



HAL
open science

Les essais paniers : une nouvelle approche d'essais cliniques dans la thérapie du cancer

Manon Chauvet

► **To cite this version:**

Manon Chauvet. Les essais paniers : une nouvelle approche d'essais cliniques dans la thérapie du cancer. Sciences pharmaceutiques. 2018. dumas-01961898

HAL Id: dumas-01961898

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01961898>

Submitted on 20 Dec 2018

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.

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTE DE
PHARMACIE DE MARSEILLE

LE 18 DECEMBRE 2018

PAR

Manon CHAUVET

Née le 12 novembre 1989 à CLAMART

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE :

**LES ESSAIS PANIERS :
UNE NOUVELLE APPROCHE D'ESSAIS CLINIQUES DANS
LA THERAPIE DU CANCER.**

JURY :

Président : Professeur Joseph CICCOLINI

Membres : Docteur Mohamed CHEFROUR

Docteur Marie-Louise MORTAIN

THESE

PRESENTEE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTE DE
PHARMACIE DE MARSEILLE

LE 18 DECEMBRE 2018

PAR

Manon CHAUVET

Née le 12 novembre 1989 à CLAMART

EN VUE D'OBTENIR

LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

TITRE :

LES ESSAIS PANIERS :

**UNE NOUVELLE APPROCHE D'ESSAIS CLINIQUES DANS
LA THERAPIE DU CANCER**

JURY :

Président : Professeur Joseph CICCOLINI

Membres : Docteur Mohamed CHEFROUR

Docteur Marie-Louise MORTAIN

27 Boulevard Jean Moulin – 13385 MARSEILLE Cedex 05
Tel. : 04 91 83 55 00 – Fax : 04 91 80 26 12

ADMINISTRATION :

<i>Doyen :</i>	Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
<i>Vice-Doyens :</i>	M. Jean-Paul BORG, M. François DEVRED, M. Pascal RATHELOT
<i>Chargés de Mission :</i>	Mme Pascale BARBIER, M. David BERGE-LEFRANC, Mme Manon CARRE, Mme Caroline DUCROS, Mme Frédérique GRIMALDI
<i>Conseiller du Doyen :</i>	M. Patrice VANELLE
<i>Doyens honoraires :</i>	M. Jacques REYNAUD, M. Pierre TIMON-DAVID, M. Patrice VANELLE
<i>Professeurs émérites :</i>	M. José SAMPOL, M. Athanassios ILIADIS, M. Jean-Pierre REYNIER, M. Henri PORTUGAL
<i>Professeurs honoraires :</i>	M. Guy BALANSARD, M. Yves BARRA, Mme Claudette BRIAND, M. Jacques CATALIN, Mme Andrée CREMIEUX, M. Aimé CREVAT, M. Bernard CRISTAU, M. Gérard DUMENIL, M. Alain DURAND, Mme Danielle GARÇON, M. Maurice JALFRE, M. Joseph JOACHIM, M. Maurice LANZA, M. José MALDONADO, M. Patrick REGLI, M. Jean-Claude SARI
<i>Chef des Services Administratifs :</i>	Mme Florence GAUREL
<i>Chef de Cabinet :</i>	Mme Aurélie BELENGUER
<i>Responsable de la Scolarité :</i>	Mme Nathalie BESNARD

DEPARTEMENT BIO-INGENIERIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe PICCERELLE

PROFESSEURS

BIOPHYSIQUE	M. Vincent PEYROT M. Hervé KOVACIC
GENIE GENETIQUE ET BIOINGENIERIE	M. Christophe DUBOIS
PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE, BIOPHARMACIE ET COSMETIQUE	M. Philippe PICCERELLE

MAITRES DE CONFERENCES

BIOPHYSIQUE

M. Robert GILLI
Mme Odile RIMET-GASPARINI
Mme Pascale BARBIER
M. François DEVRED
Mme Manon CARRE
M. Gilles BREUZARD
Mme Alessandra PAGANO

GENIE GENETIQUE ET BIOTECHNOLOGIE

M. Eric SEREE-PACHA
Mme Véronique REY-BOURGAREL

PHARMACIE GALENIQUE, PHARMACOTECHNIE INDUSTRIELLE,
BIOPHARMACIE ET COSMETOLOGIE

M. Pascal PRINDERRE
M. Emmanuel CAUTURE
Mme Véronique ANDRIEU
Mme Marie-Pierre SAVELLI

NUTRITION ET DIETETIQUE

M. Léopold TCHIAKPE

A.H.U.

THERAPIE CELLULAIRE

M. Jérémy MAGALON

ENSEIGNANTS CONTRACTUELS

ANGLAIS

Mme Angélique GOODWIN

DEPARTEMENT BIOLOGIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Philippe CHARPIOT

PROFESSEURS

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE

M. Philippe CHARPIOT

BIOLOGIE CELLULAIRE

M. Jean-Paul BORG

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE

Mme Françoise DIGNAT-GEORGE
Mme Laurence CAMOIN-JAU
Mme Florence SABATIER-MALATERRE
Mme Nathalie BARDIN

MICROBIOLOGIE

M. Jean-Marc ROLAIN
M. Philippe COLSON

PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET
ZOOLOGIE

Mme Nadine AZAS-KREDER

MAITRES DE CONFERENCES

BIOCHIMIE FONDAMENTALE, MOLECULAIRE ET CLINIQUE	Mme Dominique JOURDHEUIL-RAHMANI M. Thierry AUGIER M. Edouard LAMY Mme Alexandrine BERTAUD Mme Claire CERINI Mme Edwige TELLIER M. Stéphane POITEVIN
HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	Mme Aurélie LEROYER M. Romaric LACROIX Mme Sylvie COINTE
MICROBIOLOGIE	Mme Michèle LAGET M. Michel DE MEO Mme Anne DAVIN-REGLI Mme Véronique ROUX M. Fadi BITTAR Mme Isabelle PAGNIER Mme Sophie EDOUARD M. Seydina Mouhamadou DIENE
PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE MEDICALE, HYGIENE ET ZOOLOGIE	Mme Carole DI GIORGIO M. Aurélien DUMETRE Mme Magali CASANOVA Mme Anita COHEN
BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne-Catherine LOUHMEAU

A.H.U.

HEMATOLOGIE ET IMMUNOLOGIE	M. Maxime LOYENS
----------------------------	------------------

DEPARTEMENT CHIMIE PHARMACEUTIQUE

Responsable : Professeur Patrice VANELLE

PROFESSEURS

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine BADENS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Philippe GALLICE
CHIMIE MINERALE ET STRUCTURALE – CHIMIE THERAPEUTIQUE	M. Pascal RATHELOT M. Maxime CROZET
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE	M. Patrice VANELLE M. Thierry TERME
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	Mme Evelyne OLLIVIER

MAITRES DE CONFERENCES

BOTANIQUE ET CRYPTOLOGIE, BIOLOGIE CELLULAIRE	Mme Anne FAVEL Mme Joëlle MOULIN-TRAFFORT
CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Catherine DEFOORT M. Alain NICOLAY Mme Estelle WOLFF Mme Elise LOMBARD Mme Camille DESGROUAS
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. David BERGE-LEFRANC M. Pierre REBOUILLON
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Sandrine FRANCO-ALIBERT Mme Caroline DUCROS M. Marc MONTANA Mme Manon ROCHE
CHIMIE ORGANIQUE PHARMACEUTIQUE HYDROLOGIE	M. Armand GELLIS M. Christophe CURTI Mme Julie BROGGI M. Nicolas PRIMAS M. Cédric SPITZ M. Sébastien REDON
PHARMACOGNOSIE, ETHNOPHARMACOLOGIE, HOMEOPATHIE	M. Riad ELIAS Mme Valérie MAHIOU-LEDDET Mme Sok Siya BUN Mme Béatrice BAGHDIKIAN

MAITRES DE CONFERENCE ASSOCIES A TEMPS PARTIEL (M.A.S.T.)

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	Mme Anne-Marie PENET-LOREC
CHIMIE PHYSIQUE – PREVENTION DES RISQUES ET NUISANCES TECHNOLOGIQUES	M. Cyril PUJOL
DROIT ET ECONOMIE DE LA PHARMACIE	M. Marc LAMBERT
GESTION PHARMACEUTIQUE, PHARMACOECONOMIE ET ETHIQUE PHARMACEUTIQUE OFFICINALE, DROIT ET COMMUNICATION PHARMACEUTIQUES A L'OFFICINE ET GESTION DE LA PHARMAFAC	Mme Félicia FERRERA

A.H.U.

CHIMIE ANALYTIQUE, QUALITOLOGIE ET NUTRITION	M. Mathieu CERINO
--	-------------------

ATER

CHIMIE ANALYTIQUE	M. Charles DESMARCHELIER
CHIMIE THERAPEUTIQUE	Mme Fanny MATHIAS

DEPARTEMENT MEDICAMENT ET SECURITE SANITAIRE

Responsable : Professeur Benjamin GUILLET

PROFESSEURS

PHARMACIE CLINIQUE	Mme Diane BRAGUER M. Stéphane HONORÉ
PHARMACODYNAMIE	M. Benjamin GUILLET
TOXICOLOGIE GENERALE	M. Bruno LACARELLE
TOXICOLOGIE DE L'ENVIRONNEMENT	Mme Frédérique GRIMALDI

MAITRES DE CONFERENCES

PHARMACODYNAMIE	M. Guillaume HACHE Mme Ahlem BOUHLEL M. Philippe GARRIGUE
PHYSIOLOGIE	Mme Sylviane LORTET Mme Emmanuelle MANOS-SAMPOL
TOXICOCINETIQUE ET PHARMACOCINETIQUE	M. Joseph CICCOLINI Mme Raphaëlle FANCIULLINO Mme Florence GATTACECCA
TOXICOLOGIE GENERALE ET PHARMACIE CLINIQUE	M. Pierre-Henri VILLARD Mme Caroline SOLAS-CHESNEAU Mme Marie-Anne ESTEVE

A.H.U.

PHARMACIE CLINIQUE	M. Florian CORREARD
PHARMACOCINETIQUE	Mme Nadège NEANT

CHARGES D'ENSEIGNEMENT A LA FACULTE

Mme Valérie AMIRAT-COMBRALIER, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Pierre BERTAULT-PERES, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Marie-Hélène BERTOCCHIO, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Martine BUES-CHARBIT, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Nicolas COSTE, Pharmacien-Praticien hospitalier

Mme Sophie GENSOLLEN, Pharmacien-Praticien hospitalier

M. Sylvain GONNET, Pharmacien titulaire

Mme Florence LEANDRO, Pharmacien adjoint

M. Stéphane PICHON, Pharmacien titulaire

M. Patrick REGGIO, Pharmacien conseil, DRSM de l'Assurance Maladie

Mme Clémence TABELLE, Pharmacien-Praticien attaché

Mme TONNEAU-PFUG, Pharmacien adjoint

M. Badr Eddine TEHHANI, Pharmacien – Praticien hospitalier

M. Joël VELLOZZI, Expert-Comptable

Mise à jour le 22 février 2018

Au Professeur Joseph CICCOLINI,

Je vous remercie d'avoir accepté de présider mon jury de thèse. C'est un grand honneur pour moi, puisque c'est grâce à vous si j'ai pu participer à la recherche contre le cancer, au sein d'une équipe de chercheurs fantastiques en Floride. Cette équipe et vous-même, m'avez fait découvrir ce qu'est la médecine personnalisée en cancérologie ; un nouveau paradigme révolutionnaire et passionnant qui m'a inspirée ce sujet de thèse.

Au Docteur Mohamed CHEFROUR,

Je vous remercie de siéger parmi mon jury de thèse. Recevez ici ma plus haute considération.

A ma meilleur amie, le Docteur Marie-Louise MORTAIN,

Je suis très heureuse que tu puisses participer à mon jury de thèse. Tu as toujours été là pour moi dans les moments les plus importants comme aujourd'hui. Dans quelques mois ce sera à moi d'être là pour toi, en tant que témoin de ton mariage. Merci pour ce rôle si important que tu m'accordes, c'est pour moi un très grand gage de confiance et d'amitié.

A ma famille,

Vous m'avez soutenue jusqu'au bout dans ces études. La route était longue mais elle en valait la peine !

A ma sœur Aurore,

Sache que pour moi tu es un être exceptionnel. Ton courage, ta force et ta combativité face à cette maladie est un exemple pour nous tous. Le crabe ne sait pas à qui il s'est frotté et il a du souci à se faire.

A Raffaele,

Je te remercie de partager ma vie et d'être là pour moi au quotidien. Si j'ai réussi à avancer et aller au bout de ce travail c'est en partie grâce à toi.

A mon fils,

Tu illumines ma vie de joie et de bonheur. Tu es ma plus grande fierté et ma plus grande source de motivation.

***« L'UNIVERSITE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI
IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES. CES OPINIONS
DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEURS AUTEURS. »***

LES ESSAIS PANIERS :
UNE NOUVELLE APPROCHE D’ESSAIS CLINIQUES DANS
LA THERAPIE DU CANCER.

I.	Introduction.....	1
II.	Histoire de la recherche dans le cancer	2
	A. Le cancer, une maladie des gènes	2
	B. La recherche en cancérologie : un nouveau paradigme	7
	1. Définitions de la médecine personnalisée, de la pharmacogénomique somatique et des biomarqueurs	8
	a) La médecine personnalisée : le bon médicament pour le bon patient, au bon moment.....	8
	(1) Comprendre et surmonter l’hétérogénéité tumorale.....	17
	(a) Evolution clonale et hétérogénéité tumorale.....	17
	(b) La biopsie liquide.....	24
	(i) Analyse de l’ADNtc.....	25
	(ii) Analyse des CTCs	33
	(iii) Nouvelles stratégies thérapeutiques prenant en compte l’hétérogénéité tumorale.....	41
	b) La pharmacogénomique somatique	49
	c) Les biomarqueurs	51
	(1) Les biomarqueurs du cancer	51
	(a) Les biomarqueurs prédictifs, déterminant l’accès à une thérapie ciblée.....	52
	2. Les traitements d’oncologie de précision : Le bon traitement au bon patient	55
	a) Les thérapies ciblées	59

b)	L'immunothérapie spécifique	62
c)	Exemples de Biomarqueurs prédictifs de réponse, donnant accès à un traitement d'oncologie de précision	74
(1)	Le statut <i>BCR-ABL</i> dans la leucémie myéloïde chronique et la leucémie lymphoblastique aigüe	75
(2)	Le statut <i>EGFR</i> dans le cancer colorectal et le cancer bronchique non à petites cellules	81
III.	Essais cliniques classiques versus essais paniers (vers un nouveau paradigme des essais cliniques)	111
A.	Généralités sur les essais cliniques en oncologie	111
B.	Les nouveaux essais cliniques d'oncologie de précision	114
C.	Les essais paniers	116
1.	Essais paniers en France	119
a)	Le Programme Acsé	120
(1)	Etude Acsé Crizotinib NCT02034981	121
(2)	Etude Acsé Vémurafénib NCT02304809	122
(3)	Etudes Acsé Immunothérapie et Cancers Rares	122
b)	Etude VE-BASKET NCT01524978	125
c)	Etude CREATE NCT01524926	126
d)	Etude STARTRK-2 NCT02568267	127
e)	Etude SUMMIT NCT01953926	128
f)	Etude KEYNOTE-028 NCT02054806	130
2.	Essais paniers aux Etats-Unis	131
a)	Etude SIGNATURE	132
b)	Etude NAVIGATE NCT02637687	134
3.	Conceptions plus complexes des essais paniers	135
4.	Avantages et inconvénients des essais paniers	135

IV. Conclusion et perspectives	137
LISTE DES ABREVIATIONS.....	140
BIBLIOGRAPHIE.....	145

I. Introduction

Le cancer est la deuxième cause de mortalité dans le monde et la première en France. Le cancer est également très coûteux pour les collectivités. C'est pour ces raisons que la recherche en cancérologie doit être une priorité. Grâce à la recherche génomique et aux avancées technologiques comme le séquençage à haut débit, de nouvelles découvertes sur le cancer ont été cruciales et ont permis d'améliorer notre compréhension des mécanismes à l'origine de la cancérogenèse et de reconsidérer le cancer comme une maladie du génome, multifactorielle, très complexe et très hétérogène. Le Projet Génome Humain a contribué de manière importante à ce changement de paradigme, puisque ces résultats ont permis aux scientifiques d'identifier les anomalies moléculaires à l'origine de chaque tumeur, connues sous le nom de biomarqueur, et de découvrir l'hétérogénéité entre des tumeurs d'apparence similaire. Le cancer est dorénavant défini par ces altérations moléculaires et non par sa localisation. Cette nouvelle classification du cancer a remis en question les stratégies de traitement pour le soigner passant ainsi de l'ère du soin à taille unique à l'ère du traitement personnalisé. La médecine personnalisée est aujourd'hui l'une des voies les plus prometteuses en cancérologie. Plusieurs actions ont été mises en place pour soutenir les principes de la médecine personnalisée, notamment en France, avec le troisième plan cancer, en Europe, avec le programme de recherche et d'innovation Horizon 2020, et aux Etats-Unis, avec l'initiation de médecine personnalisée. Avec l'arrivée de la médecine personnalisée, de nouvelles approches thérapeutiques basées sur la signature moléculaire ont émergé et il a donc fallu adapter les essais cliniques pour évaluer ces nouveaux traitements. En effet, il paraît délicat de tester ces nouvelles thérapies de précision avec des essais cliniques classiques, basés sur l'histopathologie tumorale et développés pour évaluer des traitements non ciblés, dans un panel assez large de patients non sélectionnés. C'est pourquoi, de nouvelles approches d'essais cliniques basées sur les biomarqueurs ont dû être conçues pour évaluer les nouveaux traitements avec une plus grande efficacité opérationnelle, et relever les défis de la fragmentation moléculaire croissante du cancer. Les essais cliniques novateurs comprennent notamment les essais paniers, basés sur les biomarqueurs prédictifs de réponse à une thérapie, et qui évaluent une thérapie de précision dans des tumeurs, indépendamment de leur histologie.

Ce travail de thèse a débuté en 2016, lorsque les études paniers n'en étaient qu'à leurs prémices. Aujourd'hui, en 2018, des résultats préliminaires de ces études commencent à être publiés et

sont extrêmement prometteurs pour l'oncologie de précision. Afin de comprendre le concept des essais paniers au plus juste, il est important de bien saisir les notions de base. C'est pourquoi, mon travail de thèse consiste d'abord à expliquer et à définir ces notions que sont, la médecine personnalisée, la pharmacogénomique somatique, qui aide à mieux comprendre quelles variations génétiques déterminent les réponses aux thérapies de précision, ainsi que les biomarqueurs, qui sont la pierre angulaire sur laquelle repose la médecine personnalisée. J'ai également trouvé important de développer les différentes thérapies de précision disponibles aujourd'hui en oncologie, puis d'illustrer mes propos par deux exemples de biomarqueurs prédictifs de réponse à un traitement d'oncologie de précision : le statut *BCR-ABL* dans la leucémie myéloïde chronique et la leucémie lymphoblastique aigüe ; et le statut *EGFR* dans le cancer colorectal et le cancer bronchique non à petites cellules. Pour finalement expliquer en quoi consiste cette nouvelle approche d'essais cliniques dans le cancer, quels sont ses avantages et ses défis par rapport aux essais cliniques classiques et en quoi les premiers résultats de ces études paniers sont très convaincants quant à leur efficacité à identifier de nouveaux traitements.

II. Histoire de la recherche dans le cancer

A. Le cancer, une maladie des gènes

En 2015, le cancer a tué 8,8 millions de personnes dans le monde, ce qui en fait la deuxième cause de mortalité derrière les pathologies cardiovasculaires [1]. Le cancer est la première cause de mortalité en France, avec 399 500 nouveaux cas diagnostiqués en 2017. Le cancer du poumon a la mortalité la plus forte (30 991), suivi par le cancer colorectal (17 684) et le cancer du sein (11 883). Le cancer coûte. Il coûte pour la vie humaine mais également pour la Collectivité Française. 17 milliards d'euros sont dépensés chaque année par la France pour combattre cette maladie du siècle. Toutes ces raisons font que la recherche en cancérologie doit être une priorité [2].

« *Les racines du cancer sont dans nos gènes.* » Cette phrase du Professeur Robert Weinberg du Massachusetts Institute of Technology de Boston, est aujourd'hui au cœur de la recherche en cancérologie [2].

En effet, les scientifiques ont découvert que ce sont des mutations génétiques qui étaient à l'origine des cellules cancéreuses et qui les faisaient fonctionner anormalement, se développant rapidement et devenant ainsi hors de contrôle. Le cancer résulte alors de l'accumulation d'altérations génétiques, modifiant l'activité de gènes bien spécifiques, impliqués dans le contrôle de la prolifération, de la différenciation, de la senescence cellulaire, de la réparation de l'ADN ou de l'apoptose [3].

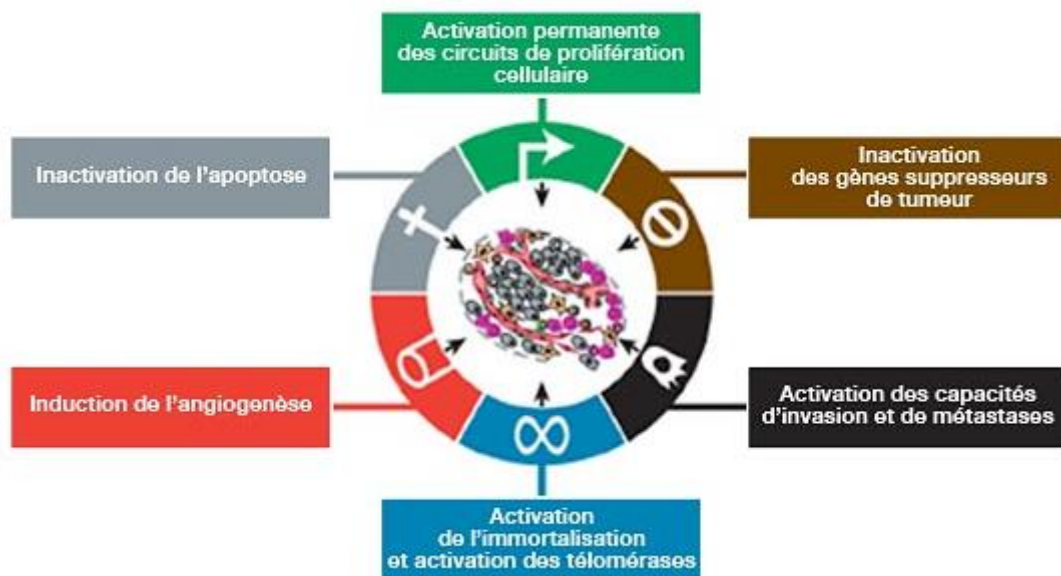


Figure 1. Les voies de la cancérisation [4].

Ces gènes spécifiques sont appelés oncogènes, gènes suppresseurs de tumeurs et gènes de réparation de l'ADN.

Les oncogènes régulent et influencent la croissance et la division cellulaire. Lorsqu'un oncogène est activé, suite à des lésions dans l'ADN des cellules, il commande la synthèse d'oncoprotéines qui stimulent la division cellulaire et déclenchent une prolifération désordonnée des cellules. C'est ainsi que se développe une cellule cancéreuse [5]. C'est donc l'activation des oncogènes qui favorise la survenue de cancers.

Plusieurs dizaines d'oncogènes ont été décrits, dont le gène *MYC* codant pour le facteur de transcription MYC qui régule l'expression d'environ 15% des gènes [6].

Les gènes suppresseurs de tumeurs agissent en sens inverse des oncogènes. Leur activation empêche la prolifération cellulaire. Lorsque des mutations désactivent ces gènes, ils ne jouent plus leur rôle de frein face à une croissance cellulaire anormale, et les cellules peuvent alors croître de manière incontrôlable. Leur inactivation n'empêchant plus la prolifération cellulaire, cela favorise donc la survenue des cancers. Certains gènes suppresseurs de tumeurs sont inactivés de façon spécifique dans certains cancers. C'est le cas des gènes *BRCA1* et *BRCA2*, dont le rôle est largement connu dans les cancers du sein et de l'ovaire, ou du gène *APC* dans le cancer du côlon. D'autres gènes suppresseurs de tumeurs sont moins spécifiques et peuvent être inactivés dans de nombreux types de tumeurs, c'est le cas du gène *TP53*.

Le cancer peut donc résulter soit de l'expression des oncogènes stimulant ainsi la division des cellules et leur prolifération, soit de l'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs ne les régulant plus.

Les gènes de réparation de l'ADN ont quant à eux, le rôle de détecter et réparer les lésions de l'ADN afin de prévenir tout état anormal. Un organisme humain adulte contient environ un million de milliards de cellules vivantes et chaque jour, une cellule subit des milliers de lésions. En effet, notre ADN est en permanence confronté aux activités intrinsèques à la cellule et à des facteurs externes environnementaux, pouvant porter atteinte à son intégrité comme les rayons du soleil, l'alimentation ou le tabagisme. Ces lésions peuvent être inoffensives ou provoquer des dommages, de sorte que la cellule ne peut plus se reproduire ou donner naissance à des cellules filles viables. C'est pourquoi, les organismes vivants sont équipés d'un double système de maintenance, chargé de réparer les erreurs de production de l'usine cellulaire. Un premier mécanisme répare les brins d'ADN altérés et un second est chargé de détruire les cellules non conformes ou de les contraindre au suicide par apoptose. Dans la majorité des cas, ce système de contrôle qualité assure parfaitement son rôle et garantit ainsi la stabilité du génome pour que celui-ci continue de fonctionner normalement [6]. Cependant, il arrive qu'une très petite minorité de ces altérations échappent aux gendarmes de l'organisme et que la cellule soit altérée de façon à développer une capacité améliorée à croître ou à survivre. Cette cellule primordiale, née à la suite d'une succession de mutations, devient immortelle, se divise, et donne naissance à une petite tumeur qui grossit puis se diffuse dans l'organisme en empruntant les vaisseaux

sanguins. C'est donc une succession d'erreurs non corrigées qui fait du cancer la « *maladie génétique la plus courante* », selon les termes du professeur Michael Stratton de la fondation britannique Wellcome Trust [2].

Les altérations génétiques qui peuvent entraîner le cancer sont de trois sortes.

La première sorte d'altérations génétiques est constituée des SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms), qui sont des mutations ponctuelles où un seul nucléotide de base du code génétique (A, C, G et T) est modifié par un autre. Cette mutation peut entraîner le gène à produire une protéine anormale, il s'agit alors d'une mutation « faux-sens ». Elle peut également empêcher le gène de produire une protéine. Cette mutation est alors appelée « non-sens ».

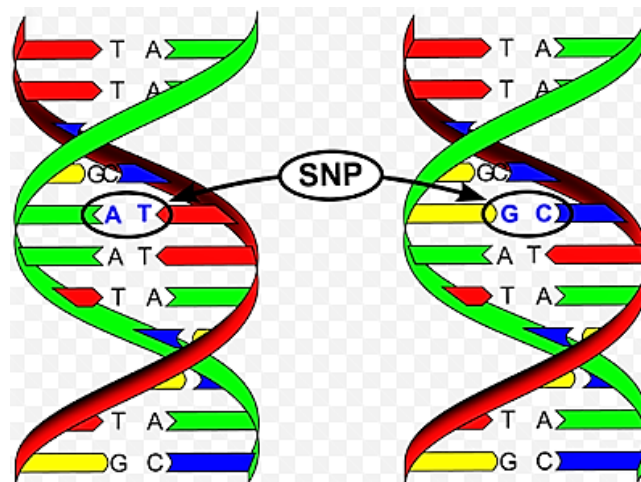


Figure 2. Les mutations ponctuelles, SNPs [7].

La deuxième sorte d'altérations génétiques est une variation du nombre de copies d'un gène (CNV). Contrairement aux SNP, les CNVs sont des altérations quantitatives. Nous avons habituellement deux copies identiques de chaque gène. Lorsqu'une de ces copies ou les deux sont perdues, on parle de suppression. Lorsqu'il existe plus que deux copies d'un gène, on parle d'amplification. Les SNPs comme les CNVs peuvent activer un oncogène ou désactiver un gène suppresseur de tumeur.

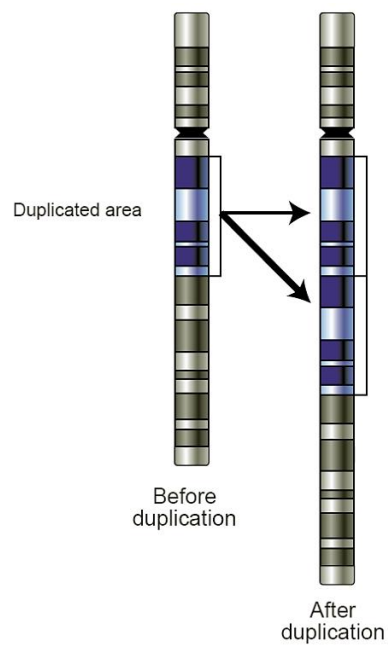


Figure 3. Les mutations quantitatives, CNVs [8].

Enfin, la troisième sorte d'altérations génétiques est d'ordre structurelle. Lorsqu'un chromosome est cassé, ses segments peuvent se réarranger ou s'échanger avec d'autres segments d'un autre chromosome, on parle de translocation ou d'inversion s'il s'agit du même chromosome. Le chromosome est alors modifié et des fonctions nouvelles entières peuvent apparaître et chambouler l'intégrité du génome [6].

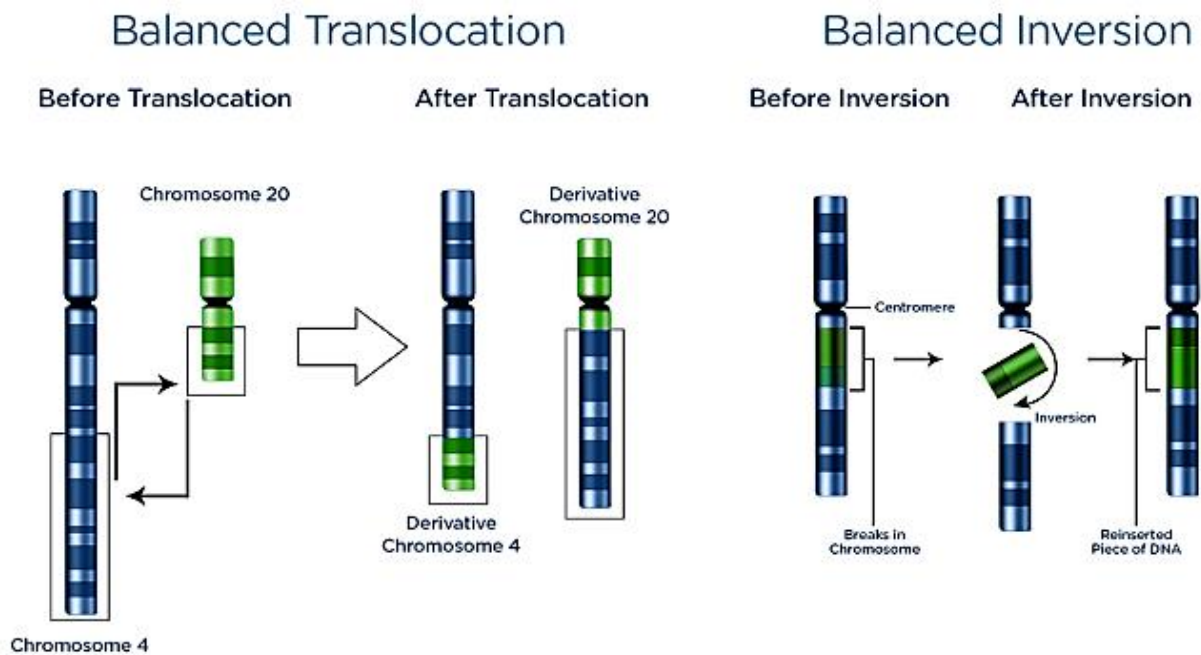


Figure 4. Exemples de mutations génétiques structurales [9].

Le cancer est une maladie du génome multifactorielle, très complexe et très hétérogène. Notre compréhension des aberrations génomiques, transcriptionnelles, protéomiques, épigénétiques et des mécanismes immunitaires en cancérogenèse a pu être améliorée et ceci grâce aux avancées technologiques dans le séquençage à haut débit et à la recherche génomique de cette dernière décennie [10].

B. La recherche en cancérologie : un nouveau paradigme

« La recherche en cancérologie a connu ces dernières années une phase d'accélération passionnante, et a révolutionné l'approche que nous avons de la maladie. » [2]. Les nouvelles avancées dans la recherche en cancérologie ont été rendues possibles en particulier grâce à l'évolution des techniques de séquençage de l'ADN.

Le Projet Génome Humain, projet de recherche international démarré dans les années 1990, a notamment beaucoup contribué à cette évolution. Il avait pour but le séquençage complet du

génomique humaine et l'identification de tous les gènes [6]. Il s'est achevé en 2003 grâce au travail d'un consortium international, et a permis de séquencer les 3 milliards de paires de bases de l'ADN humain et d'identifier l'ensemble de nos gènes (environ 20 500). Les résultats de ce projet ont permis aux scientifiques d'identifier les anomalies moléculaires à l'origine de chaque tumeur, connues sous le nom de biomarqueur, et de découvrir l'hétérogénéité entre des tumeurs d'apparence similaire [11]. Cette percée est à l'origine du nouveau paradigme dans la recherche sur le cancer. En effet, les cancers peuvent dorénavant être définis par leurs altérations moléculaires et cette vraie révolution a permis de reconsidérer la classification des cancers. Auparavant, les cancers étaient définis selon leur site d'origine et leur histologie à l'aide de la classification TNM (Tumor Node Metastasis Classification), où T représente le diamètre de la tumeur principale, N la présence de nodules régionaux et M les métastases distantes. Pour les chercheurs et les cliniciens, la croyance était que tous les cancers dérivant d'un même site ou organe étaient biologiquement similaires et qu'ils se distinguaient juste par leur grade histopathologique. Mais ces nouvelles données issues de la recherche génomique changent la donne et montrent que non seulement deux cancers issus du même organe peuvent être moléculairement très éloignés mais que deux cancers avec deux sites d'origine différents peuvent avoir une signature génomique commune. Cette nouvelle compréhension de la maladie a remis en question les stratégies de traitement pour soigner le cancer afin qu'ils soient plus précis. Nous sommes donc passés d'une ère où les soins étaient à taille unique « one-size-fits-all » à l'ère des traitements personnalisés.

1. Définitions de la médecine personnalisée, de la pharmacogénomique somatique et des biomarqueurs

a) La médecine personnalisée : le bon médicament pour le bon patient, au bon moment

Définition de la médecine personnalisée :

Selon la FDA : « *La médecine personnalisée peut être considérée comme l'adaptation d'un traitement médical aux caractéristiques individuelles, besoins et préférences d'un patient à toutes les étapes de soins, y compris la prévention, le diagnostic, le traitement et le suivi.* »

Selon l'UE : « *La médecine personnalisée est un modèle médical utilisant la caractérisation des phénotypes et des génotypes (p. Ex. profilage moléculaire, imagerie médicale, données de style de vie) pour adapter la bonne stratégie thérapeutique à la bonne personne au bon moment et/ou déterminer la prédisposition à la maladie, ou de fournir une prévention ciblée et opportune.* »

Selon le NIH : « *La médecine personnalisée est une forme de médecine qui utilise des informations sur les gènes, les protéines et l'environnement d'une personne pour prévenir, diagnostiquer et traiter les maladies.* »

La médecine personnalisée est une des voies les plus prometteuses en cancérologie. Grâce à la médecine personnalisée, la prise en charge des patients atteints de cancer est en pleine transformation. La médecine personnalisée est une médecine qui prend en compte de façon individuelle, les spécificités génétiques et biologiques mais aussi environnementales, qui influencent la progression de la tumeur de chaque patient. Elle permet d'adopter la meilleure stratégie thérapeutique ainsi qu'une meilleure prévention et un meilleur suivi des patients pour augmenter leur survie. Elle va alors éviter aux patients des traitements défigurants et toxiques inutiles et améliorer leur qualité de vie. Concrètement, elle se traduit par la prescription parmi plusieurs options thérapeutiques existantes, d'une thérapie de précision, choisie en fonction d'un biomarqueur prédictif de réponse. Il ne s'agit pas de développer un médicament pour chaque patient car cela est utopique, mais plutôt d'identifier des sous-groupes de patients qui présentent les mêmes particularités génétiques tumorales et qui pourraient répondre au même traitement. Cette approche est plus justement appelée « médecine stratifiée ». En effet, même si le terme « médecine personnalisée » semble plus attractif et plus fédérateur pour les professionnels de santé et les patients, il ne fait pas l'unanimité car il peut être mal interprété et laisser croire que des traitements uniques peuvent être développés pour chacun [12]. Plusieurs autres termes ont donc été proposés pour palier à cette confusion comme, « médecine de précision », « médecine sur-mesure » ou encore « médecine stratifiée » comme cité précédemment. C'est en 2012, que pour la première fois, le biologiste Leroy Hood définit cette nouvelle médecine comme « *une médecine **prédictive, préventive, proactive ou participative, et personnalisée*** » dite aussi médecine des **4P**. Elle se veut **prédictive** car grâce à la recherche, nous avons acquis une meilleure connaissance et une meilleure compréhension du cancer et des mécanismes moléculaires impliqués dans sa progression. Il est aujourd'hui possible d'identifier les biomarqueurs susceptibles de détecter la prédisposition d'un individu pour certaines

maladies et de prédire avec précision quel individu va développer la maladie, et quelle va être sa réponse au traitement [13]. Grâce à la prédiction, la médecine se veut de plus en plus **préventive** et à terme, elle pourra intervenir avant même que la maladie ne se déclare, grâce à de nouvelles approches thérapeutiques, notamment la détection des individus à risque par des tests de diagnostic. Elle se veut également **participative** à l'aide de nouveaux outils et plateformes en ligne, qui permettent aux patients d'avoir accès à des informations concernant leur maladie, leur mode de vie, leur comportement, afin qu'ils contrôlent leur santé et qu'ils puissent gérer au mieux leur maladie. Enfin, cette nouvelle médecine est également **personnalisée** par l'intermédiaire de nouveaux traitements plus spécifiques à chacun, avec de moins en moins d'effets indésirables.

Pour pouvoir personnaliser les thérapies en oncologie, il faut d'abord que le temps d'analyse du génome des cellules tumorales soit techniquement compatible avec la prise en charge thérapeutique du patient. Cela est possible grâce au séquençage à haut débit qui a rendu l'analyse de l'ADN, l'ARN et des protéines plus facile, plus rapide et moins coûteuse, ainsi qu'aux avancées de la bioinformatique qui permettent d'acquérir, d'analyser, de traiter et de stocker des millions de données moléculaires. Ces données moléculaires vont servir à caractériser le profil moléculaire complet de chaque tumeur et pourront aussi fournir de nouvelles pistes de recherche.

Compte-tenu de l'augmentation du coût de production des médicaments anticancéreux récents, de la diminution de mise sur le marché de nouveaux médicaments, et de la recherche constante d'une réduction des effets secondaires sévères et coûteux, les instances gouvernementales ont été poussées à soutenir les principes de la médecine personnalisée [12].

En France, le **troisième plan cancer 2014-2019** consacre l'un de ses 17 objectifs à conforter l'avance de la France dans la médecine personnalisée (objectif 6).

Les Plans Cancer 1 et 2 ont permis de développer 28 plateformes de génétique moléculaire partout en France, coordonnées par l'Institut National du Cancer (INCa), afin d'analyser le génome tumoral des patients atteints de cancer. Cependant, avec la recrudescence du nombre de patients, et un nombre de plus en plus croissant d'anomalies à rechercher ou de tumeurs à analyser pour guider le traitement, il y a aujourd'hui un fort besoin de raccourcir les délais pour une meilleure efficacité. Ce nouvel enjeu est celui du troisième plan cancer qui consiste à : *« renforcer le maillage territorial pour certaines zones insuffisamment couvertes, de s'assurer*

que l'ensemble des patients justifiant d'être adressés à une consultation spécialisée y ont bien recours et enfin d'améliorer les délais de réalisation des tests d'oncogénétique qui font l'objet d'une grande hétérogénéité selon le type de tests ou selon les laboratoires en charge de les réaliser. De même, les plateformes de génétique moléculaire assurant la recherche d'anomalies tumorales spécifiques pour guider les traitements doivent conforter leur place dans le droit commun du soin. Elles doivent également assurer l'évolution de leurs activités, des tests moléculaires uniques vers des tests multiples de séquençage ciblé ou de séquençage complet du génome. » [14].

Le but de ce plan vise à ce que tous les patients atteints de cancer puissent bénéficier d'une prise en charge personnalisée.

L'objectif du troisième Plan cancer va également être de « *déployer ces technologies de recherche à l'usage de tous les patients qui le nécessitent sur le territoire et d'apporter la démonstration qu'elles améliorent la survie globale des patients et leur qualité de vie.* » [14].

Cela se traduit par plusieurs actions menant à la mise en place d'infrastructures capables de générer des informations complètes sur les génomes tumoraux, afin de mettre à disposition de façon individualisée, des thérapies ciblées sur les mécanismes moléculaires à l'origine de la cancérisation. Ces infrastructures devront également démontrer l'impact positif de la médecine personnalisée sur la qualité de vie des patients et de leur survie, par l'intermédiaire d'essais cliniques évaluant ces nouvelles thérapies ciblées [14].

Qu'en est-il aujourd'hui de cet objectif ? Dans le quatrième rapport au Président de la République (Février 2018) [15], il est décrit que « *les conditions d'analyse complète du génome se mettent en place, et l'accès au dispositif d'oncogénétique et à l'immunothérapie est accru.* » En effet, 91% des patients nécessitant un test moléculaire ont pu y accéder avec un délai médian de 18 jours et sans disparité territoriale. Enfin, les 28 plateformes de génétique moléculaire précédemment mises en place, ainsi que les laboratoires d'oncogénétique sont passés aux techniques à haut débit avec la NGS (Next-Generation-Sequencing) en 2016. Ainsi, 34 000 tumeurs ont pu être analysées en 2016 contre 14 000 en 2015, soit 2,4 fois plus. En ce qui concerne l'immunothérapie, les inhibiteurs de points de contrôle sont devenus très prometteurs pour le traitement du cancer, avec notamment une efficacité clinique avérée, associée à une réponse durable dans différents sites de tumeurs. En exemple, le pembrolizumab qui a reçu une AMM et qui constitue maintenant un traitement de première ligne pour des patients adultes

atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules métastatiques dont plus de 50% de cellules tumorales expriment PD-L1.

Le plan Cancer 2014-2019 dévoue son objectif 5 à accélérer l'émergence de l'innovation au bénéfice des patients, ce qui est également très important pour le bon déroulement de la médecine personnalisée. Il consiste à « *amplifier l'effort en faveur de la recherche clinique en continuité avec la recherche translationnelle, de faire évoluer les dispositifs encadrant l'évaluation et la valorisation des nouveaux médicaments, et d'accélérer les processus de reconnaissance des actes innovants.* » [14]. Afin de réussir cet objectif, plusieurs actions ont été définies. Des bases de données doivent être créées et mises à disposition des chercheurs afin d'accélérer l'identification de nouveaux biomarqueurs. Il faut faciliter l'accès aux innovations thérapeutiques aux patients en les enrôlant dans des essais cliniques, ce qui contribuera également à faire avancer le progrès médical pour la collectivité. Le but étant d'inclure 50 000 patients dans des études cliniques d'ici 2019. Il est important que les patients prennent conscience que leur implication dans la recherche clinique est primordiale pour répondre à des questions concernant la survie et la réduction d'effets secondaires des nouvelles thérapies. Il faut pour cela que les patients soient bien informés des essais cliniques en cours, auxquels ils sont éligibles, et développer des centres d'essais précoces (CLIP²) partout en France pour que chaque patient ait accès aux innovations et à une prise en charge de qualité de manière équitable. Les essais cliniques doivent également s'adapter au nouveau paradigme des thérapies ciblées. Ils doivent reposer sur des hypothèses biologiques fortes, inclure moins de malades, mais plutôt des sous-groupes de patients partageant les mêmes altérations génétiques dans leur tumeur, indépendamment de leur histologie. Pour accélérer le développement des médicaments innovants afin de les rendre le plus rapidement accessibles aux patients, une réflexion nationale puis européenne doivent être engagées pour faire évoluer les critères d'évaluation des nouveaux médicaments anticancéreux.

D'après le quatrième rapport au Président de la République, une partie de ces actions a déjà été mise en œuvre. Le programme Acsé, dont je parle plus en détail dans le paragraphe « Les essais paniers en France » (§III.C.1.a)), comporte aujourd'hui un essai clinique dédié aux enfants, ainsi que deux nouveaux essais cliniques d'immunothérapie pour les patients atteints d'un cancer rare. Un fonds de financement de l'innovation pharmaceutique (FFIP) a été créé par la sécurité sociale en 2017 pour les médicaments sous ATU (Autorisation Temporaire d'Utilisation) et les médicaments innovants et onéreux pour des pathologies atypiques inscrits

sur la « Liste en sus ». Enfin, un appel à candidature a été publié par l'INCa pour le développement en France d'un programme d'Horizon Scanning qui consiste à identifier de façon précoce les innovations médicamenteuses et les biomarqueurs afin d'anticiper leurs éventuels conséquences sur les plans thérapeutique, économique, ainsi que sur l'organisation des soins.

Le programme de recherche et d'innovation de l'Union Européenne **Horizon 2020** comprend le défi sociétal 1 « Santé, Démographie, Bien-être » qui vise à apporter des solutions pour une meilleure santé pour tous, en intégrant efficacement la médecine personnalisée dans la clinique. La médecine personnalisée est une priorité de ce programme et l'objectif premier est d'améliorer la santé de tous. Les objectifs supplémentaires étant de faire de l'Europe, un leader mondial de la recherche en médecine personnalisée, d'en soutenir les bases en coordonnant la recherche, et de fournir des preuves aux instances politiques et réglementaires, que la médecine personnalisée a un impact positif dans les systèmes de santé [16].

Aux Etats-Unis, durant son discours sur l'Etat de l'Union en janvier 2015, le Président Barack Obama a lancé une Initiative de Médecine de Précision « **the Precision Medicine Initiative** ». Cette initiative a pour objectif à court terme, d'élargir la génomique du cancer, pour développer des meilleures méthodes de prévention et de traitement, et à plus long terme, d'établir une base de données scientifiques complète, par la création d'un réseau de scientifiques et l'étude d'une cohorte d'un million d'Américains pour mieux comprendre les mécanismes des maladies. La somme de 130 millions de dollars a notamment été attribuée au NIH (National Institute of Health) pour la mise en place de cette cohorte. De plus, afin d'identifier les altérations génomiques à l'origine de la tumorigenèse et d'utiliser ces nouvelles connaissances pour le développement de nouvelles thérapies plus efficaces contre le cancer, 70 millions de dollars ont été attribués au NCI (National Institute of Cancer) [17]. Dans le cadre de cette initiative nationale, le NCI a conçu et mis en place deux essais cliniques d'oncologie de précision, NCI-MPACT (Molecular Profiling-Based Affection of Cancer Therapy) et NCI-MATCH (Molecular Analysis for Therapy Choice) où le traitement sera sélectionné en fonction des anomalies génétiques, identifiées par le séquençage à haut débit dans une large gamme de tumeurs [18]. La somme de 10 millions de dollars a été déployée à la FDA pour améliorer le développement de bases de données de qualité pour soutenir la structure réglementaire nécessaire pour l'innovation de la médecine de précision. Enfin, 5 millions de dollars ont été alloués à l'ONC (Office of the National Coordinator for Health Information Technology) pour

soutenir le développement d'interopérabilité et d'exigences, pour des échanges sécurisés entre les systèmes, afin de préserver la vie privée des patients [17, 19, 20].

Comment la médecine personnalisée se met-elle en pratique ?

La médecine personnalisée va prendre en charge le patient dans sa globalité. Elle prend en compte la caractérisation génomique de la tumeur mais aussi les facteurs de risque propres à chaque patient. Il peut s'agir de facteurs de risque héréditaires, familiaux, d'antécédents de maladie, ou de facteurs de risques liés à son environnement et à ses habitudes de vie comme le tabagisme, l'alcool, l'alimentation non équilibrée ou le manque d'activité physique. Cela permet d'intégrer en plus d'une action thérapeutique, une action préventive en corrigeant certains facteurs de risque [21].

En pratique, la médecine personnalisée consiste à effectuer une biopsie de la tumeur du patient afin d'obtenir un échantillon tumoral. Le génome de cet échantillon est alors séquencé à l'aide de la NGS pour rechercher les anomalies génétiques. Une fois identifiées, ces anomalies génétiques sont comparées dans une base de données avec celles déjà répertoriées chez d'autres patients. Cette étape permet de mettre en lumière les mutations clefs (biomarqueurs) qui pourraient être à l'origine du processus de cancérisation de la tumeur. Si les conséquences de la mutation génétique sont connues et ciblables par une thérapie, alors la dernière étape consiste en la prescription de cette thérapie ciblée. Si la mutation ne fait pas encore l'objet d'un traitement à l'heure actuel, d'autres études doivent être réalisées.

La médecine personnalisée présente plusieurs avantages pour les patients, les médecins, la recherche, la collectivité et les industriels pharmaceutiques.

Pour les patients, la médecine personnalisée offre des traitements ciblés plus efficaces, ce qui leur évite de prendre inutilement des traitements inefficaces, non adaptés et le plus souvent toxiques. Leur chance de guérison se veut donc augmentée ainsi que leur qualité de vie. Cela est encore plus vrai pour les patients chez qui il n'existe pas ou plus de traitement disponible. C'est le cas des patients atteints de cancer rare, ou ceux dont la tumeur est devenue résistante à toutes les thérapies classiques disponibles. La médecine personnalisée leur donne la possibilité d'identifier des options thérapeutiques supplémentaires [22, 23].

La médecine personnalisée permet aux médecins de mieux prendre en charge et de mieux gérer la maladie de leurs patients. Grâce au profil génétique, ils peuvent ajuster plus finement leur

diagnostic et leur pronostic et ainsi choisir de prescrire la thérapie qui aura le plus de succès chez le patient. Les techniques mises en jeu dans la médecine personnalisée peuvent également mettre en lumière des marqueurs d'efficacité de traitements, utiles pour adapter la thérapie en cas de progression de la maladie ou d'éventuel développement de métastases. Mais la médecine personnalisée peut également agir sur la prévention des maladies en identifiant certaines prédispositions génétiques à risque. Les médecins peuvent alors éviter à leurs patients de développer un cancer en prenant des mesures soit médicales, soit en leur demandant d'arrêter certaines habitudes de vie néfastes. Enfin, la médecine personnalisée participe à l'amélioration de la compétence médicale par l'intermédiaire des actions de formation qu'elle nécessite [24, 25, 26].

La médecine personnalisée a besoin de la recherche autant que la recherche a besoin de la médecine personnalisée. La médecine personnalisée n'a été possible que grâce aux progrès scientifiques permis par la recherche médicale et translationnelle. En retour, la médecine personnalisée a suscité tellement d'espoir pour la recherche, que cette dernière a déployé et déploie toujours d'immenses efforts pour essayer d'élucider et de clarifier la complexité des mécanismes à l'origine du cancer. Ces efforts en faveur de la médecine personnalisée ont permis à la recherche de progresser dans la compréhension du cancer et d'acquérir de plus en plus de connaissances fondamentales et translationnelles dans ce domaine. La médecine personnalisée joue également un rôle important dans la recherche clinique puisqu'elle peut déterminer des sous-populations d'individus présentant les mêmes biomarqueurs dans leur tumeur, permettant le développement d'essais cliniques de précision.

Par la prescription de médicaments plus efficaces et mieux adaptés pour le patient, la médecine personnalisée a l'avantage de dispenser le médecin de tester sur le patient plusieurs traitements inutiles et nocifs, avant de trouver celui auquel le patient répondra bien. Cette phase de test est très coûteuse pour la collectivité, et en la supprimant, la médecine personnalisée réduit de façon importante ses coûts de santé [27, 28].

La médecine personnalisée est à l'origine de nouveaux marchés pour les industriels pharmaceutiques. Elle a créé de nouvelles opportunités de développement notamment avec les biomarqueurs, et les thérapies ciblées. Le développement des biomarqueurs est très intéressant et très prometteur pour les industries pharmaceutiques et les sociétés de biotechnologies. En effet, les biomarqueurs peuvent aider à la découverte de nouvelles cibles thérapeutiques et

sélectionner les patients qui seront les plus susceptibles de répondre au nouveau médicament en développement. La R&D des nouvelles thérapies ciblées se voudrait alors plus efficace et plus productive et les coûts diminueraient. De plus, les laboratoires pharmaceutiques et biotechnologiques peuvent compenser le fait que le marché des thérapies ciblées soit réduit aux seuls individus répondeurs, par le développement et la commercialisation de tests compagnons, identifiant le biomarqueur associé au médicament. Enfin, toutes les données génétiques générées par le séquençage des tumeurs dans le cadre de la médecine personnalisée, peuvent être exploitées financièrement par les industries pharmaceutiques pour mieux connaître le marché du médicament et gagner la bataille de l'information médicale. Le journaliste Charles Ornstein résume cela par la formule : « *Big Data + Big Pharma = Big Money* » [2, 26, 29].

Mais la médecine personnalisée est confrontée à plusieurs défis. Une des plus grosses limites de la médecine personnalisée est l'hétérogénéité intra-tumorale. En effet, une tumeur n'est pas composée de cellules identiques et uniformes. Elles n'ont pas toutes en leur sein les mêmes altérations génétiques. Ceci est problématique puisque la médecine personnalisée repose sur des thérapies ciblant ces altérations génétiques. Mais ce n'est pas tout. Comme disait le pathologiste en chef de l'hôpital Brigham and women's, Jeffery A. Golden : « *Le cancer est très intelligent.* ». C'est lorsque l'on croit avoir réussi la bataille contre le cancer avec de bons résultats thérapeutiques, que ce dernier mute et arrive à se frayer une autre voie pour progresser. On parle alors d'adaptation du cancer et de résistance secondaire au traitement. Un des moyens d'éviter l'adaptation du cancer et d'obtenir une réponse thérapeutique durable, est d'utiliser une combinaison de plusieurs traitements qui vont chacun agir sur des cibles différentes du cancer et l'attaquer sur tous les fronts. Il est également crucial de rechercher et comprendre quels sont les facteurs à l'origine de l'hétérogénéité tumorale et de la résistance, car une fois identifiés, ils pourraient faire l'objet de cible pour de nouveaux médicaments. Le cancer est très complexe, on pourrait croire qu'il suffit qu'un patient présente une altération moléculaire ciblable par une thérapie pour que ce dernier y soit répondeur. Mais ce n'est pas du tout le cas. La seule présence de l'anomalie génétique n'est pas suffisante pour savoir si le traitement sera efficace. Il faut également prendre en considération le contexte et le microenvironnement de la tumeur. Cela a été démontré pour les patients atteints d'un cancer colorectal muté *BRAF V600* qui ne répondaient pas du tout au vémurafénib, alors qu'il est efficace chez les patients présentant un mélanome métastatique avec la même mutation. Le seul moyen de prouver l'efficacité d'un traitement ciblé dans chaque type de tumeur où l'altération est retrouvée, est de mener de

nombreux essais cliniques adaptés aux principes de la médecine personnalisée, incluant des petits groupes de patients. Enfin, la mise en place de la médecine personnalisée dans le traitement de tous les cancers est un défi en soi. Sa mise en place est lente car elle repose sur des données scientifiques issues de la recherche qui doivent être suffisamment matures pour pouvoir proposer de nouveaux traitements. Des données matures ne sont disponibles aujourd'hui que pour quelques types de cancers seulement ; pour les autres, elles sont encore absentes. Le seul moyen de faire avancer la recherche efficacement et d'obtenir des données matures pour compléter l'arsenal thérapeutique dans les années à venir, est la collaboration de toutes les institutions de recherche. Elles doivent œuvrer ensemble pour trouver de nouvelles cibles et mettre plus rapidement à disposition des patients de nouveaux médicaments. Cela est d'autant plus vrai que l'étude d'un traitement sur une centaine de patients peut impliquer de nombreux sites de recherche avec seulement un ou deux patients par site [11]. De plus, prouver qu'une thérapie ciblée associée à un biomarqueur est efficace, n'est qu'une étape vers l'implémentation en clinique. Il faut également que l'identification de ce biomarqueur soit techniquement possible, et reproductible chez tous les patients et à un coût raisonnable [30].

(1) Comprendre et surmonter l'hétérogénéité tumorale

(a) Evolution clonale et hétérogénéité tumorale

Les traitements d'oncologie de précision ont considérablement amélioré les soins du cancer et la survie des patients au cours des dernières décennies. Mais malgré ces progrès, les patients développent très souvent une résistance à ces agents, ce qui mène le plus souvent à la rechute du patient, à la progression de sa maladie et in fine à son décès. Afin de combattre ces résistances thérapeutiques, il est important de bien comprendre quels sont les mécanismes moléculaires à l'origine de ces résistances. Le cancer est une maladie qui évolue de manière dynamique que ce soit dans l'espace et dans le temps. En effet, les cellules tumorales ont la capacité de se disperser dans le corps et de muter tout au long de la maladie, c'est ce qu'on appelle l'évolution clonale. L'évolution clonale a pour la première fois été décrite par Peter Nowell qui comparait les trajectoires évolutives complexes et ramifiées du cancer, à l'arbre de spéciation évolutif de Darwin [31, 32, 33].

Le processus d'évolution clonale du cancer est à l'origine de l'hétérogénéité tumorale. Au cours du développement du cancer, les cellules cancéreuses acquièrent diverses aberrations, soit passagères soit conductrices, et en raison de la sélection et de l'expansion clonale, plusieurs sous-clones génétiquement distincts peuvent émerger, ce qui aboutit à la coexistence de sous-populations distinctes de cellules tumorales de génotypes et de phénotypes différents ; soit au sein d'une même tumeur (hétérogénéité intra-tumorale) ; soit au sein de tumeurs différentes chez un même patient (hétérogénéité inter-tumorale). Ces nouveaux sous-clones dérivent de clones ancestraux et suivent soit un schéma d'évolution linéaire soit un schéma d'évolution ramifiée. Un schéma d'évolution linéaire est issu d'une dérive génétique aléatoire lorsque les nouveaux clones dominent les clones ancestraux, ce qui entraîne une tumeur relativement homogène. Un schéma d'évolution ramifiée comprend de multiples sous-clones qui présentent un avantage phénotypique dans un environnement particulier et évoluent simultanément vers l'hétérogénéité intra-tumorale [34, 35, 36, 37, 38].

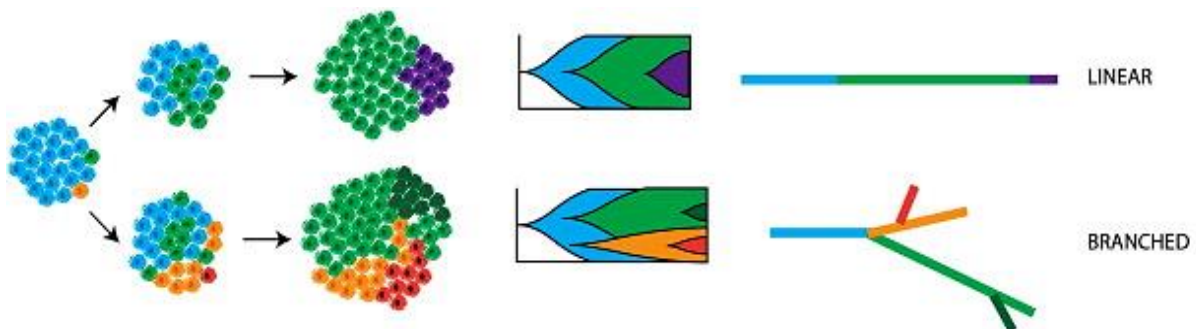


Figure 5. Evolution du cancer linéaire et ramifiée [34].

Les différents sous-clones diffèrent au niveau de la tumorigénicité, de la résistance aux traitements et de la capacité à générer des métastases. Ainsi, la diversité clonale confère à tous les cancers une architecture clonale complexe unique et est considérée comme une force motrice essentielle dans l'invasion du cancer, les métastases et la résistance des clones tumoraux au traitement. Cette hétérogénéité tumorale ne s'applique pas seulement aux cellules tumorales mais également aux composants du microenvironnement des cellules tumorales.

L'hétérogénéité tumorale peut être attribuée à un certain nombre de facteurs différents comme la dérive génétique et épigénétique favorisées par une instabilité génomique, l'influence de pressions de sélection externes comme un traitement médicamenteux mutagène, ainsi que de simples facteurs géographiques. L'hétérogénéité intra-tumorale d'une tumeur peut être décrite par un arbre tumoral phylogénétique, où les altérations présentes dans chaque cellule cancéreuse forment le tronc de l'arbre, et où les mutations sous-clonales présentes dans seulement un sous-ensemble de cellules cancéreuses constituent les branches de l'arbre. Ainsi, la prévalence des mutations sous-clonales peut être utilisée pour déduire la hiérarchie sous-clonale de la phylogénie de la tumeur. L'hétérogénéité intra-tumorale peut donc aider à reconstituer l'ordre temporel des événements mutationnels successifs qui se sont accumulés au cours de l'évolution d'une tumeur.

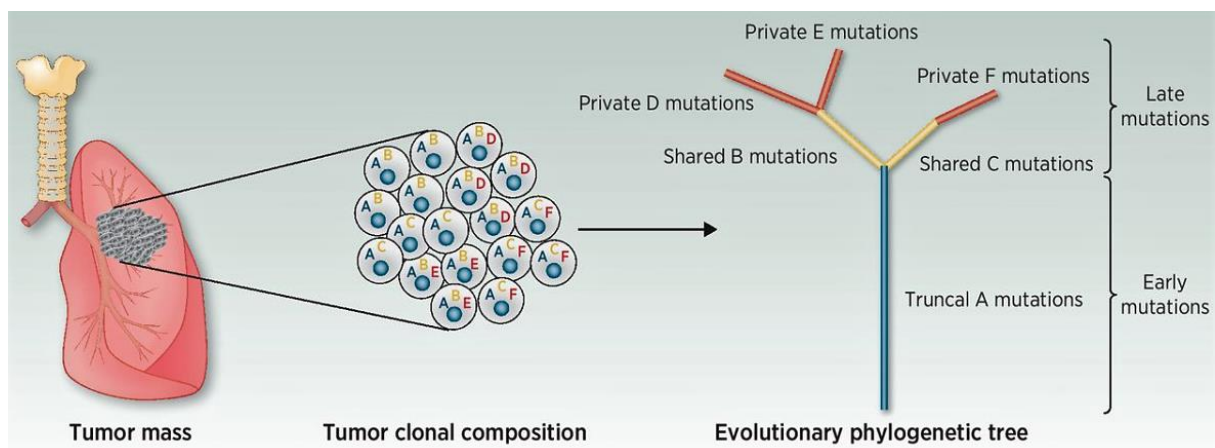


Figure 6. Exemple d'arbre tumoral phylogénétique [39].

L'hétérogénéité intra-tumorale contribue à la résistance et à l'échec des thérapies d'oncologie de précision chez les patients. En effet, les traitements de précision ciblent généralement des mutations précoces présentes dans toutes les cellules cancéreuses (clones) et dans toutes les lésions métastatiques. En éliminant de manière sélective les clones sensibles au traitement, il n'y a que les sous-clones résistants qui persisteront dans la tumeur qui pourront proliférer, évoluer et ensemercer de nouveaux foyers tumoraux susceptibles de ne pas répondre aux thérapies, menant ainsi à une maladie résistante. Ces sous-clones résistants peuvent être soit

déjà présents dans la tumeur avant le traitement, mais à une fréquence tellement basse qu'ils sont indétectables lors d'une analyse tumorale globale, soit ils peuvent apparaître au cours du traitement grâce à des mutations acquises *de novo* qui leur confèrent des avantages de survie et de croissance sous la pression du traitement [33, 34, 38, 40, 41, 42].

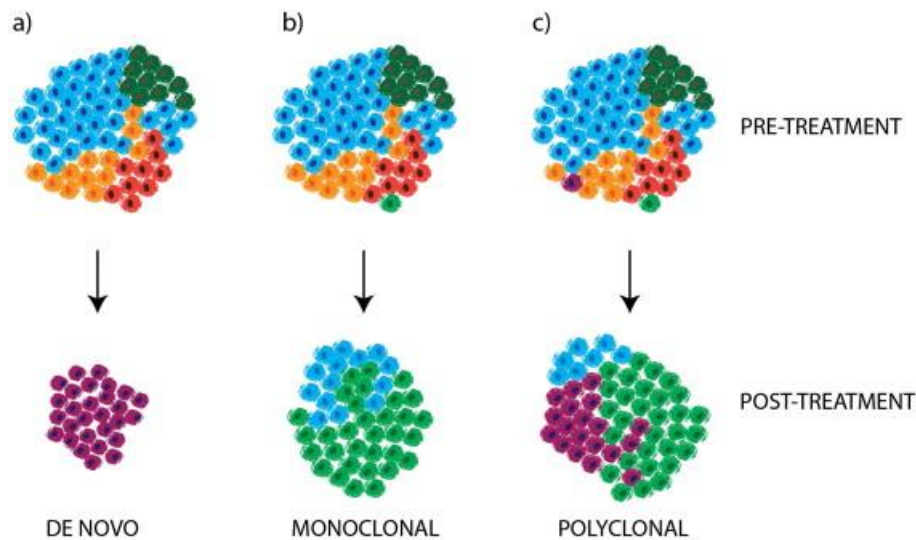


Figure 7. Evolution clonale et résistance aux médicaments [34].

La compréhension des mécanismes moléculaires de la résistance acquise aux traitements s'est améliorée grâce aux nouvelles technologies, notamment le séquençage de nouvelle génération, et aux études précliniques. Les thérapies d'oncologie de précision constituent donc une pression de sélection dans l'évolution de la tumeur et c'est pourquoi les mécanismes moléculaires de la résistance varient en fonction des propriétés thérapeutiques des médicaments. Dans le cas de thérapies d'oncologie de précision, le mécanisme de résistance implique souvent des mutations secondaires dans la cible comme la mutation T790M dans le cancer bronchique non à petites cellules, l'activation de voies de survie compensatoires, comme la voie MAPK réactivée chez le mélanome *BRAF* mutant, de modifications adaptatives des cellules, comme la perte de rétroaction négative qui régule la voie MAPK dans le cancer colorectal mutant *BRAF*, induite par le traitement anti-RAF, de l'évasion immunitaire, comme l'altération du gène *B2M* suite à une thérapie anti-PD-1. Enfin, la sélection positive de clones qui n'expriment pas la cible ainsi

que la sélection négative de la cible par des mécanismes épigénétiques sont également des mécanismes de résistance aux traitements anticancéreux. Il existe des mécanismes de résistance qui apparaissent couramment dans certains cancers due à la pression de sélection des médicaments. Par exemple, dans la leucémie myéloïde chronique mutée *BCR-ABL*, l'acquisition de mutations secondaires T315I et E255K dans le domaine ABL est très fréquente suite au traitement par imatinib. Dans les tumeurs gastro-intestinales mutées *cKIT* ou *PDGFRA* il est également courant que des mutations secondaires apparaissent dans le domaine kinase de cKIT après un traitement par imatinib ou sunitinib. Dans le cancer bronchique non à petites cellules muté *EGFR* et traité par géfitinib, la mutation T790M secondairement acquise dans la poche de liaison à l'ATP dans le domaine kinase de l'EGFR est très souvent responsable de la résistance thérapeutique. De même, les cancer du côlon mutés *EGFR* finissent par développer une résistance aux anticorps monoclonaux anti-EGFR suite à des mutations dans le gène *KRAS*. Enfin, dans le cancer du sein positif aux récepteurs à l'œstrogène, des mutations faux-sens dans le gène *ESR1* et qui favorisent une activité transcriptionnelle des récepteurs à l'œstrogènes alpha, apparaissent dans 15 à 20% des lésions métastatiques chez les patientes traitées par endocrinologie. Ces mutations, Y537S, Y537N, Y537C et D538G, représentent plus de 80% des anomalies dans le cancer du sein ER positif et résistants aux œstrogènes [43, 44].

La résistance acquise aux thérapies ciblées est presque universellement observée dans les maladies avancées et métastatiques. De plus, pour chaque thérapie donnée, plusieurs mécanismes de résistance hétérogènes peuvent émerger dans différents sous-clones, appelée résistance polyclonale. La résistance aux médicaments anticancéreux est un problème clinique majeur car la majorité des patients métastatiques développent finalement une multirésistance et succombent à leur maladie. Cependant, tout n'est pas perdu, car même si les multirésistances polyclonales semblent compliquer les stratégies thérapeutiques, une lueur d'espoir apparaît avec la convergence phénotypique. En effet, les même mécanismes de résistance sont détectés de façon assez récurrente comme nous l'avons vu précédemment. Cela suggère que dans le cas des thérapies d'oncologie de précision, les cellules tumorales ne peuvent avoir recours qu'à un arsenal limité de mécanismes de résistance. De plus, la plupart des mécanismes de résistance même s'ils sont hétérogènes, convergent souvent sur un nœud commun dans la voie de signalisation initialement ciblée par la thérapie, les cellules tumorales restant fortement dépendante de cette voie. Cette convergence phénotypique sur un nœud de signalisation

commun offre une opportunité intéressante de surmonter les mécanismes de résistance hétérogènes en ciblant de manière thérapeutique une voie unique [34, 35, 37, 45].

Par exemple dans les cancers colorectaux résistants, toutes les mutations dans les gènes *KRAS*, *NRAS* et *BRAF*, convergent vers la réactivation de ERK qui est le nœud de signalisation commun dans la voie MAPK. Les cancers colorectaux conservent donc leur sensibilité aux combinaisons d'inhibiteurs directement dirigées sur ERK. Il serait alors plus judicieux de cibler le nœud de signalisation commun réactivé par les mutations, plutôt que les mutations elles-mêmes [34].

L'hétérogénéité tumorale constitue aujourd'hui un défi majeur pour la mise en œuvre de l'oncologie de précision et un obstacle pour la gestion clinique des patients avec une maladie avancée, puisque ces patients présentent souvent de multiples tumeurs composées de sous-clones génétiquement divers, qui évoluent parallèlement dans le temps, et entravent l'évaluation des aberrations pouvant être ciblées par les thérapies. De plus, il a été démontré que les patients présentant une hétérogénéité tumorale élevée présentaient une survie plus médiocre ou une réponse au traitement réduite. L'hétérogénéité tumorale rend donc difficile l'obtention de rémission des patients sur le long terme et contribue aux conséquences létales du cancer et à l'échec thérapeutique. La principale raison de l'échec thérapeutique vient du fait que les programmes de traitement ne sont pas conçus pour traiter l'hétérogénéité tumorale. En effet, malgré les avancées faites dans la connaissance et la compréhension de l'évolution clonale ; de l'hétérogénéité tumorale que celle-ci suscite, ainsi que de la résistance thérapeutique générée par cette hétérogénéité, elles n'ont que très rarement été prises en compte dans les stratégies thérapeutiques. L'évolution clonale et l'hétérogénéité tumorale doivent donc impérativement être prises en compte pour concevoir de nouvelles stratégies thérapeutiques qui évitent au maximum de sélectionner les sous-clones rares résistants à la thérapie, pouvant entraîner une rechute des patients. L'évolution clonale et l'hétérogénéité tumorale peuvent être prises en compte notamment par l'intermédiaire d'une surveillance dynamique, des groupes de mutations, définissant les génotypes des populations sous-clonales au sein d'une tumeur. Cette surveillance donne un aperçu de la façon dont les tumeurs évoluent face aux différentes pressions de sélection thérapeutiques, ce qui est primordial, car cela permettrait aux médecins de prévoir et d'anticiper les mécanismes de pharmacorésistance avant même qu'ils apparaissent, et ainsi avoir une longueur d'avance sur la tumeur. La collecte temporelle et

spatiale d'échantillons tumoraux permet une interrogation approfondie de la dynamique de l'évolution clonale au cours de la progression de la maladie.

Cette surveillance dynamique permettrait également de détecter les marqueurs à l'origine de la pharmacorésistance qui sont de potentielles nouvelles cibles thérapeutiques pour des traitements futurs, mais qui pourraient également être utilisés comme biomarqueurs prédictifs du risque de progression de la maladie et de la résistance thérapeutique. Enfin, la surveillance dynamique de la tumeur aiderait à identifier d'autres lignes de traitement qui pourraient s'avérer efficaces. Le diagnostic du cancer et les conceptions thérapeutiques se verraient améliorés. Dans cette perspective, une vaste étude clinique TRACERx (NCT01888601) a été mise en place dans le but de suivre la dynamique sous clonale du cancer primitif du cancer bronchique non à petites cellules au cours de l'évolution de la maladie chez les patients. Les données préliminaires des 100 premiers patients ont récemment été publiées et ont démontré qu'une augmentation de l'hétérogénéité intra-tumorale était corrélée à un risque accru de récurrence ou de décès. La surveillance dans l'espace et dans le temps de l'évolution clonale et de l'hétérogénéité mutationnelle, nécessite un échantillonnage répété de la charge tumorale du patient, afin d'exposer le paysage moléculaire à différents moments dans le temps [46, 47, 48, 49].

Cependant, la plupart des approches thérapeutiques reposaient uniquement jusqu'à il y a peu, sur la caractérisation des tumeurs de manière bidimensionnelle, au moyen de biopsies tissulaires, décrivant la maladie comme la somme des altérations moléculaires d'une lésion particulière à un moment précis. Cette approche de biopsie unique n'est aujourd'hui plus suffisante. En effet, l'utilisation de biopsies tissulaires uniques dans le but d'éclairer les décisions thérapeutiques, est limitée dans l'espace et dans le temps, et risque de ne plus être adéquate, compte tenu de l'hétérogénéité spatiale et temporelle significative des tumeurs, en particulier, lorsqu'elles sont soumises à une pression de sélection thérapeutique. La biopsie tissulaire ne permet pas de détecter la présence et la dynamique des sous-clones tumoraux co-existants en évolution, mais seulement un instantané des altérations moléculaires présentes dans un seul site. Ainsi, les diagnostics basés sur une seule biopsie sous-estiment l'ampleur de l'hétérogénéité de la tumeur et ne permettent pas de capturer complètement le spectre complet des clones résistants présents au moment de la progression, pouvant faire l'objet d'une action clinique, ce qui entraînerait l'émergence de populations de cellules cancéreuses résistantes aux médicaments. De plus, les biopsies tissulaires en série sont souvent impraticables, morbides et techniquement difficiles.

Du fait de son caractère invasif, le prélèvement répété de biopsies de tissus est limité en raison des complications cliniques que celui-ci peut conférer au patient. En outre, la morbidité liée à la procédure chirurgicale de la biopsie tissulaire rend son utilisation chez les patients métastatiques fortement contrainte notamment lorsque les lésions sont trop profondes, trop étendues ou difficiles d'accès. Enfin, la surveillance thérapeutique par biopsie tissulaire n'est pas toujours possible en raison de la petite taille de la tumeur ou de sa régression pendant la thérapie, lorsque le patient présente une réponse pathologique complète [33, 40, 41, 42, 43, 44, 47, 48, 49, 50, 51, 52, 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59, 60, 61].

Les limites rencontrées par la biopsie tissulaire pour surveiller l'évolution de la tumeur dans le temps et dans l'espace et de manière répétable, peuvent être surmontées par une autre approche qu'on appelle « biopsie liquide ».

(b) La biopsie liquide

Une biopsie liquide consiste en une analyse génomique des cellules tumorales circulantes (CTCs), de l'ADN tumoral circulant sans cellule (ADNtc), ainsi que de l'ARN (ARNtc), des protéines et des exosomes tumoraux présents dans un échantillon de sang. En effet, des cellules tumorales se décrochent des tumeurs et circulent dans le sang. Il peut s'agir de clones ou sous-clones représentatifs de divers stades et sites de la maladie. Les cellules tumorales libèrent également dans le sang de l'ADN, de l'ARN, des protéines et des exosomes. Ces biomarqueurs tumoraux sanguins sont des sources alternatives de matériel tumoral qui renferment des informations très précieuses et fournissent un instantané génétique plus large et plus complet sur la maladie d'un patient. La biopsie liquide est mini-invasive, puisqu'il ne s'agit que d'une prise de sang, facilement reproductible et les résultats sont plus rapides que lors d'une biopsie tissulaire. Elle peut donc être répétée tout le long de la progression de la maladie avant, pendant et après le traitement, pour surveiller en temps réel l'évolution clonale au cours du traitement, et identifier l'émergence de sous-clones pharmacorésistants. Ceci permet aux cliniciens d'intervenir avant la détection standard de la progression de la maladie par radiographie, et de réduire considérablement les taux de résistance thérapeutique, de rechute et de décès liés au cancer. La biopsie liquide est également utile pour le diagnostic précoce, le pronostic, le suivi de la progression clinique, et la personnalisation des stratégies de traitement. En raison de son

application réussie en oncologie au cours des deux dernières décennies, notamment grâce aux méthodes de détection améliorées, elle a récemment été reconnue comme une approche en temps réel puissante pour la surveillance moléculaire de la dynamique du cancer. Le terme « biopsie liquide » désigne généralement l'utilisation d'ADNtc et de CTCs, mais l'ADNtc est aujourd'hui l'approche la plus avancée pour de futures potentielles applications dans la pratique clinique courante des cancers. En effet, à ce jour, la biopsie liquide utilisant l'ADNtc n'est intégrée que dans la prise en charge clinique du cancer bronchique non à petites cellules. D'autres applications cliniques sont encore à l'état de recherche notamment dans le cancer du sein, le mélanome et le cancer colorectal [33, 34, 41, 44, 61, 62, 63, 64, 65].

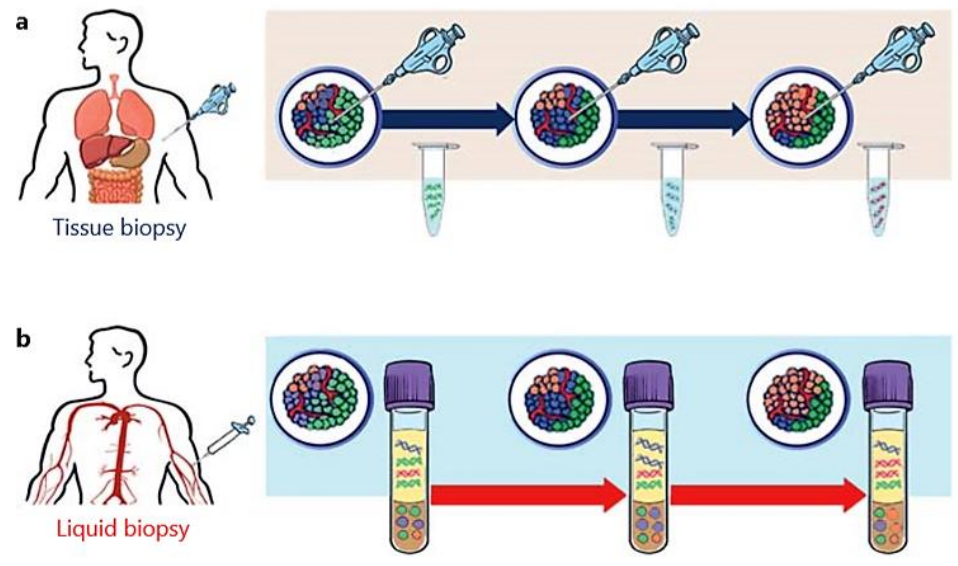


Figure 8. Les avantages de la biopsie liquide pour décrire l'évolution clonale des tumeurs hétérogènes [57].

(i) *Analyse de l'ADNtc*

De l'ADN sans cellule (ADNcf) circulant librement dans le sang a pour la première fois été décrit par Mandel et Métais en 1948 [66]. Il s'agit d'un court fragment d'ADN libéré dans le sang par des cellules en apoptose ou en nécrose. Quelques années plus tard, en 1977, les

recherches de Léon et al. démontrèrent une concentration plus élevée d'ADNcf chez des patients atteints d'un cancer du pancréas et dans certains cas, sa concentration diminuait à la suite d'un traitement. En effet, les patients atteints de cancers présentent des taux plus élevés d'ADNcf par rapport aux individus sains normaux. De plus, des proportions élevées d'ADNcf après traitement indiquent une lourde charge tumorale, une faible réponse au traitement et une survie courte [67]. Puis, en 1989, Stroun et al. découvrirent que des altérations génétiques néoplasiques étaient présentes dans l'ADNcf de patients cancéreux [68]. Enfin, en 1994, Sorenson et al. reconnurent le potentiel clinique de l'ADNcf lorsqu'ils détectèrent une mutation du gène *KRAS* dans des échantillons de plasma de patients atteints d'un cancer du pancréas [69].

La fraction d'ADNcf provenant des cellules tumorales a ainsi été appelée ADN tumoral circulant (ADNtc). Elle est très petite comparée à l'ADNcf germlinal et représente moins de 0,1% à plus de 10% de l'ADNcf total, variant en fonction de la charge tumorale, du stade du cancer, du renouvellement cellulaire et de la réponse au traitement. Mais elle est facilement différenciable car les fragments d'ADNtc sont plus courts que les fragments d'ADNcf provenant de cellules saines. Ce n'est que des années plus tard, lorsque les techniques de séquençage moléculaire l'ont permis, que de nombreuses expériences ont détecté dans l'ADNtc de nombreuses altérations associées à une tumeur comme des mutations ponctuelles, des altérations chromosomiques, des altérations microsatellites et l'hyperméthylation de séquences promotrices [70, 71].

L'ADNtc dérivé des cellules tumorales et en circulation dans le sang, contiennent les mêmes mutations et modifications génétiques que les tumeurs, qu'elles soient primitives ou métastatiques. Ces résultats ont donc permis d'ouvrir la voie à l'analyse de l'ADNtc dans un large éventail d'applications et dans divers types de tumeurs. À savoir, il a été établi que l'ADNtc contient une représentation de l'ensemble du génome de la tumeur, c'est-à-dire, de toutes les lésions tumorales présentes chez un patient donné [72]. De plus, en utilisant cette méthode, les auteurs ont montré qu'une mutation génératrice de résistance pouvait être détectée 5 à 10 mois avant la détection radiologique de la progression de la maladie [73, 74].

L'analyse par séquençage de l'ADNtc consiste à identifier des altérations spécifiques à la tumeur. De plus, la demi-vie de l'ADNtc étant courte (entre 16 min et 2 heures), les modifications de la fréquence allélique des altérations génétiques peuvent être surveillées en

temps réel et corrélées non seulement à la charge tumorale, mais aussi à la réponse tumorale à un traitement. Le séquençage clinique de l'ADNtc dans le sang est généralement effectué chez des patients présentant une maladie avancée ou métastatique au cours de la seconde ligne de traitement ou plus tard. Les méthodes de séquençage actuelles permettent de détecter des déséquilibres alléliques infimes dans l'ADNtc, avec une grande sensibilité et une grande spécificité.

Il existe deux types d'approches concernant l'analyse de l'ADNtc. La première approche est une approche ciblée qui consiste en la détection et la quantification d'altérations génomiques connues, soit parce qu'elles se produisent couramment, soit parce qu'elles ont été identifiées lors du séquençage de la tumeur. La deuxième approche non ciblée permet de détecter de nouvelles altérations génétiques sans connaissance au préalable. L'approche ciblée utilise des méthodes basées sur la PCR comme la ddPCR (droplet digital PCR) et la méthode BEAMING (Beads, Emulsion, Amplification and Magnetics) et sur la NGS, comme la méthode Tam-SEQ (tagged amplicon deep sequencing). La ddPCR et la méthode BEAMING détectent des mutations ponctuelles somatiques tandis que la méthode par Tam-SEQ détecte des mutations somatiques dans un panel de gènes prédéfinis pour obtenir une vue plus large et plus complète des régions génomiques. L'approche non ciblée n'utilise que des méthodes basées sur la NGS comme CAPP-Seq (Cancer Personalized Profiling by deep sequencing), Safe-SeqS (Safe Sequencing System), AmpliSeq et PARE (Personalized Analysis of Rearranged Ends). Cette dernière méthode détecte spécifiquement les réarrangements structuraux somatiques. Enfin, la WGS (Whole Genome Sequencing) qui analyse le génome entier et les altérations du nombre de copies peut être utilisée ainsi que la WES (Whole Exome Sequencing), qui analyse l'exome entier, c'est-à-dire, tous les gènes codant pour les protéines et les altérations du nombre de copies. Les différentes techniques basées sur la PCR et la NGS ont chacune des avantages et des inconvénients. Contrairement à la PCR, la NGS permet la découverte *de novo* des changements génétiques à l'origine de la pharmacorésistance et l'identification de nouvelles cibles pour de futurs traitements. De plus, la NGS fournit un meilleur paysage des mutations et permet de mieux comprendre la complexité génomique et l'hétérogénéité intra-tumorale pouvant conduire à une meilleure personnalisation des traitements et une meilleure gestion clinique. En revanche, la NGS a une sensibilité relativement faible par rapport à la PCR. C'est une technique coûteuse et qui n'est pas facile à intégrer dans la clinique puisqu'elle nécessite

du temps et un support informatique sophistiqué pour l'interprétation des résultats [41, 57, 61, 75, 76, 77].

Plusieurs études ont démontré l'utilité clinique de l'analyse de l'ADNtc dans différentes applications cliniques et dans différents cancers. Les applications cliniques potentielles de l'ADNtc sont multiples, comme le dépistage d'une maladie au stade précoce [65, 78, 79], le suivi de la charge tumorale pour le pronostic [80, 81, 82, 83, 84, 85], la capture de l'hétérogénéité tumorale de l'ensemble des lésions cancéreuses [73, 74, 86, 87, 88, 89, 90, 91], la détermination de la hiérarchie clonale [65, 92, 93, 94], l'identification de mutations ciblables associées au cancer pour le diagnostic [95, 96, 97, 98, 99, 100, 101, 102, 103, 104, 105, 106, 107], le suivi de la dynamique tumorale tout au long du traitement [108, 109], la surveillance précoce de la réponse au traitement [110, 111], ainsi que la surveillance post-opératoire [112, 113], le suivi des mécanismes de résistance au traitement [72, 74, 114, 115, 116, 117, 118, 119, 120], l'identification de la maladie résiduelle [121, 122, 123, 124, 125, 126, 127], et enfin, le suivi de la progression de la maladie [80, 128].

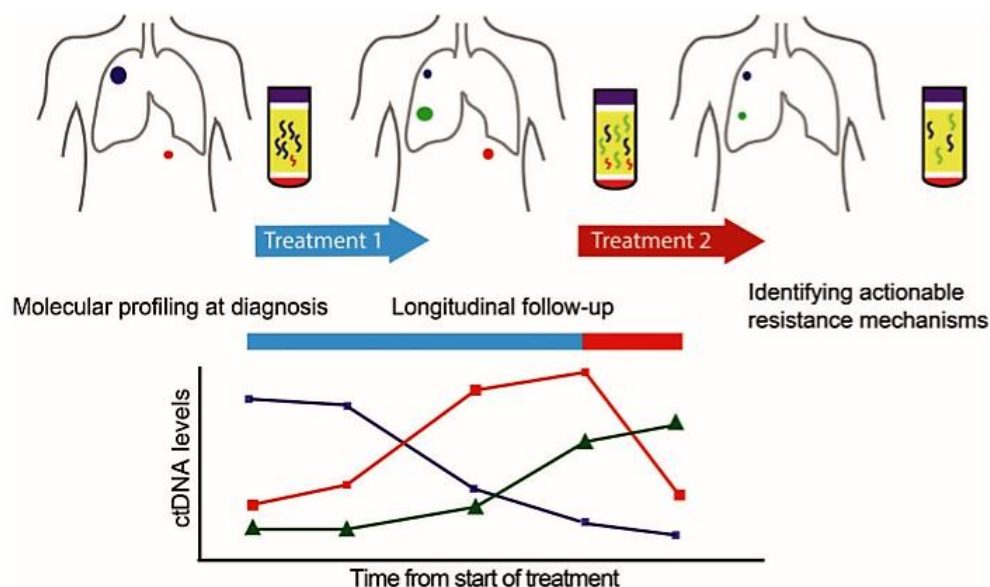


Figure 9. Applications cliniques de l'ADNtc au cours du traitement [60].

Les couleurs représentent des sous-clones de tumeurs avec différentes mutations, qui libèrent de l'ADNtc à différentes fréquences, (figure 9).

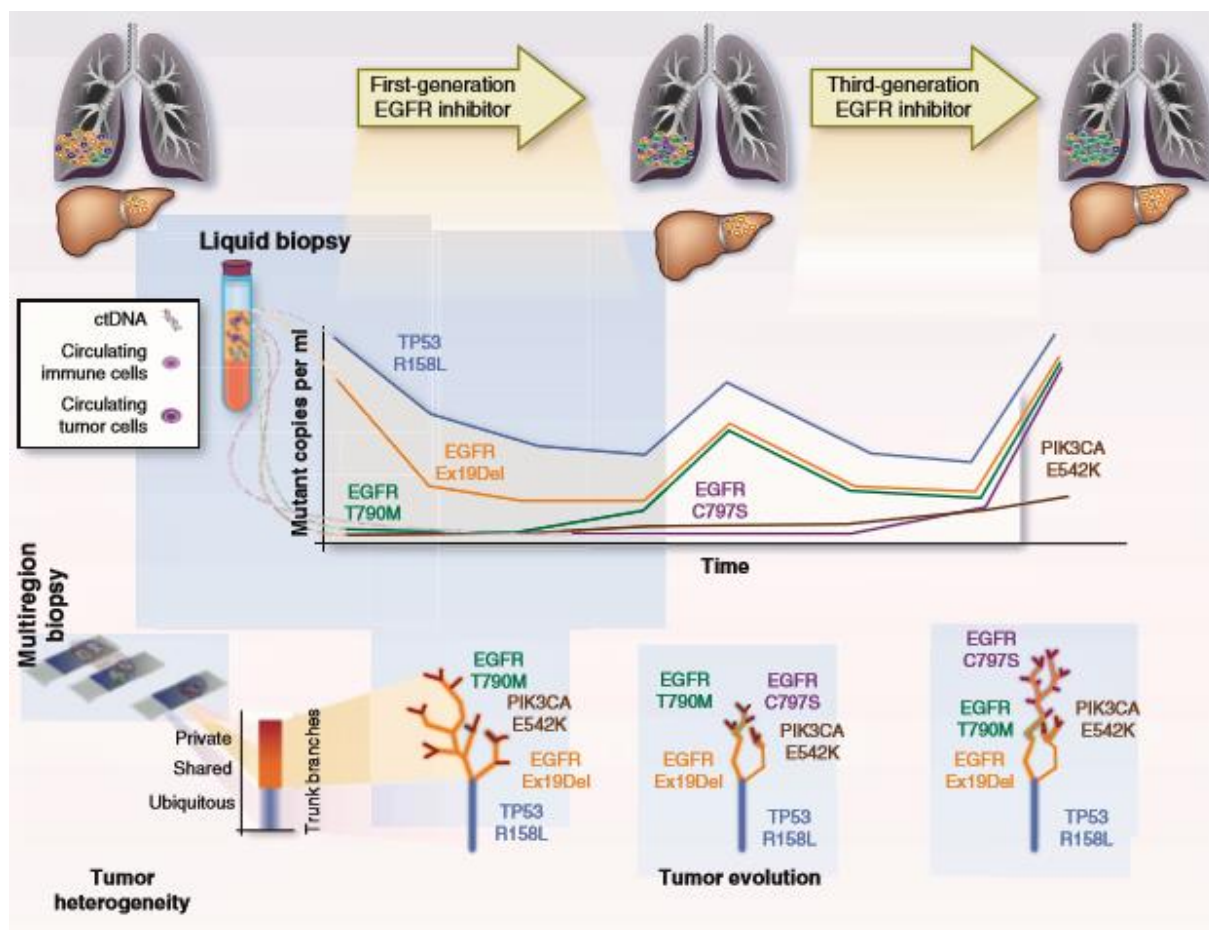


Figure 10. Approches diagnostics permettant de mesurer l'impact des traitements du cancer sur l'évolution clonale [41].

L'analyse des fréquences alléliques des altérations sous-clonales fournit une mesure de la dynamique de croissance des différentes populations de cellules au sein d'une tumeur, tandis que la quantification des altérations du tronc permet une normalisation de la charge tumorale.

Puisque l'analyse de l'ADNtc permet de mesurer en temps réel l'émergence de sous-clones résistants, les traitements peuvent être ajustés en fonction des résultats de ces tests pour cibler séquentiellement les mécanismes de résistance émergents. Ce concept est à l'origine des

thérapies séquentielles, où les schémas thérapeutiques peuvent être modifiés pour s'adapter plus rapidement aux changements moléculaires de la charge tumorale globale du patient, à l'apparition de mécanismes de résistance préalablement à la détection radiographique de cette maladie. De plus, des études récentes suggèrent que la prévalence de certains sous-clones résistants apparus au cours du traitement, peut diminuer après l'arrêt du traitement, que cela peut être surveillé dans l'ADNtc, et que par conséquent, un patient pourrait de nouveau répondre à ce même traitement [129].

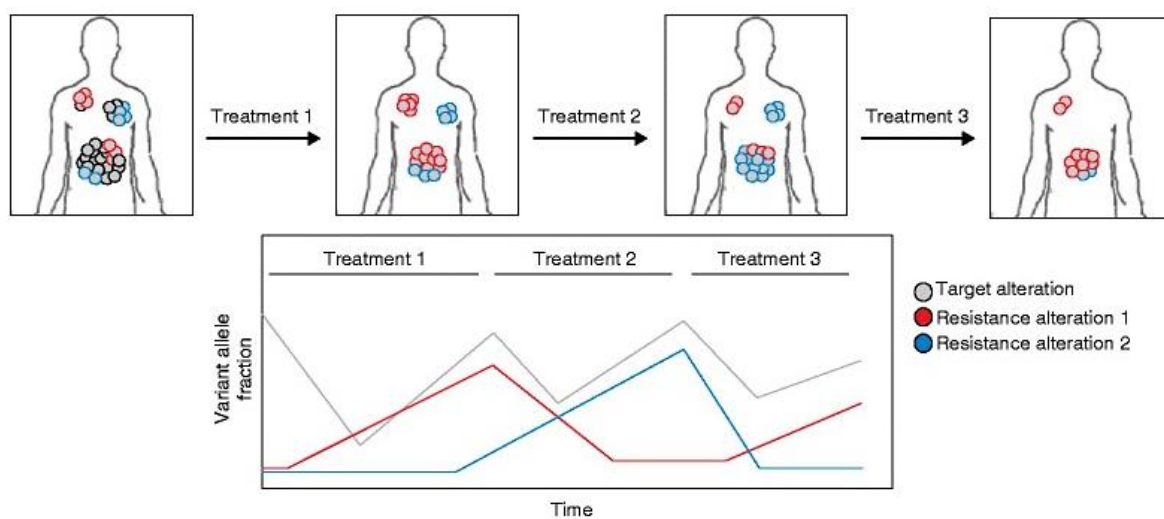


Figure 11. Thérapie séquentielle évaluée par biopsie liquide longitudinale [33].

Au début de la thérapie ciblée (figure 11.), toutes les cellules de la tumeur du patient présentent une altération génétique actionnable (grise). Le premier traitement administré vise cette première altération. L'analyse par biopsie liquide met en évidence une diminution initiale de l'altération de la cible au cours du traitement 1, mais révèle également le développement d'une altération entraînant une résistance au traitement 1 (rouge). Le sous-clone rouge peut être ciblé avec le traitement 2, où une analyse par biopsie liquide révèle une diminution de la fréquence de modification de la résistance 1. Pendant cette période, une troisième modification génétique (bleue) augmente cependant. Cette troisième mutation est résistante au traitement 2 mais sensible au traitement 3. Au cours du traitement 3, la fréquence du clone bleu diminue, tandis

que les clones résiduels hébergeant la première mutation de résistance (rouge) peuvent persister.

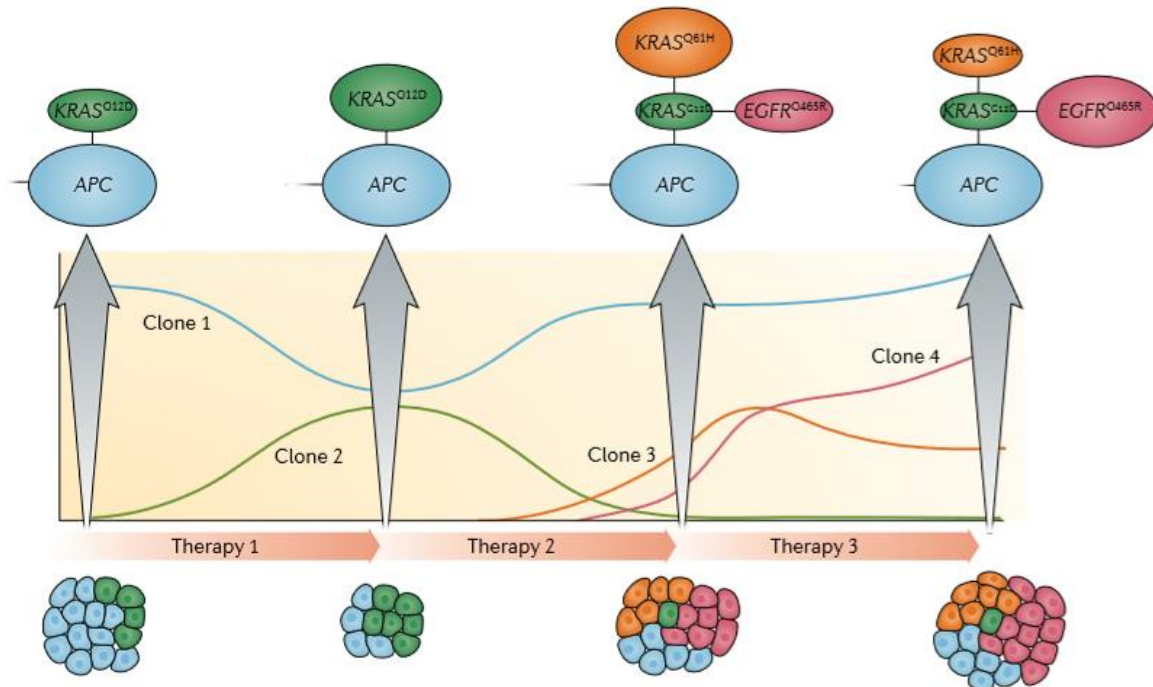


Figure 12. Exemple de thérapie séquentielle dans le cancer colorectal métastatique à l'aide de la biopsie liquide [57].

La figure 12 décrit les changements dynamiques dans l'abondance de sous-clones de cellules tumorales portant différentes mutations chez un patient atteint d'un cancer colorectal métastatique et traité avec des anticorps anti-EGFR. La surveillance d'une mutation clonale dans l'APC présente dans pratiquement toutes les cellules tumorales (clone 1, ligne bleue), permet de suivre l'évolution de la charge tumorale, tandis que les mutations sous-clonales (KRAS G12D, KRAS Q61H et EGFR G465R respectivement dans les clones 2, 3 et 4) fournissent une mesure de l'évolution clonale au cours du traitement. Les mutations sous-clonales peuvent être spécifiques à la lésion, entraînant des variations dans les réponses aux différents sites de la maladie. Chez ce patient, le traitement primaire avec l'anticorps anti-EGFR conduit à une réduction substantielle de la charge tumorale en ciblant la majorité des cellules tumorales, mais la prolifération du sous-clone mutant KRAS G12D résistant provoque

finalement la repousse de la tumeur, nécessitant un changement thérapeutique. Le changement de traitement diminue la taille de la population de cellules KRAS G12D, mais les sous-clones résistants (clones 3 et 4) et d'autres mutations se développent et stimulent la croissance tumorale. Une troisième ligne de traitement limite la croissance du clone 3, mais le clone 4 continue de proliférer.

A l'heure actuelle, l'analyse de l'ADNtc est intégrée dans la pratique clinique uniquement pour le cancer bronchique non à petites cellules, dans le cadre du diagnostic moléculaire, soit pour identifier les patients éligibles à un ITK (inhibiteur tyrosine kinase) anti-EGFR, soit pour évaluer la présence de la mutation T790M de l'EGFR qui est le mécanisme de résistance principale aux ITK de première et de seconde génération. Plusieurs études ont démontré un pourcentage de concordance élevé (supérieur à 90%) entre les mutations retrouvées dans les analyses plasmatiques basées sur l'ADNtc et dans les biopsies tissulaires, dans la recherche des mutations de l'EGFR qui confèrent une sensibilité aux ITK anti-EGFR, ainsi qu'un pouvoir prédictif comparable [103, 130, 131, 132, 133, 134, 135]. De plus, les résultats d'une autre étude ont montré que les patients porteurs de tumeurs T790M positives traitées à l'osimertinib, avaient des résultats équivalents, que la mutation ait été détectée dans l'ADN du tissu tumoral ou dans du sang [136].

Cette découverte est primordiale car il est souvent difficile d'obtenir des échantillons de biopsies chez les patients atteints d'un CBNPC (cancer bronchique non à petites cellules) avancé. Et c'est pourquoi, elle a accéléré la mise en oeuvre clinique des tests d'ADNtc dans ce cancer. En effet, l'EMA a approuvé en janvier 2015 le test de mutation de l'*EGFR*, Therascreen®, sur la base de l'ADNtc, comme test de diagnostic compagnon pour les patients atteints de CBNPC ; suivi par la FDA l'année suivante avec le test Cobas®. Ces tests permettent de détecter les mutations de l'*EGFR* dans l'ADNtc plasmatique avec une précision comparable à celle du séquençage de l'ADN dans les tissus tumoraux. Le test Therascreen® est un test de diagnostic compagnon donnant accès au géfitinib et qui permet de détecter 19 délétions dans l'exon 19, 3 insertions dans l'exon 20, ainsi que les mutations L858R, L861Q, G719X, S768I et T790M. L'étude européenne de phase IV, IFUM, à l'origine de l'approbation du Therascreen®, a révélé une concordance entre les mutations de l'*EGFR* dans les échantillons tumoraux et plasmatique très importante de 94,3%, avec une sensibilité de 65,7% et une spécificité de 99,8% [137].

Concernant le test Cobas®, il permet de détecter 42 mutations définies du gène *EGFR* dans les exons 18 à 21, notamment L858R, les délétions de l'exon 19 et la mutation T790M. Son approbation en juin 2016 s'appuyait sur les résultats de l'étude ENSURE de phase III (NCT01342965) qui a démontré une concordance en pourcentage relativement faible (76,7%) entre les résultats des tests de biopsies par ADNtc et par biopsies tissulaires. Ces résultats ont incité la FDA à approuver le test pour l'utilisation de l'erlotinib chez les patients présentant des mutations de l'*EGFR* détectées dans l'ADNtc pour la détection des délétions de l'exon 19 ou des mutations de substitution de l'exon 21 dans l'*EGFR* si seulement il n'est pas possible d'effectuer une biopsie de tissu [138, 139, 140]. Puis, en septembre 2016, la FDA a étendu son approbation comme diagnostic compagnon de l'osimertinib, un ITK anti-EGFR de troisième génération pour confirmer la présence d'une mutation T790M chez les patients atteints de CBNPC métastatique muté *EGFR* et qui ont progressé pendant ou après le traitement par un ITK anti-EGFR. Les tests sanguins pour la présence de la mutation ne sont recommandés que lorsqu'une biopsie tumorale ne peut pas être obtenue. Les patients dont le test à base de sang a donné un résultat négatif à la mutation T790M devraient faire réévaluer la faisabilité des tests sur tissus par leur médecin, afin de confirmer la présence de la mutation EGFR T790M [141, 142]. En avril 2018, ce test a également été approuvé comme diagnostic compagnon pour l'osimertinib en première ligne de traitement chez des patients atteints de CBNPC mutés *EGFR* naïfs d'ITK anti-EGFR [143]. Enfin en août 2018, Roche a reçu l'approbation de la FDA pour le test de mutation Cobas EGFR v2® en tant que diagnostic compagnon pour le géfitinib, dans le traitement de première intention des patients atteints d'un CBNPC [144].

(ii) *Analyse des CTCs*

Les cellules tumorales circulantes (CTCs) sont des cellules tumorales qui se sont décrochées de la tumeur primitive ou secondaire et qui se retrouvent dans la circulation périphérique afin de se loger dans d'autres organes et créer un nouveau foyer métastatique. Les CTCs sont donc une étape intermédiaire vers le développement des métastases. Les CTCs ont pour la première fois été observées en 1869, par le pathologiste Thomas Ashworth, lors d'une autopsie d'une patiente atteinte de cancer du sein métastatique. Il a comparé la morphologie des CTCs avec les cellules tumorales présentes dans les différentes lésions cancéreuses et a conclu qu'elles étaient

identiques et pourraient éclaircir sur l'origine et le développement des multiples lésions existantes chez une même personne [145].

En effet, plusieurs analyses comparatives ont par la suite été effectuées entre les CTCs, et les cellules tumorales provenant des tumeurs primitives et des métastases, dans divers types de tumeurs, et ont ainsi prouvé que les CTCs représentaient la masse tumorale réelle. Les CTCs seraient donc un outil prometteur, bien plus puissant que les biopsies tissulaires pour capturer l'hétérogénéité génétique des tumeurs des patients [50, 146, 147, 148, 149, 150]. Les systèmes de capture des CTCs ont révélé que les tumeurs agressives libéraient des milliers de CTCs chaque jour, mais qu'elles ne persistaient dans la circulation périphérique que pendant une courte période [151, 152, 153, 154]. Les CTCs peuvent se retrouver dans le sang soit sous forme de cellules individuelles soit sous forme de groupe de cellules ; les groupes de CTCs ayant un potentiel métastatique plus élevé avec une demi-vie plus courte de l'ordre de 6 à 10 min comparé à la demi-vie des CTCs individuelles qui est de 25-30 min [155, 156, 157].

L'analyse des CTCs dans différents types de cancers a permis de mieux comprendre le processus métastatique et a mis en évidence que les CTCs étaient une source non invasive d'informations très précieuses pour la mise en œuvre de l'oncologie de précision [158]. Cependant, la capture des CTCs à partir d'échantillons de sang dans le but de les analyser, représente un défi technique. En effet, une fois libérées dans la circulation périphérique, les CTCs sont confrontées à un milieu hostile et seule une très petite fraction de CTCs persistent, constituant une population extrêmement rare dans la circulation, estimée à un CTC par milliard de cellules sanguines normales, ce qui correspond à une fréquence de 1 à 500 CTCs pour 7,5 ml de sang ; sans compter que leur demi-vie dans la circulation est courte comme mentionné précédemment [36, 159]. C'est pourquoi, l'analyse des CTCs nécessite deux étapes : une étape d'enrichissement et une étape de détection/caractérisation. De nombreuses recherches ont été consacrées à ces deux étapes afin de créer de nouvelles technologies sophistiquées, suffisamment sensibles et spécifiques, notamment en exploitant les caractéristiques qui distinguent les CTCs des cellules sanguines normales [159].

A ce jour, deux grandes approches d'enrichissement des CTCs existent. La première approche se fait par sélection positive, où les CTCs sont positivement sélectionnées, soit en fonction de propriétés physiques et morphologiques, comme leur grande taille (comparée aux leucocytes), leur densité, leur déformabilité ainsi que leur charge électrique ; soit en fonction de propriétés

biologiques, par séparation immunomagnétique, au moyen de marqueurs épithéliaux spécifiques exprimés par les CTCs, tels que EpCAM ou les cytokératines. La seconde approche se fait par sélection négative des CTCs, toujours par séparation immunomagnétique, mais cette fois-ci, au moyens d'anticorps monoclonaux conjugués à des nanoparticules qui se lient spécifiquement aux leucocytes, mégacaryocytes et aux plaquettes, tels que les anti-CD45 et les anti-CD61. Enfin, la caractérisation des CTCs se fait soit par des dosages immunologiques (immunocytochimie et immunofluorescence), soit par des dosages moléculaires ou fonctionnels. Le dispositif CellSearch® est le seul système approuvé par la FDA, notamment dans les cancers métastatiques du sein en 2004, du côlon en 2007 et de la prostate en 2008. Il combine des techniques d'enrichissement et d'identification en utilisant des nanoparticules contenant l'anticorps EpCAM, pour la séparation immunomagnétique des cellules positives à l'EpCAM, après centrifugation du sang pour l'enrichissement en CTCs. Les CTCs sont ensuite sélectionnées par immunomarquage en fonction de l'expression positive de cytokératines 8, 18 et 19, de la coloration négative pour le marqueur CD45, ainsi que de la coloration du noyau cellulaire au DAPI (4', 6-diamidino-2-phénylindole). Enfin, les CTCs sont énumérées à l'aide d'un microscope fluorescent semi-automatisé, qui permet une reconstruction par ordinateur des images des cellules. Pour qu'une cellule soit ensuite considérée comme CTC, elle doit avoir une morphologie conforme à celle d'une cellule cancéreuse, c'est-à-dire soit ronde soit ovale, présenter un phénotype EpCAM positif, ne pas posséder d'antigène spécifique de la lignée leucocytaire (CD45), manifester l'expression cytoplasmique de la cytokératine, ainsi que contenir un noyau lié au DAPI. La technologie CellSearch® est aujourd'hui un outil prometteur pour le pronostic des cancers métastatiques du sein, du côlon, et de la prostate. En revanche, les CTCs peuvent changer de marqueur au cours du temps, c'est-à-dire qu'elles peuvent ne plus exprimer des marqueurs épithéliaux comme EpCAM, mais plutôt des marqueurs mésenchymateux, normalement exprimés par les autres cellules du sang. Le système CellSearch® qui ne sélectionne que les cellules exprimant les marqueurs épithéliaux, peut donc présenter certaines limites dans ce cas, et oublier certaines sous-populations de CTCs mésenchymateuses, considérées comme fondamentalement importantes pour les métastases. Par conséquent, il y a eu récemment un intérêt accru pour les technologies qui utilisent des méthodes de séparations indépendantes de marqueur comme la séparation physique, le microscope à haut débit et la sélection fonctionnelle [50, 62, 160].

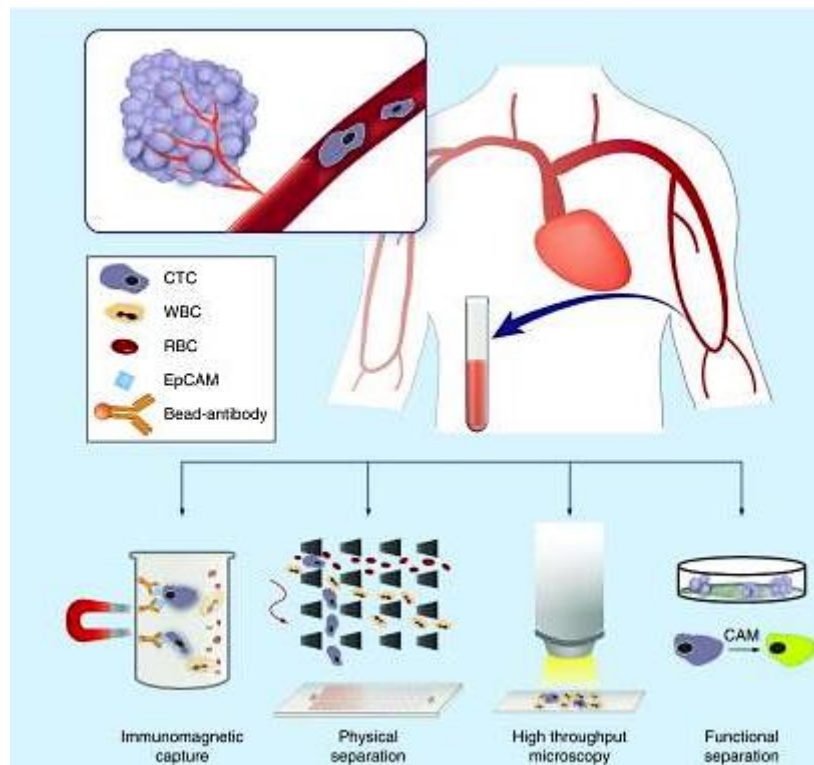


Figure 13. Méthodes d'enrichissement des CTCs [50].

Les recherches récentes sur les CTCs ont démontré qu'elles avaient un grand potentiel pour révéler les mécanismes sous-jacents de la cancérogenèse et du développement des métastases. Mais elles fournissent également un moyen non invasif pour le diagnostic, le pronostic ainsi que la pharmacothérapie du cancer. Elles peuvent être notamment utiles pour surveiller l'évolution clonale de la tumeur subissant des pressions sélectives au cours du traitement, pour sélectionner une thérapie en fonction des mécanismes de résistance émergents et de leur sensibilité au traitement.

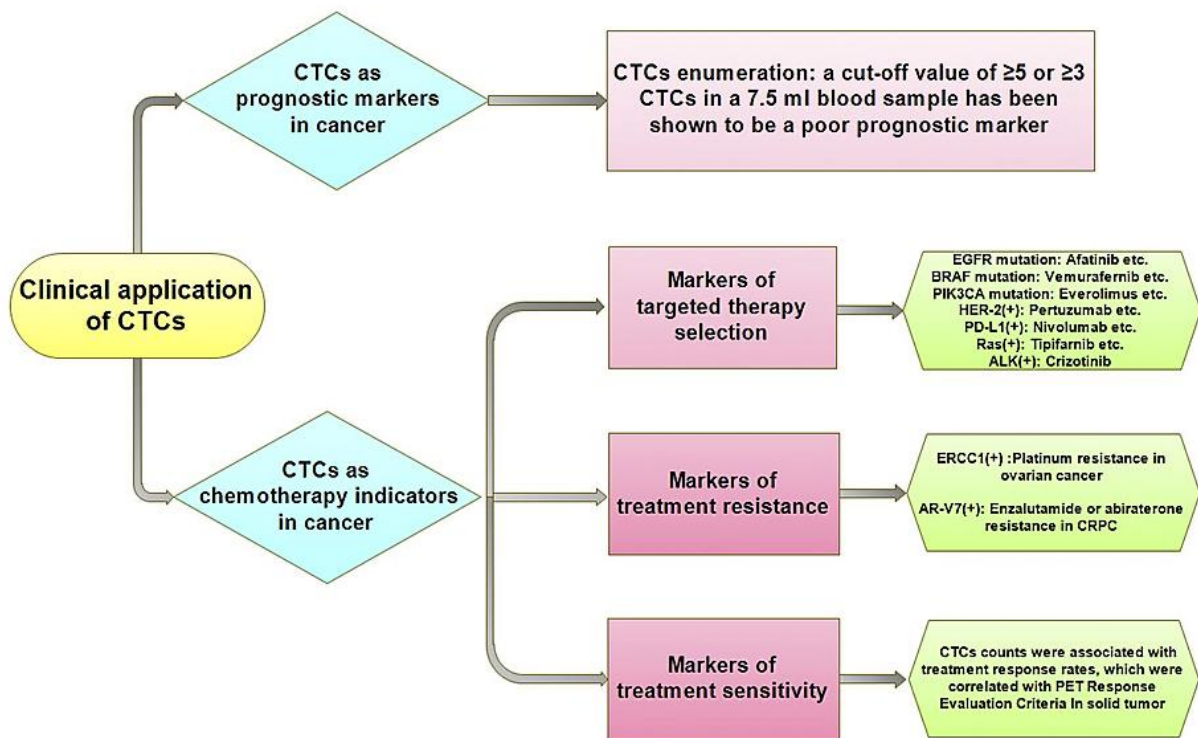


Figure 14. Applications cliniques des CTCs [160].

L'application clinique de l'analyse des CTCs la plus couramment utilisée dans la pratique est la prédiction du pronostic du cancer, sur la base du dénombrement des CTCs. En effet, de nombreuses études ont montré qu'une valeur seuil de CTCs ≥ 5 ou ≥ 3 CTCs dans 7,5 ml de sang, était un indice de mauvais pronostic pour la survie globale dans plusieurs types de cancer, notamment les cancers du sein [161, 162, 163, 164, 165, 166, 167], de la prostate [168, 169, 170, 171, 172, 173, 174], du poumon (≥ 50 CTC pour le CBPC) [175, 176, 177, 178, 179, 180, 181, 182, 183, 184, 185, 186, 187], de la vessie [188], du foie [189], de l'œsophage [190], de la tête et du cou [191], du pancréas [192], du mélanome [193] ainsi que dans le cancer colorectal [177, 194, 195]. La majorité des études a utilisé le système CellSearch® et s'est concentrée sur la maladie métastatique en raison du rendement globale plus élevé en CTCs [196]. De plus, dans le cancer du sein métastatique, la persistance des CTCs après le traitement a été systématiquement prouvée pour prédire le manque de réponse au traitement [197, 198, 199].

L'analyse des CTCs est également utilisée dans la pratique clinique comme indicateur de la pharmacothérapie, c'est-à-dire pour surveiller le traitement du cancer en temps réel.

Le dénombrement des CTCs est l'un des critères les plus largement utilisés pour surveiller le traitement anticancéreux systémique. En effet, une augmentation du nombre de CTCs après la chimiothérapie est associée à une survie globale plus courte dans plusieurs types de cancers [157, 169, 177, 180, 200, 201, 202, 203, 204, 205]. De plus, le suivi des taux de CTCs chez des patientes atteintes de cancer du sein métastatique permet de prédire précocement, avant même les examens radiologiques, la réponse à un traitement conventionnel (hormonothérapie ou chimiothérapie), ce qui suggère que la détection des CTCs pourrait être utilisée pour identifier très tôt des patients susceptibles de tirer un bénéfice d'une thérapie anticancéreuse. En situation néo-adjuvante, l'équipe de J.Y. Pierga a montré qu'un taux de CTCs supérieur ou égal à 1 cellule pour 7,5 ml était un facteur pronostique indépendant de la survie [197, 206].

Les CTCs peuvent également être utilisés comme marqueurs pour la sélection d'une thérapie ciblée. Par exemple, le statut de mutation *BRAF* dans les CTCs est utilisé comme marqueur pour la sélection de traitement ciblé comme le vémurafénib et le dabrafénib chez les patients atteints de mélanomes métastatiques [207, 208, 209]. Le statut de mutation *EGFR* dans les CTCs est également un marqueur clinique pour la sélection de traitements ciblés, comme l'erlotinib, l'afatinib, et l'osimertinib dans le CBNPC [108, 210, 211, 212, 213, 214, 215]. Le statut de mutation *PIK3CA* dans les CTCs est aussi un autre exemple de marqueur clinique pour sélectionner les thérapies ciblées comme l'évérolimus et le temsirolimus chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique. Ce marqueur est très intéressant pour les cliniciens puisque *PIK3CA* est muté dans 25% des patientes, allant jusqu'à 40% chez les patientes présentant un cancer du sein positif aux récepteurs hormonaux, et est responsable de résistance aux traitements anti-HER2 [37, 216, 217]. Comme *PIK3CA*, *BRAF*, *KRAS* et *PTEN* sont des gènes pertinents pour prédire la résistance à un traitement anti-EGFR dans le cancer colorectal métastatique ; les mutations de ces gènes sont fréquemment étudiées à l'aide de CTCs [218]. Enfin, le statut des récepteurs endocriniens dans les CTCs est un marqueur de la progression du cancer du sein primaire et métastatique et utile pour la sélection des thérapies ciblant HER2 [219, 220, 221, 222, 223, 224, 225].

Les analyses de CTCs sont aussi utilisées comme marqueurs de la résistance au traitement [226, 227]. Par exemple, le statut *TMPRSS2-ERG* dans les CTCs est un biomarqueur prédictif de la sensibilité à l'acétate d'abiratéronne chez les patients atteints d'un cancer de la prostate résistant à la castration [228]. La présence de la mutation *ERCC1* dans les CTCs est un autre exemple de biomarqueur diagnostique prédictif de la résistance puisqu'il prédit la résistance au platine dans

le cancer des ovaires [229]. Enfin, la présence de *AR-V7* dans les CTCs est prédictif de la résistance à l'enzalutamide et à l'abiratéronne, mais pas aux taxanes [230, 231, 232].

Pour finir, l'analyse des CTCs est utilisée pour déterminer l'hétérogénéité tumorale. Des études ont démontré que les CTCs reflétaient le spectre complet des mutations de la tumeur primitive et des lésions métastatiques et qu'elles fournissaient des instantanés des caractéristiques tumorales chez les patients atteints de maladie métastatique. Il a également été démontré que les profils de CTCs évoluaient au fur et à mesure que la maladie progressait [146, 233, 234, 235, 236, 237, 238]. Des études longitudinales de CTCs ont été réalisées pour étudier les changements clonaux associés à l'évolution de la maladie et à la résistance au traitement dans le cancer du sein et de la prostate [239, 240, 241].

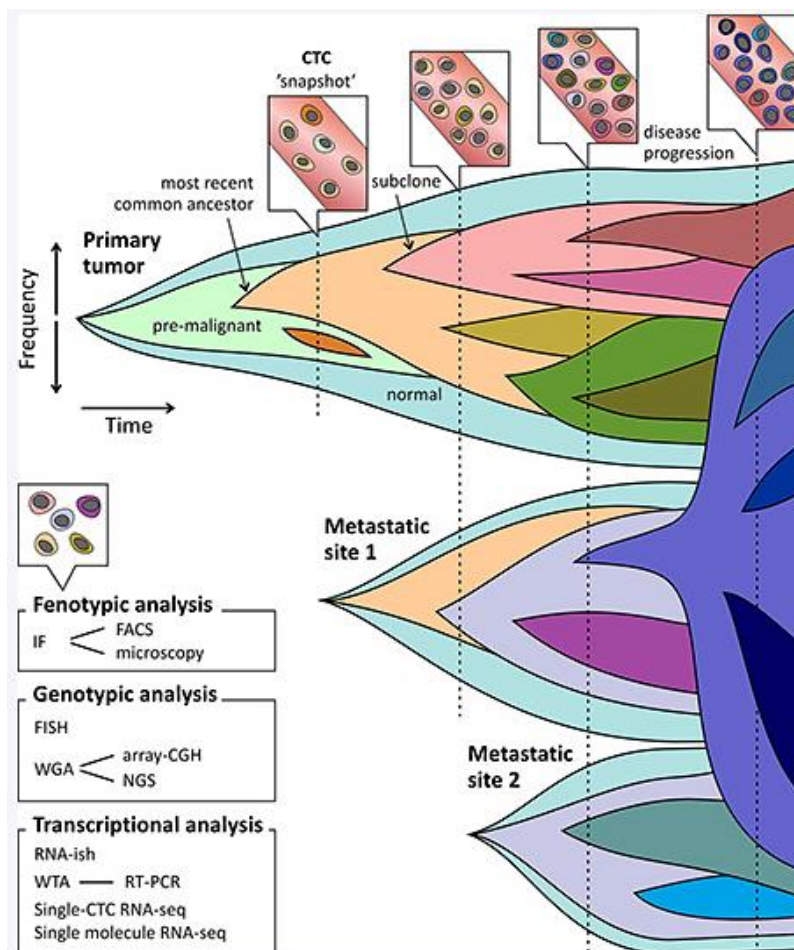


Figure 15. Les CTCs en tant qu'instantané de l'évolution du paysage tumoral [37].

L'échantillonnage des CTCs peut fonctionner comme un instantané de la masse tumorale globale (tumeur primitive et métastases). Lors du profilage de CTCs à plusieurs moments, des sous-clones émergents et décroissants peuvent être dévoilés et la détermination du profil moléculaires des différentes sous-populations de sous-clones permettent d'identifier les phénotypes et génotypes moléculaires liés aux métastases et d'évaluer le potentiel métastatique. La détection de changement au niveau de sous-populations de sous-clones dans les CTCs au cours du traitement responsable de pharmacorésistance, est également un moyen pour changer de thérapie au bon moment ainsi que de trouver de nouvelles cibles thérapeutiques. Par exemple, certains CBNPC mutés *EGFR* acquièrent la mutation EGFR T790M, responsable de la résistance aux ITK, nécessitant de changer de thérapie pour un ITK de troisième génération. Une étude a montré que le génotypage combiné, basé sur les CTCs et l'ADNct détectait la mutation T790M chez 35% des patients pour lesquels la biopsie tissulaire était négative ou indéterminée, identifiant ainsi une population de patients chez lesquels une biopsie liquide améliorerait manifestement le traitement de précision en temps réel [211, 212].

En outre, l'analyse en série des CTCs de la prostate a mis en évidence l'émergence d'AR-V7 au cours de la chimiothérapie à base de taxanes [230].

Par conséquent, l'analyse moléculaire longitudinale des CTCs par échantillonnage répété peut révéler l'évolution clonale causée par la pression thérapeutique et potentiellement orienter les schémas thérapeutiques optimaux en fonction de l'évolution du profil moléculaire de la charge tumorale chez un patient donné.

L'analyse des CTCs et de l'ADNtc ont toutes les deux des avantages et des inconvénients. Tout d'abord, l'ADNtc est plus facile à isoler et moins laborieux à obtenir que les CTCs. En effet, l'utilisation des CTCs est limitée en raison des difficultés liées à l'isolement et aux taux de détection relativement faible. De plus, comparées aux analyses de CTCs, les analyses par ADNtc sont largement utilisées en raison de leur excellente sensibilité et de la rapidité des résultats. En revanche, les CTCs représentent des cellules tumorales pures et intactes alors que l'ADNcf est principalement composée d'ADN de lignée germinale provenant de cellules normales, avec une fraction relativement petite et très variable d'ADNtc présente chez les patients atteints de cancers. De plus, les analyses d'ADNtc peuvent sur-représenter de l'ADN de cellules mourantes ne fournissant pas nécessairement une représentation précise du génome

du cancer ni une phylogénie détaillée. Aussi, les CTCs peuvent fournir des informations supplémentaires. Enfin, l'ADNtc ne permet pas certaines études nécessitant des cellules intactes telles que les CTCs, comme la coloration histologique ou l'hybridation *in situ*, importantes pour déterminer si des altérations génétiques spécifiques se produisent dans les mêmes cellules ou dans des sous-populations tumorales distinctes [33, 37, 38, 57, 61].

(iii) Nouvelles stratégies thérapeutiques prenant en compte l'hétérogénéité tumorale

Jusqu'à récemment, les stratégies thérapeutiques ne prenaient pas en compte l'hétérogénéité intra-tumorale, et avaient pour objectif de frapper fort et souvent. Les patients sous traitement anticancéreux avaient alors une survie sans progression plus longue que les patients non traités, mais une survie globale plus ou moins équivalente, à cause des pharmacorésistances. Cette inadéquation entre la survie sans progression et la survie globale chez les patients traités vient d'une concurrence clonale et d'une libération compétitive [242].

En effet, l'élimination du clone dominant sensible au traitement, soulage la concurrence interclonale et permet la libération compétitive de sous-clones résistants aux traitements.

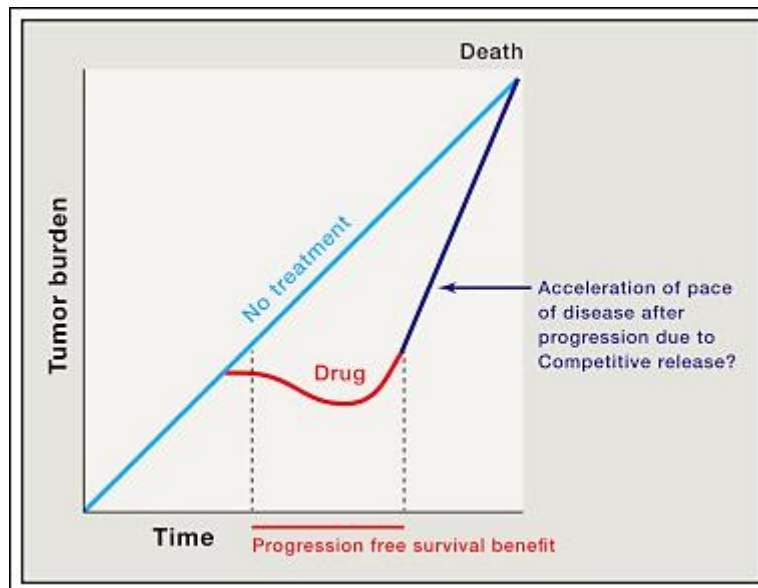


Figure 16. Libération compétitive de sous-clones résistants [38].

Ainsi, frapper le clone dominant avec des thérapies utilisées à la dose maximale tolérée (DMT) et dans le délai le plus court possible, peut conduire à l'émergence de sous-clone résistants plus agressifs, auparavant restreints par l'interférence clonale. Se pose alors la question de savoir si cette stratégie thérapeutique est la plus sensée, compte tenue de l'évolution tumorale [34].

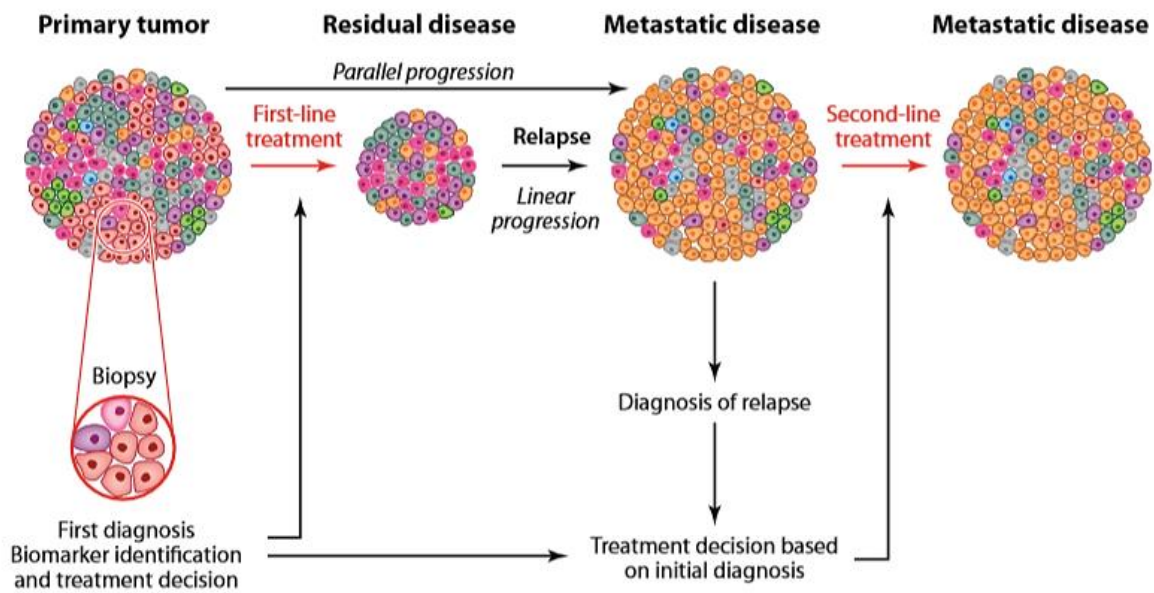


Figure 17. Effets de l'hétérogénéité intra-tumorale sur la valeur prédictive des biomarqueurs [49].

Le diagnostic du cancer repose généralement sur un prélèvement de la tumeur par biopsie à cœur ou aspiration à l'aiguille fine, qui ne capture inévitablement qu'une petite fraction de toutes les cellules tumorales et peut donc ne pas être représentatif de tous les sous-clones (représentés par des cellules de couleurs différentes). L'analyse de telles biopsies, qui échantillonnent probablement les clones prédominants, est utilisée pour orienter les décisions de traitement. En cas de succès, le traitement de première intention élimine les clones dominants, tandis que les clones résistants au traitement (représentés par les cellules jaunes) sont sélectionnés positivement et stimulent la progression de la maladie. Des métastases distantes peuvent se développer à partir des clones résistants qui survivent au traitement initial. Un nouveau diagnostic doit alors être posé pour appliquer le traitement de deuxième intention ce qui aboutit in fine au décès chez la plupart des patients (figure 17) [49].

Au fur et à mesure des recherches, la compréhension de l'évolution clonale et de l'hétérogénéité tumorale s'est améliorée, et a permis aux chercheurs d'élaborer de nouvelles stratégies thérapeutiques prenant en compte cette dynamique tumorale pour une meilleure gestion du cancer.

Prendre en compte l'hétérogénéité et l'évolution de tumeur, nécessite un diagnostic personnalisé, explorant différents aspects de la tumeur, notamment à l'aide du profilage moléculaire et d'analyses *in situ*. Grâce à ce diagnostic personnalisé, plusieurs biomarqueurs robustes reflétant l'hétérogénéité tumorale peuvent être mis en évidence dans le but de fournir de meilleures estimations prédictives des réponses aux traitements et des mécanismes de résistance. Ainsi, toutes les données générées par ce diagnostic personnalisée sont intégrées, afin de définir le meilleur traitement possible pour chaque tumeur.

Le concept d'oncologie de précision est donc encore plus poussé dans la personnalisation, ne se limitant plus aux biomarqueurs prédictifs de réponse mais au contraire, englobant une dynamique évolutive complexe.

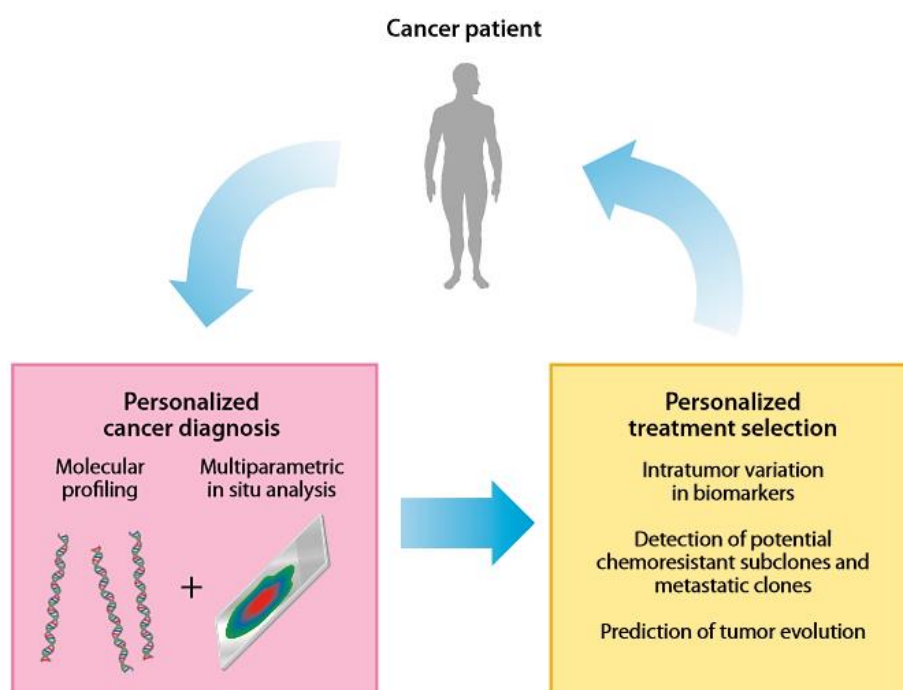


Figure 18. Stratégie proposée pour l'incorporation des mesures d'hétérogénéité intratumorale dans la pratique clinique [49].

Ces nouvelles stratégies de traitement se concentrent sur la nature évolutive des sous-clones afin d'empêcher l'émergence de sous-clones résistants, responsables des rechutes, et sont de trois sortes : les stratégies séquentielles que nous avons explicitées précédemment, ainsi que les stratégies combinatoires et les stratégies adaptatives [41].

Les stratégies combinatoires associent généralement deux thérapies, dont une va cibler le clone dominant et l'autre, la résistance acquise connue pour apparaître au cours du traitement. C'est une stratégie préventive qui va anticiper les phénomènes de résistance en tuant également les sous-clones résistants les plus susceptibles d'émerger. Par exemple, dans le mélanome, de nombreux mécanismes de résistances convergent vers la réactivation de la voie ERK/MEK. Un essai clinique a traité des mélanomes à la fois avec un inhibiteur BRAF et un inhibiteur MEK, ce qui a entraîné une amélioration modeste de la survie sans progression par rapport à un inhibiteur BRAF en monothérapie. Cependant, des patients ont quand même progressé, suggérant que la résistance apparaît quand même avec le traitement combiné, même si elle apparaît postérieurement à la monothérapie. Ainsi, bien que cette stratégie combinatoire puisse offrir une amélioration, il est peu probable qu'elle soit une solution [243]. Un autre étude a montré que les cancers du poumon associés à la fusion *EML4-ALK* traités avec un inhibiteur ALK et un inhibiteur MEK, avaient des réponses plus fortes et plus durables que ceux uniquement traités avec un inhibiteur ALK [244]. De même, le traitement par anticorps monoclonaux anti-EGFR dans le cancer colorectal, entraîne très souvent la réactivation de la voie MAPK via des altérations génétiques de *RAS* et *RAF*. Ainsi, une étude clinique a traité des patients atteints d'un cancer colorectal avec un traitement associant un inhibiteur de l'EGFR et de MEK et a montré une altération de la croissance des cellules résistantes. De plus, une xénogreffe provenant d'un patient ayant acquis une résistance aux anticorps anti-EGFR a répondu à la thérapie combinée. Cette stratégie combinatoire ciblant l'EGFR et la MEK a donc permis de bloquer la croissance des clones résistants, indiquant que cette combinaison peut prévenir la résistance en plus de vaincre la résistance acquise.

En revanche, la faisabilité et l'efficacité de cette approche en clinique est limitée par l'intolérabilité de la toxicité générée par l'association des thérapies anticancéreuses.

Une modélisation mathématique de la résistance acquise chez des patients atteints d'un cancer métastatique du pancréas, du côlon et d'un mélanome a révélé qu'un agent ciblé en monothérapie ne pouvait pas éradiquer la maladie même en présence d'une charge tumorale

limitée. La modélisation a également démontré qu'une bithérapie n'offrirait qu'un espoir de succès que pour une faible charge tumorale et en l'absence de mutations croisées. Seules les thérapies associant plus de deux agents ciblés, pouvaient éradiquer complètement la maladie. Les thérapies à trois agents ou plus sont malheureusement peu réalisable, en raison de l'indisponibilité d'agents pour certaines cibles, des problème de toxicité et de coût élevé [41].

Contrairement à la stratégie clinique standard « kill strategy» visant à réduire au maximum la charge tumorale en frappant fort et souvent, la thérapie adaptative « containment strategy» a pour but de maximiser le délai de progression, en stabilisant la taille de la tumeur et en maintenant la tumeur dans un état d'équilibre évolutif aussi longtemps que possible, plutôt que de rechercher des réponses initiales spectaculaires en sélectionnant les sous-clones résistants pour lesquels aucune modalité thérapeutique n'existe. Lors d'une thérapie adaptative, la charge tumorale est maintenue à un niveau constant et stable afin de maintenir un nombre suffisant de cellules sensibles au traitement et pour inhiber la croissance des sous-clones résistants. L'accent est mis sur le confinement et non sur la guérison [34, 245, 246].

La thérapie adaptative nécessite des posologies et des schémas thérapeutiques variables en deux phases. La première phase est une phase d'induction permettant de contrôler la progression de la tumeur après une croissance exponentielle, et la deuxième phase, une phase de maintenance, pouvant nécessiter une posologie progressivement réduite ou même omise afin de parvenir à de meilleurs temps de survie sans progression [38].

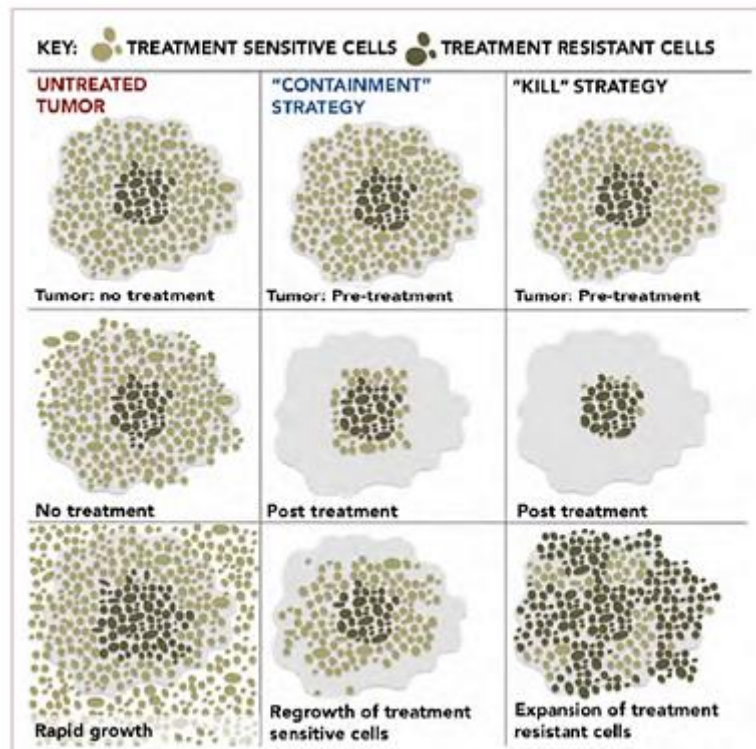


Figure 19. Thérapie adaptative [40].

Il existe deux types de thérapies adaptatives ; les thérapies aux schémas intermittents, utilisant des agents ciblés à la DMT, de manière discontinue, et les thérapies métronomiques, qui elles, utilisent des agents ciblés en continu mais en modulant leur dosage.

La stratégie adaptative aux schémas thérapeutiques intermittents, prend en compte la dépense énergétique des sous-clones résistants pour avoir un avantage de croissance lors de thérapie ciblée. En effet, les sous-clone résistants doivent dépenser plus d'énergie que les clones sensibles au traitement. Ainsi, en l'absence de traitement, ce sont les clones sensibles qui prennent l'avantage sur les sous-clones résistants. Les schémas thérapeutiques discontinus permettent lors d'interruption de traitements, d'éliminer les pressions sélectives, de diminuer la croissance des sous-clones résistants, afin de maintenir des populations de clones sensibles au traitement.

Des chercheurs ont modélisé la dynamique clonale en présence ou en l'absence de traitement, et ont montré que les schémas posologiques à dose élevée, conduisent à une expansion rapide

des sous-populations résistantes, et que l'interruption de la thérapie permettait le contrôle de la croissance tumorale. Ceci est réalisé en maintenant un équilibre entre les cellules tumorales sensibles aux médicaments, qui prolifèrent mieux en l'absence de médicament, et les cellules résistantes, qui ne s'installent que dans la présence du médicament lui-même, comme le montrent les modèles de xénogreffe du cancer de l'ovaire et du cancer du sein [245, 246, 247].

La compétition entre clones de tumeurs pourrait donc être exploitée à des fins thérapeutiques. Dans ce contexte, la mesure de l'évolution clonale par biopsie liquide pourrait guider le moment précis de l'abandon du traitement et de la réadministration de ce même traitement.

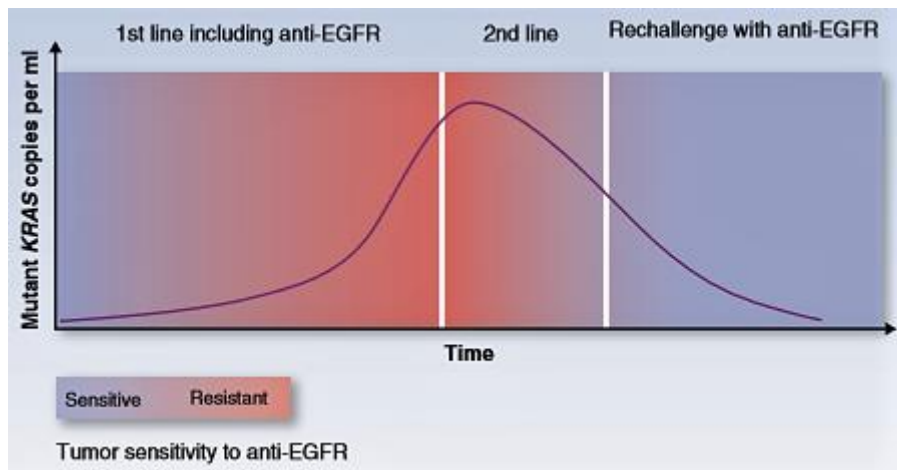


Figure 20. La biopsie liquide comme outil pour orienter les approches de traitement adaptatif [41].

Plusieurs études ont démontré le bénéfice clinique de cette stratégie. Par exemple, chez les patients atteints de cancer colorectal résistant au cétuximab ou au panitumumab et qui ont montré l'émergence d'une population de cellules mutées par *KRAS*, l'interruption du traitement ou le traitement par une classe différente de composés (par exemple un inhibiteur du VEGF), est en corrélation avec une réduction de la fraction allélique de *KRAS* mutant dans le plasma, telle qu'évaluée par biopsie liquide. De plus, dans un modèle de mélanome basé sur la xénogreffe dérivée du patient et présentant une résistance à l'inhibition de BRAF,

l'administration intermittente de vémurafénib a conduit à un contrôle à long terme de la croissance tumorale, contrairement au traitement continu [248, 249, 250].

Pour conclure, une meilleure compréhension de l'hétérogénéité tumorale et de l'évolution clonale a permis aux chercheurs de développer de nouvelles stratégies afin de prévenir les phénomènes de résistance qui sont en grande partie responsables des rechutes de la maladie et du décès des patients. Ces nouvelles stratégies thérapeutiques sont dynamiques puisqu'elles évoluent et s'adaptent en fonction des différents sous-clones tumoraux qui émergent et d'autres qui disparaissent. Les analyses de l'ADNtc et des CTCs sont un outil de soutien primordial pour ces stratégies de traitement, car elles permettent un suivi en temps réel de l'évolution clonal et des sous-clones résistants de manière non invasive. C'est ce suivi en temps réel rendu possible, qui a permis de moduler et de personnaliser les traitements en temps réel. Cette approche très prometteuse n'en est aujourd'hui qu'à ses débuts et des études prospectives supplémentaires sont nécessaires pour pouvoir encore plus optimiser ces stratégies, pour approfondir nos connaissances sur les mécanismes de résistance et l'évolution clonale ; ainsi que pour standardiser les méthodes d'analyse des CTCs et de l'ADNtc, afin qu'elles soient plus facilement intégrées en pratique clinique dans plus de cancers.

b) La pharmacogénomique somatique

Définitions de la Pharmacogénomique :

Selon le **NIH** : « *La pharmacogénomique est l'étude de la façon dont les gènes affectent la réponse d'une personne à des médicaments particuliers. Ce domaine relativement nouveau combine la pharmacologie (la science des médicaments) et la génomique (l'étude des gènes et de leurs fonctions).* »

Selon **L'EMA** : « *La pharmacogénomique est l'étude de la façon dont la variabilité de l'expression des gènes entre les individus conduit à des différences dans la susceptibilité à la maladie et la réponse aux médicaments.* »

La pharmacogénomique est un terme qui a été introduit dans la littérature scientifique à la fin des années 1990 lors du Programme Génome Humain. Elle fait aujourd'hui partie intégrante de la médecine personnalisée. La pharmacogénomique a suscité de la part des scientifiques un

intérêt grandissant lors de l'arrivée des thérapies ciblées en oncologie. Elle aide à mieux comprendre quelles variations génétiques déterminent les réponses à ces thérapies.

En oncologie, la pharmacogénomique se découpe en deux champs : la pharmacogénomique germinale, aussi appelée pharmacogénétique constitutionnelle, et la pharmacogénomique somatique.

La pharmacogénomique germinale étudie les variations génétiques héréditaires dans l'ADN du patient, tandis que la pharmacogénomique somatique étudie les variations génétiques acquises, présentes dans la tumeur.

Les altérations de la lignée germinale peuvent influencer la pharmacocinétique et l'efficacité d'un médicament. Dans ce cas, elles sont utilisées comme des prédicteurs de toxicité pour identifier des patients qui risquent de développer des effets secondaires graves, menant à l'arrêt du traitement. Les altérations génétiques somatiques présentes dans la tumeur sont quant à elles, utiles pour évaluer les effets pharmacodynamiques d'un médicament, c'est-à-dire, identifier les cibles médicamenteuses et prédire la réponse tumorale. Les altérations somatiques permettent de sélectionner les thérapies ciblées.

Afin de personnaliser au mieux les thérapies en oncologie, il est important de prendre en compte les caractéristiques génétiques propres aux patients ainsi que les caractéristiques uniques à la tumeur. Cela se fait par l'intermédiaire de tests de pharmacogénomique somatique qui déterminent la thérapie la plus efficace pour une tumeur donnée, couplés à des tests de pharmacogénétique constitutionnelle qui identifient des biomarqueurs mis en cause dans la pharmacocinétique et la tolérance du médicament.

Dans le cadre de ce travail de thèse, je vais uniquement me concentrer sur la pharmacogénomique somatique, qui met en lumière les biomarqueurs moléculaires des tumeurs mis en œuvre dans les essais cliniques.

C'est grâce à la pharmacogénomique somatique qui a identifié les anomalies moléculaires responsables de l'oncogenèse, que les thérapies ciblées ont pu être conçues, élargissant l'arsenal thérapeutique du cancer. Ce domaine est en perpétuelle recherche et de nouvelles potentielles cibles thérapeutiques sont en permanence à l'étude. La pharmacogénomique somatique a également permis de stratifier les patients en fonction du profil moléculaire de leur tumeur afin d'identifier les répondeurs aux traitements des non-répondeurs. Ainsi, les patients ne reçoivent

que des traitements efficaces qui leur sont profitables. La stratification de sous-groupes de patients a l'avantage de diminuer le nombre d'individus dans les essais cliniques, augmentant ainsi la puissance statistique de l'efficacité du traitement. C'est ainsi que des molécules délaissées ont pu être récupérées [252, 253, 254, 255, 256].

c) *Les biomarqueurs*

Définitions de biomarqueur :

Selon le **NIH** : Un biomarqueur est : « *une caractéristique qui est objectivement mesurée et évaluée comme un indicateur de processus biologiques normaux ou pathologiques, ou de réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique.* »

Selon l'**EMA** : Un biomarqueur est : « *une molécule biologique trouvée dans le sang, d'autres fluides corporels, ou des tissus qui peuvent être utilisés pour suivre les processus du corps et les maladies chez les humains et les animaux.* »

Les biomarqueurs constituent la pierre angulaire sur laquelle repose la médecine personnalisée. Ce sont des caractéristiques moléculaires spécifiques à chaque patient, qui permettent une adaptation optimale du traitement au patient.

Le domaine de l'oncologie représente à lui tout seul 43% de tous les travaux de développement des biomarqueurs [257]. Il y a actuellement dans le monde, 3 759 essais cliniques en oncologie utilisant des biomarqueurs. En 2016, 17 à 20% des patients atteints de cancer ont été estimés éligibles à un traitement personnalisé basé sur les biomarqueurs. L'objectif étant de 30% en 2018, le développement des biomarqueurs pour l'oncologie de précision n'est donc pas prêt de diminuer.

(1) *Les biomarqueurs du cancer*

« *En cancérologie, un biomarqueur peut se définir comme un paramètre biologique identifiant une entité nosologique distincte ou un sous-groupe de pronostic homogène au sein d'une population de patients atteints d'une maladie donnée, ou permettant de prédire la réponse à un traitement donné.* » [258].

Les biomarqueurs du cancer sont essentiellement des gènes ou des protéines dont la séquence a été modifiée et qui sont soit sur-exprimés soit sous-exprimés (ou absents) dans certains types de tumeurs. Ces biomarqueurs peuvent intervenir tout au long de la prise en charge d'un cancer. Certains permettent de prévenir le cancer de façon précoce, en informant sur le risque de développer ultérieurement un cancer en particulier. D'autres permettent d'établir un diagnostic précis en signalant la présence d'un cancer et en donnant des informations sur la nature et le stade d'une tumeur. Les biomarqueurs du cancer permettent également de stratifier les patients pour leur éviter la survenue de toxicités ou alors pour déterminer l'éligibilité à une thérapie ciblée si elle existe. D'autres encore permettent de suivre l'efficacité du traitement, d'établir un pronostic sur l'évolution de la tumeur et enfin d'évaluer le risque d'apparition de métastases [259].

Parmi tous ces différents types de biomarqueurs, nous allons tout particulièrement nous intéresser aux biomarqueurs qui déterminent l'accès à une thérapie ciblée. Il s'agit des biomarqueurs pharmacogénomiques somatiques, aussi appelés biomarqueurs prédictifs déterminant l'accès à une thérapie ciblée ou biomarqueurs prédictifs d'une cible thérapeutique.

(a) Les biomarqueurs prédictifs, déterminant l'accès à une thérapie ciblée

Les biomarqueurs prédictifs permettent de différencier les patients qui répondront plus ou moins favorablement à une thérapie donnée. Lorsque plusieurs thérapies sont disponibles, les biomarqueurs prédictifs vont permettre aux médecins d'orienter leur choix vers la thérapie la plus efficace pour le patient. Ils constituent donc une aide à la décision thérapeutique.

Les biomarqueurs prédictifs déterminant l'accès à une thérapie ciblée limitent l'indication de celle-ci aux sous-populations de patients les plus susceptibles d'en bénéficier. Ils constituent ainsi des facteurs d'enrichissement de populations cibles d'un traitement. Ces biomarqueurs moléculaires constituent des cibles thérapeutiques pour les thérapies ciblées. Cette notion de cible thérapeutique est centrale dans l'oncologie de précision. Ce sont principalement des produits de gènes altérés par une mutation dite « driver », c'est-à-dire qui confère un avantage de croissance à la cellule et participe au processus tumoral [260, 261, 262].

Un certain nombre de ces biomarqueurs prédictifs déterminant l'accès à une thérapie ciblée ont déjà été mis en place dans la pratique clinique pour la prise en charge de plusieurs cancers. C'est notamment le cas des cancers du sein, du poumon, gastrique, colorectal métastatique, du mélanome, et des leucémies myéloïdes chroniques et lymphoblastiques aigües.

Tableau 1. Biomarqueurs prédictifs déterminant l'accès à une thérapie ciblée [259].

Type de cancer	Biomarqueur	Utilité du marqueur
Cancer du sein	Amplification de <i>HER2</i>	Prescription du trastuzumab dans le cancer du sein métastatique et en adjuvant dans le cancer du sein précoce. Prescription du pertuzumab en association avec trastuzumab et docetaxel dans le cancer du sein métastatique. Prescription du lapatinib dans le cancer du sein métastatique.
Cancer gastrique	Amplification de <i>HER2</i>	Prescription du trastuzumab dans le cancer gastrique métastatique.
Cancer colorectal métastatique	Mutations de <i>KRAS</i>	Prescription du panitumumab et du cétuximab dans les cancers colorectaux ne présentant pas de mutation de <i>KRAS</i> ou <i>NRAS</i> .
	Mutations de <i>NRAS</i>	
	Mutations de <i>BRAF</i>	

GIST (Gastro-Intestinal Stromal Tumor)	Mutation de <i>KIT</i>	Prescription d'imatinib.
	Mutation de <i>PDGFRA</i>	Prescription d'imatinib.
Cancer du poumon	Mutations d' <i>EGFR</i>	Prescription du géfitinib, d'erlotinib, d'afatinib ou d'osimertinib.
	Translocations d' <i>ALK</i>	Prescription de crizotinib ou de céritinib.
	Translocation de ROS1	Prescription de crizotinib.
	Mutations de <i>KRAS</i>	
	Mutations de <i>BRAF</i>	
	Mutations de <i>PI3KCA</i>	
	Mutations de <i>HER2</i>	
Mélanome	Mutations de <i>BRAF</i>	Prescription de vémurafénib, de dabrafénib, de cobimétinib ou de tramétinib.
	Mutations de <i>KIT</i>	
	Mutations de NRAS	
Glioblastome	Méthylation de <i>MGMT</i>	Sensibilité au temozolomide.
Leucémie myéloïde chronique (LMC) /	Translocation de <i>BCR-ABL</i> au diagnostic	Prescription d'imatinib ou de nilotinib en 1 ^{re} ligne de traitement.

Leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)	Détection de <i>BCR-ABL</i> pour le suivi de la maladie résiduelle	Résistance à l'imatinib/prescription de dasatinib, de bosutinib ou de ponatinib en 2 ^e ou 3 ^e ligne.
	Mutation d' <i>ABL</i>	
Leucémie lymphoïde chronique	Délétion 17p	Prescription d'idelalisib.
	Mutation de <i>TP53</i>	

2. Les traitements d'oncologie de précision : Le bon traitement au bon patient

La médecine personnalisée en oncologie, aussi appelée oncologie de précision, a pour but de prescrire le bon traitement au bon patient en fonction des caractéristiques moléculaires de sa tumeur. L'oncologie de précision ne vient en aucun cas remplacer les traitements dits « classiques » comme la chimiothérapie, la radiothérapie et la chirurgie qui permettent aujourd'hui de guérir un cancer sur deux. Mais elle permet d'élargir l'arsenal thérapeutique et d'offrir de nouvelles opportunités thérapeutiques aux patients pour lesquels les traitements classiques ne suffisent plus [263, 254].

Les traitements d'oncologie de précision sont de deux types : les thérapies ciblées et les immunothérapies dites spécifiques. Les thérapies ciblées bloquent la croissance et la propagation des tumeurs en ciblant les anomalies moléculaires qui en sont responsables. Tandis que les traitements d'immunothérapies spécifiques restaurent l'efficacité du système immunitaire pour qu'il détruise les cellules cancéreuses en ciblant soit la cellule tumorale ou son environnement, soit directement le système immunitaire.

Il existe aujourd'hui (Mars 2018), 79 médicaments de précision en oncologie et des nouvelles molécules sont en permanence développées. Sur ces 79 médicaments de précision, 36 ont un biomarqueur prédictif de réponse qui lui est associé (29 thérapies ciblées et 7 immunothérapies spécifiques passives) (tableau 2.). Les principaux cancers concernés par ces 36 médicaments

sont le cancer bronchique non à petites cellules (10), le cancer du sein (7), la leucémie myéloïde chronique (5), le mélanome (5), la leucémie lymphoblastique aigüe (3), la leucémie myéloblastique aigüe (3), la leucémie lymphoblastique chronique (2) et le cancer colorectal (2). Pour les autres médicaments de précision, aucun biomarqueur n'a été mis en évidence dans les tumeurs afin de sélectionner les patients les mieux répondeurs. Ces médicaments sont donc prescrits selon l'organe touché comme les chimiothérapies conventionnelles.

Aujourd'hui, l'oncologie de précision ne concerne que certains cancers car les traitements sont disponibles en fonction des avancées de la recherche et de la mise en lumière de nouvelles cibles moléculaires à l'origine du cancer. Cependant, de nombreuses molécules sont en phase de développement afin qu'à l'avenir, l'oncologie de précision soit applicable à un panel plus large de cancers.

A l'heure actuelle, les thérapies ciblées et les immunothérapies spécifiques ne sont pratiquement prescrites qu'aux patients qui ont une forme avancée ou métastatique de cancer, ou qui ont rechuté à la suite d'un précédent traitement. Deux traitements font exception et peuvent être prescrits à un stade plus précoce afin de limiter les rechutes : le trastuzumab, en complément d'une chimiothérapie conventionnelle dans les cancers du seins HER2 positifs à la suite d'une opération, et l'imatinib, à la suite d'une opération des tumeurs stromales gastrointestinales (GIST) [263, 265].

Les traitements d'oncologie de précision peuvent être prescrits seuls ou en association avec de la chimiothérapie cytotoxique, de la radiothérapie ou avec d'autres traitements ciblés [265].

Tableau 2. Médicaments d'oncologie de précision disponibles (Mars 2018).

Thérapies ciblées	Immunothérapies spécifiques
<p>INHIBITEURS TYROSINE KINASE</p> <p>Afatinib BM Alectinib BM Axitinib Bosutinib BM Brigatinib BM Cabozantinib Ceritinib BM Cobimetinib BM Crizotinib BM Dabrafenib BM Dasatinib BM Erlotinib BM Gefitinib BM Ibrutinib Imatinib BM Lapatinib BM Lenvatinib Lorlatinib BM ATU nominative Midostaurine BM Nilotinib BM Osimertinib BM Pazopanib Ponatinib BM Regorafenib Ruxolitinib Sonidégib Sorafenib Sunitinib Trametinib BM Vandetanib Vemurafenib BM</p>	<p>IMMUNOTHERAPIES SPECIFIQUES PASSIVES</p> <p>ANTICORPS MONOCLONAUX DIRIGES SUR RECEPTEURS TYROSINE-KINASE MEMBRANAIRES</p> <p>Cetuximab BM Panitumumab BM Pertuzumab BM Ramucirumab Trastuzumab BM Trastuzumab entansine BM Depatixumab mafodotine BM ATU nominative</p> <p>ANTICORPS MONOCLONAUX DIRIGES CONTRE LES PROTEINES DE TYPE CLUSTER DE DIFFERENCIATION</p> <p>Obinituzumab Ibritumomab tiuxétan Rituximab Ofatumumab Blinatumomab Brentuximab Vedotin Daratumomab Gentuzumab ozogamicine BM ATU de cohorte et nominative</p> <p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-VEGFR2</p> <p>Ramucirumab</p>

<p>INHIBITEURS DE LA VOIE HEDGEHOG</p>	<p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-VEGF</p>
<p>Vismodegib</p>	<p>Aflibercept Bevacizumab</p>
<p>INHIBITEURS PROTEINE M-TOR</p>	<p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-RANKL</p>
<p>Temsirolimus Everolimus BM</p>	<p>Denozumab</p>
<p>INHIBITEURS IDH1</p>	<p>CAR-T cell</p>
<p>Ivosidénib BM ATU nominative</p>	<p>Tisagenlecleucel ATU nominative</p>
<p>INHIBITEURS PARP</p>	<p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-SLAMF7</p>
<p>Olaparib BM Niraparib ATU de cohorte</p>	<p>Elotuzumab</p>
<p>INHIBITEURS BCL-2</p>	<p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-GD2</p>
<p>Vénétoclax BM</p>	<p>Dinutuximab beta ATU nominative</p>
<p>INHIBITEURS FARNESYLTRANSFERASE</p>	<p>IMMUNOTHERAPIES SPECIFIQUES ACTIVES IMMUNOMODULATEURS ANTITUMORAUX</p>
<p>Tipifarnib ATU nominative</p>	<p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-PD-L1</p>
<p>INHIBITEURS SERINE /THREONINE KINASE</p>	<p>Pembrolizumab Atézolizumab</p>
<p>Alisertib ATU nominative</p>	<p>Durvalumab ATU nominative et cohorte Avelumab</p>
<p>INHIBITEURS CDK 4 ET 6</p>	<p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-PD-1</p>
<p>Ribociclib BM Palbociclib BM</p>	<p>Nivolumab</p>
<p>INHIBITEURS MEK</p>	
<p>Binimétinib BM ATU nominative</p>	

<p>INHIBITEURS DU PROTEASOME</p> <p>Bortezomid Carfilzomid Ixazomib</p> <p>INHIBITEURS IDH2</p> <p>Enasidenib BM ATU nominative</p> <p>INHIBITEURS HDAC</p> <p>Romidepsine ATU nominative Vorinostat ATU nominative Panobinostat</p> <p>INHIBITEURS PI3Kδ</p> <p>Idelalisib BM</p> <p>*BM : biomarqueur *ATU : autorisation temporaire d'utilisation</p>	<p>ANTICORPS MONOCLONAUX ANTI-CTLA-4</p> <p>Ipilimumab</p>
---	---

a) *Les thérapies ciblées*

Les premières thérapies ciblées ont fait leur apparition au début des années 2000. Elles sont le fruit de nombreuses années de recherche fondamentale et translationnelle pour essayer de comprendre les mécanismes moléculaires à l'origine du cancer.

Les thérapies ciblées en oncologie sont une nouvelle classe de médicaments dont le mécanisme d'action est beaucoup plus spécifique que celui des chimiothérapies cytotoxiques classiques. En effet, les chimiothérapies cytotoxiques s'attaquent aux cellules en division qu'elles soient cancéreuses ou non. Elles sont à l'origine d'importants effets indésirables. Au contraire, les thérapies ciblées agissent comme des missiles à têtes chercheuses sur des cibles moléculaires

présentes au niveau des cellules cancéreuses, et qui ont un rôle stratégique dans la progression du cancer. Les cellules cancéreuses sont donc détruites tout en épargnant les cellules normales. Ces cibles moléculaires interviennent principalement dans la transduction des signaux de multiplication de la cellule tumorale comme par exemple, un récepteur ou un facteur de croissance. A ce jour, la voie des tyrosines kinases est la plus connue des chercheurs et des médecins [266].

Une thérapie ciblée peut être prescrite de façon personnalisée si son accès est conditionné par un biomarqueur prédictif et si la signature moléculaire de la tumeur du patient présente ce même biomarqueur. Dans ce cas, une même thérapie ciblée pourrait être prescrite dans plusieurs types de cancers, du moment qu'ils présentent le même biomarqueur prédictif de réponse. En exemple, le dabrafénib peut être prescrit dans un cancer du poumon non à petites cellules ou un mélanome non résecable métastatique, porteurs de la mutation BRAF V600. A l'inverse, pour un même organe, plusieurs thérapies ciblées peuvent être utilisées. En effet, pour un seul et même organe il existe plusieurs sous-types moléculaires de cancers définis par l'anomalie moléculaire qui les caractérise. Par exemple, dans le cancer du poumon, plusieurs anomalies moléculaires ont été identifiées, notamment la mutation dans les gènes *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *PI3KCA* et *HER2* et la translocation des gènes *ALK* et *ROS1*. Un patient présentant un cancer du poumon muté *EGFR* ne sera pas traité par la même thérapie ciblée qu'un patient avec un cancer du poumon présentant une translocation du gène *ALK* [267].

Enfin, Il existe 52 traitements de thérapies ciblées disponibles. Cela ne veut pas dire qu'ils visent 52 cibles moléculaires différentes. Parmi eux, certains ont un mécanisme d'action similaire et visent une cible moléculaire commune. Ainsi dans le mélanome, 4 thérapies ciblées visent la mutation BRAF (cobimétinib, vémurafénib, dabrafénib, tramétinib).

Les thérapies ciblées sont des petites molécules qui peuvent traverser la membrane cellulaire pour bloquer l'activité enzymatique d'une protéine cible. Cela va avoir pour conséquence l'inhibition des cascades d'activation des processus cancéreux à l'intérieur des cellules tumorales, mais aussi à l'intérieur des cellules constituant le microenvironnement de la tumeur. Les tumeurs sont donc privées des signaux vitaux qui régulent leur survie [10, 268]. Les noms de ces petites molécules sont composés d'un préfixe variable, d'une sous-racine et de la racine « ib » pour inhibitrice. Pour les molécules inhibitrices des tyrosines kinases, la sous-racine est « tin » (lapatinib), pour les molécules inhibitrices du protéasome la sous-racine est « zom »

(bortézomid), pour les molécules inhibitrices des kinases dépendantes des cyclines, la sous-racine est « cicl » (palbociclib), pour les molécules inhibitrices de la PARP (Poly ADP-ribose polymérase) la sous-racine est « par » (olaparib) et enfin, pour les molécules inhibitrices de m-TOR (Mamalian Target of Rapamycin) la sous-racine est « imus » (évérolimus) [269]. Les thérapies ciblées peuvent être classées en fonction de leur mode d'action. Certaines vont inhiber des enzymes qui interagissent avec une ou plusieurs étapes de l'activation des facteurs de croissance cellulaire, certaines vont inhiber l'angiogenèse et la néo-angiogenèse et d'autres vont induire l'apoptose des cellules tumorales [10].

Les thérapies ciblées dites inhibitrices enzymatiques, comme le lapatinib, freinent la progression et la dissémination du cancer, en attaquant spécifiquement les enzymes qui stimulent la prolifération des cellules cancéreuses. Ces enzymes sont en grand nombre dans le corps humain et ont un rôle crucial dans le déclenchement de la division cellulaire ou encore dans la fourniture d'énergie aux cellules [270].

Ces enzymes font parties d'un réseau complexe, permettant la communication d'informations des cellules entre elles ou entre leur environnement. Au sein des cellules cancéreuses, des anomalies génétiques perturbent ce réseau et les enzymes sont activées de manière forcée pour que les cellules puissent continuer à proliférer [271]. Par exemple, les enzymes tyrosine kinase agissent comme des interrupteurs en activant ou fermant une voie de signalisation cellulaire. Elles sont aujourd'hui la cible de nombreuses molécules, les ITK, qui ont révolutionné les traitements du cancer bronchique non à petites cellules et de la leucémie myéloïde chronique.

Les thérapies ciblées dites anti-angiogéniques, comme le sunitinib, vont quant à elles, bloquer le processus de formation de nouveaux vaisseaux sanguins dans les cellules cancéreuses. Lorsqu'une tumeur cancéreuse grossit au point de dépasser un volume d' 1 mm^3 , les vaisseaux sanguins existants ne sont plus suffisants pour bien l'irriguer. Pour contourner ce problème, la tumeur va donc libérer des facteurs de croissances vasculaires (VEGF- Vascular Endothelial Growth Factor) dans les vaisseaux sanguins existants, afin que de nouveaux embranchements se créent. Ainsi, la tumeur va pouvoir intercepter dans le sang les nutriments et l'oxygène dont elle a besoin pour pouvoir survivre et continuer à se développer. Et pire encore, des cellules cancéreuses se détachant de la tumeur pourront plus aisément passer dans le sang et atteindre d'autres organes plus ou moins proches et s'y fixer, créant des métastases. L'objectif des thérapies ciblées anti-angiogéniques est de bloquer les facteurs de croissance vasculaire

produits par les cellules cancéreuses, pour les empêcher de détourner le système sanguin à leurs fins et donc d'affamer la tumeur [270].

Enfin, les thérapies ciblées induisant l'apoptose, par exemple le bortézomib ou le vénétoclax, vont s'attaquer à des protéines ou des structures protéiques comme le protéasome, qui contrôlent la vie ou la mort des cellules cancéreuses. L'apoptose est la mort programmée cellulaire, c'est un processus naturel qui va permettre de remplacer des cellules dont la période de vie est arrivée à échéance ou alors de forcer les cellules anormales à se suicider. Or, les cellules cancéreuses arrivent à déjouer ce mécanisme pour devenir immortelles et continuer à se diviser sans cesse. Ces thérapies ciblées vont ainsi rétablir et stimuler la mort des cellules cancéreuses [270].

Les thérapies ciblées dites « petites molécules » présentent plusieurs avantages non négligeables pour le patient. Tout d'abord, elles peuvent être prises par voie orale soit en comprimés, soit en gelules [272]. Puisqu'elles ciblent uniquement les cellules cancéreuses, ces thérapies ciblées provoquent moins d'effets secondaires que les chimiothérapies classiques. Enfin, ces thérapies ciblées peuvent être prescrites sur-mesure au patient, à l'aide de tests moléculaires préalables, qui permettent d'identifier les anomalies propres à la tumeur. Le patient bénéficie donc d'un schéma de traitement adapté spécifiquement aux caractéristiques de sa tumeur, et sans prendre le risque de se voir prescrire des traitements inutiles et toxiques [270].

b) L'immunothérapie spécifique

L'immunothérapie du cancer repose sur l'idée d'utiliser le système immunitaire du corps pour combattre la maladie. C'est l'une des avancées médicales majeures de ces dix dernières années dans la lutte contre le cancer, et aujourd'hui, l'une des voies de recherche les plus prometteuses en oncologie.

Les chercheurs savent depuis longtemps que le système immunitaire joue un rôle clef dans le contrôle de la prolifération des cellules cancéreuses. Cependant, les résultats des premières immunothérapies dans le cancer ont été très modestes, provoquant alors des désillusions quant à leur efficacité et ce, allant jusqu'à remettre en question l'existence même d'une immunité antitumorale [273]. Ces doutes ont ainsi mis l'immunothérapie du cancer au rang d'option thérapeutique marginale. Néanmoins, après des nombreuses années d'efforts, les chercheurs

ont fait des découvertes cruciales sur la façon dont les cellules cancéreuses freinent le système immunitaire et l'utilisent à leur profit. Ces découvertes ont permis une nouvelle approche d'immunothérapie, qui consiste à prendre en compte le microenvironnement immunosuppresseur induit par la tumeur et de lever cette immunosuppression [274]. C'est grâce à ce nouveau concept que l'immunothérapie est réellement en marche depuis dix ans.

L'immunothérapie anticancéreuse est une sorte de thérapie biologique qui va renforcer ou rétablir une réaction immunitaire, suffisamment efficace, pour combattre et détruire les cellules cancéreuses. Elle peut, soit activer le système immunitaire contre les cellules tumorales en stimulant et induisant la réponse immunitaire, notamment par l'intermédiaire d'anticorps monoclonaux ; soit être utilisée pour lever les freins immunitaires induits par la tumeur, grâce aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaire, à la vaccination antitumorale et aux thérapies adoptives par transfert de lymphocytes T. Enfin, on peut avoir recours à l'immunothérapie pour administrer des toxines comme la radiothérapie ou la chimiothérapie, directement aux cellules cancéreuses, par l'intermédiaire d'anticorps conjugués [274, 275, 276].

Le système immunitaire est un mécanisme de défense naturel très efficace de notre organisme contre les infections et les maladies. Il est capable d'identifier et de cibler de manière très spécifique les corps étrangers tels que les bactéries, les virus, les champignons ou encore les parasites, mais aussi les cellules anormales telles que les cellules cancéreuses. Afin de lutter contre les cellules cancéreuses, notre système immunitaire fait principalement intervenir des cellules spécialisées appelées lymphocytes T. Les lymphocytes T différencient les cellules cancéreuses des cellules saines car elles ont à leur surface un fragment protéique appelé antigène tumoral. Cet antigène tumoral étant considéré comme un corps étranger par notre système immunitaire, les lymphocytes T détruisent alors les cellules cancéreuses. Cependant, ce système de défense n'est malheureusement pas sans faille puisque les cellules cancéreuses sont capables de tromper le système immunitaire pour devenir indétectables des lymphocytes T. En effet, les cellules tumorales mettent en place plusieurs mécanismes d'échappement au système immunitaire. La cellule cancéreuse est notamment capable, suite à des mutations successives, de modifier son phénotype, comme par exemple, perdre l'expression de l'antigène reconnu par les lymphocytes T pour se fondre parmi les cellules normales. Puis, par pression de sélection du système immunitaire, seules les cellules résistantes à l'attaque immunitaire subsisteront et pourront alors continuer à proliférer dans l'organisme. Les cellules cancéreuses peuvent également favoriser la sécrétion de molécules immunosuppressives qui vont freiner et

bloquer le système immunitaire. C'est notamment grâce aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaire que les freins induits par la tumeur elle-même peuvent être levés. Enfin, les cellules cancéreuses ont également le pouvoir de modifier le phénotype des lymphocytes T pour qu'ils deviennent non fonctionnels et donc plus capables de les détruire [274]. L'immunothérapie anticancéreuse va donc essayer de contrer les mécanismes d'échappement de la cellule cancéreuse afin de rétablir une réponse immunitaire efficace dirigée contre elle.

L'immunothérapie est spécifique lorsqu'elle agit sur des cibles particulières, soit de la tumeur ou de son microenvironnement, soit du système immunitaire.

L'immunothérapie spécifique se décompose en deux aires : l'immunothérapie spécifique passive et l'immunothérapie spécifique active.

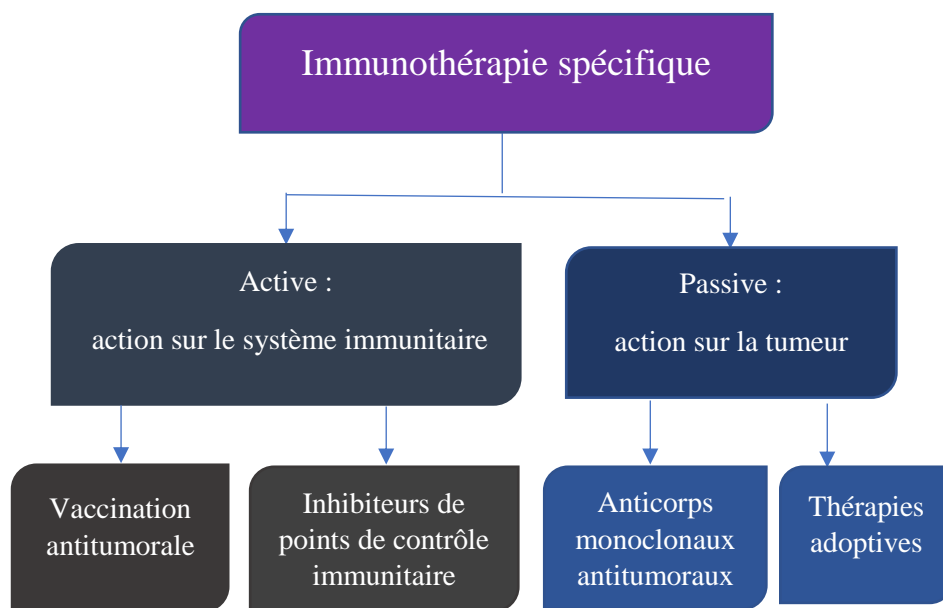


Figure 21. Classement des immunothérapies spécifiques, inspirée de [277].

L'immunothérapie spécifique passive est utilisée depuis 1997. Elle consiste à apporter de nouveaux effecteurs immunologiques fabriqués en laboratoire, qui vont attaquer les cellules cancéreuses comme le ferait le système immunitaire [277, 278]. Ces effecteurs immunologiques peuvent être des anticorps monoclonaux, des anticorps conjugués ou encore bispécifiques. Ils sont artificiels et vont cibler des protéines présentes à la surface des cellules cancéreuses afin

de les détruire. Une autre approche appelée « thérapie adoptive cellulaire » consiste également à utiliser les lymphocytes T du patient, de les réactiver en laboratoire et de les lui réadministrer.

Les anticorps monoclonaux ont révolutionné la prise en charge de certains cancers et leur utilisation est aujourd'hui très répandue.

Ce sont de grandes molécules qui ne traversent pas la membrane de la cellule mais qui ciblent des molécules localisées à sa surface. Ce sont des versions synthétiques de nos anticorps, naturellement sécrétées dans notre organisme par notre système immunitaire. Ces anticorps monoclonaux sont des biomédicaments issus du génie génétique et d'une production biologique [29, 279]. Leur dénomination commune internationale suit une nomenclature bien précise. Elle se compose d'un préfixe variable, d'une sous-racine qui change en fonction de la cible de l'anticorps et de la racine « mab » qui varie en fonction de la source de l'anticorps. La sous-racine est « ci(r) » lorsque que la cible est circulante comme le facteur de croissance VEGF qui est la cible du bevacizumab. La sous-racine est « li(m) » lorsque la cible de l'anticorps est le système immunitaire. C'est le cas de l'atézolizumab qui est un inhibiteur de point de contrôle immunitaire. Enfin, la sous-racine est « t(u) » lorsque l'anticorps monoclonal cible la tumeur comme le rituximab. La racine dépend de la source de l'anticorps monoclonal. Lorsque l'anticorps est chimérique humain-murin, la racine est « ximab » ; lorsqu'il est murin complètement humanisé, la racine est « zumab » ; et enfin lorsqu'il est complètement humain, la racine est « mumab » [280].

Les anticorps monoclonaux utilisés en immunothérapie spécifique passive ont pour cible la cellule cancéreuse et son microenvironnement. Ils peuvent se lier à des protéines présentes à la surface des cellules tumorales et des cellules qui les entourent. Ces protéines sont soit des antigènes tumoraux, soit des récepteurs extracellulaires. Dans le cas des antigènes tumoraux, les anticorps monoclonaux se lient à l'antigène et mobilisent des cellules immunitaires qui attaquent et détruisent la cellule tumorale. Par exemple, le rituximab est un anticorps monoclonal qui se lie spécifiquement à l'antigène transmembranaire CD20 des lymphocytes pré-B et B matures, et génère des fonctions d'effecteurs immunitaires qui entraînent la lyse de ces lymphocytes. Les récepteurs extracellulaires ont quant à eux, un rôle fondamental dans la transmission de certains signaux vitaux des cellules cancéreuses (récepteurs tyrosine kinase membranaires). Dans le cas des récepteurs extracellulaires, les anticorps monoclonaux se lient au récepteur, rendant son site de liaison inaccessible pour le ligand spécifique. Par exemple, le

cétuximab est un anticorps monoclonal spécifiquement dirigé contre le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR). Ce facteur de croissance est impliqué dans le contrôle de la survie cellulaire, de la progression du cycle cellulaire, de l'angiogenèse, de la migration et de l'invasion cellulaire et du potentiel métastatique des cellules. Mais les anticorps monoclonaux peuvent également se lier aux ligands spécifiques qui ne pourront pas se fixer au site de liaison du récepteur. Ces ligands spécifiques sont des facteurs de croissance extracellulaires. S'ils ne peuvent plus se lier à leurs récepteurs, alors la cellule tumorale ou la cellule environnante sera privée de signaux de croissance. Le bevacizumab, par exemple, est un anticorps monoclonal qui se lie au facteur de croissance VEGF, l'empêchant ainsi de se fixer à son récepteur. Le facteur de croissance VEGF a un rôle crucial dans la vasculogenèse et l'angiogenèse. Une fois neutralisé, la formation de nouveaux vaisseaux tumoraux se verra inhibée ainsi que la croissance tumorale [10, 270, 276, 281].

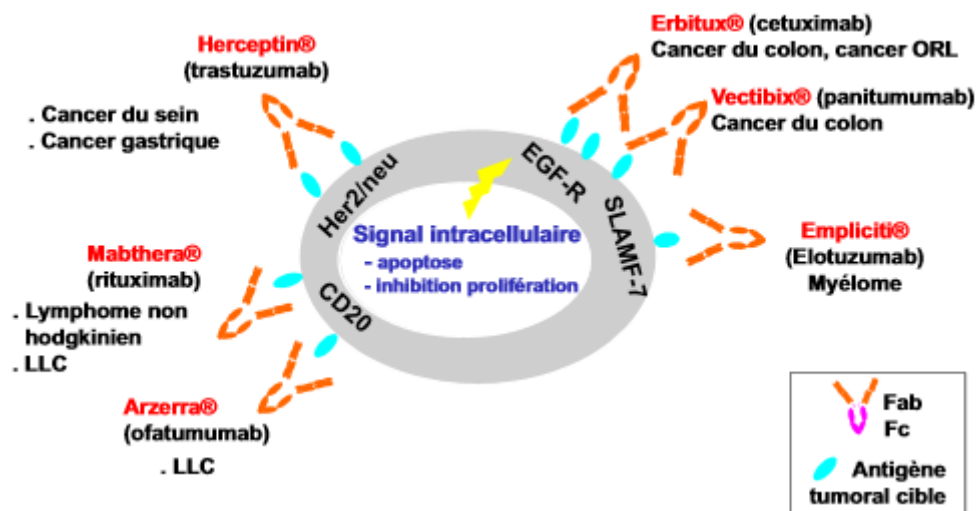


Figure 22. Exemples d'anticorps monoclonaux utilisés en immunothérapie spécifique passive [274].

Les anticorps monoclonaux sont généralement administrés aux patients par voie intraveineuse par perfusion à l'hôpital. Ils ont une demi-vie d'élimination longue.

Les anticorps monoclonaux ont la possibilité d'être armés soit d'une substance toxique soit d'un élément radioactif. Ce sont les anticorps monoclonaux conjugués. Ils permettent d'administrer une radiothérapie ou une chimiothérapie spécifiquement aux cellules cancéreuses. Le principe est simple ; comme les anticorps monoclonaux ciblent particulièrement les cellules cancéreuses, il peut être judicieux de les utiliser comme « véhicule » pour transporter « une arme » qui se déclenche une fois arrivée à bon port. Alain Perez, co-rédacteur de la fondation ARC pour la recherche contre le cancer, compare les anticorps monoclonaux conjugués à des taxis « *voyageant plus ou moins incognito dans l'organisme et transportant sur la banquette arrière un « tueur » impitoyable accomplissant son contrat une fois arrivé* » [2].

Lorsque les anticorps monoclonaux sont utilisés pour transporter des substances radioactives appelées radio-isotopes, ce traitement est également nommé radio-immunothérapie. Les anticorps vont donc repérer les cellules cancéreuses, s'y fixer, et libérer la radiation qui va les détruire. L'ibrutumomab tiuxétan en est un exemple : il s'agit d'un anticorps monoclonal spécifique de l'antigène CD20 des lymphocytes B, marqué par le radio-isotope yttrium-90 [90Y] [281].

Lorsque les anticorps monoclonaux sont utilisés pour transporter des médicaments de chimiothérapie, on parle de conjugués anticorps-médicament. Il en existe plusieurs exemples comme le trastuzumab emtansine, le brentuximab vedotin ou encore le dépatuximab mafodotin.

Enfin, une dernière technique consiste à rendre l'anticorps monoclonal bispécifique. Les anticorps sont dits bispécifiques lorsqu'ils peuvent se lier à deux cellules différentes créant un pont. Dans le cas d'une immunothérapie anticancéreuse, l'anticorps bispécifique réagit avec une cellule cancéreuse et une cellule immunitaire. Le rapprochement de ces deux types de cellules favorise l'action antitumorale du système immunitaire. Le Blinatumomab est pour l'instant le seul anticorps bispécifique. Il peut se lier au CD3 exprimé à la surface des lymphocytes T mais également au CD19 présent à la surface des cellules de lignée B dans la leucémie lymphoblastique aigüe à précurseurs B [281, 282].

Une autre méthode d'immunothérapie spécifique passive existe, il s'agit de **l'immunothérapie cellulaire adoptive, aussi appelé transfert adoptif de lymphocytes T**. Cette méthode consiste à booster le système immunitaire du patient en munissant ces lymphocytes T d'un récepteur, pour mieux reconnaître les cellules tumorales et pouvoir les attaquer. Concrètement, des lymphocytes T sont prélevés dans la tumeur ou dans le sang du patient, puis modifiés

génétiqnement en laboratoire afin que les cellules T expriment à leur surface un récepteur antigénique chimérique artificiel (CAR). Ce récepteur permettra aux lymphocytes T modifiés, CAR-T, de se lier à l'antigène tumoral CD19 exprimé dans la plupart des cellules cancéreuses hématopoïétiques. Une fois modifiées, les cellules CAR-T sont cultivées en laboratoire puis réinjectées dans le corps du patient où elles pourront reconnaître et détruire spécifiquement les cellules tumorales. Dès qu'une cellule CAR-T détecte une cellule cancéreuse elle se multiplie et est ainsi capable de détruire jusqu'à 1000 cellules cancéreuses [282, 283].

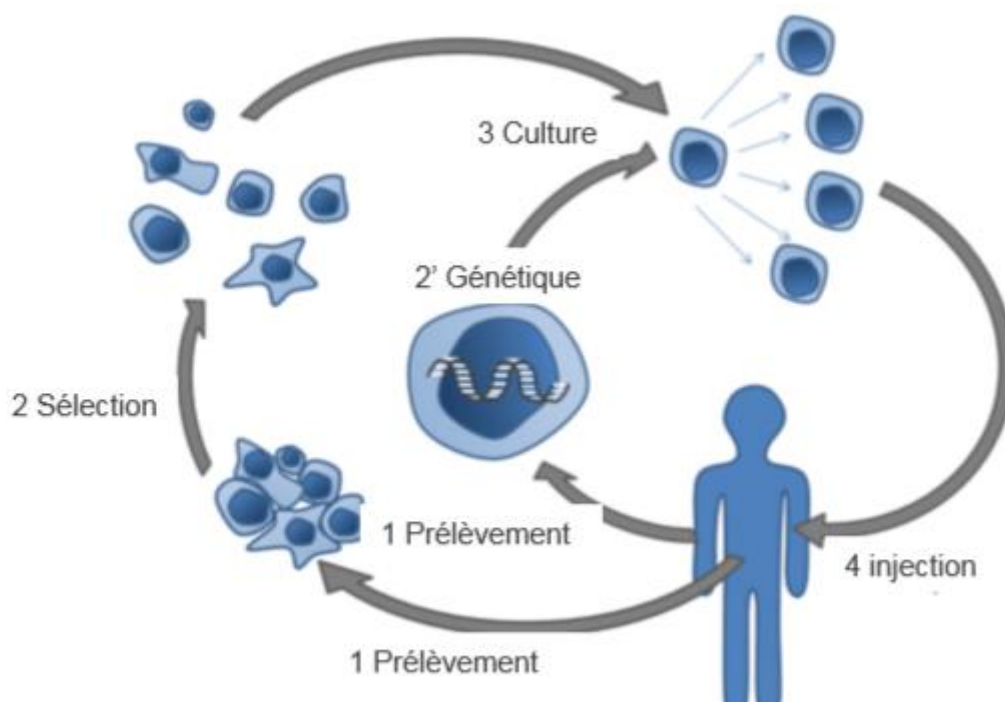


Figure 23. Transfert adoptif de cellules [284].

Le tisagenlecleucel est la première thérapie cellulaire adoptive par transfert de lymphocytes T approuvée aux Etats-Unis. Elle est indiquée chez les leucémies lymphoblastiques aiguës à précurseurs B réfractaires, chez les patients de moins de 25 ans. Elle est disponible en France en ATU nominative. C'est une thérapie très prometteuse pour les leucémies et les lymphomes chez les adultes et les enfants. Cependant, sa toxicité est importante lorsque sa cible se trouve sur des cellules normales. Plusieurs décès ont été rapportés lors d'essais cliniques. Des

recherches sont actuellement en cours pour mieux comprendre les mécanismes immunitaires induits par les cellules CAR-T, afin de permettre une administration plus sûre [282, 284].

L'immunothérapie spécifique active contrairement à l'immunothérapie spécifique passive ne cible pas la cellule tumorale mais le système immunitaire existant. Elle est relativement récente car elle est utilisée depuis 2010. Elle consiste à stimuler directement le système immunitaire afin que celui-ci puisse contrecarrer les mécanismes d'échappement mis en œuvre par les cellules cancéreuses [285]. Il existe deux types d'immunothérapies actives spécifiques. Le premier type est la vaccination antitumorale qui utilise des cellules présentatrices d'antigènes ou des exosomes chargés d'antigènes tumoraux, afin qu'une réponse lymphocytaire spécifique de la tumeur soit induite. Nous n'allons pas détailler la vaccination antitumorale puisqu'aujourd'hui, aucun vaccin n'est disponible en France. Le deuxième type est constitué des inhibiteurs de points de contrôle immunitaire, qui vont s'opposer à l'immunosuppression induite par la tumeur et son microenvironnement [277].

Grâce aux avancées récentes de la recherche en immunothérapie cancéreuse, les chercheurs ont découvert le rôle fondamental des points de contrôle immunitaire. C'est une étape déterminante puisque cette découverte est à l'origine de la nouvelle génération de traitements considérés aujourd'hui comme le cœur de l'immunothérapie anticancéreuse par les laboratoires pharmaceutiques [273, 278].

Les points de contrôle immunitaire sont des protéines présentes à la surface des lymphocytes T et sont utilisés par l'organisme pour ralentir une réponse immune excessive. Ils agissent comme les garde-fous du système immunitaire pour éviter que celui-ci ne s'emballer et ne s'attaque aux cellules normales, provoquant une réaction auto-immune [273, 276, 277]. Malheureusement, ces garde-fous peuvent être détournés par les cellules cancéreuses pour échapper à l'immunosurveillance [277]. En effet, certaines cellules cancéreuses mutent et acquièrent des propriétés, comme se faire passer pour des cellules saines, en produisant des points de contrôle et en les présentant à leur surface afin de tromper le système immunitaire [283]. Le système immunitaire est alors incapable de reconnaître les cellules cancéreuses et de les détruire, la tumeur freine le système immunitaire. Parmi les différents points de contrôle, deux font l'objet de grandes recherches, les récepteurs CTLA-4 et PD-1 [282].

Le point positif est que ces points de contrôle immunitaire peuvent être bloqués par des molécules dites **inhibitrices de points de contrôle immunitaire**. Ces molécules sont en fait

des anticorps monoclonaux qui vont reconnaître soit le récepteur point de contrôle soit le ligand, et empêcher la liaison entre le récepteur point de contrôle et son ligand spécifique. Les freins du système immunitaire étant levés, les lymphocytes T peuvent donc à nouveau reconnaître les cellules cancéreuses et les éliminer [271, 274].

Des anticorps monoclonaux inhibiteurs du récepteur CTLA-4 (Cytotoxic T Lymphocyte-associated protein 4), du récepteur PD-1 (Programmed cell Death protein 1) et de son ligand PD-L1 (Programmed cell Death Ligand 1) sont aujourd'hui disponibles en France pour le traitement du mélanome, du cancer bronchique non à petites cellules, du lymphome de Hodgkin, et des carcinomes urothéliaux, à cellules de Merkel métastatiques et à cellules rénales.

Le CTLA-4 est un récepteur point de contrôle présent à la surface des lymphocytes T et est responsable de la désactivation du lymphocyte T au niveau des organes lymphoïdes [277]. La première immunothérapie inhibitrice de point de contrôle approuvée en 2011 a été l'ipilimumab, un anti CTLA-4 indiqué dans le mélanome métastatique. L'ipilimumab bloque le récepteur CTLA-4 qui ne va pas pouvoir mener son action de frein face au système immunitaire, qui pourra alors combattre les cellules cancéreuses [287]. Ce médicament a démontré son efficacité clinique puisqu'il est associé à une réponse longue, supérieure à 3 ans, chez 20% des patients atteints d'un mélanome métastatique [7, 287]. L'ipilimumab est devenu en 2 ans un blockbuster, ce qui est tout à fait exceptionnel, et a ouvert la voie à d'autres traitements, notamment les anti PD-1 et anti PD-L1.

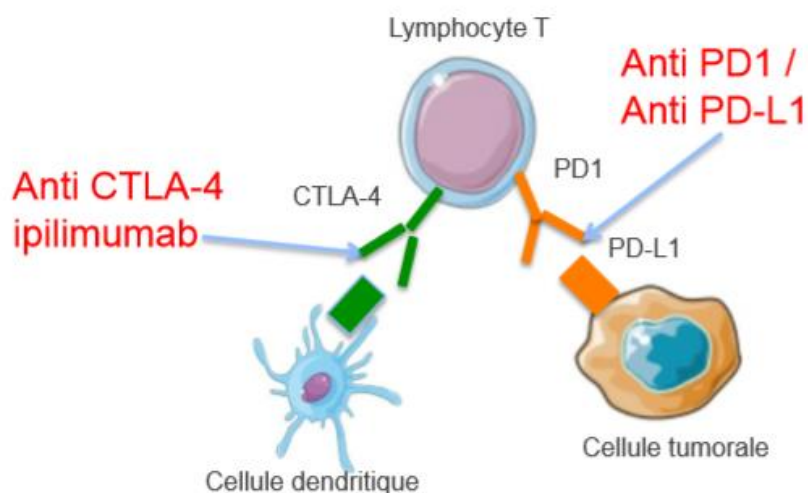


Figure 24. Mécanisme d'action des inhibiteurs de points de contrôle [284].

Le récepteur **PD-1** est un point de contrôle immunitaire présent à la surface des cellules immunitaires. Son ligand, le **PD-L1** est une protéine présente au niveau des cellules normales. Lorsque le récepteur PD-1 de la cellule immunitaire reconnaît le ligand PD-L1 de la cellule saine, cela active une voie de signalisation qui empêche le système immunitaire d'attaquer cette cellule saine. Cependant, certaines cellules cancéreuses sous l'effet de mutations, présentent à leur surface ce ligand PD-L1 pour se protéger d'une attaque. Dans ce cas, deux stratégies sont possibles pour désactiver la liaison entre le récepteur PD-1 et le ligand PD-L1 ; soit bloquer le récepteur PD-1 présent à la surface des lymphocytes T, grâce aux anticorps monoclonaux anti-PD-1, soit bloquer le ligand PD-L1 présent au niveau des cellules cancéreuses, grâce aux anticorps monoclonaux anti PD-L1. Ces deux stratégies permettent de déverrouiller le système immunitaire afin que les cellules de l'immunité puissent mener leur action antitumorale.

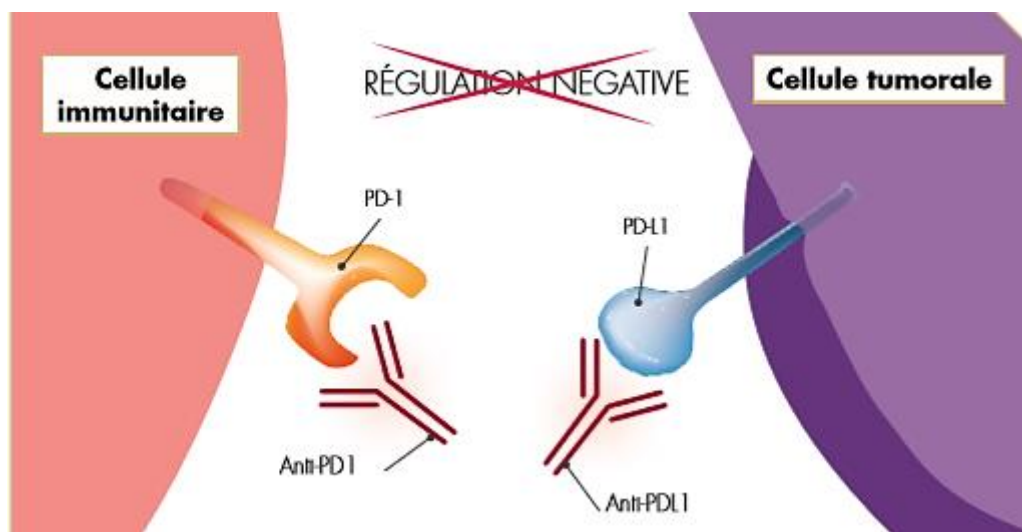


Figure 25. Mécanisme d'action des anti-PD-1 et anti-PD-L1 [273].

Aujourd'hui, six inhibiteurs de points de contrôle immunitaire sont disponibles en France, dont quatre anticorps monoclonaux anti-PD-L1, le pembrolizumab, l'atézolizumab, le durvalumab et l'avélumab, un anticorps monoclonal anti-PD-1, le nivolumab et enfin l'ipilimumab l'anticorps monoclonal anti-CTLA-4 cité précédemment [271, 273, 277].

Les anticorps monoclonaux anti-PD-1/PD-L1 ont démontré un délai de réponse et une réponse allongés par rapport aux chimiothérapies classiques de référence dans le mélanome métastatique et le cancer bronchique non à petites cellules [274, 277]. De plus, leur profil de réponse est prolongé et supérieur par rapport à l'anti-CTLA-4 ipilimumab, et leur toxicité est moindre, faisant de ces anticorps une arme thérapeutique de choix. Ces molécules ont révolutionné la place de l'immunothérapie dans le cancer et sont considérées comme une innovation thérapeutique majeure en oncologie [277].

Néanmoins, la réponse des patients aux anticorps anti-PD-1/PD-L1 peut varier entre 10 et 40% selon les tumeurs et les études cliniques. Le défi aujourd'hui est donc de trouver un biomarqueur prédictif de la réponse à ces anticorps afin de sélectionner les bons répondeurs. Un taux élevé de PD-L1 dans la tumeur du patient, représente un axe de recherche majeur car il est associé à une meilleure réponse, plus rapide et plus longue du patient [273, 288].

L'immunothérapie spécifique représente plusieurs avantages non négligeables pour le patient atteint d'un cancer. Tout d'abord, les effets indésirables sont plutôt rares et sont complètement différents de ceux causés par les chimiothérapies. Les effets secondaires les plus fréquents sont des inflammations et de l'auto-immunité. Les toxicités sévères ne surviennent que dans 10% des patients [273]. Puis, contrairement à la chimiothérapie, les anticorps monoclonaux sont faciles à préparer, et à administrer aux patients. Il n'est pas nécessaire de poser une voie centrale ni de procéder à des transfusions [273]. Enfin, l'immunothérapie spécifique active et en particulier les inhibiteurs de points de contrôle ont été associés à une meilleure qualité de vie des patients durant les études cliniques. Ils ont notamment permis de réduire la taille des lésions tumorales, allant parfois même jusqu'à faire disparaître totalement ces lésions chez des patients en rechute, chez qui les traitements disponibles ne fonctionnaient plus. Ces nouvelles immunothérapies offrent donc un espoir de rémission de longue durée au contraire des thérapies ciblées orales qui n'améliorent que la survie sans progression chez ces patients [273].

Les traitements d'oncologie de précision représentés par les thérapies ciblées et l'immunothérapie spécifique ont également des limites et restent confrontés à plusieurs défis. La première limite des traitements d'oncologie de précision étant que tout le monde ne peut pas en bénéficier. D'ailleurs, le pourcentage de patients qui peuvent y avoir accès varie énormément en fonction du type de cancer (tableau 3).

Tableau 3. Pourcentage de patients présentant l’anomalie moléculaire en fonction de la pathologie [289].

Pathologie	Biomarqueur	% de patients présentant l'anomalie moléculaire
Cancer colorectal	Mutation de RAS	49
Cancer de l'estomac	Amplification de HER2	18
Cancer du sein	Amplification de HER2	18
Cancer de l'ovaire, des trompes de Fallope ou du péritoine	Mutation de BRCA	19-28*
Cancer du poumon (CBNPC)	Mutation d'EGFR	11
	Translocation d'ALK	3
	Translocation de ROS1	1
Tumeur stromale gastro-intestinale (GIST)	Mutation de KIT	62
	Mutation de PDGFRA	17
Mélanome	Mutation V600 de BRAF	35
Leucémie myéloïde chronique (LMC)	Translocation de BCR-ABL	95*
Leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)	Translocation de BCR-ABL	~30*

Le tableau 3 décrit le pourcentage de patients présentant l’anomalie moléculaire en fonction de la pathologie. Par exemple, 18% des patientes atteintes d’un cancer du sein présentent une amplification du gène *HER2*. Cela signifie que seulement 18% des patientes pourront bénéficier d’un traitement d’oncologie de précision ciblant cette anomalie moléculaire. La majorité des patientes devra se contenter des thérapies classiques. En revanche dans la leucémie myéloïde chronique, 95% des patients présentent une translocation *BCR-ABL*. Seulement 5% des patients ne pourront donc pas avoir accès à l’imatinib, ce qui est relativement peu. En ce qui concerne les inhibiteurs de points de contrôle, seulement une minorité de patients peut y avoir recours.

En effet, pour pouvoir en bénéficier, il faut que le taux de mutations des cellules tumorales des patients soit suffisamment élevé pour pouvoir activer le système immunitaire. Cependant, 70% des tumeurs n'induisent que très peu d'activation spontanée du système immunitaire car les cellules cancéreuses sont peu mutées et donc trop semblables aux cellules normales [290].

La deuxième limite est que les traitements de précision en oncologie sont limités dans le temps. En effet, très souvent, la maladie réapparaît ou se remet à progresser après quelques semaines, quelques mois, ou quelques années, car la tumeur est devenue résistante au traitement. Ce traitement n'est donc plus efficace pour contrer le cancer [291].

La troisième limite est d'ordre financier. En effet, les médicaments d'oncologie de précision ainsi que les tests moléculaires pour identifier les biomarqueurs sont onéreux et leur remboursement se fait sous des conditions strictes [292].

Enfin, pour les traitements anti-angiogéniques et les traitements d'immunothérapie spécifique active, aucun biomarqueur n'a été identifié afin de sélectionner les patients bons répondeurs et d'éviter aux non répondeurs un traitement inefficace et toxique.

Les traitements d'oncologie de précision agissent sur des mécanismes moléculaires qui peuvent être partagés par plusieurs types de cancers. De ce fait, ont été créées de nouvelles approches d'études cliniques permettant aux patients hors AMM, d'accéder à ces traitements innovants. Les chercheurs s'efforcent toujours de continuer à comprendre les voies de signalisation dérégulées, ainsi que les mécanismes conduisant au cancer. Inévitablement, cette recherche permettra le développement d'autres traitements d'oncologie de précision.

c) Exemples de Biomarqueurs prédictifs de réponse, donnant accès à un traitement d'oncologie de précision

Ci-dessous sont développés deux exemples de biomarqueurs prédictifs de réponse donnant accès aux thérapies ciblées, le statut *BCR-ABL* dans la leucémie myéloïde chronique et dans la leucémie lymphoblastique aigüe, ainsi que le statut *EGFR* dans le cancer colorectal et le cancer bronchique non à petites cellules. Il existe, bien entendu, d'autres exemples de biomarqueurs prédictifs qui ont révolutionné la prise en charge de certains cancers : le statut *HER2* dans le cancer du sein, qui donne accès au trastuzumab, au lapatinib, au pertuzumab et au TDM-1, le

statut *NRAS* dans le cancer colorectal, qui donne accès au panitumumab et au cétuximab ainsi que le statut *BRAF* dans le mélanome, qui donne accès au vémurafénib, au dabrafénib, au cobimétinib ou encore au tramétinib.

(1) Le statut *BCR-ABL* dans la leucémie myéloïde chronique et la leucémie lymphoblastique aigüe

La leucémie myéloïde chronique (LMC), a été le premier cancer associé à la présence d'une anomalie chromosomique. Il s'agit d'une hémopathie maligne de la cellule souche myéloïde, responsable d'une néoplasie myéloproliférative. La LMC représente 15% de toutes les leucémies avec un taux d'incidence entre 0,6 à 1 pour 100 000 personnes par an. Dans 95% des cas, la LMC est caractérisée par une translocation $t(9;22)(q34;q11)$, menant au chromosome Philadelphie et faisant apparaître un gène de fusion *BCR-ABL* (*Breakpoint cluster region-Abelson murine leukemia*). Les 5 % des patients restant présentent également le gène de fusion *BCR-ABL* dans leur LMC mais pas le chromosome Philadelphie. En effet, dans ce cas, soit le gène *BCR-ABL* est formé par une autre translocation pouvant impliquer un troisième ou un quatrième chromosome, en plus des chromosomes 9 et 22 ; soit la translocation des chromosomes 9 et 22 est cryptique et donc indétectable des examens génétiques. C'est la mise en évidence du gène *BCR-ABL* qui permet de poser le diagnostic de la LMC [261, 293, 294].

L'évolution de la LMC passe par trois phases définies par les paramètres hématologiques : la phase chronique, la phase accélérée et enfin la phase blastique. Lorsque les cellules leucémiques qui expriment le gène *BCR-ABL* peuvent proliférer de façon anarchique, et en l'absence de traitement, la LMC évolue vers une leucémie aigüe après 3 à 5 ans [293, 295].

La leucémie lymphoblastique aigüe (LLA) est une pathologie maligne de la cellule souche lymphoïde, responsable d'une prolifération clonale de lymphoblastes, bloqués à un stade précoce de la différenciation. La LLA est un cancer fréquent chez les enfants puisqu'elle représente 80% des leucémies aigües de l'enfant et un cancer rare chez l'adulte. Son taux d'incidence en France est estimé à 1,5 nouveau cas pour 100 000 personnes par an. Les LLA présentant le gène de fusion *BCR-ABL* sont toutes des leucémies à précurseurs B. Elles représentent également 30% des LLA des adultes et 3 à 5% des LLA des enfants faisant du gène *BCR-ABL* l'anomalie chromosomique la plus fréquemment retrouvée chez l'adulte [293,

296]. Lors de la translocation réciproque $t(9;22)(q34;q11)$, les chromosomes 9 et 22 échangent leur télomère, ce qui aboutit à la juxtaposition du gène *ABL* situé sur le bras long du chromosome 9 (9q34), et du gène *BCR* situé sur le bras long du chromosome 22 (22q11). Le chromosome anormal néoformé est appelé chromosome de Philadelphie et contient le gène de fusion *BCR-ABL*. Ce gène de fusion anormal est fonctionnel et est traduit en protéine BCR-ABL.

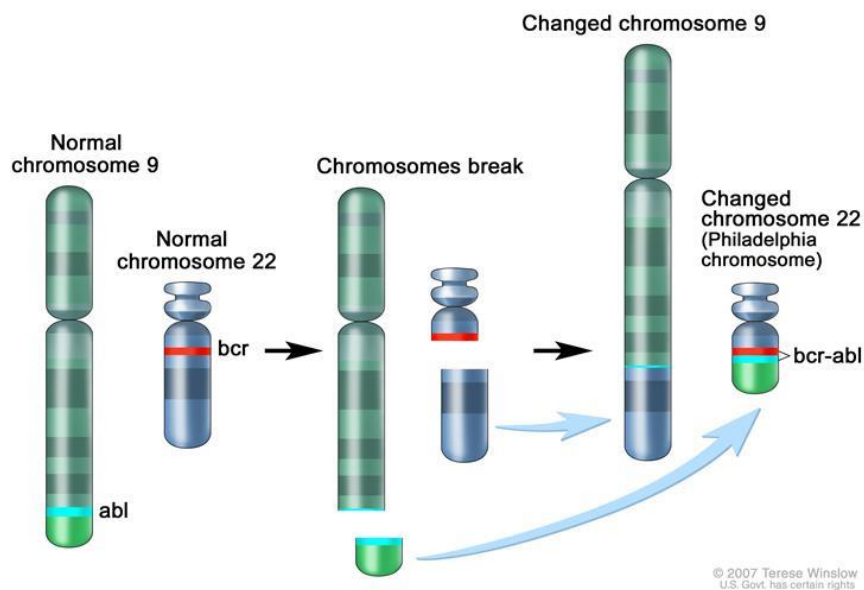


Figure 26. Gène de fusion *BCR-ABL* [297].

Il existe plusieurs variants de la protéine BCR-ABL avec une taille et un poids différents, dépendant de l'endroit où la cassure a eu lieu sur le chromosome 22. Dans la LMC, la cassure a presque toujours lieu au niveau de la région M-bcr (Major-breakpoint cluster region) conduisant à la protéine BCR-ABL p210. En revanche, dans la LLA, la cassure du chromosome 22 se fait le plus souvent au niveau de la région m-bcr (minor-breakpoint cluster region) menant ainsi à une protéine de fusion plus courte BCR-ABL p190 [294, 295, 298]. Les protéines BCR-ABL anormales possèdent une activité tyrosine kinase particulièrement élevée car dérégulée. En effet, sous l'influence de la protéine BCR, la tyrosine kinase va s'autoactiver. ABL ayant perdu sa région N-terminale lors de la translocation, la protéine n'est plus capable d'auto-inhiber la tyrosine kinase. Le domaine tyrosine kinase auto-activé va, à son tour, activer

plusieurs voies de signalisation impliquées dans les mécanismes de prolifération cellulaire, d'apoptose, de différenciation et d'adhésion cellulaire [293, 298, 299]. Les principales voies de signalisation activées sont les voies RAS, PI3-K/AKT et JAK/STAT. BCR-ABL active RAS par l'intermédiaire de GRB2/SOS qui se lie spécifiquement au résidu tyrosine Y177 de BCR et à la région riche en proline de RAS-GEF. RAS active la cascade des MAPK avec la voie de signalisation RAF/MEK/ERK, ce qui favorise la prolifération des cellules leucémiques [295, 300]. BCR-ABL intervient également dans la voie de signalisation PI3-K/AKT. En phosphorylant les protéines adaptatrices CRK et CRKL, BCR-ABL active PI3-K qui phosphoryle à son tour PIP2 et PIP3 et finalement activent la sérine thréonine kinase AKT. La protéine AKT active, va avoir plusieurs rôles. Tout d'abord, elle va inhiber la p27 conduisant à la prolifération des cellules leucémiques. Puis, AKT active va phosphoryler MDM2, qui à son tour, inhibe la p53. De plus, AKT active, phosphoryle IKK et I κ B α , ayant pour conséquence l'activation de NF κ B. Enfin, AKT active, inhibe la protéine BAD. L'inhibition de p53 et de BAD ainsi que l'activation de NF κ B va avoir un effet anti-apoptotique sur les cellules leucémiques. La voie PI3-K/AKT est également activée par GRB2/SOS par l'intermédiaire de GAB2 [295, 300]. La protéine de fusion BCR-ABL intervient dans une autre voie de signalisation alternative, conduisant à un effet anti-apoptotique, la voie JAK/STAT, en phosphorylant STAT5. Enfin, BCR-ABL agit sur l'adhésion des cellules en phosphorylant les protéines du cytosquelette, conduisant à une motilité cellulaire accrue, et à une adhérence réduite des cellules leucémiques à la matrice extracellulaire de la moëlle osseuse.

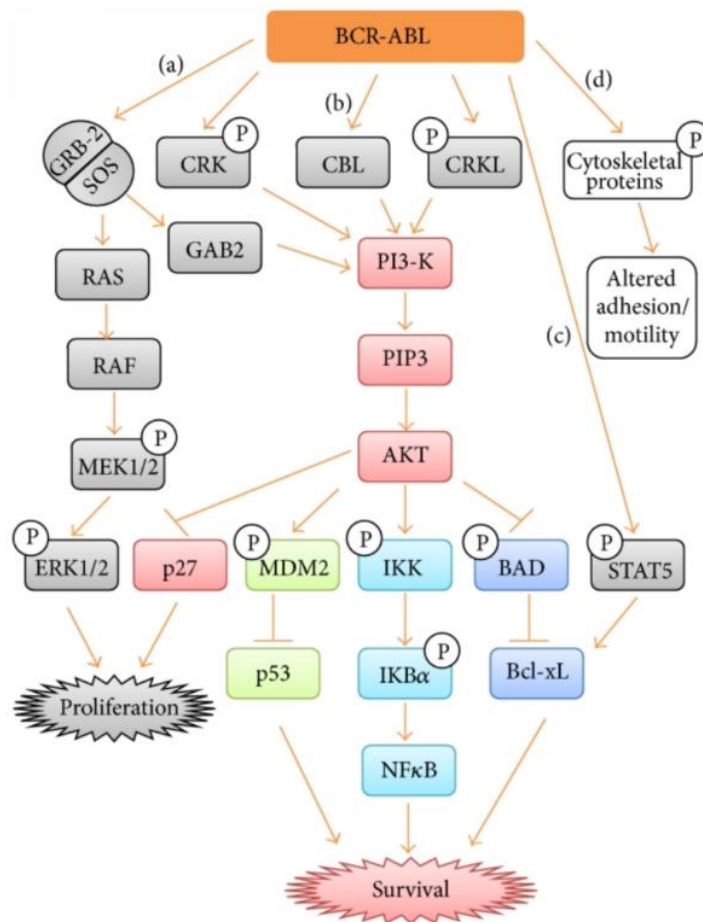


Figure 27. Les voies de signalisation activées par le gène de fusion *BCR-ABL* [300].

La mise en évidence de l'altération moléculaire BCR-ABL, ainsi que l'activité d'investigation intense concernant les voies de signalisation qu'elle induit, ont permis de mieux comprendre le processus de la leucémogénèse, et de développer la première thérapie ciblée antitumorale. Cette première thérapie ciblée approuvée en 2001, est l'imatinib, un inhibiteur de la tyrosine kinase indiqué dans le traitement de la LMC et la LLA, dont les cellules leucémiques sont porteuses du gène de fusion *BCR-ABL*. L'imatinib a ouvert la voie aux traitements d'oncologie de précision et aux autres inhibiteurs de tyrosine kinase, avec plus d'une trentaine commercialisés aujourd'hui. C'est la thérapie ciblée anticancéreuse la plus délivrée en officine en France, puisqu'elle représente à elle seule 12,6% des dépenses d'anticancéreux en officine, soit près de 185 millions d'euros [295, 301, 302, 303].

L'imatinib cible directement le domaine tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL. Il va se fixer au récepteur protéique intracellulaire de la tyrosine kinase et rentrer en compétition avec l'adénosine triphosphate (ATP). L'ATP ne pouvant plus se fixer au récepteur, l'imatinib empêche donc la phosphorylation des substrats. Les voies de signalisation induites par BCR-ABL ne le seront plus, évitant ainsi la prolifération des cellules leucémiques [255, 304].

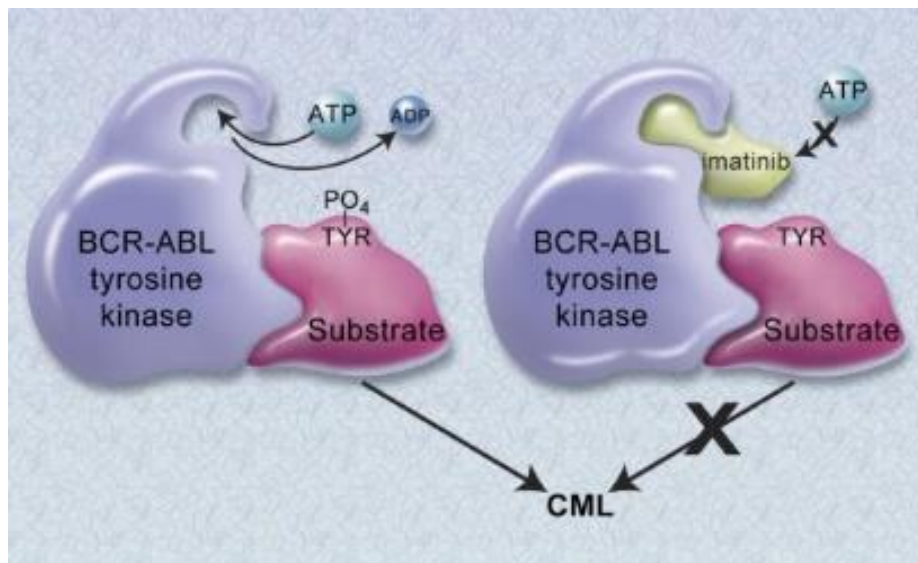


Figure 28. Mécanisme d'action de l'imatinib [305].

Cependant, certains patients présenteront d'emblée une résistance à l'imatinib, tandis que d'autres, dans des phases avancées de LMC et LLA, développeront une résistance secondaire au traitement au fil du temps. Ces phénomènes de résistance primaire et secondaire, sont très généralement la conséquence de mutations ponctuelles somatiques dans le domaine kinase du gène *ABL*, empêchant la bonne liaison de l'imatinib au récepteur à activité tyrosine kinase de la protéine BCR-ABL. La découverte de ces mécanismes de résistance a permis aux chercheurs de développer de nouveaux ITK plus puissants que l'imatinib et conservant leur efficacité malgré les adaptations mutationnelles des cellules leucémiques [7, 255, 306]. En 2010, deux nouveaux ITK ont reçu une AMM : le nilotinib pour le traitement en première ligne de la LMC, et le dasatinib pour le traitement en première et deuxième ligne de la LMC et en deuxième ligne

de la LLA, présentant le chromosome de Philadelphie. En 2013, deux nouveaux ITK ont également été approuvés : le bosutinib en troisième ligne et plus dans la LMC, et le ponatinib en troisième ligne et plus dans la LMC et la LLA positive au chromosome de Philadelphie. Le ponatinib est également indiqué en première ligne dans les LMC et les LLA positives au chromosome de Philadelphie, présentant la mutation T315I [293, 307].

Les inhibiteurs de tyrosine kinase ont révolutionné la prise en charge de la LMC et de la LLA présentant le gène de fusion *BCR-ABL*. Depuis 2000, l'imatinib est le traitement standard des patients porteurs de cette anomalie. Grâce à l'imatinib, la LMC est passée d'une maladie mortelle avec seulement 20% de patients en vie après 6 ans, à une maladie chronique où 88% des patients sont toujours en vie après cette même durée. Concernant la LLA positive au chromosome de Philadelphie, l'imatinib a également nettement amélioré son pronostic. En effet, il a été démontré dans l'étude GRAAPH que la survie globale à 4 ans des patients sous imatinib était de 52% contre 20% pour les autres [287, 293, 308].

La recherche de l'anomalie *BCR-ABL* est effectuée chez les patients dès que les médecins suspectent une LMC ou une LLA positive au chromosome de Philadelphie. Si l'anomalie s'avère être présente, alors elle confirme le diagnostic clinique et donne accès à la prescription d'ITK. La mise en évidence qualitative du transcrite *BCR-ABL* comprend plusieurs types d'examens, notamment l'examen cytogénétique, qui permet d'observer les chromosomes au microscope afin de détecter la présence ou non du chromosome Philadelphie ou d'autres anomalies chromosomiques. L'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH) est aussi une méthode utilisée pour mettre en évidence les séquences du gène *BCR-ABL*. Enfin, la RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) détecte les transcrits de fusion du gène *BCR-ABL*. Cette méthode est la plus sensible et est utilisée pour diagnostiquer les 5% des patients présentant le gène de fusion sans le chromosome Philadelphie [293, 294, 301].

La quantification du taux de *BCR-ABL* est importante pour le suivi thérapeutique des patients traités par ITK. Elle va permettre d'évaluer périodiquement la réponse au traitement et de surveiller l'apparition de résistance et de récurrence de la maladie. La première quantification de *BCR-ABL* a lieu juste après la détection du gène de fusion et la confirmation du diagnostic de LMC ou LLA. Elle va servir de valeur de référence de départ pour le suivi thérapeutique. La quantification des transcrits *BCR-ABL* se fait par RT-PCR. Lors du suivi thérapeutique, cet examen est prescrit au patient à intervalle régulier, en général tous les 3 mois, pendant toute la

durée du traitement. Si le taux de BCR-ABL diminue, cela prouve que le patient est bien répondeur au traitement. En revanche si le taux augmente, cela montre que le traitement par ITK n'est pas efficace et que la maladie progresse ou récidive. Dans ce cas, le médecin doit rechercher la présence de mutations responsables de résistance afin d'adapter le traitement et de choisir le bon ITK [293, 294, 301].

(2) Le statut *EGFR* dans le cancer colorectal et le cancer bronchique non à petites cellules

L'EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) est un récepteur glycoprotéique de 170 kDa, faisant parti de la famille des récepteurs à activité tyrosine kinase ErbB/HER, comme ErbB2/HER2, ErbB3/HER3, et ErbB4/HER4. Il est également appelé ErbB1 (Erythroblastosis oncogen B1) et HER1 (Human Epidermal Growth Factor receptor 1). L'EGFR est un récepteur transmembranaire avec un domaine N-terminal extracellulaire auquel se fixent les ligands, un domaine transmembranaire qui sert de point d'ancrage à la membrane plasmique et un domaine C-terminal intracellulaire qui comporte l'activité tyrosine kinase. L'EGF (Epithelial Growth Factor), le TGF (Transforming Growth Factor), l'épiréguline et l'amphiréguline sont des ligands naturels du récepteur EGFR. Le récepteur EGFR fut le premier récepteur à activité tyrosine kinase à être caractérisé et le gène *EGFR* l'un des premier proto-oncogène identifié. Le récepteur EGFR a un rôle physiologique important dans le développement et la différenciation des tissus épithéliaux [261, 309, 310, 311].

A l'état inactif, le récepteur EGFR est sous forme monomérique. Lorsqu'un ligand se fixe à son domaine extracellulaire, cela induit un changement conformationnel du récepteur qui se déplie et démasque un site de liaison avec un autre récepteur. Soit le récepteur EGFR se dimérise avec un autre récepteur EGFR, il s'agit alors d'une homodimérisation, soit avec un autre récepteur de la famille ErbB (préférentiellement ErbB2 et ErbB3), dans ce cas il s'agit d'une hétérodimérisation. La dimérisation permet de mettre en contact les deux domaines tyrosine kinase des deux récepteurs, qui autophosphorylent de façon croisée leurs résidus tyrosines C-terminaux, induisant ainsi une cascade de signalisation de plusieurs voies de transduction.

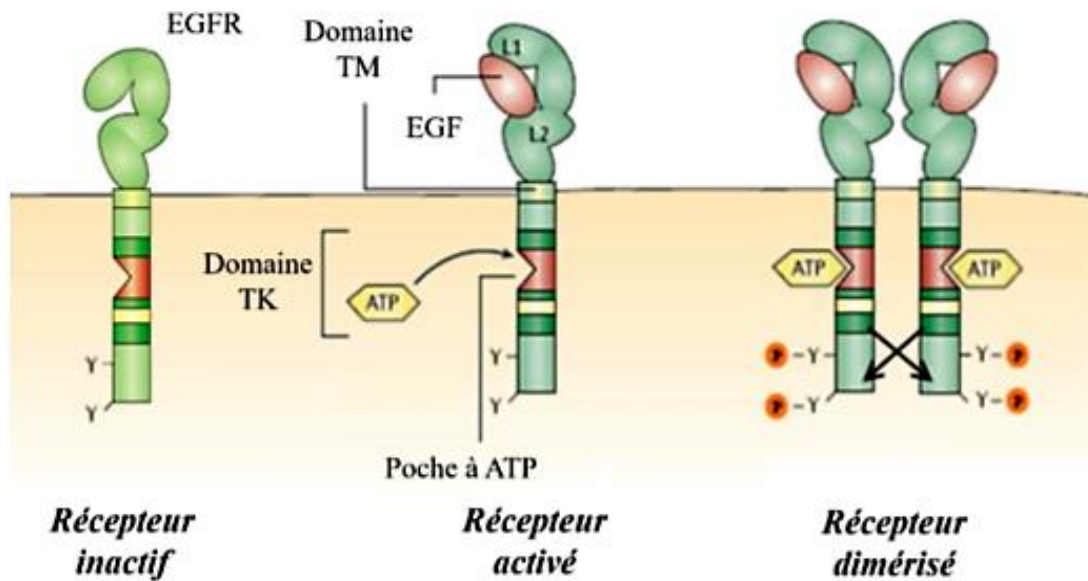


Figure 29. Structure du récepteur de l'EGFR inactif, activé par son ligand, et lors de la dimérisation permettant l'autophosphorylation croisée. TM : trans-membranaire ; TK : tyrosine kinase [313].

Les principales voies de signalisation activées par l'EGFR sont la voie PI3K/Akt/mTOR, qui régule l'expression de gènes impliqués dans la survie cellulaire, ainsi que la voie des MAP-kinases (Mitogen Activated Protein Kinase) (RAS, RAK, MEK et ERK), qui favorise la prolifération cellulaire. Ainsi, lorsque le récepteur EGFR est dérégulé au sein d'une tumeur, il contribue à favoriser la tumorigenèse en stimulant la prolifération cellulaire, et en inhibant l'apoptose. La néo-angiogenèse est également favorisée ainsi que la génération de métastases [309, 312, 313, 314, 315, 316].

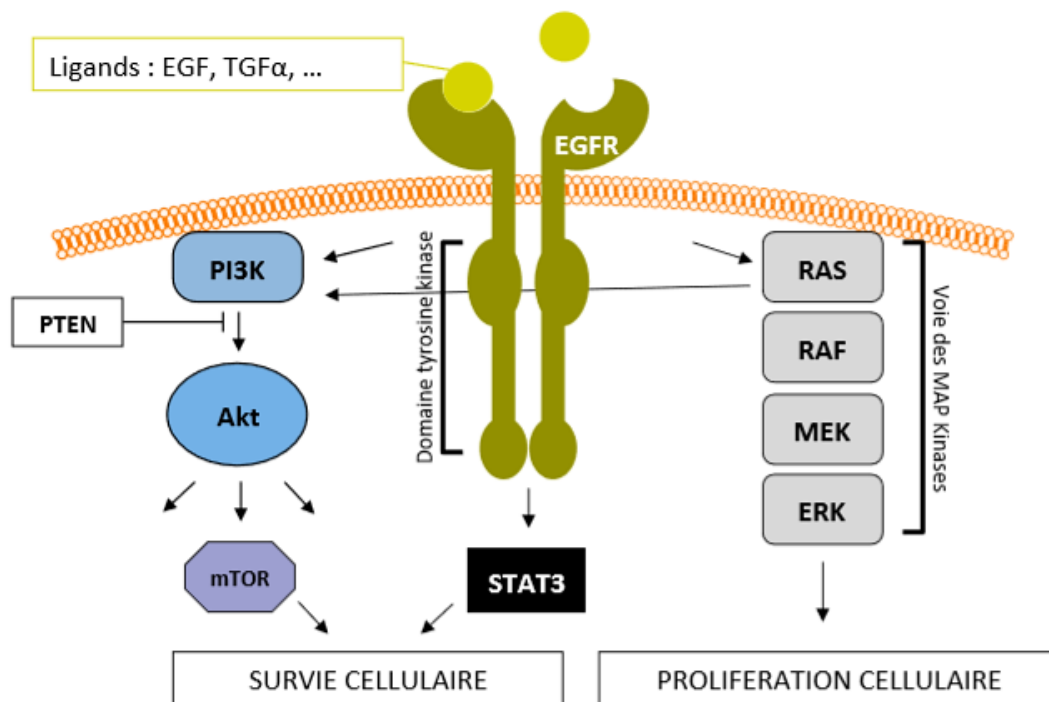


Figure 30. Voies de signalisation activées par le récepteur de l'EGFR [317].

Le récepteur EGFR est surexprimé dans de nombreux types de tumeurs, notamment le cancer colorectal et le cancer bronchique non à petites cellules, et est associé à un mauvais pronostic vital et une mauvaise réponse à la chimiothérapie.

Le cancer colorectal est toujours aujourd'hui associé à une mortalité et une morbidité élevées en France et dans le monde [318].

Dans le monde, le cancer colorectal est le troisième cancer le plus fréquent avec 1 361 000 nouveaux cas diagnostiqués en 2015. C'est notamment la quatrième cause de décès liés au cancer chez l'homme, et la troisième cause chez la femme avec 693 099 décès recensés en 2012 [319].

En France, le cancer colorectal est tout aussi meurtrier car il représente la deuxième cause de mortalité par cancer avec 17 684 décès en 2017. Il s'agit du troisième cancer le plus fréquent chez l'homme après le cancer de la prostate et le cancer du poumon, avec 24 035 nouveaux cas en 2017, et du deuxième cancer le plus fréquent chez la femme après le cancer du sein, avec

20 837 nouveaux cas en 2017. Le cancer colorectal représente 8% de tous les décès liés au cancer dans le monde, et 12% de tous les décès liés au cancer en France [318].

Le cancer colorectal est un cancer qui survient à un âge plutôt avancé, puisqu'il est diagnostiqué à 95% chez les malades après 50 ans. En France, l'âge médian au diagnostic est de 71 ans chez l'homme et de 75 ans chez la femme, tandis que l'âge médian au décès est de 77 ans chez l'homme et de 81 ans chez la femme. (Chiffres de 2015) [320, 321].

Malheureusement, le cancer colorectal récidive dans 50 à 60% des patients et se propage à d'autres organes [314, 319]. Cependant, la prise en charge du cancer colorectal métastatique s'est considérablement améliorée ces dix dernières années grâce aux progrès thérapeutiques accomplis, permettant ainsi une amélioration de la survie. La médiane de survie pour les patients non traités atteints d'un cancer colorectal métastatique est de 6 mois. Les molécules de chimiothérapie et plus précisément, l'acide folinique, l'oxaliplatine et l'irinotécan combinés avec le fluorouracile ont permis d'augmenter la médiane de survie à 20 mois. Avec les nouvelles avancées dans la compréhension de la biologie moléculaire du cancer colorectal, de nouvelles thérapies ciblées ont pu être développées, augmentant ainsi le nombre de molécules disponibles, et la médiane de survie à 30 mois [322].

Les thérapies ciblées dans le cancer colorectal métastatique sont aujourd'hui des thérapies anti-EGFR, car le gène *EGFR* a un rôle primordial dans la tumorigenèse et la progression tumorale [97]. En effet, la surexpression du récepteur EGFR survient dans près de 60 à 80 % des cancer colorectaux. Inhiber le récepteur EGFR permettrait donc d'inhiber les voies de transduction activées par ce récepteur et d'interrompre la prolifération tumorale [319, 323].

Les mécanismes à l'origine de la surexpression du récepteur EGFR ne sont pas totalement connus et sont certainement multiples. Ces mécanismes peuvent être une augmentation de la transcription du gène, une stabilisation du récepteur au niveau membranaire par inhibition de son internalisation et sa dégradation, ainsi que l'amplification du gène. D'après différentes études, l'amplification génique d'*EGFR* serait à l'origine de la surexpression d'EGFR dans 6 à 51% des cancers colorectaux. L'amplification génique d'*EGFR* peut être de deux sortes : soit une augmentation du nombre de copies du gène *EGFR* (3 à 5 fois), soit une polysomie du chromosome 7 où se situe le gène *EGFR*. Il y a une augmentation du nombre de copies du gène *EGFR* dans 10 à 20 % des cancers colorectaux [302, 310, 314, 324].

Certaines études ont recherché des mutations du gène *EGFR* dans le cancer colorectal, mais il semblerait que ces mutations soient rares et aient un rôle négligeable en ce qui concerne la surexpression du récepteur EGFR, et la réponse aux thérapies ciblées anti-EGFR [87]. Il existe aujourd'hui deux thérapies ciblées anti-EGFR disponibles dans le traitement des cancers colorectaux métastatiques, le cétuximab et le panitumumab. Ces deux agents ciblés sont indiqués dans le cancer colorectal métastatique en association avec une chimiothérapie à base d'oxaliplatine ou d'irinotécan, ou en monothérapie après échec de la chimiothérapie, ou en cas d'intolérance à l'irinotécan [322, 324, 325].

Le cétuximab et le panitumumab sont deux anticorps monoclonaux ayant le même mécanisme d'action. Ils se dirigent tous les deux contre le domaine extracellulaire du récepteur EGFR, qui est le domaine de liaison avec le ligand. Ces anticorps monoclonaux vont se lier au récepteur, rentrant ainsi en compétition avec les ligands naturels. Cette liaison antagoniste va donc empêcher le récepteur de se dimériser, inhibant ainsi les voies de transduction en aval, responsables de la prolifération tumorale [309, 314, 324, 326].

L'inactivation des voies RAS/RAF/MAPK et PI3KCA/Akt par les anticorps monoclonaux anti-EGFR vont plus précisément arrêter le cycle cellulaire en phase G1, potentialiser l'apoptose, ainsi que les effets de la chimiothérapie et de la radiothérapie, et inhiber l'angiogenèse, l'invasion tumorale et les métastases. Le cétuximab est également capable d'initier une réponse immunologique de type ADCC (Antibody-Dependent Cellular Toxicity) [317].

Les anti-EGFR ont prouvé qu'ils amélioreraient la survie des patients en situation d'impasse thérapeutique, c'est-à-dire lorsque le cancer colorectal métastatique est devenu résistant à la chimiothérapie. Le cétuximab et le panitumumab améliorent également le taux de réponse et la survie globale sans progression des patients avec le gène *KRAS* sauvage, lorsqu'ils sont utilisés de manière précoce, en association avec la chimiothérapie, en première et deuxième ligne. De manière générale, les anticorps anti-EGFR qu'ils soient utilisés en monothérapie ou en association, améliorent la survie sans progression avec des preuves modérées à élevées, améliorent la survie globale, avec des données probantes de haute qualité, ainsi que le taux de réponse tumorale avec des preuves modérées à élevées. Ces trois critères font que la qualité de vie des patients se veut également augmentée. Lorsque les anticorps anti-EGFR sont associés à la chimiothérapie, l'efficacité de la chimiothérapie est augmentée avec une réponse partielle

voire une stabilisation du cancer colorectal métastatique chez certains patients [312, 314, 319, 327].

Les thérapies anti-EGFR dans le cancer colorectal métastatique ont contribué à l'allongement de la médiane de survie, qui est actuellement estimée entre 24 et 34 mois [326].

Cependant, le cétuximab et le panitumumab présentent plusieurs inconvénients. Le premier est l'apparition chez environ 80% des patients, d'un rash cutané acnéiforme. Cet effet toxique est néanmoins un signe de bonne réponse au traitement. Le deuxième inconvénient est que tous les patients ne répondent pas aux traitement anti-EGFR. Enfin, le cétuximab et le panitumumab n'ont pas prouvé d'efficacité en dehors de la situation métastatique [312, 314, 327].

Le cétuximab est un anticorps monoclonal chimérique, faisant parti de la catégorie des immunoglobulines de type IgG1, et dirigé contre le domaine extracellulaire du récepteur EGFR. Le cétuximab dispose d'une AMM dans le cancer colorectal métastatique depuis juin 2004. En 2008, son indication a été étendue en première ligne et au-delà, du cancer colorectal métastatique, en association avec une chimiothérapie et en monothérapie en troisième ligne. Enfin, en 2013, l'indication du cétuximab est restreinte aux patients présentant un cancer colorectal métastatique avec le gène *RAS* non muté. Le cétuximab est donc aujourd'hui indiqué officiellement dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal métastatique, avec gène *RAS* de type sauvage, exprimant le récepteur de facteur de croissance épidermique (EGFR), soit en association avec une chimiothérapie à base d'irinotécan, soit en association au FOLFOX (acide FOLinique, Fluorouracil, OXaliplatine) en première ligne, soit en monothérapie après échec d'un traitement à base d'oxaliplatine et d'irinotécan et en cas d'intolérance à l'irinotécan [328].

Le cétuximab s'administre à un rythme hebdomadaire avec une première dose de charge de 400 mg/m² la première semaine, et une dose de maintenance de 250 mg/m² les semaines qui suivent. Ces doses sont suffisantes pour inhiber l'activation du récepteur EGFR ainsi que les voies de signalisation en aval [310, 315, 325].

L'efficacité du cétuximab dans le cancer colorectal métastatique a fait l'objet de plusieurs études cliniques. Notamment, les études OPUS et CRYSTAL ont conduit à l'AMM du cétuximab comme traitement en première ligne dans le cancer colorectal métastatique. L'étude OPUS a plus particulièrement démontré l'efficacité du cétuximab en association avec le

traitement FOLFOX en première ligne, tandis que l'étude CRYSTAL a prouvé l'efficacité du cétuximab en association avec l'irinotécan en première ligne. D'autres essais cliniques ont également étudié l'efficacité du cétuximab en traitement de première ligne, notamment les essais COIN, NORDIC et CAIRO2 en association avec le traitement FOLFOX. Les études ayant conduit à l'AMM du cétuximab en traitement de deuxième ligne et plus dans le cancer colorectal métastatique sont les études BOND et NCIC. L'étude BOND a prouvé l'efficacité du cétuximab en association avec l'irinotécan en deuxième ligne, tandis que l'étude NCIC a démontré l'efficacité du cétuximab en monothérapie après échec d'un traitement à base d'oxaliplatine et d'irinotécan et en cas d'intolérance à l'irinotécan [330, 331].

Ce sont les analyses post-hoc des études OPUS et CRYSTAL qui ont démontré l'intérêt de l'adjonction du cétuximab à la chimiothérapie de première ligne de traitement du cancer colorectal métastatique, avec gène *RAS* non muté, exprimant le récepteur du facteur de croissance EGFR [332].

L'étude OPUS est une étude de phase II multicentrique, européenne, randomisée, évaluant l'efficacité et la tolérance du cétuximab en association avec le FOLFOX, versus le FOLFOX seul, chez les patients atteints de cancer colorectal métastatique, n'ayant reçu aucun traitement au préalable. L'étude OPUS inclut 337 patients, mais une analyse post-hoc de cette étude a été effectuée sur les patients dont les échantillons tumoraux permettaient l'analyse des mutations *RAS*. Le critère principal de l'étude post-hoc est le taux de réponse objective (TRO) et les critères secondaires sont la survie sans progression (SSP) et la survie globale (SG). Les résultats de l'étude post-hoc d'OPUS montrent un TRO très nettement amélioré dans le groupe des patients avec gène *RAS* sauvage (n=87) lorsque le FOLFOX est associé au cétuximab. Le TRO passe de 28,6% pour le groupe FOLFOX seul, à 57,9% de réponse lorsque le FOLFOX est associé au cétuximab. En revanche dans le groupe de patients avec gène *RAS* muté (n=167), le TRO est moindre avec l'association du FOLFOX et du cétuximab qu'avec le FOLFOX seul (37% contre 50,7%). La SSP médiane dans le groupe de patients avec gène *RAS* sauvage, est de 12 mois pour l'association FOLFOX+cétuximab et de 5,8 mois avec le FOLFOX seul. Pour le groupe de patients avec gène *RAS* muté, la SSP médiane est de 5,6 mois avec le FOLFOX+cétuximab et de 7,8 mois pour le FOLFOX seul. En ce qui concerne la SG médiane, dans le groupe des patients avec gène *RAS* de type sauvage, elle est de 19,8 mois avec le FOLFOX+cétuximab, et de 17,8 mois avec le FOLFOX seul. Dans le groupe de patients avec gène *RAS* de type muté, la SG médiane est de 13,5 mois avec le FOLFOX+cétuximab contre

17,8 mois avec le FOLFOX seul. Le groupe de patients avec gène *RAS* muté ne semble gagner aucun bénéfice à l'ajout du cétuximab au FOLFOX. Au contraire, cette association semble même délétère. En revanche, pour les patients ayant le gène *RAS* sauvage, l'association du cétuximab au FOLFOX est significativement plus efficace en ce qui concerne la TRO, que le FOLFOX seul. Pour la SSP et la SG chez les patients avec gène *RAS* sauvage, elles s'améliorent légèrement avec le cétuximab mais sans être significatives [328, 330, 331, 332].

L'étude CRYSTAL est une étude de phase III internationale, ouverte, randomisée et évaluant l'efficacité et la tolérance de l'association du cétuximab avec le traitement FOLFIRI (acide FOLinique, Fluorouracil, IRInotécan) versus le traitement FOLFIRI seul, chez des patients présentant un cancer colorectal métastatique non prétraité. Cette étude comprend à la base 1198 patients, mais une étude post-hoc a été réalisée n'incluant que les patients dont il a été possible de déterminer le statut *RAS*. Le critère principal de l'étude est la SSP et les critères secondaires, la SG et le TRO. Dans le groupe de patients avec gène *RAS* sauvage (n=367), la SSP médiane est passée de 8,4 mois dans le groupe FOLFIRI seul, à 11,4 mois dans le groupe cétuximab+FOLFIRI. La SG médiane est passée de 20,2 mois dans le groupe FOLFIRI seul à 28,4 mois dans le groupe cétuximab+FOLFIRI. Enfin, le TRO est passé de 38,6% dans le groupe FOLFIRI seul à 66,3% dans le groupe cétuximab+FOLFIRI. Dans le groupe de patients avec gène *RAS* mutés (n=460), les SSP médianes dans le groupe FOLFIRI seul et cétuximab+FOLFIRI sont similaires (7,5 mois pour le FOLFIRI seul, contre 7,4 mois pour le cétuximab+FOLFIRI). Il en est de même pour la SG médiane, (17,7 mois pour le FOLFIRI seul contre 16,4 mois pour le cétuximab+FOLFIRI) et le TRO (36% pour le FOLFIRI seul contre 31,7% pour le cétuximab+FOLFIRI). L'ajout du cétuximab à la chimiothérapie FOLFIRI est bénéfique pour les patients avec le gène *RAS* sauvage, en revanche, pour les patients avec gène *RAS* muté, cette association n'est ni bénéfique ni délétère.

Les études OPUS et CRYSTAL ont permis de restreindre l'indication du cétuximab en association à la chimiothérapie en première ligne, aux patients ayant un gène *RAS* sauvage, évitant aux patients avec gène *RAS* muté un traitement par cétuximab inutile voir délétère [328, 330, 331, 332].

L'étude BOND est une étude pivot européenne de phase II, randomisée et comparant l'efficacité et la sécurité de l'association cétuximab+irinotécan au cétuximab en monothérapie. Cette étude inclut 329 patients ayant un cancer colorectal métastatique exprimant l'EGFR, et ayant

échappés à un traitement à base d'irinotécan. Le critère principal de l'étude est le TRO qui est de 10,8% dans le groupe cétuximab seul et de 22,9% dans le groupe cétuximab+irinotécan. Les critères secondaires sont la SSP et la SG. Dans le groupe cétuximab en monothérapie, la SSP médiane est de 1,5 mois tandis que dans le groupe cétuximab+irinotécan elle est de 4,1 mois. Enfin, dans le groupe cétuximab seul, la SG médiane est de 6,9 mois contre 8,6 mois pour le groupe cétuximab+irinotécan. L'association du cétuximab à l'irinotécan est significativement plus efficace que le cétuximab en monothérapie en ce qui concerne la TRO et la SSP. En revanche, l'association du cétuximab à l'irinotécan ne permet pas de gagner en SG par rapport au cétuximab seul. Cette étude a permis d'enregistrer le cétuximab en association avec l'irinotécan en deuxième ligne et plus, ainsi que le cétuximab en monothérapie, chez les patients réfractaires à une chimiothérapie à base d'irinotécan [315, 327, 330, 331, 333, 334, 335].

L'étude NCIC est une étude ouverte de phase III, randomisée, comparant le cétuximab associé au meilleur traitement symptomatique (MTS) avec le MTS seul. L'étude inclut 572 patients ayant un cancer colorectal métastatique, exprimant EGFR, en échec à un traitement à base d'oxaliplatine, d'irinotécan ou de fluoropyrimidine. Une analyse post-hoc a été effectuée en n'incluant que les patients dont la tumeur exprimait le gène *KRAS*. Le critère principal de l'étude est la SG et le critère secondaire la SSP. Dans le groupe des patients avec gène *KRAS* sauvage (n=230), la SG médiane des patients recevant le cétuximab associé au MTS est de 9,5 mois, tandis qu'elle est de 4,8 mois pour les patients ne recevant que le MTS. La SSP médiane pour les patients recevant le cétuximab et le MST est de 3,7 mois contre 1,9 mois pour le groupe de patients ne recevant que le MST seul. En ce qui concerne le groupe de patients avec gène *KRAS* muté (n=164), la SG médiane pour les patients recevant le cétuximab et le MTS est de 4,5 mois et 4,6 mois pour les patients ne recevant que le MTS seul. La SSP médiane pour les deux groupes est identique (1,8 mois). L'étude NCIC apporte donc la preuve que le cétuximab associé au meilleur traitement symptomatique permet d'améliorer la SG et la SSP pour les patients avec gène *KRAS* sauvage, présentant un cancer colorectal métastatique et réfractaires aux chimiothérapies conventionnelles. En revanche, l'ajout du cétuximab pour les patients avec gène *KRAS* muté n'apporte aucun bénéfice en ce qui concerne la SG et la SSP.

Grâce aux études BOND et NCIC, le cétuximab en association ou en monothérapie, a reçu l'AMM pour les patients réfractaires, après échec d'un traitement à base d'oxaliplatine et d'irinotécan et en cas d'intolérance à l'irinotécan [319, 327, 328, 330].

Le panitumumab est un anticorps monoclonal anti-EGFR de la classe des immunoglobulines IGg2, entièrement humanisé et produit par génie génétique. Le panitumumab a le même mécanisme d'action que le cétuximab, en revanche, il n'a pas d'activité ADCC [310, 312, 323, 329].

Le panitumumab dispose d'une AMM depuis décembre 2007 et était originellement indiqué en monothérapie, pour le traitement des patients atteints de cancer colorectal métastatique exprimant l'EGFR, et présentant le gène *KRAS* non muté (type sauvage), après échec des protocoles de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine, oxaliplatine et irinotécan. En 2011, son indication est étendue en première ligne en association avec un protocole FOLFOX et en deuxième ligne en association avec un protocole FOLFIRI, chez les patients qui ont reçu en première ligne un protocole de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine (excluant l'irinotécan). En 2013, son indication est restreinte aux patients *RAS* non muté et en 2015, son indication est étendue en première ligne en association avec le protocole FOLFIRI. Le panitumumab est aujourd'hui indiqué officiellement pour le traitement des patients adultes, atteints d'un cancer colorectal métastatique avec un statut *RAS* non muté, en première ligne, en association avec un protocole FOLFOX ou FOLFIRI, en seconde ligne en association avec un protocole FOLFIRI pour les patients qui ont reçu en première ligne un protocole de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine (excluant l'irinotécan), et pour finir, en monothérapie après échec des protocoles de chimiothérapie à base de fluoropyrimidine, oxaliplatine et irinotécan [336, 337].

Le panitumumab s'administre en perfusion intraveineuse toutes les deux semaines, avec une dose recommandée de 6 mg/kg de poids corporel [336].

L'efficacité du panitumumab a fait l'objet de plusieurs études cliniques. Les études ayant conduit à l'enregistrement du panitumumab en association avec la chimiothérapie en première ligne de traitement dans le cancer colorectal métastatique sont les études PRIME et 20060314. L'étude PRIME a évalué l'association du panitumumab avec le FOLFOX et l'étude 2060314 l'association du panitumumab avec le FOLFIRI. L'étude qui a conduit à enregistrer le panitumumab avec le FOLFIRI en deuxième ligne est l'étude 20050181. Pour finir, l'étude qui a permis d'enregistrer le panitumumab en troisième ligne en monothérapie est l'étude 2002408 [331, 338].

L'étude PRIME est une étude de phase III multicentrique, randomisée et ouverte, qui compare l'efficacité du panitumumab associé au FOLFOX versus le FOLFOX seul, en première ligne, chez 1083 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique. Le critère d'évaluation principal est la SSP et les critères secondaires sont la SG et le TRO. Une analyse post-hoc de cette étude a été effectuée afin de prendre en compte le statut *RAS*. Le statut a pu être déterminé chez 1060 patients sur les 1183 de départ, avec 512 patients présentant un gène *RAS* sauvage, et 548 patients présentant un gène *RAS* muté. Pour la population avec gène *RAS* sauvage, la SSP médiane dans le groupe recevant le panitumumab+FOLFOX est de 10,1 mois, contre seulement 7,9 mois pour le groupe recevant le FOLFOX seul. La SG médiane dans le groupe recevant le panitumumab en association avec le FOLFOX est de 26,0 mois versus 20,2 mois dans le groupe recevant le FOLFOX seul. Enfin, le TRO dans le groupe recevant le panitumumab en association avec le FOLFOX est de 55% contre 48% dans le groupe recevant le FOLFOX seul. L'ajout du panitumumab au protocole FOLFOX améliore significativement la SSP et la SG des patients présentant un statut *RAS* sauvage, mais pas le TRO. En revanche, pour les patients avec gène *RAS* muté, l'ajout du panitumumab au FOLFOX n'apporte aucun bénéfice, mais plutôt un effet délétère. En effet, la SSP médiane dans le groupe panitumumab+FOLFOX est raccourcie à 7,3 mois alors qu'elle est de 8,7 mois dans le groupe recevant le FOLFOX seul. La SG dans le groupe recevant l'association du panitumumab au FOLFOX est également raccourcie par rapport au groupe recevant le FOLFOX seul (15,6 mois contre 19,2 mois). Enfin, il n'y a pas de différence entre les deux groupes concernant le TRO, puisqu'elle est de 40% dans les deux groupes.

C'est l'analyse post-hoc de l'étude PRIME qui a permis de démontrer l'efficacité de l'association du panitumumab au FOLFOX, en traitement de première ligne, dans le cancer colorectal métastatique, et qui a conduit à l'extension de l'AMM du panitumumab dans cette indication [331, 336, 339].

L'étude 20060314 est un essai de phase II, non comparatif, à un seul bras, évaluant l'efficacité et la tolérance du panitumumab en première ligne, en association à un protocole FOLFIRI chez 154 patients. Une analyse rétrospective a été menée incluant les patients dont le statut *RAS* a été déterminé, soit 143 patients. Le critère principal de cette étude est le TRO et les critères secondaires sont la SSP, le temps jusqu'à la réponse, la durée de la réponse et le temps jusqu'à progression. Dans la population avec gène *RAS* sauvage, le TRO est de 59% contre 41% pour la population avec gène *RAS* muté. La SSP médiane est de 11,2 mois pour la population *RAS*

sauvage contre 7,3 mois pour la population *RAS* mutée. La durée de la réponse médiane est de 13,0 mois dans la population *RAS* sauvage alors qu'elle n'est que de 5,8 mois dans la population *RAS* mutée. Pour finir, le temps jusqu'à progression médian est de 13,2 mois dans la population *RAS* sauvage tandis qu'il n'est que de 7,3 mois dans la population *RAS* mutée. Cette analyse rétrospective de l'étude 20060314 a permis d'étendre l'AMM du panitumumab en première ligne de traitement du cancer colorectal métastatique, dans le cadre d'une association avec le protocole FOLFIRI [336, 337, 340].

L'étude 20050181 est un essai de phase III multicentrique, randomisé et ouvert, évaluant l'efficacité et la tolérance du panitumumab en association avec le FOLFIRI versus le FOLFIRI seul, en deuxième ligne, chez 1186 patients avec un cancer colorectal métastatique préalablement traité par un protocole de chimiothérapie à l'exclusion de l'irinotécan. Les critères principaux de l'étude sont la SG et la SSP et les critères secondaires, le TRO, le temps jusqu'à la réponse, le temps jusqu'à progression ainsi que la durée de la réponse. Une analyse rétrospective a également été faite afin d'inclure les patients dont le statut *RAS* a pu être déterminé (1014 patients). Parmi la population avec gène *RAS* sauvage (n=421 patients), la SSP médiane des patients ayant reçu le panitumumab+FOLFIRI est de 6,4 mois contre 4,6 mois pour le groupe de patients n'ayant reçu que le FOLFIRI. La SG médiane est de 16,2 mois pour le groupe de patients ayant reçu le panitumumab en association avec le FOLFIRI contre 13,9 mois pour le groupe recevant le FOLFIRI seul. L'ajout du panitumumab au protocole FOLFIRI en deuxième ligne, améliore significativement la SSP et la SG des patients avec statut *RAS* sauvage. Dans le groupe panitumumab+FOLFIRI, le TRO est très nettement amélioré puisqu'il passe à 41% versus 10% seulement dans le groupe FOLFIRI seul. Parmi la population avec gène *RAS* muté (n=593 patients), la SSP médiane (4,8 mois versus 4,0 mois), la SG médiane (11,8 mois versus 11,1 mois) ainsi que le TRO (15% versus 13%) sont similaires dans le groupe recevant le panitumumab en association avec le FOLFIRI et dans le groupe recevant le FOLFIRI seul. L'ajout du panitumumab au protocole FOLFIRI en deuxième ligne de traitement n'apporte aucun bénéfice aux patients avec un statut *RAS* muté. Néanmoins, aucun effet délétère n'a été démontré. Cette dernière analyse a mené à l'enregistrement du panitumumab en association avec le FOLFIRI en deuxième ligne de traitement dans le cancer colorectal métastatique [331, 338, 341].

Pour finir, l'étude 2002408 est un essai pivot international de phase III multicentrique, randomisé et ouvert. Il a pour objectif de comparer l'efficacité et la tolérance du panitumumab

associé à un traitement palliatif, versus le traitement palliatif seul. L'étude inclut 463 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique exprimant l'EGFR, après échec confirmé des protocoles incluant l'oxaliplatine, la fluoropyrimidine, et l'irinotécan. Le critère principal de l'étude est la SSP et les critères secondaires sont la SG, le TRO, la durée de la réponse, le délai avant réponse, le délai jusqu'à progression de la maladie, la qualité de vie rapportée par les patients et la tolérance. Une analyse post-hoc a été effectuée sur les 361 patients dont il a été possible de déterminer le statut du gène *RAS*. Dans la population *RAS* sauvage (n=133 patients), la SSP médiane est significativement améliorée dans le sous-groupe de patients recevant le panitumumab en plus des soins palliatifs, par rapport aux sous-groupes de patients recevant uniquement les soins palliatifs (2,8 mois contre 1,6 mois). En revanche, l'ajout du panitumumab aux soins palliatifs n'allonge pas suffisamment la SG médiane pour que cela soit significatif (8,1 mois contre 7,5 mois). Dans la population *RAS* mutée (n=228), la SSP médiane des patients qu'ils aient reçu le panitumumab ou non, est la même (1,7 mois) et la SG médiane chez les patients recevant le panitumumab est de 5,2 mois contre 4,4 mois pour les patients recevant que les soins palliatifs. Dans la population *RAS* mutée, l'ajout du panitumumab aux soins palliatifs n'apporte aucun bénéfice.

L'analyse post-hoc de cette étude a conduit à l'extension de l'AMM du panitumumab en monothérapie, après échec des protocoles de chimiothérapies à base de fluoropyrimidine, oxaliplatine et irinotécan [331, 336, 342, 343].

La question se pose alors de savoir, pourquoi les données d'efficacité du cétuximab et du panitumumab sont-elles plus robustes, lorsque sont différenciés rétrospectivement les patients avec gène *RAS* sauvage, des patients avec gène *RAS* muté ? La question réside simplement dans le fait que la voie de signalisation *RAS/RAF/MAPK* en aval des récepteurs EGFR, est très souvent impliquée dans les phénomènes de résistance aux thérapies anti-EGFR. La famille de proto-oncogènes *RAS* englobent les gènes *KRAS*, *NRAS* et *HRAS*. Dans les cancers colorectaux, cette famille d'oncogènes est souvent mutée, les mutations touchant le plus souvent le gène *KRAS*, moins souvent le gène *NRAS* et enfin rarement le gène *HRAS*. Il s'agit de mutations faux-sens, qui substituent une glycine par un autre acide aminé, altérant l'activité GTP-ase intrinsèque de la protéine *RAS*. La protéine *RAS* reste donc activée de façon permanente, et ce indépendamment de l'activation des récepteurs EGFR. C'est pourquoi, lorsque l'un des proto-oncogènes de la famille *RAS* est muté, les thérapies anti-EGFR sont inefficaces dans les cancers colorectaux métastatiques [310, 314, 319].

Les mutations activatrices de *KRAS* sont retrouvées dans 35 à 40% des cancers colorectaux. Elles sont retrouvées le plus souvent au niveau de l'exon 2, codons 12 et 13. Elles sont impliquées à la fois dans l'oncogenèse et dans la progression tumorale, et sont associées à un risque plus important de récurrence de la maladie, à une progression plus rapide et à une survie sans progression et une survie globale diminuées [310, 314, 315, 319].

Le gène *NRAS* peut également subir des mutations activatrices, en revanche, elles sont retrouvées dans moins de 5% des cancers colorectaux. Enfin, le gène *HRAS* est très rarement muté dans les cancers colorectaux et n'est pas aujourd'hui officiellement reconnu comme un biomarqueur prédictif de réponse aux anti-EGFR [314, 319].

Le seul biomarqueur prédictif de réponse aux anti-EGFR est officiellement depuis 2008 le statut mutationnel *RAS* (*KRAS* et *NRAS*). L'absence d'une mutation dans ces deux proto-oncogènes doit être mise en évidence avant toute prescription de cétuximab ou de panitumumab dans le cancer colorectal métastatique. Cependant, même si la présence d'une mutation activatrice est hautement spécifique de la résistance aux anti-EGFR dans le cancer colorectal métastatique (valeur prédictive positive proche de 100%), cela ne signifie pas nécessairement qu'une absence de mutation garantisse une bonne réponse aux anti-EGFR (valeur prédictive négative de 50%). C'est pourquoi, les chercheurs continuent d'explorer d'autres biomarqueurs prédictifs de réponse, afin d'améliorer la sélection des patients candidats à une thérapie par cétuximab ou panitumumab [310, 314, 327].

Le cancer du poumon est aujourd'hui l'un des problèmes de santé publique les plus importants en France et dans le reste du monde. Cependant, grâce aux efforts de la recherche scientifique, le cancer du poumon a connu d'excellentes avancées en matière de dépistage, de détection précoce et de nouvelles thérapies personnalisées, notamment grâce à la compréhension de sa sous-classification moléculaire. En effet, les traitements des différents types de cancers du poumon reposaient jusqu'à il y a peu sur la chimiothérapie. La meilleure connaissance de la biologie moléculaire du cancer du poumon a permis d'identifier certaines anomalies présentes dans les cellules cancéreuses, afin de les cibler avec de nouvelles molécules de précision. Ces anomalies sont, de ce fait, de potentiels biomarqueurs prédictifs de réponse à ces thérapies ciblées. Ainsi, ces nouvelles molécules de précision constituent un nouvel espoir pour les patients atteints d'un cancer du poumon même si les défis et les besoins sont encore nombreux [344, 345, 346, 347].

Le cancer du poumon se développe à partir de cellules malignes survenant dans les voies respiratoires ou dans le tissu pulmonaire, qui se multiplient de façon anormale, jusqu'à former une tumeur. Le cancer du poumon désigne un ensemble hétérogène de tumeurs qui se différencient en termes de localisation, d'histologie et d'évolution [348, 349].

Sur le plan histologique, on distingue deux principaux types de cancers du poumon : le cancer bronchique à petites cellules (CBPC) et le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC). Ces deux cancers sont des maladies bien distinctes avec des pronostics et des prises en charges différents. Le CBNPC représente environ 85% de tous les cancers du poumon et le CBPC les 15% restants. Ces derniers sont plus agressifs et donc plus redoutables [267, 344, 350, 351, 352].

Le cancer du poumon est généralement agressif et évolue rapidement. C'est un cancer le plus souvent asymptomatique dans les premiers stades ; c'est pourquoi, 75% des patients sont diagnostiqués à un stade localement avancé ou métastatique, puisque ce n'est qu'à ce moment-là qu'apparaissent les symptômes révélateurs de la maladie. La survie médiane de ces patients est d'un peu plus de 12 mois et la survie à 5 ans est estimée à moins de 10%. Concernant la survie à 5 ans tous stades confondus, elle est de 16,8%, faisant du cancer du poumon, le cancer le plus mortel, tuant la moitié des patients atteints au cours de la première année suivant le diagnostic, et 80% d'entre eux dans les deux ans [347, 349, 350, 351, 352].

Le principal facteur de risque du cancer du poumon est le tabagisme puisqu'il est responsable de près de 90% des cancers du poumons. C'est pourquoi le cancer du poumon est le plus souvent évitable. Les 10% restants se produisent chez des non-fumeurs ; les autres facteurs de risques étant environnementaux, professionnels ou génétiques. Pour faire réfléchir, ou réagir voire même peut être choquer, il faut savoir qu'en 2012, l'industrie du tabac a dépensé 9,6 milliards de dollars pour faire la publicité et la promotion du tabac aux Etats-Unis, soit 40 fois plus que ce que le NIH a dépensé dans la recherche sur le cancer du poumon (233 millions de dollars) [346, 347, 351, 352].

Au niveau mondial, le cancer du poumon est le cancer le plus répandu avec une incidence de 1 824 701 nouveaux cas en 2012, ce qui représente 12,9% du nombre total de nouveaux cas de cancers. Sur les 1 824 701 nouveaux cas diagnostiqués, environ deux tiers étaient des hommes et un tiers des femmes. Le cancer du poumon est donc le cancer le plus fréquent chez les hommes et le troisième cancer le plus fréquent chez la femme après le cancer du sein et le

cancer colorectal. Le cancer du poumon représente également la première cause de mortalité dans le monde avec 1 589 925 décès recensés en 2012, soit 19,4% de l'ensemble des décès par cancer. Parmi les 1 589 925 décès, environ 1,1 million étaient des hommes et 520 000 des femmes, faisant du cancer du poumon, le cancer au premier rang des décès chez l'homme et au deuxième rang chez la femme. Enfin, le taux de survie à 5 ans mondial est de 17,8% [353]. En France, le cancer du poumon est le deuxième cancer le plus fréquent chez l'homme avec 32 260 nouveaux cas en 2017 et le troisième chez la femme avec 16 849 nouveaux cas en 2017. C'est aussi le cancer le plus mortel en France avec 30 991 décès estimés en 2017 dont 20 815 étaient des hommes et 10 176 des femmes. Chez les hommes, l'incidence est relativement stable depuis 1990 et la mortalité diminue depuis 1995, tandis que chez les femmes l'incidence et la mortalité sont en forte augmentation depuis 1980. La survie à 5 ans tous stades confondus est de 16,8 % ce qui fait moins d'un malade sur 6 encore en vie 5 ans après [349, 351, 354, 355].

Les CBNPC représentent les formes histologiques les plus fréquentes du cancer du poumon, environ 85%. La famille des CBNPC regroupe plusieurs types de tumeurs qui se distinguent au niveau du type de cellules qui est concerné [351, 355].

Les trois principaux sous-types histologiques sont le carcinome épidermoïde, l'adénocarcinome et le carcinome à grandes cellules. Ces sous-types se caractérisent par des sensibilités différentes à certains traitements.

Le carcinome épidermoïde représente 40% des cancers du poumon non à petites cellules. C'est un cancer fortement lié au tabagisme. Il se caractérise par la synthèse de kératine par les cellules tumorales et se développe dans les parties proximales du poumon. L'adénocarcinome représente 30% de tous les CBNPC. Les cellules cancéreuses sécrètent des mucosités intracytoplasmiques et forment des tumeurs glandulaires. C'est un cancer qui se développe dans les parties plus distales des poumons. L'adénocarcinome bronchiolo-alvéolaire est un sous-type particulier puisqu'il n'est pas lié au tabac, mais à des mutations fréquentes du récepteur EGFR. Il a donc une oncogénèse distincte et bénéficie d'un meilleur pronostic lors des diagnostics précoces. Pour finir, le carcinome à grandes cellules représente environ 15% des CBNPC. Ce cancer prend son nom des grandes cellules cancéreuses visibles au microscope [313, 348, 350, 351].

Les CBNPC sont des cancers de mauvais pronostic et sont même la première cause de décès par cancer. Cela s'explique par le fait que 65% des patients sont diagnostiqués à un stade avancé

et que la majorité de ces cancers avancés ou métastatiques continue de progresser malgré l'administration d'une chimiothérapie de première ligne. La survie à 5 ans est de 16,6% tous stades confondus, en revanche elle n'est que de 3,5% pour les stades métastatiques. En l'absence de traitement, la survie moyenne est de 4 à 5 mois. Les patients présentant un CBNPC à un stade métastatique ne sont que 35 à 40% à survivre 12 mois après le diagnostic [5, 309, 313, 357, 358, 359].

Il y a encore 10 ans, ces patients se voyaient proposer un doublet de chimiothérapie à base de cisplatine, qui ne permettait aux patients de survivre en moyenne seulement 9 mois. Au début des années 2000, la recherche sur les stades avancés du cancer du CBNPC au niveau moléculaire, a permis une meilleure connaissance des mécanismes de l'oncogénèse et notamment les voies de signalisation impliquées, et de développer de nouvelles molécules capables de cibler des mutations dans ces voies. C'est ainsi, que le récepteur EGFR est devenu une cible privilégiée dans le CBNPC. Les premières thérapies ciblant l'EGFR ont été mises sur le marché en 2009. On peut maintenant définir des profils moléculaires particuliers, prédictifs de réponse à ces thérapies, comme par exemple, le CBNPC muté EGFR. Cela permet donc d'affiner la prise en charge de ce cancer, qui ne repose plus seulement sur l'histologie et le stade de la tumeur [309, 351, 357, 359, 360].

La surexpression du récepteur EGFR est observée dans 60% des CBNPC. Cela est dû à une augmentation du nombre de copies et surtout à des mutations du gène *EGFR*. L'augmentation du nombre de copies du gène *EGFR* a pour conséquence la surexpression de la protéine EGFR, tandis que les mutations au sein du gène *EGFR* produisent un récepteur EGFR constitutionnellement actif [310, 350, 357].

Les mutations au niveau du gène *EGFR* ont été découvertes en 2004. Les cancers du poumon mutés *EGFR* ont une carcinogénèse et une prise en charge différentes des autres cancers du poumon liés au tabac. Les CBNPC mutés *EGFR* sont retrouvés le plus souvent chez des non-fumeurs, des femmes, des personnes d'origine asiatique et dans les adénocarcinomes. Les mutations du gène *EGFR* confèrent aux tumeurs une sensibilité particulière aux inhibiteurs de tyrosine kinase. C'est pourquoi, les patients présentant un CBNPC muté *EGFR* ont un meilleur pronostic et une plus grande espérance de vie, parfois le triple, que les patients ne présentant pas de mutation *EGFR* dans leur tumeur. Néanmoins, la survie à 5 ans toujours médiocre de ces

patients, ainsi que l'apparition de phénomènes de résistance, incitent les chercheurs à poursuivre leurs efforts, afin d'optimiser les thérapies disponibles en innovant [317, 344].

Les mutations du gène *EGFR* dans le CBNPC sont retrouvées dans les exons 18 à 21 et codent pour une partie du domaine kinase du récepteur. Elles sont de trois types : des délétions, retrouvées notamment au niveau de l'exon 19, des mutations ponctuelles faux-sens dans les 4 exons, ou des duplications et/ou insertions au niveau de l'exon 20 [350, 361].

Les mutations du gène *EGFR* sont retrouvées dans 10 à 15% des caucasiens présentant un CBNPC et dans 30 à 50% des asiatiques. En France, 10 à 12% des patients avec un CBNPC ont une mutation *EGFR*. Dans une population européenne, une étude a montré que les mutations étaient présentes chez 40% des non-fumeurs contre seulement 7% chez les fumeurs. Les mutations *EGFR* sont également plus souvent retrouvées chez les femmes que chez les hommes (17% contre 6%). Enfin, 16% des patients avec un adénocarcinome présentent une mutation *EGFR* alors que ces mutations ne sont présentes que dans 3% des patients présentant un cancer du poumon avec une autre histologie. Ces critères cliniques ne sont pas suffisamment prédictifs de la présence d'une mutation *EGFR*, puisque si seulement les femmes non-fumeuses étaient testées pour leur statut mutationnel *EGFR*, cela mènerait à manquer 57% des patients présentant une mutation *EGFR*. C'est pourquoi une recherche du statut mutationnel *EGFR* est systématique lors du diagnostic d'un CBNPC non épidermoïde à un stade avancé, peu important le sexe, l'origine ethnique et le statut tabagique du patient [310, 317, 350].

Les mutations les plus courantes dans le gène *EGFR* sont les délétions dans l'exon 19 et la mutation ponctuelle faux-sens L858R. Elles représentent entre 85% et 90% de toutes les mutations *EGFR*. Ces mutations augmentent l'activité kinase du récepteur EGFR et par conséquent, hyper-activent les voies de signalisation en aval, responsables de la croissance et de la prolifération tumorale. Ces mutations sont considérées comme des biomarqueurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de tyrosine kinase [306, 358, 361].

Les délétions dans l'exon 19 représentent environ 45% des mutations *EGFR*. Il s'agit d'une délétion d'une séquence de 4 acides aminés en position 746-750 (leucine, arginine, glutamate, alanine) [317].

La mutation ponctuelle faux-sens L858R, représente entre 40% et 45% des mutations *EGFR*. Elle est un peu moins fréquente que les délétions dans l'exon 19. Cette mutation correspond à un changement d'acide aminé en position 858 dans le gène *EGFR* où la leucine est remplacée

par une arginine. Les patients qui présentent ces deux types de mutations ont un taux de réponse de 50-70% aux inhibiteurs de tyrosine kinase dans des études prospectives et des études de phase III randomisées [313, 361, 362, 363, 364, 365, 366, 367, 368].

Les mutations rares sont les mutations autres que les délétions dans l'exon 19 et la substitution L858R. Elles représentent environ 10-15% de toutes les mutations. Les mutations rares les plus fréquentes sont les insertions dans l'exon 20 (5%), la mutation ponctuelle faux-sens T790M dans l'exon 20 retrouvée dans 5% des tumeurs mutées *EGFR* non traitées, et dans 50% des tumeurs mutées *EGFR* résistantes à l'erlotinib et au géfitinib, ainsi que les mutations ponctuelles faux-sens dans l'exon 18 (3%). Les insertions dans l'exon 20 sont plus fréquentes chez les non-fumeurs et la plupart se produisent entre les acides aminés en position 767 à 774, codant pour la boucle qui suit l'hélice en C du domaine kinase d'EGFR. Ces mutations diminuent la réponse et l'efficacité des inhibiteurs de tyrosine kinase. La mutation ponctuelle faux-sens dans l'exon 20 est un changement d'acide aminé en position 790 avec une thréonine remplacée par une méthionine. Cette mutation diminue également l'efficacité et la réponse aux inhibiteurs de tyrosine kinase. Certains cas cliniques ont montré que cette mutation pouvait disparaître après une période sans traitement par ITK, et que les patients pouvaient ensuite de nouveau répondre à ces traitements. Les mutations ponctuelles faux-sens dans l'exon 18 sont des changements d'acides aminés en position 719 avec une glycine remplacée soit par une alanine, soit par une cystéine ou une sérine. Ces mutations augmentent l'efficacité et la réponse aux ITK. Pour les patients qui présentent une mutation associée à une moindre sensibilité aux ITK ou pour laquelle il n'y a pas de données, il n'est pas recommandé de commencer un traitement de première ligne par ITK et lorsque l'ITK est introduit plus tard, la réponse à l'ITK doit être évaluée suffisamment tôt [313, 317, 361].

L'augmentation du nombre de copies du gène *EGFR* peut résulter du degré élevé de polysomie ou d'une amplification du gène (60% des cas de cancers du poumon). Dans deux études randomisées, ISEL et BR.21, les patients dont la tumeur avait un nombre de copies élevé du gène *EGFR*, ont eu un bénéfice de survie supérieur avec le géfitinib et l'erlotinib par rapport aux autres patients. L'augmentation du nombre de copies du gène *EGFR* peut donc être un marqueur prédictif potentiel d'un bénéfice de survie avec l'utilisation des ITK en seconde et troisième ligne de traitement [309, 313, 359].

Plusieurs ITK ciblant les mutations de l'EGFR dans le CBNPC ont été mis sur le marché depuis 2005, notamment l'erlotinib, le géfitinib, l'afatinib et l'osimertinib. Ces ITK constituent une avancée significative dans le traitement des CBNPC à un stade avancé ou métastatique. En effet, grâce à ces nouvelles molécules ciblées, la survie globale médiane est passée de 10-12 mois avec la chimiothérapie seule, à 20-30 mois. Les ITK représentent également une option thérapeutique stratégique comme traitement de maintenance à la fin de la chimiothérapie de première ligne [317, 357, 360].

Les inhibiteurs de tyrosine kinase sont des petites molécules de la famille des quinazolines qui traversent la membrane cellulaire et bloquent le domaine tyrosine kinase intracellulaire du récepteur EGFR, shuntant ainsi les signaux des voies de signalisation en aval. L'erlotinib et le géfitinib sont deux ITK de première génération. Ils inhibent de manière réversible la phosphorylation des résidus tyrosine kinase du récepteur EGFR, en entrant en compétition avec l'ATP. L'afatinib est un ITK de deuxième génération. Contrairement à l'erlotinib et au géfitinib, l'afatinib bloque tous les récepteurs de la famille ErbB, de manière irréversible, en se fixant via une liaison covalente à une cystéine en position 797 aux homodimères ou hétérodimères formés. Seules l'internalisation et la dégradation des récepteurs ErbB permettent à la cellule d'éliminer l'afatinib. Enfin, l'osimertinib est un ITK de troisième génération. Il inhibe également tous les récepteurs de la famille ErbB, même en présence d'une mutation T790M [313, 314, 316, 317, 319, 351, 359].

L'erlotinib a bénéficié d'une première AMM en septembre 2005, pour le traitement en seconde ligne et plus des patients avec une forme localement avancée ou métastatique du CBNPC, sans restriction du statut mutationnel du gène *EGFR*. En avril 2010, l'AMM de l'erlotinib est étendue en monothérapie dans le traitement de maintenance des formes localement avancées ou métastatiques, chez les patients atteints d'un CBNPC, présentant une maladie stable après 4 cycles d'une première ligne de chimiothérapie à base de sels de platines. En août 2011, l'AMM de l'erlotinib bénéficie encore une fois, d'une extension d'indication, en première ligne de traitement, des formes localement avancées ou métastatiques du CBNPC, chez les patients présentant des mutations activatrices de l'EGFR. Enfin, en janvier 2016, l'AMM de l'erlotinib est restreinte dans le traitement de maintenance des CBNPC, aux seuls patients dont la tumeur présente une mutation activatrice de l'EGFR. Ainsi, l'erlotinib est aujourd'hui officiellement indiqué en première ligne de traitement des formes localement avancées ou métastatiques du CBNPC, chez les patients présentant des mutations activatrices de l'EGFR ; dans le traitement

de switch maintenance des formes localement avancées ou métastatiques du CBNPC, chez les patients avec mutations activatrices de l'EGFR et présentant une maladie stable après une première ligne de chimiothérapie ; et pour finir, dans le traitement des formes localement avancées ou métastatiques du CBNPC, après échec d'au moins une ligne de chimiothérapie [313, 350, 369, 370, 371, 372].

Dans le CBNPC, la posologie recommandée de l'erlotinib est de 150 mg/j, à prendre à distance des repas [370, 373].

L'erlotinib a fait l'objet de plusieurs études évaluant son efficacité, et dont les résultats sont à l'origine des différentes indications de son AMM. Ainsi, l'étude BR.21 est un essai international de phase III, randomisé, en double-aveugle et contrôlé, évaluant l'efficacité et la tolérance de l'erlotinib en traitement de deuxième et de troisième ligne versus placebo. Cette étude a été réalisée chez 731 patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, après échec d'au moins une ligne de chimiothérapie. Le critère d'évaluation principal est la SG et les critères secondaires, la SSP, le taux et la durée de la réponse, ainsi que les effets toxiques et la qualité de vie. Les résultats de cette étude ont démontré un bénéfice significatif de la SG puisque les patients recevant l'erlotinib (n=488) ont une SG médiane de 6,7 mois contre seulement 4,7 mois pour les patients recevant le placebo (n=243). Le TRO dans le groupe de patients recevant l'erlotinib est amélioré par rapport au groupe de patients recevant le placebo (8,9% contre moins de 1% de réponse), ainsi que la durée médiane de réponse (7,9 mois avec l'erlotinib, contre 3,7 mois avec le placebo). L'erlotinib améliore également la SSP médiane avec une SSP médiane de 2,2 mois pour les patients traités par erlotinib, et de 1,8 mois pour les patients traités par placebo. Enfin, la proportion de patients ayant présenté une réponse complète ou partielle ou une stabilisation de la maladie est de 44,0% dans le groupe erlotinib contre seulement 27% dans le groupe placebo. L'erlotinib peut donc prolonger la survie des patients présentant un CBNPC après une première et une deuxième ligne de chimiothérapie. Les résultats de l'étude BR.21 ont conduit en septembre 2005, à l'AMM de l'erlotinib en seconde et troisième ligne chez des patients présentant un CBNPC. Elle a également permis d'offrir aux patients ayant déjà reçu une ou deux lignes de chimiothérapie, une ligne thérapeutique supplémentaire avec un gain médian de survie de 2 mois, et d'obtenir un bénéfice thérapeutique chez environ 10% d'entre eux, grâce à des taux et des durées de réponses prolongés [309, 323, 370, 374, 375, 376].

L'étude SATURN (BO18192) est un essai de phase III multicentrique, randomisé, en double-aveugle et contrôlé, évaluant l'efficacité et la tolérance de l'erlotinib dans le traitement de maintenance du CBNPC, après une chimiothérapie de première ligne versus placebo. Cette étude inclut 889 patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique et qui n'ont pas progressé après 4 cycles de chimiothérapie à base de platine. Les critères d'évaluation principaux sont la SSP chez tous les patients analysables et chez les patients dont la tumeur présentait une surexpression de la protéine EGFR. La SSP médiane dans la population globale est significativement plus longue chez les patients recevant l'erlotinib (n=437) que chez les patients recevant le placebo (n=447) (12,3 semaines contre 11,1 semaines). La SSP médiane chez les patients avec une tumeur surexprimant l'EGFR est également plus longue chez les patients recevant l'erlotinib (n=307) que chez les patients recevant le placebo (n=311) (12,3 semaines versus 11,1 semaines). La SG médiane est un des critères secondaires de l'étude et est de 12,4 mois dans le groupe recevant l'erlotinib contre 11,0 mois pour le groupe recevant le placebo, dans la population globale. Les résultats de l'étude SATURN démontrent que l'erlotinib, utilisé en traitement de maintenance chez des patients présentant un CBNPC non progressif après une chimiothérapie de première intention, est bénéfique, concernant la SSP et la SG, quel que soit le statut mutationnel du gène *EGFR* de leur tumeur. L'erlotinib prolonge significativement la SSP et la SG de tous les patients, en outre, cet effet bénéfique est plus important chez les patients présentant une surexpression de la protéine EGFR dans leur tumeur. Ainsi, les résultats de l'étude SATURN permettent d'offrir aux patients un traitement de maintenance, immédiatement après la chimiothérapie de première ligne qui retarde la progression de leur maladie et prolonge leur survie. Suite aux résultats de l'étude SATURN, l'erlotinib a bénéficié d'une extension de son AMM en avril 2010, en monothérapie, dans le traitement de maintenance des formes localement avancées ou métastatiques, chez les patients atteints d'un CBNPC, présentant une maladie stable après 4 cycles d'une première ligne de chimiothérapie à base de sels de platines [370, 375, 377, 378].

L'étude EURTAC (ML20650), est un essai de phase III, randomisé, ouvert, comparant l'efficacité et la tolérance de l'erlotinib en première ligne de traitement chez des patients ayant un CBNPC avec des mutations activatrices de l'EGFR, par rapport à une chimiothérapie à base de platine. Cette étude inclut 173 patients caucasiens atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, non prétraités pour leur maladie. Le critère principal de l'étude est la SSP et les critères secondaires, la SG et le TRO. La SSP médiane dans le groupe de patients recevant

l'erlotinib (n=86) est de 10,4 mois contre seulement 5,1 mois dans le groupe de patients recevant la chimiothérapie (n=87). La SG médiane chez les patients traités par erlotinib est de 22,9 mois et de 22,1 mois chez les patients traités par chimiothérapie. L'erlotinib apporte donc aux patients un bénéfice significatif en ce qui concerne la SSP, par rapport à la chimiothérapie. En revanche, aucun bénéfice concernant la SG n'est à rapporter. De plus, les patients traités par erlotinib ont un meilleur TRO comparé aux patients traités par chimiothérapie (65,1% versus 16,1%). Suite aux résultats de l'étude EURTAC, l'erlotinib a bénéficié d'une extension d'indication dans son AMM en août 2011, en première ligne de traitement des formes localement avancées ou métastatiques du CBNPC, chez les patients présentant des mutations activatrices de l'EGFR [316, 370, 371, 379].

L'étude IUNO (BO25460) est un essai de phase III, randomisé, en double aveugle contrôlé par placebo, comparant la survie globale d'une thérapie par erlotinib en première ligne de traitement de maintenance, versus une thérapie par erlotinib administrée au moment de la progression de la maladie. Cette étude inclut 643 patients atteints d'un CBNPC avancé, sans mutation activatrice de l'EGFR de la tumeur, et qui n'ont pas progressé après 4 cycles de chimiothérapie à base de platine. Le critère principal est la SG et le critère secondaire la SSP. Les résultats de l'étude ont montré qu'avec une thérapie par erlotinib en première ligne de maintenance, la SG médiane est non supérieure par rapport au traitement par erlotinib en seconde ligne chez les patients sans mutation activatrice de l'EGFR et que la SSP médiane en traitement de maintenance, ne diffère pas entre les patients traités par erlotinib et ceux traités par placebo. Ainsi, l'étude IUNO a conclu que le rapport bénéfice /risque de l'erlotinib n'est plus considéré comme favorable dans le traitement de maintenance des formes localement avancées ou métastatiques du CBNPC, après 4 cycles d'une première ligne de chimiothérapie, chez les patients dont les tumeurs ne présentent pas de mutations activatrices de l'EGFR. Suite aux résultats de l'étude IUNO, l'indication de l'AMM de l'erlotinib a été restreinte dans le traitement de maintenance des CBNPC, aux seuls patients dont les tumeurs présentent une mutation activatrice de l'EGFR [281, 370, 380].

Le géfitinib a obtenu son AMM en juin 2009, en monothérapie chez les adultes, dans le traitement du CBNPC avancé ou métastatique avec mutations activatrices de l'EGFR. Sa posologie habituelle est de 250 mg/j pendant ou en dehors des repas [381]

L'efficacité du géfitinib a été étudiée par plusieurs études, notamment l'étude IPASS, en première ligne et les études INTEREST et ISEL en deuxième ligne et plus.

L'étude IPASS est un essai de phase III multicentrique, randomisé et ouvert, comparant l'efficacité et la tolérance du géfitinib en première ligne de traitement, à la chimiothérapie par carboplatine plus paclitaxel, chez des patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, dont l'histologie est de type adénocarcinome. L'étude inclut 1217 patients sélectionnés, en majorité des femmes, non-fumeurs ou anciens fumeurs légers, d'origine asiatique. Le critère principal de l'étude est la SSP et les critères secondaires la SG et le TRO. La SSP médiane pour le groupe recevant le géfitinib est de 5,8 mois et celle du groupe recevant la chimiothérapie de 5,7 mois. Les résultats ont montré une non-infériorité du géfitinib comparée à la chimiothérapie en traitement de première intention, et même un gain absolu de 0,1 mois. Le TRO est de 43,0% dans le groupe recevant le géfitinib contre seulement 32,2% dans le groupe recevant la chimiothérapie. Enfin, la SG médiane n'a pas différencié entre les deux groupes (18,8 mois pour le groupe de patients traités par géfitinib et 17,4 mois pour le groupe de patients traités par chimiothérapie). Une analyse de sous-groupes a été effectuée en fonction du statut mutationnel de l'*EGFR*. Ainsi, 261 patients ont été analysés comme positifs à l'*EGFR* et 176 négatifs à l'*EGFR*. Dans le sous-groupe de patients présentant une mutation de l'*EGFR* la SSP médiane est de 9,5 mois avec le géfitinib et de 6,3 mois dans le groupe avec la chimiothérapie. Le TRO avec le géfitinib est de 71,2% contre 47,3% avec la chimiothérapie. La SG médiane n'a pas différencié entre les deux sous-groupes (21,6 mois pour le géfitinib versus 21,9 pour la chimiothérapie). Dans le sous-groupe de patients ne présentant pas de mutations de l'*EGFR*, la SG médiane chez les patients traités par géfitinib est de 1,1 mois et de 5,5 mois pour le groupe de patients traités par chimiothérapie. Le TRO est de 1,1% seulement chez les patients traités par géfitinib contre 23,5% pour les patients traités par chimiothérapie. Il n'y a pas de différence concernant la SG médiane entre les deux sous-groupes (11,2 mois pour les patients traités par géfitinib et 12,2 mois pour les patients traités par chimiothérapie). Ainsi, les résultats montrent que pour les patients présentant une mutation de l'*EGFR*, la SSP est significativement plus longue pour les patients traités par géfitinib comparée à ceux traités par chimiothérapie. En revanche, pour les patients ne présentant pas de mutation, la SSP est significativement plus courte pour les patients traités par géfitinib que les patients traités par chimiothérapie. Les résultats de l'étude IPASS prouvent que le traitement de première ligne par le géfitinib comparé à la chimiothérapie, prolonge la SSP, augmente le TRO et améliore la

qualité de vie des patients atteints d'un CBNPC, et que les patients dont la tumeur présente une mutation de l'EGFR sont ceux qui bénéficieront le plus de ce traitement [316, 317, 350, 375, 382].

L'étude INTEREST est un essai de phase III multicentrique, randomisé et ouvert, comparant le géfitinib au docétaxel chez des patients atteints d'un CBNPC au stade localement avancé ou métastatique, en échec après une ou deux lignes de traitement par chimiothérapie à base de sels de platine. Cette étude inclut 1466 patients atteints d'un CBNPC, ne présentant majoritairement pas de mutations de l'EGFR. Le critère principal de l'étude est la SG et parmi les critères secondaires, la SSP et le TRO. Dans le groupe de patients recevant le géfitinib (n=733), la SG médiane et la SSP médiane sont respectivement de 7,6 mois et de 2,2 mois, tandis que dans le groupe de patients recevant le docétaxel (n=733), la SG médiane et la SSP médiane sont respectivement de 8,0 mois et de 2,7 mois. Concernant le TRO, il est de 9,1% dans le groupe recevant le géfitinib, contre 7,6% pour le groupe recevant le docétaxel. Le géfitinib a donc prouvé sa non-infériorité au docétaxel, pour autant il n'est pas supérieur. Aucune différence statistique significative n'a été observée entre le géfitinib et le docétaxel concernant la SG, la SSP et le TRO. Une analyse en sous-groupes a été effectuée afin d'évaluer l'efficacité du géfitinib chez les patients en fonction de leur statut mutationnel de l'EGFR. Dans le sous-groupe de patients ayant une mutation de l'EGFR (n=44), la SG médiane pour les patients traités par géfitinib est de 14,2 mois contre 16,6 mois pour les patients traités par docétaxel. La SSP médiane est de 7,0 mois pour le groupe recevant le géfitinib et de 4,1 mois pour le groupe recevant le docétaxel. Enfin, concernant le TRO, il est de 41,2% pour le groupe recevant le géfitinib contre seulement 21,1% pour le groupe recevant le docétaxel. Dans le sous-groupe de patients ne présentant pas de mutations de l'EGFR (n=253), la SG médiane est de 6,4 mois pour le groupe recevant le géfitinib et de 6,0 mois pour le groupe recevant le docétaxel. La SSP médiane est de 1,7 mois pour le groupe recevant le géfitinib versus 2,6 mois pour le groupe recevant le docétaxel. Enfin, concernant le TRO, il est de 6,6% pour le groupe recevant le géfitinib et de 9,8% pour le groupe recevant le docétaxel. Les résultats de l'étude INTEREST montrent que pour les patients dont la tumeur présente une mutation de l'EGFR, la SSP est significativement plus longue pour ceux traités par géfitinib que pour ceux traités par le docétaxel. En revanche, pour les patients dont la tumeur ne présente pas de mutation de l'EGFR, la SSP est similaire pour les patients, qu'ils soient traités par le géfitinib ou le docétaxel. En revanche, il n'a pas été montré de différence significative concernant la SG pour les patients

présentant une mutation de l'EGFR, entre les patients traités par géfitinib et ceux traités par docétaxel. Les résultats de l'étude INTEREST ont mis en évidence le bénéfice apporté par le géfitinib aux patients dont la tumeur présente une mutation de l'EGFR par rapport à la chimiothérapie standard, en ce qui concerne la SSP et le TRO. En revanche, ce bénéfice n'est pas retrouvé pour la SG [350, 375, 381, 382, 383].

L'étude ISEL est un essai de phase III multicentrique, randomisé, en double aveugle, contrôlé par placebo, évaluant l'avantage de survie du géfitinib et des meilleurs soins de soutien chez les patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, en échec après une ou deux lignes de chimiothérapie. Cette étude inclut 1692 patients réfractaires ou intolérants à leur dernière chimiothérapie. Le critère principal de l'étude est la SG et parmi les critères secondaires, le temps jusqu'à échec du traitement et le TRO. Dans le groupe de patients traités par géfitinib (n=1129), la SG médiane est de 5,6 mois et de 5,1 mois dans le groupe de patients traités par placebo (n=563). Le temps jusqu'à échec du traitement est de 3,0 mois pour les patients recevant le géfitinib et de 2,6 mois pour les patients recevant le placebo. Enfin, le TRO est de 8,0% pour le groupe recevant le géfitinib et de 1,3% pour le groupe recevant le placebo. Une analyse en sous-groupes a été effectuée chez les patients dont la tumeur présente une mutation de l'EGFR, le peu de cas (seulement 26 patients), n'a pas permis une analyse concluante. Les résultats de l'étude ISEL n'ont pas permis de démontrer un quelconque avantage du géfitinib en ce qui concerne la survie chez les patients ayant un CBNPC avancé ou métastatique après échec d'une ou deux lignes de chimiothérapies [309, 375, 381, 382].

L'afatinib a reçu son AMM en septembre 2013, en monothérapie, chez les patients adultes naïfs de TKI anti-EGFR, atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique qui présente une ou des mutations activatrices de l'EGFR. En mars 2016, son indication est étendue en monothérapie chez les patients adultes ayant un CBNPC de type épidermoïde, localement avancé ou métastatique, progressant sous ou après chimiothérapie à base de platine [384].

La posologie recommandée de l'afatinib est d'un comprimé de 40 mg/jour, en une seule prise, à prendre à distance des repas. Il est possible d'adapter la posologie de l'afatinib puisqu'il existe différents dosages de comprimés, notamment 20, 30, 40 et 50 mg [385].

Les études cliniques qui ont démontré l'efficacité de l'afatinib dans les deux indications de son AMM sont les études LUX-LUNG 3 et LUX-LUNG 8.

L'étude LUX-LUNG 3 est un essai de phase III international, multicentrique, randomisé et ouvert, comparant l'efficacité et la sécurité clinique de l'afatinib en première ligne de traitement, par rapport à la chimiothérapie de référence à base de pémétréxed et de cisplatine. Cet essai inclut 345 patients atteints d'un CBNPC non épidermoïde, localement avancé ou métastatique, avec mutation de l'EGFR. Le critère principal de l'étude est la SSP et les critères secondaires, la SG et le TRO. Dans le groupe de patients traités par l'afatinib (n=230), la SSP médiane est de 11,1 mois et dans le groupe de patients traités par la chimiothérapie (n=115), elle est de 6,9 mois. Le TRO chez les patients recevant l'afatinib est de 56,5% contre seulement 22,6% chez les patients recevant la chimiothérapie. Enfin, dans les deux groupes, la SG médiane est la même (28,2 mois). Une analyse en sous-groupes a été effectuée, incluant les patients présentant une délétion de l'exon 19 et une mutation L858R. Dans ce sous-groupe, la SSP médiane avec l'afatinib est de 13,6 mois et de 6,9 mois avec la chimiothérapie. Les résultats de l'étude LUX-LUNG 3 démontrent une amélioration significative de la médiane de SSP chez les patients présentant une mutation de l'EGFR et traités par l'afatinib, comparée à la chimiothérapie de référence. En revanche, les données de SG ne démontrent un avantage de l'afatinib comparée à la chimiothérapie que dans le groupe de patients présentant une délétion de l'exon 19 (33,3 mois contre 21,1 mois). Les résultats de cette étude ont permis à l'afatinib de recevoir son AMM en monothérapie, chez les patients adultes naïfs de TKI anti-EGFR, atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, qui présente une ou des mutations activatrices de l'EGFR [247, 316, 384, 385, 386, 387].

L'étude LUX-LUNG 8 est un essai de phase III international, randomisé et ouvert, qui a pour objectif de comparer l'efficacité et la sécurité d'emploi de l'afatinib, en traitement de deuxième ligne, par rapport à l'erlotinib chez des patients atteints de CBNPC épidermoïde de stade avancé ou métastatique. Cette étude inclut 795 patients, le critère principal de l'étude est la SSP et un des critères secondaires, la SG. Dans le groupe de patients traités par afatinib (n=398), la SSP médiane est de 2,6 mois contre 1,9 mois pour le groupe de patients traités par erlotinib (n=397). Enfin, la SG chez les patients recevant l'afatinib est de 7,9 mois versus 6,8 mois chez les patients recevant l'erlotinib. Les résultats de l'étude LUX-LUNG 8 montrent que l'afatinib administré en traitement de seconde ligne, améliore significativement la médiane de SSP et la médiane de SG des patients atteints de CBNPC de type épidermoïde par rapport à l'erlotinib. Les résultats de cette étude ont permis l'obtention d'une AMM en avril 2016 chez les patients présentant un CBNPC de type épidermoïde après la chimiothérapie [384, 386].

L'osimertinib a bénéficié d'une première AMM conditionnelle en février 2016 dans le traitement de seconde ligne des patients adultes, atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, avec mutation T790M de l'EGFR. Cette AMM conditionnelle a pu être transformée en AMM complète en avril 2017 grâce aux données supplémentaires de l'étude AURA3. En avril 2018, l'osimertinib a reçu un avis favorable pour l'extension de son indication en première ligne de traitement suite aux résultats de l'étude FLAURA. L'osimertinib est donc aujourd'hui indiqué dans le traitement de première ligne des patients adultes, atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, avec mutations activatrices de l'EGFR, ainsi que dans le traitement des patients adultes, atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, avec mutation de l'EGFR T790M [388, 389].

La posologie recommandée de l'osimertinib est de 80 mg/jour, une fois par jour, et ce jusqu'à ce que la maladie progresse ou qu'une toxicité inacceptable survienne. Il est possible de réduire la posologie à 40 mg/jour une seule fois par jour, si la tolérance et la sécurité du patient sont diminuées [389].

Plusieurs études cliniques ont évalué l'efficacité de l'osimertinib.

Les études AURAext et AURA2 sont deux études de phase II non comparatives, en ouvert, mono-bras, ayant évalué l'efficacité et la tolérance de l'osimertinib. Ces deux études incluent 411 patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, avec une mutation EGFR T790M, et ayant progressé après une ou plusieurs lignes de traitements, dont au moins un ITK anti-EGFR. Le critère de jugement principal de l'étude est le TRO et les critères secondaires, le pourcentage de maladie contrôlée, la durée médiane de réponse parmi ceux ayant obtenu une réponse objective, la SSP ainsi que la SG. Le TRO est de 61,1% dans l'étude AURAext et de 70,5% dans l'étude AURA2. Le pourcentage de maladie contrôlée est de 90,4% dans l'étude AURAext et de 91,0% dans l'étude AURA2. La durée médiane de réponse est de 12,5 mois dans l'étude AURAext et de 11,8 mois dans l'étude AURA2. Enfin, la SSP médiane et les SG médiane sont respectivement de 11,0 et 24,8 mois dans l'étude AURAext. Pour l'étude AURA2, la SSP médiane est de 9,8 mois, la SG médiane n'est en revanche pas atteinte. Les résultats de ces deux études ont permis à l'osimertinib de recevoir son AMM conditionnelle en février 2016, dans le traitement du CBNPC localement avancé ou métastatique, avec mutation T790M de l'EGFR [388, 389, 390].

L'étude AURA3 est un essai de phase III, randomisé, ouvert, comparant l'efficacité et la sécurité de l'osimertinib à une chimiothérapie associant le pémétréxed à un sel de platine, avec maintenance possible par pémétréxed. Cette étude inclut 419 patients atteints d'un CBNPC localement avancé ou métastatique, avec mutation EGFR T790M et dont la maladie a progressé sous ou après un traitement par ITK anti-EGFR. Le critère principal de l'étude est la SSP et les principaux critères secondaires, le TRO et la SG. Dans le groupe de patients traités par osimertinib, (n=279), la SSP médiane est de 10,1 mois comparé au groupe de patients traités par chimiothérapie (n=140) où elle n'est que de 4,4 mois. Chez les patients recevant l'osimertinib, le TRO est de 70,6% versus 31,4% chez les patients recevant la chimiothérapie. Concernant la SG, aucune différence n'a été mise en évidence entre les deux groupes. Les résultats de l'étude AURA3 ont atteint leur objectif en démontrant la supériorité de l'osimertinib en ce qui concerne la SSP, avec un gain absolu de 5,7 mois par rapport à la chimiothérapie. En revanche, aucun bénéfice n'a été démontré pour la SG et la qualité de vie. Grâce aux résultats de cette étude, l'AMM conditionnelle de l'osimertinib s'est transformée en AMM complète en avril 2017 [388, 389, 390, 391].

L'étude FLAURA est un essai de phase III, randomisé, en double aveugle, comparant l'efficacité et la tolérance de l'osimertinib versus un ITK anti-EGFR, soit l'erlotinib, soit le géfinitib. L'étude inclut 556 patients atteints d'un CBNPC *EGFR* muté, localement avancé ou métastatique non traité au préalable. Le critère de jugement principal de l'étude est la SSP. Dans le groupe de patients recevant l'osimertinib (n=279), la SSP médiane est de 18,9 mois contre 10,2 mois pour le groupe de patients recevant le comparateur ITK anti-EGFR (n=277). Les résultats de l'étude FLAURA ont démontré une amélioration significative de la SSP avec l'osimertinib, par rapport au comparateur ITK anti-EGFR. Grâce aux résultats de cette étude, l'osimertinib a bénéficié d'une extension d'indication en première ligne de traitement [388, 389].

Les différentes études cliniques présentées ci-dessus ont donc démontré la supériorité des ITK anti-EGFR chez les patients présentant un CBNPC localement avancé ou métastatique avec mutation activatrice de l'EGFR, par rapport aux chimiothérapies à base de sels de platine, en ce qui concerne la survie sans progression, le taux de réponse et la qualité de vie en première ligne, sans pour autant améliorer la survie globale. Cependant, lorsque le statut mutationnel du patient est difficile à obtenir, ou que les temps d'attentes sont trop longs par rapport à une menace vitale existante, il est recommandé d'utiliser la chimiothérapie en première ligne. Les

ITK pourront alors être employés en traitement de seconde ligne ou en traitement de maintenance.

Il est impossible aujourd'hui de pouvoir comparer l'efficacité et la tolérance des ITK anti-EGFR, puisqu'aucune étude clinique comparative directe n'a été effectuée. Le choix de la molécule à utiliser se fait donc sur des critères secondaires comme les effets secondaires ou les données pharmacocinétiques [313].

Même si les ITK anti-EGFR ont permis d'améliorer le pronostic et la qualité de vie des patients atteints de CBNPC avancé ou métastatique muté *EGFR*, ces thérapies ciblées présentent plusieurs limites. Tout d'abord, l'utilisation de l'erlotinib et du géfitinib n'est limitée qu'à certains patients sélectionnés, avec une réponse clinique observée que chez 10% des caucasiens et 30% des asiatiques. De plus, ces thérapies ciblées sont systématiquement suivies d'une progression tumorale inévitable due aux phénomènes de résistance. L'émergence de résistances acquises survient dans une médiane de 10 à 12 mois après le début du traitement par ITK. Il existe deux principaux mécanismes de résistances acquises : l'amplification de voies de transduction comme RAS et MET ainsi qu'une mutation secondaire de l'EGFR T790M dans l'exon 20, présente chez 50 à 60% des patients. Le changement d'acide aminée en position 790 empêche l'erlotinib et le géfitinib de se lier au site de liaison de la poche d'ATP par interférence stérique et restaure l'affinité du récepteur à l'ATP et donc l'activité du récepteur EGFR et de ses voies sous-jacentes. Afin de contourner ce phénomène de résistance induit par la mutation T790M, les ITK de troisième génération comme l'osimertinib ont été développés. Une meilleure compréhension de ces phénomènes de résistance aux traitements va permettre aux chercheurs de développer de nouvelles stratégies thérapeutiques pour annihiler ces résistances ou retarder leur apparition comme nous l'avons vu dans le chapitre « Comprendre et surmonter l'hétérogénéité tumorale » (II. B. 1. a) (1)) [309, 313, 317, 325, 350, 351].

III. Essais cliniques classiques versus essais paniers (vers un nouveau paradigme des essais cliniques)

A. Généralités sur les essais cliniques en oncologie

Tous les nouveaux traitements du cancer sont évalués via des essais cliniques, afin de pouvoir être mis à disposition des patients. Les essais cliniques en oncologie concernent les nouvelles molécules, les nouvelles associations de médicaments, ainsi que les nouvelles modalités d'administration. Les essais cliniques sont indispensables et permettent de démontrer une meilleure efficacité, une réduction des toxicités et une amélioration de la qualité de vie des patients avec les nouveaux traitements, et d'établir un rapport bénéfice/risque qui leur est favorable par rapport au traitement de référence. Les essais cliniques en oncologie ne se font jamais sur des sujets sains. Ils ont l'avantage de permettre aux patients, d'accéder de manière précoce aux nouveaux traitements du cancer et cela, dans un cadre réglementaire et éthique rigoureux, tout en bénéficiant d'un suivi de qualité nécessaire au progrès scientifique. En France, c'est l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé (ANSM) qui autorise et surveille tous les essais cliniques menés sur le territoire. Plus d'une trentaine de nouveaux essais cliniques sont autorisés par mois dans le domaine de la cancérologie et de l'hématologie [260, 392, 393, 394, 395].

Les essais cliniques se déroulent en 4 phases. **Les études de phase I** correspondent aux premières administrations chez l'homme d'une nouvelle substance active ou d'une nouvelle combinaison de substances déjà connues, en vue d'évaluer à court terme sa tolérance et de décrire son administration. Ainsi, lors de la phase I, le profil pharmacocinétique du nouveau traitement est étudié, et la dose maximale tolérée (DMT) définie comme la dose induisant un risque prédéfini de toxicité sévère est déterminée. Enfin, la dose et la fréquence d'administration optimales pour les études de phase II sont définies. La méthode généralement utilisée pour déterminer la DMT est l'escalade de doses, où la dose initiale a été établie à partir des données précliniques. Les sujets inclus dans les études de phase I en oncologie sont des patients porteurs de tous types de tumeurs, ayant échappé aux thérapeutiques disponibles, ou pour lesquelles il n'existe aucun traitement. Ils doivent être dans un bon état général, biologique et clinique et avoir une espérance de vie supérieur à 3 mois. Les arrêts de traitement peuvent

être de trois ordres : quand le patient le demande, lorsqu'une toxicité limitante sans bénéfice thérapeutique apparaît, ou lorsque la maladie progresse. Les essais cliniques en oncologie de phase I incluent un petit nombre de patients, entre 10 et 40 et ne sont jamais randomisés. Ils durent entre 1 et 2 ans et seuls certains services sont habilités à les mettre en place [260, 393, 396, 397, 398, 399, 400].

Les études de phase II en oncologie sont des essais exploratoires, la plupart du temps non comparatifs, c'est-à-dire avec des plans expérimentaux à un seul bras sans groupe témoin. Les objectifs des études de phase II en oncologie sont de confirmer et de préciser l'efficacité thérapeutique du nouveau traitement à la dose recommandée à l'issue de la phase I ; en l'occurrence, évaluer son activité antitumorale dans une ou plusieurs indications spécifiques déterminées, ainsi que confirmer la sécurité clinique du nouveau traitement dans la population sélectionnée. Ces études incluent un nombre de patients peu élevé allant de 40 à 60 sujets, atteints d'une pathologie spécifique, sans défaillance viscérale, et à qui il ne peut être proposé aucun autre traitement. Les critères de jugement généralement utilisés sont la régression tumorale, la rémission partielle ou complète qui permettent de mesurer la réponse de la tumeur au traitement. Les études de phase II en oncologie sont des études très importantes dans le processus de développement d'un nouveau traitement, car seuls les traitements ayant montré une activité antitumorale suffisante à l'issue de cette phase pourront continuer leur développement, et être évalués en phase III, les molécules inefficaces étant rejetées. Les études de phase II durent entre 2 et 3 ans, tout dépend de la pathologie sélectionnée et du nombre de patients à l'étude [360, 394, 397, 398].

Les études de phase III en oncologie sont des essais confirmatoires, c'est-à-dire qu'ils ont pour but de confirmer l'efficacité et la sécurité clinique du nouveau traitement anticancéreux sur un plus grand nombre de patients, allant de plusieurs centaines à des milliers, et à plus long terme. Ce sont des essais comparatifs d'efficacité entre le nouveau traitement et le meilleur traitement connu, dit traitement de référence. L'objectif est alors de démontrer que le nouveau traitement est au moins aussi efficace que le traitement de référence. Les études de phase III en oncologie sont également randomisées et si possible en double aveugle, et les deux groupes de patients, le groupe recevant le traitement de référence et celui recevant le nouveau traitement, doivent en tous points être comparables. Les essais de phase III en oncologie ont un critère de jugement principal clairement défini qui est soit la survie globale, soit la survie sans progression. Lors de cette phase, un rapport bénéfice/tolérance est estimé en situation réelle, et

comme les durées d'exposition au nouveau traitement sont prolongées, une évaluation des interactions médicamenteuses peut être effectuée. A l'issue des études de phase III, selon les résultats obtenus, le promoteur peut faire la demande auprès des autorités de santé, d'une AMM pour le nouveau traitement, afin qu'il puisse être commercialisé. Les essais de phase III durent au moins 4 à 5 ans, en fonction de la pathologie étudiée et de l'effet attendu [260, 394, 398, 399, 400].

Les études de phases IV se déroulent après l'obtention de l'AMM et après la commercialisation du nouveau traitement. C'est ce qu'on appelle la pharmacovigilance. Il s'agit d'évaluer le nouveau traitement après sa commercialisation, afin d'identifier tout effet secondaire non répertorié dû à son administration. Le médicament peut également être évalué dans des conditions d'administration différentes, c'est-à-dire la fréquence d'administration, le nombre de cures, ainsi que la durée de la perfusion [394, 398, 400].

Pour résumer, la durée des études cliniques pour évaluer un nouveau traitement est longue et peut prendre jusqu'à 10 ou 15 ans. De plus, sur 20 molécules testées au stade clinique, seulement une seule obtiendra une AMM [392, 397].

Cependant, avec l'arrivée de la médecine de précision en oncologie, de nouvelles approches thérapeutiques basées sur la signature moléculaire des cancers ont émergé, et le développement de ces nouvelles thérapies est optimisé par rapport aux thérapies conventionnelles. En effet, des essais cliniques novateurs et efficaces basés sur les biomarqueurs tiennent la promesse d'accélérer le développement de ces nouvelles thérapies de précision pour sélectionner les patients de façon optimale. Ces nouveaux essais cliniques testent des thérapies ciblées ou des traitements d'immunothérapie spécifique dans de nombreux cancers. Il peut s'agir de traitements ayant déjà une AMM, mais qui sont testés dans d'autres types de cancers, ou bien de nouveaux traitements. Afin de limiter les apparitions de résistance et d'augmenter l'efficacité des traitements anticancéreux, les molécules sont de plus en plus évaluées en combinaison [7, 392].

B. Les nouveaux essais cliniques d'oncologie de précision

Pourquoi la conception d'un nouveau genre d'essais cliniques a-t-elle été nécessaire en oncologie ?

Les dernières décennies de recherche en oncologie nous ont permis de rentrer dans l'ère moderne des sous-populations de cancers de plus en plus spécifiques et définis génétiquement. En effet, il existe plus de 200 types et sous-types de cancers distincts qui varient considérablement au niveau moléculaire. Ce nouveau paradigme du cancer a été crucial pour les chercheurs qui développent des médicaments car ils ont dû s'adapter, et développer des nouvelles thérapies ciblant directement les anomalies mises en jeu dans le phénomène de tumorigenèse. Il est délicat de tester ces nouvelles thérapies ciblées avec les essais cliniques traditionnels et ce pour plusieurs raisons. En effet, les anomalies génétiques spécifiques ne surviennent en général que dans une faible proportion de cancers, mais peuvent être présentes dans plusieurs types de cancers avec des localisations différentes. Ceci oblige les chercheurs à mener de nombreux essais cliniques pour des petits sous-groupes de patients présentant les mutations spécifiques, rendant le développement des nouvelles thérapies difficile et très long si elles étaient testées par les essais cliniques classiques. Les essais cliniques classiques sont basés sur l'histopathologie tumorale et sont développés pour évaluer des traitements non ciblés, dans un panel assez large de patients non sélectionnés moléculairement. Ils ne sont donc pas appropriés pour tester les nouveaux traitements d'oncologie de précision. Dans l'intérêt des patients, de l'industrie pharmaceutique et des institutions réglementaires, les chercheurs ont dû concevoir et explorer de nouvelles approches d'essais cliniques afin d'évaluer plus rapidement ces nouveaux traitements avec une plus grande efficacité opérationnelle. De nouveaux essais cliniques innovants ont donc émergé, afin de relever les défis de la fragmentation moléculaire croissante du cancer. Cependant, ces nouveaux essais cliniques n'ont pas tout de suite fait l'unanimité des développeurs de médicaments. Certains étaient réticents à l'idée de cibler des sous-populations de patients mal définies sur le plan moléculaire. Néanmoins, après plusieurs bons exemples, il s'est avéré que l'identification de la bonne population pour recevoir un traitement, améliore de façon considérable l'efficacité du développement clinique, évite de traiter des patients avec des traitements dont ils ne tireraient aucun bénéfice, et diminue les coûts sociaux et médicaux [19, 308, 392, 393, 396, 401, 402, 403, 404, 405, 406].

Les nouveaux types d'essais cliniques en oncologie étudient les nouveaux traitements ciblés, basés sur les anomalies spécifiques des tumeurs des patients et ce quel que soit l'organe concerné. Ce sont donc des essais d'oncologie de précision où les caractéristiques moléculaires de la tumeur du patient l'emportent sur la localisation du cancer pour la décision thérapeutique. Ainsi, un même traitement peut être étudié pour plusieurs cancers d'origine histologique différente, mais présentant les mêmes anomalies génétiques. En France, une dizaine d'essais d'oncologie de précision sont actuellement menés. Ces essais permettent d'accélérer le développement des traitements innovants ainsi que l'accès à ces innovations aux patients. Favoriser ces nouveaux types d'essais en oncologie fait d'ailleurs partie de la mesure 5.6 du troisième plan cancer 2014-2019. Qui dit nouveaux essais, dit nouvelles méthodologies. Des protocoles intégrés avec plusieurs phases dans un seul essai sont appliqués, ainsi que des utilisations et ou comparaisons de nouveaux médicaments sans AMM dits novel-novel. Des nouveaux critères d'évaluation ont également vu le jour, comme le pourcentage de rémission complète ainsi que des conceptions d'essais, « design » adaptatives. Ces essais sont également plus modulables, en fonction des résultats préliminaires, mais aussi des nouveaux médicaments qui arrivent sur le marché et de la découverte de nouvelles anomalies moléculaires [395].

Ces nouveaux essais cliniques peuvent être classifiés en fonction du nombre de types tumoraux évalués. Deux grandes familles d'essais cliniques de précision existent alors. Les essais paniers « basket trials » et les essais parapluies « umbrella trials ». Les essais paniers évaluent dans de nombreuses localisations tumorales, un traitement qui cible une ou plusieurs anomalies moléculaires. Quant aux essais parapluies, ils évaluent dans une seule localisation tumorale, plusieurs traitements qui ciblent plusieurs anomalies moléculaires.

Afin de rechercher les mutations, amplifications ou translocations de cibles génomiques éventuelles dans la tumeur des patients, des techniques de biologie sont couramment utilisées comme le séquençage haut débit « Next-Generation-Sequencing » ainsi que l'hybridation génomique comparative « Comparative Genomic Hybridization » [395].

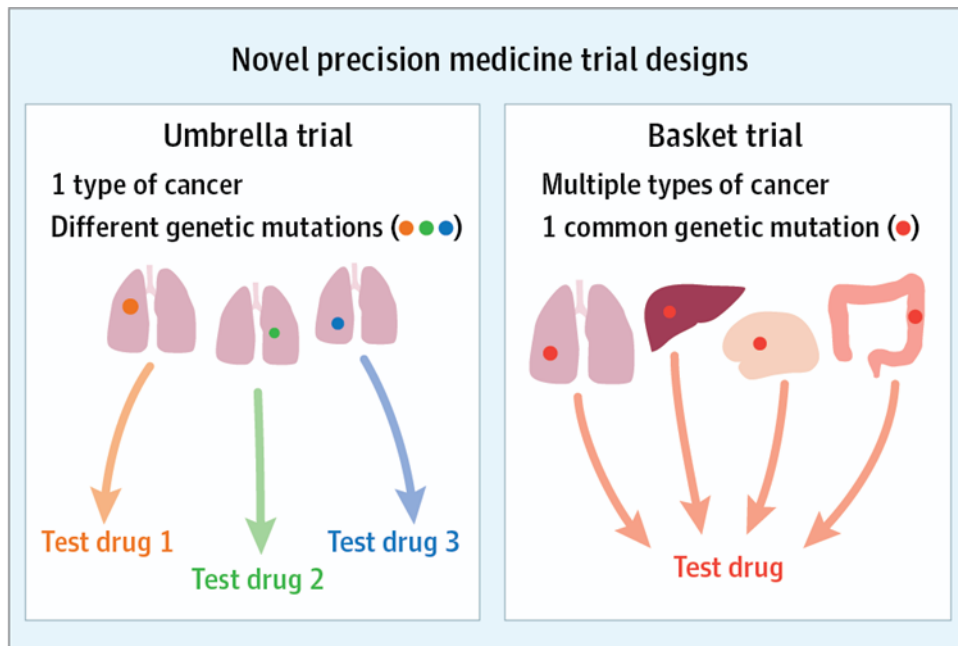


Figure 31. Conception des essais cliniques d'oncologie de précision [407].

C. Les essais paniers

Les essais paniers sont le résultat de plusieurs tentatives de nouvelles approches d'essais cliniques par les chercheurs. Les chercheurs ont à la base eut l'idée de concevoir des essais de phase I/II au lieu d'essais de phase I traditionnels, afin d'augmenter la dose d'une thérapie ciblée chez des patients présélectionnés par les médecins. Ces essais ont mesuré les taux de réponse d'une thérapie ciblée dans un sous-groupe de patients présentant une mutation particulière, limitée à un seul organe ou tissus. Cette approche a évolué vers l'idée de placer les patients dans des sous-groupes définis par la localisation de leur tumeur, qu'on appelle « paniers » [408].

Les essais paniers sont donc des essais qui rassemblent des patients avec des tumeurs dans différents organes et qui partagent la même altération moléculaire ciblable par une même thérapie ciblée.

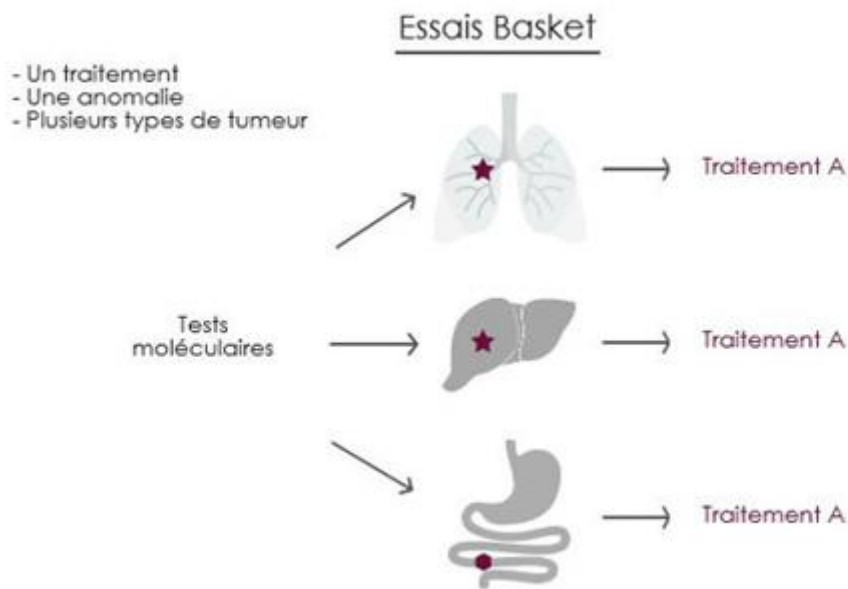


Figure 32. Conception des essais paniers [392].

Les essais paniers sont des essais de découverte de phase II précoce, non randomisés, et utilisés dans un contexte exploratoire, basés sur des critères d'évaluation à court terme, comme le taux de réponse ou le taux de contrôle de la maladie. Les essais paniers permettent de mener en parallèle plusieurs essais de phase II indépendants, où le traitement est testé simultanément dans les différents paniers. Ces essais sont conçus pour savoir si la thérapie ciblée est active, mais aussi pour découvrir dans quels types histologiques de tumeurs spécifiques elle est particulièrement efficace. L'objectif des essais paniers est donc d'apprendre et de répondre à plusieurs hypothèses afin d'accroître la précision de l'essai et d'accélérer le développement de la thérapie ciblée. Les essais paniers ont une conception adaptative, c'est-à-dire que différents aspects peuvent être planifiés prospectivement suite aux résultats préliminaires. Par exemple, un panier représentant un sous-groupe de patients peut être abandonné, si on découvre que leur tumeur ne répond pas du tout à la thérapie. En revanche, un autre panier peut être élargi si au contraire la thérapie semble efficace sur ce sous-groupe de patients. Les doses de l'essai peuvent également être modifiées. Ces conceptions adaptatives sont de plus en plus utilisées car elles sont vivement encouragées par les organismes réglementaires. Les essais paniers étant des

essais de nature complexe où les échantillons sont relativement petits, les résultats prometteurs de ces essais doivent être dans la mesure du possible, évalués plus en détail et confirmés par des essais de phase II élargis. L'approche choisie pour concevoir un essai panier se base sur différents critères. Pour définir les sous-groupes histologiques qui constitueront les différents paniers, la prévalence d'un sous-type moléculaire dans un type de cancer est comparée à sa prévalence à travers différents types de cancers. Les chercheurs rechercheront si des initiatives dirigées par des groupes coopératifs axés sur des cancers spécifiques existent déjà. Enfin, les chercheurs examineront la possibilité de mise en œuvre technique et opérationnelle de ces essais, comme l'acquisition des échantillons de tumeurs pour pouvoir les analyser [396, 404, 405, 409, 410, 411, 412].

L'étude panier repose sur la sélection appropriée de biomarqueurs pour assurer sa bonne réussite et son efficacité. Les essais paniers sont mieux adaptés pour évaluer des altérations moléculaires qui se produisent dans une grande variété de cancers mais qui surviennent à basse fréquence. Non pas que les altérations moléculaires qui se produisent dans des fréquences élevées ne soient pas appropriées, mais il est plus logique d'étudier ces altérations sur une seule histologie spécifique à la fois, d'autant plus que la réponse à une thérapie de précision est conditionnée par sa lignée tumorale (cf. étude SUMMIT). De plus, le design des essais paniers ne ferait qu'apporter de la complexité en faisant intervenir plusieurs types de tumeurs. Par ailleurs, les altérations à basse fréquence ne peuvent pas être étudiées par les essais cliniques traditionnels spécifiques d'une localisation tumorale, puisque le nombre de patients requis ne serait pas atteint. C'est dans ce cas, que la stratégie des essais paniers peut intervenir [414].

La conception des essais paniers est une approche relativement nouvelle puisque les résultats du premier essai panier aux Etats-Unis ont été publiés en août 2015 dans le *New England Journal of Medicine*. Ce premier essai panier NCT01524978 est un essai de phase II, mené par les chercheurs du Memorial Sloan Kettering Cancer Center et dirigé par le médecin en chef José Baselga. Puisque le vémurafénib a été efficace chez les patients atteints d'un mélanome avec la mutation BRAF V600, le premier essai panier a voulu évaluer l'effet du vémurafénib sur des patients présentant un cancer muté BRAF V600 autre que le mélanome. Il s'agit donc de la première étude d'oncologie de précision. L'étude a inclut 122 patients, dans 23 centres du monde entier. Les résultats de cette étude ont démontré une activité clinique encourageante et prometteuse dans le cancer du poumon non à petites cellules et dans deux maladies rares, la maladie d'Erdheim-Chester et l'histiocytose des cellules de Langerhans. En effet, chez les

patients atteints d'un cancer du poumon non à petites cellules, le taux de réponse au vémurafénib étaient de 42% avec une médiane de survie sans progression de 7,3 mois, et chez les patients atteints de la maladie d'Erdheim-Chester et d'histiocytose des cellules de Langerhans, le taux de réponse au vémurafénib était de 43%. Les résultats de cette étude démontrent deux choses. D'une part, qu'il est possible de concevoir des essais basés sur les altérations moléculaires, contrairement au site histologique du cancer. D'autre part, qu'il n'est pas possible d'extrapoler l'efficacité d'une thérapie ciblant une mutation dans un certain type de cancer à un autre type de cancer, sous prétexte que cet autre type de cancer présente la même mutation. Ce n'est pas parce qu'un cancer colorectal présente une mutation BRAF V600 qu'il va forcément bien répondre au vémurafénib. Cela suppose que la réponse d'une tumeur à une thérapie ciblée dépend d'une altération moléculaire mais qu'elle est aussi contextualisée par le tissu d'origine du cancer [415, 416].

Afin d'illustrer cette nouvelle approche d'essais cliniques voici quelques exemples d'essais paniers qui se sont déroulés en France et aux Etats-Unis. A titre d'information, 37 études paniers étaient comptabilisées sur le site « clinicaltrials.gov » en mars 2018 dans le monde.

1. Essais paniers en France

La mise en place des essais paniers en France s'est faite très rapidement, notamment grâce à une dynamique commune entre l'INCa et l'ANSM, et notamment grâce aux différents plans cancer. Une mesure phare du plan cancer 2014-2019 consiste à conforter l'avance de la France dans la médecine personnalisée. Afin de mener à bien cette mission, plusieurs actions ont été entreprises comme l'action 5.6 qui consiste en l'adaptation des essais cliniques aux évolutions conceptuelles induites par l'arrivée des thérapies ciblées. L'INCa a également créé 28 plateformes de génétique moléculaire des cancers réparties dans tout le territoire français, afin de garantir aux patients l'équité et la haute qualité d'accès aux thérapies ciblées [29, 395, 417].

En France plusieurs essais paniers sont menés, comme le programme Acsé, les études VE-BASKET, CREATE, STARTRK-2, et SUMMIT.

a) *Le Programme Acsé*

Le programme Acsé (Accès Sécurisé à des thérapies ciblées innovantes) a été lancé en juin 2013 par l'INCa, et avec le soutien de l'ANSM et de la fondation ARC pour la recherche contre le cancer, afin de contribuer à accélérer l'émergence de l'innovation au bénéfice du patient. L'objectif de ce programme est d'ouvrir les indications de prescription des thérapies ciblées à d'autres organes, en se basant sur le profil moléculaire des tumeurs, en sécurisant l'accès hors AMM de ces thérapies. En effet, l'usage des thérapies ciblées hors AMM ne permet pas la collecte d'informations nécessaires pour la pharmacovigilance et pour confirmer leur efficacité. Ainsi, le programme Acsé propose aux patients d'encadrer la prescription des thérapies ciblées, afin de leur garantir un accès sécurisé à ces thérapies partout en France. Les essais paniers du programme Acsé sont au nombre de cinq : l'essai Acsé Crizotinib lancé en juin 2013, et qui a démontré la pertinence et la faisabilité du programme, l'essai Acsé Vémurafénib, lancé en octobre 2014, pour évaluer l'efficacité et tolérance du vémurafénib sur 500 patients atteints d'autres types de cancers que le mélanome et porteur de la mutation BRAF V600, l'essai Acsé ESMART, lancé en juin 2016, qui teste plusieurs thérapies innovantes sur des enfants en échec thérapeutique, et enfin, les essais Acsé Nivolumab et Acsé Pembrolizumab lancés en mai 2017. Tous ces essais sont des essais de phase II, ouverts aux patients enfants et adultes, atteints d'un cancer en situation d'échec thérapeutique, et présentant l'altération génétique à l'étude. Pour cela, les patients sont diagnostiqués par des tests moléculaires gratuits, réalisés au sein des 28 plateformes de génétique moléculaire. Afin qu'un patient soit inclus dans un des cinq essais Acsé, il doit réunir tous les critères d'inclusion qui sont les suivants :

- Patients présentant une tumeur solide ou hématologique différente de l'indication du dossier d'AMM ;
- Patients mineurs si des données de toxicité et de pharmacocinétique sont disponibles pour définir la dose recommandée ;
- Présence de l'anomalie génétique ciblée par le médicament dans la tumeur, quelle que soit l'histologie ou la cytologie initiale ;
- Maladie localement avancée ou métastatique, en échec d'options thérapeutiques validées et pour des patients ayant une espérance de vie supérieure à 3 mois ;
- Absence d'un autre essai clinique actif en France avec cette thérapie dirigée sur la même cible, dans lequel le patient pourrait être inclus ;

- Stratification initiale par organe d'origine de la tumeur et type histologique pour permettre l'analyse en sous-groupes, avec un groupe « autres tumeurs » permettant une inclusion de patients souffrant de cancers rares ;
- Règles d'arrêt strictes en cas de toxicité et/ou en cas d'absence d'effet après un nombre prédéfini de cycles et de patients inclus (nombre défini par la méthodologie statistique).

Enfin, ces cinq essais sont proposés à 250 établissements répartis sur tout le territoire français [392, 417, 418].

(1) Etude Acsé Crizotinib NCT02034981

L'essai Acsé Crizotinib est un essai de phase II multicentrique, évaluant l'efficacité et l'innocuité du crizotinib en monothérapie, chez 22 cohortes de patients présentant une altération *ALK*, *MET*, *RON* ou *ROS1*. Les cohortes ou paniers sont définis par un type de cancer et une altération ciblée par crizotinib. Cet essai, promu par UNICANCER et cofinancé par la fondation ARC pour la recherche contre le cancer et l'INCa, a été lancé en juin 2013 et s'est fini en février 2018. Il a été dirigé par le médecin Gilles Vassal, pédiatre et directeur du centre de recherche clinique de Gustave Roussy. 13 000 patients ont été testés moléculairement dans 198 centres pour les besoins de l'étude, qui, au final, a inclus 246 patients âgés de 1 à 92 ans, atteints de 22 types de cancers différents. Les résultats de l'étude Acsé Crizotinib ont été présentés au congrès américain de l'ASCO en juin 2018 et montrent que le crizotinib apporte un bénéfice dans d'autres types de tumeurs que le CBNPC muté *ALK*. En effet, une réponse considérable au crizotinib a été observée dans des CBNPC mutés *MET* et *ROS1* avec un TRO respectivement de 24% et 54%, dans des lymphomes anaplasiques avec translocation de *ALK* (TRO de 54%), dans des sarcomes inflammatoires mutés *ALK/MET* (TRO de 28%) dans des cancers œsogastriques amplifiés *MET* (TRO de 37%) et enfin dans certaines tumeurs rares de l'enfant. Au début du programme Acsé, le crizotinib était seulement autorisé dans le traitement des patients atteints d'un CBNPC présentant une altération *ALK*. Mais, grâce aux résultats de plusieurs études dont ceux de l'étude Acsé Crizotinib, une recommandation temporaire d'utilisation a été accordée pour le crizotinib dans le CBNPC muté *ROS1* en février 2016, et une extension de l'AMM dans cette indication a été obtenue en juillet 2017. En revanche,

aucune activité du crizotinib dans les cancers du côlon avec amplification *MET* n'a été démontrée. L'essai Acsé Crizotinib ouvre donc la voie à de nouvelles indications pour ce traitement [404, 418, 419, 420, 421, 422, 423, 424].

(2) Etude Acsé Vémurafénib NCT02304809

L'essai Acsé Vémurafénib est le deuxième essai Acsé lancé en octobre 2014. C'est un essai de phase II multicentrique, qui évalue l'efficacité et l'innocuité du vémurafénib chez 500 patients atteints d'autres types de cancers que le mélanome, et présentant une mutation BRAF V600. Cet essai est également promu par UNICANCER et cofinancé par la Fondation ARC pour la recherche contre le cancer et l'INCa et est dirigé par le Pr Jean-Yves Blay, directeur général du Centre Léon Bérard. Pour être inclus dans l'essai, les patients doivent être majeurs et en situation d'échec thérapeutique. Ainsi, d'octobre 2014 à avril 2016, plus de 1500 patients ont été testés moléculairement dans les 28 plateformes de génétique moléculaire pour inclure 78 patients. La fin des inclusions de l'essai Acsé Vémurafénib est estimée en octobre 2018 et la fin de l'étude est estimée en février 2022. En Avril 2016, des résultats préliminaires de l'étude ont montré une activité antitumorale du vémurafénib importante dans le CBNPC (TRO de 43%), dans la leucémie à tricholeucytes (TRO de 100%), et dans d'autres tumeurs mutées BRAF V600, notamment un oligodendrogliome, un gangliome et une histiocytose (TRO de 60%). Cependant les tumeurs mutées BRAF non V600 n'ont obtenu aucun bénéfice avec le vémurafénib [418, 425, 426, 427, 428, 429].

(3) Etudes Acsé Immunothérapie et Cancers Rares

Le programme Acsé Immunothérapie et Cancers Rares comporte deux essais cliniques, Acsé Nivolumab NCT03012581 et Acsé Pembrolizumab NCT03012620, qui sont respectivement le quatrième et cinquième essai du programme Acsé. Ces deux essais sont promus par UNICANCER et cofinancés par l'INCa et la Ligue Contre le Cancer. Le nivolumab et le pembrolizumab sont deux molécules qui ciblent PD-1 et l'objectif de ces deux essais est d'ouvrir l'accès de façon sécurisée à l'innovation aux patients atteints d'un cancer rare, et de

recueillir des données scientifiques sur le nivolumab et le pembrolizumab dans le traitement de certains cancers rares de l'adulte et de l'enfant. Ces deux essais de phase II, multicentriques et ouverts, évaluent l'efficacité et l'innocuité du nivolumab et du pembrolizumab en monothérapie chez 6 cohortes ou paniers de patients avec un cancer rare localement avancé ou métastatique non résecable, résistant ou réfractaire aux thérapies standards, ou pour lequel il n'existe pas de traitement standard approprié. L'essai Acsé Nivolumab débuté en juillet 2017 est coordonné par le docteur Aurélien Marabelle, directeur clinique du programme d'immunothérapie GRIP de Gustave Roussy et la fin de l'étude est estimée à décembre 2023. Cet essai devrait inclure 250 patients répartis dans 6 paniers définis par une maladie. Les six maladies étudiées sont les carcinomes rénaux non à cellules claires, les cancers rares de la tête et du cou, les cancers rares de la peau, les cancers avec instabilité microsatellitaire non colorectaux, les cancers squameux du pénis et enfin les cancers avec mutations du domaine exonucléaire du gène *POLE*. L'essai Acsé Pembrolizumab, débuté en juillet 2017, est coordonné par le professeur Christophe Massard, chef du département Innovation Thérapeutique et Essais Précoces de Gustave Roussy et la fin de l'étude est estimée à décembre 2023. Cet essai devrait inclure 350 patients répartis également dans 6 paniers définis par une maladie. Les six maladies étudiées sont les sarcomes rares, les cancers rares de l'ovaire, les lymphomes primitifs du système nerveux central, les cancers rares neuroendocriniens et enfin les cancers rares des cellules germinales. Afin d'inclure les 600 patients nécessaires, les deux études se sont appuyées sur l'organisation des réseaux cancers rares labellisés par l'INCa. Les premiers résultats de ces deux études sont attendus courant janvier 2023 [345, 418, 430, 431, 432, 433, 434].

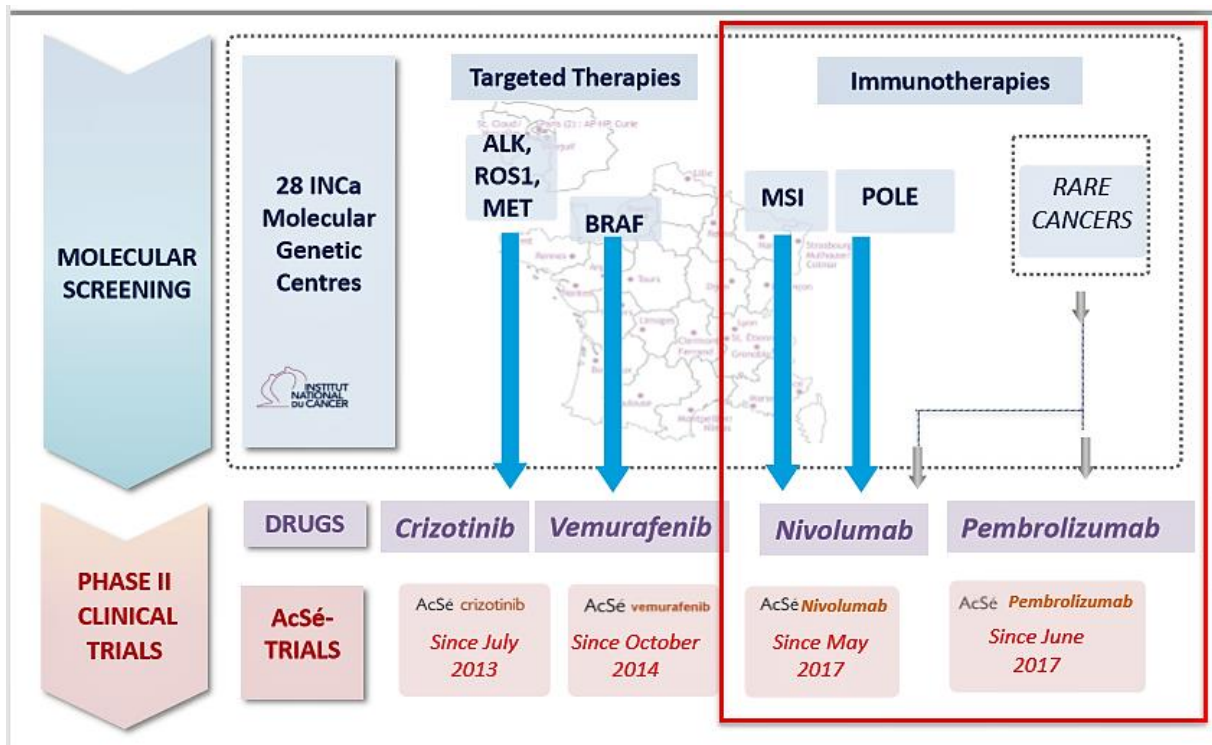


Figure 33. Essais paniers du programme AcSé [430].

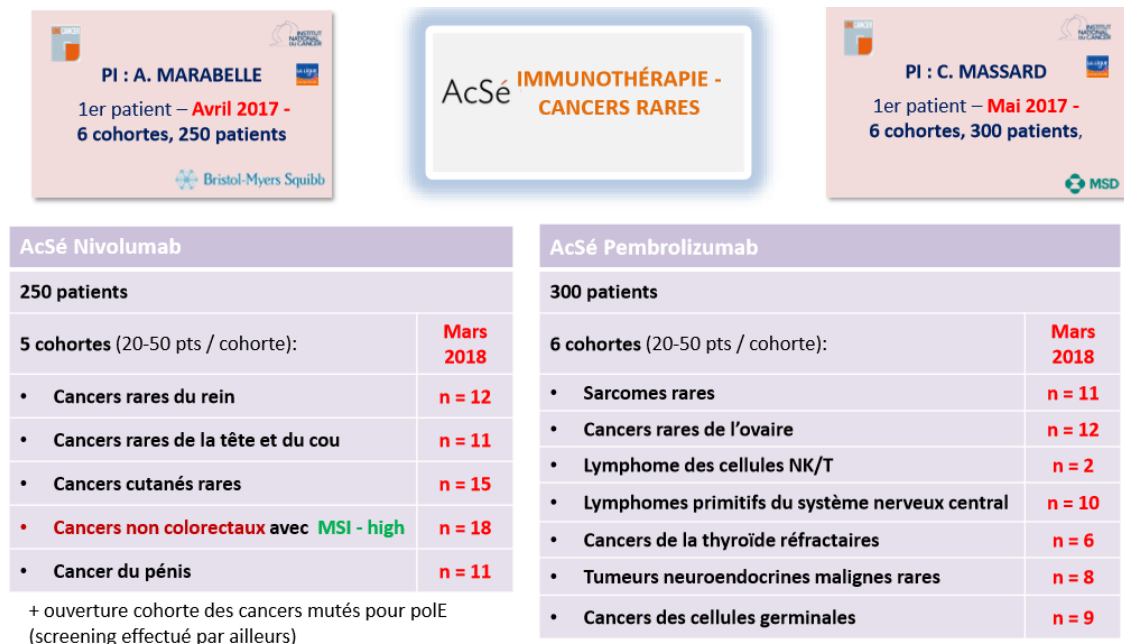


Figure 34. Essais paniers AcSé Immunothérapie et Cancers Rares [430].

b) Etude VE-BASKET NCT01524978

L'étude VE-BASKET est un essai international (Etats-Unis, France, Chine, Allemagne, Espagne et Royaume-Uni), multicentrique de phase II, en ouvert, qui évalue l'efficacité et l'innocuité du vémurafénib, chez les patients atteints d'un cancer porteur de la mutation BRAF V600 et pour qui le vémurafénib est considéré par l'investigateur, comme la meilleure option de traitement. L'essai VE-BASKET, promu par Roche, a débuté en avril 2012 et s'est terminé en octobre 2016. L'étude comportait à l'origine 8 paniers. 6 paniers de patients atteints de tumeurs solides, comme le CBNPC, le cancer des ovaires, le cancer colorectal, le cancer du sein, le cancer de la prostate ou le cholangiocarcinome. 1 panier de patients atteints de myélome multiple et un dernier panier comportant d'autres tumeurs mutées BRAF V600, comme la maladie d'Erdheim-Chester, l'histiocytose des cellules de Langerhans, le cancer anaplasique de la thyroïde et l'astrocytome à un stade avancé ou précoce. Cependant, les paniers du cancer du sein, des ovaires et des myélomes multiples ont été fermés, suite au nombre insuffisant de patients inclus dans l'étude. Les patients atteints de ces cancers ont donc été regroupés dans le panier des autres tumeurs mutées BRAF V600. L'étude a donc inclus 208 participants au total, de 16 ans et plus, atteints de cancers porteurs d'une mutation BRAF V600 et résistants au traitement standard, ou pour lesquels il n'existe pas de traitement standard ou curatif à l'exclusion du mélanome et du cancer papillaire de la thyroïde. L'objectif de l'étude était d'identifier des signaux d'activités prometteurs dans des types de tumeurs individuelles, qui pourraient par la suite, être explorés plus en détail lors d'autres études. Le critère principal de l'étude VE-BASKET était le meilleur taux de réponse (MTRO) confirmé à 8 semaines de traitement. Les résultats de l'étude ont démontré une bonne efficacité clinique du vémurafénib et une stabilisation prolongée de la maladie grâce à ce traitement dans plusieurs types de tumeurs, notamment dans le CBNPC avec un MTRO de 37,1%, ainsi que dans la maladie d'Erdheim-Chester et dans l'histiocytose avec un MTRO de 61,5%. Suite aux résultats de cet essai, la FDA a approuvé le vémurafénib pour le traitement des patients atteints de la maladie d'Erdheim-Chester muté BRAF V600 en novembre 2017. Il s'agit de la première approbation d'une thérapie ciblée basée sur une étude panier et la toute première thérapie approuvée pour la maladie de l'Erdheim-Chester qui est un trouble sanguin rare. En février 2017, le vémurafénib a obtenu la désignation de médicament orphelin pour ces patients en Europe, mais n'a pas encore été approuvé [410, 435, 436, 437, 438, 439, 440, 441].

c) *Etude CREATE NCT01524926*

L'étude CREATE est un essai de phase II européen multicentrique, évaluant l'efficacité et l'innocuité du crizotinib chez des patients présentant six types de tumeurs rares à un stade avancé ou métastatique et porteuses d'altérations spécifiques dans le gène *ALK* et/ou *MET*. Les six types de tumeurs rares étudiées sont le lymphome anaplasique à grandes cellules, la tumeur myélofibroblastique inflammatoire, le carcinome rénal papillaire de type 1, le sarcome alvéolaire des parties molles, le sarcome à cellules claires et le rhabdomyosarcome alvéolaire. L'essai CREATE, sponsorisé par l'Organisation Européenne pour la Recherche et les traitements du cancer (EORTC), a débuté en septembre 2012, et devrait se terminer en décembre 2018. Cet essai est dirigé par le professeur Patrick Schöffski, chef du département d'oncologie médicale à l'institut du cancer de Leuven en Belgique, et a inclus 582 patients âgés de 1 an et plus. Les résultats complets de cette étude sont en attente, mais certains résultats sont déjà publiés pour certaines maladies. Dans le sarcome à cellules claires muté *MET*, les résultats de l'étude CREATE ont montré une survie sans progression de 131 jours avec le crizotinib, ce qui est similaire aux résultats obtenus en première ligne dans les sarcomes des tissus mous métastatiques traités par de la doxorubicine en monothérapie. Dans le rhabdomyosarcome alvéolaire, l'étude a montré que le crizotinib était bien toléré par les patients mais qu'aucune activité clinique significative en tant qu'agent unique n'avait été observée. Dans les tumeurs myélofibroblastiques inflammatoires mutées *ALK*, les résultats de l'étude CREATE ont mis en évidence une réponse objective chez 50% des patients et un taux de contrôle de la maladie de 100%. Ainsi, le crizotinib a satisfait aux critères de jugement et peut être considéré comme la norme de traitement pour ces patients dont la maladie n'est pas traitable par chirurgie. Dans le carcinome à cellules rénales papillaires de type 1 muté *MET*, les résultats de l'étude ont observé une durée de traitement impressionnante chez les patients avec une moyenne de 17,3 cycles de traitement, une durée moyenne de traitement de 11,9 mois et une survie sans progression à 24 mois de 75%. Le crizotinib a donc démontré des réponses objectives significatives et un contrôle durable de la maladie chez les patients atteints d'un carcinome rénal papillaire métastatique de type 1. Une étude de plus grande envergure est nécessaire afin d'approuver le crizotinib dans cette indication, mais cette indication a une incidence tellement faible que cela risque d'être difficile à effectuer. De nouvelles méthodologies d'essais innovantes et de

nouveaux processus de régulations seront requis pour fournir aux patients atteints de cette maladie rare, les médicaments actifs comme le crizotinib [442, 443, 444, 445, 446, 447, 448].

d) Etude STARTRK-2 NCT02568267

L'étude STARTRK-2 est un essai de phase II mondial multicentrique, en ouvert, qui évalue l'innocuité et l'efficacité de l'entrectinib chez des patients présentant une tumeur solide avancée, contenant un réarrangement des gènes *NTRK1/2/3*, *ROS1* ou *ALK*. Les patients présentant un CBNPC ou un cancer colorectal métastatique sont les principales populations de patients d'intérêt, mais d'autres paniers recrutent des patients atteints d'autres tumeurs solides. L'étude sponsorisée par Hoffman-La Roche et promu par Ignyta a débuté en novembre 2015 et devrait se terminer en octobre 2020. L'étude devrait à terme, inclure 300 participants, tous majeurs. Tous les patients ayant eu des traitements antérieurs sont acceptés, à l'exception des patients ayant reçu précédemment des inhibiteurs de NTRK, de ROS1 ou de ALK. De plus, les patients atteints de CBNPC réarrangés *ALK* ou *ROS1* et qui avaient déjà été traités par crizotinib et dont la maladie a métastasé dans le SNC uniquement sont également éligibles à l'étude. Enfin, un panier « non évaluable » permet l'inscription des patients dont les fusions génétiques ne répondent pas à tous les critères d'inclusion ou d'exclusion. Les patients sont donc assignés à différents paniers en fonction de leur type de tumeur et de la fusion des gènes présente dans leur tumeur. L'objectif principal de l'étude est de déterminer le taux de réponse objective à 2 ans de l'entrectinib dans chaque panier de population de tumeurs solides, contenant soit un réarrangement *NTRK1/2/3*, soit *ROS1*, soit *ALK*. Les résultats intermédiaires de l'étude STARTRK-2 ont observé des réponses objectives chez 79% de patients. Les patients qui ont répondu à l'entrectinib avaient diverses tumeurs malignes : CBNPC, cancer colorectal métastatique, mélanome, tumeur stromale gastro-intestinale et carcinome sécrétoire analogue mammaire. Des réponses rapides et prolongées approchant les 2 ans et 3 mois ont notamment été observées dans le mois suivant le début du traitement chez 13 patients, dont 11 avaient un CBNPC réarrangé *ROS1*. Dans le sous-groupe de patients dans la tumeur présentait un réarrangement *ROS1*, 12 patients sur 14 ont répondu objectivement à l'entrectinib et 2 ont eu une réponse complète. Parmi ces 12 patients, 11 avaient un CBNPC et 1 avait un mélanome. Puis, 57% des patients dont la tumeur présentait un réarrangement *ALK* ont répondu à

l'entrectinib, et parmi eux, 5 patients sur 7 avaient un CBNPC. Enfin, 100% des patients avec un cancer réarrangé *NTRK* ont répondu à l'entrectinib, avec notamment des réponses exceptionnelles chez les patients avec un cancer du SNC. Les données de l'étude STARTRK-2 rassemblées avec les données des études ALKA-372-001 et STARTRK-1 ont été présentées lors de la 18^{ème} conférence sur le cancer du poumon à l'IASLC (International Association for the study of Lung Cancer) à Yokohama au Japon, et ont montré un taux de réponse objective de 78% chez les patients atteints de CBNPC muté *ROS1*, ainsi qu'une durée médiane de réponse de 28,6 mois et une survie sans progression de 29,6 mois. De plus, parmi les patients présentant un CBNPC, 11 avaient des métastases dans le SNC, et 83% de ces patients ont confirmé des réponses intracrâniennes à l'entrectinib. Sur la base de ces données prometteuses et convaincantes l'entrectinib pourrait être envisagé comme une option thérapeutique de premier ordre en tant que thérapie ciblée de première intention, chez les patients atteints de CBNPC réarrangé *ROS1*. En plus de ces données, l'entrectinib a démontré une activité clinique prometteuse dans les tumeurs solides réarrangées *NTRK*. C'est pourquoi, la société Ignyta est sur le point de soumettre l'entrectinib à la NDA (New Drug Application) en 2018, à la fois dans les cancers mutés *NTRK*, indépendamment de l'histologie, et pour les CBNPC mutés *ROS1*. Pour finir, des réponses cliniques ont également été confirmées chez 3 patients atteints de sarcomes des tissus mous traités par entrectinib durant l'étude STARTRK-2, avec des réductions tumorales allant de 30 à 68%. L'entrectinib peut donc constituer une option thérapeutique pour les patients atteints de sarcomes avec un réarrangement des gènes *NTRK*, *ROS1* ou *ALK*. Par conséquent, les résultats de l'étude suggèrent que tous les patients atteints de sarcomes devraient être profilés moléculairement pour pouvoir identifier ceux qui présentent ces types de réarrangements génétiques, et potentiellement bénéficier du traitement par l'entrectinib. En revanche, aucune réponse n'a été observée chez les patients précédemment traités par un inhibiteur de *ROS1* et d'*ALK* vis-à-vis de l'entrectinib [449, 450, 451, 452, 453, 454, 455, 456].

e) *Etude SUMMIT NCT01953926*

L'étude SUMMIT est un essai de phase II, multinational multicentrique, ouvert, et évaluant l'efficacité du nératinib en monothérapie ou en association avec d'autres traitements, chez les

patients atteints de tumeurs solides amplifiées par le gène *EGFR*, ou présentant des mutations activatrices dans *HER2* ou *HER3* ou *EGFR*. Cette étude sponsorisée par Puma Biotechnology, Inc. a débuté en septembre 2013, et devrait se terminer en mars 2022 en incluant au total 392 participants. L'étude SUMMIT a été mise en œuvre pour définir l'importance thérapeutique des mutations *HER2* et *HER3*, puisque ces mutations sont d'une diversité considérable et que générer des modèles précliniques recréant leur véritable biologie dans les cancers humains est un véritable défi. Des résultats préliminaires ont été publiés en juin 2017 et ont montré des réponses objectives au nératinib chez les patients atteints de cancers du sein mutés *HER2*, de CBNPC, de cancers du col de l'utérus, des voies biliaires et des glandes salivaires. Au total, 141 patients ont été inclus, dont 125 avec une tumeur mutée *HER2* et 16 avec une tumeur mutée *HER3*. Le nératinib a obtenu une plus grande réponse objective chez les patientes atteintes d'un cancer du sein muté *HER2* (n=25) avec un TRO de 32%. Chez les patients atteints de CBNPC (n=26), une seule réponse objective a été observée chez un patient présentant une mutation faux-sens L755S. Cela peut s'expliquer par le fait que les autres patients atteints d'un CBNPC avaient des insertions dans l'exon 20 de *HER2*, et que ces mutations sont analogues aux insertions d'*EGFR* dans l'exon 20 qui sont résistantes aux ITK anti-EGFR de première et deuxième génération. Le taux de réponse objective n'est donc pas atteint pour le nératinib dans ce groupe de patients, mais la survie sans progression étant de 5,5 mois, cela est comparable à la chimiothérapie de deuxième intention et aux inhibiteurs de points de contrôle immunitaire. Le nératinib pourrait donc avoir un effet positif sur les CBNPC mutés *HER2*. Des réponses ont également été observées chez les patients atteints de cancers des voies biliaires, du col de l'utérus et des glandes salivaires, mais ces 3 paniers sont encore en recrutement afin d'inclure plus de patients, et de mieux définir cette activité clinique. Dans les types de tumeurs sensibles au traitement par le nératinib, à l'exception du CBNPC, des réponses cliniques ont été observées pour tous les types et classes de mutations *HER2*. Enfin, aucune réponse n'a été observée chez les patients atteints de cancers de la vessie et du côlon indépendamment du type ou de la classe de la mutation, ce qui suggère une résistance intrinsèque au nératinib dépendante de la lignée tumorale. Malgré des données précliniques indiquant que les mutations de *HER3* pourraient être des facteurs oncogènes, aucune réponse au nératinib n'a été observée chez les patients porteurs de tumeurs mutées *HER3*. Le bénéfice clinique du nératinib semble donc varier en fonction du contexte mutationnel et de la localisation de la maladie. Bien que les chercheurs aient observé des réponses préliminaires au nératinib dans certains cancers, le taux de réponse objective reste inférieur à celui d'autres traitements qui ont été approuvés ciblant les altérations

moléculaires de l'EGFR, d'ALK, de ROS1 et de BRAF. Néanmoins, le ciblage des mutations activatrices de *HER2* dans d'autres contextes, a toujours nécessité une combinaison de traitements. Par exemple, dans le cancer amplifié par *HER2*, le trastuzumab en monothérapie a un taux de réponse dans seulement 32% des patients. Ce taux de réponse est nettement amélioré en ajoutant le trastuzumab à une chimiothérapie car le taux de réponse passe à 50% [457]. C'est pourquoi, l'étude SUMMIT a dû modifier son protocole, afin de combiner le nératinib avec une autre thérapie ciblant *HER2*. Les résultats de l'étude complète sont en attente [458, 459].

f) Etude KEYNOTE-028 NCT02054806

L'étude KEYNOTE-028 est un essai de phase IB, qui évalue l'efficacité et l'innocuité du pembrolizumab sur des patients atteints de tumeurs solides métastatiques ou localement avancées, positives au PD-L1, incurables par les traitements actuels ou pour lesquelles les traitements standards ne sont pas appropriés. Cette étude sponsorisée par Merck Sharp and Dohme Corp. qui a débuté en février 2014 et devrait se terminer en août 2019, a inclus 477 patients tous majeurs, répartis-en 20 paniers. Des résultats sont publiés pour 14 d'entre eux. Les résultats de l'étude ont démontré une activité antitumorale prometteuse et encourageante dans plusieurs types de cancers et pour lesquels il faudrait effectuer d'autres études plus poussées. Les types de tumeurs chez lesquelles le pembrolizumab a eu une réponse clinique sont l'adénocarcinome prostatique avancé (n=23, TRO=34,8%), le cancer de l'endomètre avancé (n=24, TRO=12,5%, avec une durée médiane de réponse DMR=24,6 mois), le cancer du sein ER+/HER2- (n=25, TRO=12%, DMR=12 mois), le carcinome des glandes salivaires non résecable (n=26, TRO=12%, DMR=4 mois), le cancer du col utérin (n=24, TRO=17%, DMR=5,7 mois), le carcinome œsophagien (n=23, TRO=30%, DMR=15 mois), le CBPC (n=24, TRO=33%), le carcinome nasopharyngé (n=27, TRO=25,9%), le carcinome anal épidermoïde (n=24, TRO=17% et taux de contrôle de la maladie TCM=58%), le mésothéliome pleural malin, (n=25, TRO=20%, DMR=12 mois), le glioblastome multiforme, (n=26, TRO=48%), le cancer des ovaires (n=26, TRO=11,5%), les tumeurs neuroendocrines du pancréas (n=16, TRO=6%, DMR=17,6 mois, TCM=88%), les tumeurs carcinoïdes (n=25, TRO=12%, TCM=60%), et enfin, le cancer des voies biliaires avancées (n=24, TRO=17%). En revanche, pour les patients atteints de cancer colorectal avancé, sur 23 patients, 1 seul a présenté

une réponse partielle et 15 ont présenté une maladie évolutive. Le seul patient qui a répondu au pembrolizumab avait un cancer colorectal avec un statut d'instabilité des microsatellites élevé (MSI-H), ce qui justifie une évaluation plus poussée du pembrolizumab dans cette population de patients. Plusieurs autres études KEYNOTES (-016, -164, -158) ont donc évalué le pembrolizumab, soit chez des patients atteints de tumeurs solides MSI-H (étude panier KEYNOTE-158), soit chez des patients atteints d'un cancer colorectal avancé MSI-H (KEYNOTE-164), soit les deux (étude panier KEYNOTE-016). Les résultats de ces quatre études et ceux de l'étude KEYNOTE-012 qui évaluent le pembrolizumab dans certaines tumeurs solides avancées PD-L1 positives, ont montré un TRO de 39,6% chez les 149 patients enrôlés, avec notamment 11 réponses complètes. Pour 78% de ces patients, la réponse au pembrolizumab a duré 6 mois ou plus. Les résultats de ces cinq études ont permis de faire approuver le pembrolizumab par la FDA en mai 2017, pour le traitement des patients adultes et pédiatriques présentant une tumeur solide non résecable ou métastatique, soit avec une instabilité microsatellitaire élevée (MSI-H), soit déficiente en Mismatch Repair (dMMR), progressant après un traitement antérieur et qui n'ont pas d'autres options de traitement satisfaisantes ; ou avec un cancer colorectal MSI-H ou dMMR progressant après un traitement avec la fluoropyrimidine, l'oxaliplatine et l'irinotécan. Il s'agit de la première fois que la FDA approuve une thérapie contre le cancer basée sur un biomarqueur plutôt que sur la localisation histologique tumorale, et la première fois qu'une étude panier permet l'approbation d'une thérapie de façon agnostique [460, 461, 462, 463, 464, 465, 466, 467, 468, 469, 470, 471, 472, 473, 474, 475, 476].

2. Essais paniers aux Etats-Unis

Aux Etats-Unis, plusieurs essais paniers ont également lieu, comme le programme SIGNATURE, l'essai NAVIGATE ainsi que les essais VE-BASKET, STARTRK-2, SUMMIT et KEYNOTE-028 précédemment cités.

a) *Etude SIGNATURE*

Le programme SIGNATURE se compose de huit études paniers qui évaluent chacune une thérapie ciblée dans plusieurs types de tumeurs solides et dans des hémopathies malignes.

Agent	Target	Mutations Required	Tumor Types Excluded	ClinicalTrials.gov ID
Buparlisib (BKM120)	Pan-PI3K	<i>PIK3CA</i> mutation/amplification, <i>PTEN</i> mutation/loss, or <i>PIK3R1</i> mutation	Endometrial, glioblastoma, NSCLC, prostate, breast	NCT01833169
Dovitinib (TKI258)	Various RTKs	<i>FGFR1-3</i> , <i>FLT3</i> , or <i>c-KIT</i> mutation/amplification or <i>PDGFRα/β</i> , <i>VEGFR1-2</i> , <i>RET</i> , <i>TrkA (NTRK1)</i> , or <i>CSF-1R</i> mutation	Multiple myeloma, urothelial, AML (FLT3+), hepatocellular, endometrial, renal cell, breast (metastatic), squamous NSCLC	NCT01831726
Binimetinib (MEK162) ^a	MEK (RAS pathway)	<i>RAS</i> , <i>RAF</i> , <i>MEK1/MEK2</i> , or <i>NF1</i>	Pancreatic, biliary, colorectal, ovarian (low-grade serous), melanoma	NCT01885195
Encorafenib (LGX818) ^a	BRAF	<i>BRAF</i> V600E	Melanoma, colorectal, primary CNS	NCT01981187
Sonidegib (LDE225) ^b	SMO (hedgehog pathway)	<i>PTCH1</i> or <i>SMO</i>	Basal cell, pancreatic, medulloblastoma/primary CNS, CML, ALL, AML	NCT02002689
BGJ398	FGFR	<i>FGFR</i> mutation/amplification/fusion, translocation, or ligand amplification	Urothelial, cholangiocarcinoma, glioblastoma multiforme	NCT02160041
Ceritinib (LDK378) ^f	ALK/ROS1	<i>ALK/ROS1</i> mutation/amplification/translocation/rearrangement	ALK+ NSCLC	NCT02186821
Ribociclib (LEE011) ^d	CDK4/6	<i>CDK4/6</i> mutation/amplification, <i>cyclin D1/D3</i> amplification, or <i>p16</i> mutation/loss	ER+ breast, mantle cell lymphoma, teratoma, liposarcoma, castration-resistant prostate, melanoma	NCT02187783

Abbreviations: ALK, anaplastic lymphoma kinase; ALL, acute lymphocytic leukemia; AML, acute myeloid leukemia; CDK, cyclin-dependent kinase; CML, chronic myeloid leukemia; CNS, central nervous system; CSF-1R, colony-stimulating factor 1 receptor; ER, estrogen receptor; FGFR, fibroblast growth factor receptor; FLT3, fms-related tyrosine kinase 3; MEK, mitogen-activated protein kinase/extracellular signal-regulated kinase kinase; NF1, neurofibromatosis type 1; NSCLC, non-small cell lung cancer; NTRK1, neurotrophic tyrosine kinase receptor type 1; PDGFR, platelet-derived growth factor receptor; PI3K, phosphatidylinositol 3-kinase; PIK3CA, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate 3-kinase catalytic subunit α ; PIK3R1, phosphatidylinositol 3-kinase regulatory subunit polypeptide 1; PTCH1, patched 1; PTEN, phosphatase and tensin homolog; RTK, receptor tyrosine kinase; SMO, smoothened; TrkA, tropomyosin receptor kinase A; VEGFR, vascular endothelial growth factor receptor.

Figure 35. Les 8 essais paniers du programme SIGNATURE [477].

Le programme SIGNATURE sponsorisé par Novartis Pharmaceuticals, a été lancé en mars 2013, et les données ont été arrêtées en décembre 2017 pour toutes les études, sauf pour celle sur le binimétinib qui s'est arrêtée en octobre 2015. Le programme a recruté au total 595 patients sur 192 sites aux Etats-Unis. Pour être inclus, les patients devaient avoir 18 ans et plus, être

atteints d'une maladie métastatique ou localement avancée dont la tumeur avait la mutation à l'étude, et pour laquelle aucune option thérapeutique standard ne devait entraîner une rémission durable. Ils devaient également avoir reçu au moins un traitement antérieur. Le programme SIGNATURE avait quatre objectifs principaux : tout d'abord, faire correspondre rapidement chaque patient à un traitement ciblant les anomalies moléculaires présentes dans sa tumeur ; puis déterminer le potentiel clinique des agents ciblés ainsi que leur mécanisme d'action sur les cibles dans un panel de cancers ; développer une meilleure compréhension de la biologie sous-jacente de chaque patient ; mais aussi, développer une plateforme capable d'accélérer le développement clinique, en se concentrant sur les nouveaux agents ciblés qui ont les meilleurs signaux d'efficacité dans certaines indications, afin d'envisager ultérieurement des essais cliniques pour tester ces agents dans chaque histologie de cancer concernée par ces signaux d'efficacité. Durant le programme SIGNATURE, les cancers les plus fréquemment retrouvés étaient les cancers colorectaux, les CBNPC, les cancers des ovaires, les sarcomes, les carcinomes de la tête et du cou ainsi que les cancers de l'utérus. Mais des patients atteints de cancers rares comme les cancers de la vésicule biliaire, le mésothéliome, les cancers anaux, vaginaux, des cellules germinales ou encore du thymus et du pénis ont également été inclus. Durant le programme, des paniers de types de cancers ont été formés pour toutes les thérapies ciblées sauf le sonidegib, puisque seulement 10 patients ont été recrutés sur une période de 11 mois. De plus, 4 de ces paniers ont été fermés suite au nombre insuffisant de patients (moins de 10 patients recrutés en 16 semaines). Les résultats des différentes études montrent un taux de bénéfice clinique de 17% avec 30 réponses partielles ou complètes, observées avec 6 des 8 molécules étudiées, dans 16 des 29 types de tumeurs. Ces résultats sont encourageants puisque des réponses ont même été observées chez des patients qui avaient épuisé les options thérapeutiques à leur disposition. La limitation la plus importante de l'étude SIGNATURE était une efficacité et une durée de réponse limitées à cause d'un traitement par thérapie ciblée unique. C'est pourquoi, le programme SIGNATURE a choisi de surmonter cette difficulté en combinant plusieurs thérapies ciblées dirigées contre des molécules différentes dans les voies de signalisation ou alors, avec une chimiothérapie synergique. Par exemple, l'étude CPDR001XUS01 (NCT03365791) est une étude de phase II, débutée en janvier 2018, et qui évalue l'efficacité et l'innocuité d'une combinaison de deux immunothérapies, un anti-PD-1, le spartalizumab et un anti-LAG-3, LAG525, sur plusieurs types de tumeurs récidivantes et ou réfractaires aux traitements standards. Les résultats des études de combinaison du programme SIGNATURE ne sont pas encore disponibles [477, 478, 479, 480].

b) *Etude NAVIGATE NCT02637687*

L'étude NAVIGATE est un essai de phase II multicentrique, ouvert, qui évalue l'innocuité et l'efficacité du larotrectinib chez des patients adultes et adolescents atteints de tumeurs solides avancées, et présentant une fusion du gène *NTRK1*, *NTRK2* ou *NTRK3*. L'étude NAVIGATE, sponsorisée par Loxo Oncology et Bayer et dirigée par le directeur médical à Dava Oncology aux Etats-Unis, Nora Ku, a débuté en octobre 2015 et prévoit de se terminer en décembre 2019. Cette étude comprend 9 paniers d'histologies différentes comme le CBNPC, le cancer thyroïdien, le sarcome, le cancer colorectal, le cancer des glandes salivaires, le cancer biliaire et les tumeurs primitives du SNC. Le huitième panier inclut des patients avec une autre histologie que celles indiquées auparavant, et un neuvième panier comprend les patients qui répondent aux critères des paniers 1 à 8 mais dont la fusion dans le gène *NTRK* a été documentée par un laboratoire dont la certification n'a pas été confirmée par le sponsor. L'étude NAVIGATE fait partie d'un programme de développement qui comprend deux autres études, une étude de phase I impliquant des adultes, et une étude de phase I/II impliquant des enfants. Les résultats de ces trois études ont été regroupés et ont démontré une efficacité significative du larotrectinib avec une activité antitumorale marquée et durable dans tous les types de tumeurs avec une fusion *NTRK*, peu importe la localisation et l'âge. Les résultats ont analysé les 55 premiers patients inscrits de ces trois études, allant de 4 mois à 76 ans, avec 17 histologies tumorales différentes. Les différentes histologies les plus représentées étaient le carcinome sécrétoire analogue mammaire de la glande salivaire, le fibrosarcome infantile, le cancer de la thyroïde et du côlon, le mélanome et les tumeurs stromales-gastrointestinales. Le TRO des patients était de 75%, avec 13% de réponses complètes, 62% de réponses partielles et 13% de maladies stables. A un an, 71% des patients avaient des réponses continues et 55% n'avaient pas de progression de leur maladie. Chez 10 patients qui ont progressé après une réponse initiale pendant au moins 6 mois, neuf mutations résistantes ont été identifiées dans les gènes *NTRK1* et *NTRK3*. Des inhibiteurs de *NTRK* sont déjà en développement afin de surmonter ces résistances acquises déjà connues. Grâce aux résultats de l'étude NAVIGATE et des deux autres études du programme, la société Loxo Oncology a présenté en décembre 2017, une demande d'autorisation pour le larotectinib. Le 29 mai 2018, la FDA a donc accepté la demande de NDA et accordé une évaluation prioritaire pour le larotrectinib dans le traitement des patients adultes et pédiatriques atteints de tumeurs solides localement avancées ou métastatiques, présentant une fusion des gènes *NTRK*. Bayer a ensuite demandé une AMM pour le larotrectinib dans

l'union européenne qui est attendue pour 2018. L'essai NAVIGATE est donc un exemple convaincant de l'efficacité des essais paniers, puisqu'il ouvre la voie à des traitements efficaces pour les patients atteints de tumeurs rares et présentant des mutations qui sont tout aussi rares [481, 482, 483, 484].

3. Conceptions plus complexes des essais paniers

La conception de base des essais paniers évaluent une seule molécule ciblant une ou plusieurs altérations moléculaires dans plusieurs types histologiques de tumeurs. Afin de rendre les essais paniers encore plus efficaces et plus rapides, les chercheurs ont combiné le design des essais paniers avec celui des essais parapluies. Plusieurs noms sont retrouvés dans la littérature pour nommer ce design d'essais plus complexes, notamment « essais hybrides », « super umbrella basket trials », « essais paniers multi-drogues ». Il s'agit donc d'essais cliniques qui étudient plusieurs traitements qui ciblent plusieurs altérations moléculaires dans plusieurs histologies tumorales. On peut citer plusieurs exemples de ce genre d'essais, comme les essais TAPUR, MyPathway, Acsé ESMART, et NCI-MATCH. Tous ces essais sont des essais de phase II non randomisés, mais il existe également une autre conception d'essais paniers : les essais paniers multidrogues randomisés. Il s'agit d'essais paniers dimensionnés comme des essais de phase III et la randomisation consiste pour les patients à recevoir soit une thérapie qui cible une mutation dans leur tumeur, soit une thérapie contrôle. La randomisation rend alors possible l'utilisation de la survie sans progression comme critère principal de jugement plutôt que le taux de réponse objective. Les essais SHIVA et NCI-MPACT sont deux exemples de cette conception d'essai [485].

4. Avantages et inconvénients des essais paniers

Les essais paniers présentent plusieurs avantages intéressants pour les patients, les chercheurs en charge des études cliniques et les compagnies pharmaceutiques. Pour les patients, les essais paniers leur épargnent une exposition aux traitements inutiles dans le cas où ce traitement est inefficace. Les essais paniers ouvrent également la voie aux essais cliniques aux patients atteints

de cancers rares. Ces patients souvent trop peu nombreux, sont sous-représentés dans les essais cliniques traditionnels en raison de plusieurs contraintes : des contraintes de coûts des compagnies pharmaceutiques, et du grand nombre de patients nécessaires pour obtenir des résultats suffisamment significatifs et puissants. Les patients atteints de cancers rares ont juste besoin de présenter la mutation à l'étude pour pouvoir s'inscrire dans les essais paniers. Ainsi, les essais paniers démocratisent l'accès à la thérapie ciblée pour ces patients. De plus, les essais paniers offrent la possibilité aux patients d'obtenir de meilleurs résultats et une expérience de traitement facile. En effet, tous les participants à l'essai reçoivent le nouveau traitement car les essais paniers n'exigent pas de groupe contrôle recevant le traitement standard. Enfin, les essais paniers augmentent de façon considérable les chances d'identifier la population de patients susceptibles de bénéficier du nouveau traitement et ainsi, augmentent le nombre de patients admissibles à recevoir les traitements ciblés. En ce qui concernent les avantages des essais paniers pour les chercheurs, ils sont de plusieurs types. Ils permettent d'abord de fusionner la conception des essais cliniques traditionnels avec des données de génomiques qui évoluent rapidement, facilitant la classification moléculaire des cancers. Ils sont également un moyen pour les chercheurs de dépister et filtrer de multiples thérapies ciblées dans de nombreuses populations de patients. Les essais paniers fournissent aussi une justification solide afin de coupler une thérapie ciblée avec un biomarqueur validé dans un cancer spécifique. D'ailleurs, ils peuvent également être utilisés pour développer un biomarqueur prédictif de réponse. Les essais paniers améliorent et facilitent l'organisation des essais cliniques pour les chercheurs car ils nécessitent peu de patients, vont beaucoup plus vite, et la nécessité de reproduire les essais pour chaque type de cancer est atténuée. Enfin, les essais paniers sont un moyen efficace pour les chercheurs de générer une masse de données d'efficacité clinique, dans un panel large de types de cancers, traités avec une thérapie ciblant des altérations moléculaires. Pour finir, les compagnies pharmaceutiques ne sont pas en reste puisque les essais paniers leur offrent la possibilité d'élargir les indications de prescription de leurs thérapies ciblées dans d'autres localisations tumorales, et leur évitent de prendre des risques commerciaux pour mettre en place des essais cliniques pour les patients atteints de cancers rares [262, 306, 392, 408, 417, 486, 487, 488, 489, 490].

Mais les essais paniers posent également des problèmes de logistique et des défis doivent encore être surmontés. En effet, les essais paniers nécessitent un haut niveau de collaboration et impliquent toutes les parties prenantes, que ce soient les cliniciens, les biostatisticiens, les chefs

de projets, les informaticiens et les fournisseurs de médicaments. Cela rend les essais paniers difficiles à organiser, et demande plus de temps pour les planifier. De plus, les informaticiens doivent organiser la prise fréquente de masses de données avec d'importants flux d'informations. L'interprétation complète de toutes ces données génomiques représente également un défi surmontable grâce aux algorithmes informatiques qui permettent une analyse astucieuse et rigoureuse. De plus, le recrutement des patients éligibles à un essai panier peut être un problème majeur. En effet, les mutations génétiques peuvent être si rares, qu'il est souvent nécessaire d'ouvrir un grand nombre de centres de dépistage pour trouver suffisamment de patients pour effectuer ces études, et cela représente un certain coût non négligeable. L'absence de groupe contrôle dans les essais paniers peut également poser problème en ce qui concerne la puissance des résultats, puisque pour s'assurer que l'activité d'une thérapie ciblée dans un sous-type tumoral ne soit pas le fruit du hasard, il faut que l'effet soit énorme et incontestable. La conception statistique en deux étapes de Simon utilisée pour les essais paniers présente également plusieurs inconvénients. Notamment, le fait de considérer une étude panier comme une série d'études indépendantes, menées en parallèle, est à l'origine de taux de faux positifs plus élevé que dans les essais cliniques classiques, et peut amener le directeur d'étude à conclure de manière incorrecte qu'une thérapie présente une activité antitumorale dans un panier. De plus, cette conception statistique ne prend pas en considération l'interrelation qui peut exister entre les différents paniers, puisqu'ils sont tous évalués de manière indépendante. En effet, une thérapie ciblée qui est clairement efficace sur un panier augmenterait nos attentes quant à son efficacité dans d'autres paniers. Cette interrelation pourrait être mise à profit lors de la conception de l'essai. Enfin, se pose la question de comment procéder, lorsque certains patients présentent plusieurs mutations en même temps, ou lorsqu'une mutation se transforme et évolue en une autre mutation [18, 404, 414, 491].

IV. Conclusion et perspectives

Les progrès technologiques et notamment le séquençage à haut débit, a rendu possible aujourd'hui, la recherche simultanée au cours d'une seule analyse, de plusieurs anomalies moléculaires dans plusieurs gènes présentes dans la tumeur des patients. Ce grand pas technologique permet, en analysant un plus grand nombre de gènes, d'augmenter les chances

pour le patient de découvrir une anomalie potentiellement ciblable par une thérapie d'oncologie de précision. Dans un futur très proche, il sera possible d'analyser la séquence complète des tumeurs des patients, générant ainsi un très grand nombre de données. Ces milliards de données pourront être stockées dans des banques de données tumorales au service de la recherche à l'instar d'un Google du génome. Ces banques de données permettront de constituer des cartographies moléculaires complètes des tumeurs des patients, et aideront les médecins à choisir les traitements les plus adaptés aux patients. C'est dans cette voie que se dirige la médecine personnalisée. Les essais paniers ne sont qu'un élément de ce grand concept ambitieux, mais ils sont importants et nécessaires pour continuer à progresser vers une oncologie encore plus précise. Jusqu'à aujourd'hui, les essais paniers étaient des études exploratoires de phase précoce, non-randomisées, utilisées pour évaluer à court terme les indications potentielles d'une thérapie de précision. Ces indications potentielles seraient par la suite évaluées dans des études plus importantes et plus spécifiques en termes de localisation tumorale et d'altérations moléculaires. Mais plusieurs études paniers ont montré qu'elles pouvaient être à l'origine de l'approbation réglementaire de nouvelles thérapies, ou de nouvelles indications thérapeutiques, lorsque ces thérapies sont déjà approuvées pour une ou plusieurs indications. En effet, les études paniers Acsé Crizotinib et VE-BASKET ont contribué respectivement à l'extension d'indication du crizotinib dans les CBNPC mutés *ROS1* et du vémurafénib pour le traitement des patients atteints de la maladie d'Erdheim-Chester mutée *BRAF V600*. Il s'agit des premières approbations réglementaires d'extension d'indication de thérapies de précision, basées sur des études paniers en France et aux Etats-Unis. De plus, l'étude panier KEYNOTE-158, a permis l'approbation en mai 2017 du pembrolizumab, chez les patients adultes et pédiatriques atteints de tumeurs solides avancées ou métastatiques, soit avec une instabilité des microsatellites élevée, soit déficients en MMR. Il s'agit de la première fois que la FDA approuve une thérapie de façon agnostique et basée sur une étude panier. Cette décision marquante montre le rôle croissant que les études paniers peuvent avoir, et renforce l'impact potentiel de cette nouvelle approche d'essais cliniques. L'étude NAVIGATE est également un exemple convaincant de l'efficacité des essais paniers puisque grâce à ses résultats, le larotrectinib est en passe de devenir la première nouvelle thérapie approuvée par la FDA sur la base d'une étude panier. Elle est actuellement examinée par la FDA pour le traitement de tumeurs solides avancées présentant une fusion des gènes *NTRK*, indépendamment de l'origine ou de l'histologie tumorale. Bayer a également fait une demande d'AMM dans l'Union Européenne attendue pour 2018. Enfin grâce aux résultats de l'étude

panier STARTRK-2, la société de biotechnologie Ignyta est sur le point de soumettre l'entrectinib à la NDA, à la fois pour le cancer muté *NTRK*, indépendamment de l'histologie, et pour les CBNPC mutés *ROS1*. Les études paniers ouvrent donc la voie à des traitements efficaces pour les patients atteints de cancers rares, présentant des mutations toutes aussi rares. Un autre défi se dessine alors, celui d'amener les patients à effectuer des tests de diagnostic moléculaire pour identifier la mutation génétique pour laquelle les nouvelles thérapies sont approuvées. Cela est d'autant plus difficile si la mutation est rare et non analysée dans les tests de diagnostic moléculaire couramment utilisés. A l'avenir, les études paniers seront plus nuancées avec des traitements combinés en fonction des multiples mutations présentes dans la tumeur des patients ; mais également avec la randomisation dans des bras expérimentaux, entraînée par l'absence ou la présence d'une mutation modificatrice en plus d'une mutation pilote commune. Les concepteurs des études paniers devront également prendre en compte la complexité de la contextualisation des mutations. En effet, l'étude SUMMIT a bien mis en évidence que la réponse à une thérapie ciblée dépendait des mutations mais également du type de tumeur dans lequel ces mutations sont retrouvées. Les bénéfices d'une thérapie de précision sont conditionnés par une multitude de facteurs qui doivent être considérés dans ces études. Enfin, les études paniers devront avoir une meilleure conception statistique pour prendre en compte l'interrelation entre les différents paniers et pour obtenir moins de faux positifs afin de garantir des données plus fiables, d'autant plus que ces études commencent à être utilisées pour appuyer des approbations réglementaires. Si tous ces points sont améliorés, les essais paniers continueront à fournir un moyen précieux de relier le paysage génomique en pleine effervescence de la médecine personnalisée, aux nouvelles stratégies thérapeutiques d'oncologie de précision.

LISTE DES ABREVIATIONS

BCR-ABL	Breakpoint Cluster Region-Abelson Murine Leukemia
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ADN	Acide désoxyribonucléique
MYC	Myelocytomatosis viral oncogen homolog
BRCA1/2	Breast Cancer 1/2
APC	Adenomatous Polyposis Coli
TP53	Tumor Protein 53
SNP	Single Nucleotid Polymorphism
A, C, G, T	Adénine, Cytosine, Guanine, Thymine
CNV	Copy Number Variation
TNM	Tumor Nodes Metastasis
FDA	Food and Drug Administration
EMA	European Medicines Agency
UE	Union Européenne
NIH	National Institute of Health
ARN	Acide Ribonucléique
INCa	Institut National du Cancer
NGS	Next-Generation Sequencing
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
CBPC	Cancer Bronchique à Petites Cellules
CBNPC	Cancer Bronchique non à Petites Cellules
CLIP ²	Centres Labellisés INCa de Phase Précoce
FFIP	Fonds de Financement de l'Innovation Pharmaceutique
ATU	Autorisation Temporaire d'Utilisation
NCI	National Cancer Institute
MPACT	Molecular Profiling Based Assignment of Cancer Therapy

MATCH	Molecular Analysis of Therapy Choice
ONC	Office of the National Coordinator for health information
R&D	Recherche et Développement
ADNtc	Acide désoxyribonucléique tumoral circulant
ADNcf	Acide désoxyribonucléique sans cellule
CTC	Cellule tumorale circulante
ddPCR	Digital droplet polymerase chain reaction
GIST	Gastrointestinal
BRAF	B-Raf proto-oncogene serine-threonine protein kinase
HER2	Human Epidermal growth factor Receptor 2
KRAS/NRAS/HRAS	Kirsten/Neuroblastoma/Harvey rat sarcoma viral oncogene homolog
BCR	Breakpoint Cluster Region
ABL	Abelson Murin
KIT	KIT Proto-oncogene receptor tyrosine kinase
PDGFRA	Platelet Derived Growth Factor Receptor Alpha
ALK	Anaplastic Lymphoma Kinase
ROS1	ROS Proto-oncogene 1, receptor tyrosine kinase
PI3KCA	Phosphatidylinositol 3-kinase, catalytic subunit alpha
MGMT	O-6-Methylguanine-DNA Methyltransferase
RANKL	Receptor Activator of Nuclear factor Kappa-B Ligand
SLAMF7	SLAM Family member 7
IDH1/2	Isocitrate Dehydrogenase 1/2
BCL-2	B-cell Lymphoma 2
GD2	Ganglioside 2
HDAC	Histone Desacetylase

90-Y	Yttrium-90
BM	Biomarqueur
PARP	Poly (ADP-ribose) polymerase
m-TOR	Mamalian Target Of Rapamycin
ITK	Inhibiteur Tyrosine Kinase
VEGF	Vascular Endothelial Growth Factor
VEGFR	Vascular Endothelial Growth Factor Receptor
CD	Cluster of Differentiation
CAR	Chimeric Antigen Receptor
CTLA-4	Cytotoxic T-Lymphocyte Associated Protein 4
PD-1	Programmed cell Death-1
PD-L1	Programmed Death-Ligand 1
TDM-1	Trastuzumab emtansin
LLC	Leucémie Lymphoïde Chronique
LLA	Leucémie Lymphoblastique Aigüe
M-bcr	Major-breakpoint cluster region
m-bcr	Minor-breakpoint cluster region
AKT	AKT Serine/Threonine Kinase
JAK	Janus Kinase
STAT	Signal Transducer and Activator of Transcription
RAS	Rat Sarcoma
GRB2	Growth Factor Receptor Bound Protein 2
SOS	Son Of Sevenless
MAPK	Mitogen-Activated Protein Kinase
MEK	MEiotic Kinase
ERK	Extracellular Signal-Regulated Kinase
CRKL	CRK Like Proto-Oncogene, Adaptor Protein
PIP2/3	Phosphatidylinositol (4,5)-bi (tri)sphosphate
MDM2	Mouse double minute 2 homolog

GEF	Guanine nucleotid Exchange Factor
IKK	I κ B kinase
IKB α	Nuclear Factor of Kappa light polypeptide gene Enhancer In B-Cells Inhibitor, Alpha
NF κ B	Nuclear Factor Kappa-light-chain-enhancer of activated B cells
BAD	BCL2 Associated Agonist Of Cell Death
GAB2	GRB2 Associated Binding Protein 2
ATP	Adénosine triphosphate
GRAAPH	Group for Research on Adult Acute Lymphoblastic Leukemia Ph+
FISH	Fluorescence in situ hybridization
RT-PCR	Reverse transcription polymerase chain reaction
ErbB	Erythroblastosis oncogen B
kDa	Kilo Daltons
EGF	Epidermal Growth Factor
TGF	Transforming Growth Factor
TM	Transmembranaire
TK	Tyrosine Kinase
G1	Gap 1
ADCC	Antibody-Dependent Cell-mediated Cytotoxicity
IgG1	Immunoglobuline G1
SG	Survie Globale
SSP	Survie Sans Progression
TRO	Taux de Réponse Objective
FOLFOX	Folinic acid, Fluorouracil (5FU), Oxaliplatin
NCIC	National Cancer Institute of Canada
MTS	Meilleur traitement symptomatique
FOLFIRI	Folinic acid, fluorouracil (5FU), Irinotecan
GTP	Guanosine Triphosphate

ISEL	IRESSA Survival Evaluation in Lung cancer
IPASS	Iressa Pan-Asia Study
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des Produits de Santé
DMT	Dose Maximale Tolérée
ARC	Association pour la Recherche sur le Cancer
ASCO	American Society of Clinical Oncology
GRIP	Gustave Roussy Immunotherapy Program
MTRO	Meilleur Taux de Réponse Objective
EORTC	European Organisation for Research and Treatment of Cancer
NTRK	Neurotrophic tyrosine kinase
IASLC	International Association for the study of Lung Cancer
NDA	New Drug Application
DMR	Durée Médiane de Réponse
ER	Estrogen Receptor
TCM	Taux de Contrôle de la Maladie
LAG	Lymphocyte Activation Gene
dMMR	Deficient Mismatch Repair
MSI-H	Microsatellite Instability-High

BIBLIOGRAPHIE

- [1] Emmanuel Grillot. Etude de marché sur les Biomarqueurs – Définition des critères des industriels pour le développement d'un biomarqueur. 1 juillet 2015. « DetConcultants.com »
- [2] Alain Perez. Les révolutions de la recherche sur le cancer. Fondation ARC pour la recherche sur le cancer.
- [3] Nicolas Pottier. Pharmacogénomique des anticancéreux. Exemples de la Bléomycine et du Methotrexate. Sciences du Vivant. Université du Droit et de la Santé - Lille II, 2010.
- [4] Hanahan et al. Hallmarks of Cancer: The Next Generation. Volume 144, ISSUE 5, P646-674, March 04, 2011. DOI:<https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- [5] « <http://www.danafarberbostonchildrens.org/innovative-approaches/precision-medicine.aspx> »
- [6] Maxime Ulysse Garcia. Découverte de biomarqueurs prédictifs en cancer du sein par Intégration Transcriptome-Interactome. Aix-Marseille Université. 18 octobre 2013.
- [7] Zhu W. et al. (2012). Detection of single nucleotide polymorphisms by PCR conformation-difference gel electrophoresis. J. of Biotech. Let.; vol. 35: 515-522.
- [8]
« <https://www.genome.gov/pages/hyperion/dir/vip/glossary/illustration/duplication.shtml/> »
- [9] « <https://www.genome.gov/> »
- [10] Apostolia-Maria Tsimberidou. Initiative for Molecular Profiling and Advanced Cancer Therapy and Challenges in Implementation of Precision Medicine. Personalized Medicine in a Phase 1 Clinical Trials Program. Current Problems in Cancer.
« <http://dx.doi.org/10.1016/j.currproblcancer.2017.02.002> »
- [11] Guide ESMO à l'usage des patients. ESMO Médecine personnalisée.
- [12] Laure-Estelle Cassagnes. La médecine personnalisée appliquée à l'efficacité et à la sécurité des médicaments. Université de Limoges. 17 octobre 2012.

- [13] Donna Williams. Médecine de précision : Concrétiser la vision des résultats personnalisés en santé. Un modèle de médecine de précision. Janssen.
« <https://www.janssen.com/fr/precision-medicine-janssen-diagnostics/overview> »
- [14] Plan cancer 2014-2019. Février 2015. « <http://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Plan-Cancer-2014-2019> »
- [15] Quatrième rapport au président de la république. Février 2018. « <http://www.e-cancer.fr/Expertises-et-publications/Catalogue-des-publications/Quatrieme-rapport-au-president-de-la-Republique-Fevrier-2018> »
- [16] « <http://www.horizon2020.gouv.fr/cid73300/comprendre-horizon-2020.html> »
- [17] « <https://obamawhitehouse.archives.gov/the-press-office/2015/01/30/fact-sheet-president-obama-s-precision-medicine-initiative> »
- [18] Geraldine O’Sullivan Coyne et al. Defining precision : The precision medicine initiative TRIALS NCI-MPACT and NCI-MATCH. Current Problems in Cancer.
« <http://dx.doi.org/10.1016/j.currprobcancer.2017.02.001> »
- [19] Barbara Sadick. Basket Cases: Changing the Way Cancer Is Treated. Cure. 15 avril 2016.
- [20] Francis S. Collins, M.D., Ph.D., and Harold Varmus, M.D. A New Initiative on Precision Medicine. N Engl J Med. 2015 Feb 26;372(9):793-5. doi: 10.1056/NEJMp1500523.
- [21] « <https://www.fondation-arc.org/actualites/medecine-personnalisee-et-therapies-de-precision-definitions> »
- [22] « <https://www.cinj.org/precision-medicine> »
- [23] Institut Curie. La médecine personnalisée, espoir de lutte contre le cancer. Note de presse. Mars 2012.
- [24] « <https://siric-brio.com/axes-strategiques/medecine-personnalisee/> »
- [25] Dr MF Mamzer MD, PhD. Les nouveaux enjeux éthiques de la médecine prédictive et personnalisée. 8 juin 2012.
- [26] Xavier Guchet. « Le patient « actionnable » de la médecine personnalisée », Socio-anthropologie, 29 / 2014, 37-51.

- [27] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Quels-traitements-pour-quels-patients/Biomarqueurs-les-enjeux> »
- [28] Willy Boder. Bienvenue dans l'ère de la médecine personnalisée. *Le Temps*. 21 septembre 2015. « <https://www.letemps.ch/sciences/bienvenue-lere-medecine-personnalisee> »
- [29] « http://www.themavision.fr/jcms/OP_24428/les-biomarqueurs-simposent »
- [30] Pierre Marquet. Recherche translationnelle : médecine personnalisée, médecine de précision, thérapies ciblées : marketing ou science ? *Thérapie* 2015 Janvier-Février; 70 (1): 1–10. <https://doi.org/10.2515/therapie/2014230>
- [31] V. von Manstein et al. Tumor cell resistance against targeted therapeutics: the density of cultured glioma tumor cells enhances Stat3 activity and offers protection against the tyrosine kinase inhibitor canertinib. *Med. Chem. Commun.*, 2017, 8, 96-102.
- [32] Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 1976; **194**: 23–8
- [33] Leanne G. Ahronian et al. Strategies for monitoring and combating resistance to combination kinase inhibitors for cancer therapy. *Genome Med.* 2017; 9: 37.
doi: [10.1186/s13073-017-0431-3]
- [34] Burrell RA et al. Tumour heterogeneity and the evolution of polyclonal drug resistance. *Mol Oncol.* 2014 Sep 12;8(6):1095-111. doi: 10.1016/j.molonc.2014.06.005.
- [35] Tellez-Gabriel M. et al. Tumour Heterogeneity: The Key Advantages of Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, MDPI, 2017, 17, pp.2142 - 2142. <10.3390/ijms17122142>. <inserm01466086>
- [36] Cherdyntseva N.V et al. Circulating tumor cells in breast cancer: functional heterogeneity, pathogenetic and clinical aspects. *Experimental Oncology*. Vol. 39, No. 1.
- [37] Brouwer A. et al. Evaluation and consequences of heterogeneity in the circulating tumor cell compartment. *Oncotarget*. 2016; 7:48625-48643.
- [38] McGranahan N. et al. Clonal Heterogeneity and Tumor Evolution: Past, Present, and the Future. *Cell*, VOLUME 168, ISSUE 4, P613-628, FEBRUARY 09, 2017.

- [39] Jamal-Hanjani M. et al. Translational Implications of Tumor Heterogeneity. *Clin Cancer Res.* 2015 Mar 15;21(6):1258-66. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-1429.
- [40] De Lartigue J. Tumor heterogeneity: a central foe in the war on cancer *The JCSO.* Jun 2018 Vol. 16 No. 3, 167-174.
- [41] Amirouchene-Angelozzi N et al. Tumor Evolution as a Therapeutic Target. *Cancer Discov.* 2017 Jul 20. doi: 10.1158/2159-8290.CD-17-0343.
- [42] Vanessa D. Jonsson et al. Novel computational method for predicting polytherapy switching strategies to overcome tumor heterogeneity and evolution. *Scientific Reports* volume 7, Article number: 44206 (2017).
- [43] Lupini L. et al. High-sensitivity assay for monitoring *ESR1* mutations in circulating cell-free DNA of breast cancer patients receiving endocrine therapy. *Sci Rep.* 2018; 8: 4371.
- [44] M Gerlinger. How Darwinian models inform therapeutic failure initiated by clonal heterogeneity in cancer medicine. *Br J Cancer.* 2010 Oct 12; 103(8): 1139–1143.
- [45] Poojitha Ojamies. Clonal evolution and heterogeneity of cancer in the context of individualized medicine. University of Helsinki, 24th of August 2018.
- [46] Roukos, D. H. (2017). Spatiotemporal diversification of inpatient genomic clones and early drug development concepts realize the roadmap of precision cancer medicine. *Drug Discovery Today*, 22(8), 1148–1164. doi:10.1016/j.drudis.2017.03.014.
- [47] Youssef, Sarah Hisham Abdelaziz (<http://orcid.org>/<https://orcid.org/0000-0001-8681-2680>), "Somatic Mutation Detection in Leukemia-Derived Circulating DNA: Utility in Monitoring Clonal Dynamics and Disease Response in Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia" (2018). Theses and Dissertations.
- [48] Ellsworth DL et al. Single-cell sequencing and tumorigenesis: improved understanding of tumor evolution and metastasis. *Clin Transl Med.* 2017 Dec;6(1):15. doi: 10.1186/s40169-017-0145-6. Epub 2017 Apr 12.
- [49] Almendro, V., Marusyk, A., & Polyak, K. (2013). Cellular Heterogeneity and Molecular Evolution in Cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, 8(1), 277–302. doi:10.1146/annurev-pathol-020712-163923

- [50] William L Hwang, The promise of circulating tumor cells for precision cancer therapy *Biomark Med.* 2016 Dec; 10(12): 1269–1285.
- [51] Micalizzi DS et al. A conduit to metastasis: circulating tumor cell biology. *Genes Dev.* 2017 Sep 15;31(18):1827-1840. doi: 10.1101/gad.305805.117.
- [52] Markiewicz A, Żaczek A, J: The Landscape of Circulating Tumor Cell Research in the Context of Epithelial-Mesenchymal Transition. *Pathobiology* 2017;84:264-283. doi: 10.1159/000477812.
- [53] Zofia Piotrowska, Heterogeneity and Coexistence of T790M and T790 Wild-Type Resistant Subclones Drive Mixed Response to Third-Generation Epidermal Growth Factor Receptor Inhibitors in Lung Cancer. *JCO Precis Oncol.* 2018; 2018: 10.1200/PO.17.00263.
- [54] Ru Wang. Cell-free circulating tumor DNA analysis for breast cancer and its clinical utilization as a biomarker. *Oncotarget.* 2017 Sep 26; 8(43): 75742–75755.
- [55] Liu B, Yang Y, Yi Z, Guan X, Ma F. The application of estrogen receptor-1 mutations' detection through circulating tumor dna in breast cancer. *Cancer Transl Med* 2017;3:46-52.
- [56] Sabaawy HE (2013) Genetic Heterogeneity and Clonal Evolution of Tumor Cells and their Impact on Precision Cancer Medicine. *J Leuk (Los Angel)* 1:124. doi: 10.4172/2329-6917.1000124.
- [57] Siravegna G et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol.* 2017 Sep;14(9):531-548. doi: 10.1038/nrclinonc.2017.14. Epub 2017 Mar 2.
- [58] Gallaher, J. A. et al. (2018). Spatial Heterogeneity and Evolutionary Dynamics Modulate Time to Recurrence in Continuous and Adaptive Cancer Therapies. *Cancer Research*, 78(8), 2127–2139. doi:10.1158/0008-5472.can-17-2649.
- [59] Asić, K. (2016). Dominant mechanisms of primary resistance differ from dominant mechanisms of secondary resistance to targeted therapies. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 97, 178–196. doi:10.1016/j.critrevonc.2015.08.004.
- [60] Stewart CM et al. The value of cell-free DNA for molecular pathology. *J Pathol.* 2018 Apr;244(5):616-627. doi: 10.1002/path.5048. Epub 2018 Mar 12.

- [61] Venesio, T. et al. (2017). Liquid Biopsies for Monitoring Temporal Genomic Heterogeneity in Breast and Colon Cancers. *Pathobiology*, 85(1-2), 146–154. doi:10.1159/000473882.
- [62] Massari F. Circulating tumor cells in genitourinary tumors. *Ther Adv Urol*. 2018 Feb; 10(2): 65–77.
- [63] Lack J. et al. Circulating tumor cells capture disease evolution in advanced prostate cancer *Journal of Translational Medicine* 2017;15:44.
- [64] « https://www.excemed.org/sites/default/files/excemed-highlights_genoa_october_2017-light.pdf »
- [65] Vamsidhar Velcheti et al. Non-invasive diagnostic platforms in management of non-small cell lung cancer: opportunities and challenges. Vol 5, No 18 (September 2017).
- [66] Jamie L. Van Etten et al. Clonal origin and spread of metastatic prostate cancer. *Endocr Relat Cancer*. 2016 Apr; 23(4): R207–R217.
- [67] Mandel, P. & Metais, P. Les acides nucléiques du plasma sanguin chez l'homme [French]. *C. R. Seances Soc. Biol. Fil.* 142, 241–243 (1948).
- [68] Leon, S. A., Shapiro, B., Sklaroff, D. M. & Yaros, M. J. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res.* 37, 646–650 (1977).
- [69] Stroun, M. et al. Neoplastic characteristics of the DNA found in the plasma of cancer patients. *Oncology* 46, 318–322 (1989).
- [70] Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, et al. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 67–71.
- [71] Landau, D.A., et al., Clonal evolution in hematological malignancies and therapeutic implications. *Leukemia*, 2014. 28(1): p. 34-43.
- [72] Fleischhacker, M. and B. Schmidt, Circulating nucleic acids (CNAs) and cancer-a survey. *Biochim Biophys Acta*, 2007. 1775(1): p. 181-232.

- [73] Murtaza M. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. *Nature*. 2013; 497: 108-112.
- [74] Misale S. Emergence of KRAS mutations and acquired resistance to anti-EGFR therapy in colorectal cancer. *Nature*. 2012; 486: 532-536,
- [75] Diaz LA, Jr. et al. The molecular evolution of acquired resistance to targeted EGFR blockade in colorectal cancers. *Nature*. 2012; 486:537–540.
- [76] Raffaele Palmirotta, Liquid biopsy of cancer: a multimodal diagnostic tool in clinical oncology. *Ther Adv Med Oncol*. 2018; 10: 1758835918794630.
- [77] Pakkala S. Personalized therapy for lung cancer: Striking a moving target. *JCI Insight*. 2018 Aug 9;3(15). pii: 120858. doi: 10.1172/jci.insight.120858.
- [78] Murtaza M et al. Multifocal clonal evolution characterized using circulating tumour DNA in a case of metastatic breast cancer. *Nat Commun*. 2015 Nov 4;6:8760. doi: 10.1038/ncomms9760.
- [79] Cohen JD et al. Detection and localization of surgically resectable cancers with a multi-analyte blood test. *Science*. 2018 Feb 23;359(6378):926-930. doi: 10.1126/science.aar3247.
- [80] Kinde I. et al. Evaluation of DNA from the Papanicolaou Test to Detect Ovarian and Endometrial Cancers. *Sci Transl Med*. 2013 Jan 9; 5(167): 167ra4.
- [81] Dawson SJ. et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med*. 2013 Mar 28;368(13):1199-209. doi: 10.1056/NEJMoa1213261.
- [82] Thierry AR. et al. Origin and quantification of circulating DNA in mice with human colorectal cancer xenografts. *Nucleic Acids Res*. 2010 Oct;38(18):6159-75. doi: 10.1093/nar/gkq421.
- [83] Bettgowda C. et al. Detection of circulating tumor DNA in early- and late-stage human malignancies. *Sci Transl Med*. 2014 Feb 19;6(224):224ra24.
- [84] Kamat AA. et al. Circulating cell-free DNA: a novel biomarker for response to therapy in ovarian carcinoma. *Cancer Biol Ther*. 2006 Oct;5(10):1369-74.

- [85] Lecomte T. et al. Detection of free-circulating tumor-associated DNA in plasma of colorectal cancer patients and its association with prognosis. *Int J Cancer*. 2002 Aug 10;100(5):542-8.
- [86] Sozzi G. et al. Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer. *J Clin Oncol*. 2003 Nov 1;21(21):3902-8.
- [87] Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, et al. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol* 2013;10:472-84.
- [88] Higgins MJ. et al. Detection of tumor PIK3CA status in metastatic breast cancer using peripheral blood. *Clin Cancer Res*. 2012 Jun 15;18(12):3462-9. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2696.
- [89] Sridurga Mithraprabhu et al. Circulating tumour DNA analysis in multiple myeloma. *Oncotarget*. 2017 Oct 31; 8(53): 90610–90611.
- [90] Lebofsky et al., Circulating tumor DNA as a non-invasive substitute to metastasis biopsy for tumor genotyping and personalized medicine in a prospective trial across all tumor types. *Mol. Oncol*. 9, 783–790 (2015).
- [91] Butler TM. et al. : Exome sequencing of cell-free DNA from metastatic cancer patients identifies clinically actionable mutations distinct from primary disease. *PLoS One* 2015;10:e0136407.
- [92] Esposito A. et al. Liquid biopsies for solid tumors: Understanding tumor heterogeneity and real time monitoring of early resistance to targeted therapies. *Pharmacol Ther*. 2016;157:120–4. doi: 10.1016/j.pharmthera.2015.11.007.
- [93] Jamal-Hanjani M. et al. Detection of ubiquitous and heterogeneous mutations in cell-free DNA from patients with early-stage non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 2016;27:862–7.
- [94] Abbosh C. et al. Phylogenetic ctDNA analysis depicts early-stage lung cancer evolution. *Nature* 2017;545:446–51.
- [95] Jamal-Hanjani M. et al. Tracking the evolution of non–small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2017;376:2109–21.,

- [96] Zheng D, Ye X, Zhang MZ et al. Plasma EGFR T790M ctDNA status is associated with clinical outcome in advanced NSCLC patients with acquired EGFR-TKI resistance. *Sci Rep.* 2016; 6(1): 20913.
- [97] Thierry AR, El Messaoudi S, Mollevi C et al. Clinical utility of circulating DNA analysis for rapid detection of actionable mutations to select metastatic colorectal patients for anti-EGFR treatment. *Ann Oncol* 2017; 28(9): 2149–2159.
- [98] Dagogo-Jack I, Bernicker E, Li T, et al. Genomic profiling of circulating tumor DNA (ctDNA) from patients (pts) with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2017;35:9025.
- [99] Schwaederlé MC, Patel SP, Husain H, et al. Utility of genomic assessment of blood-derived circulating tumor DNA (ctDNA) in patients with advanced lung adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2017;23:5101-11.
- [100] Qiu M, Wang J, Xu Y, et al. Circulating tumor DNA is effective for the detection of EGFR mutation in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2015;24:206-12,
- [101] Takai, E. et al. (2015) Clinical utility of circulating tumor DNA for molecular assessment in pancreatic cancer. *Sci. Rep.* 5, 18425.
- [102] Takeshita T. et al. Clinical significance of monitoring ESR1 mutations in circulating cell-free DNA in estrogen receptor positive breast cancer patients. *Oncotarget* 2016; 7 (22): 32504–18.
- [103] Liang DH. et al. Cell-free DNA as a molecular tool for monitoring disease progression and response to therapy in breast cancer patients. *Breast Cancer Res Treat* 2016; 155 (1): 139–49.
- [104] Normanno N, Denis MG, Thress KS, et al. Guide to detecting epidermal growth factor receptor (EGFR) mutations in ctDNA of patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 12501–12516.
- [105] Bardelli A, Pantel K. Liquid Biopsies, What We Do Not Know (Yet). *Cancer Cell* 2017; 31: 172–179., Garcia JM, Garcia V, Silva J, et al. Extracellular tumor DNA in plasma and overall survival in breast cancer patients. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 692–701.

- [106] Kopreski MS, Benko FA, Borys DJ, et al. Somatic mutation screening: identification of individuals harboring K-ras mutations with the use of plasma DNA. *J Natl Cancer Inst* 2000; 92: 918–923.)
- [107] Dianxu F, Shengdao Z, Tianquan H, et al. A prospective study of detection of pancreatic carcinoma by combined plasma K-ras mutations and serum CA19–9 analysis. *Pancreas* 2002; 25: 336–341.
- [108] Castells A, Puig P, Mora J, et al. K-ras mutations in DNA extracted from the plasma of patients with pancreatic carcinoma: diagnostic utility and prognostic significance. *J Clin Oncol* 1999; 17: 578–584.
- [109] Maheswaran S. et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. *N Engl J Med*. 2008; 359:366–377.
- [110] Seiden MV. et al. Detection of circulating tumor cells in men with localized prostate cancer. *J Clin Oncol*. 1994; 12:2634–2639.
- [111] Bigot F, Pecuchet N, Blanchet B, et al. Early TKI-pharmokinetics and circulating tumor DNA (ctDNA) to predict outcome in patients with EGFR-mutated non-small cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 2017;35:11544.
- [112] Merriott, D.J. et al., Circulating Tumor DNA Quantitation for Early Response Assessment of Immune Checkpoint Inhibitors for Lung Cancer. *International Journal of Radiation Oncology*Biology*Physics*, 2017. 99(2): p. S20-S21.
- [113] Frattini et al. : Reproducibility of a semiquantitative measurement of circulating DNA in plasma from neoplastic patients. *J Clin Oncol* 2005;23:3163-3164; author reply 3164-3165.
- [114] Diehl F. et al. : Analysis of mutations in DNA isolated from plasma and stool of colorectal cancer patients. *Gastroenterology* 2008;135:489-498.
- [115] Yanagita M, Redig AJ, Paweletz CP, Dahlberg SE, O’Connell A, Feeney N, et al. A prospective evaluation of circulating tumor cells and cell-free DNA in EGFR mutant non-small cell lung cancer patients treated with erlotinib on a phase II trial. *Clin Cancer Res*. 2016;22(24):6010–20. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-16-0909.
- [116] Sausen, M. et al. (2015) Clinical implications of genomic alterations in the tumour and circulation of pancreatic cancer patients. *Nat. Commun.* 6, 7686.

- [117] Heitzer, E. et al. (2013) Tumor-associated copy number changes in the circulation of patients with prostate cancer identified through whole-genome sequencing. *Genome Med.* 5, 30–90.
- [118] Diaz, L.A., Jr et al. (2013) Insights into therapeutic resistance from whole-genome analyses of circulating tumor DNA. *Oncotarget* 4, 1856–1857.
- [119] Tie, J. et al. (2015) Circulating tumor DNA as an early marker of therapeutic response in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann. Oncol.* 26, 1715–1722.
- [120] Frenel, J.S. et al. (2015) Serial next-generation sequencing of circulating cell-free DNA evaluating tumor clone response to molecularly targeted drug administration. *Clin. Cancer Res.* 21, 4586–4596.
- [121] Oxnard GR, Paweletz CP, Kuang Y, Mach SL, O’Connell A, Messineo MM, et al. Noninvasive detection of response and resistance in EGFR-mutant lung cancer using quantitative next-generation genotyping of cell-free plasma DNA. *Clin Cancer Res.* 2014;20(6):1698–705. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2482.
- [122] Garcia-Murillas I. et al. : Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. *Sci Transl Med* 2015;7:302ra133.
- [123] Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B, et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. *Sci Transl Med* 2015; 7: 302ra133.
- [124] Krebs, M. G. et al. Molecular analysis of circulating tumour cells — biology and biomarkers. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 11, 129–144 (2014).
- [125] Reinert, T. et al. Analysis of circulating tumour DNA to monitor disease burden following colorectal cancer surgery. *Gut* 65, 625–634 (2015).
- [126] Kim, K. et al. Circulating cell-free DNA as a promising biomarker in patients with gastric cancer: diagnostic validity and significant reduction of cfDNA after surgical resection. *Ann. Surg. Treat. Res.* 86, 136–142 (2014).
- [127] Chaudhuri, A., et al., Analysis of circulating tumor DNA in localized lung cancer for detection of molecular residual disease and personalization of adjuvant strategies. *Journal of Clinical Oncology* 2017 35:15_suppl p. 8519.

- [128] Tie J, Wang Y, Tomasetti C, Li L, Springer S, Kinde I, et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci Transl Med* 2016;8:346ra92.
- [129] Mithraprabhu, S., et al., Circulating tumour DNA analysis demonstrates spatial mutational heterogeneity that coincides with disease relapse in myeloma. *Leukemia*, 2017. 31(8): p. 1695-1705.
- [130] Siravegna G, Mussolin B, Buscarino M, Corti G, Cassingena A, Crisafulli G, et al. Clonal evolution and resistance to EGFR blockade in the blood of colorectal cancer patients. *Nat Med*. 2015;21(7):795–801. doi: 10.1038/nm.3870.
- [131] Jänne PA, Yang JC, Kim DW, et al. AZD9291 in EGFR inhibitor-resistant non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2015;372:1689-99.
- [132] Chabon, J.J., et al., Circulating tumour DNA profiling reveals heterogeneity of EGFR inhibitor resistance mechanisms in lung cancer patients. *Nat Commun*, 2016. 7: p. 11815.
- [133] Karachaliou, N. et al. Association of EGFR L858R mutation in circulating free DNA with survival in the EURTAC trial. *JAMA Oncol*. 1, 149–157 (2015).
- [134] Qian X, Liu J, Sun Y, et al. Circulating cell-free DNA has a high degree of specificity to detect exon 19 deletions and the singlepoint substitution mutation L858R in non-small cell lung cancer. *Oncotarget* 2016; 7: 29154–29165.
- [135] Thress KS, Paweletz CP, Felip E, et al. Acquired EGFR C797S mutation mediates resistance to AZD9291 in non-small cell lung cancer harboring EGFR T790M. *Nat Med* 2015;21:560-2.
- [136] Kris MG, Johnson BE, Berry LD, et al. Using multiplexed assays of oncogenic drivers in lung cancers to select targeted drugs. *JAMA* 2014;311:1998-2006.
- [137] Oxnard, G. R. et al. Association between plasma genotyping and outcomes of treatment with osimertinib (AZD9291) in advanced non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol*. 34, 3375–3382 (2016).
- [138] Douillard JY, Ostoros G, Cobo M, et al. First-line gefitinib in Caucasian EGFR mutation-positive NSCLC patients: a phase-IV, open-label, single-arm study. *Br J Cancer* 2014; 110: 55–62.

- [139] US Food and Drug Administration. PMA P150047: FDA summary of safety and effectiveness data page 1 summary of safety and effectiveness data (SSED). FDA
« http://www.accessdata.fda.gov/cdrh_docs/pdf15/P150047b.pdf (2016) ».
- [140] Wu YL, Zhou C, Liam CK, et al. First-line erlotinib versus gemcitabine/cisplatin in patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer: analyses from the phase III, randomized, open-label, ENSURE study. *Ann Oncol* 2015; 26: 1883–189.
- [141] US Food and Drug Administration. cobas EGFR Mutation Test v2. FDA
« <http://www.fda.gov/Drugs/InformationOnDrugs/ApprovedDrugs/ucm504540.htm> (2016) ».
- [142] « <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpma/pma.cfm?id=P150044> ».
- [143]
« <https://www.astrazeneca-us.com/media/press-releases/2016/us-fda-approves-tagrisso-osimertinib-blood-based-t790m-companion-diagnostic-test-09292016.html#> ».
- [144] « <https://www.prnewswire.com/news-releases/roche-expands-indication-for-cobas-egfr-mutation-test-v2-as-a-companion-diagnostic-with-tagrisso-300632648.html> ».
- [145] « <https://www.prnewswire.com/news-releases/roche-receives-fda-approval-for-cobas-egfr-mutation-test-v2-as-companion-diagnostic-with-iressa-gefitinib-in-first-line-treatment-of-patients-with-non-small-cell-lung-cancer-nscl-300701299.html> ».
- [146] Ashworth TR. A case of cancer in which cells similar to those in the tumours were seen in the blood after death. *Aust. Med. J.* 1869;14:146–147.
- [147] Heitzer E. et al. Complex tumor genomes inferred from single circulating tumor cells by array-CGH and next-generation sequencing. *Cancer Res.* 2013; 73:2965–2975.
- [148] Yu M. et al. RNA sequencing of pancreatic circulating tumour cells implicates WNT signalling in metastasis. *Nature.* 2012; 487:510–513.
- [149] Heidary M. et al. The dynamic range of circulating tumor DNA in metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res.* 2014; 16:421.
- [150] Ni X. et al. Reproducible copy number variation patterns among single circulating tumor cells of lung cancer patients. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013; 110:21083–21088.

- [151] Lohr JG. et al. Whole-exome sequencing of circulating tumor cells provides a window into metastatic prostate cancer. *Nat Biotechnol.* 2014; 32:479–484.
- [152] Meng S, Tripathy D, Frenkel EP, Shete S, Naftalis EZ, Huth JF, Beitsch PD, Leitch M, Hoover S, Euhus D, Haley B, Morrison L, Fleming TP, et al. Circulating tumor cells in patients with breast cancer dormancy. *Clin Cancer Res.* 2004; 10:8152–8162.
- [153] Nagrath S. et al. Isolation of rare circulating tumour cells in cancer patients by microchip technology. *Nature.* 2007; 450:1235–1239.
- [154] Allard WJ. Et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res.* 2004; 10:6897–6904.
- [155] Baccelli I. et al. Identification of a population of blood circulating tumor cells from breast cancer patients that initiates metastasis in a xenograft assay. *Nat Biotechnol.* 2013; 31:539–544.
- [156] Aceto N. et al. 2014. Circulating tumor cell clusters are oligoclonal precursors of breast cancer metastasis. *Cell* 158: 1110–1122.
- [157] Kienast Y. et al. Real-time imaging reveals the single steps of brain metastasis formation. *Nat Med.* 2010; 16:116–122.
- [158] Stott SL. et al. Isolation and characterization of circulating tumor cells from patients with localized and metastatic prostate cancer. *Sci Transl Med.* 2010; 2:25ra23.
- [159] Gkountela S, Szczerba B, Donato C, et al. Recent advances in the biology of human circulating tumour cells and metastasis. *ESMO Open* 2016;1:e000078. doi:10.1136/esmoopen-2016000078.
- [160] Elly Sinkala et al. Profiling protein expression in circulating tumour cells using microfluidic western blotting. *Nature Communications* volume 8, Article number: 14622 (2017).
- [161] Tong Wu et al. Clinical Applications of Circulating Tumor Cells in Pharmacotherapy: Challenges and Perspectives. *Molecular Pharmacology* September 2017, 92 (3) 232-239; DOI: <https://doi.org/10.1124/mol.116.108142>.

- [162] Zhang L, (2012) Meta-analysis of the prognostic value of circulating tumor cells in breast cancer. *Clin Cancer Res* 18:5701–5710, Rack, B. *et al.* Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J. Natl Cancer Inst.* 106, dju066 (2014).
- [163] Cristofanilli M, Stopeck A, Matera J, et al. Circulating tumor cells, disease progression, and survival in metastatic breast cancer. *N. Engl. J. Med.* 2004;351(8):781–791.
- [164] Giuliano M. et al. Circulating tumor cells as prognostic and predictive markers in metastatic breast cancer patients receiving first-line systemic treatment. *Breast Cancer Res* 2011;13:R67. doi:10.1186/bcr2907.
- [165] Rack B. et al. SUCCESS Study Group. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2014;106:pii:dju066. doi:10.1093/jnci/dju066.
- [166] Lu Y-J, Wang P, Wang X, Peng J, Zhu Y-W, Shen N. The significant prognostic value of circulating tumor cells in triple-negative breast cancer: a meta-analysis. *Oncotarget.* 2016.
- [167] Shiomi-Mouri Y, Kousaka J, Ando T, et al. Clinical significance of circulating tumor cells (CTCs) with respect to optimal cut-off value and tumor markers in advanced/metastatic breast cancer. *Breast Cancer.* 2016;23(1):120–127.
- [168] Lv Q, Gong L, Zhang T, et al. Prognostic value of circulating tumor cells in metastatic breast cancer: a systemic review and meta-analysis. *Clin. Transl. Oncol.* 2016;18(3):322–330.
- [169] Goldkorn A, Ely B, Quinn DI, et al. Circulating tumor cell counts are prognostic of overall survival in SWOG S0421: a phase III trial of docetaxel with or without atrasentan for metastatic castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol* 2014; 32: 1136–1142.
- [170] De Bono JS, Scher HI, Montgomery RB et al. Circulating tumor cells predict survival benefit from treatment in metastatic castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2008;14(19):6302-9.
- [171] Scher HI, Jia X, de Bono JS, et al. Circulating tumour cells as prognostic markers in progressive, castration-resistant prostate cancer: a reanalysis of IMMC38 trial data. *Lancet Oncol* 2009; 10: 233–239.

- [172] Nolé F, Munzone E, Zorzino L *et al.* Variation of circulating tumor cell levels during treatment of metastatic breast cancer: prognostic and therapeutic implications. *Ann. Oncol.* 19(5), 891–897 (2008).
- [173] Danila DC, Heller G, Gignac GA, et al. Circulating tumor cell number and prognosis in progressive castration-resistant prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 7053–7058.
- [174] Moreno JG, Miller MC, Gross S, Allard WJ, Gomella LG, Terstappen LW. Circulating tumor cells predict survival in patients with metastatic prostate cancer. *Urology* 65(4), 713–718 (2005)
- [175] Fleisher M, Danila DC, Fizazi K, et al. Circulating tumor cell (CTC) enumeration in men with metastatic castration-resistant prostate cancer (mCRPC) treated with enzalutamide post-chemotherapy (phase 3 AFFIRM study). *J Clin Oncol* 2015; (Suppl.): abstract 5035.
- [176] Krebs MG, Lancashire L, *et al.* Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2012;30:525–32. doi:10.1200/JCO.2010.33.3716.
- [177] Li Y, Gong J, Zhang Q, et al. Dynamic monitoring of circulating tumour cells to evaluate therapeutic efficacy in advanced gastric cancer. *Br. J. Cancer.* 2016;114(2):138–145.
- [178] Cohen SJ, Punt CJA, Iannotti N, et al. Relationship of circulating tumor cells to tumor response, progression-free survival, and overall survival in patients with metastatic colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 2008;26(19):3213–3221.
- [179] Krebs MG, Sloane R, Priest L et al. Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011;29(12):1556-63.
- [180] Bayarri-Lara C. et al. Circulating tumor cells identify early recurrence in patients with non-small-cell lung cancer undergoing radical resection. *PLoS ONE* 11(2), e0148659 (2016).
- [181] Punnoose EA, Atwal S, Liu W *et al.* Evaluation of circulating tumor cells and circulating tumor DNA in non-small-cell lung cancer: association with clinical endpoints in a Phase II clinical trial of pertuzumab and erlotinib. *Clin. Cancer Res.* 18(8), 2391 (2012).
- [182] Wang J, Huang J, Wang K, et al. Prognostic significance of circulating tumor cells in non-small-cell lung cancer patients: a meta-analysis. *PLoS One* 2013;8:e78070.

- [183] Matikas A, Syrigos KN, Agelaki S. Circulating Biomarkers in Non-Small-Cell Lung Cancer: Current Status and Future Challenges. *Clin Lung Cancer* 2016;17:507-16.
- [184] Hashimoto M, Tanaka F, Yoneda K, et al. Significant increase in circulating tumour cells in pulmonary venous blood during surgical manipulation in patients with primary lung cancer. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2014;18:775-83.
- [185] Hofman V, Bonnetaud C, Ilie MI, et al. Preoperative circulating tumor cell detection using the isolation by size of epithelial tumor cell method for patients with lung cancer is a new prognostic biomarker. *Clin Cancer Res* 2011;17:827-35.
- [186] Sienel W, Seen-Hibler R, Mutschler W, et al. Tumour cells in the tumour draining vein of patients with non-small cell lung cancer: detection rate and clinical significance. *Eur J Cardiothorac Surg* 2003;23:451-6.
- [187] Hou JM, Krebs MG, Lancashire L, et al. Clinical significance and molecular characteristics of circulating tumor cells and circulating tumor microemboli in patients with small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2012;30(5):525–532.
- [188] Cheng Y, Liu X, Fan Y, et al. Circulating tumor cell counts/change for outcome prediction in patients with extensive-stage small-cell-lung cancer. *Future Oncol.* 2016;12(6):789–799.
- [189] Gazzaniga P. et al. (2014) Circulating tumor cells detection has independent prognostic impact in high-risk non-muscle invasive bladder cancer. *Int J Cancer* 135:1978–1982.
- [190] Schulze K. et al. (2013) Presence of EpCAM-positive circulating tumor cells as biomarker for systemic disease strongly correlates to survival in patients with hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 133:2165–2171.
- [191] Vashist YK. Et al. (2012) Disseminated tumor cells in bone marrow and the natural course of resected esophageal cancer. *Ann Surg* 255:1105–1112.
- [192] Nichols AC. et al. (2012) Detection of circulating tumor cells in advanced head and neck cancer using the CellSearch system. *Head Neck* 34:1440–1444.
- [193] Han L. et al. (2014) Prognostic value of circulating tumor cells in patients with pancreatic cancer: a meta-analysis. *Tumour Biol* 35:2473–2480.

- [194] Rao C, (2011) Circulating melanoma cells and survival in metastatic melanoma. *Int J Oncol* 38:755–760.
- [195] Sastre J. et al. : Circulating tumor cell count is a prognostic factor in metastatic colorectal cancer patients receiving first-line chemotherapy plus bevacizumab: a Spanish Cooperative Group for the Treatment of Digestive Tumors study. *Oncologist* 2012;17:947-955.
- [196] Tol J. et al. : Circulating tumour cells early predict progression-free and overall survival in advanced colorectal cancer patients treated with chemotherapy and targeted agents. *Ann Oncol* 2010;21:1006-1012.
- [197] Miller MC, Doyle GV, Terstappen LWMM. Significance of circulating tumor cells detected by the CellSearch system in patients with metastatic breast colorectal and prostate cancer. *J. Oncol.* 2010;2010:617421.
- [198] Hayes DF, Cristofanilli M, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Miller MC, Matera J, Allard WJ, Doyle GV, Terstappen LWMM: Circulating tumor cells at each follow-up time point during therapy of metastatic breast cancer patients predict progression-free and overall survival. *Clin Cancer Res* 2006;12:4218-4224.
- [199] Nakamura S. et al. : Multi-center study evaluating circulating tumor cells as a surrogate for response to treatment and overall survival in metastatic breast cancer. *Breast Cancer* 2010;17:199-204.
- [200] Liu MC. Et al. : Circulating tumor cells: a useful predictor of treatment efficacy in metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2009;27:5153-5159.
- [201] Budd GT. Et al. Circulating tumor cells versus imaging—predicting overall survival in metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2006; 12:6403–6409.
- [202] Cristofanilli M. et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol.* 2005; 23:1420–1430.
- [203] Olmos D. et al. Circulating tumour cell (CTC) counts as intermediate end points in castration-resistant prostate cancer (CRPC): a single-centre experience. *Ann Oncol.* 2009; 20:27–33.

- [204] Attard G. et al. Selective inhibition of CYP17 with abiraterone acetate is highly active in the treatment of castration-resistant prostate cancer. *J Clin Oncol*. 2009; 27:3742–3748.
- [205] Lianidou ES. Et al. (2011) Circulating tumor cells in breast cancer: detection systems, molecular characterization, and future challenges. *Clin Chem* 57:1242–1255.
- [206] Bidard FC. et al. (2016) Circulating tumor cells in breast cancer. *Mol Oncol* 10:418–430.
- [207] Pierga JY, Hajage D, Bachelot T et al. High independent prognostic and predictive value of circulating tumor cells compared with serum tumor markers in a large prospective trial in first-line chemotherapy for metastatic breast cancer patients. *Ann Oncol* 2012;23(3):618-24.
- [208] Lin J. et al. (2011) Polyclonality of BRAF mutations in primary melanoma and the selection of mutant alleles during progression. *Br J Cancer* 104:464–468.
- [209] Reid AL. et L. (2015) Detection of BRAF-V600E and V600K in melanoma circulating tumour cells by droplet digital PCR. *Clin Biochem* 48:999–1002.
- [210] Jang S and Atkins MB. (2014) Treatment of BRAF-mutant melanoma: the role of vemurafenib and other therapies. *Clin Pharmacol Ther* 95:24–31.
- [211] Breitenbuecher F. et al. (2014) Development of a highly sensitive and specific method for detection of circulating tumor cells harboring somatic mutations in non-small-cell lung cancer patients. *PLoS One* 9:e85350.
- [212] Sundaresan TK. et al. Detection of T790M, the acquired resistance EGFR mutation, by tumor biopsy versus noninvasive blood-based analyses. *Clin Cancer Res* 2016;22:1103–10. doi:10.1158/1078-0432.CCR-15-1031
- [213] Pailler E. et al. Detection of circulating tumor cells harboring a unique ALK rearrangement in ALK-positive non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:2273–81. doi:10.1200/JCO.2012.44.5932
- [214] Ni X. et al. Reproducible copy number variation patterns among single circulating tumor cells of lung cancer patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013;110:21083–8. doi:10.1073/pnas.1320659110

- [215] Marchetti A. et al. Assessment of EGFR mutations in circulating tumor cell preparations from NSCLC patients by next generation sequencing: toward a real-time liquid biopsy for treatment. PLoS ONE 2014;9:e103883. doi:10.1371/journal.pone.0103883
- [216] Kuwano M et al. (2016) Overcoming drug resistance to receptor tyrosine kinase inhibitors: learning from lung cancer. *Pharmacol Ther* 161:97–110.
- [217] Schneck H. et al. (2013) Analysing the mutational status of PIK3CA in circulating tumor cells from metastatic breast cancer patients. *Mol Oncol* 7:976–986.
- [218] Johnston SR. Et al. (2015) Enhancing endocrine therapy for hormone receptor-positive advanced breast cancer: cotargeting signaling pathways. *J Natl Cancer Inst* 107:10.
- [219] De Roock W, De Vriendt V, Normanno N, Ciardiello F, Tejpar S. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol*. 2011; 12:594–603.
- [220] Meng S, Tripathy D, Shete S, et al. HER2 gene amplification can be acquired as breast cancer progresses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9393–8.
- [221] Hernández-Blanquissett A. et al. (2016) Current and emerging therapies of HER2-positive metastatic breast cancer. *Breast* 29:170–177.
- [222] Turner NH and Di Leo A. (2013) HER2 discordance between primary and metastatic breast cancer: assessing the clinical impact. *Cancer Treat Rev* 39:947–957.
- [223] Pachmann K, Camara O, Kroll T, *et al.* Efficacy control of therapy using circulating epithelial tumor cells (CETC) as “liquid biopsy”: Trastuzumab in HER2/neu-positive breast carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1317–27.
- [224] Ignatiadis M, Pierga JY, Campion M, *et al.* CTCs and HER2-positive CTCs detection by CellSearch® in non-metastatic breast cancer: an international ring study to assess inter-reader variability. *Cancer Res* 2011; 71: Abstr 4–07–14.
- [225] Prat A, Baselga J. Dual human epidermal growth factor receptor 2 (HER2) blockade and hormonal therapy for the treatment of primary HER2-positive breast cancer: one more step toward chemotherapy-free therapy. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1703–6.

- [226] Georgoulas V, Bozionelou V, Agelaki S. et al. Trastuzumab decreases the incidence of clinical relapses in patients with early breast cancer presenting chemotherapy-resistant CK-19mRNA-positive circulating tumor cells: results of a randomized phase II study. *Ann Oncol* 2012; 23: 1744–50.
- [227] Xenidis N. et al. (2007) Clinical relevance of circulating CK-19 mRNA-positive cells detected during the adjuvant tamoxifen treatment in patients with early breast cancer. *Ann Oncol* 18:1623–1631.
- [228] Alix-Panabières C and Pantel K (2013) Circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer. *Clin Chem* 59:110–118.
- [229] Heller G. et al. TMPRSS2-ERG status in circulating tumor cells as a predictive biomarker of sensitivity in castration-resistant prostate cancer patients treated with abiraterone acetate. *Eur Urol.* 2011; 60:897–904.
- [230] Kuhlmann JD. et al. (2014) ERCC1-positive circulating tumor cells in the blood of ovarian cancer patients as a predictive biomarker for platinum resistance. *Clin Chem* 60:1282–1289.
- [231] Antonarakis ES. et al. (2015) Androgen receptor splice variant 7 and efficacy of taxane chemotherapy in patients with metastatic castration-resistant prostate cancer. *JAMA Oncol* 1:582–591.
- [232] Onstenk W. et al. (2015) Efficacy of cabazitaxel in castration-resistant prostate cancer is independent of the presence of AR-V7 in circulating tumor cells. *Eur Urol* 68:939–945.
- [233] Antonarakis ES. et al. resistance to enzalutamide and abiraterone in prostate cancer. *N Engl J Med* 371:1028–1038.
- [234] Jamal-Hanjani, M. et al. Tracking genomic cancer evolution for precision medicine: The lung TRACERx study. *PLoS Biol.* 2014, 12, e1001906.
- [235] Middleton, G. et al. The National Lung Matrix Trial: Translating the biology of stratification in advanced non-small-cell lung cancer. *Ann. Oncol.* 2015, 26, 2464–2469.
- [236] Paillet, E.; Auger, N.; Lindsay, C.R.; Vielh, P.; Islas-Morris-Hernandez, A.; Borget, I.; Ngo-Camus, M.; Planchard, D.; Soria, J.C.; Besse, B.; et al. High level of chromosomal

instability in circulating tumor cells of ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *Ann. Oncol.* 2015, 26, 1408–1415.

[237] Polzer, B. et al. Molecular profiling of single circulating tumor cells with diagnostic intention. *EMBO Mol. Med.* 2014, 6, 1371–1386.

[238] Mohamed Suhaimi, N.A.; Foong, Y.M.; Lee, D.Y.; Phyo, W.M.; Cima, I.; Lee, E.X.; Goh, W.L.; Lim, W.Y.; Chia, K.S.; Kong, S.L.; et al. Non-invasive sensitive detection of KRAS and BRAF mutation in circulating tumor cells of colorectal cancer patients. *Mol. Oncol.* 2015, 9, 850–860.

[239] Mostert, B. et al. KRAS and BRAF mutation status in circulating colorectal tumor cells and their correlation with primary and metastatic tumor tissue. *Int. J. Cancer* 2013, 133, 130–141.

[240] Miyamoto DT, Lee RJ, Stott SL, Ting DT, Wittner BS, Ulman M, Smas ME, Lord JB, Brannigan BW, Trautwein J, Bander NH, Wu CL, Sequist LV, et al. Androgen receptor signaling in circulating tumor cells as a marker of hormonally responsive prostate cancer. *Cancer Discov.* 2012; 2:995–1003.

[241] Yu M. et al. Circulating breast tumor cells exhibit dynamic changes in epithelial and mesenchymal composition. *Science.* 2013; 339:580–584.

[242] Dago AE. Et al. Rapid phenotypic and genomic change in response to therapeutic pressure in prostate cancer inferred by high content analysis of single circulating tumor cells. *PLoS One.* 2014; 9:e101777.

[243] Fojo T. Mailankody S. Lo A. Unintended consequences of expensive cancer therapeutics—the pursuit of marginal indications and a me-too mentality that stifles innovation and creativity: the John Conley Lecture. *JAMA Otolaryngol. Head Neck Surg.* 2014; 140: 1225-1236.

[244] K.T. et al. Combined BRAF and MEK inhibition in melanoma with BRAF V600 mutations. *N. Engl. J. Med.*, 367 (2012), pp. 1694-1703.

[245] Hrustanovic G, Olivas V, Pazarentzos E, Tulpule A, Asthana S, Blakely CM, et al. RAS-MAPK dependence underlies a rational polytherapy strategy in EML4-ALK-positive lung cancer. *Nat Med.* 2015;21(9):1038–47. doi: 10.1038/nm.3930.

- [246] Enriquez-Navas P.M. Exploiting evolutionary principles to prolong tumor control in preclinical models of breast cancer. *Sci. Transl. Med.* 2016; 8: 327ra24.
- [247] Gatenby R.A. Adaptive therapy. *Cancer Res.* 2009; 69: 4894-4903.
- [248] Silva AS, Kam Y, Khin ZP, Minton SE, Gillies RJ, Gatenby RA. Evolutionary approaches to prolong progression-free survival in breast cancer. *Cancer Res* 2012;72:6362–70.
- [249] Morelli MP, Overman MJ, Dasari A, Kazmi SMA, Mazard T, Vilar E, et al. Characterizing the patterns of clonal selection in circulating tumor DNA from patients with colorectal cancer refractory to antiEGFR treatment. *Ann Oncol* 2015;26:731–6.
- [250] Seghers AC, Wilgenhof S, Lebbé C, Neyns B. Successful rechallenge in two patients with BRAF-V600-mutant melanoma who experienced previous progression during treatment with a selective BRAF inhibitor. *Melanoma Res* 2012;22:466–72.
- [251] Das Thakur M, Salangsang F, Landman AS, Sellers WR, Pryer NK, Levesque MP, et al. Modelling vemurafenib resistance in melanoma reveals a strategy to forestall drug resistance. *Nature* 2013;494:251–5.
- [252] William E. Evans; Mary V. Pharmacogenomics: Translating Functional Genomics into Rational Therapeutics. Relling Science, New Series, Vol. 286, No. 5439. (Oct. 15, 1999), pp. 487-491.
- [253] Jacques Robert. On the use of pharmacogenetics in cancer treatment and clinical trials. *Eur J Cancer.* 2014 Oct;50(15):2532-43. doi: 10.1016/j.ejca.2014.07.013.
- [254] JN Patel. Cancer pharmacogenomics, challenges in implementation, and patient-focused perspectives. *Pharmgenomics Pers Med.* 2016 Jul 12;9:65-77. doi: 10.2147/PGPM.S62918
- [255] ON Ikediobi. Somatic pharmacogenomics in cancer. *Pharmacogenomics J.* 2008 Oct;8(5):305-14. doi: 10.1038/tpj.2008.8.
- [256] Kelly K Filipski. Pharmacogenomics in oncology care. *Front Genet.* 2014; 5: 73. doi: 10.3389/fgene.2014.00073
- [257] « http://www.pharmaceutiques.com/biopharma/archive/bp_2139.html »

- [258] M. Pérol. Biomarqueurs du cancer bronchique non à petites cellules : du concept à la pratique clinique. *La Lettre du Cancérologue*. Vol. XVII - n° 5 - mai 2008. 210-233.
- [259] « <http://lesdonnees.e-cancer.fr/Themes/Soins/Les-tests-de-genetique-somatique/Les-tests-de-genetique-somatique/Liste-des-tests-de-genetique-somatique-realises-par-les-plateformes-de-genetique-moleculaire-des-cancers> »
- [260] Julien Romanetto. Intérêts des biomarqueurs biologiques dans les essais cliniques. Université Henri Poincaré-Nancy 1. 5 juillet 2011.
- [261] Cindy Serdjebi. Pharmacogénétique des analogues nucléosidiques : Cytidine déaminase et issue clinique. Aix-Marseille Université. 25 septembre 2015.
- [262] Marc Billaud. L'invention de la médecine personnalisée. Entre mutations technologiques et utopie. *Med Sci (Paris)* 2015 ; 31 : 797–803.
« <https://doi.org/10.1051/medsci/20153108020> »
- [263] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Quelle-place-par-rapport-aux-autres-traitements> »
- [264] « <http://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Comprendre-la-recherche/La-medecine-de-precision/Qu-est-ce-que-la-medecine-de-precision> »
- [265] « <http://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Comprendre-la-recherche/La-medecine-de-precision/Quels-traitements-Qui-est-concerne> »
- [266] « https://www.ligue-cancer.net/article/28456_therapie-ciblee-une-revolution-medicale »
- [267] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Quels-traitements-pour-quels-patients/Les-traitements-disponibles> »
- [268] Frédéric Eberlé. Cancer : comprendre la médecine personnalisée. *Le Figaro Santé*. 6 novembre 2014.
- [269] « <http://www.arcagy.org/infocancer/traitement-du-cancer/traitements-systemiques/therapies-ciblees/les-inhibiteurs-de-la-parp.html> »

[270]

« <https://www.cancer.be/sites/default/files/publication/4.5.9%20Th%C3%A9rapies%20cibl%C3%A9es%20-%20BRO%20-%202014.12.pdf> »

[271] « <http://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Comprendre-la-recherche/La-medecine-de-precision/Mecanismes-d-action> »

[272] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Traitements-en-pratique> »

[273] Les défis de l'immunothérapie en oncologie. Livre Blanc.

« <http://www.atoutcancer.org/assets/livreblanc-v111-pages-par-pages.pdf> »

[274] Granier C et al. Immunothérapies des cancers : rationnel et avancées récentes. Rev Med Interne (2016). « <https://doi.org/10.1016/j.revmed.2016.05.023> »

[275] « <http://www.chu-lyon.fr/fr/espace-sante/immunotherapie-anti-cancerouse> »

[276] « <http://www.cancer.ca/fr-ca/cancer-information/diagnosis-and-treatment/chemotherapy-and-other-drug-therapies/immunotherapy/?region=qc> »

[277] Audrey Bellesoeur. Biomarqueurs des immunothérapies anti-PD-1/PD-L1 : facteurs cliniques, histologiques et immunohistochimiques associés au statut PD-L1. Université Paris Descartes. 20 juin 2016.

[278]

« http://www.cellcan.com/76/Ce_que_vous_devez_savoir_sur_l_immunotherapie.cellcan?id=155 »

[279] « <https://www.frm.org/recherche-medicale/immunotherapie> »

[280] Maris-Pascal Graas. Effets secondaires des nouvelles thérapies.

« https://www.chl.lu/sites/chl/files/files/presentations/04_2016%2012%2009_GSO_Dr%20P%20Graas%20Effets%20secondaires%20des%20nouvelles%20therapies.pdf »

[281] « <https://www.vidal.fr/> »

[282] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Immunotherapie-mode-d-action> »

- [283] « <https://biotechlerncenter.interpharma.ch/fr/7180-2-un-nouveau-pilier-limmunotherapie> »
- [284] Louis Létinier. Immunothérapie anti-cancéreuse. Université de Bordeaux.
« https://pharmacomedicale.org/images/desc2016/DESC_2017/ImmunotherapieK_LL.pdf »
- [285] Ligue cancer. Immunothérapie : tirer parti de l'immunité. Vivre numéro 348.
- [286] Invest Securities. Ose pharma. 29 mai 2015. « http://ose-immuno.com/site/wp-content/uploads/2016/04/150609-INVEST_SECURITIES-ETUDE_OSE_PHARMA.pdf »
- [287] « <http://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Comprendre-la-recherche/La-medecine-de-precision/Exemples-d-avancees-pour-les-patients> »
- [288] « <https://laboratoire-roche.sciencesetavenir.fr/cancer-les-promesses-de-l-immunotherapie/> »
- [289] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Quels-traitements-pour-quels-patients/Quel-medicament-pour-quel-patient> »
- [290] « <https://ableads.fr/fr/immunotherapie-cancer/> »
- [291] « <http://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Comprendre-la-recherche/La-medecine-de-precision/Limites-et-enjeux> »
- [292] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Quels-traitements-pour-quels-patients/Biomarqueurs-les-enjeux> »
- [293] Nassim BRAHMI. Évaluation de l'acte de recherche ou de quantification du gène de fusion *BCR-ABL* par RT-PCR dans le diagnostic et le suivi thérapeutique des leucémies myéloïdes chroniques et des leucémies lymphoblastiques aiguës. Novembre 2017.
« https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2017-11/argumentaire_bcr-abl_vd.pdf »
- [294] « <http://www.labtestsonline.fr/tests/bcr-abl.html?mode=print> »
- [295] Ali Turhan. Biologie de la protéine de fusion BCR-ABL : progrès récents. *Hématologie*. 2002;8(1):35-45.

[296]

« http://campus.cerimes.fr/hematologie/enseignement/hematologie_162/site/html/cours.pdf »

[297] « <https://www.cancer.gov/publications/dictionaries/cancer-terms/def/bcr-abl-fusion-gene> »

[298] Mohamed El Aachab. Les Thérapies ciblées et leur place en onco-hématologie. Université Mohammed V-Rabat. 2016.

[299] Partie II - Autres molécules informationnelles. Chapitre 8 - Facteurs de croissance. Université Paris-Sorbonne Médecine.

« <http://www.chups.jussieu.fr/polys/biochimie/MIbioch/POLY.Chp.8.20.html> »

[300] Kalubai Vari Khajapeer et Rajasekaran Baskaran. Hsp90 Inhibitors for the Treatment of Chronic Myeloid Leukemia. Leukemia Research and Treatment. Volume 2015, Article ID 757694, 16 pages. « <http://dx.doi.org/10.1155/2015/757694> »

[301] Étienne Lonchamp, Frédérique Nowak. Les Tests de Genetique Moléculaire Pour l'accès Aux Thérapies Ciblées en 2012. Décembre 2012.

« <https://fr.scribd.com/document/193781615/Les-Tests-de-Genetique-Moleculaire-Pour-Lacces-Aux-Therapies-Ciblees-en-2012> »

[302] Les thérapies ciblées orales. Onconews numéro 10. Octobre 2016.

« http://www.cahpp.fr/wp-content/uploads/2016/11/onco-news-10_1016-stdc.pdf »

[303] Le prix des médicaments anticancéreux. Institut National du Cancer. Mai 2017.

« <https://oncocdn.keeo.com/27573.pdf> »

[304] Philippe Casassus. L'imatinib (Glivec®): une révolution dans le traitement de la leucémie myéloïde chronique (LMC). Médecine thérapeutique. 2005;11(6):428-436.

[305] « <http://acces.ens-lyon.fr/acces/thematiques/evolution/logiciels/anagene/programmes-de-1ere-s-2011/variabilite-genetique-et-sante/perturbation-du-genome-et-cancerisation/traitement-des-cancers/une-therapie-ciblee-le-glivec-ou-gleevec-ou-imanitib> »

[306] David M. Hyman. Implementing Genome-Driven Oncology. Cell. 2017 Feb 9;168(4):584-599. doi: 10.1016/j.cell.2016.12.015.

- [307] « <http://lesdonnees.e-cancer.fr/Themes/Soins/Les-tests-de-genetique-somatique/Leucemie-myeloide-chronique-LMC-detection-et-quantification-de-BCR-ABL> »
- [308] Charles L. Sawyers et al. AACR Cancer Progress Report 2013. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2107. Published October 2013.
- [309] M. Pérol. Les inhibiteurs de tyrosine kinase de l'EGFR dans le traitement du CBNPC. *Revue des Maladies Respiratoires*. Vol 24, N° 8-C2. Octobre 2007 pp. 188-197. Doi : RMR-10-2007-24-8-C2-0761-8425-101019-200720148.
- [310] Anne-Sophie Chrétien. Fonctionnalité de la signalisation en aval des récepteurs HER : Implication de la réponse cellulaire et tumorale aux thérapies ciblées. Université de Lorraine. 20 juin 2011.
- [311] Alyssa M. Krasinskas. EGFR Signaling in Colorectal Carcinoma. *Pathology Research International*. Volume 2011, Article ID 932932, 6 pages.
« <http://dx.doi.org/10.4061/2011/932932> »
- [312] J. Lamoril. Kras et cancer colorectal : un pas de géant vers la médecine personnalisée. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*. (2009) 24, 196-209. Doi : 10.1016/j.immbio.2009.05.001.
- [313] Charlotte Domblides. Traitement des progressions tumorales dans le cancer du poumon muté EGFR : à propos d'une cohorte de patients métastatiques suivis à l'Institut Bergonié. Université de Bordeaux. 30 octobre 2015.
- [314] Valentin T, Bonnet D, Guimbaud R. Thérapeutiques ciblées « pour les nuls » : modes d'action des anti-EGFR et des anti-VEGF. *Hepato Gastro* 2011 ; 18 : S4-S17. doi : 10.1684/hpg.2011.0571.
- [315] Frédéric Viret, Anthony Gonçalves. Cancer colorectaux métastatiques et thérapies ciblées anti-EGFR. *MEDECINE/SCIENCES* 2009 ; 25 (hors série n° 1) : 13-20.
- [316] C. Audigier-Valette. Les inhibiteurs de tyrosine kinase de l'EGFR dans le CBNPC : sont-ils tous identiques ? *La Lettre du Cancérologue* • Vol. XXIII - n° 6 - juin 2014. 225-235.
- [317] Simon Baldacci, Alexi Cortot. Cancers bronchiques non à petites cellules EGFR mutés. *Revue des Maladies Respiratoires Actualités* (2016) 8, 373-381.

- [318] Gandomani, H. et al. Colorectal cancer in the world: incidence, mortality and risk factors. *Biomedical Research and Therapy*, 4(10), 1656-1675.
« <https://doi.org/https://doi.org/10.15419/bmrat.v4i10.372> »
- [319] DLH. Chan. Epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitors for metastatic colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev*. 2017 Jun 27;6:CD007047. doi: 10.1002/14651858.CD007047.pub2.
- [320] « <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-sante/Les-chiffres-du-cancer-en-France/Epidemiologie-des-cancers/Les-cancers-les-plus-frequents/Cancer-colorectal> »
- [321] « <https://www.santepubliquefrance.fr/Accueil-Presse/Tous-les-communiqués/Cancer-colorectal-18-000-deces-par-an> »
- [322] Volker Heinemann. Clinical relevance of EGFR- and KRAS-status in colorectal cancer patients treated with monoclonal antibodies directed against the EGFR. *Cancer Treatment Reviews*. Volume 35, Issue 3, May 2009, Pages 262-271.
« <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2008.11.005> »
- [323] C. Dreyer et al. Les thérapies ciblées et leurs indications dans les tumeurs solides. *La Revue de médecine interne* 30 (2009) 416-424.
- [324] « <https://ecm.univ-rennes1.fr/nuxeo/site/esupversions/27f913c1-7517-4f8c-980a-7d5c08e5f313?inline> »
- [325] Harlé A, Merlin JL. Biomarqueurs prédictifs de réponse aux thérapies ciblées en oncologie. *Ann Biol Clin* 2013 ; 71(spécial 1) : 89-97 doi:10.1684/abc.2013.0906.
- [326] Anne-Pascale Laurenty, Janick Selves, Rosine Guimbaud. Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique. POST'U 2014 – Paris.
- [327] Thierry André. Les indications et le maniement des anticorps anti-EGFR dans les cancers colorectaux. *Hépatogastro*, vol.15, numéro spécial, septembre 2008.
- [328] « http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000558/WC500029119.pdf »
- [329] « <http://www.arcagy.org/infocancer/traitement-du-cancer/traitements-systemiques/therapies-ciblees/les-inhibiteurs-des-facteurs-de-croissance/de-l-egfr.html> »

[330] « <http://www.omedit-idf.fr/wp-content/uploads/2016/07/justiferbitux062016.pdf> »

[331]

« http://www.omeditbretagne.fr/lrportal/documents/138946/149000/newsletterCCR_antiEGFR+V0.pdf/af357b04-eefe-4bd9-82f1-806e8ce6194f »

[332] HAS. Commission de la Transparence. Cétuximab. Avis 2 décembre 2015.

« https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14100_ERBITUX_PIC_REEV_Avis3_CT14100.pdf »

[333] Cunningham et al. Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med*. 2004 Jul 22;351(4):337-45.

[334] HAS. Commission de la Transparence. Cétuximab. Avis 16 mars 2005.

« <https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/ct031761.pdf> »

[335] B. Landi. Cétuximab (Erbix®) dans le traitement du cancer colorectal métastatique. *La lettre de l'hépto-gastroentérologue* - n° 2 - vol. VIII - mars-avril 2005. 81-82.

[336] « http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000741/WC500047710.pdf »

[337] HAS. Commission de la Transparence. Panitumumab. Avis 8 mars 2017.

« https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-14509_VECTIBIX_PIS_RCP_Avis1_CT14509.pdf »

[338] « « <http://www.omedit-idf.fr/wp-content/uploads/2018/04/justifvectibix022018.pdf> » »

[339] Douillard JY, Oliner KS, Siena S, et al. Panitumumab-FOLFOX4 treatment and RAS mutations in colorectal cancer. *N Engl J Med* 2013 ; 369 : 1023-34.

[340] Köhne CH et al. First-line panitumumab plus irinotecan/5-fluorouracil/leucovorin treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*. 2012 Jan;138(1):65-72. doi: 10.1007/s00432-011-1061-6.

[341] Peeters M et al. Analysis of KRAS/NRAS Mutations in a Phase III Study of Panitumumab with FOLFIRI Compared with FOLFIRI Alone as Second-line Treatment for Metastatic

Colorectal Cancer. Clin Cancer Res. 2015 Dec 15;21(24):5469-79. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-15-0526.

[342] HAS. Commission de la Transparence. Panitumumab. Avis 8 avril 2008.

« <https://www.amgen.fr/~/media/amgen/full/www-amgen-com/www-amgen-fr/downloads/fr-pdf-018.ashx?la=fr-FR> »

[343] Van Cutsem E et al. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer. J Clin Oncol. 2007 May 1;25(13):1658-64.

[344] IFCT. Biomarqueurs et cancers du poumon : l'IFCT (Intergroupe Francophone de Cancérologie Thoracique) et Roche travaillent ensemble pour offrir plus de chances aux malades. 21 janvier 2010.

« http://www.roche.fr/medias/actualites/biomarqueurs_et_cancers_du_poumon.html »

[345] Simon J. Hollingsworth. Precision medicine in oncology drug development: a pharma perspective. Drug Discov Today. 2015 Dec;20(12):1455-63. doi: 10.1016/j.drudis.2015.10.005.

[346] IALC. 2015 LUNG CANCER FACT SHEET. ASLC Highlights Promising Advances. 30 novembre 2015. « <https://www.iaslc.org/lung-cancer-fact-sheet-2015-europe> »

[347] Lung Cancer Europe. LuCE Report on lung cancer. November 2016.

[348] Séries Guide pour les Patients ESMO. Cancer du poumon non à petites cellules.

« <https://www.esmo.org/content/download/7250/143186/file/FR-Cancer-du-Poumon-non-a-Petites-Cellules-Guide-pour-les-Patients.pdf> »

[349] HAS. Rapport d'orientation. Pertinence du dépistage du cancer broncho-pulmonaire en France. Point de situation sur les données disponibles. Analyse critique des études contrôlées randomisées. 20 janvier 2016.

[350] Mutations de l'EGFR dans le cancer du poumon : mise en évidence d'une cible moléculaire permettant un accès spécifique aux thérapies ciblées, INCa, Boulogne-Billancourt, février 2010.

- [351] Mélody Therezien. Place des thérapies ciblées dans la prise en charge du Cancer Bronchique Non à Petites Cellules (CBNPC). Université de Rennes. 30 mai 2016.
- [352] Collège des Enseignements de Pneumologie. Item 306. Tumeurs du poumon, primitives et secondaires. 2017.
- [353] Globocan. « www.iacr.com »
- [354] « <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-chroniques-et-traumatismes/Cancers/Donnees-par-localisation/Cancer-du-poumon> »
- [355] Karine Jéhannin-Ligier et al. Rapport technique. Projection de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine en 2017. Décembre 2017.
- [356] Cancer bronchique non à petites cellules / Référentiel national de RCP. Version interactive. Décembre 2014.
« <https://www.google.fr/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=2&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjqK3zMbdAhVtxoUKHRAGAW4QFjABegQIARAC&url=http%3A%2F%2Fwww.e-cancer.fr%2Fcontent%2Fdownload%2F119952%2F1432677%2Ffile%2FCancer-Bronchique-NonPetitesCellules-interactif.pdf&usg=AOvVaw2py3tvEYfZBeLiHiUGfdMu> »
- [357] I. Elghissassi et al. La place des inhibiteurs des tyrosine kinases de l'EGFR dans les cancers bronchiques non à petites cellules avancés. La Lettre du Cancérologue • Vol. XX - n° 10 - décembre 2011. 604-854.
- [358] HAS. Guide méthodologique. Test compagnon associé à une thérapie ciblée : définitions et méthode d'évaluation. Février 2014.
- [359] William Jacot. Les Thérapies Ciblées les plus utilisées dans les Traitements Anti-Cancéreux. ICM. 14 octobre 2014.
- [360] « <http://lesdonnees.e-cancer.fr/Themes/Soins/Les-tests-de-genetique-somatique/Cancer-colorectal-les-tests-de-genetique-somatique> »
- [361] « http://www.institut-oncologie-thoracique.com/archives/niveau_de_mutation/mutation-egfr-c-2156gc-g719a »

[362] Fukuoka M et al. (2011) Biomarker analyses and final overall survival results from a phase III, randomized, open-label, first-line study of gefitinib versus carboplatin/paclitaxel in clinically selected patients with advanced non-small-cell lung cancer in Asia (IPASS). *J Clin Oncol* 29 : 2866–2874.

[363] Maemondo M et al. (2010) Gefitinib or chemotherapy for non-small-cell lung cancer with mutated EGFR. *N Eng J Med* 362(25) : 2380–2388.

[364] Mitsudomi T et al. (2010) Gefitinib versus cisplatin plus docetaxel in patients with non-small-cell lung cancer harbouring mutations of the epidermal growth factor receptor (WJTOG3405): an open label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 11(2) : 121–128.

[365] Mok TS et al. (2009) Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Eng J Med* 361(10) : 947–957.

[366] Rosell R et al. (2012) Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC). *Lancet Oncol* 13(3) : 239–246.

[367] Zhou C et al. (2011) Erlotinib versus chemotherapy as first-line treatment for patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (OPTIMAL, CTONG0802): a multi-centre, open-label, randomised, phase 3 study. *Lancet Oncol* 12(8) : 735–742.

[368] Sequist LV et al. (2013) Phase III study of afatinib or cisplatin plus pemetrexed in patients with metastatic lung adenocarcinoma with EGFR mutations. *J Clin Oncol* 31(27) : 3327–3334.

[369] P. Fumoleau et al. Les nouvelles cibles thérapeutiques. Les nouvelles thérapeutiques ciblées. *Cancer du sein: Compte-rendu du cours supérieur francophone de cancérologie* (Saint-Paul-de-Vence, 13–15 janvier 2005) (pp.233-266). DOI 10.1007/2-287-31109-2_13.

[370] « http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000618/WC500033994.pdf »

[371] HAS. Commission de la transparence. Erlotinib. 6 Juin 2012.

« http://www.roche.fr/content/dam/roche_france/fr_FR/doc/Tarceva_EISC_06-06-2012.pdf »

[372] « <https://ansm.sante.fr/S-informer/Informations-de-securite-Lettres-aux-professionnels-de-sante/Tarceva-R-erlotinib-et-nouvelles-restrictions-dans-l-indication-Lettre-aux-professionnels-de-sante> »

[373] Mylène Chapeau. Chimiothérapie orale et soins de support : Enquête sur les besoins des pharmaciens d'officine. Création du lien ville-hôpital. Université d'Angers. 8 décembre 2016.

[374] Román Pérez-Soler et al. Determinants of Tumor Response and Survival With Erlotinib in Patients With Non-Small-Cell Lung Cancer. *Journal of Clinical Oncology* 2004 22:16, 3238-3247.

[375] Paz-Ares L. Clinical outcomes in non-small-cell lung cancer patients with EGFR mutations: pooled analysis. *J Cell Mol Med.* 2010 Jan;14(1-2):51-69. doi: 10.1111/j.1582-4934.2009.00991.x.

[376] Jacques Cadranel. Intérêt des biomarqueurs pour prédire l'efficacité des inhibiteurs de tyrosine kinase anti-EGFR, données du projet ERMETIC. *La Lettre du Pneumologue* • Vol. XIII - n° 2 - mars-avril 2010. 66-67.

[377] Federico Capuzzo et al. Erlotinib as maintenance treatment in advanced non-small-cell lung cancer: a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 study. *The Lancet Oncology* 11(6):521-9 · June 2010. DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70112-1.

[378]

« <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/results/NCT00556712?term=NCT00556712.&rank=1§=Xsrpnmlkjhgfedcba9870156#outcome22> »

[379] Costa C et al. The impact of EGFR T790M mutations and BIM mRNA expression on outcome in patients with EGFR-mutant NSCLC treated with erlotinib or chemotherapy in the randomized phase III EURTAC trial. *Clin Cancer Res.* 2014 Apr 1;20(7):2001-10. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-13-2233.

[380] afmps. Communication directe aux Professionnels de la santé. Tarceva® (erlotinib): L'indication du traitement de maintenance de première ligne est à présent limitée aux patients dont la tumeur présente une mutation activatrice de l'EGFR. 14 janvier 2016.

« <https://www.afmps.be/sites/default/files/downloads/DHPC%20Tarceva%20FR%20-%20Website.pdf> »

[381] « http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/001016/WC500036358.pdf »

[382] HAS. Commission de la transparence. Géfitinib. 4 novembre 2009. « https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2009-11/iressa_-_ct-6839_2009-11-30_10-32-47_442.pdf »

[383] Douillard JY et al. Molecular predictors of outcome with gefitinib and docetaxel in previously treated non-small-cell lung cancer: data from the randomized phase III INTEREST trial. *J Clin Oncol*. 2010 Feb 10;28(5):744-52. doi: 10.1200/JCO.2009.24.3030.

[384] « http://www.ema.europa.eu/docs/fr_FR/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/002280/WC500152392.pdf »

[385] P Dielenseger et al. L'afatinib, un inhibiteur de la famille ErbB Données pratiques d'utilisation dans le traitement du cancer bronchique non à petites cellules. *Bulletin Infirmier du Cancer*. Vol.14-n°2-avril-mai-juin 2014. 42-46.

[386] HAS. Commission de la Transparence. Afatinib. 25 mai 2016. « https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15034_GIOTRIF_PIC_REEV_Avis2_CT15034.pdf »

[387] HAS. Synthèse d'avis de la Commission de la Transparence. Afatinib. Février 2014. « https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2014-07/giotrif__sapub_ct13272.pdf »

[388] HAS. Commission de la Transparence. Osimertinib. 13 septembre 2017. « https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15996_TAGRISSO_PIC_REEV_Avis3_CT15996.pdf »

[389] « http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20180607141123/anx_141123_fr.pdf »

[390] HAS. Commission de la Transparence. Osimertinib. 21 septembre 2016. « https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15113_TAGRISSO_PIC_INS_Avis3_CT15113.pdf »

- [391] HAS. Synthèse d'avis de la commission de la Transparence. Osimertinib. Septembre 2017. « https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2018-04/tagrisso_synthese_ct15996.pdf »
- [392] « <http://www.e-cancer.fr/Patients-et-proches/Se-faire-soigner/Traitements/Therapies-ciblees-et-immunotherapie-specifique/Acces-aux-nouveaux-traitements> »
- [393] Frank Hermann. Illuminating ideas : Innovative clinical trial design.
« www.roche.com »
- [394] Pascale Dielenseger. Les essais cliniques en oncologie. Bulletin Infirmier du Cancer. Vol.2-n°4-octobre-novembre-décembre 2002. 6-15.
- [395] Rapport ANSM. Conduite des essais cliniques de médicaments en onco/hématologie ciblés, guidés par la génomique. Décembre 2014.
- [396] Simon R. Genomic Alteration-Driven Clinical Trial Designs in Oncology. *Ann Intern Med.* 2016 Aug 16;165(4):270-8. doi: 10.7326/M15-2413.
- [397] Dominique GENET. Particularité de la recherche clinique en cancérologie.
« http://www.aacc.fr/IMG/pdf/j21_m5_essais_cliniques.pdf »
- [398] « https://www.ligue-cancer.net/article/37840_les-differentes-phases-des-essais-cliniques »
- [399] Brigitte Tranchand et al. Méthodologie des essais cliniques en cancérologie. *La Lettre du Pharmacologue* - vol. 22 - n° 3 - juillet-août-septembre 2008. 98-110.
- [400] « <https://www.fondation-arc.org/essais-cliniques-en-oncologie> »
- [401] Derhaschnig U et al. Combined integrated protocol/basket trial design for a first-in-human trial. *Orphanet J Rare Dis.* 2016 Oct 4;11(1):134.
- [402] Zardavas D et al. Clinical Trials of Precision Medicine through Molecular Profiling: Focus on Breast Cancer. *Am Soc Clin Oncol Educ Book.* 2015:e183-90. doi: 10.14694/EdBook_AM.2015.35.e183.
- [403] Wen Li et al. Estimation of treatment effect in two-stage confirmatory oncology trials of personalized medicines. *Statistics in Medicine.* Volume36, Issue12. 30 May 2017. Pages 1843-1861.

- [404] Menis J et al. New clinical research strategies in thoracic oncology: clinical trial design, adaptive, basket and umbrella trials, new end-points and new evaluations of response. *Eur Respir Rev*. 2014 Sep;23(133):367-78. doi: 10.1183/09059180.00004214.
- [405] Cunanan KM et al. An efficient basket trial design. *Stat Med*. 2017 May 10;36(10):1568-1579. doi: 10.1002/sim.7227.
- [406] Renfro LA et al. Statistical controversies in clinical research: basket trials, umbrella trials, and other master protocols: a review and examples. *Ann Oncol*. 2017 Jan 1;28(1):34-43. doi: 10.1093/annonc/mdw413.
- [407] West HJ. Novel Precision Medicine Trial Designs: Umbrellas and Baskets. *JAMA Oncol*. 2017 Mar 1;3(3):423. doi: 10.1001/jamaoncol.2016.5299.
- [408] Stephen Ornes. Core Concept: Basket trial approach capitalizes on the molecular mechanisms of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2016 Jun 28; 113(26): 7007–7008. doi: 10.1073/pnas.1608277113.
- [409] Simon R et al. The Bayesian basket design for genomic variant-driven phase II trials. *Semin Oncol*. 2016 Feb;43(1):13-18. doi: 10.1053/j.seminoncol.2016.01.002.
- [410] Redig AJ et al. Basket trials and the evolution of clinical trial design in an era of genomic medicine. *J Clin Oncol*. 2015 Mar 20;33(9):975-7. doi: 10.1200/JCO.2014.59.8433.
- [411] Catenacci DV. Next-generation clinical trials: Novel strategies to address the challenge of tumor molecular heterogeneity. *Mol Oncol*. 2015 May;9(5):967-96. doi: 10.1016/j.molonc.2014.09.011.
- [412] Beckman RA et al. Adaptive Design for a Confirmatory Basket Trial in Multiple Tumor Types Based on a Putative Predictive Biomarker. *Clin Pharmacol Ther*. 2016 Dec;100(6):617-625. doi: 10.1002/cpt.446.
- [413] Cong Chen et al. Statistical Design and Considerations of a Phase 3 Basket Trial for Simultaneous Investigation of Multiple Tumor Types in One Study. *Statistics in Biopharmaceutical Research*. Volume 8, 2016 - Issue 3. 248-257.
- [414] Tao JJ et al. Basket Studies: Redefining Clinical Trials in the Era of Genome-Driven Oncology. *Annu Rev Med*. 2018 Jan 29;69:319-331. doi: 10.1146/annurev-med-062016-050343.

[415] Memorial Sloan Kettering Cancer Center. "'Basket study': Clinical trial design explores responses to drugs based on specific mutations in patients' tumors." ScienceDaily.

ScienceDaily, 19 August 2015.

« www.sciencedaily.com/releases/2015/08/150819211344.htm »

[416] Jim Stallard. Clinical Trial Shows Promise of “Basket Studies” for Cancer Drugs.

Memorial Sloan Kettering Cancer Center. August 20, 2015.

[417] Pauporté I. Les essais cliniques en cancérologie : spécificités, structures et

financements. DIU Chef de Projet / infirmiers & techniciens en recherche clinique. Institut National du Cancer. Département de Recherche Clinique. 13 mars 2015.

[418] « <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-la-recherche/Recherche-clinique/Le-programme-AcSe/L-essentiel> »

[419] Gilles Vassal et al. Biomarker-driven access to crizotinib in ALK, MET or ROS1 positive malignancies in adults and children : feasibility of the French National AcSé Program. 2014 ASCO conference, Chicago.

[420] « http://www.unicancer.fr/sites/default/files/Graph_AcSe_Crizo_V4_0.png »

[421] « https://www.fondation-arc.org/sites/default/files/2018-06/CP%20ASCO%20CRIZOTINIB_vdef.pdf »

[422] Gilles Vassal et al. Biomarker-driven access to crizotinib in ALK, MET, or ROS1 positive (+) malignancies in adults and children: The French National AcSé Program. Journal of Clinical Oncology 2018 36:15_suppl, 2504-2504.

[423] Final results of the AcSé-crizotinib national programme : Demonstration of equal and safe access to a targeted therapy beyond its initial indications. Highlights. Gustave Roussy at ASCO 2018. « <https://www.gustaveroussy.fr/sites/default/files/highlights-gustave-roussy-asco-2018-en.pdf> »

[424] HAS. Commission de la Transparence. Crizotinib. 5 juillet 2017. « https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15718_XALKORI_PIC_EI_ROS1_AvisPostAud_CT15718.pdf »

[425] « <http://www.unicancer.fr/sites/default/files/Graph2a-acse-vemu-VF.png> »

- [426] J-Y. Blay et al. Vemurafenib (VM) in non-melanoma V600 and non-V600 BRAF mutated cancers: first results of the ACSE trial. *Annals of Oncology*, Volume 27, Issue suppl_6, 1 October 2016, 55PD, <https://doi.org/10.1093/annonc/mdw363.04>.
- [427] Xavier Troussard et al. Vemurafenib in Advanced Patients with Hairy Cell Leukemia (HCL): Results of the Acsé Phase II Trial. *Blood*, 130(Suppl 1), 156. Accessed September 19, 2018. Retrieved from « http://www.bloodjournal.org/content/130/Suppl_1/156 »
- [428] Jean-Yves Blay et al. Biomarker-driven access to vemurafenib in BRAF-positive cancers: Second study of the French National AcSé Program. *Journal of Clinical Oncology* 2016 34:15_suppl, TPS11620-TPS11620.
- [429] Mazieres, Julien et al. P3.02a-034 Vemurafenib in Patients with Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC) Harboring BRAF Mutation. Preliminary Results of the AcSé Trial. *Journal of Thoracic Oncology* , Volume 12 , Issue 1 , S1182 - S1183.
- [430] Frédérique Nowak. Rôle de l'INCa dans le soutien de la recherche et des groupes coopérateurs. Institut National du Cancer. Symposium « Immunopathologie et cancers ». 27 mars 2018.
- [431] « <http://www.e-cancer.fr/Professionnels-de-la-recherche/Recherche-clinique/Le-programme-AcSe/AcSe-immunotherapie> »
- [432] « <http://www.e-cancer.fr/Actualites-et-evenements/Actualites/Programme-AcSe-deux-nouveaux-essais-dedies-aux-patients-atteints-d-un-cancer-rare> »
- [433] www.unicancer.fr/la-recherche-unicancer/les-groupes-transversaux/groupe-immuno-oncologie
- [434] Olivier Michel. Biologie moléculaire Protocole Acsé. 7 décembre 2017.
- [435] Anthony Gonçalves. Nouvelles approches des essais thérapeutiques à l'heure de la médecine personnalisée. « <https://docplayer.fr/4584602-Nouvelles-approches-des-essais-therapeutiques-a-l-heure-de-la-medecine-personnalisee.html> »
- [436] « <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01524978> »
- [437] David M. Hyman et al. Vemurafenib in Multiple Nonmelanoma Cancers with BRAF V600 Mutations. *N Engl J Med* 2015;373:726-36. DOI: 10.1056/NEJMoa1502309.

- [438] EliL Diamond et al. Vemurafenib for BRAF V600–Mutant Erdheim-Chester Disease and Langerhans Cell Histiocytosis. Analysis of Data From the Histology-Independent, Phase2, Open-label VE-BASKET Study. *JAMA Oncology* 4(3) · November 2017. DOI: 10.1001/jamaoncol.2017.5029.
- [439] David Michael Hyman et al. VE-BASKET, a first-in-kind, phase II, histology-independent “basket” study of vemurafenib (VEM) in nonmelanoma solid tumors harboring BRAF V600 mutations (V600m). *Journal of Clinical Oncology* 2014 32:15_suppl, 2533-2533.
- [440] Diamond, E. L. et al. Vemurafenib in Patients with Erdheim-Chester Disease (ECD) and Langerhans Cell Histiocytosis (LCH) Harboring BRAFV600 Mutations: A Cohort of the Histology-Independent VE-Basket Study. *Blood*, 128(22), 480. Accessed September 20, 2018. Retrieved from « <http://www.bloodjournal.org/content/128/22/480> »
- [441] FDA Announces First Approval of Targeted Therapy Based on Basket Study. Memorial Sloan Kettering Cancer Center. November 6, 2017.
- [442] « <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01524926> »
- [443] Schöffski P et al. Activity and safety of crizotinib in patients with advanced clear-cell sarcoma with MET alterations: European Organization for Research and Treatment of Cancer phase II trial 90101 'CREATE'. *Ann Oncol.* 2017 Dec 1;28(12):3000-3008. doi: 10.1093/annonc/mdx527.
- [444] Schöffski P et al. Activity and safety of crizotinib in patients with alveolar soft part sarcoma with rearrangement of TFE3: European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) phase II trial 90101 'CREATE'. *Ann Oncol.* 2018 Mar 1;29(3):758-765. doi: 10.1093/annonc/mdx774.
- [445] Schöffski P et al. The tyrosine kinase inhibitor crizotinib does not have clinically meaningful activity in heavily pre-treated patients with advanced alveolar rhabdomyosarcoma with FOXO rearrangement: European Organisation for Research and Treatment of Cancer phase 2 trial 90101 'CREATE'. *Eur J Cancer.* 2018 May;94:156-167. doi: 10.1016/j.ejca.2018.02.011.

[446] Schöffski P et al. Crizotinib in patients with advanced, inoperable inflammatory myofibroblastic tumours with and without anaplastic lymphoma kinase gene alterations (European Organisation for Research and Treatment of Cancer 90101 CREATE): a multicentre, single-drug, prospective, non-randomised phase 2 trial. *Lancet Respir Med*. 2018 Jun;6(6):431-441. doi: 10.1016/S2213-2600(18)30116-4.

[447] « <http://www.eortc.org/blog/2017/09/20/publication-of-eortc-90101-create-phase-ii-trial/> »

[448] Schöffski P et al. Crizotinib achieves objective responses and long-lasting disease control in patients with metastatic papillary renal cell carcinoma type 1 (pRCC1) with somatic MET mutations. EORTC phase II trial 90101 'CREATE.' 2016 AACR Annual Meeting. Abstract CT006. Presented April 17, 2016.

[449] « https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT02568267?show_locs=Y#locn »

[450] Alexander Drilon et al. Abstract CT060: STARTRK-2: A global phase 2, open-label, basket study of entrectinib in patients with locally advanced or metastatic solid tumors harboring TRK, ROS1, or ALK gene fusions. *Cancer Res* July 1 2017 (77) (13 Supplement) CT060; DOI: 10.1158/1538-7445.AM2017-CT060.

[451] Pete Knox. Ignyta Announces Results for Potential New Cancer Treatment. July 12th, 2016. The Life Raft Group.

[452] Drilon A, De Braud FG, Siena S, et al. Entrectinib, an oral pan-Trk, ROS1, and ALK inhibitor in TKI-naïve patients with advanced solid tumors harboring gene rearrangements. Presented at the 2016 AACR Annual Meeting; April 16-20, New Orleans, Louisiana. Abstract CT007.

[453] « <https://www.businesswire.com/news/home/20171017006907/en/Interim-Analysis-Ignyta's-Entrectinib-Suggests-Potential-Best-in-Class> »

[454] Lisa Astor. Potential Seen for Entrectinib for Specific Patients With Sarcoma Harboring Genetic Rearrangements. *Targeted Oncology*. Published Online: Dec 08, 2017.

[455] P. Multani et al. Poster 080 #2798661 Preliminary evidence of clinical response to entrectinib in three sarcoma patients. CTOS Annual Meeting. November 8 - 11, 2017.

[456] Dazhi Liu et al. Entrectinib: an orally available, selective tyrosine kinase inhibitor for the treatment of NTRK, ROS1, and ALK fusion-positive solid tumors. *Ther Clin Risk Manag.* 2018; 14: 1247–1252. doi: 10.2147/TCRM.S147381.

[457] Dennis J. Slamon et al. Use of Chemotherapy plus a Monoclonal Antibody against HER2 for Metastatic Breast Cancer That Overexpresses HER2. *N Engl J Med* 2001; 344:783-792. 15 Mars 2001. DOI: 10.1056/NEJM200103153441101

[458]

« https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT01953926?term=nct01953926&rank=1&show_locs=Y#locn »

[459] Hyman DM et al. HER kinase inhibition in patients with HER2- and HER3-mutant cancers. *Nature.* 2018 Feb 8;554(7691):189-194. doi: 10.1038/nature25475.

[460] Alley EW et al. Clinical safety and activity of pembrolizumab in patients with malignant pleural mesothelioma (KEYNOTE-028): preliminary results from a non-randomised, open-label, phase 1b trial. *Lancet Oncol.* 2017 May;18(5):623-630. doi: 10.1016/S1470-2045(17)30169-9.

[461] Ott PA et al. Safety and antitumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with recurrent carcinoma of the anal canal. *Ann Oncol.* 2017 May 1;28(5):1036-1041. doi: 10.1093/annonc/mdx029.

[462] Hsu C et al. Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Patients With Programmed Death-Ligand 1-Positive Nasopharyngeal Carcinoma: Results of the KEYNOTE-028 Study. *J Clin Oncol.* 2017 Dec 20;35(36):4050-4056. doi: 10.1200/JCO.2017.73.3675.

[463] 427O – Mehnert JM, et al. Pembrolizumab for patients with PD-L1–positive advanced carcinoid or pancreatic neuroendocrine tumors: results from the KEYNOTE-028 study. *Annals of Oncology*, Volume 28, Issue suppl_5, 1 September 2017, mdx368, « <https://doi.org/10.1093/annonc/mdx368> »

[464] David A et al. ATIM-35. Results of the phase IB KEYNOTE-028 multi-cohort trial of pembrolizumab monotherapy in patients with recurrent PD-L1-positive glioblastoma

multiforme (GBM). *Neuro-Oncology*, Volume 18, Issue suppl_6, 1 November 2016, Pages vi25–vi26. « <https://doi.org/10.1093/neuonc/now212.100> »

[465] Andrea Varga et al. Pembrolizumab in patients (pts) with PD-L1–positive (PD-L1+) advanced ovarian cancer: Updated analysis of KEYNOTE-028. *Journal of Clinical Oncology* 2017 35:15_suppl, 5513-5513.

[466] Y.J. Bang et al. 525 POSTER : Safety and efficacy of pembrolizumab (MK-3475) in patients (pts) with advanced biliary tract cancer: Interim results of KEYNOTE-028. *European Journal of Cancer*, v.51, 2015 Sept, p.S112. « <http://dx.doi.org/10.1016/S0959-8049> »

[467] Ott PA et al. Pembrolizumab in Patients With Extensive-Stage Small-Cell Lung Cancer: Results From the Phase Ib KEYNOTE-028 Study. *J Clin Oncol*. 2017 Dec 1;35(34):3823-3829. doi: 10.1200/JCO.2017.72.5069.

[468] Doi T et al. Safety and Antitumor Activity of the Anti-Programmed Death-1 Antibody Pembrolizumab in Patients With Advanced Esophageal Carcinoma. *J Clin Oncol*. 2018 Jan 1;36(1):61-67. doi: 10.1200/JCO.2017.74.9846.

[469] Frenel JS et al. Safety and Efficacy of Pembrolizumab in Advanced, Programmed Death Ligand 1-Positive Cervical Cancer: Results From the Phase Ib KEYNOTE-028 Trial. *J Clin Oncol*. 2017 Dec 20;35(36):4035-4041. doi: 10.1200/JCO.2017.74.5471.

[470] O'Neil BH et al. Safety and antitumor activity of the anti-PD-1 antibody pembrolizumab in patients with advanced colorectal carcinoma. *PLoS One*. 2017 Dec 28;12(12):e0189848. doi: 10.1371/journal.pone.0189848. eCollection 2017.

[471] Cohen RB et al. Pembrolizumab for the Treatment of Advanced Salivary Gland Carcinoma: Findings of the Phase 1b KEYNOTE-028 Study. *Am J Clin Oncol*. 2018 Feb 21. doi: 10.1097/COC.0000000000000429.

[472] Rugo HS et al. Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Patients with Estrogen Receptor-Positive/Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Negative Advanced Breast Cancer. *Clin Cancer Res*. 2018 Jun 15;24(12):2804-2811. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3452.

[473] Ott PA et al. Safety and Antitumor Activity of Pembrolizumab in Advanced Programmed Death Ligand 1-Positive Endometrial Cancer: Results From the KEYNOTE-028 Study. *J Clin Oncol*. 2017 Aug 1;35(22):2535-2541. doi: 10.1200/JCO.2017.72.5952.

[474] Hansen AR et al. Pembrolizumab for advanced prostate adenocarcinoma: findings of the KEYNOTE-028 study. *Ann Oncol*. 2018 Aug 1;29(8):1807-1813. doi: 10.1093/annonc/mdy232.

[475] Matthew Stenger. Pembrolizumab in MSI-H or dMMR Solid Tumors: ‘First Tissue/Site-Agnostic’ Approval by FDA. *The Asco post*. February 10, 2018.

[476] « <https://www.fda.gov/newsevents/newsroom/pressannouncements/ucm560167.htm> »

[477] Eric D. Slosberg et al. Signature program: a platform of basket trials. *Oncotarget*. 2018; 9:21383-21395. « <https://doi.org/10.18632/oncotarget.25109>

[478] BP Kang et al. The Signature Program: Bringing the Protocol to the Patient. *Clin Pharmacol Ther*. 2015 Aug; 98(2): 124–126. doi: 10.1002/cpt.126.

[479] Christin Melton. Novel Trial Program Puts Patients First. *Targeted Oncology*. Published Online:7:25 PM, Mon February 16, 2015.

[480] Tony Berberabe. Signature Trial Program Aims for Rapid Delivery of Novel Therapies. *OncologyLive* > Vol. 17/No. 15 > Published: Thursday, Aug 04, 2016.

[481] Drilon A et al. Efficacy of Larotrectinib in TRK Fusion-Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med*. 2018 Feb 22;378(8):731-739. doi: 10.1056/NEJMoa1714448.

[482] Yu Chen and Ping Chi. Basket trial of TRK inhibitors demonstrates efficacy in TRK fusion-positive cancers *J Hematol Oncol*. 2018; 11: 78. doi: 10.1186/s13045-018-0622-4.

[483] Loxo Oncology Announces Publication of Larotrectinib Clinical Data in The New England Journal of Medicine. Feb 21, 2018. « <https://ir.loxooncology.com/press-releases/loxo-oncology-announces-publication-of-larotrectinib-clinical-data-in-the-new-england-journal-of-medicine> »

[484] « https://www.drugs.com/nda/larotrectinib_180529.html »

[485] Richard Simon (2017): New Designs for Basket Clinical Trials in Oncology, *Journal of Biopharmaceutical Statistics*, DOI: 10.1080/10543406.2017.1372779.

[486] Surabhi Dangi-Garimella. New Oncology Clinical Trial Designs: What Works and What Doesn't? Evidence-Based Oncology. The American Society of Clinical Oncology Annual Meeting, 2015 – Published on: July 10, 2015.

[487] Nancy Meredith. “Basket Study” May Open Doors for Clinical Trials for Mesothelioma Patients. Mesothelioma Counsel. Posted on Thursday, Sep 10, 2015.

« <https://www.mesotheliomacounsel.com/blog/2015/09/basket-study-may-open-doors-for-clinical-trials-for-mesothelioma-patients> »

[488] Laurie Musial. “Basket Trials” Mark An Exciting New Era In Cancer Research and Treatment. Formerly of Roswell Park Comprehensive Cancer Center. Tuesday, December 22, 2015. « <https://www.roswellpark.org/cancertalk/201512/basket-trials-mark-exciting-new-era-cancer-research-and-treatment> »

[489] Kathleen Ruddy. Basket Studies: The Next Frontier In Breast Cancer Research. Breast Health. Mar 3, 2015.

[490] Mary Garland. Memorial Sloan Kettering Cancer Center Announces Innovative Basket Study. The Life Raft Group. August 26th, 2015.

[491] Biankin AV, Piantadosi S, Hollingsworth SJ. Patient-centric trials for therapeutic development in precision oncology. *Nature*. 2015 Oct 15;526(7573):361-70. doi: 10.1038/nature15819

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence de mes maîtres de la Faculté, des conseillers de l'Ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

- ❖ D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.*
- ❖ D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- ❖ De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.*
- ❖ En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.*

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

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