

UNIVERSITE DE PICARDIE JULES VERNE

FACULTE DE MEDECINE D'AMIENS

Année 2018

N° 2018-144

**Epidémiologie, pronostic et chimiosensibilité  
des mutations BRAF non V600E des  
adénocarcinomes colorectaux métastatiques**

THESE POUR LE DOCTORAT EN MEDECINE HEPATO-GASTROENTEROLOGIE

DIPLOME D'ETAT

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 9 OCTOBRE 2018

PAR

**ALINE DEROSIERE**

PRESIDENT DU JURY : Monsieur le Professeur Eric NGUYEN-KHAC

MEMBRES DU JURY : Monsieur le Professeur Denis CHATELAIN

Monsieur le Professeur Bruno CHAUFFERT

Monsieur le Professeur Charles SABBAGH

DIRECTEUR DE THESE : Monsieur le Docteur Vincent HAUTEFEUILLE

*A mon Maître,*

**Monsieur le Professeur Eric NGUYEN-KHAC**

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Hépatogastroentérologie et Cancérologie Digestive

Chef de Service

Pôle "Médico-chirurgical digestif, rénal, infectieux, médecine interne et endocrinologie"

(D.R.I.M.E)

*Vous me faites l'honneur de présider ce jury et de juger mon travail, je vous en remercie.*

*Votre expertise et votre rigueur sont à prendre en modèle,*

*Veillez trouver ici l'expression de mon respect et de ma reconnaissance pour votre enseignement.*

*A mon Maître,*

**Monsieur le Professeur Denis CHATELAIN**

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Anatomie et cytologie pathologique

Pôle Oncopôle

*Vous me faites l'honneur de juger ce travail,*

*Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.*

*A mon Maître,*

**Monsieur le Professeur Bruno CHAUFFERT**

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Oncologie médicale

Chef de Service

Pôle Oncopôle

*Vous me faites l'honneur de juger ce travail,*

*Merci pour vos conseils avisés et votre disponibilité au sein de votre service et lors des réunions de concertation pluridisciplinaire,*

*Veillez trouver ici l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.*

*A mon Maître,*

**Monsieur le Professeur Charles SABBAGH**

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Chirurgie Digestive

Pôle "Médico-chirurgical digestif, rénal, infectieux, médecine interne et endocrinologie"

(D.R.I.M.E)

*Tu me fais l'honneur de juger ce travail,*

*Merci pour ta disponibilité et le partage de tes connaissances en cancérologie colorectale.*

*Tu trouveras ici l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.*

*A mon Maître,*

**Monsieur le Docteur Vincent HAUTEFEUILLE**

Praticien Hospitalier

Hépatogastroentérologie et Cancérologie Digestive

Pôle "Médecine-chirurgicale digestive, rénale, infectieuse, médecine interne et endocrinologie"

(D.R.I.M.E)

*Tu me fais l'honneur de diriger ce travail,*

*Je te remercie pour ta disponibilité, ta patience, ton enseignement, ton investissement et ton sens de l'humour,*

*Merci pour les surnoms donnés.*

*Tu trouveras ici l'expression de mon profond respect et de ma reconnaissance.*

## **Remerciements :**

*A Quentin*, pour être à mes côtés à me soutenir, m'encourager, me gronder depuis maintenant 9 ans, merci. Merci d'avoir apporté princesse dans notre foyer qui m'a tenu compagnie pendant la rédaction de cette thèse.

*A mes parents*, merci d'être toujours là pour nous, à nous soutenir et nous encourager. Merci pour le poisson dans le biberon qui nous vaut notre mémoire. Je suis aussi fière d'être votre fille que vous l'êtes de moi aujourd'hui.

*A mon frère, Yérard*, ta rigueur et ton acharnement au travail sont à prendre en modèle, j'aurais dû un peu plus m'en inspirer ces derniers temps, merci pour ton aide, tes conseils et pour ta présence.

*A ma sœur, Dine*, merci d'être là pour planifier les week-end familiaux qui permettent ces moments d'évasion, merci de m'avoir apporté une nièce au cours de cet internat.. j'attends mon neveu avec plaisir !

*A Lara et Benoit*, merci d'être là, merci pour votre soutien et votre gentillesse.

*Aux Issart et Lopez*, merci pour votre confiance, votre présence et merci de m'avoir toujours encouragé !

*A mes oncles, Lionel et Gérald*, contente de vous avoir (re)trouvé ces dernières années, merci pour votre confiance !

*A Clémence*, depuis nos premiers mots échangés, en direction du RU, à notre fameux rendez-vous du 11 novembre, merci d'avoir été là toutes ces années et d'être toujours présente. J'espère qu'on pourra former une équipe gastro péd / adulte !

*A Koro*, pour supporter mes blagues « limites » depuis si longtemps et toujours avec le sourire, pour ta gentillesse, ton rire, pour les photos échangées de nos nièces, pour les soirées avec ton frère et ta sœur, merci pour tout.

*A Virginie, Mélanie, Benoît et Loïc*, alias couple n° 1 et 2, merci d'être toujours disponibles les amis malgré votre éloignement dans des manoirs bretonvillois !

*A Lisa*, depuis nos débuts face à face à la BU, tu es toujours là... DIIIIINGUE !

*A Mathilde*, pour tes bons conseils, les souvenirs de nos sous colles de nos D4, pour m'avoir fait découvrir l'Alsace et le tricot, merci !

*A Margot et Audrey*, pour votre joie de vivre, pour vos mariages qui nous ont permis de nous réunir malgré l'éloignement, pour les chansons de Lemon curd dont je suis fan, merci pour tout !

*A Jordi, Antoine et Elodie*, parce qu'on a fait le Niger ensemble, et que ça me fait toujours autant plaisir de vous revoir !

*A Célia et Clotilde*, alias Min et Schtroumpfette... On s'était dit rendez-vous dans dix ans ? Merci d'être toujours là les filles, de répondre présente !

*A David*, alias l'ange dreamer.. Parce que la distance ne nous a pas fait perdre contact, signe d'une belle amitié, pour tes cours de plongée, pour les potins partagés, merci !

*Au Pr Dupas, Dr Delcenserie*, merci pour votre disponibilité et le partage de vos connaissances.

*Au Dr Joly*, merci pour votre gentillesse, votre disponibilité et votre confiance lorsque vous me confiez vos patients pour la chimio !

*A Franck*, toi qui m'as donné envie de faire gastro il y a maintenant 6 ans, merci !

*A Mathurin et Henri, Justine Thomas et Adrien*, mes chefs de 1° et 2° semestre, bravo pour avoir supporté mon humeur joviale !

*A Marthe, Morgane, Jean Phi*, toujours un plaisir de vous voir !

*A Sami*, merci pour ta présence lors de mes 3 mois aux soins, on apprend tellement à tes côtés !

*A Rux, Val et Justine*, mes anciennes co internes devenues mes chefs, merci les filles pour votre disponibilité et votre soutien !

*A Quentin D*, Toi qui fut mon interne, mon co-interne puis mon chef, merci d'être toujours là babe, merci pour ton petit coup de pression fin août !

*A Marie C-G*, pour ta gentillesse qui nous manque tant, contente de t'avoir côtoyé durant ces 3 dernières années !

*A Julien*, pour ton sourire d'enfant quand tu fais des bêtises avec ma boîte mail, pour ta disponibilité, merci !



*A Marion*, une des plus belles rencontres durant mon internat. Pour les soirées de l'AGEO, pour les cours de body pump (même si ils sont loins !), pour tes conseils et ton soutien, merci pour tout !

*A Clémentine*, nos débuts furent tumultueux mais c'était pour mieux se rattraper ! Merci d'être toujours la première prête à aider. Pour tes conseils ( ? ) vestimentaires et pour ton franc parler, merci !

*A Clarou*, merci d'être toujours disponible et de bon conseil, même outre atlantique. Ta bonne humeur nous manque, reviens nous vite !

*A Marion, Neila et Julie*, merci les filles pour votre soutien ! Vous êtes les plus grandes maintenant, à vous de tenir les rênes ;)

*A Marie V*, pour tes avis hépato, pour ta bonne humeur, pour tes expressions propres à toi-même, pour m'avoir soutenue et surtout supporté ces 6 derniers mois, MERCI !

*A mes co internes Clément, Xixi, Anouck, Joséphine, Oumaima et Lucien.*

*A Dumi*, pour ta gentillesse, tes invitations bien copieuses à Estrées, tes manquements aux cours d'aquabike, pour les 6 mois à tes côtés dans le service, merci !

*A Louissette*, deviens ma secrétaire de consultation ! Merci pour tes courriers si parfaits, ta gentillesse, les cours d'aquabike !

*Aux deux Catherine et à Régine,*

*Aux équipes paramédicales de A et soins continus, d'oncologie médicale, d'HGE à Compiègne et d'Abbeville,*

*A l'équipe paramédicale de B*, « les anciennes », la soit disant « 3° zone », merci et arrêtez de toutes partir !

*A Joeline, Pauline et Cassandra*, vous qui m'avez permis de surmonter ce semestre en radiothérapie, merci !

*A l'équipe du DISSPO et d'HDJ onco* notamment Kim, Virginie, Amandine, Fabienne, Sylvie, merci de prendre soin de moi aussi bien que vous prenez soin des patients !

## RESUME

**Introduction :** Les adénocarcinomes colorectaux métastatiques (CCRm) avec mutation BRAF non V600E sont rares (2,2%). Leur chimiosensibilité n'a jamais été étudiée. L'objectif était d'analyser la chimiosensibilité, leurs caractéristiques cliniques, moléculaires et pronostiques.

**Patients et méthodes :** Il s'agissait d'une cohorte multicentrique rétrospective française incluant les CCRm mutés BRAF non V600E, divisés en 3 groupes : prise en charge curative des métastases (groupe 1, n=35), chimiothérapie palliative (groupe 2, n=63) et soins de confort (groupe 3, n=10).

**Résultats :** Les 108 patients inclus avaient un âge médian au diagnostic métastatique de 66 ans. Leur localisation ainsi que leur dissémination métastatique étaient classiques. Il y avait surtout des adénocarcinomes bien et moyennement différenciés (88%). Les mutations BRAF les plus fréquentes étaient la D594 (34,0%), G469 (14,8%), K601 (11,0%), N581 (6,5%), L597 (6,5%) et V600autres (6,5%). La mutation D594 était préférentiellement rectale, 21,9% des patients avaient une mutation RAS concomitante.

La chimiosensibilité était bonne avec 49,0% de réponse objective et 76,8% de taux de contrôle en 1<sup>ère</sup> ligne dans les groupes 1 et 2. Les taux de réponse étaient semblables entre les antiEGFr et les antiVEGF. La médiane de survie globale (mSG) était de 25,6 mois (IC<sub>95%</sub> = [17,1-43,8]). La mSG pour les groupes 1, 2 et 3 était de 105,1 mois, 16 mois et 8 mois. Il n'existait pas de différence de mSG en fonction du type de mutation (notamment pour D594 et K601) ni de l'impact fonctionnel sur BRAF.

**Conclusion :** Les CCRm mutés BRAF non V600E sont de bon pronostic, avec une bonne chimiosensibilité.

## **ABSTRACT**

**Introduction :** Metastatic colorectal carcinomas (mCRC) harboring BRAF non V600E mutation are rare (2,2%). Their chemosensitivity is unknown. The main objectives were to assess their chemosensitivity, their clinical, molecular and prognostic characteristics.

**Patients and methods :** This French retrospective multicentre cohort included mCRC with a non V600E BRAF mutation, divided into 3 groups : curative management of the metastases (group 1, n=35), chemotherapy alone treatment (group 2, n=63) and best supportive care group (group 3, n=10).

**Results :** 108 patients were included, they had a median age at diagnosis of metastasis of 66 years. Their localization and metastatic spread were usual. mCRC were mostly well to moderately differentiated (88%). D594 (34,0%), G469 (14,8%), K601 (11,0%), N581 (6,5%), L597 (6,5%) and V600others (6,5%) were the most frequent BRAF mutations. D594 mutation was mainly rectal, 21,9% had a concomitant RAS mutation.

Chemosensitivity was good in 1<sup>st</sup> line in group 1 and 2, with an overall response rate of 49,0% and a disease control rate of 76,8%. Response rate between antiEGFr and antiVEGF based regimen was similar. Median overall survival (mOS) was 25,6 months (IC<sub>95%</sub> = [17,1-43,8]). For group 1, 2 and 3, mOS was 105,1 months, 16 months and 8 months. mOS was not different regarding mutation type (especially for D594 and K601) and functional impact on BRAF.

**Conclusion :** non V600E BRAF mutated mCRC have a good prognosis and a good chemosensitivity.

# **TABLE DES MATIERES**

I INTRODUCTION .....	14
II MATERIEL ET METHODES .....	16
A Type d'étude .....	16
B Critères d'inclusion .....	16
C Critères d'exclusion .....	16
D Recueil de données .....	16
1 Méthode .....	16
2 Paramètres recueillis.....	17
3 Analyses de sous groupes .....	17
4 Objectifs de l'étude.....	18
5 Analyses statistiques.....	18
III RESULTATS .....	19
A Données au diagnostic .....	19
1 Caractéristiques de la population.....	19
2 Caractéristiques tumorales.....	19
3 Caractéristiques moléculaires .....	21
4 Impact mutationnel selon l'activité kinase potentielle connue.....	23
5 Type de traitements effectué .....	24
B Données de survie .....	26
1 Survie globale .....	26
IV DISCUSSION .....	28
V CONCLUSION .....	30
VI ANNEXES .....	31
VII REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	33

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

CCRm : cancer colorectal métastatique

BRAF : B-type-Raf-kinase

EGFr : Epidermal Growth Factor receptor

VEGF : Vascular endothelial growth factor

NGS : Next-generation sequencing

SG : Survie globale

mSG : médiane de survie globale

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CNIL : Comité nationale de l'informatique et des libertés

CRLCC : Centre Régional de Lutte Contre le Cancer

OMS : Organisation mondiale de la santé

TNM : Tumor, nodes, metastasis

ACE : Antigène carcino embryonnaire

CA 19-9 : Antigène carbohydate 19-9

PAL : Phosphatases alcalines

LDH : Lactate Déshydrogénase

CHIP : Chimiothérapie hyperthermique intrapéritonéale

MSI : instabilité microsatellite

## I. INTRODUCTION

Les avancées moléculaires avec notamment la recherche des mutations RAS et BRAF sont devenues fondamentales dans la prise en charge des cancers colorectaux métastatiques (CCRm), afin de prédire leur chimiosensibilité et leur pronostic.

La protéine BRAF (B-type-Raf-kinase) appartient à la voie de signalisation des MAP kinases RAS / RAF / MEK / ERK mise en jeu lors de l'activation du récepteur de l'Epidermal Growth Factor (EGFr). Son rôle est bien établi dans la carcinogenèse colorectale : située « en aval » de RAS, la protéine BRAF est activée par RAS par phosphorylation et va activer à son tour MEK, elle-même activant ERK qui induit, après translocation dans le noyau l'expression de gènes impliqués dans la prolifération [Annexe 1].

Les mutations BRAF sont présentes dans 5 à 15 % des cancers colorectaux, la mutation V600E étant la plus fréquente avec 78 % de l'ensemble des mutations de BRAF (1,2). Elle est plus associée à la localisation colique droite de la tumeur, à un âge au diagnostic plus avancé, aux localisations métastatiques ganglionnaire et péritonéale, ainsi qu'à une instabilité microsatellitaire (3–5). De plus, elle est associée à un mauvais pronostic avec des médianes de survie de l'ordre de 31 mois dans le bras tri-chimiothérapie cytotoxique et antiVEGF contre 26 mois dans le bras bi-chimiothérapie et antiVEGF (3,6–8). Cela suggère l'intérêt d'un traitement agressif en 1<sup>ère</sup> ligne par tri-chimiothérapie cytotoxique associé à un antiVEGF (bevacizumab) pour ces cancers colorectaux métastatiques (8,9).

Avant 2012, la mutation BRAF était uniquement recherchée sur l'exon 15, codon 600 par la technique de pyroséquencage, et ne détectait donc que la mutation V600E. Plusieurs dizaines de mutation sur les exons 11 et 15 du gène BRAF sont cependant enregistrées dans la base de données du catalogue des mutations somatiques des cancers (COSMIC) (2,10–12). Elles sont maintenant détectées grâce à l'avènement du séquençage de nouvelle génération (Next Generation Sequencing ou NGS), étudiant l'ensemble des exons 11 et 15.

Les mutations BRAF non V600E, auparavant mal connues et peu étudiées, ont fait l'objet d'études rétrospectives récentes.

En comparaison avec les adénocarcinomes coliques muté BRAF V600E, les tumeurs avec mutation BRAF non V600E étaient plutôt localisées à gauche (63 vs 19%,  $p < 0.001$ ), survenaient à un âge plus jeune (âge médian 58 vs 68 ans,  $p < 0.001$ ) et moins fréquemment chez des femmes (46% vs 65%,  $p < 0.001$ ), avec moins de métastases péritonéales (15 vs 59%  $p < 0.001$ ) (2,13–15). Sur le plan moléculaire, on retrouvait plus de mutations RAS concomitantes (26% vs 2%,  $p < 0.001$ ) et moins d'instabilité microsatellitaire (6 vs 30%

$p < 0.001$ ) (2,11–13).

Les mutations BRAF non V600E les plus retrouvées dans l'étude de Jones et al portaient sur le codon 594 (93/208 soit 45%), suivie du codon 469 (14%), 466 (11%), 601 (8%) et 581 (7%).

Sur le plan pronostique, les CCRm mutés BRAF V600E avaient statistiquement un moins bon pronostic que les CCRm mutés BRAF non-V600E (2,13,14). Les données de survie, étaient bons avec une médiane de survie globale de 60.7 mois pour les mutés BRAF non-V600E contre 11.4 mois pour les mutés BRAF V600E (2).

Alors que les études de Cremolini et al. et Amaki-Takao et al. portaient sur des petits effectifs (13,14), l'étude multicentrique américaine, parue après le début de notre présent travail, regroupait 208 cancers colorectaux métastatiques avec mutation non V600E de BRAF, soit une prévalence de 2.2% sur les 9643 patients avec CCRm ayant eu un séquençage en NGS et représentaient 22% de toutes les mutations BRAF (2).

Les rapports de science fondamentale fournissent une explication possible de ces résultats en suggérant que les mutations BRAF non-V600E ne peuvent conférer qu'une activité intermédiaire (au mieux) de la kinase contre une augmentation de l'activité kinase pouvant atteindre 700 fois en présence de mutations V600E. Les différentes mutations peuvent induire une activité kinase élevée, intermédiaire, diminuée ou nulle (16–21)

Cependant, dans l'étude de Jones et al, il n'était pas retrouvé de différence de survie globale entre les CCRm avec mutation BRAF à activité kinase augmentée vs activité kinase inactive, la médiane de SG étant respectivement de 37,5 et 38,5 mois ( $p=0,544$ ) (2).

A notre connaissance, il n'existe pas dans la littérature de données sur la chimiosensibilité des cancers colorectaux métastatiques avec mutations de BRAF non V600E.

Le but de cette étude de cohorte rétrospective multicentrique était d'évaluer la chimiosensibilité des CCRm avec mutations BRAF non V600E et de confirmer leurs caractéristiques cliniques, biomoléculaires et pronostiques.

## **II. MATERIEL ET METHODES**

### **A. Type d'étude**

Il s'agissait d'une étude rétrospective non interventionnelle multicentrique française portant sur une cohorte de patients atteints de cancers colorectaux métastatiques avec mutation de BRAF non V600E.

### **B. Critères d'inclusion**

Les patients porteurs d'un adénocarcinome colique ou rectal, prouvé histologiquement avec métastases synchrones ou métachrones ayant une mutation BRAF autre que la mutation V600E retrouvée en biologie moléculaire étaient inclus. Les tumeurs avec contingent mucineux ou avec cellules indépendantes pouvaient être incluses. Les patients pouvaient avoir reçu non de la chimiothérapie au cours de leur prise en charge.

### **C. Critères d'exclusion**

Étaient exclus les patients avec cancer colorectal non métastatique et ceux ayant une mutation BRAF V600E. Les patients ayant des tumeurs avec mutations ayant un impact difficile à interpréter (double mutation sur le même allèle, présence de deux clones mutationnels, etc...) ont également été exclus.

### **D. Recueil de données**

#### **1. Méthode**

Les données étaient recueillies de manière rétrospective entre octobre 2017 et août 2018. Les laboratoires de biologie moléculaire des centres hospitalo-universitaires (CHU) français ont été sollicités afin d'identifier les patients avec un adénocarcinome colorectal porteur d'une mutation BRAF non V600E.

Les médecins responsables de chaque centre étaient ensuite chargés de recueillir les données cliniques et paracliniques des patients. Les données anonymisées étaient saisies sur un tableur Excel (Microsoft®) et centralisées au CHU d'Amiens sur un ordinateur sécurisé avec code (recommandation CNIL). Une vérification de la concordance de données était effectuée, et les données manquantes étaient complétées autant que possible.

Les analyses statistiques ont été réalisées par Mme Astrid Pozet, épidémiologiste au laboratoire de biostatistique du CHU de Besançon.



## 2. Paramètres recueillis

Étaient recueillis les paramètres suivant :

- caractéristiques démographiques : date de naissance, sexe, date de décès ou à défaut, date des dernières nouvelles ;
- paramètres cliniques : date du diagnostic, poids, statut OMS au diagnostic, localisation de la tumeur, statut TNM, localisation des métastases ;
- paramètres histopathologiques : type histologique, différenciation, présence d'embolies vasculaires, endolymphatiques, périnerveux, présence de budding ;
- paramètres de biologie moléculaire : statut microsatellitaire, statut RAS, type de mutation BRAF, autres mutations, présence d'hyperméthylation MLH1 ou présence de syndrome de Lynch ;
- paramètres biologiques : taux de l'Antigène carcinoembryonnaire (ACE) (en ng/mL) d'Antigène carbohydrate 19-9 (CA 19-9) (en U/mL), au diagnostic et à chaque changement de ligne thérapeutique, les taux de plaquettes, leucocytes, (en giga/L), phosphatases alcalines (PAL) et Lactate déshydrogénase (LDH) (en U/L) et le taux d'albumine en g/L ;
- paramètres thérapeutiques : type de traitement si prise en charge localisée initiale et type de traitement de la maladie métastatique : curatif ou palliatif : type de chimiothérapie, biothérapie, date et nombre des cures, meilleure réponse pour chaque ligne thérapeutique.

## 3. Analyse de sous-groupe

Les patients ont été répartis en trois groupes selon leur prise en charge :

- Groupe 1 : prise en charge curative de la maladie métastatique
- Groupe 2 : prise en charge palliative de la maladie métastatique avec traitement par chimiothérapie exclusive (les patients du groupe 1 ayant récidivés n'ont pas été inclus dans l'analyse du groupe 2)
- Groupe 3 : prise en charge palliative pas soins de supports exclusifs sans initiation de chimiothérapie

La survie globale (SG) de chaque groupe était calculée.

Par ailleurs, le taux de réponse objective (réponse complète et partielle) et le taux de contrôle (réponse complète, partielle et stabilité) étaient mesurés pour chaque classe thérapeutique à l'issue de la première ligne thérapeutique.

D'autres analyses de survie globale en sous-groupe ont été effectuées :

- En fonction de la localisation de la tumeur primitive
- En fonction de la mutation BRAF
- En fonction de l'impact de la mutation sur la fonctionnalité de la protéine BRAF :
  - activité kinase augmentée (V600autre, K601, G469A, G469V, T599dup)
  - activité kinase intermédiaire (G469E, G469R, L597, N581S)
  - activité kinase diminuée (G466, G596, N581I, N581T)
  - activité kinase inactive (D594)

### **E. Objectifs de l'étude**

L'objectif principal de l'étude était d'évaluer la chimiosensibilité des adénocarcinomes colorectaux avec mutation BRAF non V600E traités à visée palliative.

Les objectifs secondaires étaient d'évaluer les caractéristiques cliniques, biologiques et moléculaires de la population. Le pronostic de ces mutations était également évalué en étudiant la survie globale pour chaque groupe thérapeutique.

Enfin, le pronostic des mutations les plus fréquentes ainsi que des groupes de mutations selon la fonctionnalité de la kinase ont été déterminés.

### **F. Analyses statistiques**

Les variables continues étaient exprimées en médiane, interquartile et intervalle de confiance à 95% (IC95%). Les variables catégorielles étaient exprimées en pourcentage et effectif total. Une valeur de  $p < 0,05$  était considérée comme statistiquement significative. Le suivi médian était calculé selon une méthode non paramétrique de Kaplan-Meier inversé. La survie globale était évaluée selon une méthode non paramétrique de Kaplan-Meier. La survie globale de chaque mutation a été analysée selon une méthode de Kaplan-Meier et test du log rank. Par ailleurs, les mutations D594 et K601 ont été comparées aux autres mutations avec la même méthode statistique.

La survie globale était définie par le délai entre la date du diagnostic métastatique et la date du décès ou des dernières nouvelles.

### **III. RESULTATS**

#### **A. Données au diagnostic**

##### **1. Caractéristiques de la population**

Sur les 111 patients initialement recrutés, 3 ont été exclus : mutation V600E associée à une mutation non V600E et polymorphisme G606G n'étant pas une mutation devant l'absence de modification d'acide aminé. Au total, 108 patients dans 34 centres français ont été inclus [Annexe 2].

La cohorte était constituée majoritairement d'hommes (53,7%). Au diagnostic métastatique, l'âge médian était de 66 ans (58-77) et le score OMS était 0 ou 1 dans la majeure partie des cas (86,3%). Les taux d'ACE et de CA 19-9 médian au diagnostic métastatique étaient respectivement 21,7 ng/mL (4,3-148) et 43 UI/mL (15-867).

##### **2. Caractéristiques tumorales**

La répartition colon proximal (colon droit et transverse) / distal (colon gauche et sigmoïde) / rectum de la tumeur primitive était homogène avec respectivement 34,3%, 34,3% et 31,4%. Le type histologique le plus fréquent était l'adénocarcinome tubuleux dans 93,3% des cas.

Les métastases siégeaient majoritairement au niveau hépatique (72,5%), pulmonaire (33,0%) et ganglionnaire (39,4%). Il y avait 25,7 % de carcinose péritonéale. Les tumeurs étaient majoritairement T3, dans 53,8% des cas et N+ dans 69,3% des cas. Il y avait surtout des adénocarcinomes bien et moyennement différenciés (36,4 et 51,5 % respectivement). Un seul patient avait des métastases cérébrales. [Tableau 1].

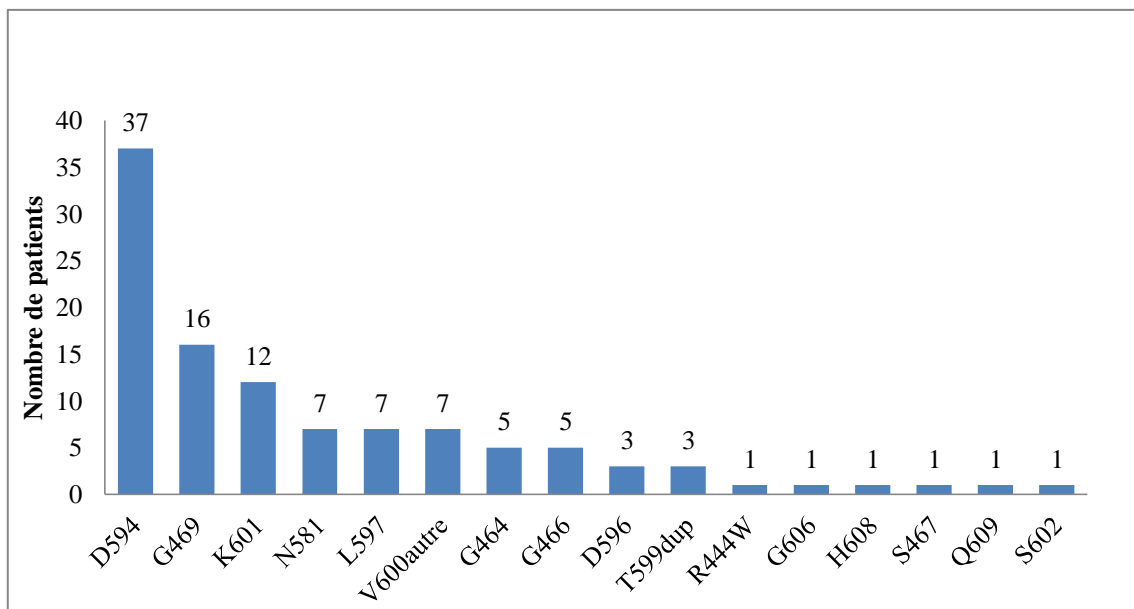
<b>Variabes</b>	<b>Population (n=108)</b>	<b>Groupe 1 (n=35)</b>	<b>Groupe 2 (n=63)</b>	<b>Groupe 3 (n=10)</b>
<b>Age (années)*</b>	66 (58-77)	65 (57-69)	65 (58-76)	81 (78-82)
<b>Sexe (n, %)</b>				
Homme	58 (53,7)	19 (54,3)	33 (52,4)	6 (60)
Femme	50 (46,3)	16 (45,7)	30 (47,6)	4 (40)
<b>OMS (n, %)</b>				
0-1	69 (86,3)	28 (100)	36 (83,7)	5 (55,6)
2	7 (8,8)	0	4 (9,3)	3 (33,3)
3-4	4 (5,0)	0	3 (7,0)	1 (11,1)
<b>ACE (ng/mL)*</b>	21,7 (4,3-148)	7,6 (3,6-65,7)	31,5 (6,1-203,5)	11,2 (4,5-2081,3)
<b>CA 19-9 (UI/mL)*</b>	43 (15-867)	19,2 (12,9-39,5)	279,5 (25,4 -1075)	3531,5 (39,5-7943)
<b>Localisation du primitif (n, %)</b>				
Colon proximal	36 (34,3)	11 (32,4)	20 (33,3)	5 (50,0)
Colon distal	36 (34,3)	16 (47,1)	18 (30,0)	2 (20,0)
Rectum	33 (31,4)	7 (20,6)	22 (36,7)	3 (30,0)
<b>Sites métastatiques (n, %)</b>				
Ganglionnaire	32 (29,4)	5 (9,8)	24 (19,4)	3 (15,0)
Hépatique	79 (72,5)	27 (52,9)	45 (36,3)	7 (35,0)
Pulmonaire	36 (33,0)	8 (15,7)	22 (17,7)	6 (30,0)
Péritonéale	28 (25,7)	6 (11,8)	19 (15,3)	3 (15,0)
Osseuse	7 (6,4)	0	7 (5,6)	0
Cérébrale	1 (0,9)	0	1 (1,0)	0
Autre	12 (11,0)	5 (9,8)	6 (4,8)	1 (5,0)
<b>Statut T (n, %)</b>				
Tx	30	4	22	4
T0	2 (2,6)	2 (6,5)	0	0
T1-T2	5 (6,4)	2 (6,5)	3 (7,3)	0
T3	42 (53,8)	18 (58,1)	22 (53,7)	2 (33,3)
T4	29 (37,2)	9 (29)	16 (39)	4 (66,7)
<b>Statut N (n, %)</b>				
Nx	33	4	24	5
N0	23 (30,7)	11 (35,5)	11 (28,2)	1 (20,0)
N1	29 (38,7)	10 (32,3)	16 (41,0)	3 (60,0)
N2	23 (30,7)	10 (32,3)	12 (30,8)	1 (20,0)
<b>Différenciation (N, %)</b>				
Bien	36 (36,4)	14 (40)	20 (36,4)	2 (22,2)
Moyenne	51 (51,5)	18 (51,4)	28 (50,9)	5 (55,6)
Peu	12 (12,1)	3 (8,6)	7 (12,7)	2 (22,2)
<b>Type histologique</b>				
Adénocarcinome tubuleux	98 (93,3)	31 (91,2)	58 (93,5)	9 (100)
Carcinome mucineux	7 (6,7)	3 (8,8)	4 (6,5)	0
<b>RAS muté</b>	23 (21,9)	7 (20)	16 (26,7)	0
<b>RAS sauvage</b>	82 (78,1)	28 (80)	44 (73,3)	10 (100)
<b>MSI</b>	3 (4,5)	0	2 (5,1)	1 (20,0)
<b>MSS</b>	64 (95,5)	23 (100,0)	37 (94,4)	4 (80,0)

**Tableau 1 : Caractéristiques générales de la population au diagnostic métastatique**

\* : médiane et interquartiles

### 3. Caractéristiques moléculaires

La mutation BRAF la plus fréquente survenait sur le codon 594 et représentait 34,0 % des mutations non V600E. Les autres mutations fréquentes étaient celles touchant le codon 469 (14,8%), le codon 601 (11,0%), le codon 581 (6,5%), le codon 597 (6,5%) et les mutations de type délétion-insertion ou les mutations ponctuelles touchant le codon 600 (6,5%). Les autres mutations représentaient elles 20,0% de la population (Figure 1).

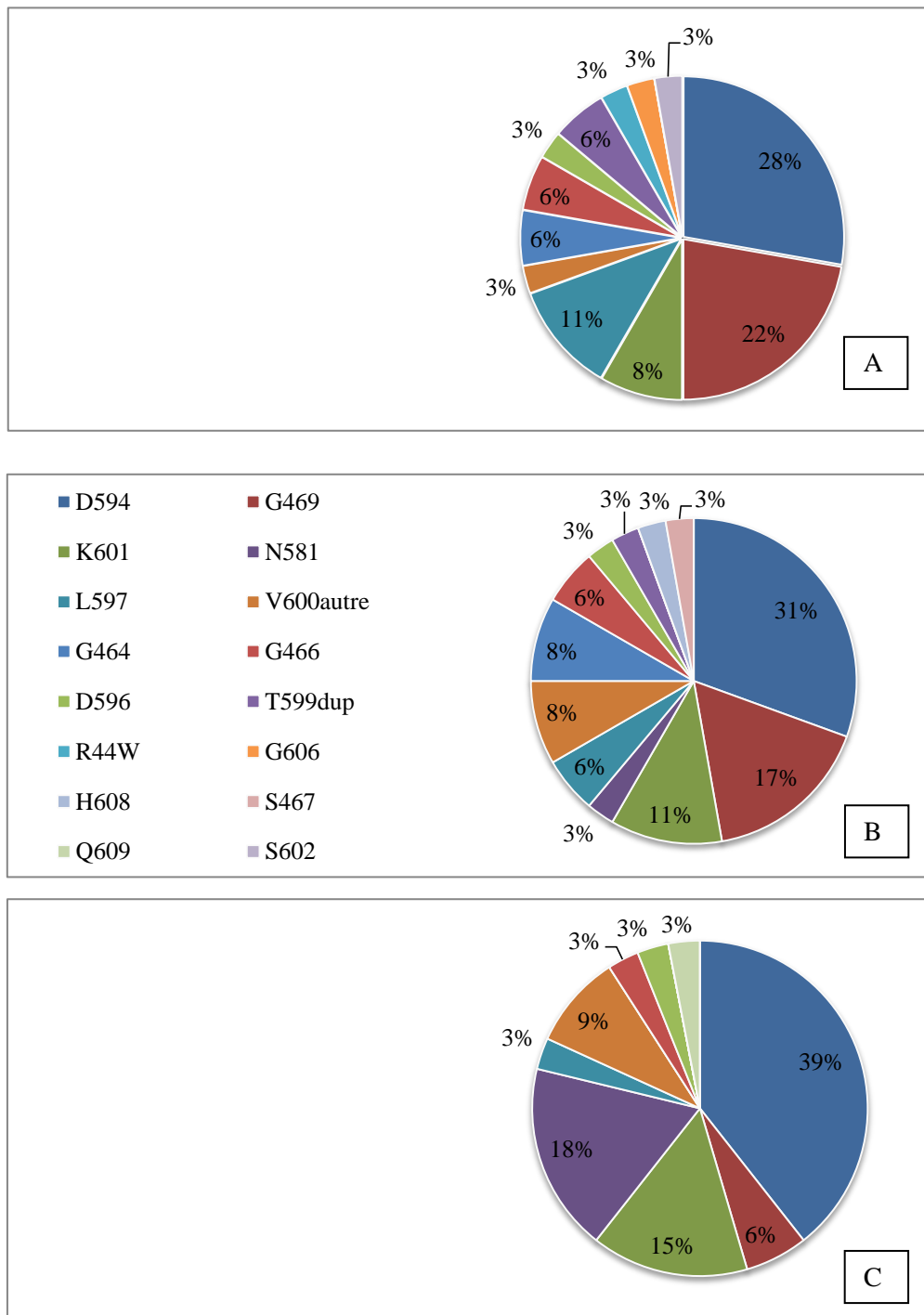


**Figure 1 : Nombre de patient par mutation BRAF non V600E**

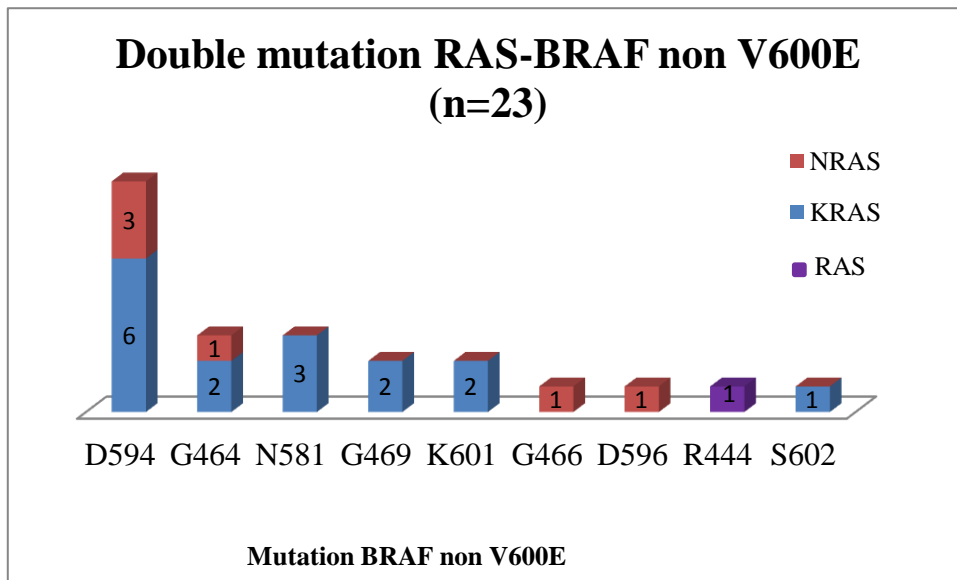
La répartition des mutations BRAF selon la localisation colique est représentée dans la figure 2. La mutation BRAF D594 était plus fréquente dans le rectum (40%) (Figure 2C) que dans le colon distal (31%) (Figure 2B) et que dans le colon proximal (28%) (Figure 2A).

Le statut RAS était renseigné chez 105 patients : 82 d'entre eux étaient sauvages (78,1%) et 23 étaient mutés (21,9%) : il s'agissait de mutations de KRAS dans 72,7% des cas (10/16 sur l'exon 2) et mutations de NRAS dans 27,3% des cas. Une instabilité microsatellitaire n'était retrouvée que chez 3 patients (4,5 %) et parmi eux, un seul avait un syndrome de Lynch.

Les CCRm avec double mutation BRAF non V600E et RAS étaient principalement ceux porteurs de la mutation BRAF D594, à hauteur de 39%. Les mutations L597, V600autres, T599dup, G606, Q609 et S467 n'étaient pas associées à une mutation RAS. (Figure 3).



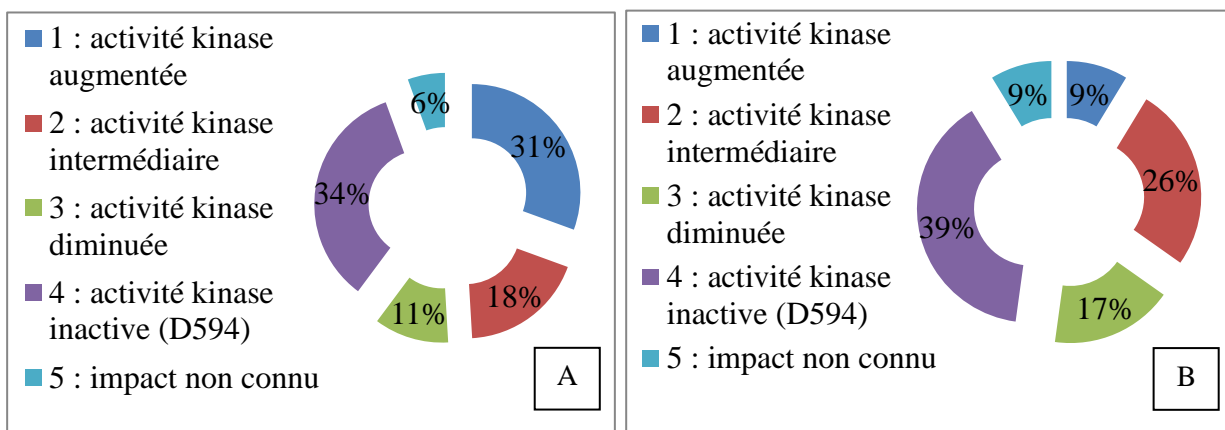
**Figure 2 : Répartition des mutations BRAF dans le colon proximal (A), le colon distal (B) et le rectum (C)**



**Figure 3 : Double mutation RAS-BRAF non V600E**

#### 4. Impact mutationnel selon l'activité kinase potentielle connue

Les mutations non V600E provoquant une inactivation de la kinase BRAF représentaient 34% des mutations, suivies de celles augmentant l'activité pour 31 % des mutations, celles ayant une activité intermédiaire pour 18% des cas, et enfin celles ayant une activité diminuée pour 11% des cas. L'impact était inconnu dans 6% des cas (figure 4A). Seulement 9% des mutations BRAF associées à une mutation RAS avait une activité kinase augmentée (figure 4B).



**Figure 4 : impact fonctionnel des mutations BRAF non V600E (A) et impact fonctionnel des mutations BRAF non V600E associées à une mutation RAS (B)**

## 5. Type de traitement effectué

Parmi les 108 patients de la cohorte, 35 ont bénéficié d'une prise en charge curative de leurs métastases (groupe 1 ; 32,4%) ; 63 bénéficiaient exclusivement de prise en charge par chimiothérapie à visée palliative (groupe 2 ; 58,3%) alors que 10 (9,3%) constituant le groupe 3 bénéficiaient de soins de support exclusifs. A noter, 31,5% des patients avaient été opérés de leur primitif au stade localisé.

Dans le groupe 1, l'âge médian des patients était de 65 ans (57-69), la totalité des patients pour qui le score OMS était renseigné était en excellent état général ; OMS 0 ou 1. Les métastases étaient hépatiques dans 52,9% des cas, pulmonaires dans 15,7% et péritonéales dans 11,8% des cas. L'ACE et le CA 19-9 médians au diagnostic étaient respectivement 7,6 ng/mL (3,6-65,7) et 19,2 UI/mL (12,9-39,5) La moitié des patients avait une chimiothérapie néoadjuvante (nombre médian de 9 cures), permettant 76,5% de réponse objective et une stabilité dans 23,5% des cas. Parmi eux, 50 % avaient une chimiothérapie cytotoxique, 11 % des cytotoxiques et un antiVEGF et 39 % une chimiothérapie cytotoxique avec un antiEGFr. Parmi l'ensemble des patients du groupe 1, 9,4% ont bénéficié d'une CHIP. Une chimiothérapie adjuvante était réalisée dans 65,7 % des cas (nombre médian de 8 cures).

Dans le groupe 2, 83,7% des patients étaient OMS 0-1. On retrouvait des métastases hépatiques pour 36,6 %, ganglionnaires pour 19,5%, pulmonaires pour 17,4%, péritonéales pour 15,4% et osseuse pour 5,7% des cas. Un seul patient avait des métastases cérébrales. L'ACE et le CA 19-9 médians au diagnostic métastatique étaient respectivement 31,5 ng/mL (6,1-203,5) et 279,5 UI/mL (25,4-1075).

Cent pour cent des patients du groupe 2 recevaient une première ligne (L1) de chimiothérapie. Les taux de réponse et de contrôle étaient respectivement de 40,4% et 69,2% en L1. En poolant les patients du groupe 1 et du groupe 2, le taux de réponse global était de 49,2 % et le taux de contrôle de 76,8%. Avec les cytotoxiques, le taux de réponse était de 30 % et le taux de contrôle de 74 %. Avec les antiVEGF, ils étaient respectivement de 54,5 % et 73 %, et de 75 % et 85 % avec les antiEGFr.

En première ligne dans le groupe 2, les patients recevaient une chimiothérapie à base d'oxaliplatine dans 41% des cas, d'irinotécan dans 30% et les deux molécules étaient



associées dans 11% des cas. Une thérapie ciblée était associée au cytotoxique dans 60% des cas : dans 38% des cas il s'agissait d'une antiVEGF et dans 22% des cas d'un antiEGFR.

Les analyses des lignes ultérieures ont été réalisées seulement dans le groupe 2 : une deuxième ligne (L2) était réalisée chez 56% des patients, une troisième ligne (L3) chez 29% et une quatrième ligne (L4) chez 11% des patients. Les taux de réponse et de contrôle étaient respectivement de 36,4% et 72,3% en L2 et 40% et 60% en L3. [Tableau 2].

Enfin, dans le groupe 3, l'âge médian était 81 ans (78-82). Cinquante-cinq pour cent des patients étaient OMS 0-1. L'ACE médian était 11,2 ng/mL (4,5-2081,3) et le CA19-9 médian 3531,5 UI/mL (39,5-7943).

Variables	Groupes 1+2	Groupe 1	Groupe 2			
	L1	L1	L1	L2	L3	L4
<b>Nombre de patients (n)</b>	81	18	63	35	18	7
<b>Chimiothérapie à base (n, %)</b>						
d'oxaliplatine	-	4 (22,2)	26 (41,3)	11 (32,4)	2 (11,1)	2 (28,6)
d'irinotécan	-	5 (27,8)	19 (30,2)	16 (47,1)	6 (33,3)	3 (42,9)
des deux molécules	-	8 (44,4)	7 (11,1)	2 (5,9)	0	0
autres	-	1 (5,6)	11 (17,5)	5 (14,7)	10 (55,6)	2 (28,6)
<b>Thérapie ciblée (n, %)</b>						
aucune	-	9 (50)	25 (39,7)	8 (22,9)	5 (27,8)	2 (28,6)
anti VEGF	-	2 (11,1)	24 (38,1)	13 (37,1)	7 (38,9)	4 (57,1)
anti EGFR	-	7 (38,9)	14 (22,2)	14 (40)	6 (33,3)	1 (14,3)
<b>Réponse objective (n, %)</b>						
	34/69 (49,2)	13/17 (76,5)	21/52 (40,4)	8/22 (36,4)	4/10 (40)	1/5 (20)
cytotoxique seul	7/27 (25,9)	4/8 (50)	3/19 (15,8)	1/5 (20)	-	-
cytotoxique + anti VEGF	12/22 (54,5)	2/2 (100)	10/20 (50)	4/10 (40)	-	-
cytotoxique + anti EGFR	15/20 (75)	7/7 (100)	8/13 (61,5)	3/7 (42,8)	-	-
<b>Taux de contrôle (n, %)</b>						
	53/69 (76,8)	17/17 (100)	36/52 (69,2)	16/22 (72,3)	6/10 (60)	2/5 (40)
cytotoxique seul	20/27 (74)	8/8 (100)	12/19 (63,1)	5/5 (100)	-	-
cytotoxique + anti VEGF	16/22 (72,7)	2/2 (100)	14/20 (70)	6/10 (60)	-	-
cytotoxique + anti EGFR	17/20 (85)	7/7 (100)	10/13 (76,9)	5/8 (62,5)	-	-

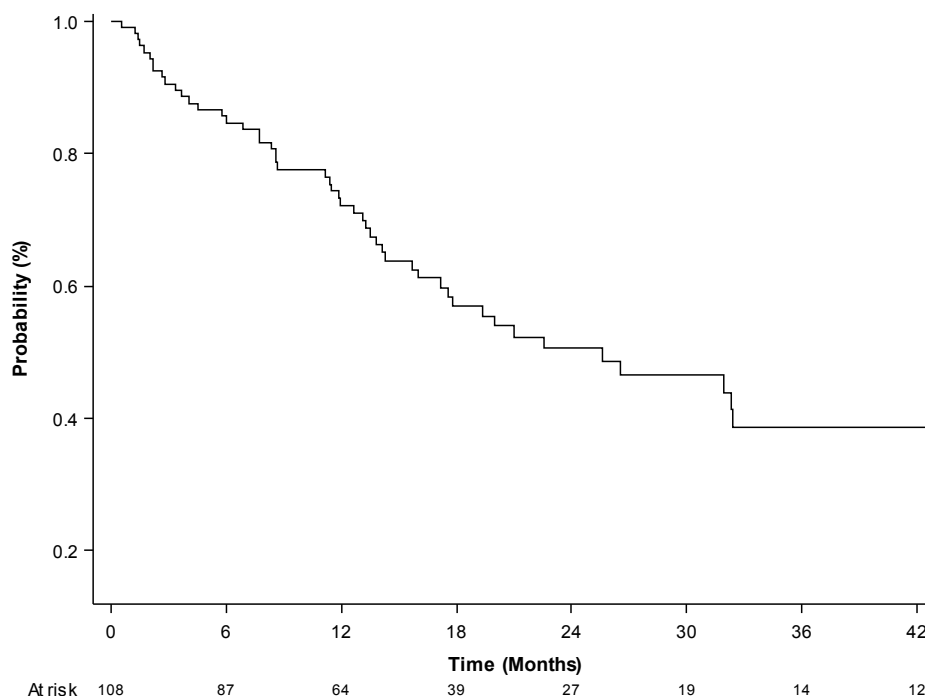
**Tableau 2 : Chimiosensibilité des patients des groupes 1 et 2**

## B. Données de survie

Le suivi médian de la cohorte était de 2 ans. A la fin de l'étude, 47,2 % des patients étaient encore vivants. Seuls 2 patients ont été perdus de vue.

### 1. Survie globale

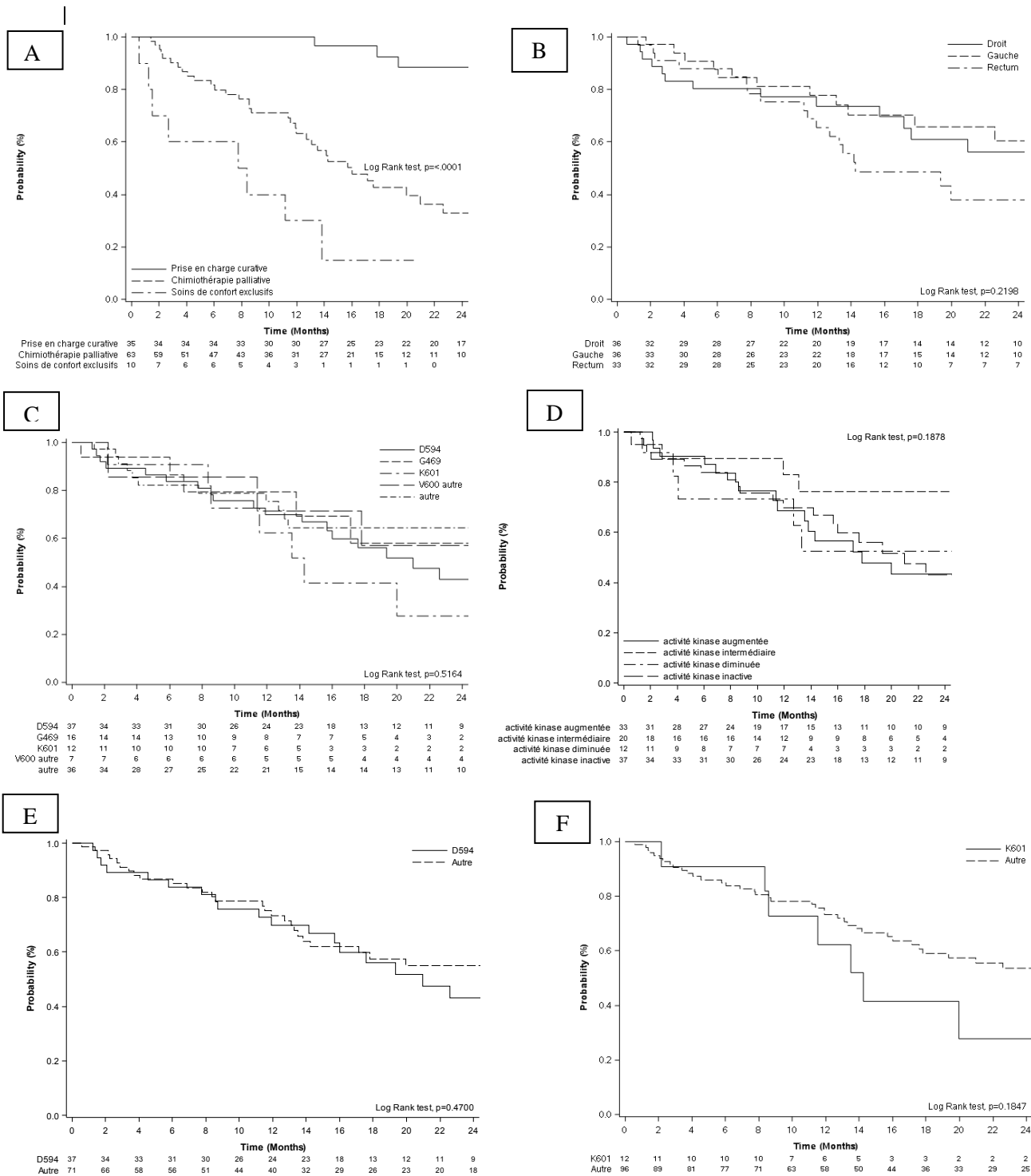
La médiane de survie globale de la cohorte était de 25,6 mois (IC<sub>95%</sub> = [17,1-43,8]). Les taux de survie à 1 an, 2 ans et 3 ans étaient respectivement de 72, 50 et 38%. (Figure 5).



**Figure 5 : Courbe de survie globale de l'ensemble de la cohorte**

La médiane de survie globale des patients du groupe 1 était de 105,1 mois (IC<sub>95%</sub> = [65,6-na]), tandis qu'elle était de 16 mois (IC<sub>95%</sub> = [11,9-22,5]) dans le groupe 2 et 8 mois (IC<sub>95%</sub> = [0,56-13,80]) dans le groupe 3. La survie globale était significativement différente entre les 3 groupes ( $p < 0,001$ ) (Figure 6A).

Il n'a pas été retrouvé de différence statistiquement significative en terme de survie globale selon la localisation de la tumeur primitive (proximal vs distal vs rectum,  $p = 0,220$ ) même s'il existe une tendance péjorative pour les tumeurs rectales (Figure 6B), entre les mutations BRAF non V600E les plus fréquentes ( $p = 0,516$ ) (Figure 6C) et selon l'impact de la mutation BRAF sur la fonctionnalité de la protéine BRAF ( $p = 0,188$ ) (Figure 6D). Par ailleurs, il n'y avait pas de différence entre les mutations D594 et les autres ( $p = 0,470$ ) ainsi qu'entre les mutations K601 et les autres ( $p = 0,185$ ) (Figures 6E et 6F).



**Figure 6 : survie globale de la cohorte selon le groupe thérapeutique (A), selon la localisation du primitif (B), selon la mutation BRAF (C), selon l'impact mutationnel (F) et comparativement aux mutations D594 (E) et K601 (F)**

## IV. DISCUSSION

Peu de données sont disponibles sur l'impact clinique, thérapeutique et pronostic des mutations BRAF non V600E. Alors que la mutation V600E commence à être bien connue, avec un pronostic péjoratif et la proposition d'une trichimiothérapie + antiVEGF en première ligne de traitement (médiane de survie globale (mSG) de 11,4 mois pour Jones et al, 10 mois avec une bichimiothérapie + antiVEGF (22)) et 19 à 24 mois avec une trichimiothérapie + antiVEGF (9,22) de nouvelles questions sont apparues depuis l'avènement du NGS et la découverte de mutations non V600E de la kinase BRAF. La question que se pose le clinicien est alors : faut-il les traiter pareil ?

A notre connaissance, seule l'étude de Jones et al publiée en 2017 (2) caractérise sur 208 patients ces mutations jusqu'alors mal connues. Notre cohorte de 108 patients est la 2<sup>ème</sup> plus grande cohorte sur le sujet. Par ailleurs, elle est la première en nombre pour les données de survie et la première à préciser la chimiosensibilité de ces adénocarcinomes.

Globalement, les adénocarcinomes colorectaux mutés BRAF non V600E sont des tumeurs assez classiques, avec une localisation colorectale, un statut microsatellite et une dissémination métastatique attendue. Il y avait environ 1/3 d'adénocarcinomes coliques proximaux, distaux et rectaux, contre environ 30-40% dans colon proximal, 35-40% dans le colon distal et 20-25% dans le rectum dans de grandes séries étudiant les adénocarcinomes lieberkühniens colorectaux (23,24) Leur mode de dissémination métastatique est également classique avec 72 % de métastases hépatiques, 33% de métastases pulmonaires (2,25) La dissémination péritonéale est elle un peu plus élevée, avec 25,7% de carcinose contre 13 à 20% habituellement (24,26,27). A titre de comparaison, les CCRm BRAF V600E présentent une carcinose dans 46 à 59% des cas (2,3). Les données cliniques sont similaires aux constatations américaines, en dehors de la carcinose péritonéale trouvée dans seulement 15 % des patients non V600E dans l'étude de Jones(2).

Sur le plan moléculaire, la mutation non V600E la plus fréquente était identique et portait sur le codon 594 (40% contre 47% pour Jones et al). Nous recensons aussi d'autres mutations (n=11) non décrites : les V600autres (mutations ponctuelles ou de type délétion-insertion), T599dup, G606 et S467.

Alors que les mutations BRAF V600E et RAS sont dites mutuellement exclusives, 21,9% de patients ont une co-mutation RAS/BRAF non V600E, assez proche des 26% de

Jones et al. La fréquence de mutation RAS de notre étude semble faible. A titre de comparaison, dans la cohorte prospective RASANC ayant inclus 425 patients, 58 % des patients étaient RAS mutés (28). Concernant le statut microsatellite, 4,5 % de ces tumeurs sont MSI, ce qui est concordant avec les données actuelles de la littérature sur les CCRm avec un pourcentage de l'ordre de 3,5 à 5% (29,30) et avec les 6 % de l'étude de Jones et al.

Des différences existent avec les CCRm BRAF V600E qui sont majoritairement coliques proximaux (81%) et de mauvais pronostic alors que les patients porteurs d'un CCRm muté BRAF non V600E sont également répartis (34% de localisation colique proximale dans cette cohorte et 37% dans la cohorte américaine) et ont une survie meilleure (mSG de 25,6 mois dans cette cohorte et 60,7 mois dans l'étude américaine). Cette différence de mSG est difficile à expliquer, la chimiosensibilité et le nombre de patients opérés de leurs métastases n'étant pas précisés dans l'étude américaine.

Aucune mutation non V600E ne semble être statistiquement différente les unes des autres (Log Rank,  $p=0,51$ ) en terme pronostic. Malgré une tendance péjorative pour la mutation K601 avec une mSG de 14,3 mois, la différence n'était pas significative (Log Rank,  $p=0,185$ ). Le faible effectif ( $n=12$ ) explique peut être cette absence de différence, cette mutation étant connue pour être activatrice (2,18,31). De la même manière, la mutation D594 qui inactive la kinase BRAF n'est pas significativement de meilleur pronostic (Log Rank,  $p=0,470$ ), avec une mSG de 21,0 mois. La différence de survie des CCRm BRAF non V600E ne s'explique donc pas par la modification de la capacité de BRAF à phosphoryler MEK, bien que cette hypothèse soit séduisante. Comme suggéré par Wan P et al (17), cette altération de l'activité kinase de BRAF pourrait stimuler CRAF qui peut alors activer MEK. L'étude de Jones et al avait également montré des survies identiques entre les mutations à activité kinase augmentée (médiane de survie de 37,5 mois) et les mutations à activité kinase altérée (médiane de survie de 38,5 mois).

Cette cohorte est la première à caractériser la chimiosensibilité des CCRm BRAF non V600E. En première ligne, la réponse objective est de 49,2% et le taux de contrôle de 76,8%, ce qui est concordant avec les données des dernières études publiées dans le CCRm (25,32) Comme attendu, les taux de réponse et de contrôle semblent plus élevés avec les antiEGFr (respectivement 75,0% et 85,0%) qu'avec les antiVEGF (54,5% et 72,7%) et qu'avec les cytotoxiques seuls (25,9% et 74,0%).

Enfin, de la même manière que l'étude de Bachet et al présentée à l'ASCO 2018 qui suggère un bon pronostic des patients BRAF V600E opérés avec 53 mois de mSG (non

atteinte pour les patients BRAF sauvages)(33), notre étude montre un très bon pronostic des patients réséqués R0 de leurs métastases, avec une mSG de 105,1 mois.

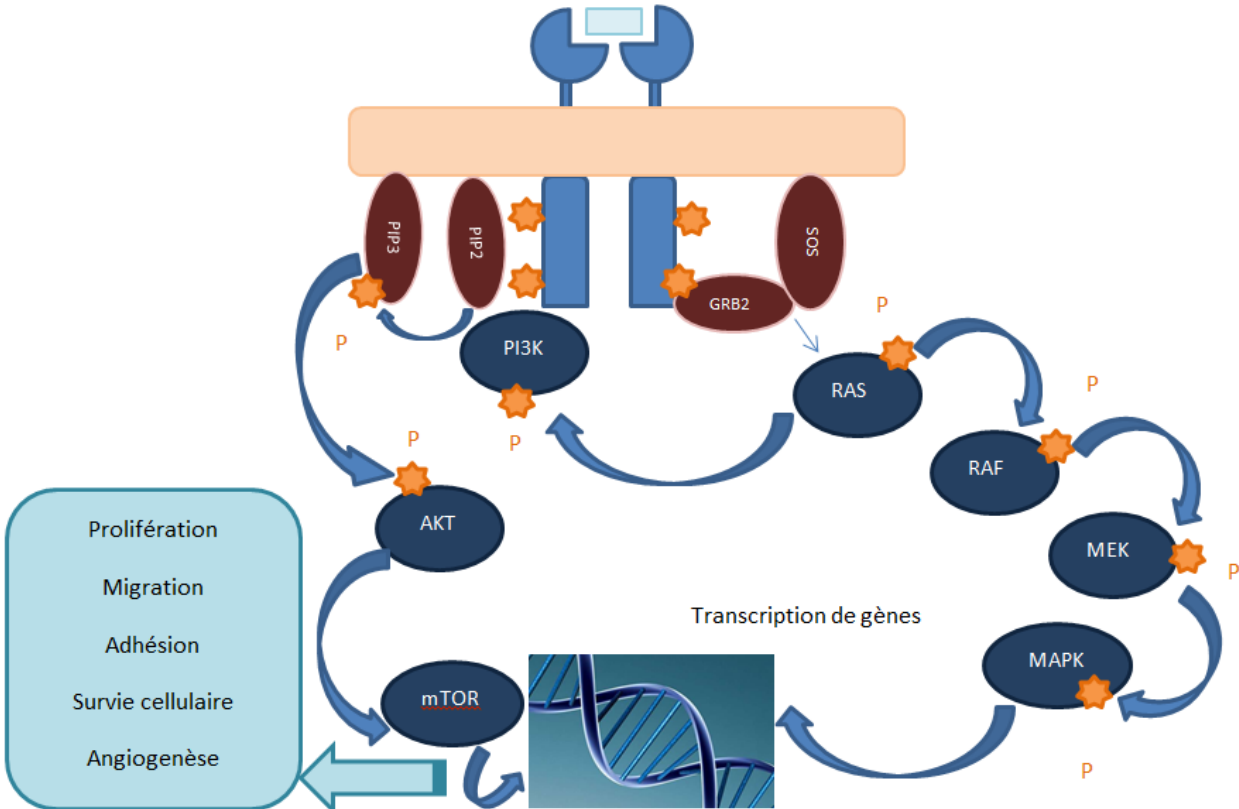
Notre étude comporte les limites d'une étude rétrospective : données manquantes, perdus de vue, et effectifs des groupes de chimiothérapie ne permettant pas d'étudier correctement le bénéfice des antiVEGF et antiEGFr à droite et à gauche. Ces mutations étant rares, une cohorte prospective est difficile à réaliser mais pourrait être proposée. Par ailleurs, une cohorte d'appariement permettant de comparer les caractéristiques des CCRm mutés BRAF non V600E, V600E et sauvages aurait été souhaitable.

## **V. CONCLUSION**

Les CCRm mutés BRAF non V600E ont des caractéristiques cliniques et moléculaires assez semblables aux CCRm BRAF sauvages, mais différentes des CCRm muté BRAF V600E. Une mutation RAS peut coexister avec une mutation BRAF non V600E. Aucune mutation non V600E ne semble de moins bon pronostic. Leur bonne chimiosensibilité et leur bon pronostic, notamment lorsqu'une prise en charge curative est possible doivent donc les faire prendre en charge comme les autres CCRm, à l'inverse des CCRm mutés V600E pour lesquels la prudence reste de mise au vu de leur mauvais pronostic.

**VI. ANNEXES**

**Annexe 1** : Voie de signalisation des MAP kinases (RAS/RAF/MEK/ERK) et PI3K/AKT



**Annexe 2** : Centres inclueurs français

<b>Ville</b>	<b>Nombre de cas</b>
Toulouse CHU	16
Gustave Roussy CRLCC	13
Curie CRLCC	7
Amiens CHU	6
Périphéries Lilloises CH	6
Poitiers CHU	5
Edouard Herriot Lyon CHU	5
Clinique Jean Mermoz Lyon	4
Dijon CHU	3
St Etienne CHU	3
Pitié Salpêtrière CHU	3
Rennes CHU et Centre Eugène Marquis CF	3
Tours CHU	3
La Timone Marseille CHU	3
Saint Louis CHU	3
Rouen CHU	2
Cochin CHU	2
Orléans CHU	2
Saint Malo CH	2
La Rochelle CH	2
Institut Mutualiste Montsouris	2
Angers CHU	1
Besançon CHU	1
Brest CHU	1
Centre Léon Bérard Lyon CRLCC	1
Meaux CH	1
Mougins CH	1
Mulhouse CH	1
Sélestat CH	1
Créteil/Henri Mondor CHU	1
Institut de Cancérologie de Loire CRLCC	1
Hôpital Nord Marseille CHU	1
Institut Paoli Calmette Marseille	1
Polyclinique Bordeaux	1
<b>TOTAL</b>	<b>108</b>



## VII. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Davies H, Bignell GR, Cox C, Stephens P, Edkins S, Clegg S, et al. Mutations of the BRAF gene in human cancer. *Nature*. juin 2002;417(6892):949-54.
2. Jones JC, Renfro LA, Al-Shamsi HO, Schrock AB, Rankin A, Zhang BY, et al. Non-V600 BRAF Mutations Define a Clinically Distinct Molecular Subtype of Metastatic Colorectal Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 10 août 2017;35(23):2624-30.
3. Tran B, Kopetz S, Tie J, Gibbs P, Jiang Z-Q, Lieu CH, et al. Impact of BRAF mutation and microsatellite instability on the pattern of metastatic spread and prognosis in metastatic colorectal cancer. *Cancer*. 15 oct 2011;117(20):4623-32.
4. Tie J, Gibbs P, Lipton L, Christie M, Jorissen RN, Burgess AW, et al. Optimizing targeted therapeutic development: Analysis of a colorectal cancer patient population with the BRAFV600E mutation. *Int J Cancer*. 1 mai 2011;128(9):2075-84.
5. Li WQ, Kawakami K, Ruszkiewicz A, Bennett G, Moore J, Iacopetta B. BRAF mutations are associated with distinctive clinical, pathological and molecular features of colorectal cancer independently of microsatellite instability status. *Mol Cancer*. 10 janv 2006;5:2.
6. Tol J, Nagtegaal ID, Punt CJA. *BRAF* Mutation in Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 2 juill 2009;361(1):98-9.
7. Souglakos J, Philips J, Wang R, Marwah S, Silver M, Tzardi M, et al. Prognostic and predictive value of common mutations for treatment response and survival in patients with metastatic colorectal cancer. *Br J Cancer*. août 2009;101(3):465-72.
8. Loupakis F, Cremolini C, Masi G, Lonardi S, Zagonel V, Salvatore L, et al. Initial Therapy with FOLFOXIRI and Bevacizumab for Metastatic Colorectal Cancer. *N Engl J Med*. 23 oct 2014;371(17):1609-18.
9. Loupakis F, Cremolini C, Salvatore L, Masi G, Sensi E, Schirripa M, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab as first-line treatment in BRAF mutant metastatic colorectal cancer. *Eur J Cancer*. janv 2014;50(1):57-63.
10. Forbes SA, Tang G, Bindal N, Bamford S, Dawson E, Cole C, et al. COSMIC (the Catalogue of Somatic Mutations in Cancer): a resource to investigate acquired mutations in human cancer. *Nucleic Acids Res*. janv 2010;38(suppl\_1):D652-7.
11. Carter J, Tseng L-H, Zheng G, Dudley J, Illei P, Gocke CD, et al. Non-p.V600E BRAF Mutations Are Common Using a More Sensitive and Broad Detection Tool. *Am J Clin Pathol*. 1 oct 2015;144(4):620-8.
12. Ciardiello F, Normanno N, Maiello E, Martinelli E, Troiani T, Pisconti S, et al. Clinical activity of FOLFIRI plus cetuximab according to extended gene mutation status by next-generation sequencing: findings from the CAPRI-GOIM trial. *Ann Oncol*. sept 2014;25(9):1756-61.

13. Cremolini C, Di Bartolomeo M, Amatu A, Antoniotti C, Moretto R, Berenato R, et al. BRAF codons 594 and 596 mutations identify a new molecular subtype of metastatic colorectal cancer at favorable prognosis. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol.* oct 2015;26(10):2092-7.
14. Amaki-Takao M, Yamaguchi T, Natsume S, Iijima T, Wakaume R, Takahashi K, et al. Colorectal Cancer with BRAF D594G Mutation Is Not Associated with Microsatellite Instability or Poor Prognosis. *Oncology.* 2016;91(3):162-70.
15. Summers MG, Smith CG, Maughan TS, Kaplan R, Escott-Price V, Cheadle JP. *BRAF* and *NRAS* Locus-Specific Variants Have Different Outcomes on Survival to Colorectal Cancer. *Clin Cancer Res.* 1 juin 2017;23(11):2742-9.
16. Ikenoue T, Hikiba Y, Kanai F, Tanaka Y, Imamura J, Imamura T, et al. Functional analysis of mutations within the kinase activation segment of B-Raf in human colorectal tumors. *Cancer Res.* 1 déc 2003;63(23):8132-7.
17. Wan PTC, Garnett MJ, Roe SM, Lee S, Niculescu-Duvaz D, Good VM, et al. Mechanism of activation of the RAF-ERK signaling pathway by oncogenic mutations of B-RAF. *Cell.* 19 mars 2004;116(6):855-67.
18. Yao Z, Yaeger R, Rodrik-Outmezguine VS, Tao A, Torres NM, Chang MT, et al. Tumours with class 3 BRAF mutants are sensitive to the inhibition of activated RAS. *Nature.* 10 2017;548(7666):234-8.
19. Shinozaki E, Yoshino T, Yamazaki K, Muro K, Yamaguchi K, Nishina T, et al. Clinical significance of BRAF non-V600E mutations on the therapeutic effects of anti-EGFR monoclonal antibody treatment in patients with pretreated metastatic colorectal cancer: the Biomarker Research for anti-EGFR monoclonal Antibodies by Comprehensive Cancer genomics (BREAC) study. *Br J Cancer.* 7 nov 2017;117(10):1450-8.
20. Zheng G, Tseng L-H, Chen G, Haley L, Illei P, Gocke CD, et al. Clinical detection and categorization of uncommon and concomitant mutations involving BRAF. *BMC Cancer.* 24 oct 2015;15:779.
21. Gong J, Cho M, Sy M, Salgia R, Fakhri M. Molecular profiling of metastatic colorectal tumors using next-generation sequencing: a single-institution experience. *Oncotarget.* 27 juin 2017;8(26):42198-213.
22. Cremolini C, Loupakis F, Antoniotti C, Lupi C, Sensi E, Lonardi S, et al. FOLFOXIRI plus bevacizumab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: updated overall survival and molecular subgroup analyses of the open-label, phase 3 TRIBE study. *Lancet Oncol.* oct 2015;16(13):1306-15.
23. Hugen N, Verhoeven RH, Lemmens VE, van Aart CJ, Elferink MA, Radema SA, et al. Colorectal signet-ring cell carcinoma: benefit from adjuvant chemotherapy but a poor prognostic factor: Outcome and adjuvant chemotherapy in signet-ring cell carcinoma. *Int J Cancer.* 15 janv 2015;136(2):333-9.

24. Qiu M, Hu J, Yang D, Cosgrove DP, Xu R. Pattern of distant metastases in colorectal cancer: a SEER based study. *Oncotarget* [Internet]. 17 nov 2015 [cité 16 sept 2018];6(36). Disponible sur: <http://www.oncotarget.com/fulltext/6130>
25. Venook AP, Niedzwiecki D, Lenz H-J, Innocenti F, Fruth B, Meyerhardt JA, et al. Effect of First-Line Chemotherapy Combined With Cetuximab or Bevacizumab on Overall Survival in Patients With *KRAS* Wild-Type Advanced or Metastatic Colorectal Cancer: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 20 juin 2017;317(23):2392.
26. Franko J, Shi Q, Meyers JP, Maughan TS, Adams RA, Seymour MT, et al. Prognosis of patients with peritoneal metastatic colorectal cancer given systemic therapy: an analysis of individual patient data from prospective randomised trials from the Analysis and Research in Cancers of the Digestive System (ARCAD) database. *Lancet Oncol*. déc 2016;17(12):1709-19.
27. van Oudheusden TR, Razenberg LG, van Gestel YR, Creemers GJ, Lemmens VE, de Hingh IH. Systemic treatment of patients with metachronous peritoneal carcinomatosis of colorectal origin. *Sci Rep* [Internet]. nov 2016 [cité 18 sept 2018];5(1). Disponible sur: <http://www.nature.com/articles/srep18632>
28. Bachet JB, Bouché O, Taieb J, Dubreuil O, Garcia ML, Meurisse A, et al. RAS mutation analysis in circulating tumor DNA from patients with metastatic colorectal cancer: the AGEO RASANC prospective multicenter study. *Ann Oncol*. 1 mai 2018;29(5):1211-9.
29. Venderbosch S, Nagtegaal ID, Maughan TS, Smith CG, Cheadle JP, Fisher D, et al. Mismatch Repair Status and BRAF Mutation Status in Metastatic Colorectal Cancer Patients: A Pooled Analysis of the CAIRO, CAIRO2, COIN, and FOCUS Studies. *Clin Cancer Res*. 15 oct 2014;20(20):5322-30.
30. Koopman M, Kortman GAM, Mekenkamp L, Ligtenberg MJL, Hoogerbrugge N, Antonini NF, et al. Deficient mismatch repair system in patients with sporadic advanced colorectal cancer. *Br J Cancer*. janv 2009;100(2):266-73.
31. Yao Z, Torres NM, Tao A, Gao Y, Luo L, Li Q, et al. BRAF Mutants Evade ERK-Dependent Feedback by Different Mechanisms that Determine Their Sensitivity to Pharmacologic Inhibition. *Cancer Cell*. sept 2015;28(3):370-83.
32. Heinemann V, von Weikersthal LF, Decker T, Kiani A, Vehling-Kaiser U, Al-Batran S-E, et al. FOLFIRI plus cetuximab versus FOLFIRI plus bevacizumab as first-line treatment for patients with metastatic colorectal cancer (FIRE-3): a randomised, open-label, phase 3 trial. *Lancet Oncol*. sept 2014;15(10):1065-75.
33. Bachet J-B, Moreno-Lopez N, Viganò L, Marchese U, Gelli M, Raoux L, et al. What is the prognostic impact of *BRAF* mutation in patients undergoing resection of colorectal liver metastases? Results of nationwide intergroup (ACHBT, FRENCH, AGEO) cohort of 249 patients. *J Clin Oncol*. 20 mai 2018;36(15\_suppl):3554-3554.

## **Epidémiologie, pronostic et chimiosensibilité des mutations BRAF non V600E des adénocarcinomes colorectaux métastatiques**

### **RESUME**

**Introduction :** Les adénocarcinomes colorectaux métastatiques (CCRm) avec mutation BRAF non V600E sont rares (2,2%). Leur chimiosensibilité n'a jamais été étudiée. L'objectif était d'analyser la chimiosensibilité, leurs caractéristiques cliniques, moléculaires et pronostiques.

**Patients et méthodes :** Il s'agissait d'une cohorte multicentrique rétrospective française incluant les CCRm mutés BRAF non V600E, divisés en 3 groupes : prise en charge curative des métastases (groupe 1, n=35), chimiothérapie palliative (groupe 2, n=63) et soins de confort (groupe 3, n=10).

**Résultats :** Les 108 patients inclus avaient un âge médian au diagnostic métastatique de 66 ans. Leur localisation ainsi que leur dissémination métastatique étaient classiques. Il y avait surtout des adénocarcinomes bien et moyennement différenciés (88%). Les mutations BRAF les plus fréquentes étaient la D594 (34,0%), G469 (14,8%), K601 (11,0%), N581 (6,5%), L597 (6,5%) et V600autres (6,5%). La mutation D594 était préférentiellement rectale, 21,9% des patients avaient une mutation RAS concomitante.

La chimiosensibilité était bonne avec 49,0% de réponse objective et 76,8% de taux de contrôle en 1<sup>ère</sup> ligne dans les groupes 1 et 2. Les taux de réponse étaient semblables entre les antiEGFr et les antiVEGF. La médiane de survie globale (mSG) était de 25,6 mois (IC<sub>95%</sub> = [17,1-43,8]). La mSG pour les groupes 1, 2 et 3 était de 105,1 mois, 16 mois et 8 mois. Il n'existait pas de différence de mSG en fonction du type de mutation (notamment pour D594 et K601) ni de l'impact fonctionnel sur BRAF.

**Conclusion :** Les CCRm mutés BRAF non V600E sont de bon pronostic, avec une bonne chimiosensibilité.

**Mots clés :** cancer colorectal, métastatique, mutation BRAF non V600E, pronostic, chimiosensibilité

## **Epidemiology, prognosis and chemosensitivity of non-V600E BRAF mutations in metastatic colorectal adenocarcinoma**

### **ABSTRACT**

**Introduction :** Metastatic colorectal carcinomas (mCRC) harboring BRAF non V600E mutation are rare (2,2%). Their chemosensitivity is unknown. The main objectives were to assess their chemosensitivity, their clinical, molecular and prognostic characteristics.

**Patients and methods :** This French retrospective multicentre cohort included mCRC with a non V600E BRAF mutation, divided into 3 groups : curative management of the metastases (group 1, n=35), chemotherapy alone treatment (group 2, n=63) and best supportive care group (group 3, n=10).

**Results :** 108 patients were included, they had a median age at diagnosis of metastasis of 66 years. Their localization and metastatic spread were usual. mCRC were mostly well to moderately differentiated (88%). D594 (34,0%), G469 (14,8%), K601 (11,0%), N581 (6,5%), L597 (6,5%) and V600others (6,5%) were the most frequent BRAF mutations. D594 mutation was mainly rectal, 21,9% had a concomitant RAS mutation.

Chemosensitivity was good in 1<sup>st</sup> line in group 1 and 2, with an overall response rate of 49,0% and a disease control rate of 76,8%. Response rate between antiEGFr and antiVEGF based regimen was similar. Median overall survival (mOS) was 25,6 months (IC<sub>95%</sub> = [17,1-43,8]). For group 1, 2 and 3, mOS was 105,1 months, 16 months and 8 months. mOS was not different regarding mutation type (especially for D594 and K601) and functional impact on BRAF.

**Conclusion :** non V600E BRAF mutated mCRC have a good prognosis and a good chemosensitivity.

**Keywords :** colorectal cancer, metastatic, non V600E BRAF mutation, prognosis, chemosensitivity