) Noyaux élargis avec des nucléoles proéminents (flèches). (b–c) Lésions de HGPIN exprimant faiblement (b) et fortement (c) l'AMACR. Contre coloration : H&E.

#### 1.2.4.2. Adénocarcinome infiltrant et grade histologique

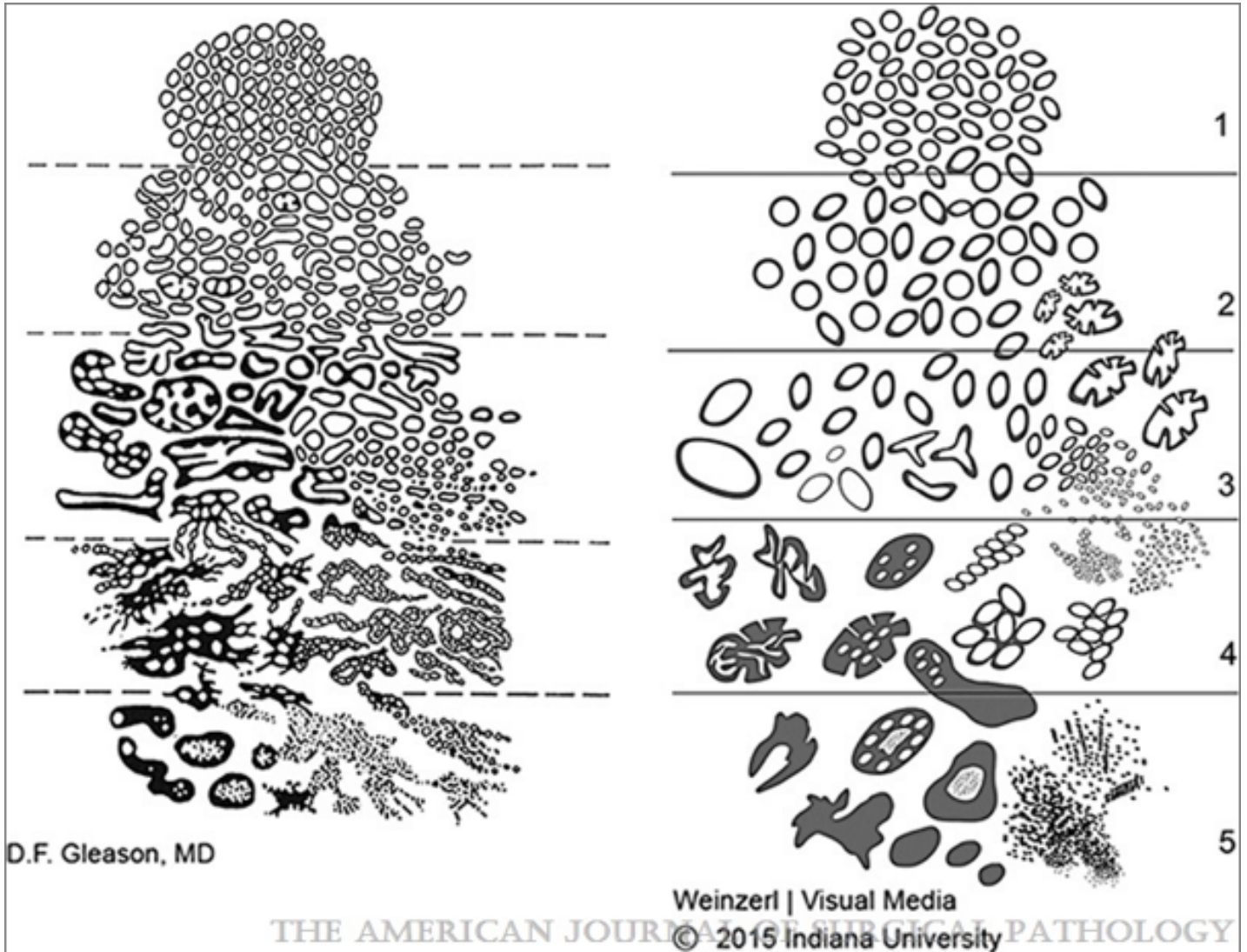
Plus de 95% des PCa ont une composante glandulaire, on parle alors d'adénocarcinome [84]. En général, lorsqu'on parle de PCa, on parle d'adénocarcinome prostatique. L'adénocarcinome prostatique acinaire ou classique est la forme histologique la plus fréquente [3]. Il se développe lorsque les cellules luminales des glandes prostatiques prolifèrent de façon anormale et

réussissent à traverser l'assise de cellules basales pour se retrouver dans le parenchyme prostatique où elles vont continuer à proliférer. Il y a donc une absence totale de cellules basales autour des cellules cancéreuses infiltrantes [3].

Le grade est un indicateur de l'agressivité du PCa, il décrit à quel point le tissu de la tumeur diffère du tissu normal [3]. La classification histologique de Gleason est le système le plus utilisé pour assigner un grade aux adénocarcinomes prostatiques [3]. Cette classification introduite par le pathologiste Donald F. Gleason en 1966 décrit le niveau de différenciation des cellules tumorales [85-88]. En effet, un chiffre compris entre 1 et 5 est assigné aux zones tumorales selon les différents patrons architecturaux formés par les cellules cancéreuses (**Figure 1–5**). Un score compris entre 2 et 10 est obtenu en additionnant deux grades histologiques [3]. Lorsque différents grades histologiques sont observés sur un même tissu, le score de Gleason correspond à la somme du grade histologique prédominant et du deuxième grade le plus présent ou du grade le plus agressif (par exemple, 3 + 4 pour un score de Gleason de 7); alors que si un seul grade est observé, le même chiffre est doublé (par exemple, 3 + 3 = 6) [3]. Plus le score est élevé et moins la tumeur est différenciée et donc plus elle est agressive [3]. Durant les deux dernières décennies, plusieurs mises à jour ont été apportées à la classification de Gleason [89-91].

En 2005, lors de la conférence de consensus de la Société internationale d'urologie (*International Society of Urological Pathology, ISUP*) des changements concernant l'interprétation des patrons et les informations à reporter dans le rapport de pathologie ont été apportés [89]. Les modifications incluent l'élimination du grade de Gleason 1 et presque entièrement du grade 2 (uniquement dans les cancers de la zone de transition); l'ajout de la majorité des patrons cribriformes dans le grade 4; l'insertion systématique de la comédonécrose dans le grade 5 (**Figure 1–5**); l'assignation d'un grade à l'adénocarcinome à cellules spumeuses selon l'architecture sous-jacente des cellules cancéreuses; et l'assignation des scores de Gleason 4 + 4 = 8 et 3 + 3 = 6 à l'adénocarcinome ductal et à l'adénocarcinome pseudo-hyperplasique, respectivement [89]. Concernant le rapport de pathologie, il est recommandé d'inclure dans le score de Gleason d'une biopsie tout patron secondaire ou tertiaire qui augmente le grade; de mentionner dans le rapport de prostatectomie radicale (*radical prostatectomy, RP*) la présence d'un patron tertiaire de grade plus élevé sans l'insérer dans le score de Gleason; et de ne pas

inclure un grade inférieur, qui représente moins de 5% de la tumeur, dans le score de Gleason [89].



**Figure 1–5.** Diagrammes schématiques du système de classification de Gleason original (à gauche) et du système de classification de Gleason actuel (à droite). Reproduite de Epstein et al. (2016) [90] avec la permission de *Wolters Kluwer Health, Inc.* [90].

En 2014, l'ISUP s'est de nouveau réunie pour discuter de la classification de Gleason [90]. Parmi les changements, on note l'inclusion des glandes tumorales de patron embranché dans le grade 3; l'ajout de tout cancer de patron cribriforme, excluant la comédonécrose qui correspond à un grade 5, et les glandes d'aspect gloméruloïde dans le grade 4; l'insertion des cellules cancéreuses

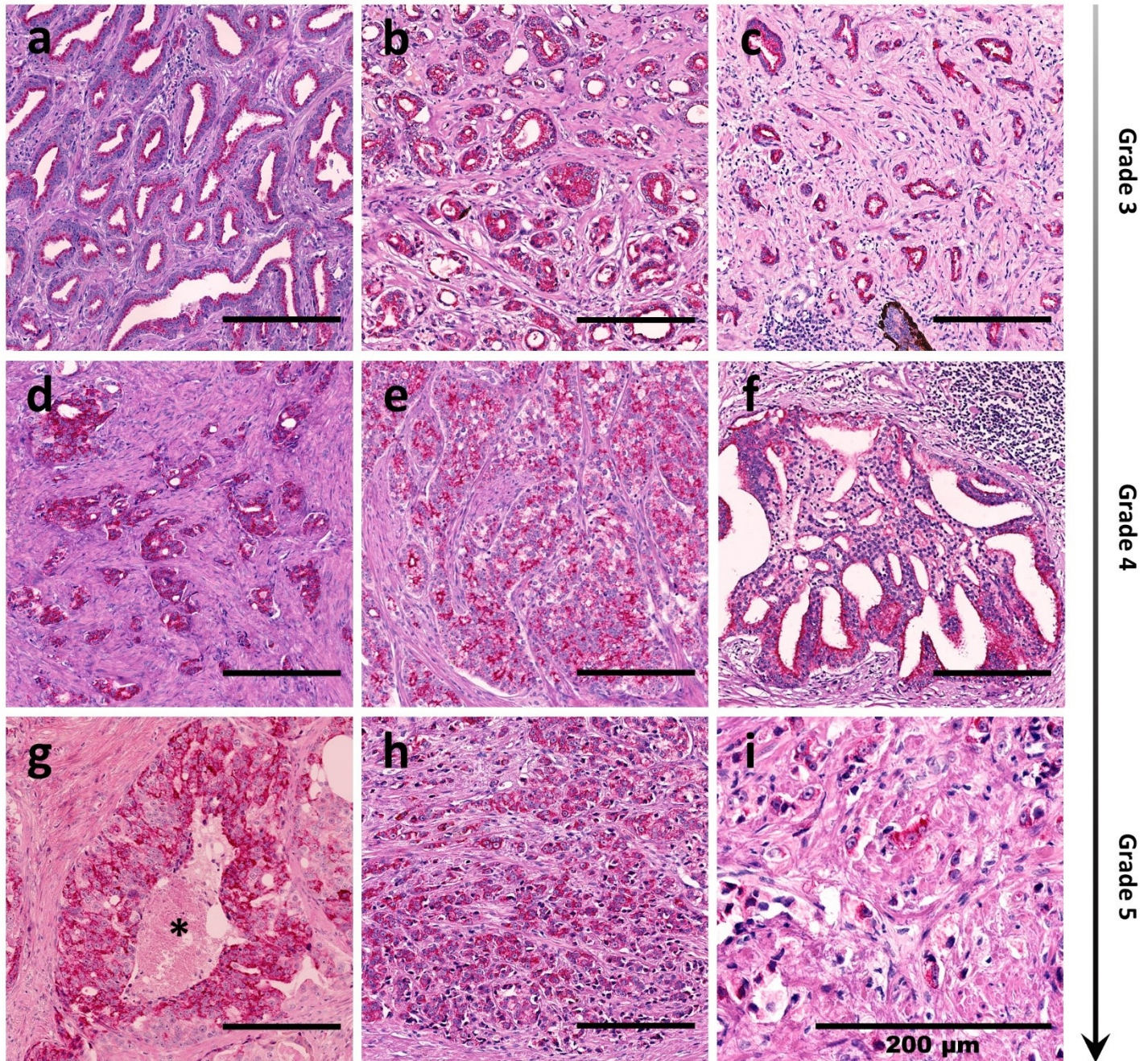
en cordons et des nappes ou plages de cellules cancéreuses avec très peu ou pas d'espaces entre les cellules dans le grade 5 (**Figure 1–5**) et l'assignation d'un grade à l'adénocarcinome de variant mucineux selon l'architecture sous-jacente des cellules cancéreuses [90]. De plus, pour mieux représenter le risque associé aux différents scores de Gleason [92], et notamment clarifier pour les patients qu'un score de Gleason de 6 sur une biopsie correspond au score le plus bas, il a été proposé de regrouper les scores de Gleason (**Tableau 1–3**) [90,91].

**Tableau 1–3.** Les groupes de grade.

Groupe de grade	Score de Gleason	Description
1	≤ 6	Grade bas
2	3 + 4 = 7	Grade intermédiaire bas
3	4 + 3 = 7	Grade intermédiaire élevé
4	8 (3 + 5 = 8, 5 + 3 = 8 et 4 + 4 = 8)	Grade élevé
5	9–10 (4 + 5 = 9, 5 + 4 = 9 et 5 + 5 = 10)	Grade très élevé

Étant donné que les grades 1 et 2 ne sont plus reportés en pratique [83,93], la **Figure 1–6** présente des exemples de patrons histologiques correspondant aux grades 3 à 5.

Malgré l'identification de nouveaux biomarqueurs pronostiques du PCa, le grade histologique demeure l'un des facteurs pronostiques et prédictifs les plus puissants [94].



**Figure 1–6.** Patrons histologiques du cancer de la prostate. (a–c) Grade 3 : glandes individuelles bien différenciées de taille et de nombre variables; (d–f) Grade 4 : glandes mal formées et fusionnées (d), glandes fusionnées avec des lumières encore visibles (le pôle apical des cellules cancéreuses en contact avec les lumières est mis en évidence ici par l’AMACR en rouge) (e) et glandes fusionnées d’architecture cribriforme dense (f); (g–i) Grade 5 : comédonécrose, la nécrose centrale est identifier par l’astérisque (g), cellules en cordons (h) et cellules isolées (i). IHC : anti-p63 et anti-HMWCK (brun) et anti-AMACR (rouge), contre coloration : H&E. Notez l’absence de cellules basales qui auraient été marquées en brun (anti-p63 et anti-HMWCK). Échelle : 200 µm.

### 1.2.4.3. Stade

Le stade est une indication de la taille et de la localisation d'une tumeur [95]. Le système de stadification le plus utilisé pour le PCa est la classification TNM (*Tumor-Nodes-Metastasis*); T pour l'étendue de la tumeur primaire, N pour le statut d'invasion des ganglions lymphatiques et M pour la présence ou l'absence de métastases à distance [95]. La classification TNM a été proposée par le chirurgien Pierre F. Denoix entre 1943 et 1952 [96], mais ne sera adoptée sur la scène internationale qu'à la fin des années 1980, lorsqu'un consensus entre l'Union Internationale Contre le Cancer (UICC) et l'*American Joint Committee on Cancer* (AJCC) est obtenu [97]. Depuis lors plusieurs révisions ont été effectuées [6,98,99]. Pour les tumeurs solides, un stade clinique (c) et un stade pathologique (p) peuvent être établis [99]. Le stade clinique est le premier établi, il est obtenu avant le traitement, à partir des résultats des premiers examens et tests effectués comme le toucher rectal, les examens d'imagerie et les biopsies [99]. Après la RP, lorsque l'ensemble de la prostate, les vésicules séminales, et souvent les ganglions lymphatiques pelviens, sont enlevés, le stade peut être réévalué, on parle alors de stade pathologique [99].

La classification TNM actuelle pour le PCa, récemment mise à jour par l'AJCC [6,99], est décrite dans le **Tableau 1–4**.

**Tableau 1–4.** Définitions des critères TNM de l'AJCC [99]. Adapté de Buyyounouski et al. (2017) [6] avec la permission de *John Wiley and Sons*.

<b>Clinique (cT)</b>	
<b>Tumeur primitive (T)</b>	
<b>TX</b>	Tumeur primitive non évaluable
<b>T0</b>	Tumeur primitive indétectable
<b>T1</b>	Tumeur cliniquement inapparente et non palpable
<b>T1a</b>	Tumeur occupant moins de 5% du tissu réséqué
<b>T1b</b>	Tumeur occupant plus de 5% du tissu réséqué
<b>T1c</b>	Tumeur découverte sur une biopsie mais non palpable Tumeur palpable et confinée dans la prostate
<b>T2</b>	
<b>T2a</b>	Tumeur découverte dans la moitié d'un lobe ou moins
<b>T2b</b>	Tumeur découverte dans plus de la moitié d'un lobe mais sans atteindre les deux lobes
<b>T2c</b>	Tumeur découverte dans les deux lobes

- T3** Tumeur extra-prostatique non fixée ou n'envahissant pas les structures adjacentes
  - T3a** Atteinte extra-capsulaire (uni- ou bilatérale)
  - T3b** Atteinte des vésicules séminales (uni- ou bilatérale)
- T4** Tumeur fixée ou atteignant des structures autres que les vésicules séminales telles que le sphincter externe, le rectum, la vessie, le muscle élévateur de l'anus et/ou la paroi pelvienne

### Pathologique (pT)

#### Tumeur primitive

- T2** Tumeur confinée dans la prostate
- T3** Extension extra-prostatique
  - T3a** Atteinte extra-capsulaire (uni- ou bilatérale) ou invasion microscopique du col de la vessie
  - T3b** Atteinte des vésicules séminales (uni- ou bilatérale)
- T4** Tumeur fixée ou atteignant des structures autres que les vésicules séminales telles que le sphincter externe, le rectum, la vessie, le muscle élévateur de l'anus et/ou la paroi pelvienne

#### Ganglions lymphatiques régionaux

- NX** Ganglions régionaux non évalués
- N0** Absence de métastase ganglionnaire régionale
- N1** Métastases dans un ou plusieurs ganglions lymphatiques régionaux

#### Métastases à distance

- M0** Absence de métastase à distance
- M1** Métastase(s) à distance
  - M1a** Ganglion(s) non régional(aux)
  - M1b** Os
  - M1c** Autre(s) site(s) avec ou sans atteinte osseuse

## 1.2.5. Pronostic

### 1.2.5.1. Évènements d'intérêt avant le décès : récurrence biochimique, récurrence clinique et résistance à la castration

Après un traitement initial comme la chirurgie ou la radiothérapie (voir la section [1.2.6. Traitement](#)), il est possible que le cancer réapparaisse. La récurrence est communément détectée par une augmentation du niveau de PSA dans le sang, on parle alors de récurrence biochimique (*biochemical recurrence*, BCR) [100]. Dix-sept à 53% des hommes vont développer une BCR après un traitement curatif primaire (RP ou radiothérapie) [100,101]. Après une RP, le taux sérique de



PSA devrait être à zéro. Généralement, lorsque le taux de PSA dépasse 0,2 ng/mL, on considère qu'il y a une BCR [102]. Après une radiothérapie, le taux sérique de PSA atteint rarement la valeur zéro, elle va plutôt se stabiliser autour d'un nombre faible, appelé le nadir [103]. Dans ce cas, une augmentation du taux sérique de PSA équivalant à deux fois la valeur du nadir est considérée comme une BCR [103]. Une BCR est détectée chez 10 à 40% des patients dans les 10 ans après la RP [104,105] et 30 à 50% des patients dans les 10 ans post-radiothérapie [106].

La BCR est souvent détectée bien avant la récurrence clinique (métastases) [76]. La tomographie par émission de positrons (PET) et la scintigraphie osseuse sont utilisées en routine pour détecter les récurrences mais ces techniques d'imagerie ont une faible sensibilité et spécificité lorsque le niveau de PSA est faible [107]. L'identification du site de rechute peut donc être difficile et est souvent visible par imagerie qu'après un certain temps. Une matière radioactive, généralement un sucre (glucose) lié à un radio-isotope, peut être utilisée pour générer des images 3D en couleur permettant de voir où s'accumule la matière radioactive [108]. Cette approche, appelée tomographie par émission de positrons (*positron emission tomography*, PET), se base sur le principe que le sucre radioactif va s'accumuler dans les cellules qui consomment beaucoup d'énergie et donc particulièrement dans les cellules cancéreuses [108]. Ces dernières années, de nouvelles méthodes d'imagerie ont été développées et permettent d'obtenir une meilleure sensibilité et spécificité, notamment l'examen PSMA-PET. Dans ce cas, le ligand faiblement radioactif se lie à l'antigène membranaire spécifique de la prostate (*prostate-specific membrane antigen*, PSMA), généralement surexprimé dans les cellules cancéreuses de la prostate [109,110]. Cependant, leur accessibilité est un obstacle majeur à leur utilisation répandue [76].

On parle de CRPC lorsque le cancer continue à se développer (augmentation du taux sérique de PSA) malgré un taux de testostérone très bas [111,112]. Les examens d'imagerie peuvent aussi confirmer la résistance à la castration [113]. Le CRPC peut être métastatique ou non, c'est-à-dire qu'il peut s'être propagé à l'extérieur de la prostate ou non [113]. La majorité des mécanismes entraînant la résistance à la castration sont médiés par les récepteurs aux androgènes. Ces mécanismes comprennent l'amplification et l'hypersensibilité des récepteurs aux androgènes, des mutations des récepteurs aux androgènes qui permettent leur activation par des molécules autres que l'androgène, des mutations des molécules de co-stimulation activatrices ou

inhibitrices ou encore une activation des récepteurs aux androgènes indépendante de l'androgène [114]. La tumeur peut aussi synthétiser elle-même les androgènes dont elle a besoin pour proliférer [115-117].

#### **1.2.5.2. Survie selon l'étendue du cancer**

Le pronostic global du PCa est parmi les meilleurs de tous les cancers [15]. Malgré la forte incidence du PCa, le taux de survie sur cinq ans est généralement supérieur à 90% [15]. En effet, le PCa se développe lentement (taux de doublement de trois à quatre ans) et la majorité des PCa sont détectés lorsque le cancer est encore confiné dans la prostate [118,119]. Au Canada, entre 2015 et 2017, la survie spécifique au PCa sur cinq ans était de 91% [120]. Cependant, il est important de noter que le taux de survie diffère fortement selon l'étendue du PCa lors du diagnostic. En effet, alors que la survie spécifique au PCa sur cinq ans se rapproche de 100% pour les PCa localisés et régionaux, qui représentent plus de 80% des PCa, il n'est que de 30% pour les PCa métastatiques [121].

#### **1.2.5.3. Stratification du risque**

Il existe plusieurs systèmes de stratification du risque pour les PCa [76]. En 1994, Epstein et al. proposent des critères pour prédire l'étendue de la tumeur chez les patients avec des PCa non palpables, à partir des paramètres clinicopathologiques préopératoires [122]. Quatre ans plus tard, D'Amico et al. décrivent une classification qui permet de séparer les patients en trois catégories (risque faible, intermédiaire ou élevé) selon la probabilité de développer une BCR après une RP, une radiothérapie externe ou une radiothérapie interne (avec ou sans hormonothérapie) [123]. Cette classification se base sur le stade, le score de Gleason et le taux sérique de PSA [123]. Le système de stratification actuellement utilisé pour déterminer le risque de BCR après un traitement curatif s'appuie sur la classification de d'Amico et les critères d'Epstein (**Tableau 1-5**) [76].

**Tableau 1–5.** Lignes directrices du *National Comprehensive Cancer Network*<sup>®</sup> (NCCN<sup>®</sup>) pour la stratification initiale du risque pour les cancers de la prostate cliniquement localisés. Adapté du *NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines<sup>®</sup>) for Prostate Cancer V.1.2023*. © National Comprehensive Cancer Network, Inc. 2023 [124]. Tous droits réservés.

Groupe de risque	Caractéristiques cliniques/pathologiques		
<b>Très faible</b>	Présente <b>toutes</b> les caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>• cT1c</li> <li>• Groupe de grade 1</li> <li>• PSA &lt; 10 ng/mL</li> <li>• &lt; 3 fragments biopsiques positifs, ≤ 50% de cancer dans chaque fragment</li> </ul>		
<b>Faible</b>	Présente <b>toutes</b> les caractéristiques suivantes, mais n'est pas admissible au groupe de risque très faible : <ul style="list-style-type: none"> <li>• cT1–cT2a</li> <li>• Groupe de grade 1</li> <li>• PSA &lt; 10 ng/mL</li> </ul>		
<b>Intermédiaire</b>	Présente <b>toutes</b> les caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>• Pas de caractéristiques du groupe de risque élevé</li> <li>• Pas de caractéristiques du groupe de risque très élevé</li> <li>• Possède ≥ 1 facteur(s) de risque intermédiaire :  <ul style="list-style-type: none"> <li>- cT2b–cT2c</li> <li>- Groupe de grade 2 ou 3</li> <li>- PSA 10–20 ng/mL</li> </ul> </li> </ul>	<b>Intermédiaire favorable</b>	Présente <b>toutes</b> les caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>• 1 facteur de risque intermédiaire</li> <li>• Groupe de grade 1 ou 2</li> <li>• &lt; 50% fragments biopsiques positifs (&lt; 6 sur 12 fragments)</li> </ul>
		<b>Intermédiaire défavorable</b>	Présente au moins une des caractéristiques suivantes : <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 ou 3 facteurs de risque intermédiaire</li> <li>• Groupe de grade 3</li> <li>• ≥ 50% fragments biopsiques positifs (≥ 6 sur 12 fragments)</li> </ul>
<b>Élevé</b>	Ne présente pas de caractéristiques du groupe de risque très élevé et présente <b>seulement une</b> caractéristique du groupe de risque élevé : <ul style="list-style-type: none"> <li>• cT3a</li> <li>• Groupe de grade 4 ou 5</li> <li>• PSA &gt; 20 ng/mL</li> </ul>		
<b>Très élevé</b>	Présente <b>au moins une</b> de ces caractéristiques : <ul style="list-style-type: none"> <li>• cT3b–cT4</li> <li>• Patron de Gleason primaire 5</li> <li>• 2 ou 3 caractéristiques du groupe de risque élevé</li> <li>• &gt; 4 fragments biopsiques avec des groupes de grade 4 ou 5</li> </ul>		

Les *NCCN Guidelines*<sup>®</sup> et le tableau ci-inclus ne peuvent être reproduits sous quelque forme que ce soit et à quelque fin que ce soit sans l'autorisation écrite du NCCN. Les *NCCN Guidelines* sont un travail en cours qui peut être affiné aussi souvent que de nouvelles données importantes deviennent disponibles. Pour consulter la version la plus récente et complète de la directive, allez sur [NCCN.org](http://NCCN.org). NCCN ne donne aucune garantie, de quelque nature que ce soit, concernant leur contenu, leur utilisation ou leur application et décline toute responsabilité quant à leur application ou utilisation de quelque manière que ce soit.

#### 1.2.5.4. Outils pronostiques

À la fin des années 1990, Alan W. Partin et Michael W. Kattan élaborent des outils pronostiques qui permettent de prédire le stade pathologique des PCa localisés [125] et la BCR après la RP [126,127]. Les tables de Partin s'appuient sur des paramètres préopératoires (taux sérique de PSA, stade clinique et score de Gleason), tandis que les nomogrammes de Kattan se basent à la fois sur des paramètres préopératoires (taux sérique de PSA, stade clinique et score de Gleason) et postopératoires (taux sérique de PSA, score de Gleason, extension extra-prostatique, statut des marges et atteintes des vésicules séminales et des ganglions lymphatiques) [125-127]. Ces outils

pronostiques sont des modèles robustes (indices de concordance supérieurs à 0,72) [125,128] et sont encore largement employés aujourd’hui [76]. Le score CAPRA (*Cancer of the Prostate Risk Assessment*), développé en 2005, est un autre instrument pronostique populaire pour prédire la BCR après la RP [129]. Ce score, compris entre 0 et 10, est déterminé en évaluant des facteurs préopératoires (taux sérique de PSA, stade clinique, score de Gleason à la biopsie, % de carottes de biopsie positives) et l’âge du patient [129]. Des dérivés du score CAPRA peuvent aussi être employés en combinant différents facteurs cliniques et pathologiques. Par exemple, le score CAPRA-S (score post-chirurgical) est obtenu en analysant le taux sérique de PSA préopératoire et plusieurs facteurs postopératoires (score de Gleason, extension extra-prostatique, statut des marges et atteintes des vésicules séminales et des ganglions lymphatiques) [130]. Des études de validation externe pour le score CAPRA ont reporté un indice de concordance pour la BCR allant de 0,61 à 0,88 [131].

De plus, plusieurs tests génomiques sont maintenant disponibles pour orienter la prise en charge des hommes atteints de PCa [132], que ce soit pour les traitements de première ligne ou subséquents (**Tableau 1–6**) [133-150].

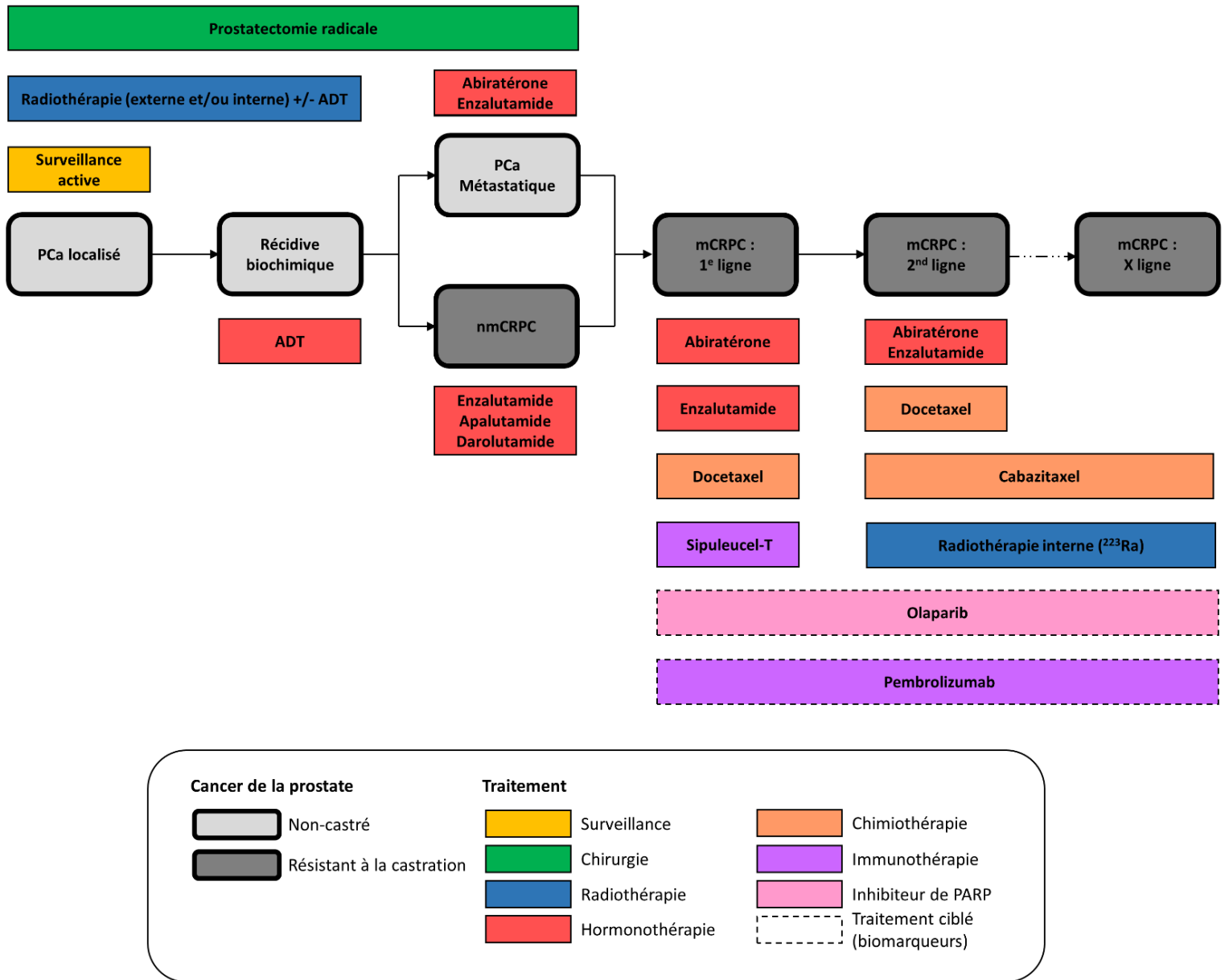
**Tableau 1–6.** Principaux tests génomiques disponibles pour prédire l’évolution du cancer de la prostate.

Test	Tissu	Mesure	Score	Prédiction
<b>Decipher</b>	RP et biopsies	ARNm : 22 gènes liés au cancer	Score Decipher : 0 à 1	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agressivité du PCa [148]</li> <li>• Métastases et décès liés au PCa [150]</li> </ul>
<b>Oncotype DX</b>	RP et biopsies	ARNm : 12 gènes liés au cancer (impliqués dans la voie des androgènes, l’organisation cellulaire, la prolifération et la réponse stromale) et 5 gènes de référence	Score génomique de la prostate (GPS) : 0 à 100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agressivité du PCa [136]</li> <li>• BCR et métastases [134,135]</li> <li>• Décès liés au PCa [135]</li> </ul>
<b>Prolaris</b>	RP et biopsies	ARNm : 31 gènes liés au cycle cellulaire et 15 gènes de référence	Score de progression du cycle cellulaire : 0 à 10	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agressivité du PCa [142]</li> <li>• Décès liés au PCa [143,146]</li> </ul>
<b>ProMark</b>	Biopsies	Protéines : 8 protéines liées au cancer	Score ProMark : 1 à 100	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Agressivité du PCa chez les patients avec des scores de Gleason 3 + 3 et 3 + 4 [151]</li> </ul>

ARNm : acide ribonucléique messenger; PCa : cancer de la prostate; RP : prostatectomie radicale.

## 1.2.6. Traitement

L'approche thérapeutique choisie pour lutter contre le PCa dépend de plusieurs facteurs dont le stade de la maladie, l'état de santé et l'âge du patient, ainsi que les préférences du patient [76].



**Figure 1–7.** Thérapies approuvées par l'agence américaine des produits alimentaires et des médicaments (*Food and Drug Administration, FDA*) pour le traitement du cancer de la prostate. Inspirée de Teo et al. (2019) [152] et Saad et al. (2021) [153]. Modèle des étapes cliniques du cancer de la prostate proposé par le *Prostate Cancer Working Group 3* [113]. <sup>223</sup>Ra : radium-223; ADT : thérapie de déprivation des androgènes; mCRPC : cancer de la prostate résistant à la castration métastatique; nmCRPC : cancer de la prostate résistant à la castration non métastatique; PCa : cancer de la prostate.

### 1.2.6.1. Stade précoce

#### 1.2.6.1.1. Surveillance active

Décrite pour la première fois en 2002 [154], la surveillance active est une option offerte aux hommes avec des PCa à faible risque [155] (**Figure 1–7**). Le but de la surveillance active est de préserver la qualité de vie des patients en retardant ou en évitant les effets indésirables causés par un traitement immédiat, tout en surveillant de près la progression de la maladie [76]. Les hommes qui choisissent cette option subissent des examens fréquemment (tous les trois à six mois) pour permettre une intervention rapide en cas de progression de la maladie [156]. Ces examens incluent des tests du niveau sérique de PSA, le toucher rectal, et plusieurs biopsies de la prostate; et lorsqu'une progression est suspectée, des examens d'imagerie sont effectués pour confirmer la progression (scintigraphie osseuse, tomodensitométrie, IRM) [156].

#### 1.2.6.1.2. Chirurgie

La chirurgie était habituellement proposée aux hommes avec un cancer qui ne s'est pas propagé hors de la prostate (**Figure 1–7**) [157]. Cependant, la RP est de plus en plus pratiquée chez les hommes avec des PCa métastatiques en combinaison avec d'autres traitements, notamment pour diminuer la charge tumorale, éviter des complications dues à la croissance de la tumeur primaire et améliorer la réponse aux traitements secondaires [158].

La RP consiste à enlever la prostate ainsi que les vésicules séminales et la partie de l'urètre qui traverse la prostate [157]. Le chirurgien peut également effectuer un curage ganglionnaire pelvien, c'est-à-dire retirer les ganglions lymphatiques du bassin, durant la RP [157]. La RP peut être pratiquée à la suite d'une BCR (par exemple, après une radiothérapie), dans ce cas on parle de chirurgie de rattrapage [157]. Il existe trois principales approches pour enlever la prostate : la technique ouverte, la technique laparoscopique et la technique robotique. Au début des années 1900, la RP périnéale était utilisée pour traiter le PCa [159]. Elle consistait à effectuer une incision dans le périnée, entre le scrotum et l'anus [157]. Ce n'est que quarante ans plus tard que le chirurgien Terence Millin décrit l'approche rétropubienne pour la RP [160,161]. Cette approche qui nécessite une grande incision allant du nombril à l'os pubien réduit le risque de dysfonction érectile et permet de retirer les ganglions lymphatiques pelviens par la même incision [157].

L'approche laparoscopique, utilisée à partir des années 1990, est une méthode moins invasive [162]. Elle consiste à réaliser quatre à six très petites incisions dans le bas-ventre du patient afin d'y insérer un laparoscope et des instruments chirurgicaux [157]. Le laparoscope, un tube long et mince avec une lumière et une caméra à l'avant, permet de voir la prostate et d'exécuter l'opération sans nécessiter une grande incision [157]. Le raffinement de cette technique a permis de la rendre plus sécuritaire et aussi efficace que la chirurgie ouverte [162]. La RP laparoscopique assistée par robot apporte une nouvelle variante à l'approche précédente. Rapportée pour la première fois en 2000 [163], cette technologie permet aux chirurgiens de contrôler les mouvements des bras chirurgicaux à l'aide d'une console [157]. En plus de posséder des embouts articulés qui reproduisent les mouvements du poignet humain, les bras robotiques sont équipés de petites caméras vidéo qui permettent aux chirurgiens d'avoir une vue en 3D de la prostate [157]. Cette approche est de plus en plus utilisée mais son coût la rend inaccessible dans de nombreux hôpitaux [76,164]. La RP rétropubienne reste l'approche la plus utilisée au Canada [157]. Par ailleurs, une meilleure compréhension des mécanismes de continence et des voies nerveuses a permis de développer des techniques permettant de réduire les risques d'incontinence et de dysfonction érectile [165,166]. En effet, lorsque possible, les chirurgiens peuvent effectuer une RP avec préservation des nerfs érecteurs, peu importe l'approche employée [166].

Malgré ces avancées, entre 10 et 40% des hommes traités par RP développent une BCR dans les 10 ans post-chirurgie [104,105].

#### *1.2.6.1.3. Radiothérapie externe et interne (brachythérapie)*

La radiothérapie est principalement utilisée chez les hommes avec des PCa de risques intermédiaire ou élevé (**Figure 1–7**) [76].

La radiothérapie externe est un traitement locorégional impliquant l'exposition à des faisceaux de haute énergie (par exemple, des rayons X) pour tuer les cellules cancéreuses [167]. L'irradiation des cellules va générer des radicaux libres qui vont se lier aux molécules d'ADN et provoquer leur rupture [167]. La survie des cellules irradiées dépendra de la position des cellules dans le cycle cellulaire et de leur capacité à réparer les lésions [168]. Étant donné que les cellules cancéreuses prolifèrent plus rapidement et ne sont généralement pas aussi efficaces que les cellules normales

pour réparer les dommages à l'ADN, elles seront plus vulnérables à la radiation [168]. Initialement, la radiothérapie était employée seule pour le traitement du PCa, mais maintenant elle est souvent utilisée en combinaison avec l'hormonothérapie [76,169]. L'hormonothérapie rend les cellules plus sensibles à la radiation (stimule l'apoptose et empêche le développement de micrométastases), ce qui entraîne un effet synergique lorsqu'elle est combinée à la radiothérapie [76,170]. Avec l'amélioration des techniques d'imagerie, la radiothérapie peut maintenant être combinée aux différentes méthodes d'imagerie employées pour détecter les cellules cancéreuses (tomodensitométrie, PET) afin de mieux cibler les cellules cancéreuses et d'affecter le moins de cellules saines possible [171].

La brachythérapie (ou curiethérapie) est un type de radiothérapie interne [172]. Des sources de rayonnements (implants contenant un radio-isotope) sont directement placées à l'intérieur ou très proche de la tumeur lors d'une chirurgie [173]. Cette technique permet donc d'éviter de détruire les tissus sains qui entourent la prostate et d'augmenter les doses de radiations par rapport à la radiothérapie externe [76]. Lorsqu'elle est utilisée en combinaison avec la radiothérapie externe et l'hormonothérapie, la brachythérapie est associée à une meilleure survie sans BCR [174,175].

Cependant, 30 à 50% des hommes traités par radiothérapie externe ou brachythérapie développent une BCR dans les 10 ans post-radiothérapie [106].

### **1.2.6.2. Stade avancé**

#### *1.2.6.2.1. Hormonothérapie*

Les travaux du docteur Charles Brenton Huggins sur l'hormonothérapie lui ont valu le prix Nobel de physiologie ou médecine en 1966. En découvrant que les cellules cancéreuses de la prostate ont besoin d'androgènes pour croître et survivre [13], il a ouvert la voie à l'utilisation des ADT pour traiter les PCa de stade avancé. L'hormonothérapie a pour but de diminuer le taux d'androgène (principalement la testostérone) qui circule dans l'organisme des hommes atteints de PCa et ainsi freiner la croissance des cellules cancéreuses [176]. Il s'agit donc d'un traitement systémique puisque l'ensemble du corps est affecté, ce qui peut entraîner de nombreux effets secondaires (trouble de l'érection, prise de poids et perte de masse musculaire, augmentation de la poitrine,

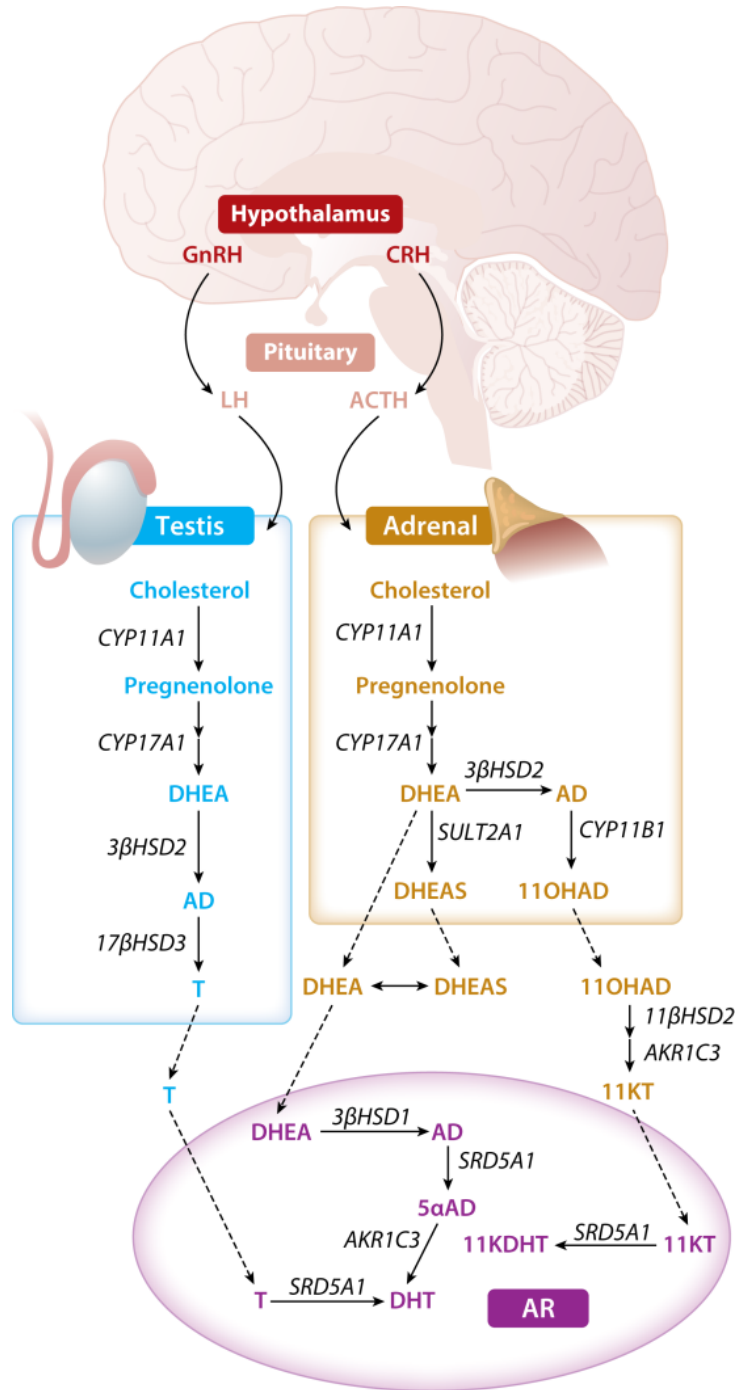


fatigue, anémie, irritabilité, maladie cardiovasculaire, syndrome métabolique, perte de la densité osseuse, ...) [177]. La castration chirurgicale, c'est-à-dire l'ablation des testicules (aussi appelée orchidectomie), est de moins en moins pratiquée et a laissé la place à la castration pharmacologique qui offre notamment l'avantage de pouvoir inhiber de façon intermittente les androgènes produits par les testicules mais aussi ceux produits par les glandes surrénales et les cellules cancéreuses [153,178].

Il existe trois principaux types d'hormonothérapie. Les analogues (ou antagoniste) de l'hormone de libération de la lutéinostimuline (*luteinizing hormone releasing hormone*, LH-RH) sont les premiers à avoir été découverts [179]. Ces drogues bloquent la production de gonadotrophines (hormone folliculo-stimulante [*follicle stimulating hormone*, FSH] et hormone lutéinisante [*luteinizing hormone*, LH]) par l'hypophyse, dont la LH qui est essentiel à la production de testostérone par les testicules (**Figure 1-8**) [176]. Les analogues de la LH-RH agissent en suractivant les récepteurs hypophysaires [176]. Cette hyperstimulation va finir par désensibiliser les récepteurs hypophysaires et, éventuellement, inhiber la production de testostérone [176]. En revanche, les antagonistes de la LH-RH vont directement bloquer les récepteurs hypophysaires en se fixant à ces derniers, ce qui va entraîner une chute rapide de la concentration de LH et, par conséquence, de testostérone [176]. Les analogues de la LH-RH les plus souvent utilisés pour traiter le PCa sont le leuprolide (Lupron<sup>®</sup>, Lupron Depot<sup>®</sup>, Eligard<sup>®</sup>), la goséréline (Zoladex<sup>®</sup>) et la triptoréline (Trelstar<sup>®</sup>); et le seul antagoniste de la LH-RH employé est le dégarélix (Firmagon<sup>®</sup>) [176]. Il est important de noter que la production d'androgènes par les glandes surrénales persiste en l'absence de LH (**Figure 1-8**) [179]. Malgré la baisse substantielle du taux de testostérone sérique, les analogues ou antagonistes de la LH-RH ne permettent donc pas de complètement éliminer l'androgène et il a été montré que les cellules cancéreuses peuvent également synthétiser des androgènes [115-117].

Par conséquent, une nouvelle génération d'hormonothérapie, pouvant être utilisée en combinaison avec les ADT (castration chirurgicale, analogue ou antagoniste de la LH-RH), a été développée pour bloquer cette synthèse « indésirable » d'androgènes [180].

L'acétate abiratérone (Zytiga®) est un inhibiteur sélectif de la synthèse des androgènes [180]. Il bloque l'enzyme essentielle à la synthèse d'androgène (Cytochrome P450 17 $\alpha$ -hydroxylase/C17,20-lyase [CYP17]) (Figure 1–8) [180]. Ce traitement agit ainsi à la fois sur la composante extra- et intra-tumorale de la synthèse des androgènes [180]. Cette molécule a d'abord été approuvée par l'agence américaine des produits alimentaires et des médicaments (*Food and Drug Administration, FDA*) des États-Unis en 2011 pour traiter les patients atteints d'un mCRPC ne répondant pas à la chimiothérapie, à la suite de son association à une meilleure survie globale post-chimiothérapie [181,182]. Son approbation a ensuite été étendue pour les patients atteints d'un mCRPC n'ayant pas reçu de chimiothérapie [183-185], puis pour les patients atteints d'un PCa métastatique sensible à la castration [186-188].



A R Auchus RJ, Sharifi N. 2020. Annu. Rev. Med. 71:33–45

**Figure 1–8.** Synthèse d'androgène et sa régulation par les testicules et les glandes surrénales chez l'homme. Reproduite de Auchus et al. (2022) [189] avec la permission d'Annual Reviews, Inc. AR : récepteurs aux androgènes.

La dernière classe d'hormonothérapie sont les anti-androgènes. Les anti-androgènes inhibent la signalisation androgénique en séquestrant les récepteurs aux androgènes [180]. Les anti-androgènes les plus utilisés sont l'enzalutamide (Xtandi®), l'apalutamide (Erleada®) et le darolutamide (Nubeqa®) (**Figure 1-7**) [153]. Parmi ces trois anti-androgènes, dit de seconde génération, l'enzalutamide est le premier à avoir été approuvé par la FDA en 2012 pour le traitement du mCRPC [190]; après la démonstration du bénéfice dans la survie globale et la survie sans progression radiographique post-chimiothérapie [191]. Comparativement aux anti-androgènes de première génération, les anti-androgènes de seconde génération ont l'avantage de ne pas avoir de comportement agoniste vis-à-vis des récepteurs aux androgènes lorsqu'ils sont utilisés dans un environnement saturé en récepteurs aux androgènes, de ne pas provoquer de syndrome de sevrage lors de l'interruption du traitement et d'être moins toxiques [180]. L'enzalutamide [192] et l'apalutamide [193], en 2018, puis le darolutamide [194], en 2019, ont ensuite été approuvés par la FDA pour le traitement du CRPC non métastatique [195-197]. Depuis 2019, l'enzalutamide [198] et l'apalutamide [199] sont aussi offerts pour le traitement du PCa métastatique sensible à la castration [200,201].

Par ailleurs, comme les inhibiteurs de la synthèse des androgènes et les anti-androgènes peuvent bloquer la production de cortisol, « hormone du stress », le traitement inclus souvent la prise de corticostéroïdes comme la prednisone [153]. Les corticostéroïdes sont aussi utilisés pour leur effet anti-inflammatoire et antitumoral [202].

L'hormonothérapie est une option thérapeutique primordiale pour les hommes atteints de PCa avancé (**Figure 1-7**) [153]. Cependant, elle peut aussi être utilisée à un stade plus précoce, par exemple, pour réduire la taille de la tumeur avant la chirurgie (hormonothérapie néoadjuvante) ou pour rendre les cellules cancéreuses plus sensibles aux radiations (**Figure 1-7**) [176]. L'hormonothérapie peut également être proposée comme traitement palliatif pour les cancers de stade avancé afin de réduire les symptômes dus au PCa [176]. Il n'y a pas de consensus sur le moment optimal pour commencer l'hormonothérapie chez les hommes asymptomatiques atteints d'un PCa localement avancé ou métastatique [153].

Malgré les immenses progrès apportés par les anti-androgènes de seconde génération, 20 à 40% des patients ne répondent toujours pas au traitement [181,183,191,203] et tous les patients qui répondent finissent par développer une résistance [204-206].

#### 1.2.6.2.2. Chimiothérapie

Le taxane est l'agent chimiothérapeutique de routine prescrit aux hommes atteints de PCa métastatiques afin de contrôler, ralentir la maladie ou en atténuer les symptômes (**Figure 1–7**) [153]. Les taxanes sont des inhibiteurs de la fonction des microtubules [207,208]. Ils empêchent les cellules de se diviser normalement, ce qui ralentit la prolifération et détruit les cellules qui se divisent rapidement comme les cellules cancéreuses [207,208]. Comme il s'agit d'un traitement systémique, les cellules saines qui se divisent rapidement sont également touchées telles que les cellules qui constituent les poils et les cheveux [209]. Les autres effets secondaires incluent les nausées, vomissements, diarrhées, l'anémie et la fatigue [209]. Actuellement, l'agent chimiothérapeutique de première ligne typiquement utilisée est le docétaxel (Taxotere<sup>®</sup>) (**Figure 1–7**) [153]. Le docétaxel a été approuvé par la FDA en 2004 pour le traitement du mCRPC à la suite d'une étude clinique démontrant une amélioration de la survie globale comparativement à la chimiothérapie qui était déjà disponible (mitoxantrone : agent chimiothérapeutique qui inhibe la synthèse et la réparation de l'ADN) [210]. Le cabazitaxel (Jevtana<sup>®</sup>) est un autre agent chimiothérapeutique de la famille des taxanes [152]. Son activité anti-tumorale a été démontrée dans les mCRPC résistants au docétaxel [211]. Depuis son approbation par la FDA en 2010, le cabazitaxel est donc recommandé comme traitement chimiothérapeutique de seconde ligne (**Figure 1–7**) [153,211,212]. Comme pour l'hormonothérapie, les agents chimiothérapeutiques sont utilisés en combinaison avec un corticostéroïde (prednisone) pour bénéficier de leurs propriétés anti-inflammatoire et antitumorale [153,210,211].

#### 1.2.6.2.3. Radiothérapie interne : radium-223

Des métastases osseuses sont observées chez 85-90% des hommes atteints CRPC [210,213,214]. Des radioisotopes peuvent être utilisés comme traitement palliatif chez les patients ayant développé des métastases [153]. Le radium-223 (noté <sup>223</sup>Ra, Xofigo<sup>®</sup>), approuvé par la FDA en 2013 [215], peut être proposé aux hommes atteints de CRPC de stade avancé s'étant propagé aux os

(métastases osseuses) mais sans métastases viscérales (**Figure 1–7**) [153,216,217]. Le radium-223 est une forme moins radioactive du radium [218]. Le radium est un élément similaire au calcium qui, comme le calcium, va être absorbé par les cellules osseuses [218]. Étant donné que les cellules cancéreuses vont être plus actives, elles vont avoir tendance à absorber plus de radium-223 et seront donc exposées à de plus fortes doses de radiation [218]. Ce traitement ne peut pas être utilisé en combinaison avec des traitements réduisant la densité osseuse tel que l’abiratérone acétate, à cause de l’augmentation du risque de fractures [219]. Il doit d’ailleurs toujours être combiné à un traitement visant à accroître la masse osseuse (desonumab [Xgeva®] ou acide zolédronique) [153].

#### 1.2.6.2.4. *Inhibiteurs de PARP*

Autour de 20 à 30% des PCa métastatiques présentent des mutations dans les gènes codant pour les composants de la réparation des cassures double-brin de l’ADN par recombinaison homologue, tels que *BRCA2*, *BRCA1* et *ATM* [30,153,220-223]. Ce type de mutations compromet l’intégrité génomique des cellules en réduisant leur capacité à réparer les dommages à l’ADN, ce qui en fait des cibles thérapeutiques [224]. C’est ainsi qu’il a été découvert que les patients porteurs de mutations dans les gènes impliqués dans la réparation par recombinaison homologue sont plus sensibles aux inhibiteurs de poly(ADP-ribose) polymérase (iPARP) [225-230]. Lorsque fonctionnelles, les PARP participent à la réparation des dommages à l’ADN simple brin. La perte d’une ou plusieurs voies de réparation de l’ADN (par exemple, mutation *BRCA1/2*), va rendre les cellules cancéreuses plus vulnérables à l’inhibition des PARP selon le processus de létalité synthétique [224]. L’amélioration de la survie sans progression et de la réponse au traitement lorsque les iPARP ont été comparés à une hormonothérapie de seconde génération (enzalutamide ou abiratérone) [231], a poussé la FDA à approuver l’olaparib (Lynparza®) [232] et le rucaparib (Rubraca®) [233], des iPARP, en 2020, pour le traitement des mCRPC avec des mutations des gènes impliqués dans les mécanismes de réparation par recombinaison homologue et ne répondant plus à l’hormonothérapie. Au Canada, seul l’olaparib est approuvé par Santé Canada pour les hommes atteints de PCa porteurs de mutations dans les gènes *BRCA1/2* et *ATM* (**Figure 1–7**) [234]; alors qu’aux États-Unis, l’approbation est étendue pour 11 gènes impliqués dans les mécanismes de réparation de l’ADN par recombinaison homologue [153,232].

Les progrès dans le traitement du CRPC ont amélioré la qualité de vie et la survie des patients, mais la majorité, voir tous, les patients finissent par succomber à leur maladie [235]. De nombreux essais cliniques sont en cours pour trouver de meilleurs traitements. Comme le CRPC demeure une maladie incurable [235], l'Association des urologues du Canada (AUC) et le Groupe canadien d'urologie oncologie (*Canadian Urologic Oncology Group, CUOG*) recommande d'ailleurs, dans la mesure du possible, de garder comme premier choix les essais cliniques chez les patients atteints de CRPC [153].

### **1.3. Cancer de la prostate et immunothérapie**

Avec l'avancement des connaissances fondamentales en immunologie, l'identification d'antigènes associés aux tumeurs, et la découverte des points de contrôle immunitaire, l'immunothérapie est devenue une approche prometteuse pour le traitement du cancer [236-238]. En comprenant les différents mécanismes que les cellules cancéreuses emploient pour manipuler le système immunitaire, de nouvelles cibles thérapeutiques sont identifiées [238]. Avant de se focaliser sur comment les cellules cancéreuses évitent d'être détruites par le système immunitaire et le rôle de l'immunothérapie dans le PCa, nous allons revenir très brièvement sur des concepts de base en immunologie.

#### **1.3.1. Système immunitaire et cancer**

##### **1.3.1.1. Immunité innée et adaptative**

Le système immunitaire est le gardien de notre organisme. Il est responsable de nous protéger des menaces provenant de l'extérieur (virus, bactéries, ...) mais aussi de l'intérieur (nos propres cellules) [239]. Les cellules du système immunitaire sont dérivées des cellules souches hématopoïétiques provenant de la moelle osseuse [240]. Elles comprennent les granulocytes (neutrophiles, éosinophiles et basophiles), les lymphocytes (cellules T, cellules B, cellules *natural killer* [NK] et cellules lymphoïdes innées) et les monocytes [240,241]. Ces cellules sont aussi appelées leucocytes ou globules blancs [240]. Les lymphocytes dérivent du progéniteur lymphoïde

commun tandis que toutes les autres cellules du système immunitaire appartiennent à la lignée myéloïde [240].

L'immunité peut être séparée en deux catégories selon la rapidité et la spécificité de la réponse [240]. On parle d'immunité innée pour désigner la réponse non spécifique et rapide qui assure la défense immédiate de l'hôte [240]. Les composantes majeures de cette immunité incluent les barrières anatomiques comme la peau, les phagocytes (monocytes du sang, neutrophiles et macrophages des tissus) et des molécules solubles associées à la réponse (lysosomes, interférons et composants du complément) ou des molécules non-solubles capables de reconnaître certaines molécules fréquemment retrouvées sur des pathogènes (récepteurs à la surface des cellules, comme les *Toll-like receptors* [TLR]) [240]. Par ailleurs, les cellules NK cytotoxiques et les cellules lymphoïdes innées non cytotoxiques sont aussi impliquées dans la réponse innée (contrairement aux cellules T, elles ne possèdent pas de récepteurs spécifiques à un antigène) [241]. Les cellules lymphoïdes innées participent à la réponse en modulant l'immunité et l'inflammation via la sécrétion de cytokines (protéines solubles qui se lient à leurs récepteurs à la surface des cellules et jouent un rôle de messenger entre les cellules du système immunitaire) [241].

L'immunité adaptative, quant à elle, requiert typiquement un délai de quelques jours pour être efficace mais est beaucoup plus ciblée grâce à l'implication de cellules qui possèdent des récepteurs spécifiques à un antigène [239,240]. En effet, la reconnaissance d'un antigène par un lymphocyte T ou B, spécifique à un antigène, va amorcer l'activation et la différenciation du lymphocyte [240]. Les cellules T activées ou effectrices vont se diriger vers le site affecté alors que les cellules B activées (plasmocytes) vont libérer des immunoglobulines ou anticorps [239,240]. Plus précisément, il y a trois grandes sous-populations de cellules T : les lymphocytes T auxiliaires ( $T_H$  pour *helper*, expriment la glycoprotéine CD4 à leur surface), les lymphocytes T cytotoxiques ( $T_C$ , expriment la glycoprotéine CD8 à leur surface) et les lymphocytes T régulateurs ( $T_{REG}$ , expriment CD4 à leur surface et le facteur de transcription *forehead box P3* [FoxP3]) [240]. Les récepteurs des cellules T reconnaissent leur antigène uniquement s'il est combiné à une protéine retrouvée à la surface des cellules, appelée molécule du complexe majeur d'histocompatibilité (*major histocompatibility complex*, MHC) [240]. Les MHC de classe I sont retrouvés à la surface de pratiquement toutes les cellules nucléées alors que les MHC de classe II sont surtout exprimés par

les cellules présentatrices de l'antigène (*antigen-presenting cells*, APC) qui comprennent les macrophages, les lymphocytes B et les cellules dendritiques [240]. Les lymphocytes T<sub>C</sub> jouent un rôle crucial dans la destruction des cellules qui exposent un antigène reconnu, les lymphocytes T<sub>H</sub> dans l'activation des cellules immunitaires effectrices et les lymphocytes T<sub>REG</sub> dans l'inactivation des cellules T effectrices [240]. Une fois l'antigène éliminé, une petite portion (environ 5%) de lymphocytes persiste. Ce sont ces lymphocytes T à mémoire qui permettent une réaction plus rapide et efficace lorsque le même antigène est de nouveau détecté [239]. En ce qui concerne les lymphocytes B, la liaison à leur antigène ne requiert aucun intermédiaire et entraîne leur maturation en cellules B à mémoire ou en plasmocytes responsables de la production d'anticorps [240]. Les anticorps sont des récepteurs solubles spécifiques qui, lorsqu'ils vont se lier à leurs cibles, vont favoriser leur élimination [240].

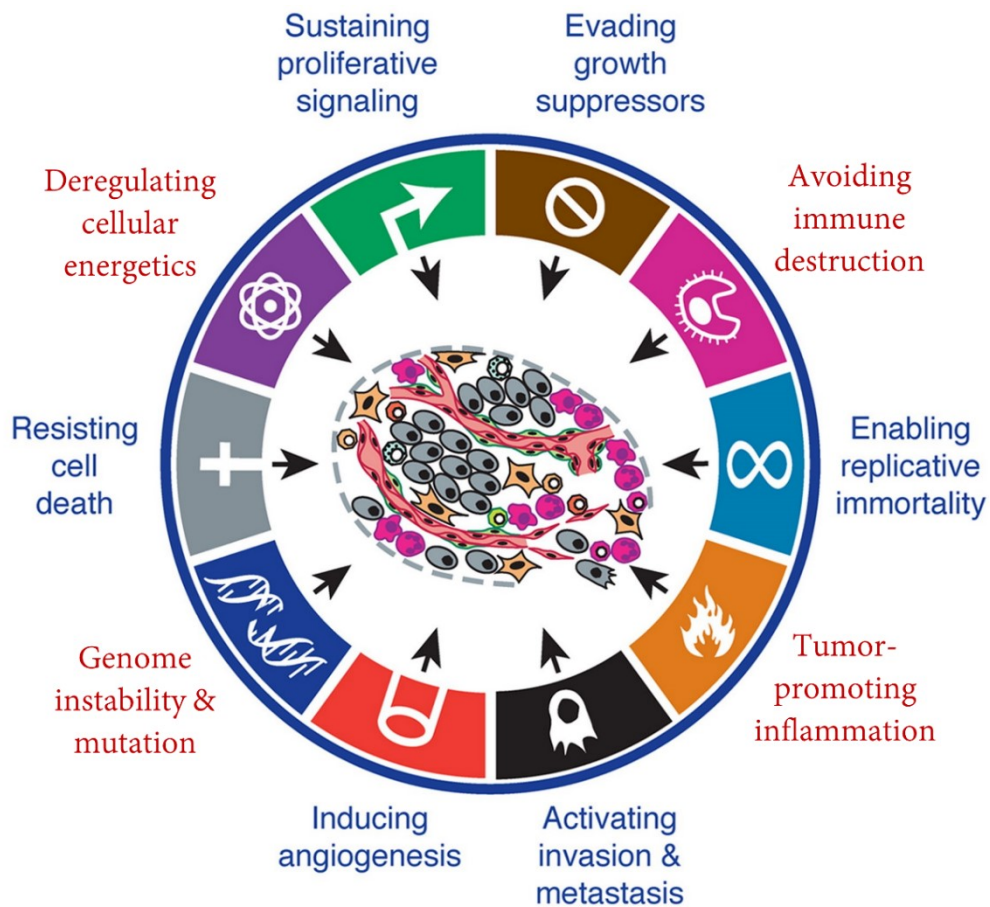
L'immunité innée et adaptative ne sont cependant pas complètement indépendantes [239,240]. Une coopération entre les deux permet d'obtenir des réponses plus efficaces [239,240]. Par exemple, les macrophages activés peuvent produire des cytokines qui vont stimuler et recruter des acteurs de la réponse adaptative [240]. De même, les cellules T<sub>H</sub> activées peuvent sécréter des cytokines impliquées dans l'activation des macrophages [240]. Plusieurs leucocytes ont donc un rôle à la fois dans la réponse innée et adaptative [240].

### **1.3.1.2. Le concept d'immunoédition**

Le passage d'une cellule saine à une cellule cancéreuse est un processus graduel et complexe [242,243]. Nos cellules sont munies de mécanismes intrinsèques étroitement régulés qui leur permettent d'identifier les dommages internes et, lorsqu'elles ne sont pas capables de les réparer, d'induire l'apoptose afin de ne pas propager ces dommages [242]. En 2000, Douglas Hanahan et Robert A. Weinberg proposent un modèle qu'ils nomment « *Hallmarks of cancer* » qui décrit six caractéristiques distinctives et complémentaires que les cellules néoplasiques peuvent acquérir pour devenir malignes : la capacité à maintenir des signaux de croissance, à déjouer des signaux inhibiteurs de croissance, à éviter l'apoptose, à se répliquer indéfiniment, à former des métastases et à induire l'angiogenèse (**Figure 1–9**) [242].



Dans la mise à jour du modèle en 2011, deux caractéristiques distinctives émergentes, la capacité à déréguler le métabolisme énergétique et à éviter une destruction par le système immunitaire, et deux caractéristiques favorisant les cancers, l'inflammation favorisant les tumeurs et l'instabilité et les mutations du génome, sont ajoutées (**Figure 1–9**) [243].



**Figure 1–9.** Caractéristiques du cancer. En bleu : les six caractéristiques distinctives et complémentaires proposées en 2000. En rouge : les deux caractéristiques distinctives émergentes et les deux caractéristiques favorisant les cancers ajoutées en 2011. Adaptée de Hanahan et Weinberg (2011) [243] avec la permission d'Elsevier.

Des médicaments qui interfèrent avec chacune de ces caractéristiques acquises par les tumeurs ont été ou sont en cours de développement pour lutter contre le cancer [243].

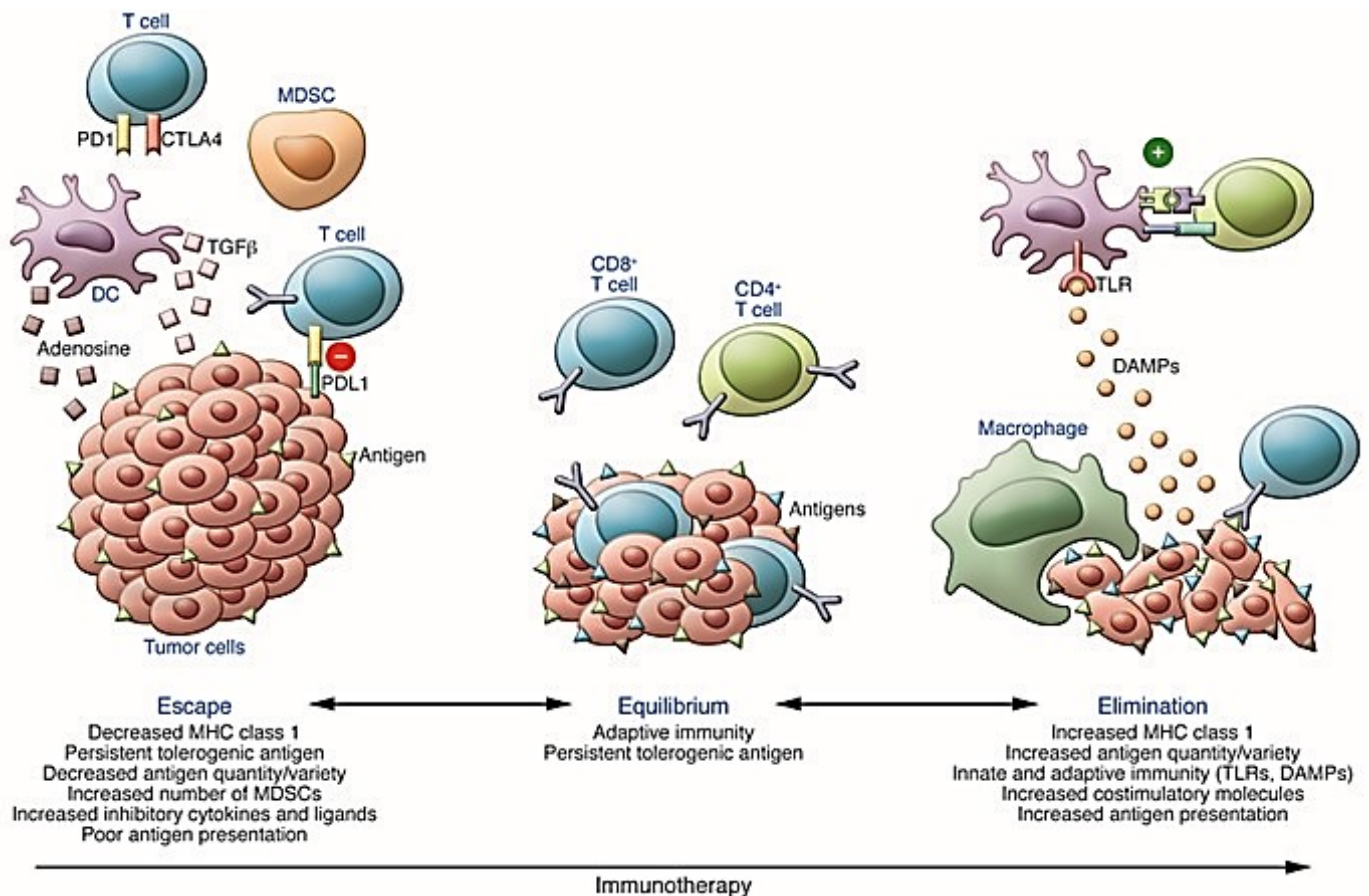
À la fin des années 1950, Frank Macfarlane Burnet et Lewis Thomas [244] formulent l'hypothèse selon laquelle le système immunitaire patrouille l'organisme à la recherche de néoplasies

naissantes afin de les éliminer [244,245]. Cette hypothèse est ensuite renforcée par les travaux de Schreiber et al. qui démontrent que certaines cellules et mécanismes du système immunitaire aident à diminuer et retarder l'apparition de cancers [236,246]. Leur hypothèse comprend le concept d'immunoédition du cancer qui est essentiel pour comprendre le rôle du système immunitaire dans le développement de tumeurs [246]. Le concept d'immunoédition est séparé en trois phases, communément appelées les trois « E » : élimination, équilibre et échappement (**Figure 1–10**) [236,246].

Durant la phase d'élimination, le système immunitaire protège l'hôte et empêche la tumeur de se développer [236]. Les effecteurs immunitaires impliqués appartiennent à la fois à la réponse innée et adaptative et comprennent les macrophages, les cellules dendritiques, les lymphocytes T et les cellules NK. Lorsque les cellules deviennent tumorales, elles vont entraîner un remodelage du stroma qui va être reconnu comme un signal de danger/dégâts par les cellules immunitaires de la réponse innée. Ceci va déclencher un mécanisme extrinsèque de suppression de la tumeur qui inclut notamment la sécrétion d'interférons- $\gamma$  (INF- $\gamma$ ) et d'interleukines par les cellules NK et les macrophages. L'INF- $\gamma$  active les processus antiprolifératifs, pro-apoptotiques et angiostatiques qui vont entraîner la mort de cellules tumorales. En parallèle, les macrophages tuent les cellules tumorales résiduelles. Cette destruction génère des antigènes tumoraux qui activent les cellules dendritiques recrutées au site tumoral. Ces cellules dendritiques capturent les antigènes tumoraux et migrent vers le ganglion drainant où elles activent les lymphocytes T naïfs. Les lymphocytes T<sub>H</sub> et les lymphocytes T<sub>C</sub> activés migrent vers le site tumoral pour tuer les cellules tumorales exprimant l'antigène. Ces processus peuvent se produire jusqu'à ce que toutes les cellules tumorales soient tuées et que le processus d'élimination soit terminé (**Figure 1–10**) [247,248].

Durant la phase d'équilibre, la tumeur est dans un état de dormance, il n'y a pas de croissance tumorale [236,246]. Les effecteurs de l'immunité adaptative maintiennent le contrôle et les cellules tumorales peuvent rester dans cet état indéfiniment. Toutefois, cette phase rend possible l'édition de l'immunogénicité de la tumeur, c'est-à-dire qu'elle peut modifier la capacité de la tumeur à entraîner une réponse immunitaire [236,246]. Si les cellules immunitaires perdent leur aptitude à contenir la tumeur, par la sélection de clones tumoraux résistants au système

immunitaire (les cellules immunitaires ne reconnaissent pas les antigènes exprimés à la surface des cellules cancéreuses), les cellules cancéreuses vont quitter la phase d'équilibre et entrer dans la phase d'échappement (**Figure 1–10**) [236].

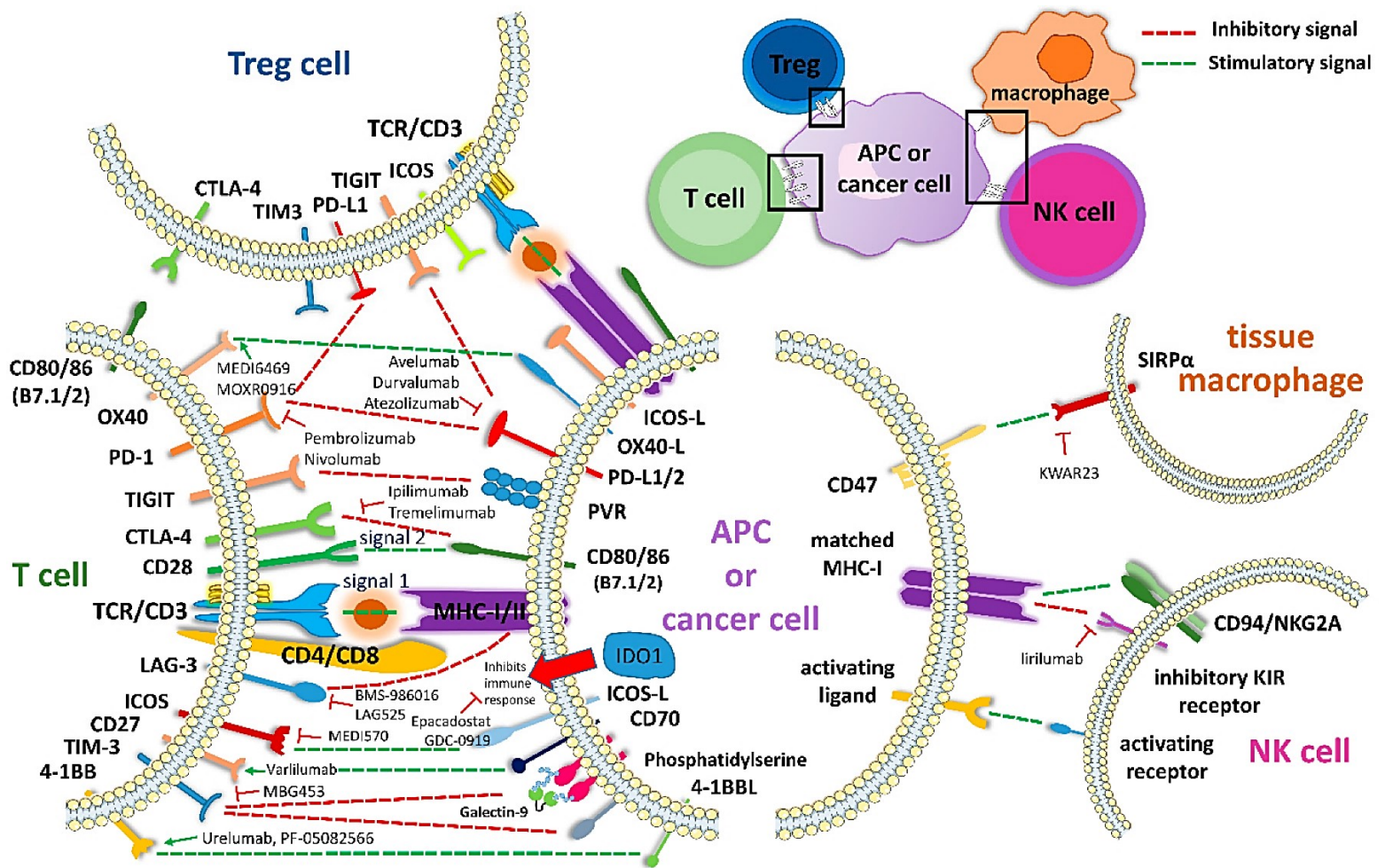


**Figure 1–10.** Le concept d'immunoédition du cancer : Élimination, Équilibre, Échappement. Dans la phase d'élimination (à droite), qui se produit souvent au début du développement tumoral, les clones tumoraux hautement antigéniques sont reconnus et éliminés par le système immunitaire inné et adaptatif. Dans la phase d'équilibre (milieu), la tumeur et le système immunitaire adaptatif coexistent. Dans la phase d'échappement (à gauche), les antigènes exprimés à la surface des cellules cancéreuses sont peu nombreux et peu variés, il y a expression de cytokines immunosuppressives et de récepteurs immunosuppressifs sur les cellules T et les cellules myéloïdes suppressives sont plus nombreuses. Diverses formes d'immunothérapie visent à déplacer l'équilibre de l'évasion vers l'élimination. DAMPs : motifs moléculaires associés aux dégâts; DC : cellules dendritiques; MDSC : cellules myéloïdes suppressives, MHC : complexe majeur d'histocompatibilité; TGF-β : *transforming growth factor β*; TLR : *Toll-like receptors*. Reproduite de Kalbasi et al. (2013) [249] avec la permission de l'*American Society for Clinical Investigation*.

Dans la phase d'échappement, les cellules cancéreuses acquièrent des caractéristiques (souvent des mutations) qui leur permettent d'inhiber et d'échapper au système immunitaire. Les acteurs des réponses innée et adaptative sont impliqués dans cette phase (**Figure 1–10**) [236]. Les clones des cellules cancéreuses non reconnus par le système immunitaire vont proliférer ce qui va provoquer une sélection des cellules pouvant échapper à l'immunosurveillance et donc promouvoir la croissance tumorale [236]. Par exemple, les cellules cancéreuses peuvent inhiber la réponse immunitaire en sécrétant des facteurs immunosuppresseurs tels que les cytokines *transforming growth factor*  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) [250] et adénosine [251]; et en exprimant à leur surface des protéines immunosuppressives telles que le ligand de mort cellulaire programmé (*programmed cell death-ligand 1*, PD-L1) qui va se lier à son récepteur, le point de contrôle immunitaire de mort cellulaire programmé (*programmed cell death 1*, PD-1), sur une cellule T et l'inhiber (**Figure 1–10**) [236]. Les cellules cancéreuses peuvent aussi recruter des cellules inflammatoires immunosuppressives comme les cellules T<sub>REG</sub> [252] et les cellules myéloïdes suppressives (*myeloid-derived suppressor cells*, MDSCs). En effet, les cellules immunosuppressives sont attirées dans le microenvironnement tumoral par un gradient de chimiokines (cytokines chimio-attractantes), ainsi que par des cytokines immunosuppressives telles que TGF- $\beta$  et IL-10, produites par les cellules cancéreuses et les cellules immunitaires (**Figure 1–10**) [253,254].

L'étude des mécanismes utilisés par les cellules cancéreuses pour éviter le système immunitaire permet de développer de nouvelles approches pour bloquer la suppression du système immunitaire et même le réactiver pour éliminer le cancer, on parle alors d'immunothérapie.

Un des mécanismes les plus étudiés pour le traitement du cancer par immunothérapie est l'activation des points de contrôle de la réponse immunitaire (**Figure 1–11**). L'activation des points de contrôle est un mécanisme important utilisé par les cellules cancéreuses pour échapper au système immunitaire [236,255]. Les inhibiteurs de points de contrôle maintiennent l'activité antitumorale en empêchant l'inactivation des voies de signalisation d'inhibition des cellules T effectrices [255].



**Figure 1–11.** Régulation immunitaire au sein du microenvironnement tumoral. Plusieurs points de contrôle situés sur la membrane des lymphocytes T interagissent avec leurs ligands à la surface des cellules présentatrices de l'antigène (APC) ou des cellules tumorales, formant des axes qui fournissent des signaux de stimulation (vert) ou des signaux inhibiteurs (rouge) entre les deux cellules. Les inhibiteurs de points de contrôle agissent en bloquant ces axes. APC : cellule présentatrice de l'antigène; MHC : complexe majeur d'histocompatibilité; NK cell : cellule *natural killer*; T cell : cellule T; TLR : *Toll-like receptors*; Treg : cellule T régulatrice. Reproduite de Christofi et al. (2019) [256].

### 1.3.2. Immunothérapie et cancer de la prostate

Au cours des dernières années, l'immunothérapie est devenue une modalité importante pour le traitement du cancer [238]. Il est bien connu que les cellules cancéreuses développent des mécanismes qui leur permettent de bloquer la réponse immunitaire de l'hôte et d'échapper à

l'élimination [243]. Le but de l'immunothérapie est d'exploiter ou de reconfigurer le système immunitaire de l'hôte pour lui permettre d'éliminer le cancer [238].

Sipuleucel-T (Provenge®) est le seul vaccin thérapeutique approuvé par la FDA pour traiter le mCRPC asymptomatique ou très peu symptomatique (**Figure 1-7**) [257]. Cette approbation fait suite aux résultats d'une étude clinique randomisée de 2010 démontrant une amélioration de la survie médiane de 4,1 mois chez les patients ayant reçu le sipuleucel-T comparativement aux patients ayant reçu le placebo [258]. Le traitement consiste à isoler des cellules dendritiques à partir des cellules souches de la moelle osseuse du patient; de les entraîner à reconnaître un antigène tumoral (combiné à un facteur qui stimule la différenciation des cellules dendritiques immatures) : l'antigène de phosphatase acide prostatique (PAP) retrouvé dans environ 95% des cellules cancéreuses métastatiques; et enfin, de réinjecter les cellules dendritiques « éduquées » dans le donneur afin qu'elles puissent reconnaître les cellules cancéreuses et activer le système immunitaire [259-264]. Par ailleurs, en 2017, la FDA approuve le premier traitement anti-cancéreux pour toute tumeur solide, impossible à réséquer ou métastatique, présentant des traits génétiques particuliers : une instabilité microsatellitaire élevée (*microsatellite instability high*, MSI-H) et une déficience du système de réparation des erreurs d'appariements de l'ADN (*deficient in DNA mismatch repair*, dMMR). Les tumeurs avec ces traits génétiques expriment un nombre élevé de PD-L1 qui lorsqu'ils vont se lier à leurs récepteurs, présents sur les cellules immunitaires de l'hôte, vont inhiber les cellules immunitaires [265]. C'est la première fois que l'agence autorise un traitement anti-cancéreux basé sur un biomarqueur commun plutôt que le site de la tumeur. Le traitement en question, le pembrolizumab (Keytruda®), est un anticorps monoclonal de type immunoglobuline G4 (IgG4) qui va séquestrer PD-1 impliqué dans l'inactivation des cellules T [266-268]. En effet, ce blocage empêche l'interaction entre PD-1 et PD-L1, ce qui, à son tour, entrave la transmission des signaux inhibiteurs aux cellules T. Les cellules T conservent donc leur potentiel d'activation et sont plus capables de reconnaître et de monter une réponse immunitaire contre les cellules cancéreuses. Les cellules T activées peuvent déclencher des processus cytotoxiques et la production de cytokines, conduisant à la destruction des cellules cancéreuses [266-268]. L'approbation de pembrolizumab par la FDA s'est basée sur les données issues de cinq essais cliniques (KEYNOTE-012, -016, -028, -158 et -164) [269]. Au sein de ces cinq

essais, 149 patients atteints de cancers MSI-H/dMMR ont été recensés, parmi lesquels 90 (soit 60 %) présentaient un cancer colorectal métastatique et 59 d'autres types de tumeurs solides (14 types de cancer différents). Sur les 149 patients, 59 répondeurs ont été identifiés (taux de réponse global de 39,6 %; intervalle de confiance ou *confidence interval* [CI] à 95% : 31,7–47,9), incluant 78% avec une réponse qui a duré au moins six mois [269]. Le pembrolizumab n'est cependant pas encore approuvé par Santé Canada pour le traitement du PCa [153].

### **1.3.3. Limites actuelles et espoir de l'immunothérapie dans le traitement du cancer de la prostate**

Le PCa est connu pour être une tumeur « froide » avec une faible infiltration de cellules T [270]. Les thérapies qui ont pour but d'augmenter l'infiltration immunitaire à travers les APC ou les lymphocytes T effecteurs sont donc d'intérêt. Pour l'instant, la seule immunothérapie approuvée pour le traitement du PCa, sipuleucel-T, est un vaccin basé sur la stimulation d'APC (cellules dendritiques). Ce traitement a montré une augmentation de quatre mois dans la survie globale de patients atteints de mCRPC, comparé au contrôle (placebo), sans effet notable sur la progression de la maladie (voir section [1.3.2. Immunothérapie et cancer de la prostate](#)) [258]. Cependant, en raison de son efficacité limitée (réponses antitumorales minimales), de la complexité de sa production et de son coût élevé ( $\approx 90\,000$  USD), de l'accès à de nouveaux traitements (par exemple, les hormonothérapies de nouvelle génération), et de l'évolution constante des lignes directrices de traitement du PCa, le sipuleucel-T est peu utilisé en clinique [271]. Un autre vaccin, PSA-TRICOM (Prostvac<sup>®</sup>), a montré une augmentation de la survie globale de presque 10 mois chez les patients atteints de mCRPC, comparé au contrôle (placebo), dans une étude de phase II [272,273]; mais ce résultat n'a pas été maintenu dans l'étude de phase III subséquente [274]. PSA-TRICOM contient des vecteurs dérivés de poxvirus contenant des transgènes pour le PSA humain et trois molécules de costimulation pour les cellules T, collectivement appelées TRICOM [273].

Le **Tableau 1–7** présente les résultats d'études cliniques d'immunothérapie sur le PCa récemment complétées. Une étude de phase III incluant 1182 hommes avec des mCRPC n'a pas montré d'amélioration dans la survie globale, la survie sans progression biochimique et la survie sans progression radiologique chez les patients qui ont reçu un vaccin stimulant les APC, DCVAC/PCa, en plus de la chimiothérapie (docétaxel) et de corticostéroïdes (prednisone), comparés aux patients qui ont reçu le placebo. Néanmoins, une étude clinique récente de phase II incluant des hommes atteints de mCRPC traités par le vaccin sipuleucel-T seul ou par la combinaison sipuleucel-T et radiothérapie interne (radium-223) a montré que la combinaison diminue le risque de progression radiologique ou clinique (rapport de risque [*hazard ratio*, HR] = 0,32; CI à 95% : 0,14–0,76;  $p < 0,01$ ) [275], ce qui donne espoir pour le futur de l'immunothérapie dans le PCa [276].

Plusieurs drogues ciblant les voies PD-1/PD-L1 et *cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4* (CTLA-4) ont été approuvées par la FDA [277] et de nombreuses autres voies sont en investigation dans les cancers solides, notamment les cancers du poumon, les cancers colorectaux, les mélanomes, les cancers du sein, les cancers du rein, les cancers urothéliaux et les cancers de la tête et du cou (<https://clinicaltrials.gov/>). Ces drogues ne sont cependant pas encore approuvées pour le traitement du PCa. En effet, les études cliniques récentes ayant évalué l'utilisation de monothérapie anti-PD-1/PD-L1 ou CTLA-4 ou la combinaison des deux n'ont pas montré de résultats concluants (**Tableau 1–7**) [278,279]. Ces résultats mettent l'accent sur le besoin de mieux identifier les patients atteints de PCa qui vont bénéficier de l'immunothérapie.

De nombreux essais cliniques d'immunothérapie pour le PCa sont en cours, dont plusieurs ciblant les points de contrôle de la réponse immunitaire présentés dans la **Figure 1–11 (Tableau 1–8)**. Parmi les stratégies étudiées, on note l'administration d'immunothérapie à des stades plus précoces, c'est-à-dire avant le développement de résistance à la castration et/ou de métastases (**Tableau 1–8**). La rationnelle derrière cette approche est que les patients qui n'ont pas encore progressé au stade de résistance à la castration ont potentiellement une maladie micrométastatique qui est associée à moins de suppression immunitaire et à un environnement différent de celui des CRPC [280]. Ces études qui utilisent des approches thérapeutiques et des cohortes différentes vont permettre de mieux sélectionner les patients atteints de PCa qui vont bénéficier de l'immunothérapie.



**Tableau 1–7.** Résultats d’essais cliniques en immunothérapie de phases II et III sur les cancers de la prostate complétées aux cours des cinq dernières années (<https://clinicaltrials.gov/>, en date du 29 décembre 2022) [281].

Phase	Population	Produits médicaux immunologiques	Traitements/ Interventions	N	Résultats principaux	Date fin	Numéro NCT
<b>Cancers de la prostate métastatiques</b>							
II	mCRPC	Sipuleucel-T (vaccin stimulant les APC)	Radiation externe + Sipuleucel-T	Total : 20; Résultats : 20	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réponse immunitaire après 6 semaines (anticorps contre PA2024*) : 50% (8/16)</li> <li>• Survie médiane sans progression radiologique en semaines (95% CI) : 11,2 (6,8–14,0)</li> <li>• Survie médiane sans progression biochimique en semaines (95% CI) : 12,5 (4,8–33,5)</li> <li>• Survie médiane globale en semaines (95% CI) : 76,8 (41,6–130,8)</li> </ul>	2021	01818986
II	PCa phénotype neuro-endocrine	Avelumab (anti-PD-L1)	Avelumab	Total : 15; Résultats : 15	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réponse radiologique complète : 7% (1/15); Progression : 67% (10/15, dont 9 sans réponse immunitaire confirmée et 1 avec); Maladie stable : 20% (3/10)</li> <li>• Survie médiane sans progression radiologique en mois (intervalle): 1,8 (1,6–2,0)</li> <li>• Survie globale médiane en mois (intervalle): 7,4 (2,8–12,5)</li> </ul>	2020	03179410
II	mCRPC	Durvalumab (anti-PD-L1); Tremelimumab (anti-CTLA-4)	Durvalumab + Tremelimumab	Total : 26; Résultats : 25	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Survie médiane sans progression biochimique en mois (95% CI) : 0,9 (0,9–1,8)</li> <li>• Survie médiane sans progression radiologique en mois (95% CI) : 3,7 (1,9–5,7)</li> <li>• Survie globale médiane en mois (95% CI) : 28,1 (14,5–37,3)</li> <li>• ↓ taux de PSA ≥ 50 % = 12% (3/25)</li> </ul>	2021	03204812
II	mCRPC	Sipuleucel-T (vaccin stimulant les APC); Ipilimumab (anti-CTLA-4)	1. Sipuleucel-T + Ipilimumab; 2. Sipuleucel-T → Ipilimumab	Total : 50; Résultats : 1. 24; 2. 26	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réponse immunitaire après 20 semaines (anticorps contre PAP ± PA2024*) : 71% (5/7) vs. 88% (7/8)</li> <li>• Survie médiane sans progression radiologique en mois : 5,3 vs. 6,4, <math>p = 0,08</math> [282]</li> <li>• Survie globale médiane en mois : 27,7 vs. 34,7, <math>p = 0,2</math> [282]</li> </ul>	2020	01804465
II	mCRPC	Sipuleucel-T (vaccin stimulant les APC)	1. Sipuleucel-T; 2. Radiation externe → Sipuleucel-T	Total : 51; Résultats : 1. 24; 2. 25	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Survie médiane sans progression (radiologique ± biochimique) en mois (95% CI) : 2,46 (2,17–2,66) vs. 3,65 (2,76–4,86), <math>p = 0,06</math> (univarié)</li> </ul>	2019	01807065
II	mCRPC (métastases osseuses)	Sipuleucel-T (vaccin stimulant les APC)	1. Médicament radioactif <sup>1</sup> + Sipuleucel-T; 2. Sipuleucel-T	Total : 36; Résultats : 1. 16; 2. 16	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Réponse immunitaire (cellules T PA2024* périphériques), <i>Fold-change</i> médian (IQR): 7,0 (4,12–20,2) vs. 22,4 (17,2–31,4), <math>p = 0,036</math> [275]</li> <li>• Survie médiane sans progression radiologique ou clinique en semaines (95% CI) : 38,7 (18,9–N/A<sup>5</sup>) vs. 11,9 (8,0–15,0); (HR, 0,32; 95% CI, 0,14–0,76; <math>p &lt; 0,01</math>) [275]</li> <li>• Survie globale médiane en années : Pas atteinte vs. 2,6 (HR = 0,32; 95% CI : 0,08–1,23; <math>p = 0,08</math> [275])</li> </ul>	2019	02463799

Phase	Population	Produits médicaux immunologiques	Traitements/ Interventions	N	Résultats principaux	Date fin	Numéro NCT
III	mCRPC	DCVAC/PCa (vaccin stimulant les APC)	1. Chimiothérapie <sup>2</sup> + Corticostéroïdes <sup>3</sup> + DCVAC/PCa; 2. Chimiothérapie <sup>2</sup> + Corticostéroïdes <sup>3</sup> + Placebo	Total : 1182 Résultats : 1. 787; 2. 395	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Survie globale médiane en mois (95% CI) : 23,9 (21,6–25,3) vs. 24,3 (22,6–26,0); HR univarié = 1,04 (0,90–1,21), <math>p = 0,596</math></li> <li>• Survie médiane sans progression radiologique en mois (95% CI) : 11,1 (11,0–11,4) vs. 11,1 (10,8–11,4); HR univarié = 0,99 (0,86–1,14), <math>p = 0,886</math></li> <li>• Survie médiane sans progression biochimique en mois (95% CI) : 10,5 vs. 10,6; HR univarié = 1,08 (0,91–1,28), <math>p = 0,392</math></li> </ul>	2020	02111577
<b>Cancers de la prostate non métastatiques</b>							
II	PCa hormono-sensibles ± ↑ PSA	Prostvac (vaccin anti-cancer ciblant le PSA)	1. Prostvac; 2. Surveillance → Prostvac	Total : 97 Résultats : 1. 40; 2. 40	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taux de croissance tumorale (= PSA ± SE) après 6 mois : -2,53 vs. -2,45, <math>p = 0,485</math> (univarié)</li> </ul>	2022	02649439
II	CRPC non métastatiques	Prostvac (vaccin anti-cancer ciblant le PSA)	1. Anti-androgènes <sup>4</sup> ; 2. Anti-androgènes <sup>4</sup> + Prostvac	Total : 38 Résultats : 1. 19; 2. 19	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Taux de croissance tumorale (-f[t] = exp [-d*t] + exp [g*t] -1) : 0,031 vs. 0,030, <math>p = 0,74</math> (univarié)</li> </ul>	2020	01875250

\* PAP2024 est utilisée pour activer les cellules présentatrices d'antigène; il s'agit d'une protéine de fusion constituée de la phosphatase acide prostatique et du facteur de stimulation des colonies de granulocytes-macrophages. <sup>1</sup> Radium-223; <sup>2</sup> Docétaxel; <sup>3</sup> Prednisone; <sup>4</sup> Enzalutamide; <sup>5</sup> Borne supérieure de la médiane non atteinte. APC : cellules présentatrices de l'antigène; 95% CI : intervalle de confiance à 95%; mCRPC : cancers de la prostate résistants à la castration métastatiques; HR : rapport de risque; IQR : écart interquartile; N/A : non-applicable; PAP : phosphatase acide prostatique; PCa : cancer de la prostate; PSA : antigène prostatique spécifique; SE : erreur standard.

**Tableau 1–8.** Principaux essais cliniques en immunothérapie de phases II et III en cours sur les cancers de la prostate (https://clinicaltrials.gov/, en date du 29 décembre 2022) [281].

Phase	Population	N*	Produits médicaux immunologiques (mécanisme)	Traitements/Interventions	Paramètres principaux	Date début	Numéro NCT
<b>Cancers de la prostate métastatiques</b>							
I/II	mCRPC	37	Pembrolizumab (anti-PD-1)	Pembrolizumab + médicament radioactif <sup>2</sup>	Taux de PSA	2019	03658447
I/II	mCRPC	76 <sup>1</sup>	Pembrolizumab (anti-PD-1); 225Ac-J591 (Anti-PSMA + radioisotope)	<b>1.</b> Pembrolizumab + 225Ac-J591 + Hormonothérapie <sup>3</sup> ; <b>2.</b> Pembrolizumab + Hormonothérapie <sup>3</sup>	Taux de PSA et de cellules tumorales circulantes, examens d'imagerie	2021	04946370
II	mCRPC	60 <sup>1</sup>	Pembrolizumab (anti-PD-1); pTVG-HP (vaccin ADN); pTVG-AR (vaccin ADN)	<b>1.</b> pTVG-HP/Pembrolizumab → Pembrolizumab → ± pTVG-HP/Pembrolizumab; <b>2.</b> pTVG-HP/Pembrolizumab → Pembrolizumab → ± pTVG-HP/Pembrolizumab + pTVG-AR/Pembrolizumab	Survie sans progression	2019	04090528
I/II	mCRPC	57	Ipilimumab (anti-CTLA-4)	Hormonothérapie <sup>4</sup> + Corticostéroïdes <sup>5</sup> + Ipilimumab	Survie sans progression	2012	01688492
II	mCRPC	196	Ipilimumab (anti-CTLA-4)	<b>1.</b> Hormonothérapie <sup>6</sup> + Corticostéroïdes <sup>5</sup> ; <b>2.</b> Hormonothérapie <sup>6</sup> + Corticostéroïdes <sup>5</sup> + Ipilimumab; <b>3.</b> Hormonothérapie <sup>6</sup> + Corticostéroïdes <sup>5</sup> + Chimiothérapie <sup>7</sup>	Survie globale, taux de PSA et cellules tumorales circulantes	2016	02703623
II	mCRPC	38	Nivolumab (anti-PD-1)	Nivolumab	Taux de PSA	2018	03040791
I/II	mCRPC	36 <sup>1</sup>	Nivolumab (anti-PD-1)	Nivolumab + médicament radioactif <sup>8</sup>	Taux de cellules tumorales circulantes	2020	04109729
II	mCRPC	292	Nivolumab (anti-PD-1)	<b>1.</b> Nivolumab + iPARP <sup>9</sup> ; <b>2.</b> Nivolumab + Docétaxel + Prednisone; <b>3.</b> Nivolumab + anti-androgènes <sup>10</sup>	Taux de PSA, examens d'imagerie	2018	03338790
II	mCRPC immunogéniques	75 <sup>1</sup>	Nivolumab (anti-PD-1); Ipilimumab (anti-CTLA-4)	Nivolumab + Ipilimumab → Nivolumab	Volume tumoral	2021	04717154
II	mCRPC	33 <sup>1</sup>	Atezolizumab (anti-PD-L1)	Inhibiteur de kinases <sup>11</sup> + Atezolizumab	Examens d'imagerie	2022	05168618
II	mCRPC ± mutations CDK12	75 <sup>1</sup>	Atezolizumab (anti-PD-L1)	<b>1.</b> Inhibiteur de kinases <sup>12</sup> ; <b>2.</b> Inhibiteur de kinases <sup>12</sup> + Atezolizumab	Survie sans progression, taux de PSA	2021	04751929

Phase	Population	N*	Produits médicaux immunologiques (mécanisme)	Traitements/Interventions	Paramètres principaux	Date début	Numéro NCT
I/II	mCRPC	90 <sup>1</sup>	Avelumab (anti-PD-L1)	1. Médicament radioactif <sup>8</sup> ; 2. Médicament radioactif <sup>8</sup> + Inhibiteur de kinases <sup>13</sup> ; 3. Médicament radioactif <sup>8</sup> + Inhibiteur de kinases <sup>13</sup> + Avelumab	Survie sans progression radiologique	2019	04071236
II	mCRPC	120 <sup>1</sup>	Cetrelimab (anti-PD-1)	Chimiothérapie <sup>7</sup> + Cetrelimab → iPARP <sup>14</sup> ; 2. Chimiothérapie <sup>7</sup> + Cetrelimab → Cetrelimab + iPARP <sup>14</sup>	Survie sans progression	2019	04592237
II	PCa neuroendocrines	24 <sup>1</sup>	Cetrelimab (anti-PD-1)	Anti-androgènes <sup>15</sup> + Cetrelimab	Taux de PSA, examens d'imagerie	2022	04926181
II	mCRPC	40	SRF617 (anti-CD39); Etrumadenant (antagoniste des récepteurs A2A/A2B); Zimberelimab (anti-PD-1)	SRF617 + Etrumadenant + Zimberelimab	Taux de PSA, examens d'imagerie	2022	05177770
II	PCa métastatiques	220	Nivolumab (anti-PD-1); Ipilimumab (anti-CTLA-4)	1. ≥15% cellules CD8 <sup>+</sup> : Nivolumab; 2. ≥ 15% cellules CD8 <sup>+</sup> : Nivolumab + Ipilimumab	Examens d'imagerie, % cellules CD8 <sup>+</sup>	2018	03651271
II	PCa métastatiques hormono-sensibles	96 <sup>1</sup>	Durvalumab (anti-PD-L1)	1. Radiation externe + Durvalumab; 2. Radiation externe	Survie sans BCR	2019	03795207
II	PCa métastatiques hormono-sensibles	60 <sup>1</sup>	Nivolumab (anti-PD-1)	1. DDRD <sup>+</sup> /inflammation <sup>‡</sup> , 2. DDRD <sup>-</sup> /inflammation <sup>‡</sup> ; 3. DDRD <sup>-</sup> /inflammation <sup>-</sup> : ADT + Nivolumab + Chimiothérapie <sup>16</sup>	Taux de PSA	2020	04126070
II	PCa métastatique hormono-sensibles	74	Prostvac (vaccin anti-cancer ciblant le PSA)	1. ADT + Chimiothérapie <sup>16</sup> → ADT + Prostvac; 2. ADT + Chimiothérapie <sup>16</sup> + Prostvac; 3. ADT + Prostvac → ADT + Chimiothérapie <sup>16</sup>	Réponse immunitaire	2016	02649855
II/III	PCa métastatiques hormono-sensibles	135	Nivolumab (anti-PD-1); Ipilimumab (anti-CTLA-4)	1. ADT + Chimiothérapie <sup>16</sup> ; 2. ADT + Chimiothérapie <sup>16</sup> + Nivolumab; 3. ADT + Ipilimumab/Chimiothérapie <sup>16</sup> + Nivolumab	Survie globale	2019	03879122
<b>Cancers de la prostate non métastatiques</b>							
III	PCa nouvellement diagnostiqué	450	Sipuleucel-T (vaccin stimulant les APC)	1. Sipuleucel-T; 2. Surveillance active	Reclassification histologique (GG)	2018	03686683
II	PCa localisé + GG ≥4 + métabolisme glucose ↑	30 <sup>1</sup>	Pembrolizumab (anti-PD-1)	Pembrolizumab → RP	Volume tumoral, taux Ki67/apoptose, CyTOF <sup>19</sup>	2020	04009967
II	PCa ↑ PSA + mutations CDK12/dMMR/MSI-H/HDR	30 <sup>1</sup>	Durvalumab (anti-PD-L1)	Durvalumab + iPARP <sup>17</sup>	Taux de PSA	2021	04336943
I/II	PCa GG5	44 <sup>1</sup>	Nivolumab (anti-PD-1)	ADT → Nivolumab + Brachythérapie + Radiation externe	Survie sans BCR	2018	03543189

Phase	Population	N*	Produits médicaux immunologiques (mécanisme)	Traitements/Interventions	Paramètres principaux	Date début	Numéro NCT
I/II	PCa hormono-sensibles + ↑ PSA	60	Nivolumab (anti-PD-1); BMS-986253 (anti-IL-8)	<b>1.</b> Nivolumab → Nivolumab + ADT; <b>2.</b> Nivolumab + BMS-986253 → Nivolumab + BMS-986253 + ADT	BCR	2018	03689699
III	PCa localisés	711	ProstAtak® = AdV-tk + Valacyclovir (vaccin anti-cancer); Valacyclovir (antiviral)	<b>1.</b> ProstAtak + Radiation externe ± ADT; <b>2.</b> Placebo + Valacyclovir + Radiation externe ± ADT	Survie sans progression radiologique	2011	01436968
II	PCa localisés	187	AdV-tk (vaccin anti-cancer); Valacyclovir (antiviral)	<b>1.</b> ProstAtak + Valacyclovir; <b>2.</b> Placebo + Valacyclovir	Survie sans progression	2016	02768363
II	PCa localisés	68 <sup>1</sup>	Atezolizumab (anti-PD-L1); Tocilizumab (anti-IL-6); Etrumadenant (antagoniste des récepteurs A2A/A2B)	<b>1.</b> Atezolizumab → RP; <b>2.</b> Atezolizumab + Etrumadenant → RP; <b>3.</b> Atezolizumab + Tocilizumab → RP	Densité cellules CD3 <sup>+</sup> à la RP (vs. biopsie)	2019	03821246
II	PCa localisés	65 <sup>1</sup>	M9241 (immunocytokine IL-12)	<b>1.</b> ADT + Radiation externe + M941; <b>2.</b> ADT + Radiation externe	Clonalité du récepteur antigénique des lymphocytes T	2022	05361798
II	PCa ↑ PSA	40 <sup>1</sup>	Prostvac (vaccin anti-cancer ciblant le PSA); MSB0011359C (anti-PD-L1 + TGF-β); CV301 (vaccin anti-cancer ciblant des antigènes associés à la tumeur)	<b>1.</b> Prostvac + MSB0011359C + CV301; <b>2.</b> Surveillance → Prostvac + CV301 → Prostvac + CV301 + MSB0011359C; <b>3.</b> Surveillance → Prostvac + CV301 → Prostvac + CV301	Taux de PSA	2018	03315871
<b>Cancers de la prostate métastatiques et non métastatiques</b>							
II	PCa hormono-sensibles ± métastatiques	16	Ipilimumab (anti-CTLA-4)	<b>1.</b> ADT <sup>7</sup> + Ipilimumab → RP → ADT + Ipilimumab; <b>2.</b> Post-RP → ADT <sup>18</sup> + Ipilimumab	Taux de PSA	2013	02020070
I/II	mCRPC et PCa localisés	29 <sup>1</sup>	Prostvac (vaccin anti-cancer ciblant le PSA); Nivolumab (anti-PD-1)	<b>1. mCRPC :</b> Prostvac + Nivolumab; <b>PCa localisé :</b> <b>2.</b> Prostvac + Nivolumab → RP	Réponse immunitaire	2017	02933255
I/II	mCRPC et PCa localisés	115	BNT112 (vaccin ARN anti-cancer ciblant des antigènes associés à la tumeur), Cemiplimab (anti-PD-1)	<b>mCRPC et PCa localisés :</b> <b>1.</b> BNT112; <b>2.</b> BNT112 + Cemiplimab. <b>mCRPC :</b> <b>3.</b> BNT112 → ± Cemiplimab	Examens d'imagerie	2019	04382898

\* Nombre de patients estimé. <sup>1</sup> Recrutement en cours; <sup>2</sup> 177Lu-PSMA2; <sup>3</sup> Anti-androgènes; <sup>4</sup> Abiratérone acétate; <sup>5</sup> Prednisone; <sup>6</sup> Abiratérone acétate + Apalutamide; <sup>7</sup> Cabazitaxel + Carboplatin; <sup>8</sup> Radium-223; <sup>9</sup> Rucaparib; <sup>10</sup> Enzalutamide; <sup>11</sup> Cabozantinib s-malate; <sup>12</sup> Abemaciclib; <sup>13</sup> Pepsosertib; <sup>14</sup> Niraparib; <sup>15</sup> Apalutamide; <sup>16</sup> Docétaxel; <sup>17</sup> Olaparib; <sup>18</sup> Dégarélix; <sup>19</sup> Infiltration immunitaire et expression de points de contrôle immunitaire mesurées par cytométrie de masse. ADT : thérapie de déprivation des androgènes; BCR : récurrence biochimique; CDK12 : kinase 12 dépendante de la cycline; CTC : cellules tumorales circulantes; mCRPC : cancers de la prostate résistants à la castration métastatiques; CyTOF : cytométrie de masse; DDRD : défauts de réparation des dommages à l'ADN; GG : groupe de grade; HDR : déficit de la recombinaison homologue; IRM : imagerie par résonance magnétique; MSI-H : instabilité microsatellitaire élevée; PCa : cancer de la prostate; PSA : antigène prostatique spécifique; PSMA : antigène membranaire spécifique de la prostate; RP : prostatectomie radicale.

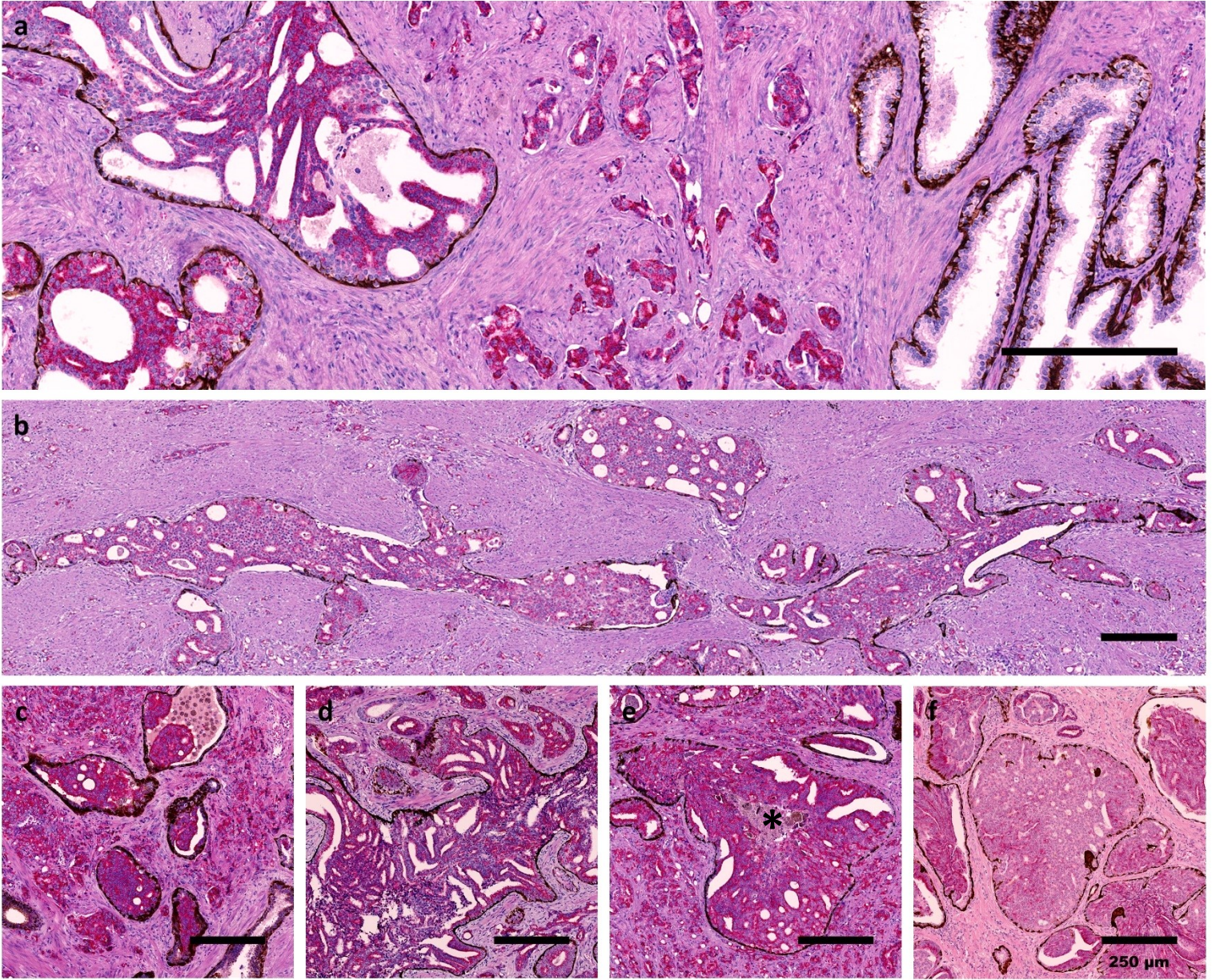
## 1.4. Le carcinome intracanalair de la prostate

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés au carcinome intracanalair de la prostate (*intraductal carcinoma of the prostate*, IDC-P), une entité morphologique distincte du PCa associée à un mauvais pronostic. Par définition, l'IDC-P est une prolifération cellulaire maligne confinée à l'intérieur d'un canal. Cette lésion, présente chez environ 20% des hommes atteints de PCa est associée à une augmentation du risque de récurrence, de développement de métastases, de résistance à la castration et de décès liés au cancer.

### 1.4.1. Définition et incidence

#### 1.4.1.1. Définition

En 1985, Kobi et al. [283] introduisent le concept de prolifération néoplasique intracanalair rétrograde du PCa. Dix ans plus tard, McNeal et Yemoto [284] emploient le terme « carcinome intracanalair » pour décrire les lésions constituées de masses de cellules cribriformes infiltrant des glandes prostatiques et associées à la progression post-chirurgie (mesurée par l'élévation du taux sérique de PSA). McNeal et Yemoto définissent l'IDC-P comme une lésion retrouvée presque exclusivement à proximité de carcinomes invasifs, bien délimitée par une couche de cellules basales et caractérisée par l'envahissement de la lumière des glandes par des cellules épithéliales malignes [284]. Depuis lors, plusieurs autres ensembles de critères histologiques ont été proposés pour identifier l'IDC-P [284-288]. Les critères les plus utilisés sont les caractéristiques morphologiques strictes définies par Guo et Epstein pour reconnaître l'IDC-P sur des biopsies à l'aiguille ne contenant pas de carcinomes invasifs [285]. Guo et Epstein définissent l'IDC-P comme une prolifération maligne intracanalair formant des patrons solides ou denses; mais aussi des patrons cribriformes lâches ou micropapillaires, lorsque ces patrons sont accompagnés de noyaux surdimensionnés, de nombreuses mitoses, de pléomorphisme marqué et, souvent, de foyers de nécrose centrale (**Figure 1–12**) [285].



**Figure 1–12.** Exemples de lésions de carcinome intracanalaire de la prostate (IDC-P). (a) À gauche : IDC-P, au centre : carcinome invasif, à droite : glandes bénignes. (b) Un IDC-P observé le long d'un canal à plus faible grossissement. (c–f) Des IDC-P de morphologies variées chez différents patients incluant un foyer de nécrose centrale (astérisque) (e). Les cellules basales sont marquées en brun (anti-p63 et anti- HMWCK) et les cellules cancéreuses en rouge (anti-AMACR). Contre-coloration : H&E. Échelle : 250 µm.

Parmi les autres critères souvent utilisés, on note ceux de Cohen et al. qui proposent cinq critères majeurs et quatre critères mineurs pour diagnostiquer l'IDC-P [286]. Les critères majeurs incluent des glandes au moins deux fois plus larges que les glandes normales, la présence de cellules

basales (confirmées par IHC), de patrons solides ou denses, d'atypies cellulaires prononcées et de noyaux six fois plus larges que les noyaux normaux; et les critères mineurs comprennent des embranchements irréguliers des glandes, un nombre de glandes affectées supérieur à six, des mitoses fréquentes et la présence de deux populations cellulaires (en périphérie *versus* au centre de la glande) [286].

En 2016, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) reconnaît l'IDC-P comme une entité distincte du PCa [91]. L'OMS définit l'IDC-P comme :

« Une prolifération épithéliale néoplasique intra-acineuse et/ou intracanalair qui présente certaines caractéristiques d'une néoplasie intraépithéliale prostatique de haut grade (HGPIN) mais présente une atypie architecturale et/ou cytologique beaucoup plus importante, généralement associée à un carcinome de la prostate de stade avancé. » [91]

La majorité des pathologistes ont accepté que l'IDC-P représente une extension intracanalair d'un adénocarcinome infiltrant [289], d'où son fréquent emplacement adjacent au carcinome invasif [290-293]. Une étude génomique a d'ailleurs montré que l'IDC-P et le carcinome invasif adjacent partagent un ancêtre commun, dans une petite cohorte de 10 patients avec des IDC-P [294]. L'IDC-P sans composante invasive adjacente a tout de même été observé dans 0,06% (27/45000) [285] à 0,26% (3/1176) [295] des biopsies de prostate. Il a été suggéré que dans de rares cas où l'IDC-P est présent sans carcinome invasif adjacent ou loin du carcinome invasif [285,295,296], il pourrait être une lésion précurseur analogue de l'HGPIN [289,297].

Bien qu'actuellement il est recommandé de ne pas intégrer l'IDC-P dans le grade [90,298], la question de savoir si un grade devrait être assigné à l'IDC-P est une source de débat [299-301].

#### **1.4.1.2. Incidence**

L'IDC-P est retrouvé dans environ 20% des cas de PCa [289]. Cependant son incidence augmente lorsque la maladie progresse [302]. En effet, dans une revue systématique regroupant les données de plus de 7 000 patients atteints de PCa qui ont subi des biopsies ou une RP, Porter et al. ont rapporté une incidence de 2% chez les patients avec des cancers de faible risque, 23% pour les cancers de risque modéré, 37% pour les cancers de risque élevé et 56% chez les hommes avec des PCa métastatiques ou récurrents [302].



## **1.4.2. Impact clinique du carcinome intracanalair de la prostate et réponse au traitement**

### **1.4.2.1. Impact clinique**

Plusieurs études ont évalué l'association de l'IDC-P avec des facteurs pronostiques connus. L'IDC-P corrèle avec les facteurs délétères suivants : un volume tumoral plus élevé [303-305], un grade plus élevé [283,284,287,303,304,306,307], un stade plus avancé [284,303,307,308] et des marges chirurgicales positives [284,307].

De plus, de nombreuses études ont évalué l'association entre la présence d'IDC-P sur des spécimens de biopsies [290,304,306,309-314] ou de RP [290,292,303,310,315-317] et la récurrence ou la survie. La présence d'IDC-P est un prédicteur indépendant de la BCR [290,303,304,309,315-317] et de la récurrence clinique [292]. L'IDC-P a aussi été associé à la résistance à la castration [306,310,311,314], à une diminution de la survie spécifique au cancer [292,307,312,313] et de la survie globale [306,309,312,313] dans des analyses multivariées (pour plus de détails sur les études, voir les tableaux résumés de l'article de revue sur l'IDC-P en annexe, [A1.7. Supplementary tables](#)).

### **1.4.2.2. Réponse au traitement**

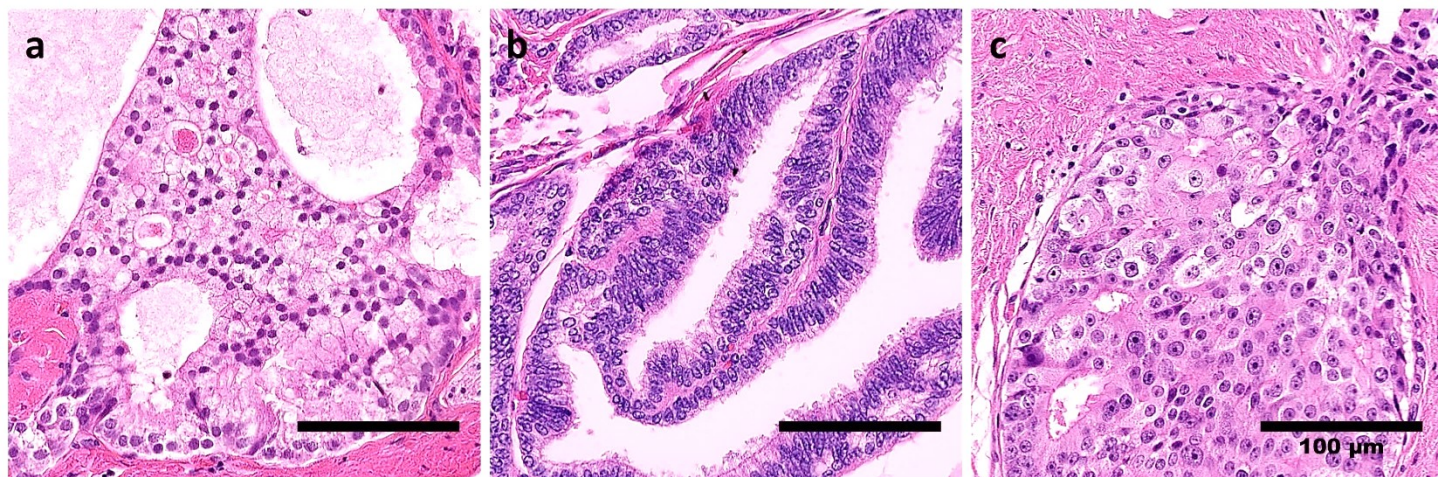
Actuellement, il n'existe pas de prise en charge clinique adaptée à l'IDC-P. Plusieurs études qui ont évalué la présence d'IDC-P chez des hommes ayant été traités préalablement par hormonothérapie et/ou chimiothérapie, ont rapporté une prévalence de l'IDC-P supérieure à 60% [313,314,318]. Ces résultats suggèrent une résistance de l'IDC-P à l'hormonothérapie et à la chimiothérapie. O'Brien et al. suggèrent notamment une croissance post-chimiothérapie néoadjuvante de l'IDC-P en détectant l'IDC-P sur les tissus de RP de 20% (10/50) de leur cohorte à la suite de la chimiothérapie comparativement à 0% des tissus de biopsie des mêmes patients pré-traitement (biopsies pré-traitement disponibles pour seulement 22 patients) [308]. De plus, dans leur cohorte d'hommes avec des CRPC traités par chimiothérapie (docétaxel), Chen et al. observent une réponse au traitement (mesuré par le taux de PSA) chez 67% (6/9) des hommes sans IDC-P comparativement à seulement 20% (3/15) des hommes avec des IDC-P [314]. Par ailleurs, Zhao et al. ont obtenu une survie sans progression biochimique plus longue chez les patients atteints de CRPC avec IDC-P traités par hormonothérapie (abiratérone) que chez les

patients traités par chimiothérapie (docétaxel) (13,4 vs. 6,0 mois,  $p = 0,012$ ,  $n = 62$ ) [309]. De leur côté, Yamamoto et al. ont observé une amélioration dans la survie spécifique au cancer de presque six mois dans un sous-groupe d'hommes avec des CRPC et IDC-P traités par hormonothérapie (abiratérone) puis chimiothérapie (docétaxel) ( $n = 36$ ) comparativement aux hommes ayant seulement reçu l'hormonothérapie ( $n = 26$ ) [313]. D'autre part, notre groupe a montré que, lorsqu'on compare les hommes traités par RP et radiothérapie adjuvante ( $n = 48$ ) à ceux traités uniquement par RP ( $n = 245$ ), la radiothérapie adjuvante réduit le risque de BCR chez les patients avec des IDC-P dans une cohorte de 293 hommes avec des PCa localisés ou localement avancés, dont 73 avec des IDC-P [319].

Actuellement, peu est connu sur les bases moléculaires responsables du développement de l'IDC-P ([Annexe 1 – Article de revue sur l'IDC-P](#)) [289,320]. Une meilleure caractérisation des altérations moléculaires associées à l'IDC-P permettra de mieux comprendre l'évolution du PCa et pourra être exploitée pour identifier de nouveaux biomarqueurs pronostiques et de nouvelles cibles thérapeutiques.

### 1.4.3. Diagnostic différentiel

L'identification de l'IDC-P n'est pas toujours évidente, certaines lésions bénignes ou malignes peuvent histologiquement ressembler à l'IDC-P.



**Figure 1–13.** Exemples d'hyperplasie cribriforme à cellules claires (a), d'adénocarcinome canalaire (b) et de carcinome urothélial intracanalair (c). Coloration H&E. Échelle : 100 µm.

#### **1.4.3.1. Hyperplasie cribriforme à cellules claires**

L'hyperplasie cribriforme à cellules claires peut être confondue avec l'IDC-P mais cette lésion bénigne (conservation de l'assise basale) est typiquement caractérisée par de petites cellules régulières avec des cytoplasmes clairs et des noyaux de taille normale avec une chromatine homogène (**Figure 1–13a**) [3,321]. Les mitoses sont également très rares et la comédonécrose n'est pas observée dans ce type de lésions [3,289,321].

#### **1.4.3.2. Néoplasie intra-épithéliale prostatique de haut-grade (HGPIIN)**

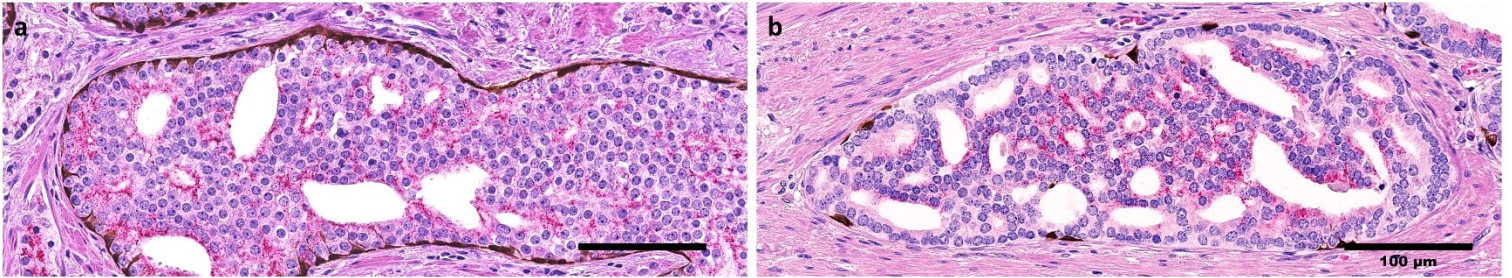
La distinction entre l'HGPIIN et l'IDC-P est primordiale puisque leur impact pronostique et leur prise en charge sont opposés (voir sections [1.2.4.1. Lésions précancéreuses](#) et [1.4.2. Impact clinique du carcinome intracanalair de la prostate et réponse au traitement](#)). Le premier requiert un suivi et une surveillance étroite alors que le second nécessite une thérapie immédiate [322]. Tout comme l'IDC-P, l'HGPIIN présente des atypies cellulaires et peut se manifester sous forme cribriforme. Toutefois, les contours des glandes d'HGPIIN sont généralement lisses et circulaires et les glandes ne sont pas aussi dilatées que les glandes d'IDC-P (taille similaire aux glandes bénignes alentours) [3,289]. De plus, les mitoses sont rares et il n'y a pas de comédonécrose dans l'HGPIIN [3]. Malgré ces critères morphologiques, dans certains cas, il est difficile de différencier l'IDC-P de bas grade de l'HGPIIN. Dans ces cas, des marqueurs moléculaires peuvent être employés pour différencier l'HGPIIN de l'IDC-P. Les deux marqueurs les plus utilisés sont le gène suppresseur de tumeur *PTEN* et l'oncogène *ERG*. La perte de *PTEN* et la surexpression d'*ERG* ont été observées dans 72% à 89% et 10% à 63% des lésions d'IDC-P et dans 0% à 10% et 0% à 16% des lésions de HGPIIN, respectivement [291,296,320,323-327].

Une description détaillée des marqueurs moléculaires associés à l'IDC-P se trouve dans la revue de littérature en annexe ([A1.4. Molecular markers of IDC-P](#)).

#### **1.4.3.3. Adénocarcinome invasif acinaire**

L'adénocarcinome infiltrant d'architecture cribriforme (grade 4) ou solide (grade 5) et de type comédonécrose (grade 5) peut ressembler à l'IDC-P; mais, contrairement à l'IDC-P, ces lésions ne sont pas délimitées par des cellules basales et peuvent être très larges [3,289]. Lorsque le diagnostic est incertain et que les cellules basales sont difficiles à identifier, notamment lorsque

les cellules basales sont éparses (**Figure 1–14**), des marqueurs pour les cellules basales (p63 et/ou HMWCK) peuvent être utilisés pour distinguer ces deux types de lésions malignes [3].



**Figure 1–14.** Exemples de carcinome intracanalair de la prostate avec une couche de cellules basales (en brun) presque intacte (**a**) et avec des cellules basales discontinues ou éparses (**b**). Coloration : IHC pour AMACR/p63/HMWCK, contre coloration : H&E. Échelle : 100 µm.

#### 1.4.3.4. Adénocarcinome canalaire

L'adénocarcinome canalaire de la prostate est un type de cancer observé dans environ 6% des cas de PCa [328]. Il peut se manifester par des patrons papillaires, cribriformes ou glandulaires, et plus rarement solides; et présente fréquemment des mitoses et occasionnellement de la nécrose [329-331]. Ces lésions possèdent souvent une morphologie caractéristique avec des cellules épithéliales allongées/cylindriques formant une couche de cellules d'aspect pseudostratifié (**Figure 1–13b**) [329,332]. Par ailleurs, à la différence de l'IDC-P, le carcinome canalaire papillaire possède un axe fibrovasculaire. Les lésions canalaire sont typiquement invasives mais dans de rares cas, elles se développent dans un canal et sont donc entourées par des cellules basales [332]. De plus, le carcinome canalaire peut co-exister avec l'IDC-P et, comme l'IDC-P, peut avoir une architecture cribriforme, ajoutant encore plus de complexité à son diagnostic [329,333].

#### 1.4.3.5. Carcinome urothélial intracanalair

Le carcinome urothélial de la vessie peut s'étendre jusqu'à la prostate en se propageant dans l'urètre prostatique puis les canaux prostatiques [332]. Dans cette situation particulière, des nids solides de carcinome urothélial remplissent les canaux prostatiques, imitant ainsi l'IDC-P de patron solide (**Figure 1–13c**) [332]. Les critères morphologiques suivant peuvent permettre de distinguer le carcinome urothélial de l'IDC-P : la présence de cellules avec des cytoplasmes squameux éosinophiles, des figures mitotiques plus nombreuses, souvent accompagnées

d'inflammation [289]. De plus, toutes les cellules du carcinome urothéliale expriment p63 et les HMWCK alors que dans l'IDC-P, seules les cellules basales les expriment [334]. Ces marqueurs peuvent être utilisés pour distinguer les deux lésions, ainsi que d'autres marqueurs, comme le PSA, PSMA et Nkx3.1, qui sont spécifiques aux cellules d'origine prostatique [334,335].

## Hypothèses et objectifs de recherche

Le carcinome intracanalair de la prostate (*intraductal carcinoma of the prostate*, IDC-P) est associé à la récurrence biochimique (*biochemical recurrence*, BCR), à la résistance à la castration, à la mortalité liée au cancer ([1.4.2.1. Impact clinique](#)) et à la résistance aux traitements standards ([1.4.2.2. Réponse au traitement](#)). Pourtant, chez près de 40% des hommes avec des IDC-P, une BCR n'est toujours pas détectée après cinq ans de suivi [336]. Ce qui nous fait penser qu'il y a des IDC-P plus agressifs que d'autres.

Nous émettons donc l'**hypothèse** que :

1. L'IDC-P possède des caractéristiques qui permettent de stratifier les patients en catégories pertinentes pour la prise en charge.

Plus précisément, nous pensons que :

- a. L'IDC-P possède un environnement immunitaire différent de celui du cancer de la prostate (*prostate cancer*, PCa) conventionnel et va fournir un aperçu pour mieux comprendre le rôle du système immunitaire dans la progression du PCa;
- b. Des critères morphologiques spécifiques sont associés à un mauvais pronostic et peuvent être utilisés pour séparer les patients qui progresseront rapidement (hommes avec des IDC-P à haut risque) de ceux avec une maladie moins agressive (hommes avec des IDC-P à faible risque).

Nos **objectifs** sont de :

1. Comparer l'infiltration leucocytaire dans l'IDC-P à celui dans le cancer invasif alentour et à celui dans le tissu bénin;
  - a. Explorer l'association entre la densité de cellules immunitaires dans l'IDC-P et le pronostic;
2. Identifier des critères morphologiques dans l'IDC-P qui sont associés à la BCR.

# Chapitre 2 – Infiltration leucocytaire du carcinome intracanalalaire de la prostate : une étude exploratoire

*Leukocytic infiltration of intraductal carcinoma of the prostate: an exploratory study*

Article publié dans *Cancers* (Basel). 2023 Apr 9; 15(8), 2217; doi: [10.3390/cancers15082217](https://doi.org/10.3390/cancers15082217).

## 2.1. Résumé en français

Le carcinome intracanalalaire de la prostate (*intraductal carcinoma of the prostate*, IDC-P) est un sous-type histologique agressif du cancer de la prostate (*prostate cancer*, PCa) détecté dans environ 20% des spécimens de prostatectomie radicale (*radical prostatectomie*, RP). Comme l'IDC-P a été associé aux décès liés au PCa et à une mauvaise réponse aux traitements standards, le but de cette étude était d'explorer l'infiltrat immunitaire de l'IDC-P. Des lames colorées à l'hématoxyline et à l'éosine de 96 patients atteints de PCa localement avancés ayant subi une RP ont été examinées pour identifier l'IDC-P. Les cellules immunitaires exprimant CD3, CD8, CD45RO, FoxP3, CD68, CD163, CD209 et CD83 ont été marquées par immunohistochimie. Pour chaque lame, le nombre de cellules positives par mm<sup>2</sup> dans le tissu bénin, la marge tumorale, le cancer et l'IDC-P a été calculé. L'IDC-P a été retrouvé chez 33 patients (34%). L'infiltrat immunitaire global entre les patients IDC-P positifs et IDC-P négatifs était similaire. Cependant, les lymphocytes T régulateurs FoxP3<sup>+</sup> ( $p < 0,001$ ), les macrophages CD68<sup>+</sup> et CD163<sup>+</sup> ( $p < 0,001$  pour les deux) et les cellules dendritiques CD209<sup>+</sup> et CD83<sup>+</sup> ( $p = 0,002$  et  $p = 0,013$ , respectivement) étaient moins abondants dans l'IDC-P par rapport au PCa adjacent. De plus, les patients ont pu être stratifiés en patients avec des IDC-P immunologiquement « froids » ou immunologiquement « chauds », selon la densité des cellules immunitaires dans l'IDC-P total ou dans les points chauds immunitaires (ou « *immune hotspots* »). Par ailleurs, les points chauds immunitaires CD68/CD163/CD209 ont prédit la progression à une maladie métastatique ( $p = 0,014$ ) et les décès liés au PCa ( $p = 0,009$ ), dans des analyses de survie de Kaplan-Meier. D'autres études dans de plus grandes cohortes sont nécessaires pour confirmer l'utilité clinique de l'évaluation de l'infiltrat immunitaire de l'IDC-P pour mieux prédire le pronostic des patients et améliorer l'immunothérapie chez les patients avec des PCa mortels.

## 2.2. Introduction

Despite the tremendous advances made in cancer immunotherapy in the last decade [238,337,338], the efficacy of immunological approaches remains modest for advanced prostate cancer (PCa) [274,279,339]. Sipuleucel-T, an autologous cellular-immunotherapy vaccine based on antigen-presenting cells (APC), was approved by the Food and Drug Administration (FDA) in 2010 for the treatment of advanced PCa; Sipuleucel-T offers a slight 4-month overall survival benefit compared to placebo in men with metastatic castration-resistant PCa (mCRPC) [258]. More recently, a checkpoint inhibitor, pembrolizumab, was approved by the FDA for cancers with high microsatellite instability or mismatch-repair deficiency, regardless of the tumor origin [340]. However, barely 3% of men with advanced PCa have such alterations [341]. Other immunotherapy drugs have yet to be approved.

Although ongoing clinical trials are exploring immunotherapy-based combinatorial strategies for advanced PCa, it is crucial to better understand the immune response associated with PCa to better identify men who could benefit from these approaches. Most studies evaluating the immune infiltrate of PCa focused on T lymphocytes and found that a higher expression of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) is associated with worse PCa prognosis [342-347].

Intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P) is an aggressive histologic entity of PCa associated with poor prognosis [320]. It is characterized by the proliferation of malignant prostatic epithelial cells in pre-existing prostatic ducts [91]. Current evidence suggests that most IDC-P arises from the retrograde invasion of conventional prostatic adenocarcinoma into prostatic ducts [285,297,348]. In a systemic review of 38 PCa cohorts, Porter et al. found that the prevalence of IDC-P increased from 2.1% in low-risk PCa patients to 36.7% in high-risk PCa patients, even reaching 56.0% in patients with metastatic disease [302]. Accordingly, men with IDC-P tend to have more advanced PCa, as shown by their higher pathologic (p) T stages and higher Gleason scores [284,303,304]. Furthermore, IDC-P still independently predicts biochemical recurrence (BCR) and the development of metastasis and CRPC [285,302,306,312] and it has been linked to poor responses to treatment and worse PCa-specific and overall survival [292,293,307,309,311,349-351]. There is currently no consensus on the clinical management of IDC-P [352-354].



Because of its association with lethal PCa and its resistance to current therapies, we believe that the immune infiltrate of IDC-P is distinct from that in surrounding tissues, and that its evaluation will allow a better understanding of the microenvironment of advanced PCa. Here, we show that the immune infiltrate of IDC-P is different from that found in the adjacent invasive carcinoma. In addition, we found that the immune infiltrate in IDC-P can be categorized as “cold”, “intermediate” or “hot”, depending on the immune-cell densities averaged in the total IDC-P or in IDC-P-immune hotspots. We found that the patients with “hot” CD68-, CD163- and CD209-immune hotspots experienced shorter metastasis-free and PCa-specific survival.

## **2.3. Materials and methods**

### **2.3.1. Patients and ethics**

Radical prostatectomy (RP) specimens from 96 men with locally advanced hormone-naïve PCa who underwent surgery between 1996 and 1998 at the CHU de Québec-Université Laval were included in this study. Locally advanced PCa was defined as either pT3- or pT4-stage PCa or pT2-stage PCa with positive margins. Each participant signed an informed consent form to participate at the local cancer biobank (URO-1 biobank), allowing the use of their tissues and clinical and pathological data for cancer research. This study was conducted following approval by the CHU de Québec-Université Laval Research Ethics Committee (research project 2012-1059) and the CHUM Research Ethics Committee (research project MP-02-2018-7450).

### **2.3.2. Selection of the representative blocks and identification of intraductal carcinoma of the prostate**

Hematoxylin and eosin (H&E) slides were reviewed to select one representative formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue block per patient. The corresponding H&E slide had to be representative of the grade group (GG) assigned at diagnosis, containing between 30% and 70% of cancer and as small a number of calcifications as possible; furthermore, the selected block had to allow at least eight additional tissue sections.

The presence of IDC-P was assessed on the selected H&E slides by one trained observer (M.-K.D.) and a pathologist with expertise in IDC-P (D.T.). Intraductal carcinoma of the prostate was

identified when cancer cells invaded the lumen of obvious pre-existing ducts to form dense-to-solid cribriform patterns or loose patterns, provided that either marked pleomorphism, frequent mitotic activity, comedonecrosis or abnormally large nuclei were present, as defined by Guo and Epstein [285].

### 2.3.3. Immunohistochemistry

Consecutive 5- $\mu$ m-thick sections of the selected FFPE block were cut, dried overnight at 37 °C and deparaffinized. Heat-induced antigen retrieval was performed using a PT Link (Dako, Burlington, ON, Canada) at 92 °C for 20 min in citrate buffer, pH 6.1 (EnVision™ FLEX, K8004, Dako), for CD3, CD45RO, CD68 and CD209 stainings or Tris/EDTA, pH 9 (EnVision™ FLEX, K8005, Dako), for CD8, FoxP3, CD163 and CD83 stainings. Slides were then incubated for 10 min in 3% hydrogen peroxide. Using the IDetect Super Stain Horseradish Peroxidase (HRP) polymer kit (ID Labs, London, ON, Canada), slides were first incubated for 10 min with Super Block blocking buffer and then with primary antibodies at room temperature (**Table 2–1**). With washes between each step, slides were then incubated for 30 min with HRP-polymer-conjugated antibodies and for 5 min with 3,3'-diaminobenzidine (DAB) tetrahydrochloride solution. Lastly, slides were counterstained with hematoxylin, dehydrated and mounted with MM 24 low-viscosity mounting medium (Leica Microsystems, Hurham, NC, USA).

**Table 2–1.** Primary antibodies used in this study.

Antibody	Clone	Company	Dilution	Incubation time
Anti-CD3	SP7	Abcam, Toronto, ON, Canada	1/500	Overnight
Anti-CD8	4B11	Novocastra, Newcastle upon Tyne, England	1/600	Overnight
Anti-CD45RO	UCLH-1	Abcam, Toronto, ON, Canada	1/6000	Overnight
Anti-FoxP3	236A/E7	Abcam, Toronto, ON, Canada	1/600	Overnight
Anti-CD68	KP1	Abcam, Toronto, ON, Canada	1/800	2 hours
Anti-CD163	2G12	Abcam, Toronto, ON, Canada	1/2000	1 hour
Anti-CD209	120612	R&D Systems, Minneapolis, MN, USA	1/80	Overnight
Anti-CD83	1H4B	Novocastra, Newcastle upon Tyne, England	1/200	Overnight

### 2.3.4. Quantification of immunohistochemistry staining

The immunohistochemistry (IHC) slides were scanned using a Nanozoomer whole-slide scanner (Hamamatsu, Bridgewater, NJ, USA).

For each slide, 10 high-power fields at 200× magnification (0.460 mm<sup>2</sup>), or less when less tissue was available, were randomly selected in isolated benign areas (containing ducts), tumor margins (areas on the periphery of the tumor) and within the cancer. The number of positive cells in each area was then calculated using one of the two following methods: manual use of the NDP.view2 software (Hamamatsu Photonics) by two trained observers (O.E.M. and H.L.); or manually by one trained observer (O.E.M) and in a semi-automatic fashion through the Calopix software (TRIBVN Healthcare, Châtillon, France). Ten percent of the slides were reviewed by an experienced pathologist (B.T.).

Positive cells in IDC-P were quantified using the NDP.view2 software (Hamamatsu Photonics). On slides containing IDC-P, each individual IDC-P lesion was encircled using the freehand-region tool in NDP.view2, and positive cells were manually counted by a trained observer (M.-K.D.) to obtain the number of positive cells/mm<sup>2</sup> for each IDC-P lesion and the mean number of positive cells/mm<sup>2</sup> in the total IDC-P of the slide. Immune hotspots were defined as the highest number of positive cells/mm<sup>2</sup> in IDC-P lesions with an area greater than the median area of all IDC-P lesions on the slide. Slides were reviewed by an experienced pathologist (D.T.).

The observers were blinded to the clinical outcomes of the patients.

### **2.3.5. Clinical-data collection and endpoints**

Age, pre-operative prostate-specific antigen (PSA) serum concentrations, pT stage, modified Gleason grading system/GG grading [91,99] and margin status were collected from patient files. Clinical follow-up data were collected from the day of RP. Biochemical recurrence was defined as two consecutive PSA test results over 0.3 ng/mL after RP, one PSA test result over 0.3 ng/mL after post-operative treatment or any increase in serum PSA that required post-operative treatment by a urologist. Castration-resistant prostate cancer was defined as disease progression, including rise in serum PSA and development of metastases, despite castrate levels of serum testosterone [355]. Definitive androgen deprivation therapy (ADT) was defined as any hormone therapy that was given to a patient as primary treatment (not neoadjuvant or adjuvant) after suspected or confirmed disease progression.

### 2.3.6. Statistical analysis

Data analyses were conducted using IBM SPSS Statistics for Windows, version 28.0 (Armonk, NY, USA: IBM Corp.), according to the REMARK guidelines [356]. Descriptive statistical analysis for quantitative variables used mean, median, standard deviation, standard error, inter-quartile range (IQR) and, for qualitative variables, percentage. Univariate analyses were performed using the independent-samples *t*-test, Mann–Whitney *U* test, Welch’s *t*-test, Pearson’s chi-square test, Fisher’s exact test and the paired-samples sign test. To evaluate the correlation between cell densities, we performed Pearson correlations [357]. The Benjamini–Hochberg procedure was used to control for multiple comparisons with a 10% false-discovery rate. Time to BCR, metastasis, CRPC, definitive ADT, PCa-specific death and overall survival were measured from the date of RP until the date of the event or last follow-up date; these events were evaluated using the Kaplan–Meier method and log-rank test. Statistical significance was established for two-sided *p*-values < 0.05.

Bar charts were generated in Excel (Microsoft Corporation, version 18.2301.1131.0). Survival curves were created in IBM SPSS Statistics. Other charts were built using R (R Core Team, 2022, Vienna, Austria) and RStudio (RStudio Team, 2022, Boston, MA, USA). The ggplot2 [358] and ggbreak [359] packages were used to generate jitter plots and parallel coordinates charts, while the plot function was used to generate correlation matrix and the heatmap.2 function of the gplots package [360] was used for heatmap and hierarchical clustering.

## 2.4. Results

### 2.4.1. Clinicopathological characteristics of patients

The clinicopathological characteristics of the 96 patients included in this study are presented in **Table 2–2**. A total of 33 patients (34%) had IDC-P on their selected block. The patients in the IDC-P-negative group and in the IDC-P-positive group had similar median follow-ups of 15.8 years and 14.3 years (*p* = 0.105), respectively. As expected, the presence of IDC-P was associated with higher pT stages (*p* < 0.001) and GGs (*p* = 0.001). Indeed, the pT3b and pT4 stages were found in 58% (19/33) of the patients in the IDC-P-positive group compared to 21% (13/63) of the patients in the

IDC-P-negative group. Furthermore, high grades (GGs 4 and 5) were diagnosed in 36% (12/33) of the patients from the IDC-P-positive group compared to 10% (6/63) of the patients from the IDC-P-negative group. Accordingly, the men with IDC-P had higher rates of lymph-node involvement (42% vs. 21%,  $p = 0.032$ ). Moreover, IDC-P was associated with the development of BCR (73% vs. 35%,  $p < 0.001$ ), CRPC (36% vs. 8%,  $p < 0.001$ ) and metastases (39% vs. 6%,  $p < 0.001$ ). In addition, IDC-P was associated with higher rates of PCa-specific death (33% vs. 5%,  $p < 0.001$ ) and overall death (73% vs. 41%,  $p = 0.005$ ). No statistically significant differences were found in the rates of positive margins ( $p = 1.000$ ) and lymphovascular invasion ( $p = 0.332$ ) between the two groups.

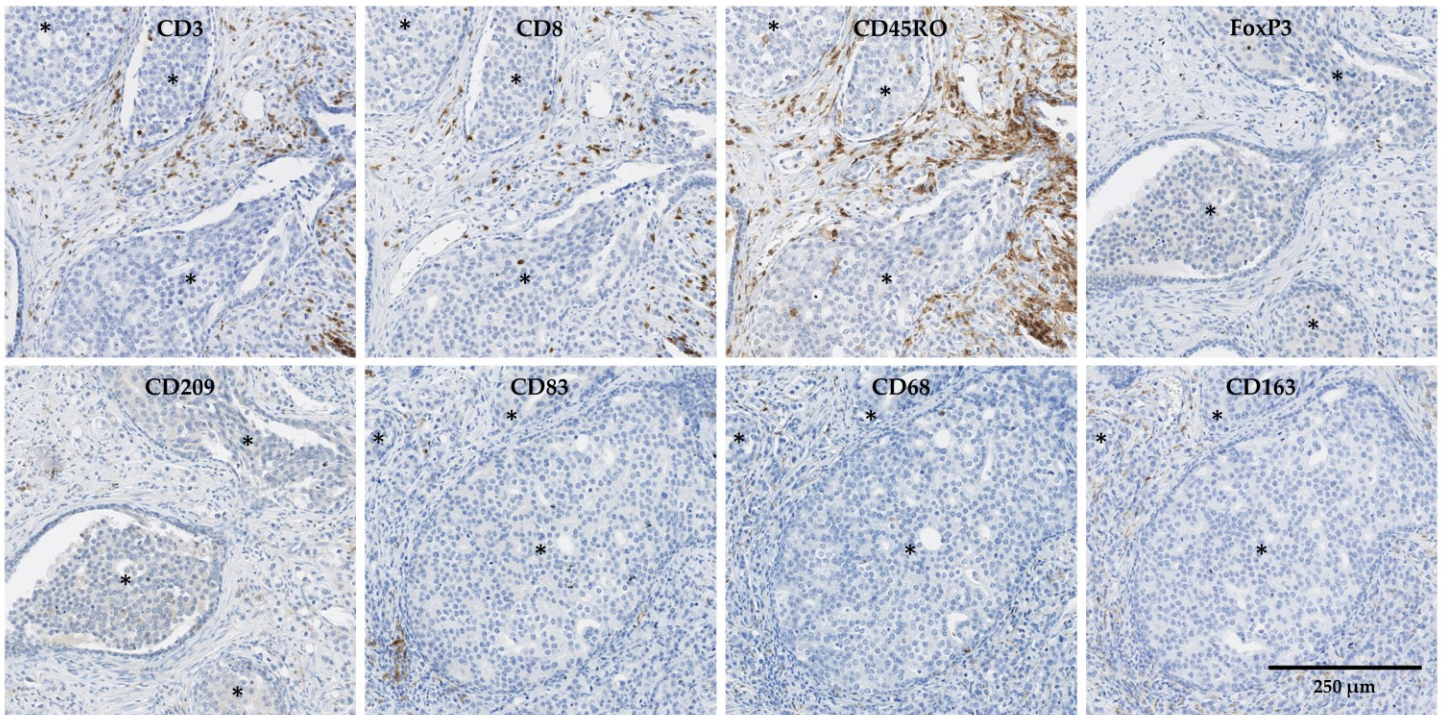
**Table 2–2.** Clinicopathological characteristics of patients according to the presence or absence of intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P) on representative slides.

Characteristics	Total cohort <i>n</i> = 96 (%)	IDC-P status		<i>p</i> -Value
		Negative <i>n</i> = 63 (%)	Positive <i>n</i> = 33 (%)	
Mean age at diagnostic (SD)	63.5 (5)	62.8 (5)	64.9 (5)	0.064 <sup>a</sup>
Mean pre-operative PSA (SD)	13.4 (14)	13.6 (16)	12.9 (10)	0.889 <sup>b</sup>
Stage pT, <i>n</i> (%)				<b>&lt; 0.001<sup>b</sup></b>
pT2	32 (33)	26 (41)	6 (18)	
pT3a	32 (33)	24 (38)	8 (24)	
pT3b	30 (31)	13 (21)	17 (52)	
pT4	2 (2)	0	2 (6)	
Grade group, <i>n</i> (%)				<b>0.001<sup>c</sup></b>
1	45 (47)	37 (59)	8 (24)	
2	24 (25)	14 (22)	10 (30)	
3	9 (9)	6 (10)	3 (9)	
4	10 (10)	3 (5)	7 (21)	
5	8 (8)	3 (5)	5 (15)	
Lymph-node involvement, <i>n</i> (%)	27 (28)	13 (21)	14 (42)	<b>0.032<sup>d</sup></b>
Lymphovascular invasion, <i>n</i> (%)	25 (26)	14 (22)	11 (33)	0.332 <sup>d</sup>
Positive margins, <i>n</i> (%)	75 (78)	49 (78)	26 (79)	1.000 <sup>d</sup>
Biochemical recurrence, <i>n</i> (%)	46 (48)	22 (35)	24 (73)	<b>&lt; 0.001<sup>d</sup></b>
Castration-resistant PCa, <i>n</i> (%)	17 (18)	5 (8)	12 (36)	<b>&lt; 0.001<sup>d</sup></b>
Metastasis, <i>n</i> (%)	17 (18)	4 (6)	13 (39)	<b>&lt; 0.001<sup>d</sup></b>
PCa-related death, <i>n</i> (%)	14 (15)	3 (5)	11 (33)	<b>&lt; 0.001<sup>e</sup></b>
Overall death, <i>n</i> (%)	50 (52)	26 (41)	24 (73)	<b>0.005<sup>d</sup></b>
Median follow-up in years (IQR)	15.5 (10–19)	15.8 (10–19)	14.3 (8–18)	0.105 <sup>b</sup>

IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; SD: standard deviation; PSA: prostate-specific antigen; PCa: prostate cancer; IQR: inter-quartile range. Bold entities indicate statistically significant *p*-values. Independent samples *t*-test, <sup>b</sup> Mann–Whitney *U* test; <sup>c</sup> Welch’s *t*-test; <sup>d</sup> Pearson’s chi-square; <sup>e</sup> Fisher’s exact test.

#### 2.4.2. Quantification of CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup>, FoxP3<sup>+</sup>, CD68<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup>, CD209<sup>+</sup> and CD83<sup>+</sup> cells in benign tissues, margins, cancer and IDC-P

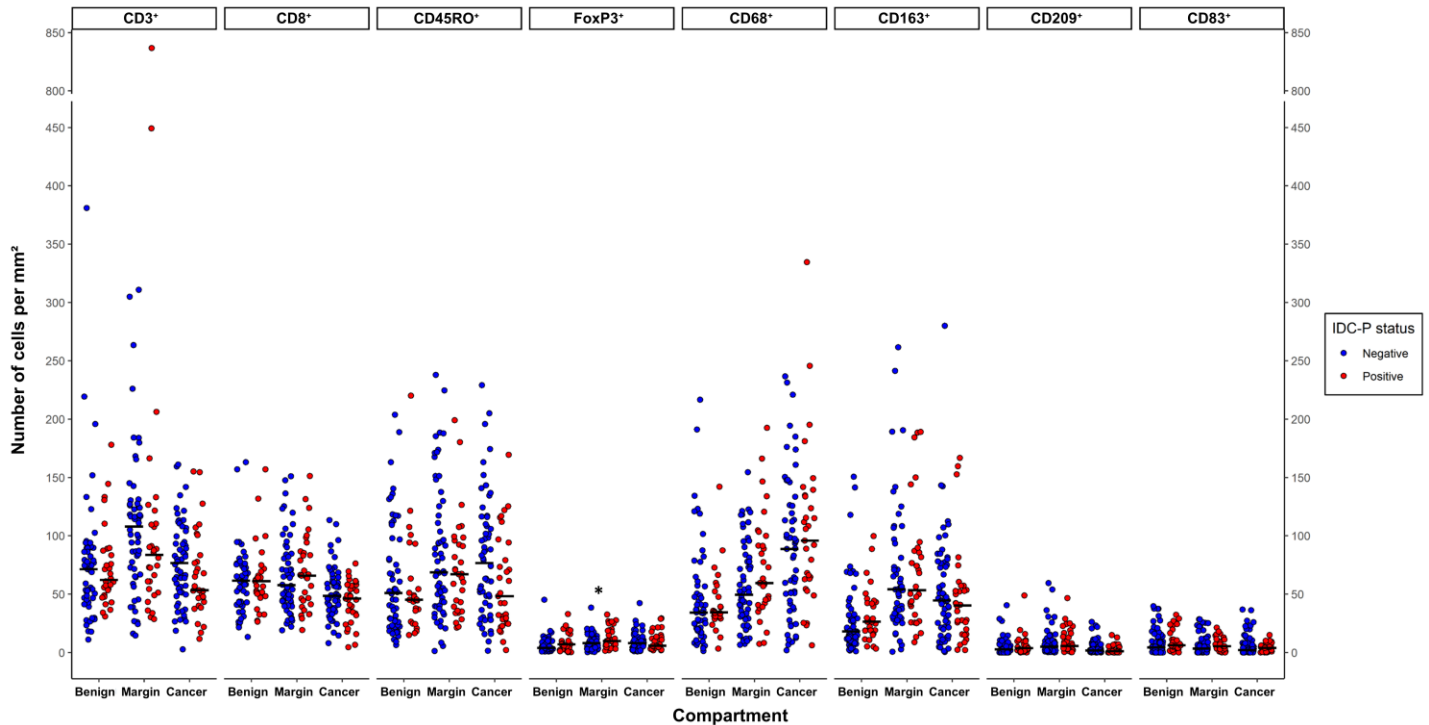
The immune cells were detected through the immunohistochemical staining of CD3 (T lymphocytes), CD8 (cytotoxic T lymphocytes), CD45RO (memory T cells), FoxP3 (regulatory T cells), CD68 (macrophages), CD163 (M2-type macrophages), CD209 (immature dendritic cells) and CD83 (mature dendritic cells) (**Figure 2–1**). The FoxP3 expression was localized in the nuclei of the T cells, whereas CD3, CD8, CD45RO, CD209, CD83, CD68 and CD163 expression was localized in the cell membrane. These eight markers were quantified in isolated benign tissues, cancer margins and within the whole cancer area (regions with invasive carcinoma selected randomly and independently of the presence of IDC-P).



**Figure 2–1.** Example of immunohistochemical staining for CD3, CD8, CD45RO, FoxP3, CD209, CD83, CD68 and CD163 in cancer, including intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P, asterisks), of the same tissue block. Scale bar: 250 μm.

The average cell densities (mean number of positive cells per mm<sup>2</sup>) ranged from 3 to 836 for CD3, 4 to 163 for CD8, 1 to 238 for CD45RO, 0 to 45 for FoxP3, 1 to 335 for CD68, 0 to 280 for CD163, 0 to 59 for CD209 and 0 to 40 for CD83 (**Figure 2–2**). The cell densities tended to be higher in the

margins compared to the benign and cancer compartments, except for the CD68<sup>+</sup> macrophages, which tended to be more abundant in the cancer compartment and the CD83<sup>+</sup> dendritic cells in benign tissues ( $p > 0.05$ ). Furthermore, no significant differences were seen in the mean ranks of the immune cells between the IDC-P-negative and the IDC-P-positive samples in the same compartment, excluding the FoxP3<sup>+</sup> cells, which were more abundant in the margins of the IDC-P-positive samples (mean ranks: 55.0 vs. 41.0,  $U = 608$ ,  $p = 0.016$ ) (**Figure 2–2**).



**Figure 2–2.** Leucocyte densities depending on IDC-P status. Dots represent individual patients. Horizontal bars represent medians. For each compartment, mean ranks according to IDC-P status were compared using the Mann–Whitney  $U$  test. \*  $p = 0.016$ .

Next, to further evaluate the inflammation associated with IDC-P, we specifically assessed the immune infiltrate within the IDC-P areas (**Figure 2–1**). The mean area of IDC-P per slide was 6.5 mm<sup>2</sup> and the median was 3.2 mm<sup>2</sup>, with a minimum area of 0.1 mm<sup>2</sup> and a maximum area of 25.6 mm<sup>2</sup>. The immune infiltrate of IDC-P varied broadly between samples for CD3, CD8, CD45RO and CD68, with median (range) counts of 48 (6–244)/mm<sup>2</sup>, 39 (5–174)/mm<sup>2</sup>, 38 (8–150)/mm<sup>2</sup> and 44 (12–211)/mm<sup>2</sup>, respectively. Only a small portion of macrophages in the IDC-P seemed to express CD163, with a median count of 4 (0–51)/mm<sup>2</sup>. By contrast, FoxP3<sup>+</sup>, CD209<sup>+</sup> and CD83<sup>+</sup> cells were

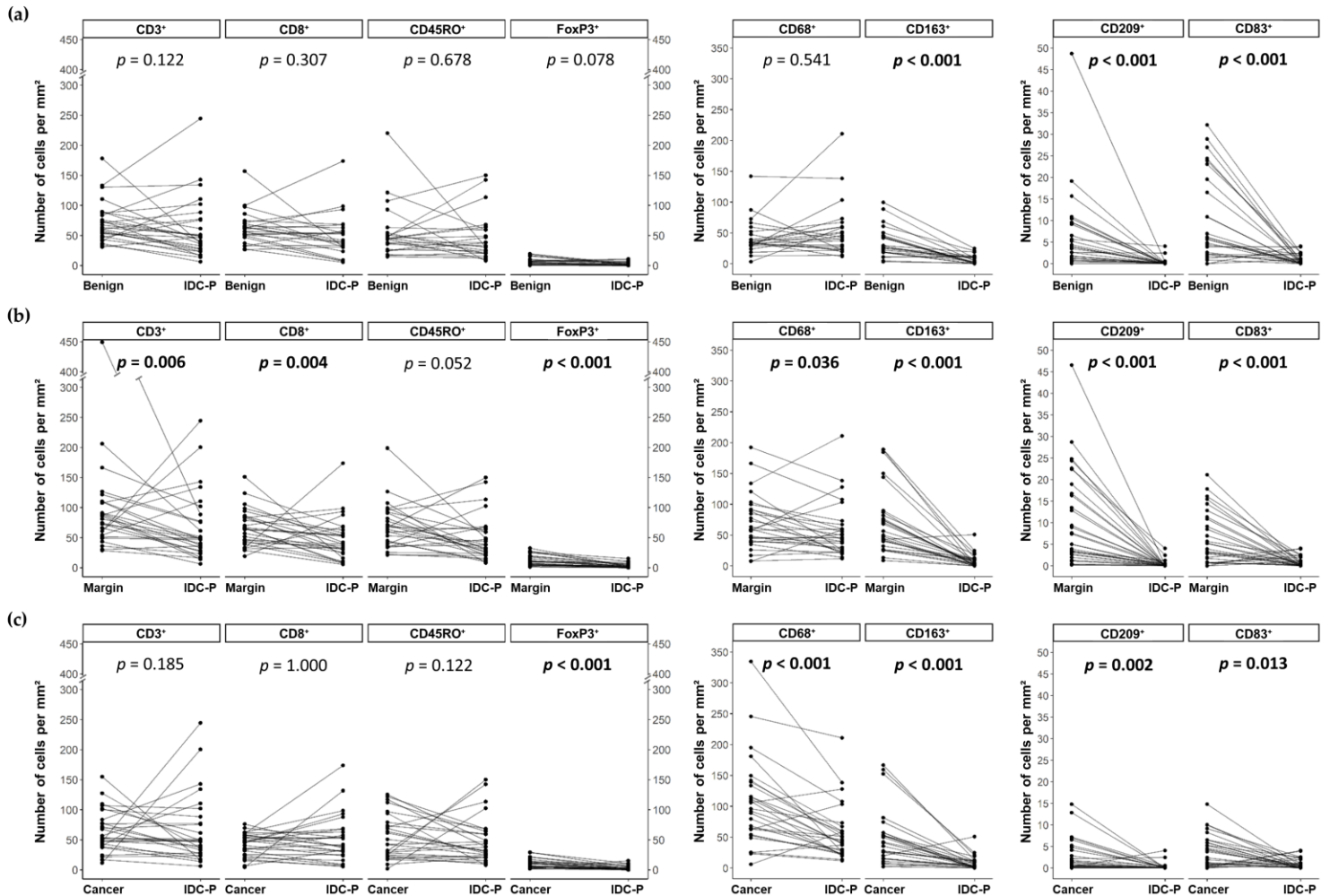
scarce in the IDC-P, ranging from 0 to 15 cells/mm<sup>2</sup>, 0 to 4 cells/mm<sup>2</sup> and 0 to 4 cells/mm<sup>2</sup>, respectively.

When we compared the cell densities in the IDC-P to the other compartments, we found significant differences. Paired-samples sign tests were conducted to assess the variations in the mean number of immune cells within the same slide and the results are presented in **Figure 2–3**. Regardless of the compartment, benign, margins or cancer, CD163<sup>+</sup> macrophages ( $p < 0.001$  for all three compartments) and CD209<sup>+</sup> ( $p < 0.001$  for benign and margins and  $p = 0.002$  for cancer) or CD83<sup>+</sup> ( $p < 0.001$  for benign and margins and  $p = 0.013$  for cancer) dendritic cells were typically less abundant in the IDC-P (**Figure 2–3**). Furthermore, CD68<sup>+</sup> macrophages ( $p = 0.036$  for margins and  $p < 0.001$  for cancer) and FoxP3<sup>+</sup> regulatory T lymphocytes ( $p < 0.001$  for both) were typically less abundant in the IDC-P compared to margins and cancer (**Figure 2–3b** and **c**). Notably, except for the CD68<sup>+</sup> macrophages, which were generally more abundant in the cancer than in the tumor margins, leucocytes were typically more abundant in the tumor margins than in the cancer (**Figure 2–3b** and **c**, and supplementary **Figure 2–S1** and **Figure 2–S2**).

Interestingly, no significant differences were found between the variations in the mean number of T lymphocytes (CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD45RO<sup>+</sup> and FoxP3<sup>+</sup>) and CD68<sup>+</sup> macrophages in the IDC-P compared to the benign tissues (**Figure 2–3a**). Indeed, as shown in **Figure 2–3**, the decrease in the densities of the T cells in the IDC-P was more balanced, with a considerable number of patients having more positive cells in IDC-P tissues compared to benign tissues. Furthermore, most of the patients had more CD3<sup>+</sup> ( $p = 0.006$ ) and CD8<sup>+</sup> ( $p = 0.004$ ) T cells and tended to have more CD45RO<sup>+</sup> T cells ( $p = 0.052$ ) in the margins compared to IDC-P (**Figure 2–3b**); while the CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD45RO<sup>+</sup> cell densities were less often decreased in IDC-P tissues compared to cancer or benign tissues (**Figure 2–3a** and **c**), resulting in a non-significant difference between the two compartments. Notably, we observed CD45RO<sup>+</sup> cell clusters surrounding the IDC-P tissues in 56% (15/27) of the cases and the number of CD45RO<sup>+</sup> cells/mm<sup>2</sup> in the IDC-P increased with the presence of surrounding CD45RO<sup>+</sup> cell clusters (mean CD45RO<sup>+</sup>/mm<sup>2</sup>  $\pm$  SD:  $63 \pm 45$  vs.  $32 \pm 19$ ,  $p = 0.025$ ).



Parallel coordinate plots showing the changes in cell density for each IDC-P-positive patient in the general cancer or in the margins compared to the other compartments are available in the supplementary materials (supplementary **Figure 2–S1** and **Figure 2–S2**).

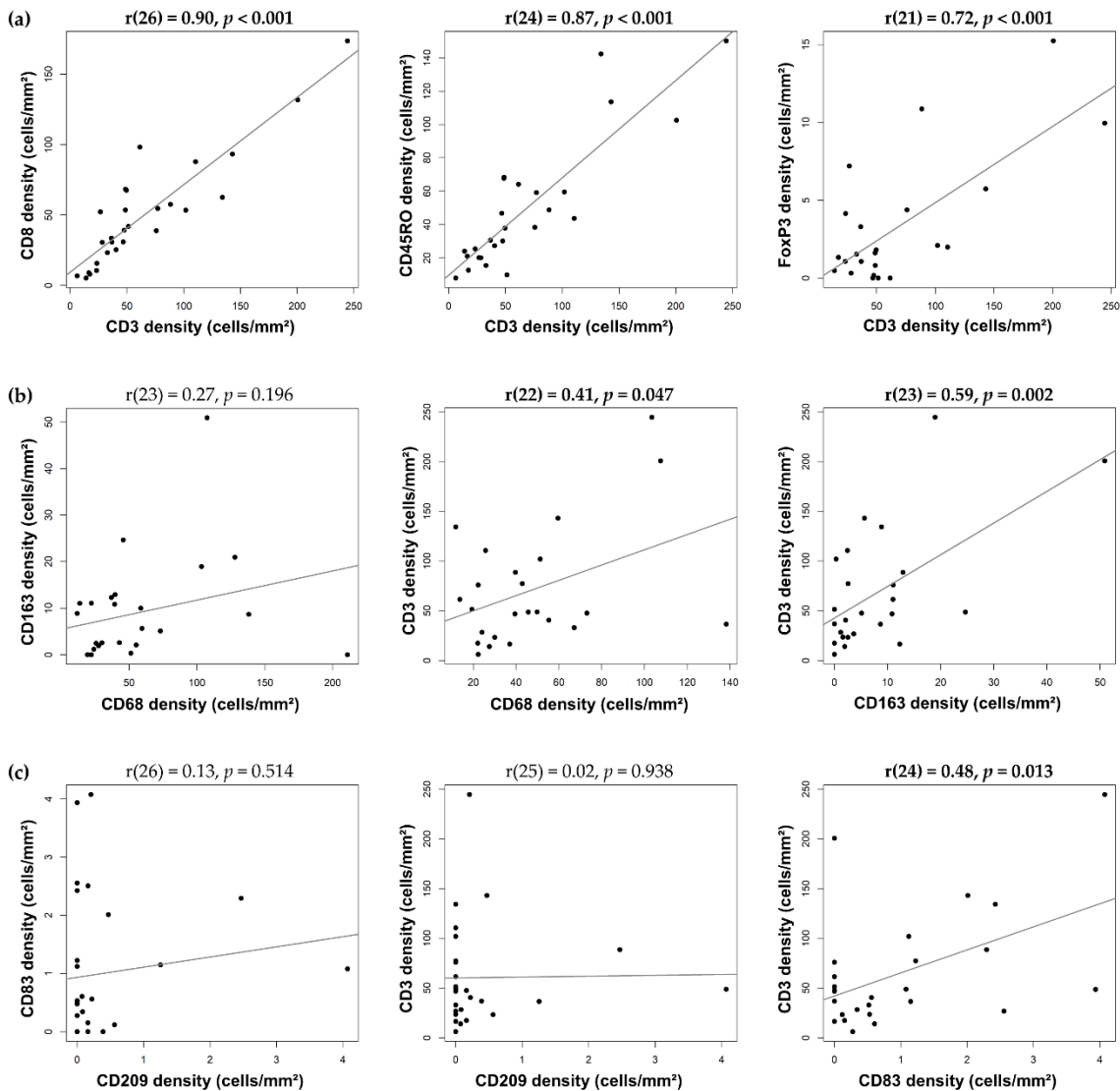


**Figure 2–3.** Parallel coordinate plots showing the changes in cell density for each IDC-P-positive patient between the IDC-P compartment and benign tissues (a), margins (b) and cancer (c). Paired-samples sign tests were performed. Bold entities indicate statistically significant *p*-values. IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate.

### 2.4.3. Correlation between immune-cell densities in IDC-P

Unsurprisingly, we found a strong correlation between the CD3<sup>+</sup>-T-lymphocyte densities and those of the CD8<sup>+</sup> cytotoxic T lymphocytes ( $r = 0.90$ ,  $p < 0.001$ ), CD45RO<sup>+</sup> memory T lymphocytes ( $r = 0.87$ ,  $p < 0.001$ ) and FoxP3<sup>+</sup> regulatory T lymphocytes ( $r = 0.72$ ,  $p < 0.001$ ) in the IDC-P tissues (**Figure 2–4a**). The CD8<sup>+</sup> and CD45RO<sup>+</sup> T-cell densities were also strongly correlated in the IDC-P tissues ( $r = 0.80$ ,  $p < 0.001$ ). The CD163<sup>+</sup>-M2-type-macrophage densities were not significantly

correlated with the CD68<sup>+</sup> cells ( $r = 0.27, p = 0.196$ ; **Figure 2–4b**), nor were the CD209<sup>+</sup> and CD83<sup>+</sup> dendritic cells ( $r = 0.13, p = 0.514$ ; **Figure 2–4c**). Interestingly, the T-lymphocyte densities in the IDC-P tissues were moderately correlated with the CD163<sup>+</sup>-M2-macrophage densities ( $r = 0.59, p = 0.002$ ; **Figure 2–4b**) and, albeit to a lesser extent, with those of the CD83<sup>+</sup> mature dendritic cells ( $r = 0.48, p = 0.013$ ) (**Figure 2–4c**) and CD68<sup>+</sup> macrophages ( $r = 0.41, p = 0.047$ ; **Figure 2–4b**) but not with those of the CD209<sup>+</sup> immature dendritic cells ( $r = 0.02, p = 0.938$ ; **Figure 2–4c**).



**Figure 2–4.** Linear regression and Pearson correlation for cell densities between the different cell types in IDC-P. Correlation between T cells and T cell subtypes (a), macrophages and T cells (b) and dendritic cells and T cells (c). Dots represent individual patients. Bold entities indicate statistically significant correlation.

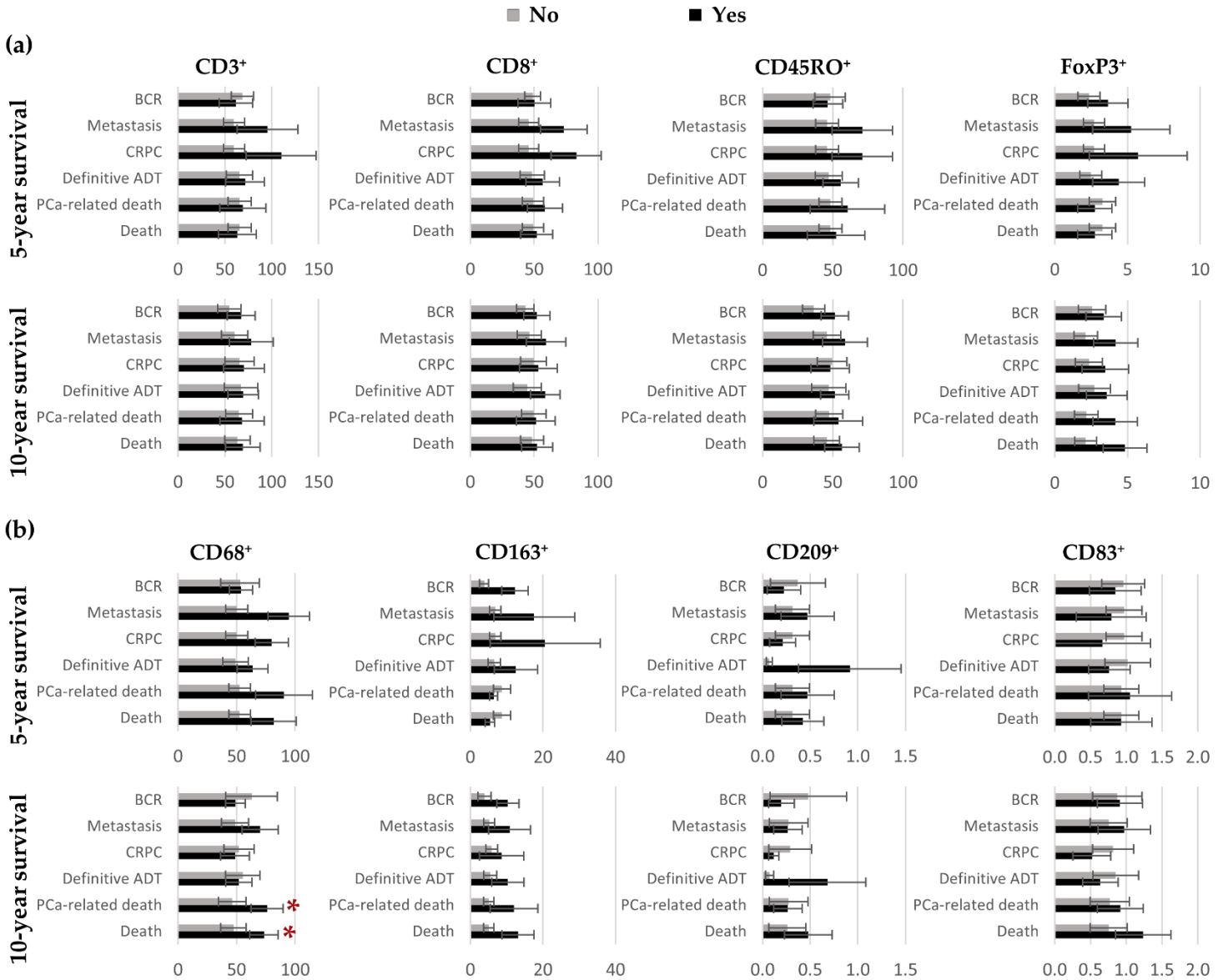
#### 2.4.4. Clustering of IDC-P-positive patients according to immune-cells densities

The mean numbers of positive cells per mm<sup>2</sup> according to the patients' outcomes after five and 10 years of follow-up are presented in **Figure 2–5**. No significant differences were seen in the mean ranks of the leukocytes in the IDC-P tissues between patients with different outcomes, except for CD68<sup>+</sup> cells, which were more abundant in the men who died of their PCa (mean ranks: 18.0 vs. 10.2,  $U = 21$ , adjusted  $p = 0.047$ ) and the men who died regardless of cause (mean ranks: 17.8 vs. 12.7,  $U = 40$ , adjusted  $p = 0.047$ ) within 10 years (**Figure 2–5b**).

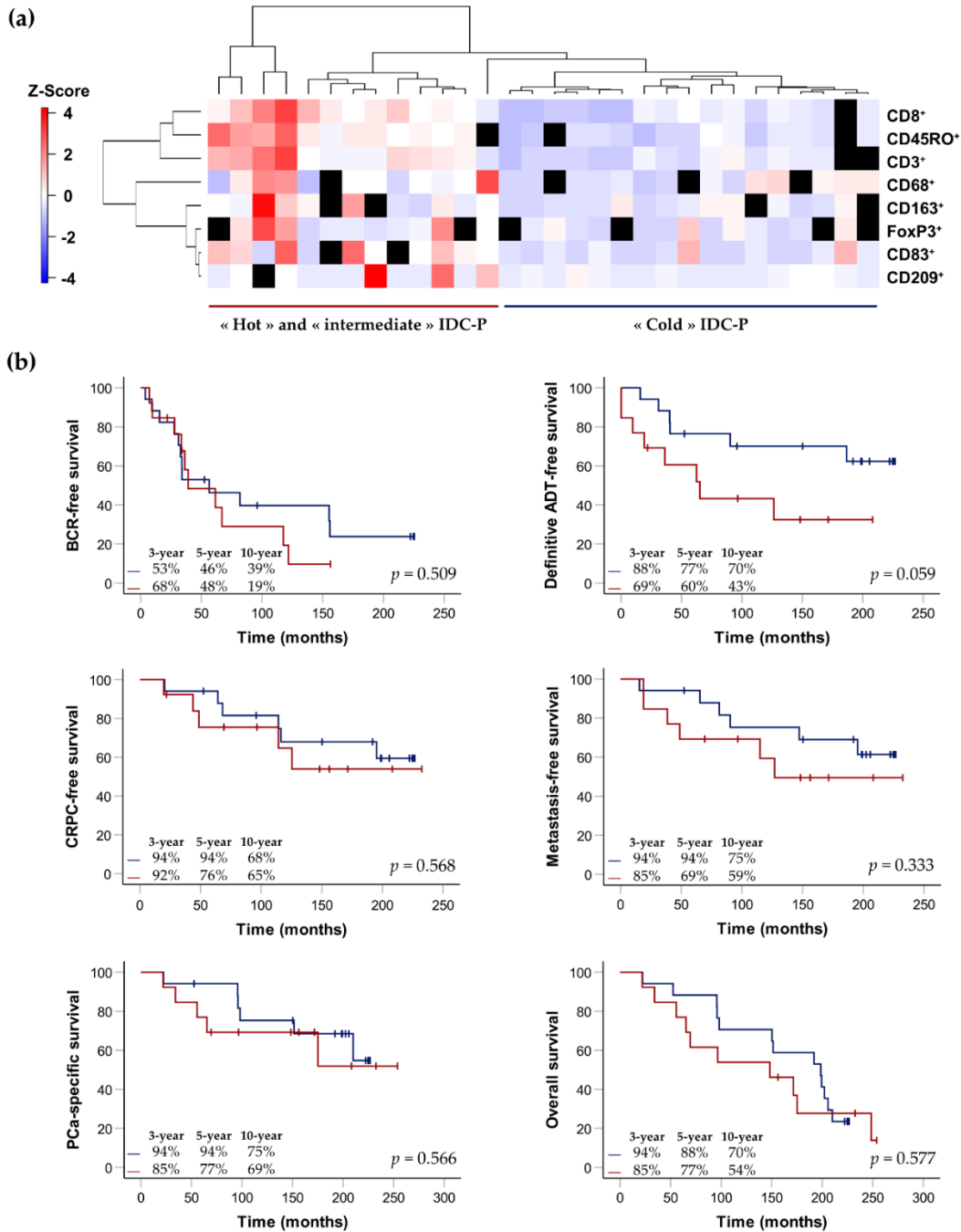
We further explored the immune infiltrate of IDC-P by examining the immune signatures of each patient according to the average immune-cell densities in the total IDC-P. Three patients were excluded due to the absence of more than three IHC slides. The mean numbers of positive immune cells per mm<sup>2</sup> in the IDC-P tissues were standardized using z-score normalization to generate a heatmap representing the unsupervised hierarchical clustering of both the rows and the columns. Two main groups were identified according to the expression of the eight immune-cell markers: men with a low expression of immune markers, hereafter referred to as “cold” IDC-P; and men with a higher expression of immune markers, hereafter referred to as “hot/intermediate” IDC-P (**Figure 2–6**).

The median follow-up of the 30 patients with IDC-P was 164 months (IQR: 89–209). We generated Kaplan–Meier curves to explore the association between the expression of the immune markers and the clinical outcomes, according to the two groups: “cold” or “hot/intermediate” IDC-P (**Figure 2–6b**). Although, in this small cohort, statistical significance was not reached, there was a trend toward better prognoses for patients with immunologically “cold” IDC-P. Only 19% of the men with “hot/intermediate” IDC-P were BCR-free after 10 years of follow-up compared to twice as many men with “cold” IDC-P. The need for definitive ADT, which is an indication of recurrence, was also lower in the “cold” IDC-P group (10-year definitive ADT-free survival rates: 70% for the “cold” group vs. 43% for the “hot/intermediate” group). At ten years of follow-up, 32% of the patients with “cold” IDC-P developed CRPC, 25% developed metastasis and 25% died of their PCa compared to 35%, 41% and 31% of the patients with “hot/intermediate” IDC-P, respectively.

Finally, under one third of the men with “cold” IDC-P died within 10 years of follow-up, compared to nearly half of the patients with “hot/intermediate” IDC-P.



**Figure 2–5.** Bar charts representing the mean number of positive T cells (a) and antigen-presenting cells (b) in the total IDC-P according to patients’ outcomes five and ten years post-surgery. Error bars represent standard errors. For each cell marker, mean ranks according to survival status were compared using the Mann–Whitney *U* test and Benjamini–Hochberg corrections were applied to control for multiple comparisons. \* Statistically significant *p*-values. ADT: androgen-deprivation therapy; BCR: biochemical recurrence; CRPC: castration-resistant prostate cancer; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; PCa: prostate cancer.



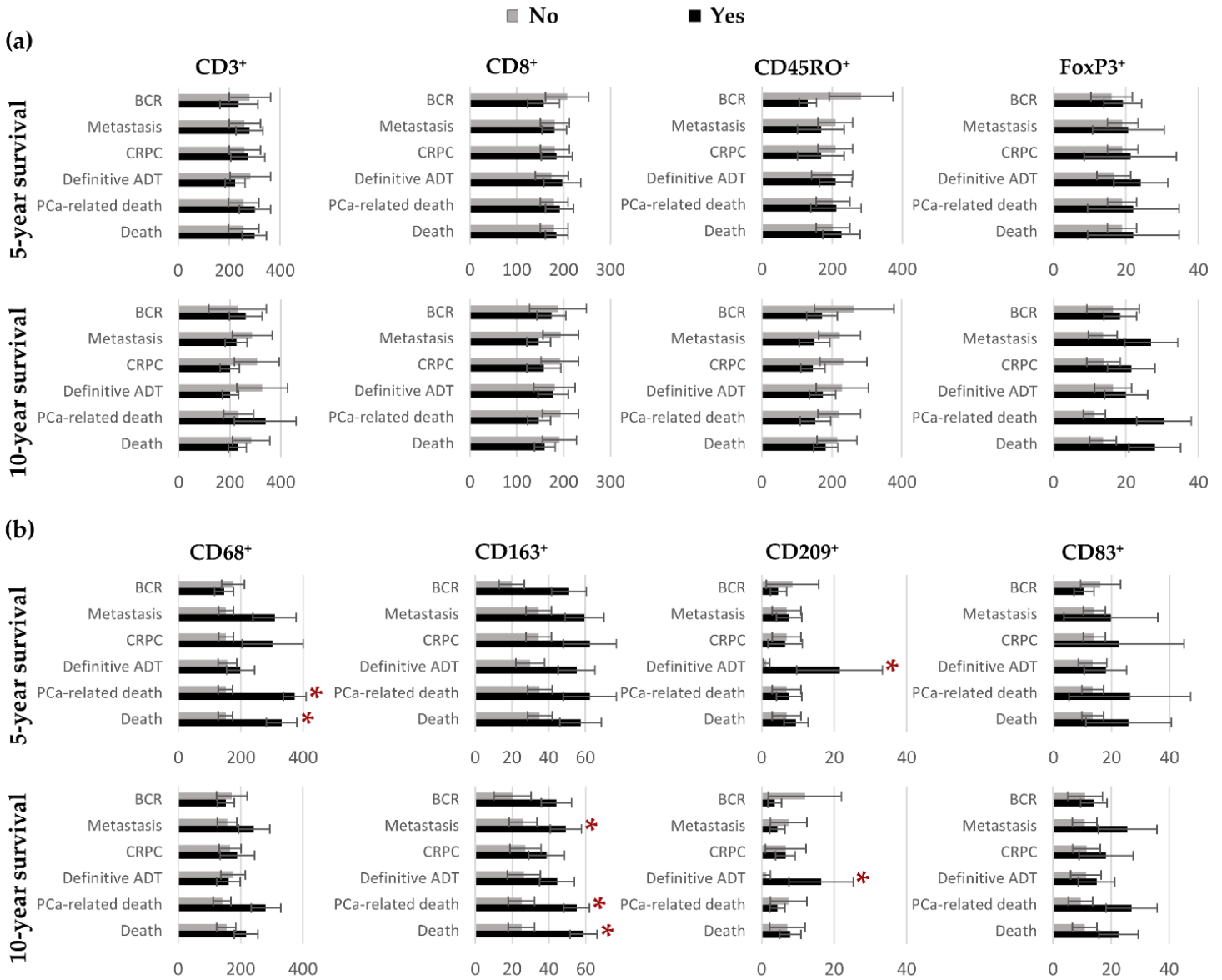
**Figure 2–6.** Hierarchical clustering of the eight immune-cell markers according to average cell densities in the total IDC-P (a) and Kaplan–Meier curves exploring survival rates of patients with immunologically “cold” IDC-P (blue) and patients with immunologically “hot/intermediate” IDC-P (red) (b). (a) On the left side: cell-density scale from dark blue (low) to dark red (high). Each row corresponds to a patient and missing slides/quantification data are represented by black squares. The IDC-P-positive patients with more than three missing quantification data were excluded, bringing the total number of patients to 30. (b) The *p*-values were calculated using the log-rank test. Three-, five- and ten-year survival rates are indicated in the bottom left of each graph. ADT: androgen-deprivation therapy; BCR: biochemical recurrence; CRPC: castration-resistant prostate cancer; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; PCa: prostate cancer.

We then examined the association between the cell densities in the IDC-P-immune hotspots and prognosis. The dependence of the mean numbers of cells per mm<sup>2</sup> on the outcomes after five and 10 years of follow-up are illustrated in **Figure 2–7**. No significant differences were seen in the T-cells densities between the groups (**Figure 2–7a**). However, higher densities were seen in the hotspots in the patients who died of their cancer or of other causes within five years for CD68<sup>+</sup> macrophages (mean ranks: 24.3 vs. 12.7,  $U = 5$ , adjusted  $p = 0.035$  and mean ranks: 23.8 vs. 13.0,  $U = 11$ , adjusted  $p = 0.035$ , respectively) or within 10 years for CD163<sup>+</sup> macrophages (mean ranks: 18.7 vs. 9.9,  $U = 16$ , adjusted  $p = 0.012$  and mean ranks: 20.6 vs. 10.6,  $U = 27$ , adjusted  $p = 0.006$ , respectively) (**Figure 2–7b**). Greater CD163<sup>+</sup>-cell densities were also associated with the development of metastasis during the first 10 years of follow-up (mean ranks: 17.3 vs. 10.1,  $U = 26$ , adjusted  $p = 0.035$ ) (**Figure 2–7b**). Furthermore, higher CD209<sup>+</sup>-cell densities predicted the need for definitive ADT within five (mean ranks: 21.9 vs. 12.4,  $U = 29$ , adjusted  $p = 0.005$ ) and 10 years (mean ranks: 18.4 vs. 11.0,  $U = 40$ , adjusted  $p = 0.031$ ) (**Figure 2–7b**).

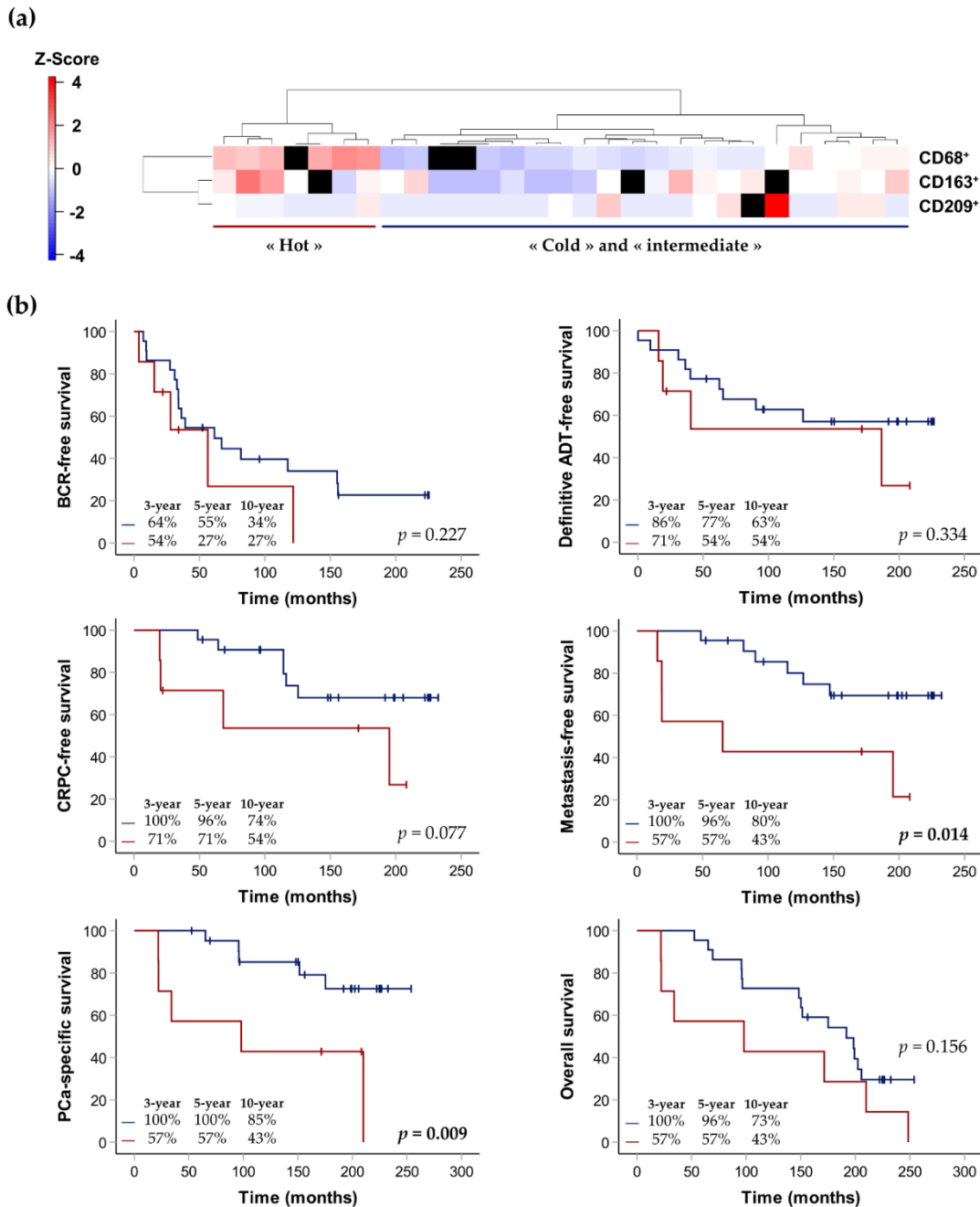
The immune signatures of the patients were generated using the cell densities of the three markers significantly associated with prognosis in the IDC-P-immune hotspots CD68, CD163 and CD209. One additional patient was excluded due to the absence of more than one IHC slide. Again, the cell densities in the IDC-P tissues were standardized using z-score normalization to generate a heatmap representing unsupervised hierarchical clustering. Two main groups were identified according to the expression of the three immune-cell markers in the hotspots: men with a low or intermediate expression of immune markers, constituting the “cold/intermediate” group; and men with a higher expression of immune markers, constituting the “hot” group, largely due to the presence of macrophages (**Figure 2–8a**).

We also generated Kaplan–Meier curves to explore the association between the expression of CD68, CD163 and CD209 and the clinical outcomes, according to the two groups: “cold/intermediate” or “hot” IDC-P hotspots (**Figure 2–8b**). The median follow-up of the 29 patients was 172 months (IQR: 96–209). Higher expressions of immune APC still tended to be associated with worse prognoses. Despite our small number of patients, we found that the median time to metastasis (number of events = 11) and PCa-related death (number of events = 10) was significantly shorter in the patients with “hot” APC hotspots (65 months, 95% confidence

interval (CI): 0–184 vs. median survival not yet reached in patients in the “cold/intermediate” group, with  $p = 0.014$  for metastasis; and 98 months, 95% CI: 0–262 vs. median survival not yet reached in patients in the “cold/intermediate” group, with  $p = 0.009$  for PCa-specific death) (Figure 2–8b).



**Figure 2–7.** Bar charts representing the mean number of positive T cells (a) and antigen-presenting cells (b) in IDC-P-immune hotspots according to patients’ outcomes five- and ten-years post-surgery. Error bars represent standard errors. For each cell marker, mean ranks according to survival status were compared using the Mann–Whitney  $U$  test and Benjamini–Hochberg corrections were applied to control for multiple comparisons. \* Statistically significant  $p$ -values. ADT: androgen-deprivation therapy; BCR: biochemical recurrence; CRPC: castration-resistant prostate cancer; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; PCa: prostate cancer.



**Figure 2–8.** Hierarchical clustering of the three selected immune-cell markers according to cell densities in hotspots (a) and Kaplan–Meier curves exploring survival rates of patients with immunologically “cold/intermediate” IDC-P (blue) and patients with immunologically “hot” IDC-P (red), depending on the density in hotspots (b). (a) On the left side: cell-density scale from dark blue (low) to dark red (high). Each row corresponds to a patient and missing slides/quantification data are represented by black squares. One IDC-P-positive patient with two missing quantification data was excluded, bringing the total number of patients to 29. (b) The  $p$ -values were calculated using the log-rank test. Three-, five- and ten-year survival rates are indicated in the bottom left of each graph. ADT: androgen-deprivation therapy; BCR: biochemical recurrence; CRPC: castration-resistant prostate cancer; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; PCa: prostate cancer.



When clinico-pathological characteristics of patients with immunologically “cold”, “intermediate” or “hot” IDC-P were compared, extraprostatic extension was the only characteristic that was found to be more frequent in the “cold” total-IDC-P group than in the “hot/intermediate” total-IDC-P group (88% vs. 54%,  $p = 0.049$ ; **Table 2–3**).

**Table 2–3.** Association of clinical and pathological variables with immunologically “cold”, “intermediate” or “hot” IDC-P.

Characteristics	Total IDC-P		<i>p</i> -Value	CD68/CD163/CD209 hotspots		<i>p</i> -Value
	Cold <i>n</i> = 17	Hot and intermediate <i>n</i> = 13		Cold and intermediate <i>n</i> = 22	Hot <i>n</i> = 7	
Mean age at diagnostic (SD)	64.6 (5)	65.5 (6)	0.650 <sup>a</sup>	65.9 (5)	61.7 (7)	0.149 <sup>a</sup>
Mean pre-operative PSA (SD)	11.4 (9)	13.5 (10)	0.476 <sup>a</sup>	13.4 (10)	8.7 (4)	0.524 <sup>a</sup>
Stage pT *, <i>n</i> (%)			1.000 <sup>a</sup>			0.162 <sup>a</sup>
pT2	2 (12)	3 (23)		4 (8)	1 (14)	
pT3a	6 (35)	2 (15)		8 (36)	0 (0)	
pT3b-pT4	9 (53)	8 (62)		10 (46)	6 (86)	
Grade group *, <i>n</i> (%)			0.575 <sup>a</sup>			0.182 <sup>a</sup>
1–2	10 (59)	6 (46)		14 (64)	2 (29)	
3	1 (6)	1 (8)		1 (5)	1 (14)	
4–5	6 (35)	6 (46)		7 (32)	4 (57)	
Lymph-node involvement, <i>n</i> (%)	6 (35)	7 (54)	0.460 <sup>b</sup>	8 (36)	4 (57)	0.403 <sup>c</sup>
Lymphovascular invasion, <i>n</i> (%)	5 (29)	5 (39)	0.694 <sup>c</sup>	6 (27)	3 (50)	0.352 <sup>c</sup>
Positive margins, <i>n</i> (%)	13 (77)	12 (92)	0.355 <sup>c</sup>	17 (77)	7 (100)	0.296 <sup>c</sup>
Extraprostatic extension, <i>n</i> (%)	15 (88)	7 (54)	<b>0.049</b> <sup>c</sup>	17 (77)	4 (57)	0.357 <sup>c</sup>
Seminal vesicle invasion, <i>n</i> (%)	10 (59)	8 (62)	1.000 <sup>b</sup>	11 (50)	6 (86)	0.187 <sup>c</sup>
Median follow-up in years (IQR)	16.5 (8–18)	12.4 (5–16)	0.263 <sup>a</sup>	15.3 (8–19)	8.2 (2–17)	0.149 <sup>a</sup>

IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; SD: standard deviation; PSA: prostate-specific antigen; PCa: prostate cancer; IQR: inter-quartile range. \* pT3b–pT4 stages and grade groups 1–2 and 4–5 were combined because of the small number of patients. Bold entities indicate statistically significant *p*-values. <sup>a</sup> Mann–Whitney *U* test; <sup>b</sup> Pearson’s chi-square; <sup>c</sup> Fisher’s exact test.

Notably, four men were in both the “hot/intermediate” IDC-P group, according to the cell densities in the total IDC-P ( $n = 13$ ) and in the “hot” IDC-P group, according to the hotspots ( $n = 7$ ). In addition, three out of the seven men (43%) in the latter group had comedonecrosis in at least one of their slides (CD68: one slide, comedonecrosis in 3/196 affected ducts; CD163: one slide, comedonecrosis in 2/78 affected ducts, CD209: two slides, comedonecrosis in 1/190 and 1/111 affected ducts) and only CD68<sup>+</sup> cells were found in the necrotic region of one slide.

## 2.5. Discussion

Intraductal carcinoma of the prostate is linked to metastasis and lethality in PCa [320]. In this exploratory study, we are the first to assess the immune infiltrate of IDC-P, an aggressive histologic subtype of PCa characterized by the growth of cancer cells within the prostatic ducts. We found that the immune microenvironment of IDC-P is distinct from that of the adjacent invasive carcinoma. Specifically, CD163<sup>+</sup> M2-type macrophages and CD68<sup>+</sup> macrophages, FoxP3<sup>+</sup> T cells and CD209<sup>+</sup> and CD83<sup>+</sup> dendritic cells are often less abundant in IDC-P than in the adjacent invasive PCa. Furthermore, the IDC-P patients were separated into groups, according to the immune-cell densities in the total IDC-P or in the IDC-P-immune hotspots. Regardless of category, patients with “colder” IDC-P tend to have better survival rates than patients with more leucocytes in IDC-P. Moreover, we found an association between the development of metastasis and PCa-specific death in men with higher expressions of CD68, CD163 and CD209 in IDC-P-immune hotspots.

Until now, TILs in PCa were assessed in areas containing conventional invasive carcinoma, or without addressing the presence of IDC-P. However, IDC-P alone has been associated with shorter disease-specific survival in men with localized PCa and men with high-risk PCa [320], making it an attractive lesion in which to study the immune response associated with lethal PCa. We found that the immune infiltrates of IDC-P were mainly reduced compared to randomly selected regions in the benign tissues, the tumor margins and, most importantly, in the adjacent invasive cancers. An explanation for this could be related to the association of IDC-P with hypoxia [361]. Indeed, hypoxic environments are believed to be highly immunosuppressive [362]. Furthermore, in our study, the immunosuppressive environment in IDC-P was even more pronounced in association with APC (dendritic cells and macrophages). These findings suggest that the immune environment of IDC-P is different from those in the adjacent carcinoma and other surrounding tissues, and might be better suitable for the study of the tumor microenvironment in the context of aggressive PCa.

Most studies assessing tumor-infiltrating immune cells in PCa and clinical outcomes suggested that the high expression of TILs is associated with poor prognosis. The first studies on this topic

date back to the 1990s, when Vesalainen et al. [363] and then Irani et al. [364] visually semi-quantified TILs in H&E-stained PCa tissues. The first group ( $n = 325$ ) found that a low expression of TILs was associated with the development of distant metastasis (univariate analysis:  $p = 0.016$ ) and with lethal disease in patients without metastasis at diagnosis (multivariate hazard ratio (HR): 0.67, CI: 0.47–0.95,  $p = 0.012$ ) and patients with organ-confined disease and without metastasis at diagnosis (multivariate HR: 0.44, 95% CI: 0.23–0.84,  $p = 0.041$ ) [363]. The second group ( $n = 161$ ) found that a high expression of stromal TILs was associated with an increased risk of post-RP BCR (multivariate relative risk (RR): 2.35, 95% CI: 1.08–5.08,  $p = 0.03$ ) [364].

From the 2000s onwards, the quantification of leucocytes on IHC-stained PCa tissues was performed, with most studies focusing on T lymphocytes. Ness et al. [342] found that a high expression of CD8<sup>+</sup> in the epithelial compartment and in the total tumor was an independent predictor of shorter BCR-free survival in tissue microarrays (TMAs) from 535 RP specimens (multivariate HR: 1.45, CI 95%: 1.03–2.03,  $p = 0.032$  and multivariate HR: 1.57, CI 95%: 1.13–2.17,  $p = 0.007$ , respectively). However, in their cohort of 11 RP and 68 transurethral-resection-tissue specimens, McArdle et al. [343] noted that an increased density of CD4<sup>+</sup> cells, but not of CD8<sup>+</sup> cells, was independently associated with poorer disease-specific survival (multivariate HR: 2.29, 95% CI: 1.25–4.22,  $p = 0.008$ ). Using a digital approach, Richardsen et al. [344] observed that men with metastatic PCa ( $n = 32$ ) had a higher expression of CD3<sup>+</sup> T cells in the epithelial ( $p = 0.007$ ) and stromal ( $p < 0.0001$ ) compartments than men with non-metastatic disease ( $n = 27$ ). Kärjä et al. [345] added B lymphocytes in their study and found that high expressions of CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and CD20<sup>+</sup> were independent predictors of shorter BCR-free survival in TMAs from 188 RP specimens (multivariate HR: 0.18, 95% CI: 0.07–0.44,  $p = 0.012$ ). Furthermore, Flammiger et al. [365] found that very low or very high expressions of CD3<sup>+</sup> cells were associated with shorter BCR-free survival compared to the intermediate expression of CD3<sup>+</sup> cells in a large cohort of TMAs collected from 2144 RP specimens (univariate analysis:  $p = 0.0188$ ), while CD20<sup>+</sup>-cell density was not associated with prognosis. The same researchers [366] then suggested that a high expression of FoxP3<sup>+</sup> T cells was associated with reduced BCR-free survival in a univariate analysis ( $p = 0.0151$ ), but this result was not upheld by their multivariate analysis ( $n = 1463$ ). Similarly, Davidsson et al. [347] observed in their TMA cohort that a high expression of regulatory T

lymphocytes increased the odds of dying of PCa by 12% (multivariate odds ratio: 1.12; 95% CI: 1.02–1.23), but that this was not the case with helper or cytotoxic T cells ( $n = 663$ ). More recently, Kaur et al. [346] used an automated quantification method to assess CD3<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> and FoxP3<sup>+</sup> lymphocytes in a TMA cohort comprising 312 PCa patients, including 212 (68%) African-American patients. With BCR and the development of metastasis as endpoints, only high densities of FoxP3<sup>+</sup> cells (top tertile) remained significantly associated with an increased risk of metastasis according to the researchers' multivariate analysis (HR: 12.89, 95% CI: 1.59–104.40,  $p = 0.02$ ).

Very few studies examined APC in PCa tissues. In the aforementioned study by Richardsen et al. [344], higher percentages of CD68<sup>+</sup> cells were seen in the epithelial and stromal primary-tumor compartments of non-metastatic cancers compared to metastatic cancers (48% vs. 28%,  $p = 0.029$  in the epithelial compartment; 54% vs. 14%,  $p = 0.008$  in the stromal compartment, respectively) ( $n = 59$ ). Moreover, Comito et al. [367] focused on CD68<sup>+</sup> and CD163<sup>+</sup> macrophages in hotspots identified in RP specimens from 93 patients with clinically localized PCa. They found that M1 macrophages were more abundant in organ-confined diseases upon final evaluation compared to cancers that presented with extraprostatic extension ( $\approx 18$  cells/mm<sup>2</sup> vs. 5 cells/mm<sup>2</sup>). In contrast, M2 macrophages were associated with extraprostatic extension (multivariate RR: 0.30, 95% CI: 0.09–0.89,  $p = 0.03$ ). Patients with a prevalence of M2 macrophages also tended to have shorter BCR-free survival than patients with a prevalence of M1 macrophages, but statistical significance was not reached. In addition, Calagua et al. [368] found a correlation between CD8<sup>+</sup> T cells and APC niches ( $R^2 = 0.57$ ,  $p = 0.0001$ ) through multiplex immunofluorescence, suggesting an important role of APC in T-cell response ( $n = 20$ ).

In our study, we found a correlation between T cells and APC in IDC-P, particularly with M2 macrophages ( $r = 0.59$ ,  $p = 0.002$ ) and mature dendritic cells ( $r = 0.48$ ,  $p = 0.013$ ). In contrast, no correlation was found between T cells and immature dendritic cells. Despite the immunosuppressive microenvironment of IDC-P, we separated our IDC-P patients into groups according to their immune-cell densities: patients with immunologically “cold” IDC-P and patients with immunologically “hot” IDC-P. Probably due to the small number of patients with IDC-P and, hence, the limited statistical power of our study, we did not find any significant differences in survival between the men with globally “cold” IDC-P and the men with globally

“hot/intermediate” IDC-P. However, when we examined the immune hotspots in IDC-P, we found that the CD68<sup>+</sup> and CD163<sup>+</sup> macrophages and CD209<sup>+</sup> immature dendritic cells were associated with poor prognosis. Immune hotspots have been studied in breast cancer, among others, in which they were found to be associated with better prognosis in estrogen-receptor-negative tumors [369], but were also associated with poorer prognosis in estrogen-receptor-positive tumors [370]. In our cohort, CD68/CD163/CD209-immune hotspots predicted progression to metastatic disease and cancer-specific survival. Altogether, and in accordance with most PCa studies, our results tend to show that increased IDC-P infiltration is associated with poorer prognosis.

The reasons why higher immune-cell densities are associated with worse prognoses in PCa are still not understood. They could be related to the tumors themselves, as well as the tumor microenvironment. Some studies sought explanations by examining alterations in gene expression. Amongst these studies, Kaur et al. [346] showed that higher T-lymphocyte densities were associated with ERG expression (median: 309 vs. 188 CD3<sup>+</sup> T cells/mm<sup>2</sup>;  $p = 0.0004$ ) and PTEN loss (median: 317 vs. 192 CD3<sup>+</sup> T cells/mm<sup>2</sup>;  $p = 0.001$ ). Similarly, Calagua et al. [368] found that the deletion of *BRCA* and/or *RB1* was more frequent in their subset of 11 immunogenic patients than in the localized PCa data obtained from the TCGA Firehose legacy (*BRCA2* deletion:  $p = 0.053$ , *RB1* deletion:  $p = 0.017$ , co-deletion of *BRCA2/RB1*:  $p = 0.053$ , focal co-deletion of *BRCA2/RB1*:  $p = 0.039$ ;  $n = 489$ ). Both ERG expression and PTEN loss [371,372], as well as the co-loss of *BRCA2/RB1*, have been associated with aggressive forms of PCa [373]. Interestingly, a few limited studies linked *BRCA*<sup>mut</sup> to IDC-P [320].

Our study has limitations that warrant discussion. The main limitation is the small number of patients with IDC-P in our cohort ( $n = 33$ ). However, IDC-P is often focal, with more than 75% of specimens with IDC-P harboring IDC-P in less than 5% of the full tumor volume [336]. Furthermore, the evaluation of the inflammatory infiltrate of adjacent invasive carcinoma, tumor margins and benign glands requires spatial localization, which cannot be provided by biopsies and TMAs. These limitations in sample availability could explain why the immune infiltrate of IDC-P have not yet been described. Our findings must still be replicated in larger independent cohorts, but our work was essential to begin to unravel the significance of the immune infiltrate in IDC-P. Larger cohorts

will also allow to separately evaluate men with immunologically “intermediate” IDC-P and the performance of multivariate analyses. Moreover, we only examined one representative block per patient, meaning that the patients in the IDC-P-negative group could have had IDC-P in other tissue blocks. However, despite this, IDC-P was still associated with poor prognoses and adverse pathological features in our cohort [320]. Furthermore, we performed single-color IHC to characterize the immune cells in PCa instead of multiplex immunofluorescence, which would have permitted us to assess the colocalization of the markers and quantify all the markers on the same slides, in addition to allow for the confirmation of the presence of basal cells around IDC-P. In addition, we examined T lymphocytes and macrophages, but other key immune cells [374], such as B lymphocytes, natural killer cells, classical neutrophils and monocytes and myeloid-derived suppressor cells [375] should be included in further research. Future studies will incorporate these leucocytes in addition to other key actors in the immune response. However, our study highlights the importance of evaluating IDC-P in the study of the immune environment of PCa.

## **2.6. Conclusion**

In conclusion, we found that the immune infiltrate of IDC-P is different from that in the adjacent invasive carcinoma, while the overall immune infiltration is not affected by the IDC-P status. Antigen-presenting cells are particularly less abundant in IDC-P compared to cancer in general. Moreover, IDC-P can be classified as immunologically “cold” or “hot”, depending on the immune-cell densities. In this study, these groups were associated with different clinical outcomes, and CD68/CD163/CD209-immune hotspots predicted progression to metastatic disease and cancer-specific survival. Our study highlights the need to better characterize the immune microenvironment of IDC-P and evaluate its involvement in the poor prognoses of men with IDC-P.

## **2.7. Authorship, acknowledgements and disclosure**

### **2.7.1. Author contributions**

Conceptualization , M.-K.D. and D.T.; methodology, M.-K.D. and D.T.; formal analysis, M.-K.D.; investigation, M.-K.D., O.E.M., M.B., H.L., B.T. and D.T.; resources, H.H., A.B. and Y.F.; writing—

original draft preparation, M.-K.D. and D.T.; writing—review and editing, M.-K.D., O.E.M., H.L., B.T., L.L., A.B. and D.T.; visualization, D.T. and M.-K.D.; supervision, D.T., A.B. and Y.F.; funding acquisition, H.L., B.T., L.L., A.B., Y.F. and D.T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

### **2.7.2. Acknowledgments**

This research was funded by Prostate Cancer Canada with funds from the Movember Foundation, grant number 2012-927, the Canadian Institutes of Health Research—Institute of Cancer Research (CIHR-ICR) and the Cancer Research Society (CRS), grant number CRP-154487, startup funds from the Institut du cancer de Montréal and by internal funds from the Laboratoire d’Uro-Oncologie Expérimentale. M.-K.D. received salary support from the Université de Montréal and the Institut du cancer de Montréal. D.T. receives salary support from the Fonds de recherche du Québec-Santé (FRQS) (Clinical Research Scholar, Junior 2). The CRCHUM and CRCHUQc-UL receive support from the FRQS.

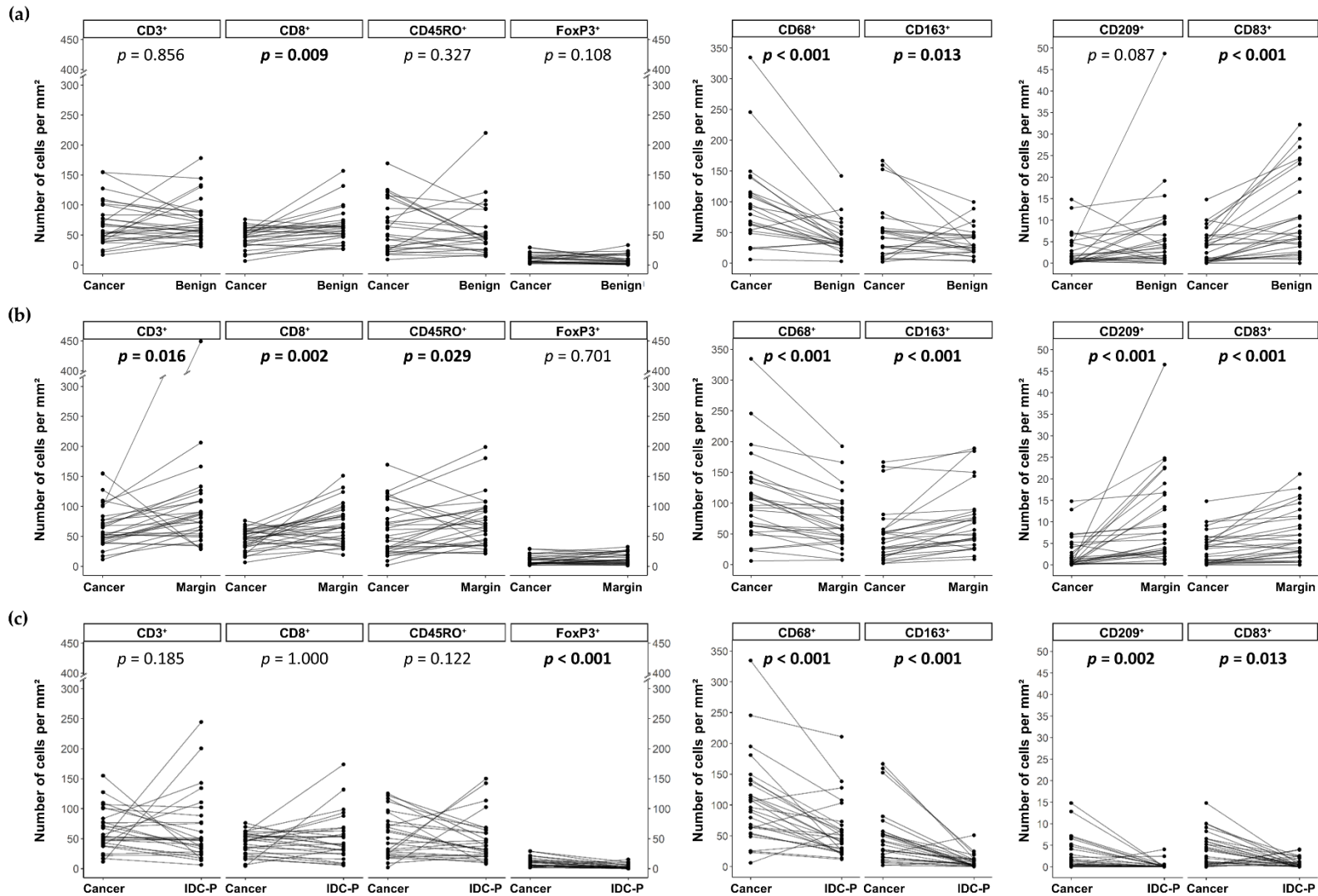
URO-1 Biobank at CHU de Québec-Université Laval is affiliated with the Réseau de Recherche sur le cancer of the FRQS and registered to the Canadian Tumor Repository Network (CTRNet). We thank the patients for agreeing to donate their prostate specimens and data for research and all staff members who participated in the biobanking of biological samples and data.

### **2.7.3. Conflicts of interest**

The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript; or in the decision to publish the results.

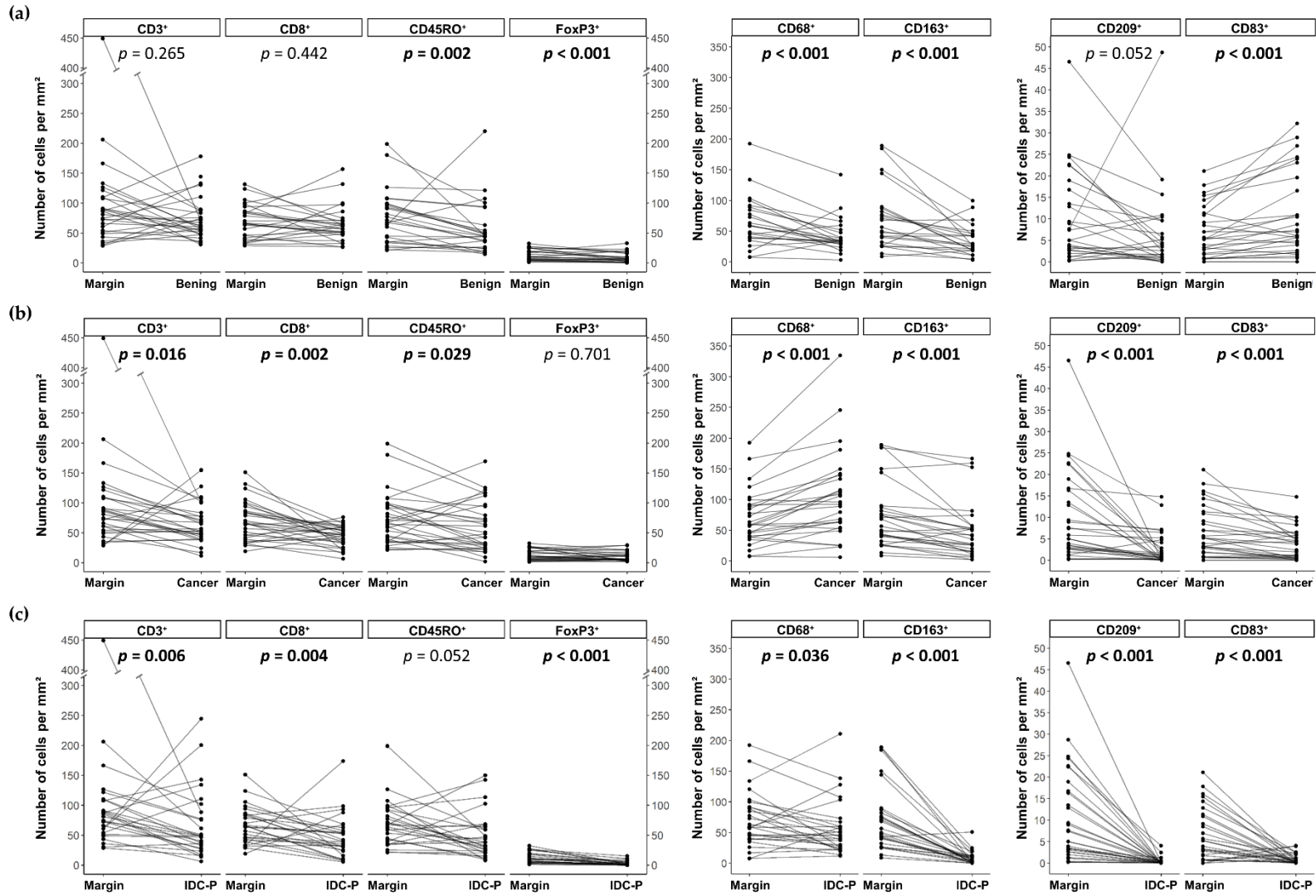
## 2.8. Supplementary materials

### 2.8.1. Supplementary figures



**Figure 2-S1.** Parallel coordinate plots showing the changes in immune-cell density between the cancer compartments and benign tissues (a), margins (b) and IDC-P (c) in patients with IDC-P. Paired-samples sign tests were performed. Bold entities indicate statistically significant  $p$ -values. IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate.





**Figure 2–S2.** Parallel coordinate plots showing the changes in immune-cell density between the margin and benign tissues (a), cancer regions (b) and IDC-P (c) in patients with IDC-P. Paired-samples sign tests were performed. Bold entities indicate statistically significant *p*-values. IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate.

# Chapitre 3 – Identification de critères morphologiques associés à la récurrence biochimique dans le carcinome intracanalalaire de la prostate

*Identification of morphologic criteria associated with biochemical recurrence in intraductal carcinoma of the prostate*

Article publié dans *Cancers* (Basel). 2021 Dec 13; 13(24), 6243. doi: [10.3390/cancers13246243](https://doi.org/10.3390/cancers13246243).

## 3.1. Résumé en français

Le carcinome intracanalalaire de la prostate (*intraductal carcinoma of the prostate*, IDC-P) est un sous-type agressif de cancer de la prostate associé à une augmentation du risque de récurrence biochimique (*biochemical recurrence*, BCR). Cependant, environ 40% des hommes atteints d'IDC-P restent exempts de BCR cinq ans après leur prostatectomie radicale. Dans cette étude multicentrique rétrospective, nous avons cherché à identifier des critères histologiques dans l'IDC-P qui sont associés à la BCR. Les spécimens de prostatectomie radicale provenant de 108 patients ayant eu recours à la chirurgie comme traitement de première intention ont été examinés. Dans notre cohorte test ( $n = 39$ ), la présence de canaux plus larges ( $> 573 \mu\text{m}$  de diamètre transverse), la présence de cellules avec des noyaux à contours irréguliers (*cells with irregular nuclear contours*, CINC) ( $\geq 5$  CINC dans deux champs distincts à fort grossissement), un score mitotique élevé ( $> 1,81$  mitoses/ $\text{mm}^2$ ), la présence de petits vaisseaux sanguins et la présence de comédonécrose étaient associés à une BCR précoce ( $< 18$  mois) ( $p < 0,05$ ). Dans notre cohorte de validation ( $n = 69$ ), la présence de CINC ou/et de vaisseaux sanguins était indépendamment associée à une augmentation du risque de BCR (*hazard ratio* [HR] 2,32, intervalle de confiance à 95 % [CI] 1,09–4,96,  $p = 0,029$ ). Lorsque les critères sont combinés, la présence de CINC, de vaisseaux sanguins, d'un score mitotique élevé ou de comédonécrose a montré une association plus forte avec la BCR (HR 2,74, CI à 95 % 1,21–6,19,  $p = 0,015$ ). Nos résultats suggèrent que l'IDC-P peut être classé comme à faible ou à haut risque de BCR. Les

critères morphologiques définis peuvent être facilement évalués et devront être intégrés en clinique après validation dans des cohortes plus grandes.

### **3.2. Introduction**

Intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P) is now accepted as a biologically distinct entity of prostate cancer (PCa) [91]. Since it was first described as a “ductal spread in prostatic carcinoma” by Kobi et al. in 1985 [283], multiple studies clarified the concept of IDC-P as a lumen-spanning spread and growth of neoplastic epithelial cells in ducts retaining basal cells [284,286,376,377] and almost always found adjacent to invasive, mostly aggressive, PCa [285,287,295,297,348,378,379]. Indeed, IDC-P without an adjacent invasive component was observed in only 0.06% [285] to 2.6% [295] of prostate biopsies. The incidence of IDC-P varied from 2.1% in patients with low-risk PCa to 56.0% in patients with metastatic or recurrent disease [302].

The presence of basal cells is the main feature that distinguishes IDC-P from high-grade invasive carcinoma, whether cribriform, solid, or with comedonecrosis. IDC-P also shares some features with high-grade prostatic intraepithelial neoplasia, but the architectural and cytologic atypia found in IDC-P can discriminate between the two types of lesions. However, the presence of borderline morphology can sometimes render the diagnosis more subjective [287,380,381], and several sets of morphologic criteria have been proposed to detect IDC-P [284-286], complicating its identification [382,383]. The most frequently used criteria, established by Guo and Epstein, are highly specific and designed to identify prostates with IDC-P, but without associated invasive carcinoma [285].

Regardless of the diagnostic criteria, IDC-P has been associated with adverse pathological features including larger tumor volume [303,304], increased stage [284,303], positive surgical margins [284], and higher grade [283,284,303,304]. Moreover, IDC-P was shown as an independent predictor of progression-free survival and biochemical recurrence (BCR) after radical prostatectomy (RP) or hormone therapy [285,306,312]. However, approximately 40% of patients harboring IDC-P are still BCR-free after five years of follow-up [336].

Given the large morphological spectrum of IDC-P, we hypothesized that specific features of IDC-P are associated with poor prognosis and can be used to identify patients who will progress more quickly. Thus, the aim of this study was to find adverse morphologic criteria in IDC-P lesions associated with BCR. We identified five morphological criteria associated with early BCR (<18 months) in our test cohort including two that were independently associated with an increased risk of BCR in our validation cohort.

### **3.3. Materials and methods**

#### **3.3.1. Patients and ethics**

We reviewed RP specimens of the PCa biobank of the Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) (Center 1) collected between 2013 and 2018 and of the URO-1 biobank of the Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval (CHUQc-UL) (Center 2) collected between 1990 and 2003. A retrospective search identified men with first-line RP and IDC-P reported in patient files. Older specimens for which IDC-P was not routinely reported were also added in the study after the review of their RP specimens revealed the presence of IDC-P. All men signed an informed consent form to participate in the biobanks. Investigations were performed after approval by the CHUM Research Ethics Committee (research project MP-02-2018-7450).

#### **3.3.2. Histologic evaluation**

Hematoxylin and eosin (H&E) or hematoxylin phloxine saffron (HPS) slides (as routinely used for diagnosis in the earlier cases) of RP specimens were first examined by an observer with experience in the identification of IDC-P (M.-K.D., Observer 1), then reviewed by a pathologist expert in IDC-P (D.T.), both blinded to patient progression and clinical information. IDC-P was diagnosed according to criteria proposed by Guo and Epstein [285], which includes an intraductal proliferation of cancer cells forming solid or dense cribriform patterns, or loose cribriform or micropapillary patterns with the following features: oversized nuclei (nuclear size 6× normal), marked pleomorphism, frequent mitotic figures, and frequent comedonecrosis. When diagnosis was uncertain, immunohistochemistry staining for p63 was performed to confirm the presence of basal cells in IDC-P. For each specimen, the slide with the highest amount of IDC-P was selected

as the most representative slide, then scanned using a Nanozoomer whole slide scanner (Hamamatsu, Bridgewater, NJ, USA) and analyzed to identify morphologic criteria of the IDC-P lesions. We evaluated the total amount of IDC-P in the RP, architectural (duct size, solid pattern, comedonecrosis), and cytonuclear (nuclei size and shape, pyknotic nuclei, mitosis) criteria, and some others such as the presence of blood vessels. Solid patterns, comedonecrosis, and irregularly shaped nuclei were assessed by recording their presence or absence on each slide. Duct size was calculated by measuring the largest affected duct on each slide, avoiding areas of tangential sectioning. Other criteria such as nuclei size, pyknotic nuclei, and mitosis were semi-quantified in randomly selected 10 high-power fields (400× magnification or 0.2 mm<sup>2</sup> × 10, or less for smaller lesions) within IDC-P lesions, except for pyknotic nuclei where fields were selected in the immediate adjacent invasive carcinoma. Potential adverse criteria were counted in selected fields, and then quartiles were calculated for each slide. The third quartile of distribution was used as a cut-off point between the “low” and “high” categories.

### **3.3.3. Cohorts**

RPs were divided into two cohorts: test cohort and validation cohort. The test cohort included eligible men from Center 1, randomly selected to identify morphological criteria associated with poor prognosis. Patients from the test cohort who experienced BCR less than 18 months post-surgery were placed in the early BCR group [384,385], while patients who were BCR-free 18 months post-surgery were placed in the late BCR group.

Features associated with early BCR in the test cohort were then evaluated in the validation cohort, an independent cohort including randomly selected eligible men from Center 1 and all eligible men from Center 2 with available slides containing IDC-P. H&E or HPS slides were reviewed, and the slide with the highest amount of IDC-P was selected as the most representative slide, scanned, and analyzed, without knowledge of clinical information.

### **3.3.4. Clinical data collection and endpoints**

Age and clinicopathological characteristics including pathological (p) stage, modified Gleason grading system/Grade Group (GG) grading [91,99], prostate-specific antigen (PSA) serum values, and margin status were collected from patient files. When necessary, a pathologist (D.T. or R.A.)

reassessed pathological staging and tumor grading according to the eighth edition of the American Joint Committee on Cancer's Prostate Staging System and GG grading [91,99].

Clinical follow-up data were reviewed for the occurrence of BCR after surgery. The main endpoint was the association between adverse criteria in IDC-P and BCR. BCR was defined as rising PSA > 0.2 ng/mL after RP or an increase in serum PSA that required post-operative treatment.

### **3.3.5. Interobserver agreement**

Slides from both cohorts were assessed without knowledge of previous results and of clinical outcome by a pathology resident with experience in uropathology (A.K., Observer 2) using the same criteria as Observer 1 (M.-K.D.). For each slide, CINC, blood vessels, and comedonecrosis were evaluated on all IDC-P lesions while mitosis was evaluated in 10 high-power fields (0.2 mm<sup>2</sup> × 10, or less for smaller lesions) that were randomly selected in IDC-P.

### **3.3.6. Statistical analysis**

Statistical analyses were conducted using IBM SPSS Statistics 25 (SPSS Inc.) following the REMARK guidelines [356]. The time to BCR was calculated from the date of RP until the date of BCR or last known PSA date/follow-up date. Univariate methods included Fisher's exact test, Welch's test, Pearson's chi-square test, and the Mann–Whitney U test. BCR-free survival was evaluated using the Kaplan–Meier method, log-rank test, and Cox regression analysis. Univariate and multivariate Cox regression models were used to estimate the hazard ratios (HRs) for adverse criteria. In univariate analysis, we examined four known predictors of BCR: pre-operative PSA level, pT stage, RP GG (grouped as 1–2, 3, and 4–5 to reduce null-groups), and margin status. For multivariate analyses, the GG was included in the model. Interobserver agreement was calculated using Cohen's kappa ( $\kappa$ ) coefficient. Kappa values between 0.00 and 0.20 were interpreted as slight agreement, between 0.21 and 0.40 for fair agreement, between 0.41 and 0.60 for moderate agreement, between 0.61 and 0.80 for substantial agreement, and over 0.80 for excellent agreement [386]. A two-sided *p*-value < 0.05 was considered statistically significant.



Clinicopathological characteristics of all 108 patients are summarized in **Table 3–1**.

**Table 3–1.** Clinicopathological characteristics of patients.

Characteristics	Test Cohort		Validation Cohort		p-Value	
	Center 1 n = 39	Center 1 n = 35	Center 2 n = 34	Total n = 69	Between Centers	Between Cohorts
Mean age at diagnostic (SD)	61.1 (5.3)	63.3 (5.6)	63.3 (7.2)	63.3 (6.4)	0.397 <sup>a</sup>	0.054 <sup>a</sup>
Mean pre-operative PSA (SD)	9.7 (6.9)	6.8 (4.2)	10.8 (9.5)	8.8 (7.5)	0.167 <sup>a</sup>	0.556 <sup>a</sup>
pT stage, n (%)					<b>0.003</b> <sup>b</sup>	0.099 <sup>b</sup>
pT2	4 (10%)	6 (17%)	14 (41%)	20 (29%)		
pT3a	22 (56%)	16 (46%)	14 (41%)	30 (43%)		
pT3b	13 (33%)	13 (37%)	6 (18%)	19 (28%)		
Grade group, n (%)					<b>0.038</b> <sup>b</sup>	0.388 <sup>b</sup>
1	0	0	5 (15%)	5 (7%)		
2	14 (36%)	14 (40%)	11 (32%)	25 (36%)		
3	13 (33%)	9 (26%)	13 (38%)	22 (32%)		
4	7 (18%)	2 (6%)	3 (9%)	5 (7%)		
5	5 (13%)	10 (29%)	2 (6%)	12 (17%)		
Lymphovascular invasion, n (%)	21 (54%)	15 (43%)	6 (18%)	21 (30%)	<b>0.001</b> <sup>c</sup>	<b>0.022</b> <sup>c</sup>
Positive margins, n (%)	12 (31%)	9 (26%)	8 (24%)	17 (25%)	0.708 <sup>c</sup>	0.708 <sup>c</sup>
Extraprostatic extension, n (%)	35 (90%)	29 (83%)	20 (59%)	49 (71%)	<b>&lt;0.001</b> <sup>c</sup>	<b>0.012</b> <sup>c</sup>
Seminal vesicle invasion, n (%)	13 (33%)	13 (37.1%)	6 (18%)	19 (8%)	0.088 <sup>c</sup>	0.650 <sup>c</sup>
Biochemical recurrence, n (%)	15 (38%)	11 (31%)	20 (59%)	31 (45%)	<b>0.035</b> <sup>c</sup>	0.653 <sup>c</sup>
Early biochemical recurrence, n (%)	7 (18%)	9 (26%)	8 (24%)	17 (25%)	1.000 <sup>c</sup>	0.574 <sup>c</sup>
Median follow-up in months (IQR)	54 (45–59)	35 (26–50)	157 (111–186)	67 (32–157)	<b>&lt;0.001</b> <sup>b</sup>	0.086 <sup>b</sup>

SD: standard deviation; PSA: prostate-specific antigen; IQR: inter-quartile range. Bold entities indicate statistically significant p values. a Welch's t -test; b Mann–Whitney U test; c Pearson's chi-square.

Patients from Center 2 underwent RP between 1990 and 2003, which accounted for a longer median follow-up compared to patients from Center 1 who underwent RP between 2013 and 2018 (157 months vs. 47 months,  $p < 0.001$ ). Accordingly, the BCR rate was higher in Center 2, with BCR developing in 59% of patients from Center 2 compared to 25% of patients from Center 1 ( $p = 0.035$ ). However, the prevalence of early BCR was similar in both centers with a mean of 22% of patients developing early BCR ( $p = 1.000$ ). Patients from Center 1 tended to have higher stage cancers with higher grades, as confirmed by higher rates of extraprostatic extension (86% vs. 59%,  $p < 0.001$ ), lymphovascular invasion (49% vs. 18%,  $p = 0.001$ ), and a higher tendency for seminal vesicle invasion (35% vs. 18%,  $p = 0.088$ ). When comparing between the test and



validation cohorts, stage ( $p = 0.099$ ), GG ( $p = 0.388$ ), BCR ( $p = 0.653$ ), and median follow-up ( $p = 0.086$ ) did not show statistically significant differences.

### 3.4.2. IDC-P feature descriptions

Amount of IDC-P was evaluated by reporting the total area of IDC-P and the percentage of IDC-P among all cancer (area of IDC-P/area of cancer  $\times$  100) in each slide. A threshold of 13.31 mm<sup>2</sup> and 25% of IDC-P were established according to the third quartile of distribution, resulting in 10 patients (26%) in the “high” categories for area and percentage of IDC-P.

Dilatation of ducts caused by intraductal proliferation of cancer cells was assessed by measuring the transverse diameter of the largest duct in each specimen (**Figure 3–2a**). Specimens containing at least one IDC-P lesion with a diameter over 573  $\mu$ m (third quartile of the distribution) were classified as the “larger duct size” group ( $n = 11$ ; 28%).

Nuclear contours were deemed irregular when nuclei had tortuous contours or exhibited angles similar to the irregular nuclei observed in papillary thyroid carcinoma [387], in contrast to the typical round nuclear shape (**Figure 3–2b**). Since CINC were scarce, at least two distinct high-power fields (0.2 mm<sup>2</sup>) containing at least five CINC were required to categorize patients in the irregular nuclear contour group ( $n = 8$ ; 21%).

Mitotic activity was evaluated in a semi-quantitative fashion. Mitotic figures (**Figure 3–2c**) were counted in 10 high-power fields (0.2 mm<sup>2</sup>) randomly selected within IDC-P lesions. For patients with smaller IDC-P lesions, the maximum number of fields were taken into account when less than 10 fields were available (mean number of fields: 8.2, standard deviation (SD) 2.5; median number of fields: 10, interquartile range (IQR) 6.5–10). A mean number of mitotic figures per mm<sup>2</sup> was then calculated for each section, and a threshold of 1.81 mitotic figures per mm<sup>2</sup> was established according to the third quartile of distribution. Patients with more than 1.81 mitotic figures per mm<sup>2</sup> were placed in the high mitotic score group ( $n = 10$ ; 26%).

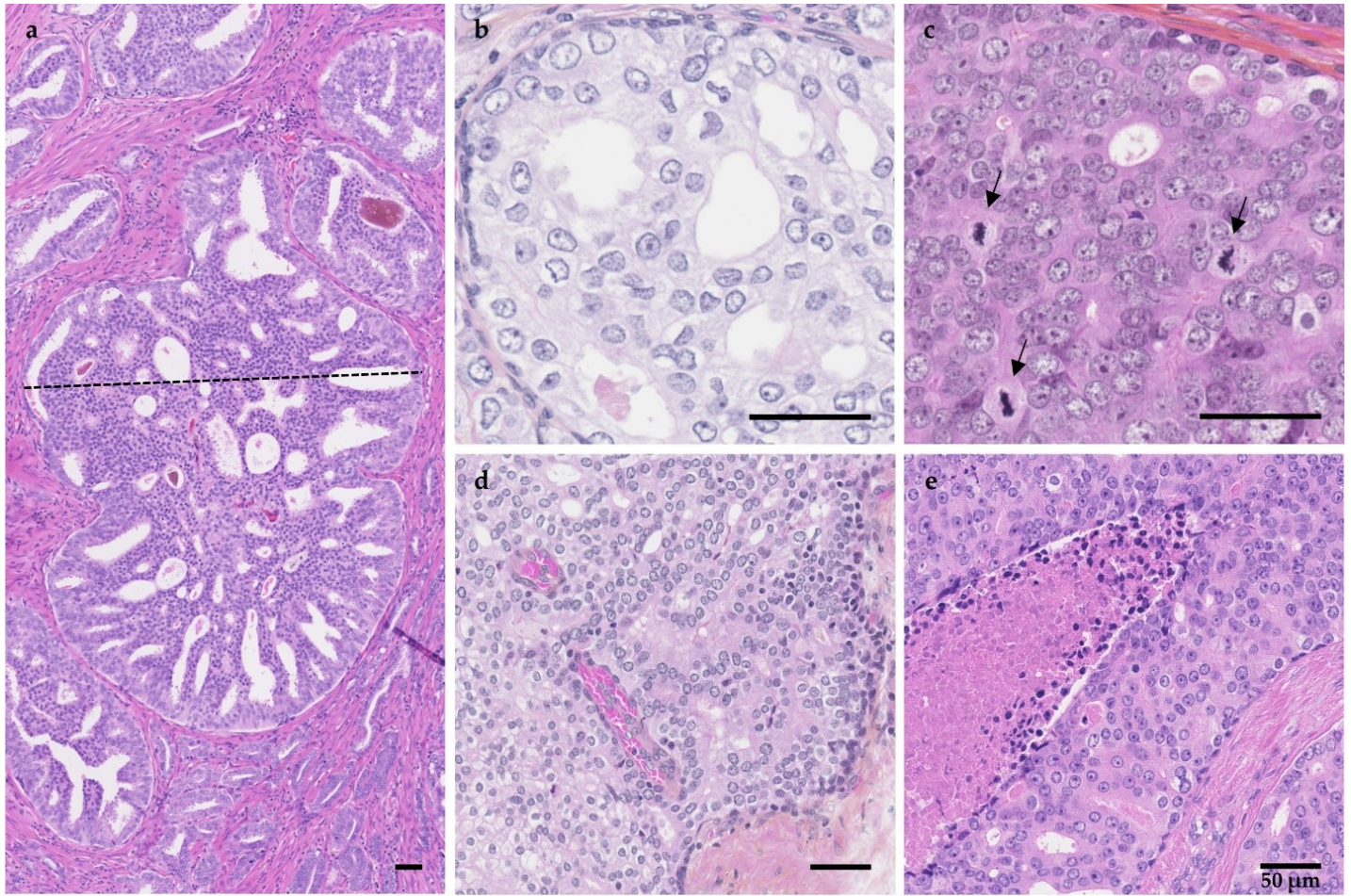
Interestingly, out of the 39 specimens, seven (18%) had blood vessels within IDC-P lesions and were mostly identified by the presence of groups of red blood cells surrounded by endothelial cells in a restricted area of the IDC-P. Blood vessels within IDC-P lesions were not surrounded by

stroma; no structures were seen between endothelial cells and the neighboring cancer cells in IDC-P. Blood vessels were recorded as absent or present. Patients were included in the “presence of vessel” category as soon as one blood vessel was identified in any lesion of interest (**Figure 3–2d**).

Similarly, 11 specimens (28%) harbored IDC-P with comedonecrosis, which was defined as central necrotic cells within dense cribriform or solid proliferation in a duct with preservation of basal cells. Necrotic cells had to be clearly visible in the center of the duct for the lesion to be counted as comedonecrosis, which was also recorded as absent or present. Patients were included in the “presence of comedonecrosis” category whenever necrosis was identified within any IDC-P lesion (**Figure 3–2e**). Furthermore, 11 specimens (28%) showed IDC-P with a solid pattern, indicating that more than 95% of the lumen of a duct was occupied by cancer cells (supplementary figure: **Figure 3–S1**).

For nuclei size, we determined that six times the size of normal nuclei was approximately equal to a nucleus of  $180 \mu\text{m}^2$  based on the size of nuclei in benign epithelial luminal cells (supplementary figure: **Figure 3–S1**). Using the same high-power fields as for the mitotic figures, nuclei were counted and generated a threshold of  $0.45 \text{ nucleus} \geq 180 \mu\text{m}^2$  per  $\text{mm}^2$  according to the third quartile of distribution. Patients with more than  $0.45 \text{ nucleus} \geq 180 \mu\text{m}^2$  per  $\text{mm}^2$  were placed in the “high number of nuclei six times the size of normal nuclei” group ( $n = 10$ ; 26%).

Unlike the other criteria, pyknotic nuclei were assessed in the adjacent invasive cancer (supplementary figure: **Figure 3–S1**). Ten high-power fields or less with smaller cancers (mean number of fields: 9.3 (SD 1.5); median number of fields: 10 (IQR 9.5–10)) were randomly selected in the adjacent invasive cancer (within less than 1 mm of IDC-P), and each field was assigned a score depending on the percentage of pyknotic nuclei among all cancer cell nuclei: “negative” for less than 5% and “positive” for 5% and more pyknotic nuclei. A mean number of positive fields was then calculated for each specimen, and a threshold of 2.27 positive fields per  $\text{mm}^2$  was established according to the third quartile of distribution, resulting in 10 patients in the “high” category (26%).



**f**

	Patient																																							
	Late BCR																																Early BCR							
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	
Duct size	■																																							
CINC																																								
Mitotic score																																								
Vessels																																								
Comedonecrosis	■																																							

**Figure 3–2.** Proposed criteria to distinguish aggressive IDC-P. (a) Duct size calculated by measuring the transverse diameter (dotted line) of the largest duct, hematoxylin and eosin (H&E) staining. (b) Cells with irregular nuclear contours (CINC), hematoxylin phloxine saffron (HPS) staining. (c) Mitotic score obtained by counting the number of mitotic figures (arrows) in 10 high-power fields, HPS. (d) Blood vessels, HPS. (e) IDC-P comedonecrosis, H&E. Scale bars: 50 μm. (f) Distribution of the proposed criteria in the test cohort. Each column represents a patient and each line a criterion. Patients 1 to 32 were in the later BCR group while patients 33 to 39 were in the early BCR group. The presence of adverse criteria is represented by black squares.

### **3.4.3. Association between larger duct size, CINC, high mitotic score, blood vessels, comedonecrosis, and early BCR in the test cohort**

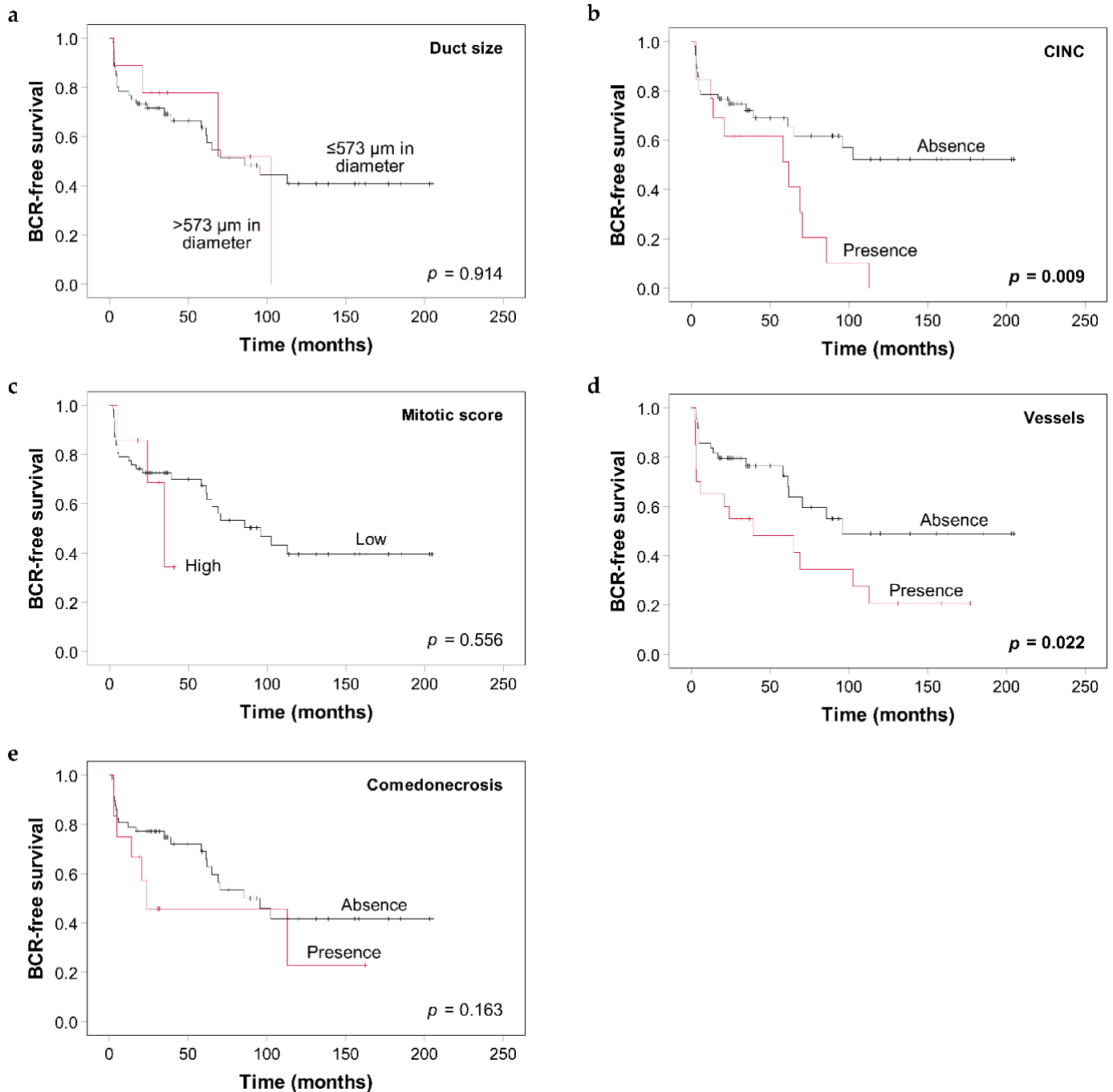
**Figure 3–2f** illustrates the distribution of five potential criteria among the 39 patients from the test cohort. Adverse criteria were more prevalent in patients who had early BCR (median number of criteria of 0 in the late BCR group vs. four in the early BCR group). Two-sided Fisher’s exact test confirmed that early BCR occurred more frequently in patients with larger duct size (71% in the early BCR group vs. 19% in the late BCR group,  $p = 0.012$ ), CINC (57% in the early BCR group vs. 13% in the late BCR group,  $p = 0.022$ ), high mitotic score (71% in the early BCR group vs. 16% in the late BCR group,  $p = 0.007$ ), vessels (57% in the early BCR group vs. 9% in the late BCR group,  $p = 0.012$ ), and comedonecrosis (71% in the early BCR group vs. 19% in the late BCR group,  $p = 0.012$ ). Volume of IDC-P (area), percentage of IDC-P, presence of solid patterns, large nuclei, and pyknotic nuclei did not show a significant association with BCR.

### **3.4.4. Validation of time to BCR according to identified adverse criteria**

The median follow-up of patients from the validation cohort was 67 months (IQR: 32–157). During follow-up, 31 men experienced BCR. Kaplan–Meier curves of the five proposed criteria are presented in **Figure 3–3**. The median time to BCR was significantly shorter in patients with CINC (61 months, 95% confidence interval [CI] 3.6–120 vs. median survival not yet reached in patients without CINC;  $p = 0.009$ ) and in patients with vessels in IDC-P (39 months, 95% CI 0–107.7 vs. 96 months, 95% CI not calculable in patients without vessels in IDC-P;  $p = 0.022$ ). High mitotic score and comedonecrosis were not statistically associated with BCR ( $p = 0.556$  and  $p = 0.163$ , respectively) and no significant difference was seen when stratifying patients according to duct size ( $p = 0.914$ ).

A univariate Cox proportional hazard analysis confirmed these results (**Table 3–2**). Only the presence of CINC and vessels were significantly associated with shorter BCR-free survival (HR 2.60, 95% CI 1.24–5.47,  $p = 0.012$ ; and HR 2.24, 95% CI 1.10–4.56,  $p = 0.026$ , respectively). In addition, higher GG and more advanced pT stage showed statistically significant association with poor BCR-free survival (HR 2.68, 95% CI 1.03–7.03,  $p = 0.045$  between stages pT2 and pT3b; HR

2.72, 95% CI 1.07–6.92,  $p = 0.036$  between GG 1–2 and 3; HR 5.049, 95% CI 1.96–13.02,  $p = 0.001$  between GG 3 and 4–5).



**Figure 3–3.** Kaplan–Meier curves of biochemical recurrence (BCR)-free survival according to the presence or absence of the five proposed criteria for IDC-P in the validation cohort: **(a)** Duct size, **(b)** CINC, **(c)** Mitotic score, **(d)** Blood vessels, and **(e)** Comedonecrosis.  $p$ -values were calculated using the log-rank test. CINC: cells with irregular nuclear contours.

**Table 3–2.** Univariate Cox regression analysis for the prediction of BCR in the validation cohort.

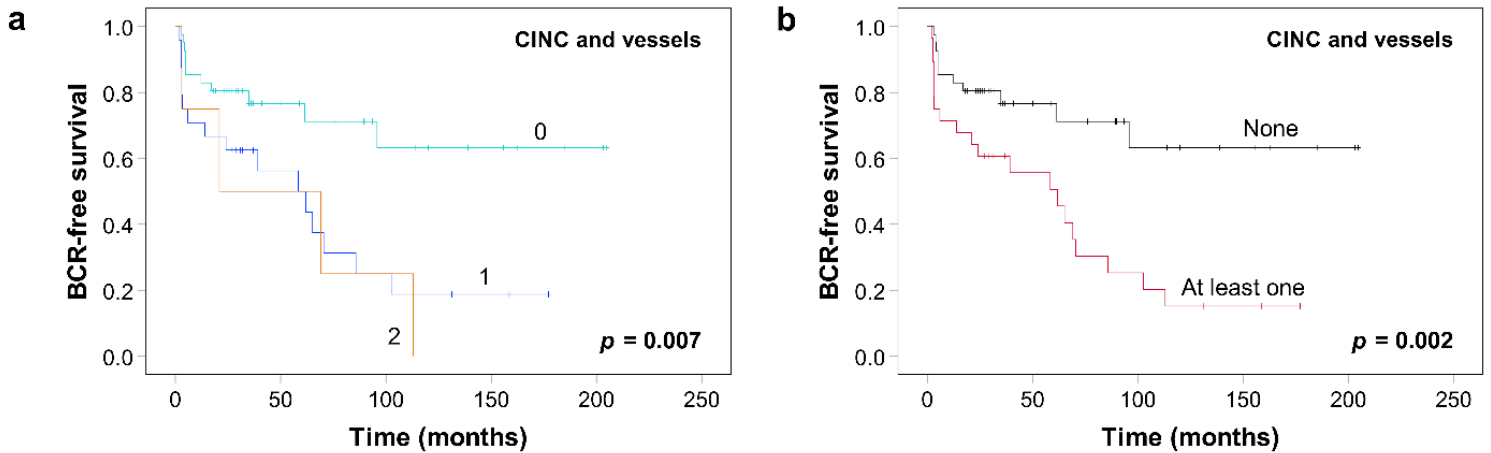
Variables	Validation Cohort ( <i>n</i> = 69)		
	HR	95% CI	<i>p</i> -Value
Mean pre-operative PSA	1.03	1.00–1.06	0.052
pT stage			
pT2	ref		
pT3a	1.71	0.68–4.32	0.257
pT3b	2.68	1.03–7.03	<b>0.045</b>
Grade group *			
1–2	ref		
3	2.72	1.07–6.92	<b>0.036</b>
4–5	5.05	1.96–13.02	<b>0.001</b>
Positive margins	1.72	0.79–3.75	0.176
Larger duct size	1.06	0.37–3.04	0.914
Presence of CINC	2.60	1.24–5.47	<b>0.012</b>
High mitotic score	1.44	0.42–4.91	0.560
Presence of vessels	2.24	1.10–4.55	<b>0.026</b>
Presence of comedonecrosis	1.81	0.77–4.24	0.117

PSA: prostate-specific antigen; CINC: cells with irregular nuclear contours; HR: hazard ratio; CI: confidence interval.

\* Grade groups 1–2 and 4–5 were combined because of the small number of patients in grade groups 1 (*n* = 5) and 4 (*n* = 5). Bold entities indicate statistically significant *p*-values.

We then assessed the potential of combining the two criteria associated with an increased risk of BCR: presence of CINC and vessels. Interestingly, both Kaplan–Meier curves (**Figure 3–4a**) and univariate analysis (**Table 3–3**) revealed that the presence of a single adverse criterion rather than the number of criteria had the biggest impact on BCR-free survival. Therefore, we compared survival curves when stratifying for absence or presence of at least one criterion (**Figure 3–4b**). A median survival of 62 months was obtained compared to median survival not yet reached in patients without any criteria ( $p = 0.002$ ). A multivariate Cox proportional hazard analysis was performed to evaluate prognostic value of the presence of any CINC or vessels while controlling for GG (**Table 3–3**). The presence of criteria remained significantly associated with an increased risk of BCR (HR 2.32, 95% CI 1.09–4.96,  $p = 0.029$ ). Since high mitotic score and comedonecrosis showed a trend toward shorter BCR-free survival, we also tested the combination of three to four criteria: CINC, vessels, and high mitotic score; CINC, vessels and comedonecrosis; or CINC, vessels, high mitotic score, and comedonecrosis (supplementary materials: **Figure 3–S2** and **Table 3–S1**).

). The presence of any criteria retained its prognostic value in all combinations (HR 2.64, 95% CI 1.18–5.89,  $p = 0.018$ ; HR 2.70, 95% CI 1.23–5.91,  $p = 0.013$ ; and HR 2.74, 95% CI 1.21–6.19,  $p = 0.015$ , respectively). Interestingly, when examining the distribution of criteria in the validation cohort, regardless of the combination, most men with adverse criteria only had one adverse criterion (range 76–86%), and the presence of vessels was the predominant criterion (supplementary figure: **Figure 3–S3**).



**Figure 3–4.** Kaplan–Meier curves of BCR-free survival according to the presence of CINC and the presence of vessels in IDC-P in the validation cohort. **(a)** Number of criteria. **(b)** Presence or absence of criteria.  $p$ -values were calculated using the log-rank test. CINC: cells with irregular nuclear contours.

**Table 3–3.** Cox regression analysis for the prediction of BCR in the validation cohort according to the presence of CINC and vessels in IDC-P.

Included Criteria	Variables	Validation Cohort ( $n = 69$ )					
		Univariate Analysis			Multivariate Analysis		
		HR	95% CI	$p$ -Value	HR	95% CI	$p$ -Value
	Grade group *						
	1–2	ref			ref		
	3	2.72	1.07–6.92	<b>0.036</b>	2.22	0.86–5.74	0.101
	4–5	5.05	1.96–13.02	<b>0.001</b>	3.96	1.50–10.47	<b>0.006</b>
CINC and vessels	Number of adverse criteria						
	0	ref					
	1	2.89	1.34–6.24	<b>0.007</b>			
	2	3.66	1.16–11.55	<b>0.027</b>			
	0 vs. $\geq 1$	3.02	1.45–6.31	<b>0.003</b>	2.32	1.09–4.96	<b>0.029</b>

HR: hazard ratio; CI: confidence interval; CINC: cells with irregular nuclear contours. \* Grade groups 1–2 and 4–5 were combined because of the small number of patients in grade groups 1 ( $n = 5$ ) and 4 ( $n = 5$ ). Bold entities indicate statistically significant  $p$ -values.

The interobserver agreement was moderate for mitotic score, comedonecrosis, and vessel interpretation ( $\kappa$  0.60, 95% CI 0.40–0.80;  $\kappa$  0.51, 95% CI 0.33–0.68; and  $\kappa$  0.47, 95% CI 0.28–0.66, respectively,  $p < 0.001$ ) and fair for CINC interpretation ( $\kappa$  0.33, 95% CI 0.14–0.51,  $p < 0.001$ ) (Table 3–4).

**Table 3–4.** Interobserver agreement between two observers for criteria assessment.

Criteria	Agreement, <i>n</i> (%)	Kappa ( $\kappa$ ) <sup>a</sup>	95% CI
CINC	79/108 (73)	0.33	0.14–0.51
Mitotic score	96/108 (89)	0.60	0.40–0.80
Vessels	86/108 (80)	0.47	0.28–0.66
Comedonecrosis	87/108 (81)	0.51	0.33–0.68
Overall	348/432 (81)	0.47	0.37–0.56

CI: confidence interval; CINC: cells with irregular nuclear contours. <sup>a</sup> Cohen’s kappa.

In addition, we evaluated the association of each proposed adverse criteria of IDC-P with GG, pT stage, and surgical margin status in the test and the validation cohorts (supplementary table: Table 3–S2). In the test cohort, the presence of CINC ( $p = 0.035$ ), vessels ( $p = 0.027$ ), and high mitotic scores ( $p = 0.044$ ) were associated with higher grades and only the presence of high mitotic scores was associated with higher stage cancers ( $p = 0.029$ ). However, no significant association were observed in the validation cohort.

### 3.5. Discussion

IDC-P has been consistently linked to high-grade PCa disease and poor prognosis [388], however, a significant portion of patients with IDC-P show a slow disease progression [336]. Recent studies have focused on distinguishing IDC-P from other lesions [323,381,389]. In this multicenter study, we were the first to evaluate the prognostic value of several histologic criteria in IDC-P. We focused on the morphological diversity between IDC-P lesions and found five morphologic criteria associated with early BCR in our test cohort: the presence of larger duct size, high mitotic score, comedonecrosis, vessels, or CINC. The presence of CINC and vessels, alone and together, remained significantly associated with BCR in the validation cohort.

Few studies have investigated the link between the morphology of IDC-P and clinical outcome. In a study by Wilcox et al., only 20% of men with solid and comedonecrosis IDC-P ( $n = 28$ ) were



progression-free after five years of follow-up compared to 65% of men with cribriform IDC-P ( $n = 80$ ) [303]. Cohen et al. found that 67% of men (12/18) with solid and cribriform IDC-P relapsed after three years of follow-up compared to roughly more than 15% of men (1/6) with trabecular IDC-P [286]. Here, we examined several histologic criteria including some that had not previously been evaluated to predict the clinical outcomes of patients with IDC-P such as CINC and the presence of blood vessels.

Among our evaluated criteria, comedonecrosis, mitosis, and duct size have been previously linked to IDC-P. Recently, three research groups confirmed an intraductal component of comedonecrosis by finding retaining basal cells for all or part of comedonecrosis foci in 78% to 95% of PCa cases with comedonecrosis [389-391]. Moreover, among the 27 prostate biopsies with only IDC-P, Guo and Epstein reported mitoses in 20 cases (74%) [285]. In addition to comedonecrosis (22/27) and marked pleomorphism (18/27), mitoses were the most frequently observed cytological feature in IDC-P. For duct size, Cohen et al. proposed that ducts must be enlarged to at least twice the size of adjacent benign glands to be IDC-P [286]. To our knowledge, no study has assessed vessels and CINC in IDC-P lesions. Although the presence of vessels has not been previously reported inside ducts colonized by cancer cells, this feature was observed quite frequently in our cohort ( $n = 7$  in the test cohort and  $n = 20$  in the validation cohort; total of 25%). Interestingly, IDC-P has been associated with hypoxia of the prostate [361]. Regarding CINC, they are more frequent in high-grade PCa tumors [392,393] and may reflect the lack of nuclear differentiation in more aggressive cancers. In our study, unlike what has been reported [303,376], IDC-P with a solid pattern was not associated with an increased risk of BCR. Since a mixture of architectural intraductal patterns can coexist within the same tumor [303,376], the presence of a solid pattern could have been missed by reviewing a single slide per patient. Of note, we defined solid epithelial masses forming a solid intraductal pattern as cancer cells occupying more than 95% of the lumen of a duct, but used definitions were not provided in previous studies [284,303,376]. Additionally, the low number of patients with adverse criteria may have precluded us from attaining statistical significance for high mitotic score and comedonecrosis.

Separation of patients according to their IDC-P risk status would ensure more adequate treatment for patients with IDC-P. Indeed, we recently showed that adjuvant radiotherapy could be

beneficial for men with IDC-P [319]. However, radiation can cause serious side effects including urinary, bowel, and rectal complications as well as erectile dysfunction [394]. Our proposed stratification could help avoid overtreatment and spare men with low-risk IDC-P toxicity from an unnecessary treatment. The same applies to cases where IDC-P diagnosis is uncertain and in which PTEN loss and ERG expression are not observed [323,378]. Our criteria could serve as a prognostic tool to isolate patients at higher risk of recurrence. Moreover, our criteria could be easily implemented in the clinical setting. Reviewing every slide in detail with IDC-P would not be clinically feasible. Using our approach, pathologists would only need to evaluate one slide with the highest amount of IDC-P. Furthermore, for three of the four criteria (CINC, vessels, and comedonecrosis), reporting their presence or absence is sufficient. As for assessing the mitotic score, it is already routinely used in the grading of breast cancer [395] and sarcomas [396] in clinical laboratories and could also be applied toward IDC-P assessment.

One of the strengths of this study is that we were able to validate our adverse criteria in an independent cohort. Additionally, we obtained fair to moderate interobserver agreement (overall  $\kappa$  0.47, range 0.33–0.60) for the four proposed criteria. The strongest agreement (almost substantial) was seen for the assessment of mitotic score, indicating good reproducibility. Unsurprisingly, CINC and vessels showed the weakest agreement. The evaluation of these two criteria still requires a thorough examination of all the IDC-P lesions since, when scarce, their presence can be easily missed. Agreement for comedonecrosis, which can be diagnosed at lower magnification, was slightly better. Notably, these  $\kappa$  values are similar to the overall interobserver agreement obtained between 41 pathologists for the assigned Gleason score groups on 38 prostate biopsies ( $\kappa$  0.44, range 0.00–0.88) [397]. We therefore believe that the proposed criteria are likely to be clinically applicable after thorough external validation. If we are unable to obtain acceptable levels of interobserver agreement with some of the criteria during external validation, we could use machine learning to better classify each feature.

The present study has some limitations. While our current data suggest that high mitotic score and comedonecrosis may not significantly add to our BCR prediction models, we believe that their individual impact will be better demonstrated in larger cohorts, especially since most adverse criteria were not overlapping in patients. Indeed, although not significant, the HR associated with

the presence of one to four criteria increased with the number of adverse criteria included in the model. The same goes for our finding that the presence of any adverse criteria rather than the number of adverse criteria had the strongest effect on BCR. Regardless of the combination, more than 75% of patients with adverse criteria in our validation cohort had only one adverse criterion. We believe that the effect of the number of criteria on BCR will be more apparent in larger cohorts. Moreover, because of the small number of prostate cancer-specific death in our validation cohort ( $n = 9$ ), we were not able to assess disease-specific survival. Further studies using larger cohorts will allow us to build multivariate models including all standard prognostic factors of PCa and to evaluate the association of the proposed criteria with disease-specific survival. Additionally, as the study of RP specimens ensures a better characterization of IDC-P, our results will also need to be validated in biopsies. Furthermore, we only evaluated criteria on H&E or HPS stained slides, but we could use specific markers such as CD34 [398,399], Ki67, and pHH3 [400] to more accurately quantify blood vessels, proliferation, or mitoses.

### **3.6. Conclusions**

In conclusion, our data suggest that morphologic criteria can be used to distinguish patients with lower-risk IDC-P from those with higher-risk IDC-P. Except for CINC, all criteria are typically related to tumor growth or size. We propose combining two to four criteria, whose presence are independent predictors of BCR, to stratify men with IDC-P according to their risk status. If confirmed in larger cohorts, current pathologic reporting should be reviewed to include the concept of low and high-risk IDC-P.

### **3.7. Authorship, acknowledgements and disclosure**

#### **3.7.1. Author contributions**

Conceptualization, M.-K.D. and D.T.; Methodology, M.-K.D., R.A., and D.T.; Validation, A.K.; Formal analysis, M.-K.D.; Investigation, M.-K.D. and D.T.; Resources, N.D., H.H., A.B., Y.F. and F.S.; Writing—original draft preparation M.-K.D. and D.T.; Writing—review and editing, M.-K.D., R.A., A.K., A.B., F.S. and D.T.; Visualization, M.-K.D. and D.T.; Supervision, D.T.; Funding acquisition, D.T. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

### **3.7.2. Acknowledgments**

This research was funded by the Canadian Institutes of Health Research—Institute of Cancer Research (CIHR-ICR) and the Cancer Research Society (CRS), grant number CRP-154487, and startup funds from the Institut du cancer de Montréal. M.-K.D. receives salary support from the Université de Montréal, the Institut du cancer de Montréal, and Mitacs. D.T. receives salary support from the FRQS (Clinical Research Scholar, Junior 2). The CRCHUM and CRCHUQc-UL receive support from the FRQS.

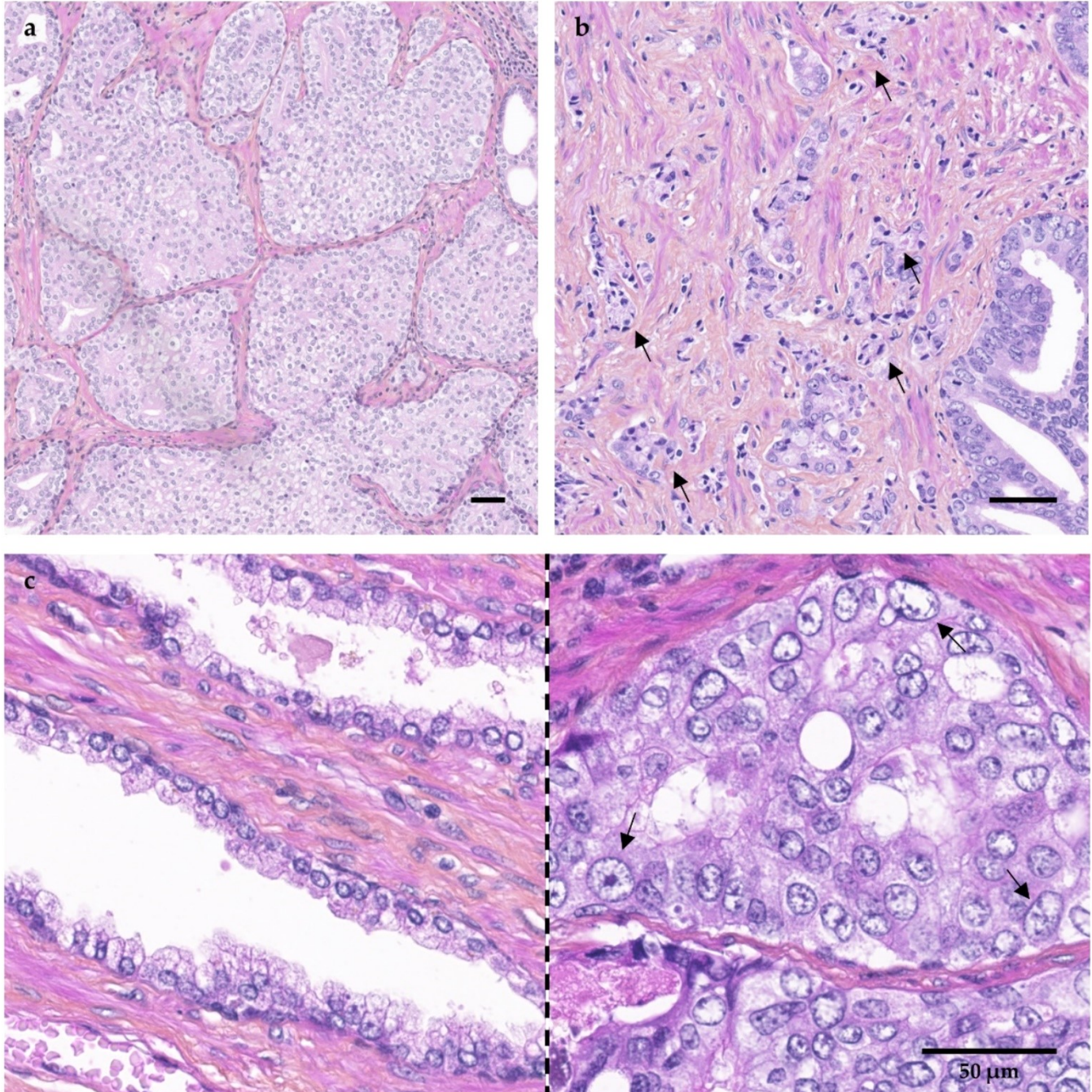
Biobanking at the CHUM and CHUQc-UL was conducted in collaboration with the Réseau de Recherche sur le cancer of the Fonds de recherche Québec-Santé (FRQS), which is affiliated with the Canadian Tumor Repository Network (CTRNet). We thank the patients who agreed to donate their prostate specimens and data for research. We also thank Hamida Claudia Syed, Cécilia Vargas, and all the biobank staff members for the time devoted to this project, Mirela Birlea for slide scanning, Andrée-Anne Grosset for her help in preparing the manuscript, and Jacqueline Chung for editing the manuscript.

### **3.7.3. Conflicts of interest**

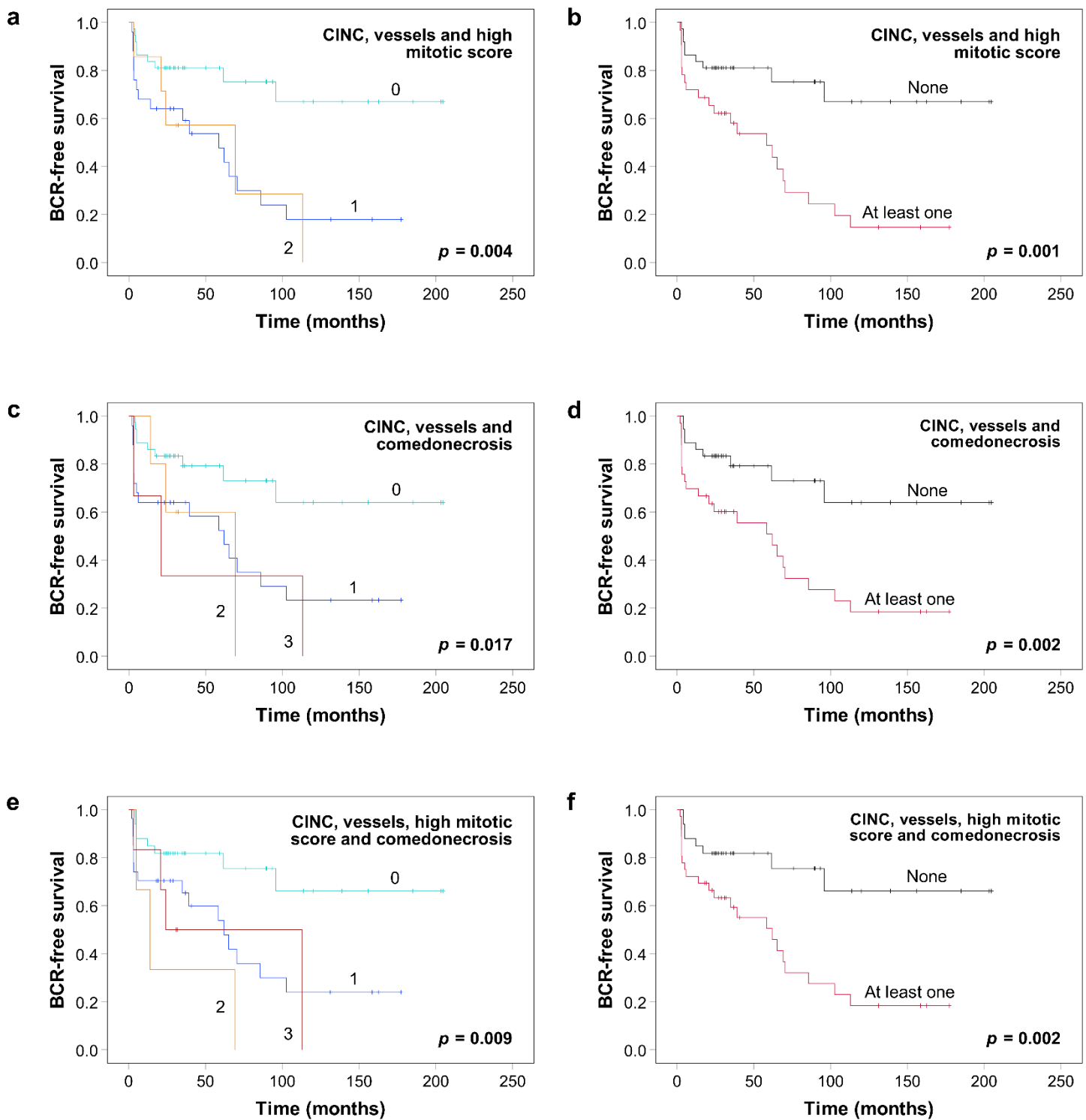
The authors declare no conflict of interest. The funders had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, or in the decision to publish the results.

## 3.8. Supplementary materials

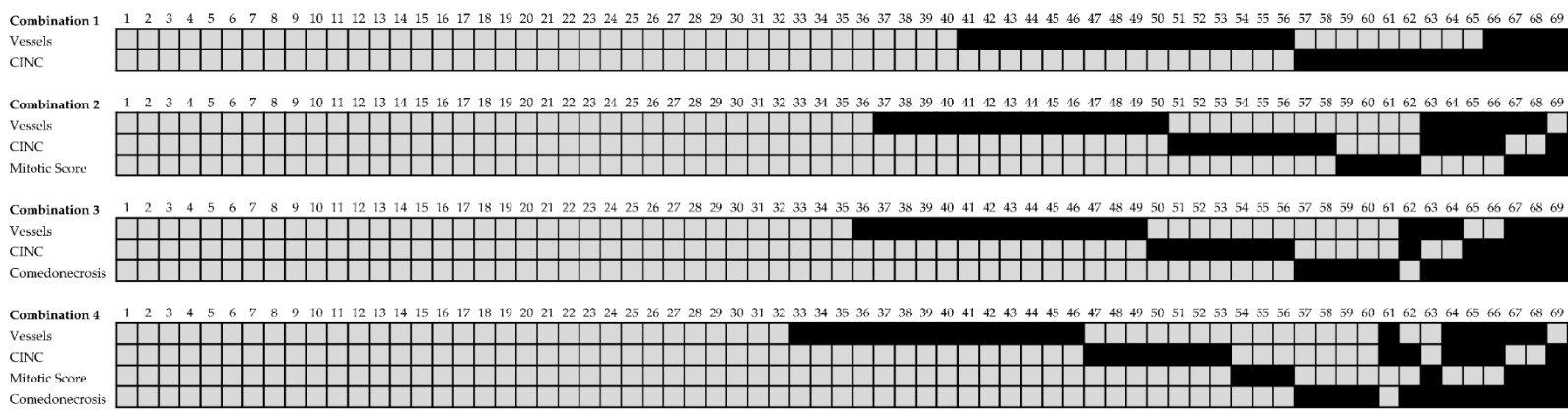
### 3.8.1. Supplementary figures



**Figure 3–S1.** Other morphologic criteria evaluated. (a) Solid pattern. (b) Pyknotic nuclei (arrows) in the adjacent invasive cancer. (c) Nuclei size, nuclei in benign glands (left), and  $>180 \mu\text{m}^2$  nuclei in IDC-P (right, arrows) on the same slide. HPS staining. Scale bars: 50  $\mu\text{m}$ .



**Figure 3–S2.** Kaplan–Meier curves of BCR-free survival according to the number (**a**, **c** and **e**) or the presence or absence (**b**, **d** and **f**) of three to four proposed criteria for IDC-P in the validation cohort.  $p$ -values were calculated using the log-rank test. CINC: Cells with irregular nuclear contours.



**Figure 3–S3.** Distribution of criteria according to the four combinations of criteria in the validation cohort. Each column represents a patient and each line a criterion. Adverse criteria are represented by black squares. CINC: cells with irregular nuclear contours.

### 3.8.2. Supplementary tables

**Table 3–S1.** Cox regression analysis for the prediction of BCR in the validation cohort according to the presence of three to four proposed criteria for IDC-P.

Included criteria	Variables	Validation cohort ( <i>n</i> = 69)					
		Univariate analysis			Multivariate analysis		
		HR	95% CI	<i>p</i> -value	HR	95% CI	<i>p</i> -value
CINC, vessels and mitotic score	Grade group *						
	1-2	ref			ref		
	3	2.72	1.07-6.92	<b>0.036</b>	2.13	0.82-5.51	0.121
	4-5	5.05	1.96-13.02	<b>0.001</b>	3.77	1.42-10.00	<b>0.008</b>
	Number of adverse criteria						
	0	ref					
	1	3.44	1.53-7.73	<b>0.003</b>			
	2	3.50	1.17-10.49	<b>0.025</b>			
0 vs. ≥ 1	3.45	1.59-7.51	<b>0.002</b>	2.64	1.18-5.89	<b>0.018</b>	
CINC, vessels and comedonecrosis	Grade group *						
	1-2	ref			ref		
	3	2.72	1.07-6.92	<b>0.036</b>	2.35	0.92-6.02	0.074
	4-5	5.05	1.96-13.02	<b>0.001</b>	4.27	1.64-11.11	<b>0.003</b>
	Number of adverse criteria						
	0	ref					
	1	3.04	1.34-6.88	<b>0.008</b>			
	2	3.21	0.86-12.01	0.084			
3	4.43	1.19-16.42	<b>0.026</b>				
0 vs. ≥ 1	3.20	1.47-6.95	<b>0.003</b>	2.70	1.23-5.91	<b>0.013</b>	
CINC, vessels, mitotic score and comedonecrosis	Grade group *						
	1-2	ref			ref		
	3	2.72	1.07-6.92	<b>0.036</b>	2.36	0.92-6.02	0.074
	4-5	5.05	1.96-13.02	<b>0.001</b>	4.18	1.60-10.89	<b>0.003</b>
	Number of adverse criteria						
	0	ref					
	1	2.99	1.28-6.98	<b>0.012</b>			
	2	5.97	1.56-22.86	<b>0.009</b>			
3	3.64	1.09-12.16	<b>0.036</b>				
0 vs. ≥ 1	3.30	1.47-7.38	<b>0.004</b>	2.74	1.21-6.19	<b>0.015</b>	

HR: hazard ratio; CI: confidence interval; CINC: cells with irregular nuclear contours. \* Grade groups 1–2 and 4–5 were combined because of the small number of patients in grade groups 1 (*n* = 5) and 4 (*n* = 5). Bold entities indicate statistically significant *p*-values.



**Table 3–S2.** Association of each proposed criteria with grade group, pT stage and surgical margin status in the test and validation cohorts.

Factor	Adverse criteria	Test cohort (n = 39)			Validation cohort (n = 69)		
		n (%)	Mean rank	p-value	n (%)	Mean rank	p-value
Grade Group	<b>CINC</b>			<b>0.035<sup>a</sup></b>			0.831 <sup>a</sup>
	Absence	31 (79)	18.16		56 (81)	35.23	
	Presence	8 (21)	27.13		13 (19)	34.00	
	<b>Vessels</b>			<b>0.027<sup>a</sup></b>			0.097 <sup>a</sup>
	Absence	32 (82)	18.22		49 (71)	32.61	
	Presence	7 (18)	28.14		20 (29)	40.85	
	<b>Mitotic score</b>			<b>0.044<sup>a</sup></b>			0.097 <sup>a</sup>
	Low	29 (74)	17.97		62 (90)	33.74	
	High	10 (26)	25.90		7 (10)	46.14	
	<b>Comedonecrosis</b>			0.116 <sup>a</sup>			0.912 <sup>a</sup>
Absence	28 (72)	18.30		57 (83)	34.89		
Presence	11 (28)	24.32		12 (17)	35.54		
pT stage	<b>CINC</b>			0.517 <sup>a</sup>			0.628 <sup>a</sup>
	Absence	31 (79)	19.47		56 (81)	34.47	
	Presence	8 (21)	22.06		13 (19)	37.27	
	<b>Vessels</b>			0.385 <sup>a</sup>			0.132 <sup>a</sup>
	Absence	32 (82)	19.34		49 (71)	32.83	
	Presence	7 (18)	23.00		20 (29)	40.33	
	<b>Mitotic score</b>			<b>0.029<sup>a</sup></b>			0.273 <sup>a</sup>
	Low	29 (74)	17.93		62 (90)	34.17	
	High	10 (26)	26.00		7 (10)	42.36	
	<b>Comedonecrosis</b>			0.050 <sup>a</sup>			0.183 <sup>a</sup>
Absence	28 (72)	18.02		57 (83)	33.62		
Presence	11 (28)	25.05		12 (17)	41.54		
Margin status	<b>CINC</b>			0.394 <sup>b</sup>			0.725 <sup>b</sup>
	Absence	31 (79)	N/A		54 (81)	N/A	
	Presence	8 (21)			13 (19)		
	<b>Vessels</b>			0.403 <sup>b</sup>			0.570 <sup>c</sup>
	Absence	32 (82)	N/A		47 (70)	N/A	
	Presence	7 (18)			20 (30)		
	<b>Mitotic score</b>			0.693 <sup>b</sup>			1.000 <sup>b</sup>
	Low	29 (74)	N/A		60 (90)	N/A	
	High	10 (26)			7 (10)		
	<b>Comedonecrosis</b>			0.262 <sup>b</sup>			0.483 <sup>b</sup>
Absence	28 (72)	N/A		55 (82)	N/A		
Presence	11 (28)			12 (18)			

CINC: cells with irregular nuclear contours; N/A: not applicable. Bold entities indicate statistically significant p-values. <sup>a</sup> Mann–Whitney U test; <sup>b</sup> Fisher’s exact test; <sup>c</sup> Pearson’s chi-square.

## Chapitre 4 – Discussion

Les patients avec des carcinomes intracanaux de la prostate (*intraductal carcinoma of the prostate*, IDC-P) sont plus à risque de mourir de leur cancer et répondent moins bien aux traitements standards [320]. Malgré l'association de l'IDC-P avec une augmentation du risque de rechute et du taux de mortalité lié au PCa [320], près de 40% des hommes avec des IDC-P n'ont toujours pas eu de récurrence biochimique (*biochemical recurrence*, BCR) cinq ans après leur prostatectomie radicale (*radical prostatectomy*, RP) [336]. Il y aurait donc une portion non négligeable de patients avec des IDC-P qui ont une progression lente de la maladie. Notre hypothèse était que l'IDC-P possède des caractéristiques qui permettent de stratifier les patients en catégories pertinentes pour la prise en charge.

Aucune étude n'avait encore caractérisé l'infiltration immunitaire de l'IDC-P pour voir si la réponse immunitaire associée à l'IDC-P est liée au pronostic. Dans le [Chapitre 2](#), nous avons comparé l'infiltration leucocytaire de l'IDC-P à celle du cancer adjacent et des tissus bénins. Nous avons ensuite comparé l'infiltration immunitaire au sein des patients avec IDC-P afin d'évaluer son impact dans le pronostic des patients. Dans le [Chapitre 3](#), nous avons étudié la morphologie de l'IDC-P. Nous avons cherché à trouver des critères morphologiques associés à la BCR dans les IDC-P pour pouvoir séparer les patients à haut risque de récurrence de ceux à faible risque de récurrence.

### 4.1. Populations

La première étude sur l'infiltration leucocytaire de l'IDC-P a été réalisée sur une cohorte de 96 patients atteints de PCa localement avancé, c'est-à-dire des PCa de stades pathologiques 3 et 4, ou de stade pathologique 2 avec des marges de résections positives (cohorte d'exploration des leucocytes). Tous les patients inclus ont eu recours à une RP entre 1996 et 1998, ce qui a permis d'avoir un long suivi post-chirurgie. Les patients ayant reçu un traitement d'hormonothérapie avant la chirurgie ont été exclus de l'étude car ce type de traitement entraîne des changements morphologiques dans la prostate qui affectent l'évaluation de la morphologie des tissus [401].

Dans la revue systématique de Porter et al. [302], la prévalence moyenne de l'IDC-P dans les cancers dit de risque modéré et de haut risque était de 23,1% et de 36,7%, respectivement. Cette revue comprend les résultats d'études effectuées à la fois sur des spécimens de RP et de biopsies. Notre cohorte contient des spécimens de RP mais seulement une lame représentative du score de Gleason à la RP a été évaluée pour chaque patient. Nous anticipions donc avoir autour de 30% de patients avec des IDC-P, soit une trentaine de patients. Finalement, 34% (33/96) des patients de la cohorte d'exploration des leucocytes avaient des IDC-P. Malgré le petit nombre de patients avec IDC-P, nous avons effectué des analyses de survie pour obtenir des résultats préliminaires (analyses univariés de survie sur cinq et 10 ans et analyse de survie Kaplan–Meier).

Dans la deuxième étude sur la morphologie de l'IDC-P, nous avons effectué une recherche avec les mots « intracanalair », « intra-canalair » et « colonisation » dans les rapports de pathologie de patients ayant eu recours à une RP de première ligne pour traiter leur PCa. Des patients avec des IDC-P, préalablement identifiés dans le cadre d'autres études, ont également été inclus dans l'étude. Cette cohorte, qui est indépendante de celle de la première étude, était donc constituée de patients avec des PCa de stades variés. Comme pour la première étude, les patients ayant reçu des traitements préopératoires ont été exclus pour permettre l'évaluation de la morphologie du PCa [401]. Les patients provenaient de deux centres : le Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) à Montréal et le Centre de recherche du CHU de Québec-Université Laval (CHUQc-UL) à Québec. Ceci nous a permis d'effectuer une première analyse sur une cohorte test constituée de patients provenant d'un des centres puis de valider nos résultats dans une cohorte de validation indépendante, constituée de patients provenant des deux centres. Finalement, 39 patients ont été inclus dans la cohorte test et 69 dans la cohorte de validation pour un total de 108 patients. L'IDC-P étant notre lésion d'intérêt, pour chaque patient, la lame examinée était la lame avec le plus d'IDC-P. En sélectionnant uniquement une lame par patient nous voulions identifier des critères qui ne nécessitent pas de réviser toutes les lames et dont l'évaluation peut être intégrée en clinique plus facilement.

## 4.2. Marquage par immunohistochimie

Dans le [Chapitre 2](#), les cellules immunitaires ont été détectées par immunohistochimie (IHC). L'IHC est une technique d'immunomarquage couramment utilisée en histopathologie [402-404]. Cette technique implique l'utilisation d'anticorps qui se lient à une protéine ou un antigène spécifique. Le complexe antigène-anticorps peut ensuite être révélé par une réaction biochimique colorée, visible en microscopie optique, qui implique une enzyme et son substrat [402]. Le marquage par IHC est dit direct lorsque l'anticorps dirigé contre le ou les antigènes cibles est conjugué à une enzyme; et indirect lorsqu'il est nécessaire d'ajouter un anticorps secondaire conjugué à une enzyme qui va se lier à l'anticorps primaire (celui qui reconnaît le ou les antigènes cibles). La méthode directe a l'avantage d'être plus spécifique, alors que la méthode indirecte est souvent plus sensible car plusieurs anticorps secondaires peuvent se lier au même anticorps primaire [402]. C'est cette dernière méthode qui a été utilisée dans notre étude.

Nous avons utilisé des anticorps dirigés contre des molécules membranaires pouvant être détectées à la surface des leucocytes appelées « *cluster of différenciation* » (CD). Plus précisément, CD3 pour identifier tous les lymphocytes T [405,406], CD8 pour les lymphocytes T cytotoxiques [407], CD45RO pour les lymphocytes T mémoires [408], CD68 pour les macrophages [409,410], CD163 pour les macrophages M2 [411,412], CD209 pour les cellules dendritiques immatures [413,414] et CD83, un marqueur d'activation fortement exprimé par les cellules dendritiques matures [414-416]. Nous avons aussi utilisé des anticorps ciblant une protéine nucléaire appelé FoxP3 pour « *forehead box P3* ». *Forehead box P3* est un facteur de transcription naturellement exprimé par les lymphocytes T régulateurs (T<sub>REG</sub>) [417].

Pour chaque patient, le nombre de cellules positives par mm<sup>2</sup> au niveau de glandes bénignes, dans la marge tumorale et dans le centre du cancer a été calculé dans 10 champs à fort grossissement (0,460 mm<sup>2</sup>) sélectionnés au hasard, tandis que les cellules positives dans l'IDC-P ont été quantifiées dans l'ensemble de l'IDC-P sur la lame. Pour chaque patient avec des IDC-P, la densité de cellules positives a été calculée dans l'IDC-P total et dans les points chauds immunitaires ou « *immune hotspots* ». Le point chaud immunitaire pour un marqueur donné a

été défini comme la moyenne de cellules positives/mm<sup>2</sup> la plus élevée dans les lésions d'IDC-P avec une aire supérieure à l'aire médiane de toutes les lésions d'IDC-P sur la lame.

### 4.3. Évènements d'intérêt

Dans le [Chapitre 2](#), la durée de suivi des patients avec des IDC-P ( $n = 33$ ) était assez longue (suivi médian de 14 ans, écart interquartile : 8–18) pour permettre l'évaluation des évènements associés à la progression du PCa : la BCR, le développement de métastases, le développement de résistance à la castration et les décès spécifiques au cancer (voir section [1.2.5.1. Évènements d'intérêt avant le décès : récurrence biochimique, récurrence clinique et résistance à la castration](#)); ainsi que la survie globale. Nous avons aussi évalué la survie sans avoir recours à une thérapie de déprivation des androgènes (*androgen deprivation therapy*, ADT), qui est une indication de rechute biochimique. L'ADT définitive est offerte au patient après suspicion ou confirmation de la progression de la maladie [152]. L'IDC-P est associé à un mauvais pronostic ([1.4.2. Impact clinique du carcinome intracanalair de la prostate et réponse au traitement](#)), nous nous attendions donc à avoir des taux élevés de récurrences et de décès. Chez nos 33 patients avec des IDC-P, 24 (73%) ont eu une BCR, 16 (48%) ont reçu une ADT définitive, 13 (39%) ont développé des métastases, 12 (36%) ont développé une résistance à la castration et 24 (73%) sont décédés, dont 11 (33%) à cause de leur PCa. Cependant, le nombre de patients/évènements était trop petit pour effectuer des analyses multivariées.

Dans le [Chapitre 3](#), nous avons choisi comme évènement d'intérêt la BCR. Les patients du CHUM constituaient presque 70% (74/108) des patients de l'étude, or le suivi de ces patients était plus court (RP entre 2013 et 2018 au CHUM vs. RP entre 1990 et 2003 au CHUQc-UL). Étant donné que la BCR est détectée plus tôt que la récurrence clinique [76], nous nous attendions à avoir plus d'évènements en regardant la BCR. Comme il a été mentionné dans l'introduction ([1.2.5.1. Évènements d'intérêt avant le décès : récurrence biochimique, récurrence clinique et résistance à la castration](#)), le taux de récurrence 10 ans post-RP est de 10 à 40% [104,105]. Malgré le court suivi des patients du CHUM nous anticipions avoir des taux de récurrence élevés vu la forte association entre l'IDC-P et la rechute biochimique ([1.4.2. Impact clinique du carcinome intracanalair de la](#)

[prostate et réponse au traitement](#)) [290,303,304,309,315-317]. Dans notre cohorte test (suivi médian de 54 mois, écart interquartile : 45–59), nous avons obtenu un taux de récurrence de 38% (15/39) et dans notre cohorte de validation (suivi médian de 67 mois, écart interquartile : 32–157) de 45% (31/69). Logiquement, le taux de BCR est plus bas dans la cohorte ne contenant que des patients du CHUM avec des durées de suivi plus courtes. Malgré la différence dans les durées de suivi entre les deux cohortes, nos taux se rapprochent des taux de récurrence les plus élevés observés 10 ans post-chirurgie [104,105].

Pour identifier nos critères délétères dans la cohorte test, nous nous sommes intéressés à la BCR précoce, c'est-à-dire avant 18 mois. Les patients atteints de PCa qui récidivent avant 18 mois ont plus de chances de mourir de leur cancer dans les 10 ans [384,385]. Dix-huit pourcent (7/39) des hommes de notre cohorte test ont eu une BCR précoce. Pour comparaison, 25% (17/69) des hommes de la cohorte de validation et 15% (5/33) des hommes avec IDC-P de la cohorte d'exploration des leucocytes ont eu une BCR précoce.

Le nombre de patients ( $n = 69$ ) et d'évènements ( $n = 31$ ) dans la cohorte de validation était suffisant pour faire des analyses de survie, incluant des régressions de Cox avec un nombre limité de variables (deux variables,  $\alpha = 5\%$ ).

## **4.4. Description de l'infiltration leucocytaire du carcinome intracanalair de la prostate**

### **4.4.1. Infiltration leucocytaire du carcinome intracanalair de la prostate comparativement au cancer invasif conventionnel**

Des IDC-P ont été retrouvés sur les lames représentatives de 34% (33/96) de notre cohorte d'exploration des leucocytes. Aucune étude n'avait encore analysé les cellules immunitaires présentes dans l'IDC-P. Dans notre étude, nous avons déterminé que quantifier les cellules immunitaires se trouvant dans des zones choisies de manière aléatoire dans le PCa ne suffit pas pour détecter une différence entre les patients avec ou sans IDC-P. En revanche, lorsque nous

quantifions les cellules immunitaires uniquement dans l'IDC-P et que nous les comparons à ceux qu'on retrouve dans le tissu adjacent (cancer, marge tumorale ou tissu bénin), nous observons des différences significatives. Globalement, l'infiltration immunitaire de l'IDC-P est réduite par rapport au cancer invasif adjacent. Plus spécifiquement, pour les lymphocytes T<sub>REG</sub> FoxP3<sup>+</sup>, les macrophages CD68<sup>+</sup> et CD163<sup>+</sup> et les cellules dendritiques CD209<sup>+</sup> et CD83<sup>+</sup>, la densité cellulaire (nombre de cellules par mm<sup>2</sup>) était moins élevée dans l'IDC-P que dans la tumeur centrale pour 92% (23/25), 86% (24/28), 93% (26/28), 69% (20/29, sans compter les cinq lames sans cellules CD209<sup>+</sup> dans le cancer et l'IDC-P) et 75% (21/28) des cas, respectivement.

Il est aussi intéressant de noter que la densité de lymphocytes T CD3<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup>, lymphocytes T mémoires CD45RO<sup>+</sup>, macrophages CD163<sup>+</sup> et cellules dendritiques CD209<sup>+</sup> et CD83<sup>+</sup> était plus élevée au niveau des marges tumorales que dans la tumeur centrale pour 73% (22/30), 79% (23/29), 71% (22/31), 81% (26/32), 90% (27/30) et 74% (23/31) des cas, respectivement. À l'inverse la densité de macrophages CD68<sup>+</sup> étaient plus élevée dans la tumeur centrale que dans les marges tumorales pour 81% (25/31) des cas.

Dans deux études réalisées avec la même cohorte de 96 patients et avec les mêmes tissus marqués par IHC, Molina et al. [418] ont trouvé qu'une forte densité de cellules dendritiques CD209<sup>+</sup> dans la marge tumorale est associée à une augmentation du risque de BCR (rapport de risque ou *hazard ratio* [HR] multivarié : 2,34, intervalle de confiance ou *confidence interval* [CI] à 95% : 1,23–4,44,  $p = 0,0099$ ), et qu'une forte densité de macrophages M2 CD163<sup>+</sup> dans le tissu bénin est associée à une augmentation du risque de décès liés au PCa (HR multivarié : 4,03, CI à 95% : 1,13–14,29,  $p = 0,0314$ ); alors qu'une forte densité de cellules dendritiques mature CD83<sup>+</sup> dans le tissu bénin diminue le risque de décès dus au PCa (HR multivarié : 0,08, CI à 95% : 0,01–0,51,  $p = 0,0074$ ) [419]. Cependant, l'infiltration de ces mêmes cellules dans la zone centrale de la tumeur n'est pas associée au pronostic. À l'inverse, pour les lymphocytes, c'est leur densité au centre de la tumeur qui serait liée au pronostic. En effet, Molina et al. [418] ont trouvé que, dans la tumeur centrale, un ratio CD45RO<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> faible et un ratio FoxP3<sup>+</sup>/CD45RO<sup>+</sup> élevé sont associés à une augmentation du risque de développer une BCR (HR multivarié : 2,18, CI à 95% : 1,15–4,1,  $p = 0,0174$ ; et HR multivarié : 2,54, CI à 95% : 1,25–5,18,  $p = 0,0103$ , respectivement) alors qu'un ratio CD45RO<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> élevé diminue le risque de mourir du PCa (HR multivarié : 0,06, CI à 95% :

$<0,01-0,87, p = 0,0395$ ). Au contraire, un ratio FoxP3<sup>+</sup>/CD3<sup>+</sup> élevé augmente le risque de décès lié au cancer (HR multivarié : 4,37, CI à 95% : 1,07–17,86,  $p = 0,0400$ ). Avec nos résultats dans l'IDC-P, ces données soulignent l'importance des régions sectionnées pour la quantification.

#### **4.4.2. Associations entre l'infiltration leucocytaire du cancer de la prostate et le pronostic dans la littérature**

Dans la plupart des tumeurs solides, la présence de lymphocytes infiltrant la tumeur (*tumor infiltrating lymphocytes*, TILs) a été associée à un bon pronostic [420-422]. Par exemple, pour le mélanome, un système de classification des tumeurs selon la distribution des TILs, décrit par Clark et al. à la fin des années 1980 [423], qui classe l'infiltrat immunitaire intra-tumoral en trois catégories : « *brisk* » (TILs présents dans toute la croissance verticale), « *non-brisk* » (TILs présents dans un ou plusieurs foyers de croissance verticale) et « *absent* » (absence d'infiltrat), s'est avéré être un facteur pronostique indépendant; avec de meilleurs taux de survie chez les patients avec une infiltration « *brisk* » et « *non-brisk* » [423-427]. Plus récemment, Azimi et al. ont proposé une modification du système de Clark qui décrit un score compris entre 0 et 3 qui prend en compte la densité et la distribution des TILs [428]. De même, pour le carcinome colorectal, un score similaire, le score de Klintrup-Mäkinen, développé en 2005, a montré qu'une inflammation dite de haut grade (infiltration en forme de bande ou réaction inflammatoire très importante avec destruction d'îlots de cellules cancéreuses) à la marge tumorale est indépendamment associée à une meilleure survie [429-434]. Par ailleurs, pour le carcinome mammaire, les pathologistes ont vite lié une forte densité de TILs à un bon pronostic [435], notamment dans les cancers du sein triple négatifs et HER2 positifs [436]. Dans ces études, plusieurs méthodes de quantification des TILs ont été employées mais la plus utilisée est celle introduite par Denkert et al. [437] en 2010 qui implique l'estimation du pourcentage de TILs intra-tumoraux et stromaux. En 2013, des lignes directrices, fournissant des instructions détaillées pour aider les pathologistes à évaluer les TILs dans le cancer du sein et se basant sur la méthode de Denkert et al., ont été élaborées par l'*International TILs Working Group* [438]. Selon les recommandations, les TILs doivent être semi-quantifiés dans le stroma adjacent à la tumeur comme une variable continue sur une seule lame par patiente [438].



Dans le cas du PCa, la relation entre les TILs et la survie n'est pas encore claire, bien que, étonnamment, la plupart des études montrent une corrélation entre les TILs et un mauvais pronostic. Les deux premières publications liant le pronostic des hommes atteints de PCa à l'infiltration immunitaire du cancer datent des années 1990. Ces études ont été réalisées à partir de colorations de routine à l'hématoxyline et l'éosine (H&E) ne permettant donc pas de distinguer les types de lymphocytes [363,364]. Dans une cohorte constituée de tissus chirurgicaux provenant de 325 hommes avec des PCa de stades variés, le premier groupe a trouvé qu'une faible expression de TILs est associée aux décès liés au cancer chez les patients sans métastases au diagnostic (HR multivarié : 0,67, CI à 95% : 0,47–0,95,  $p = 0,012$ ) ainsi que chez les patients avec des cancers localisés au diagnostic (HR multivarié : 0,44, CI à 95% : 0,23–0,84,  $p = 0,041$ ) [363]. Par opposition, le deuxième groupe a trouvé qu'une forte expression de TILs, dans le tissu stromal de spécimens de RP, est associée à une augmentation du risque de BCR (risque relatif [RR] multivarié : 2,35, CI à 95% : 1,08–5,08,  $p = 0,03$ ) dans une cohorte de 161 patients [364].

À partir des années 2000, l'IHC a commencé à être utilisée pour mieux caractériser les cellules immunitaires. La majorité des études ont continué à se focaliser sur les lymphocytes, principalement les lymphocytes T (**Tableau 4–1**).

**Tableau 4–1.** Résumé des études ayant évalué l'association entre l'infiltration immunitaire du cancer de la prostate et le pronostic, sur des tissus marqués par immunohistochimie.

Premier auteur, année	Type de spécimens	N	Cellules	Méthode de quantification	Évènement d'intérêt	Associations significatives
Richardsen, 2008 [344]	RP, TURP et LDN	59	CD3 <sup>+</sup> et CD68 <sup>+</sup>	Analyse digitale	Métastases	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD3<sup>+</sup>: ↑ dans les PCa métastatiques (uni)</li> <li>• CD68<sup>+</sup>: ↑ dans les PCa métastatiques (uni)</li> </ul>
Kaur, 2018 [346]	TMAAs	312	CD3 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> et FoxP3 <sup>+</sup>	Analyse digitale	BCR Métastases	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FoxP3<sup>+</sup>: ↑ associée au développement de métastases (multi)</li> </ul>
Ness, 2014 [342]	TMAAs	535	CD3 <sup>+</sup> , CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> et CD20 <sup>+</sup>	Visuel	BCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD8<sup>+</sup>: ↑ associée à la BCR (multi)</li> </ul>
McArdle, 2004 [343]	TURP et RP	79	CD4 <sup>+</sup> et CD8 <sup>+</sup>	Visuel	Décès liés au PCa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD4<sup>+</sup>: ↑ associée au décès liés au PCa (multi)</li> </ul>
Davidsson, 2013 [347]	TMAAs	663	CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> et FoxP3 <sup>+</sup>	Visuel	Décès liés au PCa	<ul style="list-style-type: none"> <li>• FoxP3<sup>+</sup>: ↑ associée au décès liés au PCa (multi)</li> </ul>
Flamminger, 2012 [365]	TMAAs	2144	CD3 <sup>+</sup> et CD20 <sup>+</sup>	Visuel	BCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD3<sup>+</sup>: ↑↑ et ↓↓ associées à la BCR (uni)</li> </ul>
Kärja, 2005 [345]	RP	188	CD4 <sup>+</sup> , CD8 <sup>+</sup> et CD20 <sup>+</sup>	Visuel	BCR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>/CD20<sup>+</sup>: ↑ associée à la BCR (multi)</li> </ul>

Premier auteur, année	Type de spécimens	N	Cellules	Méthode de quantification	Évènement d'intérêt	Associations significatives
Flamminger, 2013 [366]	TMAAs	1463	FoxP3 <sup>+</sup>	Visuel	BCR	• FoxP3 <sup>+</sup> : ↑ associée à la BCR (uni mais pas multi)
Comito, 2014 [367]	RP	93	CD68 <sup>+</sup> et CD163 <sup>+</sup>	Visuel	EPE BCR	• Macrophages M2 : ↑ associée à l'EPE (multi)
Molina, 2023 [419]	RP	99	CD209 <sup>+</sup> , CD83 <sup>+</sup> , CD68 <sup>+</sup> et CD163 <sup>+</sup>	Visuel et analyse digitale	BCR, ADT, décès liés au PCa/ métastases /CRPC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• CD209<sup>+</sup> dans la marge tumorale : ↑ associée à la BCR (multi)</li> <li>• CD83<sup>+</sup> : ↑ associée à un risque plus faible de nécessiter une ADT (multi)</li> <li>• CD83<sup>+</sup> dans le tissu bénin: ↑ associée à un risque plus faible de décès liés au PCa/ métastases/CRPC (multi)</li> <li>• CD163<sup>+</sup> dans le tissu bénin : ↑ associée aux décès liés au PCa/ métastases/CRPC (multi)</li> </ul>

ADT : thérapie de déprivation des androgènes, BCR : récurrence biochimique, CRPC : cancer de la prostate résistant à la castration, EPE : extension extra-prostatique; LDN : lymphadénectomie ou curage ganglionnaire; TMAAs : micromatrices tissulaires, multi : analyse multivariée; PCa : cancer de la prostate; TURP : Résection transurétrale de la prostate; uni : analyse univariée.

Richardson et al. ont trouvé une plus grande densité de lymphocytes T CD3<sup>+</sup> chez les patients avec des PCa métastatiques ( $n = 32$ ) comparativement aux patients sans métastases ( $n = 27$ ), que ce soit dans le compartiment stromal ( $p < 0,0001$ ) ou épithélial ( $p = 0,007$ ) (**Tableau 4–1**) [344]; alors que Kaur et al. n'ont pas observé de différence significative entre la densité de cellules CD3<sup>+</sup> et le développement de métastases dans leurs analyses uni- et multivariées ( $n = 312$ ) [346]. Ces derniers n'ont pas observé d'association significative entre la BCR et la densité de lymphocytes T cytotoxiques CD8<sup>+</sup> non plus [346]; alors que plus tôt, Ness et al. avaient trouvé que les hommes avec une forte expression de cellules CD8<sup>+</sup> récidivent plus vite (HR: 1,57, CI à 95%: 1,13–2,17,  $p = 0,007$ ) ( $n = 535$ ) (**Tableau 4–1**) [342]. Par ailleurs, McArdle et al. [343] et Davidsson et al. [347] n'ont pas observé de lien significatif entre la quantité de lymphocytes CD8<sup>+</sup> et les décès causés par le PCa ( $n = 79$ ; et  $n = 663$ , respectivement). Cependant, dans les mêmes études, McArdle et al. ont remarqué qu'une augmentation de la densité de lymphocytes T auxiliaires CD4<sup>+</sup> est indépendamment associée aux décès liés au PCa (HR multivarié : 2,29, 95% CI : 1,25–4,22,  $p = 0,008$ ) (**Tableau 4–1**) [343], alors que Davidsson et al. n'ont pas trouvé d'associations significatives [347].

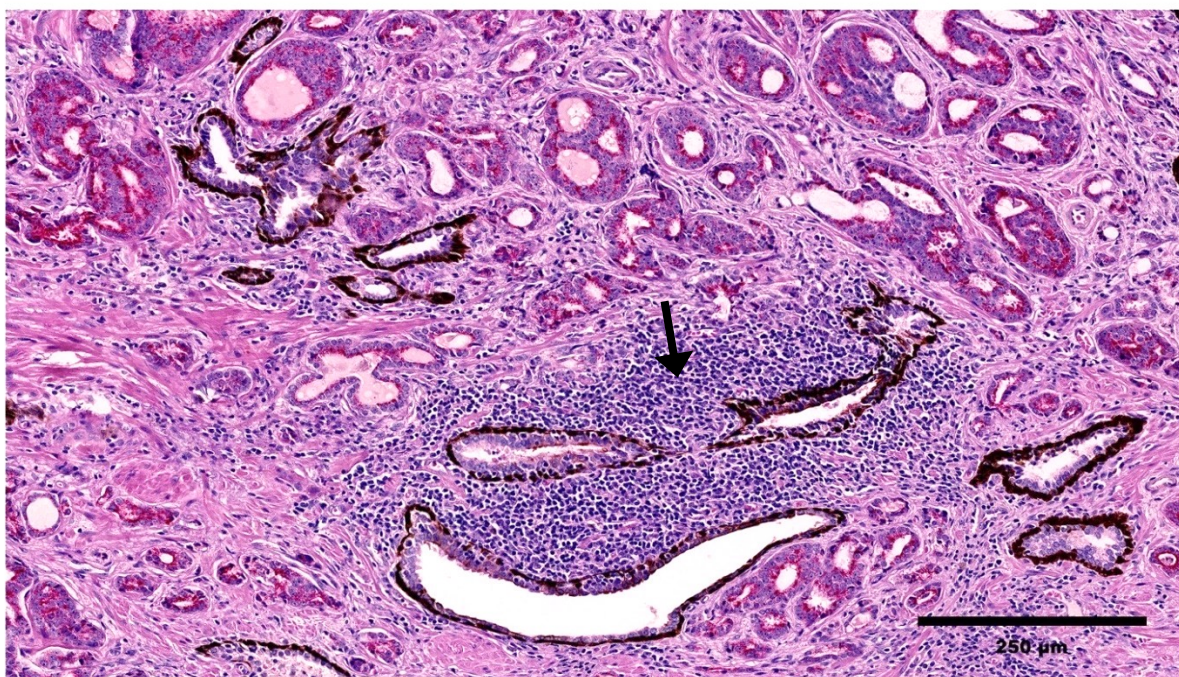
Flamminger et al. se sont intéressés aux lymphocytes T CD3<sup>+</sup> et aux lymphocytes B CD20<sup>+</sup>. Ils ont trouvé qu'une très forte et très faible expression de cellules CD3<sup>+</sup> raccourcit la survie sans BCR ( $p = 0,0188$ ), alors que la densité de lymphocytes B CD20<sup>+</sup> n'a pas d'effet ( $n = 2144$ ) (**Tableau 4–1**)

[365]. Par ailleurs, Kärja et al. ont associé une forte expression de trois marqueurs à la fois, CD4, CD8 et CD20, à la BCR (HR multivarié : 0,18, CI à 95% : 0,07–0,44,  $p = 0,012$ ) ( $n = 188$ ) (**Tableau 4–1**) [345].

Finalement, dans les études susmentionnées, Kaur et al. [346] ont constaté une augmentation du risque de développer des métastases et Davidsson et al. [347] une augmentation du risque de mourir du PCa chez les hommes avec une forte expression de T<sub>REG</sub> dans leur tumeur (HR multivarié : 12,89, CI à 95% : 1,59–104,40,  $p = 0,02$  et rapport de cote ou *odds ratio* [OR] multivarié : 1,12; CI à 95% : 1,02–1,23, respectivement) (**Tableau 4–1**). Une seconde étude du groupe de Flamminger et al. [366] suggèrent un lien entre l'augmentation de la densité des lymphocytes T<sub>REG</sub> et la BCR ( $p = 0,0151$ ), mais cette association n'est pas maintenue dans les analyses multivariées ( $n = 1463$ ) (**Tableau 4–1**).

Quant aux cellules présentatrices de l'antigène (*antigen presenting cells*, APC), très peu de données sont disponibles. Dans l'étude mentionnée plus haut de Richardson et al., le pourcentage de macrophage CD68<sup>+</sup> était plus élevé dans le tissu épithélial et stromal des patients avec des cancers confinés dans la prostate que chez les hommes avec une maladie métastatique (48% vs. 28%,  $p = 0,029$  et 54% vs. 14%,  $p = 0,008$ , respectivement) (**Tableau 4–1**) [344]. De même, Comito et al. ont noté que les macrophages M1 sont plus abondants dans les cancers confinés à la prostate, alors que les macrophages M2 sont significativement associés à l'extension extra-prostatique (RR multivarié : 0,30, CI à 95% : 0,09–0,89,  $p = 0,03$ ) (**Tableau 4–1**) [367]. Par ailleurs, Calagua et al. ont trouvé une corrélation entre les cellules CD8<sup>+</sup> et les niches d'APC, identifiées par l'expression de molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (*major histocompatibility complex*, MHC) de classe II ( $R^2 = 0,57$ ,  $p = 0,0001$ ) [368]. Plus récemment, Molina et al. ont évalué l'association entre la densité de macrophages et de cellules dendritiques, marquées par IHC, et le pronostic du cancer de la prostate (**Tableau 4–1**) [419]. Dans cette étude, une augmentation de la densité de macrophages M2 CD163<sup>+</sup> dans le tissu bénin adjacent au cancer invasif est associée à une augmentation du risque de mourir du PCa (HR multivarié : 4,03, CI à 95% : 1,13–14,29,  $p = 0,0314$ ), tandis qu'une augmentation de la densité de cellules CD83<sup>+</sup> dans le tissu bénin est associée à une diminution du risque de mourir du PCa (HR multivarié : 0,08, CI à 95% : 0,01–0,51,

$p = 0,0074$ ). De plus, une forte expression de cellules dendritiques CD209<sup>+</sup> au niveau de la marge tumorale augmente le risque de BCR (HR multivarié : 2,34, CI à 95% : 1,23–4,44,  $p = 0,0099$ ) [419]. Ces résultats, parfois non reproductibles d'une étude à l'autre, pourraient s'expliquer par la méthode utilisée pour quantifier les cellules immunitaires. En effet, la majorité de ces études ont examiné les cellules immunitaires dans des zones contenant des cellules épithéliales et stromales [343,345-347,363,365,366,419]. Seules quelques études ont examiné séparément les composantes épithéliales et stromales [342,344,364]. Or, les cellules de PCa prolifèrent souvent entre les glandes bénignes de la prostate sans les détruire. Il y a alors une cohabitation de tissu malin et bénin. Dans ce contexte, il est difficile de différencier une réponse immunitaire provoquée par le cancer d'une réponse immunitaire non liée au cancer, qui est d'ailleurs fréquemment observée dans la prostate [439]. En effet, on observe souvent dans les tissus de prostate, des amas lymphocytaires autour de glandes bénignes (**Figure 4–1**).



**Figure 4–1.** Coupe histologique d'une zone contenant des cellules cancéreuses et un foyer d'inflammation dans la prostate. Les cellules basales des glandes bénignes sont mises en évidence en brun (anti-p63 et anti-HMWCK) et les cellules cancéreuses en rouge ( $\alpha$ -méthylacyl-CoA racémase, AMACR) par IHC. On observe un amas de lymphocytes (flèche, points bleus) autour de glandes bénignes. Contre coloration : H&E. Échelle : 250  $\mu$ m.

Par ailleurs, le microenvironnement tumoral dans la marge tumorale est souvent différent de celui dans le centre de la tumeur [421,440,441]. Par exemple, les cellules tueuses naturelles (*natural killer*, NK), les cellules myéloïdes suppressives (*myeloid-derived suppressor cells*, MDSCs), les mastocytes (globules blancs contenant de nombreux granules cytoplasmiques et impliqués dans la défense contre les agents infectieux, les réactions allergiques et la cicatrisation) et les neutrophiles sont souvent plus abondants au niveau des marges tumorales [420]. La localisation de ces cellules dans le microenvironnement est guidée par les vaisseaux sanguins et lymphatiques, ainsi que le support apporté par le stroma fibroblastique [420].

L'évaluation du microenvironnement immunitaire de l'IDC-P serait une solution simple pour évaluer l'infiltration immunitaire sans avoir à se soucier de mesurer un effet non lié au cancer. En effet, par définition, l'IDC-P est isolé puisque les cellules cancéreuses prolifèrent à l'intérieur d'une glande prostatique. L'IDC-P possède plusieurs particularités qui pourrait mener à une infiltration différente de celle du PCa invasif. Tout d'abord, les cellules basales pourraient former une barrière qui affecte la capacité des cellules immunitaires à se rendre à l'intérieur du canal. De plus, l'absence de l'interaction cruciale entre les cellules stromales et les cellules immunitaires, ainsi que l'hypoxie subséquente à la croissance de la tumeur, peuvent créer un environnement immunosuppresseur dans l'IDC-P [442].

#### **4.4.3. Résultats préliminaires de l'association entre l'infiltration leucocytaire du carcinome intracanalair de la prostate et le pronostic**

Dans des analyses univariées, nous avons trouvé que les cellules CD68<sup>+</sup> étaient plus abondantes dans les IDC-P des hommes décédés de leur PCa (rangs moyens : 18,0 vs. 10,2,  $U = 21$ ,  $p$  ajustée pour les comparaisons multiples = 0,047) et des hommes décédés peu importe la cause (rangs moyens : 17,8 vs. 12,7,  $U = 40$ ,  $p$  ajustée = 0,047) dans les 10 ans suivant la chirurgie. Par ailleurs, dans les points chauds immunitaires, les cellules CD68<sup>+</sup> étaient plus abondantes dans les IDC-P des hommes décédés de leur PCa (rangs moyens: 24,3 vs. 12,7,  $U = 5$ ,  $p$  ajustée = 0,035) et des hommes décédés peu importe la cause (rangs moyens : 23,8 vs. 13,0,  $U = 11$ ,  $p$  ajustée = 0,035) dans les cinq ans suivant la chirurgie; les cellules CD163<sup>+</sup> étaient plus abondantes dans les IDC-P

des hommes qui ont développé des métastases (rangs moyens : 17,3 vs. 10,1,  $U = 26$ ,  $p$  ajustée = 0,035), qui sont décédés de leur PCa (rangs moyens : 18,7 vs. 9,9,  $U = 16$ ,  $p$  ajustée = 0,012) ou qui sont décédés peu importe la cause (rangs moyens: 20,6 vs. 10,6,  $U = 27$ ,  $p$  ajustée = 0,006) dans les 10 ans suivant la chirurgie; et les cellules CD209<sup>+</sup> étaient plus abondantes dans les IDC-P des hommes qui ont reçu une ADT définitive dans les cinq ou 10 ans suivant la chirurgie (rangs moyens : 21,9 vs. 12,4,  $U = 29$ ,  $p$  ajustée = 0,005; et rangs moyens: 18,4 vs. 11,0,  $U = 40$ ,  $p$  ajustée = 0,031, respectivement).

Nous avons été capables de séparer notre cohorte d'hommes avec IDC-P en patients avec des IDC-P « froids » ( $n = 17$ ) ou « intermédiaires/chauds » ( $n = 13$ ), selon les densités des huit marqueurs immunitaires dans l'ensemble de l'IDC-P; et en patients avec des IDC-P « froids/intermédiaires » ( $n = 22$ ) ou « chauds » ( $n = 7$ ), selon les densités de cellules CD68<sup>+</sup>, CD163<sup>+</sup> et CD209<sup>+</sup> dans les points chauds immunitaires. Le petit nombre de patients ne nous a pas permis d'évaluer séparément les patients avec des IDC-P « intermédiaires » ( $n = 9$  pour les densités dans l'IDC-P total et  $n = 6$  pour les densités dans les points chauds). Similairement aux études publiées, une infiltration leucocytaire faible avait tendance à être liée à un meilleur pronostic dans notre étude, mais les associations n'étaient pas significatives lorsque nous avons analysé la densité de cellules immunitaires dans l'IDC-P total. La tendance la plus marquée que nous avons observé concernait la survie sans nécessiter une ADT définitive, où 70% des patients avec des IDC-P globalement « froids » n'avaient pas encore reçu d'ADT définitive au bout de 10 ans de suivi, contre seulement 43% des patients avec des IDC-P globalement « intermédiaires/chauds ». En revanche, des IDC-P « chauds » selon les densités de cellules dans les points chauds CD68/CD163/CD209 sont associés au développement de métastases (survie médiane de 65 mois chez les patients du groupe « chaud » vs. survie médiane pas encore atteinte chez les patients du groupe « froid/intermédiaire »,  $p = 0,014$ ) et aux décès liés au PCa (survie médiane de 98 mois chez les patients du groupe « chaud » vs. survie médiane pas encore atteinte chez les patients du groupe « froid/intermédiaire »,  $p = 0,009$ ). Ces résultats préliminaires doivent être confirmés dans de plus grandes cohortes. Notre étude a cependant l'avantage d'inclure plus de marqueurs immunohistochimiques que les études précédentes (**Tableau 4-1**). Par ailleurs, dans notre étude à part l'extension extra-prostatique qui serait plus fréquente chez les patients

avec des IDC-P globalement « froids » que chez les patients avec des IDC-P globalement « intermédiaires/chauds » ( $p = 0,049$ ), aucune autre caractéristique clinique ou pathologique n'était significativement associée à l'un des groupes identifiés selon la densité de cellules dans l'IDC-P total ou dans les points chauds CD68/CD163/CD209. Ce qui nous laisse penser que les différences que nous observons entre les deux groupes ne dépendent pas d'autres variables pathologiques.

Globalement, lorsque nous regardons les études qui ont évaluées les sous-types de cellules immunitaires par IHC dans les tumeurs solides, notamment les mélanomes, les carcinomes colorectaux, les carcinomes du tractus gastro-intestinal supérieur et les carcinomes pulmonaires non à petites cellules, les lymphocytes T<sub>C</sub> CD8<sup>+</sup>, les lymphocytes T<sub>H</sub> CD4<sup>+</sup> et les lymphocytes T mémoires CD45RO<sup>+</sup> ont souvent été associés à un bon pronostic alors que les lymphocytes T<sub>REG</sub> sont typiquement associés à un mauvais pronostic [422]. Dans la majorité de ces études, c'est l'infiltration tumorale globale qui est évalué mais certaines de ses études rapportent l'impact clinique de la quantification de TILs dans les points chauds immunitaires [422]. Par exemple, dans le cancer colorectal, l'Immunoscore<sup>®</sup> basé sur la quantification des cellules CD3<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> dans les marges tumorales et dans la tumeur centrale a été développé au début des années 2000. Ce score, allant de 0 (faible) à 4 (élevé), selon les densités des deux types de cellules dans les points chauds immunitaires surpasse le système de classification TNM pour prédire la survie sans récurrence, la survie spécifique au cancer et la survie globale (meilleur pronostic chez les patients avec un score de 4) [443]. Curieusement, dans le cancer du sein, les points chauds immunitaires, identifiés sur des lames de tissus colorés à l'H&E, ont été associés à un meilleur pronostic chez les femmes avec des tumeurs n'exprimant pas les récepteurs aux œstrogènes [369], mais à un pire pronostic chez les femmes avec des tumeurs exprimant les récepteurs aux œstrogènes [370].

Par ailleurs, dans notre étude, il est intéressant de noter que chez nos hommes avec des IDC-P globalement « chauds » ou « froids », c'est l'ensemble des cellules immunitaires qui semble être réduit ou augmenté. Est-ce que cela pourrait s'expliquer par le fait qu'il y a des IDC-P plus isolés (morphologie, hypoxie) et donc moins accessibles aux cellules immunitaires ? Dans les prochaines études, il sera intéressant de voir si l'infiltration immunitaire des IDC-P avec des cellules basales continues et des IDC-P avec des cellules basales éparses sont similaires.

En résumé, nous avons constaté que l'infiltrat immunitaire de l'IDC-P est différent de celui du carcinome invasif conventionnel; cette différence était plus marquée pour les APC. De plus, l'IDC-P pourrait être séparé en IDC-P immunologiquement "froid" ou "chaud" selon les densités de cellules immunitaires dans l'IDC-P total ou dans les points chauds immunitaires. Dans notre étude, les points chauds immunitaires CD68/CD163/CD209 sont associés au développement de métastases et aux décès liés au cancer. Notre étude souligne la nécessité de mieux caractériser le microenvironnement immunitaire de l'IDC-P.

## 4.5. Description de critères morphologiques associés à la récurrence biochimique dans le carcinome intracanalair de la prostate

### 4.5.1. Critères morphologiques retenus

Afin d'identifier des critères morphologiques délétères dans l'IDC-P, le même observateur a évalué la morphologie de l'IDC-P sur la lame avec le plus d'IDC-P pour chaque patient. Les critères morphologiques de l'IDC-P qui ont été examinés sont présentés dans le **Tableau 4-2**.

**Tableau 4-2.** Liste des critères morphologiques évalués dans l'IDC-P.

<b>Quantité</b>	<b>Aire</b>	Aire totale d'IDC-P sur la lame
	<b>Pourcentage</b>	% d'IDC-P = aire IDC-P/aire cancer x 100
<b>Structure</b>	<b>Taille des canaux</b>	Diamètre transverse du plus gros canal d'IDC-P
	<b>Embranchements</b>	Absence ou présence
	<b>Patrons</b>	Cribriforme lâche/micropapillaire, cribriforme dense ou solide
	<b>Vaisseaux sanguins</b>	Absence ou présence
	<b>Nécrose centrale</b>	Absence ou présence
	<b>Cellules basales</b>	Continues ou discontinues/éparses
<b>Noyaux</b>	<b>Atypies</b>	Plus prononcées à la périphérie des glandes ou similaire partout
	<b>Taille</b>	Aire des plus gros noyaux
	<b>Contours</b>	Irréguliers ou réguliers/arrondis
	<b>Chromatine</b>	Dense ou lâche
	<b>Nucléoles</b>	Taille et nombre
	<b>Mitoses</b>	Nombre de mitoses par mm <sup>2</sup>
<b>Cytoplasme</b>	<b>Aspect</b>	Spumeux ou non-spumeux

IDC-P : carcinome intracanalair de la prostate.



Dix-huit pourcent (7/39) des hommes de notre cohorte test ont eu une récurrence précoce. Parmi les critères morphologiques évalués, cinq étaient significativement associés à la BCR précoce : les canaux plus larges, la présence de cellules avec des noyaux à contours irréguliers (*cells with irregular nuclear contours*, CINC), un score mitotique élevé, la présence de petits vaisseaux sanguins et la présence de comédonécrose. Le score mitotique a été évalué en suivant une technique qui est utilisée en routine depuis longtemps pour déterminer le grade histologique des cancers du sein [395] et des sarcomes [396]. Cette technique consiste à sélectionner, de façon aléatoire, des champs à fort grossissement (0,2 mm<sup>2</sup>) dans le cancer (dans notre cas spécifiquement dans l'IDC-P) dans lesquels les mitoses sont comptées pour obtenir une densité (nombre de mitoses/mm<sup>2</sup>) ou un score mitotique. Dans notre cas, nous avons utilisé le quartile supérieur de la distribution ( $\approx 2$  mitoses/mm<sup>2</sup>) pour séparer les patients avec un score mitotique élevé de ceux avec un score mitotique bas. Le seuil entre les canaux dit « larges » et les canaux moins larges a également été calculé selon le quartile supérieur de la distribution (diamètre transverse de 573  $\mu$ m) mais l'ensemble de la lame a dû être analysé pour trouver le canal d'IDC-P le plus large pour chaque lame. Les CINC étaient assez rares dans l'IDC-P et pouvaient facilement passer inaperçus si l'ensemble de l'IDC-P sur la lame n'était pas examiné. C'est d'ailleurs le critère avec lequel nous avons eu l'accord inter-évaluateur le plus bas ( $\kappa$  0,33). Pour qu'un patient soit placé dans le groupe « présence de CINC », au moins deux champs à fort grossissement (0,2 mm<sup>2</sup>) distincts devaient contenir des CINC. Pour les deux derniers critères, vaisseaux sanguins et comédonécrose, leur simple présence dans l'IDC-P a été reportée, peu importe leur fréquence.

Il est intéressant de constater que quatre de ces critères, soient les canaux de diamètre plus élevé, un score mitotique élevé, la présence de petits vaisseaux sanguins et la présence de comédonécrose, sont typiquement liés à la croissance tumorale. En effet, dans l'IDC-P plus les cellules cancéreuses vont proliférer dans les canaux et plus les canaux seront larges [444]. Le cancer est une maladie dans laquelle les cellules se divisent de manière incontrôlée [242], le taux de mitose est donc une indication de la prolifération cellulaire. De même, il est bien connu qu'il existe une corrélation entre la croissance tumorale et l'angiogenèse [445-451]. Les cellules tumorales vont induire la formation de nouveaux vaisseaux sanguins qui vont leur apporter l'oxygène et les nutriments nécessaires à leur croissance et favoriser le développement de

métastases [451]. Finalement, l'apparition de comédonécrose reflète une croissance accélérée liée à l'agressivité des cancers de patrons cribriformes ou solides [361,452].

#### **4.5.2. Critères morphologiques délétères et pronostic du carcinome intracanalair de la prostate dans la littérature**

Jusqu'à présent, la majorité des études qui se sont intéressées à la morphologie de l'IDC-P avaient pour objectif de distinguer l'IDC-P des autres lésions dans la prostate. Parmi leurs critères diagnostiques de l'IDC-P, Cohen et al. proposent que les canaux doivent faire au moins deux fois la taille des canaux bénins alentours pour être considérés comme de l'IDC-P [286]. De leur côté Guo et Epstein ont noté que les caractéristiques cytologiques les plus fréquentes dans l'IDC-P sont la comédonécrose (81%, 22/27), les mitoses (74%, 20/27) et un pléomorphisme marqué (67%, 18/27) [285]. De plus, trois groupes ont récemment démontré que la majorité des foyers avec comédonécrose ont une composante intracanalair, en détectant des cellules basales entourant les lésions dans 78% à 95% des PCa avec de la comédonécrose [389-391]. Nous n'avons pas trouvé d'études qui ont examiné la présence de CINC et de vaisseaux sanguins dans l'IDC-P. Les seules études qui ont examiné les CINC dans le PCa ont noté qu'ils sont plus fréquents dans les PCa de haut grade et pourraient être le résultat de l'absence de différenciation nucléaire dans les cancers plus agressifs [392,393]. En ce qui concerne les vaisseaux sanguins, leur présence pourrait être due à l'association qui existe entre l'IDC-P et l'hypoxie [361]. En réponse à un environnement hypoxique, les cellules cancéreuses sont capables de déclencher des processus angiogéniques aberrants [453]. Cette hypothèse pourrait d'ailleurs aussi s'appliquer à l'immunosuppression que nous avons observé dans la première étude. En effet, il a été montré que les environnements hypoxiques sont fortement immunosupprimés [362].

Les rares études qui ont cherché un lien entre la morphologie de l'IDC-P et le pronostic se sont focalisées sur les patrons architecturaux formés par les cellules cancéreuses dans l'IDC-P. Wilcox et al. ont rapporté qu'après cinq ans de suivi, seulement 20% des hommes avec des IDC-P de patrons solides ou présentant de la nécrose centrale ( $n = 28$ ) n'ont pas eu de progression de la maladie contre 65% des hommes avec des IDC-P de patrons cribriformes ( $n = 80$ ) [303]. De même, Cohen et al. ont noté qu'au bout de trois ans de suivi, 33% (6/18) des hommes avec des IDC-P de

patrons solides ou cribriformes n'avaient pas encore eu de BCR contre 83% (5/6) des hommes avec des IDC-P de patrons trabéculaires [304].

Pour notre part, nous n'avons pas trouvé d'association entre le patron solide ( $n = 11$ ) et la rechute précoce dans notre cohorte test. Possiblement parce que nous avons évalué nos critères sur une seule lame par patient, alors que plusieurs patrons peuvent coexister dans la même tumeur. De plus, les deux études en question n'ont pas précisé leur définition du patron solide, que nous avons défini comme une prolifération de cellules cancéreuses dans le canal qui occupe plus de 95% de la lumière.

#### **4.5.3. Critères morphologiques délétères et pronostic du carcinome intracanalair de la prostate dans notre étude**

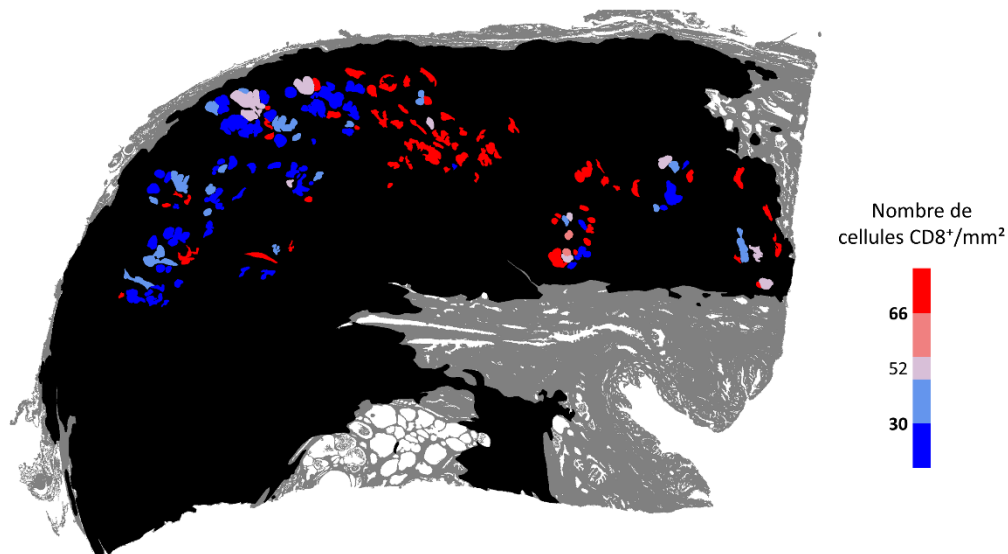
Sur les cinq critères potentiellement délétères identifiés dans notre cohorte test, deux sont restés significativement et indépendamment associés à une augmentation du risque de BCR dans la cohorte de validation : les CINC et les vaisseaux sanguins. Lorsque nous combinons ces deux critères, nous trouvons que les patients avec au moins un des deux critères sont deux fois plus à risque de développer une BCR comparativement aux patients avec aucun des deux critères (HR multivarié : 2,32, CI à 95% : 1,09–4,96,  $p = 0,029$ ).

Étant donné qu'un score mitotique élevé et la présence de comédonécrose ont montré une tendance à une survie sans BCR plus courte dans la cohorte de validation, nous avons voulu tester si les ajouter dans nos analyses améliorerait notre modèle. Le HR est passé de 2,32 à 2,74 lorsque nous avons ajouté ces deux critères dans le modèle (HR multivarié : 2,74, CI à 95% : 1,21–6,19,  $p = 0,015$ ). Lorsque nous examinons la distribution des critères dans la cohorte de validation, quelle que soit la combinaison, plus de 75% des hommes présentant des critères défavorables n'avaient qu'un seul critère défavorable et la présence de petits vaisseaux était le critère le plus fréquent. Nous pensons que dans des cohortes plus grandes, l'impact individuel d'un score mitotique élevé et de la présence de comédonécrose sera mieux démontré. En ce qui concerne la taille des canaux, nous n'avons pas trouvé d'association avec la BCR dans la cohorte de validation. Ce critère nécessite sûrement l'analyse de l'ensemble des lames avec IDC-P pour être fiable.

Ces résultats encourageants suggèrent que nos critères peuvent servir d'outils pronostiques pour isoler les patients à haut risque de récurrence. Les patients avec des IDC-P pourraient être stratifiés selon le risque de BCR et le traitement adapté à ce risque.

## 4.6. Perspectives

Notre étude exploratoire de l'infiltration leucocytaire de l'IDC-P n'a pas inclus toutes les cellules clés de la réponse immunitaire telles que les lymphocytes B, les cellules NK, les neutrophiles et les monocytes classiques, et les MDSCs [374,375]. Il sera important d'inclure ces cellules immunitaires dans les prochaines études. Il serait également intéressant de voir la distribution des cellules immunitaires dans l'IDC-P sur les lames. En entourant les glandes d'IDC-P individuellement et en comptant les cellules immunitaires dans chaque glande, nous sommes capables de visualiser la distribution spatiale des cellules immunitaires dans l'IDC-P (**Figure 4–2**).



**Figure 4–2.** Exemple de la distribution de cellules CD8<sup>+</sup> dans l'IDC-P sur une coupe de tissu de prostate. Les glandes d'IDC-P sont représentées en couleur selon la densité de lymphocytes CD8<sup>+</sup> (échelle à droite), le cancer en noir et le reste du tissu en gris. La quantification des lymphocytes a été faite sur le tissu marqué par IHC.

Nous possédons au moins deux cohortes supplémentaires de patients avec des IDC-P qui pourront être utilisées pour valider nos résultats. La première est constituée de tissus de RP provenant de 180 patients atteints de PCa de stades variés et avec des IDC-P. Dans cette cohorte les blocs avec des IDC-P ont déjà été identifiés. La deuxième cohorte est constituée d'un TMA construit à partir de tissus de RP de 58 patients avec des IDC-P et des stades variés. Les carottes de tissus ont été prélevées spécifiquement dans l'IDC-P. Nos analyses devront aussi être faites sur des tissus de biopsies, au moment où le traitement n'a pas encore été choisi. Des profils morphologiques et immunologiques prédictifs de la réponse assureraient un traitement plus adéquat pour les hommes avec des IDC-P.

Par ailleurs, nous avons optimisé une technique d'immunofluorescence multiplexe qui nous permet d'identifier jusqu'à cinq antigènes en même temps sur une même lame puis d'effectuer une IHC suivie d'une contre coloration à l'H&E. Cette technique permettra non seulement d'évaluer la colocalisation des marqueurs et de comparer les distributions spatiales des différents phénotypes cellulaires, mais aussi de confirmer la présence de cellules basales autour de l'IDC-P et d'évaluer la morphologie de l'IDC-P sur les mêmes lames. Nous serons donc capables d'examiner s'il y a une association entre les critères défavorables que nous avons identifiés et la réponse immunitaire dans l'IDC-P. Par ailleurs, nous pourrions évaluer si l'infiltration immunitaire et la morphologie de l'IDC-P sont affectées par la continuité des cellules basales.

En plus des cellules immunitaires, nous avons prévu d'inclure dans nos panels d'immunofluorescence multiplexe des acteurs clés de la réponse immunitaire comme les marqueurs associés à une inhibition de la réponse immunitaire PD-1/PD-L1 [368,454] et CTLA-4 [455], qui sont actuellement les plus étudiés dans les essais cliniques en immunothérapie sur les PCa ([1.3.2. Limites actuelles et espoir de l'immunothérapie dans le traitement du cancer de la prostate](#), **Tableau 1-8**). Nous comptons aussi inclure des cytokines comme le TGF- $\beta$  [456-458], VEGF [459] et IL-6 [457] qui vont permettre de mieux comprendre le rôle de la diversité des cytokines et du réseau vasculaire dans la réponse antitumorale médiée par les leucocytes dans le PCa et dans l'IDC-P [460]. Finalement, nous aimerions également inclure dans nos panels les altérations génétiques qui ont été liées à l'immunogénicité dans le PCa, y compris l'expression

d'ERG [346], PTEN [346], et RB1 [368] qui sont aussi associés à l'IDC-P ([article de revue en annexe](#)) [320].

En plus de techniques d'analyse d'images basées sur l'intelligence artificielle, des marqueurs permettant une évaluation plus objective et plus reproductible de nos critères morphologiques pourront aussi être inclus dans nos panels, notamment CD34 pour détecter les vaisseaux sanguins [398,399] et Ki67 et pHH3 comme indication de prolifération et de mitoses [400].

## Conclusion

L'IDC-P est une maladie agressive et léthale. Malgré son association à un mauvais pronostic, une portion non négligeable des hommes avec IDC-P ont une maladie qui progresse lentement. Cette thèse avait pour objectif de mieux caractériser l'IDC-P afin d'optimiser la prise en charge des patients avec des IDC-P et notamment de déterminer quels patients ne nécessitent pas une intensification immédiate de leur traitement.

En examinant les cellules immunitaires dans l'IDC-P, nous avons trouvé que l'environnement immunitaire de l'IDC-P est différent de celui du cancer invasif usuel. Qui plus est, l'IDC-P peut être stratifié en IDC-P immunologiquement « froid » ou « chaud » en fonction des densités de cellules immunitaires dans l'IDC-P total ou dans les points chauds immunitaires, avec une tendance vers des pronostics différents. Particulièrement en ce qui concerne les points chauds immunitaires CD68/CD163/CD209 qui sont associés au développement de métastases et aux décès spécifiques au PCa. Ces données sont prometteuses mais encore très préliminaires et doivent être validées dans de plus grandes cohortes. Cette première étude souligne la nécessité de mieux caractériser le microenvironnement immunitaire de l'IDC-P et d'évaluer son implication dans le mauvais pronostic des hommes avec des IDC-P.

Par ailleurs, notre deuxième étude sur la morphologie de l'IDC-P suggère que des critères morphologiques dans l'IDC-P peuvent être utilisés pour distinguer les patients à faible risque de récurrence de ceux à haut risque de récurrence, notamment la présence de vaisseaux sanguins et de CINC. Les critères que nous avons définis sont facilement évaluables et pourront être intégrés en clinique rapidement. Nous proposons de combiner deux à quatre critères morphologiques, dont la présence est un prédicteur indépendant de BCR, pour stratifier les hommes avec des IDC-P en fonction de leur statut de risque. Si ces résultats sont confirmés dans des cohortes plus grandes, les rapports pathologiques actuels devront être adaptés pour inclure le concept des IDC-P à faible et à haut risque.

Nos études suggèrent donc que des marqueurs immunitaires et des critères morphologiques peuvent être utilisés pour stratifier les patients avec des IDC-P en catégories pertinentes pour la

prise en charge. Ces résultats qui soulignent la nécessité de mieux caractériser l'IDC-P, doivent être validés dans des cohortes plus grandes et indépendantes. Une fois validés, ces facteurs pronostiques aideront les cliniciens à définir une prise en charge optimale pour les patients avec des IDC-P et pourront être exploités pour identifier de nouvelles cibles thérapeutiques pour lutter contre les PCa agressifs.



## Références bibliographiques

1. Halperin, E.C.; Perez, C.A.; et al. *Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology*; Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins: 2008; p. 2106.
2. Saad, F.; McCormack, M. *Le cancer de la prostate*, 5 ed.; Éditeur, A.P., Ed.; 2019.
3. Sibony, M.; Ratour, J.; et al. *Pratique en anatomopathologie : La prostate*; Medical, S., Ed.; Sauramps Medical: Montpellier, France, 2018; p. 240.
4. McNeal, J.E. The zonal anatomy of the prostate. *Prostate* **1981**, *2*, 35-49, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.2990020105>.
5. Walz, J.; Burnett, A.L.; et al. A critical analysis of the current knowledge of surgical anatomy related to optimization of cancer control and preservation of continence and erection in candidates for radical prostatectomy. *Eur Urol* **2010**, *57*, 179-192, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2009.11.009>.
6. Buyyounouski, M.K.; Choyke, P.L.; et al. Prostate cancer - major changes in the American Joint Committee on Cancer eighth edition cancer staging manual. *CA Cancer J Clin* **2017**, *67*, 245-253, doi:<https://doi.org/10.3322/caac.21391>.
7. Bhavsar, A.; Verma, S. Anatomic imaging of the prostate. *Biomed Res Int* **2014**, *2014*, 728539, doi:<https://doi.org/10.1155/2014/728539>.
8. Toivanen, R.; Shen, M.M. Prostate organogenesis: tissue induction, hormonal regulation and cell type specification. *Development* **2017**, *144*, 1382-1398, doi:<https://doi.org/10.1242/dev.148270>.
9. Aumüller, G.; Riva, A. Morphology and functions of the human seminal vesicle. *Andrologia* **1992**, *24*, 183-196, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1439-0272.1992.tb02636.x>.
10. Snell, R.S. *Clinical Anatomy by Regions*; Lippincott Williams & Wilkins: 2011.
11. Cunha, G.R.; Donjacour, A.A.; et al. The endocrinology and developmental biology of the prostate. *Endocr Rev* **1987**, *8*, 338-362, doi:<https://doi.org/10.1210/edrv-8-3-338>.
12. Schulze, C. Sertoli cells and Leydig cells in man. *Adv Anat Embryol Cell Biol* **1984**, *88*, 1-104, doi:<https://doi.org/10.1007/978-3-642-69869-9>.
13. Huggins, C.; Hodges, C.V. Studies on prostatic cancer. I. The effect of castration, of estrogen and of androgen injection on serum phosphatases in metastatic carcinoma of the prostate. *Cancer research* **1941**, *1*, 293-297.
14. Sung, H.; Ferlay, J.; et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **2021**, *71*, 209-249, doi:<https://doi.org/10.3322/caac.21660>.
15. Ferlay, J.; Ervik, M.; et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon, France: International Agency for Research on Cancer. Available from: <https://gco.iarc.fr/today>. Accessed 18 December 2022 [Internet].
16. Brenner, D.R.; Poirier, A.; et al. Projected estimates of cancer in Canada in 2022. *Cmaj* **2022**, *194*, E601-e607, doi:<https://doi.org/10.1503/cmaj.212097>.
17. Scardino, P.T. Early detection of prostate cancer. *Urol Clin North Am* **1989**, *16*, 635-655.
18. Rawla, P. Epidemiology of Prostate Cancer. *World J Oncol* **2019**, *10*, 63-89, doi:<https://doi.org/10.14740/wjon1191>.

19. SEER\*Explorer: An interactive website for SEER cancer statistics. Surveillance Research Program, National Cancer Institute. Available online: <https://seer.cancer.gov/explorer/> (accessed on 30 December 2022).
20. Wu, I.; Modlin, C.S. Disparities in prostate cancer in African American men: what primary care physicians can do. *Cleve Clin J Med* **2012**, *79*, 313-320, doi:<https://doi.org/10.3949/ccjm.79a.11001>.
21. Otiono, K.; Nkonge, B.; et al. Prostate cancer screening in Black men in Canada: a case for risk-stratified care. *Cmaj* **2022**, *194*, E1411-e1415, doi:<https://doi.org/10.1503/cmaj.220452>.
22. Freedman, M.L.; Haiman, C.A.; et al. Admixture mapping identifies 8q24 as a prostate cancer risk locus in African-American men. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2006**, *103*, 14068-14073, doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.0605832103>.
23. Okobia, M.N.; Zmuda, J.M.; et al. Chromosome 8q24 variants are associated with prostate cancer risk in a high risk population of African ancestry. *Prostate* **2011**, *71*, 1054-1063, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.21320>.
24. Haiman, C.A.; Chen, G.K.; et al. Characterizing genetic risk at known prostate cancer susceptibility loci in African Americans. *PLoS Genet* **2011**, *7*, e1001387, doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1001387>.
25. Robbins, C.M.; Hooker, S.; et al. EphB2 SNPs and sporadic prostate cancer risk in African American men. *PLoS One* **2011**, *6*, e19494, doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0019494>.
26. Hatcher, D.; Daniels, G.; et al. Molecular mechanisms involving prostate cancer racial disparity. *Am J Transl Res* **2009**, *1*, 235-248.
27. Hosain, G.M.; Sanderson, M.; et al. Racial/ethnic differences in predictors of PSA screening in a tri-ethnic population. *Cent Eur J Public Health* **2011**, *19*, 30-34, doi:<https://doi.org/10.21101/cejph.a3622>.
28. Bratt, O. Hereditary Prostate Cancer: Clinical Aspects. *J Urol* **2002**, *168*, 906-913, doi:[https://doi.org/10.1016/S0022-5347\(05\)64541-7](https://doi.org/10.1016/S0022-5347(05)64541-7).
29. Heidegger, I.; Tsaour, I.; et al. Hereditary prostate cancer – Primetime for genetic testing? *Cancer Treatment Reviews* **2019**, *81*, 101927, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2019.101927>.
30. Robinson, D.; Van Allen, Eliezer M.; et al. Integrative Clinical Genomics of Advanced Prostate Cancer. *Cell* **2015**, *161*, 1215-1228, doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.001>.
31. Eeles, R.A.; Olama, A.A.A.; et al. Identification of 23 new prostate cancer susceptibility loci using the iCOGS custom genotyping array. *Nature Genetics* **2013**, *45*, 385-391, doi:<https://doi.org/10.1038/ng.2560>.
32. Lynch, H.T.; Kosoko-Lasaki, O.; et al. Screening for familial and hereditary prostate cancer. *International Journal of Cancer* **2016**, *138*, 2579-2591, doi:<https://doi.org/10.1002/ijc.29949>.
33. Conti, D.V.; Darst, B.F.; et al. Trans-ancestry genome-wide association meta-analysis of prostate cancer identifies new susceptibility loci and informs genetic risk prediction. *Nat Genet* **2021**, *53*, 65-75, doi:<https://doi.org/10.1038/s41588-020-00748-0>.

34. Hsing, A.W.; Tsao, L.; et al. International trends and patterns of prostate cancer incidence and mortality. *Int J Cancer* **2000**, *85*, 60-67, doi:[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0215\(20000101\)85:1<60::aid-ijc11>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0215(20000101)85:1<60::aid-ijc11>3.0.co;2-b).
35. Chu, L.W.; Ritchey, J.; et al. Prostate cancer incidence rates in Africa. *Prostate Cancer* **2011**, *2011*, 947870, doi:<https://doi.org/10.1155/2011/947870>.
36. Yoshizawa, K.; Willett, W.C.; et al. Study of prediagnostic selenium level in toenails and the risk of advanced prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* **1998**, *90*, 1219-1224, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/90.16.1219>.
37. Helzlsouer, K.J.; Huang, H.Y.; et al. Association between alpha-tocopherol, gamma-tocopherol, selenium, and subsequent prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* **2000**, *92*, 2018-2023, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/92.24.2018>.
38. Duffield-Lillico, A.J.; Dalkin, B.L.; et al. Selenium supplementation, baseline plasma selenium status and incidence of prostate cancer: an analysis of the complete treatment period of the Nutritional Prevention of Cancer Trial. *BJU Int* **2003**, *91*, 608-612, doi:<https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.2003.04167.x>.
39. Tuohimaa, P.; Pukkala, E.; et al. Does solar exposure, as indicated by the non-melanoma skin cancers, protect from solid cancers: vitamin D as a possible explanation. *Eur J Cancer* **2007**, *43*, 1701-1712, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2007.04.018>.
40. Mullins, J.K.; Loeb, S. Environmental exposures and prostate cancer. *Urol Oncol* **2012**, *30*, 216-219, doi:<https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2011.11.014>.
41. Grant, W.B.; Peiris, A.N. Differences in vitamin D status may account for unexplained disparities in cancer survival rates between African and white Americans. *Dermatoendocrinol* **2012**, *4*, 85-94, doi:<https://doi.org/10.4161/derm.19667>.
42. Barnett, C.M.; Beer, T.M. Prostate cancer and vitamin D: what does the evidence really suggest? *Urol Clin North Am* **2011**, *38*, 333-342, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ucl.2011.04.007>.
43. Collin, S.M.; Metcalfe, C.; et al. Circulating folate, vitamin B12, homocysteine, vitamin B12 transport proteins, and risk of prostate cancer: a case-control study, systematic review, and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2010**, *19*, 1632-1642, doi:<https://doi.org/10.1158/1055-9965.Epi-10-0180>.
44. Hiatt, R.A.; Armstrong, M.A.; et al. Alcohol consumption, smoking, and other risk factors and prostate cancer in a large health plan cohort in California (United States). *Cancer Causes Control* **1994**, *5*, 66-72, doi:<https://doi.org/10.1007/bf01830728>.
45. Rzos, C.; Papassava, M.; et al. Alcohol consumption and prostate cancer: a mini review. *Exp Oncol* **2010**, *32*, 66-70.
46. Schottenfeld, D.; Fraumeni, J.F. *Cancer Epidemiology and Prevention*; Oxford University Press: 2006.
47. Cerhan, J.R.; Torner, J.C.; et al. Association of smoking, body mass, and physical activity with risk of prostate cancer in the Iowa 65+ Rural Health Study (United States). *Cancer Causes Control* **1997**, *8*, 229-238, doi:<https://doi.org/10.1023/a:1018428531619>.
48. Huncharek, M.; Haddock, K.S.; et al. Smoking as a risk factor for prostate cancer: a meta-analysis of 24 prospective cohort studies. *Am J Public Health* **2010**, *100*, 693-701, doi:<https://doi.org/10.2105/ajph.2008.150508>.

49. Wilson, K.M.; Kasperzyk, J.L.; et al. Coffee consumption and prostate cancer risk and progression in the Health Professionals Follow-up Study. *J Natl Cancer Inst* **2011**, *103*, 876-884, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/djr151>.
50. Demark-Wahnefried, W.; Moyad, M.A. Dietary intervention in the management of prostate cancer. *Curr Opin Urol* **2007**, *17*, 168-174, doi:<https://doi.org/10.1097/MOU.0b013e3280eb10fc>.
51. Gurel, B.; Lucia, M.S.; et al. Chronic inflammation in benign prostate tissue is associated with high-grade prostate cancer in the placebo arm of the prostate cancer prevention trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2014**, *23*, 847-856, doi:<https://doi.org/10.1158/1055-9965.Epi-13-1126>.
52. Dennis, L.K.; Lynch, C.F.; et al. Epidemiologic association between prostatitis and prostate cancer. *Urology* **2002**, *60*, 78-83, doi:[https://doi.org/10.1016/s0090-4295\(02\)01637-0](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(02)01637-0).
53. Krieger, J.N.; Riley, D.E.; et al. Epidemiology of prostatitis: new evidence for a world-wide problem. *World J Urol* **2003**, *21*, 70-74, doi:<https://doi.org/10.1007/s00345-003-0329-0>.
54. Lu, H.; Ouyang, W.; et al. Inflammation, a key event in cancer development. *Mol Cancer Res* **2006**, *4*, 221-233, doi:<https://doi.org/10.1158/1541-7786.Mcr-05-0261>.
55. Jiang, J.; Li, J.; et al. The role of prostatitis in prostate cancer: meta-analysis. *PLoS One* **2013**, *8*, e85179, doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085179>.
56. Bhindi, B.; Locke, J.; et al. Dissecting the association between metabolic syndrome and prostate cancer risk: analysis of a large clinical cohort. *Eur Urol* **2015**, *67*, 64-70, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.01.040>.
57. Arthur, R.; Møller, H.; et al. Association between baseline serum glucose, triglycerides and total cholesterol, and prostate cancer risk categories. *Cancer Med* **2016**, *5*, 1307-1318, doi:<https://doi.org/10.1002/cam4.665>.
58. Tsilidis, K.K.; Allen, N.E.; et al. Diabetes mellitus and risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int J Cancer* **2015**, *136*, 372-381, doi:<https://doi.org/10.1002/ijc.28989>.
59. Fall, K.; Garmo, H.; et al. Diabetes mellitus and prostate cancer risk; a nationwide case-control study within PCBaSe Sweden. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2013**, *22*, 1102-1109, doi:<https://doi.org/10.1158/1055-9965.Epi-12-1046>.
60. Hayes, R.B.; Potters, L.M.; et al. Sexual behaviour, STDs and risks for prostate cancer. *Br J Cancer* **2000**, *82*, 718-725, doi:<https://doi.org/10.1054/bjoc.1999.0986>.
61. Taylor, M.L.; Mainous, A.G., 3rd; et al. Prostate cancer and sexually transmitted diseases: a meta-analysis. *Fam Med* **2005**, *37*, 506-512.
62. Myles, P.; Evans, S.; et al. Diagnostic radiation procedures and risk of prostate cancer. *Br J Cancer* **2008**, *98*, 1852-1856, doi:<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6604370>.
63. Ansbaugh, N.; Shannon, J.; et al. Agent Orange as a risk factor for high-grade prostate cancer. *Cancer* **2013**, *119*, 2399-2404, doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.27941>.
64. Alavanja, M.C.; Samanic, C.; et al. Use of agricultural pesticides and prostate cancer risk in the Agricultural Health Study cohort. *Am J Epidemiol* **2003**, *157*, 800-814, doi:<https://doi.org/10.1093/aje/kwg040>.
65. Mahajan, R.; Bonner, M.R.; et al. Phorate exposure and incidence of cancer in the agricultural health study. *Environ Health Perspect* **2006**, *114*, 1205-1209, doi:<https://doi.org/10.1289/ehp.8911>.

66. Lynch, S.M.; Mahajan, R.; et al. Cancer incidence among pesticide applicators exposed to butylate in the Agricultural Health Study (AHS). *Environ Res* **2009**, *109*, 860-868, doi:<https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.06.006>.
67. Christensen, C.H.; Platz, E.A.; et al. Coumaphos exposure and incident cancer among male participants in the Agricultural Health Study (AHS). *Environ Health Perspect* **2010**, *118*, 92-96, doi:<https://doi.org/10.1289/ehp.0800446>.
68. Hugosson, J.; Carlsson, S.; et al. Mortality results from the Göteborg randomised population-based prostate-cancer screening trial. *Lancet Oncol* **2010**, *11*, 725-732, doi:[https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(10\)70146-7](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(10)70146-7).
69. Rendon, R.A.; Mason, R.J.; et al. Recommandations de l'Association des urologues du Canada sur le dépistage et le diagnostic précoce du cancer de la prostate. *Can Urol Assoc J* **2017**, *11*, 298-309, doi:<https://doi.org/10.5489/cuaj.4888>.
70. Halperin, E.C.; Perez, C.A.; et al. Part I: Male Genitourinary tumors. In *Perez and Brady's Principles and Practice of Radiation Oncology*, 5th ed.; Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins: 2008; pp. 1439-1502.
71. Société canadienne du cancer. Test de l'antigène prostatique spécifique (APS). Available online: <https://cancer.ca/fr/treatments/tests-and-procedures/prostate-specific-antigen-psa-test> (accessed on 17 December 2022).
72. Oesterling, J.E.; Rice, D.C.; et al. Effect of cystoscopy, prostate biopsy, and transurethral resection of prostate on serum prostate-specific antigen concentration. *Urology* **1993**, *42*, 276-282, doi:[https://doi.org/10.1016/0090-4295\(93\)90616-i](https://doi.org/10.1016/0090-4295(93)90616-i).
73. Gelfond, J.; Choate, K.; et al. Intermediate-Term Risk of Prostate Cancer is Directly Related to Baseline Prostate Specific Antigen: Implications for Reducing the Burden of Prostate Specific Antigen Screening. *J Urol* **2015**, *194*, 46-51, doi:<https://doi.org/10.1016/j.juro.2015.02.043>.
74. Schröder, F.H.; Hugosson, J.; et al. Screening and prostate-cancer mortality in a randomized European study. *N Engl J Med* **2009**, *360*, 1320-1328, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810084>.
75. Lechevallier, E.; Eghazarian, C.; et al. Effect of digital rectal examination on serum complexed and free prostate-specific antigen and percentage of free prostate-specific antigen. *Urology* **1999**, *54*, 857-861, doi:[https://doi.org/10.1016/s0090-4295\(99\)00239-3](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(99)00239-3).
76. Sathianathan, N.J.; Konety, B.R.; et al. Landmarks in prostate cancer. *Nat Rev Urol* **2018**, *15*, 627-642, doi:<https://doi.org/10.1038/s41585-018-0060-7>.
77. Barringer, B.S. Carcinoma of the prostate. *Ann Surg* **1931**, *93*, 326-335, doi:<https://doi.org/10.1097/0000658-193101000-00041>.
78. Hodge, K.K.; McNeal, J.E.; et al. Ultrasound guided transrectal core biopsies of the palpably abnormal prostate. *J Urol* **1989**, *142*, 66-70, doi:[https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(17\)38663-9](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(17)38663-9).
79. Levine, M.A.; Ittman, M.; et al. Two consecutive sets of transrectal ultrasound guided sextant biopsies of the prostate for the detection of prostate cancer. *J Urol* **1998**, *159*, 471-475; discussion 475-476, doi:[https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(01\)63951-x](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(01)63951-x).
80. Presti, J.C., Jr.; O'Dowd, G.J.; et al. Extended peripheral zone biopsy schemes increase cancer detection rates and minimize variance in prostate specific antigen and age related

- cancer rates: results of a community multi-practice study. *J Urol* **2003**, *169*, 125-129, doi:<https://doi.org/10.1097/01.ju.0000036482.46710.7e>.
81. Siddiqui, M.M.; Rais-Bahrami, S.; et al. Comparison of MR/ultrasound fusion-guided biopsy with ultrasound-guided biopsy for the diagnosis of prostate cancer. *Jama* **2015**, *313*, 390-397, doi:<https://doi.org/10.1001/jama.2014.17942>.
  82. Chang, D.T.; Challacombe, B.; et al. Transperineal biopsy of the prostate--is this the future? *Nat Rev Urol* **2013**, *10*, 690-702, doi:<https://doi.org/10.1038/nrurol.2013.195>.
  83. Netto, G.J.; Amin, M.B.; et al. The 2022 World Health Organization Classification of Tumors of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Urinary Tract Tumors. *Eur Urol* **2022**, *82*, 469-482, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2022.07.002>.
  84. Bolla, M.; van Poppel, H. *Management of Prostate Cancer: A Multidisciplinary Approach*; Springer International Publishing: 2017; p. 422.
  85. Bailar, J.C., 3rd; Mellinger, G.T.; et al. Survival rates of patients with prostatic cancer, tumor stage, and differentiation--preliminary report. *Cancer Chemother Rep* **1966**, *50*, 129-136.
  86. Gleason, D.F. *Histological grading and staging of prostatic carcinoma*. In: *Urologic Pathology: The Prostate*; Tannenbaum M (ed). Lea and Feibiger: Philadelphia, PA, 1977; p. 171.
  87. Gleason, D.F. Histologic grading of prostate cancer: A perspective. *Human Pathology* **1992**, *23*, 273-279, doi:[https://doi.org/10.1016/0046-8177\(92\)90108-F](https://doi.org/10.1016/0046-8177(92)90108-F).
  88. Gleason, D.F. Classification of prostatic carcinomas. *Cancer Chemother Rep* **1966**, *50*, 125-128.
  89. Epstein, J.I.; Allsbrook, W.C., Jr.; et al. The 2005 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma. *Am J Surg Pathol* **2005**, *29*, 1228-1242, doi:<https://doi.org/10.1097/01.pas.0000173646.99337.b1>.
  90. Epstein, J.I.; Egevad, L.; et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am J Surg Pathol* **2016**, *40*, 244-252, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000530>.
  91. Humphrey, P.A.; Moch, H.; et al. The 2016 WHO Classification of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs-Part B: Prostate and Bladder Tumours. *Eur Urol* **2016**, *70*, 106-119, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.02.028>.
  92. Sakr, W.A.; Tefilli, M.V.; et al. Gleason score 7 prostate cancer: a heterogeneous entity? Correlation with pathologic parameters and disease-free survival. *Urology* **2000**, *56*, 730-734, doi:[https://doi.org/10.1016/s0090-4295\(00\)00791-3](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(00)00791-3).
  93. Epstein, J.I. Prostate Cancer Grading: A Contemporary Photomontage. *Am J Surg Pathol* **2016**, *40*, 137, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000563>.
  94. Egevad, L.; Delahunt, B.; et al. Contemporary prognostic indicators for prostate cancer incorporating International Society of Urological Pathology recommendations. *Pathology* **2018**, *50*, 60-73, doi:<https://doi.org/10.1016/j.pathol.2017.09.008>.
  95. O'Sullivan, B.; Brierley, J.; et al. The TNM classification of malignant tumours-towards common understanding and reasonable expectations. *Lancet Oncol* **2017**, *18*, 849-851, doi:[https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(17\)30438-2](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(17)30438-2).

96. Motta, G.; Nahum, M.A.; et al. [TNM staging system of lung carcinoma: historical notes, limitations and controversies]. *Ann Ital Chir* **1995**, *66*, 425-432.
97. Hermanek, P.; Scheibe, O.; et al. [TNM classification of malignant tumors: the new 1987 edition]. *Rontgenblatter* **1987**, *40*, 200.
98. Magi-Galluzzi, C.; Evans, A.J.; et al. International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Handling and Staging of Radical Prostatectomy Specimens. Working group 3: extraprostatic extension, lymphovascular invasion and locally advanced disease. *Mod Pathol* **2011**, *24*, 26-38, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.2010.158>.
99. Amin, M.B.; Edge, S.; et al. *AJCC Cancer Staging Manual*, 8 ed.; Springer International Publishing: 2017; p. 1032.
100. Artibani, W.; Porcaro, A.B.; et al. Management of Biochemical Recurrence after Primary Curative Treatment for Prostate Cancer: A Review. *Urol Int* **2018**, *100*, 251-262, doi:<https://doi.org/10.1159/000481438>.
101. Mottet, N.; Bellmunt, J.; et al. EAU-ESTRO-SIOG Guidelines on Prostate Cancer. Part 1: Screening, Diagnosis, and Local Treatment with Curative Intent. *Eur Urol* **2017**, *71*, 618-629, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.003>.
102. Moul, J.W. Prostate specific antigen only progression of prostate cancer. *J Urol* **2000**, *163*, 1632-1642.
103. Roach, M., 3rd; Hanks, G.; et al. Defining biochemical failure following radiotherapy with or without hormonal therapy in men with clinically localized prostate cancer: recommendations of the RTOG-ASTRO Phoenix Consensus Conference. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **2006**, *65*, 965-974, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2006.04.029>.
104. Roehl, K.A.; Han, M.; et al. Cancer progression and survival rates following anatomical radical retropubic prostatectomy in 3,478 consecutive patients: long-term results. *J Urol* **2004**, *172*, 910-914, doi:<https://doi.org/10.1097/01.ju.0000134888.22332.bb>.
105. Freedland, S.J.; Humphreys, E.B.; et al. Risk of prostate cancer-specific mortality following biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Jama* **2005**, *294*, 433-439, doi:<https://doi.org/10.1001/jama.294.4.433>.
106. Kupelian, P.A.; Mahadevan, A.; et al. Use of different definitions of biochemical failure after external beam radiotherapy changes conclusions about relative treatment efficacy for localized prostate cancer. *Urology* **2006**, *68*, 593-598, doi:<https://doi.org/10.1016/j.urology.2006.03.075>.
107. Taneja, S.S. Imaging in the diagnosis and management of prostate cancer. *Rev Urol* **2004**, *6*, 101-113.
108. Société canadienne du cancer. Tomographie par émission de positrons (TEP). Available online: <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/cancer-type/prostate/staging/> (accessed on 19 December 2022).
109. Maurer, T.; Eiber, M.; et al. Current use of PSMA-PET in prostate cancer management. *Nat Rev Urol* **2016**, *13*, 226-235, doi:<https://doi.org/10.1038/nrurol.2016.26>.
110. Hofman, M.S.; Hicks, R.J.; et al. Prostate-specific Membrane Antigen PET: Clinical Utility in Prostate Cancer, Normal Patterns, Pearls, and Pitfalls. *Radiographics* **2018**, *38*, 200-217, doi:<https://doi.org/10.1148/rg.2018170108>.
111. Chen, C.D.; Welsbie, D.S.; et al. Molecular determinants of resistance to antiandrogen therapy. *Nat Med* **2004**, *10*, 33-39, doi:<https://doi.org/10.1038/nm972>.

112. Dason, S.; Allard, C.B.; et al. Defining a new testosterone threshold for medical castration: Results from a prospective cohort series. *Can Urol Assoc J* **2013**, *7*, E263-267, doi:<https://doi.org/10.5489/cuaj.471>.
113. Scher, H.I.; Morris, M.J.; et al. Trial Design and Objectives for Castration-Resistant Prostate Cancer: Updated Recommendations From the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group 3. *J Clin Oncol* **2016**, *34*, 1402-1418, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2015.64.2702>.
114. Chandrasekar, T.; Yang, J.C.; et al. Mechanisms of resistance in castration-resistant prostate cancer (CRPC). *Transl Androl Urol* **2015**, *4*, 365-380, doi:<https://doi.org/10.3978/j.issn.2223-4683.2015.05.02>.
115. Montgomery, R.B.; Mostaghel, E.A.; et al. Maintenance of intratumoral androgens in metastatic prostate cancer: a mechanism for castration-resistant tumor growth. *Cancer Res* **2008**, *68*, 4447-4454, doi:<https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-08-0249>.
116. Locke, J.A.; Guns, E.S.; et al. Androgen levels increase by intratumoral de novo steroidogenesis during progression of castration-resistant prostate cancer. *Cancer Res* **2008**, *68*, 6407-6415, doi:<https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-07-5997>.
117. Kaipainen, A.; Zhang, A.; et al. Testosterone accumulation in prostate cancer cells is enhanced by facilitated diffusion. *Prostate* **2019**, *79*, 1530-1542, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.23874>.
118. Bostwick, D.G.; Burke, H.B.; et al. Human prostate cancer risk factors. *Cancer* **2004**, *101*, 2371-2490, doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.20408>.
119. Roberts, M.J.; Teloken, P.; et al. Prostate Cancer Detection. In *Endotext*; MDText.com, Inc.: South Dartmouth (MA), 2000.
120. Comité consultatif des statistiques canadiennes sur le cancer, en collaboration avec la Société canadienne du cancer, Statistique Canada et l'Agence de la santé publique du Canada. Statistiques canadiennes sur le cancer 2021. Toronto (Ontario) : Société canadienne du cancer, 2021. Available online: <https://cdn.cancer.ca/-/media/files/research/cancer-statistics/2021-statistics/2021-pdf-fr-final.pdf> (accessed on 19 December 2022).
121. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; et al. Cancer statistics, 2022. *CA Cancer J Clin* **2022**, *72*, 7-33, doi:<https://doi.org/10.3322/caac.21708>.
122. Epstein, J.I.; Walsh, P.C.; et al. Pathologic and clinical findings to predict tumor extent of nonpalpable (stage T1c) prostate cancer. *Jama* **1994**, *271*, 368-374.
123. D'Amico, A.V.; Whittington, R.; et al. Biochemical outcome after radical prostatectomy, external beam radiation therapy, or interstitial radiation therapy for clinically localized prostate cancer. *Jama* **1998**, *280*, 969-974, doi:<https://doi.org/10.1001/jama.280.11.969>.
124. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology (NCCN Guidelines®) for Guideline Name V.1.2023. © National Comprehensive Cancer Network, Inc. 2023. Available online: [https://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/pdf/prostate.pdf](https://www.nccn.org/professionals/physician_gls/pdf/prostate.pdf) (accessed on 19 December 2022).
125. Partin, A.W.; Kattan, M.W.; et al. Combination of prostate-specific antigen, clinical stage, and Gleason score to predict pathological stage of localized prostate cancer. A multi-institutional update. *Jama* **1997**, *277*, 1445-1451.



126. Kattan, M.W.; Eastham, J.A.; et al. A preoperative nomogram for disease recurrence following radical prostatectomy for prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* **1998**, *90*, 766-771, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/90.10.766>.
127. Kattan, M.W.; Wheeler, T.M.; et al. Postoperative nomogram for disease recurrence after radical prostatectomy for prostate cancer. *J Clin Oncol* **1999**, *17*, 1499-1507, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.1999.17.5.1499>.
128. Stephenson, A.J.; Scardino, P.T.; et al. Preoperative nomogram predicting the 10-year probability of prostate cancer recurrence after radical prostatectomy. *J Natl Cancer Inst* **2006**, *98*, 715-717, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/djj190>.
129. Cooperberg, M.R.; Pasta, D.J.; et al. The University of California, San Francisco Cancer of the Prostate Risk Assessment score: a straightforward and reliable preoperative predictor of disease recurrence after radical prostatectomy. *J Urol* **2005**, *173*, 1938-1942, doi:<https://doi.org/10.1097/01.ju.0000158155.33890.e7>.
130. Cooperberg, M.R.; Hilton, J.F.; et al. The CAPRA-S score: A straightforward tool for improved prediction of outcomes after radical prostatectomy. *Cancer* **2011**, *117*, 5039-5046, doi:<https://doi.org/10.1002/cncr.26169>.
131. Brajtford, J.S.; Leapman, M.S.; et al. The CAPRA Score at 10 Years: Contemporary Perspectives and Analysis of Supporting Studies. *Eur Urol* **2017**, *71*, 705-709, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2016.08.065>.
132. Cucchiara, V.; Cooperberg, M.R.; et al. Genomic Markers in Prostate Cancer Decision Making. *Eur Urol* **2018**, *73*, 572-582, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.10.036>.
133. Klein, E.A.; Cooperberg, M.R.; et al. A 17-gene assay to predict prostate cancer aggressiveness in the context of Gleason grade heterogeneity, tumor multifocality, and biopsy undersampling. *Eur Urol* **2014**, *66*, 550-560, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.05.004>.
134. Cullen, J.; Rosner, I.L.; et al. A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score Predicts Recurrence After Radical Prostatectomy and Adverse Surgical Pathology in a Racially Diverse Population of Men with Clinically Low- and Intermediate-risk Prostate Cancer. *Eur Urol* **2015**, *68*, 123-131, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.11.030>.
135. Van Den Eeden, S.K.; Lu, R.; et al. A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score as a Predictor of Metastases and Prostate Cancer Death in Surgically Treated Men with Clinically Localized Disease. *Eur Urol* **2018**, *73*, 129-138, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.09.013>.
136. Covas Moschovas, M.; Chew, C.; et al. Association Between Oncotype DX Genomic Prostate Score and Adverse Tumor Pathology After Radical Prostatectomy. *Eur Urol Focus* **2021**, doi:<https://doi.org/10.1016/j.euf.2021.03.015>.
137. Erho, N.; Crisan, A.; et al. Discovery and validation of a prostate cancer genomic classifier that predicts early metastasis following radical prostatectomy. *PLoS One* **2013**, *8*, e66855, doi:<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066855>.
138. Karnes, R.J.; Bergstralh, E.J.; et al. Validation of a genomic classifier that predicts metastasis following radical prostatectomy in an at risk patient population. *J Urol* **2013**, *190*, 2047-2053, doi:<https://doi.org/10.1016/j.juro.2013.06.017>.

139. Knudsen, B.S.; Kim, H.L.; et al. Application of a Clinical Whole-Transcriptome Assay for Staging and Prognosis of Prostate Cancer Diagnosed in Needle Core Biopsy Specimens. *J Mol Diagn* **2016**, *18*, 395-406, doi:<https://doi.org/10.1016/j.jmoldx.2015.12.006>.
140. Lee, H.J.; Yousefi, K.; et al. Evaluation of a genomic classifier in radical prostatectomy patients with lymph node metastasis. *Res Rep Urol* **2016**, *8*, 77-84, doi:<https://doi.org/10.2147/rru.S99997>.
141. Shore, N.D.; Kella, N.; et al. Impact of the Cell Cycle Progression Test on Physician and Patient Treatment Selection for Localized Prostate Cancer. *J Urol* **2016**, *195*, 612-618, doi:<https://doi.org/10.1016/j.juro.2015.09.072>.
142. Cuzick, J.; Swanson, G.P.; et al. Prognostic value of an RNA expression signature derived from cell cycle proliferation genes in patients with prostate cancer: a retrospective study. *Lancet Oncol* **2011**, *12*, 245-255, doi:[https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(10\)70295-3](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(10)70295-3).
143. Cuzick, J.; Berney, D.M.; et al. Prognostic value of a cell cycle progression signature for prostate cancer death in a conservatively managed needle biopsy cohort. *Br J Cancer* **2012**, *106*, 1095-1099, doi:<https://doi.org/10.1038/bjc.2012.39>.
144. Bishoff, J.T.; Freedland, S.J.; et al. Prognostic utility of the cell cycle progression score generated from biopsy in men treated with prostatectomy. *J Urol* **2014**, *192*, 409-414, doi:<https://doi.org/10.1016/j.juro.2014.02.003>.
145. Cooperberg, M.R.; Simko, J.P.; et al. Validation of a cell-cycle progression gene panel to improve risk stratification in a contemporary prostatectomy cohort. *J Clin Oncol* **2013**, *31*, 1428-1434, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2012.46.4396>.
146. Cuzick, J.; Stone, S.; et al. Validation of an RNA cell cycle progression score for predicting death from prostate cancer in a conservatively managed needle biopsy cohort. *Br J Cancer* **2015**, *113*, 382-389, doi:<https://doi.org/10.1038/bjc.2015.223>.
147. Blume-Jensen, P.; Berman, D.M.; et al. Development and clinical validation of an in situ biopsy-based multimarker assay for risk stratification in prostate cancer. *Clin Cancer Res* **2015**, *21*, 2591-2600, doi:<https://doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-14-2603>.
148. Jairath, N.K.; Dal Pra, A.; et al. A Systematic Review of the Evidence for the Decipher Genomic Classifier in Prostate Cancer. *Eur Urol* **2021**, *79*, 374-383, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.11.021>.
149. Duffy, M.J. Biomarkers for prostate cancer: prostate-specific antigen and beyond. *Clin Chem Lab Med* **2020**, *58*, 326-339, doi:<https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0693>.
150. Spratt, D.E.; Yousefi, K.; et al. Individual Patient-Level Meta-Analysis of the Performance of the Decipher Genomic Classifier in High-Risk Men After Prostatectomy to Predict Development of Metastatic Disease. *J Clin Oncol* **2017**, *35*, 1991-1998, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2016.70.2811>.
151. Shipitsin, M.; Small, C.; et al. Automated quantitative multiplex immunofluorescence in situ imaging identifies phospho-S6 and phospho-PRAS40 as predictive protein biomarkers for prostate cancer lethality. *Proteome Sci* **2014**, *12*, 40, doi:10.1186/1477-5956-12-40.
152. Teo, M.Y.; Rathkopf, D.E.; et al. Treatment of Advanced Prostate Cancer. *Annu Rev Med* **2019**, *70*, 479-499, doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-med-051517-011947>.
153. Saad, F.; Aprikian, A.; et al. 2021 Canadian Urological Association (CUA)-Canadian Uro Oncology Group (CUOG) guideline: Management of castration-resistant prostate cancer (CRPC). *Can Urol Assoc J* **2021**, *15*, E81-e90, doi:<https://doi.org/10.5489/cuaj.7074>.

154. Choo, R.; Klotz, L.; et al. Feasibility study: watchful waiting for localized low to intermediate grade prostate carcinoma with selective delayed intervention based on prostate specific antigen, histological and/or clinical progression. *J Urol* **2002**, *167*, 1664-1669.
155. Lawrentschuk, N.; Klotz, L. Active surveillance for low-risk prostate cancer: an update. *Nat Rev Urol* **2011**, *8*, 312-320, doi:<https://doi.org/10.1038/nrurol.2011.50>.
156. Société canadienne du cancer. Surveillance active du cancer de la prostate. Available online: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/prostate/treatment/active-surveillance> (accessed on 19 December 2022).
157. Société canadienne du cancer. Chirurgie du cancer de la prostate. Available online: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/prostate/treatment/surgery> (accessed on 19 December 2022).
158. Costello, A.J. Considering the role of radical prostatectomy in 21st century prostate cancer care. *Nat Rev Urol* **2020**, *17*, 177-188, doi:<https://doi.org/10.1038/s41585-020-0287-y>.
159. Young, H.H. The early diagnosis and radical cure of carcinoma of the prostate. Being a study of 40 cases and presentation of a radical operation which was carried out in four cases. 1905. *J Urol* **2002**, *168*, 914-921, doi:[https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(05\)64542-9](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(05)64542-9).
160. Millin, T. RETROPUBIC PROSTATECTOMY A NEW EXTRAVESICAL TECHNIQUE: REPORT ON 20 CASES. *The Lancet* **1945**, *246*, 693-696, doi:[https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(45\)91030-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(45)91030-0).
161. Millin, T. *Retropubic Urinary Surgery*; E. & S. Livingstone: London, 1947.
162. Guillonneau, B.; Vallancien, G. Laparoscopic radical prostatectomy: the Montsouris technique. *J Urol* **2000**, *163*, 1643-1649, doi:[https://doi.org/10.1016/s0022-5347\(05\)67512-x](https://doi.org/10.1016/s0022-5347(05)67512-x).
163. Abbou, C.C.; Hoznek, A.; et al. Laparoscopic radical prostatectomy with a remote controlled robot. *J Urol* **2001**, *165*, 1964-1966, doi:<https://doi.org/10.1097/00005392-200106000-00027>.
164. Carlucci, J.R.; Nabizada-Pace, F.; et al. Robot-assisted laparoscopic radical prostatectomy: technique and outcomes of 700 cases. *Int J Biomed Sci* **2009**, *5*, 201-208.
165. Walsh, P.C.; Lepor, H.; et al. Radical prostatectomy with preservation of sexual function: anatomical and pathological considerations. *Prostate* **1983**, *4*, 473-485, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.2990040506>.
166. Walsh, P.C. The discovery of the cavernous nerves and development of nerve sparing radical retropubic prostatectomy. *J Urol* **2007**, *177*, 1632-1635, doi:<https://doi.org/10.1016/j.juro.2007.01.012>.
167. Baskar, R.; Lee, K.A.; et al. Cancer and radiation therapy: current advances and future directions. *Int J Med Sci* **2012**, *9*, 193-199, doi:<https://doi.org/10.7150/ijms.3635>.
168. Begg, A.C.; Stewart, F.A.; et al. Strategies to improve radiotherapy with targeted drugs. *Nat Rev Cancer* **2011**, *11*, 239-253, doi:<https://doi.org/10.1038/nrc3007>.
169. Bagshaw, M.A.; Kaplan, H.S.; et al. Linear Accelerator Supervoltage Radiotherapy. VII. Carcinoma of the Prostate. *Radiology* **1965**, *85*, 121-129, doi:<https://doi.org/10.1148/85.1.121>.

170. Jones, C.U.; Hunt, D.; et al. Radiotherapy and short-term androgen deprivation for localized prostate cancer. *N Engl J Med* **2011**, *365*, 107-118, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1012348>.
171. Zelefsky, M.J.; Fuks, Z.; et al. Intensity-modulated radiation therapy for prostate cancer. *Semin Radiat Oncol* **2002**, *12*, 229-237, doi:<https://doi.org/10.1053/srao.2002.00000>.
172. Société canadienne du cancer. Radiothérapie pour le cancer de la prostate. Available online: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/prostate/treatment/radiation-therapy> (accessed on 19 December 2022).
173. Zaorsky, N.G.; Davis, B.J.; et al. The evolution of brachytherapy for prostate cancer. *Nat Rev Urol* **2017**, *14*, 415-439, doi:<https://doi.org/10.1038/nrurol.2017.76>.
174. Stock, R.G.; Cahlon, O.; et al. Combined modality treatment in the management of high-risk prostate cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **2004**, *59*, 1352-1359, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2004.01.023>.
175. Morris, W.J.; Tyldesley, S.; et al. Low-dose-rate brachytherapy is superior to dose-escalated EBRT for unfavourable risk prostate cancer: the results of the ASCENDE-RT\* randomized control trial. *Brachytherapy* **2015**, *14*, S12, doi:<https://doi.org/10.1016/j.brachy.2015.02.200>.
176. Société canadienne du cancer. Hormonothérapie du cancer de la prostate. Available online: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/prostate/treatment/hormone-therapy> (accessed on 19 December 2022).
177. Nguyen, P.L.; Alibhai, S.M.; et al. Adverse effects of androgen deprivation therapy and strategies to mitigate them. *Eur Urol* **2015**, *67*, 825-836, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2014.07.010>.
178. Magnan, S.; Zarychanski, R.; et al. Intermittent vs Continuous Androgen Deprivation Therapy for Prostate Cancer: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Oncol* **2015**, *1*, 1261-1269, doi:<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2015.2895>.
179. Schally, A.V.; Block, N.L.; et al. Discovery of LHRH and development of LHRH analogs for prostate cancer treatment. *Prostate* **2017**, *77*, 1036-1054, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.23360>.
180. Rice, M.A.; Malhotra, S.V.; et al. Second-Generation Antiandrogens: From Discovery to Standard of Care in Castration Resistant Prostate Cancer. *Front Oncol* **2019**, *9*, 801, doi:<https://doi.org/10.3389/fonc.2019.00801>.
181. de Bono, J.S.; Logothetis, C.J.; et al. Abiraterone and Increased Survival in Metastatic Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine* **2011**, *364*, 1995-2005, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1014618>.
182. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Zytiga. April 2011. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2011/202379lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2011/202379lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
183. Ryan, C.J.; Smith, M.R.; et al. Abiraterone in Metastatic Prostate Cancer without Previous Chemotherapy. *New England Journal of Medicine* **2012**, *368*, 138-148, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1209096>.
184. Ryan, C.J.; Smith, M.R.; et al. Abiraterone acetate plus prednisone versus placebo plus prednisone in chemotherapy-naïve men with metastatic castration-resistant prostate

- cancer (COU-AA-302): final overall survival analysis of a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 study. *The Lancet Oncology* **2015**, *16*, 152-160, doi:[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(14\)71205-7](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(14)71205-7).
185. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Zytiga. March 2015. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2015/202379s016lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2015/202379s016lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
186. Fizazi, K.; Tran, N.; et al. Abiraterone plus Prednisone in Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. *N Engl J Med* **2017**, *377*, 352-360, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1704174>.
187. James, N.D.; de Bono, J.S.; et al. Abiraterone for Prostate Cancer Not Previously Treated with Hormone Therapy. *N Engl J Med* **2017**, *377*, 338-351, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1702900>.
188. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Zytiga. February 2018. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/202379s024lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/202379s024lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
189. Auchus, R.J.; Sharifi, N. Sex Hormones and Prostate Cancer. *Annu Rev Med* **2020**, *71*, 33-45, doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-med-051418-060357>.
190. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Xtandi. August 2012. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2012/203415lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2012/203415lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
191. Scher, H.I.; Fizazi, K.; et al. Increased survival with enzalutamide in prostate cancer after chemotherapy. *N Engl J Med* **2012**, *367*, 1187-1197, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1207506>.
192. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Xtandi. July 2018. Available online: (accessed on 20 December 2022).
193. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Erleada. February 2018. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2018/210951s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2018/210951s000lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
194. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Nubeqa. July 2019. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/212099Orig1s000lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/212099Orig1s000lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
195. Tombal, B.; Saad, F.; et al. Patient-reported outcomes following enzalutamide or placebo in men with non-metastatic, castration-resistant prostate cancer (PROSPER): a multicentre, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet Oncol* **2019**, *20*, 556-569, doi:[https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(18\)30898-2](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(18)30898-2).
196. Smith, M.R.; Saad, F.; et al. Apalutamide Treatment and Metastasis-free Survival in Prostate Cancer. *N Engl J Med* **2018**, *378*, 1408-1418, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1715546>.

197. Fizazi, K.; Shore, N.; et al. Darolutamide in Nonmetastatic, Castration-Resistant Prostate Cancer. *N Engl J Med* **2019**, *380*, 1235-1246, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1815671>.
198. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Xtandi. December 2019. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/203415s0151bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/203415s0151bl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
199. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Erleada. September 2019. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2019/210951s0011bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2019/210951s0011bl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
200. Armstrong, A.J.; Szmulewitz, R.Z.; et al. ARCHES: A Randomized, Phase III Study of Androgen Deprivation Therapy With Enzalutamide or Placebo in Men With Metastatic Hormone-Sensitive Prostate Cancer. *J Clin Oncol* **2019**, *37*, 2974-2986, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.19.00799>.
201. Chi, K.N.; Agarwal, N.; et al. Apalutamide for Metastatic, Castration-Sensitive Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine* **2019**, *381*, 13-24, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1903307>.
202. Lussier, D.; Huskey, A.G.; et al. Adjuvant analgesics in cancer pain management. *Oncologist* **2004**, *9*, 571-591, doi:<https://doi.org/10.1634/theoncologist.9-5-571>.
203. Scher, H.I.; Beer, T.M.; et al. Antitumour activity of MDV3100 in castration-resistant prostate cancer: a phase 1-2 study. *Lancet* **2010**, *375*, 1437-1446, doi:[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)60172-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)60172-9).
204. Dehm, S.M.; Schmidt, L.J.; et al. Splicing of a novel androgen receptor exon generates a constitutively active androgen receptor that mediates prostate cancer therapy resistance. *Cancer Res* **2008**, *68*, 5469-5477, doi:<https://doi.org/10.1158/0008-5472.Can-08-0594>.
205. Sharp, A.; Coleman, I.; et al. Androgen receptor splice variant-7 expression emerges with castration resistance in prostate cancer. *J Clin Invest* **2019**, *129*, 192-208, doi:<https://doi.org/10.1172/jci122819>.
206. Antonarakis, E.S.; Lu, C.; et al. AR-V7 and resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med* **2014**, *371*, 1028-1038, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1315815>.
207. Schiff, P.B.; Fant, J.; et al. Promotion of microtubule assembly in vitro by taxol. *Nature* **1979**, *277*, 665-667, doi:<https://doi.org/10.1038/277665a0>.
208. Jordan, M.A.; Wilson, L. Microtubules as a target for anticancer drugs. *Nat Rev Cancer* **2004**, *4*, 253-265, doi:<https://doi.org/10.1038/nrc1317>.
209. Société canadienne du cancer. Chimiothérapie du cancer de la prostate. Available online: <https://cancer.ca/fr/cancer-information/cancer-types/prostate/treatment/chemotherapy> (accessed on 19 December 2022).
210. Tannock, I.F.; de Wit, R.; et al. Docetaxel plus Prednisone or Mitoxantrone plus Prednisone for Advanced Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine* **2004**, *351*, 1502-1512, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa040720>.
211. de Bono, J.S.; Oudard, S.; et al. Prednisone plus cabazitaxel or mitoxantrone for metastatic castration-resistant prostate cancer progressing after docetaxel treatment: a randomised

- open-label trial. *Lancet* **2010**, 376, 1147-1154, doi:[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(10\)61389-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(10)61389-x).
212. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Jevtana. June 2010. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2010/201023lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2010/201023lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
213. Sartor, O. Radiopharmaceutical and chemotherapy combinations in metastatic castrate-resistant prostate cancer: a new beginning? *J Clin Oncol* **2009**, 27, 2417-2418, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2008.21.4460>.
214. Petrylak, D.P.; Tangen, C.M.; et al. Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. *N Engl J Med* **2004**, 351, 1513-1520, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa041318>.
215. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Xofigo. May 2013. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2013/203971lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/203971lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
216. Nilsson, S.; Strang, P.; et al. A randomized, dose-response, multicenter phase II study of radium-223 chloride for the palliation of painful bone metastases in patients with castration-resistant prostate cancer. *Eur J Cancer* **2012**, 48, 678-686, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2011.12.023>.
217. Parker, C.; Nilsson, S.; et al. Alpha Emitter Radium-223 and Survival in Metastatic Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine* **2013**, 369, 213-223, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1213755>.
218. Cheetham, P.J.; Petrylak, D.P. Alpha particles as radiopharmaceuticals in the treatment of bone metastases: mechanism of action of radium-223 chloride (Alpharadin) and radiation protection. *Oncology (Williston Park)* **2012**, 26, 330-337, 341.
219. Smith, M.; Parker, C.; et al. Addition of radium-223 to abiraterone acetate and prednisone or prednisolone in patients with castration-resistant prostate cancer and bone metastases (ERA 223): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* **2019**, 20, 408-419, doi:[https://doi.org/10.1016/s1470-2045\(18\)30860-x](https://doi.org/10.1016/s1470-2045(18)30860-x).
220. Pritchard, C.C.; Mateo, J.; et al. Inherited DNA-Repair Gene Mutations in Men with Metastatic Prostate Cancer. *N Engl J Med* **2016**, 375, 443-453, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1603144>.
221. Castro, E.; Romero-Laorden, N.; et al. PROREPAIR-B: A Prospective Cohort Study of the Impact of Germline DNA Repair Mutations on the Outcomes of Patients With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol* **2019**, 37, 490-503, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.18.00358>.
222. Lozano, R.; Castro, E.; et al. Genetic aberrations in DNA repair pathways: a cornerstone of precision oncology in prostate cancer. *Br J Cancer* **2021**, 124, 552-563, doi:<https://doi.org/10.1038/s41416-020-01114-x>.
223. Abida, W.; Armenia, J.; et al. Prospective Genomic Profiling of Prostate Cancer Across Disease States Reveals Germline and Somatic Alterations That May Affect Clinical Decision Making. *JCO Precis Oncol* **2017**, 2017, doi:<https://doi.org/10.1200/po.17.00029>.

224. O'Connor, M.J. Targeting the DNA Damage Response in Cancer. *Mol Cell* **2015**, *60*, 547-560, doi:<https://doi.org/10.1016/j.molcel.2015.10.040>.
225. Kaufman, B.; Shapira-Frommer, R.; et al. Olaparib monotherapy in patients with advanced cancer and a germline BRCA1/2 mutation. *J Clin Oncol* **2015**, *33*, 244-250, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2014.56.2728>.
226. Mateo, J.; Carreira, S.; et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine* **2015**, *373*, 1697-1708, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1506859>.
227. Robson, M.; Im, S.-A.; et al. Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline BRCA Mutation. *New England Journal of Medicine* **2017**, *377*, 523-533, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1706450>.
228. Abida, W.; Bryce, A.H.; et al. 793PD - Preliminary results from TRITON2: A phase II study of rucaparib in patients (pts) with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) associated with homologous recombination repair (HRR) gene alterations. *Annals of Oncology* **2018**, *29*, viii272, doi:<https://doi.org/10.1093/annonc/mdy284.002>.
229. Smith, M.R.; Sandhu, S.K.; et al. Phase II study of niraparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) and biallelic DNA-repair gene defects (DRD): Preliminary results of GALAHAD. *Journal of Clinical Oncology* **2019**, *37*, 202-202, doi:[https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.7\\_suppl.202](https://doi.org/10.1200/JCO.2019.37.7_suppl.202).
230. Mateo, J.; Porta, N.; et al. Olaparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer with DNA repair gene aberrations (TOPARP-B): a multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *The Lancet Oncology* **2020**, *21*, 162-174, doi:[https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(19\)30684-9](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(19)30684-9).
231. de Bono, J.; Mateo, J.; et al. Olaparib for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine* **2020**, *382*, 2091-2102, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1911440>.
232. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Lynparza. May 2020. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/208558s014lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/208558s014lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
233. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Rubraca. May 2020. Available online: [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2020/209115s004lbl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2020/209115s004lbl.pdf) (accessed on 20 December 2022).
234. AstraZeneca Canada Inc. Lynparza product monograph including patient medication information. August 2022. Available online: <https://www.astrazeneca.ca/content/dam/az-ca/downloads/productinformation/lynparza-tablets-product-monograph-en.pdf> (accessed on 26 December 2022).
235. Dong, L.; Zieren, R.C.; et al. Metastatic prostate cancer remains incurable, why? *Asian J Urol* **2019**, *6*, 26-41, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ajur.2018.11.005>.
236. Schreiber, R.D.; Old, L.J.; et al. Cancer immunoediting: integrating immunity's roles in cancer suppression and promotion. *Science* **2011**, *331*, 1565-1570, doi:<https://doi.org/10.1126/science.1203486>.



237. He, X.; Xu, C. Immune checkpoint signaling and cancer immunotherapy. *Cell Res* **2020**, *30*, 660-669, doi:<https://doi.org/10.1038/s41422-020-0343-4>.
238. Kruger, S.; Ilmer, M.; et al. Advances in cancer immunotherapy 2019 - latest trends. *J Exp Clin Cancer Res* **2019**, *38*, 268, doi:<https://doi.org/10.1186/s13046-019-1266-0>.
239. Parkin, J.; Cohen, B. An overview of the immune system. *Lancet* **2001**, *357*, 1777-1789, doi:[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(00\)04904-7](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(00)04904-7).
240. Kindt, T.J.; Goldsby, R.A.; et al. *Immunologie : le cours de Janis Kuby : avec questions de révision*; Dunod: Paris, 2008.
241. Artis, D.; Spits, H. The biology of innate lymphoid cells. *Nature* **2015**, *517*, 293-301, doi:<https://doi.org/10.1038/nature14189>.
242. Hanahan, D.; Weinberg, R.A. The hallmarks of cancer. *Cell* **2000**, *100*, 57-70, doi:[https://doi.org/10.1016/s0092-8674\(00\)81683-9](https://doi.org/10.1016/s0092-8674(00)81683-9).
243. Hanahan, D.; Weinberg, R.A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **2011**, *144*, 646-674, doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>.
244. Burnet, M. Cancer; a biological approach. I. The processes of control. *Br Med J* **1957**, *1*, 779-786, doi:<https://doi.org/10.1136/bmj.1.5022.779>.
245. Thomas, L.; Lawrence, H. Cellular and humoral aspects of the hypersensitive states. *New York: Hoeber-Harper* **1959**, 529-532.
246. Dunn, G.P.; Bruce, A.T.; et al. Cancer immunoediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat Immunol* **2002**, *3*, 991-998, doi:<https://doi.org/10.1038/ni1102-991>.
247. Vesely, M.D.; Kershaw, M.H.; et al. Natural innate and adaptive immunity to cancer. *Annu Rev Immunol* **2011**, *29*, 235-271, doi:<https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-031210-101324>.
248. Bhatia, A.; Kumar, Y. Cancer-immune equilibrium: questions unanswered. *Cancer Microenviron* **2011**, *4*, 209-217, doi:<https://doi.org/10.1007/s12307-011-0065-8>.
249. Kalbasi, A.; June, C.H.; et al. Radiation and immunotherapy: a synergistic combination. *J Clin Invest* **2013**, *123*, 2756-2763, doi:<https://doi.org/10.1172/jci69219>.
250. Yang, L.; Pang, Y.; et al. TGF-beta and immune cells: an important regulatory axis in the tumor microenvironment and progression. *Trends Immunol* **2010**, *31*, 220-227, doi:<https://doi.org/10.1016/j.it.2010.04.002>.
251. Ohta, A. A Metabolic Immune Checkpoint: Adenosine in Tumor Microenvironment. *Front Immunol* **2016**, *7*, 109, doi:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2016.00109>.
252. Mougiakakos, D.; Choudhury, A.; et al. Regulatory T cells in cancer. *Adv Cancer Res* **2010**, *107*, 57-117, doi:[https://doi.org/10.1016/s0065-230x\(10\)07003-x](https://doi.org/10.1016/s0065-230x(10)07003-x).
253. Ostrand-Rosenberg, S.; Sinha, P. Myeloid-derived suppressor cells: linking inflammation and cancer. *J Immunol* **2009**, *182*, 4499-4506, doi:<https://doi.org/10.4049/jimmunol.0802740>.
254. Ohue, Y.; Nishikawa, H. Regulatory T (Treg) cells in cancer: Can Treg cells be a new therapeutic target? *Cancer Sci* **2019**, *110*, 2080-2089, doi:<https://doi.org/10.1111/cas.14069>.
255. Pardoll, D.M. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer* **2012**, *12*, 252-264, doi:<https://doi.org/10.1038/nrc3239>.
256. Christofi, T.; Baritaki, S.; et al. Current Perspectives in Cancer Immunotherapy. *Cancers (Basel)* **2019**, *11*, doi:<https://doi.org/10.3390/cancers11101472>.

257. FDA Center for Drug Evaluation and Research. Prescribing information for Provenge. 2020. Available online: <https://www.fda.gov/media/78511/download> (accessed on 20 December 2022).
258. Kantoff, P.W.; Higano, C.S.; et al. Sipuleucel-T Immunotherapy for Castration-Resistant Prostate Cancer. *New England Journal of Medicine* **2010**, *363*, 411-422, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1001294>.
259. Graff, J.N.; Chamberlain, E.D. Sipuleucel-T in the treatment of prostate cancer: an evidence-based review of its place in therapy. *Core Evid* **2015**, *10*, 1-10, doi:<https://doi.org/10.2147/ce.S54712>.
260. Goldstein, N.S. Immunophenotypic characterization of 225 prostate adenocarcinomas with intermediate or high Gleason scores. *Am J Clin Pathol* **2002**, *117*, 471-477, doi:<https://doi.org/10.1309/g6pr-y774-x738-fg2k>.
261. Jubinsky, P.T.; Laurie, A.S.; et al. Expression and function of the human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor receptor alpha subunit. *Blood* **1994**, *84*, 4174-4185.
262. Patel, P.H.; Kockler, D.R. Sipuleucel-T: a vaccine for metastatic, asymptomatic, androgen-independent prostate cancer. *Ann Pharmacother* **2008**, *42*, 91-98, doi:<https://doi.org/10.1345/aph.1K429>.
263. Bilusic, M.; Heery, C.; et al. Immunotherapy in prostate cancer: emerging strategies against a formidable foe. *Vaccine* **2011**, *29*, 6485-6497, doi:<https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2011.06.088>.
264. Gomella, L.G.; Gelpi-Hammerschmidt, F.; et al. Practical guide to immunotherapy in castration resistant prostate cancer: the use of sipuleucel-T immunotherapy. *Can J Urol* **2014**, *21*, 48-56.
265. Dudley, J.C.; Lin, M.T.; et al. Microsatellite Instability as a Biomarker for PD-1 Blockade. *Clin Cancer Res* **2016**, *22*, 813-820, doi:<https://doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-15-1678>.
266. Kwok, G.; Yau, T.C.; et al. Pembrolizumab (Keytruda). *Hum Vaccin Immunother* **2016**, *12*, 2777-2789, doi:<https://doi.org/10.1080/21645515.2016.1199310>.
267. Dong, H.; Strome, S.E.; et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion. *Nat Med* **2002**, *8*, 793-800, doi:<https://doi.org/10.1038/nm730>.
268. Francisco, L.M.; Salinas, V.H.; et al. PD-L1 regulates the development, maintenance, and function of induced regulatory T cells. *J Exp Med* **2009**, *206*, 3015-3029, doi:<https://doi.org/10.1084/jem.20090847>.
269. Marcus, L.; Lemery, S.J.; et al. FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Microsatellite Instability-High Solid Tumors. *Clin Cancer Res* **2019**, *25*, 3753-3758, doi:<https://doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-18-4070>.
270. Vitkin, N.; Nersesian, S.; et al. The Tumor Immune Contexture of Prostate Cancer. *Front Immunol* **2019**, *10*, 603, doi:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.00603>.
271. Caram, M.E.V.; Ross, R.; et al. Factors Associated With Use of Sipuleucel-T to Treat Patients With Advanced Prostate Cancer. *JAMA Netw Open* **2019**, *2*, e192589, doi:<https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2019.2589>.
272. Kantoff, P.W.; Schuetz, T.J.; et al. Overall survival analysis of a phase II randomized controlled trial of a Poxviral-based PSA-targeted immunotherapy in metastatic castration-

- resistant prostate cancer. *J Clin Oncol* **2010**, *28*, 1099-1105, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2009.25.0597>.
273. Kantoff, P.W.; Gulley, J.L.; et al. Revised Overall Survival Analysis of a Phase II, Randomized, Double-Blind, Controlled Study of PROSTVAC in Men With Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol* **2017**, *35*, 124-125, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2016.69.7748>.
274. Gulley, J.L.; Borre, M.; et al. Phase III Trial of PROSTVAC in Asymptomatic or Minimally Symptomatic Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol* **2019**, *37*, 1051-1061, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.18.02031>.
275. Marshall, C.H.; Fu, W.; et al. Randomized Phase II Trial of Sipuleucel-T with or without Radium-223 in Men with Bone-metastatic Castration-resistant Prostate Cancer. *Clin Cancer Res* **2021**, *27*, 1623-1630, doi:<https://doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-20-4476>.
276. Sharma, P.; Pachynski, R.K.; et al. Nivolumab Plus Ipilimumab for Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Preliminary Analysis of Patients in the CheckMate 650 Trial. *Cancer Cell* **2020**, *38*, 489-499.e483, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ccell.2020.08.007>.
277. Ribas, A.; Wolchok, J.D. Cancer immunotherapy using checkpoint blockade. *Science* **2018**, *359*, 1350-1355, doi:<https://doi.org/10.1126/science.aar4060>.
278. Beer, T.M.; Kwon, E.D.; et al. Randomized, Double-Blind, Phase III Trial of Ipilimumab Versus Placebo in Asymptomatic or Minimally Symptomatic Patients With Metastatic Chemotherapy-Naive Castration-Resistant Prostate Cancer. *J Clin Oncol* **2017**, *35*, 40-47, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2016.69.1584>.
279. Antonarakis, E.S.; Piulats, J.M.; et al. Pembrolizumab for Treatment-Refractory Metastatic Castration-Resistant Prostate Cancer: Multicohort, Open-Label Phase II KEYNOTE-199 Study. *J Clin Oncol* **2020**, *38*, 395-405, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.19.01638>.
280. Strauss, J.; Madan, R.A. Therapeutic vaccines for prostate cancer: recent advances and future directions. *Expert Rev Vaccines* **2016**, *15*, 907-914, doi:<https://doi.org/10.1586/14760584.2016.1155988>.
281. National Library of Medicine. Available online: <https://clinicaltrials.gov/ct2/home> (accessed on 17 December 2022).
282. Sinha, M.; Zhang, L.; et al. Pre-existing immune status associated with response to combination of sipuleucel-T and ipilimumab in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Immunother Cancer* **2021**, *9*, doi:<https://doi.org/10.1136/jitc-2020-002254>.
283. Kovi, J.; Jackson, M.A.; et al. Ductal spread in prostatic carcinoma. *Cancer* **1985**, *56*, 1566-1573, doi:[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19851001\)56:7<1566::aid-cnrcr2820560717>3.0.co;2-y](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19851001)56:7<1566::aid-cnrcr2820560717>3.0.co;2-y).
284. McNeal, J.E.; Yemoto, C.E. Spread of adenocarcinoma within prostatic ducts and acini. Morphologic and clinical correlations. *Am J Surg Pathol* **1996**, *20*, 802-814, doi:<https://doi.org/10.1097/00000478-199607000-00003>.
285. Guo, C.C.; Epstein, J.I. Intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy: Histologic features and clinical significance. *Mod Pathol* **2006**, *19*, 1528-1535, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.3800702>.

286. Cohen, R.J.; Wheeler, T.M.; et al. A proposal on the identification, histologic reporting, and implications of intraductal prostatic carcinoma. *Arch Pathol Lab Med* **2007**, *131*, 1103-1109, doi:<https://doi.org/10.5858/2007-131-1103-apotih>.
287. Shah, R.B.; Magi-Galluzzi, C.; et al. Atypical Cribriform Lesions of the Prostate: Relationship to Prostatic Carcinoma and Implication for Diagnosis in Prostate Biopsies. *Am J Surg Pathol* **2010**, *34*, 470-477, doi:<https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181cfc44b>.
288. Kweldam, C.F.; Wildhagen, M.F.; et al. Cribriform growth is highly predictive for postoperative metastasis and disease-specific death in Gleason score 7 prostate cancer. *Mod Pathol* **2015**, *28*, 457-464, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.2014.116>.
289. Chen, X.; Ding, B.; et al. Intraductal carcinoma of the prostate: What we know and what we do not know. *Pathol Res Pract* **2018**, *214*, 612-618, doi:<https://doi.org/10.1016/j.prp.2018.03.003>.
290. Van der Kwast, T.; Al Daoud, N.; et al. Biopsy diagnosis of intraductal carcinoma is prognostic in intermediate and high risk prostate cancer patients treated by radiotherapy. *Eur J Cancer* **2012**, *48*, 1318-1325, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.02.003>.
291. Lotan, T.L.; Gumuskaya, B.; et al. Cytoplasmic PTEN protein loss distinguishes intraductal carcinoma of the prostate from high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol* **2013**, *26*, 587-603, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.201>.
292. Kimura, K.; Tsuzuki, T.; et al. Prognostic value of intraductal carcinoma of the prostate in radical prostatectomy specimens. *Prostate* **2014**, *74*, 680-687, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.22786>.
293. Kato, M.; Tsuzuki, T.; et al. The presence of intraductal carcinoma of the prostate in needle biopsy is a significant prognostic factor for prostate cancer patients with distant metastasis at initial presentation. *Mod Pathol* **2016**, *29*, 166-173, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.2015.146>.
294. Taylor, R.A.; Fraser, M.; et al. Germline BRCA2 mutations drive prostate cancers with distinct evolutionary trajectories. *Nat Commun* **2017**, *8*, 13671, doi:<https://doi.org/10.1038/ncomms13671>.
295. Watts, K.; Li, J.; et al. Incidence and clinicopathological characteristics of intraductal carcinoma detected in prostate biopsies: a prospective cohort study. *Histopathology* **2013**, *63*, 574-579, doi:<https://doi.org/10.1111/his.12198>.
296. Han, B.; Suleman, K.; et al. ETS gene aberrations in atypical cribriform lesions of the prostate: Implications for the distinction between intraductal carcinoma of the prostate and cribriform high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Am J Surg Pathol* **2010**, *34*, 478-485, doi:<https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e3181d6827b>.
297. Miyai, K.; Divatia, M.K.; et al. Heterogeneous clinicopathological features of intraductal carcinoma of the prostate: a comparison between "precursor-like" and "regular type" lesions. *Int J Clin Exp Pathol* **2014**, *7*, 2518-2526.
298. Epstein, J.I.; Zelefsky, M.J.; et al. A Contemporary Prostate Cancer Grading System: A Validated Alternative to the Gleason Score. *Eur Urol* **2016**, *69*, 428-435, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2015.06.046>.
299. Varma, M.; Egevad, L.; et al. Reporting intraductal carcinoma of the prostate: a plea for greater standardization. *Histopathology* **2017**, *70*, 504-507, doi:<https://doi.org/10.1111/his.13081>.

300. Samaratunga, H.; Delahunt, B.; et al. Intraductal carcinoma of the prostate is an aggressive form of invasive carcinoma and should be graded. *Pathology* **2020**, *52*, 192-196, doi:<https://doi.org/10.1016/j.pathol.2019.11.001>.
301. Gandhi, J.S.; Smith, S.C.; et al. Reporting Practices and Resource Utilization in the Era of Intraductal Carcinoma of the Prostate: A Survey of Genitourinary Subspecialists. *Am J Surg Pathol* **2020**, *44*, 673-680, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000001417>.
302. Porter, L.H.; Lawrence, M.G.; et al. Systematic Review Links the Prevalence of Intraductal Carcinoma of the Prostate to Prostate Cancer Risk Categories. *Eur Urol* **2017**, *72*, 492-495, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.03.013>.
303. Wilcox, G.; Soh, S.; et al. Patterns of high-grade prostatic intraepithelial neoplasia associated with clinically aggressive prostate cancer. *Hum Pathol* **1998**, *29*, 1119-1123, doi:[https://doi.org/10.1016/s0046-8177\(98\)90423-3](https://doi.org/10.1016/s0046-8177(98)90423-3).
304. Cohen, R.J.; Chan, W.C.; et al. Prediction of pathological stage and clinical outcome in prostate cancer: an improved pre-operative model incorporating biopsy-determined intraductal carcinoma. *Br J Urol* **1998**, *81*, 413-418, doi:<https://doi.org/10.1046/j.1464-410x.1998.00530.x>.
305. Kryvenko, O.N.; Gupta, N.S.; et al. Gleason score 7 adenocarcinoma of the prostate with lymph node metastases: analysis of 184 radical prostatectomy specimens. *Arch Pathol Lab Med* **2013**, *137*, 610-617, doi:<https://doi.org/10.5858/arpa.2012-0128-OA>.
306. Zhao, T.; Liao, B.; et al. Is there any prognostic impact of intraductal carcinoma of prostate in initial diagnosed aggressively metastatic prostate cancer? *Prostate* **2015**, *75*, 225-232, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.22906>.
307. Dinerman, B.F.; Khani, F.; et al. Population-based study of the incidence and survival for intraductal carcinoma of the prostate. *Urol Oncol* **2017**, *35*, 673.e679-673.e614, doi:<https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2017.08.015>.
308. O'Brien, C.; True, L.D.; et al. Histologic changes associated with neoadjuvant chemotherapy are predictive of nodal metastases in patients with high-risk prostate cancer. *Am J Clin Pathol* **2010**, *133*, 654-661, doi:<https://doi.org/10.1309/ajcp8el5ftzsobih>.
309. Zhao, J.; Shen, P.; et al. The prognostic implication of intraductal carcinoma of the prostate in metastatic castration-resistant prostate cancer and its potential predictive value in those treated with docetaxel or abiraterone as first-line therapy. *Oncotarget* **2017**, *8*, 55374-55383, doi:<https://doi.org/10.18632/oncotarget.19520>.
310. Porter, L.H.; Hashimoto, K.; et al. Intraductal carcinoma of the prostate can evade androgen deprivation, with emergence of castrate-tolerant cells. *BJU Int* **2018**, *121*, 971-978, doi:<https://doi.org/10.1111/bju.14043>.
311. Zhao, J.; Sun, G.; et al. Novel nomograms for castration-resistant prostate cancer and survival outcome in patients with de novo bone metastatic prostate cancer. *BJU Int* **2018**, *122*, 994-1002, doi:<https://doi.org/10.1111/bju.14398>.
312. Kato, M.; Kimura, K.; et al. Prognostic parameter for high risk prostate cancer patients at initial presentation. *Prostate* **2018**, *78*, 11-16, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.23438>.
313. Yamamoto, A.; Kato, M.; et al. Efficacy of docetaxel in castration-resistant prostate cancer patients with intraductal carcinoma of the prostate. *Int J Clin Oncol* **2018**, *23*, 584-590, doi:<https://doi.org/10.1007/s10147-017-1235-6>.

314. Chen, Z.; Chen, N.; et al. The presence and clinical implication of intraductal carcinoma of prostate in metastatic castration resistant prostate cancer. *Prostate* **2015**, *75*, 1247-1254, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.23005>.
315. Rubin, M.A.; de La Taille, A.; et al. Cribriform carcinoma of the prostate and cribriform prostatic intraepithelial neoplasia: incidence and clinical implications. *Am J Surg Pathol* **1998**, *22*, 840-848, doi:<https://doi.org/10.1097/00000478-199807000-00006>.
316. O'Brien, B.A.; Cohen, R.J.; et al. A post-radical-prostatectomy nomogram incorporating new pathological variables and interaction terms for improved prognosis. *BJU Int* **2011**, *107*, 389-395, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1464-410X.2010.09539.x>.
317. Murata, Y.; Tatsugami, K.; et al. Predictive factors of biochemical recurrence after radical prostatectomy for high-risk prostate cancer. *Int J Urol* **2018**, *25*, 284-289, doi:<https://doi.org/10.1111/iju.13514>.
318. Efsthathiou, E.; Abrahams, N.A.; et al. Morphologic characterization of preoperatively treated prostate cancer: toward a post-therapy histologic classification. *Eur Urol* **2010**, *57*, 1030-1038, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2009.10.020>.
319. Trinh, V.Q.; Benzerdjeb, N.; et al. Retrospective study on the benefit of adjuvant radiotherapy in men with intraductal carcinoma of prostate. *Radiat Oncol* **2019**, *14*, 60, doi:<https://doi.org/10.1186/s13014-019-1267-3>.
320. Pantazopoulos, H.; Diop, M.K.; et al. Intraductal Carcinoma of the Prostate as a Cause of Prostate Cancer Metastasis: A Molecular Portrait. *Cancers (Basel)* **2022**, *14*, doi:<https://doi.org/10.3390/cancers14030820>.
321. Ayala, A.G.; Srigley, J.R.; et al. Clear cell cribriform hyperplasia of prostate. Report of 10 cases. *Am J Surg Pathol* **1986**, *10*, 665-671, doi:<https://doi.org/10.1097/00000478-198610000-00001>.
322. Bostwick, D.G.; Liu, L.; et al. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Rev Urol* **2004**, *6*, 171-179.
323. Morais, C.L.; Han, J.S.; et al. Utility of PTEN and ERG immunostaining for distinguishing high-grade PIN from intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy. *Am J Surg Pathol* **2015**, *39*, 169-178, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000348>.
324. Torabi-Nezhad, S.; Malekmakan, L.; et al. Histopathological features of intra-ductal carcinoma of prostatic and high grade prostatic intraepithelialneoplasia and correlation with PTEN and P63. *Prostate* **2016**, *76*, 394-401, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.23130>.
325. Shah, R.B.; Yoon, J.; et al. Atypical intraductal proliferation and intraductal carcinoma of the prostate on core needle biopsy: a comparative clinicopathological and molecular study with a proposal to expand the morphological spectrum of intraductal carcinoma. *Histopathology* **2017**, *71*, 693-702, doi:<https://doi.org/10.1111/his.13273>.
326. Hickman, R.A.; Yu, H.; et al. Atypical Intraductal Cribriform Proliferations of the Prostate Exhibit Similar Molecular and Clinicopathologic Characteristics as Intraductal Carcinoma of the Prostate. *Am J Surg Pathol* **2017**, *41*, 550-556, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000794>.
327. Mosquera, J.M.; Perner, S.; et al. Morphological features of TMPRSS2-ERG gene fusion prostate cancer. *J Pathol* **2007**, *212*, 91-101, doi:<https://doi.org/10.1002/path.2154>.

328. Dube, V.E.; Farrow, G.M.; et al. Prostatic adenocarcinoma of ductal origin. *Cancer* **1973**, *32*, 402-409, doi:[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(197308\)32:2<402::AID-CNCR2820320218>3.0.CO;2-Q](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197308)32:2<402::AID-CNCR2820320218>3.0.CO;2-Q).
329. Lee, S.S. Endometrioid adenocarcinoma of the prostate: a clinicopathologic and immunohistochemical study. *J Surg Oncol* **1994**, *55*, 235-238, doi:<https://doi.org/10.1002/jso.2930550407>.
330. Bostwick, D.G.; Kindrachuk, R.W.; et al. Prostatic adenocarcinoma with endometrioid features. Clinical, pathologic, and ultrastructural findings. *Am J Surg Pathol* **1985**, *9*, 595-609, doi:<https://doi.org/10.1097/00000478-198508000-00004>.
331. Millar, E.K.; Sharma, N.K.; et al. Ductal (endometrioid) adenocarcinoma of the prostate: a clinicopathological study of 16 cases. *Histopathology* **1996**, *29*, 11-19, doi:<https://doi.org/10.1046/j.1365-2559.1996.d01-483.x>.
332. Wobker, S.E.; Epstein, J.I. Differential Diagnosis of Intraductal Lesions of the Prostate. *Am J Surg Pathol* **2016**, *40*, e67-82, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000609>.
333. Herawi, M.; Epstein, J.I. Immunohistochemical antibody cocktail staining (p63/HMWCK/AMACR) of ductal adenocarcinoma and Gleason pattern 4 cribriform and noncribriform acinar adenocarcinomas of the prostate. *Am J Surg Pathol* **2007**, *31*, 889-894, doi:<https://doi.org/10.1097/01.pas.0000213447.16526.7f>.
334. Chuang, A.Y.; DeMarzo, A.M.; et al. Immunohistochemical differentiation of high-grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. *Am J Surg Pathol* **2007**, *31*, 1246-1255, doi:<https://doi.org/10.1097/PAS.0b013e31802f5d33>.
335. Epstein, J.I.; Egevad, L.; et al. Best practices recommendations in the application of immunohistochemistry in the prostate: report from the International Society of Urologic Pathology consensus conference. *Am J Surg Pathol* **2014**, *38*, e6-e19, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000000238>.
336. Trudel, D.; Downes, M.R.; et al. Prognostic impact of intraductal carcinoma and large cribriform carcinoma architecture after prostatectomy in a contemporary cohort. *Eur J Cancer* **2014**, *50*, 1610-1616, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2014.03.009>.
337. Havel, J.J.; Chowell, D.; et al. The evolving landscape of biomarkers for checkpoint inhibitor immunotherapy. *Nat Rev Cancer* **2019**, *19*, 133-150, doi:<https://doi.org/10.1038/s41568-019-0116-x>.
338. Zhang, Y.; Zhang, Z. The history and advances in cancer immunotherapy: understanding the characteristics of tumor-infiltrating immune cells and their therapeutic implications. *Cell Mol Immunol* **2020**, *17*, 807-821, doi:<https://doi.org/10.1038/s41423-020-0488-6>.
339. Narayan, V.; Barber-Rotenberg, J.S.; et al. PSMA-targeting TGFβ-insensitive armored CAR T cells in metastatic castration-resistant prostate cancer: a phase 1 trial. *Nat Med* **2022**, *28*, 724-734, doi:<https://doi.org/10.1038/s41591-022-01726-1>.
340. Le, D.T.; Uram, J.N.; et al. PD-1 Blockade in Tumors with Mismatch-Repair Deficiency. *N Engl J Med* **2015**, *372*, 2509-2520, doi:<https://doi.org/10.1056/NEJMoa1500596>.
341. Abida, W.; Cheng, M.L.; et al. Analysis of the Prevalence of Microsatellite Instability in Prostate Cancer and Response to Immune Checkpoint Blockade. *JAMA Oncol* **2019**, *5*, 471-478, doi:<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2018.5801>.

342. Ness, N.; Andersen, S.; et al. Infiltration of CD8+ lymphocytes is an independent prognostic factor of biochemical failure-free survival in prostate cancer. *Prostate* **2014**, *74*, 1452-1461, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.22862>.
343. McARDle, P.A.; Canna, K.; et al. The relationship between T-lymphocyte subset infiltration and survival in patients with prostate cancer. *Br J Cancer* **2004**, *91*, 541-543, doi:<https://doi.org/10.1038/sj.bjc.6601943>.
344. Richardsen, E.; Uglehus, R.D.; et al. The prognostic impact of M-CSF, CSF-1 receptor, CD68 and CD3 in prostatic carcinoma. *Histopathology* **2008**, *53*, 30-38, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.2008.03058.x>.
345. Kärjä, V.; Aaltomaa, S.; et al. Tumour-infiltrating lymphocytes: A prognostic factor of PSA-free survival in patients with local prostate carcinoma treated by radical prostatectomy. *Anticancer Res* **2005**, *25*, 4435-4438.
346. Kaur, H.B.; Guedes, L.B.; et al. Association of tumor-infiltrating T-cell density with molecular subtype, racial ancestry and clinical outcomes in prostate cancer. *Mod Pathol* **2018**, *31*, 1539-1552, doi:<https://doi.org/10.1038/s41379-018-0083-x>.
347. Davidsson, S.; Ohlson, A.L.; et al. CD4 helper T cells, CD8 cytotoxic T cells, and FOXP3(+) regulatory T cells with respect to lethal prostate cancer. *Mod Pathol* **2013**, *26*, 448-455, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.2012.164>.
348. Haffner, M.C.; Weier, C.; et al. Molecular evidence that invasive adenocarcinoma can mimic prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and intraductal carcinoma through retrograde glandular colonization. *J Pathol* **2016**, *238*, 31-41, doi:<https://doi.org/10.1002/path.4628>.
349. Zhao, J.; Liu, J.; et al. The Prognostic Value of the Proportion and Architectural Patterns of Intraductal Carcinoma of the Prostate in Patients with De Novo Metastatic Prostate Cancer. *J Urol* **2019**, *201*, 759-768, doi:<https://doi.org/10.1016/j.juro.2018.10.016>.
350. Saeter, T.; Vlatkovic, L.; et al. Intraductal Carcinoma of the Prostate on Diagnostic Needle Biopsy Predicts Prostate Cancer Mortality: A Population-Based Study. *Prostate* **2017**, *77*, 859-865, doi:<https://doi.org/10.1002/pros.23326>.
351. Tom, M.C.; Nguyen, J.K.; et al. Impact of Cribriform Pattern and Intraductal Carcinoma on Gleason 7 Prostate Cancer Treated with External Beam Radiotherapy. *J Urol* **2019**, *202*, 710-716, doi:<https://doi.org/10.1097/ju.0000000000000316>.
352. van Leenders, G.; van der Kwast, T.H.; et al. The 2019 International Society of Urological Pathology Consensus Conference on Prostate Cancer Grading. *Eur Urol* **2021**, *79*, 707-709, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2020.08.004>.
353. Epstein, J.I.; Amin, M.B.; et al. The 2019 Genitourinary Pathology Society (GUPS) White Paper on Contemporary Grading of Prostate Cancer. *Arch Pathol Lab Med* **2021**, *145*, 461-493, doi:<https://doi.org/10.5858/arpa.2020-0015-RA>.
354. Varma, M. Intraductal Carcinoma of the Prostate: A Guide for the Practicing Pathologist. *Adv Anat Pathol* **2021**, *28*, 276-287, doi:<https://doi.org/10.1097/pap.0000000000000303>.
355. Scher, H.I.; Halabi, S.; et al. Design and end points of clinical trials for patients with progressive prostate cancer and castrate levels of testosterone: recommendations of the Prostate Cancer Clinical Trials Working Group. *J Clin Oncol* **2008**, *26*, 1148-1159, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2007.12.4487>.



356. Altman, D.G.; McShane, L.M.; et al. Reporting recommendations for tumor marker prognostic studies (REMARK): explanation and elaboration. *BMC Med* **2012**, *10*, 51, doi:<https://doi.org/10.1186/1741-7015-10-51>.
357. Schober, P.; Boer, C.; et al. Correlation Coefficients: Appropriate Use and Interpretation. *Anesth Analg* **2018**, *126*, 1763-1768, doi:<https://doi.org/10.1213/ane.0000000000002864>.
358. Wickham, H. *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*, 2 ed.; Springer-Verlag New York: 2016; pp. XVI, 260.
359. Xu, S.; Chen, M.; et al. Use ggbreak to Effectively Utilize Plotting Space to Deal With Large Datasets and Outliers. *Front Genet* **2021**, *12*, 774846, doi:<https://doi.org/10.3389/fgene.2021.774846>.
360. Warnes, G.; Bolker, B.; et al. *gplots: Various R Programming Tools for Plotting Data.*; R package version 3.1.3: 2022.
361. Chua, M.L.K.; Lo, W.; et al. A Prostate Cancer "Nimbusus": Genomic Instability and SChLAP1 Dysregulation Underpin Aggression of Intraductal and Cribriform Subpathologies. *Eur Urol* **2017**, *72*, 665-674, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.04.034>.
362. Motz, G.T.; Santoro, S.P.; et al. Tumor endothelium FasL establishes a selective immune barrier promoting tolerance in tumors. *Nat Med* **2014**, *20*, 607-615, doi:<https://doi.org/10.1038/nm.3541>.
363. Vesalainen, S.; Lipponen, P.; et al. Histological grade, perineural infiltration, tumour-infiltrating lymphocytes and apoptosis as determinants of long-term prognosis in prostatic adenocarcinoma. *Eur J Cancer* **1994**, *30a*, 1797-1803, doi:[https://doi.org/10.1016/0959-8049\(94\)e0159-2](https://doi.org/10.1016/0959-8049(94)e0159-2).
364. Irani, J.; Goujon, J.M.; et al. High-grade inflammation in prostate cancer as a prognostic factor for biochemical recurrence after radical prostatectomy. Pathologist Multi Center Study Group. *Urology* **1999**, *54*, 467-472, doi:[https://doi.org/10.1016/s0090-4295\(99\)00152-1](https://doi.org/10.1016/s0090-4295(99)00152-1).
365. Flammiger, A.; Bayer, F.; et al. Intratumoral T but not B lymphocytes are related to clinical outcome in prostate cancer. *Apmis* **2012**, *120*, 901-908, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2012.02924.x>.
366. Flammiger, A.; Weisbach, L.; et al. High tissue density of FOXP3+ T cells is associated with clinical outcome in prostate cancer. *Eur J Cancer* **2013**, *49*, 1273-1279, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2012.11.035>.
367. Comito, G.; Giannoni, E.; et al. Cancer-associated fibroblasts and M2-polarized macrophages synergize during prostate carcinoma progression. *Oncogene* **2014**, *33*, 2423-2431, doi:<https://doi.org/10.1038/onc.2013.191>.
368. Calagua, C.; Ficial, M.; et al. A Subset of Localized Prostate Cancer Displays an Immunogenic Phenotype Associated with Losses of Key Tumor Suppressor Genes. *Clin Cancer Res* **2021**, *27*, 4836-4847, doi:<https://doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-21-0121>.
369. Nawaz, S.; Heindl, A.; et al. Beyond immune density: critical role of spatial heterogeneity in estrogen receptor-negative breast cancer. *Mod Pathol* **2015**, *28*, 766-777, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.2015.37>.

370. Heindl, A.; Sestak, I.; et al. Relevance of Spatial Heterogeneity of Immune Infiltration for Predicting Risk of Recurrence After Endocrine Therapy of ER+ Breast Cancer. *J Natl Cancer Inst* **2018**, *110*, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/djx137>.
371. Leinonen, K.A.; Saramäki, O.R.; et al. Loss of PTEN is associated with aggressive behavior in ERG-positive prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* **2013**, *22*, 2333-2344, doi:<https://doi.org/10.1158/1055-9965.Epi-13-0333-t>.
372. Robinson, D.; Van Allen, E.M.; et al. Integrative clinical genomics of advanced prostate cancer. *Cell* **2015**, *161*, 1215-1228, doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.05.001>.
373. Chakraborty, G.; Armenia, J.; et al. Significance of BRCA2 and RB1 Co-loss in Aggressive Prostate Cancer Progression. *Clin Cancer Res* **2020**, *26*, 2047-2064, doi:<https://doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-19-1570>.
374. Kwon, J.T.W.; Bryant, R.J.; et al. The tumor microenvironment and immune responses in prostate cancer patients. *Endocr Relat Cancer* **2021**, *28*, T95-t107, doi:<https://doi.org/10.1530/erc-21-0149>.
375. Veglia, F.; Sanseviero, E.; et al. Myeloid-derived suppressor cells in the era of increasing myeloid cell diversity. *Nat Rev Immunol* **2021**, *21*, 485-498, doi:<https://doi.org/10.1038/s41577-020-00490-y>.
376. Cohen, R.J.; McNeal, J.E.; et al. Patterns of differentiation and proliferation in intraductal carcinoma of the prostate: significance for cancer progression. *Prostate* **2000**, *43*, 11-19, doi:[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0045\(20000401\)43:1<11::aid-pros3>3.0.co;2-b](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0045(20000401)43:1<11::aid-pros3>3.0.co;2-b).
377. McNeal, J.E.; Reese, J.H.; et al. Cribriform adenocarcinoma of the prostate. *Cancer* **1986**, *58*, 1714-1719, doi:[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(19861015\)58:8<1714::aid-cnrcr2820580823>3.0.co;2-m](https://doi.org/10.1002/1097-0142(19861015)58:8<1714::aid-cnrcr2820580823>3.0.co;2-m).
378. De Marzo, A.M.; Haffner, M.C.; et al. Premalignancy in Prostate Cancer: Rethinking What we Know. *Cancer Prev Res (Phila)* **2016**, *9*, 648-656, doi:<https://doi.org/10.1158/1940-6207.Capr-15-0431>.
379. Zhou, M. High-grade prostatic intraepithelial neoplasia, PIN-like carcinoma, ductal carcinoma, and intraductal carcinoma of the prostate. *Mod Pathol* **2018**, *31*, S71-79, doi:<https://doi.org/10.1038/modpathol.2017.138>.
380. Weischenfeldt, J.; Simon, R.; et al. Integrative genomic analyses reveal an androgen-driven somatic alteration landscape in early-onset prostate cancer. *Cancer Cell* **2013**, *23*, 159-170, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2013.01.002>.
381. Miyai, K.; Divatia, M.K.; et al. Clinicopathological analysis of intraductal proliferative lesions of prostate: intraductal carcinoma of prostate, high-grade prostatic intraepithelial neoplasia, and atypical cribriform lesion. *Hum Pathol* **2014**, *45*, 1572-1581, doi:<https://doi.org/10.1016/j.humpath.2014.03.011>.
382. Iczkowski, K.A.; Egevad, L.; et al. Intraductal carcinoma of the prostate: interobserver reproducibility survey of 39 urologic pathologists. *Ann Diagn Pathol* **2014**, *18*, 333-342, doi:<https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2014.08.010>.
383. Varma, M.; Egevad, L.; et al. Intraductal carcinoma of prostate reporting practice: a survey of expert European uropathologists. *J Clin Pathol* **2016**, *69*, 852-857, doi:<https://doi.org/10.1136/jclinpath-2016-203658>.

384. Buyyounouski, M.K.; Hanlon, A.L.; et al. Interval to biochemical failure highly prognostic for distant metastasis and prostate cancer-specific mortality after radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* **2008**, *70*, 59-66, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ijrobp.2007.05.047>.
385. Buyyounouski, M.K.; Pickles, T.; et al. Validating the interval to biochemical failure for the identification of potentially lethal prostate cancer. *J Clin Oncol* **2012**, *30*, 1857-1863, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2011.35.1924>.
386. Landis, J.R.; Koch, G.G. The measurement of observer agreement for categorical data. *Biometrics* **1977**, *33*, 159-174.
387. Rosai, J.; Carcangiu, M.L.; et al. Tumors of the thyroid gland. Atlas of tumor pathology, Third Series, Fascicle 5. Washington, DC: Armed Forces Institute of Pathology. **1992**.
388. Yamamoto, A.; Kato, M.; et al. Propensity score matched comparison of docetaxel and androgen receptor axis-targeted (ARAT) agents in castration-resistant prostate cancer patients with intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P). *Journal of Clinical Oncology* **2020**, *38*, 80-80, doi:[https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.6\\_suppl.80](https://doi.org/10.1200/JCO.2020.38.6_suppl.80).
389. Acosta, A.M.; Vormittag, E.; et al. Comparison of prostatic adenocarcinoma Gleason 5 and intraductal carcinoma of the prostate with tumor necrosis. A morphometric study. *Pathol Res Pract* **2018**, *214*, 1681-1685, doi:<https://doi.org/10.1016/j.prp.2018.08.030>.
390. Fine, S.W.; Al-Ahmadie, H.A.; et al. Comedonecrosis Revisited: Strong Association With Intraductal Carcinoma of the Prostate. *Am J Surg Pathol* **2018**, *42*, 1036-1041, doi:<https://doi.org/10.1097/pas.0000000000001104>.
391. Madan, R.; Deebajah, M.; et al. Prostate cancer with comedonecrosis is frequently, but not exclusively, intraductal carcinoma: a need for reappraisal of grading criteria. *Histopathology* **2019**, *74*, 1081-1087, doi:<https://doi.org/10.1111/his.13833>.
392. Ross, J.S.; Jennings, T.A.; et al. Prognostic factors in prostate cancer. *Am J Clin Pathol* **2003**, *120 Suppl*, S85-100, doi:<https://doi.org/10.1309/pw69k48rrfjlxkdb>.
393. Rashid, F.; Ul Haque, A. Frequencies of different nuclear morphological features in prostate adenocarcinoma. *Ann Diagn Pathol* **2011**, *15*, 414-421, doi:<https://doi.org/10.1016/j.anndiagpath.2011.06.002>.
394. Gandaglia, G.; Briganti, A.; et al. Adjuvant and Salvage Radiotherapy after Radical Prostatectomy in Prostate Cancer Patients. *Eur Urol* **2017**, *72*, 689-709, doi:<https://doi.org/10.1016/j.eururo.2017.01.039>.
395. Elston, C.W.; Ellis, I.O. Pathological prognostic factors in breast cancer. I. The value of histological grade in breast cancer: experience from a large study with long-term follow-up. *Histopathology* **1991**, *19*, 403-410, doi:<https://doi.org/10.1111/j.1365-2559.1991.tb00229.x>.
396. Trojani, M.; Contesso, G.; et al. Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. *Int J Cancer* **1984**, *33*, 37-42, doi:<https://doi.org/10.1002/ijc.2910330108>.
397. Allsbrook, W.C.; Mangold, K.A.; et al. Interobserver reproducibility of Gleason grading of prostatic carcinoma: General pathologist. *Human Pathology* **2001**, *32*, 81-88, doi:<https://doi.org/10.1053/hupa.2001.21135>.
398. Foroozan, M.; Roudi, R.; et al. Clinical significance of endothelial cell marker CD34 and mast cell marker CD117 in prostate adenocarcinoma. *Pathol Res Pract* **2017**, *213*, 612-618, doi:<https://doi.org/10.1016/j.prp.2017.04.027>.

399. Nassif, A.E.; Tâmbara Filho, R. Immunohistochemistry expression of tumor markers CD34 and P27 as a prognostic factor of clinically localized prostate adenocarcinoma after radical prostatectomy. *Rev Col Bras Cir* **2010**, *37*, 338-344, doi:<https://doi.org/10.1590/s0100-69912010000500006>.
400. Nowak, M.; Svensson, M.A.; et al. Prognostic significance of phospho-histone H3 in prostate carcinoma. *World J Urol* **2014**, *32*, 703-707, doi:<https://doi.org/10.1007/s00345-013-1135-y>.
401. Têtu, B. Morphological changes induced by androgen blockade in normal prostate and prostatic carcinoma. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism* **2008**, *22*, 271-283, doi:<https://doi.org/10.1016/j.beem.2008.01.005>.
402. Ramos-Vara, J.A. Technical aspects of immunohistochemistry. *Vet Pathol* **2005**, *42*, 405-426, doi:<https://doi.org/10.1354/vp.42-4-405>.
403. McKenney, J.K.; Hornick, J.L. Immunohistochemistry in Surgical Pathology. *Adv Anat Pathol* **2018**, *25*, 373, doi:<https://doi.org/10.1097/pap.0000000000000212>.
404. McKenney, J.K.; Hornick, J.L. Immunohistochemistry in Surgical Pathology: Part 2. *Adv Anat Pathol* **2020**, *27*, 113, doi:<https://doi.org/10.1097/pap.0000000000000262>.
405. Mason, D.Y.; Cordell, J.; et al. Detection of T cells in paraffin wax embedded tissue using antibodies against a peptide sequence from the CD3 antigen. *J Clin Pathol* **1989**, *42*, 1194-1200, doi:<https://doi.org/10.1136/jcp.42.11.1194>.
406. Chetty, R.; Gatter, K. CD3: structure, function, and role of immunostaining in clinical practice. *J Pathol* **1994**, *173*, 303-307, doi:<https://doi.org/10.1002/path.1711730404>.
407. Mason, D.Y.; Cordell, J.L.; et al. Immunohistological detection of human cytotoxic/suppressor T cells using antibodies to a CD8 peptide sequence. *J Clin Pathol* **1992**, *45*, 1084-1088, doi:<https://doi.org/10.1136/jcp.45.12.1084>.
408. Arlettaz, L.; Barbey, C.; et al. CD45 isoform phenotypes of human T cells: CD4(+)CD45RA(-)RO(+) memory T cells re-acquire CD45RA without losing CD45RO. *Eur J Immunol* **1999**, *29*, 3987-3994, doi:[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1521-4141\(199912\)29:12<3987::Aid-immu3987>3.0.Co;2-4](https://doi.org/10.1002/(sici)1521-4141(199912)29:12<3987::Aid-immu3987>3.0.Co;2-4).
409. Gollapudi, K.; Galet, C.; et al. Association between tumor-associated macrophage infiltration, high grade prostate cancer, and biochemical recurrence after radical prostatectomy. *Am J Cancer Res* **2013**, *3*, 523-529.
410. Binder, S.W.; Said, J.W.; et al. A histiocyte-specific marker in the diagnosis of malignant fibrous histiocytoma. Use of monoclonal antibody KP-1 (CD68). *Am J Clin Pathol* **1992**, *97*, 759-763, doi:<https://doi.org/10.1093/aicp/97.6.759>.
411. Lau, S.K.; Chu, P.G.; et al. CD163: a specific marker of macrophages in paraffin-embedded tissue samples. *Am J Clin Pathol* **2004**, *122*, 794-801, doi:<https://doi.org/10.1309/qhd6-yfn8-1kqx-uuh6>.
412. Nguyen, T.T.; Schwartz, E.J.; et al. Expression of CD163 (hemoglobin scavenger receptor) in normal tissues, lymphomas, carcinomas, and sarcomas is largely restricted to the monocyte/macrophage lineage. *Am J Surg Pathol* **2005**, *29*, 617-624, doi:<https://doi.org/10.1097/01.pas.0000157940.80538.ec>.
413. Neumann, A.K.; Thompson, N.L.; et al. Distribution and lateral mobility of DC-SIGN on immature dendritic cells--implications for pathogen uptake. *J Cell Sci* **2008**, *121*, 634-643, doi:<https://doi.org/10.1242/jcs.022418>.

414. Banchereau, J.; Steinman, R.M. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* **1998**, *392*, 245-252, doi:<https://doi.org/10.1038/32588>.
415. Zhou, L.J.; Tedder, T.F. CD14+ blood monocytes can differentiate into functionally mature CD83+ dendritic cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1996**, *93*, 2588-2592, doi:<https://doi.org/10.1073/pnas.93.6.2588>.
416. Li, Z.; Ju, X.; et al. CD83: Activation Marker for Antigen Presenting Cells and Its Therapeutic Potential. *Front Immunol* **2019**, *10*, 1312, doi:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.01312>.
417. Hori, S.; Nomura, T.; et al. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* **2003**, *299*, 1057-1061, doi:<https://doi.org/10.1126/science.1079490>.
418. Molina, O.E. Paysage immunologique du cancer de la prostate. Thèse de doctorat, Université Laval, Québec, 2021, <http://hdl.handle.net/20.500.11794/69053>.
419. Molina, O.E.; LaRue, H.; et al. High infiltration of CD209(+) dendritic cells and CD163(+) macrophages in the peritumor area of prostate cancer is predictive of late adverse outcomes. *Front Immunol* **2023**, *14*, 1205266, doi:<https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1205266>.
420. Fridman, W.H.; Zitvogel, L.; et al. The immune contexture in cancer prognosis and treatment. *Nat Rev Clin Oncol* **2017**, *14*, 717-734, doi:<https://doi.org/10.1038/nrclinonc.2017.101>.
421. Hendry, S.; Salgado, R.; et al. Assessing Tumor-infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method From the International Immunooncology Biomarkers Working Group: Part 1: Assessing the Host Immune Response, TILs in Invasive Breast Carcinoma and Ductal Carcinoma In Situ, Metastatic Tumor Deposits and Areas for Further Research. *Adv Anat Pathol* **2017**, *24*, 235-251, doi:<https://doi.org/10.1097/pap.000000000000162>.
422. Hendry, S.; Salgado, R.; et al. Assessing Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Solid Tumors: A Practical Review for Pathologists and Proposal for a Standardized Method from the International Immuno-Oncology Biomarkers Working Group: Part 2: TILs in Melanoma, Gastrointestinal Tract Carcinomas, Non-Small Cell Lung Carcinoma and Mesothelioma, Endometrial and Ovarian Carcinomas, Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck, Genitourinary Carcinomas, and Primary Brain Tumors. *Adv Anat Pathol* **2017**, *24*, 311-335, doi:<https://doi.org/10.1097/pap.000000000000161>.
423. Clark, W.H., Jr.; Elder, D.E.; et al. Model predicting survival in stage I melanoma based on tumor progression. *J Natl Cancer Inst* **1989**, *81*, 1893-1904, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/81.24.1893>.
424. Clemente, C.G.; Mihm, M.C., Jr.; et al. Prognostic value of tumor infiltrating lymphocytes in the vertical growth phase of primary cutaneous melanoma. *Cancer* **1996**, *77*, 1303-1310, doi:[https://doi.org/10.1002/\(sici\)1097-0142\(19960401\)77:7<1303::Aid-cncr12>3.0.Co;2-5](https://doi.org/10.1002/(sici)1097-0142(19960401)77:7<1303::Aid-cncr12>3.0.Co;2-5).
425. Tuthill, R.J.; Unger, J.M.; et al. Risk assessment in localized primary cutaneous melanoma: a Southwest Oncology Group study evaluating nine factors and a test of the Clark logistic regression prediction model. *Am J Clin Pathol* **2002**, *118*, 504-511, doi:<https://doi.org/10.1309/wbf7-n8kh-71kt-rvq9>.

426. Thomas, N.E.; Busam, K.J.; et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade in primary melanomas is independently associated with melanoma-specific survival in the population-based genes, environment and melanoma study. *J Clin Oncol* **2013**, *31*, 4252-4259, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2013.51.3002>.
427. Weiss, S.A.; Han, S.W.; et al. Immunologic heterogeneity of tumor-infiltrating lymphocyte composition in primary melanoma. *Hum Pathol* **2016**, *57*, 116-125, doi:<https://doi.org/10.1016/j.humpath.2016.07.008>.
428. Azimi, F.; Scolyer, R.A.; et al. Tumor-infiltrating lymphocyte grade is an independent predictor of sentinel lymph node status and survival in patients with cutaneous melanoma. *J Clin Oncol* **2012**, *30*, 2678-2683, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2011.37.8539>.
429. Klintrup, K.; Mäkinen, J.M.; et al. Inflammation and prognosis in colorectal cancer. *Eur J Cancer* **2005**, *41*, 2645-2654, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2005.07.017>.
430. Huh, J.W.; Lee, J.H.; et al. Prognostic significance of tumor-infiltrating lymphocytes for patients with colorectal cancer. *Arch Surg* **2012**, *147*, 366-372, doi:<https://doi.org/10.1001/archsurg.2012.35>.
431. Richards, C.H.; Flegg, K.M.; et al. The relationships between cellular components of the peritumoural inflammatory response, clinicopathological characteristics and survival in patients with primary operable colorectal cancer. *Br J Cancer* **2012**, *106*, 2010-2015, doi:<https://doi.org/10.1038/bjc.2012.211>.
432. Richards, C.H.; Roxburgh, C.S.; et al. The clinical utility of the local inflammatory response in colorectal cancer. *Eur J Cancer* **2014**, *50*, 309-319, doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejca.2013.09.008>.
433. Väyrynen, J.P.; Vornanen, J.O.; et al. An improved image analysis method for cell counting lends credibility to the prognostic significance of T cells in colorectal cancer. *Virchows Arch* **2012**, *460*, 455-465, doi:<https://doi.org/10.1007/s00428-012-1232-0>.
434. Park, J.H.; McMillan, D.C.; et al. Comparison of the prognostic value of measures of the tumor inflammatory cell infiltrate and tumor-associated stroma in patients with primary operable colorectal cancer. *Oncoimmunology* **2016**, *5*, e1098801, doi:<https://doi.org/10.1080/2162402x.2015.1098801>.
435. Moore, O.S., Jr.; Foote, F.W., Jr. The relatively favorable prognosis of medullary carcinoma of the breast. *Cancer* **1949**, *2*, 635-642, doi:[https://doi.org/10.1002/1097-0142\(194907\)2:4<635::aid-cnrcr2820020411>3.0.co;2-g](https://doi.org/10.1002/1097-0142(194907)2:4<635::aid-cnrcr2820020411>3.0.co;2-g).
436. Stanton, S.E.; Adams, S.; et al. Variation in the Incidence and Magnitude of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Breast Cancer Subtypes: A Systematic Review. *JAMA Oncol* **2016**, *2*, 1354-1360, doi:<https://doi.org/10.1001/jamaoncol.2016.1061>.
437. Denkert, C.; Loibl, S.; et al. Tumor-associated lymphocytes as an independent predictor of response to neoadjuvant chemotherapy in breast cancer. *J Clin Oncol* **2010**, *28*, 105-113, doi:<https://doi.org/10.1200/jco.2009.23.7370>.
438. Salgado, R.; Denkert, C.; et al. The evaluation of tumor-infiltrating lymphocytes (TILs) in breast cancer: recommendations by an International TILs Working Group 2014. *Ann Oncol* **2015**, *26*, 259-271, doi:<https://doi.org/10.1093/annonc/mdu450>.
439. Humphrey, P.A. Histopathology of Prostate Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2017**, *7*, doi:<https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030411>.

440. Tsujikawa, T.; Mitsuda, J.; et al. Prognostic significance of spatial immune profiles in human solid cancers. *Cancer Sci* **2020**, *111*, 3426-3434, doi:<https://doi.org/10.1111/cas.14591>.
441. Galon, J.; Costes, A.; et al. Type, density, and location of immune cells within human colorectal tumors predict clinical outcome. *Science* **2006**, *313*, 1960-1964, doi:<https://doi.org/10.1126/science.1129139>.
442. Jayaprakash, P.; Ai, M.; et al. Targeted hypoxia reduction restores T cell infiltration and sensitizes prostate cancer to immunotherapy. *J Clin Invest* **2018**, *128*, 5137-5149, doi:<https://doi.org/10.1172/jci96268>.
443. Pagès, F.; Mlecnik, B.; et al. International validation of the consensus Immunoscore for the classification of colon cancer: a prognostic and accuracy study. *Lancet* **2018**, *391*, 2128-2139, doi:[https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(18\)30789-x](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(18)30789-x).
444. Pickup, M.; Van der Kwast, T.H. My approach to intraductal lesions of the prostate gland. *J Clin Pathol* **2007**, *60*, 856-865, doi:<https://doi.org/10.1136/jcp.2006.043224>.
445. Gimbrone, M.A., Jr.; Leapman, S.B.; et al. Tumor dormancy in vivo by prevention of neovascularization. *J Exp Med* **1972**, *136*, 261-276, doi:<https://doi.org/10.1084/jem.136.2.261>.
446. Gimbrone, M.A., Jr.; Cotran, R.S.; et al. Tumor growth and neovascularization: an experimental model using the rabbit cornea. *J Natl Cancer Inst* **1974**, *52*, 413-427, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/52.2.413>.
447. Srivastava, A.; Laidler, P.; et al. The prognostic significance of tumor vascularity in intermediate-thickness (0.76-4.0 mm thick) skin melanoma. A quantitative histologic study. *Am J Pathol* **1988**, *133*, 419-423.
448. Srivastava, A.; Hughes, L.E.; et al. Vascularity in cutaneous melanoma detected by Doppler sonography and histology: correlation with tumour behaviour. *Br J Cancer* **1989**, *59*, 89-91, doi:<https://doi.org/10.1038/bjc.1989.17>.
449. Folkman, J.; Watson, K.; et al. Induction of angiogenesis during the transition from hyperplasia to neoplasia. *Nature* **1989**, *339*, 58-61, doi:<https://doi.org/10.1038/339058a0>.
450. Folkman, J. What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent? *J Natl Cancer Inst* **1990**, *82*, 4-6, doi:<https://doi.org/10.1093/jnci/82.1.4>.
451. Folkman, J. Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Semin Oncol* **2002**, *29*, 15-18, doi:<https://doi.org/10.1053/sonc.2002.37263>.
452. Hansum, T.; Hollemans, E.; et al. Comedonecrosis Gleason pattern 5 is associated with worse clinical outcome in operated prostate cancer patients. *Mod Pathol* **2021**, *34*, 2064-2070, doi:<https://doi.org/10.1038/s41379-021-00860-4>.
453. Lu, X.; Kang, Y. Hypoxia and hypoxia-inducible factors: master regulators of metastasis. *Clin Cancer Res* **2010**, *16*, 5928-5935, doi:<https://doi.org/10.1158/1078-0432.Ccr-10-1360>.
454. Petitprez, F.; Fossati, N.; et al. PD-L1 Expression and CD8(+) T-cell Infiltrate are Associated with Clinical Progression in Patients with Node-positive Prostate Cancer. *Eur Urol Focus* **2019**, *5*, 192-196, doi:<https://doi.org/10.1016/j.euf.2017.05.013>.
455. Subudhi, S.K.; Siddiqui, B.A.; et al. Combined CTLA-4 and PD-L1 blockade in patients with chemotherapy-naïve metastatic castration-resistant prostate cancer is associated with

- increased myeloid and neutrophil immune subsets in the bone microenvironment. *J Immunother Cancer* **2021**, *9*, doi:<https://doi.org/10.1136/jitc-2021-002919>.
456. Bellomo, C.; Caja, L.; et al. Transforming growth factor  $\beta$  as regulator of cancer stemness and metastasis. *Br J Cancer* **2016**, *115*, 761-769, doi:<https://doi.org/10.1038/bjc.2016.255>.
457. Jiao, S.; Subudhi, S.K.; et al. Differences in Tumor Microenvironment Dictate T Helper Lineage Polarization and Response to Immune Checkpoint Therapy. *Cell* **2019**, *179*, 1177-1190.e11113, doi:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.10.029>.
458. He, M.X.; Cuoco, M.S.; et al. Transcriptional mediators of treatment resistance in lethal prostate cancer. *Nat Med* **2021**, *27*, 426-433, doi:<https://doi.org/10.1038/s41591-021-01244-6>.
459. de Brot, S.; Ntekim, A.; et al. Regulation of vascular endothelial growth factor in prostate cancer. *Endocr Relat Cancer* **2015**, *22*, R107-123, doi:<https://doi.org/10.1530/erc-15-0123>.
460. de Almeida, D.V.P.; Fong, L.; et al. Immune Checkpoint Blockade for Prostate Cancer: Niche Role or Next Breakthrough? *Am Soc Clin Oncol Educ Book* **2020**, *40*, 1-18, doi:[https://doi.org/10.1200/edbk\\_278853](https://doi.org/10.1200/edbk_278853).



## **Annexes**

# Annexe 1 – Article de revue sur le carcinome intracanalair de la prostate

## Intraductal Carcinoma of the Prostate as a Cause of Prostate Cancer Metastasis: A Molecular Portrait

by Helen Pantazopoulos<sup>1,2,3†</sup>, **Mame-Kany Diop**<sup>1,2,3†</sup>, Andrée-Anne Grosset<sup>1,2,3</sup>, Frédérique Rouleau-Gagné<sup>1,2,3</sup>, Afnan Al-Saleh<sup>1,2,3</sup>, Teodora Boblea<sup>1,2</sup>, and Dominique Trudel<sup>1,2,3,4\*</sup>

<sup>1</sup> Centre de recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CRCHUM), 900 Saint-Denis, Montréal, Québec, H2X 0A9, Canada

<sup>2</sup> Institut du cancer de Montréal, 900 Saint-Denis, Montréal, Québec, H2X 0A9, Canada

<sup>3</sup> Department of Pathology and Cellular Biology, Université de Montréal, 2900 Boulevard Édouard-Montpetit, Montréal, Québec, H3T 1J4, Canada

<sup>4</sup> Department of Pathology, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), 1051 Sanguinet, Montréal, Québec, H2X 0C1, Canada

\* Author to whom correspondence should be addressed

† These authors contributed equally to this work

*Cancers* (Basel). **2022**, 14(3), 820; doi: [10.3390/cancers14030820](https://doi.org/10.3390/cancers14030820).

### Abstract

Intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P) is one of the most aggressive types of prostate cancer (PCa). IDC-P is identified in approximately 20% of PCa patients and is associated with recurrence, metastasis, and PCa-specific death. The main feature of this histological variant is the colonization of benign glands by PCa cells. Although IDC-P is a well-recognized independent parameter for metastasis, mechanisms by which IDC-P cells can spread and colonize other tissues are not fully known. In this review, we discuss the molecular portraits of IDC-P determined by immunohistochemistry and genomic approaches and highlight the areas in which more research is needed.

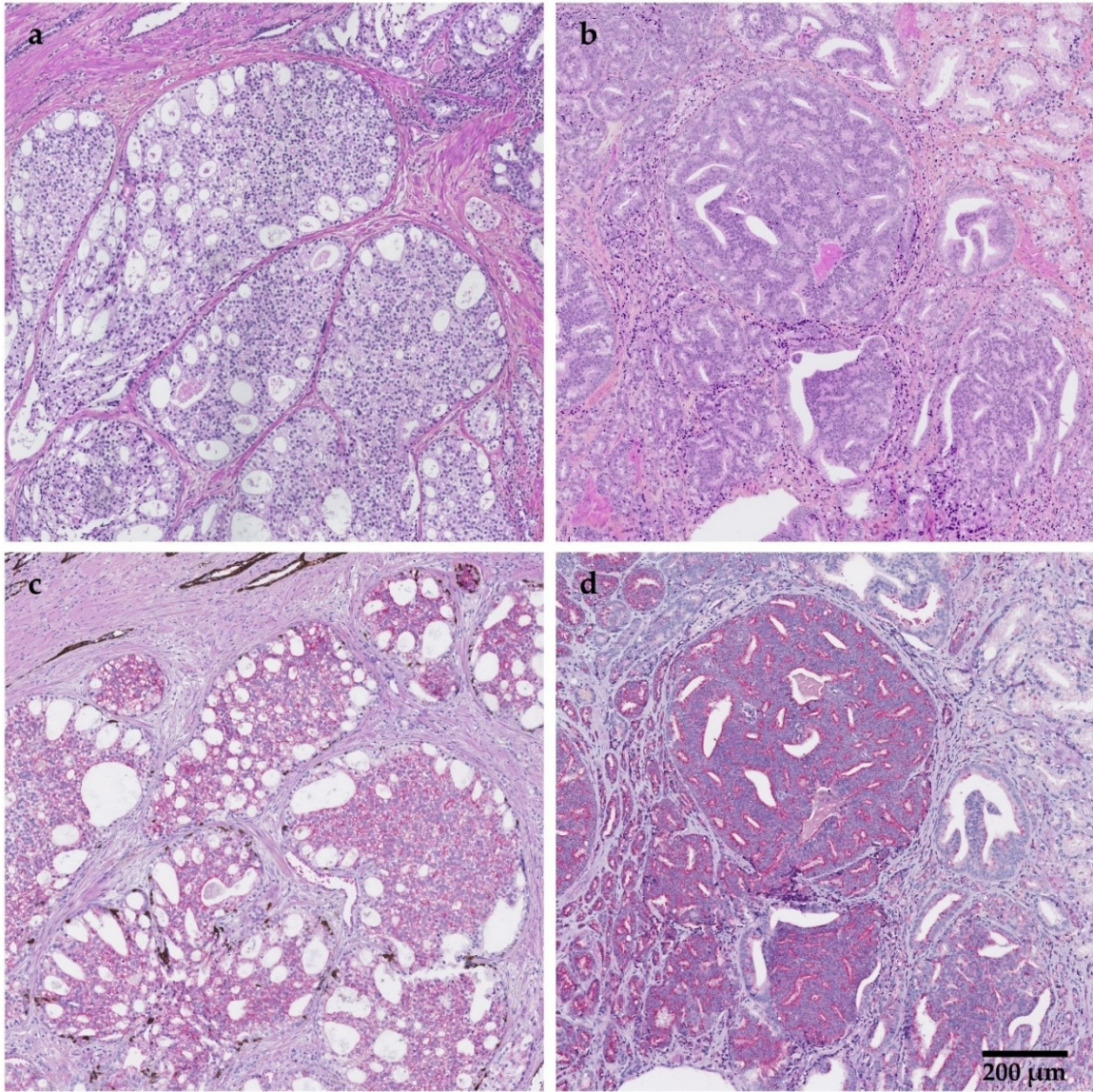
**Keywords:** intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P); metastasis; biomarkers; immunohistochemistry; genomic; Raman micro-spectroscopy.

## A1.1. Introduction

Prostate cancer (PCa) is the most frequently diagnosed cancer of men, accounting for 26% of all malignancies found in North American men, and the second cause of cancer-related death [1]. When PCa is localized, the 5-year survival rate of patients is nearly 100%; yet when PCa has metastasized, the 5-year survival rate steeply declines to 28% despite intensive therapy [2,3]. Many factors are associated with survival in PCa, such as tumour stage and tumour grade. In PCa, the tumour grade is evaluated according to how glands are well formed (pattern 3), unrecognizable (pattern 5) or in between (pattern 4), and added together according to their relative abundance to generate the Gleason score (6 to 10) which is then transformed to grade groups (1 to 5) [4].

Among the factors influencing PCa survival is intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P), a growth of malignant cells found in benign prostatic ducts and acini (**Figure A1–1a,c**), recently recognized as a distinct aggressive variant of PCa [5,6,7]. IDC-P is identified in approximately 20% of radical prostatectomies (RPs), often with invasive high-grade, high-risk PCa, and has been associated with early biochemical recurrence, metastasis, castration-resistant prostate cancer (CRPC) and poor survival [8]. Of note, despite similar nomenclature and associations with poor outcomes, IDC-P is morphologically distinct from ductal adenocarcinoma [9]. Briefly, ductal adenocarcinoma is most often directly in contact with the stroma (i.e., is not within a benign duct or acini), and is recognized by columnar pseudostratified epithelium with elongated nuclei [9]. Thus, the two entities should not be confused.

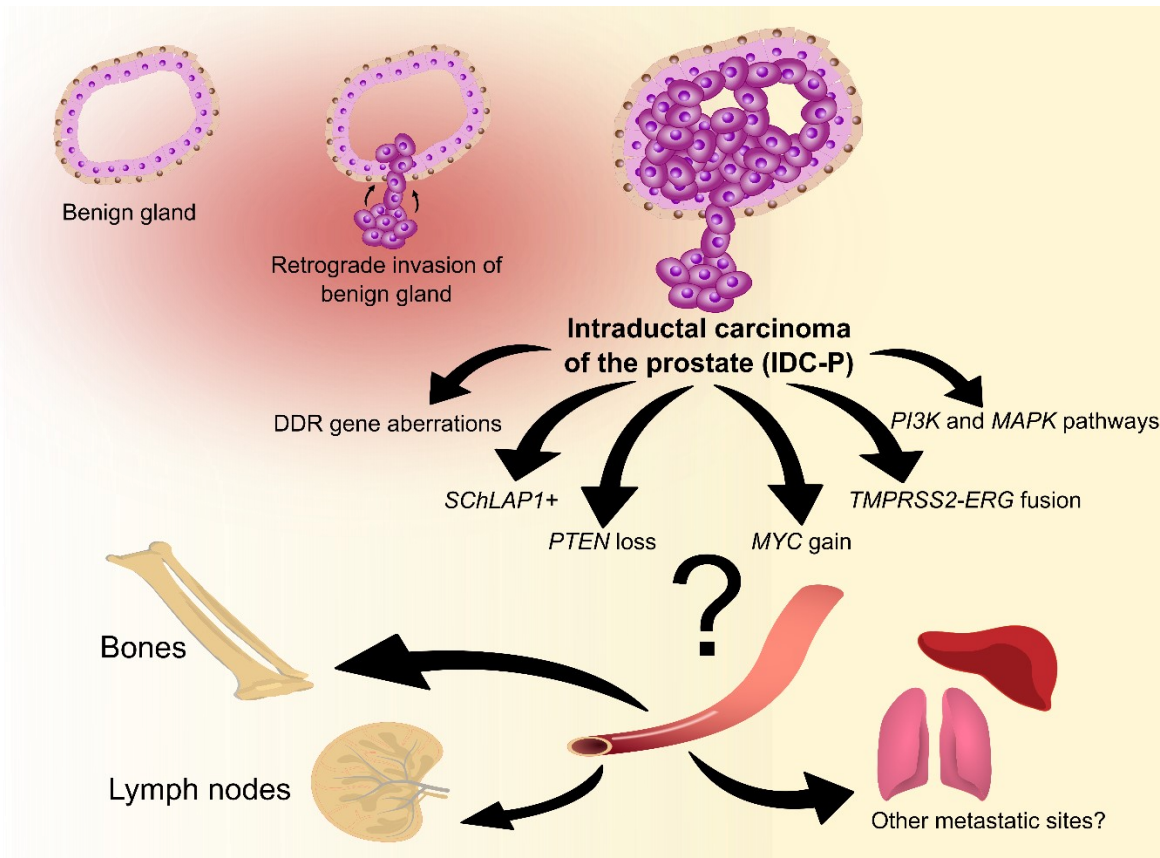
Although the diagnostic criteria and the clinical significance of IDC-P have become clearer since its first description by Kovi et al. in 1985 [7], response to standard treatment is better known, but specific treatment options have yet to be established [10,11,12,13,14,15,16,17,18]. Of all the adverse features associated with IDC-P, metastatic disease is the most threatening to the patient. IDC-P has been associated with lymph node metastasis [19,20,21,22,23,24,25], distant metastasis [26,27,28,29,30,31,32,33,34,35], poor outcome in men with metastatic disease and CRPC [17,18,36,37,38,39,40], PCa-specific death and poor overall survival [25,27,31,36,39,40,41,42,43].



**Figure A1–1.** Intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P) (**a, c**) and cribriform type pattern 4 prostate cancer (CC) (**b, d**). Hematoxylin phloxine saffron staining (**a, b**) or immunostaining for high molecular weight cytokeratins and p63 (basal cell markers, brown) and  $\alpha$ -methylacyl-CoA racemase (prostate cancer marker, red) with hematoxylin and eosin counterstaining (**c, d**), highlighting the basal cells surrounding IDC-P and the direct contact between CC and the tumour stroma. Scale bar: 200  $\mu$ m.

Understanding the molecular cascades underlying the invasion of PCa cells into benign ducts, and their escape from the prostate and from androgen dependency, would help discover biomarkers of aggressive disease and the development of much-needed targeted therapies. Here, we review

the associations between IDC-P and metastatic PCa, the current knowledge about treatment response of IDC-P and align these associations with the known molecular alterations of IDC-P (**Figure A1–2**) while highlighting areas that could benefit from further investigations.



**Figure A1–2.** Known molecular alterations for the pathogenesis and progression of intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P). DDR: DNA-damage repair; *SchLAP1*: second chromosome locus associated with prostate cancer-1; *PTEN*: phosphatase and tensin homolog; *ERG*: ETS-related gene; PI3K: phosphoinositide 3-kinase; *MAPK*: mitogen-activated protein kinase.

## A1.2. IDC-P is an independent parameter for metastasis and survival

### A1.2.1. IDC-P predicts the presence of lymph node metastasis at diagnosis

Lymph node metastasis is associated with shorter disease-free survival in PCa [44]. IDC-P has been frequently associated with lymph node metastasis [19,20,21,22,23,24,25] (summarized in [Supplementary Table 1A](#)), with a hazard ratio (HR) of 3.79 to develop lymph node-positive

disease, as described in a recent meta-analysis [13]. The first report of this association by O'Brien et al. [19] evaluated the predictive impact of IDC-P in 50 high-risk PCa patients treated with neoadjuvant chemotherapy. Interestingly, only IDC-P (multivariate odds ratio (OR) of 4.6, 95% confidence interval (CI) of 1.5–14.2,  $p = 0.007$ ) could predict the presence of lymph node metastases [19].

In treatment-naïve cohorts, Xu et al. [20] first showed in 316 men with clinically localized, bilateral PCa without metastasis (cT2N0M0) who underwent RP, that IDC-P was associated, but not independently, with lymph node metastasis. Kryvenko et al. [21] compared the clinicopathological characteristics between patients with Gleason score 7 PCa who had lymph node metastases and those without any other metastasis at RP. Of the 368 RP specimens, 184 patients had metastases to lymph nodes, and these patients were significantly more likely to have IDC-P (78/184) than patients that did not have any metastases (38/184) (42.4% vs. 20.7%,  $p < 0.001$ ) [21].

In two retrospective studies in treatment-naïve men, Downes and colleagues [22,23] evaluated IDC-P in conjunction with cribriform type pattern 4 (CC) as a predictive parameter in detecting lymph node metastases. CC is an adverse histopathological feature of the prostate that is now classified as a Gleason pattern 4, and IDC-P and CC are often assessed together due to the difficulty in correctly distinguishing the two histopathologies [45,46,47,48,49] (**Figure A1–1b,d**). Accordingly, Downes et al. [22] examined IDC-P and CC together and showed that IDC-P/CC histopathology was present in 94% of all RP specimens from 110 node-positive patients. Although there was no association between the grade at RP and the nodal grade, the grade assigned to the largest node was associated with shorter survival [22]. Downes et al. [23] then evaluated the role of IDC-P/CC in 543 patients who underwent RP, of which 275 patients had matched biopsies. IDC-P/CC was significantly associated with lymph node metastases in the RP and biopsy cohort (multivariate OR: 5.12, 95% CI: 1.37–19.2,  $p = 0.015$ ; and multivariate OR: 4.42, 95% CI: 1.29–15.14,  $p = 0.018$ , respectively) [23].

Both very small and large-scale studies point to the same associations. Lindberg et al. [24] published a case study in which the DNA alterations in the prostatic ducts colonized by IDC-P shared 83% of the break-point regions with lymph node metastases, directly implicating regional

metastatic PCa as an outcome of IDC-P [24]. On the other hand, Dinerman et al. [25] performed a Surveillance, Epidemiology and End Results Program (SEER) retrospective study in which IDC-P alone had predictive value on lymph node metastases in 242 out of 159,777 RP specimens (5.8% vs. 2.4% when IDC-P is absent,  $p < 0.001$ ) [25].

These studies [13,19,20,21,22,23,24,25,31] establish that the presence of IDC-P/CC is strongly associated with lymph node metastasis at diagnosis. However, the only available studies in treatment-naïve men of all grades have been conducted by merging IDC-P with CC. As IDC-P is likely resistant to neoadjuvant therapy with either hormone therapy or chemotherapy [16,19,50,51,52], the role of IDC-P alone as a predictor of lymph node metastasis in patients with higher grade PC should be better clarified. Interestingly, Hollemans et al. studied 408 men with NOM0 grade group 2 PCa, and observed that the occurrence of lymph node metastasis was not statistically different when comparing men with CC and IDC-P and men with IDC-P alone [53].

#### **A1.2.2. IDC-P predicts the occurrence of distant metastasis**

In addition to N1 disease, IDC-P has been often associated with distant metastasis [26,27,28,29,30,31,32,33,34,35] (summarized in [Supplementary Table 1B](#)). When comparing 85 men who experienced recurrence detected either by biopsy or radiology, Trinh et al. [26] showed that men with IDC-P at RP developed distant metastasis more frequently than loco-regional recurrence (OR: 6.27, 95% CI: 1.43–27.6,  $p = 0.015$ ). In 206 high-risk PCa, Kimura et al. [31] showed that IDC-P status was significantly correlated with progression-free survival (multivariate HR: 3.07, 95% CI: 1.44–6.58,  $p = 0.0038$ ), which was defined as time from RP to development of local or distant metastases.

In 2019, Tom et al. [27] evaluated the clinical outcomes of IDC-P positive patients and demonstrated that IDC-P was an adverse prognostic parameter of distant metastasis in a cohort of 237 patients with Gleason score 7 PCa treated with external beam radiotherapy. In this cohort, CC was not significantly associated with distant metastasis-free survival unless it was evaluated in conjunction with IDC-P (multivariate HR: 4.18, 95% CI: 1.43–12.28,  $p = 0.01$ ), and IDC-P was not identified without CC in the biopsies [27]. Similarly, van der Kwast et al. [28] studied two cohorts of men with PCa treated by radiation therapy: one including men with intermediate-risk PCa and

the other including men with high-risk PCa who were part of a clinical trial evaluating the addition of long-term androgen deprivation therapy to radiation therapy. In this study, IDC-P was associated with shorter time to clinical progression (local, distant or death), when men were treated by radiation therapy only (multivariate HR: 2.33, 95% CI: 1.14–4.76,  $p = 0.02$ ), but only in univariate analysis when men were exposed to androgen deprivation therapy (HR: 2.83, 95% CI: 1.16–6.92,  $p = 0.018$ ) [28].

In an earlier case-control study including 161 men with Gleason score 7 PCa (52 with metastases, disease-specific mortality or both), Kweldam et al. [29] showed that IDC-P was a univariate predictor for distant metastasis. In their study, IDC-P was strongly associated with CC ( $p < 0.001$ ), and both CC and IDC-P were adverse predictors for distant metastasis-free survival. However, IDC-P lost significance in multivariate analyses (multivariate HR for CC: 8.0, 95% CI: 3.0–21,  $p < 0.001$ ; univariate HR for IDC-P: 2.5, 95% CI: 1.2–4.7,  $p = 0.007$ ) [29]. It is worth noting that if CC is highly correlated with IDC-P, including these two factors in a multivariate model may bias the final model.

Other groups have implicated IDC-P/CC together as a predictor of the development of distant metastases [30,32,33,34] in PCa patients. In 2017, Chua et al. [30] evaluated 1325 men treated for localized PCa, and found that patients with IDC-P/CC had an increased likelihood of developing distant metastasis (multivariate HR: 3.31, 95% CI: 1.76–6.21,  $p < 0.001$ ) [30]. In 2019, Hollemans et al. evaluated the impact of IDC-P/CC in 1064 first-line RPs and found that IDC-P/CC predicted shorter metastasis-free survival (multivariate HR: 9.9, 95% CI: 3.9–25.5,  $p < 0.001$ ) [32]. Subgroup analyses showed the same results in the 140 Gleason score 8 RP specimens [33] and in the 854 grade group 1 and 2 RP specimens, although metastases were infrequent in this group [34]. The very few patients who developed distant metastasis (6%) harboured IDC-P/CC in their RPs [34].

Lastly, Isaacsson Velho et al. [35] studied the occurrence of metastasis in 60 men with primary Gleason pattern 5 at RP, of which nine (15%) showed either ductal or intraductal histology. In these men, IDC-P and/or ductal adenocarcinoma were associated with shorter metastasis-free survival (multivariate HR: 3.78, 95% CI: 1.51–9.45,  $p = 0.004$ ) [35].



Globally, regardless of the risk stratification or whether PCa was treated by RP or radiation therapy, IDC-P alone or in combination with CC or ductal adenocarcinoma has been associated with the development of distant metastasis [26,27,28,29,30,31,32,33,34,35]. Interestingly, only Kweldam et al. [29] compared the impact of IDC-P and CC alone and in combination. However, their important study included only Gleason score 7 PCa.

### **A1.2.3. IDC-P predicts poor prognosis in men with metastatic prostate cancer**

Many groups have assessed the clinical impact of IDC-P in men with metastatic PCa on first diagnosis [17,18,36,37,38,39,40] (summarized in [Supplementary Table 1C](#)). One of these groups, led by Zeng, initially verified the time to CRPC in men diagnosed with metastatic disease and IDC-P [36]. Time to CRPC was cut in half when IDC-P was present in the diagnostic biopsy (23 months vs. 46 months, multivariate HR: 4.89, 95% CI: 1.44–16.56,  $p = 0.011$ ). In a second study, Chen et al. [17] evaluated 45 patients initially diagnosed with bone metastatic PCa, which later progressed to CRPC. All patients were subjected to two transperineal prostate biopsies: one at the time of initial diagnosis and a second upon diagnosis of metastatic CRPC. As the prevalence of IDC-P increased from 20% to 62.5% between the two biopsies, IDC-P was associated with shorter time to prostate-specific antigen (PSA) doubling only when taking into account the second biopsy [17]. In another study with the same two-biopsy design, the prevalence of IDC-P increased from 28% to 47% at the time of CRPC, and IDC-P was associated with shorter overall survival (multivariate HR: 1.91, 95% CI 1.11–3.29,  $p = 0.020$ ) [37]. A high amount of IDC-P (>10% of the tumour content) was also associated with shorter CRPC-free survival (multivariate HR: 2.11, 95% CI: 1.52–2.93,  $p < 0.001$ ), and shorter overall survival (multivariate HR: 2.31, 95% CI: 1.38–3.87,  $p = 0.002$ ) in 644 de novo metastatic PCa [38]. Similarly, the same group identified IDC-P as an independent predictor of CRPC-free survival (HR: 1.82, 95% CI: 1.35–2.44,  $p < 0.001$ ) [39].

Other groups also studied the impact of IDC-P in men with de novo metastatic PCa. Kato et al. found that IDC-P was associated with cancer-specific survival (univariate HR: 2.13, 95% CI: 1.14–3.99,  $p = 0.0181$ ) and overall survival (multivariate HR: 2.66, 95% CI: 1.47–4.79,  $p = 0.0012$ ) in a cohort of 150 men with bone metastases at their initial PCa diagnosis [40]. Recently, Abascal-Junquera et al. [18] demonstrated the importance of IDC-P in 118 metastatic CRPC patients as they observed that the time to CRPC was shorter for the 37 men with IDC-P than for the 81 men

without IDC-P (10 months vs. 25 months,  $p = 0.007$ ). Furthermore, time to second-line therapy with abiraterone or enzalutamide was also shorter for men with IDC-P (11 months vs. 6 months,  $p = 0.05$ ).

In contrast, Porter and al. [16] assessed overall survival in a small-scale study including 38 men who developed metastases after their initial diagnosis and found no significant difference in survival between men with and without IDC-P at diagnosis, despite a median follow-up of 4.9 years from diagnosis to CRPC [16].

Interestingly, most of these studies [17,18,36,37,38,39,40] establish IDC-P alone, without evaluating the impact of CC, as a prognostic factor in men diagnosed with de novo metastatic PCa to the bones and who progressed to CRPC. It should also be noted that all these studies excluded men with visceral metastases, which, although rare in PCa, could be associated differently with IDC-P.

#### **A1.2.4. IDC-P predicts death from prostate cancer**

The association of IDC-P and poor outcome when diagnosed in M1 PCa is expectedly followed by an association of IDC-P with poor disease-specific survival and overall survival [13,25,27,31,36,37,38,39,40,41,42,43,54] (summarized in [Supplementary Table 1D](#)). The effect of IDC-P alone on disease-specific survival has been evaluated in the SEER database [25] in men with localized PCa [43] and in high-risk PCa [31,42]. IDC-P was significantly associated with shorter disease-specific survival in all studies [13,25,27,31,36,37,38,39,40,41,42,43,54] but one [42], with HRs varying from 1.7 to 4.48. Moreover, the association between IDC-P and overall survival has been evaluated in men with de novo metastatic disease (restricted to bone metastases) [36,38,39,40], CRPC [37] and in one cohort of high-risk patients [42], with HRs varying from 1.61 to 2.66. These results are consistent in a recent multivariate analysis [13].

Three studies addressed the combined impact of IDC-P and CC on disease-specific survival [27,29,54]. The first study [29] was the case-control study of men with metastases and/or lethal PCa by Kweldam et al. discussed above, in which IDC-P was associated with distant metastasis only in univariate analysis. Only CC was associated with PCa disease-specific survival (multivariate HR: 5.4, 95% CI: 2.0–15,  $p = 0.001$ ) [29]. The second study included men with Gleason score 7 PCa treated by external beam radiation therapy, and showed that CC alone was not associated with

the occurrence of metastasis, but IDC-P combined with CC was associated with metastasis and disease-specific survival (multivariate HR: 14.26, 95% CI: 2.75–74.04,  $p = 0.0016$ ) [27]. Interestingly, in this cohort, IDC-P was not found without CC [27]. In the third study, the effect of IDC-P/CC on overall survival was compared to the effect of non-CC Gleason pattern 4 in the Health Professionals Follow-up Study and the Physicians' Health Study [54]. The presence of IDC-P/CC was evaluated on tissue microarrays of 0.6 mm-cores built from the primary PCa nodule or the nodule with the highest grade. Elfandy et al. showed that IDC-P/CC was associated with lethal disease (IDC-P/CC: 43/218 lethal cases, non-CC Gleason 4 pattern: 46/600 lethal cases; unadjusted HR: 2.66, 95% CI; 1.75–4.03), but the association lost statistical significance with adjustment for Gleason score, age, body-mass index and cTNM (full model HR: 1.45, 95% CI: 0.92–2.27).

Lastly, in the European Randomized study of Screening for Prostate Cancer (Rotterdam cohort), the incidence of IDC-P/CC in biopsy specimens of 15 men who died of PCa despite having cT1/2 disease with classical Gleason score  $\leq 6$  were compared to biopsy specimens of 64 men with non-fatal PCa and classical Gleason score  $\leq 6$ . After reclassification following the International Society of Urological Pathology (ISUP) 2014 modified Gleason score, 63% (5/8) of men with grade group two fatal PCa had IDC-P/CC, compared to 13% (2/16) of men with non-fatal, grade group 2 PCa [55].

### **A1.3. Treatment response**

Understanding how IDC-P responds to standard PCa treatment is crucial for the design of new targeted therapies. These questions have mostly been addressed in retrospective studies or in clinical trials with IDC-P as a secondary endpoint [15,17,19,37,50,51,52,56,57,58,59] (summarized in [Supplementary Table 2](#)). Currently, two ongoing studies in China focus on IDC-P treatment. One evaluates neoadjuvant androgen-deprivation therapy and abiraterone in IDC-P, and the other evaluates docetaxel and abiraterone in mCRPC and IDC-P. In addition, two other registered studies will be evaluating the presence of IDC-P or CC after neoadjuvant therapy as a secondary endpoint, and another will be evaluating the difference in time-to-recurrence according to IDC-P status as a secondary endpoint after radiation therapy with or without androgen-deprivation

therapy. With the growing importance of IDC-P in PCa outcomes, more clinical trials are expected to focus on the treatment of IDC-P.

### **A1.3.1. Response to neoadjuvant chemotherapy, androgen-deprivation therapy and androgen receptor axis-targeted therapy**

The first studies addressing the response to therapy of IDC-P were conducted in the neoadjuvant context in retrospective studies. Efstathiou et al. published [50] a study of 115 men who underwent RP after androgen ablation, alone or in combination with chemotherapy. This series included mostly men with high-grade disease (71% of Gleason score 8–10), and IDC-P/CC were present in 72% of RPs. In multivariate analysis, the presence of IDC-P/CC, margin status and treatment predicted biochemical recurrence (relative risk [RR] for IDC-P/CC: 2.98, standard error: 0.46,  $p = 0.02$ ) [50]. Similarly, O'Brien et al. [19] identified IDC-P in 20% of 50 RPs from men treated with neoadjuvant docetaxel and mitoxantrone for high-risk PCa and linked the presence of IDC-P and CC with shorter time to recurrence (multivariate HR: 2.6, 95%CI: 1.5–4.3,  $p < 0.001$  and multivariate HR: 2.3, 95%CI: 1.3–4.0,  $p = 0.003$ , respectively). In a cohort of men with high-risk PCa treated with neoadjuvant androgen-deprivation therapy, men with IDC-P found at both needle biopsy and RP were also shown to have shorter overall survival than men without IDC-P at needle biopsy (regardless of IDC-P status at RP) or men with IDC-P at needle biopsy but not on RP (multivariate HR: 3.2, 95%CI: 1.47–6.95,  $p = 0.0034$ ) [51].

The presence of IDC-P as a factor of response to neoadjuvant therapy has also been evaluated in post-hoc analysis of clinical trials or as secondary endpoints [52,56,57]. In a pooled analysis of three clinical trials evaluating neoadjuvant abiraterone and/or enzalutamide (androgen receptor axis-targeted therapy) in high-risk and unfavorable intermediate-risk patients, McKay et al. [56] showed that IDC-P was associated with a lack of exceptional pathological response at RP ( $n = 45$ , 0% vs. 41.7%,  $p = 0.001$ ) and with a lower rate of biochemical-free survival at three years (28% vs. 70%,  $p = 0.004$ ). In the histologic and genomic analyses of RPs from 37 men enrolled in a clinical trial of neoadjuvant androgen-deprivation therapy with enzalutamide [57], IDC-P and nuclear ERG expression were associated with incomplete or nonresponsive cases (univariate analyses,  $p = 0.013$  and  $p = 0.002$ , respectively) but CC was not. Based on a combination of IDC-P and ERG expression with deletion of >50% of chromosome 10 q and loss-of-function or hotspot alterations

to TP53, a model was constructed to predict complete response after neoadjuvant treatment. This model classified 30/37 cases correctly (area under the curve: 0.89,  $p < 0.0001$ ) [57]. In a trial comparing abiraterone, leuprolide and prednisone with or without apalutamide, as there was no significant difference between treatment arms, IDC-P was associated with higher pathologic T stage (tumour extension), larger residual tumours, increased tumour cellularity and higher residual cancer burden [52].

### **A1.3.2. Response to chemotherapy or androgen receptor axis-targeted therapy**

In a study by Chen et al. [17], response to treatment was evaluated in 24 men who were initially diagnosed with bone metastatic PCa before progression to CRPC and who were treated with docetaxel-based chemotherapy. In this cohort, 6/9 men without IDC-P (67%) showed response to chemotherapy while only 3/15 with IDC-P (20%) responded to chemotherapy. The same group compared response to CRPC therapy according to IDC-P status at biopsy (at the time of metastatic CRPC) in a cohort of 96 men [37]. In men without IDC-P, response rates to docetaxel or abiraterone were similar (56% vs. 57%,  $p = 0.70$ ), whereas men with IDC-P showed similar response rates to abiraterone (52%) with only a 22% response rate in the docetaxel group [37].

In 2018, Yamamoto et al. [58] came to the same conclusion after studying a cohort of 79 men diagnosed with metastatic PCa who progressed to mCRPC without local treatment. As all men from this cohort were treated by androgen-deprivation therapy, men who received docetaxel had shorter median survival when their PCa harboured IDC-P (20.5 months vs. 53.2 months, HR: 2.98, 95%CI: 1.02–8.64,  $p = 0.044$ ) [58]. While men who received docetaxel had shorter survival with IDC-P than without IDC-P, men with IDC-P still fared better when they received chemotherapy with a median cancer-specific survival of 14.7 months without chemotherapy (median 20.5 months with chemotherapy, HR: 0.44, 95%CI: 0.22–0.91,  $p = 0.026$ ) [58]. Two years later, the same group compared the response to chemotherapy to the response to abiraterone or enzalutamide in a propensity score matching study including 170 men with CRPC [59]. In each treatment group, IDC-P was associated with shorter overall survival, which was not statistically significant in the abiraterone/enzalutamide group (HR for docetaxel group: 3.08, 95%CI 1.76–5.41,  $p < 0.001$ ; HR for abiraterone/enzalutamide group: 1.63, 95%CI: 0.77–3.47,  $p = 0.19$ ). However, patients with

IDC-P did better when they received either abiraterone or enzalutamide compared to docetaxel (HR: 0.48, 95%CI: 0.26–0.86,  $p = 0.01$ ) [59].

### **A1.3.3. Response to adjuvant radiation therapy**

Until now, only one study has evaluated the addition of radiation therapy to RPs when IDC-P is present [15]. In this study, the outcomes of 293 men with localized to locally advanced PCa were compared in function of the presence of high-risk factors (grade group 4–5, positive margins, extraprostatic extension or seminal vesicle invasion), which can be treated with adjuvant radiation therapy, and in function of the presence of IDC-P. Globally, men with IDC-P and no high-risk factors had a similar outcome than men without IDC-P but with at least one high-risk factor. In a multivariate analysis for the prediction of biochemical recurrence after RP, IDC-P was associated with shorter time to recurrence (HR: 2.39, 95%CI: 1.44–3.97,  $p = 0.001$ ) and adjuvant radiation therapy protected the men from recurrence (HR: 0.38, 95%CI: 0.17–0.85,  $p = 0.018$ ) [15].

### **A1.4. Molecular markers of IDC-P**

To date, evidence has shown that IDC-P alone or in combination with CC is of tremendous importance to PCa outcome. Understanding the molecular characteristics of IDC-P is crucial for the identification and development of early detection tools and targeted therapies. Our knowledge of IDC-P has grown exponentially since a study in 2000 [60] that first detailed some molecular features of IDC-P in 26 patients, with expression of PSA (specific to prostate tissue), MIB-1 (a proliferation marker) and MUC2 (staining intestinal goblet-cell mucus) mostly in the central area of the proliferation, and androgen receptors (AR) expression mostly at its periphery. Here we describe the known molecular alterations of IDC-P compared to other components of prostatic tissue and PCa, as well as the prognostic impact of the molecular alterations associated with IDC-P.

#### **A1.4.1. IDC-P without associated invasive carcinoma**

Very few reports of isolated IDC-P have been published [61,62]. Khani et al. characterized four isolated IDC-P cases (three were entirely submitted for histology) as well as 11 cases in which IDC-P was identified in association with low grade (Gleason score 6) PCa [63] (**Table A1–1**). From seven

sequenced IDC-P lesions (one with isolated IDC-P), four showed activating oncogenic driver mutations involving the *MAPK* and *PI3K* pathways, which are rarely involved in PCa but which are found with high frequency in ductal adenocarcinoma [64]. Moreover, these tumours showed less copy number alterations (CNAs) and a lower percentage of genome alterations. Other identified alterations included phosphatase and tensin homolog (*PTEN*) loss, *CHEK2* and *BRCA2* (DNA-damage repair [DDR] genes) mutations, *CDKN2A*, *RB1* and *CCND1* (cell cycle genes) mutations, along with other PCa-related alterations such as *MYC* amplification in four cases. Immunohistochemistry (IHC) showed low ETS-related gene (*ERG*) positivity prevalence (1/15), with partial or complete loss of *PTEN* in roughly half the cases (7/15), and 56% of discordance for the nine cases with sufficient tissue to evaluate adjacent invasive carcinoma.

**Table A1–1.** Overview of the study describing IDC-P without associated invasive carcinoma in radical prostatectomies [63].

Method	Type of alteration	Gene or chromosome	Mutation/alteration	% of positivity (n/n)
NGS	Activating SNV (PI3K/MAPK pathways)	<i>PIK3CA</i> <i>AKT1</i> <i>MAP2K1</i> <i>KRAS</i> <i>BRAF</i>	p.H1047R p.E17K p.I99_K104del p.G13P p.K601E	57% (4/7)
	Other SNV	<i>PTEN</i>	Splicing	14% (1/7)
GW CNA analysis	CNA	<i>PTEN</i>	Loss	29% (2/7)
IHC	Protein loss	<i>PTEN</i>	–	47% (7/15)
NGS	Other SNV (DNA repair genes)	<i>BRCA2</i> <i>CDK12</i> <i>CHEK2</i>	p.L1740* p.K756Q, p.K504* p.I157T	29% (2/7)
	Other SNV	<i>FOXA1</i>	p.F266V p.F396*	29% (2/7)
	Other SNV	<i>SPOP</i>	p.F133V	14% (1/7)
GW CNA analysis	CNA	<i>CDKN2A</i> <i>RB1</i> <i>CCND1</i>	Loss Loss Gain	71% (5/7)
	CNA	<i>MYC</i>	Gain	57% (4/7)
	CNA	<i>TP53</i>	Loss	14% (1/7)
	CNA	<i>CHD1</i>	Loss	14% (1/7)
	CNA	<i>TSC2</i>	Gain	14% (1/7)
	CNA	Chr. 8 (8p)	LOH	43% (3/7)
IHC	Protein overexpression	<i>ERG</i>	–	7% (1/15)

Abbreviations: CNA: copy number alteration; GW: Genome-wide; IHC: immunohistochemistry; LOH: loss of heterozygosity; NGS: next-generation sequencing; SNV: single-nucleotide variant

#### A1.4.2. IDC-P compared to high-grade intraepithelial neoplasia (HGPIIN) and to adjacent invasive carcinoma

The prostatic ducts can be occupied by many lesions such as high-grade intraepithelial neoplasia (HGPIIN), the presumed precursor of PCa, as well as clear cell cribriform hyperplasia and urothelial carcinoma [12]. IDC-P and HGPIIN are on a spectrum of cellular atypia, and HGPIIN is less atypical than IDC-P. Many studies have attempted to distinguish IDC-P from HGPIIN and from lesions with intermediate characteristics, coined “atypical intraductal proliferation” (AIP) [65,66,67,68,69]. Logically, IDC-P has also been compared to adjacent invasive carcinoma. Altogether, the following studies largely demonstrated that IDC-P was distinct from HGPIIN but similar to AIP and adjacent invasive carcinoma, at least in terms of ERG and PTEN expression (summarized in **Table A1–2**). However, studies comparing IDC-P to HGPIIN and adjacent invasive carcinoma using other markers or techniques, such as laser microdissection or spatial transcriptomics, are needed to complete our understanding of the relationships between PCa, IDC-P and HGPIIN.

**Table A1–2.** Overview of the studies comparing IDC-P to high-grade intraepithelial neoplasia and to adjacent invasive carcinoma. Only IDC-P results are presented.

Specimen type	Method	% of positivity (n/n)	Ref
<i>TMPRSS2:ERG fusion</i>			
RP	Sanger sequencing	100% (4/4)	[70]
RP	FISH	94% (82/87)	[71]
RP	FISH (break-apart probe)	75% (36/48)	[72]
<i>PTEN loss</i>			
RP	Sanger sequencing	75% (3/4)	[70]
RP	Micro-satellite analysis : <i>PTEN</i> (10q23) LOH	48% (13/27)	[73]
<i>ERG protein overexpression</i>			
RP	IHC	63% (20/32)	[74]
RP	IHC	61% (28/46)	[69]
RP	IHC	58% (26/45)	[66]
Bx	IHC	58% (29/50)	[67]
Bx	IHC	55% (33/60)	[68]
15 Bx; 8 RP; 6 TURP; 2 RCP	IHC	35% (11/31)	[75]
Bx	IHC	10% (12/128)	[76]



Specimen type	Method	% of positivity (n/n)	Ref
<i>PTEN protein loss</i>			
RP	IHC	89% (32/36)	[77]
RP	IHC	84% (38/45)	[66]
Bx	IHC	76% (38/50)	[67]
RP	IHC	75% (18/24)	[69]
Bx	IHC	75% (61/81)	[78]
Bx	IHC	72% (43/60)	[68]
RP	IHC	72% (23/32)	[74]
<i>Other</i>			
RP	CGH: -1q23→q32, -5p, -6cen→q22, +7p, +7q, -8p, +8q21.1→qter, -10p, -10q, -10q21→qter, -13q, -13q14→qter, -16q, -16q13→qter, -17p, -18q, +19p, +19q	73% (8/11)	[73]
RP	Micro-satellite analysis: <i>TP53</i> (17p13.1) LOH	60% (16/27)	[73]
RP	Micro-satellite analysis: <i>RB1</i> (13q14.2) LOH	81% (22/27)	[73]
RP	Micro-satellite analysis: 3pter-3p24.2, 5q21-22, 6q21-22, 7q31, 8p22, 10q23-24, 11p15.5, 16q23.1-16qter, 18q21, 18q21.33, 21q22.1-22.3 LOH	60% (12/20)	[79]
RP	Raman microspectroscopy	Accuracy, sensitivity, and specificity >85%	[80]

Abbreviations: Bx: biopsy; FISH: fluorescence in situ hybridization; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; IHC: immunohistochemistry; RCP: radical cystoprostatectomy; RP: radical prostatectomy; TURP: trans-urethral resection of the prostate

#### A1.4.2.1. *PTEN* and *ERG* (*TMPRSS2:ERG*)

*PTEN* is a tumour suppressor gene involved in the regulation of the cell cycle and is frequently associated with PCa aggressiveness and metastases [81,82,83,84,85,86,87]. Although *PTEN* loss was initially evaluated through genomic approaches, subsequent studies have shifted toward IHC as the correlation between the two is high, and some tumours presenting *PTEN* inactivation do not show genomic loss [84,88,89]. Similarly, detection of *TMPRSS2:ERG*, a fusion leading to the expression of the oncogene *ERG* in 50% of PCa [90], has moved from fluorescence in situ hybridization (FISH) to IHC [71,91,92]. Contrary to *PTEN*, *TMPRSS2:ERG* fusion or *ERG* expression has not been clearly linked to PCa outcome and is mostly used as a diagnostic marker [93,94,95,96,97]. Since the expression of *ERG* and *PTEN* can be evaluated by IHC, a very accessible histopathology technique, these two markers are the most studied in IDC-P [66,67,68,69,70,71,72,74,75,76,77,78,98].

In a multicentric study in 2007, Mosquera et al. [71] were the first to demonstrate that *TMPRSS2:ERG*, studied with a FISH break-apart probe, strongly correlated with IDC-P (82/87 positive cases) and CC (70/94 positive cases). Of all the morphologic features analyzed in the study, IDC-P had the strongest association with positive *TMPRSS2:ERG* fusion status (RR: 8.312, 95% CI: 2.835–24.371,  $p < 0.001$ ) [71]. Similarly, *ERG* rearrangement was identified in 75% of 48 IDC-P lesions, with 100% of concordance with adjacent carcinoma, while absent in all cases of isolated cribriform HGPIN (0/16 cases) [72]. Interestingly, most *ERG* rearrangements in IDC-P were through deletion, among which 6/36 cases showed duplication of *ERG* rearrangement in combination with deletion of 5'-*ERG*, previously associated with very poor prognosis [98]. Moreover, two cases with *ERG* rearrangement in IDC-P and lymph node metastases, showed that *ERG* status was the same in IDC-P and metastasis but discordant in another tumour foci without IDC-P [72].

It then took a few years before the first description of PTEN and *ERG* IHC expression in RPs by Lotan et al. in 2014 [66]. Cytoplasmic PTEN expression was lost in 84% (38/45) of IDC-P cases (29/38 showed uniform loss), 100% (15/15) of AIP lesions, but never in HGPIN (0/39). When PTEN was lost in IDC-P, at least a portion of the adjacent invasive carcinoma did not express PTEN in 92% of the cases. In parallel, *ERG* was expressed in 58% (26/45) of the IDC-P cases, 67% (10/15) of the AIPs and 13% (5/39) of the HGPIN lesions. The concordance levels were 100% between intraductal lesions and the adjacent invasive tumours, but not for HGPIN (of the *ERG*-positive invasive tumours, only 6% [1/11] were associated with *ERG*-positive HGPIN). Interestingly, PTEN was lost in 67% of *ERG*-positive tumours compared to 31% of *ERG*-negative tumours ( $p = 0.006$ ). In their subsequent biopsy study, similar proportions of expression were observed (PTEN loss in IDC-P: 76%, in AIP: 52%, in HGPIN: 0%; *ERG* expression in IDC-P: 58%, in AIP: 27%, in HGPIN: 0%) [67]. Lower expression of *ERG* was found in IDC-P by Schneider and Osunkoya who identified 35% (11/31) of *ERG*-positive IDC-P cases in a cohort including men who previously received androgen deprivation therapy [75], and by Nie et al. [76] who reported 10% of *ERG* positive cases in 633 consecutive cases.

In 2017, Shah et al. [68] compared the expression levels of *ERG* and PTEN in AIP and IDC-P in 106 prostate biopsies. They showed that *ERG* overexpression was present in 41% of AIP cases and

55% of IDC-P cases, while PTEN loss was observed in 71% and 72% of both lesions, respectively. In contrast, PTEN loss was observed in only 5% of HGPIN lesions and ERG was overexpressed in 16% of HGPIN foci. Concordance of ERG and PTEN expression was above 90% in IDC-P, AIP and adjacent invasive adenocarcinoma. Two years later, the same group evaluated predictors of PTEN loss and found that in their cohort of 260 PCa, IDC-P (HR: 4.993, 95% CI: 3.451–7.223), CC (HR: 2.459, 95% CI: 1.814–3.333) and stromogenic PCa (HR:2.255, 95% CI: 1.634–3.112) were the best predictors of PTEN loss (all  $p < 0.001$ ) [78]. Furthermore, Hickman et al. obtained 100% (46/46) concordance of ERG status between IDC-P/AIP and nearby invasive carcinoma vs. only 7% of HGPIN cases [69]. With PTEN loss in two third of the cases, the concordance between IDC-P and adjacent carcinoma was 81% [69]. PTEN loss has also been observed in almost 90% of 40 IDC-P cases compared to 0% of 40 HGPIN cases [77].

Downes et al. [74] further verified the concordance of ERG and PTEN expression patterns in IDC-P, CC and the adjacent invasive carcinoma in a cohort of 57 PCa cases with cribriform morphology. In this cohort, ERG IHC was concordant between IDC-P, CC and adjacent invasive carcinoma in 98% of the cases (56/57). As expected, in the 44 cases with PTEN loss, 75% had heterogeneous loss. From supplemental data, IDC-P and CC staining was concordant in 86% (either retention or loss) of cases; IDC-P and adjacent acinar carcinoma staining, or CC and adjacent acinar carcinoma staining were concordant in >95% of cases, including heterogeneous loss that was concordant with either retention or loss in the other tumour compartment.

Another concordance study by Haffner et al. [70] addressed the spatial localization of ERG and PTEN status in relationship to PCa. *TMPRSS2:ERG* breakpoints analysis of seven cases showed a common phylogeny between HGPIN, PCa and IDC-P (when present), while *PTEN* loss was subclonal. Therefore, it was suggested that IDC-P represents a late event in PCa.

#### *A1.4.2.2. Multimarker studies*

Beyond ERG rearrangements, Bettendorf et al. [73] showed in 2008 that IDC-P was a distinct histopathological lesion from HGPIN, as comparative genomic hybridisation (CGH) revealed chromosomal imbalances in 8/11 IDC-P cases and in 0/10 HGPIN cases, with deletions at 8p, 10q and 13q; however, invasive carcinoma was not studied.

In 2000, mutational studies were also conducted on 20 microdissected RPs to compare loss of heterozygosity (LOH) between HGPIN and IDC-P using 12 polymorphic satellite markers frequently lost in PCa, such as 8p22, 10q23–24 and 21q22.1–22.3 [79]. Briefly, LOH was more frequent in IDC-P (16%) than in Gleason pattern 4 (7%) and HGPIN (2.5%). Of note, when these results were published, CC was most likely evaluated as Gleason pattern 3 [99].

#### *A1.4.2.3. Novel diagnostic biomarker: raman microspectroscopy*

Raman spectroscopy (RS) is a nondestructive imaging technique in which the interaction between photons and tissue is measured based on different molecular bonds producing specific shifts in light wavelength [100]. Using a pen-size hand-held probe, RS can be used in real-time to detect brain tumours [101,102,103] or PCa on gross prostate slices [104] before integration to the da Vinci surgical robot [105]. Raman microspectroscopy ( $\mu$ RS) has also been used to differentiate prostatic cell lines and PCa from benign tissues (reviewed in [100]); however, the technique is too expensive and fastidious for clinical implementation and is meant to analyze frozen tissue, which is unavailable when clinically evaluating the histology of PCa. Accordingly, Grosset et al. [80] developed an economical  $\mu$ RS method that is performed on formalin-fixed paraffin embedded (FFPE) tissues according to standard histopathology protocols, which leads to a diagnosis within 90 min of slide preparation. Using this method, IDC-P was distinguished from invasive PCa with an accuracy, sensitivity and specificity of  $95 \pm 2\%$ ,  $96 \pm 4\%$ , and  $94 \pm 2\%$ , respectively in the training cohort. Furthermore, IDC-P could be distinguished from HGPIN with accuracies, sensitivities, and specificities of  $>95\%$ . Of note, optimization of the machine-learning algorithms improved the ability to differentiate IDC-P from cancer to up to 9% [106].

#### **A1.4.3. Cases with IDC-P compared to cases without IDC-P**

Another important area of IDC-P research is the comparison between cases with and without IDC-P (summarized in **Table A1–3**), especially since the aforementioned studies established (mostly with ERG and PTEN expression patterns) that IDC-P was similar to its adjacent invasive carcinoma. However, most of the large-scale genomic studies of PCa were conducted before IDC-P became clinically relevant, and as such, post hoc investigations had to be performed on available frozen sections to identify IDC-P. As the distinction between IDC-P and CC is already not necessarily

straightforward on FFPE slides, the low quality of the frozen sections in terms of morphology led most authors to investigate IDC-P and CC together. Furthermore, the study context in which tissues were submitted for sequencing did not permit IHC analysis to distinguish between IDC-P and CC. Therefore, most of our genomic knowledge about the distinction between cases with and without IDC-P are based on studies comparing cases with IDC-P/CC and cases without IDC-P/CC [54,107].

**Table A1–3.** Overview of the studies comparing cases with IDC-P alone or in combination to cases without IDC-P. For in silico studies, selected results are presented.

<b>N (cohort)</b>	<b>Specimen</b>	<b>IDC-P alone or with CC</b>	<b>Gene or alteration</b>	<b>Result</b>	<b>Ref</b>
266 (TCGA, SU2C/PCF Dream Team)	RP	IDC-P/CC vs. NC4	<i>PTEN</i> <sup>loss</sup>	39% vs. 25.5% p=0.024	[54]
			<i>SPOP</i> <sup>mut</sup>	17.1% vs. 2.9% p<0.001	
			<i>ATM</i> <sup>mut</sup>	7.3% vs 0.98% p=0.019	
			<i>EZH2</i> methylation	logFC= 0.48, q<0.001	
			<i>TIMP2</i> methylation	logFC= -0.34, q=0.01	
			<i>TIMP3</i> methylation	logFC= -0.52, q<0.001	
260 (TCGA)	RP	IDC-P/CC	Higher PGA: 779 gene deletions	q-value<0.1	[107]
			Higher PGA: 317 gene amplifications	q-value<0.1	
88 (TCGA)	RP	IDC-P/CC	<i>FOXA1</i> <sup>mut</sup>	15% vs. 5% p=0.007	[107]
			<i>TP53</i> <sup>mut</sup>	19% vs. 10% p=0.035	
			<i>SPOP</i> <sup>mut</sup>	19% vs. 10% p=0.035	
277	Bx	IDC-P (n = 31)	<i>MYC</i> amplification	uOR: 2.54 95% CI: 1.10–5.88 p=0.02	[108]
			<i>PTEN</i> loss	uOR: 5.01 95% CI: 2.26–11.47 p<0.0001	
			<i>MYC</i> amplification and <i>PTEN</i> loss	uOR: 13.33 95% CI: 3.85–49.67 p<0.0001	
91	RP	IDC-P/CC (n = 61)	<i>APC</i> methylation	Median PMR: 47.3% vs. 31.7% p=0.045	[109]
			<i>RASSF15</i> methylation	Median PMR: 99.2% vs. 69.5% p=0.003	
			<i>TBX15</i> methylation	Median PMR: 21.6% vs. 10.0% p=0.013	

<i>N</i> (cohort)	Specimen	IDC-P alone or with CC	Gene or alteration	Result	Ref
245	Liquid Bx	IDC-P	DDR pathway alterations	11.8% (19/161) vs. 2.4% (2/84) p=0.024	[110]
			HR pathway alterations	11.2% (18/161) vs. 2.4% (2/84) p=0.032	
			<i>NCOR2</i> alterations	21.1% (34/161) vs. 6.0% (5/84) p=0.004	
7	3 RP, 3 Bx, 1 RCP	IDC-P	<i>TTF-1</i> overexpression	100% (3/3)	[110]
1	Bx	IDC-P	<i>TTF-1</i> overexpression	100% (1/1)	[110]

Abbreviations: Bx: biopsy; CC: cribriform type pattern 4; CI: confidence interval, DDR: DNA-damage repair; FC: fold change; HR: homologous repair; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; NC4: non cribriform Gleason 4; PGA: percent genome altered; PMR: Percent methylation ratio; RCP: radical cystoprostatectomy; RP: radical prostatectomy; TCGA: The Cancer Genome Atlas Project; TTF-1: Thyroid transcription factor-1; uOR: univariate odds ratio

In 277 grade group 2 biopsies, Salles et al. [108] specifically showed that PTEN loss and MYC gain were associated with the presence of IDC-P at biopsy (OR: 13.33, 95% CI: 3.85–49.67,  $p < 0.0001$ ) and that CC was larger when both alterations were present. In this study, IDC-P, large CC (>200  $\mu\text{m}$ ), as well as combined MYC gain and PTEN loss, were associated with non-organ-confined disease at RP. However, in multivariate analysis, only MYC/PTEN status remained associated with non-organ-confined disease at RP. Similarly, only MYC/PTEN status increased the area under the curve (AUC) of a model predicting non-organ-confined disease using standard prognostic factors. In this cohort, IDC-P, large CC and PTEN loss were associated with shorter time to biochemical recurrence.

In an in silico study, Böttcher et al. [107] showed that the percentage of genome alterations in PCa from men included in The Cancer Genome Atlas Project (TCGA) and in the Canadian Prostate Cancer Genome Network (CPC-GENE) was three-fold higher in men with IDC-P/CC, and included deletions and amplifications in regions previously associated with aggressive PCa, such as 8p deletions (NKX3.1), 10q23 deletions (PTEN) and 8q amplifications (MYC).

In a similar in silico study, Elfandy et al. [54] assessed the alterations associated with IDC-P/CC compared to non-CC Gleason pattern 4 in the TCGA and SU2C/PCF Dream Team cohorts. IDC-P/CC remained significantly associated with deletions at 8p21–22, 6q21, 11q22–23 and 10q23 and gains at 3q11–29 while controlling for percentage of genome alterations and Gleason score.

*PTEN* loss was significantly enriched in IDC-P/CC (OR: 1.87, 95% CI: 1.09–3.26,  $p = 0.024$ ). *SPOP* and *ATM* mutations were significantly more frequent in IDC-P/CC than in non-CC Gleason pattern 4, but the frequency of *ERG* fusions was not different between the two groups. Moreover, gene expression profiles of IDC-P/CC showed upregulation of the *mTORC1* and *MYC* pathways and hypermethylation in *CYP26A1*.

Additionally, Olkhov-Mitsel et al. [109] investigated the methylation profile of *ALU*, *APC*, *CYP26A1*, *HOXD3*, *HOXD8*, *RASSF1*, *TBX15*, *TGF- $\beta$*  in IDC-P/CC lesions from 91 Gleason score 7 PCa and found an increase in the methylation levels of *APC*, *RASSF15* and *TBX15* in IDC-P/CC.

Lastly, patients with IDC-P have also been characterized for genomic alterations in a study using liquid biopsies targeting PCa-related genes in a cohort of 245 men with M0 disease, metastatic hormone-sensitive PCa and CRPC [110]. Zhao et al. showed that despite similar mutational rates in the *AR* pathway between men with and without IDC-P, the IDC-P group showed enrichment of alterations of the *AR* negative regulator *NCOR2*. Furthermore, cases with a higher amount of IDC-P harboured more *AR* mutations.

Anecdotally, IDC-P has been shown to sometimes harbour small cell-like changes, which can be shown by expression of thyroid transcription factor (TTF-1) in IDC-P [111,112].

#### **A1.4.4. IDC-P and deleterious germline and somatic alterations of DNA-damage repair genes**

Since germline mutations of the *BRCA2* tumour suppressor gene significantly increase the likelihood of developing aggressive PCa [113,114,115,116], many researchers have investigated the link between IDC-P and deleterious germline mutations (**Table A1–4**). With the emergence of targeted therapies for men with alterations in DDR genes, histology can help preselect patients who are more likely to benefit from these treatments [117,118,119]. According to the following studies, the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) PCa guidelines include IDC-P as an indication to search for mutations in DDR genes [120].

**Table A1–4.** Overview of the studies associating IDC-P to deleterious germline and somatic alterations of DNA-damage repair genes.

Specimen	Method	Alteration	Result	Ref
PDX	Histology review	IDC-P in <i>BRCA2<sup>mut</sup></i> and BRCAX grafts vs sporadic PCa	61% (27/44) vs. 8% (5/62) p=0.04	[121]
RP	Microdissection and WGS	In <i>BRCA<sup>mut</sup></i> cases <i>MED12L/MED12</i> amplification in IDC-P+ vs -	75% (6/8) vs. 17% (1/6)	[122]
Saliva	NGS	% of IDC-P in cases with and without germline mutations of DDR genes	24% (5/21) vs. 9% (12/129) p=0.06	[123]
Saliva	NGS	% of IDC-P in cases with germline mutations of MMR genes	23% (3/13 IDC-P+)	[124]
6 Bx, 6 RP, 1 LN (IDC-P=3)	NGS	<i>MSH6</i> germline mutation in IDC-P cases	1/3	[124]
		<i>MSH6</i> somatic mutations in IDC-P cases	1/3	
		<i>TP53</i> somatic mutations in IDC-P cases	1/3	
		<i>MSH2</i> somatic mutation + LOH in IDC-P cases	1/3	
		<i>MSH6</i> somatic mutation + LOH in IDC-P cases	1/3	
135 RP, 39 Bx (IDC-P=79)	FISH	Bi-allelic <i>BRCA2</i> loss ( <i>LOH+gBRCA2</i> or <i>bi-allelicDel</i> )	mOR: 4.3 95% CI: 1.1-16.2 p=0.031	[125]
		<i>PTEN</i> homozygous loss	mOR: 5.2 95% CI: 2.1-13.1 p<0.001	

Abbreviations: BRCAX: familial history of prostate cancer without identified *BRCA2* mutations; Bx: biopsy; CI: confidence interval; DDR: DNA-damage repair; Del: deletion; FISH: fluorescence in situ hybridization; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; LN: lymph node; LOH: loss of heterozygosity; MMR: mismatch repair; mOR: multivariate odds ratio; NGS: next-generation sequencing; PCa: prostate cancer; PDX: patient-derived xenograft; RP: radical prostatectomy; WGS: whole-genome sequencing

The link between IDC-P and *BRCA2* mutations was first established in 2014 by Risbridger et al. [121]. In their study, they observed high incidence of IDC-P (61%) in 44 patient-derived xenografts (PDXs) from three *BRCA2* carriers, and from one man with a familial history of cancer but without identified *BRCA* mutation (BRCAX), compared to the incidence of IDC-P (8%) in 62 PDXs derived from 12 men with sporadic PCa. Following this observation, they evaluated PCa specimens from 33 *BRCA2* carriers, 62 BRCAX cases and 32 sporadic PCa cases. In this cohort, the incidence of IDC-P was significantly higher in *BRCA2* carriers (42%) compared with sporadic PCa cases (3/32, 9%) ( $p = 0.004$ ). While 26% of BRCAX patients exhibited IDC-P, the incidence was not statistically significant compared with sporadic PCa cases. In men of the *BRCA* and BRCAX groups, the presence of IDC-P was associated with shorter overall survival (HR: 16.9,  $p = 0.0064$  and HR: 3.57,  $p = 0.0086$ , respectively), without any difference between men with IDC-P from the two groups ( $p = 0.35$ ). Of note, because of the low numbers, the effect of IDC-P in men with sporadic PCa could not be compared to the effect of IDC-P in men with *BRCA2*/BRCAX profiles.



In 2017, Taylor et al. [122] associated IDC-P with CNAs portending poor prognosis, such as *BCL6* gain or *MTOR* loss in men with PCa associated with a germline *BRCA2* mutation. In this study, IDC-P and adjacent invasive carcinoma phylogenies were also evaluated in four carriers of germline *BRCA2* mutations and six sporadic PCa. In both groups, IDC-P and the adjacent invasive carcinoma arose from the same clone, leaving no information about the original tumour focus, and *MYC* amplifications were found with high frequencies. However, in the sporadic group, these *MYC* amplifications were present in both tumour compartments in only one case. Furthermore, in the same study, 14 men carrying a deleterious germline mutant *BRCA2* allele were compared to 200 age-matched men with localized PCa to investigate the genomic alterations underlying the aggressiveness of *BRCA2*-mutated PCa. Potential identified drivers of aggressiveness included an amplification of a region of chromosome 3q containing the WNT/ $\beta$ -catenin pathway modulator *MED12L* and an amplification of *MED*, the *MED12L* homolog. These were found in 66% and 44% of the *BRCA2*-mutated cases, respectively. Interestingly, *MED12L/MED12* amplification in PCa, already associated with poor outcomes [126,127], was observed more frequently in IDC-P (75% vs. 17%), and these mutations were not enriched in sporadic tumours with IDC-P [122].

The association between IDC-P and DDR genes has been further investigated in a series of 150 consecutive patients with metastatic or recurrent PCa [123]. IDC-P tended to be more prevalent in men with germline DDR gene alterations compared to men without alterations (24% (5/21) vs. 9% (12/129),  $p = 0.06$ ). The same group then performed an exploratory study and found that from 13 men with pathogenic mismatch-repair (MMR) gene mutations (10 from somatic screening, three from germline screening), three had ductal or IDC-P histologies (23%) compared to 14 out of 114 MMR-proficient men (12%) ( $p = 0.38$ , Fisher's exact test) [124].

In a further study of 58 men who were carriers of a germline *BRCA2* mutation matched with 116 non-carriers [125], Lozano et al. observed that the presence of IDC-P features was similar between carriers and non-carriers (36% vs. 50%,  $p = 0.085$ ). However, bi-allelic mutations, or somatic plus germline mutations were found at higher frequencies in men with IDC-P (43% vs. 12%,  $p < 0.001$ ), with similar proportions for men with CC. Of note, in this study, *PTEN* homozygous loss was more prevalent in IDC-P than in CC [125].

Lastly, in the previously mentioned cohort from Zhao et al. that included men with M0 disease, metastatic hormone-sensitive PCa and CRPC [110], patients with and without IDC-P shared a similar germline mutation rate as evaluated by liquid biopsy. However, patients with IDC-P had more frequent germline pathogenic alterations in DDR genes (12% vs. 2%,  $p = 0.024$ ) and homologous recombination genes (11% vs. 2%,  $p = 0.032$ ). Interestingly, the frequencies of DDR mutations increased as PCa without IDC-P progressed from M0 disease to CRPC, but was consistently high in men with IDC-P. All *BRCA2* mutations were identified in men with IDC-P.

#### A1.4.5. IDC-P and its impact on prostate cancer outcome

Besides the above-mentioned study by Risbringer et al. [121], few groups have addressed the molecular features underlying the aggressivity of IDC-P [30,128,129,130] (Table A1–5). Increasing our knowledge in this field will be central to the development of new therapies for men with IDC-P.

**Table A1–5.** Overview of the studies evaluating the impact of the molecular characteristics of IDC-P alone or in combination on prostate cancer outcome in radical prostatectomies.

<i>N</i>	IDC-P alone or with CC	Method	Measure	Result	Ref
476	IDC-P/CC	CNA analysis	PGA	34% vs. 16% $p=0.033$	
156	IDC-P/CC	Microarray analysis	<i>SCHLAP1</i> expression	FC 3.23 $p<0.001$	[30]
393	IDC-P/CC	RNA-ISH	Detection of IDC-P/CC using <i>SCHLAP1</i> expression	Accuracy: 82.4% $p<0.001$	
318	IDC-P/CC	SNP microarray	PGA	$p<0.0001$	[128]
333 (TCGA) and 215 (CPC-GENE)	IDC-P/CC	Ragnum signature	Hypoxia	$p<0.0001$	
144	IDC-P/CC	Total RNA-seq	<i>SCHLAP1:UBE2E3</i> fusion	FDR:0.0015	[131]
163	IDC-P	IHC	PTEN protein loss	86% (30/35)	[132]
	IDC-P/CC	IHC	BCR cumulative incidence	mHR: 5.06, 95%CI: 2.21-11.6 $p<0.001$	

Abbreviations: CC: cribriform type pattern 4; CI: confidence interval; CNA: copy number alteration; CPC-GENE: Canadian Prostate Cancer Genome-Network; FC: fold change; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; IHC: immunohistochemistry; mHR: multivariate hazard ratio; PGA: percent genome altered; RNA-ISH: RNA in situ hybridization; RP: radical prostatectomy; TCGA: The Cancer Genome Atlas Project

In 2017, Chua et al. [30] evaluated whether IDC-P/CC was associated with hypoxia and genomic instability. In addition to demonstrating an increased risk of metastasis in men with IDC-P/CC (see above), Chua et al. showed that IDC-P/CC tumours harboured a higher percentage of genome alterations (34% vs. 16%,  $p = 0.033$ ), with a nonsignificant increase in the hypoxic tumour subpopulation (64% vs. 45%,  $p = 0.17$ ). In a subsequent study by the same group, a hypoxia signature was significantly associated with IDC-P/CC [128]. Furthermore, Chua et al. [30] showed that men with IDC-P/CC and a high percentage of genome alteration were more likely to develop distant metastasis (HR: 5.5, 95% CI: 2.5–12.2,  $p < 0.0001$ ). Importantly, only one gene was found to be overexpressed in IDC-P/CC-positive tumours: *SChLAP1*, a long non-coding RNA associated with poor outcome in PCa [131,132]. In this cohort [30], men with *SChLAP1* overexpression and IDC-P/CC experienced earlier biochemical recurrence compared to men without IDC-P/CC and without *SChLAP1* overexpression (HR: 2.6, 95% CI: 1.4–4.7,  $p = 0.0027$ ). In a subsequent study, SCHLAP1:UBE2E3 fusion was highly associated with IDC-P/CC and was found to be enriched in metastases [129].

Very recently, Spieker et al. [130] identified PTEN loss in 86% of IDC-P cases (30/35 RPs) and in 64% of CC lesions (72/112 RPs). In this study, CC was associated with shorter time to biochemical recurrence (multivariate HR: 3.50, 95% CI: 1.89–6.49,  $p < 0.001$ ) but not IDC-P alone. However, combining both was associated with a higher cumulative incidence of biochemical recurrence (multivariate HR: 5.06, 95% CI: 2.21–11.6,  $p < 0.001$ ).

#### **A1.4.6. Commercial classification assays**

An important last question that has been only recently addressed is the association between IDC-P and commercial risk-classification assays (**Table A1–6**). We believe this question will become increasingly relevant to the care of men with PCa.

**Table A1–6.** Overview of the studies evaluating the association between IDC-P and commercial risk-stratification assays

<b>N</b>	<b>Specimen</b>	<b>IDC-P alone or with CC</b>	<b>Measure</b>	<b>Result</b>	<b>Ref</b>
319	Bx	IDC-P/CC	Increase in GPS	No Gleason pattern 4: mean GPS=22.3; IDC-P/CC: mean GPS=41.8 p<0.001	[133]
48	RP	IDC-P/CC	% of cases with high-risk Decipher score	56% vs. 22% p=0.007	[134]
		IDC-P	Increase in Decipher score	OR: 1.92, 95% CI: 0.65–5.67, p=0.24	

Abbreviations: CC: cribriform carcinoma; CI: confidence interval; GPS: Oncotype Dx Genomic Prostate Score®; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; OR: Odds ratio

The Oncotype DX Genomic Prostate Score (GPS) assay uses biopsy samples to provide a score ranging from 0 to 100 for men with PCa, to predict the probability of adverse pathology at RP, biochemical recurrence at 3 years and metastasis and PCa-related death at 10 years [135,136,137,138]. In their study including 296 men with a total of 319 prostate biopsies, Greenland et al. [133] showed that among different Gleason pattern 4 tumours, the IDC-P/CC pattern was associated with the highest increase in the GPS, with a mean GPS of 42. Of note, three authors of this study, including the senior author, reported financial interest and/or a relationship with Genomic Health (provider of the Oncotype DX platform).

The Decipher Prostate Cancer Test (GenomeDX Biosciences) is a 22 gene-expression assay that produces a continuous score between 0 and 1 to predict the outcomes of PCa patients at initial prostate biopsy [139,140] and for those who undergo RP [141,142]. This risk stratification method predicts the likelihood of developing metastasis within 5 or 10 years [142,143,144,145,146,147,148,149,150,151,152] and cancer-specific mortality [146,153], thus impacting physician-patient decision making and subsequent patient management [154,155,156,157,158,159]. In a study of 48 men who underwent RP and lymph node dissection for PCa, the Decipher test was used in cases with pT3 disease and/or positive surgical margins and showed that both the presence of IDC-P and CC (OR: 1.92, 95% CI: 0.65–5.67,  $p = 0.24$  and OR: 9.60, 95% CI: 1.48–62.16,  $p = 0.02$ , respectively) increased the Decipher risk classification, although the increase associated with IDC-P was not statistically significant ( $n = 15$ ) [134].

## **A1.5. Conclusions**

From the reviewed data, IDC-P is clearly an important factor in the survival of men with PCa and seems to have important effects on response to standard treatments. However, as data about IDC-P are still emerging, organizations have proposed different criteria to diagnose IDC-P in histopathological specimens [160]. The ISUP suggests including IDC-P in the tumour grade with CC [161], whereas the Genitourinary Pathology Society (GUPS) recommends including IDC-P in the tumour volume estimation but excluding it from the tumour grade [10]. While this review was not meant to evaluate grading issues associated with IDC-P, the controversy surrounding the diagnosis of IDC-P highlights the need for more research to characterize the prognostic effect of IDC-P.

Although our molecular knowledge about IDC-P has advanced in recent years, most of it has come from studies that evaluated ERG and PTEN status of IDC-P or from post hoc histological reviews of PCa in large sequencing studies that evaluated the characteristics of IDC-P/CC together. Since its initial description in 1985 by Kovi et al. [7], the research questions that need to be addressed about IDC-P are still numerous and of high clinical relevance.

## **A1.6. Authorship, acknowledgements and disclosure**

### **A1.6.1. Author contributions**

Conceptualization, and D.T. and A.-A.G.; writing—original draft preparation, H.P., M.-K.D., A.-A.G., F.R.-G., A.A.-S., T.B.; writing—review and editing, D.T., M.-K.D., H.P. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

### **A1.6.2. Acknowledgments**

D.T. receives salary support from the FRQS (Clinical Research Scholar, Junior 2) and received salary support from Prostate Cancer Canada (Movember Rising Star Award). A.-A.G. was supported by Élévation Mitacs and the FRQS. H.P. receives salary support from the Université de Montréal. M.-K.D. receives salary support from the Université de Montréal and the Institut du cancer de Montréal and received salary support from Mitacs. F.R.-G. received salary support from the

Institut du cancer de Montréal. A.A.-S. received salary support from the Institut du cancer de Montréal and Mitacs.

All the authors thank Farouk Benadada for the design of Figure 2 and Jacqueline Chung for editing the manuscript.

### **A1.6.3. Conflicts of interest**

The authors declare no conflict of interest.

## A1.7. Supplementary tables

**Supplemental Table 1A.** IDC-P predicts the presence of lymph node metastasis at diagnosis.

First author, reference	Year	N	Specimen type	IDC-P alone or in combination	% of IDC-P in the cohort	Univariate vs multivariate testing	Risk of lymph node metastasis
O'Brien C. [19]	2010	50	50 RP 22 Bx	IDC-P	20% (10/50) RP 0% (0/22) Bx	Multivariate	OR 4.6, 95% CI: 1.5-14.2, p=0.007
Xu N. [20]	2020	316	RP	IDC-P		Univariate	22.89% ( $\pm 6.76$ ) vs. 20.73% ( $\pm 6.56$ ), p=0.043
Kryvenko O.N. [21]	2013	368	RP	IDC-P	32% (116/368)	Univariate	42% (78/184) vs. 21% (38/184), p<0.001
Downes M.R. [22]	2019	110	104 RP 6 CP	IDC-P/CC	IDC-P: 65% (71/110) CC: 75% (83/110)	NA	94% (103/110)
Downes M.R. [23]	2021	543	RP	IDC-P/CC	60% (203/340) RP	Univariate	OR: 14.06, 95% CI: 3.32-59.5, p=0.003
Downes M.R. [23]	2021	543	RP	IDC-P/CC	60% (203/340) RP	Multivariate	OR: 5.12, 95% CI: 1.37-19.2, p=0.015
Downes M.R. [23]	2021	275	Bx	IDC-P/CC	10% (20/197) Bx	Univariate	OR: 3.29, 95% CI: 1.28-8.42, p=0.013
Downes M.R. [23]	2021	275	Bx	IDC-P/CC	10% (20/197) Bx	Multivariate	OR: 4.42, 95% CI: 1.29-15.14, p=0.018
Lindberg J. [24]	2015	1	RP	IDC-P	100% (1/1)	NA	IDC-P/metastasis share 83% break-point regions
Dinerman B.F. [25]	2017	159,777 (SEER)	RP	IDC-P	0.002% (242/159,777)	Univariate	5.8% (14/242) vs. 2.4% (3,779/159,535), p<0.001
Holleman E. [53]	2019	420	RP	IDC-P/CC vs. CC	IDC-P/CC: n=79 CC : n=125 IDC-P : n=24	Univariate	11.4% vs. 1.6%, p=0.003
Holleman E. [53]	2019	420	RP	IDC-P/CC vs. IDC-P	IDC-P/CC: n=79 CC : n=125 IDC-P : n=24	Univariate	p=0.32
Kimura K. [31]	2014	206	RP	IDC-P	50.5% (104/206)	Univariate	24% (25/104) vs. 5% (5/102), p<0.0001

Abbreviations: Bx: biopsy; CI: confidence interval; CC: cribriform carcinoma; CP: cystoprostatectomy; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; OR: odds ratio; RP: radical prostatectomy; SEER: Surveillance, Epidemiology and End Results Program.

**Supplemental Table 1B.** *IDC-P predicts the occurrence of distant metastasis. Italicized lines for studies including the same men, or subgroup of the main cohort.*

First author, reference	Year	N	Specimen type	IDC-P alone or in combination	% of IDC-P in the cohort	Endpoint	Univariate vs multivariate testing	Other factors	Result
Trinh V.Q. [26]	2018	85	RP	IDC-P	76.5% (65/85)	Distant metastasis at initial recurrence	Multivariate	Age, PSA, % of prostate involved, GG, LVI, positive margins, extraprostatic extension, SVI, and nodal metastasis	OR: 6.27, 95% CI: 1.43–27.6, p=0.015
Kimura K. [31]	2014	206	RP	IDC-P	50.5% (104/206)	PFS (time from RP to local or distant metastases)	Multivariate	Age, clinical T stage, PSA, Bx GS, neoadjuvant and/or adjuvant hormone therapy	HR: 3.07, 95% CI: 1.44–6.58, p=0.0038
Tom M.C. [27]	2019	237 GS7	Bx	IDC-P	13% (30/237)	Distant metastasis-free survival	Multivariate	GG 3, high risk group, 50% or more positive biopsy cores, NCCN risk group, race, PSA, ADT	HR: 4.18, 95% CI 1.43–12.28, p=0.01
Van der Kwast T. [28]	2012	Cohort 1: 118 Cohort 2: 135	1: Bx 2: 95 Bx, 45 TURP	IDC-P	1: 19% (23/118) 2: 22% (30/135)	Clinical PFS	Univariate	–	2: RT + LTAD arm HR: 2.83, 95% CI: 1.16–6.92, p=0.018
Van der Kwast T. [28]	2012	Cohort 1: 118 Cohort 2: 135	1: Bx 2: 95 Bx, 45 TURP	IDC-P	1: 19% (23/118) 2: 22% (30/135)	Clinical PFS	Multivariate	GS	2: RT arm HR: 2.33, 95% CI: 1.14–4.76, p=0.02
Kweldam C.F. [29]	2015	161 GS7	RP	IDC-P	41% (66/161)	Distant metastasis	Univariate	–	HR:2.5, 95% CI: 1.2–4.7, p=0.007
Chua M.L.K. [30]	2017	805	RP	IDC-P/CC	20% (165/805)	Distant metastasis	Univariate	–	p<0.0001
Chua M.L.K. [30]	2017	805	RP	IDC-P/CC	20% (165/805)	Distant metastasis	Multivariate	Clinical T stage, ISUP grade, PSA	HR: 3.31, 95% CI: 1.76–6.21, p<0.001



Hansum T. [32]	2019	1064	RP	IDC-P/CC	53.4% (568/1064)	Metastasis-free survival	Multivariate	PSA, pathologic T stage, GG, margin status, pelvic LN status, single cell/cords, small solid nests, medium to large solid fields, comedonecrosis	HR: 9.9, 95% CI: 3.9–25.5, p<0.001
Hollemans E. [33]	2021	140 GS8	RP	IDC-P/CC	62% (82/140)	Metastasis-free survival	Univariate	–	HR: 6.7, 95% CI: 2.0-21.9), p=0.002
Hollemans E. [33]	2021	140 GS8	RP	IDC-P/CC	62% (82/140)	Metastasis-free survival	Multivariate	Age, PSA, pathologic T stage, GG, margin status, pelvic LN status	HR: 3.5, 95% CI: 1.0-12.3), p=0.05
Hollemans E. [34]	2020	835 GG1-2	RP	IDC-P/CC	27% (228/835)	Distant metastasis	NA	–	6% (13/228) GG2 IDC-P/CC vs 0% (0/399) GG1-2 without IDC-P/CC
Hollemans E. [34]	2020	835 GG1-2	RP	IDC-P/CC	36% (228/627)	LN or distant metastasis	NA	–	10% (22/228) GG2 IDC-P/CC vs 0% (0/399) GG1-2 without IDC-P/CC
Velho P.I. [35]	2019	60 GG5	RP	IDC-P/ductal	15% (9/60)	Metastasis-free survival	Univariate	–	HR: 3.15, 95% CI: 1.3-7.6, p=0.011
Velho P.I. [35]	2019	60 GG5	RP	IDC-P/ductal	15% (9/60)	Metastasis-free survival	Multivariate	Age, PSA, SVI	HR: 3.78, 95% CI: 1.51-9.45, p=0.004

Abbreviations: ADT: androgen deprivation therapy; Bx: biopsy; CI: confidence interval; CC: cribriform carcinoma; GG; grade group; GS: Gleason score; HR: hazard ratio; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; LN: lymph node; LTAD: long-term androgen deprivation; LVI: lymphovascular invasion; OR: odds ratio; PFS: progression-free survival; NCCN: National Comprehensive Cancer Network®; PSA: prostate specific antigen; RP: radical prostatectomy; RT: radiotherapy; SVI: seminal vesicle invasion; TURP: transurethral resection of the prostate

**Supplemental Table 1C. IDC-P predicts poor prognosis in men with metastatic PCa.**

First author, reference	Year	N	Specimen type	IDC-P alone or in combination	% of IDC-P in the cohort	Endpoint	Univariate vs multivariate testing	Other factors	Results
Chen Z. [17]	2015	45	Bx	IDC-P	62.5% (28/45)	PSA doubling time < 30 days	Univariate	–	46.4% (13/28) vs. 5.9% (1/17), p=0.004
Zhao T. [37]	2017	131	Bx	IDC-P	47.3% (62/131)	PSA doubling time < 30 days	Univariate	–	37.1% (23/62) vs. 18.8% (13/69), p=0.019
Chen Z. [17]	2015	45	Bx	IDC-P	62.5% (28/45)	PSA Progression	Univariate	–	331.4 ± 18.9 vs. 65.8 ± 7.6, p=0.009
Zhao T. [36]	2015	278	Bx	IDC-P	20.5% (57/278)	CRPC-free survival	Univariate	–	46.05 ± 1.39 vs. 22.98 ± 1.80 mo, p<0.001
Zhao T. [36]	2015	278	Bx	IDC-P	20.5% (57/278)	CRPC-free survival	Multivariate	GS, ALP, Hg, PSA	46.05 ± 1.39 vs. 22.98 ± 1.80 mo, HR = 4.886, 95% CI: 1.444–16.555, p=0.011
Zhao J. [38]	2019	644	Bx	IDC-P	28.0% (180/644)	CRPC-free survival	Multivariate	GS, ECOG score, ALP, LDH, Hg, IDC-P proportion, IDC-P pattern, IDC-P based risk group	HR: 1.63, 95% CI 1.24–2.14, p<0.001
Zhao J. [38]	2019	644	Bx	>10% IDC-P (tumour content)	12.6% (81/644)	CRPC-free survival	Multivariate	GS, ECOG score, ALP, LDH, Hg, IDC-P pattern, IDC-P based risk group	HR: 2.11, 95% CI: 1.52–2.93, p<0.001
Zhao J. [39]	2018	314 (training cohort)	Bx	IDC-P	27.1% (85/314)	CRPC-free survival	Multivariate	Age, GS, ECOG score, PSA, Hg, ALP	HR: 1.82, 95% CI: 1.35–2.44, p<0.001
Abascal-Junquera J.M. [18]	2021	118	Bx	IDC-P	31.4% (37/118)	CRPC-free survival	Univariate	–	24.7 mo (IQR 16.7–32.7) vs. 10.2 mo (IQR 4.2–16.2), p=0.007
Abascal-Junquera J.M. [18]	2021	118	Bx	IDC-P	31.4% (37/118)	Time to second-line therapy	Univariate	–	6.2 mo (IQR 3.2–9.2) vs. 10.6 mo (IQR 5.6–15.6), p=0.05

Abbreviations: ALP: alkaline phosphatase; Bx: biopsy; CFS: castrate-resistant prostate cancer-free survival; CI: confidence interval; CRPC: castrate-resistant prostate cancer; ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; GS: Gleason score; Hg: Hemoglobin; HR: hazard ratio; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; LDH: lactate dehydrogenase; mo: months; PSA: prostate specific antigen; RP: radical prostatectomy; TURP: transurethral resection of the prostate

**Supplemental Table 1D. IDC-P predicts death from prostate cancer.**

First author, reference	Year	N	Specimen type	IDC-P alone or in combination	% of IDC-P in the cohort	Univariate vs multivariate testing	Other factors	Results
<i>Overall survival</i>								
Kimura K. [31]	2014	206	RP	IDC-P	50.5% (104/206)	Univariate	–	p<0.0001
Zhao T. [36]	2015	278	Bx	IDC-P	20.5% (57/278)	Multivariate	GS, ALP, Hg, PSA	50.38 ± 1.18 mo vs. 36.43 ± 2.10 mo, HR = 1.945, 95% CI: 1.111–3.407, p=0.020
Abascal-Junquera J.M. [18]	2021	118	Bx	IDC-P	31.4% (37/118)	Univariate	–	38 mo (CI 95% 19.9–48.06) vs. 57.9 mo (CI 95% 56.4–59.5), p=0.001
Porter L.H. [16]	2018	38	Bx, RP, TURP	IDC-P	63% (24/38)	Multivariate	Age	3.2 years vs 1.8 years, HR: 0.75, p=0.47
Zhao T. [37]	2017	131	Bx	IDC-P	47.3% (62/131)	Multivariate	CFS, GS, therapeutic scheme, ECOG score, ALP, LDH	HR: 1.91, 95% CI 1.11–3.29, p=0.020
Zhao J. [38]	2019	644	Bx	IDC-P	28.0% (180/644)	Multivariate	GS, ECOG score, ALP, LDH, Hg, IDC-P pattern, IDC-P based risk group	HR: 1.80, 95% CI 1.14–2.82, p=0.011
Zhao J. [38]	2019	644	Bx	>10% IDC-P (tumour content)	12.6% (81/644)	Multivariate	GS, ECOG score, ALP, LDH, Hg, IDC-P pattern, IDC-P based risk group	HR: 2.31, 95% CI: 1.38–3.87, p=0.002
Zhao J. [39]	2018	314 (training cohort)	Bx	IDC-P	27.1% (85/314)	Multivariate	Age, GS, ECOG score, PSA, Hg, ALP	HR: 1.61, 95% CI: 1.09–2.40, p=0.017
Kato M. [40]	2016	150	Bx	IDC-P	67% (100/150)	Multivariate	PSA, cT stage, GS, visceral metastasis, Gleason pattern 5, performance status, pain, Hg, ALP	HR: 2.66, 95% CI: 1.47–4.79, p=0.0012
<i>Disease-specific survival</i>								
Elfandy H. [54]	2019	818 (HPFD/PHS cohorts)	RP	IDC-P/CC vs. NC4	27% (218/818)	N/A	–	IDC-P/CC: 19.7% (43/218) lethal cases, non-CC Gleason 4 pattern: 7.7% (46/600) lethal cases
Elfandy H. [54]	2019	818 (HPFD/PHS cohorts)	RP	IDC-P/CC vs. NC4	27% (218/818)	Multivariate	GS	HR: 1.62; 95% CI: 1.05–2.49
Elfandy H. [54]	2019	818 (HPFD/PHS cohorts)	RP	IDC-P/CC vs. NC4	27% (218/818)	Multivariate	GS, age, BMI	HR: 1.67; 95% CI: 1.08–2.59
Elfandy H. [54]	2019	818 (HPFD/PHS cohorts)	RP	IDC-P/CC vs. NC4	27% (218/818)	Multivariate	GS, age, BMI, cTNM	HR: 1.45; 95% CI: 0.92–2.27

Kato M. [42]	2018	204	Bx	IDC-P	36% (74/204)	Univariate	–	5-year: 23.9% vs. 3.2% 10-year: 33.7% vs. 9.0% 15-year: 52.7% vs. 23.7%, p<0.0001
Kato M. [42]	2018	204	Bx	IDC-P	36% (74/204)	Univariate	–	HR: 2.624, 95% CI: 1.117-6.164, p=0.0268
Saeter T. [43]	2017	283	Bx	IDC-P	35% (98/283)	Multivariate	PSA, clinical T stage, curative treatment	HR: 2.6, 95% CI: 1.5–4.3, p=0.001
Saeter T. [43]	2017	283	Bx	IDC-P	35% (98/283)	Multivariate	PSA, clinical T stage, curative treatment, and GG	HR: 1.7, 95% CI: 0.9–2.9, p=0.07
Dinerman B.F. [25]	2017	159,777 (SEER)	RP	IDC-P	0.002% (242/159,777)	Multivariate	Pathologic T stage, GS, LN status	HR:3.0, 95% CI:1.5-5.7, p<0.01
Kimura K. [31]	2014	206	RP	IDC-P	50.5% (104/206)	Multivariate	Age, clinical T stage, PSA, Bx GS, neoadjuvant and/or adjuvant hormone therapy	HR: 4.48, 95% CI:1.22-16.41, p=0.0238
Tom M.C. [27]	2019	237	Bx	IDC-P	13% (30/237)	Multivariate	GG 3, high risk group, ≥50% positive Bx cores, NCCN risk group, race, PSA, ADT	HR: 14.26, 95% CI 2.75–74.04, p=0.0016
Kweldam C.F. [29]	2015	161 GS7	RP	IDC-P	41% (66/161)	Univariate	–	HR:2.3, 95% CI: 1.1–4.7, p=0.028
Kweldam C.F. [29]	2015	161 GS7	RP	IDC-P	41% (66/161)	Multivariate	Age, PSA, GS, pathologic T stage, surgical margin, positive LN, Gleason 4 patterns, tertiary Gleason 5	HR: 1.0, 95% CI: 0.40–2.7, p=0.93
Kato M. [40]	2016	150	Bx	IDC-P	67% (100/150)	Univariate	–	HR: 2.13, 95% CI: 1.14–3.99, p=0.0181
Alberts A.R.[55]		24 cGS ≤6 men reclassified to the ISUP 2014 mGS 3+4=7	Bx	IDC- P/CC	29.2% (7/24)	NA	–	IDC-P/CC: 63% (5/8) of GG 2 fatal PCas had IDC-P/CC vs. 13% (2/16) of non-fatal GG 2 PCas

Abbreviations: ADT: androgen deprivation therapy; ALP: alkaline phosphatase; BMI: body mass index; Bx: biopsy; CFS: castrate-resistant prostate cancer-free survival; cGS: classical Gleason Score; CI: confidence interval; CRPC: castrate-resistant prostate cancer; ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group; GG: grade group; GS: Gleason score; Hg: Hemoglobin; HPFS: Health Professionals Follow-up Study; HR: hazard ratio; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; LDH: lactate dehydrogenase; NCCN: National Comprehensive Cancer Network®; mGS: modified Gleason Score; NC4: non-cribriform Gleason 4; mo: months; PHS: Physicians' Health Study; PSA: prostate specific antigen; RP: radical prostatectomy; SEER: Surveillance, Epidemiology and End Results Program, TURP: transurethral resection of the prostate

**Supplemental Table 2.** Treatment response in men with IDC-P alone or in combination with CC

First author	Year	# of patients	Treatment group	IDC-P alone or in combination	% of positivity	Endpoint	Univariate or multivariate	Other factors	Risk measure
<i>Response to neoadjuvant chemotherapy, androgen-deprivation therapy or androgen receptor axis-targeted therapy</i>									
Efstathiou E. [50]	2010	115	Neoadj ADT±CHT	IDC-P/CC at RP	72% (83/115)	BCR	Multivariate	Margin status, treatment group	If IDC-P+, RR: 2.98, standard error: 0.46, p=0.02
O'Brien C [19]	2010	50	Neoadj CHT	IDC-P at RP	20% (10/50)	BCR	Multivariate	Bx GS, cT stage; PSA	HR: 2.6, 95%CI 1.5-4.3, p<0.001
Kato M [51]	2020	145	Neoadj ADT	IDC-P at Bx and RP (+/+) vs (Bx-/RP± or Bx+/RP-)	26.2% (38/145)	Overall survival	Multivariate	GS, Gleason pattern 5, n of + core at Bx, tumour volume at Bx, cT stage, PSA	HR: 3.2, 95%CI: 1.47-6.95, p=0.0034)
McKay R [56]	2021	117	Neoadj abiraterone and/or enzalutamide	IDC-P at RP	46.7% (21/45)	Complete pathologic response	Univariate	-	0% vs. 41.7%, p=0.001
McKay R [56]	2021	117	Neoadj abiraterone and/or enzalutamide	IDC-P at RP	46.7% (21/45)	3-years BCR-free rare	Univariate	-	IDC-P+ 27.6%, 95%CI: 8.9-50.3 vs. IDC-P- 70.4%, 95% CI 47.7-84.7, p=0.004
Wilkinson S [57]	2021	37	Neoadj ADT+enzalutamide	IDC-P	29.7% (11/37)	Pathologic response	Univariate	-	9.1% vs 53.8%, p=0.013
McKay R [52]	2021	100	Neoadj abiraterone, leuprolide and prednisone ± apalutamide	IDC-P	34% (34/100)	Pathologic response	Univariate	-	Larger tumor, more LN metastasis regardless of treatment arm
<i>Response to chemotherapy or androgen receptor axis-targeted therapy</i>									
Chen Z [17]	2015	24	CHT for CRPC	IDC-P	62.5% (15/24)	PSA response	Univariate	-	20% vs 67%, p=0.022
Zhao J [37]	2017	96	CHT or abiraterone for CRPC	IDC-P	47.3% (62/131)	PSA response	Univariate	-	In IDC-P+: abiraterone: 52.4% vs. docetaxel: 21.7%, p=0.035
Yamamoto A [58]	2018	79	ADT ± docetaxel for CRPC	IDC-P	78.5% (62/79)	Cancer-specific survival	Univariate	-	IDC-P+, with CHT: 20.5 mo vs. IDC-P - 53.2 mo, HR: 2.98, 95%CI: 1.02-8.64, p=0.044

Yamamoto A [59]	2020	170	CHT vs. abiraterone or enzalutamide	IDC-P	60.6% (103/170)	Overall survival	Univariate	--	abiraterone/ enzalutamide vs CHT in IDC-P+: HR 0.48, 95% CI 0.26–0.86; p=0.01
<i>Response to adjuvant radiation therapy</i>									
Trinh VQ [15]	2019	293	RP ± adjuvant radiation therapy	IDC-P	24.9% (73/293)	Time to BCR	Multivariate	Grade, stage, margin status, IDC-P	Adjuvant radiation therapy, HR: 0.38, 95%CI 0.17-0.85, p=0.018

Abbreviations: ADT: androgen-deprivation therapy; BCR: biochemical recurrence; Bx: biopsy; CC: cribriform carcinoma; CHT: chemotherapy; CI: confidence interval; CRPC: castrate-resistant prostate cancer; GS: Gleason score; IDC-P: intraductal carcinoma of the prostate; HR: hazard ratio; LN: lymph node; mo: months; Neoadj: neoadjuvant; PSA: prostate specific antigen; RP: radical prostatectomy; RR: relative risk

## A1.8. Annexe 1 reference list

1. Siegel, R.L.; Miller, K.D.; et al. Cancer Statistics, 2021. *CA Cancer J. Clin.* **2021**, *71*, 7–33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Tsuzuki, S.; Park, S.H.; et al. Skeletal complications in cancer patients with bone metastases. *Int. J. Urol.* **2016**, *23*, 825–832. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Jin, J.K.; Dayyani, F.; Gallick, G.E. Steps in prostate cancer progression that lead to bone metastasis. *Int. J. Cancer* **2011**, *128*, 2545–2561. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Epstein, J.I.; Egevad, L.; et al. The 2014 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Gleason Grading of Prostatic Carcinoma: Definition of Grading Patterns and Proposal for a New Grading System. *Am. J. Surg. Pathol.* **2015**, *40*, 244–252. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. McNeal, J.E.; Yemoto, C.E. Spread of adenocarcinoma within prostatic ducts and acini. Morphologic and clinical correlations. *Am. J. Surg. Pathol.* **1996**, *20*, 802–814. [[CrossRef](#)]
6. Rhamy, R.K.; Buchanan, R.D.; Spalding, M.J. Intraductal carcinoma of the prostate gland. *J. Urol.* **1973**, *109*, 457–460. [[CrossRef](#)]
7. Kovi, J.; Jackson, M.A.; Heshmat, M.Y. Ductal spread in prostatic carcinoma. *Cancer* **1985**, *56*, 1566–1573. [[CrossRef](#)]
8. Porter, L.H.; Lawrence, M.G.; et al. Systematic Review Links the Prevalence of Intraductal Carcinoma of the Prostate to Prostate Cancer Risk Categories. *Eur. Urol.* **2017**, *72*, 492–495. [[CrossRef](#)]
9. Seipel, A.H.; Wiklund, F.; et al. Histopathological features of ductal adenocarcinoma of the prostate in 1,051 radical prostatectomy specimens. *Virchows Arch.* **2013**, *462*, 429–436. [[CrossRef](#)]
10. Epstein, J.I.; Amin, M.B.; et al. The 2019 Genitourinary Pathology Society (GUPS) White Paper on Contemporary Grading of Prostate Cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2021**, *145*, 461–493. [[CrossRef](#)]
11. van Leenders, G.; van der Kwast, T.H.; Iczkowski, K.A. The 2019 International Society of Urological Pathology Consensus Conference on Prostate Cancer Grading. *Eur. Urol.* **2021**, *79*, 707–709. [[CrossRef](#)]
12. Varma, M. Intraductal Carcinoma of the Prostate: A Guide for the Practicing Pathologist. *Adv. Anat. Pathol.* **2021**, *28*, 276–287. [[CrossRef](#)]
13. Zhang, Y.C.; Sun, G.L.; et al. The presence of intraductal carcinoma of the prostate is closely associated with poor prognosis: A systematic review and meta-analysis. *Asian J. Androl.* **2021**, *23*, 103–108. [[CrossRef](#)]

14. Karakoc, S.; Celik, S.; et al. Prognostic value of intraductal carcinoma for adjuvant radiotherapy candidates after radical prostatectomy. *Int. J. Clin. Pract.* **2021**, *75*, e14099. [[CrossRef](#)]
15. Trinh, V.Q.; Benzerdjeb, N.; et al. Retrospective study on the benefit of adjuvant radiotherapy in men with intraductal carcinoma of prostate. *Radiat. Oncol.* **2019**, *14*, 60. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Porter, L.H.; Hashimoto, K.; et al. Intraductal carcinoma of the prostate can evade androgen deprivation, with emergence of castrate-tolerant cells. *BJU Int.* **2018**, *121*, 971–978. [[CrossRef](#)]
17. Chen, Z.; Chen, N.; et al. The presence and clinical implication of intraductal carcinoma of prostate in metastatic castration resistant prostate cancer. *Prostate* **2015**, *75*, 1247–1254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Abascal-Junquera, J.M.; Fumado-Ciutat, L.; et al. Concomitant intraductal carcinoma of the prostate and response to hormonal therapy in metastatic prostate carcinoma. *Actas. Urol. Esp.* **2021**, *45*, 455–460. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. O'Brien, C.; True, L.D.; et al. Histologic changes associated with neoadjuvant chemotherapy are predictive of nodal metastases in patients with high-risk prostate cancer. *Am. J. Clin. Pathol.* **2010**, *133*, 654–661. [[CrossRef](#)]
20. Xu, N.; Ke, Z.B.; et al. Risk Factors for Pathologically Confirmed Lymph Nodes Metastasis in Patients With Clinical T2N0M0 Stage Prostate Cancer. *Front. Oncol.* **2020**, *10*, 1547. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Kryvenko, O.N.; Gupta, N.S.; et al. Gleason score 7 adenocarcinoma of the prostate with lymph node metastases: Analysis of 184 radical prostatectomy specimens. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **2013**, *137*, 610–617. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Downes, M.R.; Xu, B.; van der Kwast, T.H. Gleason grade patterns in nodal metastasis and corresponding prostatectomy specimens: Impact on patient outcome. *Histopathology* **2019**, *75*, 715–722. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Downes, M.R.; Xu, B.; van der Kwast, T.H. Cribriform architecture prostatic adenocarcinoma in needle biopsies is a strong independent predictor for lymph node metastases in radical prostatectomy. *Eur. J. Cancer* **2021**, *148*, 432–439. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Lindberg, J.; Kristiansen, A.; et al. Tracking the origin of metastatic prostate cancer. *Eur. Urol.* **2015**, *67*, 819–822. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Dinerman, B.F.; Khani, F.; et al. Population-based study of the incidence and survival for intraductal carcinoma of the prostate. *Urol. Oncol.* **2017**, *35*, 673.e9–673.e14. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Trinh, V.Q.; Sirois, J.; et al. The impact of intraductal carcinoma of the prostate on the site and timing of recurrence and cancer-specific survival. *Prostate* **2018**, *78*, 697–706. [[CrossRef](#)]



27. Tom, M.C.; Nguyen, J.K.; et al. Impact of Cribriform Pattern and Intraductal Carcinoma on Gleason 7 Prostate Cancer Treated with External Beam Radiotherapy. *J. Urol.* **2019**, *202*, 710–716. [[CrossRef](#)]
28. Van der Kwast, T.; Al Daoud, N.; et al. Biopsy diagnosis of intraductal carcinoma is prognostic in intermediate and high risk prostate cancer patients treated by radiotherapy. *Eur. J. Cancer* **2012**, *48*, 1318–1325. [[CrossRef](#)]
29. Kweldam, C.F.; Wildhagen, M.F.; et al. Cribriform growth is highly predictive for postoperative metastasis and disease-specific death in Gleason score 7 prostate cancer. *Mod. Pathol.* **2015**, *28*, 457–464. [[CrossRef](#)]
30. Chua, M.L.K.; Lo, W.; et al. A Prostate Cancer "Nimbusus": Genomic Instability and SChLAP1 Dysregulation Underpin Aggression of Intraductal and Cribriform Subpathologies. *Eur. Urol.* **2017**, *72*, 665–674. [[CrossRef](#)]
31. Kimura, K.; Tsuzuki, T.; et al. Prognostic value of intraductal carcinoma of the prostate in radical prostatectomy specimens. *Prostate* **2014**, *74*, 680–687. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Hansum, T.; Hollemans, E.; et al. Comedonecrosis Gleason pattern 5 is associated with worse clinical outcome in operated prostate cancer patients. *Mod. Pathol.* **2021**, *34*, 2064–2070. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Hollemans, E.; Verhoef, E.I.; et al. Cribriform architecture in radical prostatectomies predicts oncological outcome in Gleason score 8 prostate cancer patients. *Mod. Pathol.* **2021**, *34*, 184–193. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Hollemans, E.; Verhoef, E.I.; et al. Clinical outcome comparison of Grade Group 1 and Grade Group 2 prostate cancer with and without cribriform architecture at the time of radical prostatectomy. *Histopathology* **2020**, *76*, 755–762. [[CrossRef](#)]
35. Velho, P.I.; Lim, D.; et al. Molecular Characterization and Clinical Outcomes of Primary Gleason Pattern 5 Prostate Cancer After Radical Prostatectomy. *JCO Precis. Oncol.* **2019**, *3*, PO.19.00081. [[CrossRef](#)]
36. Zhao, T.; Liao, B.; et al. Is there any prognostic impact of intraductal carcinoma of prostate in initial diagnosed aggressively metastatic prostate cancer? *Prostate* **2015**, *75*, 225–232. [[CrossRef](#)]
37. Zhao, J.; Shen, P.; et al. The prognostic implication of intraductal carcinoma of the prostate in metastatic castration-resistant prostate cancer and its potential predictive value in those treated with docetaxel or abiraterone as first-line therapy. *Oncotarget* **2017**, *8*, 55374–55383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Zhao, J.; Liu, J.; et al. The Prognostic Value of the Proportion and Architectural Patterns of Intraductal Carcinoma of the Prostate in Patients with De Novo Metastatic Prostate Cancer. *J. Urol.* **2019**, *201*, 759–768. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

39. Zhao, J.; Sun, G.; et al. Novel nomograms for castration-resistant prostate cancer and survival outcome in patients with de novo bone metastatic prostate cancer. *BJU Int.* **2018**, *122*, 994–1002. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Kato, M.; Tsuzuki, T.; et al. The presence of intraductal carcinoma of the prostate in needle biopsy is a significant prognostic factor for prostate cancer patients with distant metastasis at initial presentation. *Mod. Pathol.* **2016**, *29*, 166–173. [[CrossRef](#)]
41. Kato, M.; Hirakawa, A.; et al. Grade group 2 (10%  $\geq$  GP4) patients have very similar malignant potential with grade group 1 patients, given the risk of intraductal carcinoma of the prostate. *Int. J. Clin. Oncol.* **2021**, *26*, 764–769. [[CrossRef](#)]
42. Kato, M.; Kimura, K.; et al. Prognostic parameter for high risk prostate cancer patients at initial presentation. *Prostate* **2018**, *78*, 11–16. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Saeter, T.; Vlatkovic, L.; et al. Intraductal Carcinoma of the Prostate on Diagnostic Needle Biopsy Predicts Prostate Cancer Mortality: A Population-Based Study. *Prostate* **2017**, *77*, 859–865. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Arai, Y.; Kanamaru, H.; et al. Incidence of lymph node metastasis and its impact on long-term prognosis in clinically localized prostate cancer. *Int. J. Urol.* **1998**, *5*, 459–465. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Tsuzuki, T. Intraductal carcinoma of the prostate: A comprehensive and updated review. *Int. J. Urol.* **2015**, *22*, 140–145. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Miura, N.; Mori, K.; et al. The Prognostic Impact of Intraductal Carcinoma of the Prostate: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Urol.* **2020**, *204*, 909–917. [[CrossRef](#)]
47. Iczkowski, K.A.; van Leenders, G.; et al. Cribriform prostate cancer: Morphologic criteria enabling a diagnosis, based on survey of experts. *Ann. Diagn. Pathol.* **2021**, *52*, 151733. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Iczkowski, K.A.; Paner, G.P.; Van der Kwast, T. The New Realization About Cribriform Prostate Cancer. *Adv. Anat. Pathol.* **2018**, *25*, 31–37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Rubin, M.A.; de La Taille, A.; et al. Cribriform carcinoma of the prostate and cribriform prostatic intraepithelial neoplasia: Incidence and clinical implications. *Am. J. Surg. Pathol.* **1998**, *22*, 840–848. [[CrossRef](#)]
50. Efstathiou, E.; Abrahams, N.A.; et al. Morphologic characterization of preoperatively treated prostate cancer: Toward a post-therapy histologic classification. *Eur. Urol.* **2010**, *57*, 1030–1038. [[CrossRef](#)]
51. Kato, M.; Hirakawa, A.; et al. Response of intraductal carcinoma of the prostate to androgen deprivation therapy predicts prostate cancer prognosis in radical prostatectomy patients. *Prostate* **2020**, *80*, 284–290. [[CrossRef](#)]

52. McKay, R.R.; Xie, W.; et al. Results of a Randomized Phase II Trial of Intense Androgen Deprivation Therapy prior to Radical Prostatectomy in Men with High-Risk Localized Prostate Cancer. *J. Urol.* **2021**, *206*, 80–87. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Hollemans, E.; Verhoef, E.I.; et al. Large cribriform growth pattern identifies ISUP grade 2 prostate cancer at high risk for recurrence and metastasis. *Mod. Pathol.* **2019**, *32*, 139–146. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Elfandy, H.; Armenia, J.; et al. Genetic and Epigenetic Determinants of Aggressiveness in Cribriform Carcinoma of the Prostate. *Mol. Cancer Res.* **2019**, *17*, 446–456. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Alberts, A.R.; Bokhorst, L.P.; et al. Biopsy undergrading in men with Gleason score 6 and fatal prostate cancer in the European Randomized study of Screening for Prostate Cancer Rotterdam. *Int. J. Urol.* **2017**, *24*, 281–286. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. McKay, R.R.; Berchuck, J.; et al. Outcomes of Post-Neoadjuvant Intense Hormone Therapy and Surgery for High Risk Localized Prostate Cancer: Results of a Pooled Analysis of Contemporary Clinical Trials. *J. Urol.* **2021**, *205*, 1689–1697. [[CrossRef](#)]
57. Wilkinson, S.; Ye, H.; et al. Nascent Prostate Cancer Heterogeneity Drives Evolution and Resistance to Intense Hormonal Therapy. *Eur. Urol.* **2021**, *80*, 746–757. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Yamamoto, A.; Kato, M.; et al. Efficacy of docetaxel in castration-resistant prostate cancer patients with intraductal carcinoma of the prostate. *Int. J. Clin. Oncol* **2018**, *23*, 584–590. [[CrossRef](#)]
59. Yamamoto, A.; Kato, M.; et al. Propensity score-matched comparison of docetaxel and androgen receptor axis-targeted agents in patients with castration-resistant intraductal carcinoma of the prostate. *BJU Int.* **2020**, *125*, 702–708. [[CrossRef](#)]
60. Cohen, R.J.; McNeal, J.E.; Baillie, T. Patterns of differentiation and proliferation in intraductal carcinoma of the prostate: Significance for cancer progression. *Prostate* **2000**, *43*, 11–19. [[CrossRef](#)]
61. Guo, C.C.; Epstein, J.I. Intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy: Histologic features and clinical significance. *Mod. Pathol.* **2006**, *19*, 1528–1535. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Grypari, I.M.; Logotheti, S.; et al. Isolated Intraductal Carcinoma of the Prostate in Prostatectomy Specimens: Report of 2 Cases and Review of the Literature. *Int. J. Surg. Pathol.* **2020**, *28*, 918–924. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Khani, F.; Wobker, S.E.; et al. Intraductal carcinoma of the prostate in the absence of high-grade invasive carcinoma represents a molecularly distinct type of in situ carcinoma enriched with oncogenic driver mutations. *J. Pathol.* **2019**, *249*, 79–89. [[CrossRef](#)]
64. Schweizer, M.T.; Antonarakis, E.S.; et al. Genomic Characterization of Prostatic Ductal Adenocarcinoma Identifies a High Prevalence of DNA Repair Gene Mutations. *JCO Precis. Oncol.* **2019**, *3*, 1–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

65. Miyai, K.; Divatia, M.K.; et al. Clinicopathological analysis of intraductal proliferative lesions of prostate: Intraductal carcinoma of prostate, high-grade prostatic intraepithelial neoplasia, and atypical cribriform lesion. *Hum. Pathol.* **2014**, *45*, 1572–1581. [[CrossRef](#)]
66. Lotan, T.L.; Gumuskaya, B.; et al. Cytoplasmic PTEN protein loss distinguishes intraductal carcinoma of the prostate from high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Mod. Pathol.* **2013**, *26*, 587–603. [[CrossRef](#)]
67. Morais, C.L.; Han, J.S.; et al. Utility of PTEN and ERG immunostaining for distinguishing high-grade PIN from intraductal carcinoma of the prostate on needle biopsy. *Am. J. Surg. Pathol.* **2015**, *39*, 169–178. [[CrossRef](#)]
68. Shah, R.B.; Yoon, J.; et al. Atypical intraductal proliferation and intraductal carcinoma of the prostate on core needle biopsy: A comparative clinicopathological and molecular study with a proposal to expand the morphological spectrum of intraductal carcinoma. *Histopathology* **2017**, *71*, 693–702. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Hickman, R.A.; Yu, H.; et al. Atypical Intraductal Cribriform Proliferations of the Prostate Exhibit Similar Molecular and Clinicopathologic Characteristics as Intraductal Carcinoma of the Prostate. *Am. J. Surg. Pathol.* **2017**, *41*, 550–556. [[CrossRef](#)]
70. Haffner, M.C.; Weier, C.; et al. Molecular evidence that invasive adenocarcinoma can mimic prostatic intraepithelial neoplasia (PIN) and intraductal carcinoma through retrograde glandular colonization. *J. Pathol.* **2016**, *238*, 31–41. [[CrossRef](#)]
71. Mosquera, J.M.; Perner, S.; et al. Morphological features of TMPRSS2-ERG gene fusion prostate cancer. *J. Pathol.* **2007**, *212*, 91–101. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
72. Han, B.; Suleman, K.; et al. ETS gene aberrations in atypical cribriform lesions of the prostate: Implications for the distinction between intraductal carcinoma of the prostate and cribriform high-grade prostatic intraepithelial neoplasia. *Am. J. Surg. Pathol.* **2010**, *34*, 478–485. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
73. Bettendorf, O.; Schmidt, H.; et al. Chromosomal imbalances, loss of heterozygosity, and immunohistochemical expression of TP53, RB1, and PTEN in intraductal cancer, intraepithelial neoplasia, and invasive adenocarcinoma of the prostate. *Genes Chromosomes Cancer* **2008**, *47*, 565–572. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
74. Downes, M.R.; Satturwar, S.; et al. Evaluation of ERG and PTEN protein expression in cribriform architecture prostate carcinomas. *Pathol. Res. Pract.* **2017**, *213*, 34–38 [[CrossRef](#)]
75. Schneider, T.M.; Osunkoya, A.O. ERG expression in intraductal carcinoma of the prostate: Comparison with adjacent invasive prostatic adenocarcinoma. *Mod. Pathol.* **2014**, *27*, 1174–1178. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
76. Nie, L.; Pan, X.; et al. The expression profile and heterogeneity analysis of ERG in 633 consecutive prostate cancers from a single center. *Prostate* **2019**, *79*, 819–825. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

77. Torabi-Nezhad, S.; Malekmakan, L.; et al. Histopathological features of intra-ductal carcinoma of prostatic and high grade prostatic intraepithelialneoplasia and correlation with PTEN and P63. *Prostate* **2016**, *76*, 394–401. [[CrossRef](#)]
78. Shah, R.B.; Shore, K.T.; et al. PTEN loss in prostatic adenocarcinoma correlates with specific adverse histologic features (intraductal carcinoma, cribriform Gleason pattern 4 and stromogenic carcinoma). *Prostate* **2019**, *79*, 1267–1273. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
79. Dawkins, H.J.; Sellner, L.N.; et al. Distinction between intraductal carcinoma of the prostate (IDC-P), high-grade dysplasia (PIN), and invasive prostatic adenocarcinoma, using molecular markers of cancer progression. *Prostate* **2000**, *44*, 265–270. [[CrossRef](#)]
80. Grosset, A.A.; Dallaire, F.; et al. Identification of intraductal carcinoma of the prostate on tissue specimens using Raman micro-spectroscopy: A diagnostic accuracy case-control study with multicohort validation. *PLoS Med.* **2020**, *17*, e1003281. [[CrossRef](#)]
81. Ramaswamy, S.; Nakamura, N.; et al. Regulation of G1 progression by the PTEN tumor suppressor protein is linked to inhibition of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1999**, *96*, 2110–2115. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
82. Cairns, P.; Okami, K.; et al. Frequent inactivation of PTEN/MMAC1 in primary prostate cancer. *Cancer Res.* **1997**, *57*, 4997–5000. [[PubMed](#)]
83. Suzuki, H.; Freije, D.; et al. Interfocal heterogeneity of PTEN/MMAC1 gene alterations in multiple metastatic prostate cancer tissues. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 204–209. [[PubMed](#)]
84. Jamaspishvili, T.; Berman, D.M.; et al. Clinical implications of PTEN loss in prostate cancer. *Nat. Rev. Urol.* **2018**, *15*, 222–234. [[CrossRef](#)]
85. Lotan, T.L.; Gurel, B.; et al. PTEN protein loss by immunostaining: Analytic validation and prognostic indicator for a high risk surgical cohort of prostate cancer patients. *Clin. Cancer Res.* **2011**, *17*, 6563–6573. [[CrossRef](#)]
86. Ahearn, T.U.; Pettersson, A.; et al. A Prospective Investigation of PTEN Loss and ERG Expression in Lethal Prostate Cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **2016**, *108*. [[CrossRef](#)]
87. Hamid, A.A.; Gray, K.P.; et al. Loss of PTEN Expression Detected by Fluorescence Immunohistochemistry Predicts Lethal Prostate Cancer in Men Treated with Prostatectomy. *Eur. Urol. Oncol.* **2019**, *2*, 475–482. [[CrossRef](#)]
88. Choucair, K.; Ejdelman, J.; et al. PTEN genomic deletion predicts prostate cancer recurrence and is associated with low AR expression and transcriptional activity. *BMC Cancer* **2012**, *12*, 543. [[CrossRef](#)]
89. Wang, X.; Jiang, X. Post-translational regulation of PTEN. *Oncogene* **2008**, *27*, 5454–5463. [[CrossRef](#)]
90. Tomlins, S.A.; Rhodes, D.R.; et al. Recurrent fusion of TMPRSS2 and ETS transcription factor genes in prostate cancer. *Science* **2005**, *310*, 644–648. [[CrossRef](#)]

91. Gasparrini, S.; Cimadamore, A.; et al. Pathology and molecular updates in tumors of the prostate: Towards a personalized approach. *Expert Rev. Mol. Diagn* **2017**, *17*, 781–789. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
92. Lokman, U.; Erickson, A.M.; et al. PTEN Loss but Not ERG Expression in Diagnostic Biopsies Is Associated with Increased Risk of Progression and Adverse Surgical Findings in Men with Prostate Cancer on Active Surveillance. *Eur. Urol. Focus* **2017**, *4*, 867–873. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
93. Deramaudt, T.B.; Remy, P.; Stiegler, P. Identification of interaction partners for two closely-related members of the ETS protein family, FLI and ERG. *Gene* **2001**, *274*, 169–177. [[CrossRef](#)]
94. Hägglöf, C.; Hammarsten, P.; et al. TMPRSS2-ERG expression predicts prostate cancer survival and associates with stromal biomarkers. *PLoS ONE* **2014**, *9*, e86824. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
95. Gao, X.; Li, L.Y.; et al. ERG rearrangement for predicting subsequent cancer diagnosis in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and lymph node metastasis. *Clin. Cancer Res.* **2012**, *18*, 4163–4172. [[CrossRef](#)]
96. Hoogland, A.M.; Jenster, G.; et al. ERG immunohistochemistry is not predictive for PSA recurrence, local recurrence or overall survival after radical prostatectomy for prostate cancer. *Mod. Pathol.* **2012**, *25*, 471–479. [[CrossRef](#)]
97. Kron, K.; Liu, L.; et al. Correlation of ERG expression and DNA methylation biomarkers with adverse clinicopathologic features of prostate cancer. *Clin. Cancer Res.* **2012**, *18*, 2896–2904. [[CrossRef](#)]
98. Attard, G.; Clark, J.; et al. Duplication of the fusion of TMPRSS2 to ERG sequences identifies fatal human prostate cancer. *Oncogene* **2008**, *27*, 253–263. [[CrossRef](#)]
99. Latour, M.; Amin, M.B.; et al. Grading of invasive cribriform carcinoma on prostate needle biopsy: An interobserver study among experts in genitourinary pathology. *Am. J. Surg. Pathol.* **2008**, *32*, 1532–1539. [[CrossRef](#)]
100. Jermyn, M.; Desroches, J.; et al. A review of Raman spectroscopy advances with an emphasis on clinical translation challenges in oncology. *Phys. Med. Biol.* **2016**, *61*, R370–r400. [[CrossRef](#)]
101. Jermyn, M.; Desroches, J.; et al. Raman spectroscopy detects distant invasive brain cancer cells centimeters beyond MRI capability in humans. *Biomed. Opt. Express* **2016**, *7*, 5129–5137. [[CrossRef](#)]
102. Jermyn, M.; Desroches, J.; et al. Neural networks improve brain cancer detection with Raman spectroscopy in the presence of operating room light artifacts. *J. Biomed. Opt.* **2016**, *21*, 94002. [[CrossRef](#)]
103. Jermyn, M.; Mok, K.; et al. Intraoperative brain cancer detection with Raman spectroscopy in humans. *Sci. Transl. Med.* **2015**, *7*, 274ra219. [[CrossRef](#)]

104. Aubertin, K.; Trinh, V.Q.; et al. Mesoscopic characterization of prostate cancer using Raman spectroscopy: Potential for diagnostics and therapeutics. *BJU Int.* **2018**, *122*, 326–336. [[CrossRef](#)]
105. Pinto, M.; Zorn, K.; et al. Integration of a Raman spectroscopy system to a robotic-assisted surgical system for real time tissue characterization during radical prostatectomy procedures. *J. Biomed. Opt.* **2019**, *24*, 1–10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
106. Plante, A.; Dallaire, F.; et al. Dimensional reduction based on peak fitting of Raman micro spectroscopy data improves detection of prostate cancer in tissue specimens. *J. Biomed. Opt.* **2021**, *26*, 116501. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
107. Bottcher, R.; Kweldam, C.F.; et al. Cribriform and intraductal prostate cancer are associated with increased genomic instability and distinct genomic alterations. *BMC Cancer* **2018**, *18*, 8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
108. Salles, D.C.; Vidotto, T.; et al. Assessment of MYC/PTEN Status by Gene-Protein Assay in Grade Group 2 Prostate Biopsies. *J. Mol. Diagn.* **2021**, *23*, 1030–1041. [[CrossRef](#)]
109. Olkhov-Mitsel, E.; Siadat, F.; et al. Distinct DNA methylation alterations are associated with cribriform architecture and intraductal carcinoma in Gleason pattern 4 prostate tumors. *Oncol. Lett.* **2017**, *14*, 390–396. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
110. Zhao, J.; Sun, G.; et al. Circulating tumour DNA reveals genetic traits of patients with intraductal carcinoma of the prostate. *BJU Int.* **2021**. [[CrossRef](#)]
111. Lee, S.; Han, J.S.; et al. Small cell-like change in prostatic intraepithelial neoplasia, intraductal carcinoma, and invasive prostatic carcinoma: A study of 7 cases. *Hum. Pathol.* **2013**, *44*, 427–431. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
112. Sarsik, B.; Karadeniz, N.; et al. Acinar Adenocarcinoma of Prostate with Predominant Ttf-1 Positive Intraductal Component. *Turk. Patoloji Derg.* **2017**, *33*, 70–73. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
113. Castro, E.; Goh, C.; et al. Effect of BRCA Mutations on Metastatic Relapse and Cause-specific Survival After Radical Treatment for Localised Prostate Cancer. *Eur. Urol.* **2015**, *68*, 186–193. [[CrossRef](#)]
114. Willems, A.J.; Dawson, S.J.; et al. Loss of heterozygosity at the BRCA2 locus detected by multiplex ligation-dependent probe amplification is common in prostate cancers from men with a germline BRCA2 mutation. *Clin. Cancer Res.* **2008**, *14*, 2953–2961. [[CrossRef](#)]
115. Akbari, M.R.; Wallis, C.J.; et al. The impact of a BRCA2 mutation on mortality from screen-detected prostate cancer. *Br. J. Cancer* **2014**, *111*, 1238–1240. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
116. Castro, E.; Goh, C.; et al. Germline BRCA mutations are associated with higher risk of nodal involvement, distant metastasis, and poor survival outcomes in prostate cancer. *J. Clin. Oncol.* **2013**, *31*, 1748–1757. [[CrossRef](#)]
117. Murphy, D.G.; Risbridger, G.P.; et al. The Evolving Narrative of DNA Repair Gene Defects: Distinguishing Indolent from Lethal Prostate Cancer. *Eur. Urol.* **2017**, *71*, 748–749. [[CrossRef](#)]

118. Mateo, J.; Carreira, S.; et al. DNA-Repair Defects and Olaparib in Metastatic Prostate Cancer. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 1697–1708. [[CrossRef](#)]
119. Mateo, J.; Porta, N.; et al. Olaparib in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer with DNA repair gene aberrations (TOPARP-B): A multicentre, open-label, randomised, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* **2020**, *21*, 162–174. [[CrossRef](#)]
120. Schaeffer, E.; Srinivas, S.; et al. NCCN Guidelines Insights: Prostate Cancer, Version 1.2021. *J. Natl. Compr. Canc. Netw.* **2021**, *19*, 134–143. [[CrossRef](#)]
121. Risbridger, G.P.; Taylor, R.A.; et al. Patient-derived xenografts reveal that intraductal carcinoma of the prostate is a prominent pathology in BRCA2 mutation carriers with prostate cancer and correlates with poor prognosis. *Eur. Urol.* **2015**, *67*, 496–503. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
122. Taylor, R.A.; Fraser, M.; et al. Germline BRCA2 mutations drive prostate cancers with distinct evolutionary trajectories. *Nat. Commun.* **2017**, *8*, 13671. [[CrossRef](#)]
123. Isaacsson Velho, P.; Silberstein, J.L.; et al. Intraductal/ductal histology and lymphovascular invasion are associated with germline DNA-repair gene mutations in prostate cancer. *Prostate* **2018**, *78*, 401–407. [[CrossRef](#)]
124. Antonarakis, E.S.; Shaikat, F.; et al. Clinical Features and Therapeutic Outcomes in Men with Advanced Prostate Cancer and DNA Mismatch Repair Gene Mutations. *Eur. Urol.* **2019**, *75*, 378–382. [[CrossRef](#)]
125. Lozano, R.; Salles, D.C.; et al. Association between BRCA2 alterations and intraductal and cribriform histologies in prostate cancer. *Eur. J. Cancer* **2021**, *147*, 74–83. [[CrossRef](#)]
126. Uysal-Onganer, P.; Kawano, Y.; et al. Wnt-11 promotes neuroendocrine-like differentiation, survival and migration of prostate cancer cells. *Mol. Cancer* **2010**, *9*, 55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
127. Shaikhibrahim, Z.; Offermann, A.; et al. MED12 overexpression is a frequent event in castration-resistant prostate cancer. *Endocr. Relat. Cancer* **2014**, *21*, 663–675. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
128. Bhandari, V.; Hoey, C.; et al. Molecular landmarks of tumor hypoxia across cancer types. *Nat. Genet.* **2019**, *51*, 308–318. [[CrossRef](#)]
129. Chen, S.; Huang, V.; et al. Widespread and Functional RNA Circularization in Localized Prostate Cancer. *Cell* **2019**, *176*, 831–843. [[CrossRef](#)]
130. Spieker, A.J.; Gordetsky, J.B.; et al. PTEN expression and morphological patterns in prostatic adenocarcinoma. *Histopathology* **2021**, *79*, 1061–1071. [[CrossRef](#)]
131. Prensner, J.R.; Iyer, M.K.; et al. The long noncoding RNA SChLAP1 promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. *Nat. Genet.* **2013**, *45*, 1392–1398. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



132. Kidd, S.G.; Carm, K.T.; et al. High expression of SCHLAP1 in primary prostate cancer is an independent predictor of biochemical recurrence, despite substantial heterogeneity. *Neoplasia* **2021**, *23*, 634–641. [[CrossRef](#)]
133. Greenland, N.Y.; Zhang, L.; et al. Correlation of a Commercial Genomic Risk Classifier with Histological Patterns in Prostate Cancer. *J. Urol.* **2019**, *202*, 90–95. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
134. Taylor, A.S.; Morgan, T.M.; et al. Correlation between cribriform/intraductal prostatic adenocarcinoma and percent Gleason pattern 4 to a 22-gene genomic classifier. *Prostate* **2020**, *80*, 146–152. [[CrossRef](#)]
135. Klein, E.A.; Cooperberg, et al. A 17-gene assay to predict prostate cancer aggressiveness in the context of Gleason grade heterogeneity, tumor multifocality, and biopsy undersampling. *Eur. Urol.* **2014**, *66*, 550–560. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
136. Cullen, J.; Rosner, I.L.; et al. A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score Predicts Recurrence After Radical Prostatectomy and Adverse Surgical Pathology in a Racially Diverse Population of Men with Clinically Low- and Intermediate-risk Prostate Cancer. *Eur. Urol.* **2015**, *68*, 123–131. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
137. Van Den Eeden, S.K.; Lu, R.; et al. A Biopsy-based 17-gene Genomic Prostate Score as a Predictor of Metastases and Prostate Cancer Death in Surgically Treated Men with Clinically Localized Disease. *Eur. Urol.* **2018**, *73*, 129–138. [[CrossRef](#)]
138. Covas Moschovas, M.; Chew, C.; et al. Association Between Oncotype DX Genomic Prostate Score and Adverse Tumor Pathology After Radical Prostatectomy. *Eur. Urol. Focus* **2021**. [[CrossRef](#)]
139. Knudsen, B.S.; Kim, H.L.; et al. Application of a Clinical Whole-Transcriptome Assay for Staging and Prognosis of Prostate Cancer Diagnosed in Needle Core Biopsy Specimens. *J. Mol. Diagn.* **2016**, *18*, 395–406. [[CrossRef](#)]
140. Lee, H.J.; Yousefi, K.; et al. Evaluation of a genomic classifier in radical prostatectomy patients with lymph node metastasis. *Res. Rep. Urol.* **2016**, *8*, 77–84. [[CrossRef](#)]
141. Erho, N.; Crisan, A.; et al. Discovery and validation of a prostate cancer genomic classifier that predicts early metastasis following radical prostatectomy. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e66855. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
142. Karnes, R.J.; Bergstralh, E.J.; et al. Validation of a genomic classifier that predicts metastasis following radical prostatectomy in an at risk patient population. *J. Urol.* **2013**, *190*, 2047–2053. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
143. Den, R.B.; Feng, F.Y.; et al. Genomic prostate cancer classifier predicts biochemical failure and metastases in patients after postoperative radiation therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* **2014**, *89*, 1038–1046. [[CrossRef](#)]

144. Klein, E.A.; Yousefi, K.; et al. A genomic classifier improves prediction of metastatic disease within 5 years after surgery in node-negative high-risk prostate cancer patients managed by radical prostatectomy without adjuvant therapy. *Eur. Urol.* **2015**, *67*, 778–786. [[CrossRef](#)]
145. Den, R.B.; Yousefi, K.; et al. Genomic classifier identifies men with adverse pathology after radical prostatectomy who benefit from adjuvant radiation therapy. *J. Clin. Oncol.* **2015**, *33*, 944–951. [[CrossRef](#)]
146. Ross, A.E.; Johnson, M.H.; et al. Tissue-based Genomics Augments Post-prostatectomy Risk Stratification in a Natural History Cohort of Intermediate- and High-Risk Men. *Eur. Urol.* **2016**, *69*, 157–165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
147. Glass, A.G.; Leo, M.C.; et al. Validation of a Genomic Classifier for Predicting Post-Prostatectomy Recurrence in a Community Based Health Care Setting. *J. Urol.* **2016**, *195*, 1748–1753. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
148. Freedland, S.J.; Choeurng, V.; et al. Utilization of a Genomic Classifier for Prediction of Metastasis Following Salvage Radiation Therapy after Radical Prostatectomy. *Eur. Urol.* **2016**, *70*, 588–596. [[CrossRef](#)]
149. Klein, E.A.; Haddad, Z.; et al. Decipher Genomic Classifier Measured on Prostate Biopsy Predicts Metastasis Risk. *Urology* **2016**, *90*, 148–152. [[CrossRef](#)]
150. Nguyen, P.L.; Martin, N.E.; et al. Utilization of biopsy-based genomic classifier to predict distant metastasis after definitive radiation and short-course ADT for intermediate and high-risk prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* **2017**, *20*, 186–192. [[CrossRef](#)]
151. Spratt, D.E.; Yousefi, K.; et al. Individual Patient-Level Meta-Analysis of the Performance of the Decipher Genomic Classifier in High-Risk Men After Prostatectomy to Predict Development of Metastatic Disease. *J. Clin. Oncol.* **2017**, *35*, 1991–1998. [[CrossRef](#)]
152. Van den Broeck, T.; Moris, L.; et al. Validation of the Decipher Test for Predicting Distant Metastatic Recurrence in Men with High-risk Nonmetastatic Prostate Cancer 10 Years After Surgery. *Eur. Urol. Oncol.* **2019**, *2*, 589–596. [[CrossRef](#)]
153. Cooperberg, M.R.; Davicioni, E.; et al. Combined value of validated clinical and genomic risk stratification tools for predicting prostate cancer mortality in a high-risk prostatectomy cohort. *Eur. Urol.* **2015**, *67*, 326–333. [[CrossRef](#)]
154. Badani, K.; Thompson, D.J.; et al. Impact of a genomic classifier of metastatic risk on postoperative treatment recommendations for prostate cancer patients: A report from the DECIDE study group. *Oncotarget* **2013**, *4*, 600–609. [[CrossRef](#)]
155. Badani, K.K.; Kemeter, M.J.; et al. The Impact of a Biopsy Based 17-Gene Genomic Prostate Score on Treatment Recommendations in Men with Newly Diagnosed Clinically Prostate Cancer Who are Candidates for Active Surveillance. *Urol. Pract.* **2015**, *2*, 181–189. [[CrossRef](#)]

156. Michalopoulos, S.N.; Kella, N.; et al. Influence of a genomic classifier on post-operative treatment decisions in high-risk prostate cancer patients: Results from the PRO-ACT study. *Curr. Med. Res. Opin.* **2014**, *30*, 1547–1556. [[CrossRef](#)]
157. Nguyen, P.L.; Shin, H.; et al. Impact of a Genomic Classifier of Metastatic Risk on Postprostatectomy Treatment Recommendations by Radiation Oncologists and Urologists. *Urology* **2015**, *86*, 35–40. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
158. Gore, J.L.; du Plessis, M.; et al. Decipher test impacts decision making among patients considering adjuvant and salvage treatment after radical prostatectomy: Interim results from the Multicenter Prospective PRO-IMPACT study. *Cancer* **2017**, *123*, 2850–2859. [[CrossRef](#)]
159. Vince, R.A., Jr.; Jiang, R.; et al. Impact of Decipher Biopsy testing on clinical outcomes in localized prostate cancer in a prospective statewide collaborative. *Prostate Cancer Prostatic Dis.* **2021** [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
160. Smith, S.C.; Gandhi, J.S.; et al. Similarities and Differences in the 2019 ISUP and GUPS Recommendations on Prostate Cancer Grading: A Guide for Practicing Pathologists. *Adv. Anat. Pathol.* **2021**, *28*, 1–7. [[CrossRef](#)]
161. van Leenders, G.; van der Kwast, T.H.; et al. The 2019 International Society of Urological Pathology (ISUP) Consensus Conference on Grading of Prostatic Carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.* **2020**, *44*, e87–e99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

## Annexe 2 – Autre article publié

### *Saliva-based detection of COVID-19 infection in a real-world setting using reagent-free Raman spectroscopy and machine learning*

Katherine J. Ember <sup>1,2</sup>, François Daoust <sup>1,2</sup>, Myriam Mahfoud <sup>1,2</sup>, Frédérick Dallaire <sup>1,2</sup>, Esmat Z. Zamani <sup>1,2,3</sup>, Trang Tran <sup>1,2</sup>, Arthur Plante <sup>1,2</sup>, **Mame-Kany Diop** <sup>2,3</sup>, Tien Nguyen <sup>1,2,3</sup>, Amélie St-Georges-Robillard <sup>1,2</sup>, Nassim Ksantini <sup>1,2</sup>, Julie Lanthier <sup>1,2</sup>, Antoine Filiatrault <sup>1,2</sup>, Guillaume Sheehy <sup>4,2</sup>, Gabriel Beaudoin <sup>1,2</sup>, Caroline Quach <sup>5,6</sup>, Dominique Trudel <sup>2,3,6</sup>  
et Frédéric Leblond <sup>1,2,3</sup>

<sup>1</sup> Polytechnique Montréal (Canada)

<sup>2</sup> CRCHUM (Canada)

<sup>3</sup> Institut du Cancer de Montréal (Canada)

<sup>4</sup> Polytechnique Montréal, Montreal (Canada)

<sup>5</sup> CHU Sainte-Justine (Canada)

<sup>6</sup> Université de Montréal (Canada)

*J Biomed Opt.* 2022 Feb;27(2):025002; doi: [10.1117/1.JBO.27.2.025002](https://doi.org/10.1117/1.JBO.27.2.025002).

#### Résumé en anglais :

**Significance:** The primary method of COVID-19 detection is reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) testing. PCR test sensitivity may decrease as more variants of concern arise and reagents may become less specific to the virus. **Aim:** We aimed to develop a reagent-free way to detect COVID-19 in a real-world setting with minimal constraints on sample acquisition. The machine learning (ML) models involved could be frequently updated to include spectral information about variants without needing to develop new reagents. **Approach:** We present a workflow for collecting, preparing, and imaging dried saliva supernatant droplets using a non-invasive, label-free technique-Raman spectroscopy-to detect changes in the molecular profile of saliva associated with COVID-19 infection. **Results:** We used an innovative multiple instance learning-based ML approach and droplet segmentation to analyze droplets. Amongst all confounding factors, we discriminated between COVID-positive and COVID-negative individuals

yielding receiver operating coefficient curves with an area under curve (AUC) of 0.8 in both males (79% sensitivity and 75% specificity) and females (84% sensitivity and 64% specificity). Taking the sex of the saliva donor into account increased the AUC by 5%. **Conclusion:** These findings may pave the way for new rapid Raman spectroscopic screening tools for COVID-19 and other infectious diseases.

**Contributions :** Conceptualisation, K.E., F.D.<sup>1</sup>, D.T. et F.L.; Méthodologie, K.E., F.D.<sup>1</sup>, M.M., D.T. et F.L.; Éthique, M.M. et K.E.; Collecte d'échantillons, K.E., M.M., E.Z., T.T. et G.B.; Traitement des échantillons, K.E., M.M., E.Z., T.T. et **M.-K.D.**; Préparation du modèle de salive, **M.-K.D.**; Acquisition des données, K.E., F.D.<sup>1</sup>, M.M., E.Z. et T.T.; Acquisition des données du modèle de salive et de ses composants, J.L. et A.F.; Visualisation, F.D.<sup>2</sup> et A.P.; Analyses des données, F.D.<sup>2</sup>, A.P. et F.L.; Interprétation des données, K.E. et F.L.; Supervision, D.T. et F.L.; Rédaction, K.E., E.Z., T.T., A.S., F.D.<sup>2</sup>, N.K. et F.L.

<sup>1</sup> François Daoust

<sup>2</sup> Frédérick Dallaire