

Impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIA et FcγRIIIA couplé à la fonctionnalité des cellules Natural Killer sur la réponse clinique des patients atteints de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, traités par Cetuximab

David Jague

▶ **To cite this version:**

David Jague. Impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIA et FcγRIIIA couplé à la fonctionnalité des cellules Natural Killer sur la réponse clinique des patients atteints de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, traités par Cetuximab. Sciences pharmaceutiques. 2015. dumas-01232460

HAL Id: dumas-01232460

https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01232460

Submitted on 23 Nov 2015

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.

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNÉE 2015

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

JAGUE David

NÉ LE 29/06/1986 À DIEPPE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 10 Juillet 2015

Impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIA et FcγRIIIA couplé à la fonctionnalité des cellules Natural Killer sur la réponse clinique des patients atteints de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, traités par Cetuximab.

PRÉSIDENT DE JURY :

Professeur Loïc FAVENNEC (Professeur de parasitologie, PU-PH)

MEMBRES DU JURY :

Professeur Jean-Christophe SABOURIN (Directeur de thèse, docteur en médecine)
Professeur Philippe VÉRITÉ (Co-directeur de thèse, professeur de chimie analytique)
Monsieur Vincent PHILIBERT (Directeur production chez Aspen Pharmacare)
Docteur Aude LAMY (Docteur en biologie moléculaire)

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNÉE 2015

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN PHARMACIE

(Diplôme d'État)

PAR

JAGUE David

NÉ LE 29/06/1986 À DIEPPE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 10 Juillet 2015

Impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIA et FcγRIIIA couplé à la fonctionnalité des cellules Natural Killer sur la réponse clinique des patients atteints de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, traités par Cetuximab.

PRESIDENT DE JURY :

Professeur Loïc FAVENNEC (Professeur de parasitologie, PU-PH)

MEMBRES DU JURY :

Professeur Jean-Christophe SABOURIN (Directeur de thèse, docteur en médecine)
Professeur Philippe VÉRITÉ (Co-directeur de thèse, professeur de chimie analytique)
Monsieur Vincent PHILIBERT (Directeur production chez Aspen Pharmacare)
Docteur Aude LAMY (Docteur en biologie moléculaire)

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014 – 2015
U.F.R. DE MEDECINE – PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN :	**Professeur Pierre FREGER**
ASSESSEURS :	**Professeur Michel GUERBET** **Professeur Benoît VEBER** **Professeur Pascal JOLY**
DOYENS HONORAIRES :	**Professeurs J. BORDE – Ph. LAURET – H. PIGUET – C. THUILLIEZ**
PROFESSEURS HONORAIRES :	**M.P. AUGUSTIN – J. ANDRIEU-GUITRANCOURT – M. BENOZIO – J. BORDE – P. BRASSEUR – R. COLIN – E. COMOY – J. DALION – P. DESHAYES – C. FESSARD – J.P. FILLASTRE – P. FRIGOT – J. GARNIER – J. HEMET – B. HILLEMAND – G. HUMBERT – J.M. JOUANY – R. LAUMONIER – P. LAURET – M. LE FUR – J.P. LEMERCIER – J.P. LEMOINE – H. MAGARD – B. MAITROT – M. MAISONNET – F. MATRAY – P. MITROFANOFF – A.M. ORECHIONI – P. PASQUIS – H. PIGUET – M. SAMSON – D. SAMSON-DOLLFUS – J.C. SCHRUB – R. SOYER – B. TARDIF – J. TESTARD – J.M. THOMINE – C. THUILLEZ – P. TRON – C. WINCKLER – L.M. WOLF**

I - MEDECINE

PROFESSEURS

M. Frédéric **ANSELME**	HCN	Cardiologie
Mme. Isabelle **AUQUIT AUCKBUR**	HCN	Chirurgie Plastique
M. Bruno **BACHY** *(surnombre)*	HCN	Chirurgie Pédiatrique
M. Fabrice **BAUER**	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya **BEKRI**	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. Jacques **BENICHOU**	HCN	Biostatistiques et informatique médicale

M. Jean-Paul **BESSOU**	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise **BEURET-BLANQUART**	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Guy **BONMARCHAND**	HCN	Réanimation médicale
M. Olivier **BOYER**	UFR	Immunologie
M. Jean-François **CAILLARD** *(Surnombre)*	HCN	Médecine et santé au travail
M. François **CARON**	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Philippe **CHASSAGNE**	HB	Médecine interne (Gériatrie)
M. Vincent **COMPERE**	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Antoine **CUVELIER**	HB	Pneumologie
M. Pierre **CZERNICHOW**	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Nicolas **DACHER**	HCN	Radiologie et Imagerie médicale
M. Stéfan **DARMONI**	HCN	Informatique médicale / Techniques de communication
M. Pierre **DECHELOTTE**	HCN	Nutrition
Mme. Danièle **DEHESDIN** *(Surnombre)*	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Jean **DOUCET**	HB	Thérapeutique / Médecine interne – Gériatrie
M. Bernard **DUBRAY**	CB	Radiothérapie
M. Philippe **DUCROTTE**	HCN	Hépato-Gastro-Entérologie
M. Frank **DUJARDIN**	HCN	Chirurgie orthopédique et traumatologique
M. Fabrice **DUPARC**	HCN	Anatomie – Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. Bertrand **DUREUIL**	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène **ELTCHANINOFF**	HCN	Cardiologie
M. Thierry **FREBOURG**	UFR	Génétique
M. Pierre **FREGER**	HCN	Anatomie / Neurochirurgie
M. Jean-François **GEHANNO**	HCN	Médecine et santé au travail
M. Emmanuel **GERARDIN**	HCN	Imagerie Médicale
Mme Priscille **GERARDIN**	HCN	Pédopsychiatrie
M. Michel **GODIN**	HB	Néphrologie
M. Guillaume **GOURCEROL**	HCN	Physiologie
M. Philippe **GRISE**	HCN	Urologie
M. Didier **HANNEQUIN**	HCN	Neurologie
M. Fabrice **JARDIN**	CB	Hématologie
M. Luc-Marie **JOLY**	HCN	Médecine d'urgence
M. Pascal **JOLY**	HCN	Dermato-vénéréologie
M. Jean-Marc **KUHN**	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mme Annie **LAQUERRIERE**	HCN	Anatomie cytologie pathologiques

M. Vincent **LAUDENBACH**	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
M. Joël **LECHEVALLIER**	HCN	Chirurgie infantile
M. Hervé **LEFEBVRE**	HB	Endocrinologie et maladie métaboliques
M. Thierry **LEQUERRE**	HB	Rhumatologie
M. Eric **LEREBOURS**	HCN	Nutrition
Mme Anne-Marie **LEROI**	HCN	Physiologie
M. Hervé **LEVESQUE**	HB	Médecine interne
Mme Agnès **LIARD-ZMUDA**	HCN	Chirurgie infantile
M. Pierre-Yves **LITZER**	HCN	Chirurgie cardiaque
M. Bertrand **MACE**	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David **MALTETE**	HCN	Neurologie
M. Christophe **MARGUET**	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle **MARIE**	HB	Médecine interne
M. Jean-Paul **MARIE**	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Loïc **MARPEAU**	HCN	Gynécologie-obstétrique
M. Stéphane **MARRET**	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique **MERLE**	HCN	Epidémiologie
M. Pierre **MICHEL**	HCN	Hépato-Gastro-Entérologie
M. Francis **MICHOT**	HCN	Chirurgie digestive
M. Bruno **MIHOUT** *(Surnombre)*	HCN	Neurologie
M. Jean-François **MUIR**	HB	Pneumologie
M. Marc **MURAINE**	HCN	Ophtalmologie
M. Philippe **MUSETTE**	HCN	Dermato-Vénéréologie
M. Christophe **PEILLON**	HCN	Chirurgie générale
M. Jean-Marc **PERON**	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
M. Christian **PFISTER**	HCN	Urologie
M. Jean-Christophe **PLANTIER**	HCN	Bactériologie – Virologie
M. Didier **PLISSONNIER**	HCN	Chirurgie vasculaire
M. Bernard **PROUST**	HCN	Médecine légale
M. François **PROUST**	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie **RIVES**	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
M. Jean-Christophe **RICHARD** *(mise en dispo)*	HCN	Réanimation médicale - médecine d'urgence
M. Horace **ROMAN**	HCN	Gynécologie - Obstétrique
M. Jean-Christophe **SABOURIN**	HCN	Anatomie – Pathologie
M. Guillaume **SAVOYE**	HCN	Hépato - Gastrologie
Mme Céline **SAVOYE-COLLET**	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale **SCHNEIDER**	HCN	Pédiatrie
M. Michel **SCOTTE**	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne **TAMION**	HCN	Thérapeutique
Mlle Florence **THIBAUT**	HCN	Psychiatrie d'adultes
M. Luc **THIEBERVILLE**	HCN	Pneumologie
M. Christian **THUILLEZ**	HB	Pharmacologie
M. Hervé **TILLY**	CB	Hématologie et transfusion

M. François **TRON** *(Surnombre)*	UFR	Immunologie
M. Jean-Jacques **TUECH**	HCN	Chirurgie digestive
M. Jean-Pierre **VANNIER**	HCN	Pédiatrie génétique
M. Benoît **VEBER**	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Pierre **VERA**	CB	Biophysique et traitement de l'image
M. Eric **VERIN**	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Eric **VERSPYCK**	HCN	Gynécologie obstétrique
M. Olivier **VITTECOQ**	HB	Rhumatologie
M. Jacques **WEBER**	HCN	Physiologie

MAÎTRES DE CONFERENCES

Mme Noëlle **BARBIER-FREBOURG**	HCN	Bactériologie – Virologie
M. Jeremy **BELLIEN**	HCN	Pharmacologie
Mme Carole **BRASSE LAGNEL**	HCN	Biochimie
M. Gérard **BUCHONNET**	HCN	Hématologie
Mme Mireille **CASTANET**	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie **CHASTAN**	HCN	Physiologie
Mme Sophie **CLAEYSSENS**	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
M. Moïse **COEFFIER**	HCN	Nutrition
M. Stéphane **DERREY**	HCN	Neurochirurgie
M. Eric **DURAND**	HCN	Cardiologie
M. Manuel **ETIENNE**	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Serge **JACQUOT**	UFR	Immunologie
M. Joël **LADNER**	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Baptiste **LATOUCHE**	UFR	Biologie cellulaire
M. Thomas **MOUREZ**	HCN	Bactériologie
M. Jean-François **MENARD**	HCN	Biophysique
Mme Muriel **QUILLARD**	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
M. Vincent **RICHARD**	UFR	Pharmacologie
M. Francis **ROUSSEL**	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mme Pascale **SAUGIER-VEBER**	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire **TOBENAS-DUJARDIN**	HCN	Anatomie
M. Pierre-Hugues **VIVIER**	HCN	Imagerie Médicale

PROFESSEURS AGREGES OU CERTIFIES

Mme Dominique **LANIEZ**	UFR	Anglais
Mme Cristina **BADULESCU**	UFR	Communication

CB :	Centre Henri Becquerel	HB :	Hôpital de Bois-Guillaume
CRMPR :	Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation	HCN :	Hôpital Charles Nicolle
		UFR :	Faculté de Médecine

II – PHARMACIE

PROFESSEURS

M. Thierry **BESSON**	Chimie thérapeutique
M. Jean-Jacques **BONNET**	Pharmacologie
M. Roland **CAPRON** (PU-PH)	Biophysique
M. Jean **COSTENTIN** (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle **DUBUS**	Biochimie
M. Loïc **FAVENNEC** (PU-PH)	Parasitologie
M. Jean-Pierre **GOULLE**	Toxicologie
M. Michel **GUERBET**	Toxicologie
M. Olivier **LAFONT**	Chimie organique
Mme Isabelle **LEROUX**	Physiologie
M. Paul **MULDER**	Sciences du médicament
Mme Martine **PESTEL-CARON** (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth **SEGUIN**	Pharmacognosie
M. Rémi **VARIN**	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie **VAUGEOIS**	Pharmacologie
M. Philippe **VERITE**	Chimie analytique

MAÎTRES DE CONFERENCES

Mme Cécile **BARBOT**	Chimie générale et minérale
Mme Dominique **BOUCHER**	Pharmacologie
M. Frédéric **BOUNOURE**	Pharmacie galénique
M. Abdeslam **CHAGRAOUI**	Physiologie
M. Jean **CHASTANG**	Biomathématiques
Mme Marie-Catherine **CONCE-CHEMTOB**	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth **CHOSSON**	Botanique
Mme Cécile **CORBIERE**	Biochimie
M. Eric **DITTMAR**	Biophysique
Mme Nathalie **DOURMAP**	Pharmacologie
Mme Isabelle **DUBUC**	Pharmacologie
M. Abdelhakim **ELOMRI**	Pharmacognosie
M. François **ESTOUR**	Chimie organique
M. Gilles **GARGALA** (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla **GHARBI**	Chimie analytique
Mme Marie-Laure **GROULT**	Botanique
M. Hervé **HUE**	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia **LE GOFF**	Parasitologie Immunologie
Mme Huong **LU**	Biologie

Mme Sabine **MENAGER**	Chimie organique
Mme Christelle **MONTEIL**	Toxicologie
M. Mohammed **SKIBA**	Pharmacie galénique
Mme Malika **SKIBA**	Pharmacie galénique
Mme Christine **THARASSE**	Chimie thérapeutique
M. Frédéric **ZIEGLER**	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile **GUERARD-DETUNCQ**	Pharmacie officinale
M. Jean-François **HOUIVET**	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CONTRACTUEL

Mme Elizabeth **DE PAOLIS**	Anglais
M. Thierry **WABLE**	Communication

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

M. Jérémie **MARTINET**	Immunologie

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mme Imane **EL MEOUCHE**	Microbiologie
Mme Juliette **GAUTIER**	Pharmacie galénique
M. Romy **RAZAKANDRAINIBE**	Parasitologie

III. MEDECINE GENERALE

PROFESSEURS

M. Jean-Loup **HERMIL**	UFR	Médecine Générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

M. Pierre **FAINSILBER**	UFR	Médecine Générale
M. Alain **MERCIER**	UFR	Médecine Générale
M. Philippe **NGUYEN THANH**	UFR	Médecine Générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

M. Emmanuel **LEFEBVRE**	UFR	Médecine Générale
Mme Elisabeth **MAUVIARD**	UFR	Médecine Générale
Mme Marie Thérèse **THUEUX**	UFR	Médecine Générale

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

CB :	Centre Henri Becquerel	HB :	Hôpital de Bois-Guillaume
CRMPR :	Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation	HCN :	Hôpital Charles Nicolle
		UFR :	Faculté de Médecine

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile **BARBOT**	Chimie générale et minérale
M. Thierry **BESSON**	Chimie thérapeutique
M. Jean-Jacques **BONNET**	Pharmacodynamie
M. Roland **CAPRON**	Biophysique
M. Jean **CHASTANG**	Mathématiques
Mme Marie-Catherine **CONCE-CHEMTOB**	Législation, économie de la santé
Mme Elizabeth **CHOSSON**	Botanique
Mme Isabelle **DUBUS**	Biochimie
M. Loïc **FAVENNEC**	Parasitologie
M. Michel **GUERBET**	Toxicologie
M. Olivier **LAFONT**	Chimie Organique
Mme Isabelle **LEROUX-NICOLLET**	Physiologie
Mme Martine **PESTEL-CARON**	Microbiologie
Mme Elisabeth **SEGUIN**	Pharmacognosie
M. Mohammed **SKIBA**	Pharmacie galénique
M. Rémi **VARIN**	Pharmacie clinique
M. Philippe **VERITE**	Chimie analytique

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

MAÎTRES DE CONFERENCES

M. Sahil **ADRIOUCH**	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle **BOUGEARD-DENOYELLE**	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine **CLEREN**	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline **GAILDRAT**	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
M. Antoine **OUVRARD-PASCAUD**	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mme Isabelle **TOURNIER**	Biochimie (UMS 1079)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

M. Serguei **FETISSOV**	Physiologie (Groupe ADEN)
Mme Su **RUAN**	Génie informatique

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

Pour commencer je voudrais adresser mes plus profonds et sincères remerciements à mes parents. Merci Maman et Papa pour votre soutien depuis plus de 29 ans déjà, le but ultime de toutes ces années a été pour moi de vous rendre fier de votre fils, et à ce jour, j'espère que vous l'êtes. Je le dis rarement, mais sachez que je vous aime.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Jean-Christophe SABOURIN pour m'avoir fait l'honneur de me confier ce travail au sein de son laboratoire. Mais surtout d'avoir accepté que j'utilise ce travail en tant que thèse, et d'en être le directeur. Encore merci pour votre confiance.

Je tiens à remercier Monsieur le Professeur Loïc FAVENNEC d'avoir fait l'honneur d'accepter de présider le jury de cette thèse. Merci pour votre enseignement depuis la première année de mes études pharmaceutiques et ceci toujours dans la bonne humeur. Je vous dois une grande reconnaissance.

Je souhaite remercier Monsieur le Professeur Philippe VÉRITÉ d'avoir accepté avec plaisir d'être le co-directeur de cette thèse. Je dois aussi vous remercier pour votre enseignement juste et avec passion de la chimie analytique, mais surtout pour votre dévouement pour la filière industrielle en parfaite continuité de Mme ANDRÉ. Je vous dois ainsi à tout les deux une grande reconnaissance.

Je remercie également Aude LAMY de m’avoir accompagné tout au long de ce travail en paillasse et d’avoir su me guider avec pédagogie. Mais également d’avoir accepté de faire partie de mon jury.

Et enfin, je tiens également à remercier mon maître de stage industriel Vincent PHILIBERT qui a su me faire confiance dès mon entrée dans ce monde. Tu as su m'ouvrir les portes de cet univers et tu as su m'accompagner tout au long de ce début de parcours. Tu es pour moi l'un des piliers de ce que je suis actuellement et je l'espère, de ce que je serai à l'avenir…

Un grand merci à Anne-Bérangère, ma Chouchoutte que j'aime tant. Il nous a fallu du temps pour se trouver, mais maintenant nous avons tout notre temps pour vivre heureux. Tu m'as longtemps soutenu lors de la rédaction de cette thèse et même quand je ne trouvais pas la motivation. Maintenant, à mon tour de te soutenir. Je t'aime.

Un merci également à Marinne ma petite sœur pour le bonheur que tu m'as apporté il y a déjà 17 ans, et cette joie de vivre que tu m'apportes encore. En espérant être présent lors de ta future thèse ?

Un merci à toute ma famille, la plus proche comme la plus loin, de m'avoir fait confiance dans cette vocation. Et aussi à mon grand-père là-haut qui m'a tant donné dans mes premières années scolaires. J'espère que toi aussi tu es fier de ton petit fils.

Un grand merci également à tous mes professeurs pour m'avoir enseigné votre discipline et de m'avoir transmis la fibre pharmaceutique.

Merci à ma belle famille d'accepter un futur docteur en pharmacie parmi les vôtres. Et un merci à mon chat Zolpi, elle a su m'accompagner avec douceur et câlins lors de la rédaction.

Je voudrais aussi remercier tout particulièrement mes amis avec qui j'ai pu vivre ces merveilleuses années d'études de pharma et qui resteront à jamais gravées dans ma mémoire. Notamment Rominou avec sa gentillesse et son rire magistral qui nous a tant marqué en amphi, Marlène pour avoir été souvent présente, Elise pour m'avoir aidé à découvrir la France, Alicia notre Bescherelle personnel et aussi première mariée du groupe, Filou de la LH team, FX, son appart et ses fins de soirées les plus folles qui soient, … mais surtout Alice pour toujours avoir été à mes cotés dans les bons comme dans les pires moments... Une amitié réelle et sincère.

On a su resté soudé au cours de ces 6 années d'étude (voir plus pour certains), et j'espère que ça durera encore une éternité...

Un grand merci aussi aux Toulousains de m'avoir accueilli au cours de ma 5ème année.

Et un grand merci aux Grenoblois de m'avoir accueilli à la fin de ce périple pharmaceutique.

Merci également à toutes les facultés de pharmacie de France que j'ai pu côtoyer et à qui nous avons pu démontrer que Rouen est une fac n°1. Merci à Grenoble, Toulouse, Caen, PD, Amiens, PXI, Nantes, Reims, Marseille, … et à l'ANEPF.

Et pour finir, ce dernier remerciement et non des moindres reviendra à Buzz l'éclair !!! Il a su guider ma ligne de conduite, me montrer le chemin des étoiles, et il me suivra j'espère encore longtemps. *« Vers l'infini et au-delà... »*

SOMMAIRE

SOMMAIRE **1**

LISTE DES TABLEAUX **5**

LISTE DES FIGURES **6**

INTRODUCTION **7**

1 Le cancer, une maladie progressive **7**
1.1 Caractéristiques de la maladie 7
1.2 Responsabilité génétique 8
1.3 Démographie tumorale 9
1.4 Les traitements associés 9
2 Les Carcinomes Epidermoïdes des Voies Aero-Digestives Supérieures **12**
2.1 Incidence et Mortalité 12
2.2 Facteurs de risques 13
2.3 Localisations 13
2.4 Les traitements 14
2.4.1 La chirurgie 14
2.4.2 La radiothérapie 14
2.4.3 La chimiothérapie 14
2.4.4 Les thérapies ciblées 15
3 L'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) **15**
3.1 Description 15
3.2 Fonctionnalités de l'EGFR 16
3.2.1 Interaction du ligand avec le récepteur EGFR 16
3.2.2 Autophosphorylation 18
3.2.3 Activation des voies de signalisation intracellulaire 18
3.2.3.1 Voie PLCγ/PKC 20
3.2.3.2 Voie PI3K/PKB/PTEN 20
3.2.3.3 Voie Ras/Raf/MEK/MAPK 22
3.2.3.4 Voie JAK/STAT 24
3.2.4 Régulation, Recyclage et dégradation de l'EGFR. 24
3.2.4.1 Endocytose 25
3.2.4.2 Dégradation ou recyclage ? 25
3.3 Rôle de l'EGFR dans les CE VADS. 26
4 Les thérapies ciblées anti-EGFR. **27**
4.1 Les inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase 28
4.2 Les anticorps monoclonaux. 29
5 Le Cetuximab (Erbitux®) **30**
5.1 Mécanisme d'action du Cetuximab 30
5.1.1 Inhibition de la liaison ligand-récepteur 31
5.1.2 Internalisation du récepteur 31
5.1.3 Réponse immunitaire cytotoxique 31

5.1.4 Les Natural Killer et l'activité ADCC 32
5.2 Utilisation du Cetuximab dans les CE VADS 34
5.2.1 Association du Cetuximab et de la radiothérapie 34
5.2.1.1 Données pré-cliniques 34
5.2.1.2 Efficacité clinique du Cetuximab et de la radiothérapie dans les cancers des VADS localement avancés. 36
5.2.2 Association du Cetuximab et des chimiothérapies 38
5.2.2.1 Données pré-cliniques 38
5.2.2.2 Cetuximab et première ligne de chimiothérapie pour la prise en charge des CE VADS métastatiques et/ou récidivants 39
5.2.2.3 Cetuximab et prise en charge des poursuites évolutives des CE VADS incurables 40
5.3 Données pharmaceutiques 41
5.3.1 Dénominations commerciales 41
5.3.2 Forme pharmaceutique 41
5.3.3 Posologie et Rythme d'administration 41
5.3.4 Mises en garde et effets indésirables 42
5.4 Utilisation clinique limitée du Cetuximab 44
6 Mécanismes de résistances aux inhibiteurs de l'EGFR observés chez les cancers des VADS. 45
6.1 Altération de l'EGFR. 45
6.2 Altération de KRAS. 46
6.3 Altérations de la voie PI3K/AKT/PTEN 46
6.4 Suractivation forte des SFK (Src Family Kinases) 47
6.5 Altération du cycle cellulaire 47
6.6 Rôle de VEGF dans la résistance 47
6.7 Les facteurs indépendants de la tumeur : la piste de l'ADCC 48
6.7.1 Les différents polymorphismes de FcγR 48
6.7.2 Relation entre polymorphisme des récepteurs et réponse aux traitements 49
6.7.3 Cinétique des Natural Killer 52

MATERIEL ET METHODE 54

1 Polymorphismes FCGR2A et FCGR3A 54
1.1 Patients 54
1.2 Détermination des polymorphismes des gènes FCGR2A et FCGR3A 55
1.2.1 Recueil et examen des échantillons 55
1.2.2 Extraction de l'ADN 56
1.2.3 PCR Multiplex 56
1.2.4 Electrophorèse en gel d'agarose 60
1.2.5 SNaPshot® Multiplex System (Applied Biosystems). 61
1.2.6 Protocole de manipulation 63
2 Evaluation des réponses au traitement par les critères RECIST 63
2.1 Définitions 63
2.2 Lésions à l'inclusion 64
2.2.1 Maladies mesurables 64
2.2.2 Maladies non-mesurables 64
2.2.3 Lésions cibles 65
2.2.4 Lésions non-cibles 65

2.3 Critères de réponse au traitement 65
2.3.1 Lésions cibles 65
2.3.2 Lésions non-cibles 66
3 Fonction des cellules Natural Killer 67
3.1 Patients 67
3.2 Evaluation de la fonction des NK 68
3.2.1 Numération formule sanguine (NFS) 68
3.2.2 Répartition des sous-populations de NK par immunophénotypage CD45, CD3, CD56 et CD16. 68
4 Statistiques 69

RESULTATS 70

1 Polymorphismes FCGR2A et FCGR3A 70
1.1 Description clinique 70
1.1.1 Généralités 70
1.1.2 Caractéristiques tumorales 71
1.1.3 Caractéristiques cliniques de la population d'étude 72
1.1.3.1 Etat général 72
1.1.3.2 Intoxication alcoolo-tabagique et comorbidités 73
1.1.4 Traitement par cetuximab 74
1.1.4.1 Schémas thérapeutiques 74
1.1.4.2 Déroulement du traitement dans le groupe $C_{xb}C$ + RT 75
1.1.4.3 Déroulement du traitement dans le groupe $C_{xb}P$ 75
1.2 Evaluation du traitement 76
1.2.1 Groupe $C_{xb}C$ + RT 77
1.2.1.1 Réponse tumorale selon les critères RECIST 77
1.2.1.2 Survie et éléments du suivi 78
1.2.2 Groupe $C_{xb}P$ 78
1.2.2.1 Réponse tumorale selon les critères RECIST 78
1.2.2.2 Survie et éléments de suivi 79
1.3 Polymorphisme génétique 80
1.3.1 Généralités 80
1.3.2 Statistiques 82
1.3.3 Relation entre le polymorphisme génétique et les évaluations cliniques 83
1.3.3.1 Effectif total de l'étude (n=28) 83
1.3.3.2 Groupe $C_{xb}C$+RT (n=14) 87
1.3.3.3 Groupe $C_{xb}P$ (n=14) 90
1.3.3.4 Groupe $C_{xb}P$ (n=14) 90
1.3.4 Récapitulatif des résultats significatifs 93
2 Fonction des cellules Natural Killer [113] 93
2.1 Généralités 93
2.2 Dysfonction quantitative des Natural Killer 94
2.3 Dysfonction qualitative des Natural Killer 95
2.4 Récapitulatif des dysfonctions quantitatives et qualitatives 95

DISCUSSION 97

1 Rappels des principaux résultats 98
2 Des résultats à prendre avec circonspection 99

2.1 Limites d'étude 99
2.2 Voies alternatives de l'immunité et résistances au cetuximab 100
2.2.1 Les anticorps humains anti-chimériques (HACA) 100
2.2.2 Implication des différentes voies cytotoxiques de l'immunité 101
2.2.3 Résistances au cetuximab 102
2.3 Immunodépression 102
2.4 Le rôle du micro-environnement tumoral 103
2.4.1 Les cellules immunes du stroma tumoral 103
2.4.2 Le rôle ambigü des macrophages recrutés 104
2.4.3 Echappement tumoral au système immunitaire 105
2.5 Traitements associés et interactions médicamenteuses 106
3 Confrontation avec les résultats déjà connus 106
3.1 Bibeau and al. 2009 [109] 106
3.2 Lopez-Albaitero and al. 2009 [110] 107
3.3 Taylor and al. 2009 [111] 108
3.4 Zhang and al. 2007 [96] 108
3.5 Gonzalez and al. 1998 [122] 109
4 Polymorphisme FCGR2A-R131H : biomarqueur de l'efficacité clinique du cetuximab ? 109
4.1 Le FCGR2A peut-il être un bon biomarqueur ? 110
5 Polymorphisme FCGR3A-F158V : biomarqueur d'une meilleure survie pour le traitement curatif par cetuximab ? 110
5.1 Le FCGR3A peut-il être un bon biomarqueur ? 111
6 Perspectives 112
6.1 Etudes complémentaires 112
6.1.1 Elargissement de la population 112
6.1.2 Utilisation de la base de données de l'étude TPex 112
6.1.3 Mise en commun de l'ensemble des données des études pré-existantes 113
6.1.4 Ajout du facteur de l'immunodépression 113
6.1.5 Ajout d'autres facteurs de résistance au cetuximab dans les CE VADS 114
6.2 Le développement de biopuces 114
6.3 Amélioration thérapeutique 115
6.3.1 Hypersensibilité et choc anaphylactique 115
6.3.2 Radiothérapie et autres chimiothérapies associées 116
6.3.3 Restituer la fonction des Natural Killer (IL-2, IL-15 et IL-21) 116
6.3.4 Associations thérapeutiques afin de pallier aux résistances 116
6.3.4.1 Le mutant EGFRvIII 116
6.3.4.2 Voie PI3K 117

CONCLUSION 118

BIBLIOGRAPHIE 119

ANNEXE A1-2015 132

Annexe : Protocoles de manipulation: « Principe of RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit Protocol (Ambion®) » rédigé lors des manipulations effectuées par moi-même en Juin 2010.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Récepteurs et ligands de la famille HER [19] 17
Tableau 2 : Récepteurs et dimères de la famille HER [19] 18
Tableau 3 : Résultats de l'étude Bonner et al. De phase III comparant radiothérapie seule (RT) à l'association RT + cetuximab [55,56] 37
Tableau 4 : Etude de phase II portant sur l'utilisation du cetuximab pour les patients en poursuites évolutives après une première ligne de chimiothérapie comportant un sel de platine 40
Tableau 5 : Réponses tumorales selon RECIST pour les patients avec des lésions cibles mesurables (± lésions non-cibles) 67
Tableau 6 : Caractéristiques démographiques 71
Tableau 7 : Localisation tumorales et stades tumoraux 72
Tableau 8 : Intoxication alcoolo-tabagique 73
Tableau 9 : Récapitulatif des caractéristiques de traitement dans les différents groupes et sous-groupes 76
Tableau 10 : Délais moyens entre les TDM initiales et d'évaluations par rapport aux débuts et fins des traitements par cetuximab ainsi que les durées de traitements 77
Tableau 11 : Survie et éléments de suivi des sous-groupes $C_{xb}P$ seul et $C_{xb}P$+CT/RT 79
Tableau 12 : Résultats du polymorphisme génétique de la population générale 80
Tableau 13 : Résultats du polymorphisme génétique de la population d'étude 81
Tableau 14 : Fréquence de FCGR2A-131H et FCGR3A-158V des différents sous-groupes et intervalles de pari au risque α de 5% 82
Tableau 15 : Etude globale : Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions cibles ... 84
Tableau 16 : Etude globale : Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions globales 85
Tableau 17 : $C_{xb}C$+RT : Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions cibles 87
Tableau 18 : $C_{xb}C$+RT : Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions globales 88
Tableau 19 : $C_{xb}P$: Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions cibles 91
Tableau 20 : $C_{xb}P$: Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions globales 91
Tableau 21 : Récapitulatif des résultats significatifs 93
Tableau 22 : Caractéristiques démographiques 94
Tableau 23 : Comparaison de la répartition des allèles FCGR3A par rapport à la loi de Hardy Weinberg 98

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Progression tumorale 7
Figure 2 : Principes de la thérapie ciblée 12
Figure 3 : Régions anatomiques des voies aéro-digestives supérieures 13
Figure 4 : Domaine extra-cellulaire de l'EGFR complexé avec l'EGF 16
Figure 5 : Activation par dimérisation de l'EGFR [20] 17
Figure 6 : Représentation schématique des principales voies de signalisation régulées par l'EGFR [21] 19
Figure 7 : Représentation schématique de la voie de signalisation PI3K/PKB [21] 22
Figure 8 : Représentation schématique de la voie de signalisation Ras/Raf/MAPK [21] 23
Figure 9 : Représentation schématique des mécanismes d'action des inhibiteurs de la tyrosine kinase et des anticorps monoclonaux [21] 28
Figure 10 : Structure d'une immunoglobuline [21] 29
Figure 11 : Nomenclature des anticorps monoclonaux [21] 30
Figure 12 : Recrutement et stimulation du système immunitaire par le cetuximab (mAb) [48] 32
Figure 13 : Les 5 sous-groupes de Natural Killer vu par cytométrie de flux [49] 33
Figure 14 : Courbes de Kaplan-Meyer comparant la survie globale et le contrôle loco-régional entre les bras radiothérapie associé au cetuximab [55] 36
Figure 15 : Courbes de Kaplan-Meyer de survie globale (A) et de survie sans progression (B) [66] 39
Figure 16 : Relation entre polymorphisme de FcγRIIa et FcγRIIIa, et la survie sans progression 51
Figure 17 : ADCC liée aux cellules NK et polymorphisme du gène FCGR3A *in vitro* [109] 51
Figure 18 : Corrélation entre les allèles FCGR3A et la sécrétion de cytokines [110] 52
Figure 19 : Lieu de stockage des différentes lamelles au sein du CHU de Rouen 56
Figure 20 : Cycles d'une PCR [112] 57
Figure 21 : Exemple de résultats obtenus sur gel d'agarose lors des manipulations effectuées au sein du service d'anatomo-cyto-pathologie du professeur Sabourin 61
Figure 22 : Principe du SNaPshot® Multiplex Systems 61
Figure 23 : Etude globale : Relation entre la survie et le génotype FCGR2A (n=28 patients) 86
Figure 24 : Etude globale : Relation entre la survie et le génotype FCGR3A (n=26 patients) 86
Figure 25 : $C_{xb}C$+RT : Relation entre la survie et le génotype FCGR2A (n=14 patients) .89
Figure 26 : $C_{xb}C$+RT : Relation entre la survie et le génotype FCGR3A (n=14 patients) .90
Figure 27 : $C_{xb}P$: Relation entre la survie et le génotype FCGR2A (n=14 patients) 92
Figure 28 : Lymphocytose et lymphocytose NK (malades Vs. témoins) 95
Figure 29 : Proportion des Natural Killer CD56- (malades Vs. témoins) 95
Figure 30 : Dysfonction qualitative et/ou quantitative (malades Vs. témoins) 96

INTRODUCTION

1 Le cancer, une maladie progressive

1.1 Caractéristiques de la maladie

Le cancer est une maladie caractérisée par un développement anarchique et ininterrompu de cellules « anormales » au sein d'un tissu normal de l'organisme. En effet chaque cellule contient dans son noyau des instructions sous forme de gènes, et au cours de la formation de l'être humain, chacune de ces cellules va se différencier et n'utiliser qu'une certaine partie de ces gènes pour son fonctionnement, sa croissance, son renouvellement et même sa mort. Mais il arrive parfois que le mécanisme cellulaire s'enraye…

Ainsi les cellules dites « anormales » vont se multiplier plus rapidement que les cellules saines et vont pouvoir former un amas appelé tumeur, « grosseur » ou néoplasme. La tumeur va pouvoir contrôler son ampleur et ne pas migrer vers d'autres organes, elle sera dite non cancéreuse ou bénigne, mais si elle envahi les organes alentours, elle sera dite maligne ou cancéreuse. Parfois ces cellules cancéreuses peuvent donc s'étendre aux organes alentours mais elles peuvent également entrer dans le flux sanguin et coloniser des organes distants. Une fois à destination, elles se développent comme la tumeur d'origine ; ce processus est nommé *métastase* (après ce stade, les chances de guérison sont plus faibles car les tumeurs disséminées sont plus difficiles à atteindre et à traiter).

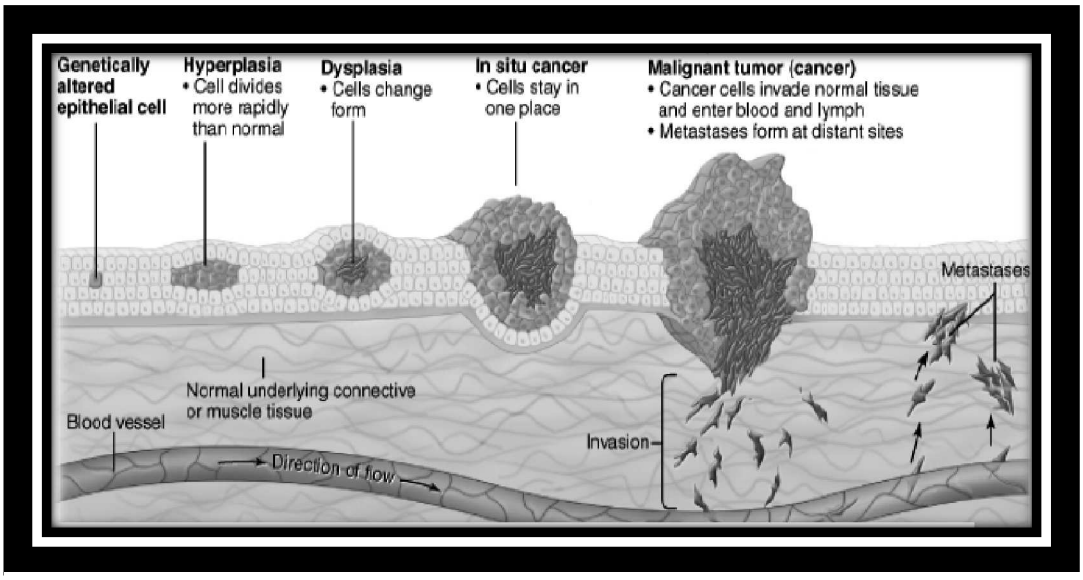


Figure 1 – Progression tumorale

1.2 Responsabilité génétique

Des transformations du génome vont profondément modifier la physiologie cellulaire et permettre la croissance tumorale, ceci en modifiant les voies de signalisation impliquées dans la prolifération, la différenciation, l'adhésion, la migration, la survie et la mort cellulaire [1-2]. Ainsi, la cellule tumorale acquiert :

- Indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance ;
- Insensibilité aux signaux d'inhibition de croissance ;
- Potentiel réplicatif illimité, c'est-à-dire immortalisation ;
- Echappement à la mort cellulaire (apoptose) ;
- Développement d'une néo-angiogénèse ;
- Capacité à envahir les tissus adjacents et à métastaser.

Pour les tumeurs solides, tels que les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures, la croissance tumorale demande une coopération entre les cellules cancéreuses et leur micro-environnement, avec la réorganisation du métabolisme énergétique de la cellule.

Ces caractéristiques tumorales sont obtenues par des transformations induites par *mutation* et/ou par *instabilités génétiques* (anomalies cytogénétiques). Les gènes touchés sont de 4 types :

- Les **oncogènes** qui sont des régulateurs positifs de la prolifération cellulaire, ils deviennent hyperactifs et leur modification est dite dominante car il suffit qu'une des deux copies du gène soit modifié. Plus de 100 oncogènes ont été actuellement identifiés dont les plus connus sont *Kras*, *myc* ou *abl*.
- Les **gènes suppresseurs de tumeur** qui sont des régulateurs négatifs de la prolifération cellulaire (les freins), en revanche cette modification est dite récessive car les deux copies de ce gène sont désactivées dans ces cancers.
- Les **systèmes de réparation** qui sont capables de détecter et de réparer les lésions de l'ADN, notamment lors de modifications des oncogènes ou des gènes suppresseurs de tumeurs. Dans ce cas, ces systèmes de réparation sont donc inactivés dans la cellule cancéreuse.
- Les **gènes régissant l'apoptose** qui peuvent être déréglés, comme bcl-2 anti-apoptotique ou bien Bax qui lui est pro-apoptotique.

Toutes ces transformations se traduisent alors par une perte de contrôle du cycle cellulaire, une insensibilité à l'apoptose, des anomalies de la réparation de l'ADN.

1.3 Démographie tumorale

L'incidence et la mortalité du cancer ont très nettement évolué ces dernières années, cela est en parti expliqué par l'essor démographique, le vieillissement de la population et l'amélioration du dépistage de certains cancers.

En 2008, les dernières estimations mondiales (sur 27 cancers dans 182 pays) montrent plus de 12,7 millions nouveaux cas de cancer avec près de 7,6 millions de décès [3].

A l'échelle Européenne, cette estimation (sur 25 cancers dans 40 pays) s'élève à 3,2 millions de nouveaux cas de cancer dont 1,7 millions de décès [4].

Pour la France le cancer constitue un vrai problème majeur en Santé Publique. En 2005, le nombre de nouveaux cas était de 319 380 soit une augmentation de près de 89% par rapport à 1980. Quand à lui, le taux de décès par cancer est passé d'environ 136 000 à 146 000. Les localisations les plus fréquentes restent la prostate chez l'homme (62 245 cas), le sein chez la femme (49 814 cas) puis, hommes et femmes confondus, le côlon-rectum (37 413 cas) et le poumon (30 651 cas) [5].

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), 13% de la mortalité mondiale était attribuée au cancer en 2004.

1.4 Les traitements associés

Face à ce sombre fléau, des traitements divers et variés sont mis en place pour combattre au mieux le cancer. Le traitement comprend alors l'ensemble des soins médicaux destinés à combattre la maladie pour en limiter les conséquences, éviter la mort, rétablir la santé et entraîner la guérison. Mais comme il n'existe pas UN cancer mais de multiples cancers aux caractéristiques différentes, on aura par la même occasion des choix thérapeutiques nombreux prenant en compte le type de cancer, l'organe atteint, le stade d'évolution… Ces traitements restent très lourds à supporter pour le patient bien que la recherche médicale ne cesse de faire évoluer les techniques pour les rendre moins agressives, et d'en développer de nouvelles.

La ***chirurgie*** a pour objectif de retirer la tumeur cancéreuse et d'en évaluer sa gravité et son étendue. En effet ce n'est qu'au cours de l'intervention chirurgicale que l'on peut réellement évaluer cette gravité de l'atteinte et l'étendue. Le chirurgien prélève des ganglions proches de la tumeur qui sont immédiatement analysés : en présence de cellules cancéreuse, le chirurgien peut décider de réintervenir aussitôt en élargissant la zone retirée. Les nouvelles techniques chirurgicales ont beaucoup évolué, le but aujourd'hui est de préserver le plus possible l'organe atteint en n'enlevant que la partie malade. Ainsi la résection (ablation) peut être suffisante pour certains cancers évoluant très lentement, tels que celui de la peau. Mais le point faible de la chirurgie est qu'elle agit localement et n'a donc pas d'action sur les éventuelles métastases. C'est pourquoi l'opération chirurgicale est parfois complétée par un traitement dont le but est de détruire d'éventuelles cellules cancéreuses résiduelles et donc de prévenir des récidives.

La ***radiothérapie*** consiste à utiliser les rayons X pour détruire les cellules cancéreuses car en effet les radiations vont pouvoir détruire le capital génétique de la cellule l'empêchant de se reproduire. Cette technique peut être utilisée avant l'intervention chirurgicale afin de réduire la taille de la tumeur, et/ou après l'opération pour détruire les cellules cancéreuses qui auraient échappé au bistouri, afin d'éviter les récidives. Mais ce type de traitement comporte de lourds inconvénients que sont les effets secondaires pouvant varier d'un individu à l'autre : le plus souvent, il s'agit de réactions cutanées (brûlures plus ou moins fortes), de vomissements, de chute des cheveux et de perte d'appétit.

La ***chimiothérapie*** va utiliser des substances médicamenteuses dites « anti-cancéreuses » afin de ne pas traiter un seul organe mais l'organisme entier. Cette technique est essentiellement utilisée dans le traitement des métastases et en prévention d'une éventuelle récidive, mais on peut y avoir également recours en première intention avant une opération, afin de diminuer la taille de la tumeur. Mais là encore on retrouve de lourds effets secondaires qui malgré tout ont été largement diminués par les progrès récents en terme médicamenteux (vomissement, perte de cheveux, …). Néanmoins, ils persistent encore et les séances peuvent être pénibles et engendrer une fatigue importante.

Un type particulier de chimiothérapie (l'hormonothérapie) concerne les cancers liés au fonctionnement hormonal normal de l'organisme (les hormones favorisant dans ce cas la prolifération des cellules cancéreuses). L'action bloque la production hormonale et concerne particulièrement certains cancers : cancers du sein et cancers de la prostate. Ses effets

secondaires sont ceux d'un arrêt naturel de la production d'hormones (ménopause ou andropause).

L'***immunothérapie*** anticancéreuse constitue une nouvelle forme de traitement potentielle qui améliore la façon dont notre système immunitaire lutte contre le cancer. En effet, on va stimuler les défenses normales de l'organisme grâce à des interférons ou des interleukines afin que celui-ci lutte contre la tumeur maligne et la détruise.

Une révolution est actuellement en marche grâce aux ***thérapies ciblées***. Celles-ci sont permises grâce aux progrès de la recherche, notamment dans la compréhension des mécanismes de fonctionnement de la cellule tumorale. Ces médicaments ont une action ciblée en intervenant à un niveau précis du développement de la cellule cancéreuse. Elles interviennent soit en se liant à un ligand, soit en se liant à un récepteur ou encore en inhibant de manière enzymatique la transduction des signaux (la voie des récepteurs à action tyrosine kinase est la mieux connue à ce jour).

En agissant sur des cibles spécifiques, ces médicaments peuvent :

- *Bloquer la croissance des cellules cancéreuses*,
- Affamer la tumeur en l'empêchant de détourner le système sanguin à ses fins en *s'opposant à la formation des nouveaux vaisseaux* formés en périphérie de la tumeur et qui contribuent à sa croissance en l'irriguant (angiogénèse),
- *Diriger les réactions immunitaires* de l'organisme contre ces cellules cancéreuses. Ces thérapeutiques vaccinales sont développées dans les cancers du sein, de la prostate et du rein,
- Commander la mort de la cellule tumorale, il s'agit là de stimuler l'apoptose, la mort naturelle de la cellule. Un phénomène qui n'est plus effectif chez la cellule cancéreuse et celle-ci ne cesse de se diviser.

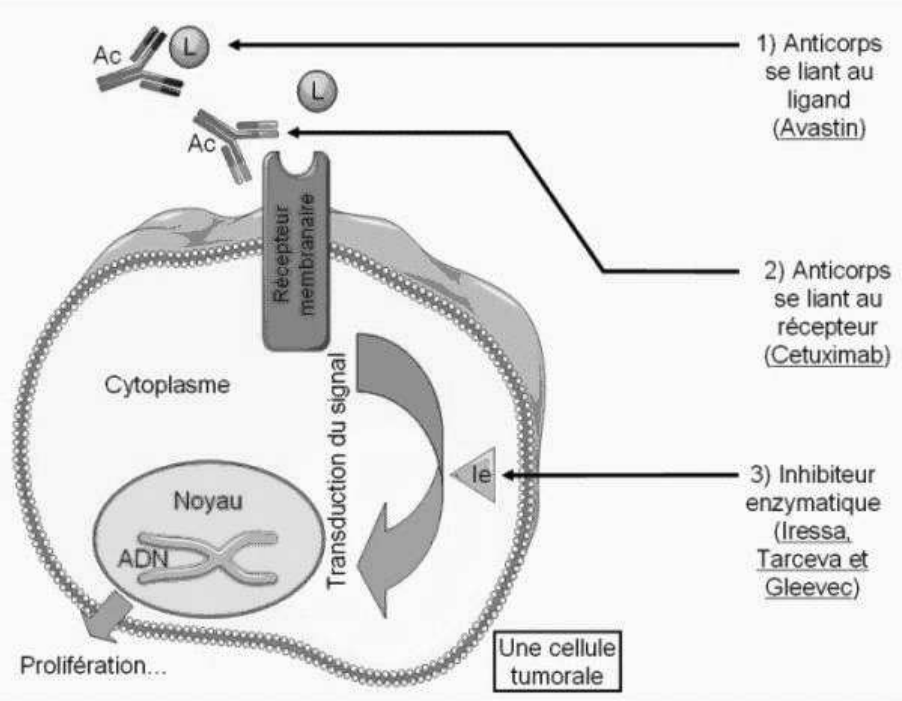


Figure 2 – Principes de la thérapie ciblée
Docteur Olivier BLEICHNER, vice-président «Ligue contre le cancer »
www.ligue-cancer.net/cd95/article/1774_therapie-ciblee-une-revolution-medicale

2 Les Carcinomes Epidermoïdes des Voies Aero-Digestives Supérieures

2.1 Incidence et Mortalité

Les cancers des voies aéro-digestives supérieures (VADS) touchaient plus de 633 000 nouveaux patients par an à travers le monde en 2008, représentant 5% de l'ensemble des cancers, ceux-ci causant près de 355 000 décès durant cette même année [3]. Ces cancers sont fréquents en Europe et particulièrement en France où ils se placent au cinquième rang des cancers les plus fréquents, après ceux du côlon et du rectum, du sein, des poumons et de la prostate [4]. Dans 95% des cas, il s'agit de carcinomes épidermoïdes.

Ils touchent majoritairement les hommes d'âge mûr dans neuf cas sur dix avec un âge moyen de survenue de 55 ans. Il existe une variation géographique de l'incidence ainsi que de leur mortalité, avec notamment un gradient nord-sud observé en France, et les taux de mortalité les plus élevés sont observés dans les départements du Nord et du Pas-de-Calais.
L'intoxication alcoolo-tabagique représente le facteur de risque majeur des CE VADS.

Le taux de survie à cinq ans est de l'ordre de 50%, tous stades confondus, et celui-ci ne s'est malheureusement pas amélioré au cours de ces vingt dernières années [7]. En effet le risque métastasique est important, le volume de la tumeur, l'importance de l'extension ganglionnaire et son grade histologique sont des éléments prédictifs de ce risque métastasique.

2.2 Facteurs de risques

Les risques sont accrus si l'on exerce une profession avec une inhalation de poussières (poussières d'amiantes, poussières de bois, …) ou de produits toxiques (hydrocarbures, peintures, dérivés de nickel, vapeurs d'acide sulfurique, …).
Un mauvais état bucco-dentaire peut également constituer un facteur favorisant.
De plus, il a récemment été démontré que l'Human Papillomavirus (HPV) avait un rôle pathogénique croissant, chez les patients ne présentant pas les facteurs de risque usuels [6].

2.3 Localisations

Les cancers des VADS regroupent les tumeurs solides de la cavité buccale (lèvres, langue mobile, plancher de la bouche), du pharynx, du larynx (épiglotte, corde vocale), du nasopharynx (cavum) et des cavités nasales et para-nasales. Les différentes régions anatomiques des voies aéro-digestive supérieures sont illustrées sur la figure 3.

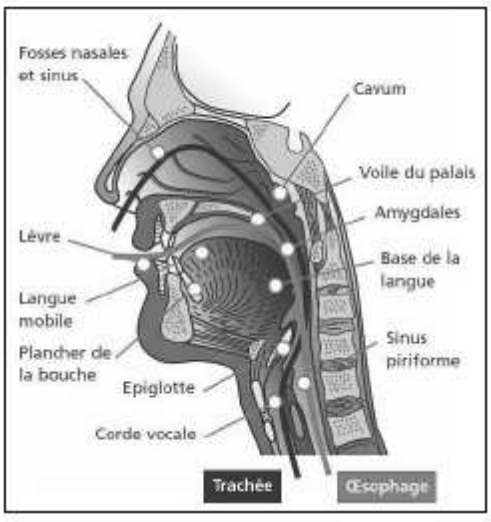


Figure 3 – Régions anatomiques des voies aéro-digestives supérieures.

Les métastases des CE VADS apparaissent essentiellement au niveau pulmonaire et osseux, puis dans une moindre mesure au niveau hépatique et cérébral.

2.4 Les traitements

Le traitement est décidé au terme du bilan clinique et para-clinique complet et tient compte du stade TNM de la tumeur, de l'état général et de l'âge du patient. Les traitements de références pour obtenir un résultat locorégional sont la radiothérapie et/ou la chirurgie utilisées seules ou combinées. Mais malgré la chirurgie et la radiothérapie, le pronostic reste sombre et un traitement par chimiothérapie palliative s'impose souvent en dernier recours, n'apportant qu'un maigre bénéfice.

2.4.1 La chirurgie

Elle consiste en l'exérèse tumorale la plus complète possible, c'est-à-dire avec des limites de résection tumorales en zones saines, amputant parfois et non systématiquement, une ou plusieurs fonctions des VADS (déglutition, phonation, respiration par les voies naturelles) en fonction de la localisation et de l'extension.

2.4.2 La radiothérapie

La radiothérapie peut être utilisée seule dans le traitement des tumeurs limitées, en particulier pour celles du plan glottique et de la gorge amygdalienne ou combinée dans le traitement des tumeurs avancées.

La radiothérapie bénéficie surtout actuellement de l'apport des thérapies ciblées.

2.4.3 La chimiothérapie

Bien souvent, la chimiothérapie des cancers des VADS n'est envisagée qu'en complément de la chirurgie et/ou de la radiothérapie. La chimiothérapie peut être administrée en situation adjuvante ou d'induction appelée encore néoadjuvante (dans le but de réduire le volume de la tumeur afin d'exercer une chirurgie moins mutilante). Les

différents protocoles font souvent appel à un sel de platine combiné ou non au 5-fluoro-uracile (5-FU). Les taxanes (docétaxel, paclitaxel) ont aussi fait leurs preuves récemment dans la prise en charge de ces cancers.

2.4.4 Les thérapies ciblées

Les importants travaux de biologie moléculaire réalisés ces derniers temps ont permis une meilleure compréhension des mécanismes moléculaire impliqués dans ce type de tumeur. Parmi les cibles potentielles, EGFR constitue la cible principale. La seule molécule actuellement prescrite est le Cetuximab, en association avec la radiothérapie dans le traitement des Carcinomes Epidermoïdes des Voies Aéro-digestives Supérieures (CE VADS) localement avancés (AMM 2006) ou en association au Cisplatine 5-FU ou Carboplatine 5-FU dans les carcinomes épidermoïdes récidivants et/ou métastatiques (AMM 2009).

3 L'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor)

3.1 Description

L'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) est une glycoprotéine transmembranaire de surface appartenant à la superfamille des récepteurs à activité tyrosine kinase de type I ou HER (Human Epidermoid Receptor), comportant quatre membres : HER1 (EGFR ou ErbB1), HER2 (ErbB2/neu), HER3 (ErbB3) et HER4 (ErbB4), permettant la fixation des ligands protéiques appartenant à la famille des Epidermal Growth Factor [8]. L'EGFR (HER1) a été identifié comme une glycoprotéine de 170 kDa en 1978, et chez l'Homme son ADNc a été isolé et caractérisé en 1984 [9]. Le gène de cet EGFR a été localisé sur le chromosome 7, au locus 7p12 et est considéré comme le premier proto-oncogène membranaire [10].

L'EGFR est très exprimé dans les épithéliums de revêtements, ainsi que son ligand principal (production et sécrétion autocrine ou paracrine), l'Epidermal Growth Factor.

Composition de l'EGFR :

- Une portion extracellulaire comprenant un domaine de liaison au ligand. Elle peut être divisée en quatre sous-domaines désignés de I à IV. La cristallographie de l'EGFR met en évidence que les domaines I, II et III forment une poche de liaison au ligand.

Les domaines I et III se caractérisent par leur richesse en leucine et fournissent les sites de liaison pour les ligands, facteurs de croissance [2].

- Une partie transmembranaire hydrophobe en hélice α.
- Une partie intracellulaire avec un domaine tyrosine kinase permettant à l'ATP (Adénosine TriPhosphate) de se lier.



Figure 4 – Domaine extracellulaire de l'EGFR complexé avec l'EGF.
N-terminal : bleu, C-terminal : rouge ; ligand : magenta

3.2 Fonctionnalités de l'EGFR

3.2.1 Interaction du ligand avec le récepteur EGFR

Il existe plusieurs types de ligands spécifiques de la famille des HER, chacun avec un domaine EGF-*like* qui confère leur spécificité vis-à-vis des récepteurs (Tableau 1). Une dizaine de ligands de la famille EGF sont actuellement identifiés et peuvent être divisés en trois groupes en fonction du récepteur auquel ils se lient :

- Epidermal Growth Factor (EGF) [11], Transforming Growth Factor alpha (TGF-α) [12] et amphiréguline (AREG) [13] se lient spécifiquement à l'EGFR.

- β-celluline (BTC) [14], Heparin-Binding EGF-like growth factor (HB-EGF) [15] et épiréguline (EREG) [16] se lient à EGFR et HER4.

- Les neurégulines (NRGs) [17] qui forment deux sous-groupes :

  - NRG1 et NRG2 qui se lient spécifiquement à HER3 et HER4,
  - NRG3 et NRG4 qui se lient spécifiquement à HER4.

Malgré le grand nombre de ligands, aucun ligand ne se lie à HER2. Mais MUC1, membre de la famille des mucines agit comme un modulateur intracellulaire de l'activité de HER2 et pourrait jouer le rôle de ligand pour HER2 [18].

Ligands	Découverte des ligands	Récepteurs reconnus
EGF	1962	EGFR
TGF-α	1982	EGFR
AREG	1988	EGFR
HB-EGF	1991	EGFR, HER4
BTC	1993	EGFR, HER4
EREG	1995	EGFR, HER4
NRG	1992	HER3, HER4

Tableau 1 –Récepteurs et ligands de la famille HER [19]

EGF et TGF-α, souvent co-exprimés avec l'EGFR, sont produits par les tissus épithéliaux normaux et tumoraux. Néanmoins, des concentrations plus importantes de ces ligands sont souvent trouvées dans la tumeur et le stroma avoisinant, par rapport à celles de la muqueuse saine.

L'interaction du ligand sur les domaines I et III du récepteur HER1 entraîne l'activation du monomère par modification de la conformation spatiale du récepteur, exposant son domaine II qui agira comme interface de dimérisation. Ceci aboutit à former soit un homodimère, soit un hétérodimère avec un autre membre de la famille des HER (figure 5).

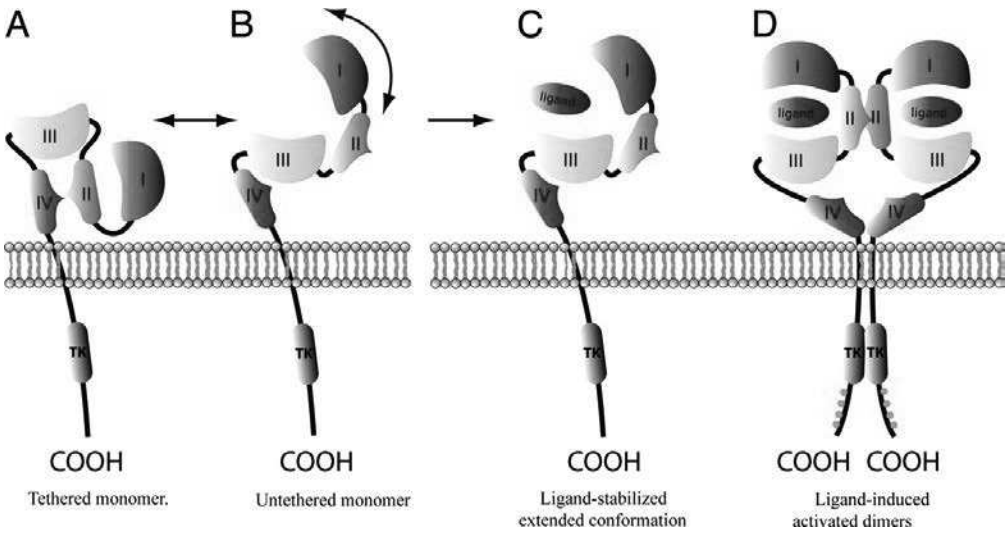


Figure 5 – Activation par dimérisation de l'EGFR [20]**.**
L'EGFR est constitué de 4 domaines extracellulaires (domaine I : bleue, domaine II : vert, domaine III : jaune, domaine IV : rouge) et d'un domaine intracellulaire à activité tyrosine kinase : gris. (A) La plupart des EGFR sont sous conformation auto-inhibé où les domaines II et IV interagissent ensemble. (B) Parfois les domaines II et IV peuvent se désunir rendant le monomère prêt à recevoir son ligand. (C) Le ligand se fixe sur les domaines I et III stabilisant la formation conformationnelle et exposant le domaine II à la dimérisation. (D) La dimérisation est dominé par l'interaction des domaines II de chaque monomère ainsi que des domaines tyrosines kinases permettant la transphosphorylation des régions intracellulaires.

Dans la famille des récepteurs HER, les combinaisons possibles sont nombreuses (une dizaine) et chaque homo/hétérodimère peut activer des voies de signalisations différentes qui induisent des réponses cellulaires spécifiques, aboutissant à une grande diversité de la signalisation intracellulaire (Tableau 2). Même si les combinaisons sont nombreuses, il existe néanmoins une hiérarchisation : HER2 est le partenaire préférentiel dans les hétérodimères.

Ligands	Récepteurs reconnus	Homo/Hétérodimères
EGF	EGFR	HER 1+2, 1+3, 1+4
TGF-α	EGFR	HER 1+2, 1+3, 1+4
AREG	EGFR	HER 1+2, 1+3, 1+4
HB-EGF	EGFR, HER4	HER 1+2, 2+4
BTC	EGFR, HER4	HER 1+2, 1+3, 1+4, 2+4
EREG	EGFR, HER4	HER 1+2, 2+4
NRG	HER3, HER4	HER 1+3, 1+4, 2+3, 2+4, 3+4

Tableau 2 –Récepteurs et dimères de la famille HER [19]

3.2.2 Autophosphorylation

Tout d'abord, le domaine tyrosine kinase s'autophosphoryle sur des résidus tyrosines dans le domaine C-terminal (intracellulaire), ce qui stimule l'activité kinase du récepteur. Il s'en suit une autophosphorylation d'autres tyrosines du récepteur qui permettront la liaison des premières protéines de la voie de signalisation. L'augmentation de l'activité kinase d'un monomère (après autophosphorylation) permet aussi la transphosphorylation du second monomère.

3.2.3 Activation des voies de signalisation intracellulaire

Les premières protéines de la voie de signalisation qui sont capable de se lier aux tyrosines phosphorylées du récepteur possèdent un domaine SH2 (Src Homology domain 2) ou PTB (Phosphotyrosine-Binding domain).
La liaison aux phosphotyrosines s'effectue dans un contexte spécifique de séquences :

- La spécificité du domaine SH2 (module d'environ 100 acides aminés) est régie par une séquence d'acides aminés C-terminaux situé près de la tyrosine phosphorylée.

- La spécificité du domaine PTB (module d'environ 200 acides aminés) est régie par une séquence d'acides aminés N-terminaux situés près de la tyrosine phosphorylée.

En général la phosphorylation de tyrosine ne modifie pas l'activité de la protéine mais permet des interactions protéine-protéine par les domaines SH2/PTB.

Quatre voies de signalisations majeures peuvent être activées, selon les protéines adaptatrices mises en jeu :

_ PLCγ (Phospholipase C)

_ PI3K (Phosphatidylinositol 3 Kinase)

_ Grb2 (Growth factor receptor-bound protein2)

_ STATs (Signal Transduction and Activation of Transcription)

Ces différentes voies peuvent opérer indépendamment, en parallèle ou par interconnexions pour promouvoir le développement tumoral. En effet elles sont à l'origine de la prolifération, la survie, la mobilité, l'adhésion, l'angiogénèse, les métastases, …

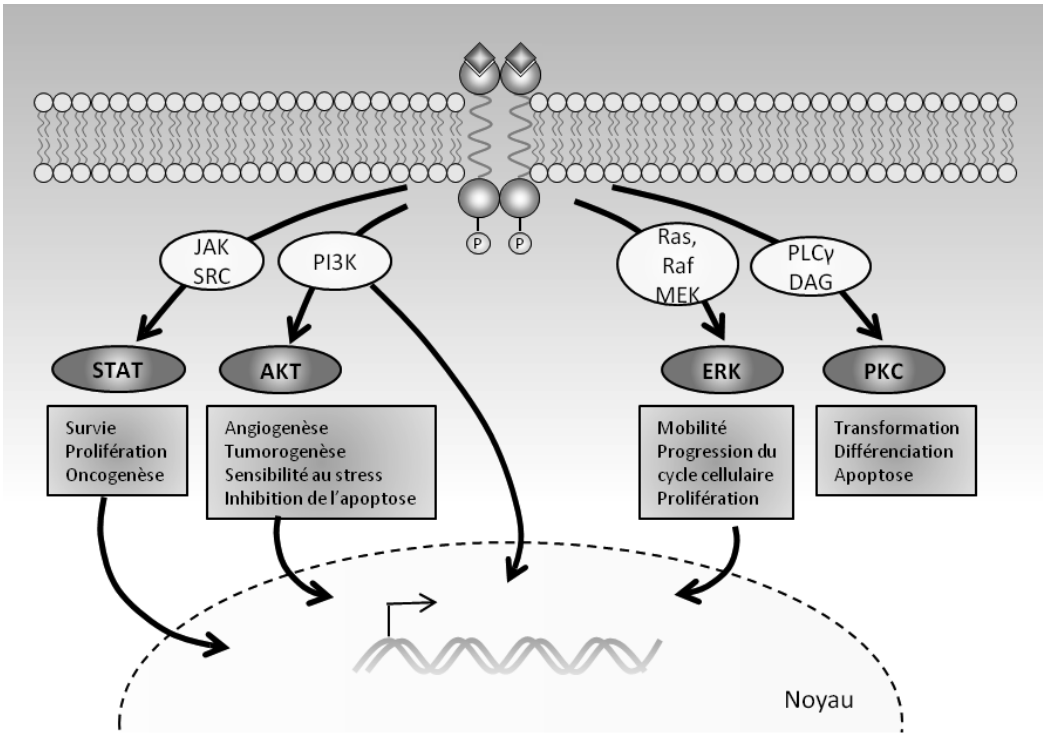


Figure 6 – Représentation schématique des principales voies de signalisation régulées par l'EGFR [21]**.**
Voies de signalisation activées par l'EGFR et leurs principales fonctions. Les interconnexions entre les voies de signalisation ne sont pas schématisées.

3.2.3.1 Voie PLCγ/PKC

PLCγ = Phospholipase Cγ
PKC = Protéine Kinase C

L'enzyme est activée après sa fixation au récepteur via son domaine SH2. Son substrat qui est le PIP2 (Phosphatidylinositol 4-5 bisphosphate) et étant situé dans la membrane plasmique, permet l'hydrolyse de la PLCγ afin de donner naissance à l'IP3 (inositol 1-4-5 triphosphate) et DAG (diacylglycérol) qui sont des seconds messagers [22].

- L'IP3 se lie à son récepteur canal (canal calcique) situé sur le réticulum endoplasmique (RE). En réponse au ligand, le RE libère du Ca^{2+} dans le cytoplasme, ce dernier est à l'origine de nombreuses modification de l'activité cellulaire.
- Le DAG (qui reste localisé dans la membrane plasmique) active le PKC qui va :
  - Stimuler l'échange de Na^+/H^+ de la membrane plasmique (alcalisation du cytosol par augmentation de l'efflux de H^+ vers le milieu extracellulaire).
  - Permettre la phosphorylation du récepteur ErbB1 (EGFR) conduisant à une atténuation du signal EGF.
  - Cibler d'autres facteurs participant à la cancérogénèse tels que ERK1/2, GSK3-β, NFκB, et la glycoprotéine P [23].

3.2.3.2 Voie PI3K/PKB/PTEN

PI3K = Phosphatidylinositol 3-Kinase
PKB = Protéine Kinase B
PTEN = Phosphatase and tensin homology deleted on chromosome ten

Il existe trois classes de PI3Ks mais seules celles de classe I permettent de générer du PIP_3 (phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate) constituant le second messager clé de l'activité des différentes voies de signalisations qui régulent les processus cellulaires [24].

L'enzyme PI3K est constituée d'une sous-unité régulatrice de 85 kDa (p85) et d'une sous-unité catalytique de 110 kDa (p110) :

- p85, possède un domaine SH2 qui dans un premier temps lui permet de se lier à une tyrosine intracellulaire de l'EGFR, déjà phosphorylée par Src (protéine tyrosine kinase cytosolique). Dans un second temps la PI3K est phosphorylée par le récepteur et activée. Au lieu de se fixer directement sur le récepteur, il est également possible que la PI3K se fixe indirectement par l'intermédiaire de protéines adaptatrices elles-mêmes possédant un domaine SH2.
- P110, transfert un groupement phosphate de l'ATP sur un PIP_2 membranaire (Phosphatidylinositol-4,5-biphosphate), générant un second messager lipidique PIP_3.

Ainsi la formation de PIP_3 par la PI3K (activé en amont par l'EGFR) permet la liaison de la protéine sérine-thréonine kinase PKB (=AKT) grâce à son domaine PH (Plekstrin Homology domain) qui est le pré-requis pour une interaction avec le phosphoinositide. L'interaction avec le PIP_3 induit un changement conformationnel de la PKB et permet son association avec PDK1 et PDK2 (Phosphatidylinositol 3-dependent protein kinase 1 / 2) qui la phosphorylent et l'activent [25].

Réponses cellulaires majoritaires et consécutives à l'activation de la PKB (Figure 7) :
Stimulation de la survie cellulaire en inhibant l'activité d'une protéine pro-apoptotique (Bad), par phosphorylation.
Stimulation de la synthèse protéique lors de la croissance cellulaire en activant indirectement la protéine sérine-thréonine kinase mTOR (mammalian Target Of Rapamycin) qui active la p70S6K (S6Kinase). Cette dernière phosphoryle la protéine S6 de la sous-unité 40S des ribosomes ce qui a pour conséquence d'augmenter la traduction des ARNm.

PTEN est quand à lui un important suppresseur de tumeur, antagoniste fonctionnel de l'activité de PI3K à travers son activité phosphatase intrinsèque qui réduit le pool cellulaire de PIP_3 en le convertissant en PIP_2 [26]. La perte de PTEN entraîne une signalisation continuelle par l'activité PI3K aboutissant à la transformation oncogénétique.

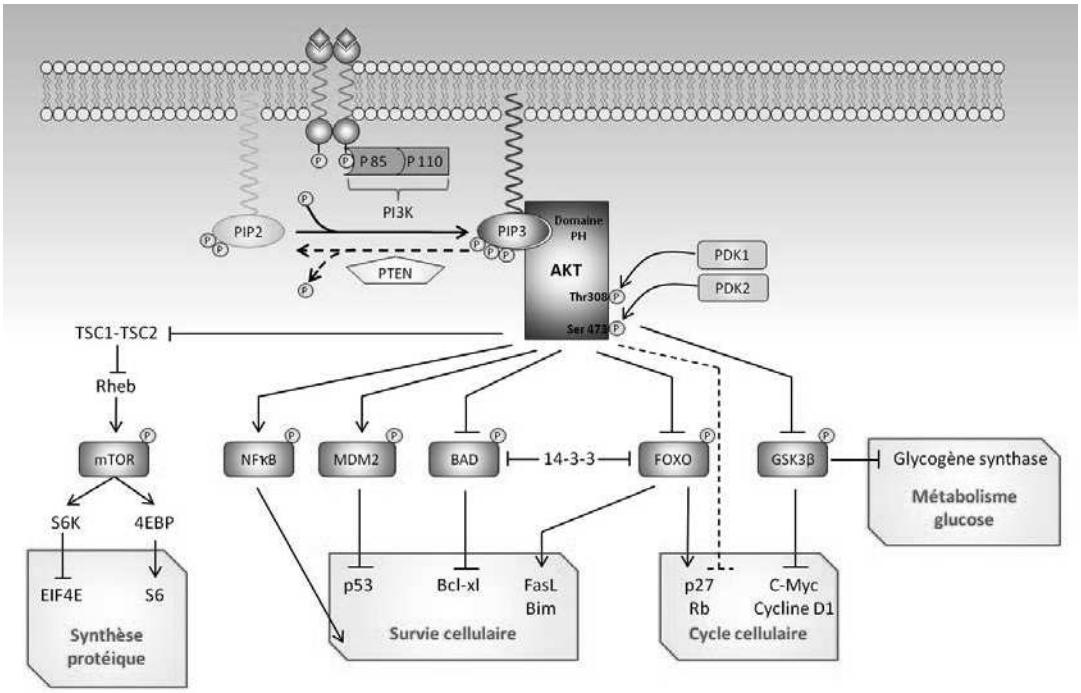


Figure 7 – Représentation schématique de la voie de signalisation PI3K/PKB [21].
PKB (=AKT) phosphoryle les protéines, aboutissant à leur activation (flèches) ou leur inhibition (barres). Abréviations : GSK3 – glycogène synthase kinase 3, PIP_2 – Phosphatidylinositol-3,4-biphosphate, PIP_3 – Phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, mTOR – mammalian target of rapamycin, NfκB – nuclear factor kappa B, MDM2 – murine double minute 2, Rb – Retinoblastoma protein.

3.2.3.3 Voie Ras/Raf/MEK/MAPK

MEK = MAPK ERK Kinases 1 et 2

MAPK= Mitogen-Activated Protein Kinase

Les protéines Ras (Rat sarcoma viral oncogene homolog) représentent une famille constituée de 3 proto-oncogènes appartenant au groupe des petites protéines G et sont ancrées à la membrane plasmique des cellules. Il existe plusieurs isoformes de Ras : H-Ras (découvert par Harvey, dont le virus qui est porteur de cette protéine homologue provoque un sarcome chez le rat), K-Ras (découvert par Kirstein, dont le virus qui est porteur de cette protéine homologue provoque également un sarcome chez le rat), N-Ras (retrouvé dans les neuroblastomes chez l'humain).

Cascades de la voie Ras/Raf/MAPK : Une première protéine Shc (Src Homologous and Collagen protein) se fixe à une tyrosine du récepteur à l'EGF pour la phosphoryler avant qu'une protéine adaptatrice Grb2 vienne se fixer à cette tyrosine phosphorylée, cependant

Grb2 peut aussi se lier directement au récepteur [27]. Une troisième protéine nommée SOS (Son Of Sevenless) va interagir avec Grb2 et permettre par la même occasion de convertir une Ras-GDP (localisée à la membrane plasmique) en Ras-GTP (forme active). L'un des effecteurs de Ras est la protéine sérine/thréonine Raf qui active directement les tyrosines et thréonines/sérines kinases MEK1 et MEK2 (MAPK ERK Kinases 1 et 2) par phosphorylation de multiples résidus sérines. Les trois isoformes de Raf (A-Raf, B-Raf et C-Raf) diffèrent par leur capacité à activer MEK1 et MEK2 et B-Raf est la plus activatrice de MEK. Puis MEK1 et MEK2 activent à leur tour les MAPKs (Mitogen-Activated Protein Kinases) ERK1 et ERK2 (Extracellular signal-Regulated Kinases 1 and 2) par phosphorylation sur les résidus thréonines et tyrosines. ERK1 et ERK2 activées, phosphorylent et régulent l'activité de plus d'une centaine de protéines cytoplasmiques et nucléaires (Figure 8) [28], tels que Elk1, c-Fos, c-Myc, Jun… responsables de la progression dans le cycle cellulaire, la prolifération, la migration et la différenciation.

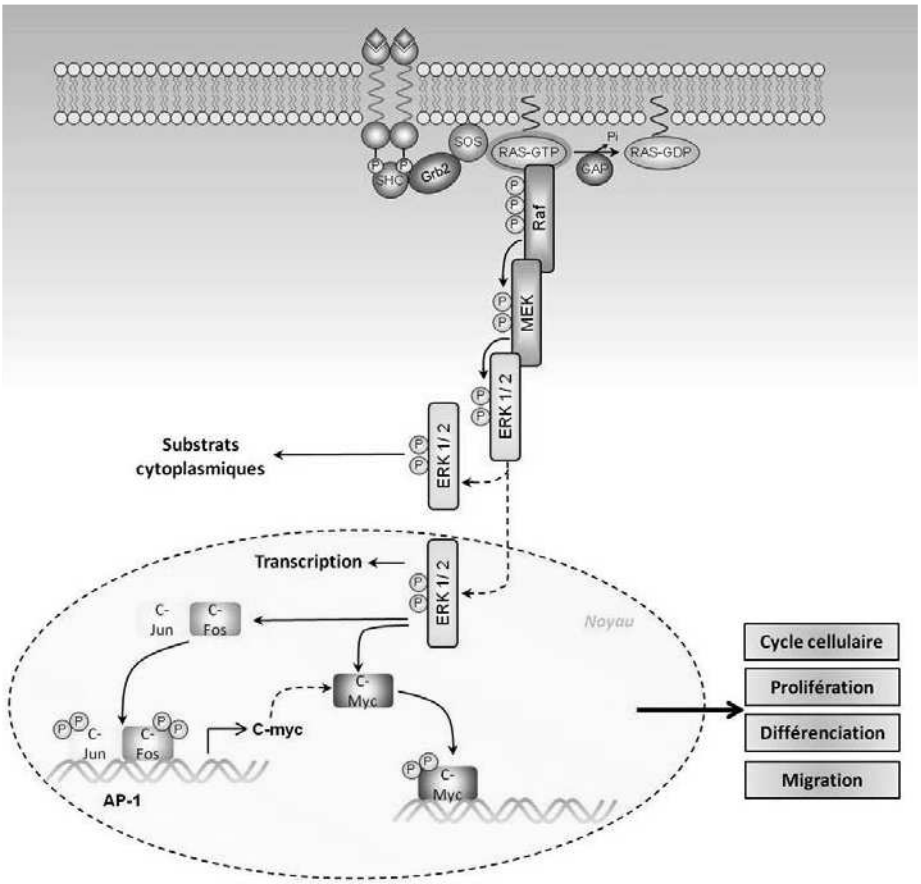


Figure 8 – Représentation schématique de la voie de signalisation Ras/Raf/MAPK [21].
Le récepteur activé, recrute SOS à travers la protéine adaptatrice Grb2, qui génère Ras-GTP. Ras activée, active la protéine Raf qui active à son tour MEK1 et MEK2 par phosphorylation. Ces dernières phosphorylent ERK1/2 qui peuvent phosphoryler des substrats nucléaires et cytoplasmiques induisant la progression de la cellule dans le cycle cellulaire, la prolifération, la migration et la différenciation.

3.2.3.4 Voie JAK/STAT

JAK = Janus Kinase

STAT = Signal Transducer and Activator of Transcription

La famille des tyrosines kinases JAK est composée de quatre protéines chez les mammifères : JAK1, JAK2, JAK3 et Tyk2. La famille des protéines STAT comprend chez les mammifères sept membres issus de gènes différents : STAT1, STAT2, STAT3, STAT4, STAT5a, STAT5b, et STAT6. Quand elles ne sont pas activées, la majorité des protéines STATs existe sous forme non phosphorylée dans le cytoplasme de la cellule.

La voie JAK/STAT est principalement activée par les récepteurs des cytokines, mais cependant, les kinases JAK possèdent un domaine SH2 qui leur permet de se fixer à des récepteurs à activité tyrosine kinase tel que l'EGFR. Dans ce cas, le changement conformationnel du récepteur dû au ligand permet d'activer par phosphorylation la protéine JAK avant que celle-ci phosphoryle à son tour des résidus tyrosines spécifiques du récepteur qui servent alors de site d'amarrage (docking site) pour les protéines STATs. Une fois recrutées, les protéines STATs sont alors activées par phosphorylation par JAK. Ensuite ils se désolidarisent du récepteur pour former des homo- ou hétérodimères avant de migrer vers le noyau. STAT3 est fortement impliquée dans la prolifération cellulaire avec des gènes cibles codant pour les protéines Bcl-2, les cyclines D, des facteurs de croissances tels que VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) ainsi que des facteurs de transcription tels que c-Myc, Jun et c-Fos [29].

3.2.4 Régulation, Recyclage et dégradation de l'EGFR.

L'internalisation de l'EGFR permet de diminuer le nombre de récepteurs fonctionnels présents à la surface cellulaire et ainsi d'atténuer la cascade de signalisation en aval. En effet, à la suite de l'activation des voies de signalisation, le signal de l'EGFR est inactivé par endocytose du complexe ligand-récepteur. Le contenu de l'endosome est alors soit dégradé, soit recyclé à la surface membranaire.

3.2.4.1 Endocytose.

Elle intervient dans les minutes qui suivent l'activation du récepteur par le ligand. Elle est régulée par la protéine adaptatrice Cbl (Casitas B-lineage lymphoma), une E3 ubiquitine ligase qui agit directement ou indirectement par le biais de la protéine adaptatrice Grb2. Ainsi Cbl induit l'endocytose par l'intermédiaire d'autres protéines formant une poche recouverte de clathrines recrutées du cytoplasme vers la membrane plasmique.

Après avoir transité dans les endosomes précoces, l'EGFR peut alors être dirigé vers :
- des endosomes de recyclage qui permettent son retour vers la membrane plasmique,
- ou des MVE / MVB (Multivesicular endosomes / Multivesicular body) puis vers les lysosomes / endosomes tardifs pour leur dégradation.

3.2.4.2 Dégradation ou recyclage ?

Le devenir du récepteur EGFR dépend du recrutement de Cbl, de la stabilité du complexe ligand-récepteur (lié à la composition du dimère et à la nature du ligand) dans l'endosome précoce, et dépend également des ligands qui se fixent à l'EGFR. En absence de Cbl, le récepteur est recyclé au niveau de la membrane plasmique.

La stabilité du complexe ligand-récepteur activé dans l'endosome affecte aussi le devenir du récepteur. Une fois dans l'endosome de tri, les hétérodimères EGFR-HER2 activés sont instables. Le complexe ligand-récepteur dissocié relargue Cbl et les récepteurs sont recyclés à la membrane plasmique [30]. Contrairement aux homodimères EGFR-EGFR qui restent associés à Cbl dans l'endosome et sont dirigés vers la dégradation.

EGF reste attaché dans le compartiment de l'endosome tardif acide, dirigeant EGFR vers la dégradation, tandis que l'activation par TGF-α montre une dissociation sensible au pH, aboutissant à un recyclage. Ainsi, la nature du ligand peut dicter la force et la durée des signaux de l'EGFR [31].

3.3 Rôle de l'EGFR dans les CE VADS.

Les récepteurs de la famille HER en particulier EGFR et HER2, sont fortement impliqués dans le développement de nombreux types de cancers. Parmi les récepteurs à activité tyrosine kinase, l'EGFR a été le premier récepteur identifié pour son implication directe dans la tumorogénèse. Un déséquilibre dans le système EGFR-dépendant peut augmenter la signalisation de l'EGFR et conduire à la transformation néoplasique. En effet, la dérégulation de l'EGFR entraîne une augmentation de la division cellulaire, de l'angiogénèse, de la diffusion métastatique et une inhibition de l'apoptose [32]. La perturbation de la voie de l'EGFR en cancérologie peut être due à différents mécanismes qui sont impliqués dans la transformation tumorale [2] :

- La surexpression des ligands ;
- La surexpression du récepteur lui-même ;
- L'activation intrinsèque du récepteur indépendante des ligands (résultant de mutations de l'EGFR entraînant des variants constitutivement actifs) ;
- Un défaut dans la régulation négative de l'EGFR ;
- L'hétérodimérisation et les interconnexions avec d'autres voies de signalisation.

Le nombre de récepteurs à l'EGF exprimés à la surface des cellules tumorales est beaucoup plus important que dans les cellules saines. Le pourcentage de tumeurs qui surexpriment EGFR varie avec les types tumoraux et dans certains cas, comme dans les CE VADS, EGFR est surexprimé dans plus de 80% des tumeurs [33,34]. La surexpression de l'EGFR est le résultat de l'augmentation de la synthèse de l'ARNm et de la diminution de la régulation négative de l'EGFR. De plus, la surexpression associée de l'HER2, HER3 ou de l'HER4 est possible et peut faciliter l'hétérodimérisation [35,36]. Au sein des CE VADS, cette surexpression de l'EGFR varie selon la localisation tumorale, ainsi elle est faible dans les tumeurs du larynx, comparé aux tumeurs du pharynx et de la cavité buccale [37], en revanche elle augmente dans les tumeurs de stades avancés et les tumeurs faiblement différenciées.

Le niveau d'expression de l'EGFR est un facteur pronostique défavorable en termes de survie sans progression et de survie globale [38,39]. La surexpression de ce récepteur est également associée à l'augmentation d'échec de traitement [40,41]. Ces données sont néanmoins soumises à controverse [42,43].

4 Les thérapies ciblées anti-EGFR.

La connaissance des mécanismes de l'oncogenèse et celle des perturbations des voies de signalisation dans les cancers a permis l'émergence des thérapies ciblées. Alors que les molécules à large spectre utilisées en chimiothérapies « classiques » ont pour cible les mécanismes impliqués dans la multiplication cellulaire, touchant malheureusement aussi bien la cellule normale en division que la cellule tumorale, les thérapies ciblées s'adressent quant à elles aux mécanismes même de l'oncogenèse. Elles devraient donc avoir une spécificité importante pour les cellules cancéreuses. D'ailleurs, les thérapies ciblées plus actuelles se dirigent d'avantage vers des cibles moléculaires supposées jouer un rôle dans la transformation ou la progression néoplasique. Ce que l'on cible dans les thérapies ciblées, ce sont les protéines impliquées dans le contrôle de la prolifération et de la mort cellulaire et non celles impliquées dans l'exécution des programmes, c'est la *cause* de l'anomalie à l'origine d'un cancer et non plus l'*effet* qui en résulte qui est ciblé [29].

L'activation aberrante de l'EGFR a été associée à une prolifération cellulaire incontrôlée, ainsi l'EGFR est devenue l'une des premières cibles moléculaires anticancéreuses. Deux stratégies ont été développées : la première cible le domaine tyrosine kinase intracellulaire du récepteur et la seconde cible le domaine extracellulaire de liaison au ligand [44] (Figure 9) :

- La première approche utilise des inhibiteurs de tyrosine kinase (TKI) qui inhibent la phosphorylation du domaine tyrosine kinase du récepteur et qui finalement bloque les voies de signalisation en aval.
- La seconde approche utilise des anticorps monoclonaux dirigés contre le récepteur et prévenant la fixation du ligand sur le domaine extracellulaire du récepteur.

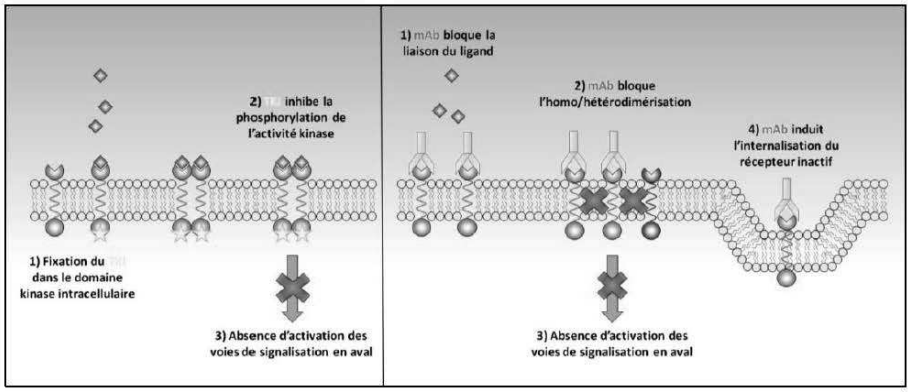


Figure 9 – Représentation schématique des mécanismes d'action des inhibiteurs de tyrosine kinase et des anticorps monoclonaux [21]**.**
Panel de gauche : Le ligand se lie au récepteur entraînant sa dimérisation. L'autophosphorylation du récepteur est inhibée par l'inhibiteur de tyrosine kinase (étoile jaune) qui empêche l'activation des voies de signalisation en aval du récepteur.
Panel de droite : Les anticorps monoclonaux bloquent la liaison du ligand sur le récepteur, bloquant l'homo/hétérodimérisation, prévenant ainsi la phosphorylation du domaine tyrosine kinase du récepteur régulé par le ligand et causant l'internalisation sans stimulation de la phosphorylation du récepteur.

4.1 Les inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase.

Les inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase sont principalement classés en trois catégories qui incluent les quinazolines, les pyridopyrimidines et les pyrrolopyrimidines. Ce sont des molécules synthétiques de bas poids moléculaire principalement dérivées de quinazoline. Elles interagissent avec le domaine tyrosine kinase intracellulaire de différents récepteurs et inhibent la phosphorylation induite par le ligand par compétition réversible pour le site de liaison de l'ATP intracellulaire. Les inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase ont tous une nomenclature finissant par le suffixe *–nib*.

Leur spécificité d'interaction avec les différents membres de la famille des HER est variable d'un composé à l'autre. Actuellement, quatre inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase ciblant EGFR ont obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans certains types de cancers : Afatinib (BIBW2992 ; Giotrif®), Gefitinib (ZD1839, Iressa®), Erlotinib (OSI774, Tarceva®) et Lapatinib (GW572016, Tykerb®). Il est à noter que d'autres molécules de ce type sont en cours d'essai clinique pour l'obtention d'AMM. Par ailleurs, le Lapatinib du laboratoire GlaxoSmithKline ™ est en cours de phase II/III dans le cadre des traitements des CE VADS [45].

4.2 Les anticorps monoclonaux.

Les anticorps monoclonaux sont des immunoglobulines (Ig), qui ont une structure de quatre chaînes polypeptidiques, deux chaînes légères (L : « Light ») identiques et deux chaînes lourdes (H : « Heavy ») identiques, stabilisées et liées par des ponts disulfures intra- et inter- chaînes (figure 10). Les chaînes légères sont composées de 2 régions : une région variable VL et une région constante CL, tandis que les chaînes lourdes sont composées de quatre régions (VH, CH1, CH2 et CH3). Les régions déterminant la complémentarité (CDR, Complementarity-Determining Regions) avec l'antigène se trouvent dans le fragment variable de la partie Fab (Fragment Antigen-Binding) de l'anticorps : VL et VH.

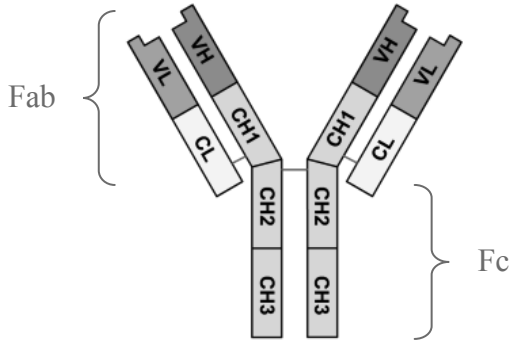


Figure 10 – Structure d'une immunoglobuline [21]**.**
***L** = Chaîne légère « Light » ; **H** = Chaîne lourde « Heavy » ; **C** = Partie constante ; **V** = Partie variable ; **VH** et **VL** sont les domaines variables des chaînes lourdes et légères ; **CL** et **CH1** sont respectivement le domaine constant de la chaîne légère et le premier domaine constant de la chaîne lourde. **Fab** = Fragment antigen-binding. **Fc** = Fragment constant*

Dans la classe des anticorps monoclonaux thérapeutiques, on retrouve des anticorps murins, chimériques, humanisés et humains. Les anticorps chimériques comme le Cetuximab sont construit avec les régions variables (VL et VH) dérivées d'une source murine et les régions constantes dérivées d'une source humaine. Alors que les anticorps monoclonaux humanisés sont dérivés d'une source humaine hormis la région CDR qui est murine.

Il existe une nomenclature spécifique définie par l'USAN (United States Adopted Name) qui permet de déduire les caractéristiques de chacun en fonction de leur terminologie. Ainsi, tous les noms d'anticorps finissent par le suffixe *–mab* (monoclonal antibody), ensuite la syllabe précédant le suffixe permet d'identifier la source de l'anticorps (*-o* pour murine, *-xi* pour chimérique, *-zu* pour humanisée, *-u* pour humaine). Enfin, *-tu* ou *–tum* identifient les anticorps ayant une indication pour le traitement des cancers (Figure 11).

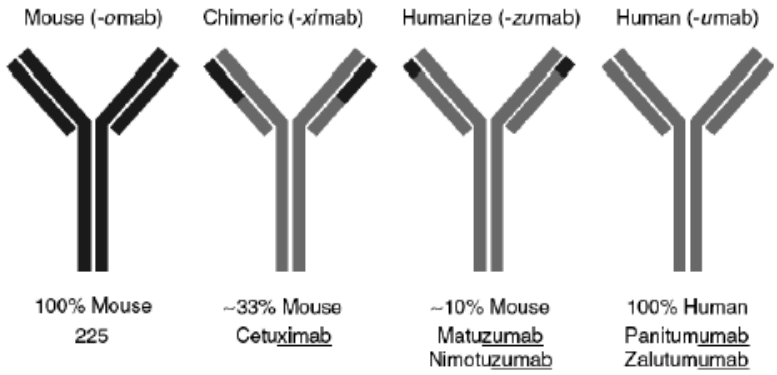


Figure 11 – Nomenclature des anticorps monoclonaux [21].

Actuellement, le Cetuximab (Erbitux®), anticorps monoclonal ciblant l'EGFR, est la seule thérapie ciblée qui a obtenu l'AMM pour le traitement des Carcinomes Epidermoïdes des Voies Aéro-Digestives Supérieures. D'autres molécules font l'objet d'études cliniques en phase I/II dans le cadre des CE VADS : Nimotuzumab (TheraCIM®, YM Bioscience) et MDX-447 (Merck et Medarex).

5 Le Cetuximab (Erbitux®)

Le Cetuximab (IMC-225, Erbitux®) est un anticorps monoclonal (mAb, monoclonal antibody) IgG1 chimérique murin/humain (35% / 65%), qui lie le domaine extracellulaire de l'EGFR. Cet anticorps chimérique fut développé en combinant les régions variables d'un anticorps murin (mAb 225) avec les régions constantes d'une immunoglobuline G1 d'origine humaine pour réduire la possibilité d'une réponse immunitaire anti-murine chez les patients.
D'un point de vue conformationnel, cet anticorps de 152kDa est composé de deux chaînes légères (κ) ainsi que de deux chaînes lourdes (γ) constituées respectivement de 214 et 449 acides aminés, associées entres-elles par les liaisons covalentes ou non covalentes.

5.1 Mécanisme d'action du Cetuximab

Plusieurs mécanismes d'actions contribuent à l'activité anti-tumorale du Cetuximab. Le mécanisme majeur est l'inhibition de la liaison ligand-récepteur. De plus, la liaison du Cetuximab au récepteur peut initier l'internalisation et la dégradation de l'EGFR. Enfin, contrairement aux inhibiteurs de tyrosine kinase, le Cetuximab étant une IgG1, il peut induire la cytotoxicité cellulaire dépendante de l'anticorps (ADCC).

5.1.1 Inhibition de la liaison ligand-récepteur

Le fragment Fab du Cetuximab interagit avec la partie extracellulaire de l'EGFR au niveau de son domaine III, occultant partiellement la région de liaison du ligand sur ce domaine. De plus, par cet encombrement stérique, le récepteur ne peut pas adopter la conformation dépliée nécessaire à sa dimérisation [46].
Ce sont ces deux effets qui contribuent à l'inhibition de l'activation de l'EGFR. Cependant, c'est la compétition directe avec le ligand qui est le mécanisme principal par lequel le Cetuximab inhibe la signalisation de l'EGFR. En effet, le Cetuximab a une affinité supérieure de deux logarithmes pour l'EGFR par rapport à l'EGF et au TGFα.

5.1.2 Internalisation du récepteur

Des études précliniques ont montré que le Cetuximab induisait l'internalisation, la dégradation et la régulation négative de l'EGFR [47].

5.1.3 Réponse immunitaire cytotoxique

Le Cetuximab est un anti-corps chimérique dont la structure est basée sur une IgG1 humaine, il peut donc activer les cellules effectrices cytotoxiques immunitaires par plusieurs voies (figure 12):

- Le système ADCC (Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity)
- Le système CDC (Complement-Dependent Cytotoxicity)
- Le système CDCC (Complement-Dependent Cell-Mediated Cytotoxicity)

Le système ADCC, qui fait particulièrement l'objet de notre étude, est un mécanisme de défense par lequel une cellule effectrice du système immunitaire vient lyser une cellule cible reconnue à l'aide d'anticorps positionnés en surface venant jouer le rôle de relai. Dans le cadre tumoral avec le Cetuximab, l'ADCC est déclenché par l'interaction entre la région Fc du Cetuximab (qui est lié par sa partie Fab à la cellule tumorale via le récepteur à l'EGF) et les récepteurs Fcγ (FcγR) des cellules effectrices immunitaires telles que les neutrophiles, les macrophages et les Natural Killer (NK). Selon le type de cellule effectrice, la cellule tumorale

est éliminée par phagocytose (macrophage) ou lyse cellulaire (Natural Killer), ainsi ces deux mécanismes contribuent également à l'activité anti-EGFR.

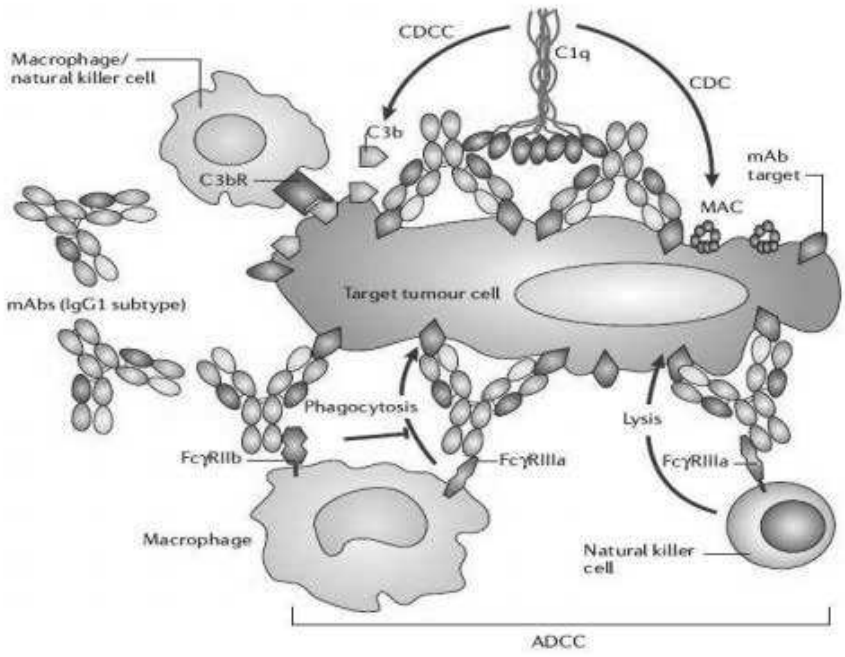


Figure 12 – Recrutement et stimulation du système immunitaire par le cetuximab (mAb) [48].

En ce qui concerne le système CDC, le C1q (facteur complémentaire) peut interagir avec la région constante CH2, nécessaire à l'activation de la cascade protéolytique induisant la formation du complexe MAC (Membrane-Attack Complex) afin de lyser les cellules tumorales.

Enfin pour le système CDCC, le C3b qui est généré par la cascade protéolytique du système CDC, facilite la phagocytose et la cytolyse par interaction des récepteurs C3bR des macrophages ou des cellules NK.

5.1.4 Les Natural Killer et l'activité ADCC

Les Natural Killer sont des cellules effectrices de l'immunité jouant le rôle de cellules tueuses par lyse cellulaire. Ce rôle est joué par l'intermédiaire de son contenu comprenant des cytokines telles que l'IFN-γ mais aussi des granules cytotoxiques contenant notamment de la perforine et de la granzyme qui pénètrent au sein de la cellule cible afin d'y déclencher la lyse par apoptose.

A la suite de leur maturité les natural killer vont se subdiviser en cinq sous-groupes aux caractéristiques différentes selon les marqueurs CD3, CD16 (FcγRIIIa) et CD56 [49]:

- Groupe 1 : CD3-, CD56bright, CD16-
- Groupe 2 : CD3-, CD56bright, CD16dim
- Groupe 3 : CD3-, CD56dim, CD16-
- Groupe 4 : CD3-, CD56dim, CD16+
- Groupe 5 : CD3-, CD56-, CD16+

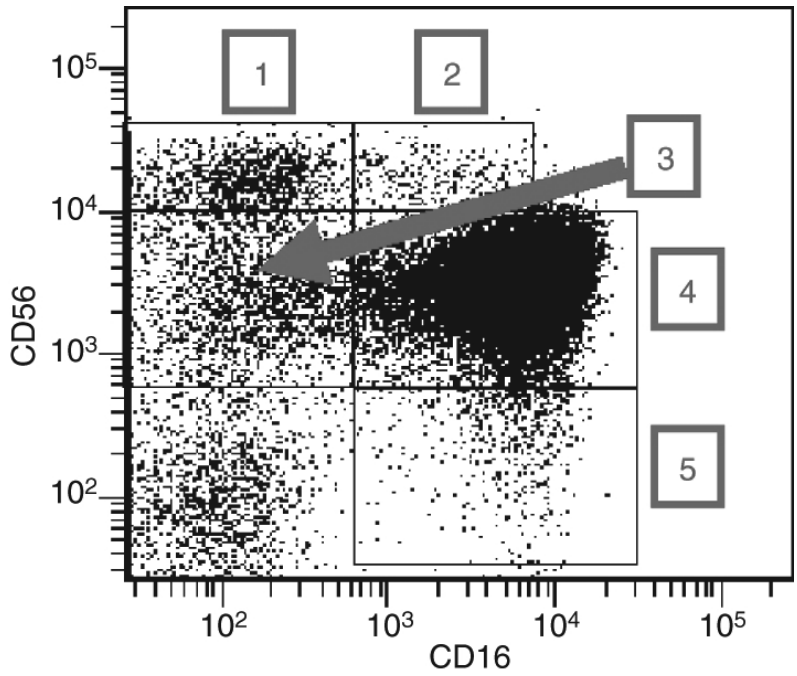


Figure 13 –Les 5 sous-groupes de Natural Killer vu par cytométrie de flux [49].
a) *Groupe 1: CD56bright, CD16-,* ***b)*** *Groupe 2: CD56bright, CD16dim,* ***c)*** *Groupe 3: CD56dim, CD16-,* ***d)*** *Groupe 4: CD56dim, CD16+,* ***e)*** *Groupe 5: CD56-, CD16+*

CD56dim, CD16+ (groupe 4) : ce sous-groupe représente la majorité (jusqu'à 90%) des cellules natural killer et est considéré comme les plus cytotoxiques.

CD56dim, CD16- (groupe 3) : Sous-groupe méconnu.

CD56bright, CD16dim/- (groupes 1 et 2) : Ces sous-groupes représentent jusqu'à 10% des natural killer mais sont les principaux sous-groupes observés dans les tissus et organes lymphoïdes secondaires. Ces sous-types sont classiquement connus pour leur production de cytokines et chimiokines telles que les IFN-γ, TNFα, GM-CSF et RANTES après activation.

CD56-, CD16+ (groupe 5) : Représente moins de 10% des natural killer. Contrairement aux CD56+, ce sous-groupe possède l'activité cytotoxique la plus faible notamment sur l'expression des IFN-γ, TNFα et GM-CSF.

La comparaison de ces différents groupes de natural killer semble montrer que les NK CD56- sont moins cytotoxiques que les NK CD56+. Ainsi les NK CD56+ peuvent sembler de meilleures efficacité dans l'activité immunologique.

Le phénomène d'ADCC est caractérisé par le fait que la cellule NK va exprimer en sa surface différents récepteurs dont les FcγRIIIa (CD16) qui vont reconnaître et se lier aux fragments Fc des anticorps IgG eux-mêmes fixés à la surface de la cellule cible à lyser. Une fois que le récepteur est lié à la partie Fc de l'anticorps, les Natural Killer vont libérer leur contenu cytotoxique afin de tuer les cellules cibles.

5.2 Utilisation du Cetuximab dans les CE VADS

Comme l'association du Cetuximab à des chimiothérapies ou aux radiations ionisantes s'est révélée synergique dans différents modèles pré-cliniques, l'utilisation clinique du Cetuximab s'est développée dans le cadre de combinaisons thérapeutiques avec les agents cytotoxiques.

Dans les études présentées, la réponse tumorale au traitement peut être classée en réponse complète (RC), réponse partielle (RP), stabilité tumorale (ST), progression tumorale (PT), définies selon les critères RECIST pour les études récentes [50].
Les taux de réponse globale correspondent aux taux de RC + RP
Les taux de contrôle de la maladie correspondent aux taux de RC + RP + ST.

5.2.1 Association du Cetuximab et de la radiothérapie

5.2.1.1 Données pré-cliniques

L'irradiation d'une population cellulaire produit une cascade d'évènements physique, chimique, biochimique et biologique. Les ions interagissent avec le milieu composé

essentiellement d'eau et produisent des radicaux libres (radiolyse de l'eau) qui sont responsables de la formation d'un grand nombre de lésions de l'ADN : dommages de bases, cassures simples et doubles brins. Puis la cellule active ses mécanismes de réparation de l'ADN, permettant la survie cellulaire en cas de réparation satisfaisante. Si les capacités de réparation sont dépassées, la cellule meurt par mort mitotique ou par apoptose.

En parallèle, l'irradiation va induire au niveau des cellules ciblées une sécrétion autocrine de TGFα qui va stimuler les voies de signalisation en aval de l'EGFR. Ce phénomène est impliqué dans le processus de repopulation cellulaire en cours de radiothérapie, favorisant ainsi les échecs thérapeutiques [51,52]. Ainsi l'association des anticorps monoclonaux anti-EGFR agit de manière synergique avec les radiations et permet d'augmenter la réponse tumorale à la radiothérapie par le biais de plusieurs mécanismes :

- Une inhibition de la prolifération cellulaire ;

- Un arrêt du cycle cellulaire : l'association des radiations avec le Cetuximab induit la dérégulation du cycle cellulaire qui permet une diminution du nombre de cellules dans la phase S, qui n'est autre que la phase radiorésistante du cycle cellulaire ;

- L'apoptose radio-induite : le Cetuximab augmente les effets pro-apoptotiques des radiations sur les cellules tumorales avec perte de clonogénicité, réduction de la prolifération cellulaire et augmentation de la sensibilité des cellules tumorales aux radiations [52].

- Une inhibition de la réparation des lésions de l'ADN radio-induites : les radiations induisent des lésions de l'ADN. Mais ces rayonnements ionisants permettent également une translocation de l'EGFR dans le noyau. Cette concentration d'EGFR nucléaire a été démontrée responsable de l'activation de la DNA-PK (DNA-dependent Protein Kinase), elle-même responsable de l'activation des mécanismes de réparation de l'ADN. L'intérêt de la combinaison des radiations thérapeutiques avec le Cetuximab repose sur le fait que ce dernier empêche la translocation nucléaire de l'EGFR, diminuant ainsi les capacités de réparation de la cellule envers les lésions radio-induites de l'ADN et amenant plus efficacement la mort cellulaire [54].

- Une inhibition de l'angiogénèse tumorale et des effets sur l'invasion, métastases.

5.2.1.2 Efficacité clinique du Cetuximab et de la radiothérapie dans les cancers des VADS localement avancés.

En 2006, la FDA a approuvé grâce à une étude clinique de phase III l'efficacité du Cetuximab en association à la radiothérapie dans le traitement des tumeurs localement avancées des VADS.

L'étude de Bonner et al. [55], est une étude multicentrique et randomisée qui compare la radiothérapie exclusive à la radiothérapie associée au Cetuximab dans le traitement des carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx, de l'hypopharynx ou du larynx, non métastatique de stade III ou IV. L'association montre un bénéfice par rapport à la radiothérapie seule en termes de contrôle locorégional, de taux de survie sans progression et de survie globale (Figure 14). L'association de cet anticorps monoclonal permettait, en outre, une amélioration de 10% du taux de réponse globale au traitement. Aucun bénéfice clinique n'a été démontré chez les patients avec un index de performance de Karnofsky ≤ 80 et âgés de plus de 65 ans.

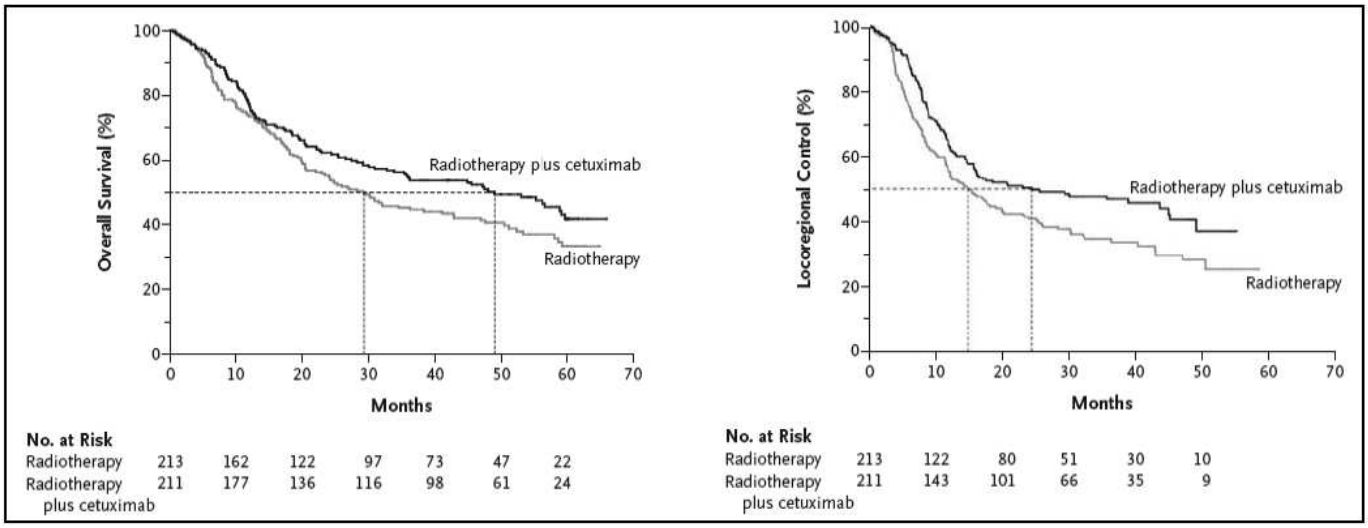


Figure 14 –Courbes de Kaplan-Meyer comparant la survie globale et le contrôle locorégional entre les bras radiothérapie associé au Cetuximab [55].

En 2010, l'étude complémentaire menée par Bonner et al. [56] (EMR 62 202-006) a permis une actualisation, rapportant les données de survie globale à 5 ans. Elle confirme les résultats initiaux, et fait apparaître que les patients traités par Cetuximab et présentant une toxicité cutanée de grade 2 ou plus (rash cutané) ont une meilleure survie que les patients sans rash ou avec rash de grade 1.

	RT	RT + Cetuximab	*P*
Médiane de contrôle locorégional	14,9 mois	24,4 mois	0,005
Médiane de survie globale	29,3 mois	49 mois	0,03
Taux de réponse globale	64%	74%	0,02
Médiane de survie sans progression	12,4 mois	17,1 mois	0,006
Taux de survie sans progression à 3 ans	31%	42%	0,04
Taux de survie globale à 5ans	36,4%	45,6%	0,018

Tableau 3 *– Résultats de l'étude de Bonner et al. de phase III comparant Radiothérapie seule (RT) à l'association Radiothérapie + Cetuximab* [55,56]

Ainsi en 2006, le Cetuximab a obtenu en France l'AMM pour le traitement des patients présentant un carcinome épidermoïde des VADS localement avancé, en association avec la radiothérapie.

Néanmoins, dans cette indication chez les patients inopérables, l'association du Cetuximab à la radiothérapie se place seulement en alternative à la radio-chimiothérapie concomitante à base de sels de platine. Celle-ci reste le Gold Standard conformément à l'étude rétrospective menée par Koutcher et al. [57], en l'absence de résultats disponibles provenant d'une étude de phase III comparant ces deux modalités de traitement.

Notons également ici que, dans ce cadre curatif, plusieurs études ont tenté de mettre en évidence une supériorité de l'association radio-chimiothérapie concomitante à base de sels de platine + Cetuximab, par rapport à la radio-chimiothérapie concomitante conventionnelle. Les résultats en termes de survie globale et de contrôle locorégional semblaient prometteurs, mais ces études ont rapporté une augmentation préoccupante des toxicités dans le bras contenant du Cetuximab, limitant les possibilités de réalisation de telles associations [57-60].

Les résultats de l'essai clinique de phase III RTOG 0522 NCT00265941, comparant radiothérapie/cisplatine versus radiothérapie/cisplatine/cetuximab pour les CE VADS localement avancés, ont été présentés lors du congrès de l'ASCO 2011. Cette étude n'a pas mis en évidence de bénéfice en termes de survie et de réponse au traitement pour le bras recevant la thérapie ciblée. Par contre, il existait une augmentation significative des mucites et des toxicités cutanées dans ce groupe de patients.

5.2.2 Association du Cetuximab et des chimiothérapies

5.2.2.1 Données pré-cliniques

La chimiothérapie est basée sur l'utilisation de molécules cytotoxiques, le plus souvent administrées par voie générale, ce qui leur permet de diffuser dans l'ensemble de l'organisme. Ainsi elles pénètrent dans la cellule pour exercer une action anti-mitotique relevant de plusieurs mécanismes, aboutissant à la formation de lésions sur l'ADN.
En ce qui concerne les CE VADS, la chimiothérapie permet de prévenir la survenue de métastases pour les tumeurs localement avancées, ou de ralentir l'évolution des cancers métastatiques d'emblée.

Cependant l'utilisation de ces molécules anti-cancéreuses, non spécifiques des cellules tumorales, s'accompagnent de toxicités importantes non négligeables qui font suite à leur diffusion au sein des cellules saines de l'organisme. De plus, ces effets indésirables sont majorés lors de l'association à la radiothérapie. Mais des traitements adjuvants existent pour pallier à certains des effets indésirables.

Néanmoins, la chimiothérapie reste le principal traitement palliatif pour les patients présentant des CE VADS récidivants, localement ou métastatiques, considérés incurables. En effet, les traitements de rattrapage (ou de sauvetage) incluant la ré-irradiation ou un geste chirurgical local, ne peuvent être proposées qu'à un nombre très limité de patients présentant une maladie récidivante. Ainsi avant l'introduction du Cetuximab, cette chimiothérapie palliative reposait surtout sur du cisplatine en monothérapie, sur l'association de carboplatine avec 5-fluoro-uracile (5-FU), ou sur l'administration hebdomadaire de carboplatine. Un taxane, voire du méthotrexate en monothérapie pouvait être utilisé en seconde ligne de traitement.

Le développement des anticorps monoclonaux dirigés contre l'EGFR a amené un réel espoir d'améliorer les résultats de la chimiothérapie. Ainsi, l'association de Cetuximab et de cisplatine s'est révélée synergique en termes d'inhibition de la croissance tumorale sur un modèle murin de xénogreffes d'une lignée de CE VADS. Une amélioration similaire de l'activité du cisplatine associé au 5-FU par le Cetuximab, a été observée sur une autre lignée cellulaire humaine [61,62].

5.2.2.2 Cetuximab et première ligne de chimiothérapie pour la prise en charge des CE VADS métastatiques et/ou récidivants.

Dans le cadre palliatif, l'adjonction du Cetuximab à une première ligne de chimiothérapie comportant un sel de platine a fait l'objet de deux essais préliminaires de phase I et II [63,64]. Les taux de réponses globales observées étaient respectivement de 35,8% et 42%.

A la suite de ces essais de phases I et II, deux essais de phase III ont été menées :

En 2005, Burtness et al. [65] publiaient que l'association du Cetuximab à la chimiothérapie permettait une augmentation significative du taux de réponse globale (26% contre 10%, en faveur du bras recevant du Cetuximab), néanmoins sans augmentation significative de la survie globale.

En 2008, l'essai clinique de phase III EXTREME de Vermoken et al. [66] (EMR 62 202-002) portant sur une population de 442 patients, révélait que l'association du Cetuximab à la chimiothérapie conventionnelle à base d'un sel de platine (cisplatine et carboplatine) et de 5-FU permettait d'augmenter significativement les taux de réponse globale de 16% et de contrôle de la maladie de 20%, avec les médianes de survie globale à 2,7 mois, et de survie sans récidive à 2,3 mois (Figure 15). Dans cette étude, après la réalisation des 6 cures de chimiothérapie, l'anticorps monoclonal thérapeutique était ensuite administré seul, en traitement d'entretien jusqu'à progression de la maladie.

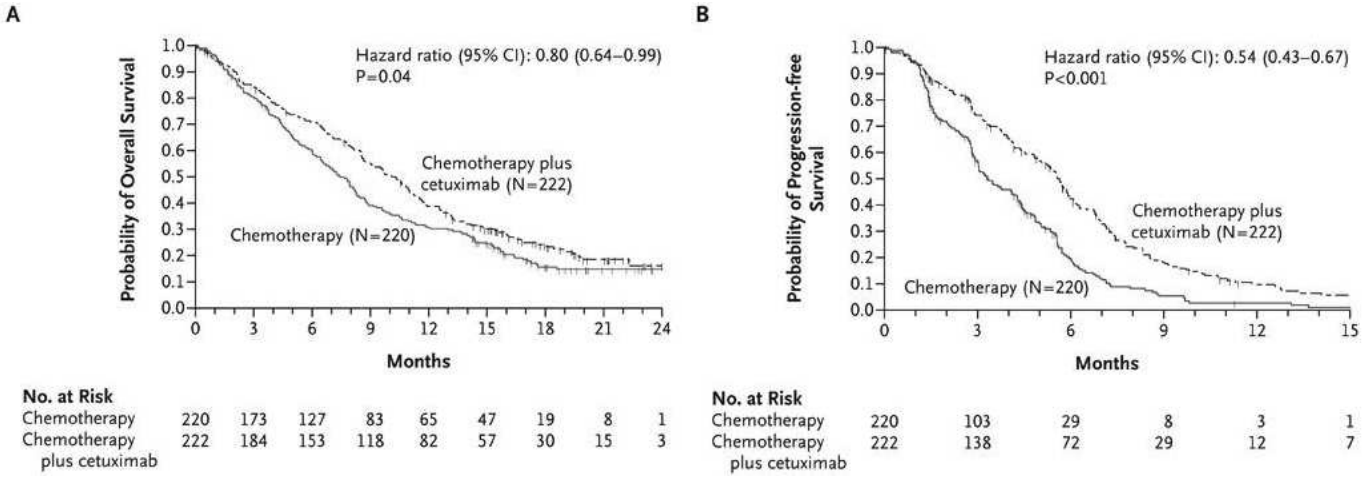


Figure 15 –Courbes de Kaplan-Meyer de survie globale (A) et de survie sans progression (B) [66].

En parallèle à ce gain de survie, une augmentation des toxicités fut observée mais qui restaient pour le moins tolérables (réactions cutanées, hypomagnésémies, anorexie et sepsis). Dans une analyse de sous-groupe, le bénéfice était surtout observé pour les patients de moins de 65 ans, avec le meilleur performans status (Index de performance de Karnofsky > 80), et recevant du cisplatine [66].

Ainsi le Cetuximab a obtenu l'AMM en France en 2009, en association avec une chimiothérapie à base de sel de platine, pour les patients présentant un CE VADS récidivant et/ou métastatique.

5.2.2.3 Cetuximab et prise en charge des poursuites évolutives des CE VADS incurables

Les patients atteints de CE VADS, en échec thérapeutique après une première ligne de chimiothérapie à base de sel de platine, pourraient bénéficier d'un traitement de Cétuximab en monothérapie.
C'est ce qui semble se dégager de trois études de phase II [67-69], dont les résultats sont mentionnés dans le tableau 4, avec l'absence de bénéfice d'associer du cisplatine. Ainsi, Vermoken et al. rapportent un taux de réponse globale de 12,6%, un taux de contrôle de la maladie de 46%, et une médiane de survie globale de 5,84 mois.

Etudes	Traitements	Patients (n)	Réponse globale	Taux de contrôle de la maladie	Médiane de Survie sans progression	Médiane de survie globale
Baselga [66]	Cetuximab/Platine	96	10%	53%	2,79 mois	6,01 mois
Herbst [67]	Cetuximab/Cisplatine	155	11,5%	Non renseigné	PE1 : 3 mois PE2 : 2 mois S : 4,9 mois	PE1 : 6,1 mois PE2 : 4,3 mois S : 11,7 mois
Vermorken [68]	Cetuximab seul	103	13%	46	2,29 mois	5,84 mois

Tableau 4 – *Etudes de phase II portant sur l'utilisation du Cetuximab pour les patients en poursuite évolutive après une première ligne de chimiothérapie comportant un sel de platine.*
PE1 *et* ***PE2*** *: Les groupes Poursuite Evolutive 1 et 2 se distinguent par les modalités de la chimiothérapie à base de platine, avant inclusion.* ***S*** *: Le groupe Stabilité tumorale avait reçu le même protocole que PE1.*

En comparaison, le taux de réponse habituel à la seconde ligne de chimiothérapie dans cette population de patients, est habituellement de 2,5% [70].

5.3 Données pharmaceutiques

5.3.1 Dénominations commerciales

Erbitux® 2 mg/ml,
Erbitux® 5 mg/ml [71].

5.3.2 Forme pharmaceutique

Solution pour perfusion. Solution incolore qui peut contenir des particules visibles blanchâtres amorphes associées au produit [71].

5.3.3 Posologie et Rythme d'administration

Avant la première perfusion, les patients doivent recevoir une prémédication par un anti-histaminique et un corticostéroïde. Cette prémédication est recommandée avant toutes les perfusions ultérieures.
L'administration de cet anticorps thérapeutique se fait à rythme hebdomadaire. La dose d'induction habituellement recommandée est de 400 mg/m² en 2 heures pour la première injection. Ensuite, la dose d'entretien est de 250 mg/m² par semaine.
Chez les patients présentant un CE VADS localement avancé, le Cetuximab est utilisé en association avec la radiothérapie. Il est recommandé de débuter le traitement par le Cetuximab une semaine avant la radiothérapie et de poursuivre le traitement par Cetuximab jusqu'à la fin de la période de radiothérapie.
Chez les patients atteints de CE VADS récidivant et/ou métastatique, le Cetuximab est utilisé en association avec une chimiothérapie à base de sels de platine suivi d'un traitement d'entretien par le Cetuximab jusqu'à progression de la maladie. La chimiothérapie doit être administrée au moins une heure après la fin de la perfusion du Cetuximab [71].

5.3.4 Mises en garde et effets indésirables

Le Cetuximab est considéré comme une option thérapeutique relativement bien tolérée. Il est néanmoins difficile de bien évaluer la part des effets indésirables attribuée spécifiquement à ce traitement. Les toxicités de grade 3 ou 4 pourraient ainsi concerner entre 15% [67] à 24% [69] des patients.

Troubles électrolytiques :

Des cas de diminution progressive de la concentration sérique en magnésium sont fréquents et peuvent entraîner une hypomagnésémie sévère qui est réversible après l'arrêt du Cetuximab. Par ailleurs, une hypokaliémie peut également se développer comme conséquence d'une diarrhée ou mucite. Une hypocalcémie peut également apparaître ; en particulier en association avec la chimiothérapie à base de sels de platine où la fréquence des hypocalcémies sévères peut être accrues.
La détermination des concentrations sériques en électrolytes est ainsi recommandée avant le traitement au Cetuximab, et aussi régulièrement au cours de celui-ci. Une supplémentation en électrolytes est recommandée si nécessaire [71].

Affections hépatobiliaires :

Très fréquemment il est retrouvé une élévation des enzymes hépatiques (ASAT, ALAT, PA) [71].

Affections respiratoires :

Des cas de maladie interstitielle pulmonaire ont été rapportés, principalement dans la population japonaise. Si l'on diagnostique une maladie interstitielle pulmonaire, le Cetuximab doit être interrompu et le patient traité d'une manière appropriée [71].

Réactions cutanées :

Des réactions cutanées ont été rapportées chez plus de 80% des patients et se présentent principalement sous forme d'éruption acnéïforme et/ou moins fréquemment, sous

forme de prurit, de sécheresse cutanée, de desquamation, d'hypertrichose, de trichomégalie ou d'anomalies unguéales (par exemple paronychie). Environ 15% des réactions cutanées sont sévères, incluant des cas isolés de nécrose cutanée. La plupart des réactions cutanées se développent au cours des trois premières semaines de traitement. En général, elles disparaissent sans séquelles au cours du temps suite à l'arrêt du traitement si les ajustements posologiques recommandés sont respectés.
Les lésions cutanées induites par le Cetuximab sont susceptibles de prédisposer les patients à des surinfections (par exemple par *S. aureus*) pouvant engendrer des complications ultérieures telles qu'une cellulite, un érysipèle ou, potentiellement avec une issue fatale, un syndrome d'épidermolyse staphylococcique ou un sepsis [71].

D'après les recommandations de la pratique clinique, l'utilisation prophylactique de tétracyclines par voie orale (pendant 6 à 8 semaines) et de crème à base d'hydrocortisone à 1% en application locale avec un agent hydratant doit être envisagée. Des dermocorticoïdes d'activité modérée à forte et des tétracyclines orales ont été utilisées pour traiter des réactions cutanées [71].

Néanmoins, l'apparition d'une éruption cutanée acnéïforme de grade 2 ou 3 constitue le seul facteur prédictif de réponse au Cetuximab identifié pour les CE VADS [68].

Neutropénies et complications infectieuses associées :

Chez les patients recevant le Cetuximab en association avec une chimiothérapie à base de sels de platine, le risque d'apparition d'une neutropénie sévère est accru, celle-ci pouvant entraîner ensuite des complications infectieuses de type neutropénie fébrile, pneumonie ou sepsis. Une surveillance attentive est recommandée chez ces patients, en particulier ceux qui présentent des lésions cutanées, une mucite ou une diarrhée pouvant favoriser l'apparition d'infections [71].

Troubles cardiovasculaires :

Une fréquence accrue des évènements cardiovasculaires sévères et parfois fatals, ainsi que des décès survenant sous traitement, a été observée lors du traitement du cancer du poumon non à petites cellules, de CE VADS et du carcinome colorectal. Lors de certaines

études, une association de ces effets cardiovasculaires a été observée avec un âge ≥ 65 ans ou un indice de performance faible. Lors de la prescription de Cetuximab, le statut cardiovasculaire et l'indice de performance du patient, ainsi que l'administration concomitante de composés cardiotoxiques tels que les fluoropyrimidines, doivent être pris en compte [71].

Affections oculaires :

Les patients présentant des signes et symptômes évocateurs de kératite tels que la survenue ou l'aggravation d'une inflammation de l'œil, de larmoiement, d'une sensibilité à la lumière, d'une vision trouble, d'une douleur oculaire et/ou d'une rougeur oculaire, doivent être rapidement orientés vers un ophtalmologue.
Si un diagnostic de kératite ulcéreuse est confirmé, le traitement par le Cetuximab doit être suspendu ou arrêté. Si le diagnostic de kératite est confirmé, les bénéfices et les risques liés à la poursuite du traitement doivent être soigneusement pris en compte.
Le Cetuximab doit être utilisé avec précaution chez les patients ayant des antécédents de kératite, de kératite ulcéreuse ou de sécheresse oculaire sévère. Le port de lentilles de contact est également un facteur de risque pour les kératites et les ulcérations cornéennes [71].

5.4 Utilisation clinique limitée du Cetuximab

Bien que le Cetuximab soit un traitement prometteur pour les CE VADS, les taux de réponse indiquent clairement que tous les patients ne bénéficient pas de l'administration de cette nouvelle arme thérapeutique. Ainsi, seul 10 à 20% des patients sont considérés comme bons répondeurs, et cette proportion est comparable aux taux de réponse obtenus avec le Cetuximab en monothérapie dans le cas des CE VADS incurables, réfractaires aux sels de platine. Ceci suggère donc que l'association du Cetuximab avec la radiothérapie ou la chimiothérapie soit plutôt additive que synergique [72].

Malgré la surexpression de l'EGFR et son importance dans la pathogénicité des cancers des voies aéro-digestives supérieures, le Cetuximab a donc une efficacité limitée. Développer des biomarqueurs prédictifs de celle-ci, afin de sélectionner les patients bons répondeurs théoriques, est devenu un impératif, à la fois toxicologique, mais également

économique (coût moyen 1000€ / mois). Cet enjeu est particulièrement important pour les CE VADS, devant l'absence actuelle d'un tel marqueur, permettant la personnalisation du traitement.

6 Mécanismes de résistances aux inhibiteurs de l'EGFR observés chez les cancers des VADS.

L'efficacité des chimiothérapies conventionnelles a nettement été améliorée par les thérapies ciblées anti-EGFR. Mais ces thérapies n'entraînent qu'une réponse partielle ou une stabilisation de la maladie chez certains patients, il existe même des patients qui ne montrent aucun bénéfice de ces traitements en monothérapie, et ces patients vont parfois jusqu'à développer des résistances. En effet, malgré une surexpression de l'EGFR et son importance dans la pathogénicité des cancers des VADS, les inhibiteurs de l'EGFR ont un effet limité en monothérapie dans ce type de cancer. Les différentes voies de signalisations positionnées en aval de ce récepteur, tels que PI3K/AKT, JAK/STAT et Ras/Raf/MAPK peuvent être constitutivement activées par des mécanismes indépendants de l'EGFR, notamment suite à des mutations génétiques activatrices. Ces mécanismes expliqueraient la survie tumorale malgré l'inhibition de l'EGFR.

Les mécanismes de résistances décrites ci-dessous concernent l'ensemble des inhibiteurs de l'EGFR, c'est-à-dire inhibiteurs de la tyrosine kinase et/ou anticorps monoclonaux.

6.1 Altération de l'EGFR.

La surexpression de l'EGFR est impliquée dans la résistance acquise des anticorps monoclonaux. Wheeler *and al.* ont montré que des lignées cellulaires (cancers des VADS et NSCLC (Non-Small-cell Lung Cancer)) développant une résistance acquise au Cetuximab présentaient une augmentation de l'expression de l'EGFR [73]. L'amplification de l'EGFR est observée dans 10 à 17% des cancers des VADS [74,75].

Les mutations activatrices dans le domaine tyrosine kinase de l'EGFR comme celles détectées dans le NSCLC, sont très rares dans les cancers des VADS et ne régulent probablement pas la réponse clinique des anti-EGFR dans cette pathologie. De plus, l'incidence des mutations intra-cellulaires de l'EGFR dans ce type de cancer varie en fonction des groupes ethniques pouvant aller de 0 à 4% chez les caucasiens à 7% chez les asiatiques [76]. A ce jour, seules 3 mutations de l'EGFR ont été rapportées :

- E746_A750del (détectée chez 3 patients coréens sur 41)[77],
- p.K745R (détectée chez 1 patient caucasien sur 100)[78],
- p.G796S (détectée chez 2 patients sur 127) [76].

En revanche, la mutation présente dans le domaine extracellulaire de l'EGFR, EGFRvIII est exprimée dans 42% des cancers des VADS. Ce variant de l'EGFR entraîne une réduction marquée de l'affinité de la liaison des anticorps monoclonaux sur le récepteur. Sok *et al.* ont transfecté ce variant dans une lignée de cancer des VADS, ainsi ces cellules exprimant l'EGFRvIII ont montré une augmentation de leur prolifération en réponse au Cetuximab comparé au vecteur contrôle. Le variant EGFRvIII contribue donc à la résistance au Cetuximab dans les cancers des VADS [79].

6.2 Altération de KRAS.

Dans ce type de cancer, les mutations de KRAS sont rares (3 à 7%), alors que les mutations H-Ras sont beaucoup plus fréquentes (22%) et peuvent jouer un rôle important dans la résistance aux thérapies anti-EGFR [80].

6.3 Altérations de la voie PI3K/AKT/PTEN

Des niveaux élevés d'AKT phosphorylé peuvent être détectés chez des patients porteurs d'un cancer des VADS et peuvent être induits par plusieurs mécanismes comme la perte de la protéine PTEN, présente dans 10% des cancers des VADS [81]. Des données conflictuelles ont été publiées sur le rôle de la perte d'expression de PTEN dans les cancers des VADS. En effet une étude montre que la perte de l'hétérozygotie de PTEN est observée dans 41% des cas, tandis qu'une autre étude ne montre aucune perte ou mutation de PTEN sur 21 cas observés.

Des mutations et des amplifications de *PIK3CA* ont été raportées dans les cancers des VADS [82]. Ces mutations *PIK3CA* sont présentes dans 8% des cancers des VADS, en revanche une amplification de la sous-unité catalytique de PI3K est présente dans 37% des cancers des VADS [83]. Des amplifications du gène *AKT2*, une activation d'AKT et de la sous-régulation de la protéine PTEN ont aussi été raportées dans les cancers des VADS [83, 84].

Même si peu d'études sont disponibles concernant les cancers des VADS, les données des CRCm suggèrent que l'expression de PTEN, le statut mutationnel de PI3K et l'amplification de AKT peuvent être des marqueurs prédictifs dans les cancers des VADS.

6.4 Suractivation forte des SFK (Src Family Kinases)

Dans les cellules résistantes au Cetuximab, la suractivation des SFK augmente l'activation de l'EGFR et sa translocation nucléaire ce qui est corrélé avec un mauvais pronostic [85]. L'EGFR pourrait alors avoir une fonction nucléaire transcriptionnelle induisant une augmentation de la prolifération cellulaire [86].

De plus, la suractivation des SFK augmente l'activation de HER3 qui est surexprimée dans 81% des cancers des VADS. La dimérisation de l'EGFR avec l'HER3 permet une activation prolongée de la voie PI3K/AKT/PTEN.

6.5 Altération du cycle cellulaire

La croissance indépendante de l'EGFR peut aussi être due à une dérégulation du contrôle du cycle cellulaire. Des aberrations génétiques comme les mutations de p53 présentes dans 43% des cas [87], l'amplification de la cycline D1 dans 34% des cas [88], l'amplification de c-mys dans 11% des cas, l'inactivation de p16 dans 83% [89] et/ou l'inactivation de Rb dans 10% des cas, peuvent expliquer cette dérégulation du contrôle du cycle cellulaire [90].

6.6 Rôle de VEGF dans la résistance

Cent pour cent des cancers des VADS présentent une augmentation des niveaux de VEGF tumoral qui jouent sur l'angiogénèse tumoral et la croissance tumorale [91].

6.7 Les facteurs indépendants de la tumeur : la piste de l'ADCC

L'ADCC, Antibody Dependent Cellular Cytotoxicity comme expliqué précédemment (*cf. chapitre 5.1.3*), a été décrit par Perlmann et al [92] en 1972. Mais c'est en 1987 que son implication dans la lyse de cellules tumorales *in vitro* et *in vivo* a été mise en évidence par Titus et al [93].

Le rôle de l'ADCC dans la cytotoxicité des anticorps monoclonaux thérapeutiques a été démontré pour la première fois en 2000 pour le Rituximab, dirigé contre l'antigène lymphocytaire CD20, et utilisé dans le traitement des lymphomes [94]. Puis, différentes études ont démontré son impact dans le cadre des thérapies cellulaires pour les mélanomes, les cancers de l'œsophage et du côlon [95-98]. En 2002, il était établi que le polymorphisme des FcγR modulait l'activité cytotoxique des cellules NK (Natural Killer) dans le cadre des lymphomes recevant ce traitement [99].

A première vue, l'ADCC semble être un atout majeur dans la réponse au Cetuximab, sauf qu'une résistance peut survenir d'un polymorphisme observé sur les récepteurs du système immunitaire employant ce procédé.

6.7.1 Les différents polymorphismes de FcγR

Ces polymorphismes résultent le plus souvent, de la variation ponctuelle d'un nucléotide du gène, appelée Single Nucleotide Polymorphism (SNP). Ainsi, plusieurs formes différentes des FcγR ont été identifiées :

- Concernant le FcγRIIa (également nommé CD32b) exprimé notamment par les macrophages, les monocytes et les neutrophiles, deux allèles du gène FCGR2A (locus 1q23) de même fréquence (0,5) ont été identifiés dans la population humaine. Ils se distinguent d'un nucléotide en position 553, et donc d'un acide aminé en position 131 : polymorphisme FCGR2A-H131R
    - Allèle FCGR2A-131R (Nucléotide C) : le récepteur contient une arginine (R).
    - Variant FCGR2A-131H (Nucléotide T) : la protéine contient une histidine (H).

Les génotypes se répartissent, selon la loi d'Hardy Weinberg, en 25% d'homozygote commun RR, 25% d'homozygote variant HH, et 50% d'hétérozygote RH [100,101].

- Pour le FcγRIIIa (également nommé CD16) exprimé par les NK et les macrophages, il existe également deux allèles du gène FCGR3A (locus 1q23) qui diffèrent d'un nucléotide en position 559, et donc d'un acide aminé en position 158 : polymorphisme FCGR3A-V158F
  - Allèle FCGR3A-158F (Nucléotide A) : le récepteur contient une phénylalanine (F) (Fréquence = 0,57).
  - Variant FCGR3A-158V (Nucléotide C) : La protéine contient une valine (V) (Fréquence = 0,43)

  L'individu peut-être homozygote commun FF (32,5%), homozygote variant VV (18,5%), ou hétérozygote VF (49%), selon la loi d'Hardy Weinberg [102].

Dans une population infinie, lorsque les gamètes se rencontrent au hasard sans subir de pression sélective, les fréquences des différents allèles se maintiennent au cours des générations selon le *modèle d'Hardy Weinberg*. L'équilibre découle de la loi de distribution génotypique : $p^2 + q^2 + 2pq = 1$, où p et q sont les fréquences respectives de deux allèles A et B. Ainsi, p^2 correspond à la fréquence du génotype homozygote AA, q^2, à celle du génotype homozygote BB, et 2pq aux hétérozygotes AB.

6.7.2 Relation entre polymorphisme des récepteurs et réponse aux traitements

La modification de la composition en acides aminés des récepteurs FcγRIIa et FcγRIIIa s'accompagne d'une variation de leur activité biologique. Ainsi, pour les patients recevant du Rituximab dans le cadre d'un lymphome, les homozygotes VV et/ou HH présentent une meilleure réponse et une survie plus longue [98,99], contrairement aux hétérozygotes. Ces résultats sont attribués à une meilleure affinité des FcγRIIIa et FcγRIIa pour l'anticorps monoclonal [103,104], mais également à une modification intrinsèque des cellules effectrices cytotoxiques. Ainsi, les cellules NK des patients ayant au moins un allèle FCGR3A-158V expriment plus de récepteurs CD16 à leur surface et présentent une cytotoxicité accrue par rapport aux cellules NK des patients homozygotes communs FF [105].

Ceci exprime donc que les FcγR présentent des spécificités de liaison aux différents anticorps, et les polymorphismes n'ont donc pas les mêmes conséquences biologiques. Nous retrouvons également que l'allotype FcγRIIa-131H a une meilleure affinité pour les IgG2 et IgG3, l'allotype FcγRIIIA-158V, pour les IgG1, IgG3 et IgG4 [106].

Ainsi dans le cas des lymphomes, les patients homozygotes variants VV pour le gène FCGR3A et/ou variants HH pour le FCGR2A présenteraient une meilleure affinité de leurs récepteurs FcγRIIIa et/ou FcγRIIa pour la portion Fcγ des anticorps monoclonaux thérapeutiques, ainsi qu'une cytotoxicité accrue de leurs cellules NK. Cela pourrait être à l'origine des variations de réponse et de survie inter-individuelle, lors de l'utilisation des thérapies ciblées, par variations de l'importance de l'ADCC mise en jeu.

Depuis, des études ont été menées pour évaluer la relation entre le polymorphisme de ces récepteurs et la réponse au traitement et/ou la survie pour d'autres cancers dont les traitements utilisent des anticorps monoclonaux thérapeutiques :

- En 2004, Farag et al. concluaient que le polymorphisme des FcγRIIa et FcγRIIIa ne permettait pas de prédire la réponse au Rituximab pour les leucémies lymphoïdes chroniques de type B [107].

- Inversement, en 2008, pour les cancers métastatiques du sein, les patients homozygotes VV (FcγRIIIa) et HH (FcγRIIa) présentaient un meilleur taux de réponse et une survie sans progression plus longue après traitement par le Trastuzumab, anticorps dirigé contre HER2 [108].

- En 2009, pour Bibeau et al., dans une étude comportant 69 patients atteints d'un adénocarcinome colorectal métastatique traité par Cetuximab + Irinotecan, le groupe de patients présentant un même génotype homozygote VV (FcγRIIIa) et/ou HH (FcγRIIa) était celui qui avait le meilleur taux de survie sans progression [109] (Figure 16).

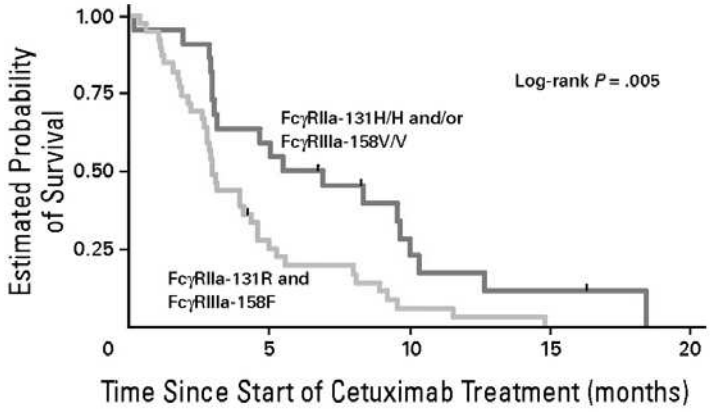


Figure 16 – Relation entre polymorphisme de FcγRIIa et FcγRIIIa, et la survie sans progression *chez des patients présentant un cancer colorectal métastatique traités par Cetuximab + Irinotecan*

Concernant les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures, deux études indépendantes, portant sur la relation entre le polymorphisme de FcγRIIIa et l'ADCC *in vitro*, ont été publiées en 2009 par des équipes américaines de Baltimore et Pittsburg. Elles ont permis de confirmer que le Cetuximab pouvait induire une lyse des cellules tumorales après activation des cellules NK, par la voie de l'ADCC (Figure 17) [110, 111].

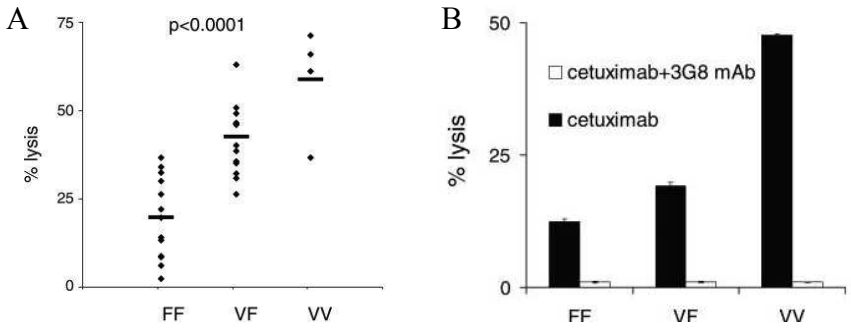


Figure 17 – ADCC liée aux cellules NK et polymorphisme du gène FCGR3A in vitro [109]
La lyse des cellules tumorales par des cellules NK provenant de donneurs sains, en présence de Cetuximab, est significativement plus importante lorsque le génotype de FCGR3A contient au moins un allèle V ***(A)****. L'inhibition du FcγRIIIa par un anticorps spécifique (3G8 mAb) s'accompagne de la réduction drastique de la lyse des cellules tumorales, confirmant le mécanisme d'ADCC mis en jeu par la Fcγ du Cetuximab.*

Ces études ont également mis en évidence que la présence d'un allèle FCGR3A-158V était corrélée avec une cytotoxicité plus importante des cellules NK contre leurs cibles sensibles [110, 111]. En effet López et al. ont démontré que les cellules effectrices exprimant FcγRIIIa-158V/V étaient significativement (P<0,0001) plus efficaces que celles exprimant

FcγRIIIa-158F/V ou FcγRIIIa-158F/F lors de la lyse des cellules tumorales, tout en sécrétant de manière significative (P<0,05) de plus grande quantité de cytokines inflammatoires et de chimiokines (Figure 18).

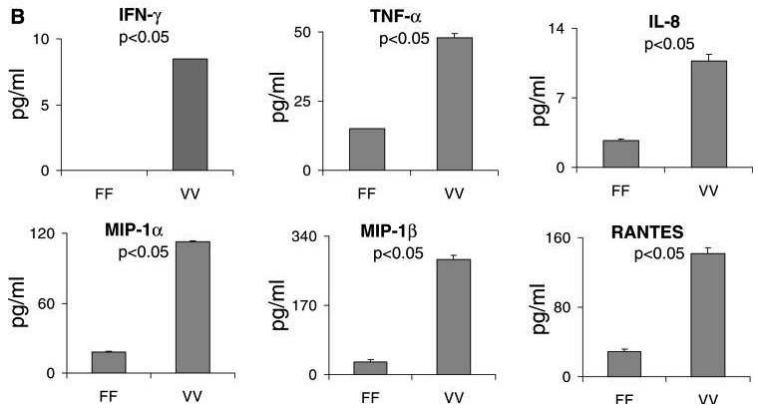


Figure 18 – Corrélation entre les allèles FCGR3A et la sécrétion de cytokines [110]
Les niveaux de cytokines ont été analysés dans les surnageants de chaque test ADCC par multiplexage ELISA (Luminex™ technologie). La sécrétion de cytokine est significativement plus importante chez les cellules effectrices portant l'allèle VV contrairement au FF.

Compte tenu des résultats prometteurs obtenus *in vitro*, nous avons voulu essayer de démontrer *in vivo* si le polymorphisme des gènes FCGR2A et FCGR3A pouvait être en relation avec la réponse clinique et la survie globale, dans le cadre des carcinomes épidermoïdes des VADS recevant du Cetuximab.

Le génotype de chaque patient pourrait alors constituer un biomarqueur prédictif de l'activité de cet anticorps monoclonal thérapeutique. Cela permettrait ainsi d'en limiter les toxicités et le coût d'utilisation, en réservant son utilisation aux groupes de malades bons répondeurs théoriques. Considérer que le polymorphisme de ces récepteurs puisse être un biomarqueur en lui-même correspond à considérer que le mécanisme de l'ADCC est un élément majeur de l'activité clinique du Cetuximab pour les CE VADS.

6.7.3 Cinétique des Natural Killer

L'ADCC est un dispositif mis en œuvre par la combinaison de plusieurs éléments que sont la cellule cible, le FcγR, l'anticorps monoclonal, et les Natural Killer.

Les résultats de cette première étude *in vivo* sur le polymorphisme des FcγR seront donc à corréler avec le degré d'immunodéficience des patients atteints par ces cancers. En effet, une étude complémentaire a été réalisée sur les caractéristiques qualitatives et quantitatives des cellules NK de la population atteint de CE VADS.

MATERIEL ET METHODE

1 Polymorphismes FCGR2A et FCGR3A

La majorité des manipulations décrites ci-dessous a été effectué par David Jague au sein du service d'anatomo-pathologie du CHU de Rouen lors d'un stage de Master 1 « Méthodes moléculaires en génétique médicale : application au cancer ». Des compléments de données ont été apportés par Nicolas Bon-Mardion.

1.1 Patients

Cette étude rétrospective multicentrique a été effectuée aux CHU de Rouen et Caen, notamment au sein du Centre de Lutte Contre le Cancer Henri Becquerel (Rouen) et au CLCC François Baclesse (Caen). Elle inclue des patients porteurs de Carcinome Epidermoïde des Voies Aéro-Digestives Supérieures, traités par Cetuximab dans des centres oncologiques de Normandie entre septembre 2006 et janvier 2011. Les deux modes thérapeutiques utilisés, curatif et palliatif, permettent de justifier une administration de l'anticorps-monoclonal soit seul, soit en association avec un autre mode thérapeutique (chimiothérapie, radiothérapie).

Une saisie informatique confidentielle a été réalisée afin de répertorier chaque renseignement significatif des patients ayant fait l'objet de cette étude :

- Identification du patient : nom, prénom, date de naissance.
- Données démographiques : âge au moment du diagnostic, sexe.
- Facteurs de risque du CE VADS (intoxication alcoolo-tabagique), comorbidités (diabète, hypertension artérielle, cirrhose, polynévrite, tuberculose, …), amaigrissement par rapport au poids de forme, indice de performance selon la nomenclature OMS (Organisation Mondiale de la Santé).
- Génotypes des gènes FCGR2A et FCGR3A.
- Caractéristiques de la pathologie : date de diagnostic, circonstances de la découverte, localisation tumorale, aspect macroscopique, type histologique, sous-type histologique, grade de différenciation, classification TNM (UICC 2009 – Union for International Cancer Control) et stade AJCC, antécédents de traitement (chirurgie, radiothérapie, chimiothérapie).

- Caractéristiques du traitement : intention curative ou palliative, association thérapeutique (radiothérapie ou chimiothérapie), date de début et de fin de traitement par Cetuximab, schéma thérapeutique et doses administrées, modifications en cours de traitement et leurs causes, toxicités cutanées spécifiques et générales, réactions allergiques anaphylactiques.
- Evaluation de l'efficacité du traitement : réponses objectives selon les critères RECIST [50], évènements secondaires et leurs dates de survenue pour le calcul de la survie sans progression (poursuite évolutive, récidive locale ou régionale, survenue de métastases, seconde localisation tumorale), décès pour l'évaluation de la survie globale.

Pour être évaluable, les patients devaient être atteints de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, et avoir reçu au moins 3 cures de Cetuximab sans avoir subi de traitement chirurgical local avant l'administration du traitement.

1.2 Détermination des polymorphismes des gènes FCGR2A et FCGR3A

Les expérimentations suivantes ont été réalisées par mes soins au sein du laboratoire d'Anatomo-Cytopathologie du CHU de Rouen (sous la Responsabilité du Professeur Jean-Christophe Sabourin et du Docteur Aude Lamy), en collaboration avec la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rouen, ainsi que du réseau Haut-Normand d'accès à la Tumorothèque (RHAT).

1.2.1 Recueil et examen des échantillons

Les blocs représentatifs de la tumeur des patients sont conservés au sein des services d'Anatomo-Cytopathologie des CHU de Rouen et Caen, dans le but de favoriser la recherche et mieux comprendre les processus spécifiques de chaque type de tumeur, en garantissant la faisabilité d'éventuelles études rétrospectives. Une lame des plus représentatives de chaque patient est choisie afin de récupérer les blocs de conservation en paraffine correspondants, contenant les tissus à étudier. A l'aide d'un microscope, une identification sur lame est faite pour délimiter les zones de tissu normal (TN) et de tissu tumoral (TT). Des coupes fines de 7µm sont faites sur ces blocs de paraffine à l'aide d'un microtome, puis transposées sur des lames humidifiées

par un milieu adhésif Sta-One® (Leica Microsystems, Wetzlar, Allemagne) avant d'être séchées sur plaque chauffante.



Figure 19 – Lieu de stockage des différents blocs de paraffine au sein du CHU de Rouen.

1.2.2 Extraction de l'ADN

Le protocole RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit (Applied Biosystems/Ambion, Foster City, Californie) a été utilisé afin d'extraire le matériel génétique de ces coupes. Ce protocole consiste à dissoudre la paraffine des échantillons par lavages successifs de xylène et d'éthanol avant de subir une digestion par protéase avec incubation de 16h à 50°C pour en libérer les acides nucléiques à purifier secondairement à l'aide d'un filtre.

Enfin, des dosages spectrophotométriques ont été effectués pour mettre en évidence le degré de pureté de ces échantillons. Le rapport des longueurs d'ondes 260nm (absorption maximale des acides nucléiques) et 280nm (absorption maximale des protéines) a pu être calculé. Ainsi une bonne isolation des acides nucléïques était révélée par un ratio A_{260}/A_{280} compris entre 1,8 et 2.

1.2.3 PCR Multiplex

L'étape de PCR (Polymerase Chain Reaction) est une méthode d'amplification exponentielle génique *in vitro* qui permet de copier en grand nombre une région génique d'intérêt à partir d'une faible quantité d'acides nucléiques. Cela consiste à réaliser une succession de réactions de réplication d'une matrice double brins d'ADN où chaque réaction met en œuvre deux amorces (ou *primer*) oligonucléotidiques encadrant la région à amplifier :

amorces sens (E4Forward1) et anti-sens (E4Reverse1). La PCR est donc basée sur une répétition de cycles de transitions de températures, notamment grâce à l'aide d'un thermocycleur TGradient (Biometra, Göttinguen, Allemagne), où chaque cycle contient trois étapes distinctes : la dénaturation, l'appariement des amorces et la phase d'élongation permise grâce à la Taq polymérase Platinium (Invitrogen, Carlsbad, Californie), en présence de désoxynucléotides triphosphates C, G, T et A (dNTP).

La particularité de la PCR multiplexe (Multiplex PCR) est la possibilité d'amplifier plus d'un amplicon à la fois (ici les récepteurs FCGR2A et FCGR3A), par l'utilisation de plus de deux amorces par réaction PCR.

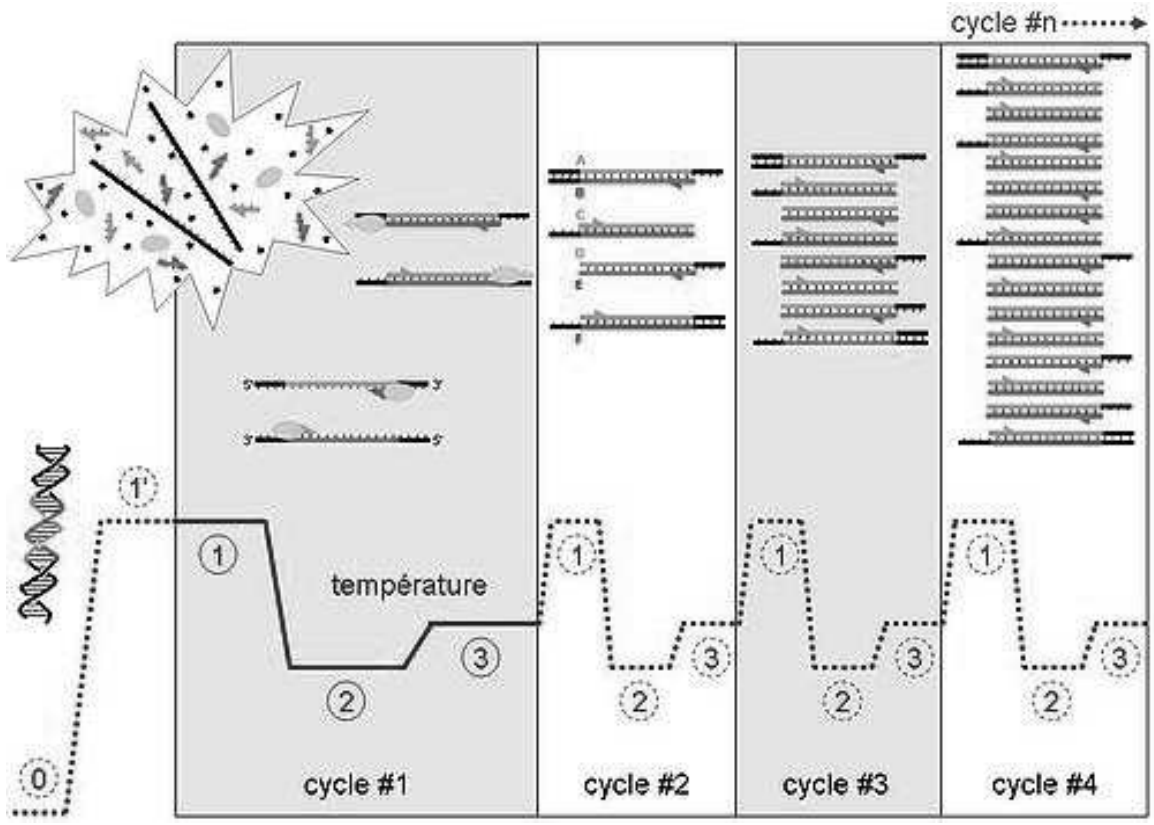


Figure 20 – Cycles d'une PCR [112]
Evolution de la température et des différents types de brins d'ADN au cours des 4 premiers cycles de la PCR

Les PCR ont été réalisées selon les conditions suivantes :

- **Conditions native (0 sur le schéma) :**

Cette étape se fait généralement à température ambiante où la molécule d'ADN bicaténaire adopte sa conformation en double hélice.

- **Dénaturation initiale (1' sur le schéma) :**

Avant de commencer les cycles de PCR proprement dit, une étape de chauffage de 15min à 95°C est réalisée. Cette étape permet de déshybrider les ADN double brin, de casser les structures secondaires, d'homogénéiser le milieu réactionnel par agitation thermique, d'activer les polymérases dites « hot start », de dénaturer d'autres enzymes qui pourraient être dans la solution.

- **Phase de dénaturation (1 sur le schéma)**

Cette étape de 30 secondes à 94°C permet de déshybrider les ADN, de « décrocher » les polymérases qui seraient encore liées à une matrice et d'homogénéiser le milieu réactionnel.

- **Phase d'hybridation ou d'appariement des amorces (2 sur le schéma) :**

Cette étape de 90 secondes à 63°C permet aux amorces sens et anti-sens de s'hybrider aux ADN matrices grâce à une température qui leur est thermodynamiquement favorable.

- **Phase d'élongation (3 sur le schéma) :**

Cette étape de 90 secondes à 72°C permet aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice à une température qui leur est optimale. Ce brin est fabriqué à partir des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel.

- **Phase d'élongation (Fin de la PCR) :**

Pour finir, une dernière étape d'élongation de 10 minutes à 72°C permet de finaliser certaines élongations qui n'auraient pas aboutit au cours des différents cycles.

La durée de cette PCR sera de 45 cycles.

Caractéristiques des amorces :

- Les séquences nucléotidiques des amorces ont dû être spécifiques des séquences complémentaires de l'ADN simple-brin auxquelles elles devaient s'appariées. La complémentarité parfaite n'étant par ailleurs pas obligatoire. De plus, la spécificité de la séquence était importante dans le sens ou celle-ci ne devait pas pouvoir s'apparier à une autre séquence de l'ADN que celles à répliquer.
- Les séquences des amorces devaient être choisies en sorte de minimiser les possibilités d'appariement entre elles. De même, chaque amorce était choisie pour ne pas pouvoir former une structure secondaire.
- Le procédé même de la PCR reposant, entre autres, sur des équilibres thermodynamiques, les amorces devaient avoir des températures de fusion le plus proche possible, autrement dit le rapport entre les bases AT et GC des deux amorces ne devait pas être trop différent.

Amorces PCR ***FCGR2A :***

FCGR2A – E4F1

GTCAAGTTCTGTGAGTAACGTACCTCTGAGACTGAAAAACCCTTGGAATCTATCCTTACAA

CTTTTTCTTATCATATTTGTGTCTTTCAGAATGGCTGGTGCTCCAGACCCCTCACCTGGAGT

TCCAGGAGGGAGAAACCATCATGCTGAGGTGCCACAGCTGGAAGGACAAGCCTCTGGTC

AAGGTCACATTCTTCCAGAATGGAAAATCCCAGAAATTCTCCCATTTGGATCCCACCTTCT

FCGR2A – E4R1

CCATCCCACAAGCAAACCACAGTCACAGTGGTGATTACCACTGCACAGGAAACATAGGCT

ACACGCTGTTCTCATCCAAGCCTGTGACCATCACTGTCCAAGGTATG

FCGR2A – E4F1 : *CCTCTGAGACTGAAAAACCCTTG*
FCGR2A – E4R1 : *ACTGTGGTTTGCTTGTGGG*

Amorces PCR ***FCGR3A:***

FCGR3A – E4F1

CGTGGCCCCTTCACAAAGCTCTGCACTGAGAGCTGAGGCCTCCCGGCCTGGGGTGTCTG

TGTCTTTCAGGCTGGCTGTTGCTCCAGGCCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAGGAAGACCCT

ATTCACCTGAGGTGTCACAGCTGGAAGAACACTGCTCTGCATAAGGTCACATATTTACAG

AATGGCAAAGGCAGGAAGTATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTCCAAAAGCCACAC

TCAAAGACAGCGGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTTTTTGGGAGTAAAAATGTGTCTTCAG

FCGR3A – E4R1

AGACTGTGAACATCACCATCACTCAAGGTGAGACATGTGCCACCCTGGA

FCGR3A – E4F1: *GCCTGGGGTGTCTGTGTCT*
FCGR3A – E4R1: *GAGTGATGGTGATGTTCACAGTC*

1.2.4 Electrophorèse en gel d'agarose

L'électrophorèse en gel d'agarose est une méthode utilisée pour séparer l'ADN, l'ARN ou même les protéines en fonction de leur poids moléculaire. En effet, l'électrophorèse de l'ADN est réalisée dans un gel d'agarose creusé de puits où sont déposées les solutions d'ADN à analyser. Le tampon, du Tris-Borate-EDTA (TBE), est légèrement basique (pH 8,3) et l'ADN s'ionise sur ses groupements phosphates et migre vers l'anode.

La résistance du gel poreux au déplacement de l'ADN dans le champ électrique est proportionnelle à la taille des fragments d'ADN. Ils sont donc séparés en fonction de leur taille, exprimée en pdb (paires de bases), les plus petits fragments migrant les plus rapidement. Donc l'augmentation de la concentration d'agarose dans un gel réduit la vitesse de migration et permet la séparation de fragment d'ADN de plus petite taille (une concentration d'agarose de 3% a été utilisée, permettant la séparation optimale des fragments de l'ordre de 0,2 à 0,3 kb). Plus le voltage est important, plus la vitesse de migration augmente (un voltage de 100volts a été utilisé). Toutefois le voltage est limité en intensité, effectivement un fort voltage induit une augmentation de température ce qui peut faire fondre le gel.

Afin de disposer d'une référence de taille, un marqueur (mélange de fragments de tailles connues) a été déposé dans un des puits du gel d'électrophorèse.

La méthode de révélation utilisée fut la révélation au bromure d'éthidium ou *BET*. Le bromure d'éthidium est un agent d'intercalation couramment utilisé comme marqueur d'acide nucléique dans les laboratoires de biologie moléculaire. Lorsqu'il est exposé à des rayonnements ultraviolets, il devient fluorescent avec une couleur rouge-orangée, 20 fois plus intense lorsqu'il est lié à l'ADN.

Après la migration d'électrophorèse, le gel était éclairé sous ultraviolet afin d'observer les bandes d'ADN fluorescentes. Les bandes ont été alors découpées et séparées du gel, puis dissoutes afin de récupérer l'ADN purifié. L'estimation de la taille des fragments était faite grâce à la comparaison avec l'échelle de marqueur de taille moléculaire (Φ174 DNA / HINF I Markers) utilisée simultanément dans un autre puits lors de la migration. Suite à cela le gel a été pris en photo.

Une purification par le kit *NucleoSpin® Extract II* (Macherey-Nagel©, Düren, Allemagne) était effectuée ensuite. Ce kit permet en outre d'éliminer toute trace d'amorces utilisées ainsi que de purifier les produits de PCR.

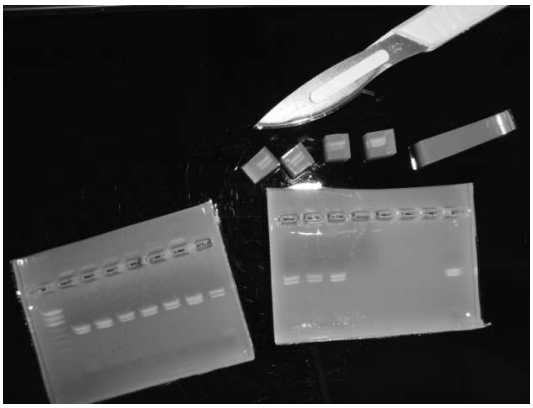


Figure 21 – Exemple de résultats obtenus sur gel d'agarose lors des manipulations effectuées au sein du service d'anatomo-cytho pathologie du professeur Sabourin (CHU de Rouen)

1.2.5 SNaPshot® Multiplex System (Applied Biosystems).

Le SNaPshot® Multiplex System (Applied Biosystems) est basé sur une extension d'amorce spécifique permettant de multiplexer jusqu'à 10 SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*).

Tout comme la PCR, cette technique est basée sur une répétition de cycles de transitions de températures (à l'aide d'un thermocycleur TGradient Biometra, Göttinguen, Allemagne) où chaque cycle contient 3 étapes distinctes, la dénaturation, l'appariement des amorces et la phase d'élongation. La particularité repose sur le fait que cette extension d'amorces sera effectuée par « un seul » didésoxy-Nucléotide-Tri-Phosphate (ddNTP), fluorescent et capable d'être détecté par séquenceur (ABI 3130xl, Applied Biosystems). Le marqueur de taille utilisé était le GeneScan™-120 LIZ® (Applied Systems).

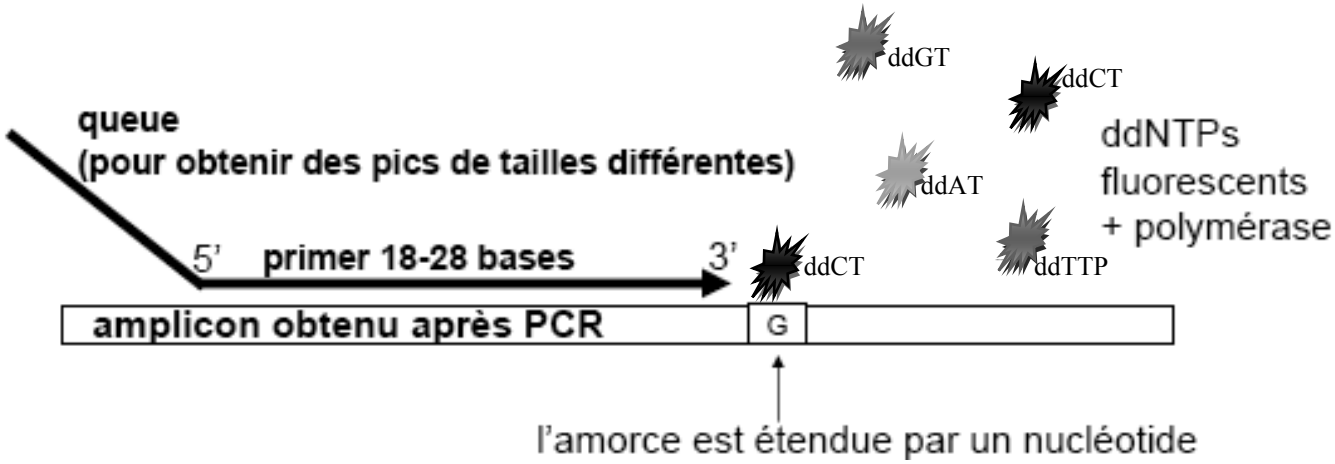


Figure 22 – Principe du SNaPshot® Multiplex Systems
Une amorce complémentaire vient se fixer à la région cible, puis l'extension se fait par un didésoxynucléotide fluorescent

Etapes du SNaPshot ® :

- **Phase de dénaturation :**

Cette étape de 10 secondes à 96°C permet de déshybrider les ADN, de « décrocher » les polymérases qui seraient encore liées à une matrice et d'homogénéiser le milieu réactionnel.

- **Phase d'hybridation ou d'appariement des amorces :**

Cette étape de 5 secondes à 50°C permet aux amorces de s'hybrider à l'ADN matrice grâce à une température qui leur est thermodynamiquement favorable.

- **Phase d'élongation :**

Cette étape de 30 secondes à 60°C permet aux polymérases de synthétiser le brin complémentaire de leur ADN matrice à une température qui leur est optimale. Ce brin est fabriqué à partir des dNTPs libres présents dans le milieu réactionnel.

- **Phase de purification :**

Cette purification est faite à l'aide de la Shrimp Alcalin Phosphatase (SAP) qui va déphosphoryler les ddNTPs résiduels. Le Mix restera pendant 60min à 37°C avant d'effectuer 15 minutes à 75°C à l'aide d'un thermocycleur TGradient (Biometra, Göttinguen, Allemagne).

La durée du SNaPshot sera de 25 cycles.

Le SNaPshot® correspond à un mini-séquençage pour lequel l'analyse est effectuée grâce au logiciel Gene Mapper® v4.0 (Applied Biosystems). En fonction du nucléotide détecté par le séquenceur, les polymorphismes ont pu être exprimés en pourcentage, à partir de l'aire sous la courbe de SNaPshot®. Ainsi, un patient a été considéré homozygote lorsque le pourcentage de son nucléotide majoritaire dépassait 75%, hétérozygote dans le cas contraire.

Amorces SNaPshot ***FCGR2A :***

FCGR2A – E4F1
GTCAAGTTCTGTGAGTAACGTACCTCTGAGACTGAAAAACCCTTGGAATCTATCCTTACAA

CTTTTTCTTATCATATTTGTGTCTTTCAGAATGGCTGGTGCTCCAGACCCCTCACCTGGAGT

TCCAGGAGGGAGAAACCATCATGCTGAGGTGCCACAGCTGGAAGGACAAGCCTCTGGTC

FCGR2A-SS131F FCGR2A-SS131R
AAGGTCACATTCTTCCAGAATGGAAAATCCCAGAAATTCTCCCATTTGGATCCCACCTTCT
FCGR2A – E4R1
CCATCCCACAAGCAAACCACAGTCACAGTGGTGATTACCACTGCACAGGAAACATAGGCT

ACACGCTGTTCTCATCCAAGCCTGTGACCATCACTGTCCAAGGTATG

FCGR2A – SS131F (Forward) : *tggttagatgtggttagatgGGAAAATCCCAGAAATTCTCCC*
FCGR2A – SS131R (Reverse) : *tggttagatgtggttagatgGAGAAGGTGGGATCCAAA*

Amorces SNaPshot FCGR3A:

FCGR3A – E4F1
CGTGGCCCCTTCACAAAGCTCTGCACTGAGAGCTGAGGCCTCCCGGCCTGGGGTGTCT

GTGTCTTTCAGGCTGGCTGTTGCTCCAGGCCCCTCGGTGGGTGTTCAAGGAGGAAGACC

CTATTCACCTGAGGTGTCACAGCTGGAAGAACACTGCTCTGCATAAGGTCACATATTTACA

GAATGGCAAAGGCAGGAAGTATTTTCATCATAATTCTGACTTCTACATTCCAAAAGCCACA

FCGR3A-SS158F FCGR3A-SS158R
CTCAAAGACAGCGGCTCCTACTTCTGCAGGGGGCTTTTTGGGAGTAAAAATGTGTCTTCA
FCGR3A – E4R1
GAGACTGTGAACATCACCATCACTCAAGGTGAGACATGTGCCACCCTGGA

FCGR3A – E4F1: *tggttagatgtggttagatgtggttagatgCCTACTTCTGCAGGGGGCTT*
FCGR3A – E4R1: *tggttagatgtggttagatgtggttagatgGAAGACACATTTTTACTCCCAA*

1.2.6 Protocole de manipulation

Voir annexe A1-2015.

2 Evaluation des réponses au traitement par les critères RECIST

2.1 Définitions

Dans le but d'une harmonisation des présentations de résultats lors des essais cliniques, l'évaluation des réponses au traitement chez les tumeurs solides se font majoritairement par l'intermédiaire des critères RECIST. Il s'agit de mettre en confrontation des mesures effectuées à l'aide de la technique de tomodensitométrie (TDM) d'évaluation. De premières mesures sont effectuées sur des lésions cibles et mesurables au plus tard dans les 4 semaines

qui suivent le début du traitement, puis de nouvelles mesures sur ces mêmes lésions sont effectuées à distance fixe de la fin du traitement par rapport à la TDM initiale [50].

Dans le cas de notre évaluation par TDM, les mesures doivent être effectuées dans le plan axial.

2.2 Lésions à l'inclusion

Les lésions et les ganglions sont classés individuellement comme étant mesurables ou non mesurables.

2.2.1 Maladies mesurables

Pour qu'une lésion soit jugée mesurable, au moins une de ses dimensions doit pouvoir être mesurée de façon précise (la dimension la plus longue, dans le plan de la prise de mesures, devra être rapportée). Pour être mesurables, les lésions doivent présenter une mesure minimum de :

- ≥ 10 mm au scanner (pour autant que la largeur de bande du CT-scan soit d'au maximum 5 mm)
- Pour qu'un ganglion lymphatique malin soit considéré pathologique et mesurable, celui-ci doit présenter un plus petit axe ≥ 15 mm (le plus petit axe étant l'axe perpendiculaire à la plus grande dimension du ganglion). Seule la longueur de ce petit axe sera rapportée tant à l'entrée que durant le suivi.

2.2.2 Maladies non-mesurables

Toutes les autres lésions, incluant les petites lésions (plus grand diamètre < 10 mm au scanner ou les ganglions lymphatiques dont le plus petit axe est ≥ 10 mm et < 15 mm) ainsi que les lésions réellement non-mesurable.

2.2.3 Lésions cibles

Les lésions cibles sont sélectionnées parmi les lésions mesurables que présente le malade à l'entrée de l'étude. Au maximum 5 lésions cibles sont sélectionnées au total avec un maximum de 2 lésions cibles par organe. La sélection des lésions cibles s'opère de façon à être représentative de tous les organes envahis, en choisissant les lésions les plus grandes (dans leur plus grande dimension) qui de plus, pourront être suivies tout au long de l'essai avec la méthode utilisée lors de l'examen initial. Les ganglions lymphatiques peuvent être considérés comme lésions cibles si leur plus petit axe (mesuré au scanner) est ≥ 15 mm.

C'est la somme des diamètres de ces lésions cibles (plus grand axe pour les lésions, et plus petit axe pour les ganglions) qui sera suivie au long de l'étude pour évaluer la réponse ou la progression.

2.2.4 Lésions non-cibles

Toutes les autres lésions sont identifiées comme lésions non-cibles et sont également relevées à l'inclusion. Elles ne sont pas mesurées mais sont suivies tout au long de l'étude.

2.3 Critères de réponse au traitement

2.3.1 Lésions cibles

Réponse complète (RC) : disparition de toutes les lésions. De plus, tous les ganglions lymphatiques (cible ou non-cible), doivent avoir atteint une dimension < 10 mm dans leur plus petit axe.

Attention : les ganglions sélectionnés comme lésions cibles doivent toujours être mesurés, même s'ils diminuent en taille durant l'étude et que leur petit axe devient < 10 mm. Dès lors, lorsque des ganglions sont utilisés comme lésion cible, la « somme » des dimensions des lésions n'est pas nécessairement nulle, même en cas de réponse complète chaque ganglion doit avoir atteint une dimension < 10 mm dans son plus petit axe.

Réponse partielle (RP) : Diminution d'au moins 30% de la somme des diamètres des lésions cibles par rapport à la somme initiale des diamètres.

Progression (PD) : Augmentation ≥ 20% de la somme des diamètres des lésions cibles par rapport à la plus petite somme des diamètres observée durant l'étude. En plus de cette augmentation relative de 20%, cette somme doit augmenter d'au moins 0.5 cm.
NB : l'apparition d'une ou plusieurs nouvelles lésions est également considérée comme progression.

Stabilisation (SD) : Ni RC ou RP et ni PD.

2.3.2 Lésions non-cibles

Réponse complète : disparition de toutes les lésions non-cibles et normalisation des marqueurs tumoraux. Tous les ganglions lymphatiques doivent avoir atteint un petit diamètre < 10 mm.

Réponse incomplète – Stabilisation : Persistance d'au moins une lésion non-cible et/ou marqueur tumoral au dessus des normales.

Progression : Augmentation indiscutable de la taille des lésions non-cibles ou apparition d'une nouvelle lésion.
Les critères de réponse tumorale sont rapportés dans le tableau 5.

Lésions cibles	Lésions non-cibles	Nouvelle lésion	Réponse globale
RC	RC	Non	**RC**
RC	Non RC/Non PD	Non	**RP**
RC	Non évalué	Non	**RP**
RP	Non PD ou pas tous évalués	Non	**RP**
SD	Non PD ou pas tous évalués	Non	**SD**
Pas tous évalués	Non PD	Non	**Non-évaluable**
PD	Indifférent	Oui ou non	**PD**
Indifférent	PD	Oui ou non	**PD**
Indifférent	Indifférent	Oui	**PD**

Tableau 5 – Réponses tumorales selon RECIST pour les patients avec des lésions cibles mesurables (± lésions non cibles). *Abréviation : RC – Réponse Complète, RP – Réponse Partielle, ST – Stabilité Tumorale, PT – Progression Tumorale, NE – Non Evaluable*

Les taux de réponse globale correspondent aux taux de RC + RP, et les taux de contrôle de la maladie, à ceux de RC + RP + SD.

3 Fonction des cellules Natural Killer

Etude réalisée par Nicolas Bon-Mardion au sein du CHU de Rouen [113].

3.1 Patients

Cette étude prospective monocentrique a été effectuée au sein du CHU de Rouen et du Centre de Lutte Contre le Cancer (CLCC) Henri Becquerel de Rouen. Elle inclue des patients porteurs de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, traités par cetuximab dans des centres oncologiques de Normandie en 2012. Des patients témoins constitués par le personnel soignant (médecins et infirmières) ne présentant aucune pathologie aigüe ou chronique ont été ajoutés à cette étude.

Une saisie informatique confidentielle a été réalisée afin de répertorier chaque renseignement significatif des patients ayant fait l'objet de cette étude :

- Identification du patient : nom, prénom, date de naissance.
- Données démographiques : âge, sexe.

3.2 Evaluation de la fonction des NK

3.2.1 Numération formule sanguine (NFS)

Analyse de la lymphocytose globale et de la lymphocytose natural killer par numération formule sanguine (NFS) standard. Prélèvement sanguin à jeûn des patients et des témoins sur vaisseau d'origine veineuse dans un tube contenant de l'EDTA (substance anti-coagulante). L'échantillon est ensuite analysé par automate du CHU de Rouen.

3.2.2 Répartition des sous-populations de NK par immunophénotypage CD45, CD3, CD56 et CD16.

Analyse quantitative et qualitative des natural killer par cytométrie en flux par un profil $CD3^-$, $CD16^+$ ou $CD56^+$ via l'utilisation des marqueurs suivants :
- CD3 (UCHT1, IgG1) – APC – Alexa Fluor 750
- CD16 (3G8, IgG1) – FITC
- CD56 (NKH-1, IgG1) – Phycoerythrine
- CD45 (J.33, IgG1) – Chrome Orange (Beckman Coulter, Miami, Floride).

Le marquage est effectué sur 100µl de sang. La lyse des hématies est faite sur l'automate TQ Prep (Beckman Coulter, Suisse) et les cellules sont ensuite analysées à l'intérieur de la population lymphocytaire identifiée selon la taille, la structure et l'expression de CD45-KrOr sur un cytomètre Navios (Beckman Coulter, Suisse) à l'aide du logiciel Navios Software et avec l'utilisation des contrôles isotopiques appropriés.

Au vu des éléments cités par Poli A. *et al* [49], les natural killer peuvent se subdiviser en deux groupes caractéristiques de leur cytotoxicité (*cf. 5.1.4*). Ainsi l'analyse qualitative des NK des patients et témoins sera focalisée sur la comparaison des marqueurs CD56. Les proportions des NK CD56+ doivent dépasser les 80% pour une meilleur cytotoxicité tandis que les NK CD56- ne doivent pas excéder 20%, au quel cas un dysfonctionnement qualitatif serait démontré.

4 Statistiques

Les statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel XLSTAT® 2014.4 (Addinsoft SARL, Paris, France).

Les variables quantitatives sont présentées sous la forme moyenne ± écart-type. Les comparaisons de moyennes ont fait appel au test non paramétrique de Mann-Whitney. Les variables qualitatives ont été comparées à l'aide du test non paramétrique exact de Fischer.

Les analyses de survie ont été réalisées selon les méthodes de Kaplan Meier et le test du log-rank.

Le seuil de significativité était atteint si $p<0.05$ (bilatéral).

RESULTATS

1 Polymorphismes FCGR2A et FCGR3A

1.1 Description clinique

1.1.1 Généralités

Une totalité de quatre-vingt un patients porteurs d'un carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures ont reçu du cetuximab entre septembre 2006 et janvier 2011, dans les CHU de Rouen et Caen ainsi qu'aux CLCC Henri Becquerel de Rouen et au CLCC François Baclesse de Caen. Trois patients sur 81 (3,7%) sont décédés durant l'étude, 7/81 patients (8,6%) ont présenté une réaction anaphylactique lors de l'introduction du traitement induisant son arrêt immédiat et ne permettant pas de le poursuivre, 6/81 patients (7,4%) ont été exclus car ayant bénéficié d'un traitement chirurgical local juste avant l'introduction du cetuximab, rendant la tumeur non mesurable, et ne permettant pas l'évaluation de la réponse tumorale selon les critères RECIST, 20/81 patients (24,7%) ont été exclus pour manque de TDM initial et/ou d'évaluation, afin de permettre la comparaison entre les situations avant et après le traitement, 13/81 patients (16,0%) n'ont pas pu être étudié pour manque du génotypage de leurs récepteurs FCGR2A et FCGR3A, et enfin 4/81 patients (4,9%) n'ont également pas pu être étudiés pour absence de donnés générales.

Au total, il s'agit d'une population d'étude qui se limite à 28 patients, répartis en 2 groupes :

1. $C_{xb}C$ (Curatif) + RT : patients porteurs de CE VADS localement avancé, recevant du cetuximab en association avec la radiothérapie externe (n=14)
2. $C_{xb}P$ (Palliatif) : patients porteurs de CE VADS récidivant et/ou métastatique incurable, recevant du cetuximab (n=14). On distingue 2 sous-groupes tels que :
    a. $C_{xb}P$ + CT/RT : association d'une chimiothérapie et/ou d'une radiothérapie (n=7)
    b. $C_{xb}P$ seul : le cetuximab est pris en monothérapie (n=7)

Il s'agissait de 24 hommes (85,7%) et de 4 femmes (14,3%) avec pour âge moyen 62,6 ± 10,9 ans. Aucune différence significative n'a pu être observée entre les deux groupes et les 2 sous-groupes.

	Age moyen (ans)	Proportion d'hommes (%)	Proportion de femme (%)
$C_{xb}C$ + RT	64,0 ± 9,2	71,4	28,6
$C_{xb}P$	61,1 ± 12,5	100	0
- $C_{xb}P$ seul	69,6 ± 9,3	100	0
- $C_{xb}P$ + CT/RT	52,7 ± 9,4	100	0
Totaux	**62,6 ± 10,9**	**85,7**	**14,3**

Tableau 6 – Caractéristiques démographiques. *Moyenne ± Ecart-type*

1.1.2 Caractéristiques tumorales

Les différentes localisations et stades des tumeurs se répartissent de la manière suivante :

- Cavité buccale : 7 cas (25,0%) classés stade IV ;
- Oropharynx : 14 cas (50,0%), dont 1 classé stade II, 1 stade III et 12 stade IV ;
- Hypopharynx : 3 cas (10,7%) classés stade IV ;
- Larynx : 2 cas (7,1%) classés stade IV ;
- Sinus paranasaux : 1 cas (3,6%) classé stade IV ;
- Adénopathies métastatiques prévalentes sans porte d'entrée : 3 cas (10,7%) classés stade IV.

Un patient du groupe $C_{xb}C$ + RT a présenté trois tumeurs synchrones, localisées à la cavité buccale, l'oropharynx et l'hypopharynx. La répartition pour les différents groupes de l'étude est reportée dans le tableau 7 :

(Effectifs)	Cavité buccale	Oropharynx	Hypopharynx	Larynx	Sinus paranasaux	TxN+
C_{xb}C+RT	Stade IV : 2	Stade II : 1 Stade III : 1 Stade IV : 7	Stade IV : 3		Stade IV : 1	Stade IV : 1
C_{xb}P	Stade IV : 5	Stade II : 1 Stade IV : 5		Stade IV : 2		Stade IV : 2
-C_{xb}P Seul	Stade IV : 3	Stade IV : 4				Stade IV : 1
-C_{xb}P+CT/RT	Stade IV : 2	Stade IV : 2		Stade IV : 2		Stade IV : 1
Totaux	7	15	3	2	1	3

Tableau 7 – Localisations tumorales et stades tumoraux.
Abbréviation : TxN+ : Adénopathie métastatique prévalente sans porte d'entrée

Dans le groupe C_{xb}C+RT, 3 patients aux antécédents de CE VADS, considérés guéris à plus de 5 ans de la fin du traitement de la tumeur initiale, ont été pris en charge pour une deuxième localisation tumorale, découverte au cours du suivi systématique.

Concernant le groupe C_{xb}P, l'introduction du cetuximab s'est justifiée par des poursuites évolutives loco-régionales au cours de la radiothérapie +/- chimiothérapie concomitante initiale, ou par la présence de métastases. L'extension métastasique se situant au niveau pulmonaire (6 cas), osseux (2 cas), cérébral (1 cas), hépatique (2 cas), médiastinal (1 cas) ainsi qu'au niveau ganglionnaire axillaire (1 cas).

D'un point de vue histologique, les carcinomes épidermoïdes observés étaient majoritairement bien différenciés (35,7%), mais aussi moyennement différenciés (10,7%), peu différenciés (17,8%), ainsi que 2 cas indifférenciés (7,1%). En revanche dans 28,6% la différenciation histologique n'était pas renseignée.

1.1.3 Caractéristiques cliniques de la population d'étude

1.1.3.1 Etat général

Avant l'introduction du cetuximab, les patients ont été évalués sur leur indice de performance (échelle OMS) suivant la répartition suivante :

- Grade 0 : 10,7% (capable d'une activité identique à celle précédant la maladie, sans aucune restriction) ;
- Grade 1 : 57,1% (activité physique diminuée mais ambulatoire, permettant le travail) ;

- Grade 2 : 25,0% (ambulatoire et capable de prendre soin de soi, incapable de travailler. Alité < 50% de son temps) ;
- Grade 3 : 0% (capable de seulement quelques soins personnels. Alité ou en chaise > 50% du temps) ;
- Grade 4 : 0% (incapable de prendre soin de lui-même, alité ou en chaise en permanence) ;
- Non renseignés : 7,1%.

Aucune différence significative n'a été démontrée entre les deux groupes $C_{xb}C$ + RT et $C_{xb}P$. Les moyennes des grades étaient respectivement 1,14 et 1,17.

De plus, l'amaigrissement des patients par rapport à leur poids de forme, avant l'introduction du traitement par cetuximab était en moyenne de 6,8 ± 5,8 kg avec une différence notoire entre les groupes puisque l'on retrouve une moyenne de 4,5 ± 3,3 kg dans le groupe $C_{xb}C$ + RT et de 9,8 ± 7,0 kg dans le groupe $C_{xb}P$. Cette perte de poids représentait plus de 10% du poids de forme dans 10 cas soit 35,7%.

1.1.3.2 Intoxication alcoolo-tabagique et comorbidités

Les intoxications alcooliques et tabagiques représentaient respectivement 50,0% et 78,6% des patients.

	Alcool (%)	Tabac (%)
$C_{xb}C$ + RT	42,3	78,6
$C_{xb}P$	57,1	78,6
- $C_{xb}P$ seul	57,1	71,4
- $C_{xb}P$ + CT/RT	57,1	85,7
Totaux	**50,0**	**78,6**

Tableau 8 – Intoxications alcoolo-tabagique.

Le groupe $C_{xb}C$ + RT rencontre une grande majorité de comorbidités cardio-vasculaires médicales avec notamment 3 cas d'insuffisances rénales dont un greffé rénal, 3 cas d'artériopathies oblitérantes des membres inférieurs, 2 cas d'accidents ischémiques

transitoires, 1 cas d'accident vasculaire cérébral, 1 cas d'infarctus du myocarde, 1 cas d'arythmie cardiaque par fibrillation auriculaire et 1 cas d'hémochromatose. Le taux de patients présentant une hypertension artérielle est de 50,0%.

Dans le groupe $C_{xb}P$, on rencontre pour seule comorbidité, un cas d'épilepsie. Le taux de patients présentant une hypertension artérielle est de 28,6%.

1.1.4 Traitement par cetuximab

1.1.4.1 Schémas thérapeutiques

Deux protocoles équivalents d'administration du cetuximab ont été utilisés :

a. Traitement hebdomadaire classique : une perfusion d'induction à la dose de 400 mg/m^2, suivie d'une perfusion hebdomadaire d'entretien de 250mg/m^2.

   Groupe $C_{xb}C$ + RT : ce protocole a été appliqué à l'ensemble des patients, la dose d'induction étant administrée une semaine avant le début de la radiothérapie. Néanmoins, deux cas restent atypiques avec un premier cas qui n'a pas reçu de dose d'induction car la radiothérapie ayant été débutée avant l'administration du cetuximab, et un deuxième cas ayant reçu deux doses d'induction de 400 mg/m^2. Les perfusions d'entretien devaient, si possible, être maintenues pendant toute la durée de la radiothérapie.

   Groupe $C_{xb}P$: ce protocole a été suivi pour 10 patients sur un total de 14. En l'absence d'événement évolutif tumoral secondaire, si l'état général du patient le permettait, le traitement d'entretien était poursuivi.

b. Traitement bi-hebdomadaire : une perfusion d'induction à la dose de 400 mg/m^2, suivie d'une perfusion d'entretien de 500 mg/m^2 toute les deux semaines, jusqu'à la progression tumorale, si possible.

   Groupe $C_{xb}C$ + RT : Aucun patient n'a suivi ce protocole bi-hebdomadaire.

   Groupe $C_{xb}P$: Ce protocole a été appliqué à 4 patients faisant tous parti du sous-groupe $C_{xb}P$ seul.

1.1.4.2 Déroulement du traitement dans le groupe $C_{xb}C$ + RT

L'ensemble des patients a été traité par du cetuximab concomitant à une radiothérapie, mais dans un seul cas nous avons un traitement additionnel au 5-fluoro-uracile-carboplatine.

Les patients ont reçu 6,5 ± 1,6 cures de cetuximab, correspondant à une dose moyenne de 1 793 ± 419 mg/m^2, soit un total de 3 197 ± 986 mg par patient. Le traitement par cetuximab a dû être interrompu pendant au moins une semaine au cours de la radiothérapie dans 2 cas, et suspendu dans 2 autres cas, compte-tenu de la potentialisation des toxicités de la radiothérapie.

Ainsi, une mucite de grade II ou III a pu être observée dans 42,9% des cas, ayant justifié l'arrêt du traitement dans 2 cas, seulement après 4 perfusions hebdomadaires.
Un rash acnéïforme a été noté dans 10 cas soit 71,4%, répartis en 6 cas de réaction cutané de grade 1 (acné infra-clinique), 3 cas de grade 2 (acné à comédons), 1 cas de grade 3 (acné légère), aucun cas de grade 4 (acné modéré), aucun cas de grade 5 (acné nodulaire sévère) et aucun cas également de garde 6 (acné kystique ou nodulokystique sévère). Les localisations de ces rashs cutanés sont réparties entre le visage, le cou, le dos ou bien même le thorax mais n'ont jamais pu justifier l'arrêt du traitement par l'anti-EGFR.

A l'issus des 6,4 ± 1,8 semaines de traitement, 50,0% des patients avaient un indice de performance OMS de grade 1, 42,9% avaient un grade 2 et il manque les données pour 1 cas. Une légère dégradation a donc pu être observée avec un grade moyen de 1,46 contre 1,14 en début de traitement. En revanche, l'amaigrissement de la population étudiée a été réduit à 3,1 ± 3,5 kg contre 4,5 ± 3,3 kg à l'initiative.

1.1.4.3 Déroulement du traitement dans le groupe $C_{xb}P$

Les patients ont donc été répartis en deux sous-groupes avec d'un côté les traitements par cetuximab seul (50,0%), et de l'autre les traitements par cetuximab accompagné d'une radiothérapie et/ou d'une autre chimiothérapie (50,0%) réparti comme tel : 3 cas de cisplatine-5-fluoro-uracile (CDDP5FU), 1 cas de carboplatine-5-fluoro-uracile (CBDCA5FU), 1 cas de taxol seul (TAX), 1 cas de cisplatine-5-fluoro-uracile + taxol + radiothérapie (CDDP5FU + TAX + RT) et 1 cas de cisplatine-5-fluoro-uracile + radiothérapie (CDDP5FU + RT).

Les patients ont reçu en moyenne 8,2 ± 3,0 cures de cetuximab soulevant une différence entre le sous-groupe $C_{xb}P$ seul avec 6,7 ± 2,3 cures et le sous-groupe $C_{xb}P$ + CT/RT avec 9,7 ± 2,9 cures. Ceci correspondant aux doses moyennes de 2 650 ± 1 010 mg/m² soit un total de 4 563 ± 1 676 mg par patient, sans différence significative entre les deux sous-groupes.

En ce qui concerne les effets secondaires observés, nous avons pu noter des mucites de grade II ou III concernant 21,4% des patients.

Un rash acnéïforme a été mentionné dans 7 cas soit 50,0%, répartis en 5 cas de réaction cutané de grade 1, 2 cas de grade 2, et aucun cas des grades supérieurs. Les localisations de ces rashs cutanés sont réparties entre le visage, le cou, le thorax ou même le dos.

A l'issu des 12,4 ± 6,3 semaines de traitement, 14,3% des patients avaient un indice de performance OMS de grade 1, 42,9% avaient un grade 2, 14,3% avaient un garde 3 et il manque les données pour 3 cas. Une légère dégradation a ainsi été notée avec un grade OMS moyen de 1,45 contre 1,17 en début de traitement.

	Performance OMS (avant)	Nombre de cures (moy.)	Dose en mg/m² (moy.)	Mucite (%)	Réaction cutanée (%)	Performance OMS (après)
$C_{xb}C$ + RT	1,14	6,5	1 793	42,9	71,4	1,46
$C_{xb}P$	1,17	8,2	2 650	21,4	50,0	1,45
C_{xb} P seul	1,50	6,7	2 686	0	42,9	1,60
C_{xb} P + CT+RT	0,83	9,7	2 614	42,9	57,1	1,33
Total	**1,15**	**7,4**	**2 221**	**32,1**	**60,7**	**1,46**

Tableau 9 – Récapitulatifs des caractéristiques de traitement dans les différents groupes et sous-groupes.
Abréviations : avant/après – avant et après traitement par cetuximab,
moy – moyenne observée, % - pourcentage

1.2 Evaluation du traitement

La date de début de traitement par cetuximab a été prise pour référence.

Les délais moyens entre le début de traitement par l'anti-EGFR et la réalisation des TDM initiales et d'évaluations sont reportés dans le tableau 10, ainsi que la durée du traitement et le temps moyen entre la fin de traitement et la TDM d'évaluation. Les délais

« TDM initiale – début du traitement » et « fin du traitement – TDM d'évaluation » devant être les plus courts possibles.

	Délai entre la TDM initiale et le début du traitement	Durée du traitement	Délai entre le début de traitement et la TDM d'évaluation	Délai entre la fin du traitement et la TDM d'évaluation
$C_{xb}C$ + RT	52,6 ± 33,3	45,1 ± 12,5	123,1 ± 62,9	78,0 ± 63,5
$C_{xb}P$	48,7 ± 38,5	87,1 ± 43,9	99,3 ± 53,9	12,1 ± 35,3
$C_{xb}P$ seul	36,6 ± 37,8	67,3 ± 39,2	67,3 ± 35,2	0,0 ± 18,5
$C_{xb}P$ + CT/RT	60,9 ± 37,9	107,0 ± 41,5	131,3 ± 51,7	24,3 ± 44,
Total	**50,7 ± 35,4**	**66,1 ± 38,2**	**111,2 ± 58,8**	**45,1 ± 60,5**

Tableau 10 – Délais moyens entres les TDM initiales et d'évaluation par rapport aux débuts et fins des traitements par cetuximab ainsi que les durées de traitements.
Moyenne ± écart-type ; Moyennes exprimées en jours

Dans le groupe $C_{xb}P$, on peut noter 4 cas de TDM d'évaluation ayant été effectuées avant la fin du traitement. Néanmoins, leurs durées de traitements avant la TDM d'évaluation restent concordantes avec les autres patients soit 74 jours de traitement en moyenne.

1.2.1 Groupe $C_{xb}C$ + RT

1.2.1.1 Réponse tumorale selon les critères RECIST

Concernant les lésions cibles, la réponse tumorale face au traitement par du cetuximab se caractérise de la façon suivante :

- Réponse complète (RC) dans 4 cas, soit 28,6% ;
- Réponse partielle (RP) dans 2 cas, soit 14,3% ;
- Stabilisation (SD) dans 7 cas, soit 50,0% ;
- Progression (PD) dans 1 cas, soit 7,1%.

En revanche, en considérant les lésions non-cibles et les nouvelles lésions apparues durant le traitement (mises en évidence lors de la TDM d'évaluation), la réponse tumorale globale selon les critères RECIST se caractérise de la façon suivante :

- Réponse complète (RC) dans 3 cas, soit 21,4% ;
- Réponse partielle (RP) dans 2 cas, soit 14,3% ;

- Stabilisation (SD) dans 2 cas, soit 14,3% ;
- Progression (PD) dans 7 cas, soit 50,0%.

Les taux de réponse globale (RC + RP) et de contrôle de la maladie (RC + RP + SD) sont donc respectivement de 35,7% et 50,0%.

1.2.1.2 Survie et éléments du suivi

Au 1er août 2011, 57,1% des patients étaient décédés, et la médiane de survie globale était de 438 jours après le début du traitement par cetuximab.

Les éléments constatés au cours du suivi ont été 4 cas de poursuite évolutive, 1 récidive locale, 1 récidive ganglionnaire régionale et 5 cas de dissémination métastatiques. Nous avons également noté la survenue d'une deuxième localisation tumorale chez 4 patients. La médiane de survie sans événement tumoral était donc de 205 jours.

1.2.2 Groupe $C_{xb}P$

1.2.2.1 Réponse tumorale selon les critères RECIST

Ont été constatés :

Concernant les lésions cibles, la réponse tumorale face au traitement par du cetuximab se caractérise de la façon suivante :

- Réponse complète (RC) dans aucun cas ;
- Réponse partielle (RP) dans 3 cas, soit 21,4% ;
- Stabilisation (SD) dans 6 cas, soit 42,9% ;
- Progression (PD) dans 5 cas, soit 35,7%.

En revanche, en considérant les lésions non-cibles et les nouvelles lésions apparues durant le traitement (mises en évidence lors de la TDM d'évaluation), la réponse tumorale globale selon les critères RECIST se caractérise de la façon suivante :

- Réponse complète (RC) dans aucun cas ;

- Réponse partielle (RP) dans aucun cas ;
- Stabilisation (SD) dans 5 cas, soit 35,7% ;
- Progression (PD) dans 9 cas, soit 64,3%.

Les taux de réponse globale (RC + RP) et de contrôle de la maladie (RC + RP + SD) étaient donc respectivement de 0,0% et 35,7%.

1.2.2.2 Survie et éléments de suivi

Au 1er août 2011, 85,7% des patients étaient décédés, et la médiane de survie globale était de 158 jours après le début du traitement par cetuximab.

Les éléments constatés au cours du suivi ont été 9 cas de poursuites évolutives, aucune récidive locale, 4 récidives ganglionnaires régionales et 6 cas de disséminations métastatiques. En revanche nous n'avons noté aucune survenue d'une deuxième localisation tumorale chez les patients. La médiane de survie sans événement tumoral était donc de 90 jours.

Les différenciations entre les sous-groupes $C_{xb}P$ seul et $C_{xb}P$ + CT/RT sont noté dans le tableau 11 ci-dessous.

	Poursuite évolutive (n)	**Récidive locale** (n)	**Récidive ganglionnaire régionale** (n)	**Dissémination métastatique** (n)	**Deuxième localisation** (n)	**Décès** (%)	**Survie sans évènement** (jours)	**Survie globale** (jours)
$C_{xb}P$ seul	4	0	1	2	0	85,7	76	78
$C_{xb}P$+CT/RT	5	0	3	4	0	85,7	212	255
Totaux	**9**	**0**	**4**	**6**	**0**	**85,7**	**90**	**158**

Tableau 11 – Survie et éléments de suivi des sous-groupes $C_{xb}P$ seul et $C_{xb}P$+CT/RT
Abréviations : n – effectif ; % - pourcentage

Au vu des effectifs de chacun des groupes, aucune association entre les réponses tumorales et les éléments de suivi n'ont pu être mis en évidence. De même, aucun des facteurs étudiés précédemment (toxicité, état général, comorbidité, …) n'a pu être identifié comme un facteur prédictif d'une bonne réponse au traitement par Cetuximab. En revanche on peut d'ores et déjà voir une différence notable sur la survie des patients (survie globale et sans évènements tumoral) entre les deux sous-groupes, le Cetuximab en association avec

chimiothérapie et/ou radiothérapie semble avoir un meilleur impact que lorsqu'il est utilisé seul.

1.3 Polymorphisme génétique

1.3.1 Généralités

Les génotypes des gènes FCGR2A et FCGR3A ont pu être déterminés pour 57 et 55 patients respectivement, tous atteint de carcinome épidermoïde des VADS, afin de constituer les proportions de la population générale malade. Les résultats sont reportés dans le tableau 12.

Pour rappel :

- Allèle FCGR2A-131R (Nucléotide C) : le récepteur contient une arginine (R).
- Variant FCGR2A-131H (Nucléotide T) : la protéine contient une histidine (H).
- Allèle FCGR3A-158F (Nucléotide A) : le récepteur contient une phénylalanine (F)
- Variant FCGR3A-158V (Nucléotide C) : La protéine contient une valine (V)

	Génotype FCGR2A					Génotype FCGR3A				
	RR (n)	**RH** (n)	**HH** (n)	**p(R)**	**p(H)**	**FF** (n)	**FV** (n)	**VV** (n)	**p(F)**	**p(V)**
Population générale	13	29	15	0,44	0,56	28	21	6	0,64	0,36
%	22,8	50,9	26,3			50,9	38,2	10,9		

Tableau 12 – Résultats du polymorphisme génétique de la population générale.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V.

L'ensemble des génotypes du gène FCGR2A a pu être déterminé sur la population incluse au sein de l'étude (n=28), en revanche deux génotypes du gène FCGR3A n'ont pas pu être déterminés (soit n=26) suite à un défaut d'amplification.

	Génotype FCGR2A					Génotype FCGR3A				
	RR (n)	RH (n)	HH (n)	p(R)	p(H)	FF (n)	FV (n)	VV (n)	p(F)	p(V)
C_{xb}C+RT	3	10	1	0,49	0,51	5	7	2	0,53	0,47
C_{xb}P	3	7	4	0,43	0,57	9	3	0	0,78	0,22
C_{xb}P seul	1	5	1	0,40	0,60	4	3	0	0,67	0,33
C_{xb}P+CT/RT	2	2	3	0,46	0,54	5	0	0	0,95	0,05
Totaux	**6**	**17**	**5**	**0,46**	**0,54**	**14**	**10**	**2**	**0,65**	**0,35**
%	**21,4**	**60,7**	**17,9**			**53,8**	**38,5**	**7,7**		

Tableau 13 – Résultats du polymorphisme génétique de la population d'étude.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V.

Les fréquences observées des différents allèles dans la population d'étude n'étaient pas significativement différentes de celles de la population générale, au risque α de 5%. En effet, les intervalles de pari des proportions observées des allèles FCGR2A-131H (n=57) et FCGR3A-158V (n=55) sont :

- $IP_{95\%}\, p_o$(FCGR2A-131H) = 0,56 ± 0,09 = [0,47 – 0,65] (0,54 ∈ $IP_{95\%}$)
- $IP_{95\%}\, p_o$(FCGR3A-158V) = 0,36 ± 0,09 = [0,27 – 0,45] (0,35 ∈ $IP_{95\%}$)

Si l'on prend séparément les différents sous-groupes, on peut noter que les fréquences de FCGR2A-131H appartiennent toutes à l'intervalle de pari au risque α de 5%, en revanche les fréquences de FCGR3A-158V des sous-groupes C_{xb}C+RT, C_{xb}P et C_{xb}P+CT/RT n'appartiennent pas à l'intervalle de pari correspondant, seul la fréquence du sous-groupe C_{xb}P seul appartient à l'intervalle de pari au risque α de 5% (tableau 14).

	Génotype FCGR2A $IP_{95\%}$ p_o(FCGR2A-131H) = [0,47 – 0,65]	Génotype FCGR3A $IP_{95\%}$ p_o(FCGR3A-158V) = [0,27 – 0,45]
C_{xb}C+RT	0,51 ∈ $IP_{95\%}$	0,47 ∉ $IP_{95\%}$
C_{xb}P	0,57 ∈ $IP_{95\%}$	0,22 ∉ $IP_{95\%}$
C_{xb}P seul	0,60 ∈ $IP_{95\%}$	0,33 ∈ $IP_{95\%}$
C_{xb}P+CT/RT	0,54 ∈ $IP_{95\%}$	0,05 ∉ $IP_{95\%}$
Totaux	**0,54 ∈ $IP_{95\%}$**	**0,35 ∈ $IP_{95\%}$**

Tableau 14 – Fréquences de FCGR2A-131H et FCGR3A-158V des différents sous-groupes et intervalles de pari au risque α de 5%.

La distribution des allèles de FCGR3A au sein de la population d'étude est significativement différente par rapport à la population générale.

1.3.2 Statistiques

Outils pour estimer l'efficacité des éventuels biomarqueurs :

VP : Vrai positif
VN : Vrai négatif
FP : Faux positif
FN : Faux négatif

- Sensibilité : probabilité que le patient présente un génotype donné, s'il est bon répondeur au traitement. La sensibilité doit être supérieure à 95% pour être significative.
  Se = VP/(VP+FN)

- Spécificité : probabilité que le patient ne présente pas ce même génotype donné, s'il est non-répondeur au traitement. La spécificité doit être supérieure à 95% pour être significative.
  Sp = VN/(VN+FP)

- Rapport de Vraisemblance Positive : mesure de la vraisemblance d'avoir un génotype donné, si on est bon répondeur. Le RVP varie entre 0 et l'infini, mais un RVP entre 1 et 10 témoigne d'une efficacité mineure du biomarqueur, tandis qu'un RVP > 10 témoigne d'une efficacité importante d'un biomarqueur.
  RVP = Se/(1-Sp)

- Valeur Prédictive Positive : probabilité que le patient soit bon répondeur, s'il présente un génotype donné. La VPP doit être supérieure à 95% pour être significative.
  VPP = VP/(VP+FP)

- Valeur Prédictive Négative : probabilité que le patient soit non répondeur, s'il ne présente pas le génotype donné. La VPN doit être supérieure à 95% pour être significative.
  VPN = VN/(VN+FN)

- Indice de Youden : Force du test. L'indice varie entre 0 et 1, mais si $J \leq 0$ alors le test n'a aucune valeur informationnelle, en revanche la force du test est accrue lorsque J se rapproche de 1, avec une significativité avéré quand $J > 0.9$.
  J = Se+Sp-1

Afin d'évaluer la puissance d'un biomarqueur prédictif de bonne réponse, notre attention se portera sur les sensibilités, valeurs prédictives positives, rapports de vraisemblances positives ainsi que des indices de Youden.

1.3.3 Relation entre le polymorphisme génétique et les évaluations cliniques

1.3.3.1 Effectif total de l'étude (n=28)

A. Contrôle de la maladie

Une seule association significative (Sensibilité > 95%) a été mise en évidence entre le polymorphisme du gène FCGR3A, et le contrôle de la maladie. En revanche, aucune association significative (Sensibilité ≥ 95% et Valeur Prédictive Positive ≥ 95%, Rapport de Vraisemblance Positive ≥ 10 ou bien indice de Youden ≥ 0.90) n'a été mise en évidence pour le gène FCGR2A. L'ensemble des résultats est compilé sans les tableaux 15 et 16.

A1. Lésions cibles

Lésions cibles	FCGR2A				FCGR3A			
	RR+RH (n)	HH (n)	p(R)	p(H)	VV (n)	FF+FV (n)	p(V)	p(F)
PD	4 FP	2 VN	0,3	0,7	1 VN	5 FP	0,3	0,7
RC+RP+SD	19 VP	3 FN	0,5	0,5	1 FN	19 VP	0,4	0,6
Total	**23**	**5**	**0,5**	**0,5**	**2**	**24**	**0,4**	**0,6**

Tableau 15 – Etude globale : Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions cibles.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V ; VN – Vrai Négatif ; FP – Faux Positif ; FN – Faux Négatif ; VP – Vrai Positif

Les génotypes FCGR2A RR+RH semblent apporter un contrôle des lésions cibles de la maladie lorsqu'elle est traitée par cetuximab, sans pour autant avoir des probabilités significatives :

- Se = VP/(VP+FN) = 19/22 = 86% (Se<95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 2/6 = 33% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 0.86/(1-0.33) = 1.28 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 19/23 = 83% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 0.86+0.33-1 = 0.19 (J<0.9)

Les génotypes FCGR3A FF+FV semblent eux-aussi donner un meilleur contrôle des lésions cibles de la maladie traitée par cetuximab, mais cette fois-ci avec une sensibilité significative, montrant une chance de 95% d'être bon répondeur avec un génotype FF ou FV :

- Se = VP/(VP+FN) = 19/20 = 95% (Se=95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 1/6 = 17% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 0.95/(1-0.17) = 1.14 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 19/24 = 79% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 0.86+0.33-1 = 0.12 (J<0.9)

A2. Réponses globales

Réponses globales	FCGR2A				FCGR3A			
	RR+RH (n)	HH (n)	p(R)	p(H)	VV (n)	FF+FV (n)	p(V)	p(F)
PD	14 FP	2 VN	0,5	0,5	2 VN	14 FP	0,3	0,7
RC+RP+SD	9 VP	3 FN	0,4	0,6	0 FN	10 VP	0,4	0,6
Total	**23**	**5**	**0,5**	**0,5**	**2**	**24**	**0,4**	**0,6**

Tableau 16 – Etude globale : Polymorphisme et contrôle de la maladie : réponses globales.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V ; VN – Vrai Négatif ; FP – Faux Positif ; FN – Faux Négatif ; VP – Vrai Positif

Les génotypes FCGR2A RR+RH ne semblent pas apporter un meilleur contrôle global de la maladie lorsqu'elle est traitée par Cetuximab, car ces génotypes se rencontrent majoritairement avec une progression de la maladie :

- Se = VP/(VP+FN) = 9/12 = 75% (Se<95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 2/16 = 13% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 0.75/(1-0.13) = 0.86 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 9/23 = 39% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 0.75+0.13-1 = -0.12 (J<0.9)

Les génotypes FCGR3A FF+FV ne semblent pas non plus donner un meilleur contrôle global de la maladie traitée par cetuximab, avec également une majorité de progression tumorale :

- Se = VP/(VP+FN) = 10/10 = 100% (Se>95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 2/16 = 13% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 1.00/(1-0.13) = 1.15 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 10/24 = 42% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 1.00+0.13-1 = 0.13 (J<0.9)

B. Survies

Nous ne pouvons observer aucun lien significatif entre le polymorphisme FCGR2A et la survie, qu'elle soit globale ou sans évènement (p=0,153 et p=0,479 – test du log rank) (Figure 23).

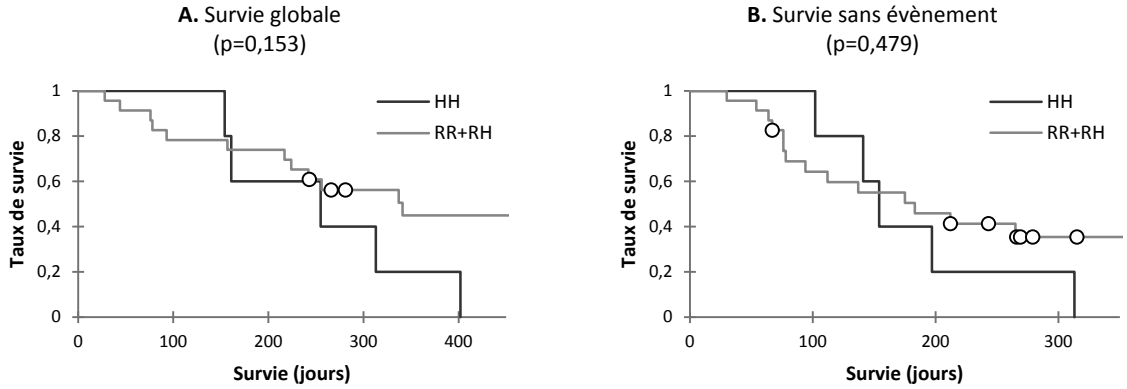


Figure 23 – Etude globale : Relation entre la survie et le génotype FCGR2A (n=28 patients)
*Courbes de survie globale (**A**) et de survie sans évènement (**B**)*
selon la méthode de Kaplan-Meier et du test du log-rank.

En revanche nous pouvons observer un lien significatif (p=0,036 – test du log rank) entre le polymorphisme FCGR3A-158F et la survie sans événement tumoral. En effet, le fait d'être homozygote FF ou hétérozygote VF semble améliorer la survie sans événement (Figures 24).

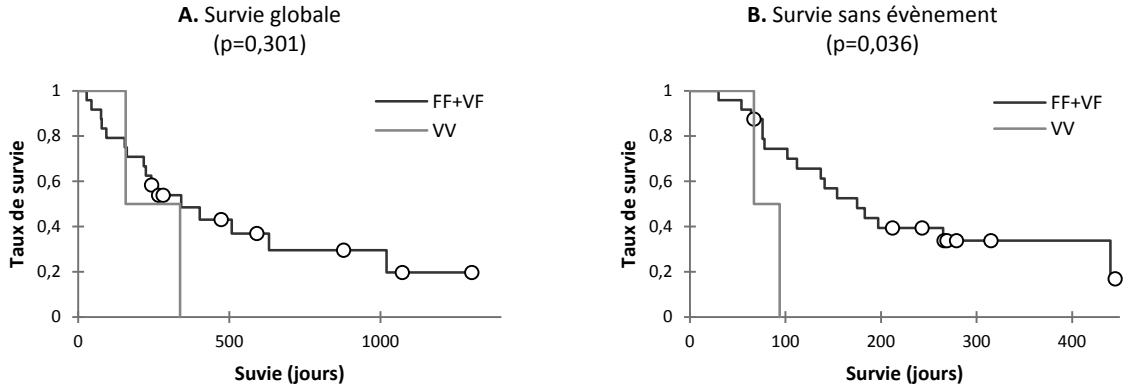


Figure 24 – Etude globale : Relation entre la survie et le génotype FCGR3A (n=26 patients)
*Courbes de survie globale (**A**) et de survie sans évènement (**B**)*
selon la méthode de Kaplan-Meier et du test du log-rank.
La présence d'un allèle FCGR3A-158F est associée à une meilleure survie sans évènement.

1.3.3.2 Groupe $C_{xb}C$+RT (n=14)

A. Contrôle de la maladie

Dans ce groupe, l'objectif était la réponse complète ou bien la réponse partielle.

Une seule association significative (Sensibilité > 95%) a été mise en évidence entre le polymorphisme du gène FCGR3A, et le contrôle de la maladie. En revanche, aucune association significative (Sensibilité ≥ 95% et Valeur Prédictive Positive ≥ 95%, Rapport de Vraisemblance Positive ≥ 10 ou bien indice de Youden ≥ 0.90) n'a été mise en évidence pour le gène FCGR2A. L'ensemble des résultats est compilé sans les tableaux 17 et 18.

A2. Lésions cibles

Lésions cibles	FCGR2A				FCGR3A			
	RR+RH (n)	HH (n)	p(R)	p(H)	VV (n)	FF+FV (n)	p(V)	p(F)
PD+SD	8 FP	0 VN	0,6	0,4	2 VN	6 FP	0,6	0,4
RC+RP	5 VP	1 FN	0,3	0,7	0 FN	6 VP	0,3	0,7
Total	**13**	**1**	**0,5**	**0,5**	**2**	**12**	**0,5**	**0,5**

Tableau 17 – $C_{xb}C$+RT : Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions cibles.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V ; VN – Vrai Négatif ; FP – Faux Positif ; FN – Faux Négatif ; VP – Vrai Positif

Les génotypes FCGR2A RR+RH ne semblent pas apporter un meilleur contrôle des lésions cibles de la maladie lorsqu'elle est traitée par Cetuximab, car ces génotypes se voient majoritairement avec une progression de la maladie ou bien une stabilisation :

- Se = VP/(VP+FN) = 5/6 = 83% (Se<95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 0/1 = 0% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 0.83/(1-0.00) = 0.83 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 5/13 = 38% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 0.83+0.00-1 = -0.17 (J<0.9)

Les génotypes FCGR3A FF+FV ne semblent pas non plus donner un meilleur contrôle des lésions cibles de la maladie traitée par cetuximab, avec autant de réponses (complètes ou

partielles) que de non réponses (progression et stabilisation tumorale). Malgré cela, nous obtenons une sensibilité significative de 100% avec ce génotype :

- Se = VP/(VP+FN) = 6/6 = 100% (Se>95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 2/8 = 25% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 1.00/(1-0.25) = 1.33 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 6/12 = 50% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 1.00+0.25-1 = 0.25 (J<0.9)

A2. Réponses globales

Réponses globales	FCGR2A				FCGR3A			
	RR+RH (n)	HH (n)	p(R)	p(H)	VV (n)	FF+FV (n)	p(V)	p(F)
PD+SD	9 FP	0 VN	0,6	0,4	2 VN	7 FP	0,6	0,4
RC+RP	4 VP	1 FN	0,7	0,3	0 FN	5 VP	0,3	0,7
Total	**13**	**1**	**0,5**	**0,5**	**2**	**12**	**0,5**	**0,5**

Tableau 18 – C_{xb}C+RT : Polymorphisme et contrôle de la maladie : réponses globales.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V ; VN – Vrai Négatif ; FP – Faux Positif ; FN – Faux Négatif ; VP – Vrai Positif

Les génotypes FCGR2A RR+RH ne semblent pas apporter un meilleur contrôle global de la maladie lorsqu'elle est traitée par Cetuximab, car ces génotypes se voient majoritairement avec une progression de leur maladie ou bien une stabilisation :

- Se = VP/(VP+FN) = 4/5 = 80% (Se<95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 0/9 = 0% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 0.80/(1-0.00) = 0.80 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 4/13 = 31% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 0.80+0.00-1 = -0.20 (J<0.9)

Les génotypes FCGR3A FF+FV ne semblent pas non plus donner un meilleur contrôle des lésions cibles de la maladie traitée par cetuximab, avec autant de réponses (complètes ou partielles) que de non réponses (progression et stabilisation tumorale). Malgré cela, nous obtenons une sensibilité significative de 100% avec ce génotype

- Se = VP/(VP+FN) = 5/5 = 100% (Se>95%)

- Sp = VN/(VN+FP) = 2/9 = 22% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 1.00/(1-0.22) = 1.28 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 5/12 = 42% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 1.00+0.25-1 = 0.22 (J<0.9)

B. Survies

Nous ne pouvons observer aucun lien significatif entre le polymorphisme FCGR2A et la survie, qu'elle soit globale ou sans évènement (p=0,546 et p=0,658 – test du log rank) (Figure 25).

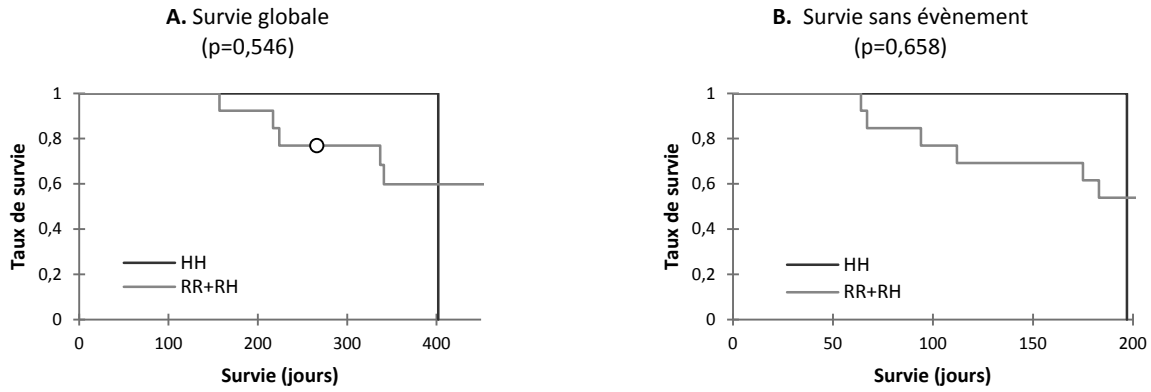


Figure 25 – C_{xb}C+RT : Relation entre la survie et le génotype FCGR2A (n=14 patients)
*Courbes de survie globale (**A**) et de survie sans évènement (**B**)*
selon la méthode de Kaplan-Meier et du test du log-rank.

En revanche nous pouvons observer un lien significatif (p=0,008 et p=0,005 – test du log rank) entre le polymorphisme FCGR3A-158F et la survie, que ce soit globale ou sans évènement. En effet, le fait d'être homozygote FF ou hétérozygote VF semble améliorer la survie (Figures 26).

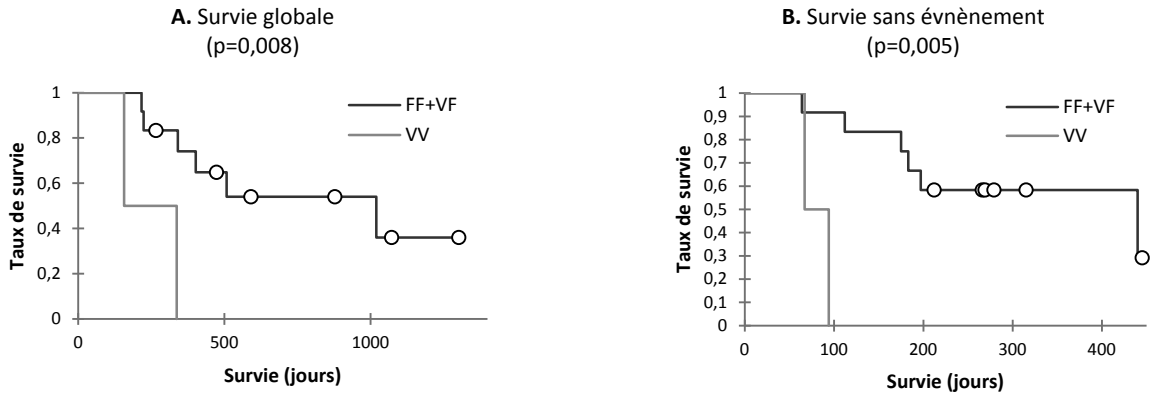


Figure 26 – C_{xb}C+RT : Relation entre la survie et le génotype FCGR3A (n=14 patients)
*Courbes de survie globale (**A**) et de survie sans évènement (**B**)*
selon la méthode de Kaplan-Meier et du test du log-rank.

1.3.3.4 Groupe C_{xb}P (n=14)

A. Contrôle de la maladie

Dans ce groupe, l'objectif était le contrôle de la maladie, soit Réponse Complète (RC) ou Réponse Partielle (RP) ou bien Stabilité (SD).

Aucun patient ne présentait le génotype FCGR3A-VV dans ce groupe.
Aucune association significative (Spécificité et Valeur Prédictive Positive supérieur à 95%, Rapport de Vraisemblance positive supérieure à 10 ou bien indice de Youden supérieur à 0.90) n'a été mise en évidence entre les polymorphismes des gènes FGCR2A et FCGR3A et le contrôle des lésions cibles ainsi que la maladie globale. L'ensemble des résultats est exprimé dans les tableaux 19 et 20.

A1. Lésions cibles

Lésions cibles	FCGR2A				FCGR3A			
	RR+RH (n)	HH (n)	p(R)	p(H)	VV (n)	FF+FV (n)	p(V)	p(F)
PD	3 FP	2 VN	0,4	0,6	0 VN	5 FP	0,1	0,9
RC+RP+SD	7 VP	2 FN	0,3	0,7	0 FN	7 VP	0,0	1,0
Total	**10**	**4**	**0,5**	**0,5**	**0**	**12**	**0,4**	**0,6**

Tableau 19 – $C_{xb}P$: Polymorphisme et contrôle de la maladie : lésions cibles.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V ; VN – Vrai Négatif ; FP – Faux Positif ; FN – Faux Négatif ; VP – Vrai Positif

Les probabilités, non significatives, que le génotype FCGR2A-128R donne un meilleur contrôle des lésions cibles de la maladie lorsqu'elle est traitée par Cetuximab sont:

- Se = VP/(VP+FN) = 7/9 = 78% (Se<95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 2/5 = 40% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 0.78/(1-0.40) = 1.30 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 7/10 = 70% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 0.78+0.40-1 = 0.18 (J<0.9)

En ce qui concerne les génotypes FCGR3A, les données ne sont pas exploitables par manque de patients génotypés homozygotes VV.

A2. Réponses globales

Réponses globales	FCGR2A				FCGR3A			
	RR+RH (n)	HH (n)	p(R)	p(H)	VV (n)	FF+FV (n)	p(V)	p(F)
PD	7 FP	2 VN	0,4	0,6	0 VN	9 FP	0,1	0,9
RC+RP+SD	3 VP	2 FN	0,5	0,5	0 FN	3 VP	0,5	0,5
Total	**10**	**4**	**0,4**	**0,6**	**0**	**12**	**0,2**	**0,8**

Tableau 20 – $C_{xb}P$: Polymorphisme et contrôle de la maladie : réponses globales.
Abréviation : n – effectif observé ; p(R), p(H), p(F), p(V) – proportions observées respectives des allèles FCGR2A-131R, FCGR2A-131H, FCGR3A-158F, FCGR3A-158V ; VN – Vrai Négatif ; FP – Faux Positif ; FN – Faux Négatif ; VP – Vrai Positif

Les génotypes FCGR2A RR+RH ne semblent pas apporter un meilleur contrôle global de la maladie lorsqu'elle est traitée par Cetuximab, car ces génotypes s'observent majoritairement avec une progression de leur maladie :

- Se = VP/(VP+FN) = 3/5 = 60% (Se<95%)
- Sp = VN/(VN+FP) = 2/9 = 22% (Sp<95%)
- RVP = Se/(1-Sp) = 0.60/(1-0.22) = 0.77 (RVP<10)
- VPP = VP/(VP+FP) = 3/10 = 30% (VPP<95%)
- J = Se+Sp-1 = 0.60+0.22-1 = -0.18 (J<0.9)

En ce qui concerne les génotypes FCGR3A, les données ne sont pas exploitables par manque de patients génotypés homozygotes VV.

B. Survies

Nous ne pouvons observer aucun lien significatif entre le polymorphisme FCGR2A et la survie, qu'elle soit globale ou sans évènement (p=0,972 et p=0,396 – test du log rank) (Figure 27).

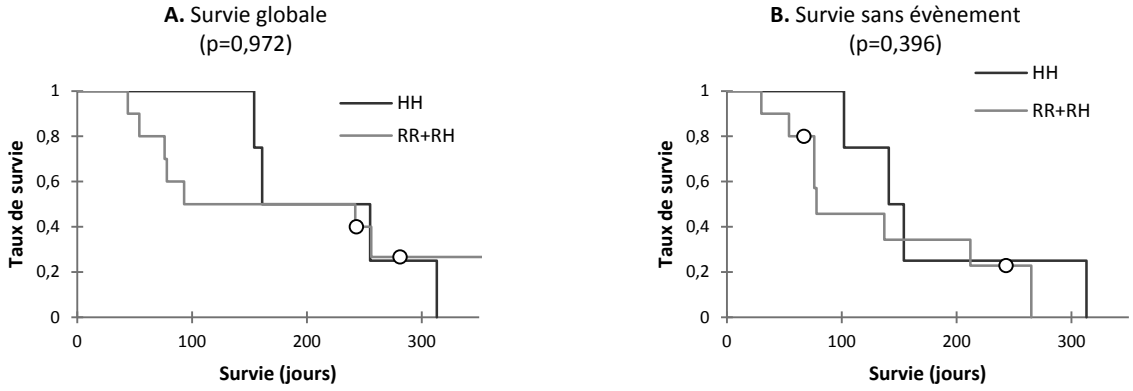


Figure 27 – C_{xb}P : Relation entre la survie et le génotype FCGR2A (n=14 patients)
*Courbes de survie globale (**A**) et de survie sans évènement (**B**)*
selon la méthode de Kaplan-Meier et du test du log-rank.

Concernant le FCGR3A, étant donné qu'il n'y a aucun patient homozygote VV, nous ne pouvons pas établir une comparaison des courbes de survie par la méthode de Kaplan-Meier ni de définir la probabilité par le test du log rank.

1.3.4 Récapitulatif des résultats significatifs

Aucune significativité n'a été décelée concernant les contrôles de la maladie et la survie avec le gène FCGR2A. En revanche, avec le gène FCGR3A, les polymorphismes FF et VF se retrouvent six fois significativement liés à une meilleure survie (tableau 21).

		FCGR2A	FCGR3A
Global	Lésions cibles	-	FF+VF *Se=95%*
	Réponses globales	-	FF+VF *Se=100%*
	Survie globale	-	-
	Survie sans évènement	-	FF+VF *p=0,036*
Curatif	Lésions cibles	-	FF+VF *Se=100%*
	Réponses globales	-	FF+VF *Se=100%*
	Survie globale	-	FF+VF *p=0,008*
	Survie sans évènement	-	FF+VF *p=0,005*
Palliatif	Lésions cibles	-	-
	Réponses globales	-	-
	Survie globale	-	-
	Survie sans évènement	-	-

Tableau 21 – Récapitulatif des résultats significatifs.
Abréviation : Sp – Spécificité ; VPP – Valeur Prédictive Positive ; p - Probabilité

2 Fonction des cellules Natural Killer [113]

2.1 Généralités

Quinze personnes ont été nécessaires à cette étude, dont huit patients atteint de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestive supérieures en situation palliative et traités par cetuximab en 2012, ainsi que 7 témoins faisant parti du corps médical. Ces personnes ont été traitées ou sont du personnel soignant du CHU de Rouen et du CLCC Henri Becquerel de Rouen.

Il s'agissait de 11 hommes (73,3%) et 4 femmes (26.7%) ayant tous été prélevés entre janvier 2012 et avril 2013.

	Effectif (n)	Proportion d'hommes (%)
Malades	8	87,5
Témoins	7	57,1
Total	**15**	**73,3**

Tableau 22 – Caractéristiques démographiques.

2.2 Dysfonction quantitative des Natural Killer

Lymphocytose générale : aucun des témoins ne présente de lymphocytopénie globale avec une moyenne de 2,22 ± 0,58 G/L, en revanche une diminution significative (p=0,04) de la lymphocytose globale chez 75% des malades (6 cas sur 8) a été mise en évidence avec une moyenne de 1,25 ± 1,25 G/L. Les normales étant comprises entre 1,5 et 4 G/L.

Lymphocytose Natural Killer : aucun des témoins ne présente de lymphocytopénie des natural killer avec une moyenne de 0,34 ± 0,14 G/L, en revanche on peut noter qu'un des témoins présente un taux élevé de natural killer avec 0,61 G/L. Concernant les patients atteint de CE VADS, une diminution significative (p=0,04) de la lymphocytose NK a été observée dans 50% des cas avec une moyenne de 0,16 ± 0,16 G/L. Les normales étant comprises entre 0,1 et 0,5 G/L.

Soit 50% des malades possèdent un dysfonctionnement quantitatif des natural killer par manque, suite à une lymphocytopénie (Figure 28).

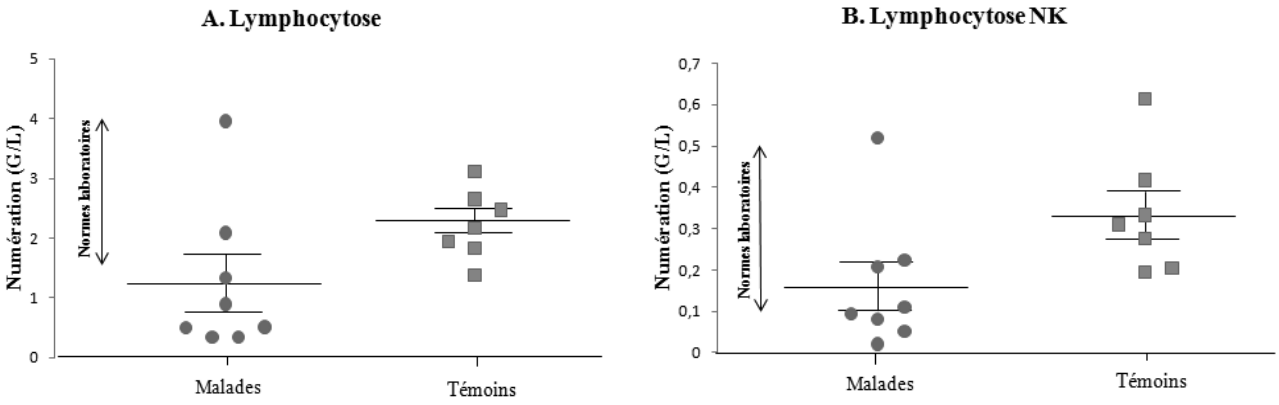


Figure 28 – Lymphocytose et Lymphocytose Natural Killer (Malades Vs. Témoins)
(A) *Lymphocytopénie globale chez 6 cas sur 8 parmi les malades*
(B) *Lymphocytopénie NK chez 4 cas sur 8 parmi les malades*

2.3 Dysfonction qualitative des Natural Killer

Pour 37,5% des malades, soit 3 cas sur 8, une augmentation de la proportion relative de natural killer CD56- a été observée avec une moyenne de 0,26 ± 0,29 démontrant ainsi une cytotoxicité affaiblie, contrairement à l'ensemble des témoins qui présentent des taux de CD56- tous compris dans la norme des 20% (Figure 29).

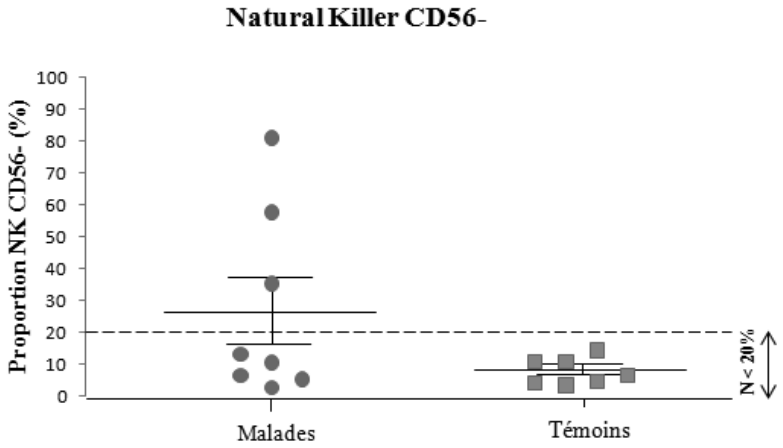


Figure 29 – Proportion des Natural Killer CD56- (Malades Vs. Témoins)
Dysfonctionnement qualitatif chez 3 cas sur 8 parmi les malades uniquement

2.4 Récapitulatif des dysfonctions quantitatives et qualitatives

Au total, cinq malades présentaient une dysfonction NK quantitative et/ou qualitative, significativement (p=0,03) plus fréquente que pour les témoins où aucun d'entre eux n'a présenté de dysfonction (62,5% *versus* 0,0%).

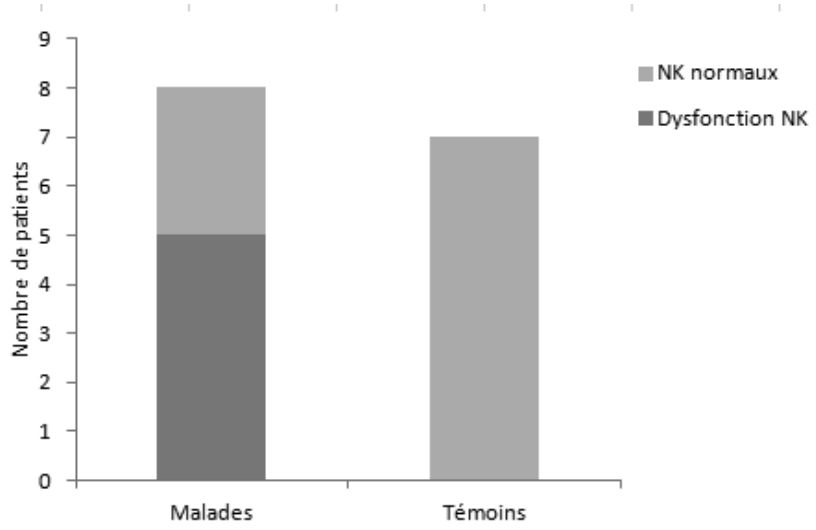


Figure 30 – Dysfonction qualitative et/ou quantitative (Malades Vs. Témoins)
Dysfonction des NK significative chez les malades (p=0,03) avec 5 cas sur 8, soit 62,5%.

DISCUSSION

La France est le pays industrialisé le plus frappé par les cancers des voies aéro-digestives supérieures avec une incidence d'environ 23 000 nouveaux cas chaque année, et occupant la 5ème place en terme de fréquence. Le taux de survie à 5 ans est de l'ordre de 50% tout stade confondu, et ce taux ne s'est malheureusement pas amélioré depuis ces vingt dernières années [7]. De plus, la mortalité en France de ces cancers est très inégale d'un point de vue démographique, puisqu'elle connait notamment un gradient nord-sud où l'on retrouve une mortalité plus fréquente au nord. Ce gradient est en partie lié aux difficultés socio-économiques rencontrées par les populations de ces régions du nord de la France, où l'incidence et la surmortalité par cancer des VADS sont les plus élevées, avec comme exemple le Nord Pas De Calais : sur 100 décès par cancer, 6 sont liés au cancer des VADS (Hill *et al.* 2007).

Actuellement, plusieurs schémas thérapeutiques sont utilisés pour traiter ces cancers, adaptés selon la localisation ou le stade de la maladie. La prise en charge :

a. Des carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures « évolués » (stade III-IV, non-résécables) peut faire appel à :
    1. Une chimiothérapie (à base de Cisplatine) et de la radiothérapie concomitante ;
    2. Une chimiothérapie d'induction (première ou néoadjuvante à base de Taxotère – Cisplatine - Fluorouracile [TPF]) suivie de radiothérapie (chimiothérapie et radiothérapie séquentielle) ;
    3. Une radiothérapie associée au Cetuximab ;
    4. Une chimiothérapie d'induction (TPF) suivie de chimio-radiothérapie concomitante.
b. Des carcinomes épidermoïdes des VADS « opérés » comprend une chimiothérapie et une radiothérapie concomitante post-opératoire.
c. Des carcinomes épidermoïdes des VADS récidivants et/ou métastatiques comprend Cisplatine 5FU ou Carboplatine 5FU + Cetuximab (AMM 2009).

Ainsi le Cetuximab connait une prescription dans certaines indications de cette maladie, et ce traitement a montré un réel espoir en termes de thérapie ciblé grâce aux résultats probants obtenus en oncologie clinique, mais ces derniers sont limités par des résistances

intrinsèques ou acquises qui freinent le développement optimal de ce traitement et plus généralement des thérapies ciblées, représentant un obstacle clinique majeur.

Le but de ce travail a donc été d'étudier un des phénomènes de sensibilité au cetuximab impliquant la voie de l'ADCC. L'importance du polymorphisme des récepteurs FcγR dans la sensibilité au cetuximab ayant déjà été démontrée dans un autre type de cancer tel que l'adénocarcinome colo-rectal (Bibeau *et al.* 2009 [109]) : nous voulions ainsi confronter ces résultats avec le carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, pour lequel une étude *in vitro* a déjà été faite et qui confirme également ces conclusions. Ceci, afin de confirmer des facteurs prédictifs (biomarqueurs), potentiellement utilisables dans l'affinement de la prise en charge des patients. De tels facteurs permettraient donc de sélectionner les « bons » répondeurs susceptibles de bénéficier du traitement, et d'éviter des thérapies lourdes et handicapantes aux patients non répondeurs, tout en réduisant des coûts inutiles pour les services publiques sur l'utilisation de traitements très onéreux.

1 Rappels des principaux résultats

Cette étude a permis de mettre en évidence une anomalie de répartition de l'allèle FCGR3A-158V chez les patients atteint de CE VADS. En effet, les taux respectifs des allèles FF, VF et VV diffèrent de la loi de Hardy Weinberg (tableau 23).

	FCGR3A-158F	FCGR3A-V158F	FCGR3A-158V
Loi Hardy Weinberg	32,5 %	49,0 %	18,5 %
Population d'étude (n=55)	50,9 %	38,2 %	10,9 %

Tableau 23 – Comparaison de la répartition des allèles FCGR3A par rapport à la loi de Hardy Weinberg
Abréviation : n – effectif observé

Le taux de FCGR3A-158F est plus important au détriment de l'allèle FCGR3A-158V. Cette différence n'est pas observée chez les patients traités en curatif, en revanche dans le groupe $C_{xb}P$, cette différence est très nettement marquée puisque nous n'observons aucun allèle FCGR3A-158V, contre 75,0% d'allèle FCGR3A-158F.

Malgré cette différence notoire, aucune relation du polymorphisme FCGR2A n'a pu être mise en évidence que ce soit pour le groupe curatif ou le groupe palliatif. En revanche, d'un point de vue global, il semblerait que le polymorphisme des récepteurs FCγRIIIA ait une influence sur la réponse au cetuximab chez l'ensemble des patients porteurs de carcinome épidermoïde des VADS. En effet, les patients homozygotes FF ou hétérozygotes VF présentent un meilleur contrôle de la lésion cible avec une sensibilité de 95%, ainsi qu'une meilleure survie sans événement (p=0.036). Mais ces résultats sont surtout et exclusivement confirmés par l'intermédiaire du groupe $C_{xb}C$+RT, où les patients FF + VF présentent un meilleur contrôle que ce soit de la lésion cible ou bien même de la maladie globale avec dans les deux cas une sensibilité de 100%, ainsi qu'une meilleure survie globale (p=0.008) ou sans événement (p=0.005)

En complément de ces résultats, nous avons pu mettre en évidence que 62,5% des patients atteint de CE VADS portaient une dysfonction qualitative et/ou quantitative des cellules natural killer contre 0,0% chez les patients sains. Ces cellules NK sont pourtant la base de cette étude de polymorphisme puisque les récepteur FcγR se situent directement sur la membrane de ces dernières.

2 Des résultats à prendre avec circonspection

2.1 Limites d'étude

Compte-tenu des caractéristiques de cette étude, les résultats que nous avons obtenus nécessitent beaucoup de prudence dans leur interprétation.

Il s'agit d'une étude rétrospective, et elle en hérite les risques inhérents. Malgré que les critères de sélection aient été les plus rigoureux possibles, il persistait un manque d'homogénéité, notamment concernant l'évaluation de la réponse tumorale, au sein même des groupes. Ainsi, les dates de réalisation des TDM par rapport au début du traitement par cetuximab, ont été variables, comme en témoignent les écart-types correspondants, mais on peut également apporter la difficulté du suivi des patients post-TDM avec notamment des « perdues de vue » pour cause de déménagement ou par volonté.

Il s'agit également d'une étude multicentrique, et elle en comporte, là encore, les risques. Bien que les centres ayant participé à cette étude soient de régions voisines, certaines données n'ont pas pu être récupérées dans les mêmes proportions. Une majorité de données éparses dont des résultats de TDM, pourtant connues, n'ont pas pu être transmises empêchant ainsi l'inclusion de certains patients au sein de cette étude. Sur 81 patients initialement sélectionnés, 37 n'ont pas être intégrés pour ces raisons.

Enfin, les patients ont été répartis en deux groupes indépendants $C_{xb}C$+RT et $C_{xb}P$, comportant chacun de petits effectifs. Le manque de puissance qui en résulte empêche raisonnablement toute extrapolation, sans confirmation par des études prospectives adaptées. Notamment pour l'allèle FCGR2A-131H avec seulement 1 cas dans le groupe $C_{xb}C$+RT, et pour l'allèle FCGR3A-158V avec aucun cas pour le groupe $C_{xb}P$.
De plus, il existe dans notre population d'étude une sur-représentation des localisations tumorales oropharyngées ou de la cavité buccale (75%).

2.2 Voies alternatives de l'immunité et résistances au cetuximab

L'efficacité du cetuximab en monothérapie suggère l'importance de la stimulation du système immunitaire dans ces conditions. En effet, compte-tenu des différentes voies cytotoxiques de l'immunité, de l'organisation tumorale, la compétition avec les ligands naturels, l'augmentation de l'internalisation et la dégradation de l'EGFR ou le blocage des voies de signalisation intra-cellulaires, ne permettent pas d'expliquer une lyse des cellules tumorales suffisante pour aboutir à une réponse complète, voir partielle.

2.2.1 Les anticorps humains anti-chimériques (HACA)

Le développement d'anticorps humains anti-chimériques (HACA) est un effet de classe des anticorps monoclonaux chimériques. Malgré des données limitées sur l'apparition d'HACAs, globalement des titres mesurables d'HACAs ont été notés chez 3,4% des patients étudiés, avec des taux d'incidence de 0 à 9,6% dans les études effectuées dans l'indication ciblée [114-115].

On ne dispose pas à ce jour de données concluantes sur l'effet neutralisant des HACAs sur le cetuximab. L'apparition d'HACA n'était pas corrélée avec la survenue de réaction d'hypersensibilité ou de tout autre effet indésirable du cetuximab.

2.2.2 Implication des différentes voies cytotoxiques de l'immunité

Trois voies conduisant à la lyse des cellules tumorales peuvent être mises en jeu par le système immunitaire, après fixation de l'anticorps thérapeutique sur l'EGFR (figure 12) :

- L'ADCC est dépendante du génotype des gènes FCGR2A et FCGR3A, d'une part par la mise en jeu des récepteurs correspondants, mais également par la variation de cytotoxicité des cellules effectrices immunes [110,111].

- A l'inverse, la CDC est activée par interaction directe de C1q avec CH2 d'un anticorps, et n'est pas sensible aux génotypes FCGR2A et FCGR3A. De nombreux facteurs tumoraux peuvent aboutir à la résistance contre ce système de l'immunité [116].

- La CDCC est activée par C3b, généré par la cascade protéolytique du système CDC, et qui interagit avec le récepteur C3bR (= CR1 – Complement receptor de type I) des macrophages et des cellules NK. Elle est ainsi sous la dépendance, à la fois de polymorphisme impliquant le FCGR3A puisque les macrophages et les NK sont les effecteurs de cette voie, mais également sous la dépendance de l'activation du système CDC. Par ailleurs, le C3bR est spécifique de cette voie. Bien qu'il existe des polymorphismes de ce récepteur, ceux-ci n'ont pas été impliqués dans la variation de réponses aux anticorps monoclonaux thérapeutiques [117].

L'activation préférentielle des différentes voies cytotoxiques est fonction de la nature tumorale [116]. L'implication du système CDC est accessoire pour les CE VADS puisque des études expérimentales *in vitro* et *in vivo* préliminaires, menées sur différents types tumoraux, n'ont pas permis de mettre en évidence son activation par le cetuximab [97, 119-121].

La voie de l'ADCC est principalement mise en jeu. La réponse clinique doit donc être corrélée au génotype du patient, si ce mécanisme d'action est important dans l'efficacité clinique de cette thérapie ciblée.

2.2.3 Résistances au cetuximab

Les thérapies ciblées ont énormément amélioré la prise en charge des patients atteints de cancer par rapport aux thérapies conventionnelles : elles apportent des réponses partielles ou des stabilités mais certains patients n'en perçoivent aucun bénéfice quand la molécule est utilisée en monothérapie, et développent même des résistances à ces traitements. En effet, malgré la surexpression de l'EGFR et son importance dans la pathogénicité des cancers des VADS, les inhibiteurs de l'EGFR ont un effet limité en monothérapie dans ce type de cancer. Les altérations de l'EGFR, et l'activation constitutive des voies de signalisation en aval comme PI3K/AKT, JAK/STAT et Ras/Raf/MAPK par des mécanismes indépendants tels que des mutations activatrices expliqueraient la survie tumorale malgré l'inhibition de l'EGFR [21].

Ainsi plusieurs mécanismes de résistance ont pu intervenir lors de cette étude afin de nuancer nos résultats, mais n'empêchant pas pour autant l'interprétation de ces derniers si l'on considère une répartition équitable de ces résistances au sein des différents groupes de polymorphisme.

Mais à terme, le but sera donc de prédire ces résistances, ou encore même de les contourner.

2.3 Immunodépression

La différence entre les résultats très prometteurs obtenus *in vitro* et ceux plus nuancés *in vivo*, repose également sur l'existence fréquente d'une immunodépression associée. Celle-ci peut être multifactorielle, favorisée par l'altération de l'état général, une chimiothérapie ou bien une radiothérapie associée. Elle aboutit à la limitation des possibilités de recrutement des cellules effectrices, ainsi qu'à la dysfonction des NK.

La cellule NK, est un acteur majeur du système immunitaire dans la surveillance contre le cancer, notamment par son action liée au système ADCC. On peut même dire que l'activité des cellules NK est un facteur pronostic de survie, chez les patients atteint de cancer des VADS [122]. Ainsi, nous comprenons alors que l'immunodépression importante au cours du traitement par cetuximab puisse interagir avec l'ADCC, indépendamment du polymorphisme

des gènes étudiés. Elle peut constituer un biais important pour l'interprétation des résultats, si elle n'est pas prise en considération.

De ce fait, nous avons su démontrer dans cette étude une variation inter-individuelle de la fonction NK, avec 62,5% de cas de dysfonction qualitative et/ou quantitative chez les patients atteint de cancer des VADS. Pourtant, nous avons obtenu seulement 40,7% de stabilité tumorale. Ainsi, on confirme bien ce biais important de nos résultats sur le polymorphisme des gènes FCGR2A et FCGR3A causé par l'immunodépression des patients en pré-thérapeutique et du dysfonctionnement NK.

2.4 Le rôle du micro-environnement tumoral

S'il semble que le polymorphisme du gène FCGR3A puisse être associé à l'efficacité clinique du cetuximab comme le suggèrent les résultats observés du groupe curatif, cette association est moins franche (et non significative) pour le gène FCGR2A. Rappelons que les FcγRIIa sont exprimés par les macrophages, alors que les FcγRIIIa sont exprimés par les macrophages ainsi que les cellules NK.

Le rôle de l'organisation tumorale, et notamment celui du micro-environnement tumoral non envisagé dans les études *in vitro*, peut fournir des hypothèses pour expliquer l'implication moindre du polymorphisme des FcγRIIa pour l'efficacité clinique du cetuximab.

2.4.1 Les cellules immunes du stroma tumoral

Les macrophages participent à la constitution du micro-environnement tumoral des carcinomes, avec des mastocytes, des polynucléaires neutrophiles, des progéniteurs myéloïdes, des lymphocytes B et T. Ces cellules inflammatoires immunes infiltrent le stroma tumoral.

Elles favorisent le développement tumoral, par la sécrétion de facteurs de croissance pro-tumoraux (EGF, VEGF, …) ainsi que d'enzymes pro-angiogéniques et/ou favorisant l'invasion par la dégradation de la matrice extra-cellulaire, tels que le MMP-9 [123].

Il a également été montré que les progéniteurs myéloïdes supprimaient l'activité des cellules NK et des lymphocytes T cytotoxiques, permettant l'échappement tumoral à la destruction cellulaire immune [123].

2.4.2 Le rôle ambigü des macrophages recrutés

Dans ce contexte, se pose la question du rôle prédominant, pro- ou anti-tumoral, des macrophages recrutés pour l'ADCC, par le cetuximab.

L'action des macrophages peut être inhibée par les signaux pro-inflammatoires tumoraux, et la mise en jeu des récepteurs FcγRIIb. Ceux-ci sont co-exprimés par ces cellules et ont une fonction régulatrice inhibitrice sur le FcγRIIa [106]. Certains auteurs proposent ainsi de doser le ratio FcγRIIa/FcγRIIb (activateur / inhibiteur) au sein de la tumeur [96, 107].

De plus, les macrophages peuvent être détournés vers le soutien de la néovascularisation, du fait de l'importance des facteurs pro-angiogéniques présents dans le micro-environnement tumoral. Ils passent alors d'un phénotype M1, pouvant lyser les cellules tumorales, à un phénotype M2, participant au contraire à la croissance tumorale [124]. Notons, par exemple, que 100% des CE VADS surexpriment le facteur de croissance angiogénique VEGF (Vascular Endothelial Growth Factor) [123].

Enfin, ils peuvent participer au phénomène de trogocytose (ou shaving). Celui-ci consiste à l'internalisation du cetuximab et de l'EGFR provenant d'une cellule cancéreuse, au sein des macrophages, par mise en jeu des FcγRIIa ou FcγIIIa. Il survient lorsque leurs capacités de phagocytose sont dépassées. Il en résulte une diminution de l'anticorps thérapeutique et de l'ensemble de ces mécanismes d'action, notamment de l'ADCC par les cellules NK [125].

Les macrophages recrutés peuvent donc avoir une action paradoxale pro-tumorale. Le recrutement pourrait être augmenté par la plus grande affinité des FcγRIIa et/ou FcγRIIIa, aboutissant à des résultats inattendus entre polymorphisme et réponse clinique au cetuximab. Ainsi, sur une série de 75 malades de CE VADS récidivants et/ou métastatiques, Pasquies rapportait que les patients homozygotes HH présentaient une moins bonne réponse au traitement par cetuximab associé à une chimiothérapie [126].

Dans notre étude, les patients présentant un génotype FF et VF étaient ceux qui avaient la meilleure réponse au traitement. Comme le FcγRIIIa peut aboutir au recrutement de macrophages ou de cellules NK, nous pouvons formuler l'hypothèse que l'ADCC *in vivo*,

dans le cadre des CE VADS, est surtout le fait des cellules NK, comme cela avait été démontré *in vitro* [95, 110, 111].

2.4.3 Echappement tumoral au système immunitaire

L'oncogenèse implique l'échappement des cellules tumorales à la barrière du système immunitaire, particulièrement pour les CE VADS, par la mise en jeu de mécanismes immunosuppresseurs au sein de stroma tumoral [124]. Les progéniteurs myéloïdes du micro-environnement tumoral peuvent supprimer l'activité des lymphocytes T cytotoxiques et, dans une moindre mesure, celle des cellules NK, permettant l'échappement tumoral à la destruction cellulaire immune [123].

Des expérimentations de transplantation tumorales *in vivo* appuient cette hypothèse et impliquent particulièrement les cellules NK et les lymphocytes T cytotoxiques dans cette fonction anti-tumorale du système immunitaire [123]. Compte-tenu de la cytotoxicité accrue des cellules NK en présence d'un allèle FCGR3A-158V, le polymorphisme du gène FCGR3A pourrait constituer un facteur pronostic des CE VADS, indépendamment de l'ADCC et du cetuximab. Les patients hétérozygotes FV ou homozygotes VV présenteraient moins de CE VADS et auraient un meilleur pronostic que les patients homozygotes FF, par une action immunitaire anti-tumorale plus importante. La distribution des différents allèles FCGR3A-158F et FCGR3A-158V pour les patients porteurs d'un CE VADS subirait alors une pression de sélection, et diffèrerait donc de celle de la population générale.

Dans notre étude, les résultats obtenus sur l'ensemble de la population d'étude pour le FCGR3A ne permettent pas de le confirmer, et au contraire l'infirme dans le groupe C_{xb}C+RT où les patients homozygotes FF et hétérozygotes VF semblent meilleurs répondeur. En revanche, nous avons pu observer la diminution significative de la fréquence observée de FCGR3A-158V dans le groupe C_{xb}P. Pour Pasquies, la fréquence de cet allèle était de 37% [126], alors qu'elle est de 43% dans la population générale selon Koene et al. [102], sans différence significative ($IP_{95\%}$ = [35% - 51%]).

2.5 Traitements associés et interactions médicamenteuses

Lors de cette étude, nous nous sommes intéressés à tous les patients recevant du cetuximab, quelques soient leur traitements associés, que ce soit en terme de radiothérapie, de chimiothérapie, ou bien de traitement des pathologies non tumorales tels que le diabète, les maladies cardio-vasculaires, etc.

A la lecture des résultats, il semble que les mécanismes d'action faisant intervenir la stimulation de l'immunité, telle l'ADCC, soient plus ou moins importants, en fonction des associations thérapeutiques anti-tumorale. Ainsi, ces mécanismes peuvent être prépondérants lorsque le cetuximab est administré en monothérapie. Ils sont probablement plus accessoires lorsqu'il est associé à la radiothérapie, voire à la chimiothérapie. Les principaux mécanismes d'action, alors mis en jeu, conduisent à l'arrêt de la prolifération cellulaire et à l'apoptose, potentialisant les effets des autres thérapeutiques anti-cancéreuses.

En revanche, aucune autre interaction médicamenteuse n'est connue sur l'utilisation du cetuximab, et aucune donnée sur les traitements associés des patients n'a été récoltée.

3 Confrontation avec les résultats déjà connus

3.1 Bibeau and al. 2009 [109]

Etude *in vivo* de l'impact du polymorphisme des récepteurs FcγR couplé à la mutation KRAS, sur la réponse clinique de patients atteints de cancer colorectal métastatique traité par le cetuximab en association à l'irinotecan.

Dans cette étude, aucune association significative n'a été montrée entre les polymorphismes des récepteurs FcγR et la réponse au cetuximab, bien qu'une meilleure réponse semble se dessiner pour les homozygotes FCGR2A-131H et FCGR3A-158V. En revanche un effet significatif sur la survie sans progression a été noté chez les patients homozygotes FCGR3A-158V et pour les patients qui étaient FCGR2A-131H et/ou FCGR3A-158V, et ceci quel que soit l'état de KRAS.

Notre étude semble en désaccord avec les résultats de Bibeau concernant les deux polymorphismes des récepteurs. En ce qui concerne le FCGR2A, nous obtenons de meilleurs résultats (bien que non significatifs) chez les patients homozygotes RR ainsi que chez les hétérozygote RH. Alors que pour FCGR3A, les patients homozygotes VV montrent significativement des réponses cliniques et des survies plus faibles que les patients VF ou FF. Aucune étude de la voie Ras n'a été effectuée dans notre étude (KRAS ou H-ras).

Des résultats à prendre avec du recul, car malgré l'intégration d'un facteur de résistance au cetuximab avec la mutation de KRAS que nous n'avons pas intégré dans la notre, d'autres facteurs pouvant altérer considérablement les résultats n'ont pas été pris en compte tels que les mutations dans les autres voies de signalisation (PI3K/AKT, …) ou bien même l'immunodépression et le dysfonctionnement des cellules NK des patients en pré-thérapeutique.

3.2 Lopez-Albaitero and al. 2009 [110]

Etude *in vitro* de l'impact du polymorphisme FCGR3A sur des cellules de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures traitées par cetuximab.

Dans cette étude, il a été démontré une meilleure activité lytique des cellules NK lorsque celles-ci expriment des récepteurs FcγRIIIa homozygotes VV ou hétérozygote VF, ainsi la présence d'un allèle V est corrélée à une cytotoxicité plus élevée ($p = 0,001$). L'utilisation d'interleukine IL-2 ou IL-15 favorise de manière significative l'activité lytique des cellules NK, quel que soit le polymorphisme de leurs récepteurs FcγRIIIa. De plus, le niveau d'expression de l'EGFR est également corrélé à l'activité lytique des NK puisque plus l'EGFR se retrouve en grande quantité, plus la lyse des cellules est exacerbée. Et enfin, il a été démontré que la présence d'EGFR-vIII, c'est-à-dire le variant muté en sa partie extra-cellulaire, n'entraine aucune différence sur l'activité ADCC des cellules NK, contredisant les travaux de Sok and al [79], ainsi que Wheeler and al [127] qui assurent que le variant EGFR-vIII exerce une résistance à la réponse du cetuximab.

Notre étude *in vivo* est en contradiction concernant le lien entre le polymorphisme FCGR3A et la réponse au cetuximab, en effet nous obtenons que la présence d'au moins un

allèle F est corrélée à une meilleure réponse ou survie globale et sans progression. Les autres points de l'étude de Lopez-Albaitero n'étant pas intégrés dans la notre.

Ce sont des résultats qui doivent néanmoins prendre en compte le fait qu'il s'agit d'un contexte *in vitro* qui n'intègre pas ou peu la complexité du système par les résistances et par le micro-environnement des cellules tumorales.

3.3 Taylor and al. 2009 [111]

Etude *in vitro* de l'impact du polymorphisme FCGR3A sur des cellules de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures traitées par cetuximab.

Ces travaux confirment les résultats de Lopez-Albaitero en démontrant une meilleure activité lytique des cellules NK lorsque celle-ci expriment des récepteurs FcγRIIIa possédant au moins un allèle V.

Notre étude est donc également en contradiction avec Taylor.

3.4 Zhang and al. 2007 [96]

Etude *in vivo* de 39 patients concernant l'impact du polymorphisme FCGR2A et FCGR3A sur la réponse clinique des patients atteints de cancer colorectal métastatique et traité par cetuximab en monothérapie.

Cette étude démontre une relation statistiquement significative entre ces deux polymorphismes et la survie sans progression. Les patients FCGR2A homozygotes HH ou hétérozygote HR combinés à FCGR3A homozygote FF ou hétérozygotes VF, ont une survie sans progression supérieure aux patients FCGR2A homozygotes RR ou FCGR3A homozygotes VV ($p = 0,004$).

Des résultats qui sont en accord avec les nôtres concernant FCGR3A pour une meilleure réponse et une meilleure survie globale et sans progression. Pour FCGR2A, les comparaisons sont plus nuancées puisque notre étude démontre un meilleur contrôle de la

maladie pour les patients hétérozygotes RH et homozygotes RR, tandis que Zhang parle de meilleurs résultats pour hétérozygotes RH et homozygotes HH.

Une étude qui semble en partie en corrélation avec nos résultats mais dans une localisation cancéreuse différente.

3.5 Gonzalez and al. 1998 [122]

Cette étude consiste à démontrer que le système de classification TNM n'est pas suffisant pour classifier une maladie cancéreuse, et que le taux d'activité des cellules NK en pré-thérapeutique doit être intégré.

Les résultats expriment que l'activité des cellules NK était significativement réduite chez les patients morts de cancer, contrairement aux patients survivant ne présentant pas de tumeur. Ce qui confirme l'importance pronostique de l'activité des cellules NK chez les patients atteints de cancer des VADS.

Cette étude confirme donc notre hypothèse sur le fait que le dysfonctionnement des cellules NK retrouvé chez 63% des patients atteint de carcinome épidermoïde des VADS expliquerait en partie les 59% de résistance au cetuximab.

4 Polymorphisme FCGR2A-R131H : biomarqueur de l'efficacité clinique du cetuximab ?

Le FcγRIIa est exprimé en surface des macrophages pour agir via le mécanisme de l'ADCC.

Concernant le polymorphisme FCGR2A-R131H, il pourrait être en relation avec l'efficacité clinique du cetuximab, pour les patients le recevant en association à de la radiothérapie, sous réserve qu'elle n'altère pas l'activité (quantitative et/ou fonctionnelle) des cellules NK, et qu'aucune résistance au cetuximab soit présente.

Il semble en effet, que les hétérozygotes FCGR2A-R131H et homozygotes FCGR2A-131H puissent être associé à une meilleure réponse tumorale au traitement. Le génotype de chaque patient peut-il alors constituer un biomarqueur pronostique, prédictif de cette efficacité clinique, dans le cadre de prises en charge curative ?

4.1 Le FCGR2A peut-il être un bon biomarqueur ?

Pour les patients présentant des CE VADS incurables, le taux de réponse globale varie entre 10 et 16%, et le taux de contrôle de la maladie entre 46 et 80% [66, 67, 128].

Aucun indicateur statistique de notre étude (Se, Sp, RVP, VPP, J pour les réponses cliniques et *p* pour les survies) n'a pu indiquer de résultats significatifs. Ainsi, bien que des résultats encourageants aient pu être observés pour les patients RH et HH, ces génotypes ne peuvent pas être associés au contrôle de la maladie. Sous réserve que ces résultats soient complétés par des études prospectives de plus grande échelle, prenant en compte d'autres éléments pouvant biaiser l'étude tels que les facteurs de prédisposition à la résistance.

5 Polymorphisme FCGR3A-F158V : biomarqueur d'une meilleure survie pour le traitement curatif par cetuximab ?

Le FcγRIIIa est exprimé en surface des cellules natural killer uniquement pour agir via le mécanisme de l'ADCC.

Concernant le polymorphisme FCGR3A-F158V, il pourrait être en relation avec une meilleure survie et/ou réponse au traitement, pour les patients porteurs d'au moins un allèle F et recevant du cetuximab associé à de la radiothérapie, sous réserve qu'elle n'altère pas l'activité (quantitative et/ou fonctionnelle) des cellules NK, et qu'aucune résistance au cetuximab soit présente. Ces résultats n'ont pu être significatifs que dans le groupe de patients traités en curatif.
Ainsi, le génotype de chaque patient peut-il alors constituer un biomarqueur pronostique, prédictif de cette meilleure réponse/survie, dans le cadre de prises en charge curative ?

5.1 Le FCGR3A peut-il être un bon biomarqueur ?

Notons que pour les patients présentant des CE VADS incurables, les médianes de survie globale varient entre 178 et 224 jours, et les médianes de survie sans progression entre 70 et 100 jours [66, 67, 128].

Nos résultats montrent que les patients homozygotes FF ou hétérozygotes VF pour le gène FCGR3A peuvent présenter une meilleure réponse au traitement (sur lésions cibles et au global de la maladie), ainsi qu'une meilleure survie globale ou sans progression lorsqu'ils sont traités par cetuximab.

Rappelons qu'une sensibilité et/ou une valeur prédictive positive doit être supérieure à 95% afin de démontrer la puissance d'un test pronostique, ainsi qu'une probabilité inférieure à 5% est nécessaire via le log-rank pour démontrer une survie significativement supérieure à une autre. Concernant la réponse clinique sur les lésions cibles et non cibles, nos résultats expriment des sensibilités variant de 95% à 100%. De plus, nous observons que la survie globale génère une $p = 0,036$, qui évolue à $p = 0,008$ et $p = 0,005$ (respectivement pour une survie globale et une survie sans progression) pour le sous-groupe des patients traités en curatif. Ainsi, nos résultats d'études montrent que les génotypes FF et VF sont associés à un meilleur contrôle de la maladie et une meilleure survie des patients traité par le cetuximab en curatif. Sous réserve que ces résultats soient confirmés par des études prospectives de plus grande échelle, prenant en compte d'autres éléments pouvant biaiser l'étude tels que les facteurs de prédisposition à la résistance.

Mais si la tendance se confirmait, un tel facteur permettrait une économie conséquente en santé publique. Le coût de la réalisation d'un tel test pourrait être estimé entre 100 et 250 euros pour l'assurance maladie. Il permettrait d'exclure une proportion de patients d'environ 11%, et sa mise en œuvre limiterait les coûts d'utilisation du cetuximab, dont l'injection hebdomadaire est estimée en moyenne, à elle seule, à 1000 euros.

6 Perspectives

L'obtention d'un biomarqueur prédictif de l'efficacité du cetuximab constitue un objectif important pour limiter les toxicités et les coûts qui découlent de ce traitement. Les polymorphismes FCGR2A et FCGR3A, en association avec une évaluation de l'immunocompétence et des potentielles résistances associées, pourrait permettre de sélectionner les patients dans le cadre de leur traitement. Des études complémentaires sont cependant nécessaires.

6.1 Etudes complémentaires

6.1.1 Elargissement de la population

Bien que nous partions avec un pool de 87 patients, notre étude se limite à 28 patients ce qui lui donne une puissance relativement faible à comparer aux autres études connues à ce jour (69 patients pour Bibeau and al. [109]). S'agissant d'une étude rétrospective, il est toujours envisageable d'y intégrer en partie les 37 patients encore en attente de résultats ou de transfert de données.

6.1.2 Utilisation de la base de données de l'étude TPex

L'étude TPex 2008-03 est une étude multicentrique de phase II initiée par le GORTEC (Groupe Oncologie Radiothérapie Tête et Cou) en 2008. Elle a inclus 54 patients entre septembre 2009 et février 2011. Elle évalue l'intérêt de l'association de docetaxel au cisplatine pendant 4 cycles, avec du cetuximab en perfusion hebdomadaire, chez des patients avec un CE VADS récidivant et/ou métastatique. A l'issue des 4 cycles, le cetuximab est maintenu en entretien, jusqu'à la progression de la maladie, évaluée selon les critères RECIST, ou l'intolérance du traitement par le patient.

Bien qu'elle n'ait pas été construite pour cela, cette étude pourrait confirmer l'intérêt de l'évaluation du polymorphisme du gène FCGR2A et FCGR3A, dans deux circonstances :
- Lors de l'association du cetuximab à la chimiothérapie ;
- Puis lors de l'administration de la thérapie ciblée en monothérapie.

Malheureusement, elle ne permettra pas d'étudier l'importance de l'immunodépression associée.

6.1.3 Mise en commun de l'ensemble des données des études pré-existantes

Deux études existent concernant cet impact entre le polymorphisme des récepteurs FCGR2A et FCGR3A, et la réponse clinique au Cetuximab en monothérapie ou en association à de la chimiothérapie ou radiothérapie. Il s'agit de deux études faites sur le cancer colo-rectal avec 69 patients pour Bibeau and al. [109] et 39 patients pour Zhang and al. [96], les autres études connues sur le même sujet étant toutes *in vitro*, ou focalisées sur un autre anti-corps monoclonal.
La mise en commun de cet ensemble apporterai une étude globale de près de 133 patients, voir jusqu'à 170 si on y ajoute nos 37 patients en attente de données.

Les résultats de cette étude combinatoire seraient malgré tout à prendre avec du recul car utilisant des techniques différentes, mais possédant surtout deux localisations différentes de carcinome épidermoïde. Mais elle en resterait néanmoins intéressante si l'on admet l'hypothèse que le mécanisme ADCC reste sensiblement identique quelque soit la localisation, seuls les résistances et le micro-environnement sont susceptibles d'afficher des disparités.

Les données TPex pourraient alors aussi s'y ajouter, augmentant d'avantage la puissance d'une telle combinaison.

6.1.4 Ajout du facteur de l'immunodépression

Nous avons su confirmer une disparité dans la fonctionnalité des cellules NK qui jouent un rôle majeur dans l'ADCC, ce qui biaise les résultats concernant l'impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIa et FcγRIIIa sur la réponse tumorale face au cetuximab.

Des études complémentaires intégrant ce nouveau paramètre diminuerait ainsi un biais connu. L'immunodépression pré-thérapeutique, deviendrait un critère d'exclusion à l'étude, permettant de ne garder que des patients pour lesquels l'activité ADCC est optimale.

Mais cela ne serait pas suffisant pour cibler l'impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIa et FcγRIIIa. L'existence d'autres biais serait à intégrer.

6.1.5 Ajout d'autres facteurs de résistance au cetuximab dans les CE VADS

Tout comme pour l'immunodépression associée au traitement, les voies de résistance connues pour le cetuximab biaisent aussi les résultats concernant l'impact du polymorphisme des récepteurs FcγR sur la réponse tumorale.

Dans les plus impliqués, on retrouve le variant EGFRvIII présent dans 42% des cas [79], l'altération de la voie PI3K/AKT/PTEN (jusqu'à 37% des cas selon la mutation) ou encore les altérations de H-Ras (22%) et KRAS (3 à 7%) [80].

Autant de résistances qui connaissent pourtant à ce jour des tests de dépistage. Ainsi des études complémentaires intégrant ces nouveaux paramètres diminueraient d'avantage ces biais connus. La présence de mutation, deviendrait un critère d'exclusion à l'étude, permettant de ne garder que des patients pour lesquels l'activité ADCC est optimale.

Cela ne serait pas suffisant pour cibler à 100% l'impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIa et FcγRIIIa. Mais nous intégrerions le maximum des biais possibles afin de s'en approcher.

6.2 Le développement de biopuces

Bien que l'ADCC et les polymorphismes FCGR2A-R131H et FCGR3A-F158V semblent réellement mis en jeu, ils ne pourront pas permettre à eux seuls de prédire l'efficacité clinique du cetuximab pour l'ensemble des patients. La possibilité de développement d'un biomarqueur simple reposant sur un seul caractère tumoral ou du patient s'éloigne aussi vite que notre connaissance du fonctionnement tumoral progresse. Plusieurs

niveaux de complexité, à l'origine de multiples possibilités de mécanismes de résistance, ont été identifiés. Ils imposeront de combiner les thérapies, ciblant les différentes caractéristiques cancéreuses. Ces associations thérapeutiques nécessiteront d'établir des profils tumoraux complexes. C'est pourquoi de nouvelles technologies d'analyse « à haut débit » (biopuces) sont développées. Elles permettent l'exploration simultanée de plusieurs marqueurs à la recherche d'anomalies chromosomiques, de l'ADN, de l'ARN, ou même des protéines, afin de prédire le risque de dégénérescence de lésions pré-cancéreuses, la réponse au traitement et le pronostic.
Les polymorphismes FCGR2A-R131H et FCGR3A-F158V pourraient y voir leur place.

6.3 Amélioration thérapeutique

Comme vu précédemment, les tests pré-thérapeutiques ainsi que les combinaisons thérapeutiques semblent être un avenir afin de mieux affiner les réponses tumorales, mais aussi afin de contourner les résistances majeures connues à ce jour.

6.3.1 Hypersensibilité et choc anaphylactique

Comme le laisse supposer l'étude de Chung and al. [129], la pré-existence d'IgE contre le galactose alpha-1,3-galactose (α-gal), est prédictive de réactions d'hypersensibilités sévères (représentant 17% des cas dans notre étude). A l'aide du test ImmunoCAP®, déterminer le taux des IgE anti-α-gal des patients candidats à une chimiothérapie par cetuximab permettrait donc :

- D'apprécier le risque encouru lors de la première injection ;
- De proposer un protocole d'accoutumance rapide pour les patients dont le cetuximab reste la seule alternative thérapeutique.

A terme, l'utilisation d'une molécule capable de neutraliser ces IgE anti-α-gal permettra l'utilisation du cetuximab sans crainte majeure de réaction d'hypersensibilité.

6.3.2 Radiothérapie et autres chimiothérapies associées

Confirmé par notre étude concernant le groupe des patients récidivants et/ou métastasés, l'utilisation du Cetuximab en association à de la radiothérapie et/ou de la chimiothérapie est synergique à un meilleur contrôle de la maladie.

En effet il a été noté par Bonner and al. [55, 56] que l'utilisation du Cetuximab en association à de la radiothérapie permettait une meilleure réponse tumorale locorégionale ainsi qu'une meilleure survie globale et sans progression, à hauteur de 10%, comparé à l'utilisation de la radiothérapie seule. En revanche, bien qu'avec des résultats très prometteurs, l'utilisation du Cetuximab en association à de la radiothérapie et des sels de platine, présentait des toxicités préoccupantes [57, 60].

Enfin, d'autres études *in vitro*, montrent une synergie positive lors de l'utilisation du cisplatine associé au 5-FU, avec du Cetuximab [61,62].

6.3.3 Restituer la fonction des Natural Killer (IL-2, IL-15 et IL-21)

Les cellules natural killer jouent un rôle essentiel dans le contrôle des cellules tumorales via le cetuximab par ADCC. Quarante pourcents des patients présentant un CE VADS rencontrent une dysfonction qualitative et/ou quantitative de leurs cellules NK pouvant prétendre à une forme de résistance au cetuximab. Comme le suggère De Ram and al. [130], l'utilisation des interleukines IL-2, IL-15 et IL-21 permet une expansion importante du taux de NK afin de rétablir un taux normal ou sub-normal.

Ainsi, un traitement par cetuximab en association avec ces interleukines pourrait en partie augmenter le taux de réponse par rapport au cetuximab en monothérapie.

6.3.4 Associations thérapeutiques afin de pallier aux résistances

6.3.4.1 Le mutant EGFRvIII

Le récepteur de l'EGF est la cible spécifique du cetuximab et constitue donc un point central dans son mécanisme anti-tumoral, mais peut aussi représenter un axe important de

résistance. La surexpression et/ou la mutation de l'EGFR en EGFRvIII permettent d'échapper au traitement, la surexpression de l'EGFR se fait observer dans 10 à 17% des cancers des VADS [74,75] et l'EGFRvIII est représenté dans environ 42% des cas de CE VADS [79],mais sans pour autant connaître le rapport EGFRsauvage/EGFRvIII.

De plus, il a été démontré une particularité intéressante de l'EGFRvIII concernant sa localisation, puisque ce dernier s'observe uniquement dans les tissus tumoraux et est totalement absent des tissus normaux [79]. Plusieurs anticorps monoclonaux ont fait l'objet d'études afin de mieux cibler l'EGFRvIII et de limiter la résistance des traitements anti-EGFR, nous retrouvons entre autre L8A4, 806 et CH12, qui ont fait leur preuve *in vitro* et/ou *in vivo* sur la neutralisation de l'EGFR mutant [131-133]. Une adjonction de ce type d'anticorps anti-EGFRvIII à un anticorps anti-EGFRsauvage type cetuximab, permettrait donc un meilleur contrôle des tumeurs par diminution de la résistance. La part de traitement focalisant l'EGFRvIII permettrait quant à elle de diminuer considérablement les effets toxiques sur les tissus normaux, où la cible EGFRvIII est absente.

6.3.4.2 Voie PI3K

Selon la thèse de Rebucci [122], la voie AKT apparaît comme un élément central dans la réponse au cetuximab. La mutation de PI3KCA présente dans 11% des cas, justifierai l'utilisation d'un inhibiteur de la voie PI3K/AKT, tel que LYS294002.

CONCLUSION

L'ADCC est un mécanisme intervenant dans l'efficacité des thérapies ciblées par anticorps monoclonaux. S'il semble accessoire lorsqu'il est associé à de la radiothérapie, il semble prépondérant en association à de la chimiothérapie, ou lorsque le cetuximab est utilisé en monothérapie. L'ADCC intervient par l'intermédiaire des macrophages, mais principalement des cellules Natural Killer (NK) via les récepteurs FcγR.

Les homozygotes FCGR3A-158F et hétérozygotes FCGR3A-V158F semblent montrer un meilleur contrôle de la maladie dans le groupe des patients présentant un carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures traité en curatif, mais également une meilleure survie globale et sans progression. En revanche chez les CE VADS récidivants et/ou métastatiques, les polymorphismes des gènes FCGR2A et FCGR3A ne semblent pas avoir de conséquence.

Ces résultats sont en partie en contradiction avec des études déjà réalisées *in vitro* et/ou *in vivo* sur des adénocarcinomes colo-rectaux. Seule une étude de 2007 reste en accord avec nos résultats concernant l'impact du polymorphisme FCGR3A (Zhang et al. [96]). Mais les fluctuations observées dans l'ensemble des résultats seraient dues à un biais orchestré par un autre facteur lié à la fonctionnalité des cellules NK. Le taux de réponse au cetuximab observé est de l'ordre de 40%, tandis que la dysfonction qualitative et/ou quantitative des cellules NK jouant un rôle charnière dans l'ADCC, représente près de 60%.

La fonctionnalité des cellules NK pourrait sembler d'avantage un meilleur facteur prédictif de réponse au cetuximab que le polymorphisme des gènes FCGR2A et FCGR3A.

Des études complémentaires de plus grandes envergures, et intégrant cet élément, sont nécessaires afin de démontrer le lien fort que pourrait apporter la fonctionnalité des cellules NK sur la réponse clinique au cetuximab. Au quel cas des traitements complémentaires pourraient être délivrés afin de rétablir ce déséquilibre des cellules NK. Mais à fonctionnalité égale, ces études permettront également de justifier la puissance prédictive du polymorphisme des récepteurs FCGR2A et FCGR3A afin de constituer un biomarqueur pour l'instauration du traitement par l'anticorps monoclonal, en association avec une chimiothérapie à base de sel de platine, ou sa prolongation en entretien en monothérapie.

BIBLIOGRAPHIE

1. Hanahan D, Weinberg RA. The hallmarks of cancer. *Cell.* 2000; 100:57-70.

2. Zandi R, Larsen AB, Andersen P, Stockhausen MT, Poulsen HS. Mechanisms for oncogenic activation of the epidermal growth factor receptor. *Cell Signal.* 2007; 19: 2013-2023.

3. Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C and Parkin DM: Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. Int J Cancer. 2010 Jun 17.

4. Ferlay J, Parkin DM and Steliarova-Foucher E: Estimates of cancer incidence and mortality in Europe in 2008. Eur J Cancer. 2010 Mar; 46 (4): 765-81.

5. Belot A, Grosclaude P, Bossard N, Jougla E, Benhamou E, Delafosse P, Guizard AV, Molinié F, Danzon A, Bara S, Bouvier AM, Trétarre B, Binder-Foucard F, Colonna M, Daubisse L, Hédelin G, Launoy G, LE Stang N, Maynadié M, Monnereau A, Troussard X, Faivre J, Collignon A, Janoray I, Arveux P, Buemi A, Raverdy N, Schvartz C, Bovet M, Chérié-Challine L, Estève J, Remontet L and Velten M: Cancer incidence and mortality in France over the period 1980-2005. Rev Epidemiol Sante Publique. 2008 Jun; 56(3): 159-75.

6. Marur S, D'Souza G, Westra WH, Forastiere AA. HPV-associated head and neck cancer: a virus-related cancer epidemic. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 781-789.

7. Forastiere A, Koch W, Trotti A, sidransky D. Head and Neck cancer. *N Engl J Med.* 2001; 345: 1890-1900.

8. Herbst RS. Review of Epidermal Growth Factor Receptor biology. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2004; (2 suppl): 21-6.

9. Ullrich A, Coussens L, Hayflick JS, et al. Human epidermal growth factor receptor cDNA sequence and aberrant expression of the amplified gene in A431 epidermoid carcinoma cells. *Nature.* 1984; 309: 418-425.

10. Gschwind A, Ficher OM, Ullrich A. The discovery of receptor tyrosine kinases: targets for cancer therapy. *Nat. Rev. Cancer.* 2004; 4: 361-370.

11. Carpenter G and Cohen S. Epidermal Growth Factor. *J Biol Chem*. 1990; 265: 7709-12.

12. Deryncke R. The physiology of transforming growth factor-alpha. *Adv Cancer Res.* 1992; 58: 27-52.

13. Plowman GD, Green JM, Mc Donald VL, Neubauer MG, Disteche CM, Todaro GJ and Shoyab M. The amphiréguline gene encodes a novel epidermal growth factor-related protein with tumor-inhibitory activity. *Mol Cel Biol.* 1990; 10: 1969-81.

14. Shing Y, Christofori G, Hanahan D, Ono Y, Sasada R, Igarashi K and Folkman J. Betacellulin: a mitogen from pancreatic beta cell tumors. *Science*. 1993; 259: 1604-07.

15. Higashiyama S, Abraham JA, Miller J, Fiddes JC and Klagsbrun M. A heparin-binding growth factor secreted by macrophage-like cells that is related to EGF. *Science.* 1991; 251: 936-9.

16. Toyoda H, Komurasaki T, Ikeda Y, Yoshimoto M and Morimoto S. Molecular cloning of mouse epiregulin, a novel epidermal growth factor-related protein, expressed in the early stage of development. *FEBS Lett.* 1995; 377: 403-7.

17. Tzahar E et al. ErbB-3 and ErbB-4 function as the respective low and high affinity receptors of all Neu differenciation factor/heregulin isoforms. *J Biol Chem.* 1994; 269: 25226-33.

18. Graus-Porta D, Beerli RR, Daly JM and Hynes NE. ErbB-2, the prefered heterodimerization partner of all ErbB receptors, is a mediator of lateral signaling. *EMBO J.* 1997; 16: 1647-55.

19. Hubert P. Growth factor of the EGF family and their receptors. *Bull Cancer.* 2007; 94: F137-45.

20. Jeroen J, Lammerts van Bueren, Wim K Bleeker, Annika Brännström, Anne von Euler, Magnus Jansson, Matthias Peipp, Tanja Schneider-Merck, Thomas Valerius, Jan G J van de Winkel, and Paul W H I Parren. The antibody zalutumumab inhibits epidermal growth factor receptor signaling by limiting intra- and intermolecular flexibility. *PNAS.* 2008; 105(16): 6109-14.

21. Rebucci M. Mécanismes de résistance au cetuximab et influence des associations de traitement dans les lignées cellulaires des cancers des voies aérodigestives supérieures. *Thèse de Sciences – Ecole doctorale de l'Université de Lille II.* 2010 :1-229.

22. Griner EM and Kazanietz MG. Protein kinase C and other diacylglycérol effectors in cancer. *Nat Rev Cancer.* 2007; 7: 281-94.

23. Koivunen J, Aaltonen V, and Peltonen J. Protein kinase C (PKC) family in cancer progression. *Cancer Lett.* 2006; 235: 1-10.

24. Engelman JA, Luo J andCantley LC. The evolution of phosphatidylinositol 3-Kinases as regulator of growth and metabolism. *Nat Rev Genet.* 2006; 7: 606-19.

25. Alessi DR and Cohen P. Mechanisme of activation and function of protein kinase B. *Curr Opin Genet Dev.* 1998; 8: 55-62.

26. Vivanco I and Sawyers CL. The Phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer.* 2002; 2: 489-501.

27. Batzer AG, Rotin D, Urena JM, Skolnik EY and Schlessinger J. Hierarchy of binding sites for Grb2 and Shc on the epidermal growth factor receptor. *Mol Cel Biol.* 1994; 14: 5192-201.

28. Yon S. and Seger R. The extracellular signal-regulated kinase: multiple substrates regulate diverse cellular functions. *Growth Factors*. 2006; 24: 21-44.

29. Robert J. Signalisation cellulaire et cancer. *Springer*. 2010.

30. Lenferink A. and al. Differencial endocytic routing of homo- and hetero-dimeric ErbB tyrosine kinases confers signaling superiority to receptor heterodimers. *EMBO J.* 1998; 17: 3385-97.

31. Reddy C, Wells A and Lauffenburger DA. Receptors-mediated effects on ligand availability influence relative mitogenic potencies ofepidermal growth factor and transforming growth factor alpha. *J Cell Physiol.* 1996; 166: 512-22.

32. Woodburn JR. The epidermal growth factor receptor and its inhibition in cancer therapy. *Pharmacol Ther.* 1999; 82: 241-50.

33. Salomon DS, Brandt R, Ciardello F and Normanno N. Epidermal growth factor-related peptides and their receptors in human malignancies. *Crit Rev Oncol Hematol.* 1995; 19: 183-232.

34. Shin DM, Ro JY, Hong WK and Hittelman WN. Dysregulation of epidermal growth factor receptor expression in premalignant lesions during head and neck tumorigenesis. *Cancer Res.* 1994; 54: 3153-9.

35. Bei R, Budillon A, Masuelli L, et al. Frequent overexpression of multiple ErbB receptors by head and neck squamous cell carcinoma contrasts with rare antibody immunity in patients. *J Pathol.* 2004; 204: 317-25.

36. Brunner K, Fischer CA, Driemel O, Hartmann A, Brockhoff G, Schwarz S. EGFR (HER) family protein expression and cytogenetics in 219 squamous cell carcinoma of

the upper respiratory tract: ERBB2 overexpression independent prediction of poor prognosis. *Anal Quant Cytol Histol.* 2010; 32: 78-89.

37. Takes RP, Baatenburg de Jong RJ, Keuning J, Hermans J, Schuuring E, Van Krieken HJ. Protein expression of cancer associated genes: biopsy material compared to resection material in laryngeal cancer. *Anticancer Res.* 1998; 18: 4787-91.

38. Nicholson RI, Gee JM, Harper ME. EGFR and cancer prognosis. *Eur J Cancer.* 2001; 37 Suppl 4: S9-15.

39. Peanault-Llorca F, Durando X, Bay JO. [Prognostic value of epidermal growth factor receptor]. *Bull Cancer.* 2003; 90 Spec No: S192-S196.

40. Ang KK, Berkey BA, Tu X, et al. Impact of epidermal growth factor receptor expression on survival and pattern of relapse in patients with advanced head and neck carcinoma. *Cancer Res.* 2002; 62: 7350-6.

41. Ang KK, Andratschke NH, Milas L. Epidermal growth factor receptor and response of head-and-neck carcinoma to therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004; 58: 959-65.

42. Raben D, Helfrich B, Chan DC, et al. The effects of cetuximab alone and in combination with radiation and/or chemotherapy in lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 795-805.

43. Moasser MM, Basso A, Averbuch SD, Rosen N. The tyrosine kinase inhibitor ZD1839 ("Irissa") inhibits HER2-driven signaling and suppresses the growth of HER2-overexpressing tumor cells. *Cancer Res.* 2001; 61: 7184-8.

44. Goldstein NI, Prewett M, Zuklys K, Rockwell P and Mendelsohn J. Biological efficacy of a chimeric antibody to the epidermal growth factor receptor in a human tumor xenograft model. *Clin Cancer Res.* 1995; 1: 1311-8.

45. De Souza JA, Davis DW, Zhang Y, Khattri A, Seiwert TY, Aktolga S, Wong SJ, Kozloff MF, Nattam S, Lingen MW, Kunnavakkam R, Stenson KM, Blair EA, Bozeman J, Dancey JE, Vokes EE and Cohen EE. A phase II Study of Lapatinib in Recurrent/Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck. *Clin Cancer Res.* 2012; 18(8): 2336-43.

46. Li S, Schmitz KR, Jeffrey PD, Wiltzius JJ, Kussie P and Fergusson KM. Structural basis for inhibition of the epidermal growth factor receptor by cetuximab. *Cancer Cell.* 2005; 7: 301-11.

47. Arnoletti JP, Buchsbaum DJ, Huang ZQ, et al. Mechanisms of resistance to Erbitux (anti-epidermal growth factor receptor) combination therapy in pancreatic adenocarcinoma cells. *J Gastrointest surg.* 2004; 8: 960-9; discussion 969-70.

48. Bouali S. Transfert des gènes p53 et pten par vectorisation non virale : effet proapoptotique et potentialisation de la réponse cellulaire au cetuximab. *Thèse de Science – Ecole doctorale de l'Université Henri Poincaré Nancy I.* 2008 ;1-195.

49. Poli A, Michel T, Thérésine M, Andrès E, Hentges F et Zimmer J. $CD56^{bright}$ natural killer (NK) cells : an important NK cell subset. *Immunology.* 2009 April; 126(4): 458-465.

50. Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M,et al. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer.* 2009; 45: 228-47.

51. Schmidt-Ullrich RK, et al. Radiation-induced proliferation of the human A431 squamous carcinoma cells is dependent on EGFR tyrosine phosphorylation. *Oncogene.* 1997; 15: 1191-7.

52. Schmidt-Ullrich RK, Contessa JN, Lammering G, Amorino G and Lin PS. ERBB receptor tyrosine kynases and cellular radiation responses. *Oncogene.* 2003; 22: 5855-65.

53. Huang SM, Bock JM and Harari PM. Epidermal growth factor receptor blockade with C225 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cells carcinomas of the head and neck. *Cancer Res.* 1999; 59: 1935-40.

54. Dittmann K and al. Radiation-induced epidermal growth factor receptor nuclear import is linked to activation of DNA-dependent protein kinase. *Journal of Biological Chemistry.* 2005; 280: 31182-9.

55. Bonner JA and al. Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N. Engl. J. Med.* 2006; 354: 567: 578.

56. Bonner JA and al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol.* 2010; 11: 21-8.

57. Pfister DG, Su YB, Kraus DH, et al. Concurrent cetuximab, cisplatin, and concomitant boost radiotherapy for locoregionally advanced, squamous cell head and neck cancer: a pilot phase I study of a new combined-modality paradigm. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 1072-8.

58. Kies MS, Holsinger FC, Lee JJ, et al. Induction chemotherapy and cetuximab for locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck: results from a phase II prospective trial. *J Clin Oncol.* 2010; 28: 8-14.

59. Posner MR, Hershock DM, Blajman CR, et al. Cisplatin et fluorouracil alone or with docetaxel in head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2007; 357: 1705-15.

60. Vermorken JB, Remenar E, Van Herpen C, et al. Cisplatine, fluorouracil and dicetaxel in unresectable head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2007; 357: 1695-704.

61. Brown D, Wang R, Russell P. Antiepidermal growth factor receptor antibodies augment cytotoxicity of chemotherapeutic agents on squamous cell carcinoma cell lines. *Otolaryngol Head Neck Surg.* 2000; 122: 75-83.

62. Fan Z, Baselga J, Masui H, Mendelsohn J. Antitumor effect of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies plus cis-diamminedichloroplatinium on well established A431 cell xenografts. *Cancer Res.* 1993; 53: 4637-42.

63. Bourhis J, Rivera F, Mesia R, et al. Phase I/II study of cetuximab in combination with cisplatine or carboplatine and fluorouracil in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2006; 24: 286-72.

64. Shin DM, Donato NJ, Prez-Soler R, et al. Epidermal growth factor receptor-targeted therapy with C225 and cisplatine in patients with head and neck cancer. *Clin Cancer Res.* 2001; 7: 1204-13.

65. Burtness B, Goldwasser MA, Flood W, Mattar B, Forastiere AA, Eastern Cooperative Oncology Group. Phase III randomized trial of cisplatine plus placebo compared with cisplatine plus cetuximab in metastatic/recurrent head and neck cancer: an Eastern Cooperative Oncology Group study. *J Clin Oncol.* 2005; 23: 8646-54.

66. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med.* 2008; 359: 1116-27.

67. Baselga J, Trigo JM, Bouhis J, et al. Phase II multicenter study of the antiepidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab in combination with platinum-based chemotherapy in patients with platinum-refractory metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2005; 23: 5568-77.

68. Herbst RS, Arquette M, Shin DM, et al. Phase II multicenter study of the epidermal growth factor receptor antibody cetuximab and cisplatine for recurrent and refractory squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2005; 23: 5578-87.

69. Vermorken JB, Trigo J, Hitt R, et al. Open-label, uncontrolled, multicenter phase II study to evaluate the efficacy and toxicity of cetuximab as a single agente in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck who failed to respond to platinum-based therapy. *J Clin Oncol.* 2007; 25: 2171-7.

70. León X, Hitt R, Constenla M, et al. A retrospective analysis of the outcome of patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck refractory to a platinum-based chemotherapy. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2005; 17: 418-24.

71. www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/APAR_-_Product_Information/human/000558/WC500029119.pdf

72. Tejani MA, Cohen RB, Mehra R. The contribution of cetuximab in the treatment of recurrent and/or metastatic head and neck cancer. *Biologics.* 2010; 4: 173-185.

73. Wheeler DL and al. Mechanisms of acquired resistance of cetuximab: role of HER (ErbB) family members. *Oncogene.* 2008.

74. Koynova DK, Tsenova VS, Jankova RS, Gurov PB and Toncheva DI. Tissue microarray analysis of EGFR and HER2 oncogene copy number alterations in squamous cell carcinoma of the larynx. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2005; 131: 199-203.

75. Temam S and al. Epidermal growth factor receptor copy number alterations correlate with poor clinical outcome in patients with head and neck squamous cancer. *J Clin Oncol.* 2007; 25: 2164-70.

76. Schwentner I, Witsch-Baumgartner M, Sprinzl GM, Krugmann J, Tzankov A, Jank S, Zwierzina H and Loeffler-Ragg J. Identification of the rare EGFR mutation p.G796S as somatic and germline mutation in white patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Head Neck.* 2008; 30: 1040-4.

77. Lee JW and al. Somatic mutations of EGFR gene in squamous cell of carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 2879-82.

78. Loeffler-Ragg J, Witsch-Baumgartner M, Tzankov A, Hilbe W, Schwentner I, Sprintzl GM, Utermann G and Zwierzina H. Low incidence of mutations in EGFR kinase domain in Caucasien patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer.* 2006; 42: 109-11.

79. Sok JC et al. Mutant epidermal growth factor receptor (EGFRvIII) contributes to head and neck cancer growth and resistance to EGFR targeting. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 5064-73.

80. Anderson JA, Irish JC, McLachlin CM and Ngan BY. H-ras Oncogene mutation and human papillomavirus infection in oral carcinoma. *Arch Otolaryngol.* 1994; 120: 755-60.

81. Okami K. et al. Analysis of PTEN/MMAC1 alterations in aerodigestive tract tumors. *Cancer Res.* 1998; 58: 509-11.

82. Qiu W, Schonleben F, Li X, Ho DJ, Close LG, Manolidis S, Bennett BP and Su GH. PIK3CA mutations in head and neck squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2006; 12: 1441-6.

83. Pedrero JM, Carracedo DG, Pinto CM, Zapatero AH, Rodrigo JP, Nieto CS and Gonzales MV. Frequent genetic and biochemical alterations of the PI 3-K/AKT/PTEN pathway in head and neck squamous cell carcinoma. *Int J Cancer.* 2005; 114: 242-8.

84. Woenckhaus J, Steger K, Werner E, Fenic I, Gamerdinger U, Dreyer T and Stahl U. Genomic gain of PIK3CA and increased expression of p110alpha are associated with progression of dysplasia into invasive squamous cell carcinoma. *J Pathol.* 2002; 198: 335-42.

85. Psyrri A, Yu Z, Weinberger PM, et al. Quantitative determination of nucear and cytoplasmic epidermal growth factor receptor expression in oropharyngeal squamous cell cancer by using automated quantitative analysis. *Clin Cancer Res.* 2005; 11: 5856-62.

86. Wang SC, Hung MC. Nucear translocation of the epidermal growth factor receptor family membrane tyrosine kinase receptors. *Clin Cancer Res.* 2009; 15: 6484-9.

87. Boyle JO et al. The incidence of p53 mutations increases with progression of head and neck cancer. *Cancer Res.* 1993; 53: 4477-80.

88. Freier K, Bosch FX, Flechtenmacher C, Devens F, Benner A, Lichter P, Joos S and Hofele C. Distinct site-specific oncoprotein overexpression in head and neck squamous cell carcinoma: a tissue microarray analysis. *Anticancer Res.* 2003; 23: 3971-7.

89. Reed AL et al. High frequency of p16 (CDKN2/MTS-1/INK4A) inactivation in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 1996; 56: 3630-3.

90. Yoo GH, Xu HJ, Brennan JA, Westra W, Hruban RH, Koch W, Benedict WF and Sidransky D. Infrequent inactivation of the retinoblastoma gene despite frequent loss of chromosome 13q in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res.* 1994; 54: 4603-6.

91. Eisma RJ, Spiro JD and Kreutzer DL. Vascular endothelial growth factor expression in head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Surg.* 1997; 174: 513-7.

92. Perlmann P, Perlmann H, Wigzell H. Lymphocyte mediated cytotoxicity in vitro. Induction and inhibition by humoral antibody and nature of effector cells. *Transplant Rev.* 1972; 13: 91-114.

93. Titus JA, Perez P, Kaubisch A, Garrido MA, Segal DM. Human K/natural killer cells targeted with hetero-cross-linked antibodies specifically lyse tumor cells in vitro and prevent tumor growth in vivo. *J Immunol.* 1987; 139: 3153-3158.

94. Clynes RA, Towers TL, Presta LG, Ravetch JV. Inhibitory Fc receptors modulate in vivo cytotoxicity against tumor targets. *Nat Med.* 2000; 6: 443-6.

95. Kurai J, Chikumi H, Hashimoto K, et al. Antibody-dependent cellular cytotoxicity mediated by cetuximab against lung cancer cell lines. *Clin Cancer Res.* 2007; 13: 1552-61.

96. Zhang W, Gordon M, Schultheis AM et al. FCGR2A and FCGR3A polymorphisms associated with clinical outcome of epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal cancer patients treated with single-agent cetuximab. *J Clin Oncol.* 2007; 25: 3712-18.

97. Naramura M, Gillies SD, Mendelsohn J, Reisfeld RA, Mueller BM. Therapeutic potential of chimeric and murine anti-(epidermal growth factor receptor) antibodies in a metastasis model for human melanoma. *Cancer Immunol Immunother.* 1993; 37: 343-9.

98. Weng WK, Levy R. Two immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms independently predict response to rituxmab in patients with follicular lymphoma. *J Clin Oncol.* 2003; 21: 3940-7.

99. Cartron G, Dacheux L, Salles G et al. Therapeutic activity of humanized anti-CD20 monoclonal antibody and polymorphism in IgG Fc receptor FcgammaRIIIa gene. *Blood.* 2002; 99: 754-8.

100. Warmerdam PA, Van de Winkel JG, Gosselin EJ, Capel PJ. Molecular basis for a polymorphism of human Fc gamma receptor II (CD32). *J Exp Med.* 1990; 17: 19-25.

101. Warmerdam PA, Van de Winkel JG, Vlug A, Westerdaal NA, Capel PJ. A single amino acid in the second Ig-like domain of the human Fc gamma receptor II is critical for human IgG2 binding. *J Immunol.* 1991; 147: 1338-43.

102. Koene HR, Kleijer M, Algra J, Roos D, Von dem Borne AE, de Haas M. Fc gammaRIIIa-158V/F polymorphism influences the binding of IgG by natural killer cell Fc gammaRIIIa, independently of the Fc gammaRIIIa-48L/R/H phenotype. *Blood.* 1997; 90: 1109-14.

103. Shields RL, Namenuk AK, Hong K, et al. High resolution mapping of the binding site on human IgG1 for Fc gamma RI, Fc gamma RII, Fc gamma RIII, and FcRn and design of IgG1 variants with improved binding to the Fc gamma R. *J Biol Chem.* 2001; 276: 6591-604.

104. Vance Ban Huizinga TW, Wardwell K, Guyre PM. Binding of monomeric human IgG defines an expression polymorphism of Fc gamma RIII on large granular lymphocyte/natural killer cells. *J Immunol.* 1993; 151: 6429-39.

105. Hatjiharissi E, Xu L, Santos DD, et al. Increased natural killer cell expression of CD16, augmented binding and ADCC activity to rituximab among individuals expressing the Fc{gamma}RIIIa-158 V/V and V/F polymorphism. *Blood.* 2007; 110: 2561-4.

106. Van sorge NM, Van der Pol WL, Van de Winkel JG. FcgammaR polymorphisms: Implications for function, disease susceptibility and immunotherapy. *Tissue Antigens.* 2003; 61: 189-202.

107. Farag SS, Flinn IW, Modali R, Lehman TA, Young D, Byrd JC. Fc gamma RIIa and Fc gamma RIIa polymorphisms do not predict response to rituximab in B-cell chronic lymphocytic leukemia. *Blood.* 2004; 103: 1472-4.

108. Musolino A, Naldi N, Bortesi B, et al. Immunoglobulin G fragment C receptor polymorphisms and clinical efficacy of Trastuzumab-based therapy in patients with HER-2/neu-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2008; 26: 1789-96.

109. Bibeau F, Lopez-Crapez E, Di Fiore F, et al. Impact of Fc{gamma}RIIa-Fc{gamma}RIIIa polymorphisms and KRAS mutations on the clinical outcome of patients with metastatic colorectal cancer treated with cetuximab plus Irinotecan. *J Clin Oncol.* 2009; 27: 1122-9.

110. López-Albaitero A, Lee SC, Morgan S, et al. Role of polymorphic Fc gamma receptor IIIa and EGFR expression level in cetuximab mediated, NK cell dependent in vitro cytotoxicity of head and neck squamous cell carcinoma cells. *Cancer Immunol Immunother.* 2009; 58: 1853-64.

111. Taylor RJ, Chan SL, Wood A, et al. FcgammaRIIIa polymorphisms and cetximab induced cytotoxicity in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Immunol Immunother.* 2009; 58: 997-1006.

112. Fr.wikipedia.org/wiki/reaction_en_chaîne_par_polymérase.

113. Bon-Mardion N, Jacquot S, Clatot F, Dehesdin D, Choussy O. Evaluation de la fonction des cellules natural killer chez les patients présentant un carcinome épidermoïde des

voies aérodigestives supérieures en situation palliative, devant recevoir du cétuximab : une étude préliminaire. *Annales Française d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Pathologie Cervico-Faciale.* 2013; vol.130, n°4S :p.A108.

114. http://www.vidal.fr/Medicament/erbitux_5_mg_ml_sol_p_perf-79024-pharmacodynamie.htm

115. Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, Meredith RF, Bonner JA, and al. Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *Journal Of Clinical Oncolgy.* 2001; 19(13): 3234-43.

116. Gancz D, Fishelson Z. Cancer resistance to complement-dependent cytotoxicity (CDC): Problem-oriented research and development. *Mol Immunol.* 2009; 46: 2794-800.

117. Liu D, Niu ZX. The structure, genetic polymorphisms, expression and biological functions of complement receptor type I (CR1/CD35). *Immunopharmacol Immunotoxicol.* 2009; 31:524-35.

118. Dechant M, Weisner W, Berger S, et al. Complement-dependent tumor cell lysis triggered by combinations of epidermal groth factor receptor antibodies. *Cancer Res.* 2008; 68: 4998-5003.

119. Bleeker WK, Lammerts Van Bueren JJ, Van Ojik HH, et al. Dual mode of action of a human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for cancer therapy. *J Immunol.* 2004; 173: 4699-707.

120. Kimura H, Sakai K, Arao T, Shimoyama T, Tamura T, Nishio K. Antibody-dependent cellular cytotoxicity of cetuximab against tumor cells with wild-type or mutant epidermal growth factor receptor. *Cancer Sci.* 2007; 98: 1275-80.

121. Sampson JH, Crotty LE. Lee S, et al. Unarmed, tumor-specific monoclonal antibody effectively treats brain tumors. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97: 7503-8.

122. Gonzàlez FM, Vargas JA, Lòpez-Cortijo C et al. Prognostic significance of natural killer cell activity in patients with laryngeal carcinoma. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg.* 1998; 124(8): 852-6.

123. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011; 144: 646-74.

124. Duray A, Demoulin S, Hubert P, Delvenne P, Saussez S. Immune suppression in head and nack cancers: a review. *Clin Dev Immunol.* 2010; 2010: 701657.

125. Beum PV, Mack DA, Pawluczkowycz AW, Lindorfer MA, Taylor RP. Binding of rituximab, trastuzumab, cetuximab, or mAb T101 to cancer cells promotes trogocytosis mediated by THP-1 cells and monocytes. *J Immunol.* 2008; 181: 8120-32.

126. Pasquies A. Etudes FCR-VADS – Rôle des polymorphismes des gènes des récepteurs FcgammaRIIa et Fcgamma RIIIa dans l'activité du cetuximab utilisé dans le traitement palliatifs des cancers des voies aéro-digestives supérieures. *Thèse de médecine – Université Bordeaux 2 Victor Segalen.* 2010 : 1-54.

127. Wheeler SE, Suzuki S, Thomas SM, Sen M, Leeman-Neill RJ and al. Epidermal growth factor receptor variant III mediates head and neck cancer cell invasion via STAT3 activation. *Oncogene.* 2010; 29(37): 5135-45.

128. Vermorken JB, Trigo J, Hitt R, et al. Open-label, uncontrolled, multicenter phase II study to evaluate the efficacy and toxicity of cetuximab as a single agent in patients with recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck who failed to respond to platinum-based therapy. *J Clin Oncol.* 2007; 25: 2171-7.

129. Chung CH, Mirakhur B, Chan E, Le QT, Berlin J and al. Cetuximab-induced anaphylaxis and IgE specific for galactose-alpha-1,3-galactose. *N Engl J Med*. 2008; 358: 1109-17.

130. De Ram C, Ferrari-Lacraz S, Jendly S, Schneiter G, Dayer JM and Villard J. The proinflammatory cytokines IL-2, IL-15 and IL-21 modulate the repertoire of mature human natural killer cell receptors. *Arthritis Res Ther.* 2007; 9(6): R125.

131. Luwor RB, Johns TG, Murone C, Huang HJS, Cavenee WK and al. Monoclonal antibody 806 inhibits the growth of tumor xenografts expressing either the de2-7 or amplified epidermal growth factor receptor (EGFR) but not wild-type EGFR. *Cancer Res.* 2001; 61: 5355.

132. Yang W, Wu G, Barth RF, Swindall MR, Bandyopadhyaya AK and al. Molecular targeting and treatment of composite EGFR and EGFRvIII-positive gliomas using boronated monoclonal antibodies. *Clin Cancer Res.* 2008; 14(3): 883-91.

133. Jiang H, Wang H, Tan Z, Hu S, Wang H and al. Growth suppression of human hepatocellular carcinoma xenografts by monoclonal antibody CH12 directed to Epidermal Growth Factor Receptor variant III. *The Journal of Biological Chemistry.* 2011; 286: 5913-20.

Cette thèse a été rédigée à l'aide et en complément de la thèse pour le diplôme d'état de docteur en médecine de Nicolas Bon-Mardion « Le polymorphisme des gènes des récepteurs FcγRIIIa et FcγRIIa peut-il constituer un biomarqueur prédictif de l'efficacité clinique du cetuximab dans les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures ? », soutenue en 2011 à la faculté de médecine de Rouen. Cette dernière a été elle-

même rédigée à l'aide des travaux contenus dans le mémoire de stage de Master 1 (Méthode moléculaires en génétique médicale : application au cancer) de David Jague, intitulé « Impact of FCGR2A and FCGR3A polymorphisme on the clinical outcome of patients with head and neck cancer treated by cetuximab », rédigé en 2010 dans le service du professeur Jean-Christophe Sabourin au CHU de Rouen et soutenu à la faculté de pharmacie de Rouen la même année.

ANNEXE A1-2015

Protocole de manipulation

Protocole rédigé et utilisé par David Jague lors des manipulations en laboratoire du stage de Master 1 dans le service du professeur Jean-Christophe Sabourin du CHU de Rouen.

Principe of RecoverAll™ Total Nucleic Acid Isolation Kit Protocol (Ambion®):

Elimination de la paraffine :



1. Mettre 1ml de xylène à 100% dans un tube eppendorf de 1,5ml (le xylène permet de dissoudre la paraffine qui est un inhibiteur de PCR).

2. Etape de macro-dissection : gratter à l'aide d'un scalpel stérile la coupe de paraffine à l'endroit précis choisi de Tissu Normal (TN). La portion grattée doit être placée dans le xylène précédemment préparé. *Attention : le xylène est une substance toxique. A utiliser seulement sous zone ventilée pour protéger le personnel.*





3. Mélanger brièvement au vortex avant de centrifuger l'échantillon pendant 2min à vitesse maximale.



4. Retirer le surnageant à l'aide de pipette à cône simple puis à cône effilé. Puis laver l'échantillon en ajoutant 1ml d'éthanol à 100% (le xylène étant lui-même un inhibiteur de PCR).



5. Mélanger brièvement au vortex avant de centrifuger l'échantillon pendant 2min à vitesse maximale.

6. Retirer le surnageant à l'aide de pipette à cône simple puis à cône effilé.

7. Répéter les points 5, 6 et 7 (pour faire un second lavage à l'éthanol).

8. Mettre à sec le culot en plaçant l'échantillon à l'étuve pour une durée de 30min.

Digestion par protéase :



1. Ajouter 200µl de Tampon de digestion par échantillon.

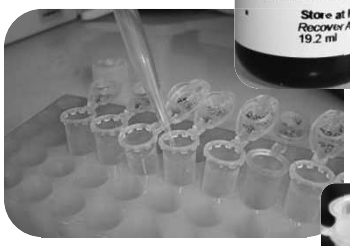
2. Ajouter 4µl de solution de Protéase par échantillon.

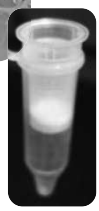
3. Mélanger brièvement au vortex.

4. Laisser incuber pendant 16h à une température de 50°^{c}.

Isolation des Acides Nucléiques et purification finale :







1. Short spin (pour éviter les aérosols en ouvrant le tube).

2. Ajouter 240µl d'*Isolation Additive* puis 550µl d'éthanol à 100% dans chaque échantillon avant de mélanger brièvement au vortex.

3. Pour chaque échantillon, placer un filtre *Cartridge* dans les tubes appropriés.

4. Pipeter 700µl de la mixture échantillon/éthanol et l'introduire dans le filtre avant de refermer le tube.



5. Centrifuger 30sec à 10000g

6. Jeter le filtrat (tout en conservant bien le filtre).

7. Répéter les points 4, 5 et 6.





8. Ajouter 700µl de solution nommée *Wash 1* dans le filtre puis centrifuger 30sec à 10000g avant de vider le filtrat dans la poubelle.

9. Ajouter 500µl de solution nommée *Wash 2/3* dans le filtre puis centrifuger 30sec à 10000g avant de vider le filtrat dans la poubelle.

10. Centrifuger une dernière fois pendant 1min à vitesse maximale.

11. Transférer le filtre *Cartridge* dans un nouveau tube propre.

12. Eluer avec 60µl d'eau PPI (Pour Préparation Injectable) à déposer au centre du filtre puis attendre 1min.



13. Centrifuger pendant 1min à vitesse maximale et jeter le filtre.

Dosage spectrophotométrique de la quantité d'ADN obtenue (hors protocole) :

1. Prélever 3µl d'éluât de chaque échantillon à placer dans des tubes eppendorf (ainsi qu'un tube d'eau PPI pour calibrer le blanc).

2. Faire les lectures à 260nm (correspondant à l'absorbance de l'ADN) ainsi qu'à 280nm (correspondant à l'absorbance des protéines) pour en faire le rapport A (260nm) / A (280nm) qui doit s'approcher de 2.



3. Le spectrophotomètre donnera par la suite la quantité d'ADN détectée exprimée en ng/µl.

4. Imprimer les résultats et remplir une feuille d'extraction qui sera archivée par la suite *(annexe 2)*.



5. Etiqueter chaque tube avec les mentions : BH 00.00000 *(Numéro de l'échantillon)*, TN *(Tissu Normal)*, EXT *(Extraction)*, DJ *(Initiales du manipulateur)*, JJ/MM/AAAA *(Date)* et la quantité d'ADN trouvée au spectrophotomètre *(Exprimé en ng/µl)*.

6. Fermer les tubes et les conserver à une température de -20°C.

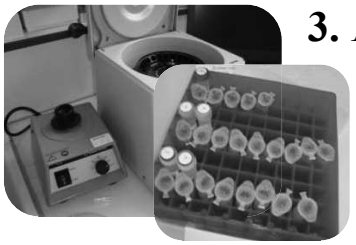
PCR.



Etape à effectuer dans une pièce spécifique de préparation à la PCR avec une maîtrise de la qualité de l'air (sans contamination).

1. Imprimer la feuille de PCR (*annexe 3*) (x échantillons + y témoins + 1 blanc + **1**)

2. Sortir les tubes d'échantillons de *Qiagen multiplex PCR master mix,* d'H_2O et de Tampon *Q5X* du réfrigérateur à 4°^{c}. (La réserve étant à -20°^{C}). Sortir les amorces FCGR2A/FCGR3A du congélateur.

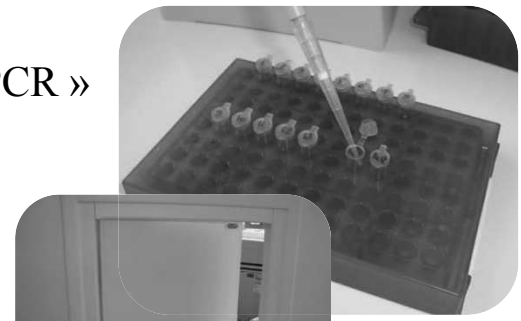


3. *Important :* Après chaque sorties du congélateur, passer au vortex puis faire un short spin (sauf concernant les enzymes).

4. Faire des aliquotes de chaque constituants pour éviter les contaminations générales.

5. Préparer le mélange « 10X Primer mix » selon la feuille de PCR.

6. Préparer le « Mix PCR » pour 10 réactions, c'est-à-dire un mélange de Qiagen 2X (bouchon rouge) + Tampon 5X (bouchon vert) + « 10X Primer Mix » dans les proportions indiquées sur la feuille PCR.



7. Préparer x tubes PCR avec 20µl de « Mix PCR » précédemment préparé.



8. Après avoir quitté la pièce confinée, sortir du congélateur mes échantillons d'ADN extrait.

9. Numéroter chaque tube PCR puis remplir le dos de la feuille PCR avec les numéros d'échantillon correspondants.



10. Passer au vortex les échantillons d'ADN fraîchement sorti du congélateur avant de leur faire un short spin.

11. Ajouter dans les tubes 5µl d'ADN des différents échantillons (patients et/ou témoins) (rien ne sera ajouté dans le « blanc »).

12. Fermer chaque tube.

13. Lancer la PCR selon les conditions décrites sur cette feuille PCR.



Migration sur gel d'agarose suivit de la purification

Préparation du gel

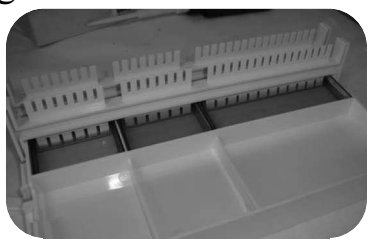
1. Peser 3,00g d'agarose dans un erlenmeiher (pour obtenir un gel à 3%).

2. Ajouter 100ml de TBE 1X (Tris/ Borate / EDTA).

3. Chauffer 3min au micro-onde (en recouvrant d'un bécher).

4. Ajouter 10µl de BET (Bromure d'EThydium) puis mélanger.

5. Couler le gel sans oublier d'ajouter les portoirs et les peignes qui formeront les puits.



Préparation des échantillons

1. Récupérer les échantillons de la machine PCR.



2. Short spin.

3. Ajouter 2,5µl ($^{1}/_{10}^{ème}$ du volume) de témoin de migration (Bleu de bromophénol / Bleu de xylène-cyanol) qui va encadrer l'ADN des échantillons.

Migration sur gel

1. Plonger la plaque de gel dans le tampon de migration (TBE 1X).

2. Injecter l'ADN dans les puits ainsi que le marqueur de taille ΦX174 (dans un puits distinct mais proche des échantillons).

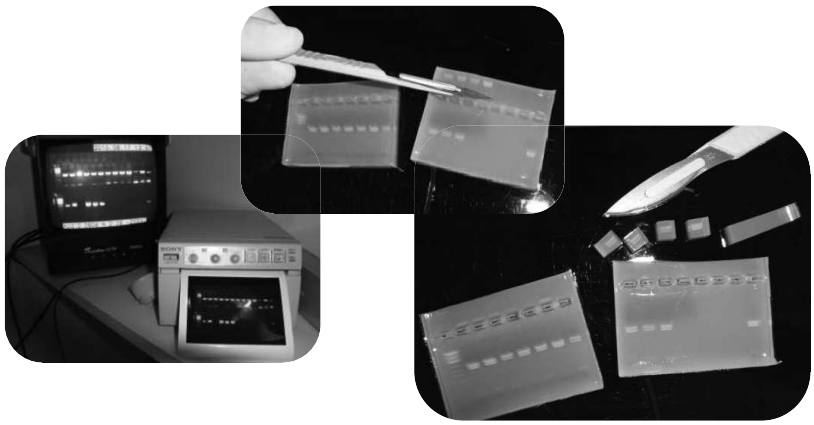
3. Brancher l'appareil de migration et le régler sur 100 Volts (Attendre la migration durant 20min).



Révélation

1. Révéler la plaque aux UV.

2. Prendre une photo.



3. Découper les différentes régions de migration (formation de 2 bandes distinctes) puis les mettre en tube eppendorf.

NucleoSpin® Extract II

Purification (avec digestion de l'agarose)

1. Ajouter 600µl de tampon NT (du kit NucleoSpin Extract II) dans chaque tube et les placer dans un bain-marie sec pendant 30min.



2. Sortir les amorces et l'enzyme de SNaPshot du congélateur à -20°C.

3. Préparer x tubes avec filtres. (x = nombre d'échantillons + 1 blanc).

4. Sortir les échantillons du bain-marie puis passer au vortex avant de faire un short spin.

5. Prélever 600µl d'échantillon à déposer sur le filtre puis centrifuger 1min à 11000g avant de vider le filtrat.

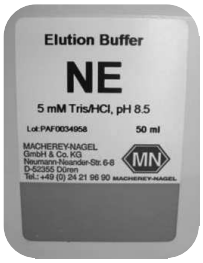
6. Prélever le reste d'échantillon à déposer sur le filtre puis centrifuger 1min à 11000g avant de vider le filtrat.





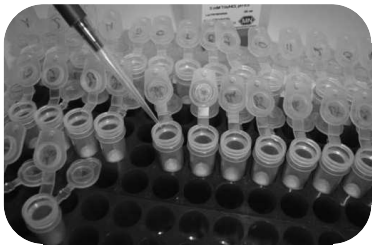
7. Ajouter 600µl de tampon de lavage « *Wash buffer NT3* » puis centrifuger 1min à 11000g avant de vider le filtrat.

8. Nouvelle centrifugation pendant 2min à 11000g.



9. Préparer de nouveaux tubes eppendorf en y ajoutant les filtres récupérés.

10. Ajouter 50µl de tampon d'élution « *NE* » (ne pas centrifuger tout de suite, passer à l'étape suivante).



SNaPshot suivi de sa purification

1. Imprimer la feuille de SNaPshot (*annexe 4) :*

Mix SNaPshot (nombre de réactions) : x ADN + 1 blanc PCR + 1 blanc SNaPshot **+ 1**.

Purification (nombre de réactions) : 2x ADN + 2 blancs PCR + 2 blancs SNaPshot **+ 1**.



2. Passer les amorces au vortex puis faire un short spin.

3. Préparation des *« amorces FCGR 3A-158F 10X »* et des *« amorces FCGR2A-131R/FCGR3A-158R 10X »* selon la feuille de SNaPshot.

4. Passer ces amorces au vortex puis faire un short-spin après avoir nommé ces tubes.

5. Préparer en parallèle les 2 *Mix SNaPshot* (sans les échantillons) :

1er : H_2O (aliquoté préalablement)

2ème : Tampon 5X (frigo)

3ème : SNaPshot multiplex ready reaction mix (à sortir pile à l'instant de la préparation puis ranger aussitôt au réfrigérateur)

6. Homogénéiser à la pipette (aspirer-relarguer).

7. Centrifuger 1min les différents échantillons à 11000g pour les éluer.

8. Préparer les tubes PCR (nombre = 2x échantillons + 2 blancs PCR + 2 blancs SNaPshot).



9. Remplir chaque tube :

1er : Echantillon (Forward + Reverse)

2ème : Mix SNaPshot

10. Lancer la machine PCR sur le programme SNaPshot (pour une durée de 40min)

11. Ranger :

Amorces → congélateur

Enzyme de SNaPshot → congélateur

Echantillons → congélateur

Tampon 5X → réfrigérateur

Sortir :

Tampon 10X SAP (10X RX Buf)

Attendre 40min

12. Passer le tampon 10X SAP au vortex puis faire un short-spin.

13. Préparer le *Mix de purification* selon la feuille :

1er : H_2O

2ème : Tampon 10X

3ème : SAP (enzyme au congélateur à sortir juste pour la préparation)

14. Récupérer les tubes du SNaPshot et leur faire un short spin.

15. Y ajouter 5µl du mix préparé (homogénéiser à l'aide de la pipette).

16. Lancer la machine PCR sur le programme « *Purification* ».

Attendre 1h16min

Mini-séquençage

1. Sortir les échantillons de la machine PCR et faire un short spin.

2. Préparer le mélange GS120LIZ + Formamide (+4°C) (*Attention le marqueur de taille GS120LIZ ne doit pas être exposé à la lumière*).

	/ puits en µl	**Pour 32 puits en µl**
GS120LIZ	0,5	16
Formamide	10	320
Echantillon	1	

Attention : le nombre de puits doit être facteur de 16 car un run de séquençage correspond à 16 puits.

3. Prendre une plaque de séquençage au réfrigérateur et y ajouter dans chaque puits 1µl d'échantillon.

4. Passer au vortex le mélange GS120LIZ/Formamide et en ajouter 10µl dans chaque puits.

5. Recouvrir la plaque d'une feuille d'aluminium avant de la centrifuger pendant 1 min à 1000rpm.

6. 3min à 95°C dans l'appareil PCR (*Attention ne pas refermer le couvercle de l'appareil*). Programme « Dénat ».

7. Utiliser le logiciel *Foundation Data collection V 3.0.* et créer un dossier.

8. Installer la plaque dans l'appareil :

_ Ajout du tapis après avoir retiré l'aluminium.

_ Mettre la plaque dans support.

_ Appuyer sur « tray » de l'appareil.

_ Installer la plaque et refermer.

10. Lancer le *Run.*

Analyse du mini-séquençage

1. Mettre en route le logiciel *Gene Mapper V 4.0.*

2. Analyse visuelle des pics de mini-séquençage :

G C A T

1er pic: FCGR2A	Forward:	Rien		
	Reverse:	TT	TC	CC
2ème pic: FCGR3A	Forward:	TT	TG	GG
	Reverse:	AA	AC	CC

→ Le résultat sera toujours exprimé en Forward.

Interprétation des courbes

Les résultats des polymorphismes ont pu être exprimés en pourcentage à partir des courbes de SNaPshot. En effet, grâce aux « aires sous la courbe » ces pourcentages ont été calculés en fonction du nucléotide détecté par le séquenceur.

Un patient est dit homozygote lorsque le pourcentage de son nucléotide majoritaire dépasse 75%, sinon il est dit hétérozygote.

UNIVERSITÉ DE ROUEN

UNIVERSITE de ROUEN
Faculté de Médecine et de Pharmacie

SERMENT DE GALIEN

Je jure 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 et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma Profession.

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 méprisé de mes Confrères si je manque à mes engagements.



JAGUE David

Impact du polymorphisme des récepteurs FcγRIIA et FcγRIIIA couplé à la fonctionnalité des cellules Natural Killer sur la réponse clinique des patients atteints de carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures, traités par Cetuximab.

Th. D. Pharm., Rouen, 2015, 131 p.

RESUME

Le carcinome épidermoïde des voies aéro-digestives supérieures (CE VADS) est un cancer à forte incidence dans le monde mais surtout en France. L'utilisation de la thérapie ciblée sur ce type de cancer se montre très prometteuse notamment avec le cetuximab (Erbitux®), un anticorps monoclonal chimérique qui cible l'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor). Cependant, seuls 10 à 20% des patients présentent une réponse favorable au traitement sans qu'il n'existe de biomarqueur prédictif de réponse.
Faisant partie de la famille des anticorps, le cetuximab va induire la destruction des cellules cibles par l'intermédiaire du mécanisme ADCC (Antibody Dependant Cell Cytotoxicity) : par sa fraction Fab le cetuximab se lie à l'EGFR, et par sa fraction Fc se lie aux macrophages et/ou cellules Natural Killer par l'intermédiaire des récepteurs FcγRIIa et FcγRIIIa. Ces protéines présentent chacune un polymorphisme au sein de leurs gènes respectifs FCGR2A et FCGR3A contribuant à une affinité modifié des cellules effectrices pour le cetuximab selon des études *in vitro* préliminaires. L'objectif de ce travail est d'étudier l'impact de ces polymorphismes *in vivo* couplé à la fonctionnalité des cellules Natural Killer.

Matériel et méthodes : Etude rétrospective multicentrique préliminaire incluant des patients porteurs de CE VADS traités dans les centres oncologiques de Caen et Rouen entre 2006 et 2011. Vingt-huit patients ont été inclus dont 14 présentant des tumeurs localement avancées et traités en curatif par du cetuximab en association à de la radiothérapie externe (C_{xb}C+RT), et 14 autres traités en palliatif pour des CE VADS récidivants et/ou métastasés (C_{xb}P) par du cetuximab en monothérapie ou en association concomitante à des sels de platine. Une détermination des polymorphismes des gènes FCGR2A et FCGR3A a été effectuée sur chacun des patients de l'étude. Une évaluation des réponses au traitement a été faite via les critères RECIST en analysant les réponses au traitement sur les lésions cibles et non cibles ainsi que les survies globales et sans progression.
Enfin, une analyse complémentaire sur la fonctionnalité qualitative et quantitative des cellules Natural Killer de 15 personnes (patients atteint de CE VADS et témoins) a été pratiquée.

Résultats : Il existait une diminution significative du génotype homozygote FCGR3A-158V chez les patients du groupe C_{xb}P par rapport à la population générale. Aucun impact du polymorphisme FCGR2A n'a pu être établi avec la réponse au traitement. En revanche, les patients homozygotes FCGR3A-158F et hétérozygotes FCGR3A-V158F présentaient un meilleur contrôle des lésions cibles et non cibles, ainsi qu'une amélioration significative de la survie globale (*p=0.008*) et de la survie sans progression (*p=0.005*) dans le groupe C_{xb}C+RT.
Un dysfonctionnement qualitatif et/ou quantitatif des cellules Natural Killer a pu être observé dans près de 63% des patients atteint de CE VADS contrairement aux patients témoins ne présentant aucun dysfonctionnement.

Conclusion : L'ADCC est un mécanisme qui semble accessoire en cas d'association de la thérapie ciblée à la radiothérapie. Il peut devenir prépondérant en association avec une chimiothérapie, ou lorsque le cetuximab est administré en monothérapie, par activation des cellules Natural Killer via FcγRIIIa. Le polymorphisme FCGR3A sous forme FF ou VF de chaque patient traité en curatif pourrait dans ce cadre, constituer un biomarqueur prédictif pour l'instauration ou la prolongation du traitement par cetuximab afin d'éviter au mieux les effets secondaires du traitement pour des patients non répondeurs, et de maîtriser les coûts en Santé Publique. Mais l'évaluation du dysfonctionnement des cellules Natural Killer chez les patients atteints de CE VADS ajoute un biais à cette étude et pourrait également démontrer une nouvelle approche sur l'existence d'un autre facteur prédictif important sur la réponse au cetuximab. Le polymorphisme du gène FCGR2A ne semble pas associé à l'efficacité clinique du cetuximab dans le cadre des CE VADS.

MOTS CLES : Carcinome Epidermoïde des voies aéro-digestives supérieurs ; Cetuximab ; FcγRIIa et FcγRIIIa ; Natural Killer ; ADCC (cytotoxicité dépendante des anticorps)

JURY

Président : Pr FAVENNEC Loïc (Professeur de parasitologie, PU-PH)

Membres : Pr SABOURIN Jean-Christophe (Directeur de thèse, docteur en médecine)
Pr VERITE Philippe (Co-directeur de thèse, professeur de chimie analytique)
Mr PHILIBERT Vincent (Directeur production chez Aspen Pharmacare)
Dr LAMY Aude (Docteur en biologie moléculaire)

DATE DE SOUTENANCE : 10 juillet 2015