



**HAL**  
open science

# Ciblage thérapeutique du microenvironnement tumoral : exemple du cancer du pancréas

Rémi Samain

► **To cite this version:**

Rémi Samain. Ciblage thérapeutique du microenvironnement tumoral : exemple du cancer du pancréas. Sciences pharmaceutiques. 2014. dumas-00982939

**HAL Id: dumas-00982939**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00982939>**

Submitted on 24 Apr 2014

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

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

## AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SICD1 de Grenoble : **thesebum@ujf-grenoble.fr**

## LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

[http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg\\_droi.php](http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php)

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE JOSEPH FOURIER  
FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année : 2014

N°

**CIBLAGE THERAPEUTIQUE DU MICROENVIRONNEMENT TUMORAL :  
EXEMPLE DU CANCER DU PANCREAS**

THESE  
PRESENTEE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE  
DIPLOME D'ETAT

Rémi SAMAIN

Né(e) le 21 septembre 1988

A Croix (59)

THESE SOUTENUE PUBLIQUEMENT A LA FACULTE DE PHARMACIE DE GRENOBLE\*

Le : 11 Avril 2014

DEVANT LE JURY COMPOSE DE

Président du jury : Dr Diane Godin-Ribuot

Membres

Dr Anne Briançon-Marjollet (Directeur de thèse)

Dr Jean Breton

Dr Carole Coppo-Ziffel

*La Faculté de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.*

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Christophe RIBUOT**

Vice-doyen et Directeur des Etudes : **Mme Delphine ALDEBERT**

**Année 2013-2014**

**ENSEIGNANTS A L'UFR DE PHARMACIE**

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES (n=12)**

<b>BAKRI</b>	Aziz	Pharmacie Galénique et Industrielle, Formulation et Procédés Pharmaceutiques (TIMC-IMAG)
<b>BOUMENDJEL</b>	Ahcène	Chimie Organique (D.P.M.)
<b>BURMEISTER</b>	Wim	Biophysique (U.V.H.C.I)
<b>DECOUT</b>	Jean-Luc	Chimie Inorganique (D.P.M.)
<b>DROUET</b>	Christian	Immunologie Médicale (TIMC-IMAG)
<b>DROUET</b>	Emmanuel	Microbiologie (U.V.H.C.I) -
<b>GODIN-RIBUOT</b>	Diane	Physiologie-Pharmacologie (HP2)
<b>LENORMAND</b>	Jean Luc	Ingénierie Cellulaire, Biothérapies (THEREX, TIMC, IMAG)
<b>MARTIN</b>	Donald	Laboratoire TIMC-IMAG (UMR 5525 UJF-CNRS)
<b>PEYRIN</b>	Eric	Chimie Analytique (D.P.M.)
<b>RIBUOT</b>	Christophe	Physiologie – Pharmacologie (HP2)
<b>WOUESSIDJEWÉ</b>	Denis	Pharmacotechnie (D.P.M.)

**PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER (n=6)**

<b>ALLENET</b>	Benoit	Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG/MCU-PH)
<b>CORNET</b>	Murielle	Parasitologie – Mycologie Médicale (LAPM, PU-PH)
<b>DANEL</b>	Vincent	Toxicologie (SMUR SAMU / PU-PH)
<b>FAURE</b>	Patrice	Biochimie (HP2/PU-PH)
<b>MOSSUZ</b>	Pascal	Hématologie (PU-PH-THEREX-TIMC)
<b>SEVE</b>	Michel	Biochimie – Biotechnologie (IAB, PU-PH)

**PROFESSEURS EMERITES (n=2)**

<b>CALOP</b>	Jean	Pharmacie Clinique (TIMC-IMAG, PU-PH)
<b>GRILLOT</b>	Renée	Parasitologie – Mycologie Médicale (L.A.P.M)

## MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES (n=32)

<b>ALDEBERT</b>	Delphine	Parasitologie-Mycologie (L.A.P.M)
<b>BATANDIER</b>	Cécile	Nutrition et Physiologie (L.B.F.A)
<b>BELAIDI-CORSAT</b>	Elise	Pharmacologie Physiologie –(HP2)
<b>BOURGOIN</b>	Sandrine	Biochimie – Biotechnologie (IAB)
<b>BRETON</b>	Jean	Biologie Moléculaire / Biochimie (L.C.I.B – LAN)
<b>BRIANCON-MARJOLLET</b>	Anne	Physiologie Pharmacologie (HP2)
<b>BUDAYOVA SPANO</b>	Monika	Biophysique (I.B.S)
<b>CAVAILLES</b>	Pierre	Biologie Cellulaire et génétique (L.A.P.M)
<b>CHOISNARD</b>	Luc	Pharmacotechnie (D.P.M)
<b>DELETRAZ-DELPORTE</b>	Martine	Droit Pharmaceutique (Equipe SIS « Santé, Individu, Société »-EAM 4128)
<b>DEMEILLIERS</b>	Christine	Biochimie (L.B.F.A)
<b>DURMORT-MEUNIER</b>	Claire	Biotechnologies (I.B.S)
<b>GEZE</b>	Annabelle	Pharmacotechnie (D.P.M)
<b>GILLY</b>	Catherine	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
<b>GROSSET</b>	Catherine	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>GUIEU</b>	Valérie	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>HININGER-FAVIER</b>	Isabelle	Biochimie (L.B.F.A)
<b>JOYEUX-FAURE</b>	Marie	Physiologie - Pharmacologie (HP2)
<b>KHALEF</b>	Nawel	Pharmacie Galénique (TIMC-IMAG)
<b>KRIVOBOK</b>	Serge	Biologie Végétale et Botanique (L.C.B.M)
<b>MELO DE LIMA</b>	Christelle	Biostatistiques (L.E.C.A)
<b>MOUHAMADOU</b>	Bello	Cryptogamie, Mycologie Générale (L.E.C.A)
<b>NICOLLE</b>	Edwige	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
<b>OUKACINE</b>	Farid	Chimie Thérapeutique (D.P.M)
<b>PERES</b>	Basile	Pharmacognosie (D.P.M)
<b>PEUCHMAUR</b>	Marine	Chimie Organique (D.P.M.)
<b>RACHIDI</b>	Walid	Biochimie (L.C.I.B)
<b>RAVEL</b>	Anne	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>RAVELET</b>	Corinne	Chimie Analytique (D.P.M)
<b>SOUARD</b>	Florence	Pharmacognosie (D.P.M)
<b>TARBOURIECH</b>	Nicolas	Biophysique (U.V.H.C.I.)
<b>VANHAVERBEKE</b>	Cécile	Chimie (D.P.M)

### **MAITRE DE CONFERENCE DES UNIVERSITES-PRATICIEN HOSPITALIER (n=3)**

<b>BEDOUC</b>	Pierrick	Pharmacie Clinique (THEMAS TIMC-IMAG/MCU-PH)
<b>BUSSER</b>	Benoit	Pharmacie (MCU-PH-IAB-INSERM)
<b>GERMI</b>	Raphaëlle	Microbiologie (U.V.H.C.I/MCU-PH)

### **PROFESSEUR CERTIFIE (PRCE) (n=2)**

<b>FITE</b>	Andrée	P.R.C.E
<b>GOUBIER</b>	Laurence	P.R.C.E

### **PROFESSEURS ASSOCIES (PAST) (n=4)**

<b>BELLET</b>	Béatrice	Pharmacie Clinique
<b>RIEU</b>	Isabelle	Qualitologie (Praticien Attaché – CHU)
<b>TROUILLER</b>	Patrice	Santé Publique (Praticien Hospitalier – CHU)

### **PROFESSEUR AGREGE (PRAG) (n=1)**

<b>GAUCHARD</b>	Pierre-Alexis	(D.P.M)
-----------------	---------------	---------

### **ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES (AHU) (n=3)**

<b>CHANOINE</b>	Sébastien	Pharmacie Clinique (UF-CHU)
<b>GARNAUD</b>	Cécile	Parasitologie-Mycologie
<b>VAN NOLLEN</b>	Laetitia	Biochimie Toxicologie (HP2-DNTP-BGM)

### **MEDAILLE D'OR D'ANNE D'INTERNAT SUPPLEMENTAIRE (n=2)**

<b>BERNARD</b>	Delphine	période de 6 mois – novembre 2013 à avril 2014
<b>GAUTIER</b>	Elodie	période de 6 mois – mai 2014 à novembre 2014

### **ATER (n= 3)**

<b>BRAULT</b> Julie	ATER	Pharmacologie - Laboratoire HP2 (JR)
<b>GRAS</b> Emmanuelle	ATER	Physiologie-Pharmacologie - Laboratoire HP2 (JR)
<b>LEHMANN</b> Sylvia	ATER	Biochimie Biotechnologie (JR)

### **MONITEUR ET DOCTORANTS CONTRACTUELS**

<b>BEL</b>	Coraline	(01-10-2012 au 30-09-2014)
------------	----------	----------------------------

<b>BERTHOIN</b>	Lionel	(01-10-2012 au 30-09-2014) IMAG-THEREX)	Laboratoire (TIMC-
<b>BOSSON</b>	Anthony	(01-10-2013 au 30-09-2015)	Laboratoire GIN
<b>CAVAREC</b>	Fanny	(01-10-2011 au 30-09-2014) (JR)	Laboratoire HP2
<b>CHRISTEN</b>	Aude	(01-10-2013 au 30-09-2015)	DCM
<b>CRESPO</b>	Xenia	(01-10-2013 au 30-09-2015)	LBGE
<b>LECERF-SHMIDT</b>	Florine	(01-10-2012 au 30-09-2014) (DPM)	Pharmacochimie
<b>LESART</b>	Anne-Cécile	(01-10-2009 au 30-09-2013) IMAG)	Laboratoire (TIMC-
<b>MELAINE</b>	Feriel	(01-11-2011 au 31/10.2014) HP2(JR)	Laboratoire
<b>MORAND</b>	Jessica	(01-10-2012 au 30-09-2014) (JR)	Laboratoire HP2
<b>NASRALLAH</b>	Chady	(01-10-2011 au 30-09.2013) HP2(JR)	Laboratoire
<b>OUIDIR</b>	Marion	(01-10-2011 au 30-09-2014)	
<b>THOMAS</b>	Amandine	(01-10-2011 au 30-09-2014) (JR)	Laboratoire HP2

#### Professeur Invité

<b>NURISSO</b>	<b>Alessandra</b>	(01/11/13 au 31/12/2013))
----------------	-------------------	---------------------------

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**CIB** : Centre d'Innovation en Biologie

**DPM** : Département de Pharmacochimie Moléculaire

**HP2** : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire

**IAB** : Institut Albert Bonniot, Centre de Recherche « Oncogenèse et Ontogenèse »

**IBS** : Institut de Biologie Structurale

**LAPM** : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes

**LBFA** : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée

**LCBM** : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux

**LCIB** : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie

**LECA** : Laboratoire d'Ecologie Alpine

**LR** : Laboratoire des Radio pharmaceutiques

**TIMC-IMAG** : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation et de Cognition

**UVHCI** : Unit of Virus Host Cell Interactions

## REMERCIEMENTS

Merci à Anne Briançon-Marjollet, pour avoir bien voulu diriger ma thèse, pour ses conseils, pour m'avoir fait confiance, pour sa gentillesse. A bientôt et merci encore.

Merci à Diane Godin-Ribuot, pour avoir accepté la présidence de ma thèse d'abord. Merci surtout pour sa gentillesse et son soutien tout au long de mes études de Pharmacie. Je vous donnerais des nouvelles régulièrement. Merci pour tout.

Merci à Monsieur Jean Breton, pour avoir bien voulu faire partie de mon jury, pour l'intérêt qu'il a porté à mon sujet de thèse, et pour ses remarques et conseils. Merci beaucoup.

Enfin, merci à Carole Coppo-Ziffel, pour toute sa gentillesse, ses conseils, ses encouragements, sa confiance. Vous m'avez beaucoup aidé pour la fin de mes études. Merci beaucoup...

## DEDICACES

Merci à tous les copains, les copines, qui ont été autour de moi pendant ces longues études, et qui sont toujours là. Vous comptez beaucoup...

Merci à mes parents, pour tout ce qu'ils ont fait pendant ces très longues études, et pour tout ce qu'ils continuent à faire pour moi. Je ne vous remercierai jamais assez...



## Table des matières

<b>LISTE DES ABREVIATIONS .....</b>	<b>7</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>9</b>
<b>I) PHYSIOPATHOLOGIE ET TRAITEMENTS CONVENTIONNELS DU CANCER DU PANCREAS.....</b>	<b>11</b>
1) Description du pancréas .....	11
1- Anatomie .....	11
2- Physiologie .....	12
2) Tumeurs du pancréas .....	14
1-Généralités.....	14
2- Adénocarcinome canalaire du pancréas (PDAC) .....	18
3- Autres tumeurs .....	21
3) Traitements .....	23
1- Traitements locaux .....	24
2- Traitements systémiques : Chimiothérapie.....	27
3- Thérapies ciblées .....	30
<b>II) MICROENVIRONNEMENT DU CANCER DU PANCREAS .....</b>	<b>33</b>
1) Origine du microenvironnement.....	33
2) Fibroblastes associés au cancer .....	36
3) Matrice extracellulaire.....	42
4) Cellules immunitaires.....	46
5) Cellules endothéliales.....	49
<b>III) TRAITEMENTS CIBLANT LE MICROENVIRONNEMENT .....</b>	<b>54</b>
1) Ciblage des fibroblastes associés au cancer.....	54
2- Ciblage de la réponse stromale.....	57
3) Ciblage de la réaction immunitaire.....	63
4) Ciblage des cascades de signalisation microenvironnement-induites.....	67
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>70</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>71</b>
<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>78</b>
<b>SERMENT DE GALIEN .....</b>	<b>80</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

**PDAC** : adénocarcinome canalaire du pancréas

**ACE** : antigène carcino-embryonnaire

**PanIN** : pancreatic intraepithelial neoplasia

**MAPK** : mitogen-activated protein kinase

**PI3K** : phosphoinositide-3 kinase

**TGF- $\beta$**  : transforming growth factor  $\beta$

**DPC4** : depleted in pancreatic cancer 4

**DPC** : duodéno pancréatectomie

**EGFR** : epidermal growth factor receptor

**VEGF** : vascular endothelium growth factor

**CAF** : cancer-associated fibroblast

**CTGF** : connective tissue growth factor

**PDGF** : platelet-derived growth factor

**FGF-2** : fibroblast growth factor-2

**SHH** : sonic Hedghog

**IGF** : insulin growth factor

**SDF-1** : stroma-derived factor-1

**ECM** : matrice extracellulaire

**TEM** : transition épithélio-mésenchymateuse

**$\alpha$ -SMA** :  $\alpha$ -smooth muscle actin

**NGF** : nerve growth factor

**EGF** : epithelial growth factor

**HGF** : hepatocyte growth factor

**TNF** : tumor necrosis factor

**MCP** : monocyte chemotactic protein

**IL** : interleukine

**STAT3** : signal transducer and activator of transcription 3

**HIF-1** : hypoxia-induced factor-1

**MMP** : métalloprotéases de la matrice

**TIMP** : tissu inhibiteur de métalloprotéases

**5-FU** : 5-fluorouracile

**FAK** : focal-adhesion kinase

**CXCR** : récepteur de chimiokine

**FAP** : fibroblast-activated protein

**TAM** : tumor-associated macrophage

**TSP-1** : thrombospondine-1

**CSF-1** : colony stimulating factor-1

**MDSC** : myeloid-derived suppressive cell

**NK** : natural killer

**LTreg** : lymphocyte T régulateur

**CTLA-4** : cytotoxic T-lymphocyte antigen-4

**HO-1** : hème oxidase-1

**CA-IX** : anhydrase carbonique IX

**IFN- $\gamma$**  : interféron gamma

**GM-CSF** : granulocyte-macrophage colony-stimulating factor

**NOS** : nitric oxide synthase

## INTRODUCTION

Le cancer du pancréas reste actuellement un des cancers les plus agressifs, avec une espérance de vie à 5 ans toujours inférieure à 5%, et une survie moyenne de six mois après le diagnostic malgré les nouvelles thérapies ciblées développées. En France, il constitue la quatrième cause de décès par cancer bien qu'il soit le huitième en termes d'incidence. Le nombre de nouveaux cas de cancer du pancréas va augmenter de plus de deux fois, et le nombre de décès associés de 2,4 fois dans le monde d'ici 2030. Cette mortalité dramatique est en partie expliquée par son diagnostic trop tardif, à cause de l'absence de symptômes spécifiques lors du développement de ce cancer. En effet, plus de 70% des patients présentent des métastases au moment du diagnostic, ce qui rend la résection inutile. De plus, ces tumeurs solides présentent une résistance à toutes les thérapies alternatives actuelles (chimiothérapies, irradiation ou thérapies ciblées). Il est donc urgent de rechercher de nouvelles options thérapeutiques pour ce cancer.

Il a été largement démontré que le microenvironnement tumoral jouait un rôle majeur sur la croissance, et l'invasion tumorale, de même que sur la résistance aux chimiothérapies. Le microenvironnement, dans l'adénocarcinome du pancréas (le plus fréquent des cancers pancréatiques), est caractérisé par une forte réaction desmoplasique fibreuse qui consiste en une matrice extracellulaire très dense associée à une composante cellulaire (fibroblastes, cellules inflammatoires et endothéliales). Une communication étroite et complexe entre les cellules cancéreuses et ces cellules du stroma tend à rendre les cellules cancéreuses plus propices au développement tumoral. En sécrétant des protéines de la matrice extracellulaire et des facteurs solubles à activité pro-tumorale, ces cellules stromales favorisent la survie, l'invasion et la chimiorésistance des cellules cancéreuses. D'autre part, l'hypovascularisation

résultant de cette réaction fibreuse dense contribue fortement à la chimiorésistance, notamment par inaccessibilité des drogues à la tumeur.

Le but de ce travail est d'abord de décrire les connaissances actuelles sur la physiopathologie du cancer du pancréas et particulièrement de l'adénocarcinome canalaire du pancréas, ainsi que sur les traitements conventionnels actuellement utilisés. Ensuite, l'objectif sera de détailler la composition du microenvironnement caractérisant cette tumeur, en insistant sur les types cellulaires qui le composent et sur la composition de la matrice extracellulaire, ainsi que sur les interactions entre cellules tumorales et stroma. Cette partie nous permettra de comprendre pourquoi de nouvelles thérapies ciblant ce microenvironnement sont développées, et dont la synthèse sera réalisée dans la dernière partie de ce travail afin de démontrer l'intérêt et l'aspect prometteur de celles-ci.

# I) PHYSIOPATHOLOGIE ET TRAITEMENTS CONVENTIONNELS DU CANCER DU PANCREAS

## 1) Description du pancréas

### 1- Anatomie

Le pancréas est une glande digestive accessoire, située dans l'espace rétro-péritonéal, dans la partie supérieure de l'abdomen, en arrière de l'estomac, et s'étend entre le duodénum et la rate. Il a une forme allongée, et mesure environ 15 cm pour un poids de 70 g. Il présente trois parties : la tête qui correspond à la plus large partie, encadrée par le duodénum, et qui est traversée par la voie biliaire principale ou canal cholédoque ; le corps, la partie horizontale qui s'étend en avant du rein gauche et de la glande surrénale ; la queue qui correspond à la partie terminale la plus effilée et qui est dirigée vers la gauche, à proximité immédiate de la rate et de ses vaisseaux (Figure 1) (1).

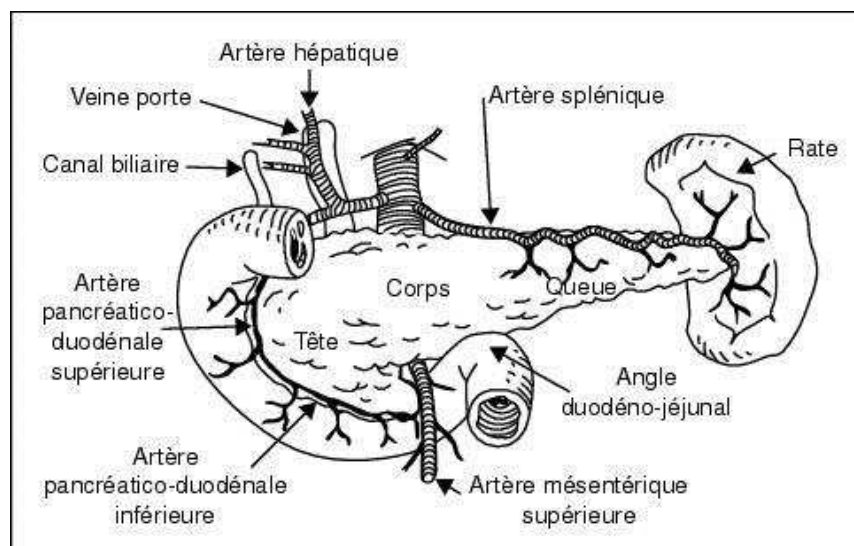
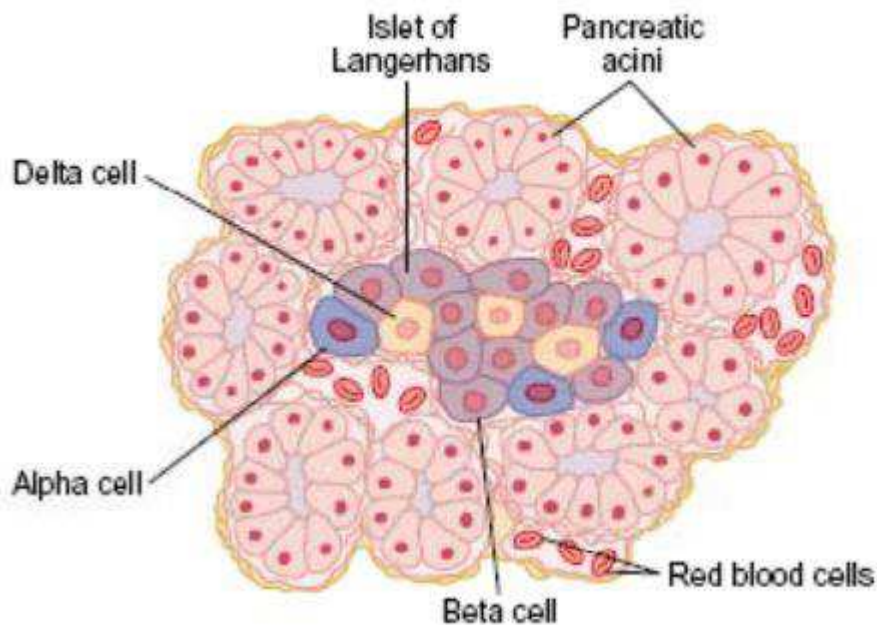


Figure 1: Anatomie du pancréas (D'après Habal F. Le pancréas)

Le pancréas est traversé dans toute sa longueur par le canal pancréatique principal : le canal de Wirsung, qui collecte les sucs digestifs pour les déverser dans le duodénum. Dans un pancréas sain, le tissu est fragile, mou, et le canal de Wirsung a un diamètre de 1,5 à 2 mm. Le pancréas est une glande amphicrine, c'est-à-dire que le tissu pancréatique comprend une partie endocrine et exocrine. La partie exocrine correspond à plus de 80% de la masse du pancréas ; elle est composée des cellules acineuses qui secrètent les enzymes digestives, et des cellules canalaire et centro-acineuses qui secrètent le suc pancréatique et les électrolytes, particulièrement le bicarbonate (2).

## **2- Physiologie**

Le pancréas endocrine est impliqué dans la synthèse d'hormones. Cette synthèse se fait par les îlots de Langerhans, des amas cellulaires de 200 à 300  $\mu\text{m}$  qui présentent une vascularisation très riche, ainsi qu'une forte innervation sympathique et parasympathique. Ces îlots sont composés de quatre types cellulaires : les cellules alpha pour environ 20-30%, elles sont plutôt localisées en périphérie des îlots et secrètent le glucagon (hormone hyperglycémiant) ; les cellules bêta, environ 60-70%, qui sont localisées au centre des îlots et secrètent principalement l'insuline ; les cellules delta et les cellules F, 10% des îlots, en périphérie des îlots, secrètent respectivement la somatostatine et le polypeptide pancréatique (Figure 2) (3).



**Figure 2: Composition cellulaire du pancréas (Faculté de médecine Lyon Sud-Charles Mérieux, Pr J.L. Saumet, 2010).**

La partie exocrine représente 90% de la masse parenchymateuse et est majoritairement composée des cellules acineuses (80%) (Figure 2). Elles secrètent d’abord des protéases, dont la majorité sous forme inactive ou zymogène ; ces enzymes s’activent ensuite dans la lumière de l’intestin sous l’influence de l’entérokinase. Cette enzyme va catalyser l’activation du trypsinogène en trypsine, une peptidase qui va elle-même activer plusieurs peptidases pancréatiques pour digérer les protéines, carbohydrates et graisses ingérés. Cette sécrétion d’enzymes sous forme inactive forme un mécanisme protecteur empêchant la production de protéines de digestion dans la glande pancréatique. Les autres peptidases sont la chymotrypsine qui agit sur les acides aminés aromatiques, l’élastase qui agit sur les protéines du tissu conjonctif, la kallikréine, et les carboxypeptidases qui sont des expopeptidases. Des



enzymes glycolytiques, comme l'amylase, sont également libérées par les acinis. Elle catalyse l'hydrolyse de liaisons glucosidiques. Des enzymes lipolytiques (lipase, cholestérol hydrolase et phospholipase A2) sont également secrétées et permettent la dégradation des triglycérides, du cholestérol et des phospholipides alimentaires. Enfin, des nucléases sont produites par le pancréas et dégradent les acides nucléiques. Le produit de sécrétion est déversé dans des canaux excréteurs dont le principal est celui de Wirsung, qui rejoint le duodénum par l'ampoule de Vater. Les cellules canalaire sont quant à elles majoritairement responsables de la sécrétion hydroélectrolytique. Les sécrétions pancréatiques acineuses et canalaire sont régulées par des stimuli neuronaux et endocrines. Ces sécrétions sont stimulées principalement par la cholécystokinine et la sécrétine pour les acinis et les cellules canalaire respectivement. D'autres hormones, comme la somatostatine et le polypeptide pancréatique, inhibent les sécrétions (2–4).

## **2) Tumeurs du pancréas**

### **1-Généralités**

En 2012, le cancer du pancréas a touché 5700 femmes et plus de 5900 hommes (Figure 3), et environ 300000 personnes dans le monde, particulièrement dans les pays industrialisés. Il est le 7<sup>ème</sup> cancer le plus fréquent chez la femme et le 8<sup>ème</sup> chez l'homme (5). Du fait du pronostic dramatique de ce cancer, la mortalité est virtuellement très proche. En effet, la survie moyenne à 5 ans reste inférieure à 5%, et la plupart des patients décèdent dans les 6 mois suivant le diagnostic. Cette mortalité élevée en fait le quatrième cancer le plus mortel en France (6).

Homme	Incidence			Mortalité		
	Effectif	Part (%)	Rang	Effectif	Part (%)	Rang
Prostate*	56 841	28,4	1	8 876	10,4	3
Poumon	28 211	14,1	2	21 326	25,0	1
Côlon-rectum	23 226	11,6	3	9 275	10,9	2
Vessie	9 549	4,8	4	3 574	4,2	4
Lèvre, cavité orale, pharynx	8 033	4,0	5	2 465	2,9	7
Rein	7 781	3,9	6	2 651	3,1	6
Foie**	6 867	3,4	7	-	-	-
Pancréas**	5 963	3,0	8	-	-	-
Mélanome de la peau	5 429	2,7	9	954	1,1	9
Estomac	4 308	2,2	10	2 834	3,3	5
Œsophage	3 503	1,7	11	2 653	3,1	6
Larynx	2 821	1,4	12	783	0,9	-
Système nerveux central	2 814	1,4	13	1 761	2,1	8
Testicule	2 317	1,2	14	85	0,1	11
Thyroïde	2 324	1,2	14	145	0,2	10
Hémopathies malignes***	19 400	9,7	-	-	-	-
Autres cancers	10 963	5,5	-	-	-	-
<b>Tous cancers****</b>	<b>200 350</b>	<b>100,0</b>	<b>-</b>	<b>85 255</b>	<b>100,0</b>	<b>-</b>

\* L'estimation 2012 pour l'incidence du cancer de la prostate repose sur l'hypothèse de stabilité de taux d'incidence entre 2009 et 2012]

\*\* Les données de mortalité des cancers du foie et du pancréas ne sont pas présentées du fait d'une moindre fiabilité de ces données par rapport aux autres localisations.

\*\*\* Tous sexes confondus, l'incidence est estimée à 35 000 cas en 2012, plus de 2/3 des cas sont des hémopathies lymphoïdes [Monnereau A, 2013].

\*\*\*\* L'estimation « tous cancers » est obtenue en faisant la somme des estimations par localisation, à laquelle ont été ajoutées les estimations pour les localisations « hémopathies malignes » et pour la localisation « autres cancers ».

Source : [Binder-Foucard F, 2013]. Traitement : INCa 2013.

Femme	Incidence			Mortalité		
	Effectif	Part (%)	Rang	Effectif	Part (%)	Rang
Sein	48 763	31,5	1	11 886	18,8	1
Côlon-rectum	18 926	12,2	2	8 447	13,4	3
Poumon	11 284	7,3	3	8 623	13,7	2
Thyroïde	5 887	3,8	5	230	0,4	-
Corps de l'utérus	7 275	4,7	4	2 025	3,2	5
Pancréas*	5 699	3,7	7	-	-	-
Mélanome de la peau	5 747	3,7	6	718	1,1	13
Ovaire	4 615	3,0	8	3 140	5,0	4
Rein	3 792	2,4	9	1 306	2,1	7
Lèvre, cavité orale, pharynx	3 283	2,1	10	727	1,2	12
Col de l'utérus	3 028	2,0	11	1 102	1,7	10
Vessie	2 416	1,6	12	1 198	1,9	9
Estomac	2 248	1,5	13	1 577	2,5	6
Système nerveux central	2 185	1,4	14	1 291	2,0	8
Foie*	1 856	1,2	15	-	-	-
Œsophage	1 129	0,7	16	791	1,3	11
Larynx	501	0,3	17	123	0,2	14
Hémopathies malignes**	15 600	10,1	-	-	-	-
Autres cancers	10 770	6,9	-	-	-	-
<b>Tous cancers***</b>	<b>155 004</b>	<b>100,0</b>	<b>-</b>	<b>63 123</b>	<b>100,0</b>	<b>-</b>

\* Les données de mortalité des cancers du foie et du pancréas ne sont pas présentées du fait d'une moindre fiabilité de ces données par rapport aux autres localisations.

\*\* Données extraites du 2<sup>e</sup> volume. Tous sexes confondus, l'incidence est estimée à 35 000 cas en 2012, plus de 2/3 des cas sont des hémopathies lymphoïdes [Monnereau A, 2013].

\*\*\* L'estimation « tous cancers » est obtenue en faisant la somme des estimations par localisation, à laquelle ont été ajoutées les estimations pour les localisations « hémopathies malignes » et pour la localisation « autres cancers ».

Source : [Binder-Foucard F, 2013]. Traitement : INCa 2013.

Figure 3 : Epidémiologie des différents cancers en France (Les cancers en France, INCa, 2013)(5)

Le cancer du pancréas survient habituellement entre 60 et 80 ans (plus de 80% des cas), et reste rare avant 50 ans (10% des cas). Il est légèrement plus fréquent chez l'homme que chez la femme (ratio 1,3 : 1). Il n'a pas de cause précise connue, mais de nombreux facteurs de risques ont été identifiés :

- le principal est le tabac, impliqué dans un tiers des cancers du pancréas, il multiplie par trois le risque de survenue ;
- l'alimentation joue un rôle qui est discuté : une alimentation riche en graisses et en protéines, ainsi qu'une consommation excessive d'alcool augmenterait modérément le risque, tandis qu'une consommation importante de fruits et de légumes aurait un léger effet préventif ;
- le diabète peut favoriser légèrement l'apparition d'un cancer, mais le risque de développer un cancer pour un patient diabétique est inférieur à 3% (contre environ 0,01% en moyenne) ;
- enfin, certaines maladies pancréatiques rares comme les pancréatites peuvent favoriser l'apparition du cancer. Les formes familiales génétiques sont rares et représentent moins de 10% des cancers du pancréas, mais la probabilité de développer un cancer dans ces familles est extrêmement augmentée (multipliée par 69) (7).

Les signes d'appel sont souvent aspécifiques, comme la douleur dorsale, les troubles dyspeptiques et les troubles du transit, et ressemblent beaucoup à d'autres désordres digestifs (pancréatite, hépatite, hernie hiatale) ; d'autres sont plus révélateurs comme l'ictère et la pancréatite. Une poussée initiale de pancréatite aiguë est retrouvée dans 15% des cas. Les tableaux cliniques constitués associent à des degrés différents trois signes principaux : l'ictère, la douleur, l'altération de l'état général (amaigrissement surtout). L'ictère est le signe le plus évocateur et devient de plus en plus foncé. La douleur est présente 9 fois sur 10 et constitue le premier symptôme chez plus de deux tiers des patients. Elle varie selon la situation de la

tumeur avec une origine épigastrique ou dorsale, irradiant en ceinture ou vers l'épaule. Elle peut être d'intensité variable, et devient progressivement permanente et inexorable. L'altération de l'état général est quasi constante dans les tumeurs malignes. L'amaigrissement et l'asthénie sont précoces, mal expliqués et sans relation évidente avec le volume tumoral. Des troubles de la glycorégulation sont également fréquents, et une intolérance au glucose est présente chez près de 80% des malades (2,7,8).

Ce manque de symptôme spécifique entraîne un diagnostic très tardif. Les symptômes deviennent plus prononcés avec la progression de la maladie, et le diagnostic repose surtout sur l'association d'une altération de l'état général avec troubles digestifs et l'imagerie médicale (échographie, radiographie, IRM, échoendoscopie, ...). A l'heure actuelle, aucun marqueur tumoral ne permet un diagnostic précoce du cancer du pancréas, mais certains sont utilisés dans la surveillance d'un cancer traité (l'antigène carcino-embryonnaire ACE et le CA 19-9 principalement). L'élévation de ces marqueurs, si elle ne permet pas le diagnostic, est souvent corrélée avec le volume tumoral et joue donc un rôle pronostic (2).

Dans 95 % des cas, la tumeur se développe aux dépens des cellules exocrines : on parle d'adénocarcinome du pancréas. Les autres tumeurs potentiellement malignes du pancréas sont les tumeurs neuroendocrines qui se développent au dépend des cellules des îlots de Langerhans. Elles sont beaucoup plus rares et leur prise en charge diffère totalement.

## 2- Adénocarcinome canalaire du pancréas (PDAC)

Sur 11000 nouveaux cas de cancer du pancréas diagnostiqués chaque année (5), plus de 10000 sont des adénocarcinomes (PDAC). Il représente plus de 90% des cancers de pancréas, et se caractérise par une destruction des cellules acineuses exocrines et l'apparition de cellules cancéreuses ayant un phénotype canalaire. Les cellules cancéreuses de PDAC présentent une ressemblance avec les cellules canalaire pancréatiques au niveau histologique, avec une forme cubique, l'expression d'antigène canalaire (Cytokératine-19), et la croissance dans des structures tubulaires, mais n'ont pas toutes des origines canalaire. L'agressivité de ce cancer s'explique en partie par sa forte propension à disséminer rapidement, associée à sa résistance aux traitements conventionnels et aux thérapies ciblées (2,9). Le PDAC touche souvent la tête du pancréas (70%), ainsi que le corps dans 15% des cas et la queue dans 10%. Une infiltration dans les tissus environnants est souvent retrouvée, notamment dans les vaisseaux lymphatiques, la rate, la cavité péritonéale, et avec l'apparition rapide de métastases hépatiques et pulmonaires (7,8,10). Ce cancer se caractérise aussi par la présence d'un stroma dense et réactif, qui sera décrit dans la deuxième partie de ce travail. Le cancer se développe après trois principales lésions précurseurs, les PanINs, ou « Pancreatic intraepithelial neoplasia », les néoplasies mucineuses kystiques et les néoplasies mucineuses papillaires intracanales. La plus connue et la plus étudiée est la lésion PanIN, qui apparaît avec l'âge. Les PanINs sont des lésions intracanales non-invasives classées par sévérité croissante du niveau 1 au niveau 3 (Figure 4). Les niveaux 1 et 2 correspondent à des lésions précancéreuses, et le niveau 3 à un carcinome *in situ* évoluant vers le PDAC. Les lésions PanIN1 et PanIN2 peuvent être retrouvées dans les pancréas non cancéreux de sujets âgés (retrouvées chez 30% des sujets âgés autopsiés)(11,12).

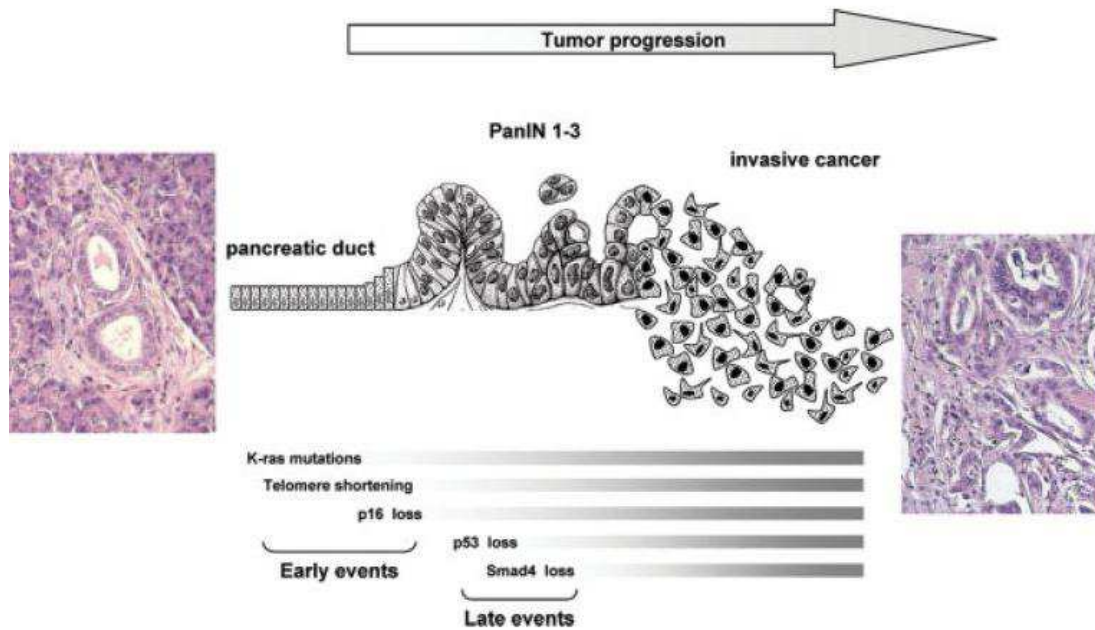


Figure 4: Lésions précurseurs et modifications génétiques impliquées dans le PDAC (Kleeff et al, 2007)(11).

Le développement de ces lésions est associé à l'apparition d'altérations génétiques précoces et tardives (Figure 4). L'activation de l'oncogène KRAS est un des évènements génétiques les plus précoces, qui induit la modification de nombreuses fonctions cellulaires comme la prolifération, la différenciation et la survie via l'activation de nombreuses voies de signalisation, comme la voie *RAF-mitogen-activated-kinase* (MAPK), la voie *phosphoinositide-3-kinase* (PI3K) (Figure 5). Cette mutation est retrouvée dans environ 30% des néoplasies précoces du pancréas, et dans presque 100% des PDAC avancés (2,12,13).

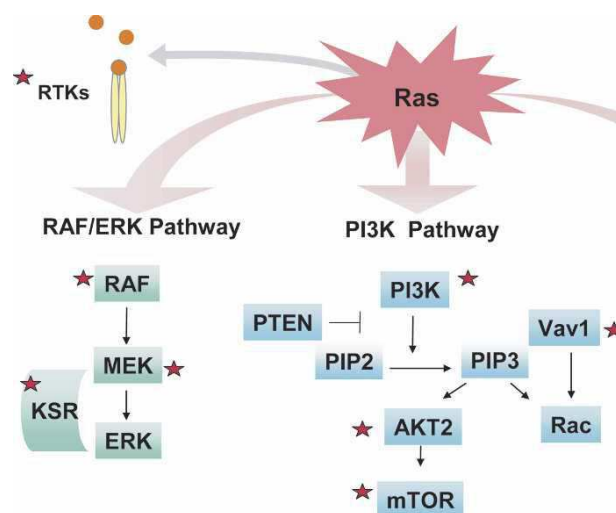


Figure 5: Réseau de signalisation de RAS (Hezel et al, 2006)(12).

La mutation du gène p16 est précoce, retrouvée dans 80% des PDAC, et empêche l'effet de blocage du cycle cellulaire par inhibition de CDK 4/6, ce qui conduit à une augmentation de la prolifération cellulaire. La mutation du gène suppresseur de tumeur p53 est un événement génétique plus tardif, retrouvé dans plus de 50% des PDAC. Le gène p53 est le gène « gardien du génome » ; il permet, lorsqu'une mutation survient, de faciliter l'arrêt du cycle cellulaire et la réparation de l'ADN. Si la réparation est impossible, il permet l'apoptose et l'élimination des cellules mutées. La perte des fonctions de p53 entraîne l'accumulation de lésions génétiques, avec l'augmentation de la croissance et de la survie des cellules portant des aberrations chromosomiques pro-carcinogènes. Enfin, l'inactivation du gène Smad4/DPC4 est tardive, retrouvée dans 50% des PDAC, et conduit à la perte de fonction de ce facteur de transcription essentiel pour l'effet inhibiteur du TGFβ sur la prolifération des cellules cancéreuses (2,4,12).



### **3- Autres tumeurs**

#### **a) Exocrines**

Les cancers exocrines du pancréas sont largement majoritaires. Ils atteignent donc les cellules exocrines qui produisent les sucs digestifs pancréatiques, et sont des adénocarcinomes dans huit cas sur dix. Les autres types de cancers exocrines sont rares, et se traitent plus ou moins de la même manière que les adénocarcinomes canaux. Les tumeurs kystiques, dont la plus fréquente est le cystadénome séreux, atteignent surtout les femmes (ratio 2 : 1). Ils provoquent des kystes remplis de liquide dans le pancréas. La plupart sont bénins, certains peuvent être cancéreux, mais ils sont associés à un meilleur pronostic que les autres types de cancers exocrines. Ils peuvent provoquer des douleurs abdominales ou une dyspepsie dans un tiers des cas. Parmi les autres formes de cancers rares du pancréas, on peut citer les adénocarcinomes polymorphes, les carcinomes adénosquameux (ou adénocanthomes), les carcinomes à cellules acineuses, les micro-adénocarcinomes, les pancréatoblastomes, les oncocytomes malins et les tumeurs acineuses (4,7,8).

#### **b) Endocrines**

Les cancers du pancréas endocrines sont rares (2 à 3% des cancers du pancréas), associés à un meilleur pronostic, et sont aussi appelés tumeurs neuroendocrines. Environ un tiers de ces tumeurs sont dites non fonctionnelles, et ne produisent ni hormones ni symptômes. Ce sont des tumeurs de grande taille, souvent métastatiques d'emblée. Un tiers de ces tumeurs sont dites sécrétrices ou fonctionnelles et produisent des hormones en quantité anormale, ce qui provoque des symptômes particuliers ; elles sont nommées d'après l'hormone qu'elles produisent. Parmi celles-ci, le gastrinome se traduit par une hypersecretion de gastrine et des



ulcères gastroduodénaux résistants aux traitements, avec une survie sans récurrence à 5 ans de l'ordre de 40%. L'insulinome est associé à l'hypersécrétion d'insuline par les cellules  $\beta$  de Langerhans, ce qui provoque une hypoglycémie et des troubles neuropsychiques. Il est traité par exérèse de la tumeur, avec une survie sans récurrence à 5 ans supérieure à 90%. Le somatostatine se développe à partir des cellules  $\delta$  et reste très rare. L'hypersécrétion de somatostatine provoque une stéatorrhée, un diabète et une lithiase vésiculaire. L'exérèse permet une survie sans récurrence de 40% à 5 ans. Les VIPomes secrètent en excès le *vasoactive intestinal peptide*, ce qui provoque des diarrhées sévères. Le traitement associe la chirurgie et les analogues de somatostatine, pour une survie moyenne de 3,5 ans. Enfin, les glucagonomes induisent des diabètes, et se traitent par exérèse de la tumeur, pour une survie moyenne des patients après chirurgie de 3,5 ans (2,4,7).

### **c) Lymphome**

Les lymphomes du pancréas sont des cancers très rares (moins de 0,5% des cas) du système lymphatique. Il s'agit de lymphomes de type B, généralement non hodgkiniens, le plus souvent secondaires et non primitifs (naissance dans le cerveau ou la moelle osseuse). L'imagerie montre une masse dense, mal limitée, infiltrant de manière plus ou moins diffuse le pancréas. Leur traitement est différent des autres cancers pancréatiques et ils répondent très bien à la chimiothérapie.

### 3) Traitements

Différentes possibilités thérapeutiques sont à envisager au moment du diagnostic d'un adénocarcinome du pancréas. Le choix et l'ordre des traitements dépendent beaucoup de l'étendue du cancer, mais aussi de l'âge du patient (Figure 6). L'évaluation du stade du cancer prend en compte la localisation de la tumeur, sa taille et l'étendue de la tumeur vers d'autres organes ou vaisseaux sanguins, l'atteinte des ganglions lymphatiques par les cellules cancéreuses, et la présence de métastases. Selon cette évaluation, un traitement adapté sera réalisé (14,15).

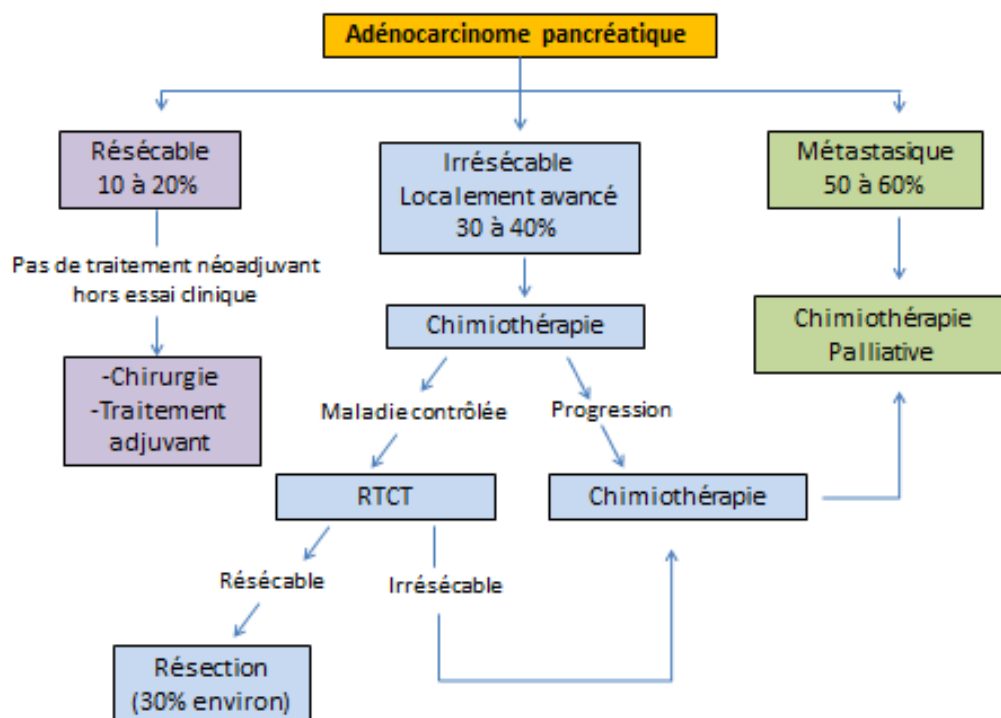
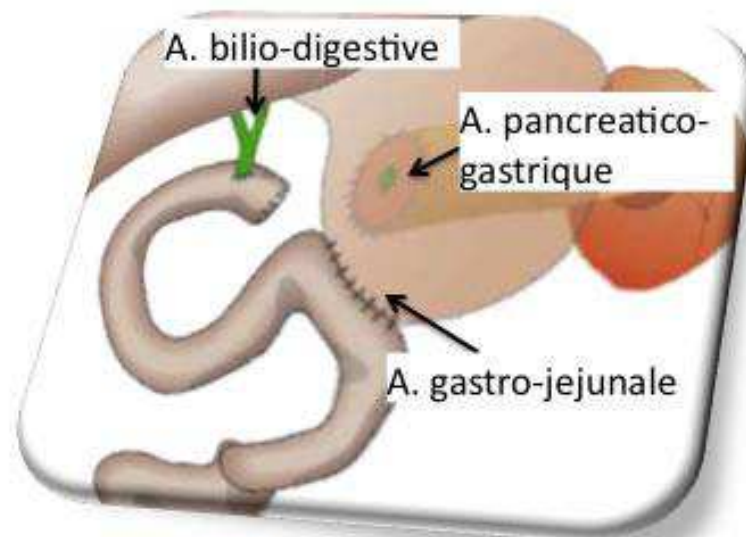


Figure 6: Prise en charge de l'adénocarcinome pancréatique (RTCT : radiothérapie-Chimiothérapie) (adapté de Michl et al, 2013)(16).

## 1- Traitements locaux

### a) Chirurgie

La chirurgie consiste en la résection d'une partie ou de la totalité du pancréas. On parle de duodéno pancréatectomie céphalique (DPC) ou opération de Whipple pour une résection de la tête du pancréas et de l'intestin grêle, ainsi que d'une partie de l'estomac et de la vésicule biliaire. Le rétablissement de la voie biliaire vers l'intestin (anastomose bilio-digestive), du pancréas restant vers l'intestin ou l'estomac (anastomose pancréatico-jéjunale ou pancréatico-gastrique), et de l'estomac vers l'intestin (anastomose gastro-jéjunale) sont ensuite nécessaires pour assurer des fonctions digestives normales (Figure 7). Cette technique est le plus souvent proposée pour les tumeurs de la tête, de la voie biliaire, de l'ampoule de Vater et du duodénum, et présente l'avantage de préserver suffisamment de tissus dans la queue pour produire les différentes hormones et enzymes pancréatiques (17). Une complication post-opératoire apparaît dans 20 à 50% des cas, avec par ordre de fréquence la gastroparésie (absence de reprise d'une alimentation normale après une semaine, 10 à 50%), les infections (1,3 à 13%), les fistules (0,5 à 25%) et l'hémorragie (complication la plus grave, qui apparaît dans 1 à 8% des cas et est responsable de 11 à 38% de la mortalité). La mortalité après intervention est maintenant d'environ 5% dans les centres à grands volumes opératoires (17–19).



**Figure 7: Anastomoses après duodéno pancréatectomie céphalique (Hôpital Saint-Antoine, service de Chirurgie digestive)(17).**

La spléno pancréatectomie gauche est une intervention plus simple, sur la queue du pancréas (la rate est également retirée pour éviter le développement de cellules cancéreuses), mais plus rarement utilisée, car c'est la tête du pancréas qui est la localisation la plus fréquente du PDAC. Enfin, la pancréatectomie totale est une opération possible mais qui est aujourd'hui rarement indiquée, seulement dans certaines formes diffuses de tumeurs intra-canalaires affectant la totalité du canal pancréatique principal. Elle comporte la résection du cholédoque au-dessus du pancréas, l'ablation de la vésicule biliaire, le plus souvent de la totalité du duodénum et plus ou moins d'une partie de l'estomac. Le rétablissement de la continuité digestive est ensuite assurée par des anastomoses hépato-jéjunale et duodéno-jéjunale. L'intervention provoque systématiquement un diabète post-opératoire, ainsi qu'une insuffisance pancréatique exocrine prise en charge par des extraits pancréatiques oraux (20,21).

Malheureusement, les adénocarcinomes du pancréas sont souvent diagnostiqués à un stade avancé, où moins de 20% des patients peuvent être éligibles pour une résection curative.

La chirurgie offre la seule chance de guérison pour le cancer du pancréas, mais les taux de survie restent faibles, avec une médiane de survie de 18 mois pour les patients opérés, et entre 20 et 30% de survie à 5 ans (2,14,21).

La chirurgie n'est utile que dans les seules situations où la tumeur est limitée au pancréas. Il existe de nombreux critères d'irrésécabilité, dont la présence de métastases, d'adénopathies malignes en dehors des marges de résection, d'invasion de l'estomac ou du colon, de gros vaisseaux sanguins risquant de provoquer une hémorragie importante. De plus, l'âge du patient joue un rôle important, avec une mortalité consécutive à l'opération plus importante chez les sujets âgés, en mauvais état général.

## **b) Radiothérapie**

La radiothérapie consiste en l'utilisation de rayons X ou gamma à haute énergie pour détruire les cellules cancéreuses. C'est un traitement local car l'irradiation ne touche que les cellules de la zone traitée (2). Dans le cas du cancer du pancréas, l'irradiation à forte dose est problématique car l'organe a une localisation profonde et il n'est pas toujours possible d'utiliser de fortes doses à cause du risque d'atteinte des tissus sains et des organes à risque (duodénum particulièrement). Elle est surtout utilisée pour traiter les cancers exocrines, car les tumeurs neuroendocrines répondent mal aux radiations. La radiothérapie est toujours associée à la chimiothérapie (très peu efficace seule, 10% de survie à 1 an contre 40% avec l'association au 5-FU en traitement adjuvant (22)) et peut être utilisée en traitement adjuvant, c'est-à-dire après la chirurgie, pour cibler les cellules cancéreuses pouvant persister dans la zone opérée. Les résultats sur l'efficacité sont ambigus : une étude sur 237 patients a montré que la survie

moyenne à 5 ans passait de 20 à 10% lorsqu'on associait la radiothérapie à la chimiothérapie (23). Une autre étude de 2009 montre également que l'association chimio-radiothérapie est bénéfique par rapport à la chirurgie seule (survie moyenne de 20 contre 14,5 mois). Cet effet est significativement meilleur chez les patients ayant une atteinte des ganglions lymphatiques (24). En traitement néo-adjuvant, elle est utilisée avant la chirurgie pour faciliter l'opération et détruire les cellules cancéreuses disséminées localement. Les données existantes et les études réalisées ne permettent pas de conclure vraiment sur l'efficacité de la radiothérapie adjuvante. Les données sont contradictoires et ne permettent pas non plus de conclusion sur son utilisation en association avec la chimiothérapie dans les cancers non-opérables. Un ralentissement de la progression, une légère augmentation de la survie et une prévention des symptômes ont été montrés, mais une plus faible efficacité de la radio-chimiothérapie par rapport à la gemcitabine seule a été retrouvée dans une étude de 2008 (survie moyenne de 8,6 mois contre 13 mois en moyenne) (25).

## **2- Traitements systémiques : Chimiothérapie**

### **a) Chimiothérapies utilisées**

La chimiothérapie peut être utilisée dans trois buts distincts : un but néo-adjuvant, un but adjuvant et un but palliatif. Dans chaque cas, trois protocoles différents sont principalement utilisés : la gemcitabine, le 5-fluorouracile et le FOLFIRINOX (association de 5-fluorouracile, acide folinique, Irinotecan et Oxaliplatine). La gemcitabine est un analogue fluoré synthétique de la déoxycytidine, une base de l'ADN, qui exerce une action anti-métabolite après avoir été phosphorylée dans la cellule. Elle va s'incorporer dans les brins d'ADN qui se répliquent par compétition avec les déoxycytidines triphosphate naturelles, ce qui inhibe la synthèse de l'ADN.

Le 5-fluorouracile, ou 5-FU, est également un anti-métabolite analogue d'une base de l'ARN, l'uracile. Il est le précurseur du FUTP qui va s'incorporer dans l'ARN et inhiber ses fonctions. Plus récemment, le protocole FOLFIRINOX a montré une efficacité supérieure à la gemcitabine, mais avec des effets indésirables toxiques plus importants et donc une altération importante de la qualité de vie. Ce protocole associe le 5-FU ; l'acide folinique (modulateur de l'activité du 5-FU) ; l'irinotécan, un agent antinéoplasique dérivé de la camptothécine qui agit comme inhibiteur de topoisomérase ; et enfin l'oxaliplatine, un sel de platine complexé avec un diaminocyclohexane et un groupe oxalate, qui va interagir avec l'ADN en formant des ponts intra et inter-brins entraînant une interruption de la synthèse de l'ADN. De nombreuses études cliniques ont évalué les efficacités de ces médicaments, en association ou non avec la radiothérapie.

## **b) Chimiothérapie néo-adjuvante**

La chimiothérapie néo-adjuvante, c'est-à-dire avant la chirurgie, n'est pour l'instant utilisée que dans le cadre d'essais thérapeutiques pour les tumeurs résécables pour comparer l'évolution et la survie par rapport à l'exérèse seule. Entre 2010 et 2012, plusieurs méta-analyses ont montré que la fréquence de résection et la survie des patients présentant une tumeur résécable d'entrée était la même avec un traitement néo-adjuvant et avec une exérèse suivie d'un traitement adjuvant. Ces études suggèrent l'absence d'intérêt d'une chimiothérapie néo-adjuvante pour les patients avec une tumeur directement opérable (26,27). Pour les tumeurs localement avancées et irrésécables, on parle de chimiothérapies d'induction, qui vont réduire le volume et l'extension de la tumeur, et ainsi permettre une résection. Dans ce cas, la chimiothérapie a montré un intérêt important, avec 30% des tumeurs initialement non-

opérables qui deviennent résecables après la chimiothérapie, avec une survie comparable aux patients opérables d'entrée. Le traitement de référence en néo-adjuvant est la gemcitabine seule, qui peut être associée à la radiothérapie dans les cancers contrôlés (28).

### **c) Chimiothérapie adjuvante**

La chimiothérapie adjuvante est utilisée en complément de la chirurgie, et augmente significativement la survie des patients. L'utilisation de gemcitabine augmente l'espérance de vie après exérèse complète de la tumeur et chez les patients dont la tumeur s'est étendue aux tissus environnants. Une étude randomisée de 2008 a montré une meilleure survie moyenne (20,5 mois) et à 3 ans (31%) de la gemcitabine par rapport au 5-FU (16,9 mois ; 22%) (15,29,30). En 2013, l'étude LAP07 a évalué l'utilisation de la radiothérapie associée à la chimiothérapie par gemcitabine par rapport à la gemcitabine seule et n'a pas démontré d'efficacité supérieure concluante (15,2 contre 16,4 mois).

### **d) Chimiothérapie palliative**

Dans le cas des cancers du pancréas avancés, avec métastases, les traitements à visée curative ne sont pas une option et les traitements utilisés visent à soulager les symptômes de la maladie. La chimiothérapie peut permettre de réduire la taille du cancer, de soulager les symptômes, d'améliorer la qualité de vie et les capacités fonctionnelles du patient et de permettre au patient de vivre plus longtemps. Les patients doivent être suivis pour les effets secondaires et l'évaluation de la réponse à la chimiothérapie. La gemcitabine seule est toujours la chimiothérapie standard pour les patients atteints d'un cancer du pancréas métastatique



(30). De nombreuses combinaisons de gemcitabine et d'autres médicaments ont déjà été essayées, mais aucune n'a jusqu'à présent montré d'avantages évidents quant à l'allongement de l'espérance de vie des patients. Récemment, la combinaison de gemcitabine et de nab-paclitaxel (paclitaxel lié à l'albumine, qui permet une amélioration de la pharmacocinétique) s'est montrée supérieure au traitement par gemcitabine seule (8,5 mois contre 6,7 mois de survie), mais avec une toxicité supérieure. Par conséquent, cette combinaison peut maintenant être recommandée pour les patients atteints d'un cancer du pancréas métastatique (31). Enfin, une étude a montré des résultats intéressants sur l'utilisation du FOLFIRINOX sur la prolongation de la survie (11,6 mois contre 6,8 mois avec la gemcitabine) et le retardement de la détérioration de la qualité de vie (31,6% contre 66% de patients avec une dégradation définitive de la qualité de vie à 6 mois) (32). Grâce à l'amélioration des résultats du traitement, ce protocole peut être considéré comme une option thérapeutique pour les patients de 75 ans ou moins, qui sont en bon état général et ont une fonction hépatique adéquate, car les effets indésirables sont lourds et difficiles à supporter (33).

### **3- Thérapies ciblées**

Les thérapies ciblées sont des médicaments qui ciblent spécifiquement une protéine ou mécanisme impliqué dans le développement de la tumeur. Ce ciblage réduit ainsi les effets indésirables qui sont consécutifs à l'action sur les cellules saines, comme dans les chimiothérapies classiques. Bien qu'elles soient un des plus grands espoirs d'amélioration, les associations de chimiothérapies et de thérapies ciblées dans le traitement du cancer du pancréas ont pour l'instant été décevantes.

Seule l'association gemcitabine-erlotinib, un inhibiteur de la tyrosine kinase du récepteur du facteur de croissance épidermique humain de type 1 (Epidermal Growth Factor Receptor : EGFR ou HER1, surexprimé dans le cancer du pancréas) a pour l'instant été autorisée en Europe, avec des résultats peu concluants, et un coût très largement supérieur. En effet, pour les tumeurs localement avancées, l'essai clinique LAP07 a démontré en 2013, à postériori, l'absence d'efficacité de l'association gemcitabine-erlotinib. Les patients traités par gemcitabine seule ont montré une survie moyenne de 13,6 mois contre 11,9 mois pour l'association à l'erlotinib (9,34). Notre compréhension de la pathogenèse moléculaire de l'adénocarcinome du pancréas continue à se développer ; avec l'identification des différentes voies moléculaires de la tumorigenèse du cancer du pancréas, des cibles potentielles pour le développement de médicaments ont été isolées et pourraient permettre l'utilisation d'anticorps monoclonaux et les inhibiteurs de petites molécules. Les inhibiteurs des farnésyl transférases comme le tipifarnib permettent d'inhiber l'action pro-tumorale de la protéine K-ras mutée et activée dans le cancer du pancréas (35). En effet, la farnésyl transférase catalyse l'addition d'un résidu farnésyl isoprenoïde, la première modification post-traductionnelle de K-ras, indispensable à son activité biologique. Des essais cliniques de phase I et II ont montré une bonne tolérance, mais une récente étude randomisée de phase III n'a pas montré d'amélioration de la survie moyenne, de la survie sans progression, du taux de réponse et de la qualité de vie par rapport à la gemcitabine seule. Les inhibiteurs de COX-2 (surexprimée dans de nombreux cancers dont celui du pancréas) comme le celecoxib ont montré un ralentissement de la progression des lésions PanIN sur des modèles animaux (10% des animaux traités présentaient des PanINs de type 2 ou 3, contre 40% chez les animaux contrôles) probablement *via* une action sur l'angiogénèse (36). Une étude de phase 2 associant le Celecoxib à la gemcitabine n'a cependant pas montré d'efficacité supérieure par rapport à la

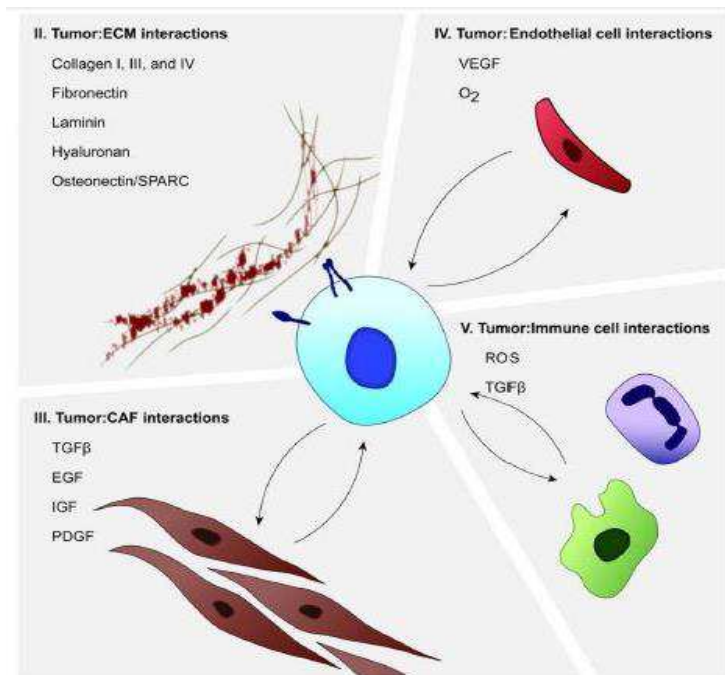
gemcitabine seule (9). Le ciblage de l'EGFR par les anticorps monoclonaux comme le cetuximab avait initialement donné des résultats prometteurs, mais des études récentes ont démontré l'absence d'efficacité de l'association gemcitabine-cetuximab, associée à des effets indésirables plus graves (toxicité cutanée) (34). Les inhibiteurs du facteur de croissance de l'endothélium vasculaire ou VEGF ont également été testés, en association, avec des résultats moyens et sont encore à l'étude (37). D'autres voies de signalisation activées et cibles moléculaires ont été découvertes, comme la voie PI3K/Akt et sont susceptibles d'être utilisées dans le développement de nouveaux agents thérapeutiques.

Enfin, l'agressivité de ce cancer et le manque d'efficacité des thérapies existantes peut en partie être expliqué par la présence d'un microenvironnement dense et actif autour de la tumeur, qui accélère le développement tumoral et empêche l'accès des médicaments (38,39). Les traitements ciblant ce microenvironnement tumoral seront abordés dans la troisième partie de ce travail.

## II) MICROENVIRONNEMENT DU CANCER DU PANCREAS

### 1) Origine du microenvironnement

Le microenvironnement tumoral, ou stroma, est une structure complexe et dynamique caractérisée par une matrice extracellulaire dense et par une composante cellulaire, comprenant des cellules endothéliales, des cellules immunitaires, et des fibroblastes modifiés associés au cancer (ou CAFs) (40). Dans l'adénocarcinome du pancréas, ce stroma représente entre 70 et 90% du volume tumoral (10). Il se développe parallèlement au cancer, et est présent en petite quantité dans les lésions PanIN de niveau I. En revanche, les PanIN de niveau III, équivalentes au carcinome *in situ*, sont associées à une forte augmentation du stroma. Ce stroma activé est aussi appelé réaction desmoplasique, définie par une forte production de tissu fibreux et une activation des composantes cellulaires du microenvironnement (Figure 8) (41). En retour, les composants du microenvironnement, par des actions mécaniques et biologiques complexes, induisent sur les cellules cancéreuses une augmentation de la prolifération, de la croissance, de la résistance à l'apoptose, permettent un échappement immunitaire, une modulation de l'angiogenèse, favorisent l'apparition de métastases et la résistance aux chimiothérapies (Figure 9) (42).



**Figure 8: Interactions entre tumeur et microenvironnement (Whatcott et al, 2013)(41).**

Ce stroma est activé par les cellules épithéliales mutées qui deviennent cancéreuses, et qui secrètent différentes molécules pour modifier son environnement et le rendre plus propice à sa propre survie et croissance (Figure 9). Particulièrement, l'expression du « Transforming growth factor » TGFβ est augmentée et corrélée à des cancers de stades avancés et de mauvais pronostics. Chez l'individu sain, il a plutôt un rôle suppresseur de tumeur, mais un composant majeur de sa voie de signalisation, le gène Smad4, est muté dans les cancers pancréatiques. Il stimule l'activation des fibroblastes en CAFs, augmente l'expression du facteur de croissance du tissu conjonctif (« Connective tissue growth factor » ou CTGF), ce qui va stimuler la production et la modification de la matrice extracellulaire pro-tumorale. Le TGFβ va également inhiber l'expression de métalloprotéases et activer l'expression des inhibiteurs de métalloprotéases, induisant ainsi l'inhibition de la dégradation de la matrice. Le « Platelet-derived growth factor » PDGF et le « Fibroblast growth factor » FGF-2 jouent également un rôle sur l'activation et la prolifération des CAFs, ainsi qu'un effet positif sur la synthèse de la matrice extracellulaire (43).

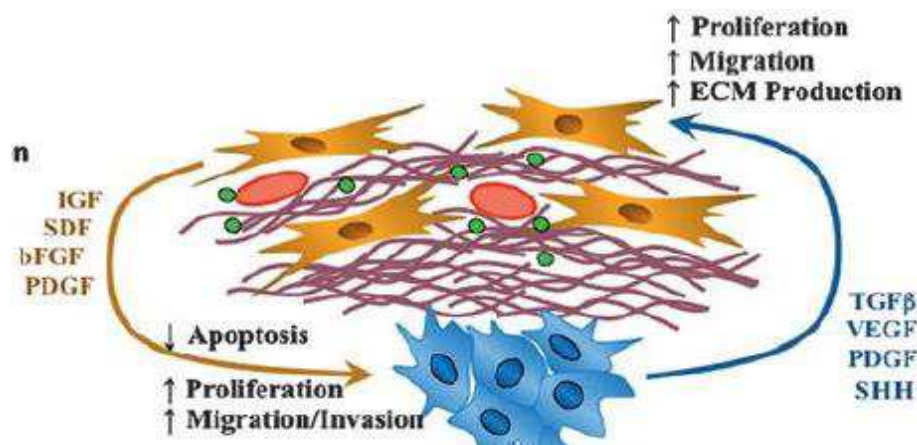


Figure 9: Communication réciproque tumeur-stroma. Cellules bleues : cellules cancéreuses ; cellules oranges : CAFs ; fibres violettes : matrice extracellulaire (adapté de Neesse et al, 2011)(44).

Les cellules cancéreuses secrètent également des métalloprotéases particulières qui vont permettre le remodelage de la matrice extracellulaire et notamment la destruction de la membrane basale, ce qui va favoriser la migration et l'invasion par les cellules cancéreuses, et donc la transition entre carcinome *in situ* et adénocarcinome. De plus, la dégradation de molécules de la matrice par ces enzymes protéolytiques va permettre la libération d'autres facteurs de croissance séquestrés dans le réseau matriciel. Enfin, la voie Hedgehog est une voie de signalisation activée dans plusieurs tumeurs solides, normalement impliquée dans le développement embryonnaire. Les patients présentant un adénocarcinome du pancréas ont des hauts niveaux d'activation de cette voie Hedgehog, à la fois sur les cellules épithéliales cancéreuses et sur les cellules du microenvironnement. Les ligands de cette voie sont sécrétés par les cellules cancéreuses et vont stimuler leur prolifération via l'activation de gènes particuliers (45). Ils vont aussi agir de façon paracrine sur les cellules du stroma qui expriment largement le récepteur « Patched » et la protéine transmembranaire Smo à l'origine de la signalisation Hedgehog. Ces protéines sont particulièrement exprimées sur les fibroblastes, et vont activer leur prolifération et activation, ainsi que leurs effets sur le développement de la

réaction fibreuse. Ces effets sont provoqués par l'activation de la protéine transmembranaire Smo, normalement inhibée par le récepteur « Patched ». La fixation des ligands de la voie Hedgehog libérés par les cellules cancéreuses va libérer SMO qui va activer des facteurs de transcriptions, et provoquer ainsi l'expression de gènes spécifiques (Figure 10) (45).

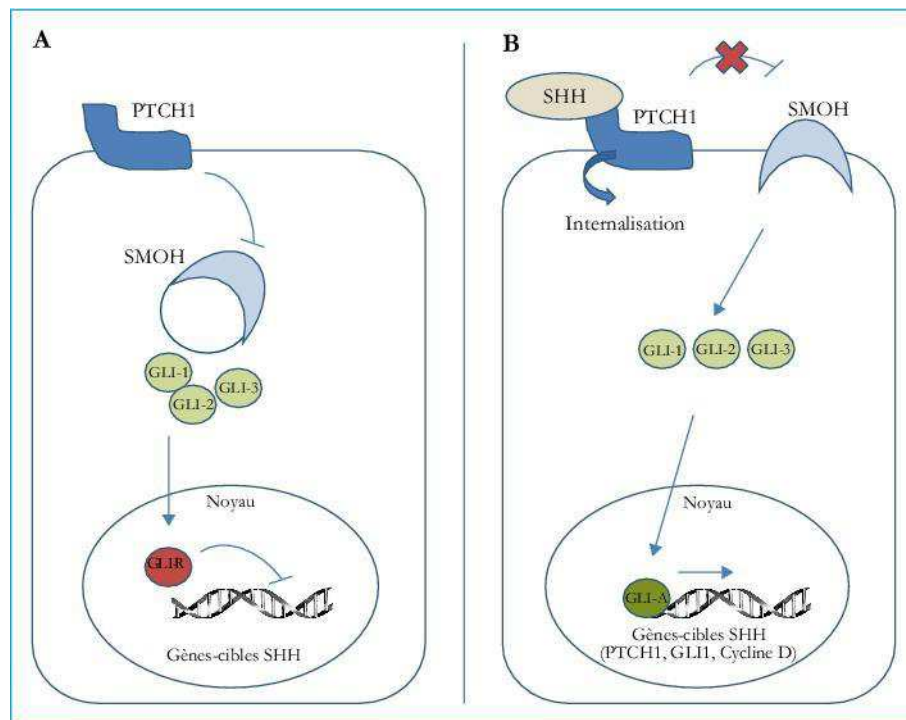
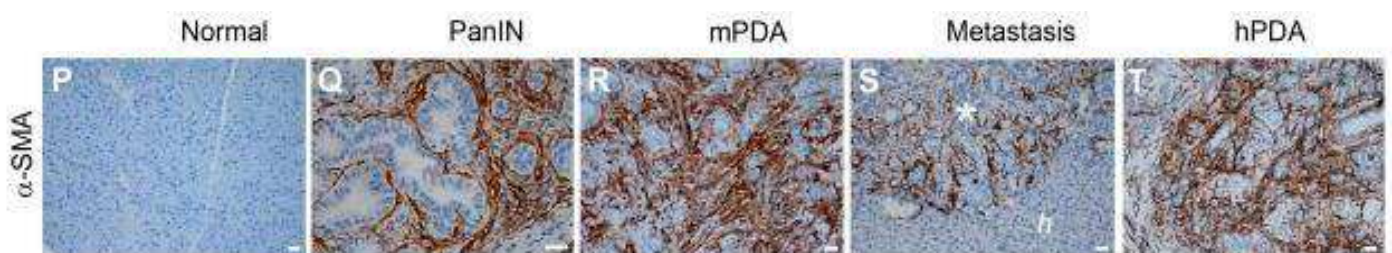


Figure 10: Activation de la voie Hedgehog après fixation d'un ligand SHH (Watson et al, 2010)(45).

## 2) Fibroblastes associés au cancer

Les fibroblastes associés au cancer, ou CAFs, sont un composant majeur du stroma tumoral. Les CAFs résultent la plupart du temps de l'activation de cellules pancréatiques étoilées (quiescentes dans le pancréas sain) suite à la libération de différents facteurs (46). Les CAFs peuvent aussi avoir pour origine le recrutement de cellules souches mésenchymateuses de la moelle osseuse qui seraient mobilisées en cas de lésions, ou encore provenir de la dédifférenciation de cellules épithéliales (transition épithélio-mésenchymateuse) ou

endothéliales. Différentes molécules sont libérées en réponse à un stress, par les cellules épithéliales pancréatiques principalement, et également par les cellules immunitaires et endothéliales, notamment lors de l'apparition de lésions cancéreuses, au cours d'inflammation chronique pancréatique (pancréatite) ou en cas de fibrose et vont activer les cellules quiescentes. D'autres stimuli comme les espèces réactives de l'oxygène peuvent aussi activer les cellules étoilées. Ces molécules sont en particulier des cytokines, comme les interleukines 1, 6 et 8, et des facteurs de croissance, notamment TGF $\beta$ , FGF-2 et PDGF, qui vont provoquer un changement de la morphologie, des capacités fonctionnelles, du taux de prolifération et de la sensibilité aux facteurs mitogènes des cellules étoilées (Figure 12) (47). En situation non cancéreuse d'inflammation ou de cicatrisation, les CAFs finissent par se désactiver. En revanche, ils sont perpétuellement activés dans les cancers. Les CAFs sont phénotypiquement et fonctionnellement différents des fibroblastes classiques. Ils perdent les gouttelettes lipidiques normalement présentes dans les cellules étoilées pancréatiques et expriment le marqueur d'activation  $\alpha$ -SMA (*smooth muscle actin*) (Figure 11).



**Figure 11: Evolution des CAFs au cours du développement du cancer. mPDA : PDAC murin ; hPDA : PDAC humain ; Marquage  $\alpha$ -SMA : CAFs (marron) (adapté de Provenzano et al, 2012)(48).**

Morphologiquement, ce sont des grandes cellules en fuseau, avec un noyau dentelé, un réticulum endoplasmique rugueux et un appareil de Golgi proéminent. Ils présentent un taux



de prolifération plus important que les cellules étoilées. Ils sécrètent massivement des facteurs solubles et insolubles : des protéines, telles que facteurs solubles de croissance, angiogéniques, cytokines / chimiokines, et des composants de la matrice extracellulaire qui se voit remodelée.

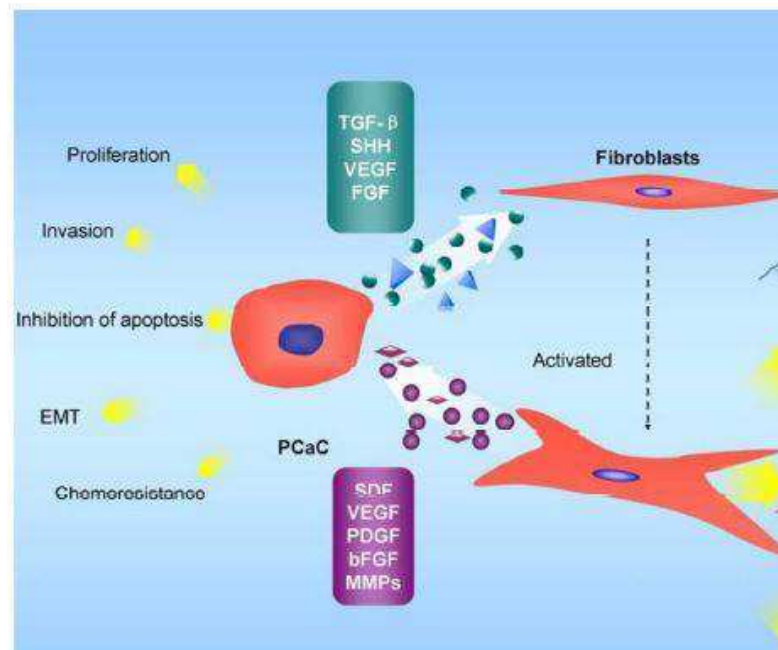


Figure 12: Interactions entre CAFs et cellules tumorales (adapté de Li et al, 2012)(49).

Par l'intermédiaire de ces différentes molécules, les CAFs vont favoriser la croissance tumorale en activant différentes voies de signalisation dans les cellules cancéreuses, favorisant leur prolifération, migration, invasion, et inhibant leur apoptose face notamment à des thérapies, favorisant ainsi la résistance des tumeurs aux chimiothérapies et aux thérapies ciblées (Figure 12) (50). Parallèlement, ils vont également agir sur les différents composants du microenvironnement, cellulaire ou non, et jouer un rôle crucial sur leur développement. Enfin, leurs sécrétions vont aussi avoir une action autocrine, et stimuler ainsi le maintien de leur activation et leur prolifération (Figure 13).

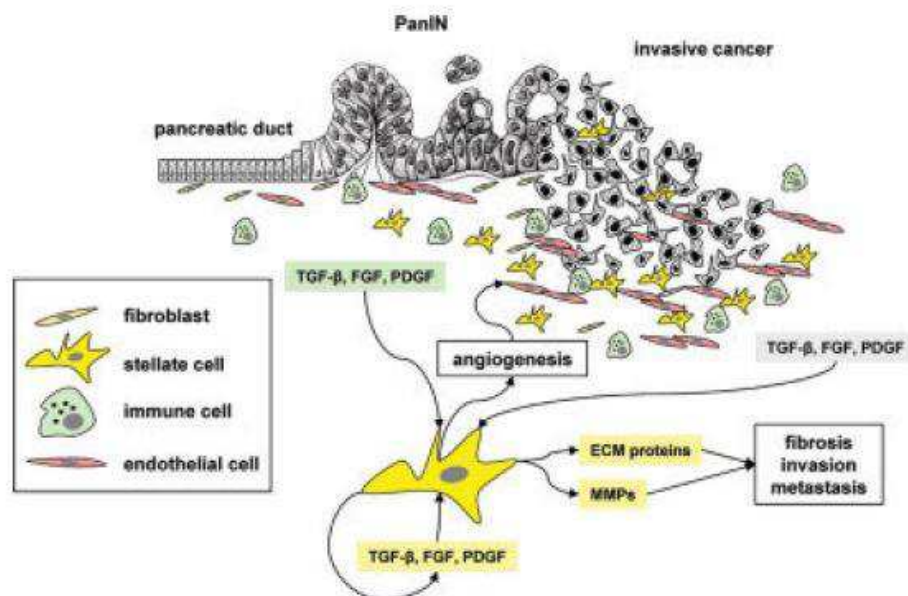


Figure 13: Interactions entre CAFs et microenvironnement (Kleeff et al, 2007)(11).

Plus précisément, ils secrètent des facteurs de croissance comme le HGF, « Hepatocyte growth factor », le IGF, « insulin-like growth factor », le NGF, « nerve growth factor », le EGF, « epithelial growth factor », et le FGF-2. Ces facteurs induisent des signaux de prolifération sur les cellules épithéliales adjacentes avec notamment la libération de protéines anti-apoptotiques, comme la survivine, et des effets sur les voies de prolifération, de survie, et de différenciation comme l'activation de la voie MAPK et l'inhibition de la voie PI3K/AKT (46). Ils vont aussi avoir un rôle sur la migration et la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM), caractérisée par une modification de l'adhésion des cellules cancéreuses à l'épithélium, un changement de polarité et une perte des jonctions cellule-cellule ou matrice-cellule. Elle se manifeste par une réduction de l'expression des marqueurs épithéliaux dans les cellules cancéreuses exposées aux CAFs, comme l'E-cadhérine, une glycoprotéine transmembranaire impliquée dans les liaisons entre cellules épithéliales. La transition implique aussi l'expression

de marqueurs à tendance mésenchymateuse, comme la vimentine, ainsi que la N-cadhérine (Figure 14).

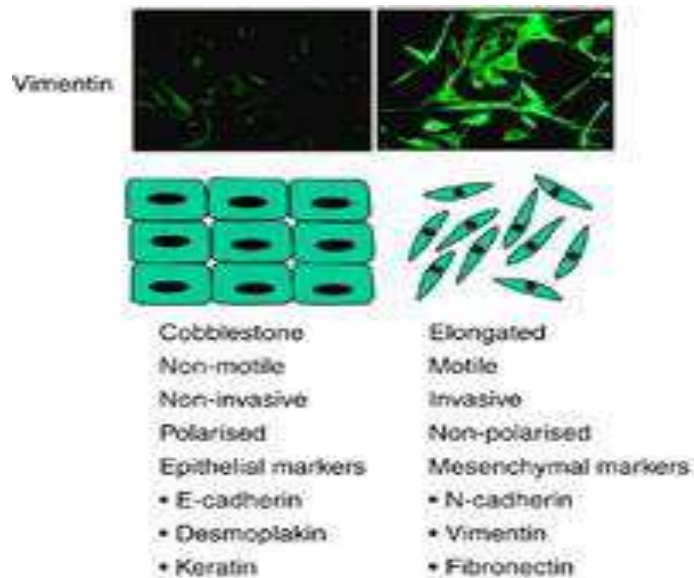


Figure 14: Transition épithélio-mésenchymateuse (Chidgey et Dawson, 2007).

Les CAFs ont aussi un important rôle de modulation de la réponse immunitaire (Figure 15), avec la sécrétion de cytokines comme les interleukines 1, 6, 8, 15, le « tumor necrosis factor » ou TNF, de chimiokines, comme le « monocyte chemotactic protein 1 » ou MCP1, ou de lymphocytes T normaux ou régulateurs. Des études ont aussi montré que les CAFs pouvaient participer à l'échappement immunitaire, en séquestrant les lymphocytes cytotoxiques CD8+ et en diminuant ainsi la réponse immunitaire anti-tumorale (51). Ils modifient aussi les fonctions de cellules immunitaires, en induisant la différenciation des cellules dérivées de la moelle en cellules myéloïdes suppressives, ou MDSC, par la sécrétion de cytokines (IL-6 principalement), de chimiokines (SDF-1), et par une activation du facteur de transcription STAT3 (52). Au niveau de la vascularisation, les CAFs vont également avoir un impact *via* différents mécanismes. Ils expriment des facteurs angiogéniques, comme le VEGF (Figure 15), l'angiopoïétine-1 ou l'IGF

(« Insulin growth factor »). De plus, l'hypoxie retrouvée dans les PDAC stimule la production de HIF-1 ou « hypoxia-inductible factor-1 », par les CAFs, qui joue un rôle de facteur de transcription dans les tissus hypoxiques, et provoque entre autres des réponses pro-angiogéniques.

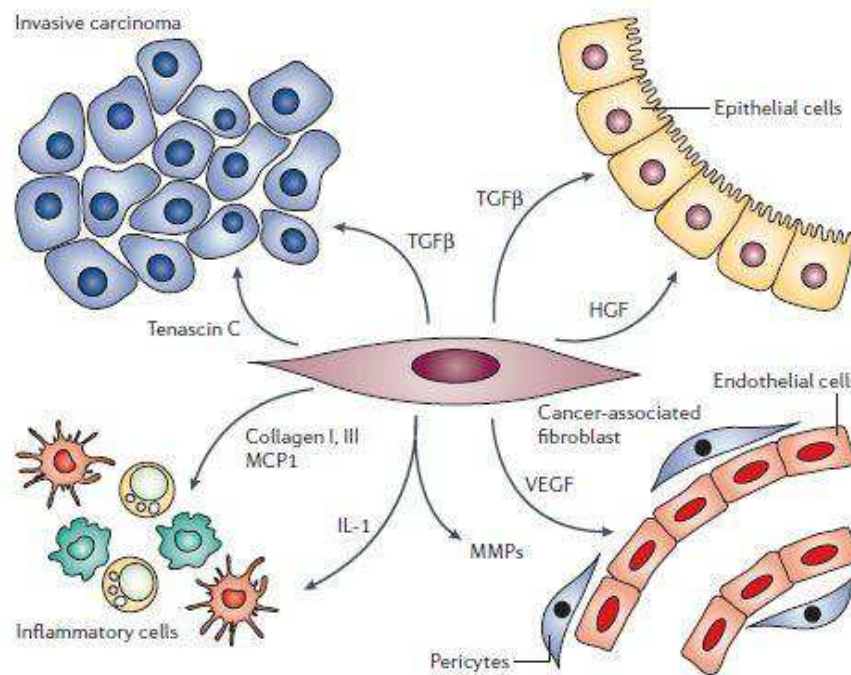


Figure 15: Secrétions des CAFs et action sur la tumeur (Kalluri and Zeisberg, 2006)(46).

De plus, les fibroblastes activés secrètent des protéases qui vont dégrader la matrice extracellulaire, comme les métalloprotéases matricielles MMP2, MMP3, et MMP9 qui dégradent le collagène de type 4 qui compose la membrane basale, facilitant ainsi le renouvellement et la modification de la composition de la matrice. Ces protéases sont associées à l'inflammation, la fibrose, l'angiogenèse et l'invasion tumorale. Les CAFs vont aussi sécréter en quantité excessive des protéines qui vont composer la matrice, particulièrement le collagène fibrillaire de type 1 et 3, la fibronectine, une glycoprotéine jouant un rôle dans l'adhésion cellule-matrice, et la laminine, protéine de la lame basale épithéliale (53).

### 3) Matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire a initialement été considérée comme une barrière contre l'invasion tumorale. Il est ensuite devenu évident qu'elle pouvait en fait modifier, et même induire la cancérogenèse. La matrice influence la croissance, la différenciation, la survie et la mobilité des cellules cancéreuses, à la fois en apportant une structure physique et en étant un réservoir pour différents facteurs solubles qui seront libérés lors de la dégradation de la matrice. La matrice extracellulaire est composée de plusieurs protéines qui jouent des rôles différents dans le développement du cancer (Figure 16, 18) (39).

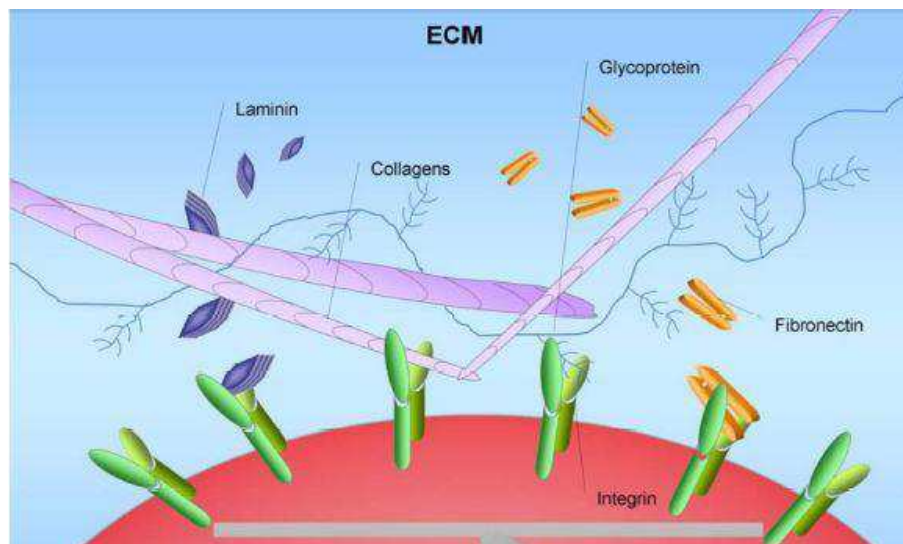


Figure 16: Représentation de la matrice extracellulaire (Li et al, 2012)(49).

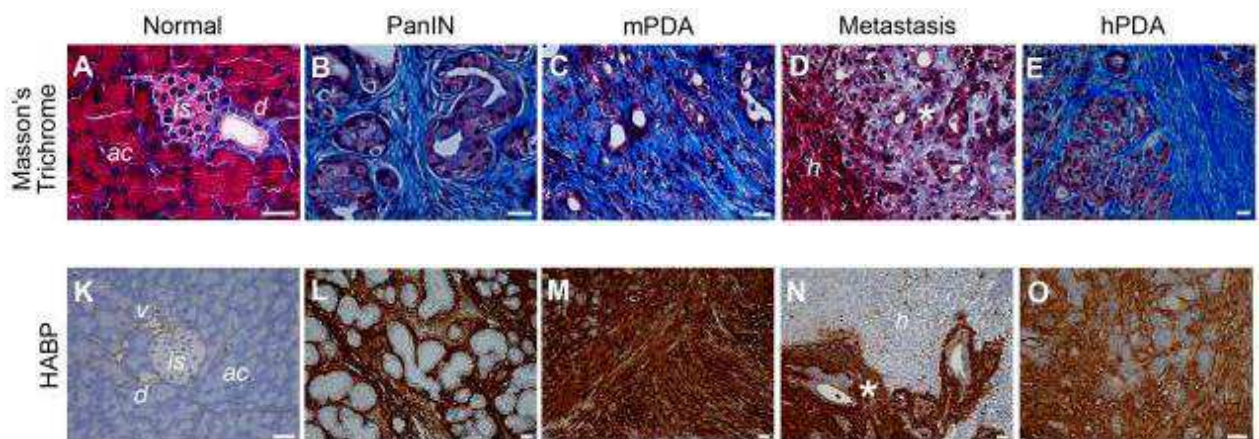
Le collagène est un composant principal de la matrice extracellulaire (Figure 17). La surexpression du collagène de type 1, majoritaire dans la réaction desmoplasique du cancer du pancréas, facilite l'invasion des cellules cancéreuses ainsi que leur résistance à la chimiothérapie. Il a été montré que des cellules cancéreuses traitées par 5-FU en présence de collagène augmentaient leur survie de 62%, en augmentant leur prolifération (incorporation de thymidine radioactive 2,8 fois supérieure pour la culture sur collagène par rapport à la culture

sur plastique) (54). Les cellules cancéreuses qui poussaient sur un gel tridimensionnel de collagène ont aussi montré une acétylation augmentée des histones, avec un effet sur la résistance à la gemcitabine (55). Son action sur le phénotype malin des cellules cancéreuses passe par l'activation de l'intégrine  $\alpha 2\beta 1$  (56), qui peut accélérer la prolifération et la migration des cellules cancéreuses. Il a aussi été montré que ce collagène de type 1 pouvait réguler positivement l'expression de la N-cadhérine, une glycoprotéine transmembranaire retrouvée plutôt dans les phénotypes mésenchymateux et donc migratoires ou métastatiques (57). Il peut aussi moduler l'expression de l'E-cadhérine et de la protéine Snail, deux protéines impliquées dans la transition épithélio-mésenchymateuse à l'origine de l'apparition des métastases. Une étude a montré une réduction de moitié de l'expression de l'E-cadhérine dans les cellules en culture sur collagène de type I par rapport à une culture sur fibronectine, corrélée à une augmentation de la protéine Snail (58).

La fibronectine et la laminine peuvent stimuler la production des espèces réactives de l'oxygène et augmenter la survie des cellules cancéreuses. Il a aussi été montré que la laminine induisait *via* la phosphorylation de FAK une augmentation de la chimiorésistance à la gemcitabine (59), et que la liaison de la laminine-1 à une intégrine stimulerait l'expression de CXCR4 (d'un facteur 2) et de l'IL-8, protéines inflammatoires, dans les cellules cancéreuses (60). De plus, l'expression d'une protéine d'activation des fibroblastes (FAP) entraînerait un changement de l'orientation des fibres de fibronectine, ce qui conduirait à une augmentation de la diffusion et de la mobilité des cellules cancéreuses pancréatiques.

L'acide hyaluronique est un glycosaminoglycane, très abondant dans la matrice des cancers pancréatiques (Figure 17), qui se lie au récepteur CD44 et augmente la survie cellulaire en affectant des voies de signalisation comme PI3K/Akt (48). Il limite aussi la perfusion vasculaire, et limite l'accès des médicaments à la tumeur (61).





**Figure 17: Evolution de la matrice extracellulaire au cours du développement du cancer. mPDA : PDAC murin ; hPDA : PDAC humain ; Coloration trichrome de Masson : marquage du collagène (bleu) ; HABP : marquage de l'acide hyaluronique (marron). Adapté de Provenzano et al, 2012(48).**

Les métalloprotéases sont des protéinases zinc-dépendantes qui jouent un rôle important dans la dégradation de la membrane basale et de la matrice extracellulaire, avant le développement de l'invasion tumorale et l'apparition de métastases. L'utilisation d'un ARN interférence pour bloquer la MMP-2 inhibe l'invasion et l'adhésion des cellules cancéreuses pancréatiques (62). Elles sont secrétées par les CAFs et les cellules cancéreuses et influencent la croissance tumorale. Elles sont corrélées à un mauvais pronostic et une courte durée de survie dans le PDAC, ainsi qu'à la présence de métastases. Les tissus inhibiteurs de métalloprotéases TIMP ont aussi un rôle limitant sur l'invasion et la croissance tumorale et sont sous-exprimés dans les cellules pancréatiques cancéreuses (63).

La périostine, lorsqu'elle est surexprimée, augmente la migration des cellules cancéreuses et est corrélée à une invasion profonde, à des métastases et à un mauvais pronostic (64).

La tenascine C, synthétisée en excès par les CAFs dans les tumeurs pancréatiques, accélère également la progression tumorale et augmente la mobilité des cellules *via* une augmentation de l'activité des métalloprotéases et une diminution des interactions avec les intégrines (65,66).

Les protéoglycanes comme le versicane sont présents abondamment dans les tissus cancéreux (27 fois plus que dans un tissu pancréatique sain) (67) et peuvent réguler l'adhésion, la survie, la prolifération et la migration des cellules cancéreuses pancréatiques en modulant des effets paracrines de facteurs de croissance (68).

Enfin, la thrombospondine, sécrétée par les CAFs (69), peut augmenter l'expression de l'activateur de l'urokinase plasminogène et de son récepteur (70), impliqués dans des cascades de protéolyses et dans la dégradation de la matrice (71), et promouvoir l'invasion et la diffusion tumorale.

<b>Protéine de la MEC</b>	<b>Rôle fonctionnel</b>	<b>Sécrétée par</b>
Collagène de type 1 et 3	Angiogénèse, invasion, métastases, chimiorésistance	CAFs et cellules cancéreuses
Fibronectine	Survie, migration, chimiorésistance	CAFs
Laminine	Liaison aux intégrines, angiogénèse	Inconnu
Acide hyaluronique	Chimiorésistance	Cellules cancéreuses
MMP-2	Liaison aux intégrines, dégradation de la matrice	CAFs (+++), stroma, Cellules cancéreuses
MMP-11	Liaison aux intégrines, dégradation de la matrice	Inconnu
MMP-9	Dégradation de la matrice, invasion	Cellules cancéreuses
Periostine	Invasion tumorale, prolifération, chimiorésistance	CAFs, fibroblastes
Tenascine C	Remodelage tissulaire, croissance tumorale, invasion	CAFs
TIMP	Dégradation de la matrice, prolifération	CAFs, stroma, Cellules cancéreuses
Versicane	Remodelage de la matrice	Cellules cancéreuses
Thrombospondine-1/2	Invasion, angiogénèse	Cellules cancéreuses, CAFs, endothélium

MEC: Matrice extracellulaire; MMP: métalloprotéase; TIMP: Inhibiteur de métalloprotéase

**Figure 18: Composition de la matrice dans le PDAC (liste non exhaustive). Adapté de Lunardi et al, 2013(72).**

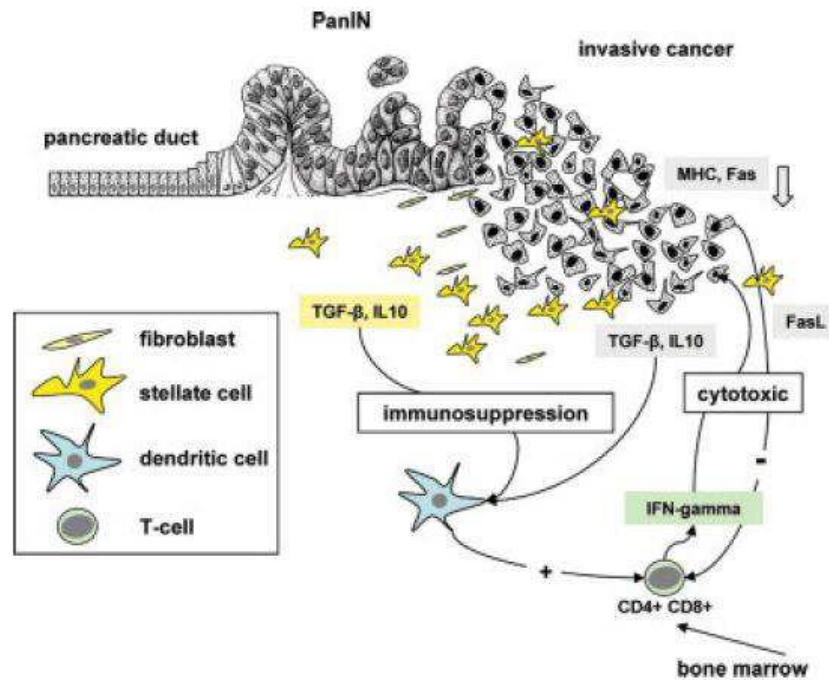
L'accumulation de ces différents composants de la matrice extracellulaire modifie donc l'architecture du tissu pancréatique autour de la tumeur et induit une configuration anormale des vaisseaux lymphatiques et sanguins (72). Cette configuration, associée à la compression des



vaisseaux est en partie responsable de la résistance du PDAC aux traitements systémiques, en induisant une diminution de la perfusion de la tumeur.

#### **4) Cellules immunitaires**

Les relations entre cellules immunitaires et tumeurs ont été précisées récemment. Il apparaît que dans certains cancers, l'inflammation est un constituant important du microenvironnement tumoral. Après une adaptation, un échappement immunitaire survient et la réponse inflammatoire joue un rôle important dans la cancérogenèse, la prolifération, l'angiogenèse, les métastases et la chimiorésistance (73,74). Dans le cas du PDAC, la réponse immunitaire, initialement anti-tumorale impliquant notamment des lymphocytes CD8+ ciblant les cellules cancéreuses, évolue clairement pour devenir pro-tumorale et favoriser le développement du cancer (Figure 20). Cette réponse est principalement constituée par les cytokines anti-inflammatoires comme IL-10 et le TGF $\beta$ , qui sont produites par les cellules cancéreuses, les CAFs et par les cellules immunitaires du microenvironnement (75). Les cellules cancéreuses parviennent à échapper au système immunitaire, soit en échappant à sa détection, soit en y devenant résistantes (Figure 19).



**Figure 19: Interactions entre cellules immunitaires et tumeur (Kleeff et al, 2007). Les cellules cancéreuses et les CAFs provoquent l'immunosuppression *via* la sécrétion de protéines (IL-10, TGF-β, Fas-L) qui vont agir sur les cellules dendritiques et sur les lymphocytes et inhiber leur action cytotoxique(11).**

Au niveau de la réponse innée, les macrophages associés aux tumeurs ou TAMs sont les composants les plus importants. Les macrophages sont recrutés et passent d'un phénotype M1 (pro-inflammatoire) à un phénotype M2 (anti-inflammatoire) sous l'action de cytokines du microenvironnement comme l'interleukine-10, le TGF-β, le SDF-1, la TSP-1 et le CSF-1 (« colony stimulating factor-1 ») (76). Ces cellules sont capables d'inhiber la réponse par les lymphocytes T *via* plusieurs mécanismes comme la production d'espèces réactives de l'oxygène ou la production de cytokines immunosuppressives comme l'interleukine-10 et le TGF-β. Ils jouent aussi un rôle important dans l'invasion en influençant le remodelage de la matrice extracellulaire et en produisant des stimuli chimiotactiques comme le EGF et l'interleukine-1b. Les TAMs sont aussi impliquées dans la transition épithélio-mésenchymateuse ; en co-culture avec des TAMs, les cellules cancéreuses pancréatiques acquièrent un phénotype plus

mésenchymateux avec l'expression de marqueurs comme la vimentine ou une expression réduite de l'E-cadhérine (77).

Les cellules myéloïdes suppressives, ou MDSCs sont des cellules immunitaires d'origine myéloïde à propriétés immunosuppressives. Elles sont retrouvées en plus grandes quantités dans la moelle osseuse et dans le sang périphérique des tumeurs pancréatiques (78). Ce sont des cellules immatures et de précurseurs de cellules dendritiques, de macrophages ou de granulocytes, qui affectent à la fois la réponse innée et adaptative. Leur action passe par plusieurs facteurs, dont la séquestration de cystéine, un acide aminé essentiel à l'activation des lymphocytes T ; par l'expression de hauts niveaux d'arginase, ce qui conduit à un manque de L-arginine nécessaire à la synthèse de protéines par les lymphocytes T ; par la production d'espèces réactives de l'oxygène ou de TGF- $\beta$ . Ces différents facteurs inhibent les fonctions des lymphocytes T et des cellules « Natural Killer » NK. De plus, les MDSCs peuvent induire le développement de lymphocytes T régulateurs immunosuppresseurs (79).

Les lymphocytes T régulateurs appartiennent à la réponse inflammatoire adaptative. Initialement, les cellules cancéreuses pancréatiques expriment des antigènes spécifiques cancéreux qui sont reconnus par les cellules immunitaires T. Les lymphocytes T CD4+ et CD8+ spécifiques de ces antigènes sont retrouvés dans toutes les moelles osseuses des patients présentant un PDAC, et sont retrouvés dans le sang et en infiltration dans la tumeur d'environ la moitié des patients. Ces cellules T effectrices sont associées à un bon pronostic. Cependant, les cellules cancéreuses peuvent induire l'apoptose des lymphocytes T notamment en sécrétant le ligand Fas-L, qui va lier la protéine Fas des membranes des lymphocytes et ainsi provoquer leur apoptose. De plus, l'accumulation de Lymphocytes T régulateurs ou LTreg chez les patients présentant un PDAC (environ 13% des cellules CD4+ totales contre 8% chez le sujet sain) réduit

fortement la réponse immunitaire anti-tumorale. Cette inhibition passe par l'expression de CTLA-4 (Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4), une protéine qui régule négativement la réponse immunitaire, et par la sécrétion d'IL-10 et de TGF- $\beta$  qui bloquent les réponses T antigène-spécifique (80). Les LTreg produisent ainsi un environnement idéal pour le développement de la tumeur. La présence de ces lymphocytes régulateurs est ainsi corrélée à un mauvais pronostic.

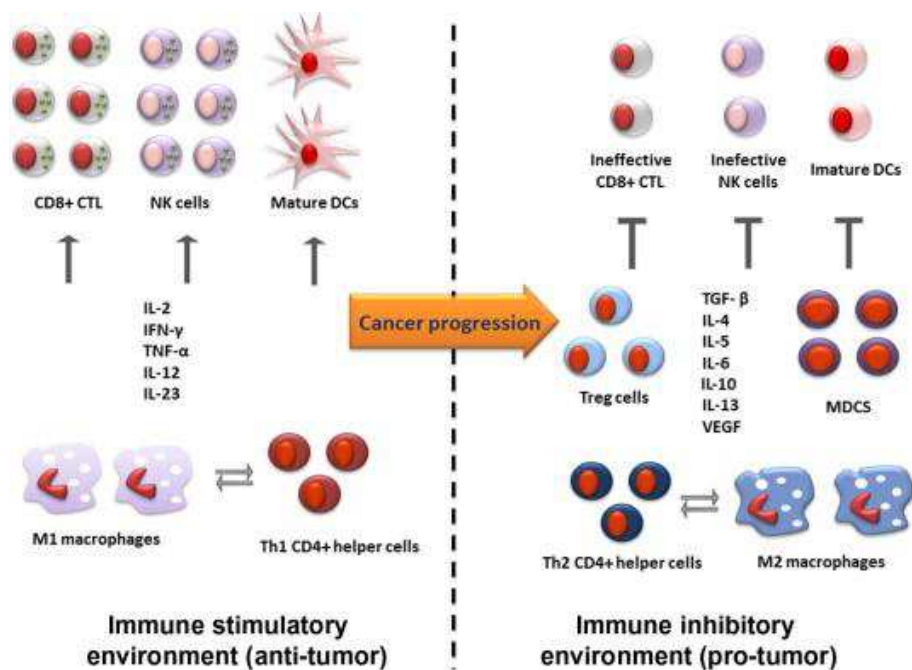


Figure 20: Echappement immunitaire au cours de la progression tumorale (Sideras et al, 2013)(76).

## 5) Cellules endothéliales

Pendant le développement tumoral, la synthèse de nouveaux vaisseaux sanguins est nécessaire pour apporter les nutriments et l'oxygène nécessaires à la croissance. Cette

formation est initiée par le mécanisme de l'angiogenèse, qui contrairement à la vasculogenèse, consiste en la formation de vaisseaux par remodelage de la vascularisation préexistante. Dans les tissus sains, on trouve un équilibre entre facteurs pro- et anti-angiogéniques qui régule la formation de vaisseaux dans certaines conditions (cicatrisation par exemple). Dans les tumeurs, cet équilibre est rompu, et on observe une augmentation des facteurs pro-angiogéniques (VEGF, « Insulin growth factor-1 ») et une diminution des facteurs anti-angiogéniques (Figure 21) (11,81). Ce « switch angiogénique » permet la néovascularisation de la tumeur (9). L'expression accrue du VEGF est corrélée à un mauvais pronostic et à des métastases hépatiques dans le PDAC.

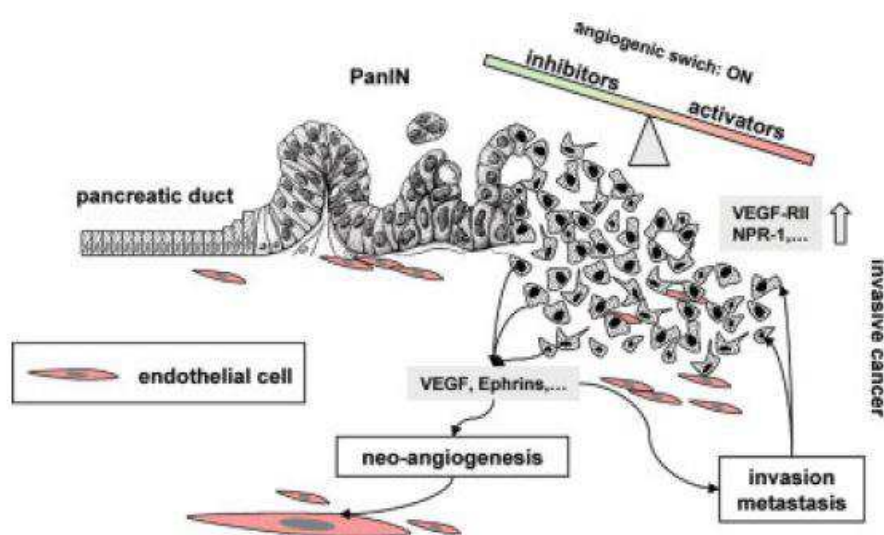
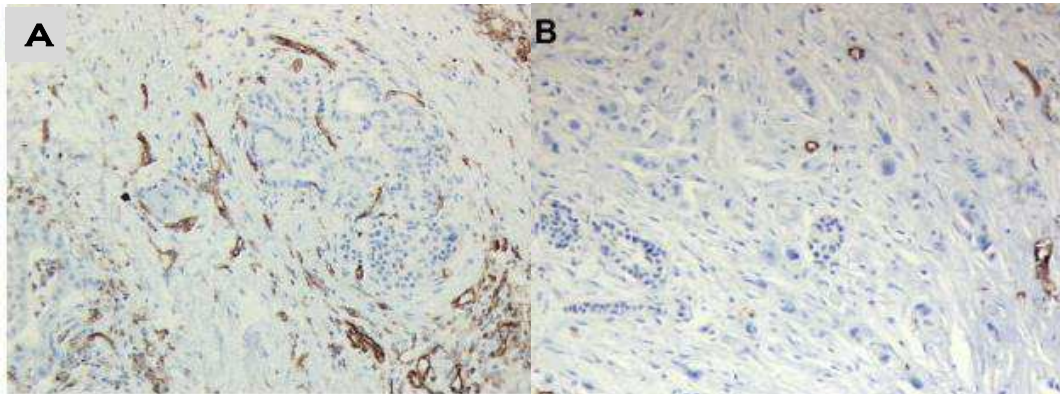


Figure 21: Interactions entre cellules endothéliales et tumeur (Kleeff et al, 2007)(11).

Paradoxalement, le cancer du pancréas est associé à une hypoxie qui résulte du stroma dense qui entoure la tumeur, du manque de vascularisation et à la grande quantité d'apports métaboliques (Figure 22). Elle implique une pression partielle en oxygène entre 2 et 5 mmHg, soit dix fois moins que dans le pancréas sain. La densité des microvaisseaux est hétérogène

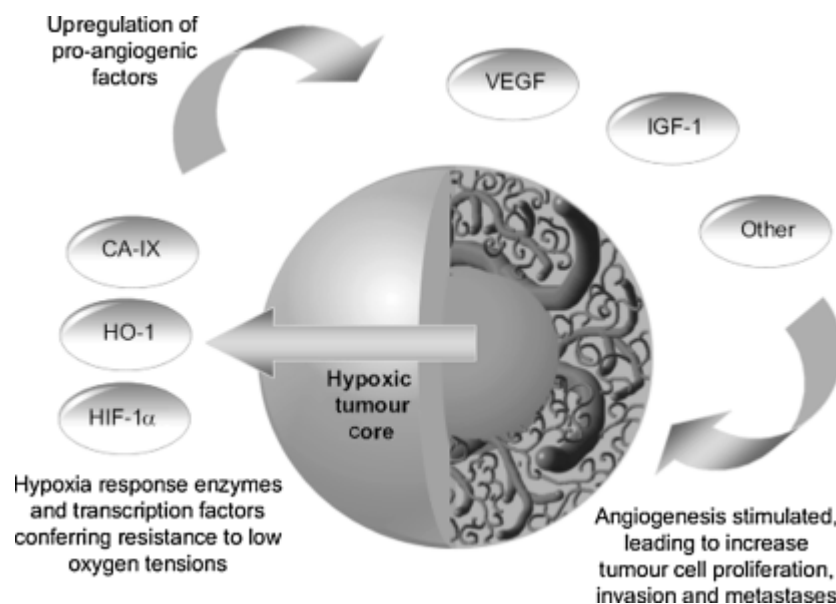
dans le PDAC, avec une densité faible et une hypovascularisation dans les zones où la réaction desmoplasique est dense.



**Figure 22: Marquage immunohistochimique des vaisseaux sanguins (anticorps CD31) d'un tissu pancréatique sain (A) et cancéreux (B) (adapté de van der Zee et al, 2011)(82).**

Des analyses histologiques et des mesures de densité de microvaisseaux montrent également des niveaux de vascularisation plus élevés à la périphérie des tumeurs, dans les zones adjacentes aux tissus néoplasiques. A l'intérieur de la tumeur, les contacts entre cellules cancéreuses et vaisseaux sanguins sont relativement rares (83). Il semble que les cellules cancéreuses pancréatiques s'adaptent aux conditions hypoxiques, avec des changements génétiques et métaboliques (82). De nombreuses études ont montré que les cellules hypoxiques devenaient plus résistantes aux chimiothérapies, et qu'elles présentaient un plus grand potentiel à développer des métastases, ce qui conduit à un cancer beaucoup plus agressif. Cette adaptation aux conditions hypoxiques résulte de la stimulation de différentes voies de signalisation, dont la principale est la voie du « Hypoxia-inductible factor-1 » ou HIF-1 (Figure 23). Cette voie est capable d'induire une large gamme d'expression de gènes qui contrôlent les besoins métaboliques de la cellule, ainsi que leur survie et leur migration (81). Le système « Heame Oxygenase-1 » ou HO-1 apporte une protection contre l'hypoxie *via* la

production de biliverdine qui a une activité de liaison aux radicaux libres. HO-1 a aussi montré un rôle dans l'induction de l'angiogenèse (84). Enfin, l'anhydrase carbonique-IX est une enzyme qui catalyse la conversion du dioxyde de carbone en acide carbonique et qui est impliqué dans plusieurs mécanismes dont la régulation de l'équilibre acido-basique. Cette enzyme a été retrouvée surexprimée dans différents cancers à faible vascularisation, et pourrait jouer un rôle dans la prolifération cellulaire (Figure 23) (85).



**Figure 23: Adaptation tumorale à l'hypoxie et stimulation de l'angiogenèse dans le PDAC (Garcea et al, 2006)(81).**

Ce paradoxe entre hypoxie et hypovascularisation de la tumeur et activation de l'angiogenèse par les cellules cancéreuses et les cellules du stroma conduit au développement d'un cancer extrêmement agressif, chimiorésistant et à forte tendance à l'invasion et aux métastases.

L'agressivité et la résistance aux traitements existants de l'adénocarcinome du pancréas est largement favorisée par son microenvironnement. Le ciblage de celui-ci semble donc être un

axe majeur pour le développement de nouvelles thérapies. La troisième partie de ce travail aura donc pour but de décrire les récentes stratégies thérapeutiques qui ciblent les différents composants du microenvironnement.



### III) TRAITEMENTS CIBLANT LE MICROENVIRONNEMENT

#### 1) Ciblage des fibroblastes associés au cancer

Les angiotensines I et II sont des peptides impliqués dans la régulation de la pression artérielle. *Via* le système rénine-angiotensine-aldostérone, ils peuvent provoquer une vasoconstriction et donc une augmentation de la pression artérielle. Cet effet est classiquement ciblé par des médicaments antihypertenseurs, les inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine I en angiotensine II, et les antagonistes des récepteurs de l'angiotensine II (ARAI ou sartans). Au niveau du microenvironnement, l'angiotensine II favorise l'activation des cellules étoilées pancréatiques en CAFs en stimulant l'expression de  $\alpha$ -SMA et de TGF $\beta$ , avec une implication de la MAP kinase p38. Elle est aussi essentielle à la production de collagène de type I (86). L'utilisation de bloqueurs du récepteur de l'angiotensine et d'inhibiteurs de l'enzyme de conversion de l'angiotensine en association avec la gemcitabine affecte significativement la survie moyenne des patients avec un cancer du pancréas (15,1 mois contre 8,9 avec la gemcitabine seule) (87). L'utilisation d'olmesartan, un antagoniste des récepteurs à l'angiotensine II (ARAI) a montré une inhibition de la croissance tumorale sur des modèles murins avec co-xénogreffe CAFs-cellules cancéreuses. Cette inhibition était corrélée à une diminution de la viabilité des CAFs et de la production de collagène par les CAFs (88). Il a également été montré que le traitement par losartan, un autre ARAI, améliorerait fortement (environ 50%) la concentration de 5-FU au sein de la tumeur en augmentant fortement la vascularisation et la perfusion par une forte diminution du collagène et de l'acide hyaluronique stromal et en diminuant l'expression de signaux pro-stroma (TGF $\beta$ ) (Figure 24).

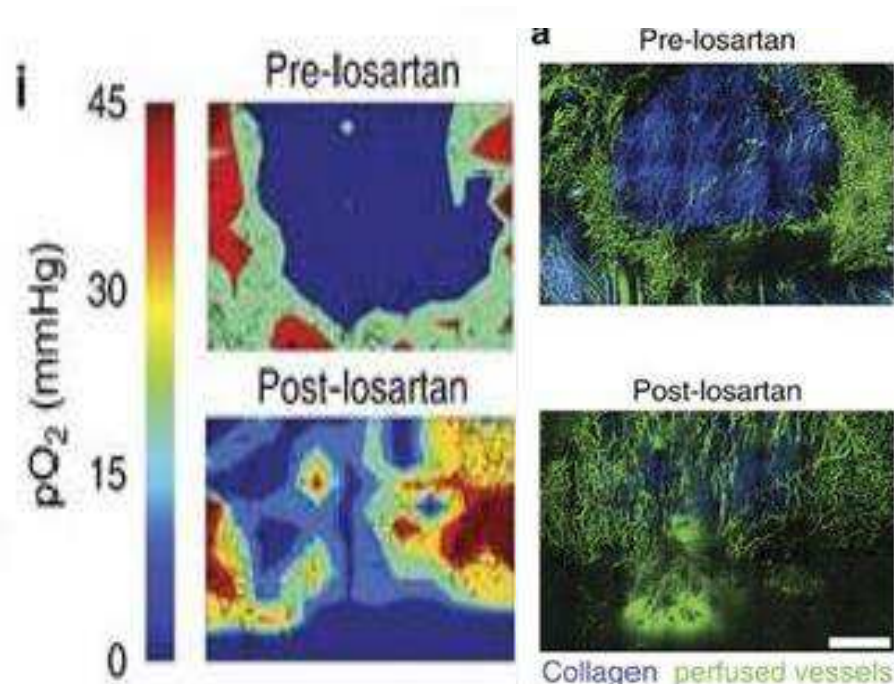


Figure 24: Effets du losartan sur le collagène et la perfusion au sein de la tumeur (Chauhan et al, 2013)(89).

Ils ont également montré que les CAFs exprimaient des hauts niveaux de récepteurs à l'angiotensine I et II et donc que les CAFs étaient des importants médiateurs de cet effet thérapeutique (89). Un essai clinique de phase II en cours associe le losartan au FOLFIRINOX dans le PDAC, avec des résultats attendus en 2015.

L'acide rétinoïque, une petite molécule dérivée de la vitamine A, a récemment montré sur des cultures cellulaires un effet inhibiteur sur la migration des cellules cancéreuses pancréatiques et sur la transition épithélio-mésenchymateuse (diminution d'expression de N-cadhérine, vimentine et Snail). Cet effet passe par une diminution des composants et des sécrétions caractéristiques des CAFs ( $\alpha$ -SMA, FAP, IL-6), et de la production de matrice extracellulaire, ainsi que par une diminution de la transdifférenciation des cellules étoilées en CAFs (90).

Le ciblage de la voie SDF-1-CXCR4 est un axe thérapeutique intéressant. Le récepteur de chimiokine CXCR4 est surexprimé dans l'adénocarcinome du pancréas et est corrélé à un mauvais pronostic (91). Le ligand SDF-1 ou CXCL12 est exprimé par les CAFs, et l'activation du récepteur CXCR4 influence fortement la prolifération, l'invasion, la chimiorésistance des cellules cancéreuses, ainsi que le développement de métastases. L'utilisation d'un antagoniste de CXCR4, le AMD1300, permet de réduire de moitié la survie des cellules cancéreuses pancréatiques traitées par gemcitabine *via* l'inhibition de l'activation des voies de signalisation par le CXCL12, et de réduire le volume tumoral de 15% en 48h (92,93).

Enfin, le TGF $\beta$  joue un rôle majeur sur les CAFs, à la fois sur leur activation et sur leur fort effet pro-tumoral. Il joue en plus un rôle important sur la réponse immunitaire pro-tumorale dans les cancers avancés. Il régule la prolifération, la différenciation et la survie des lymphocytes T, et régule aussi la chimiotaxie et l'activation des leucocytes, cellules dendritiques, macrophages, mastocytes et granulocytes (94). L'inhibition de cette protéine semble donc être une voie intéressante dans le développement de nouvelles thérapies. Le LY2157299, un inhibiteur du récepteur au TGF $\beta$ 1 qui a montré une amélioration de l'efficacité de la chimiothérapie dans le cancer du sein (95), est actuellement testé en association à la gemcitabine dans le cancer du pancréas, dans un essai clinique de phase II (NCT01373164). Un oligodéoxynucléotide anti-sens, le Trabedersen ou AP 12009, a été développé pour inhiber le TGF $\beta$ 2. Il a montré des résultats intéressants dans des essais cliniques de phase II sur des tumeurs gliales connues pour présenter des taux élevés de TGF $\beta$ , avec une forte augmentation de la survie moyenne (78 semaines contre 47 avec le traitement conventionnel), et pourrait également être utilisé dans le PDAC.

## 2- Ciblage de la réponse stromale

La voie de signalisation Hedgehog est fortement activée dans les cellules stromales, notamment dans les CAFs, et conduit à l'augmentation du développement de la réaction fibreuse desmoplasique. Elle favorise aussi le développement de métastases *via* la stimulation de l'expression de la protéine Snail. L'utilisation d'inhibiteur de Smo, une protéine transmembranaire responsable de l'activation de la voie Hedgehog, a montré *in vitro* et *in vivo* des résultats très intéressants dans le traitement du PDAC. Le Saridegib ou IPI-926 a montré en association avec la gemcitabine une augmentation significative de la survie moyenne (de 11 à 25 jours) des souris triple transgéniques KPC (mutation K-ras et p53 dans le pancréas), présentant un PDAC avec une forte réaction stromale (96). La gemcitabine seule n'est pas efficace sur ces souris, majoritairement à cause de la mauvaise perfusion et de l'hypovascularisation des tumeurs (96). La combinaison gemcitabine-IPI926 augmente l'apoptose des cellules cancéreuses, la survie des souris, et diminue le développement de métastases (20% des souris contre 60% des souris traitées à la gemcitabine) (Figure 25). Cet effet thérapeutique important passe par une forte augmentation de la vascularisation et une forte augmentation (60%) de la concentration en gemcitabine au sein de la tumeur, grâce à une destruction du stroma (83).

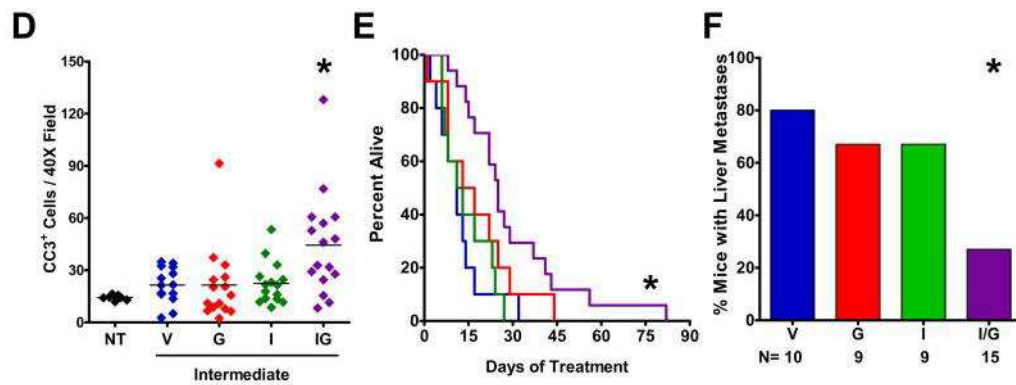
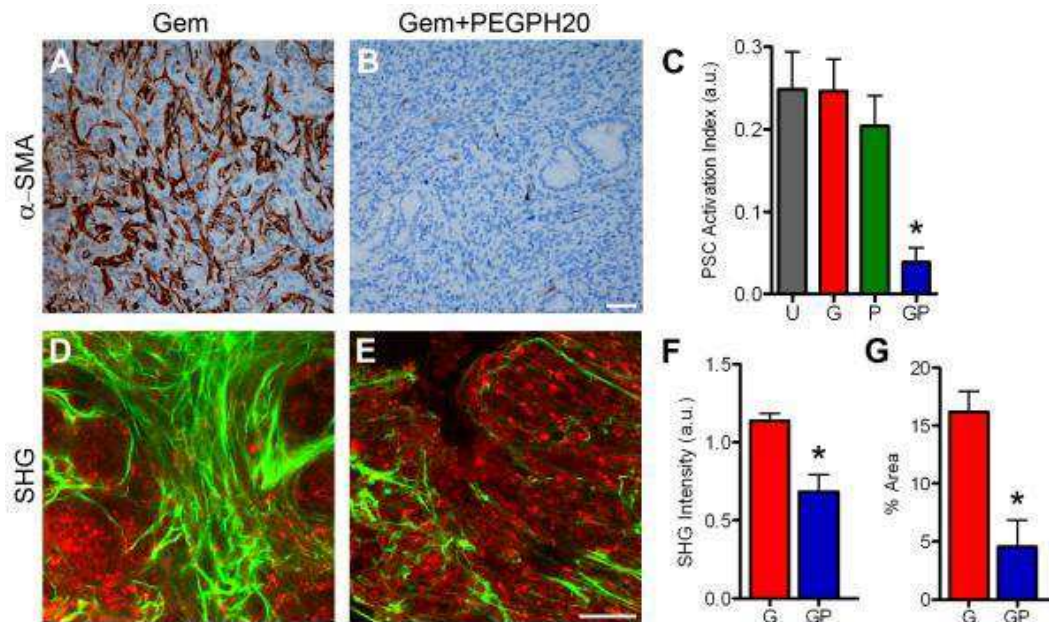


Figure 25: Effet du IPI-296 sur l'apoptose (CC3+), la survie et les métastases hépatiques (Olive et al, 2009)(83).

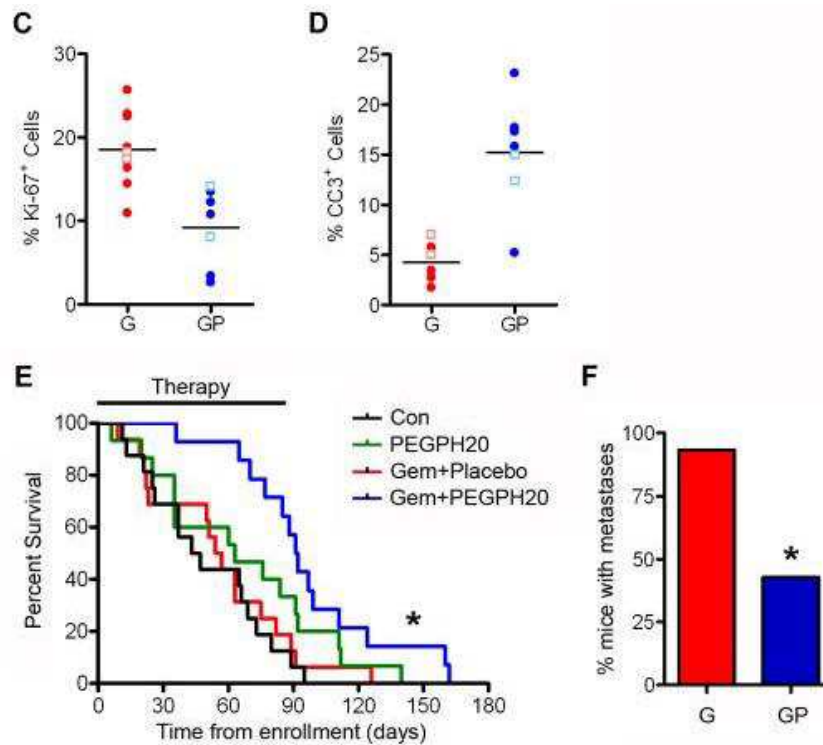
Cependant, un essai clinique de phase 2 a été suspendu à cause d'une meilleure survie dans le bras traité à la gemcitabine seule. Une autre étude avec le Vismodegib ou GDC-O449, un autre inhibiteur de Smo, a montré *in vitro* une forte diminution de la viabilité des cellules cancéreuses en inhibant la voie Hedgehog (97). Une dernière étude utilisant le AZD8542, un nouvel inhibiteur de la voie Hedgehog, a montré une forte réduction (79%) du volume tumorale dose dépendant et une diminution des métastases *via* une action sur les CAFs (98). De nombreux essais cliniques associant le GDC-0449 et le LDE225 (un autre inhibiteur de SMO) à différentes chimiothérapies sont actuellement en cours (NCT01694589 ; NCT01431794 ; NCT01064622 ; ...).

L'acide hyaluronique ou hyaluronane est un composant de la matrice extracellulaire qui joue un rôle majeur dans la forte réduction de la perfusion tumorale, conduisant à l'inefficacité des chimiothérapies (48). Plusieurs études ont montré que l'utilisation d'une hyaluronidase, le PEGPH20 (« PEGylated human recombinant PH20 hyaluronidase ») provoquait une rapide réduction de l'acide hyaluronique, de même que du collagène et des CAFs (Figure 26).



**Figure 26: Effet de l'association PEGPH20-gemcitabine sur les CAFs (marquage SMA) et sur le collagène (SMG) (Provenzano et al, 2012)(48).**

Cette diminution induit une rapide expansion vasculaire au sein de la tumeur et augmente donc la distribution des médicaments (48,99). L'association PEGPH20-gemcitabine a montré une augmentation significative de la survie sur des souris KPC triple transgéniques, un modèle proche du PDAC humain (survie après le début du traitement de 28,5 jours contre 15 jours avec la gemcitabine seule, et 10,5 jours sans traitement) (99). Une augmentation de l'apoptose (15% contre 10% des cellules avec caspases-3 clivées), une diminution de la prolifération (10% contre 20% des cellules Ki-67+) et une diminution du développement de métastases ont également été retrouvées sur un modèle animal (souris transgéniques KPC) avec cette association par rapport à la gemcitabine seule (Figure 27) (48).



**Figure 27: Effet de l'association PEGPH20-gemcitabine sur la prolifération (Ki-67), l'apoptose (CC3+), la survie et les métastases (Provenzano et al, 2012)(48).**

Deux essais cliniques de phase I/II comparant l'association PEGPH20-Gemcitabine ou PEGPH20-FOLFIRINOX aux chimiothérapies seules ont commencé récemment (NCT01453153) ou sont sur le point de débuter (NCT01959139), et devraient donner des résultats très intéressants.

La « Focal adhesion kinase » ou FAK est largement activée dans le PDAC, et est impliquée dans la prolifération et la migration des cellules cancéreuses et des cellules stromales (CAFs, macrophages). L'utilisation d'un inhibiteur de FAK, le PF-562271 a montré une diminution significative de la quantité de collagène de type I, des macrophages, des CAFs *in vitro* et *in vivo*, ainsi qu'une diminution du volume tumoral (Figure 28) (100).

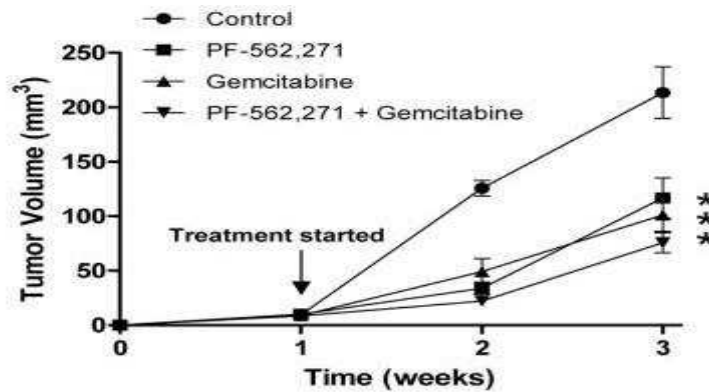
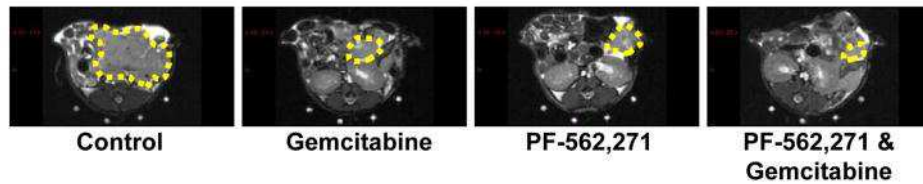


Figure 28: Effet du PF-562271 sur la croissance tumorale (Stokes et al, 2011)(100).

Les inhibiteurs de FAK pourraient contribuer à l'amélioration de l'efficacité des chimiothérapies, par diminution du recrutement et/ou de la prolifération des cellules du microenvironnement.

Une forme modifiée du paclitaxel, le nab-paclitaxel pour « albumin-bound paclitaxel » (Abraxane®) est utilisée depuis peu. Cette nouvelle formulation du paclitaxel, un dérivé des taxanes, permet un meilleur profil pharmacocinétique grâce entre autres à une meilleure utilisation du transport par l'albumine et une meilleure traversée des cellules endothéliales, avec un apport dans la tumeur en paclitaxel amélioré de 33% (101). En 2011, un essai clinique sur 861 patients a comparé l'association de la gemcitabine au nab-paclitaxel sur des patients avec cancer du pancréas métastatique. La survie moyenne était de 8,5 mois avec l'association, contre 6,7 mois avec la gemcitabine seule. Après un an, 35% des patients traités par l'association étaient toujours en vie, contre 22% avec la gemcitabine seule. La toxicité du traitement était supérieure pour l'association, mais les effets indésirables (myélosuppression, neuropathies périphériques) sont réversibles à l'arrêt du traitement (31). Une autre étude a



montré que les tumeurs de patients traités par nab-paclitaxel montraient une plus faible proportion de CAFs et un réseau de collagène désorganisé. Cet effet a été retrouvé sur des modèles transgéniques murins, avec une diminution de la croissance tumorale, une augmentation de l'apoptose des cellules cancéreuses, une diminution de la matrice de collagène et une forte diminution de la quantité de CAFs (102). Enfin, il a été montré *in vivo* qu'en association avec le nab-paclitaxel, la gemcitabine avait une activité potentialisée (augmentation de l'apoptose et diminution de la viabilité des cellules) par diminution de la cytidine desaminase (une enzyme impliquée dans la métabolisation de la gemcitabine) et était retrouvée à des plus hautes concentrations au sein de la tumeur. La survie des souris était augmentée (71% contre 56% de survie à 8 jours pour la gemcitabine seule) et l'incidence des métastases diminuée (76 contre 88% avec la gemcitabine seule) (103).

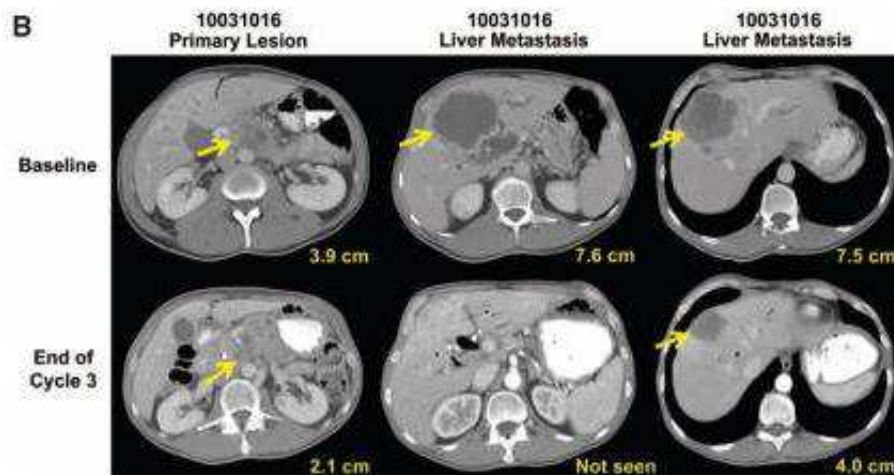
Enfin, il a été montré que le facteur de croissance du tissu conjonctif CTGF était surexprimé par les cellules du microenvironnement dans le PDAC et qu'il participait largement aux interactions cellules-stroma et à la réaction desmoplasique (104). L'utilisation d'un anticorps monoclonal ciblant le CTGF, le FG-3019, permettait de réduire la réaction desmoplasique sur des souris transgéniques KPC. L'association du FG-3019 à la gemcitabine montre une réduction du volume tumoral, une augmentation de l'apoptose au sein de la tumeur, et une augmentation de la survie des souris traitées par l'association (62 jours) par rapport à la gemcitabine seule (45 jours) (105). Une étude clinique de phase I est en cours et évalue la tolérance et l'activité du FG-3019 en association avec la gemcitabine dans les cancers avancés et métastatiques du pancréas, avec des résultats disponibles en décembre 2014 (NCT01181245). La liaison de l'IL-8 à son récepteur CXCR2 entraîne l'activation de voies de signalisation qui jouent un rôle important dans la progression de nombreux cancers dont le

PDAC. L'inhibition de ce récepteur induit une diminution de l'expression de CTGF, de l'angiogenèse et une augmentation de la survie moyenne sur un modèle murin transgénique (K-ras muté, KO pour le récepteur au TGFβ) (106). Une autre étude de thérapie génique a utilisé des AAV-2 (Adeno-associated virus-2) pour infecter les cellules cancéreuses avec une séquence inhibitrice de CXCR2 (CXCR2-Ctail). L'expression de ce gène provoque une diminution du volume tumoral dans un modèle murin (xénogreffe de tumeur humaine pancréatique chez la souris immunodéficiente) (107).

### **3) Ciblage de la réaction immunitaire**

Le ciblage de la réponse immunitaire représente un axe prometteur de développement. Deux possibilités sont envisageables : le renforcement de la réponse anti-tumorale ou la suppression de la réponse pro-tumorale.

L'activation du CD40, un récepteur de la famille des récepteur TNF, peut permettre de réduire l'immunosuppression et conduire à une réponse antitumorale lymphocytaire ou par macrophages. L'efficacité d'une association entre un anticorps monoclonal agoniste de CD40, le CP-870893, et la gemcitabine a été testée dans un essai clinique de phase I sur une cohorte de 21 patients. Ce traitement a été bien supporté, et a montré une médiane de survie de 7,4 mois, contre 5,7 pour la gemcitabine seule, et une réduction importante du volume tumoral pancréatique et métastatique (Figure 29). Ces résultats intéressants doivent être confirmés dans une étude de plus grande envergure (108).



**Figure 29: Analyse tomodensitométrie avant et après traitement gemcitabine-CP-870893 (Beatty et al, 2011)(108).**

Sur le modèle murin transgénique KPC, l'association de l'anticorps monoclonal agoniste CD40 FGK45 avec la gemcitabine a montré une régression tumorale de 30%. L'anticorps seul a donné des taux de régression comparables, alors que la gemcitabine seule n'a pas donné de réponse. Cette réponse a été associée *in vivo* à une augmentation de la capacité de sécrétion de cytokines (IFN- $\gamma$ , IL-17 notamment) par les cellules CD4+ et CD8+. Un effet sur les TAMs a aussi été retrouvé après traitement par l'agoniste CD40, avec une augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-12, le TNF- $\alpha$ , l'IFN- $\gamma$  (108).

L'immunoglobine « Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen 4 » ou CTLA-4 est un récepteur impliqué dans la régulation négative du système immunitaire. Il est retrouvé à la surface des cellules T, et sa stimulation provoque l'inactivation de la cellule. L'utilisation d'antagonistes du CTLA-4 peut donc permettre d'augmenter la réponse immunitaire dans certains cancers. L'ipilimumab est un anticorps monoclonal humain, antagoniste du CTLA-4, autorisé depuis 2011 dans le traitement du mélanome métastatique. Il n'a pas encore montré d'efficacité seul dans le traitement du PDAC, mais des résultats intéressants ont été obtenus en association avec le

GVAX, un vaccin à base de cellules transfectées par le gène du GM-CSF (« Granulocyte-macrophage Colony-stimulating Factor ») (109). La survie moyenne était de 5,7 mois pour l'association ipilimumab-GVAX, contre 3,6 mois pour l'ipilimumab seul (110). Deux études de phase II sont actuellement en recrutement pour comparer l'association de l'ipilimumab-GVAX avec le FOLFIRINOX (NCT01896869) et de l'ipilimumab seul avec la gemcitabine (NCT01473940).

Les cellules dendritiques sont des importants déclencheurs de la réponse immunitaire adaptative. Une étude clinique a montré une augmentation de la survie moyenne de 6,9 à 8,9 mois en utilisant des injections de cellules dendritiques (LANEX-DC®) par rapport à un traitement de chimiothérapie classique (111). Sur des souris ayant reçu une greffe de cellules cancéreuses pancréatiques, l'association gemcitabine et injection de cellules dendritiques a montré une diminution de plus de 50% du volume tumoral et une forte augmentation de la survie (40 jours avec la gemcitabine seule contre presque 200 pour l'association avec les cellules dendritiques). Cette augmentation de survie était associée à une forte augmentation des cellules T CD8+, de la concentration en IFN- $\gamma$  (112). Plusieurs essais cliniques à venir permettront de confirmer ces résultats encourageants.

La survivine est une protéine inhibitrice de l'apoptose, retrouvée surexprimée dans plusieurs cancers dont le cancer du pancréas. L'association d'un vaccin dirigé contre la survivine à l'IFN- $\gamma$  a déjà montré une efficacité dans le cancer du côlon. Dans le cancer du pancréas, un essai clinique a montré des baisses très importantes du marqueur Ca19-9 et du volume tumoral, ce qui suggèrerait une réponse thérapeutique (113).

Les cellules myéloïdes suppressives ou MDSC ont un rôle très important dans la réduction de la réponse immunitaire pro-tumorale. Ce sont des cellules immatures qui bloquent

l'activation des cellules T au sein du microenvironnement tumoral. Une étude a récemment montré que l'interleukine-12 (IL-12) pouvait non seulement promouvoir la réponse immunitaire anti-tumorale, mais également altérer l'activité des MDSC en les modifiant fondamentalement. Les MDSC traitées par l'IL-12 montrent des marqueurs de surface indiquant une différenciation en cellules matures, ainsi que la baisse de l'ARNm de NOS (« Nitric oxyde synthase ») et d'IFN- $\gamma$ . Parallèlement, l'IL-12 provoque une diminution du pourcentage de MDSC dans le microenvironnement, et une augmentation du pourcentage de cellules CD8+ actives. Enfin, le traitement par IL-12 provoque une augmentation de la survie moyenne associée à une forte diminution des métastases (114).

Enfin, une étude a montré l'efficacité d'une interleukine IL-2 dirigée contre le domaine extracellulaire B (ED-B) de la fibronectine, composée d'une chaîne Fv d'un anticorps humain L19, hautement spécifique du domaine ED-B, et de la cytokine anti-tumorale humaine IL-2. La fibronectine est largement exprimée dans les tumeurs primaires et les métastases du PDAC, chez l'Homme et dans les modèles murins (souris *nude* ayant reçu une xénogreffe orthotopique de tumeur pancréatique humaine). Les auteurs ont comparé la L19-IL-2 ciblée avec l'IL-2 seule, et avec la gemcitabine seule. La L19-IL-2 a montré des résultats très intéressants, avec une diminution du volume tumoral de plus de 80% par rapport aux souris contrôle, et de plus de 50% par rapport aux souris traitées à la gemcitabine. Une diminution des métastases dans les ganglions lymphatiques a également été retrouvée, ainsi qu'une forte induction de l'apoptose et une diminution de la prolifération d'un facteur cinq des cellules cancéreuses (Figure 30). Cette réponse était corrélée à une forte augmentation du nombre de cellules NK dans la tumeur (115).

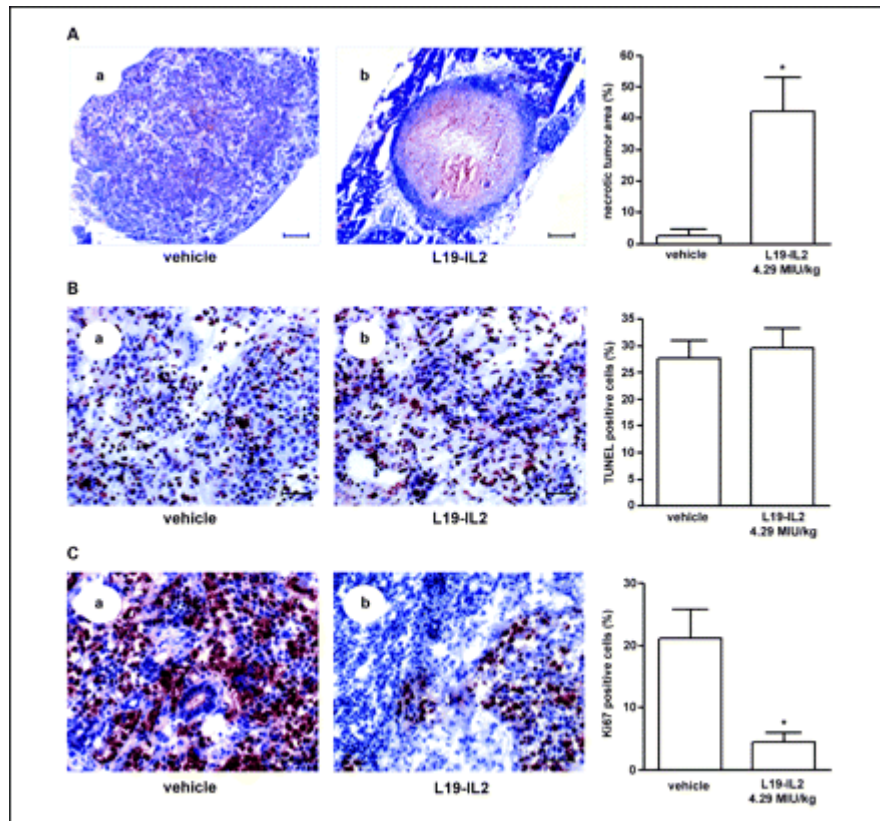


Figure 30: Effets du L19-IL2 sur la nécrose, l'apoptose et la prolifération au sein de la tumeur (Wagner et al, 2008)(115).

Un essai clinique est en cours et étudie l'association du L19-IL-2 à la gemcitabine dans les cancers avancés du pancréas (NCT01198522).

#### 4) Ciblage des cascades de signalisation microenvironnement-induites

Enfin, le microenvironnement, *via* ses composants (notamment les CAFs) ou ses sécrétions, peut induire l'activation ou l'inhibition de différentes voies de signalisation impliquées dans la survie, la prolifération, l'invasion ou la migration des cellules cancéreuses. Ces voies de

signalisation peuvent être inhibées et semblent être des cibles particulièrement intéressantes dans le traitement du PDAC.

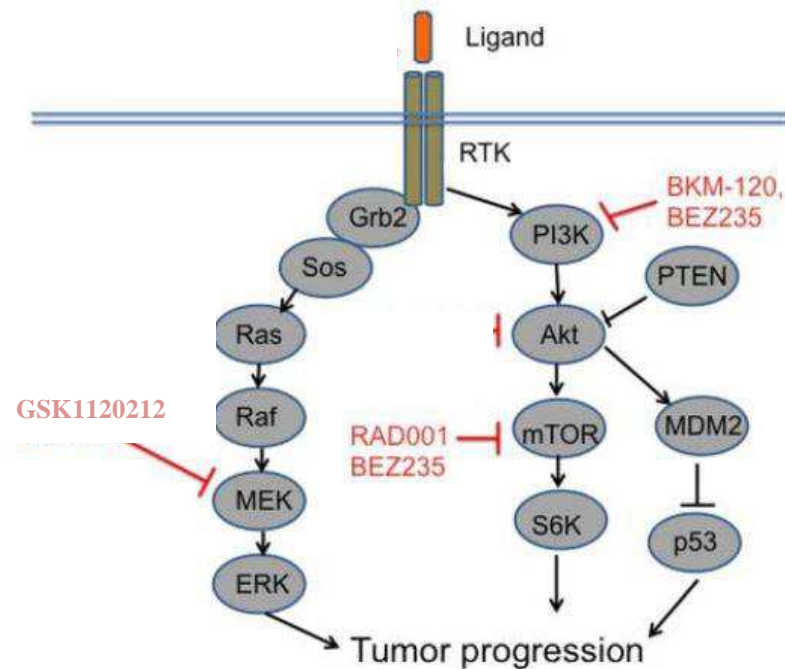


Figure 31: Agents thérapeutiques ciblant les principales voies de survie et de prolifération (adapté de Michl et Gress, 2013)(61).

La voie « Mitogen-activated protein kinase » (MAPK) kinase MEK-ERK est une voie thérapeutique majeure dans les cancers présentant des mutations KRAS. Plusieurs molécules inhibitrices de cette voie sont actuellement en développement et ont montré des résultats prometteurs sur la diminution de la croissance tumorale (Figure 31). Le trametinib (GSK1120212), un inhibiteur sélectif de MEK, a été associé au lapatinib, un inhibiteur de HER2 (« Human EGFR-2 »). Ce traitement a fortement inhibé la prolifération de plusieurs types de cellules cancéreuses pancréatiques *in vitro*. Cet effet passe bien par l'inhibition de la voie MEK/ERK, car l'inhibition de la phosphorylation d'ERK a été démontrée dans les cellules. *In vivo*, des souris immunodéprimées ont été implantées avec des cellules tumorales humaines.

L'association trametinib-lapatinib a montré des réductions significatives de la masse tumorale, ainsi qu'une diminution du nombre de métastases (116). Une étude clinique récente sur 80 patients présentant un PDAC métastatique a montré une survie moyenne de 8,3 mois pour l'association gemcitabine-trametinib contre 6,7 mois avec la gemcitabine seule (NCT01231581).

La voie PI3K/Akt/mTOR est une voie majeure de croissance et de prolifération cellulaire. Plusieurs composants de la voie peuvent être ciblés et de nombreuses études ont montré une efficacité dans le traitement du PDAC. Particulièrement, le buparlisib ou BKM120 est un inhibiteur de PI3K a montré une forte diminution de la prolifération de cellules cancéreuses *in vitro*, corrélée à une inhibition des phosphorylations de la voie PI3K. L'apoptose était également augmentée avec un effet dose-dépendant. Le BEZ235, un inhibiteur de PI3K et de mTOR, a montré des résultats identiques (117). L'Everolimus ou RAD001 est un analogue de rapamycine qui inhibe mTOR. Deux études multicentriques ont prouvé son efficacité dans les tumeurs pancréatiques neuroendocrines (études RADIANT1 et RADIANT3) (118). Dans le PDAC, une étude a récemment montré une forte réduction de l'expression de 4E-BP1, une protéine de régulation négative de la traduction eucaryote impliquée dans la voie mTOR. Cette extinction accélère donc la synthèse de protéines et facilite la prolifération par résistance à la régulation par la voie mTOR (119). Ce phénomène pourrait expliquer le manque d'efficacité des traitements ciblant la voie mTOR dans le PDAC. Différentes études cliniques associant des inhibiteurs de PI3K à des inhibiteurs de MEK ou à des chimiothérapies classiques sont en cours.



THESE SOUTENUE PAR : Rémi Samain

TITRE

Ciblage thérapeutique du microenvironnement tumoral :  
exemple du cancer du pancréas

CONCLUSION

L'adénocarcinome du pancréas reste le cancer avec le plus sombre pronostic. Au cours des quarante dernières années, la survie à 5 ans pour tous les cancers combinés s'est significativement étendue, passant de 50 à 65%. Le cancer du pancréas n'a malheureusement pas bénéficié de cette évolution favorable, et affiche une survie moyenne à 5 ans toujours inférieure à 5%.

La mortalité dramatique de ce cancer s'explique par la difficulté à le diagnostiquer précocement, par une agressivité extrême, et par l'inefficacité des médicaments actuels. Le microenvironnement actif du PDAC est largement impliqué dans la prolifération rapide et la survie des cellules cancéreuses, ainsi que dans leur forte propension à métastaser. Il a également un rôle majeur dans la chimiorésistance des tumeurs pancréatiques.

La mise au point de nouvelles thérapies contre l'adénocarcinome du pancréas est donc un axe de recherche essentiel, et le ciblage du microenvironnement semble être une solution de plus en plus considérée et explorée au cours des dernières années. Il a déjà montré des résultats très prometteurs dans différentes études pré-cliniques et cliniques, et devrait permettre le développement de traitements plus efficaces des cancers du pancréas.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le 20 mars 2014

LE DOYEN, Professeur Christophe RIBUOT



LE PRESIDENT DE LA THESE

## BIBLIOGRAPHIE

1. Anatomie du pancréas [Internet]. Service de chirurgie générale et digestive Hôpital Saint-Antoine. [cited 2014 Feb 24]. Available from: <http://chirurgie-digestive-sat.aphp.fr/chirurgie/pancreatectomies/anatomie-du-pancreas/>
2. Séverine Wack, APRAHAMIAN Marc (dir.). Etude de modalités multithérapeutiques et diagnostiques appliquées au cancer du pancréas. [Thèse de doctorat : Aspects moléculaires et cellulaires de la biologie.]. Université Louis Pasteur Strasbourg I; 2005.
3. Cours Médecine, Ostéopathie - Physiologie - - Partie 5 : Le pancréas [Internet]. [cited 2014 Mar 25]. Available from: <http://www.cours-medecine.info/physiologie/pancreas.html>
4. Betty Laverdet. Physiopathologie du pancréas : Rôle de l'inflammation dans la cancérogenèse du pancréas exocrine. Université de Limoges; 2013.
5. Institut National du Cancer. Les cancers en France, édition 2013. Boulogne Billancourt; 2014.
6. UK CR. Pancreatic cancer incidence statistics [Internet]. 2013 [cited 2014 Feb 8]. Available from: <http://www.cancerresearchuk.org/cancer-info/cancerstats/types/pancreas/incidence/uk-pancreatic-cancer-incidence-statistics#In>
7. Buscail Louis, Escourroi Jean. Pathologies pancréatiques [Internet]. [cited 2014 Mar 25]. Available from: <http://www.medecine.ups-tlse.fr/dcem3/module16/chap%204-Pancreas.2008-09.pdf>
8. Agostini Serge. Pathologies du pancréas [Internet]. [cited 2014 Mar 25]. Available from: <http://www.med.univ-rennes1.fr/cerf/edicerf/DIGESTIF/14DG.html>
9. Liss AS, Thayer SP. Therapeutic targeting of pancreatic stroma. In: Grippo PJ, Munshi HG, editors. Pancreatic Cancer and Tumor Microenvironment [Internet]. Trivandrum (India): Transworld Research Network; 2012 [cited 2014 Mar 5]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK98931/>
10. Kadaba R, Birke H, Wang J, Hooper S, Andl CD, Di Maggio F, et al. Imbalance of desmoplastic stromal cell numbers drives aggressive cancer processes. *J Pathol*. 2013 May;230(1):107–17.
11. Kleeff J, Beckhove P, Esposito I, Herzig S, Huber PE, Löhr JM, et al. Pancreatic cancer microenvironment. *Int J Cancer J Int Cancer*. 2007 Aug 15;121(4):699–705.
12. Hezel AF, Kimmelman AC, Stanger BZ, Bardeesy N, DePinho RA. Genetics and biology of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Genes Dev*. 2006 May 15;20(10):1218–49.
13. Di Magliano MP, Logsdon CD. Roles for KRAS in pancreatic tumor development and progression. *Gastroenterology*. 2013 Jun;144(6):1220–9.
14. Institut National du Cancer. Les traitements du cancer du pancréas. 2012 p. 80.
15. Hackert T, Büchler MW. Pancreatic cancer: advances in treatment, results and limitations. *Dig Dis Basel Switz*. 2013;31(1):51–6.
16. Michl P, Gress TM. Current concepts and novel targets in advanced pancreatic cancer. *Gut*. 2013 Feb;62(2):317–26.
17. Duodéno pancréatectomie Céphalique [Internet]. Service de chirurgie générale et digestive Hôpital Saint-Antoine. [cited 2014 Feb 24]. Available from: <http://chirurgie-digestive-sat.aphp.fr/chirurgie/pancreatectomies/duodenopancreatectomie-cephalique/>
18. Al DP et. Duodéno pancréatectomie céphalique : indications, résultats et prise en charge des complications. *Chirurgie*. 2008 Jun 25;Volume 163(25):1563–6.
19. Sauvanet A. Conséquences fonctionnelles de la chirurgie pancréatique. *Hépatogastro*. 2002 Nov 22;9(6):417–26.

20. Pancréatectomie Totale [Internet]. Service de chirurgie générale et digestive Hôpital Saint-Antoine. [cited 2014 Mar 25]. Available from: <http://chirurgie-digestive-sat.aphp.fr/chirurgie/pancreatectomies/pancreatectomie-totale/>
21. Paulson AS, Tran Cao HS, Tempero MA, Lowy AM. Therapeutic advances in pancreatic cancer. *Gastroenterology*. 2013 Jun;144(6):1316–26.
22. Moertel CG, Frytak S, Hahn RG, O'Connell MJ, Reitemeier RJ, Rubin J, et al. Therapy of locally unresectable pancreatic carcinoma: a randomized comparison of high dose (6000 rads) radiation alone, moderate dose radiation (4000 rads + 5-fluorouracil), and high dose radiation + 5-fluorouracil: The Gastrointestinal Tumor Study Group. *Cancer*. 1981 Oct 15;48(8):1705–10.
23. Neoptolemos JP, Stocken DD, Friess H, Bassi C, Dunn JA, Hickey H, et al. A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 2004 Mar 18;350(12):1200–10.
24. Merchant NB, Rymer J, Koehler EAS, Ayers GD, Castellanos J, Kooby DA, et al. Adjuvant chemoradiation therapy for pancreatic adenocarcinoma: who really benefits? *J Am Coll Surg*. 2009 May;208(5):829–838; discussion 838–841.
25. Chauffert B, Mornex F, Bonnetain F, Rougier P, Mariette C, Bouché O, et al. Phase III trial comparing intensive induction chemoradiotherapy (60 Gy, infusional 5-FU and intermittent cisplatin) followed by maintenance gemcitabine with gemcitabine alone for locally advanced unresectable pancreatic cancer. Definitive results of the 2000-01 FFCD/SFRO study. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol Esmo*. 2008 Sep;19(9):1592–9.
26. Gillen S, Schuster T, Meyer Zum Büschenfelde C, Friess H, Kleeff J. Preoperative/neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of response and resection percentages. *Plos Med*. 2010 Apr;7(4):e1000267.
27. Andriulli A, Festa V, Botteri E, Valvano MR, Koch M, Bassi C, et al. Neoadjuvant/preoperative gemcitabine for patients with localized pancreatic cancer: a meta-analysis of prospective studies. *Ann Surg Oncol*. 2012 May;19(5):1644–62.
28. Assifi MM, Lu X, Eibl G, Reber HA, Li G, Hines OJ. Neoadjuvant therapy in pancreatic adenocarcinoma: a meta-analysis of phase II trials. *Surgery*. 2011 Sep;150(3):466–73.
29. Klinkenbijnl JH, Jeekel J, Sahnoud T, van Pel R, Couvreur ML, Veenhof CH, et al. Adjuvant radiotherapy and 5-fluorouracil after curative resection of cancer of the pancreas and periampullary region: phase III trial of the EORTC gastrointestinal tract cancer cooperative group. *Ann Surg*. 1999 Dec;230(6):776–782; discussion 782–784.
30. Giuliani F, Di Maio M, Colucci G, Perrone F. Conventional chemotherapy of advanced pancreatic cancer. *Curr Drug Targets*. 2012 Jun;13(6):795–801.
31. Von Hoff DD, Ramanathan RK, Borad MJ, Laheru DA, Smith LS, Wood TE, et al. Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I/II trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2011 Dec 1;29(34):4548–54.
32. Conroy T, Gavaille C, Samalin E, Ychou M, Ducreux M. The role of the FOLFIRINOX regimen for advanced pancreatic cancer. *Curr Oncol Rep*. 2013 Apr;15(2):182–9.
33. Gourgou-Bourgade S, Bascoul-Mollevis C, Desseigne F, Ychou M, Bouché O, Guimbaud R, et al. Impact of FOLFIRINOX compared with gemcitabine on quality of life in patients with metastatic pancreatic cancer: results from the PRODIGE 4/ACCORD 11 randomized trial. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2013 Jan 1;31(1):23–9.
34. Gillies RJ, Verduzco D, Gatenby RA. Evolutionary dynamics of carcinogenesis and why targeted therapy does not work. *Nat Rev Cancer*. 2012 Jul;12(7):487–93.
35. Rowinsky EK, Windle JJ, Von Hoff DD. Ras protein farnesyltransferase: A strategic target for anticancer therapeutic development. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 1999 Nov;17(11):3631–52.
36. Raut CP, Nawrocki S, Lashinger LM, Davis DW, Khanbolooki S, Xiong H, et al. Celecoxib inhibits angiogenesis by inducing endothelial cell apoptosis in human pancreatic tumor xenografts. *Cancer Biol Ther*. 2004 Dec;3(12):1217–24.

37. Martin LK, Li X, Kleiber B, Ellison EC, Bloomston M, Zalupski M, et al. VEGF remains an interesting target in advanced pancreas cancer (APCA): results of a multi-institutional phase II study of bevacizumab, gemcitabine, and infusional 5-fluorouracil in patients with APCA. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol Esmo*. 2012 Nov;23(11):2812–20.
38. Erkan M. Understanding the stroma of pancreatic cancer: co-evolution of the microenvironment with epithelial carcinogenesis. *J Pathol*. 2013 Sep;231(1):4–7.
39. Miyamoto H, Murakami T, Tsuchida K, Sugino H, Miyake H, Tashiro S. Tumor-stroma interaction of human pancreatic cancer: acquired resistance to anticancer drugs and proliferation regulation is dependent on extracellular matrix proteins. *Pancreas*. 2004 Jan;28(1):38–44.
40. Mahadevan D, Von Hoff DD. Tumor-stroma interactions in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Mol Cancer Ther*. 2007 Apr;6(4):1186–97.
41. Whatcott CJ, Han H, Posner RG, Von Hoff DD. Tumor-Stromal Interactions in Pancreatic Cancer. *Crit Rev Oncog*. 2013;18(0):135–51.
42. Erkan M, Reiser-Erkan C, Michalski CW, Kong B, Esposito I, Friess H, et al. The impact of the activated stroma on pancreatic ductal adenocarcinoma biology and therapy resistance. *Curr Mol Med*. 2012 Mar;12(3):288–303.
43. Korc M. Pancreatic cancer-associated stroma production. *Am J Surg*. 2007 Oct;194(4 Suppl):S84–86.
44. Neesse A, Michl P, Frese KK, Feig C, Cook N, Jacobetz MA, et al. Stromal biology and therapy in pancreatic cancer. *Gut*. 2011 Jun;60(6):861–8.
45. Hidalgo M, Maitra A. The hedgehog pathway and pancreatic cancer. *N Engl J Med*. 2009 Nov 19;361(21):2094–6.
46. Kalluri R, Zeisberg M. Fibroblasts in cancer. *Nat Rev Cancer*. 2006 May;6(5):392–401.
47. Apte MV, Wilson JS, Lugea A, Pandolfi SJ. A starring role for stellate cells in the pancreatic cancer microenvironment. *Gastroenterology*. 2013 Jun;144(6):1210–9.
48. Provenzano PP, Cuevas C, Chang AE, Goel VK, Von Hoff DD, Hingorani SR. Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell*. 2012 Mar 20;21(3):418–29.
49. Li X, Ma Q, Xu Q, Duan W, Lei J, Wu E. Targeting the cancer-stroma interaction: a potential approach for pancreatic cancer treatment. *Curr Pharm Des*. 2012;18(17):2404–15.
50. Hwang RF, Moore T, Arumugam T, Ramachandran V, Amos KD, Rivera A, et al. Cancer-associated stromal fibroblasts promote pancreatic tumor progression. *Cancer Res*. 2008 Feb 1;68(3):918–26.
51. Ene-Obong A, Clear AJ, Watt J, Wang J, Fatah R, Riches JC, et al. Activated pancreatic stellate cells sequester CD8+ T cells to reduce their infiltration of the juxtatumoral compartment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*. 2013 Nov;145(5):1121–32.
52. Mace TA, Ameen Z, Collins A, Wojcik S, Mair M, Young GS, et al. Pancreatic cancer-associated stellate cells promote differentiation of myeloid-derived suppressor cells in a STAT3-dependent manner. *Cancer Res*. 2013 May 15;73(10):3007–18.
53. Schneiderhan W, Diaz F, Fundel M, Zhou S, Siech M, Hasel C, et al. Pancreatic stellate cells are an important source of MMP-2 in human pancreatic cancer and accelerate tumor progression in a murine xenograft model and CAM assay. *J Cell Sci*. 2007 Feb 1;120(Pt 3):512–9.
54. Armstrong T, Packham G, Murphy LB, Bateman AC, Conti JA, Fine DR, et al. Type I collagen promotes the malignant phenotype of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2004 Nov 1;10(21):7427–37.

55. Dangi-Garimella S, Sahai V, Ebine K, Kumar K, Munshi HG. Three-dimensional collagen I promotes gemcitabine resistance in vitro in pancreatic cancer cells through HMGA2-dependent histone acetyltransferase expression. *Plos One*. 2013;8(5):e64566.
56. Grzesiak JJ, Bouvet M. The alpha2beta1 integrin mediates the malignant phenotype on type I collagen in pancreatic cancer cell lines. *Br J Cancer*. 2006 May 8;94(9):1311–9.
57. Shintani Y, Hollingsworth MA, Wheelock MJ, Johnson KR. Collagen I promotes metastasis in pancreatic cancer by activating c-Jun NH(2)-terminal kinase 1 and up-regulating N-cadherin expression. *Cancer Res*. 2006 Dec 15;66(24):11745–53.
58. Imamichi Y, König A, Gress T, Menke A. Collagen type I-induced Smad-interacting protein 1 expression downregulates E-cadherin in pancreatic cancer. *Oncogene*. 2007 Apr 5;26(16):2381–5.
59. Huanwen W, Zhiyong L, Xiaohua S, Xinyu R, Kai W, Tonghua L. Intrinsic chemoresistance to gemcitabine is associated with constitutive and laminin-induced phosphorylation of FAK in pancreatic cancer cell lines. *Mol Cancer*. 2009;8:125.
60. Grzesiak JJ, Smith KC, Burton DW, Deftos LJ, Bouvet M. Integrin-mediated laminin-1 adhesion upregulates CXCR4 and IL-8 expression in pancreatic cancer cells. *Surgery*. 2007 Jun;141(6):804–14.
61. Michl P, Gress TM. Improving drug delivery to pancreatic cancer: breaching the stromal fortress by targeting hyaluronic acid. *Gut*. 2012 Oct;61(10):1377–9.
62. Zhi Y-H, Song M-M, Wang P-L, Zhang T, Yin Z-Y. Suppression of matrix metalloproteinase-2 via RNA interference inhibits pancreatic carcinoma cell invasiveness and adhesion. *World J Gastroenterol Wjg*. 2009 Mar 7;15(9):1072–8.
63. Bister V, Skoog T, Virolainen S, Kiviluoto T, Puolakkainen P, Saarialho-Kere U. Increased expression of matrix metalloproteinases-21 and -26 and TIMP-4 in pancreatic adenocarcinoma. *Mod Pathol Off J United States Can Acad Pathol Inc*. 2007 Nov;20(11):1128–40.
64. Ben Q-W, Jin X-L, Liu J, Cai X, Yuan F, Yuan Y-Z. Periostin, a matrix specific protein, is associated with proliferation and invasion of pancreatic cancer. *Oncol Rep*. 2011 Mar;25(3):709–16.
65. Juuti A, Nordling S, Louhimo J, Lundin J, Haglund C. Tenascin C expression is upregulated in pancreatic cancer and correlates with differentiation. *J Clin Pathol*. 2004 Nov;57(11):1151–5.
66. Chen J, Chen Z, Chen M, Li D, Li Z, Xiong Y, et al. Role of fibrillar Tenascin-C in metastatic pancreatic cancer. *Int J Oncol*. 2009 Apr;34(4):1029–36.
67. Skandalis SS, Kletsas D, Kyriakopoulou D, Stavropoulos M, Theocharis DA. The greatly increased amounts of accumulated versican and decorin with specific post-translational modifications may be closely associated with the malignant phenotype of pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta*. 2006 Aug;1760(8):1217–25.
68. Wight TN. Versican: a versatile extracellular matrix proteoglycan in cell biology. *Curr Opin Cell Biol*. 2002 Oct;14(5):617–23.
69. Farrow B, Berger DH, Rowley D. Tumor-derived pancreatic stellate cells promote pancreatic cancer cell invasion through release of thrombospondin-2. *J Surg Res*. 2009 Sep;156(1):155–60.
70. Albo D, Berger DH, Vogel J, Tuszynski GP. Thrombospondin-1 and transforming growth factor beta-1 upregulate plasminogen activator inhibitor type 1 in pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg Off J Soc Surg Aliment Tract*. 1999 Aug;3(4):411–7.
71. Jankun J, Skrzypczak-Jankun E. Molecular basis of specific inhibition of urokinase plasminogen activator by amiloride. *Cancer Biochem Biophys*. 1999 Jul;17(1-2):109–23.
72. Lunardi S, Muschel RJ, Brunner TB. The stromal compartments in pancreatic cancer: Are there any therapeutic targets? *Cancer Lett*. 2014 Feb 28;343(2):147–55.

73. Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature*. 2002 Dec 19;420(6917):860–7.
74. Mantovani A, Allavena P, Sica A, Balkwill F. Cancer-related inflammation. *Nature*. 2008 Jul 24;454(7203):436–44.
75. Farrow B, Evers BM. Inflammation and the development of pancreatic cancer. *Surg Oncol*. 2002 May;10(4):153–69.
76. Sideras K, Braat H, Kwekkeboom J, van Eijck CH, Peppelenbosch MP, Sleijfer S, et al. Review: Role of the immune system in pancreatic cancer progression and immune modulating treatment strategies. *Cancer Treat Rev*. 2013 Nov 23;
77. Mielgo A, Schmid MC. Impact of tumour associated macrophages in pancreatic cancer. *Bmb Reports*. 2013 Mar;46(3):131–8.
78. Porembka MR, Mitchem JB, Belt BA, Hsieh C-S, Lee H-M, Herndon J, et al. Pancreatic adenocarcinoma induces bone marrow mobilization of myeloid-derived suppressor cells which promote primary tumor growth. *Cancer Immunol Immunother Cii*. 2012 Sep;61(9):1373–85.
79. Bazhin AV, Shevchenko I, Umansky V, Werner J, Karakhanova S. Two immune faces of pancreatic adenocarcinoma: possible implication for immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother Cii*. 2014 Jan;63(1):59–65.
80. Liyanage UK, Moore TT, Joo H-G, Tanaka Y, Herrmann V, Doherty G, et al. Prevalence of regulatory T cells is increased in peripheral blood and tumor microenvironment of patients with pancreas or breast adenocarcinoma. *J Immunol Baltim Md 1950*. 2002 Sep 1;169(5):2756–61.
81. Garcea G, Doucas H, Steward WP, Dennison AR, Berry DP. Hypoxia and angiogenesis in pancreatic cancer. *Anz J Surg*. 2006 Sep;76(9):830–42.
82. Van der Zee JA, van Eijck CHJ, Hop WCJ, van Dekken H, Dicheva BM, Seynhaeve ALB, et al. Angiogenesis: a prognostic determinant in pancreatic cancer? *Eur J Cancer Oxf Engl 1990*. 2011 Nov;47(17):2576–84.
83. Olive KP, Jacobetz MA, Davidson CJ, Gopinathan A, McIntyre D, Honess D, et al. Inhibition of Hedgehog signaling enhances delivery of chemotherapy in a mouse model of pancreatic cancer. *Science*. 2009 Jun 12;324(5933):1457–61.
84. Sunamura M, Duda DG, Ghattas MH, Lozonschi L, Motoi F, Yamauchi J-I, et al. Heme oxygenase-1 accelerates tumor angiogenesis of human pancreatic cancer. *Angiogenesis*. 2003;6(1):15–24.
85. Beasley NJ, Wykoff CC, Watson PH, Leek R, Turley H, Gatter K, et al. Carbonic anhydrase IX, an endogenous hypoxia marker, expression in head and neck squamous cell carcinoma and its relationship to hypoxia, necrosis, and microvessel density. *Cancer Res*. 2001 Jul 1;61(13):5262–7.
86. Sakurai T, Kudo M, Fukuta N, Nakatani T, Kimura M, Park A-M, et al. Involvement of angiotensin II and reactive oxygen species in pancreatic fibrosis. *Pancreatol Off J Int Assoc Pancreatol Iap Al*. 2011;11 Suppl 2:7–13.
87. Nakai Y, Isayama H, Ijichi H, Sasaki T, Sasahira N, Hirano K, et al. Inhibition of renin-angiotensin system affects prognosis of advanced pancreatic cancer receiving gemcitabine. *Br J Cancer*. 2010 Nov 23;103(11):1644–8.
88. Masamune A, Hamada S, Kikuta K, Takikawa T, Miura S, Nakano E, et al. The angiotensin II type I receptor blocker olmesartan inhibits the growth of pancreatic cancer by targeting stellate cell activities in mice. *Scand J Gastroenterol*. 2013 May;48(5):602–9.
89. Chauhan VP, Martin JD, Liu H, Lacorre DA, Jain SR, Kozin SV, et al. Angiotensin inhibition enhances drug delivery and potentiates chemotherapy by decompressing tumour blood vessels. *Nat Commun*. 2013;4:2516.
90. Guan J, Zhang H, Wen Z, Gu Y, Cheng Y, Sun Y, et al. Retinoic acid inhibits pancreatic cancer cell migration and EMT through the downregulation of IL-6 in cancer associated fibroblast cells. *Cancer Lett*. 2014 Apr 1;345(1):132–9.
91. Maréchal R, Demetter P, Nagy N, Berton A, Decaestecker C, Polus M, et al. High expression of CXCR4 may predict poor survival in resected pancreatic adenocarcinoma. *Br J Cancer*. 2009 May 5;100(9):1444–51.
92. Singh S, Srivastava SK, Bhardwaj A, Owen LB, Singh AP. CXCL12-CXCR4 signalling axis confers gemcitabine resistance to pancreatic cancer cells: a novel target for therapy. *Br J Cancer*. 2010 Nov 23;103(11):1671–9.

93. Feig C, Gopinathan A, Neesse A, Chan DS, Cook N, Tuveson DA. The Pancreas Cancer Microenvironment. *Clin Cancer Res*. 2012 Aug 15;18(16):4266–76.
94. Wrzesinski SH, Wan YY, Flavell RA. Transforming growth factor-beta and the immune response: implications for anticancer therapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2007 Sep 15;13(18 Pt 1):5262–70.
95. Bhola NE, Balko JM, Dugger TC, Kuba MG, Sánchez V, Sanders M, et al. TGF- $\beta$  inhibition enhances chemotherapy action against triple-negative breast cancer. *J Clin Invest*. 2013 Mar 1;123(3):1348–58.
96. Hingorani SR, Wang L, Multani AS, Combs C, Deramaudt TB, Hruban RH, et al. Trp53R172H and KrasG12D cooperate to promote chromosomal instability and widely metastatic pancreatic ductal adenocarcinoma in mice. *Cancer Cell*. 2005 May;7(5):469–83.
97. Singh BN, Fu J, Srivastava RK, Shankar S. Hedgehog signaling antagonist GDC-0449 (Vismodegib) inhibits pancreatic cancer stem cell characteristics: molecular mechanisms. *Plos One*. 2011;6(11):e27306.
98. Hwang RF, Moore TT, Hattersley MM, Scarpitti M, Yang B, Devereaux E, et al. Inhibition of the hedgehog pathway targets the tumor-associated stroma in pancreatic cancer. *Mol Cancer Res Mcr*. 2012 Sep;10(9):1147–57.
99. Jacobetz MA, Chan DS, Neesse A, Bapiro TE, Cook N, Frese KK, et al. Hyaluronan impairs vascular function and drug delivery in a mouse model of pancreatic cancer. *Gut*. 2013 Jan;62(1):112–20.
100. Stokes JB, Adair SJ, Slack-Davis JK, Walters DM, Tilghman RW, Hershey ED, et al. Inhibition of focal adhesion kinase by PF-562,271 inhibits the growth and metastasis of pancreatic cancer concomitant with altering the tumor microenvironment. *Mol Cancer Ther*. 2011 Nov;10(11):2135–45.
101. Yardley DA. nab-Paclitaxel mechanisms of action and delivery. *J Control Release Off J Control Release Soc*. 2013 Sep 28;170(3):365–72.
102. Alvarez R, Musteanu M, Garcia-Garcia E, Lopez-Casas PP, Megias D, Guerra C, et al. Stromal disrupting effects of nab-paclitaxel in pancreatic cancer. *Br J Cancer*. 2013 Aug 20;109(4):926–33.
103. Frese KK, Neesse A, Cook N, Bapiro TE, Lolkema MP, Jodrell DI, et al. nab-Paclitaxel potentiates gemcitabine activity by reducing cytidine deaminase levels in a mouse model of pancreatic cancer. *Cancer Discov*. 2012 Mar;2(3):260–9.
104. Hartel M, Di Mola FF, Gardini A, Zimmermann A, Di Sebastiano P, Guweidhi A, et al. Desmoplastic reaction influences pancreatic cancer growth behavior. *World J Surg*. 2004 Aug;28(8):818–25.
105. Neesse A, Frese KK, Bapiro TE, Nakagawa T, Sternlicht MD, Seeley TW, et al. CTGF antagonism with mAb FG-3019 enhances chemotherapy response without increasing drug delivery in murine ductal pancreas cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2013 Jul 23;110(30):12325–30.
106. Ijichi H, Chytil A, Gorska AE, Aakre ME, Bierie B, Tada M, et al. Inhibiting Cxcr2 disrupts tumor-stromal interactions and improves survival in a mouse model of pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Clin Invest*. 2011 Oct;121(10):4106–17.
107. Wang S, Wu Y, Hou Y, Guan X, Castelveter MP, Oblak JJ, et al. CXCR2 macromolecular complex in pancreatic cancer: a potential therapeutic target in tumor growth. *Transl Oncol*. 2013 Apr;6(2):216–25.
108. Beatty GL, Chiorean EG, Fishman MP, Saboury B, Teitelbaum UR, Sun W, et al. CD40 agonists alter tumor stroma and show efficacy against pancreatic carcinoma in mice and humans. *Science*. 2011 Mar 25;331(6024):1612–6.
109. Nemunaitis J. Vaccines in cancer: GVAX, a GM-CSF gene vaccine. *Expert Rev Vaccines*. 2005 Jun;4(3):259–74.
110. Le DT, Lutz E, Uram JN, Sugar EA, Onners B, Solt S, et al. Evaluation of ipilimumab in combination with allogeneic pancreatic tumor cells transfected with a GM-CSF gene in previously treated pancreatic cancer. *J Immunother Hagerstown Md 1997*. 2013 Sep;36(7):382–9.

111. Gansauge F, Poch B, Kleef R, Schwarz M. Effectivity of long antigen exposition dendritic cell therapy (LANEXDC®) in the palliative treatment of pancreatic cancer. *Curr Med Chem*. 2013;20(38):4827–35.
112. Ghansah T, Vohra N, Kinney K, Weber A, Kodumudi K, Springett G, et al. Dendritic cell immunotherapy combined with gemcitabine chemotherapy enhances survival in a murine model of pancreatic carcinoma. *Cancer Immunol Immunother Cii*. 2013 Jun;62(6):1083–91.
113. Kameshima H, Tsuruma T, Kutomi G, Shima H, Iwayama Y, Kimura Y, et al. Immunotherapeutic benefit of  $\alpha$ -interferon (IFN $\alpha$ ) in survivin2B-derived peptide vaccination for advanced pancreatic cancer patients. *Cancer Sci*. 2013 Jan;104(1):124–9.
114. Steding CE, Wu S, Zhang Y, Jeng M-H, Elzey BD, Kao C. The role of interleukin-12 on modulating myeloid-derived suppressor cells, increasing overall survival and reducing metastasis. *Immunology*. 2011 Jun;133(2):221–38.
115. Wagner K, Schulz P, Scholz A, Wiedenmann B, Menrad A. The targeted immunocytokine L19-IL2 efficiently inhibits the growth of orthotopic pancreatic cancer. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2008 Aug 1;14(15):4951–60.
116. Walters DM, Lindberg JM, Adair SJ, Newhook TE, Cowan CR, Stokes JB, et al. Inhibition of the growth of patient-derived pancreatic cancer xenografts with the MEK inhibitor trametinib is augmented by combined treatment with the epidermal growth factor receptor/HER2 inhibitor lapatinib. *Neoplasia New York N*. 2013 Feb;15(2):143–55.
117. Valentino JD, Li J, Zaytseva YY, Mustain WC, Elliott VA, Kim JT, et al. Cotargeting the PI3K and RAS Pathways for the Treatment of Neuroendocrine Tumors. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2014 Mar 1;20(5):1212–22.
118. Liu E, Marincola P, Oberg K. Everolimus in the treatment of patients with advanced pancreatic neuroendocrine tumors: latest findings and interpretations. *Ther Adv Gastroenterol*. 2013 Sep;6(5):412–9.
119. Martineau Y, Azar R, Müller D, Lasfargues C, El Khawand S, Anesia R, et al. Pancreatic tumours escape from translational control through 4E-BP1 loss. *Oncogene*. 2014 Mar 13;33(11):1367–74.



## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Anatomie du pancréas (D'après Habal F. Le pancréas) .....	11
Figure 2: Composition cellulaire du pancréas (Faculté de médecine Lyon Sud-Charles Mérieux, Pr J.L. Saumet, 2010). .....	13
Figure 3 : Epidémiologie des différents cancers en France (Les cancers en France, INCa, 2013) .....	15
Figure 4: Lésions précurseurs et modifications génétiques impliquées dans le PDAC (Kleeff et al, 2007). .....	19
Figure 5: Réseau de signalisation de RAS (Hezel et al, 2006). .....	20
Figure 6: Prise en charge de l'adénocarcinome pancréatique (RTCT : radiothérapie-Chimiothérapie) (adapté de Michl et al, 2013). .....	23
Figure 7: Anastomoses après duodéno pancréatectomie céphalique (Hôpital Saint-Antoine, service de Chirurgie digestive) .....	25
Figure 8: Interactions entre tumeur et microenvironnement (Whatcott et al, 2013). .....	34
Figure 9: Communication réciproque tumeur-stroma. Cellules bleues : cellules cancéreuses ; cellules oranges : CAFs ; fibres violettes : matrice extracellulaire (adapté de Neesse et al, 2011). .....	35
Figure 10: Activation de la voie Hedgehog après fixation d'un ligand SHH (Watson et al, 2010). .....	36
Figure 11: Evolution des CAFs au cours du développement du cancer (adapté de Provenzano et al, 2012). .....	37
Figure 12: Interactions entre CAFs et cellules tumorales (adapté de Li et al, 2012). .....	38
Figure 13: Interactions entre CAFs et microenvironnement (Kleeff et al, 2007). .....	39
Figure 14: Transition épithélio-mésenchymateuse (Chidgey et Dawson, 2007). .....	40
Figure 15: Secrétions des CAFs et action sur la tumeur (Kalluri and Zeisberg, 2006). .....	41
Figure 16: Représentation de la matrice extracellulaire (Li et al, 2012). .....	42
Figure 17: Evolution de la matrice extracellulaire au cours du développement du cancer. Adapté de Provenzano et al, 2012. .....	44
Figure 18: Composition de la matrice dans le PDAC (liste non exhaustive). Adapté de Lunardi et al. Cancer Letters, 2013. .....	45
Figure 19: Interactions entre cellules immunitaires et tumeur (Kleeff et al, 2007). .....	47
Figure 20: Echappement immunitaire au cours de la progression tumorale (Sideras et al, 2013). .....	49

Figure 21: Interactions entre cellules endothéliales et tumeur (Kleeff et al, 2007).....	50
Figure 22: Marquage immunohistochimique des vaisseaux sanguins (anticorps CD31) d'un tissu pancréatique sain (A) et cancéreux (B) (adapté de van der Zee et al, 2011). .....	51
Figure 23: Adaptation tumorale à l'hypoxie et stimulation de l'angiogenèse dans le PDAC (Garcea et al, 2006). .....	52
Figure 24: Effets du losartan sur le collagène et la perfusion au sein de la tumeur (Chahan et al, 2013). .....	55
Figure 25: Effet du IPI-296 sur l'apoptose (CC3+), la survie et les métastases hépatiques (Olive et al, 2009) .....	58
Figure 26: Effet de l'association PEGPH20-gemcitabine sur les CAFs (marquage SMA) et sur le collagène (SMG) (Provenzano et al, 2012) .....	59
Figure 27: Effet de l'association PEGPH20-gemcitabine sur la prolifération (Ki-67), l'apoptose (CC3+), la survie et les métastases (Provenzano et al, 2012) .....	60
Figure 28: Effet du PF-562271 sur la croissance tumorale (Stokes et al, 2011). .....	61
Figure 29: Analyse tomodynamométrique avant et après traitement gemcitabine-CP-870893 (Beatty et al, 2011).....	64
Figure 30: Effets du L19-IL2 sur la nécrose, l'apoptose et la prolifération au sein de la tumeur (Wagner et al, 2008).....	67
Figure 31: Agents thérapeutiques ciblant les principales voies de survie et de prolifération (adapté de Michl et Gress, 2013). .....	68

## SERMENT DE GALIEN

*« Je jure en présence de mes Maîtres de la Faculté et de mes condisciples :*

*- d'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;*

*- d'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;*

*- de ne jamais oublier ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel ;*

*En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

*Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.*

*Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères, si j'y manque. »*