

Si vous avez des difficultés pour visualiser ce message, [consultez la copie web](#)



2018

Juin

Numéro 3

La Newsletter de la Société Française du Cancer



Edito

Enfin la voici cette newsletter de la SFC, elle reprend après quelques semaines.... mois d'absence, et je tiens absolument à présenter mes excuses au comité éditorial aux auteurs et aux lecteurs impatients, bref à tous mais à juste titre !

Comme vous le savez, la restructuration de notre secrétariat s'achève, le nouveau site de la SFC est lancé, et voici avant l'été la reprise de notre cycle des newsletters que vous recevrez et pourrez voir sur le site de façon simultanée.

Dans ce numéro ont été abordés :

- Le concept passionnant liant *DNA repair* et génération de néoantigènes, ouvrant de grandes perspectives pour le traitement des tumeurs en les rendant artificiellement instables (Philippe Pourquier, INSERM U1194, Institut de Recherche en Cancérologie de Montpellier).
- Un deuxième thème plus translationnel s'intéressant à la phylogénie des métastases dans le cancer colorectal, viscérales et ganglionnaires (Julien Vibert & Benoît Rousseau INSERM U955 Team 18 - Virus, Hepatology, Cancers, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Henri Mondor).
- Enfin, le dernier commentaire fait le point sur la méthodologie nouvelle des essais cliniques de type adaptatif, par un méthodologiste de renom, le Dr Bernard Asselain.

En vous souhaitant à tous un bel été,

Emmanuelle Charafe-Jauffret

Présidente du Conseil Scientifique



Inactivation of DNA repair triggers neoantigen generation and impairs tumour growth

Philippe Pourquier

INSERM U1194

Institut de Recherche en

Cancérologie de Montpellier

208 rue des Apothicaires

34298 Montpellier cedex 5, France

Tel: +33(0)467613745

Fax: +33(0)467613787

Cell: +33(0)687533765

On connaît depuis longtemps les caractéristiques d'instabilité micro-satellitaire (MSI) de certains types de tumeurs, surtout coliques, dans lesquelles le système de correction des mésappariements de bases ou MMR (pour *Mismatch Repair*) est déficient. Ce système de réparation de l'ADN corrige les erreurs commises par les ADN polymérases au cours de la réplication et implique un nombre relativement limité de facteurs dont les principaux sont MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2. De manière assez curieuse, les tumeurs colorectales déficientes pour le système MMR ont une progression rapide mais sont de bon pronostic sans que l'on connaisse vraiment les raisons de ces caractéristiques cliniques. L'une des explications avancées réside probablement dans la présence d'un niveau élevé de mutations encore appelé "charge mutationnelle" (*mutational load*) qui est justement lié au fait que ces tumeurs répondent particulièrement bien aux immunothérapies.

Dans cet article princeps de *Nature*, l'équipe d'A. Bardelli présente des arguments forts en faveur de cette hypothèse en étudiant les effets de l'inactivation du système MMR dans

trois modèles (colorectal, pancréatique et cancer du sein) sur la charge mutationnelle des cellules tumorales et les conséquences de cette inactivation en termes de croissance, d'immunogénicité des cellules tumorales et de réponse aux immunothérapies.

L'inactivation du système MMR a été obtenue par invalidation du gène *MLH1* grâce à la technologie CRISPR-Cas9. Les résultats montrent que dans les trois modèles choisis, les cellules invalidées pour le système MMR ont une croissance identique aux cellules contrôles *in vitro* et lorsqu'elles sont transplantées dans des souris immunodéprimées alors que, transplantées dans des souris syngéniques immunocompétentes, les cellules déficientes en MMR ne poussent que très lentement, surtout lorsqu'elles sont sous-clonées avant injection. Les auteurs ont ensuite étudié la réponse de tumeurs contrôles et de tumeurs déficientes en MMR préalablement établies dans des souris immunodéprimées puis réimplantées dans des souris immunocompétentes, aux immunothérapies anti-PD1 et anti-CTLA4. De manière très intéressante, seules les tumeurs déficientes pour MMR voient leur croissance inhibée de façon marquée avec une augmentation du nombre de lymphocytes T CD8+, la déplétion préalable des CD8+ permettant de restaurer leur croissance. Parallèlement, les auteurs montrent par séquençage d'exome que l'inactivation du système MMR est accompagnée, *in vitro* comme *in vivo*, d'une augmentation de la charge mutationnelle avec l'émergence constante de nouveaux antigènes au cours du temps alors que, pour les cellules contrôles, ces paramètres restent inchangés. Des résultats similaires sont obtenus en ce qui concerne la surveillance immunitaire des cellules qui est plus élevée dans les cellules inactivées pour le système MMR qui accumulent sans cesse de nouveaux antigènes au cours de leurs divisions.

De manière paradoxale, les auteurs apportent également des arguments en faveur d'un effet bénéfique de l'inactivation du système MMR et de l'augmentation de la charge mutationnelle qui en résulte, en termes thérapeutiques. Ils montrent en effet que la résistance de cellules de cancer colique à l'agent alkylant témozolomide s'accompagne d'une inactivation du système MMR et que cette dernière est bien associée à une augmentation de la charge mutationnelle, une production continue de néoantigènes, et une augmentation de la surveillance immunitaire des tumeurs *in vivo*. Ces résultats ont été renforcés par des données cliniques obtenues chez 5 patients atteints de cancer colorectal traités par témozolomide dans le cadre d'un essai clinique et devenus résistants à ce traitement. Trois de ces patients exprimaient fortement la MGMT (enzyme responsable de la réparation des lésions O6-méthylguanine induites par le témozolomide) et avaient une charge mutationnelle faible et inchangée avant et après traitement. Les deux autres patients présentaient au contraire une faible expression de la MGMT ainsi qu'une charge mutationnelle augmentée par rapport au début du traitement. De manière très intéressante, seules les tumeurs de ces deux patients possédaient des mutations du gène *MSH6* après installation de la résistance au témozolomide. L'ensemble de ces résultats particulièrement originaux suggèrent qu'il est possible, en ciblant le mécanisme de réparation MMR par le témozolomide, d'augmenter la génération de néoantigènes dans les cellules tumorales pour activer le système d'immunosurveillance et l'utiliser à des fins de potentialisation de l'action des nouvelles immunothérapies qui sont en plein essor à l'heure actuelle.

Référence :

Germano G, Lamba S, Rospo G, et al. Inactivation of DNA repair triggers neoantigen generation and impairs tumour growth. *Nature* 2017; 552: 116-20.



Généalogie des métastases ganglionnaires et viscérales dans le cancer colorectal : "sœurs" ou "cousines" ?

Benoît Rousseau & Julien Vibert

*Medical Oncology and Clinical Pharmacology
Innovation and Drug Development
Unit "Galilée" - Solid Tumors
INSERMU955 Team 18 - Virus, Hepatology, Cancers
Assistance Publique-Hôpitaux de Paris
Hôpital Henri Mondor
51 Av Maréchal de Lattre de Tassigny
94010 Créteil
Tel: +331.49.81.27.61
Mob: +336.11.61.69.69
Fax: +331.49.81.27.65*

La présence de métastases ganglionnaires dans le cancer colorectal est un facteur pronostique important pour la survie des patients : le nombre de ganglions réséqués est un point capital du traitement chirurgical, et leur envahissement un déterminant majeur dans la décision de traitement adjuvant. En effet, bien que les métastases ganglionnaires ne soient que rarement une cause directe de décès, leur présence est associée au risque de dissémination métastatique viscérale qui engage le pronostic vital. Il est tentant alors d'établir une relation de causalité dans cette association : les métastases ganglionnaires seraient-elles les précurseurs des métastases viscérales (par un modèle dit de "progression séquentielle"), une hypothèse qui par ailleurs semblerait faire écho à l'ordre des lettres dans la classification dite "TNM" ?

Une collaboration internationale publiée dans *Science*, tente de clarifier la généalogie des métastases dans le cancer colorectal : les métastases viscérales sont-elles en effet les petites "sœurs" des métastases ganglionnaires, ayant simplement fait un plus long chemin, mais partageant les mêmes "parents" au sein de la tumeur primitive ? Ou sont-elles au contraire "cousines", c'est-à-dire qu'elles ne descendent pas des mêmes "parents" mais de clones différents au sein de la tumeur primitive, ce qui serait plutôt en faveur d'un modèle de "progression en parallèle" ? Pour répondre à la question, les chercheurs ont passé en revue les dossiers de 1373 patients traités pour un cancer colorectal au *Massachusetts General Hospital* et ont identifié 19 patients pour lesquels étaient disponibles des prélèvements anatomo-pathologiques analysables à la fois de la tumeur primitive, de métastases ganglionnaires et de métastases viscérales (ainsi que du tissu normal). Chaque patient avait en moyenne 12,6 prélèvements tumoraux disponibles (entre 7 et 29), soit au total 239 prélèvements sur 19 patients : 92 de tumeurs primitives, 59 de métastases ganglionnaires, 52 de métastases viscérales et 36 de tissu normal. Sur les 19 patients, 17 avaient des métastases viscérales hépatiques.

La méthodologie utilisée dans l'article pour retracer la généalogie (phylogénie) des tumeurs était relativement innovante et ingénieuse : comme les prélèvements ne pouvaient pas être analysés par séquençage de l'exome ou du génome entier (qui reste la méthode de référence actuellement pour ce genre d'analyse), en raison notamment de l'absence de consentement obtenu à l'époque auprès des patients, les chercheurs ont mesuré le taux de répétitions de régions non-codantes appelées les "répétitions poly-G" (*polyguanine repeats*) qui ont un taux de mutations dites indels (insertions-délétions) très

élevé, ce qui en fait un marqueur somatique adapté à l'analyse clonale des différentes tumeurs, sans aucun risque d'identification génétique des sujets. Les chercheurs ont montré qu'en analysant entre 20 et 43 répétitions poly-G réparties sur plusieurs chromosomes, leur méthodologie était assez robuste pour reconstituer la phylogénie des tumeurs avec un niveau de confiance élevé.

En résumé, et sans rentrer dans les détails mathématiques et informatiques des méthodes d'analyse phylogénétique, le génotypage des répétitions poly-G permet, au sein de chaque patient, de mesurer une « distance génétique » entre chaque prélèvement anatomo-pathologique, ce qui conduit à la reconstitution probabiliste d'un "arbre généalogique" de la tumeur. Ainsi on peut retracer l'origine de chacune des métastases ganglionnaires ou viscérales à un des prélèvements de la tumeur primitive (qui comprend souvent plusieurs "clones" différents), et l'on peut surtout juger de la relation des métastases entre elles.

Les résultats sont les suivants : dans 35% des cas, il y a en effet une origine commune aux métastases ganglionnaires et viscérales, c'est-à-dire qu'elles sont toutes descendantes d'un même clone au sein de la tumeur primitive, avec soit une progression séquentielle (la tumeur viscérale ayant essaimé à partir de la tumeur ganglionnaire), soit éventuellement une progression en parallèle, mais toujours à partir du même "parent". Dans le reste des cas (65%), les métastases ganglionnaires et viscérales sont seulement "cousines" : elles ne descendent pas du même clone au sein de la tumeur primitive, il n'y a donc aucune relation directe entre les progressions ganglionnaire et viscérale qui se font en parallèle l'une de l'autre à partir de "parents" différents.

Les auteurs prennent par ailleurs le soin de montrer qu'il n'y a aucune corrélation entre la présence d'un de ces deux types de progression métastatique et d'autres facteurs cliniques qui auraient pu être des facteurs de confusion : nombre de ganglions analysés ou positifs, nombre de régions tumorales analysées, stade T3 ou T4 (il n'y avait pas de stade T1 ou T2), taille de la tumeur primitive, présence d'invasion vasculaire, métastases synchrones ou métachrones, et aussi traitement reçu. Par exemple, parmi 6 patients ayant reçu un traitement adjuvant après résection chirurgicale et pour lesquels des métastases viscérales ont par la suite été réséquées, 3 étaient en faveur et 3 en défaveur d'une origine commune aux métastases ganglionnaires et viscérales.

En définitive, cette étude permet d'éclaircir la nature des processus en cause dans la progression métastatique du cancer colorectal : celle-ci peut se faire de manière séquentielle à partir des métastases ganglionnaires (ce qui confirme l'importance primordiale de la résection ganglionnaire), mais aussi, dans une proportion probablement plus importante, de façon parallèle, avec un essaimage à partir de plusieurs clones de la tumeur primitive, d'une part au niveau des ganglions, et d'autre part directement vers les autres organes ; ce qui n'est finalement pas si difficile à envisager conceptuellement, puisque les cellules tumorales peuvent disséminer soit par voie lymphogène, soit par voie hématogène.

En conséquence, on peut expliquer de plusieurs manières le caractère hautement pronostique de la présence de métastases ganglionnaires dans le cancer colorectal et son association

observée avec les métastases viscérales : c'est non seulement un marqueur direct de la présence de cellules tumorales qui ont la possibilité d'essaimer directement et d'envoyer leurs "petites sœurs" vers les autres organes; mais c'est aussi probablement le reflet en quelque sorte d'une tumeur primitive qui a plus de facilité à produire des cellules métastatiques, les cellules dans les ganglions étant seulement le témoin d'une "famille" tumorale agressive potentiellement productrice de "cousines" ayant déjà disséminé dans les autres organes.

D'un point de vue davantage clinique, cette étude ouvre des perspectives sur le plan de la classification pronostique et la prise en charge thérapeutique personnalisée des cancers colorectaux, mais plusieurs questions restent en suspens : avant tout, est-il possible de corréler les différents modes de dissémination métastatique avec des marqueurs déjà utilisés en pratique clinique (statut des mutations RAS, BRAF, statut MSI...)?

Il serait intéressant également d'étudier cette question à la lumière de la nouvelle classification de référence CMS (*consensus molecular subtypes*), pour tenter d'établir une relation entre celle-ci et l'histoire naturelle du cancer métastatique. Ces questions demandent cependant une meilleure caractérisation des profils moléculaires de la tumeur, et surtout de son hétérogénéité intrinsèque, non seulement entre la tumeur primitive et ses métastases mais également au sein d'elle-même.

Il faut également se demander quels sont les sites tumoraux à biopsier et séquencer : un ou

plusieurs sites de la tumeur primitive, une ou toutes les métastases ?

L'approche prometteuse des biopsies liquides avec l'étude de l'ADN tumoral circulant, en permettant une meilleure caractérisation de l'hétérogénéité tumorale, pourrait être d'une grande aide à cette étude approfondie des relations entre caractéristiques moléculaires des cellules tumorales et mode de progression métastatique. Il est tentant néanmoins de déjà supposer que la classification moléculaire (CMS) soit corrélée à un certain mode de progression métastatique ce qui pourrait à terme permettre un traitement mieux personnalisé pour limiter les récurrences et traiter les formes métastatiques.

Référence :

Naxerova K, Reiter JG, Brachtel E, et al. Origins of lymphatic and distant metastases in human colorectal cancer. *Science* 2017; 357: 55-60.



Les méthodes adaptatives et l'évaluation des nouvelles approches thérapeutiques : de nouveaux enjeux méthodologiques

Bernard Asselain

L'avènement de la « cancérologie de précision », basée sur la mise en évidence d'anomalies moléculaires spécifiques de la tumeur et de médicaments permettant de cibler ces anomalies moléculaires, a entraîné un profond remaniement des méthodologies développées pour l'évaluation des chimiothérapies cytotoxiques. Au ciblage moléculaire s'ajoute maintenant le défi de l'immunothérapie, pour laquelle nous sommes encore à la recherche de biomarqueurs d'efficacité pertinents et validés.

La classique séquence - identification de la dose maximale tolérée et de la dose recommandée en Phase I, sélection des molécules les plus prometteuses sur la base d'un taux de réponse en phase II, et évaluation comparative avec les standards de traitement en Phase III -, parfaitement adaptée aux chimiothérapies cytotoxiques, s'est rapidement révélée inadaptée à une évaluation efficace et rapide de ces nouvelles thérapeutiques.

Les méthodes adaptatives recouvrent un ensemble de techniques statistiques ayant pour objectif d'introduire de la flexibilité dans les essais, quelle qu'en soit la phase, en permettant de prendre en compte les données accumulées au cours de l'essai pour en modifier certains aspects, cela sans remettre en cause l'intégrité de l'essai.

Ces nouveaux designs permettent de gagner du temps si les résultats sont meilleurs qu'attendu, d'arrêter l'essai si au contraire les résultats sont mauvais, ou de réajuster la taille de l'essai si l'effectif à inclure a été sur ou sous-dimensionné.

En fait, de telles méthodes adaptatives sont déjà utilisées depuis des années dans les essais précoces, la méthode CRM (*Continual Reassessment Method*) permettant d'utiliser toutes les informations précédemment recueillies pour proposer le palier de dose le plus adapté à chaque nouveau patient.

Cependant, ne pouvant plus s'appuyer sur le parallélisme entre dose-toxicité et dose-efficacité, les essais précoces de thérapies ciblées doivent évaluer simultanément la tolérance et les prémisses d'efficacité des médicaments, certaines thérapeutiques ciblées étant parfois si bien tolérées que l'on n'atteint jamais la dose maximale tolérée. Les essais de première administration chez l'homme se rapprochent ainsi de plus en plus des essais de phase II. S'appuyant sur un nombre plus faible de paliers de dose (trois ou quatre), établis sur des bases biologiques, ils incluent souvent plus de patients par palier afin de pouvoir détecter un signal précoce d'efficacité. Des cohortes d'extension sont mises en place pour les paliers les plus prometteurs, permettant de se faire une idée plus précise de la tolérance et de l'efficacité sur différentes localisations de cancers. Ces cohortes d'extension doivent cependant rester de taille raisonnable car elles ne sont généralement pas associées à des règles de décision statistiques. C'est pourquoi des essais de phase I-II permettant d'enchaîner rapidement recherche de dose et premières évaluations de l'efficacité, doivent être envisagés.

Les essais de phase II randomisés [1] permettent de se faire rapidement une idée de l'amplitude de l'effet du traitement, et de planifier des essais de phase III de taille d'autant plus faible que la molécule s'avère prometteuse.

Ce sont les essais de phase III qui bénéficient le plus de la flexibilité des méthodes adaptatives [2]. Elles permettent par exemple de réévaluer en cours d'essai les hypothèses initiales, et donc les effectifs de patients à inclure, sous le contrôle bien sûr du Comité Indépendant de Sécurité (IDMC).

Si de nouveaux biomarqueurs « compagnons » sont identifiés au cours de l'essai, il pourra être proposé des analyses sur des sous-populations d'intérêt en proposant des analyses principales conjointes (« co-primaires »). Cette modification du protocole imposera bien sûr une gestion rigoureuse du risque de faux positifs (le risque « alpha ») en ajustant le risque de chacune des analyses réalisées (méthode de Bonferroni, procédure de Benjamini-Hochberg, etc.), ou en proposant des stratégies séquentielles d'analyse.

Si l'une des stratégies thérapeutiques s'avère décevante, des analyses intermédiaires de futilité permettront de stopper les inclusions dans un bras si l'essai comporte plusieurs bras, voire d'arrêter l'essai prématurément, ceci sans augmenter de façon significative le risque de faux négatifs.

Sous certaines conditions, on pourra même adapter le bras contrôle en fonction des résultats d'autres essais en cours, afin de tenir compte des progrès réalisés. Compte tenu de l'accélération et de la multiplicité des études cliniques, la nécessité d'adapter le traitement de référence en cours d'essai se présentera forcément et ce type de design adaptatif est appelé à se développer.

Certaines méthodes adaptatives doivent être cependant considérées avec prudence, comme la randomisation adaptative, qui consiste à modifier le taux d'attribution des traitements en cours d'essai, en fonction des résultats d'analyses intermédiaires.

Ainsi, si le bras B se révèle plus efficace que le bras A, on randomisera alors plus de patients dans B que dans A. Mais cette méthode apparemment séduisante (utilisée dans les essais BATTLE et I-SPY 2) est très controversée dans la communauté statistique car elle peut conduire paradoxalement à allonger la durée de l'essai et à des résultats biaisés par le déséquilibre difficilement contrôlable de facteurs prédictifs entre les groupes de traitement.

Toutes ces méthodes adaptatives doivent impérativement être envisagées dès la conception de l'essai et intégrées dans l'écriture du protocole. Modifier sans règles du jeu précisément établies la taille de l'essai au vu d'une analyse intermédiaire, ou changer de critère principal de jugement en cours d'essai conduiront toujours les Autorités de Santé à considérer avec suspicion les résultats de l'essai.

En définitive, les essais adaptatifs, tout en introduisant un certain niveau de flexibilité dans les essais, doivent respecter des règles garantissant des résultats interprétables [3]. C'est ainsi que l'on pourra optimiser les stratégies d'investigation des très nombreuses thérapies ciblées en développement et de leurs associations, afin que chaque patient puisse bénéficier du traitement le mieux adapté au profil biologique de sa tumeur.

Référence :

1) Saad E D, Paoletti X, Burzykowski T, Buyse M. Precision medicine needs randomized trials. Nat Rev Clin Oncol 2017; 14: 317-23.

2) Mistry P, Dunn JA, Marshall A. A literature review of applied adaptive design methodology within the field of oncology in randomised controlled trials and a proposed extension to the CONSORT guidelines. BMC Med Res Methodol 2017; 17: 108.

3) Korn EL, Freidlin B. Adaptive clinical trials : advantages and disadvantages of various adaptive design elements. J Natl Cancer Inst 2017; 109: djx013.

Membres : Bernard Asselain, Jacques-Olivier Bay, Jean-Marc Classe, Marie-Christine Etienne Grimaldi, Jean-Christophe Faivre, Florence Joly, Patricia Kannouche, Christophe Letourneau, Daniel Olive, Jean-Marc Pascussi, Thierry Petit, Philippe Pourquoiier, Alain Puisieux, Laurent Quero, Sofia Rivera, Jacques Robert, Benoît Rousseau, Pierre Saintigny, Pierre Soubeyran, Marie Wislez



Société Française du Cancer

Hôpital Saint Louis

1 avenue Claude Vellefaux

75475 PARIS Cedex 10

Tél. : 33 0 6 17 44 70 76

Mail : info@sfc.asso.fr

Site : www.sfc.asso.fr

[Cliquez sur ce lien pour vous désabonner](#)