



HAL
open science

“ PaCaOmics ” : évaluation des données clinico-biologiques et de survie de patients atteints d’adénocarcinome pancréatique, quel que soit le stade, après dix ans d’expérience

Johan Martin

► **To cite this version:**

Johan Martin. “ PaCaOmics ” : évaluation des données clinico-biologiques et de survie de patients atteints d’adénocarcinome pancréatique, quel que soit le stade, après dix ans d’expérience. Sciences du Vivant [q-bio]. 2020. dumas-03016622

HAL Id: dumas-03016622

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03016622>

Submitted on 20 Nov 2020

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.

AIX-MARSEILLE UNIVERSITE
FACULTE DE MEDECINE DE MARSEILLE

T H E S E

Présentée et publiquement soutenue devant
LA FACULTE DE MEDECINE DE MARSEILLE

Le 19 octobre 2020

Par Mr Johan MARTIN

Née le 13 Avril 1990 à Bezons

« PaCaOmics » : évaluation des données clinico-
biologiques et de survie de patients atteints
d'adénocarcinome pancréatique, quel que soit le
stade, après dix ans d'expérience.

Pour obtenir le grade de DOCTORAT d'AIX-MARSEILLE
UNIVERSITE

Spécialité : Oncologie Médicale

Membres du jury de la Thèse :

Dr Marine Gilabert

Pr Anthony Gonçalves

Pr Olivier Turrini

Pr Philippe Grandval

Remerciements

- A ma directrice de thèse, Marine Gilabert, dont la pondération, la précision et la bienveillance ont rendu ce travail considérable agréable et facile
- A toute l'équipe de PACAOMICS : disponibles toujours, et sympathiques toujours (Nelson Dusetti, Christophe Zemmour, Caroline Gouarne...)

- A mon Sang : QLF jusqu'à la tombe
- A mon Ame Sœur : touchée par la Grâce : « la beauté sauvera le monde »
- A sa famille, nouvelle constante vitale
- A Z.
- A mes collègues : serviteurs du Seigneur
- A la banlieue parisienne : paillason devant Paris
- A Marseille : « homme libre, toujours tu chériras la mer »

- Aux feux noirs de ce monde : Shlohmo, Interpol, Salem, James Gray, Joy Division...
- Aux feux bleus de ce monde : Michael Mann, Portishead, Mike Figgis, Chloe Zhao, The Warlocks, The Black Angels
- Aux feux forts de ce monde : Malcolm X, Nietzsche, Churchill
 - « Car le feu qui me brule, est celui qui m'éclaire »

- A la Morale, la Beauté, au Bien et leurs apôtres : Dostoïevski, Terrence Malick, Rilke

« Seems you're alone. You're not. Even now, He's taking your hand and guiding you by a way you cannot see. If you're unhappy, you shouldn't take it as a mark of God's disfavor. Just the contrary. Might be the very sign He loves you. He shows His love not by helping you avoid suffering, by sending you suffering. By keeping you there. To suffer binds you to something higher than yourself, higher than your own will. Takes you from the world, to find what lies beyond it. We are not only to endure patiently the troubles He sends, we are to regard them as gifts. As gifts more precious than the happiness we wish for ourselves. »

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

AGOSTINI FERRANDES Aubert	CHOSSEGROS Cyrille	GUEDJ Eric
ALBANESE Jacques	COLLART Frédéric	GUIEU Régis
ALIMI Yves	COSTELLO Régis	GUIS Sandrine
AMABILE Philippe	COURBIERE Blandine	GUYE Maxime
AMBROSI Pierre	COWEN Didier	GUYOT Laurent
ANDRE Nicolas	CRAVELLO Ludovic	<i>GUY'S Jean-Michel Surnombre</i>
ARGENSON Jean-Noël	CUISSET Thomas	HABIB Gilbert
ASTOUL Philippe	<i>CURVALE Georges Surnombre</i>	HARDWIGSEN Jean
ATTARIAN Shahram	DA FONSECA David	HARLE Jean-Robert
AUDOUIN Bertrand	DAHAN-ALCARAZ Laetitia	<i>HOFFART Louis Disponibilité</i>
AUQUIER Pascal	DANIEL Laurent	HOUVENAEGHEL Gilles
AVIERINOS Jean-François	DARMON Patrice	JACQUIER Alexis
AZULAY Jean-Philippe	D'ERCOLE Claude	JOURDE-CHICHE Noémie
BAILLY Daniel	D'JOURNO Xavier	JOUVE Jean-Luc
BARLESI Fabrice	DEHARO Jean-Claude	KAPLANSKI Gilles
BARLIER-SETTI Anne	DELAPORTE Emmanuel	KARSENTY Gilles
BARTHET Marc	<i>DELPERO Jean-Robert Surnombre</i>	<i>KERBAUL François détachement</i>
BARTOLI Christophe	DENIS Danièle	KRAHN Martin
BARTOLI Jean-Michel	DISDIER Patrick	LAFFORGUE Pierre
BARTOLI Michel	DODDOLI Christophe	LAGIER Jean-Christophe
BARTOLOMEI Fabrice	DRANCOURT Michel	LAMBAUDIE Eric
BASTIDE Cyrille	DUBUS Jean-Christophe	LANCON Christophe
BENSOUSSAN Laurent	DUFFAUD Florence	LA SCOLA Bernard
BERBIS Philippe	DUFOUR Henry	LAUNAY Franck
BERBIS Julie	DURAND Jean-Marc	LAVIEILLE Jean-Pierre
BERDAH Stéphane	DUSSOL Bertrand	LE CORROLLER Thomas
<i>BERNARD Jean-Paul Retraite au 25/11/2019</i>	EBBO Mikael	LECHEVALLIER Eric
BEROUD Christophe	EUSEBIO Alexandre	LEGRE Régis
BERTUCCI François	FAKHRY Nicolas	LEHUCHER-MICHEL Marie-Pascale
BLAISE Didier	<i>FAUGERE Gérard Surnombre</i>	LEONE Marc
BLIN Olivier	FELICIAN Olivier	LEONETTI Georges
BLONDEL Benjamin	FENOLLAR Florence	LEPIDI Hubert
BONIN/GUILLAUME Sylvie	FIGARELLA/BRANGER Dominique	LEVY Nicolas
BONELLO Laurent	FLECHER Xavier	MACE Loïc
BONNET Jean-Louis	FOURNIER Pierre-Edouard	MAGNAN Pierre-Edouard
<i>BOTTA/FRIDLUND Danielle Surnombre</i>	FRANCESCHI Frédéric	MANCINI Julien
<i>BOUBLI Léon Surnombre</i>	FUENTES Stéphane	<i>MATONTI Frédéric Disponibilité</i>
BOUFI Mourad	GABERT Jean	MEGE Jean-Louis
BOYER Laurent	GABORTI Bénédicte	MERROT Thierry
BREGEON Fabienne	GAINNIER Marc	METZLER/GUILLEMAIN Catherine
BRETELLE Florence	GARCIA Stéphane	MEYER/DUTOUR Anne
BROUQUI Philippe	GARIBOLDI Vlad	MICCALEF/ROLL Joëlle
BRUDER Nicolas	GAUDART Jean	MICHEL Fabrice
BRUE Thierry	GAUDY-MARQUESTE Caroline	MICHEL Gérard
BRUNET Philippe	GENTILE Stéphanie	MICHEL Justin
BURTEY Stéphane	GERBEAUX Patrick	MICHELET Pierre
CARCOPINO-TUSOLI Xavier	GEROLAMI/SANTANDREA René	MILH Mathieu
CASANOVA Dominique	GILBERT/ALESSI Marie-Christine	MILLION Matthieu
CASTINETTI Frédéric	GIORGI Roch	MOAL Valérie
CECCALDI Mathieu	GIOVANNI Antoine	MORANGE Pierre-Emmanuel
CHAGNAUD Christophe	GIRARD Nadine	MOULIN Guy
CHAMBOST Hervé	GIRAUD/CHABROL Brigitte	MOUTARDIER Vincent
CHAMPSAUR Pierre	GONCALVES Anthony	<i>MUNDLER Olivier Surnombre</i>
CHANEZ Pascal	GRANEL/REY Brigitte	NAUDIN Jean
CHARAFFE-JAUFFRET Emmanuelle	GRANVAL Philippe	NICOLAS DE LAMBALLERIE Xavier
CHARREL Rémi	GREILLIER Laurent	NICOLLAS Richard
CHAUMOTRE Kathia	GRIMAUD Jenn-Charles	OLIVE Daniel
CHIARONI Jacques	GROB Jean-Jacques	OUAFIK L'Houcine
CHINOT Olivier		OVAERT-REGGIO Caroline

PROFESSEURS DES UNIVERSITES-PRATICIENS HOSPITALIERS

PAGANELLI Franck	ROCH Antoine	TRIGLIA Jean-Michel
PANUEL Michel	ROCHWERGER Richard	TROPIANO Patrick
PAPAZIAN Laurent	ROLL Patrice	TSIMARATOS Michel
PAROLA Philippe	ROSSI Dominique	TURRINI Olivier
<i>PARRATTE Sébastien Disponibilité</i>	ROSSI Pascal	VALERO René
PELISSIER-ALICOT Anne-Laure	ROUDIER Jean	VAROQUAUX Arthur Damien
PELLETIER Jean	SALAS Sébastien	VELLY Lionel
PERRIN Jeanne	<i>SAMBUC Roland Surnombre</i>	VEY Norbert
PETIT Philippe	SARLES/PHILIP Nicole	VIDAL Vincent
PHAM Thao	SARLON-BARTOLI Gabrielle	VIENS Patrice
PIERCECCHI/MARTI Marie-Dominique	SCAVARDA Didier	VILLANI Patrick
PIQUET Philippe	SCHLEINITZ Nicolas	VITON Jean-Michel
PIRRO Nicolas	SEBAG Frédéric	VITTON Véronique
POINSO François	SEITZ Jean-François	VIEHWEGER Heide Elke
RACCAH Denis	SIELEZNEFF Igor	VIVIER Eric
RANQUE Stéphane	SIMON Nicolas	XERRI Luc
RAOULT Didier	STEIN Andréas	
REGIS Jean	TAIEB David	
REYNAUD/GAUBERT Martine	THIRION Xavier	
REYNAUD Rachel	THOMAS Pascal	
RICHARD/LALLEMAND Marie-Aleth	THUNY Franck	
ROCHE Pierre-Hugues	TREBUCHON-DA FONSECA Agnès	

Lexique

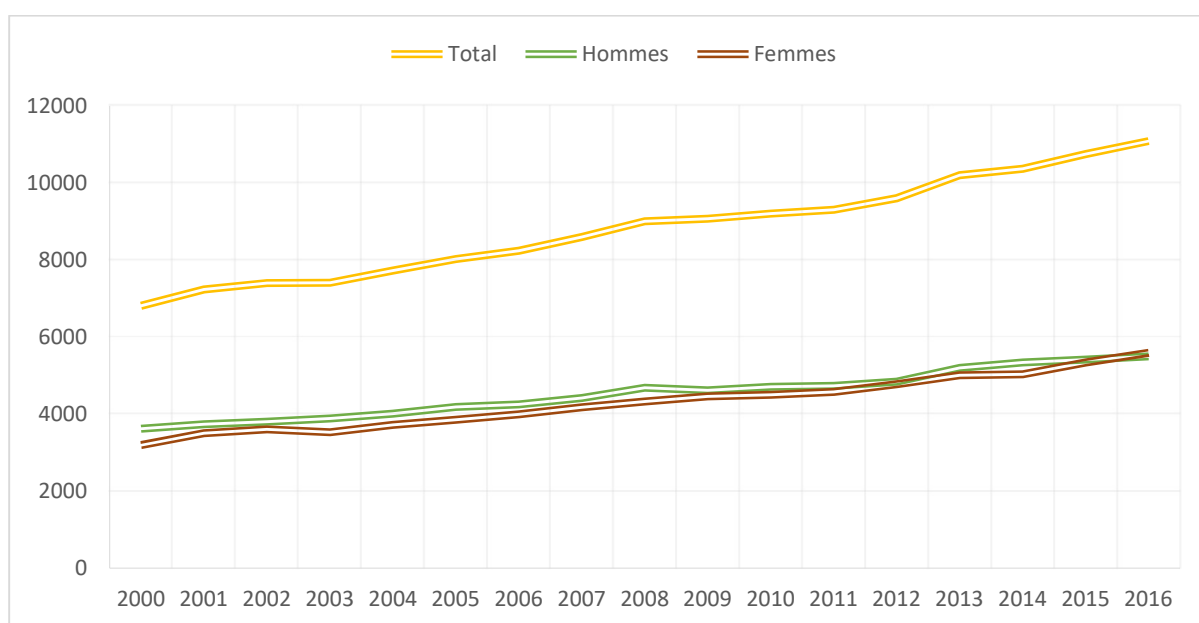
5FU : FLUOROURACILE
ACE : Antigène Carcino Embryonnaire
ADK : Adénocarcinome
ADN : Acide désoxyribonucléique
AF : Acide Folinique
ARN : Acide RiboNucléique
ATCD : Antécédent
BEC : bureau d'étude clinique
BRCA : BReast Cancer 2
Ca 19-9 : Antigène Carbohydrate 19 9
CDKN2A : Cyclin Dependant Kinase Inhibitor 2A
CRCM : Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille
DRCI : Direction de la Recherche Clinique
FAMM : Familial Atypical Multiple Mole Melanoma
HR : Hazard Ratio
GEMOX : GEMCITABINE+OXALIPLATINE
IC : Intervalle de Confiance
IK : Indice de Karnofski
IMC : Indice de Masse Corporelle
INCa : Institut National du Cancer
INSERM : Institut national de la santé et de la recherche médicale
IPMNs : intraductal papillary mucinous neoplasms
mFOLFIRINOX : modified 5FU+AF+IRINOTECAN+OXALIPLATINE
mSG : médiane de Survie Globale
NFPTR : National Familial Pancreas Tumor Registry
OS : Overall Survival
PaCaOmics : Pancreatic Cancer et technique de Omics
PALB2 : Partner And Localizer of BRCA2
PanINs : pancreatic intraepithelial neoplasias
PCCC : Pancreatic Cancer Cohort Consortium
PRSS1 : protease serine 1
PSEA : plateforme de stabulation et d'expérimentation animale
RR : Risque Relatif
RT CT : radio-chimiothérapie
SFDM : Serum Free Ductal Media
SG : Survie Globale
SSP : Survie sans progression
SSR : Survie sans Récidive
STK11 : serine/thréonine kinase 11
TIPMP : Tumeur intracanalair papillaire et mucineuse du pancréas

Sommaire

- Introductionp 1
- Matériel et Méthodes : le projet PaCaOmics....p 14
- Résultats.....p 26
- Discussion.....p 44
- Conclusion.....p 54
- Bibliographie.....p 59
- Annexes.....p 69
- Serment d'Hippocrate.....p 104

Introduction

Figure 1 :
Evolution des décès attribuables aux tumeurs malignes du pancréas, en France métropolitaine



L'adénocarcinome canalaire pancréatique est un problème majeur de santé publique en France et dans le monde. L'enjeu qu'il représente n'est pas tant le fait de son incidence (il reste un cancer relativement rare), que celui de sa mortalité extrêmement élevée, malgré les progrès constants des techniques d'imagerie diagnostique et de la prise en charge médico-chirurgicale.

Le taux de survie à 5 ans tous stades confondus est encore d'environ 9 % aux USA comme en Europe et c'est le seul cancer dont le ratio mortalité/incidence est de 94 %¹. Ce pronostic extrêmement sombre s'explique par la localisation profonde du pancréas, l'apparition tardive des symptômes de la maladie et l'absence de test de dépistage, qui rendent un diagnostic précoce difficile. À cela, il faut ajouter l'extrême agressivité et les capacités métastatiques élevées de la plupart des tumeurs pancréatiques. C'est la raison pour laquelle beaucoup de progrès doivent être accomplis, depuis la compréhension de la genèse des formes invasives, jusqu'à leur traitement.

La terminologie de « cancer primitif du pancréas » s'emploie pour décrire une tumeur maligne dont l'origine est une cellule pancréatique. En fait, ce terme regroupe un grand nombre de tumeurs au comportement et au pronostic variés, mais que l'on peut séparer en deux groupes bien distincts : les rares tumeurs issues des îlots de Langerhans, c'est-à-dire du tissu pancréatique endocrine (essentiellement les insulinomes et les glucagonomes), et le groupe des cancers issus du pancréas non endocrine, c'est à dire exocrine. Au sein de ce second groupe, l'adénocarcinome (ADK) canalaire est de loin le plus fréquent puisqu'il représente à lui seul environ 85% de la totalité des cancers pancréatiques^{2,3}.

La catégorisation des cancers pancréatiques exocrines est en pleine évolution. Autrefois uniquement basée sur les caractéristiques histologiques de la tumeur, elle tend aujourd'hui à prendre en compte d'autres facteurs responsables de l'hétérogénéité tumorale de ce cancer. Ainsi, des données moléculaires et génétiques ont montré leur valeur pronostique et peuvent guider davantage la prise en charge thérapeutique⁴.

A) Epidémiologie :

Les données issues des registres internationaux d'incidence ont permis d'estimer qu'environ 458 000 nouveaux cas de cancer du pancréas sont survenus en 2018 dans le monde, dont 132 500 cas en Europe¹. Dans les pays industrialisés, le taux d'incidence standardisé est de 7.7 pour 100 000 habitants ce qui en fait encore une maladie rare (2.5% de tous les cancers). Ce taux semble cependant présenter une augmentation constante inquiétante selon les projections d'incidence. En Europe, cette augmentation du nombre de nouveaux cas pourrait s'élever à 29.3% dans les années à venir¹. Malgré ce faible taux d'incidence, le cancer du pancréas représente la 7^{ème} cause de mortalité par cancer dans les pays développés. La similitude entre les chiffres d'incidences et de mortalité traduit le pronostic dramatique de cette pathologie, ainsi que la faible efficacité des options thérapeutiques^{5,6}.

En France, le taux d'incidence augmente d'environ 3,2% par an depuis les années 1990. Le nombre de nouveaux cas est en effet passé de 6 000 en 2006, à 12 000 en 2012, pour atteindre plus de 14 000 nouveaux cas aux derniers chiffres recensés en 2018 (données INCa 2019)⁷. La répartition de ces nouveaux cas selon le sexe est globalement équilibrée, et la grande majorité des patients est âgé de plus de 50 ans.

Le taux de mortalité lié au cancer du pancréas en France augmente, par conséquent, également constamment (Figure 1). Ce taux croissant en permanence pourrait hisser le cancer du pancréas à la deuxième place des causes de mortalité par cancer d'ici une dizaine d'année.

B) Principaux facteurs de risques :

L'une des rares causes modifiables établies pour l'ADK pancréatique est le **tabagisme**. Les données publiées par le Pancreatic Cancer Cohort Consortium (PCCC) provenant de huit larges cohortes nationales et internationales décrivent un phénomène dose-effet selon lequel le risque augmente avec le nombre de cigarettes fumées chaque jour, le nombre d'années de tabagisme et la dose cumulée de tabac⁸. Une méta-analyse datant de 2010 a quantifié ce risque relatif à 1.47 chez les fumeurs actifs, et à 1.2 pour les anciens fumeurs, ce risque persistant jusqu'à 10 ans après l'arrêt du tabac^{9,10}.

La **pancréatite chronique**, quelle que soit son origine, prédispose au cancer du pancréas. Dans les pays industrialisés, où elle est majoritairement due à une consommation excessive d'alcool (retrouvée chez 80% des patients), le risque de cancérisation augmente avec la durée de la pancréatite. Indépendamment de cette pathologie, la consommation excessive d'alcool (plus de trois verres par jour) est associée à un risque augmenté de développer un cancer du pancréas¹¹. Ce risque semble majoré en cas d'intoxication tabagique associée, par effet synergique¹¹.

L'association avec une **surcharge pondérale** (mesurée par l'indice de masse corporelle (IMC)) avant la survenue du cancer semble également objective¹². Une méta-analyse portant sur 21 études de cohortes montre en effet un risque augmenté de 1,12 (95% IC : 1,06-1,17) pour 5 points d'IMC additionnels¹³, risque pouvant être majoré de (Risque Relatif (RR)=2.08) chez les patients obèses (IMC>30kg/m²) par rapport aux patients ayant un IMC sain (18.5-24.9kg/m²) selon une étude de l'American Cancer Society²². La précocité du surpoids (IMC 25-29.9 kg/m²) ou de l'obésité majorerait également le risque de déclarer un cancer pancréatique¹⁴.

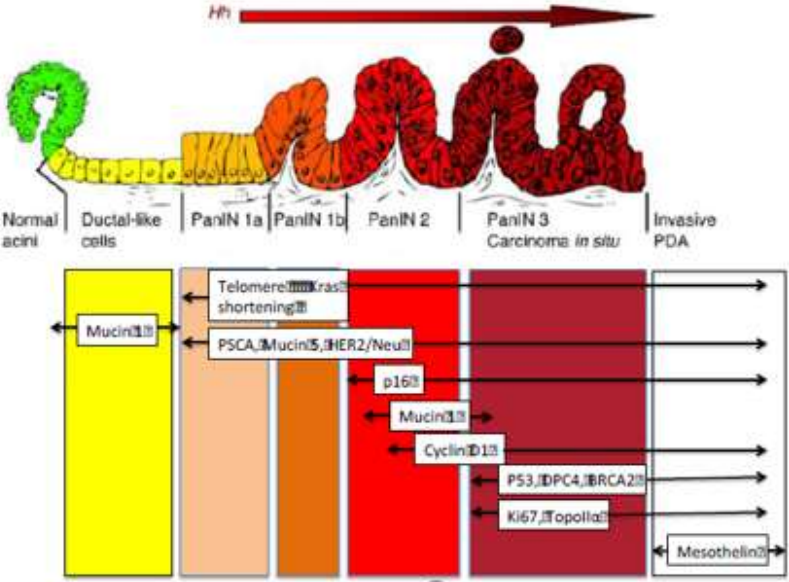
La **consommation de viande rouge** (a fortiori très cuite), d'aliments frais ou contenant des nitrosamines (charcuterie...) augmenterait aussi le risque de développer ce type de cancer¹⁵. Une méta-analyse de 11 études cas témoins publiée en 2012 a montré que la consommation de viande rouge majorerait le risque d'un peu moins de 50% (48% 95%IC 1.25-1.76), cette même étude retrouve un rôle protecteur des régimes de type méditerranéens, à base de fruits et de légumes, avec une diminution du risque de presque 40% (38% 95%IC : 0.54-0.73)¹⁶. De même, la consommation régulière de noix chez la femme¹⁷ ou les régimes pauvres en viandes animales de type végétarien ou vegan diminueraient également ce risque¹⁸.

Les **diabètes** sucrés de type I et II lui sont ainsi associés dans la quasi-totalité des études transversales ou prospectives réalisées à ce jour¹⁹⁻²². Le risque de développer un cancer après 5 à 10 ans est deux fois plus élevé chez les sujets présentant une hyperglycémie à jeun à l'inclusion, et trois fois plus élevé chez les sujets présentant une hyperinsulinémie²³, probablement à cause d'une hyperactivité pancréatique.

Un **caractère familial** est mis en évidence dans 5 à 10% des tumeurs pancréatiques^{24,25}. Depuis 15 ans, plusieurs registres familiaux des tumeurs pancréatiques ont été créés dans le monde^{26,27}, dont le plus connu aux USA, le registre du Johns Hopkins Hospital, le National Familial Pancreas Tumor Registry (NFPTR) ; celui-ci regroupe actuellement près de 3 500 familles. Les membres de la famille au premier degré d'un patient atteint de cancer pancréatique serait 9 fois plus à risque d'en développer un également par rapport à la population générale²⁸, et ce risque serait même doublé en cas d'atteinte d'au moins deux membres de la famille au premier degré²⁹. Dans ces situations, plus le patient index est jeune, plus le risque d'avoir un cancer augmente pour les membres de sa famille (Hazard Ratio (HR) 1,55 par année décroissante pour le cas index, 95% IC : 1,19-2,03)³⁰.

Comme précisé précédemment, le cancer du pancréas est principalement une maladie du **sujet âgé**¹. Le risque de développer cette maladie augmente ainsi avec l'âge pour atteindre l'âge médian de 70 ans.

Figure 2 :
 « PanINgram » illustrant la progression vers le cancer pancréatique à partir des lésions pancréatiques PanINs (Feldmann et Al. 2007)



C) Susceptibilité génétique et épigénétique :

Dans la grande majorité des cas, les mutations successives conduisant à la cancérisation sont uniquement observées au niveau du tissu pancréatique, et ne sont donc pas transmissibles. Ces mutations somatiques surviennent spontanément ou sous l'action de facteurs génotoxiques environnementaux comme ceux précédemment décrits. On parle de formes sporadiques.

Précurseurs

Les précurseurs reconnus du cancer pancréatique sont au nombre de trois : pancreatic intraepithelial neoplasias (PanINs), intraductal papillary mucinous neoplasms (IPMNs), et mucinous cystic neoplasms. Si les trois lésions sont susceptibles de progresser vers le cancer invasif, le processus physiopathologique par lequel elles y parviennent n'a été véritablement établi que pour les PanINs, qui constituent les précurseurs principaux de l'adénocarcinome canalaire. La présence de ces précurseurs a été mise en évidence dans le cancer pancréatique de type familial. Les travaux réalisés à partir du registre américain NFPTTR ont montré que les lésions de type « précurseurs » sont plus fréquentes chez les patients qui présentent un cancer familial que chez ceux qui présentent un cancer sporadique, et qu'elles ont tendance à être multifocales et d'un grade plus élevé³¹.

Dans les cancers de type sporadique, l'existence de mutations somatiques identiques à celles identifiées dans le cancer invasif a également permis d'établir le caractère précurseur des PanINs³². Un « PanINgram » établi à partir des pièces opératoires de 44 patients américains présentant un cancer pancréatique schématise les altérations moléculaires qui surviennent durant le processus de cancérisation ³³ (Figure 2).

Une accumulation progressive de mutations dans les gènes KRAS2, TP53, p16/CDKN2a et DPC4 accompagne la transformation histologique. Les mutations de l'oncogène KRAS (KirstenRAS) sont rares dans le pancréas normal puisque leur fréquence se situe autour de 13 %, alors qu'elles sont observées dans près de 90% des ADK pancréatiques. Une méta-analyse des données publiées entre 1988 et 2003 a montré que les mutations du gène KRAS sont détectées dans respectivement 36, 44 et 87% des lésions PanIN-1a, PanIN-1b, et PanIN-2-3³⁴. Cette étude a donc montré que l'augmentation graduelle dans la positivité KRAS est corrélée à la sévérité des lésions précancéreuses. La question de l'identification des facteurs qui sont à l'origine de la mutation KRAS reste posée. Plus généralement, les raisons des variations d'évolution des PanINs vers le cancer invasif restent largement spéculatives ³⁵.

Mutations constitutionnelles

Grâce au séquençage du génome humain et aux registres familiaux, il a été montré que l'existence de certaines mutations constitutionnelles au sein de gènes bien identifiés confère une importante majoration du risque de cancer pancréatique³⁶. Souvent, cette mutation à forte pénétrance prédispose à la survenue de plusieurs autres types de cancers. Il s'agit par exemple de la mutation du gène BRCA2 (Breast Cancer 2) associée au cancer familial du sein et de l'ovaire (identifié dans 5-17% des cas de cancer pancréatique familiaux)³⁷⁻³⁹, de la mutation du gène STK11 (serine/thréonine kinase 11) associée au syndrome de Peutz-Jeghers ⁴¹ des mutations MLH1/MSH2 associé au syndrome de Lynch ou encore de la mutation du gène CDKN2A (Cyclin Dependant Kinase Inhibitor 2A) associée au syndrome de mélanome familial FAMMM (Familial Atypical Multiple Mole Melanoma). D'autres mutations ont été décrites chez les patients atteints de pancréatite chronique héréditaire (notamment sur le gène PRSSI (protease serine 1)), et, plus récemment, plusieurs mutations et délétions sur le gène PALB2 (Partner And Localizer of BRCA2) ont été incriminées dans le cancer pancréatique familial⁴² et seraient responsables de 3% des cas de cancers pancréatiques familiaux.

D) Traitement et survie :

Malgré les progrès récents de la chirurgie et l'arrivée de combinaison de chimiothérapie et/ou de thérapies ciblées, le pronostic des patients atteints d'un ADK pancréatique reste très sombre, la survie globale 5 ans, tout stades confondus, est passé de 6% en 2014, à 9% en 2018^{1,41}. Ces chiffres sont globalement similaires aux Etats Unis et en Europe^{1,42}.

Cancers pancréatiques résécables

Depuis vingt ans, la résection chirurgicale est toujours le seul traitement curatif, et seulement 15-20% des malades ont une tumeur jugée résécable au moment du diagnostic. Cette faible proportion s'explique par le caractère tardif et aspécifique des symptômes causées par ce cancer^{43,44}. Dans la littérature, les résultats à long terme restent péjoratifs dans les séries chirurgicales monocentriques issues de centres spécialisés; les taux de survie décroissent même encore après la 5e année en raison des rechutes tardives⁴⁵.

L'amélioration de la survie dans ce contexte de maladie localisée est en grande partie due à l'avancée des techniques chirurgicales, avec une diminution considérable de la mortalité post opératoire au fil du temps (3,3% contre 25% il y a une trentaine ans)^{45,46}.

La meilleure évaluation de la qualité de la résection et de son caractère complet (résection macroscopique et microscopique complète = R0)⁴⁷⁻⁴⁹, et la possibilité d'une résection « secondaire » en cas de tumeur initialement jugée à la limite de la résécabilité (tumeur borderline) ou de tumeur localement avancée non métastatique (tumeur présentant un contact avec les vaisseaux mésentériques) chez quelques malades sélectionnés, ont également permis d'améliorer le pronostic de ces patients⁵⁰.

La survie post chirurgie à visée curative exclusive serait aux alentours de 19% à 5 ans, et de 11% à 7 ans^{45,51}, avec une médiane de survie globale à environ 15 mois^{44,46,52-54}.

Ces résultats demeurent largement insatisfaisants et ont poussé, au milieu des années 2000, à la généralisation de la chimiothérapie adjuvante chez tous les patients opérés dont le statut clinique le permet.

L'essai ESPAC 1⁵⁵ a montré que la chimiothérapie seule par 5-FU et Acide Folinique (AF) après résection carcinologique, selon le schéma de la Clinique Mayo (USA), améliorait significativement la médiane de survie globale (SG) (19,7 vs 14 mois ; p = 0,0005). Les résultats définitifs de l'essai publiés en 2004⁵⁶ confirmaient le bénéfice en survie (survie à 5 ans : 21% dans le bras chimiothérapie vs 8% dans le bras sans chimiothérapie ; p = 0,009).

Par ailleurs, après la publication de l'ESPAC 1, l'association adjuvante de radiothérapie et de chimiothérapie (RT-CT) avec du 5-FU n'a plus été un standard thérapeutique en France.

Dans l'étude de phase III CONKO 001 les patients ont été randomisés entre une chimiothérapie par GEMCITABINE (1 000 mg/m² J1, J8, J14/4 sem. x 6) ou une simple surveillance. La survie sans récurrence (SSR) dans le bras avec GEMCITABINE (13,4 mois) était supérieure à celle du bras surveillance seule (6,9 mois) ; p < 0,001. La médiane de SG était de 22,1 mois dans le bras avec GEMCITABINE et de 20,2 mois dans le bras contrôle (p < 0,06) avec une SG estimée à 3 ans de 34% vs 20,5% respectivement⁵⁷.

L'essai ESPAC 3 de 2012 a randomisé les patients opérés d'un adénocarcinome pancréatique, entre 5-FU + AF (schéma de la Clinique Mayo (6 cycles)) et GEMCITABINE (1 000 mg/m² J1, J8, J14/4 sem. x6). La médiane de SG était de 23 mois dans le bras 5FU/AF et de 23,6 mois (95% CI, 21,4-26,4) dans le bras GEMCITABINE (p = 0,39)⁵⁸, classant les deux protocoles comme équivalents.

En 2017, l'essai ESPAC 4 a montré le bénéfice modéré de l'ajout de la CAPECITABINE (forme orale du 5FU) à la GEMCITABINE, avec une SSR globalement similaire dans les deux groupes (13,1 vs 13,6 mois (HR 0.86 95% CI, 0,75-1,02) p=0.082), et un gain de SG de 2.5 mois en faveur de l'association (28 vs 25,5 mois (HR 0.82 95% CI, 0,68-0,98) p=0.032). Ce gain semblait par ailleurs plus marqué en cas de résection R0 (39,5 vs 27,9 mois), par rapport aux résections R1, qui ne mettait en évidence aucune

différence de SG médiane (23,7 vs 23,0 mois)⁵⁹. L'essai PRODIGE 24/CCTG PA.6⁶⁰ impose un nouveau standard thérapeutique en 2018 en objectivant la supériorité de la trithérapie par 5FU, IRINOTECAN et OXALIPLATINE (mFOLFIRINOX) par rapport à la monochimiothérapie par GEMCITABINE en schéma adjuvant. Le gain en SSR était de 9,2 mois en faveur du mFOLFIRINOX (21,6 vs 12,8 mois HR 0,59 95% IC, 0,47-0,74), et le bénéfice en SG s'élevait à un peu moins de 20 mois (54,4 vs 35 mois HR 0,66 95% IC, 0,49-0,89).

Enfin en 2019, au meeting ASCO Chicago a été présentée l'étude APACT évaluant un traitement adjuvant par GEMCITABINE et NabPACLITAXEL contre une monothérapie par GEMCITABINE. Il a été montré une supériorité de cette nouvelle association en termes de SSR selon l'investigateur (16,6 mois vs 13,7 mois (HR 0.82 95% CI, 0,69-0,96) p=0.016) et sur les données de survie globale intérimaires (40,5 vs 36,2 mois (HR 0.82 95% CI, 0,68-0,99) p=0.045)⁶¹, pouvant ainsi servir d'alternative aux patients trop fragiles pour recevoir un protocole de FOLFIRINOX (cependant le NabPACLITAXEL n'a toujours pas obtenu de remboursement en France).

Les nouvelles études en cours concernant les cancers du pancréas résécables évaluent maintenant l'intérêt d'un traitement péri-opératoire (néoadjuvant et adjuvant) comme l'essai NEOLAP (NCT02125136), qui étudie l'association de GEMCITABINE et Nab PACLITAXEL en peri-opératoire, ou encore l'essai PANACHE (NCT02959879), qui étudie l'intérêt du FOLFOX ou du FOLFIRINOX en néoadjuvant en plus du traitement standard adjuvant.

Cancers pancréatiques non résécables

Le cancer du pancréas a longtemps été considéré comme chimio-résistant et la chimiothérapie ne faisait pas partie de son arsenal thérapeutique il y a encore trente ans⁶². La raison de cette chimiorésistance est multifactorielle. Une des molécules les moins influencées par ces mécanismes de résistance est le FLUOROURACILE (5-FU), et elle a donc été largement utilisée dans le traitement des cancers du pancréas opérés, localement avancés ou métastatiques⁶³. En 1997, la GEMCITABINE a montré sa supériorité en termes de survie globale et de qualité de vie par rapport au 5FU, grâce à l'étude randomisée de Burris et al, évaluant, chez des patients avec cancer du pancréas avancé, un traitement hebdomadaire par 5FU (600 mg/m² en bolus) contre un traitement par GEMCITABINE (1000 mg/m², 7 semaines sur 8 puis 3 semaines sur 4 = schéma de Burris)⁶⁴. Les résultats du 5FU et de la GEMCITABINE ont été respectivement : bénéfice clinique : 4,8% et 24% (p = 0,0022) ; médianes de survie globale : 4,4 et 5,6 mois ; taux de survie à un an : 2% et 18% (p = 0,0025). Cette étude a permis à la GEMCITABINE d'obtenir son autorisation de mise sur le marché (AMM) en Europe dans cette indication à la fin des années 90.

Nombre d'associations thérapeutiques avec la GEMCITABINE ont été explorées et se sont montrées décevantes dans les années suivantes : GEMCITABINE et ERLOTINIB (inhibiteur tyrosine kinase du récepteur à l'Épidermal Growth Factor)⁶⁵, GEMCITABINE et BEVACIZUMAB⁶⁶, GEMCITABINE et SORAFENIB⁶⁷ ou encore GEMCITABINE et CETUXIMAB⁶⁸.

Ce n'est qu'en 2010 qu'une réelle amélioration de la survie des patients présentant une tumeur avancée a été observée grâce à l'utilisation d'une polychimiothérapie utilisant : 5FU+AF+IRINOTECAN+OXALIPLATINE selon le schéma « FOLFIRINOX ». Les résultats de l'essai multicentrique de phase III (PRODIGE 4/ACCORD 11) de T. Conroy et al ont permis à ce schéma thérapeutique de devenir le traitement « gold standard » en Europe pour les patients en bon état général et présentant un cancer du pancréas avancé ou métastatique⁶⁹. Cet essai a comparé le schéma FOLFIRINOX (association d'OXALIPLATINE 85 mg/m², d'IRINOTECAN 180 mg/m², ACIDE FOLINIQUE 400 mg/m² et de 5-FU bolus 400 mg/m² suivi de 5-FU en perfusion continue sur 46 h 2,4g/m²) à la GEMCITABINE (schéma de Burris) chez 342 patients, et a mis en évidence des résultats très en faveur du FOLFIRINOX :

taux de réponses de 31,6% contre 9,4% ($p = 0,0001$), survie sans progression médiane de 6,4 contre 3,3 mois ($p < 0,001$) et survie globale de 11,1 contre 6,8 mois ($HR = 0,57$; 95% CI = 0,45- 0,73; $p < 0,001$).

Enfin, en 2013, l'association du Nab PACLITAXEL avec la GEMCITABINE a prouvé sa supériorité par rapport à la monochimiothérapie de première ligne par GEMCITABINE⁷⁰, en augmentant la médiane de survie globale de 2 mois (8.5 mois contre 6.7 mois en faveur de la combinaison $HR = 0.72$; 95% CI = 0.62-0.83 ; $p < 0,001$).

Plusieurs associations de chimiothérapie ont été également testées et ont montré une efficacité modérées dans les cancers du pancréas avancés, comme l'association 5FU + AF+ OXALIPLATINE (schéma FOLFOX) en deuxième ligne de traitement, après échec d'une chimiothérapie par GEMCITABINE⁷¹, ou encore les associations de GEMCITABINE avec OXALIPLATINE⁷² (schéma GEMOX) ou avec le CISPLATINE⁷³, qui ne montraient que très peu de gain en terme de survie globale en comparaison avec la GEMCITABINE seule.

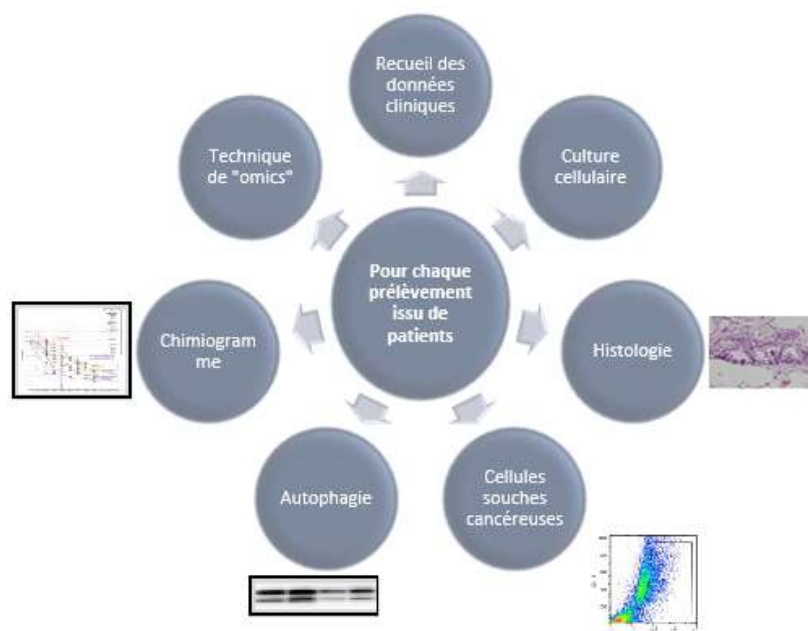
E) Projet d'étude :

Cette thèse porte sur une expérience régionale multicentrique et multidisciplinaire concernant les adénocarcinomes pancréatiques. Il s'agit d'une analyse clinico-pathologique globale du projet marseillais PACAOMICS (Pancreatic Cancer et techniques de Omics) débuté en Février 2012 et clôturé en Décembre 2017. Les données cliniques et les données moléculaires récoltées pour le projet ont été prospectives de 2012 à 2017 puis rétrospectives à partir de 2017 et censurées au 01 juin 2020.

Les résultats présentés ici concernent tout d'abord les caractéristiques clinico-biologiques de l'ensemble des patients inclus ainsi que les événements survenus chez ces patients (progression ou décès), puis les difficultés et écueils rencontrés lors de l'obtention de matériel tumoral biologiquement analysable (techniques de culture cellulaire, xénogreffe et techniques de Omics) et enfin, la recherche de facteurs pronostiques dans la population globale et dans une population en particulier, afin d'identifier des biomarqueurs permettant d'aider les démarches thérapeutiques.

Matériel et
méthode :
Le projet
PaCaOMICS

Figure 3 :
La stratégie du projet PaCaOmics



A) Rationnel du projet

Si le pronostic de l'adénocarcinome pancréatique est notoirement sombre, quelques patients présentent une évolution étonnamment favorable, très probablement en raison de caractéristiques moléculaires particulières qu'il serait très intéressant de préciser. Or la plupart des approches développées jusqu'à présent pour caractériser les tumeurs pancréatiques sont restées peu productives, notamment en raison du fait que l'essentiel des études ont été conduites sur du tissu obtenu lors d'exérèses chirurgicales, avec un contenu cellulaire et stromal extrêmement variables d'un patient à l'autre, et correspondant par définition à une population de patients très sélectionnés (15 à 20% des cancers pancréatiques au diagnostic).

Dans ce contexte, l'idée du projet **PaCaOmics** pour « **P**ancreatic **C**ancer et techniques de **O**mics » a ainsi vu le jour en 2011. Le point de départ de ce projet était d'évaluer ce faible pourcentage de survivants à long terme, avec l'hypothèse qu'une approche d'analyse des tumeurs issues de ces patients par les outils de « omique » (c'est-à-dire à grande échelle), ainsi que leur comparaison à celles de patients dont la survie était réduite pourrait permettre d'identifier des biomarqueurs diagnostiques, pronostiques et/ou prédictifs de la réponse thérapeutique.

Le projet « PaCaOmics » proposait donc de caractériser ces différences existantes entre les patients, en utilisant des stratégies innovantes d'analyses moléculaires sur les cellules cancéreuses uniquement (les cellules stromales étant éliminées en grande partie lors de la culture ex vivo), cellules recueillies dans une population reflétant plus fidèlement la population globale des adénocarcinome pancréatiques, c'est-à-dire non seulement chez les patients opérables, mais également et surtout, chez les patients présentant une maladie localement avancée non opérable et les patients métastatiques.

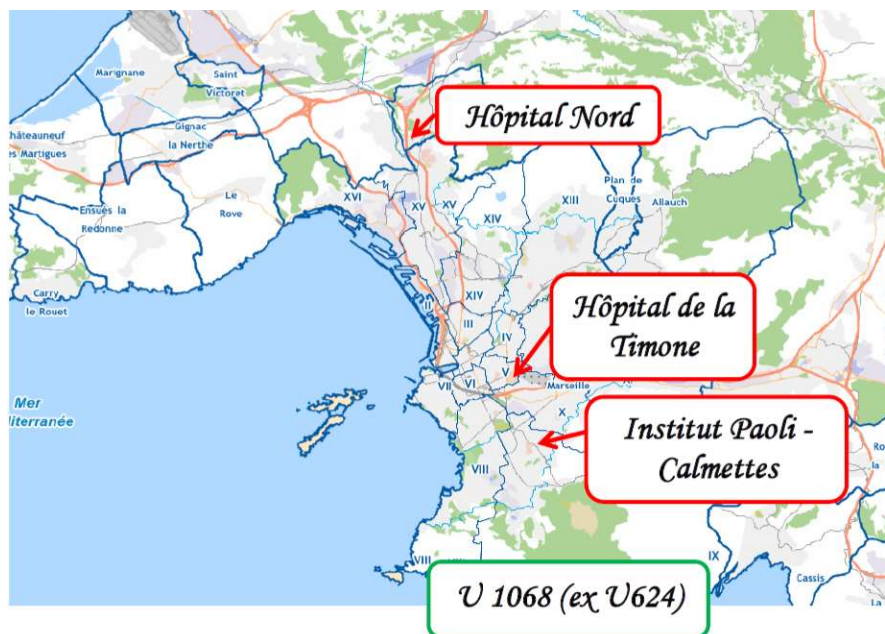
B) Objectifs et stratégie du projet

Les objectifs finaux du projet « PaCaOmics » étaient l'identification de biomarqueurs de diagnostic précoce et de pronostic, le développement d'un chimiogramme, permettant de déterminer la meilleure stratégie médicamenteuse à appliquer à une tumeur donnée et également utilisable pour les tests de composés thérapeutiques innovants, et enfin l'identification de nouvelles cibles thérapeutiques (figure 3).

Pour cela, à l'aide de xénogreffes et de cultures primaires, les prélèvements tumoraux issus des patients ont été étudiés sur le plan cellulaire (évaluation des cellules souches cancéreuses et des processus métaboliques tels que l'autophagie), sur leurs profils de sensibilité in vitro aux chimiothérapie (établissement d'un chimiogramme via des tests de sensibilité aux drogues) ainsi que par des techniques de « Omics » à haut débit, avec analyse de l'ADN (techniques de séquençage des exons, variation du nombre de copies et modifications épigénétiques de l'ADN), analyse des niveaux d'expressions de l'ARN à plusieurs niveaux (ARNm, miARN et ARNnc et les produits d'épissage alternatif) et également analyse sur le plan protéomique (analyse du profil d'expression protéique, notamment sécrétome et Ubiquitinome) à la recherche de potentielles modifications post-traductionnelles.

L'ensemble de ces études et résultats ne sera pas traité dans cette thèse mais rapporté dans les publications disponibles en annexe et issues du projet PaCaOmics.

Figure 4 :
Les intervenants du projet PaCaOmic



C) Intervenants

Les trois centres cliniques marseillais participants ont été l'Institut Paoli-Calmettes (promoteur de l'étude), l'Hôpital Nord et l'Hôpital de la Timone. Le bureau d'étude clinique (BEC), maintenant DRCI (Direction de la Recherche Clinique) de l'Institut Paoli-Calmettes centralisait l'ensemble des données issues du projet.

Ces trois hôpitaux travaillaient en étroite collaboration avec le Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), unité INSERM 1068, équipe scientifique du Stress cellulaire, localisé à la Faculté des Sciences de Luminy, Marseille.

D) Méthodologie

L'étude PaCaOmics est une étude prospective ouverte multicentrique alliant une approche clinique (données démographiques et survie des patients) et une approche scientifique permettant la caractérisation moléculaire de ces tumeurs.

1) Objectifs principaux et secondaires

- Objectif principal

L'objectif principal de l'étude a été défini comme l'obtention d'une collection prospective de 100 cultures cellulaires primaires provenant du matériel tumoral humain obtenu par micro-biopsie (à l'occasion d'une écho-endoscopie diagnostique) ou par prélèvement tumoral sur la pièce opératoire (résection chirurgicale première) chez des patients présentant un adénocarcinome pancréatique. Le but de cette biobanque est de permettre le déploiement d'analyses moléculaires génomiques, transcriptomiques et protéomiques, ainsi que l'évaluation de la sensibilité aux cytotoxiques conventionnels ou en développement

- Objectif secondaire

Déterminer la relation entre les altérations moléculaires, la sensibilité aux drogues et les caractéristiques histo-cliniques principales des patients et de leurs tumeurs.

2) Sélection des patients

Afin d'obtenir des cellules pancréatiques humaines utilisables pour l'étude, les patients devaient obéir à certains critères d'éligibilité.

- Critères d'inclusion

Patient âgé de plus de 18 ans, affilié à la sécurité sociale ou bénéficiant d'un tel régime, présentant une suspicion d'adénocarcinome au diagnostic conduisant à une procédure d'écho-endoscopie diagnostique, ou chirurgie d'emblée. Avec recueil du consentement de participation signé.

- Critères de non-inclusion

Toute personne en situation d'urgence, personne majeure faisant l'objet d'une mesure de protection légale (majeur sous tutelle, curatelle ou sauvegarde de justice), ou hors d'état d'exprimer son consentement.

- **Consentement/Enregistrement/Anonymisation**

Dans le cadre de la recherche biomédicale, un consentement libre, éclairé et écrit des personnes participant à l'étude était recueilli, après qu'ils étaient informés par le médecin investigateur lors d'une consultation, et après un délai de réflexion suffisant. L'information destinée aux participants de l'essai comprenait l'ensemble des éléments définis dans la loi de santé publique du 9 août 2004 et était écrite de façon simple, dans un langage compréhensible par le patient. Le formulaire de consentement était daté et signé personnellement par le participant à la recherche et l'investigateur en 2 exemplaires originaux (un pour l'investigateur, l'autre pour le patient).

Le traitement de toutes les données personnelles s'est fait selon les recommandations du « Règlement General de la Protection des Données », qui s'inscrit dans la continuité de la Loi française Informatique et Libertés de 1978.

Chaque prélèvement issu de biopsies ou de pièces opératoires reçoit une appellation codée :
- En 2012, les prélèvements ont reçu une appellation par ordre alphabétique (A-IPC, B-IPC, C-IPC, A-NORD, B-NORD, etc...), en fonction de leur date d'arrivée au laboratoire INSERM, et de l'Hôpital dont ils étaient issus.

- En 2013, afin d'uniformiser la nomenclature des prélèvements, ceux-ci ont tous été appelés tout d'abord par un numéro désignant le nom du centre dont les prélèvements étaient issus et suivi d'un numéro d'ordre croissant désignant leur arrivée au laboratoire INSERM (030, 031, 032 etc...).

o 01=IPC

o 02= Hôpital NORD

o 03= Hôpital de la Timone

- En 2013 puis, par la suite, chaque prélèvement a donc pris une appellation désignée de la sorte : (01)-030, (01)-031, (02)-032, (03)-034, (01)-035 etc...

Le nombre de prélèvements attendus initialement sur une période de 6 ans était d'au moins 300 prélèvements, dans l'idée d'obtenir 100 cultures cellulaires issues des xénogreffes, en tenant compte d'un taux d'échec de culture ex vivo estimé à 1 sur 3.

3) Méthode de prélèvement

Les patients éligibles étaient soumis à 2 méthodes de prélèvements différentes selon le stade de leur maladie (cf matériel et méthodes) :

1. *Prélèvement sous Echo-endoscopie* : les patients présentant une maladie d'emblée métastatique ou chez qui un doute sur la résecabilité primaire existait (maladie localement avancée), subissaient une endoscopie sélective pancréatique (Echo-endoscopie) au cours de laquelle étaient réalisés les deux prélèvements biopsiques, l'un pour l'analyse anatomopathologique diagnostique et l'autre pour l'étude PaCaOmics.
2. *Prélèvement tumoral chirurgical* : Les patients opérables et résécables d'emblée subissaient une chirurgie carcinologique pancréatique. Lors de l'analyse anatomopathologique diagnostique de la tumeur réséquée, un « bout » de tumeur était prélevé et destiné à l'étude PaCaOmics.

Des prélèvements sanguins ont été réalisés avant le début de tout traitement spécifique et conservés à la biothèque de l'Institut Paoli-Calmettes.

Figure 5 :
Collecte des échantillons et amplifications cellulaires et tissulaires au CRCM U1068

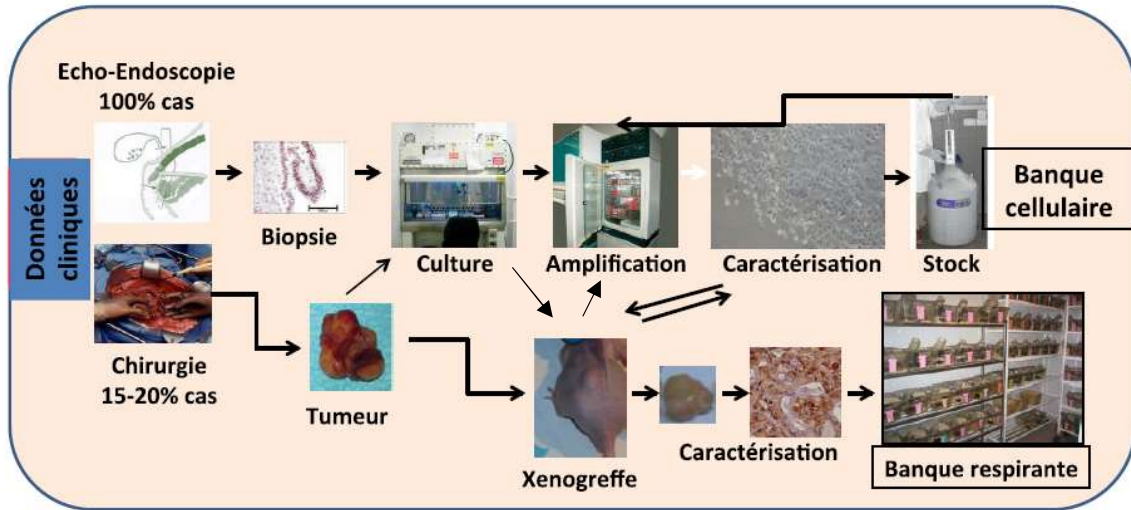
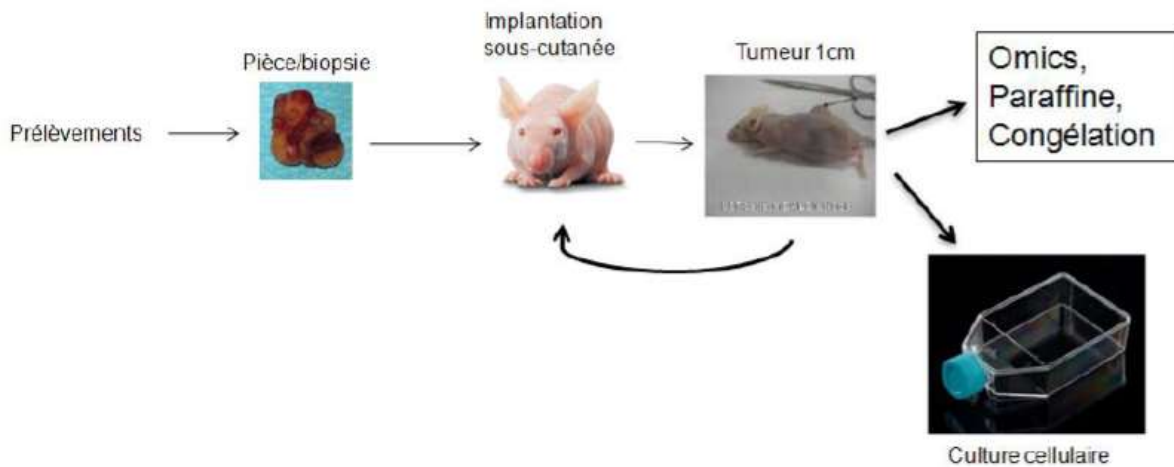


Figure 6 :
Destinée des prélèvements tumoraux et des xénogreffes



4) Collecte des données clinico pathologiques :

Pour chaque patient inclus, les données ont été saisies de manière prospective jusqu'en 2017 puis rétrospectives lors de la nouvelle réactualisation des données en 2020. Ont été enregistrées des *données démographiques* : âge, sexe, tabagisme; *cliniques* : antécédents familiaux et/ou personnels de cancer, antécédent personnel de diabète, traitement par anticoagulant et antiagrégants plaquettaire, poids et taille de chaque patient, date du diagnostic, mode de révélation de la maladie, *biologiques* : bilirubine totale et conjuguée, marqueurs tumoraux ACE et CA19.9, *histopathologiques* : siège de la tumeur, taille tumorale, classification TNM, envahissement ganglionnaire, embolies lymphatiques et périnerveux, marges d'exérèse (lorsque chirurgie), métastases à distance; *thérapeutiques* : chimiothérapie (péri opératoire ou palliative), molécules de chimiothérapie utilisées, durée du traitement, réponses au traitement, de même pour les éventuelles deuxième et troisième lignes thérapeutiques et enfin les *données de survie* : date de rechute ou de progression, date des dernières nouvelles et date de décès.

5) Constitution d'une banque cellulaire et d'une banque « respirante »

Une fois les patients inclus et les prélèvements obtenus, et afin de réaliser les différentes analyses moléculaires et cellulaires du projet PaCaOmics, il a été nécessaire d'effectuer des techniques d'amplification et de caractérisation via les techniques de cultures primaires in vitro et de xénotreffes in vivo (figure 5).

Après acheminement du prélèvement au laboratoire L2 de l'unité INSERM U1068, les prélèvements ont été directement implantés chez des modèles murins mâles de type NUDE (Janvier) lorsque les prélèvements étaient des biopsies, et de type NODE/SCID sur fond pur (Charles River) lorsque les prélèvements étaient des pièces opératoires. Les souris étaient hébergées sur la plateforme de stabulation et d'expérimentation animale (PSEA) de l'INSERM et manipulées selon les directives européennes 2010/63/UE. Lorsque la croissance tumorale arrivait à 1cm, la souris était sacrifiée et la tumeur était récupérée, pour être dissociée en plusieurs morceaux permettant plusieurs utilisations ultérieures (réimplantation, mise en culture cellulaire, inclusion en paraffine pour analyse histologique, récupération des ADN et ARN totaux, congélation).

L'échantillon tumoral utilisé pour la culture cellulaire était traité par des étapes successives de centrifugation, resuspension puis mise en incubation dans du milieu Serum Free Ductal Media (SFDM) préparé jusqu'à l'apparition d'une confluence. A 70% de confluence, les cellules étaient décollées de la boîte avec de l'alfazyme et étaient réparties dans plusieurs flasques de 75cm². Chaque lignée était entretenue jusqu'à obtenir un total d'environ 40 millions de cellules et considérée à ce point comme une « lignée stable » (figure 6).

Ces techniques ont permis à terme non seulement :

- de constituer des biobanques par congélation des cellules et des xénotreffes,
- mais aussi de maintenir les tumeurs au stade « respirant » par plusieurs passages de xénotreffes dans des souris immunodéficientes.

A partir de ces amplifications, les différentes techniques de « Omics » à haut débit, les études cellulaires et les tests de chimiosensibilité in vitro (données non montrées dans cette thèse) ont permis :

- d'identifier des groupes de patients significativement distincts en termes de réponse aux traitements ou en termes de survie.
- d'identifier des biomarqueurs prédisant à quel groupe appartient un patient.
- d'évaluer leurs différences en termes de sensibilité aux drogues chimiothérapeutiques.

C) Statistiques

Les analyses statistiques ont été menées au seuil de significativité $\alpha=0.05$ et à l'aide des logiciels SAS® 9.4 et R.v3.6. Les données ont été résumées sous forme d'effectifs (pourcentages), d'histogrammes et de diagrammes circulaires pour les variables catégorielles, et de médianes [minimum-maximum] et de moyennes (écarts-types) pour les variables quantitatives.

La survie sans récurrence (SSR) a été définie comme le délai entre la date de la chirurgie curative et la date de rechute locale ou de rechute à distance ou de second cancer ou de décès.

La survie globale (SG) a été définie comme le délai entre la date d'inclusion et la date de décès.

La survie sans progression (SSP) a été définie comme le délai entre la date de début de la première ligne de chimiothérapie palliative, et la date de la progression tumorale scanographique.

Les patients sans événement ont été censurés à la date de dernières nouvelles. Les taux de SSR et de SG, ainsi que leurs intervalles de confiance bilatéraux, ont été estimés à 3, 6, 9, 12, 18, 24, 36 et 48 mois par la méthode de Kaplan-Meier. L'impact pronostique sur la PFS et l'OS des paramètres cliniques et biologiques a été évalué par des analyses univariées et des tests bilatéraux du logrank. Les hazard ratios (HR) associés ont été estimés, ainsi que leurs intervalles de confiance bilatéraux de Wald. Ces résultats ont été également représentés sous forme de forest plots. Les variables cliniques avec plus de 20% de données manquantes n'ont pas été prises en compte dans les analyses de la SSR et de la SG.

Résultats

Figure 7 :
Effectif des patients inclus par centre et par année

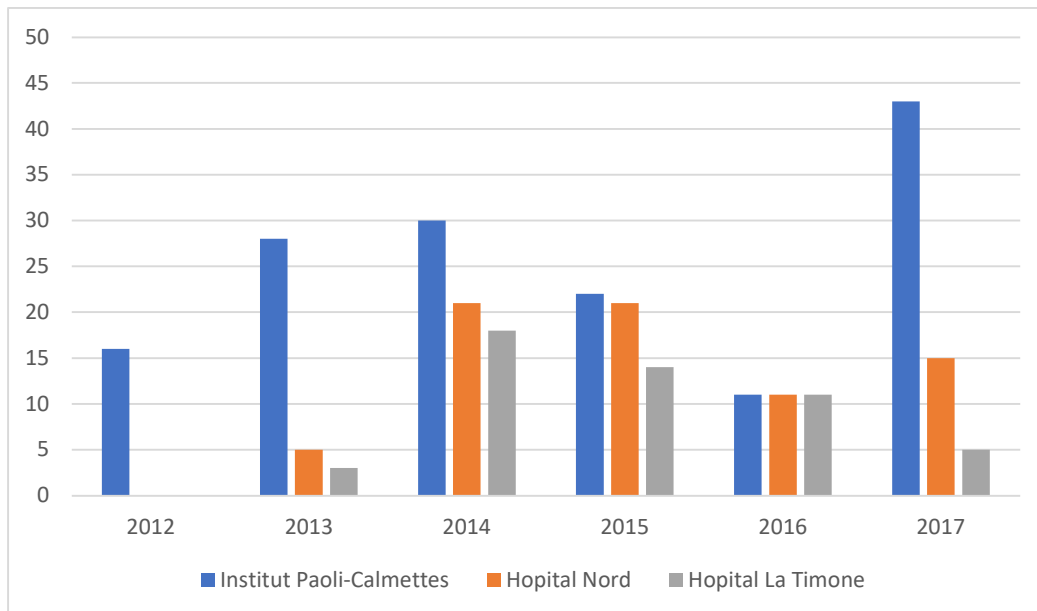
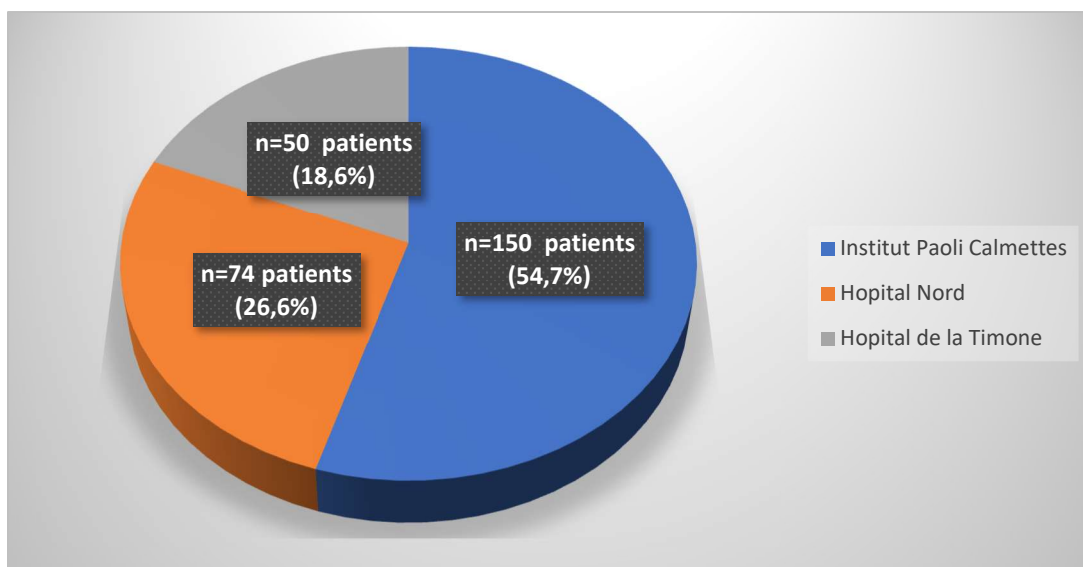


Figure 8 :
Répartition des inclusions par centre



I) Patients inclus dans le projet PaCaOmics

Sur une durée de 5 ans de collaboration entre les 3 centres hospitaliers investigateurs, un total de 274 patients a été inclus entre le 24/02/2012 et le 24/11/2017.

Parmi eux, 63 patients ont été exclus de l'étude en raison d'un diagnostic différentiel après analyse histologique (pas d'adénocarcinome pancréatique). L'analyse porte donc sur 211 patients inclus au diagnostic d'adénocarcinome du pancréas confirmé.

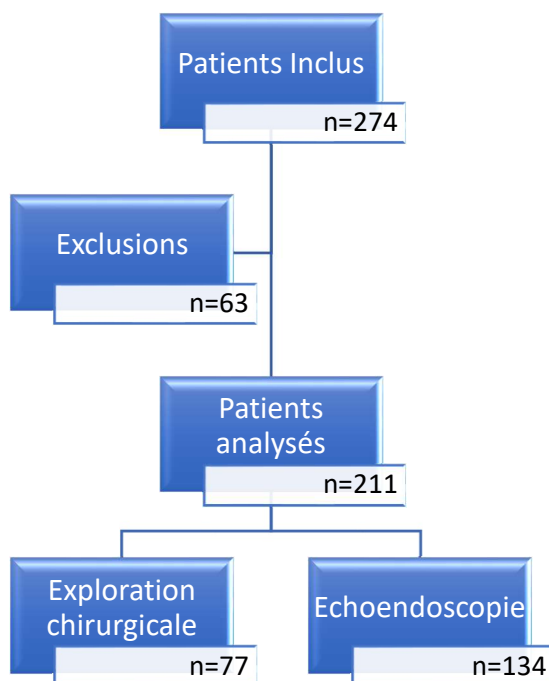
La répartition des inclusions par centre était hétérogène mais attendue, en fonction de l'activité de chaque centre (Figures 7 et 8) : 150 patients ont été inclus à l'institut Paoli Calmettes (soit 54,7% de l'effectif total), 50 patients inclus à l'hôpital de la Timone (18,6%) et 74 à l'hôpital Nord (26,6%).

Tableau 1 :
Patients inclus et exclus de l'analyse

		Total N=274	
Patients exclus de l'analyse	Décès avant inclusion	1	
	Première série de biopsie non contributive	2	
	Retrait consentement	1	
	Chimiothérapie déjà reçue	1	
	Autres cancers :	Cholangiocarcinome	4
		Neuroendocrine	1
		Ampullome	1
		Lymphome	1
	Pas de cancer	TIPMP	2
	Diagnostic non confirmé		49
	Patients inclus dans l'analyse		211
Total		274	

Les patients retenus dans l'analyse finale ont eu un diagnostic histologique confirmé d'adénocarcinome pancréatique au décours d'une exploration chirurgicale (n=77) dans le cadre de maladie localisée (potentiellement résécable) ou au décours d'une échocoscopie avec biopsie (n=134) dans le cadre d'une maladie localement avancée ou métastatique (figure 9).

Figure 9 :
Diagramme de Flux de l'étude



Sur les 63 patients exclus, on retrouvait 4 cholangiocarcinomes, 1 cancer neuroendocrine, 1 lymphome, 1 ampullome et 2 TIPMP. 1 patient est décédé avant l'analyse, 1 patient a retiré son consentement, 2 patients ont eu des premières séries de biopsie non contributives, 1 patient avait déjà été traité avant l'analyse et 49 patients avait un diagnostic non confirmé d'adénocarcinome pancréatique primitif (tableau 1).

75 patients ont finalement été opérés sur les 77 explorés chirurgicalement (2 patients n'ont pas pu être opérés en raison d'une maladie trop avancée) et 136 patients au total avaient une maladie avancée, non résécable.

Tableau 2 : Caractéristiques des patients

	<i>Total n=211</i>	Total n= 211	Maladie Avancée (n=136)	Patients Opérés (n=75)	Données manquantes
<i>Age</i>	Médian	68.44 [41.4 ;86.8]	66.6 [42 ;85]	70.1 [45 ;87]	0
	>70ans	94 (42.7%)	53 (38.9%)	38 (50.6%)	0
<i>Sexe</i>	Homme	131 (59.1%)	82 (60.3%)	43 (57.3%)	0
	Femme	90 (40.1%)	54 (39.7%)	32 (42.6%)	0
<i>IK</i>	>80	114 (51.8%)	84 (38.1%)	28 (12.7%)	85 (38.6%)
	<80	14 (6.3%)	10 (4.5%)	4 (1.8%)	
<i>IMC</i>	<20	19 (10.6%)	17 (14.0%)	2 (3.7%)	36 (16.3%)
	[20 ;30]	145 (81%)	91 (75.2%)	50 (92.6%)	
	>30	15 (8.4%)	13 (10.7%)	2 (3.7%)	
<i>ATCD Cancer</i>	Personnel	22 (11.3%)	8 (6.35%)	13 (20%)	25 (11.3%)
	Familial (cancer pancréas)	11 (5%)	10 (4.5%)	1 (0.4%)	143 (65%)
Intoxication Tabagique		40 (18.2%)	31 (14.1%)	8 (3.6%)	74 (33.6%)
Diabète Antérieur		64 (32.2%)	41 (32.0%)	23 (34.8%)	22 (10%)
<i>Traitement Habituel</i>	Antidiabétique	55 (27.9%)	33 (25.8%)	22 (33.8%)	23 (10.4%)
	Antiagrégants	46 (23.6%)	29 (23%)	16 (24.6%)	25 (11.3%)
	Anticoagulants	19 (9.7%)	14 (10.9%)	5 (7.8%)	24 (10.9%)
<i>Marqueurs Tumoraux</i>	ACE >5	39 (17.7%)	35 (15.9%)	4 (1.8%)	135 (61.3%)
	CA 19-9 >400	52 (23.6%)	41 (18.6%)	11 (5%)	115 (52.2%)
	Amaigrissement	107 (55.1%)	77 (61.1%)	28 (43.7%)	26 (11.8%)
<i>Mode de Révélation Clinique</i>	Douleur	109 (55.6%)	83 (64.8%)	23 (35.9%)	24 (10.9%)
	Ictère	72 (36.7%)	40 (31.2%)	32 (50%)	24 (10.9%)
	Diabète décompensé	21 (10.7%)	13 (10.0%)	8 (12.5%)	24 (10.9%)
	Céphalique	108 (54%)	66 (51.5%)	42 (61.7%)	20 (9%)
<i>Siège tumoral</i>	Corporéale	64 (32%)	44 (34.3%)	17 (25.0%)	20 (9%)
	Caudale	51 (25.5%)	37 (28.9%)	13 (19.1%)	20 (9%)
	Métastases Synchrones	Présentes	88 (44.4%)	82 (63.5%)	2 (2.6%)

II) Caractéristiques des patients :

L'âge médian de la population globale était de 68.44 ans [41.4 ; 86.8], avec 94 patients (42.7%) âgés de plus de 70 ans. La prédominance masculine était marquée avec 131 hommes (59.1%) pour 90 femmes (40.9%). La majorité des patients, n=145 (81%) avait un IMC compris entre 20 et 30kg/m² et 15 étaient obèses (8.4%) selon la définition de l'OMS (IMC>30kg/m²).

En termes de comorbidités et d'antécédents médicaux, 22 patients (11.3%) avaient un antécédent de cancer, 64 (32.2%) étaient diabétiques à l'inclusion, dont 55(27.9%) traités par antidiabétiques. Parmi les autres co-médications principales associées on retrouvait 23.6% de patients sous antiagrégants et de 9.7% sous anticoagulants.

Les symptômes ayant révélé la maladie étaient principalement l'amaigrissement (n=107 ; 55.1%) et la douleur (n=109 ; 55.6%), avec une prédominance de ces symptômes en cas de maladie non résécable d'emblée (respectivement n= 77 ; 61%, p=0.02 et n=84 ;63.8 % p=0.0001). L'ictère était plus fréquent en cas de maladie localisée et résécable (n=32 ; 50% contre n=72 ; 36.7% p=0.01).

La répartition des sites primitifs tumoraux était plus fréquemment céphalique pour les patients avec une maladie opérable (n=42 ; 61.6% contre n=66 ; 51.6%), les localisations caudales et corporéales étant plus souvent observées dans le groupe des maladies avancées (n=37 ;28.9% et n=44 ; 34.4% respectivement).

Presque un patient sur deux, n=88 (44.4 %) était métastatique au diagnostic avec un site métastatique majoritairement hépatique (n=71 ; 80.6%). Parmi ceux-là, deux patients (2.6%) avaient été considérés comme potentiellement résécables à tort (découverte per-opératoire de métastases) (tableau 1).

D'autres paramètres dépassaient le seuil de significativité statistique choisi de 20% de données manquantes, et ne permettent donc pas de décrire fidèlement la population étudiée. Il en allait ainsi pour l'état général des patients au diagnostic, quantifié par l'indice de Karnofski, l'intoxication tabagique, les antécédents familiaux de cancer, ou encore le dosage initial des marqueurs tumoraux.

Tableau 2 :
Données chirurgicales des patients opérés

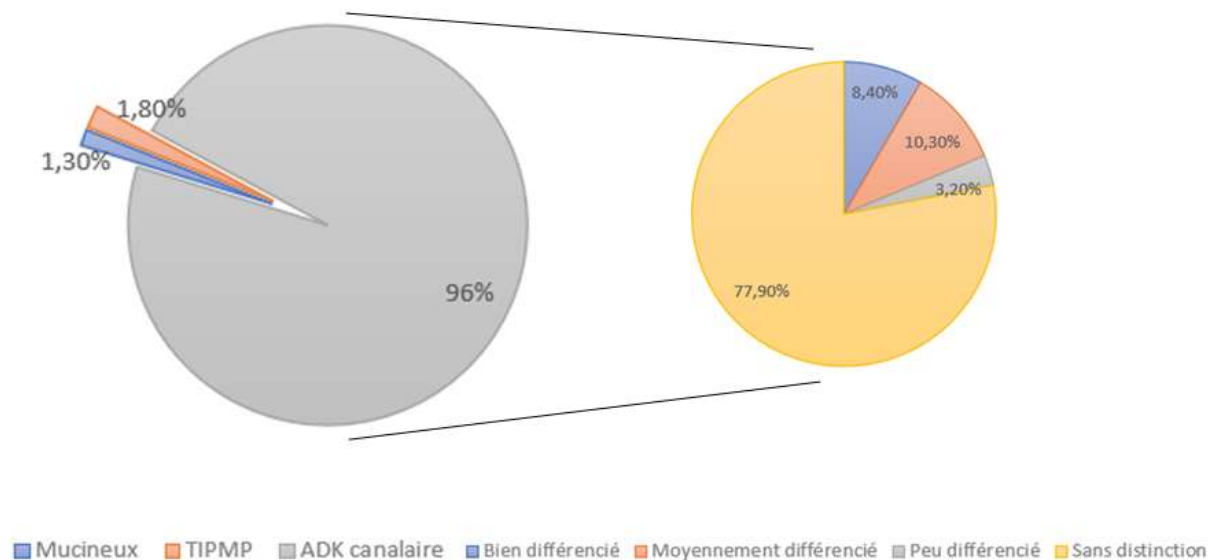
Total : n=75		Patients opérés	Données manquantes
Type d'intervention	<i>Duodéno pancréatectomie céphalique</i>	45 (60%)	4 (5%)
	<i>Spléno pancréatectomie</i>	26 (34,6%)	
Chimiothérapie péri-opératoire	<i>Adjuvante</i>	45 (60%)	11 (14%)
	<i>Néoadjuvante</i>	4 (5%)	
Emboles vasculaires		34 (59.6%)	18 (24%)
Infiltration périnerveuse		57 (93.4%)	14 (18%)
Nombre moyen de ganglions examinés		11.0 [1 ;28]	13 (17%)
Nombre moyen de ganglions métastatiques		2.0 [0 ;7]	13 (17%)
Rupture Capsulaire		14 (23.7%)	16 (21%)

Tableau 3 :
Lignes thérapeutiques chez les patients non opérés

Total n=136	Bi/tri thérapie à base de 5FU	GEMCITABINE	Taxane	Données manquantes
Première ligne	80 (65,5%)	42 (34,4%)	0	14 (10%)
Deuxième ligne	11 (20,4%)	42 (77,8%)	1 (0,7%)	82 (60,3%)

Le sous type histologique le plus représenté était l'adénocarcinome canalaire (n=202 ; 96%), à différents niveaux de différenciation. Parmi les autres sous types, 3 patients (1,3%) présentaient une tumeur mucineuse, et 4 patients (1,8%) une tumeur intra canalaire et papillaire mucineuse (TIPMP) (figure 10).

Figure 10 :
Répartition histologique



Les patients opérés ont subi une chirurgie de type duodéno pancréatectomie céphalique n=45 (60%), spléno pancréatome gauche n=26 (34,6%) dont 3 élargies. La majorité des patients ont pu recevoir un traitement adjuvant, n= 45 (60%), et 4 (5%) patients avaient reçu une chimiothérapie d'induction avant l'opération.

Cinquante sept (93,4%) avaient une infiltration péri nerveuse tumorale. 11 ganglions [1 ;28] étaient examinés en moyenne parmi lesquels 2 [0 ;7] étaient métastatiques en moyenne. Sous réserve de 24% de données manquantes, 34 pièces opératoires (59,6%) présentaient des embolies vasculaires (tableau 2).

Les données de morbi-mortalité post opératoire n'ont pas été relevées.

Nous avons noté beaucoup de données manquantes concernant les données de chimiothérapie adjuvante mais celles-ci comportaient majoritairement des protocoles à base de 5FU et de GEMCITABINE.

Parmi les patients ayant une maladie avancée au diagnostic, les lignes de chimiothérapie reçues comprenaient (tableau 3) :

- En première ligne : chimiothérapie à base de 5FU, n=80 (65,5%) selon les protocoles FOLFIRINOX, FOLFOX, FOLFIRI, LV5FU et seulement 11 patients (20,4%) ayant reçu une monochimiothérapie par GEMCITABINE.
- Ces taux s'inversaient en deuxième ligne avec environ 20,4% de polychimiothérapie à base de 5FU et 77,8% de GEMCITABINE seul.

Figure 11 :
Résultats des techniques de xénogreffes sur échantillons prélevés en écho endoscopie

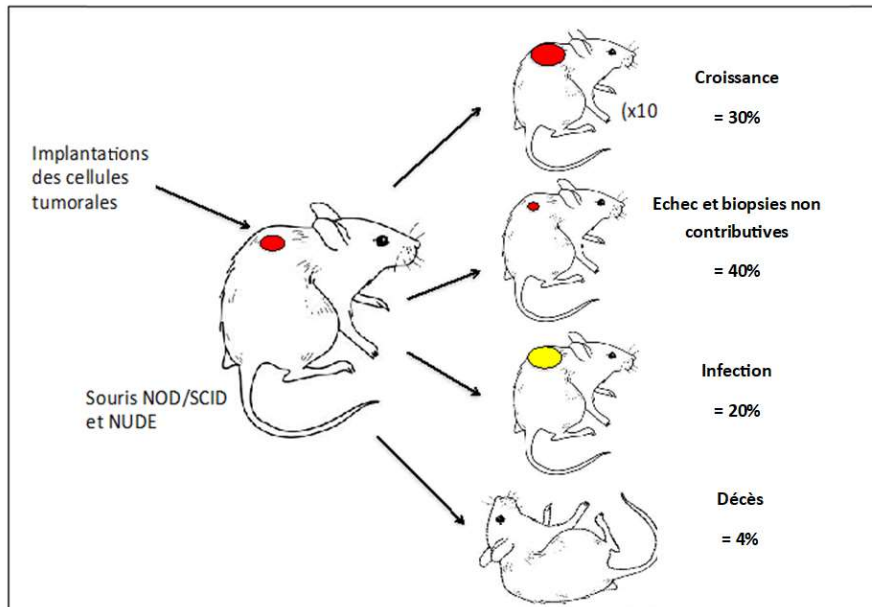


Tableau 4 :
Données biologiques ici les sommes ne correspondent pas. Pour te simplifier la vie, rajoute dans données manquantes

		Total n=84	Non opérés	Opérés	Données manquantes
Vitesse de pousse en Xénogreffe	Lente	15 (17.8%)	9 (10.7%)	6 (7.3%)	1 (1.2%)
	Normale	42 (50%)	20 (23.8%)	22 (26.1%)	
	Rapide	26 (30.9%)	12 (14.24%)	14 (16.6%)	
Temps de réplication des cellules		73.7 [34.39 ;129.8]	69.96 [;107.7]	77.74 [34.39;129.84]	
Etat de différenciation cellulaire	Bien différencié	30 (37.8%)	14 (17.0%)	16 (19.5%)	0
	Moyennement différencié	29 (36.5%)	12 (14.6%)	17 (20.7%)	
	Peu différencié	25 (29.7%)	17 (20.2%)	8 (9.5%)	
Pousse cellulaire In Vitro	Prise de pousse	37 (46%)	24 (29.2%)	13 (15.8%)	2 (2.4%)
	Pas de pousse	45 (56.0%)	19 (23.1%)	26 (31.7%)	

III) Données biologiques :

Sur les 211 patients analysés, la prise de xénogreffe après transplantation fut un succès pour 84 patients soit 39%.

Le taux de pousse variait significativement ($p=0.007$) en fonction de la modalité du prélèvement histologique initial ; avec un taux de pousse de 58.2% ($n=39$) pour les pièces opératoires, de 28,3% ($n=39$) pour les prélèvements réalisés par biopsie lors de l'écho endoscopie, et de 53.3% ($n=8$) pour les prélèvements issus de biopsies réalisées en per-opératoire.

Les échecs de pousse dans le cadre de biopsies réalisées en écho endoscopie étaient principalement dus à une contamination bactérienne de l'échantillon ou à des prélèvements qualitativement non contributifs. Environ 3% des souris sont décédés avant la potentielle prise de pousse. Le reste peut être attribué à une incapacité tumorale intrinsèque de prendre en xénogreffe (figure 11).

Le degré de différenciation cellulaire évalué sur les tumeurs issues des xénogreffes était réparti de façon homogène ($n=30$ soit 37.8% ADK bien différencié, $n=29$ soit 36.5% ADK moyennement différencié et $n=25$ soit 29.7% ADK peu différencié) et la vitesse de pousse en xénogreffe moyenne était de 38 jours (46%). Parmi les 84 succès de prise de xénogreffe, 37 prélèvements (46%) ont poussé en culture cellulaire in vitro (24 dans le groupe des patients non opérés et 13 dans l'autre groupe) et le temps moyen de réplication cellulaire (ou temps de doublement cellulaire) était de 73.7 heures [11.3 ;129.8] (69.96 [44.6 ;107.7] pour les non opérés et 77.74 [15.4 ;129.84] dans le groupe opéré) (tableau 4).

Au total, à ce jour, la biobanque située au CRCM de Luminy contient donc 84 échantillons de tumeurs respirantes dont 76 ont été soumis à une analyse transcriptomique globale.

Figure 13 :
Survie globale et SSR, patients opérés

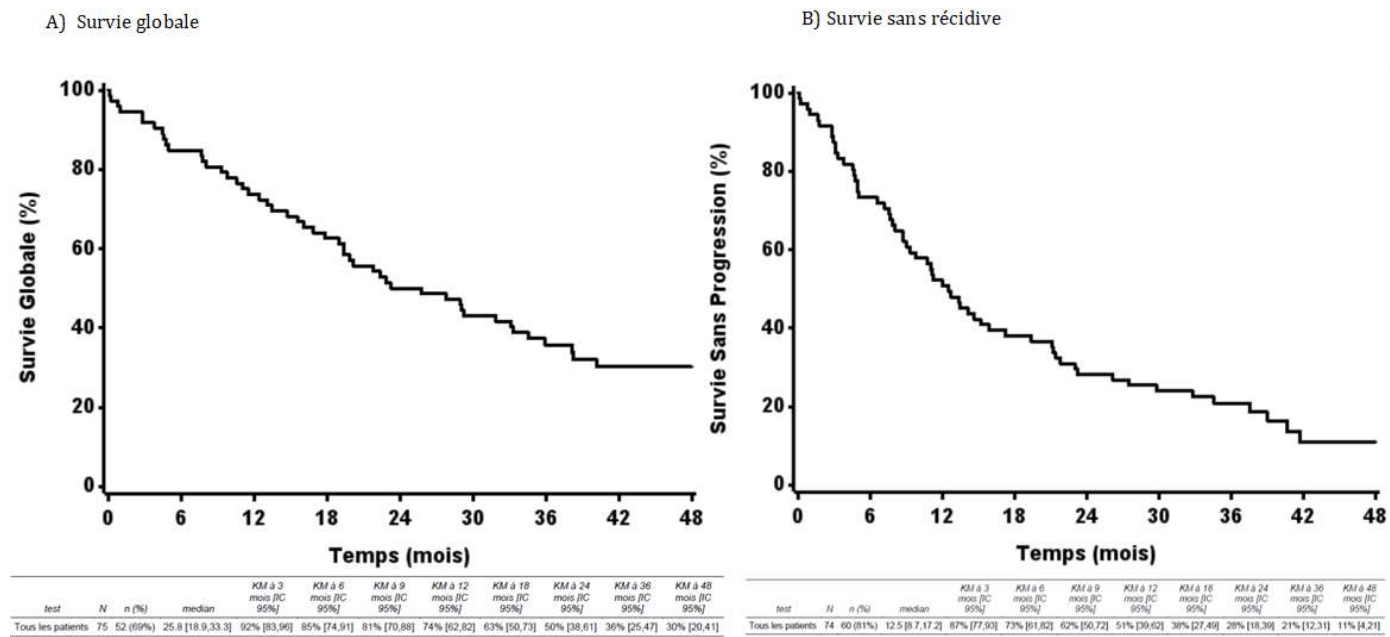
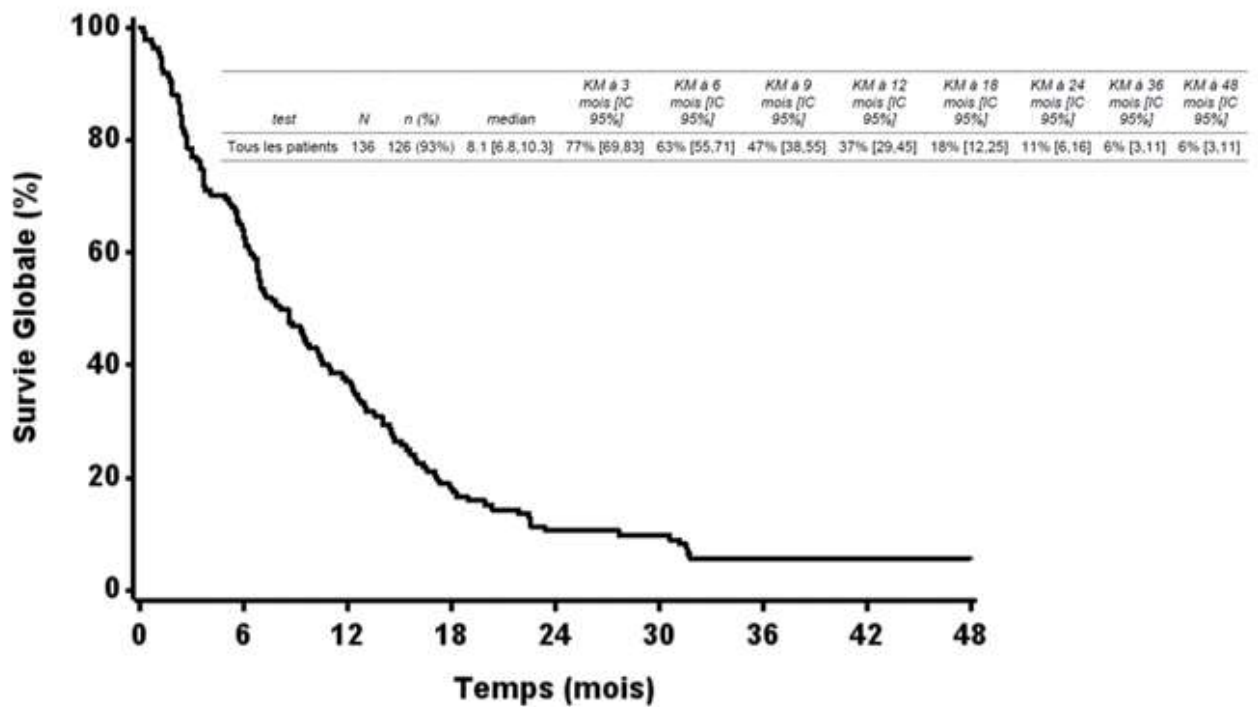


Figure 14 :
Survie globale, patients non opérés



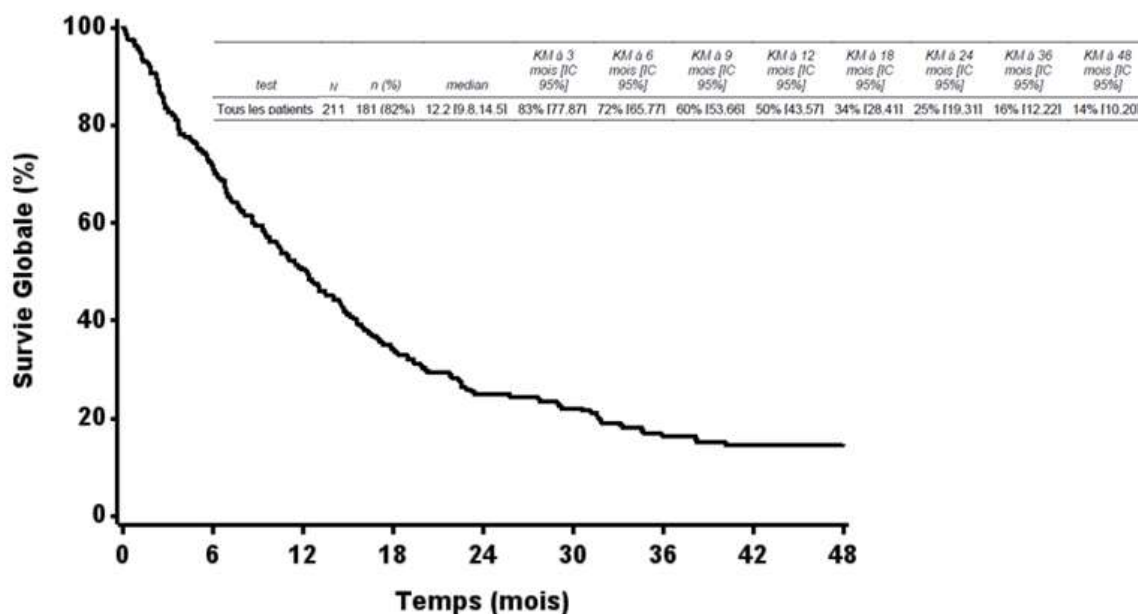
IV) Données de survie :

La médiane de suivi était de 55,8 mois [38,9 ;64,3].

La médiane de survie globale (mSG) pour l'intégralité des patients était de 12,2 mois [9,8-14,5], avec une survie de 50% à 1 an, 25% à 2 ans et 16% à 3 ans (figure 12).

Figure 12 :

Survie globale, cohorte globale (n=211)



Chez les patients opérés, la mSG était de 25,8 mois [18,9-33,3], avec une survie à 1 an de 74%, 50% à 2 ans et 36% à 3 ans (figure 13).

La médiane de survie sans récurrence était de 12,5 mois [8,7-17,2] (figure 13).

Chez les patients non opérés présentant une maladie avancée au diagnostic, la mSG était de 8,1 mois [6,8 ;10,3], avec une survie de 37% à 1 an, 11% à 2 ans et 6% à 3 ans (figure 14).

La médiane de survie sans progression après une première ligne de chimiothérapie était de 7,0 mois [5,9 ; 8,6]. Il n'a pas été possible de calculer la médiane de SSP après une deuxième ligne en raison d'un nombre trop important de données manquantes.

Nous avons calculé les survies de la sous population de patients qui poussait en culture cellulaire et en xénogreffe, avec une mSG respectivement de 6,8 mois [3,5 ;9,6] et 11 mois [8-14,6], ce qui en fait, pour les patients avec pousse en culture cellulaire, le sous-groupe de plus mauvais pronostic (annexe 1-2).

Figure 16 :
Forest Plot Analyse Univariées SG patients opérés

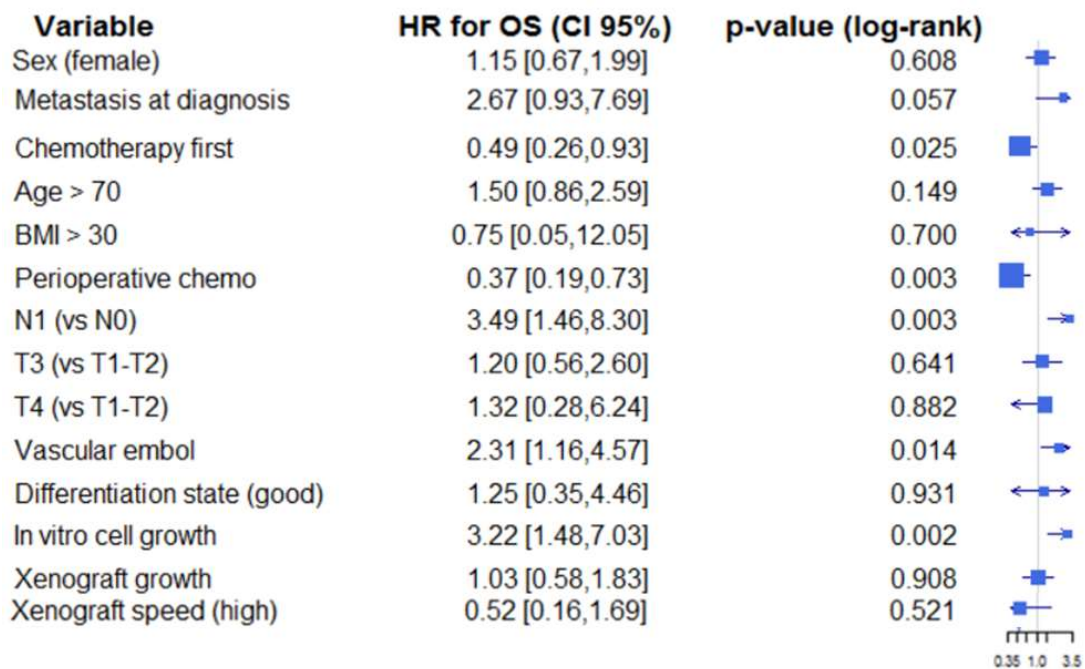
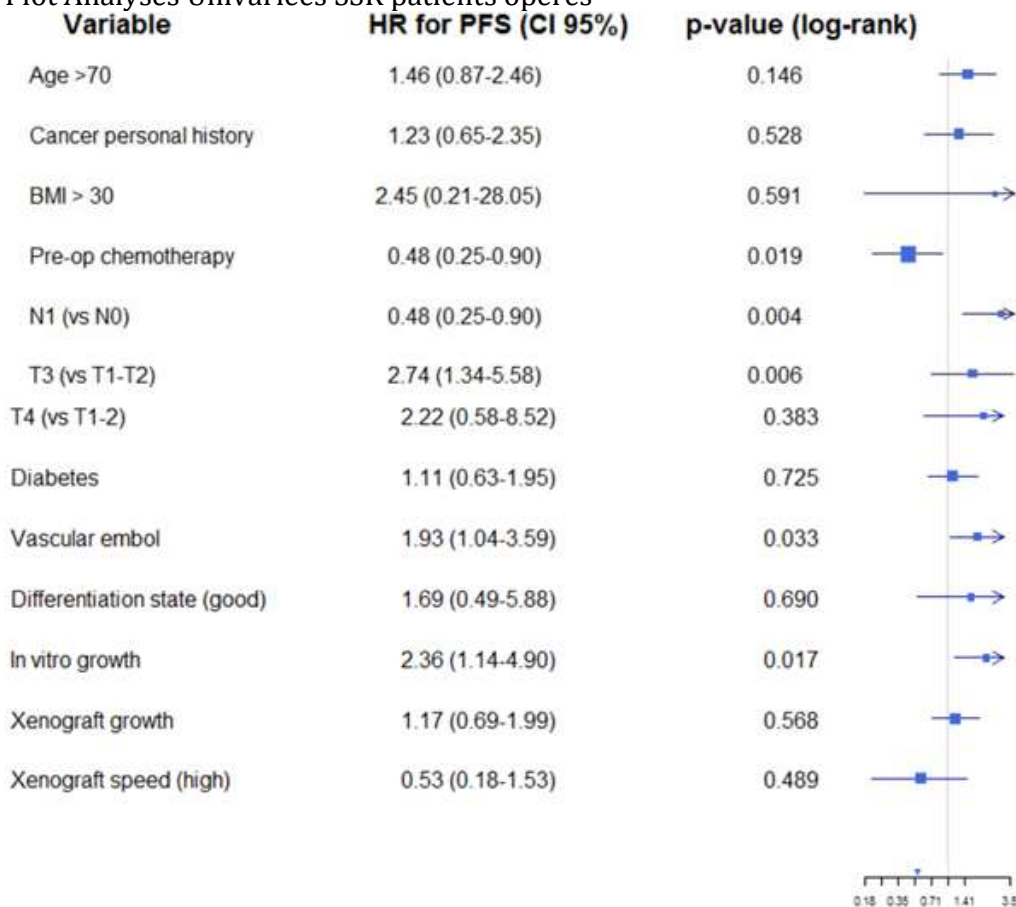


Figure 17 :
Forest Plot Analyses Univariées SSR patients opérés

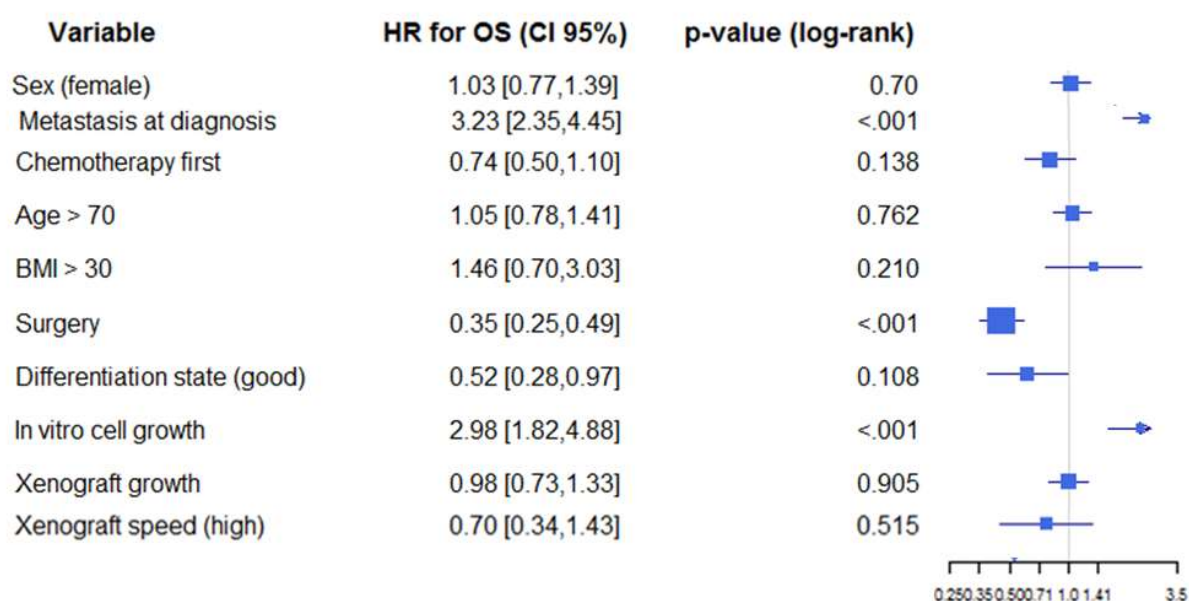


V) Facteurs pronostiques :

Dans la population globale de l'étude, en analyse univariée, les facteurs pronostiques identifiés de façon statistiquement significative étaient : la présence d'une maladie non résecable (HR 0.35 [0.25-0.49] $p < 0.001$) et son caractère métastatique d'emblée (OS HR 3.23 [2.35-4.45] $p < 0.001$). A ces deux paramètres évidents s'ajoute la prise de pousse en culture cellulaire in vitro issu du prélèvement tumoral initial (OS HR 2.98 [1.82-4.88], $p < 0.001$) (figure 15).

Le nombre de facteurs analysés en univarié pertinents sur le plan statistique demeurait restreint en raison d'un nombre important de données manquantes.

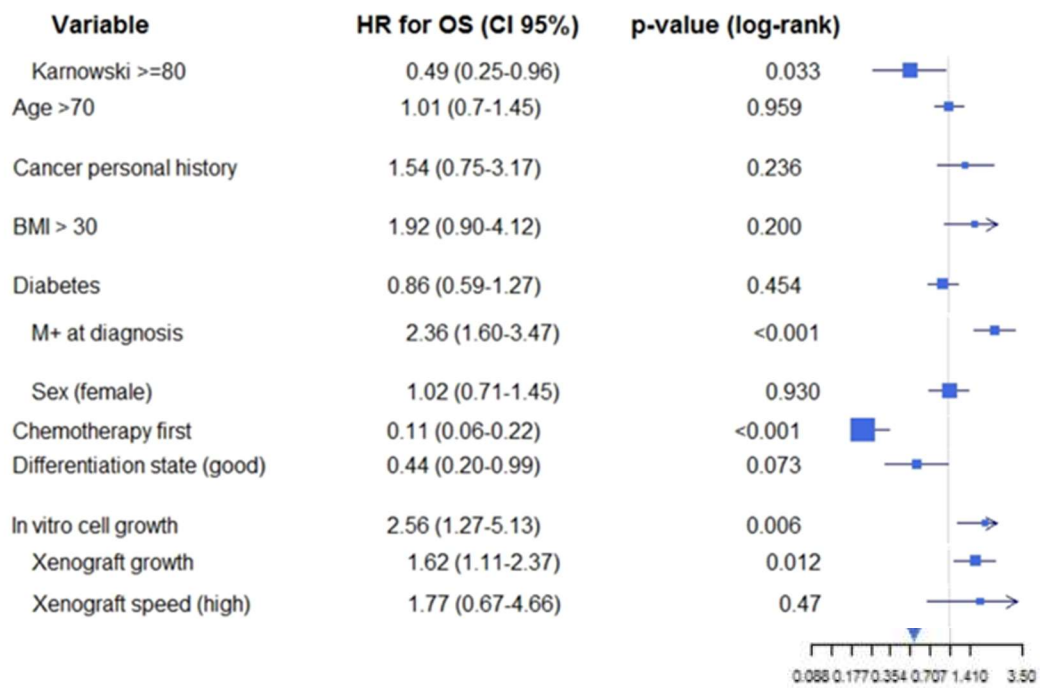
Figure 15 :
Forest Plot Analyse Univariées SG tous patients



Pour les patients résecables et opérés, les facteurs impactant significativement sur la survie globale étaient : la découverte de métastases en per opératoire (OS HR 2.67 [0.93-7.69], $p = 0.057$), l'atteinte ganglionnaire (OS HR 3.49 [1.46-8.30], $p = 0.003$) et les embolies vasculaires (OS HR 2.31 [1.16-4.57], $p = 0.014$) ainsi que l'administration d'une chimiothérapie péri-opératoire (adjuvante dans 92% des cas) (OS HR 0.37 [0.19-0.73], $p = 0.003$). De nouveau, la prise en culture cellulaire était associée à la survie globale (HR OS 3.22 [1.48 ; 7.03], $p = 0.002$) (figure 16).

Les récurrences post opératoire étaient, elles, associées à l'administration d'une chimiothérapie adjuvante (SSR HR 0.48 [0.25-0.90], $p = 0.019$), l'atteinte ganglionnaire (SSR HR 0.48 [0.25-0.90], $p = 0.004$), la présence d'embolies vasculaires (SSR HR 1.93 [1.04-3.59], $p = 0.033$) et la prise de culture cellulaire In vitro (SSR HR 2.36 [1.14-4.90], $p = 0.017$) (figure 17).

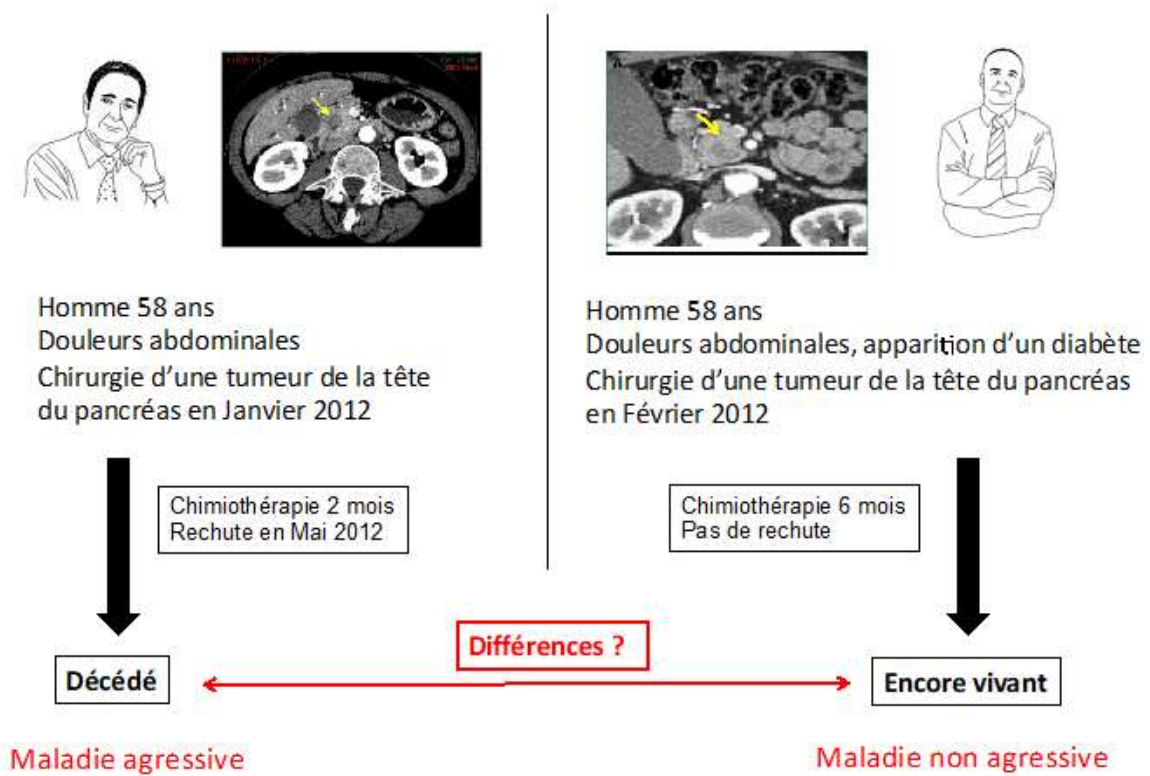
Figure 18 :
Forest Plot Analyse Univariées SG patients non opérés



Pour les patients non opérés initialement, les facteurs influant la survie globale étaient un indice de Karnofski >80% (OS HR 0.49 [0.25-0.96], p=0.03), l'administration d'une première ligne de chimiothérapie (OS HR 0.11 [0.06-0.22], p<0.001), la présence de métastase au diagnostic (OS HR 2.36 [1.6-3.47], p<0.001), le degré de différenciation tumorale (OS HR 0.44 [0.2-0.99] p=0.07). Pour ce qui est des données biologiques, un lien statistiquement significatif a également été mis en évidence entre la survie globale de ces patients et la prise de culture cellulaire In vitro (OS HR 2.56 [1.27-5.13], p=0.006) mais aussi avec la prise en xénogreffe (OS HR 1.62 [1.11-2.37], p=0.006) (figure 18).

Discussion

Figure 19 :
Illustration de l'hétérogénéité des profils de survie :



I) Discussion :

Prédire la survie des patients atteints d'un cancer du pancréas occupe depuis de longues années de nombreuses équipes de scientifiques. Le but de départ du projet PaCaOmics était d'analyser l'hétérogénéité des adénocarcinomes pancréatiques afin d'identifier des groupes de patients pour lesquels une prédiction de survie pourrait être utile et permettre aux cliniciens d'adapter les traitements (médecine personnalisée). L'hétérogénéité intra tumorale est une notion bien connue de façon générale en cancérologie⁷⁴ et pour le pathologiste, que ce soit au niveau cellulaire ou moléculaire^{75,76}. Elle se reflète dans la grande diversité clinique constatée dans l'évolution des patients atteints, et ce en termes de réponse thérapeutique, d'évolution de la maladie ou de survie. En effet, deux patients de « même profil » pourront présenter une évolution et une survie très différentes sans que l'on puisse l'anticiper avec les outils scientifiques actuels (figure 19).

A cette diversité s'oppose l'approche thérapeutique contemporaine, relativement « rigide », avec pour seuls paramètres impactant sur le projet thérapeutique : l'âge, le score OMS et le caractère résécable ou non de la lésion primaire... Cette démarche ne peut que sembler insatisfaisante et ne prend pas en compte cette idée qu'il existerait deux entités bien distinctes dans les ADK pancréatiques, avec d'une part les cancers hautement agressifs, qui progresseront à distance rapidement même s'ils sont résécables initialement (et réséqués), et d'autre part les cancers plus indolents, permettant une survie comparativement prolongée et ce, malgré une éventuelle extension locale voire même avec une atteinte métastatique.

En 2011, une approche multidisciplinaire et multicentrique pour comprendre et appréhender la biologie tumorale des ADK pancréatiques est apparue comme urgente. Le projet PaCaOmics a fait collaborer trois grands centres hospitaliers marseillais en lien avec l'équipe scientifique des Dr Iovanna et Dusetti. Cette approche multicentrique a permis :

- La création d'un lien, but et travail en commun entre les équipes
- L'augmentation du nombre de patients inclus et du nombre d'échantillons tumoraux
- La poursuite des travaux collaboratifs scientifiques et cliniques au décours.

En effet, grâce à l'obtention de cette bibliothèque de « tumeurs respirantes », le projet PaCaOmics permet la poursuite des analyses clinico-biologiques des tumeurs pancréatiques alors même que certains patients sont décédés.

Malgré les nombreux écueils rencontrés tout au long de la poursuite du projet, un total de 274 patients a pu être inclus dont 211 prélèvements correspondant à des ADK pancréatiques analysables, ce qui en fait une des plus grosses séries internationales de tumeurs pancréatiques pour lesquelles on dispose non seulement des données cliniques des patients mais aussi de certaines données moléculaires associées.

La population de patients analysée était globalement similaire sur le plan démographique avec les données de la littérature¹ avec un âge médian à 68.4 ans, une prédominance masculine notable avec un sexe ratio à 1.4, moins de 10% d'obésité retrouvée, 30% de patients diabétiques et 20% de fumeurs actifs¹. La proportion de maladie localisée (environ un tiers)^{45,46}, les sites tumoraux, les différents sites métastatiques (80% de localisation hépatique) et la répartition histologique^{2,33} ne différaient pas de la littérature, ce qui fait de cette population un échantillon robuste et rigoureusement analysable.

Ces dernières décennies n'ont amené que de faibles améliorations en termes de survie pour les patients pris en charge au stade précoce et traités par chirurgie carcinologique. Des données précliniques récentes tendent d'ailleurs à dire que l'ADK pancréatique serait une maladie nécessairement systémique, et ce donc, quel que soit le stade de la pathologie.

Les résultats de l'étude PaCaOmic concernant les taux de survie globaux étaient relativement similaires à ceux observés dans la littérature, avec une survie globale médiane, tous patients confondus, de 12.2 mois pour une survie à 3 ans de 16%, contre un taux à 9% à 5 ans selon les bases de données épidémiologiques.

Concernant les patients opérés, la médiane de survie sans récurrence était de 12.5 mois [8.7-17.2] avec une médiane de survie globale de 25.8 mois [18,9 ; 33,3] dans notre étude, ce qui reste relativement inférieur aux données récentes connues, notamment celles de l'essai PRODIGE 24/CCTG PA.6⁶⁰. Il faut cependant rappeler que les inclusions des patients ont démarré en 2011 et qu'il y a eu plusieurs changements de paradigme thérapeutique sur la dernière décennie, avec notamment une meilleure sélection des patients à opérer, l'amélioration des soins de support ainsi que l'intensification des traitements adjuvants.

Pour les maladies avancées, la chimiothérapie systémique par GEMCITABINE a longtemps été la seule option, avec un taux de réponse dramatiquement faible de 5-10%⁷⁷. La plus grande avancée récente dans ce contexte a été amenée par l'essai randomisé PRODIGE-III mettant en évidence une amélioration du pronostic par l'administration du protocole de chimiothérapie FOLFIRINOX en comparaison à la GEMCITABINE (11.2 vs 6.8 mois HR=0.57, p<0.001)⁷⁸. Les patients de l'étude PaCaOmic ont été inclus dans cette période charnière, au moment où le protocole FOLFIRINOX faisait son apparition, et ont donc pu bénéficier de cette chimiothérapie pour la plupart (environ 60%).

Les survies obtenues dans notre étude dans le groupe de patients avec maladies avancées (mSG= 8,1 mois [6,8 ;10,3]) était globalement similaire aux données de la littérature.

Les facteurs pronostiques identifiés dans l'étude PaCaOmics sur la cohorte globale restent classiques et conformes aux données de la littérature⁴², cependant cette étude a fait ressortir une association très forte entre la pousse en culture cellulaire des prélèvements tumoraux et l'agressivité de la tumeur primitive. Ceci n'avait jamais été démontré.

En effet, les explorations de l'hétérogénéité de l'ADK pancréatiques ont, jusqu'à récemment, été limitées par la proportion non négligeable et hautement variable (de 15 à 90%) de stroma tissulaire sain présent sur les prélèvements tumoraux obtenues après la chirurgie. Par ailleurs, le fait que seuls les patients opérés (soit 15 à 20% des patients malades) puissent fournir suffisamment de gros fragments tumoraux pour être analysés (idéal pour les analyses translationnelles), constitue inévitablement un biais de sélection, et limite la représentativité de la population étudiée, et donc les possibilités de conclure sur l'hétérogénéité inter et intra tumorale : les patients atteints de maladies d'emblée trop avancées ou métastatiques et les patients trop fragiles ou âgés pour l'intervention chirurgicale restant nécessairement exclus des analyses.

De plus, si la médecine personnalisée consiste à prescrire un traitement en tenant compte des caractéristiques moléculaires de la tumeur de chaque malade, définir le profil mutationnel et transcriptionnel d'un cancer, en se basant sur l'analyse d'une seule biopsie, revient à s'exposer au risque de proposer une chimiothérapie ciblée qui ne serait efficace que pour une sous-population tumorale. De même, établir un pronostic en s'appuyant sur des données génomiques partielles pourrait conduire à des conclusions fausses. Les protocoles d'exploration génomique en cancérologie devraient, dans la mesure du possible, comporter l'analyse de plusieurs biopsies. Pour autant, même si la réalité de l'hétérogénéité géographique de la tumeur représente un défi à la médecine individualisée dont il faut prendre la mesure, elle ne constitue pas un handicap insurmontable. En effet, la perturbation d'un petit nombre de voies de signalisation est commune aux différentes sous-populations tumorales.

Le problème de l'acquisition de tissu tumoral en quantité suffisante pour la xénogreffe restait cependant globalement le même, puisque la plupart des protocoles de xénogreffes requièrent une pièce tumorale chirurgicale pour extraire suffisamment de matériel⁷⁹. Or la grande majorité des patients ne pourront bénéficier que d'une biopsie diagnostique, avec par conséquent un très faible nombre de cellules dans l'échantillon, plus difficiles donc à maintenir vivantes et à étudier ex-vivo.

L'originalité de l'étude PaCaOmics tenait donc sa place dans ce contexte. Il a été optimisé de façon innovante une technique efficace pour maintenir la survie des tumeurs pancréatiques primitives, prélevées chez les patients, cultivées in vitro et entretenues in vivo (grâce aux xénogreffes chez des souris immunodéprimées) pour former le modèle de ce qui a été nommé les « tumeurs respirantes ». Permettant ainsi de développer la prise de xénogreffe à partir de matériel ne provenant pas exclusivement de l'exérèse chirurgicale.

Dans cette étude, le taux de prise de xénogreffe obtenues de cette manière s'est révélé globalement similaire aux données de la littérature. Ce taux étant d'environ 30 % dans l'étude PaCaOmics comparée aux taux variant de 32 à 85% pour les prélèvements issus de matériel chirurgical^{80,81}, voire de 37.5% pour les tentatives antérieures de xénogreffes à partir de matériel tumoral pancréatique provenant d'un échantillon biopsique⁸². Pour d'autres pathologies, certaines données de prise de xénogreffe à partir de biopsie ont montré des taux de prise à 34.1% en 2015 pour les cancers d'origine gastrique⁸², ou encore à 83% pour les cancers bronchiques à petites cellules⁸³. Enfin, les techniques de culture primaire et de xénogreffes développées dans le projet PaCaOmics ont permis de reconstituer de façon fidèle les tumeurs humaines chez les souris. En effet, celles-ci apparaissent morphologiquement très proches des tumeurs humaines initiales⁸⁴, en faisant ainsi un des points fondamentaux de l'étude PaCaOmics, à savoir une excellente comparabilité entre la tumeur primitive du patient et la xénogreffe associée⁸⁴.

II) Publications issues du projet PaCaOmics :

Le projet PACAOMICS et sa bibliothèque de « tumeurs respirantes » a permis ainsi plusieurs avancées dans le développement de la médecine personnalisée, confrontée à l'hétérogénéité tumorale des ADK pancréatique. Les cultures cellulaires In Vitro et les xénogreffes sur modèle murin ont rapidement permis des analyses transcriptomiques par Affymetrix permettant de caractériser des sous-groupes de populations tumorales sensibles à des traitements qui, de manière générale, n'étaient pas connues pour leur efficacité dans un contexte oncologique (5-aza-dC)⁸⁵ (annexe 3). De même, ces bibliothèques ont permis de réaliser de véritable « chimiogramme » du cancer pancréatique, similaire aux antibiogrammes pour les bactéries, permettant de mettre en lien direct l'hétérogénéité moléculaire tumorale avec la sensibilité aux armes thérapeutiques contemporaines⁸⁶(annexe 4).

D'autres pistes ont également été explorées dans le contexte de la genèse des récidives tumorales, pour lesquelles il semblerait que les cellules CD44+, présentes dans les reliquats tumoraux post chimiothérapie d'induction, joueraient un rôle fondamental, et faisant ainsi ressortir l'intérêt des thérapies ciblées anti CD44⁸⁷ (annexe 5). De nouveaux biomarqueurs intéressants prédictifs d'une sensibilité à de potentielles thérapies ciblées ont pu émerger ; c'est le cas des inhibiteurs spécifiques de la nicotinamide phosphoribosyl transférase (NAMPT), le FK866, en association ou non avec les traitements conventionnels, administré en fonction du niveau d'expression du mRNA NAMPT⁸⁸ (annexe 6), ou bien du JQ1 (inhibiteur du bromodomaine de BET), administré aux sous-groupes tumoraux ayant un fort niveau d'expression de MYC⁸⁹ (annexe 7). Grace à ces xénogreffes, notre champ de connaissance s'est étendu sur les interactions entre l'ADK pancréatique et le stroma péri-tumoral, permettant peut-être le développement ultérieur de thérapies agissant sur ces deux structures, voire sur leur interaction mutuelle⁹⁰ (annexe 8). Une exploration plus fine du panorama épigénétique des cancers pancréatiques a également pu aider à atteindre une catégorisation plus pertinente de cette pathologie⁹¹ (annexe 9).

En effet, les classifications binaires utilisées actuellement traduisent notre manque de connaissances des paramètres moléculaires caractérisant les tumeurs et nous empêche ainsi d'avancer vers davantage de médecine personnalisée. Les signatures transcriptomiques du projet PaCaOmics ont permis, dans cette optique, de définir un gradient moléculaire des ADK pancréatiques, indépendamment et significativement associé à une valeur pronostique, mettant donc en place une caractérisation fluide de cette pathologie, semblant plus adaptée à un contexte aussi complexe⁹² (annexe 10).

Enfin dernièrement, ces signatures transcriptomiques ont permis de mettre en place un score prédisant le bénéfice de la GEMCITABINE en traitement adjuvant des ADK pancréatiques. Cette signature *GEMPRED* était significativement et indépendamment associée à la survie globale chez les patients traités par GEMCITABINE : OS des patients *GEMPRED+* 91.3 mois (IC 95% : 61.2-non atteint) vs 33 mois (IC 95% : 24- 35.2) pour l'OS des patients *GEMPRED-* (HR 0.403 (IC 95% : 0.221-0.735, $p = 0.00216$) (annexe 11). Cet article a été soumis à *Annals of Oncology* cette année.

III) Perspectives et conclusion

Cette thèse a donc porté sur l'analyse globale du projet PaCaOmics après 5 ans d'inclusion et 2 ans de clôture pour fin d'analyse. Un nombre substantiel de données de patients atteints d'ADK pancréatique a pu être obtenu, tant sur le plan clinique que biologique, grâce à la collaboration de plusieurs équipes.

Le projet PaCaOmics est arrêté sur le plan des inclusions mais continuera sur de nombreuses années via les différentes analyses possibles et envisageables à l'infini.

La constitution d'une bibliothèque de tumeurs pancréatiques respirantes est une vraie prouesse de la part des équipes collaboratives et classe ce projet parmi les plus innovants et prometteurs dans les ADK pancréatiques.

Plusieurs approches pourront être imaginées par la suite dont une des plus prometteuse reste la mise en place de signatures transcriptomiques prédictives de sensibilité aux différentes chimiothérapies systémiques, allant ainsi vers une médecine enfin personnalisée dans la prise en charge des patients atteints d'ADK pancréatiques.

Ce projet, et les conclusions de cette thèse, ouvrent la porte à de nombreuses possibilités de recherche sur les populations tumorales les plus agressives de cancers pancréatiques, et, ainsi, peut-être nous permettre, à l'avenir, de diminuer notre impuissance thérapeutique face à ces sous catégories de cancer, qui demeurent encore à ce jour, parmi les plus agressifs et les plus mortels qui existent.

Bibliographie

1. Bray, F. *et al.* Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA. Cancer J. Clin.* **68**, 394–424 (2018).
2. Winter, J. M. *et al.* 1423 pancreaticoduodenectomies for pancreatic cancer: A single-institution experience. *J. Gastrointest. Surg. Off. J. Soc. Surg. Aliment. Tract* **10**, 1199–1210; discussion 1210–1211 (2006).
3. Hidalgo, M. *et al.* Addressing the challenges of pancreatic cancer: future directions for improving outcomes. *Pancreatol. Off. J. Int. Assoc. Pancreatol. IAP AI* **15**, 8–18 (2015).
4. Collisson, E. A. *et al.* Subtypes of pancreatic ductal adenocarcinoma and their differing responses to therapy. *Nat. Med.* **17**, 500–503 (2011).
5. Oberstein, P. E. & Olive, K. P. Pancreatic cancer: why is it so hard to treat? *Ther. Adv. Gastroenterol.* **6**, 321–337 (2013).
6. Pancreatic cancer mortality in Europe: the leveling of an epidemic. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12883262>.
7. SPF. Estimations nationales de l'incidence et de la mortalité par cancer en France métropolitaine entre 1990 et 2018 - Tumeurs solides : Étude à partir des registres des cancers du réseau Francim. /import/estimations-nationales-de-l-incidence-et-de-la-mortalite-par-cancer-en-france-metropolitaine-entre-1990-et-2018-tumeurs-solides-etude-a-partir.
8. Cigarette smoking and pancreatic cancer: a pooled analysis from the pancreatic cancer cohort consortium. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19561064>.
9. Vrieling, A. *et al.* Cigarette smoking, environmental tobacco smoke exposure and pancreatic cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition. *Int. J. Cancer* **126**, 2394–2403 (2010).
10. Tobacco and the risk of pancreatic cancer: a review and meta-analysis. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18193270>.

11. Lucenteforte, E. *et al.* Alcohol consumption and pancreatic cancer: a pooled analysis in the International Pancreatic Cancer Case-Control Consortium (PanC4). *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **23**, 374–382 (2012).
12. Berrington de Gonzalez, A., Sweetland, S. & Spencer, E. A meta-analysis of obesity and the risk of pancreatic cancer. *Br. J. Cancer* **89**, 519–523 (2003).
13. Larsson, S. C., Orsini, N. & Wolk, A. Body mass index and pancreatic cancer risk: A meta-analysis of prospective studies. *Int. J. Cancer* **120**, 1993–1998 (2007).
14. Li, D. *et al.* Body mass index and risk, age of onset, and survival in patients with pancreatic cancer. *JAMA* **301**, 2553–2562 (2009).
15. Meat and meat-mutagen intake and pancreatic cancer risk in the NIH-AARP cohort. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18086772>.
16. Paluszkiwicz, P., Smolińska, K., Dębińska, I. & Turski, W. A. Main dietary compounds and pancreatic cancer risk. The quantitative analysis of case-control and cohort studies. *Cancer Epidemiol.* **36**, 60–67 (2012).
17. Nut consumption and risk of pancreatic cancer in women. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Bao+Y%2C+Hu+FB%2C+Giovannucci+EL%2C+Wolpin+BM%2C+Stampfer+MJ%2C+Willet+WC%2C+Fuchs+CS.+Nut+consumption+and+risk+of+pancreatic+cancer+in+women.+Br+J+Cancer.+2013%3B>.
18. Mortality in vegetarians and comparable nonvegetarians in the United Kingdom. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Appleby+PN%2C+Crowe+FL%2C+Bradbury+KE%2C+Travis+RC%2C+Key+TJ.+Mortality+in+vegetarians+and+comparable+nonvegetarians+in+the+United+Kingdom.+Am+J+Clin+Nutr.+2016>.
19. Batabyal, P., Vander Hoorn, S., Christophi, C. & Nikfarjam, M. Association of diabetes mellitus and pancreatic adenocarcinoma: a meta-analysis of 88 studies. *Ann. Surg. Oncol.* **21**, 2453–2462 (2014).

20. Diabetes, smoking, alcohol use, and family history of cancer as risk factors for pancreatic neuroendocrine tumors: a systematic review and meta-analysis. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=alcohol+use%2C+and+family+history+of+cancer+as+risk+factors+for+pancreatic+neuroendocrine+tumors%3A+a+systematic+review+and+meta-analysis.+Neuroendocrinology.+2015%3B>.
21. Maisonneuve, P. & Lowenfels, A. B. Risk factors for pancreatic cancer: a summary review of meta-analytical studies. *Int. J. Epidemiol.* **44**, 186–198 (2015).
22. Stevens, R. J., Roddam, A. W. & Beral, V. Pancreatic cancer in type 1 and young-onset diabetes: systematic review and meta-analysis. *Br. J. Cancer* **96**, 507–509 (2007).
23. Stolzenberg-Solomon, R. Z. *et al.* Insulin, glucose, insulin resistance, and pancreatic cancer in male smokers. *JAMA* **294**, 2872–2878 (2005).
24. Jacobs, E. J. *et al.* Family history of cancer and risk of pancreatic cancer: a pooled analysis from the Pancreatic Cancer Cohort Consortium (PanScan). *Int. J. Cancer* **127**, 1421–1428 (2010).
25. Permut-Wey, J. & Egan, K. M. Family history is a significant risk factor for pancreatic cancer: results from a systematic review and meta-analysis. *Fam. Cancer* **8**, 109–117 (2009).
26. Anticipation in familial pancreatic cancer. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=McFaul+CD%2C+Greenhalf+W%2C+Earl+J+et+al.+Anticipation+in+familial+pancreatic+cancer.+Gut+2006>.
27. The nation-wide Swedish family-cancer database--updated structure and familial rates. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hemminki+K%2C+Li+X%2C+Plna+K+et+al.+The+nation-wide+Swedish+family-cancer+database--updated+structure+and+familial+rates.+Acta+Oncol+2001>.
28. Prospective risk of pancreatic cancer in familial pancreatic cancer kindreds. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Klein+AP%2C+Brune+KA%2C+Petersen+GM%2C>

- Goggins+M%2C+Tersmette+AC%2C+Offerhaus+GJ%2C+Griffin+C%2C+et+al.+Prospective+risk+of
+pancreatic+cancer+in+familial+pancreatic+cancer+kindreds.+Cancer+Res.+2004.
29. Genetic predisposition to pancreatic cancer: a brief review. - PubMed - NCBI.
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Greer+JB%2C+Whitcomb+DC%2C+Brand+RE.+Ge
netic+predisposition+to+pancreatic+cancer%3A+a+brief+review.+Am+J+Gastroenterol.+2007.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Greer+JB%2C+Whitcomb+DC%2C+Brand+RE.+Ge
netic+predisposition+to+pancreatic+cancer%3A+a+brief+review.+Am+J+Gastroenterol.+2007.)
30. Importance of age of onset in pancreatic cancer kindreds. - PubMed - NCBI.
[https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Brune+KA%2C+Lau+B%2C+Palmisano+E+et+al.+I
mportance+of+age+of+onset+in+pancreatic+cancer+kindreds.+J+Natl+Cancer+Inst+2010.](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Brune+KA%2C+Lau+B%2C+Palmisano+E+et+al.+I
mportance+of+age+of+onset+in+pancreatic+cancer+kindreds.+J+Natl+Cancer+Inst+2010.)
31. Shi, C., Hruban, R. H. & Klein, A. P. Familial pancreatic cancer. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **133**, 365–
374 (2009).
32. Ranganathan, P., Harsha, H. C. & Pandey, A. Molecular alterations in exocrine neoplasms of the
pancreas. *Arch. Pathol. Lab. Med.* **133**, 405–412 (2009).
33. Molecular genetics of pancreatic intraepithelial neoplasia. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17520196.>
34. Frequency of K-ras mutations in pancreatic intraductal neoplasias associated with pancreatic
ductal adenocarcinoma and chronic pancreatitis: a meta... - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15720814.>
35. Update on pancreatic intraepithelial neoplasia. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18787611.>
36. Vincent, A., Herman, J., Schulick, R., Hruban, R. H. & Goggins, M. Pancreatic cancer. *Lancet Lond.
Engl.* **378**, 607–620 (2011).
37. Evaluation of candidate genes MAP2K4, MADH4, ACVR1B, and BRCA2 in familial pancreatic
cancer: deleterious BRCA2 mutations in 17%. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12097290.>
38. BRCA2 germline mutations in familial pancreatic carcinoma. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12569143.>

39. The prevalence of BRCA2 mutations in familial pancreatic cancer. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17301269>.
40. Exomic sequencing identifies PALB2 as a pancreatic cancer susceptibility gene. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19264984>.
41. Street, W. Cancer Facts & Figures 2020. 76 (1930).
42. Rossi, S. *et al.* The EUROCORE-5 study on cancer survival in Europe 1999-2007: Database, quality checks and statistical analysis methods. *Eur. J. Cancer Oxf. Engl. 1990* **51**, 2104–2119 (2015).
43. Diagnosis and management of pancreatic cancer. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24784121>.
44. Cancer statistics, 2018. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29313949>.
45. Ahmad, N. A. *et al.* Long term survival after pancreatic resection for pancreatic adenocarcinoma. *Am. J. Gastroenterol.* **96**, 2609–2615 (2001).
46. Conlon, K. C., Klimstra, D. S. & Brennan, M. F. Long-term survival after curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. Clinicopathologic analysis of 5-year survivors. *Ann. Surg.* **223**, 273–279 (1996).
47. Redefining the R1 resection in pancreatic cancer. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16804874>.
48. Delpero, J.-R. & Turrini, O. [Ductal adenocarcinoma of the head of the pancreas: a critical study of R1 resection rates]. *Bull. Cancer (Paris)* **95**, 1193–1198 (2008).
49. Esposito, I. *et al.* Most pancreatic cancer resections are R1 resections. *Ann. Surg. Oncol.* **15**, 1651–1660 (2008).
50. Long-term survival after multidisciplinary management of resected pancreatic adenocarcinoma. - PubMed - NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19194760>.
51. Schnelldorfer, T. *et al.* Long-term survival after pancreatoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma: is cure possible? *Ann. Surg.* **247**, 456–462 (2008).

52. Sohn, T. A. *et al.* Resected adenocarcinoma of the pancreas-616 patients: results, outcomes, and prognostic indicators. *J. Gastrointest. Surg. Off. J. Soc. Surg. Aliment. Tract* **4**, 567–579 (2000).
53. Hartwig, W. *et al.* Pancreatic Cancer Surgery in the New Millennium: Better Prediction of Outcome. *Ann. Surg.* **254**, 311–319 (2011).
54. Sener, S. F., Fremgen, A., Menck, H. R. & Winchester, D. P. Pancreatic cancer: a report of treatment and survival trends for 100,313 patients diagnosed from 1985-1995, using the National Cancer Database. *J. Am. Coll. Surg.* **189**, 1–7 (1999).
55. Neoptolemos, J. P. *et al.* Adjuvant chemoradiotherapy and chemotherapy in resectable pancreatic cancer: a randomised controlled trial. *Lancet Lond. Engl.* **358**, 1576–1585 (2001).
56. Neoptolemos, J. P. *et al.* A randomized trial of chemoradiotherapy and chemotherapy after resection of pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* **350**, 1200–1210 (2004).
57. Oettle, H. *et al.* Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* **297**, 267–277 (2007).
58. Neoptolemos, J. P. *et al.* Effect of adjuvant chemotherapy with fluorouracil plus folinic acid or gemcitabine vs observation on survival in patients with resected periampullary adenocarcinoma: the ESPAC-3 periampullary cancer randomized trial. *JAMA* **308**, 147–156 (2012).
59. Neoptolemos, J. P. *et al.* Comparison of adjuvant gemcitabine and capecitabine with gemcitabine monotherapy in patients with resected pancreatic cancer (ESPAC-4): a multicentre, open-label, randomised, phase 3 trial. *Lancet Lond. Engl.* **389**, 1011–1024 (2017).
60. Conroy, T. *et al.* FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *N. Engl. J. Med.* **379**, 2395–2406 (2018).
61. Tempero, M. A. *et al.* AFACT: phase III, multicenter, international, open-label, randomized trial of adjuvant nab-paclitaxel plus gemcitabine (nab-P/G) vs gemcitabine (G) for surgically resected pancreatic adenocarcinoma. *J. Clin. Oncol.* **37**, 4000–4000 (2019).

62. No standard treatment is available for advanced pancreatic cancer. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7646915>.
63. Phase II study of cisplatin and 120-hour continuous infusion of 5-fluorouracil in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma - Annals of Oncology.
[https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(19\)64759-9/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(19)64759-9/fulltext).
64. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9196156>.
65. Moore, M. J. *et al.* Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer: a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **25**, 1960–1966 (2007).
66. Gemcitabine plus bevacizumab compared with gemcitabine plus placebo in patients with advanced pancreatic cancer: phase III trial of the Cancer and ... - PubMed - NCBI.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20606091>.
67. Gonçalves A, Gilibert M, François E, Dahan L, Perrier H, Lamy R, Re D, Largillier R, Gasmi M, Tchiknavorian X, Esterni B, Genre D, Moureau-Zabotto L, Giovannini M, Seitz JF, Delpero JR, Turrini O, Viens P, Raoul JL. BAYPAN study: a double-blind phase III randomized trial comparing gemcitabine plus sorafenib and gemcitabine plus placebo in patients with advanced pancreatic cancer. *Ann Oncol.* 2012 - Recherche Google.
<https://www.google.com/search?q=Gon%C3%A7alves+A%2C+Gilibert+M%2C+Fran%C3%A7ois+E%2C+Dahan+L%2C+Perrier+H%2C+Lamy+R%2C+Re+D%2C+Largillier+R%2C+Gasmi+M%2C+Tchiknavorian+X%2C+Esterni+B%2C+Genre+D%2C+Moureau-Zabotto+L%2C+Giovannini+M%2C+Seitz+JF%2C+Delpero+JR%2C+Turrini+O%2C+Viens+P%2C+Raoul+JL.+BAYPAN+study%3A+a+double-blind+phase+III+randomized+trial+comparing+gemcitabine+plus+sorafenib+and+gemcitabine+plus+placebo+in+patients+with+advanced+pancreatic+cancer.+Ann+Oncol.+2012&oq=Gon%C3%A>

7alves+A%2C+Gilabert+M%2C+Fran%C3%A7ois+E%2C+Dahan+L%2C+Perrier+H%2C+Lamy+R%2C+Re+D%2C+Largillier+R%2C+Gasmi+M%2C+Tchiknavorian+X%2C+Esterni+B%2C+Genre+D%2C+Moureau-

Zabotto+L%2C+Giovannini+M%2C+Seitz+JF%2C+Delpero+JR%2C+Turrini+O%2C+Viens+P%2C+Raoul+JL.+BAYPAN+study%3A+a+double-

blind+phase+III+randomized+trial+comparing+gemcitabine+plus+sorafenib+and+gemcitabine+plus+placebo+in+patients+with+advanced+pancreatic+cancer.+Ann+Oncol.+2012&aqs=chrome..69i57.819j0j4&sourceid=chrome&ie=UTF-8.

68. Phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: Southwest Oncology Gro... - PubMed - NCBI.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20606093>.

69. Conroy, T. *et al.* FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* **364**, 1817–1825 (2011).

70. Von Hoff, D. D., Goldstein, D. & Renschler, M. F. Albumin-bound paclitaxel plus gemcitabine in pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* **370**, 479–480 (2014).

71. A randomized trial in patients with gemcitabine refractory pancreatic cancer. Final results of the CONKO 003 study | Journal of Clinical Oncology.

https://ascopubs.org/doi/abs/10.1200/jco.2008.26.15_suppl.4508.

72. Phase III, randomized study of gemcitabine and oxaliplatin versus gemcitabine (fixed-dose rate infusion) compared with gemcitabine (30-minute infus... - PubMed - NCBI.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19581537>.

73. Randomized phase III trial of gemcitabine plus cisplatin compared with gemcitabine alone in advanced pancreatic cancer. - PubMed - NCBI.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16921047>.

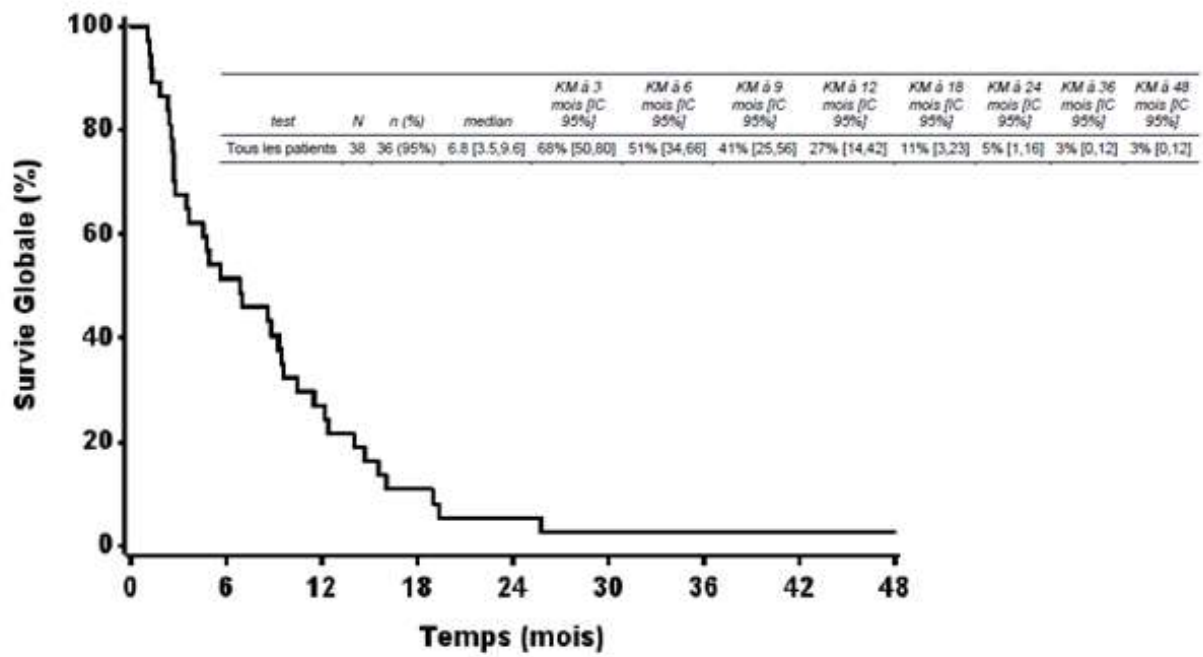
74. Marusyk, A., Almendro, V. & Polyak, K. Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? *Nat. Rev. Cancer* **12**, 323–334 (2012).

75. Marco Gerlinger, M. D. Intratumor Heterogeneity and Branched Evolution Revealed by Multiregion Sequencing. *N. Engl. J. Med.* (2012).
76. Gene expression profiling of microdissected pancreatic ductal carcinomas using high-density DNA microarrays - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15548371/>.
77. Greenhalf, W. *et al.* Pancreatic cancer hENT1 expression and survival from gemcitabine in patients from the ESPAC-3 trial. *J. Natl. Cancer Inst.* **106**, djt347 (2014).
78. Conroy, T. *et al.* FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N. Engl. J. Med.* **364**, 1817–1825 (2011).
79. Hidalgo, M. *et al.* Patient-derived xenograft models: an emerging platform for translational cancer research. *Cancer Discov.* **4**, 998–1013 (2014).
80. Delitto, D. *et al.* Patient-derived xenograft models for pancreatic adenocarcinoma demonstrate retention of tumor morphology through incorporation of murine stromal elements. *Am. J. Pathol.* **185**, 1297–1303 (2015).
81. Direct in vivo xenograft tumor model for predicting chemotherapeutic drug response in cancer patients - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19005462/>.
82. Genomic characterization of patient-derived xenograft models established from fine needle aspirate biopsies of a primary pancreatic ductal adenocarcinoma and from patient-matched metastatic sites - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26934555/>.
83. Initiation and Characterization of Small Cell Lung Cancer Patient-Derived Xenografts from Ultrasound-Guided Transbronchial Needle Aspirates.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4425530/>.
84. Thomas, R. M. *et al.* The canary in the coal mine: the growth of patient-derived tumorgrafts in mice predicts clinical recurrence after surgical resection of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Ann. Surg. Oncol.* **22**, 1884–1892 (2015).
85. A subgroup of pancreatic adenocarcinoma is sensitive to the 5-aza-dC DNA methyltransferase inhibitor - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25481873/>.

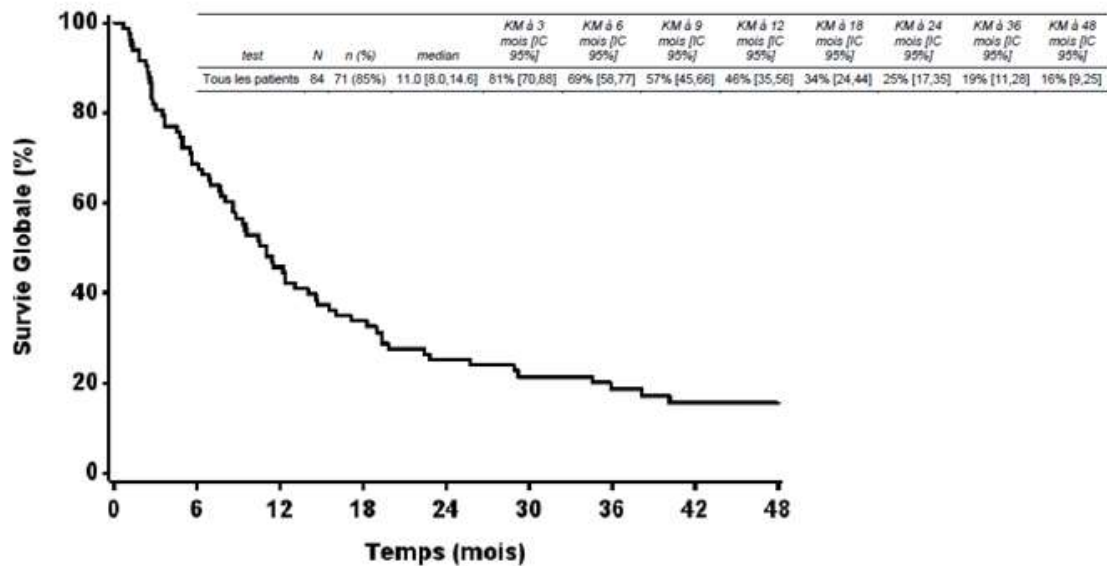
86. Duconseil, P. *et al.* Transcriptomic analysis predicts survival and sensitivity to anticancer drugs of patients with a pancreatic adenocarcinoma. *Am. J. Pathol.* **185**, 1022–1032 (2015).
87. Deciphering the cellular source of tumor relapse identifies CD44 as a major therapeutic target in pancreatic adenocarcinoma. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4480689/>.
88. A pancreatic ductal adenocarcinoma subpopulation is sensitive to FK866, an inhibitor of NAMPT - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27462772/>.
89. Gene expression profiling of patient-derived pancreatic cancer xenografts predicts sensitivity to the BET bromodomain inhibitor JQ1: implications for individualized medicine efforts - PubMed. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28275007/>.
90. Pancreatic Adenocarcinoma Therapeutic Targets Revealed by Tumor-Stroma Cross-Talk Analyses in Patient-Derived Xenografts. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6082139/>.
91. Distinct epigenetic landscapes underlie the pathobiology of pancreatic cancer subtypes | Nature Communications. <https://www.nature.com/articles/s41467-018-04383-6>.
92. Establishment of a pancreatic adenocarcinoma molecular gradient (PAMG) that predicts the clinical outcome of pancreatic cancer - EBioMedicine. [https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964\(20\)30233-4/fulltext](https://www.thelancet.com/journals/ebiom/article/PIIS2352-3964(20)30233-4/fulltext).

Annexes

Annexe 1 :
Survie des patients avec pousse en culture cellulaire



Annexe 2 :
Survie des patients avec pousse en xénogreffe :



Annexe 3 :

A subgroup of pancreatic adenocarcinoma is sensitive to the 5-aza-dC DNA methyltransferase inhibitor

A subgroup of pancreatic adenocarcinoma is sensitive to the 5-aza-dC DNA methyltransferase inhibitor

Odile Gayet¹, Celine Loncle¹, Pauline Duconseil¹, Marine Gilabert¹, Maria Belen Lopez¹, Vincent Moutardier^{1,2}, Olivier Turrini^{1,3}, Ezequiel Calvo⁴, Jacques Ewald³, Marc Giovannini³, Mohamed Gasmi⁵, Erwan Bories³, Marc Barthet⁵, Mehdi Ouaiissi⁶, Anthony Goncalves³, Flora Poizat³, Jean Luc Raoul³, Veronique Secq^{1,2}, Stephane Garcia^{1,2}, Patrice Viens³, Nelson Dusetti¹, Juan Iovanna¹

¹Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Aix-Marseille Université and Institut Paoli-Calmettes, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Marseille, France

²Hôpital Nord, Marseille, France

³Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

⁴Centre Génomique du Centre de recherche du CHUL Research Center, Quebec, Canada

⁵Hôpital Nord, Département de Gastroentérologie, Marseille, France

⁶Hôpital de la Timone, Marseille, France

Correspondence to:

Nelson Dusetti, e-mail: nelson.dusetti@inserm.fr

Juan Iovanna, e-mail: juan.iovanna@inserm.fr

Received: August 05, 2014

Accepted: November 02, 2014

Published: December 03, 2014

ABSTRACT

Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC) is a disease with a great heterogeneity in the response to treatments. To improve the responsiveness to treatments there are two different approaches, the first one consist to develop new and more efficient drugs that intent to cure all patients and the second one is to use already-approved drugs, alone or in combination, but selecting beforehand the most sensitive patients. In this work we explored the efficiency of the second possibility. We developed a collection of 17 PDAC samples collected by Endoscopic Ultrasound-Guided Fine-Needle Aspiration (EUS-FNA) or surgery and preserved as xenografts and as primary cultures. This collection was characterized at molecular level by a transcriptomic analysis using an Affymetrix approach. In this paper we present data demonstrating that a subgroup of PDAC responds to low doses of 5-aza-dC. These tumors show a specific RNA expression profile that could serve as a marker, but there is no correlation with *Dnmt1*, *Dnmt3A* or *Dnmt3B* expression. Responder tumors corresponded to well-differentiated samples and longer survival patients. In conclusion, we present data obtained with the well-known drug 5-aza-dC as a proof of concept that a drug that seems to be inefficient in solid tumors in general could be applicable to a particular subgroup of patients with PDAC.

Annexe 4 :

Transcriptomic analysis predicts survival and sensitivity to anticancer drugs of patients

The American Journal of Pathology, Vol. 185, No. 4, April 2015



The American Journal of
PATHOLOGY

ajp.amjpathol.org

GASTROINTESTINAL, HEPATOBILIARY, AND PANCREATIC PATHOLOGY

Transcriptomic Analysis Predicts Survival and Sensitivity to Anticancer Drugs of Patients with a Pancreatic Adenocarcinoma



Pauline Duconseil,^{*} Marine Gilibert,^{*} Odile Gayet,^{*} Celine Loncle,^{*} Vincent Moutardier,^{*,†} Olivier Turrini,^{*,†} Ezequiel Calvo,[‡] Jacques Ewald,[‡] Marc Giovannini,[‡] Mohamed Gasmı,[¶] Erwan Bories,[‡] Marc Barthet,[¶] Mehdi Ouaisı,^{||} Anthony Goncalves,[‡] Flora Poizat,[‡] Jean Luc Raoul,[‡] Veronique Secq,^{*,†} Stephane Garcia,^{*,†} Patrice Viens,[‡] Juan Iovanna,^{*} and Nelson Dusetti^{*}

From the Cancer Research Center of Marseille (CRCM),^{*} INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Aix-Marseille University and Paoli-Calmettes Institute, Scientific and Technological Park of Luminy, Marseille, France; the Departments of Surgery[†] and Gastroenterology,[¶] Hôpital Nord, Marseille, France; the Paoli-Calmettes Institute,[‡] Marseille, France; the Genomic Center,[‡] CHUL Research Centre, Quebec City, Quebec, Canada; and the Department of Surgery,[‡] La Timone Hospital, Marseille, France.

Accepted for publication
November 25, 2014.

Address correspondence to
Nelson Dusetti, Ph.D., or Juan
Iovanna, M.D., Ph.D.,
INSERM U1068, 163 Av de
Luminy, Bâiment TPR2,
13288 Marseille, France.
E-mail: nelson.dusetti@inserm.fr
or juan.iovanna@inserm.fr.

A major impediment to the effective treatment of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the molecular heterogeneity of this disease, which is reflected in an equally diverse pattern of clinical outcome and in responses to therapies. We developed an efficient strategy in which PDAC samples from 17 consecutive patients were collected by endoscopic ultrasound-guided fine-needle aspiration or surgery and were preserved as breathing tumors by xenografting and as a primary culture of epithelial cells. Transcriptomic analysis was performed from breathing tumors by an Affymetrix approach. We observed significant heterogeneity in the RNA expression profile of tumors. However, the bioinformatic analysis of these data was able to discriminate between patients with long- and short-term survival corresponding to patients with moderately or poorly differentiated PDAC tumors, respectively. Primary culture of cells allowed us to analyze their relative sensitivity to anticancer drugs *in vitro* using a chemogram, similar to the antibiogram for microorganisms, establishing an individual profile of drug sensitivity. As expected, the response was patient dependent. We also found that transcriptomic analysis predicts the sensitivity of cells to the five anticancer drugs most frequently used to treat patients with PDAC. In conclusion, using this approach, we found that transcriptomic analysis could predict the sensitivity to anticancer drugs and the clinical outcome of patients with PDAC. (*Am J Pathol* 2015, 185: 1022–1032; <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajpath.2014.11.029>)

Deciphering the cellular source of tumor relapse identifies CD44 as a major therapeutic target in pancreatic adenocarcinoma

Maria Inés Molejon¹, Juan Ignacio Tellechea^{1,2}, Celine Loncle¹, Odile Gayet¹, Marine Gilabert¹, Pauline Duconseil¹, Maria Belen Lopez-Millan¹, Vincent Moutardier^{1,2}, Mohamed Gasmi^{1,2}, Stephane Garcia^{1,2}, Olivier Turrini^{1,3}, Mehdi Ouaiissi⁴, Flora Poizat³, Nelson Duseffi¹ and Juan Iovanna¹

¹ Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Aix-Marseille Université and Institut Paoli-Calmettes, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Marseille, France

² Hôpital Nord, Marseille, France

³ Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

⁴ Hôpital de la Timone, Marseille, France

Correspondence to: Nelson Duseffi, email: nelson.duseffi@inserm.fr

Juan Iovanna, email: juan.iovanna@inserm.fr

Keywords: pancreas cancer, xenograft, CD44, recurrence

Received: January 04, 2015

Accepted: February 02, 2015

Published: March 10, 2015

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

ABSTRACT

It has been commonly found that in patients presenting Pancreatic Ductal Adenocarcinoma (PDAC), after a period of satisfactory response to standard treatments, the tumor becomes non-responsive and patient death quickly follows. This phenomenon is mainly due to the rapid and uncontrolled development of the residual tumor. The origin and biological characteristics of residual tumor cells in PDAC still remain unclear. In this work, using PDACs from patients, preserved as xenografts in nude mice, we demonstrated that a residual PDAC tumor originated from a small number of CD44+ cells present in the tumor. During PDAC relapse, proliferating CD44+ cells decrease expression of ZEB1, while overexpressing the MUC1 protein, and gain morphological and biological characteristics of differentiation. Also, we report that CD44+ cells, in primary and residual PDAC tumors, are part of a heterogeneous population, which includes variable numbers of CD133+ and EpCAM+ cells. We confirmed the propagation of CD44+ cells in samples from cases of human relapse, following standard PDAC treatment. Finally, using systemic administration of anti-CD44 antibodies *in vivo*, we demonstrated that CD44 is an efficient therapeutic target for treating tumor relapse, but not primary PDAC tumors. We conclude that CD44+ cells generate the relapsing tumor and, as such, are themselves promising therapeutic targets for treating patients with recurrent PDAC.

A pancreatic ductal adenocarcinoma subpopulation is sensitive to FK866, an inhibitor of NAMPT

Marine Barraud^{1,*}, Jonathan Garnier^{1,*}, Celine Loncle¹, Odile Gayet¹, Charlotte Lequeue¹, Sophie Vasseur¹, Benjamin Bian¹, Pauline Duconseil¹, Marine Gilabert¹, Martin Bigonnet¹, Aurélie Maignan¹, Vincent Moutardier^{1,2,5}, Stephane Garcia^{1,2}, Olivier Turrini^{1,3}, Jean-Robert Delpero³, Marc Giovannini³, Philippe Grandval⁴, Mohamed Gasmi^{2,5}, Mehdi Ouaiissi⁴, Veronique Secq², Flora Poizat³, Nicolas Guibert⁶, Juan Iovanna¹, Nelson Duseti¹

¹Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Aix-Marseille Université and Institut Paoli-Calmettes, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Marseille, France

²Hôpital Nord, Marseille, France

³Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

⁴Hôpital de la Timone, Marseille, France

⁵CIC1409, AP-HM - Nord University Hospital, Aix-Marseille University, Marseille, France

⁶Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

*These authors have contributed equally to this work

Correspondence to: Nelson Duseti, email: nelson.duseti@inserm.fr
Juan Iovanna, email: juan.iovanna@inserm.fr

Keywords: pancreatic cancer, NAMPT, FK866, chemotherapy

Received: February 03, 2016

Accepted: July 09, 2016

Published: July 22, 2016

ABSTRACT

Treating pancreatic cancer is extremely challenging due to multiple factors, including chemoresistance and poor disease prognosis. Chemoresistance can be explained by: the presence of a dense stromal barrier leading to a lower vascularized condition, therefore limiting drug delivery; the huge intra-tumoral heterogeneity; and the status of epithelial-to-mesenchymal transition. These factors are highly variable between patients making it difficult to predict responses to chemotherapy. Nicotinamide phosphoribosyl transferase (NAMPT) is the main enzyme responsible for recycling cytosolic NAD⁺ in hypoxic conditions. FK866 is a noncompetitive specific inhibitor of NAMPT, which has proven anti-tumoral effects, although a clinical advantage has still not been demonstrated. Here, we tested the effect of FK866 on pancreatic cancer-derived primary cell cultures (PCCs), both alone and in combination with three different drugs typically used against this cancer: gemcitabine, 5-Fluorouracil (5FU) and oxaliplatin. The aims of this study were to evaluate the benefit of drug combinations, define groups of sensitivity, and identify a potential biomarker for predicting treatment sensitivity. We performed cell viability tests in the presence of either FK866 alone or in combination with the drugs above-mentioned. We confirmed both inter- and intra-tumoral heterogeneity. Interestingly, only the *in vitro* effect of gemcitabine was influenced by the addition of FK866. We also found that NAMPT mRNA expression levels can predict the sensitivity of cells to FK866. Overall, our results suggest that patients with tumors sensitive to FK866 can be identified using NAMPT mRNA levels as a biomarker and could therefore benefit from a co-treatment of gemcitabine plus FK866.

Annexe 7 :

Gene expression of profiling of patient-derived pancreatic cancer xenografts predicts sensitivity to the BET bromodomain inhibitor JQ1 : implications for individualized medicine efforts

Research Article



EMBO
Molecular Medicine

Gene expression profiling of patient-derived pancreatic cancer xenografts predicts sensitivity to the BET bromodomain inhibitor JQ1: implications for individualized medicine efforts

Benjamin Bian¹ , Martin Bigonnet¹, Odile Gayet¹, Celine Loncle¹, Aurélie Maignan¹, Marine Gilbert¹, Vincent Moutardier^{1,2,3}, Stéphane Garcia^{1,2}, Olivier Turrini^{1,4}, Jean-Robert Delpero⁴, Marc Giovannini⁴, Philippe Grandval⁵, Mohamed Gasmi^{2,3}, Mehdi Ouaisi⁵, Veronique Secq², Flora Poizat⁴, Rémy Nicolle⁶, Yuna Blum⁶, Laetitia Marisa⁶, Marion Rubis¹, Jean-Luc Raoul⁴, James E Bradner⁷, Jun Qi⁷, Gwen Lomberk⁸, Raul Urrutia⁸, Andres Saul⁹, Nelson Dusetti^{1,*} & Juan Iovanna^{1,**}

Abstract

c-MYC controls more than 15% of genes responsible for proliferation, differentiation, and cellular metabolism in pancreatic as well as other cancers making this transcription factor a prime target for treating patients. The transcriptome of 55 patient-derived xenografts show that 30% of them share an exacerbated expression profile of MYC transcriptional targets (MYC-high). This cohort is characterized by a high level of Ki67 staining, a lower differentiation state, and a shorter survival time compared to the MYC-low subgroup. To define classifier expression signature, we selected a group of 10 MYC target transcripts which expression is increased in the MYC-high group and six transcripts increased in the MYC-low group. We validated the ability of these markers panel to identify MYC-high patient-derived xenografts from both: discovery and validation cohorts as well as primary cell cultures from the same patients. We then showed that cells from MYC-high patients are more sensitive to JQ1 treatment compared to MYC-low cells, in monolayer, 3D cultured spheroids and *in vivo* xenografted tumors, due to cell cycle arrest followed by apoptosis. Therefore, these results provide new markers and potentially novel therapeutic modalities for distinct subgroups of pancreatic tumors and may find application to the future management of these patients within the setting of individualized medicine clinics.

Keywords bromodomains; c-MYC; JQ1; pancreatic adenocarcinoma; transcriptomic signature

Subject Categories Cancer; Chromatin, Epigenetics, Genomics & Functional Genomics

DOI 10.15252/emmm.201606975 | Received 22 August 2016 | Revised 25 January 2017 | Accepted 30 January 2017 | Published online 8 March 2017
EMBO Mol Med (2017) 9: 482–497

Introduction

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most lethal cancers and a major public health issue since there are approximately 230,000 new PDAC cases per year worldwide with approximately the same number of deaths (Jemal *et al.*, 2005). Like others malignant diseases, PDAC results from a complex combination of genetic, epigenetic, and environmental factors which gives rise to a particularly heterogeneous disease, with patients having different set of symptoms, predisposition to early metastasis, and therapeutic responses (Yachida & Iacobuzio-Donahue, 2013; Dunne & Hezel, 2015; Waddell *et al.*, 2015). This heterogeneity highlights the necessity to stratify patients with the goal of predicting better responses to therapies (Heller *et al.*, 2015; Koay *et al.*, 2016; Noll *et al.*, 2016). One strategy to discover potential markers for patient stratification

1 Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Aix-Marseille Université and Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

2 Hôpital Nord, Marseille, France

3 CIC1409, AP-HM-Hôpital Nord, Aix-Marseille Université, Marseille, France

4 Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

5 Hôpital de la Timone, Marseille, France

6 Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre Le Cancer, Paris, France

7 Department of Medical Oncology, Dana-Farber Cancer Institute, Harvard Medical School, Boston, MA, USA

8 Laboratory of Epigenetics and Chromatin Dynamics, Departments of Biochemistry and Molecular Biology and Medicine, Mayo Clinic, Rochester, MN, USA

9 Centre Interdisciplinaire de Nanoscience de Marseille-CNRS UMR 7325, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, Aix-Marseille Université, Marseille, France

*Corresponding author. Tel: +33 491 828828; Fax: +33 491 82886083; E-mail: nelson.dusetti@inserm.fr

**Corresponding author. Tel: +33 491 828803; Fax: +33 491 82886083; E-mail: juan.iovanna@inserm.fr

Annexe 8 :

Pancreatic adenocarcinoma therapeutic targets revealed by tumor-stroma cross-talk analyses in patient-derived xenografts



Published in final edited form as:

Cell Rep. 2017 November 28; 21(9): 2458–2470. doi:10.1016/j.celrep.2017.11.003.

Pancreatic Adenocarcinoma Therapeutic Targets Revealed by Tumor-Stroma Cross-Talk Analyses in Patient-Derived Xenografts

Rémy Nicolle^{1,*}, Yuna Blum^{1,10}, Laetitia Marisa^{1,10}, Celine Loncle², Odile Gayet², Vincent Moutardier^{3,4}, Olivier Turrini^{4,5}, Marc Giovannini⁵, Benjamin Bian², Martin Bigonnet², Marion Rubis², Nabila Elarouci¹, Lucile Armenoult¹, Mira Ayadi¹, Pauline Duconseil², Mohamed Gasmî³, Mehdi Ouaiissi⁵, Aurélie Maignan², Gwen Lomberk⁷, Jean-Marie Boher⁵, Jacques Ewald⁵, Erwan Bories⁵, Jonathan Garnier², Anthony Goncalves^{4,5}, Flora Poizat⁵, Jean-Luc Raoul^{4,5}, Veronique Secq³, Stephane Garcia^{3,4}, Philippe Grandval^{4,6}, Marine Barraud-Blanc⁶, Emmanuelle Norguet⁶, Marine Gilabert⁵, Jean-Robert Delpero^{4,5}, Julie Roques², Ezequiel Calvo⁸, Fabienne Guillaumond², Sophie Vasseur², Raul Urrutia⁹, Aurélien de Reyniès¹, Nelson Dusetti², and Juan Iovanna^{2,*}

¹Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France

²Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Institut Paoli-Calmettes, Aix Marseille Université, Marseille, France

³Hôpital Nord, Marseille, France

⁴Aix Marseille Université, Marseille, France

⁵Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

⁶Hôpital de la Timone, Marseille, France

⁷Division of Research, Department of Surgery, Medical College of Wisconsin, Milwaukee, WI 53226, USA

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

*Correspondence: remy.nicolle@ligue-cancer.net (R.N.), juan.iovanna@inserm.fr (J.I.)

¹⁰These authors contributed equally

¹¹Lead Contact

DATA AND SOFTWARE AVAILABILITY

The accession number for exome sequencing reported in this paper is EMBL-EBI: EGAS00001001928. The accession number for SNP arrays reported in this paper is EMBL-EBI: E-MTAB-5006. The accession number for the methylation array reported in this paper is EMBL-EBI: E-MTAB-5008. The accession numbers for miRNA-seq and RNA-seq reported in this paper are EMBL-EBI: E-MTAB-5018 and E-MTAB-5039, respectively.

SUPPLEMENTAL INFORMATION

Supplemental information includes Supplemental Experimental Procedures, six figures, and four tables and can be found with this article online at <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2017.11.003>.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

C.L., O.G., B.B., M.B., L.A., M.A., P.D., A.M., and J.G. performed the biological experiments and sample preparation. M.A. and N.E. conducted data management. M.R., V.S., S.G., J.R., and F.P. performed the histochemical stainings and immunohistochemical scoring. V.M., O.T., M. Giovannini, M. Gasmî, M.O., J.E., E.B., A.G., J-L.R., P.G., M.B.-B., E.N., M. Gilabert, F.G., S.V., and J.-R.D. provided material. R.N., Y.B., and L.M. performed bioinformatics analysis. R.N., Y.B., L.M., G.L., J.-M.B., E.C., R.U., A.d.R., N.D., and J.I. contributed to the experimental design, data analysis and discussion. A.d.R., N.D., and J.I. directed the project. R.N., Y.B., L.M., N.D., and J.I. wrote the manuscript.

Annexe 9 :

Distinct epigenetic landscapes underlie the pathobiology of pancreatic cancer subtypes



ARTICLE

DOI: 10.1038/s41467-018-04383-6

OPEN

Distinct epigenetic landscapes underlie the pathobiology of pancreatic cancer subtypes

Gwen Lomberk¹, Yuna Blum², Rémy Nicolle², Asha Nair³, Krutika Satish Gaonkar³, Laetitia Marisa^{1,2}, Angela Mathison⁴, Zhifu Sun³, Huihuang Yan³, Nabila Elarouci², Lucile Armenoult², Mira Ayadi^{1,2}, Tamas Ordog^{5,6}, Jeong-Heon Lee⁵, Gavin Oliver³, Eric Klee³, Vincent Moutardier^{7,8}, Odile Gayet⁷, Benjamin Bian⁷, Pauline Duconseil⁷, Marine Gilabert⁷, Martin Bigonnet⁷, Stephane Garcia^{7,8}, Olivier Turrini^{7,9}, Jean-Robert Delpero⁹, Marc Giovannini⁹, Philippe Grandval¹⁰, Mohamed Gasmis⁸, Veronique Secq⁸, Aurélien De Reyniès², Nelson Dusetti⁷, Juan Iovanna⁷ & Raul Urrutia^{1,4,5}

Recent studies have offered ample insight into genome-wide expression patterns to define pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) subtypes, although there remains a lack of knowledge regarding the underlying epigenomics of PDAC. Here we perform multi-parametric integrative analyses of chromatin immunoprecipitation-sequencing (ChIP-seq) on multiple histone modifications, RNA-sequencing (RNA-seq), and DNA methylation to define epigenomic landscapes for PDAC subtypes, which can predict their relative aggressiveness and survival. Moreover, we describe the state of promoters, enhancers, super-enhancers, euchromatic, and heterochromatic regions for each subtype. Further analyses indicate that the distinct epigenomic landscapes are regulated by different membrane-to-nucleus pathways. Inactivation of a basal-specific super-enhancer associated pathway reveals the existence of plasticity between subtypes. Thus, our study provides new insight into the epigenetic landscapes associated with the heterogeneity of PDAC, thereby increasing our mechanistic understanding of this disease, as well as offering potential new markers and therapeutic targets.

¹ Division of Research, Department of Surgery, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, Wisconsin 53226, USA. ² Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre Le Cancer, 14 rue Corvisart, Paris 75013, France. ³ Division of Biomedical Statistics and Informatics, Department of Health Science Research, Mayo Clinic, 200 First Street SW, Rochester, Minnesota 55905, USA. ⁴ Genomic Sciences and Precision Medicine Center, Medical College of Wisconsin, 8701 Watertown Plank Road, Milwaukee, Wisconsin 53226, USA. ⁵ Epigenomics Program, Center for Individualized Medicine, Mayo Clinic, 200 First Street SW, Rochester, Minnesota 55905, USA. ⁶ Department of Physiology and Biomedical Engineering, Mayo Clinic, 200 First Street SW, Rochester, MN 55905, USA. ⁷ Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille (CRCM), INSERM U1068, CNRS UMR 7258, Aix-Marseille Université and Institut Paoli-Calmettes, Parc Scientifique et Technologique de Luminy, 163 Avenue de Luminy, Marseille 13288, France. ⁸ Hôpital Nord, Chemin des Bourrelly, Marseille 13015, France. ⁹ Institut Paoli-Calmettes, 232 Boulevard Sainte Marguerite, Marseille 13009, France. ¹⁰ Hôpital de la Timone, 264 rue Saint-Pierre, Marseille 13385, France. These authors contributed equally: Gwen Lomberk, Yuna Blum, Rémy Nicolle. Correspondence and requests for materials should be addressed to G.L. (email: glomberk@mcw.edu) or to J.I. (email: juan.iovanna@inserm.fr) or to R.U. (email: urrutia@mcw.edu)

Annexe 10 :

Establishment of a pancreatic adenocarcinoma molecular gradient (PAMG) that predicts the clinical outcome of pancreatic cancer

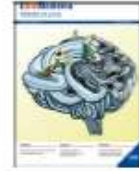
EBioMedicine 57 (2020) 102858



Contents lists available at ScienceDirect

EBioMedicine

journal homepage: www.elsevier.com/locate/ebiom



Research paper

Establishment of a pancreatic adenocarcinoma molecular gradient (PAMG) that predicts the clinical outcome of pancreatic cancer



Rémy Nicolle^{a,*}, Yuna Blum^{a,*}, Pauline Duconseil^{b,d}, Charles Vanbrugghe^{b,d}, Nicolas Brandone^b, Flora Poizat^{b,c}, Julie Roques^b, Martin Bigonnet^b, Odile Gayet^b, Marion Rubis^b, Nabila Elarouci^a, Lucile Armenoult^a, Mira Ayadi^a, Aurélien de Reyniès^a, Marc Giovannini^{b,c}, Philippe Grandval^{b,e}, Stéphane Garcia^{b,d}, Cindy Canivet^f, Jérôme Cros^g, Barbara Bournet^f, Vincent Moutardier^{b,d}, Marine Gilibert^{b,c}, Juan Iovanna^{b,*,#}, Nelson Dusetti^{b,*,#}, Louis Buscail^f, BACAP Consortium

^a Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France

^b Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, CRCM, Inserm, CNRS, Institut Paoli-Calmettes, Aix-Marseille Université, Marseille, France

^c Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France

^d Hôpital Nord, Marseille, France

^e Hôpital de la Timone, Marseille, France

^f Department of Gastroenterology and Pancreatology, CHU - Rangueil and University of Toulouse, Toulouse, France

^g Department of Digestive Oncology, Beaujon Hospital, Paris 7 University, APHP, Clichy, France

ARTICLE INFO

Article History:

Received 2 April 2020

Revised 9 June 2020

Accepted 11 June 2020

Available online xxx

Keywords:

Pancreatic cancer
Transcriptomic signature
Chemosensitivity prediction
Prognostic
Translational medicine
Precision medicine

ABSTRACT

Background: A significant gap in pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) patient's care is the lack of molecular parameters characterizing tumours and allowing a personalized treatment.

Methods: Patient-derived xenografts (PDX) were obtained from 76 consecutive PDAC and classified according to their histology into five groups. A PDAC molecular gradient (PAMG) was constructed from PDX transcriptomes recapitulating the five histological groups along a continuous gradient. The prognostic and predictive value for PAMG was evaluated in: i) two independent series (n = 598) of resected tumours; ii) 60 advanced tumours obtained by diagnostic EUS-guided biopsy needle flushing and iii) on 28 biopsies from mFOLFIRINOX treated metastatic tumours.

Findings: A unique transcriptomic signature (PAGM) was generated with significant and independent prognostic value. PAMG significantly improves the characterization of PDAC heterogeneity compared to non-overlapping classifications as validated in 4 independent series of tumours (e.g. 308 consecutive resected PDAC, uHR=0.321 95% CI [0.207–0.5] and 60 locally-advanced or metastatic PDAC, uHR=0.308 95% CI [0.113–0.836]). The PAMG signature is also associated with progression under mFOLFIRINOX treatment (Pearson correlation to tumour response: -0.67, p-value < 0.001).

Interpretation: PAMG unify all PDAC pre-existing classifications inducing a shift in the actual paradigm of binary classifications towards a better characterization in a gradient.

Funding: Project funding was provided by INCa (Grants number 2018–078 and 2018–079, BACAP BCB INCa_6294), Canceropole PACA, DGOS (labellisation SIRIC), Amidex Foundation, Fondation de France, INSERM and Ligue Contre le Cancer.

© 2020 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Introduction

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is one of the most aggressive gastrointestinal tumours. While activating mutations in *KRAS* are the most common genetic alterations¹, mutations in other driver genes such as *CDKN2A*, *TP53* or *SMAD4* are randomly associated to *KRAS* mutations, generating a heterogeneous genetic landscape between patients. However, these mutations do not predict

* Corresponding authors.

E-mail address:

* Denotes authors with equal contribution.

Denotes co-corresponding authors.

<https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2020.102858>

2352-3964/© 2020 The Author(s). Published by Elsevier B.V. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license. (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Annexe 11 :

A transcriptomic signature to predict gemcitabine sensitivity in pancreatic adenocarcinoma

Annals of Oncology



A transcriptomic signature to predict gemcitabine sensitivity in pancreatic adenocarcinoma

Journal:	<i>Annals of Oncology</i>
Manuscript ID	Draft
Article Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	<p>Nicolle, Remy; Ligue Nationale Contre Le Cancer, Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT) Gayet, Odile; CRCM, Translational Medecine DUCONSEIL, Pauline; CRCM, Translational Medecine; Hopital Nord, Pôle Maladies de l'appareil digestif Vanbrugghe, Charles; CRCM, Translational Medecine; Hopital Nord, Pôle Maladies de l'appareil digestif Roques, Julie; CRCM, Translational Medecine Bigonnet, Martin; CRCM, Translational Medecine Blum, Yuna; Ligue Nationale Contre Le Cancer, Cartes d'Identités Tumeurs®(CIT); Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre le Cancer Elarouci, Nabila; Ligue Nationale Contre Le Cancer, CIT Armenoult, Lucile; Ligue Nationale Contre Le Cancer, Tumour Identity Card program (CIT) Ayadi, Mira; Ligue Nationale Contre Le Cancer, CIT de Reyniès, Aurélien; Ligue Nationale Contre Le Cancer, Programme Cartes d'Identité des Tumeurs Puleo, Francesco; Erasmus Hospital, Gastroenterology-GI oncology Augustin, Jeremy; Hopitaux Universitaires Pitie Salpetriere-Charles Foix, Pathology Emile, Jean-François; Hôpital Ambroise Paré, Pathology SVRCEK, Magali; Hospital Saint-Antoine, Pathology; Sorbonne Université, Pathology Arsenijevic, Tatjana; Erasmus Hospital, Gastroenterology-GI oncology Hammel, Pascal; Hopital Beaujon, Service d'Oncologie Digestive Giovannini, Marc; Paoli-Calmettes Institute, Biopathology GRANDVAL, Philippe; Hôpitaux de la Timone, Pôle Maladies de l'appareil digestif Dahan, Laetitia; Hôpital de la Timone, Digestive oncology unit</p>

	<p>moutardier, vincent; Hopital Nord, surgical oncology Gilabert, Marine; Paoli-Calmettes Institute, Oncology Van Laethem, Jean-Luc; Erasmus Hospital, Gastroenterology-GI oncology Bachet, Jean-Baptiste; Hopitaux Universitaires Pitie Salpetriere-Charles Foix, Hepatogastroenterology Cros, Jerome; Hopital Bichat - Claude-Bernard, Pathology Iovanna, Juan; CRCM, Translational Medicine Duseti, Nelson; CRCM, Translational Medicine</p>
Keywords:	Pancreatic Cancer, Chemosensitivity, Transcriptomic signature
Abstract:	<p>Background Chemotherapy is the only systemic treatment approved for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) with a selection of regimens based on patients' performance status rather than expected efficacy. The establishment of a potent stratification associated with chemotherapeutic efficacy could potentially improve prognosis by tailoring treatments.</p> <p>Patients and Methods Concomitant chemosensitivity and genome-wide RNA profiles were performed on preclinical models (primary cell cultures and xenografts) derived from patients with PDAC included in the PaCaOmics program (ClinicalTrials.gov: NCT01692873). The RNA-based stratification was tested in a monocentric cohort and validated in a multicentric cohort, both retrospectively collected from resected PDAC samples (67 and 368 patients, respectively). Forty-three (65%) and 203 (55%) patients received adjuvant gemcitabine in the monocentric and the multicentric cohorts respectively. The relationship between predicted gemcitabine sensitivity and patients' overall survival (OS) and disease free survival (DFS) were investigated.</p> <p>Results The GemPred RNA signature was derived from preclinical models, defining gemcitabine sensitive PDAC as GemPred+. Among the patients who received gemcitabine in the test cohort, the GemPred+ patients had a higher OS than GemPred- ($p = 0.046$). In the validation cohort, the GemPred stratification was not associated with OS among patients that did not receive gemcitabine. Among gemcitabine treated-patients, GemPred+ patients had significantly higher OS than the GemPred- : 91.3 months (95% CI: 61.2-not reached) vs 33 months (95% CI: 24-35.2); HR 0.403 (95% CI: 0.221-0.735, $p = 0.00216$). The interaction test for gemcitabine and GemPred+ stratification was significant ($p = 0.0245$). Multivariate analysis in the gemcitabine-treated population retained an independent predictive value.</p> <p>Conclusion The RNA-based GemPred stratification predicts the benefit of adjuvant gemcitabine in PDAC patients.</p>

A transcriptomic signature to predict gemcitabine sensitivity in pancreatic adenocarcinoma

Rémy Nicolle¹ PhD, Odile Gayet² PhD, Pauline Duconseil^{2,3} MD PhD, Charles Vanbrugghe^{2,3} MD, Julie Roques², Martin Bigonnet², Yuna Blum¹ PhD, Nabila Elarouci¹ PhD, Lucile Armenoult¹ PhD, Mira Ayadi¹ PhD, Aurélien de Reyniès¹ PhD, Francesco Puleo⁴ MD PhD, Jeremy Augustin⁵ MD, Jean-Francois Emile⁶ MD PhD, Magali Svrcek⁵ MD, Tatjana Arsenijevic⁴ MD, Pascal Hammel⁷ MD PhD, Marc Giovannini^{2,8} MD, Philippe Grandval^{2,9} MD PhD, Laetitia Dahan^{2,9} MD PhD, Vincent Moutardier^{2,3} MD PhD, Marine Gilabert^{2,8} MD PhD, Jean Luc Van Laethem⁴ MD PhD, Jean Baptiste Bachet⁵ MD PhD, Jérôme Cros⁷ MD PhD, Juan Iovanna²⁺ MD PhD, Nelson J. Dusetti³⁺ PhD.

¹Programme Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT), Ligue Nationale Contre le Cancer, Paris, France.

²Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, CRCM, Inserm, CNRS, Institut Paoli-Calmettes, Aix-Marseille Université, Marseille, France.

³Hôpital Nord, Marseille, France.

⁴Laboratory of Experimental Gastroenterology, Université Libre de Bruxelles, Brussels, Belgium; Department of Gastroenterology and Digestive Oncology, Erasme Hospital, Brussels, Belgium.

⁵Sorbonne Université, UPMC Université, Department of Gastroenterology, Pitié-Salpêtrière Hospital, Paris, France.

⁶Hôpital Ambroise Paré, Boulogne, AP-HP, France.

⁷Department of Digestive Oncology, Beaujon Hospital, Paris 7 University, APHP, Clichy, France.

⁸Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France.

⁹Hôpital de la Timone, Marseille, France.

+ Denotes co-corresponding authors.

Running title: Gemcitabine sensitivity prediction in PDAC (*GemPred*)

Corresponding authors: Nelson Dusetti E-mail: nelson.dusetti@inserm.fr ; Juan Iovanna E-mail: juan.iovanna@inserm.fr

Abstract

Background

Chemotherapy is the only systemic treatment approved for pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) with a selection of regimens based on patients' performance status rather than expected efficacy. The establishment of a potent stratification associated with chemotherapeutic efficacy could potentially improve prognosis by tailoring treatments.

Patients and Methods

Concomitant chemosensitivity and genome-wide RNA profiles were performed on preclinical models (primary cell cultures and xenografts) derived from patients with PDAC included in the PaCaOmics program (ClinicalTrials.gov: NCT01692873). The RNA-based stratification was tested in a monocentric cohort and validated in a multicentric cohort, both retrospectively collected from resected PDAC samples (67 and 368 patients, respectively). Forty-three (65%) and 203 (55%) patients received adjuvant gemcitabine in the monocentric and the multicentric cohorts respectively. The relationship between predicted gemcitabine sensitivity and patients' overall survival (OS) and disease free survival (DFS) were investigated.

Results

The *GemPred* RNA signature was derived from preclinical models, defining gemcitabine sensitive PDAC as *GemPred+*. Among the patients who received gemcitabine in the test cohort, the *GemPred+* patients had a higher OS than *GemPred-* ($p = 0.046$). In the validation cohort, the *GemPred* stratification was not associated with OS among patients that did not receive gemcitabine. Among gemcitabine treated-patients, *GemPred+* patients had significantly higher OS than the *GemPred-*: 91.3 months (95% CI: 61.2-not reached) vs 33 months (95% CI: 24-35.2); HR 0.403 (95% CI: 0.221-0.735, $p = 0.00216$). The interaction test for gemcitabine and *GemPred+* stratification was significant ($p = 0.0245$). Multivariate analysis in the gemcitabine-treated population retained an independent predictive value.

Conclusion

The RNA-based *GemPred* stratification predicts the benefit of adjuvant gemcitabine in PDAC patients.

Introduction

Pancreatic ductal adenocarcinoma (PDAC) is the fourth leading cause of cancer-related mortality in western countries and bears one of the poorest prognoses with a five-year survival rate of 9%¹. In addition to frequent late-stage diagnosis, this dismal outcome can also be explained by the lack of effective therapies². Targeted therapies and immunotherapies have failed to improve unselected patients' outcomes, making chemotherapy the only effective systemic treatment³. Despite being a generally refractory cancer, it has been shown that the molecularly guided selection of small patient subgroups increased the efficacy for some therapies such as olaparib for patients with germline BRCA mutations⁴ (approximately 5% of patients) or immunotherapy⁵ for mismatch-repair deficient tumors (approximately 1% of patients). These studies demonstrate the advantage of molecular stratification for therapeutic decisions and introduce an incremental model for PDAC, solving one subgroup at a time.

For patients with excellent performance status, the polychemotherapy regimen FOLFIRINOX was shown to be more effective than gemcitabine alone in both the adjuvant⁶ and metastatic settings⁷ at the expense of high toxicities. The selection of systemic therapy is therefore based on patient's fitness rather than on the potential efficacy of a particular chemotherapeutic regimen. Companion diagnostics are used to guide the choice of therapy by selecting patients that have a higher chance of responding to a given therapeutic agent. With an ever-growing number of regimens composed of multiple chemotherapies, this has not only the potential to improve survival by matching drugs to likely responders, but also to reduce adverse effects by avoiding unnecessary highly toxic regimens⁸.

Gemcitabine is the preferred companion of nab-paclitaxel, another systemic therapy used as the first or second line in the advanced setting⁹. The AFUGEM study suggested that 5-FU could be equivalent to gemcitabine in association with nab-paclitaxel highlighting the need of gemcitabine/5-FU predictive biomarkers¹⁰. Furthermore, there is to date no upfront comparison of modified FOLFIRINOX and gemcitabine-nabpaclitaxel. It could be proposed that patients with homologous recombination deficiency are to be treated with platinum salt while for the others a gemcitabine efficacy predictive biomarker could help select the patients for the gemcitabine-nabpaclitaxel regimen.

In addition, gemcitabine remains to date the most effective monotherapy in PDAC with an estimated response rate of 10% to 23% in advanced patients^{7,11} and is often used in patients unfit for more aggressive therapies^{12,13}. Mostly based on gemcitabine metabolism, the association of single gene biomarkers with the response to gemcitabine has been demonstrated both at the level

of protein expression¹⁴ and genetic polymorphisms¹⁵ (reviewed in¹⁶). In particular, the nucleoside transporter hENT1 has been extensively studied and its protein expression was shown in multiple studies to be associated with gemcitabine sensitivity in PDAC^{14,17,18} as well as in other malignancies¹⁹. The stratification of patients by hENT1 expression, however, is hindered by the difficulty to robustly assess the protein's expression given the high discrepancies between available antibodies²⁰.

Multi-gene signatures based on RNA expression measurements have been shown to provide robust predictive tools in breast^{21,22} and prostate²³ cancer. In PDAC RNA signatures provide an in-depth description of tumor phenotypes with robust prognostic and suggested predictive value^{24,25}.

The purpose of this study was to establish an RNA-based signature predictive of gemcitabine sensitivity in PDAC relying on preclinical models, patient-derived primary cell cultures and xenografts, with concomitant genome-wide RNA profiles and gemcitabine sensitivity analyses. A robust statistical approach was then used to derive from these preclinical models a large-scale multigene signature predictive of gemcitabine sensitivity. This signature was finally tested in a monocentric cohort and validated in a large multicentric cohort of patients with resected PDAC.

Material and methods

The Reporting recommendations for tumor MARKer prognostic studies (REMARK) were followed²⁶.

***In vitro* models, chemo-sensitivity in primary cell cultures**

Thirty-eight primary cell cultures were derived from tumor samples as previously described^{27,28}. Patients' clinical data are detailed in Supplementary Table 1. Briefly, fresh PDAC samples were subcutaneously implanted in nude mice to generate patient derived xenografts (PDX). When PDX were grown, primary cell cultures were derived from them. All patients were included under the PaCaOmics clinical trial (ClinicalTrials.gov: NCT01692873) and tumor analyses were approved by the Paoli-Calmettes hospital ethics committee following patient informed consent. Animal experiments were approved by the local ethics committee and performed following the guidelines of our center (CRCM).

In vitro chemo-sensitivity tests were performed by growing each primary cell culture in triplicates with increasing concentrations of gemcitabine (from 0 to 1000 $\mu\text{mol/L}$) and measuring cell viability after 72h with PrestoBlue reagent (for details see supplementary methods). Each experiment was done in triplicate and repeated at least three times. The dose-response curve was defined by comparing the 72h cell viability level at each concentration point to the control and fitting a sigmoid using the GRmetrics package²⁹. The Area Under this dose-response curve (AUC) and the asymptotic or plateau effect (Einf) were used as primary measures of *in vitro* responses to gemcitabine. Plateau effect (Einf) and median efficacy (EC50) were used as measures of efficacy and potency respectively. The growth-corrected efficacy of gemcitabine on these primary cell cultures measured the cytotoxic effect at the maximal concentration. The transcriptomic profiles of these 38 primary cell cultures were obtained using standard PolyA enrichment and pair-end illumina sequencing.

***In vivo* models, chemo-sensitivity in patient-derived xenografts (PDX)**

Twelve patients were included in this study to derive PDX that were tested for drug chemo-sensitivity. Patients' clinical data are detailed in Supplementary Table 2. Each PDX corresponding to one patient was inoculated into 60 nude NMRI mice. The first 16 PDX for each patient that reached 200 mm³ were randomized for gemcitabine treatment (120 mg/kg every third day for four administrations in the tail vein, n = 8) or vehicle (NaCl 0.9% n = 8). Chemotherapy sensitivity was revealed by tumor growth monitoring between 51 and 155 days depending on tumor evolution. Tumor size was measured with a Vernier caliper twice weekly, and the tumor volume was

calculated with the equation $v = (\text{length}/\text{width}^2)/2$. The transcriptomic profiles of these 12 PDX were obtained using standard PolyA enrichment and pair-end Illumina sequencing. Only human transcripts (derived from cancerous cells and not from stroma) were analyzed in this study.

De novo gemcitabine sensitivity signature

The strategy used to derive the *GemPred* signature is outlined in Supplementary Figure 1 and detailed in the supplementary material and method. In essence, a dimensionality reduction method is used to derive RNA signatures defining candidate latent space from primary cell cultures RNA profiles. The latent space that best distinguishes cell proliferation and *in vivo* response to gemcitabine is selected and compared to PDX. Finally, a linear combination of both, proliferation and sensitivity RNA signatures, is used to select a threshold that best discriminates the primary cell cultures that are the most sensitive to gemcitabine (*i.e.* in which gemcitabine induces the highest cytotoxicity). The identified RNA signatures (proliferation and response) can be used on any genome-wide RNA profiling assay to project any new sample on each of these spaces. This approach was shown to give highly robust results and to score samples independently of technological considerations³⁰.

Patient cohorts of resected pancreatic adenocarcinoma

This study was approved by the institutional review board (2010/01NICB IRB:00003835) and included two patients cohorts of consecutive and unselected patients that underwent curative surgery for PDAC^{14,25}. Exclusion criteria were identical in both cohorts: preoperative chemotherapy or chemoradiotherapy, macroscopically incomplete resection, histology other than PDAC, and death due to postoperative complications within 30 days following surgery.

The first monocentric cohort, referred to as the test cohort, included 86 patients from a university center with expertise in the management of PDAC (Erasme, Bruxelles). Archived tissue could not be retrieved for 19 patients, making 67 assessable patients. RNA was extracted from archived specimens after manual macrodissection to enrich for neoplastic cells and profiled using Affymetrix HG-U219 microarrays.

The second cohort referred to as the validation multicentric cohort, included 385 patients from four French university centers with expertise in the management of PDAC. Archived tissue could not be retrieved for 7 patients and adjuvant treatment was not known for 10 patients, leaving 368 assessable patients. RNA was extracted from two cores of 1.5mm samples from tumor-enriched zones of archived specimens and profiled using either Affymetrix HG- U219 microarrays or Lexogen's QuantSeq 3' RNA-sequencing.

Each participating center maintains a prospective PDAC database, including patient demographics and clinical and pathological variables. An aggregated clinical database was created with standardized clinicopathological variables, including sex, age at diagnosis, preoperative assessment of clinical disease stage, tumor stage according to the Union for International Cancer Control, TNM classification, histologic grade, and relevant outcome parameters including Overall Survival (OS) and Disease-free Survival (DFS). DFS was not evaluated for all patients.

For Peer Review

Results

Patient-derived model populations

Thirty-eight PDAC samples were used in this work to produce PDAC primary cell cultures, 16 from resected tumors and 22 from endoscopic ultrasound (EUS)-guided biopsy (clinical characteristics in Supplementary Table 1). Gemcitabine *in vitro* response assays were performed on the primary cell cultures to determine their sensitivity using a dose-response approach. Gemcitabine showed a wide range of *in vitro* response, measured by the plateau effect on cell viability (Einf, median = 0.329; range [2.12e-8, 0.628]), as well as a wide range of potency (EC50, median = 0.0169 μ M; range [1.0e-5, 0.755]), on the collection of primary cell cultures. Twelve PDX were also generated and the *in vivo* tumor sensitivity to gemcitabine was assessed. Eleven tumors were obtained from surgical biopsies and one from an EUS-guided biopsy (clinical characteristics in Supplementary Table 2). Genome-wide RNA expression profiles were obtained on the 38 primary cultures and 12 PDX using RNA sequencing.

In order to both evaluate our study design and to test the possibility to use predictive biomarkers at the RNA-level, the association of the expression of genes previously linked with the *in vitro* gemcitabine response was tested. hENT1 and CDA were the only genes associated with an *in vitro* sensitivity (Supplementary Figure 2).

De novo RNA signatures of gemcitabine sensitivity with *in vivo* and *in vitro* models

Single-gene based biomarkers alone are insufficient to propose an effective stratification strategy to select highly gemcitabine-responsive patients²⁰. To define a robust multi-gene signature predicting gemcitabine sensitivity, we applied a procedure using the combination of *in vitro* gemcitabine response, estimated with dose-response curves of cell viability (Figure 1a), and whole-transcriptome profiling by RNA sequencing. Briefly, the strategy aims at the decomposition of the primary cell culture transcriptomic dataset into a set of independent RNA signatures (*i.e.* components derived from an Independent Component Analysis) in which distinct signatures are associated with *in vitro* gemcitabine response and with *in vitro* replication time as a measure of proliferation. This approach applied to the 38 primary cell culture uncovered two distinct RNA signatures, one associated with *in vitro* response to gemcitabine and one with *in vitro* proliferation (Figure 1b). The first was estimated by the area under the dose-response Curve (AUC), representing the overall *in vitro* response, as well as the plateau effect measuring the efficacy at high dosage. Figures 1c and d illustrate the association between the gemcitabine *in vitro* response RNA signature and the dose-response curves. In 12 PDX with both, transcriptomic profiles and the effect of gemcitabine treatment on tumor growth (Figure 1e), the gemcitabine *in vitro*

sensitivity signature was significantly correlated to the gemcitabine versus control difference on tumor growth (Pearson's $R = 0.618$, $p = 0.0319$). Finally, to obtain a more generalizable signature, we derived a linear combination of the proliferation and gemcitabine *in vitro* response signatures in order to be able to differentiate the cytotoxic and cytostatic *in vitro* response. The combined signature was associated with the growth-corrected efficacy, *i.e.* an estimate of cytotoxicity at high dosage. In association with a growth-corrected dose-response analysis of gemcitabine efficacy *in vitro*²⁹, a 20% cut-off of the combined signatures was identified as the threshold which best differentiated the group of primary cell culture in which gemcitabine had the highest cytotoxic efficacy (as opposed the cytostatic effect), thereby defining a subtype entitled *GemPred+* (Figure 1f).

Evaluation of the *GemPred* signature in a test cohort

The *GemPred* signature was first assessed in a monocentric test cohort of patients from the Erasme Hospital in Bruxelles (Belgium). A total of 67 assessable patients were included, all have had curative intent PDAC resection then 43 (64.2%) received a gemcitabine-based adjuvant treatment and 24 (35.8) did not (Figure 2a). There were no significant clinical differences between the whole cohort of patients ($n = 86$) and the subset of assessable patients ($n = 67$) for which RNA profiles were obtained (Supplementary Table 3). Patients that did not receive adjuvant gemcitabine were older but overall had similar characteristics (Figure 2b). The median follow-up was 72.1 months (95% CI: 33.2-not reached) and the median OS 21.0 months (95% CI: 16.4-26.8). Of the 43 patients that received gemcitabine, 7 (16%) were identified as *GemPred+*. The median OS was not reached for this group and the 5-year survival rate was 85.7% (95% CI: 63.3-100). The *GemPred-* patients treated by gemcitabine had a median OS rate of 24.3 months (95% CI: 17.9-42.5) and a 5-year survival rate of 18.5% (95% CI: 8.02-42.8) (Figure 2c). There was no significant difference between the *GemPred+* ($n = 6$) and *GemPred-* ($n = 18$) subgroups among the patients that did not receive adjuvant gemcitabine (Supplementary Figure 3).

Evaluation of the *GemPred* signature in a validation cohort

The *GemPred* signature was then assessed in a multicentric validation cohort of patients from four clinical centers in the Paris region (France). A total of 368 assessable patients were included, all of them had curative intent PDAC resection then 203 (55.2%) received a gemcitabine-based adjuvant treatment and 165 (44.8%) did not (Figure 3a). There were no significant clinical differences between the whole cohort of patients ($n = 385$) and the subset of assessable patients ($n = 368$) for which RNA profiles were obtained (Supplementary Table 4). Patients that did not

receive adjuvant gemcitabine were older, had less often positive lymph nodes and less frequent positive resection margins (Figure 3b). The median follow-up was 72 months (95% CI: 62.2-99.5) and the median OS was 33.2 months (95% CI: 30-36.1). Of the 203 patients that received gemcitabine, 34 (17%) were identified as *GemPred+*. These patients had a median OS of 91.3 months (95% CI: 61.2-not reached) and a 71.3% 5-year survival rate (95% CI: 56.2-90.4), while the 169 *GemPred-* patients had a median OS rate of 33 months (95% CI: 24-35.2) and a 5-year survival rate of 31.3% (95% CI: 24.1-40.8) (Figure 3c). Among patients that received adjuvant gemcitabine, *GemPred+* patients had significantly higher OS than *GemPred-* (HR 0.403, 95% CI: 0.221-0.735, $p = 0.0022$). There was no difference between the *GemPred+* and *GemPred-* subgroups among the patients that did not receive adjuvant gemcitabine nor between the *GemPred-* patients that did and did not receive adjuvant gemcitabine (Supplementary Figure 4).

Evaluation of the interaction between the GemPred signature and adjuvant gemcitabine

To increase statistical power and improve the relevance of multivariate analyses, the two cohorts were pooled resulting in a cohort of 435 patients, among which 246 (57%) have received adjuvant gemcitabine. Simultaneously stratifying by adjuvant gemcitabine and by the gemcitabine sensitivity signature *GemPred* resulted in four groups (Figure 4a): *GemPred-* with ($n = 205$) or without ($n = 145$) adjuvant gemcitabine had respectively a median OS of 31.7 and 23.7 months (95% CI: 24-34.2 and 18.4-34.9) as well as a 29.1% and 27.1% 5-year survival rate (95% CI: 22.6-37.5 and 20.5-35.9), *GemPred+* without adjuvant gemcitabine ($n = 44$) had a median OS of 31.4 months (95% CI: 21-43.1) and a 26.7% 5-year survival rate (95% CI: 15.4-46.3) while the *GemPred+* subgroup of patients who received gemcitabine ($n = 41$) had a median OS of 91.3 months (95% CI: 63.1-not reached) and a 72.5% 5-year survival rate (95% CI: 58.5-89.8). Disease-free survival showed similar results (Figure 4b). Overall, the *GemPred+* patients that received adjuvant gemcitabine had significantly longer overall survival than any other subgroups (Figure 4c). In a Cox proportional hazards regression model including an interaction term, a significant interaction was found between adjuvant gemcitabine and the *GemPred+* stratification (HR 0.444, 95% CI: 0.219-0.901, $p = 0.0245$), indicating an effective predictor of response to adjuvant gemcitabine (Figure 4d).

Multivariate analysis of the GemPred signature

A multivariate analysis of OS among patients that have received adjuvant gemcitabine in the pooled cohort showed that *GemPred+* was a predictor of overall survival independently of clinicopathological features (Figure 5). The same result was obtained on disease-free survival

(Supplementary Figure 5). Similarly, the *GemPred+* classification remained highly associated with OS among patients that had received gemcitabine independently of the RNA levels of genes previously described to be associated with response to gemcitabine, including DCK, hENT1 and CDA (Supplementary Figure 6).

For Peer Review

Discussion

The practice of oncology continually faces the challenge of matching the right therapeutic regimen to the right individual, balancing risks with expected benefits to achieve the most favorable outcome. Relying on tumor molecular profiles to personalize treatments is a major challenge in oncology that until now, mostly focused on the identification of - often rare - actionable mutations. The transcriptome, i.e. the genome-wide quantification of RNA, has an frequently overlooked potential to assess efficient phenotypic signatures as demonstrated by clinically implemented assays of risk stratifications such as PAM50³¹, MammaPrint³², Oncotype Dx Breast²¹ or Oncotype Dx Colon³³. More importantly than predicting recurrence risks, RNA may be expected to predict the sensitivity to therapies with no specifically known targets, such as chemotherapy.

In this work, we present *GemPred*, an RNA-based whole transcriptome signature predicting sensitivity to gemcitabine for patients with PDAC. The predictive value of the *GemPred* signature to gemcitabine was first tested in a monocentric cohort then validated in a multicentric cohort. The *GemPred* signature had a significant predictive value in the subgroup of patients who received adjuvant gemcitabine and had no prognostic value in the subgroup of patients who did not.

In PDAC, actionable mutations can be identified in up to 30% of patients^{34,35} and result in increased survival when matched therapies can be administered³⁶. These studies, which include RNA profiling for gene-fusion detection, demonstrate the feasibility of successfully profiling PDAC biopsies to adopt or modify a course of treatment in a reasonable timeframe. The *GemPred* signature takes advantage of genome-wide RNA profiles to stratify tumors into sensitive or resistant to gemcitabine. An important point was that the genome-wide RNA profiles in this study were obtained from routine FFPE samples with an overall low cost, supporting a wide application of the *GemPred* signature. It should also be noted that while the signature was developed on tumor cells, it performed well on more complex samples such as surgical specimens that have abundant stroma suggesting that it will also work on biopsies.

Despite the use of more effective yet more toxic polychemotherapies, gemcitabine is still one of the recommended monotherapy for PDAC³⁷, one of the standard metastatic first-line regimens combined with nab-paclitaxel⁹, and the backbone of most therapeutic combinations in development³⁸⁻⁴⁰. The selection of the best option between a gemcitabine-based or non-gemcitabine-based regimen is still often undetermined. For instance, in an adjuvant setting, it was shown that bolus fluorouracil plus folinic acid had similar efficacy than gemcitabine, and one could suggest that it is also true in advanced patients unfit for aggressive combinations⁴¹. Similarly, nab-paclitaxel in metastatic patients was shown to be effective with either 5-FU or gemcitabine¹⁰. The

availability of a potent predictor of gemcitabine efficacy would allow to select the most relevant regimen. The *GemPred* stratification is an RNA-based assay able to identify a subgroup of *GemPred+* patients who have a good chance to be cured with the use of adjuvant gemcitabine with 76.1% three-year OS (CI: 95% 62.8-92.2, n = 41). In comparison to the 63.4% three-year OS observed with mFOLFIRINOX⁶, *GemPred+* patients may get a similar outcome with gemcitabine-based regimens with lower toxicity profiles. It may be expected that with such a favorable benefit, *GemPred+* patients are better suited for less toxic gemcitabine-based regimens than for heavier systemic treatments such as modified FOLFIRINOX, especially if they have no deficiency in the homologous recombination DNA repair system. In these particular patients with *GemPred+* and homologous recombination, the gemcitabine-oxaliplatin might be a very efficient combination⁴². Despite a large number of patients and the absence of patient selection bias due to the selection of all consecutive patients of all participating clinical centers, the main limitation of this work is the retrospective nature of the cohorts. It would be of high interest to assess the predictive value of the *GemPred* signature in patients included in the PRODIGE24 phase 3 randomised trial that compared mFOLFIRINOX to gemcitabine in adjuvant⁶.

In addition, this work entails further investigations to expand its applicability. In particular, we demonstrated the *GemPred* predictive value in an adjuvant setting, it is yet to be demonstrated that it may be useful in a neoadjuvant/induction context or for locally advanced/metastatic patients. Simultaneous molecular profiling of PDAC primary tumors and metastasis of the same patients have shown their broad molecular similarity^{43,44}, suggesting the *GemPred* stratification could preserve its relevance in metastatic samples. Another limitation of this work is that it does not evaluate the *GemPred* signature on gemcitabine used in combination with other drugs, in particular with nab-paclitaxel. It was demonstrated that most combination therapies in oncology lack drug synergy and benefit on a cohort level by benefiting different patient populations⁴⁵, suggesting that the *GemPred* signature is likely to be associated with the response to gemcitabine-based therapeutic combinations.

Acknowledgments

This work is part of the national program Cartes d'Identité des Tumeurs (CIT) funded and developed by the Ligue Nationale Contre le Cancer. This work was supported by INCa (Grants number 2018-078 and 2018-079), Canceropole PACA, DGOS (labellisation SIRIC), Amidex Foundation, Fondation de France and INSERM.

Conflicts of interest

The authors declare no competing financial interests

Author contributions

Conception and design: Nelson Duseti, Rémy Nicolle and Juan Iovanna

Provision of study materials or patients: Pauline Duconseil, Charles Vanbrugghe, Francesco Puleo, Jeremy Augustin, Jean-Francois Emile, Magali Svrcek, Tatjana Arsenijevic, Pascal Hammel, Marc Giovannini, Philippe Grandval, Laetitia Dahan, Vincent Moutardier, Marine Gilabert, Jean Luc Laethem, Jean Batiste Bachet, Jérôme Cros.

Primary cell culture and PDX establishment: Odile Gayet, Pauline Duconseil, Charles Vanbrugghe, Julie Roques, Martin Bigonnet.

Chemograms and *in vivo* studies: Odile Gayet, Pauline Duconseil, Charles Vanbrugghe, Martin Bigonnet.

Collection and assembly of data: Rémy Nicolle, Julie Roques, Yuna Blum, Nabila Elarouci, Lucile Armenoult, Mira Ayadi, Aurélien de Reyniès, Jérôme Cros.

Data analysis and interpretation: Rémy Nicolle, Nelson Duseti, Yuna Blum and Juan Iovanna.

Manuscript writing: Nelson Duseti, Rémy Nicolle and Juan Iovanna

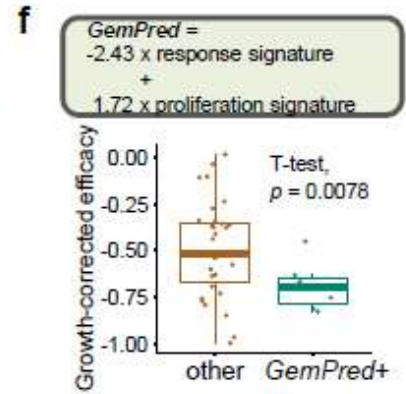
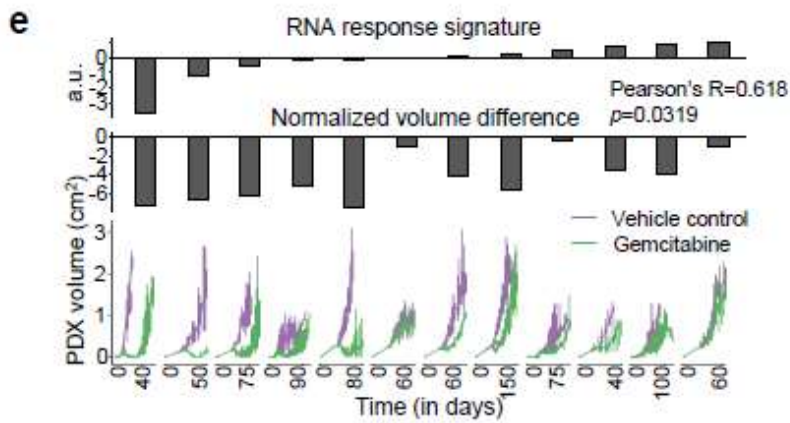
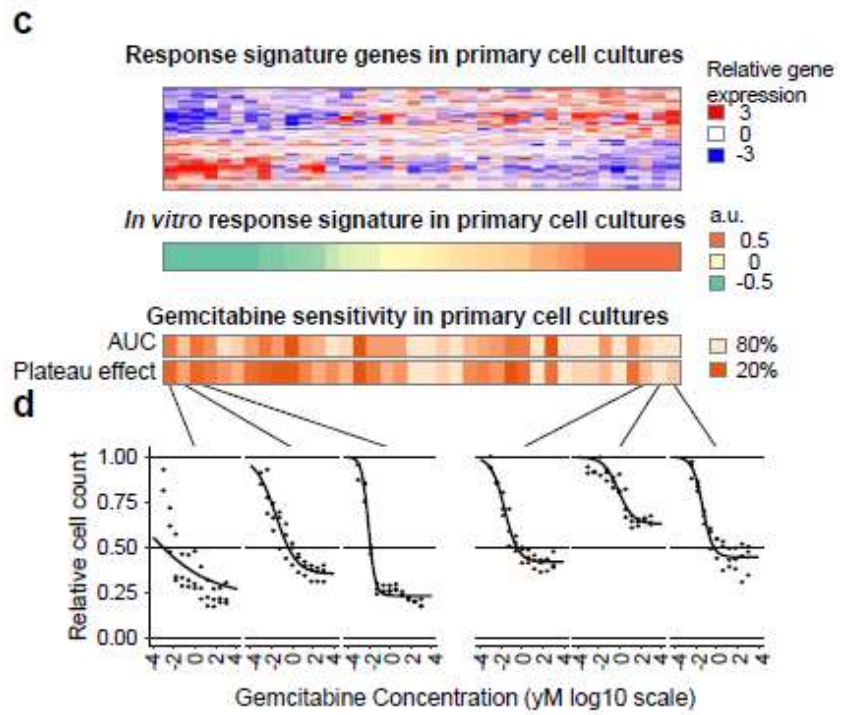
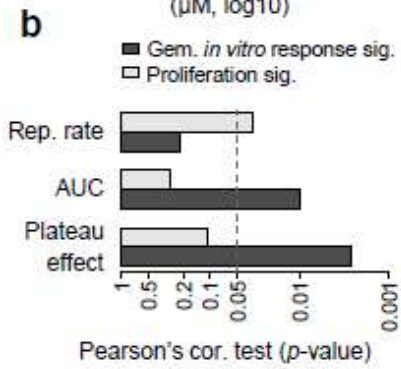
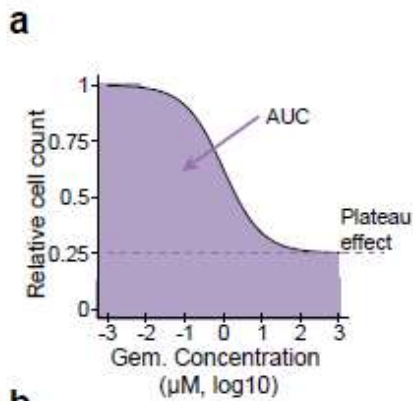
Final approval of manuscript: All Authors

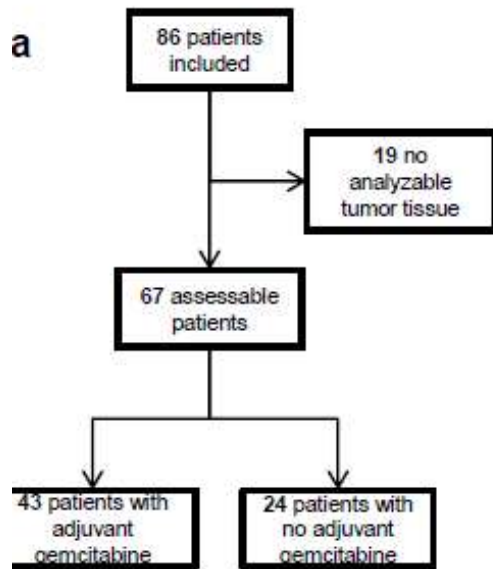
References

1. Rawla P, Sunkara T, Gaduputi V. Epidemiology of Pancreatic Cancer: Global Trends, Etiology and Risk Factors. *World Journal of Oncology*. 2019;10(1):10-27. doi:10.14740/wjon1166
2. Kamisawa T, Wood LD, Itoi T, Takaori K. Pancreatic cancer. *The Lancet*. 2016;388(10039):73-85. doi:10.1016/S0140-6736(16)00141-0
3. Neoptolemos JP, Kleeff J, Michl P, Costello E, Greenhalf W, Palmer DH. Therapeutic developments in pancreatic cancer: current and future perspectives. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2018;15(6):333-348. doi:10.1038/s41575-018-0005-x
4. Golan T, Hammel P, Reni M, et al. Maintenance Olaparib for Germline *BRCA* -Mutated Metastatic Pancreatic Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2019;381(4):317-327. doi:10.1056/NEJMoa1903387
5. Marabelle A, Le DT, Ascierto PA, et al. Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair–Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *JCO*. 2020;38(1):1-10. doi:10.1200/JCO.19.02105
6. Conroy T, Hammel P, Hebbar M, et al. FOLFIRINOX or Gemcitabine as Adjuvant Therapy for Pancreatic Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018;379(25):2395-2406. doi:10.1056/NEJMoa1809775
7. Conroy T, Desseigne F, Ychou M, et al. FOLFIRINOX versus Gemcitabine for Metastatic Pancreatic Cancer. *N Engl J Med*. 2011;364(19):1817-1825. doi:10.1056/NEJMoa1011923
8. Costello E, Greenhalf W, Neoptolemos JP. New biomarkers and targets in pancreatic cancer and their application to treatment. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*. 2012;9(8):435-444. doi:10.1038/nrgastro.2012.119
9. Von Hoff DD, Ervin T, Arena FP, et al. Increased Survival in Pancreatic Cancer with nab-Paclitaxel plus Gemcitabine. *New England Journal of Medicine*. 2013;369(18):1691-1703. doi:10.1056/NEJMoa1304369
10. Bachet J-B, Hammel P, Desramé J, et al. Nab-paclitaxel plus either gemcitabine or simplified leucovorin and fluorouracil as first-line therapy for metastatic pancreatic adenocarcinoma (AFUGEM GERCOR): a non-comparative, multicentre, open-label, randomised phase 2 trial. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2017;2(5):337-346. doi:10.1016/S2468-1253(17)30046-8
11. Burris HA, Moore MJ, Andersen J, et al. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *JCO*. 1997;15(6):2403-2413. doi:10.1200/JCO.1997.15.6.2403
12. Oettle H, Post S, Neuhaus P, et al. Adjuvant Chemotherapy With Gemcitabine vs Observation in Patients Undergoing Curative-Intent Resection of Pancreatic Cancer: A Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 2007;297(3):267. doi:10.1001/jama.297.3.267

13. Oettle H, Neuhaus P, Hochhaus A, et al. Adjuvant Chemotherapy With Gemcitabine and Long-term Outcomes Among Patients With Resected Pancreatic Cancer: The CONKO-001 Randomized Trial. *JAMA*. 2013;310(14):1473. doi:10.1001/jama.2013.279201
14. Maréchal R, Bachet J, Mackey JR, et al. Levels of Gemcitabine Transport and Metabolism Proteins Predict Survival Times of Patients Treated With Gemcitabine for Pancreatic Adenocarcinoma. *Gastroenterology*. 2012;143(3):664-674.e6. doi:10.1053/j.gastro.2012.06.006
15. Lee S-Y, Im S-A, Park YH, et al. Genetic polymorphisms of SLC28A3, SLC29A1 and RRM1 predict clinical outcome in patients with metastatic breast cancer receiving gemcitabine plus paclitaxel chemotherapy. *European Journal of Cancer*. 2014;50(4):698-705. doi:10.1016/j.ejca.2013.11.028
16. Amrutkar M, Gladhaug I. Pancreatic Cancer Chemoresistance to Gemcitabine. *Cancers*. 2017;9(12):157. doi:10.3390/cancers9110157
17. Nordh S. hENT1 expression is predictive of gemcitabine outcome in pancreatic cancer: A systematic review. *World Journal of Gastroenterology*. 2014;20(26):8482. doi:10.3748/wjg.v20.i26.8482
18. Greenhalf W, Ghaneh P, Neoptolemos JP, et al. Pancreatic Cancer hENT1 Expression and Survival From Gemcitabine in Patients From the ESPAC-3 Trial. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*. 2014;106(1). doi:10.1093/jnci/djt347
19. Borbath I, Verbrugge L, Lai R, et al. Human equilibrative nucleoside transporter 1 (hENT1) expression is a potential predictive tool for response to gemcitabine in patients with advanced cholangiocarcinoma. *European Journal of Cancer*. 2012;48(7):990-996. doi:10.1016/j.ejca.2011.11.006
20. Raffenne J, Nicolle R, Puleo F, et al. hENT1 Testing in Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: Are We Ready? A Multimodal Evaluation of hENT1 Status. *Cancers*. 2019;11(11):1808. doi:10.3390/cancers11111808
21. Sparano JA, Gray RJ, Makower DF, et al. Adjuvant Chemotherapy Guided by a 21-Gene Expression Assay in Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2018;379(2):111-121. doi:10.1056/NEJMoa1804710
22. Cardoso F, van't Veer LJ, Bogaerts J, et al. 70-Gene Signature as an Aid to Treatment Decisions in Early-Stage Breast Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2016;375(8):717-729. doi:10.1056/NEJMoa1602253
23. Zhao SG, Chang SL, Spratt DE, et al. Development and validation of a 24-gene predictor of response to postoperative radiotherapy in prostate cancer: a matched, retrospective analysis. *The Lancet Oncology*. 2016;17(11):1612-1620. doi:10.1016/S1473-0245(16)30491-0
24. Rashid NU, Peng XL, Jin C, et al. Purity Independent Subtyping of Tumors (PurIST), A Clinically Robust, Single-sample Classifier for Tumor Subtyping in Pancreatic Cancer. *Clin Cancer Res*. Published online November 21, 2019:1078-0432.CCR-19-1467. doi:10.1158/1078-0432.CCR-19-1467

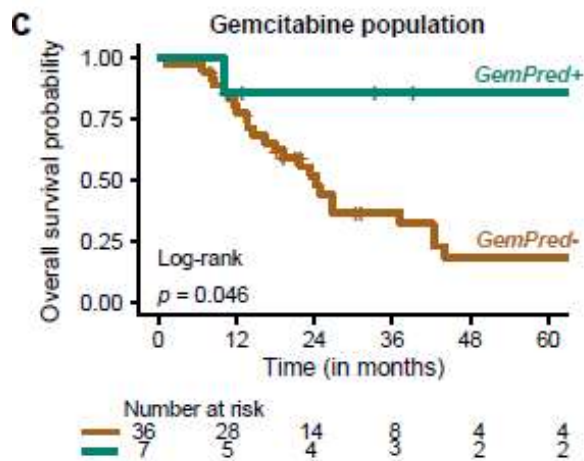
37. Khorana AA, McKernin SE, Berlin J, et al. Potentially Curable Pancreatic Adenocarcinoma: ASCO Clinical Practice Guideline Update. *Journal of Clinical Oncology*. 2019;37(23):2082-2088. doi:10.1200/JCO.19.00946
38. Philip PA, Benedetti J, Corless CL, et al. Phase III Study Comparing Gemcitabine Plus Cetuximab Versus Gemcitabine in Patients With Advanced Pancreatic Adenocarcinoma: Southwest Oncology Group–Directed Intergroup Trial S0205. *Journal of Clinical Oncology*. 2010;28(22):3605-3610. doi:10.1200/JCO.2009.25.7550
39. Sinn M, Bahra M, Liersch T, et al. CONKO-005: Adjuvant Chemotherapy With Gemcitabine Plus Erlotinib Versus Gemcitabine Alone in Patients After R0 Resection of Pancreatic Cancer: A Multicenter Randomized Phase III Trial. *Journal of Clinical Oncology*. 2017;35(29):3330-3337. doi:10.1200/JCO.2017.72.6463
40. Karasic TB, O'Hara MH, Loaiza-Bonilla A, et al. Effect of Gemcitabine and nab-Paclitaxel With or Without Hydroxychloroquine on Patients With Advanced Pancreatic Cancer: A Phase 2 Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncology*. 2019;5(7):993. doi:10.1001/jamaoncol.2019.0684
41. Neoptolemos JP, Stocken DD, Bassi C, et al. Adjuvant Chemotherapy With Fluorouracil Plus Folinic Acid vs Gemcitabine Following Pancreatic Cancer Resection: A Randomized Controlled Trial. *JAMA*. 2010;304(10):1073. doi:10.1001/jama.2010.1275
42. O'Reilly EM, Perelshteyn A, Jamagin WR, et al. A Single-Arm, Nonrandomized Phase II Trial of Neoadjuvant Gemcitabine and Oxaliplatin in Patients With Resectable Pancreas Adenocarcinoma: *Annals of Surgery*. 2014;260(1):142-148. doi:10.1097/SLA.0000000000000251
43. Connor AA, Denroche RE, Jang GH, et al. Integration of Genomic and Transcriptional Features in Pancreatic Cancer Reveals Increased Cell Cycle Progression in Metastases. *Cancer Cell*. 2019;35(2):267-282.e7. doi:10.1016/j.ccell.2018.12.010
44. Makohon-Moore AP, Zhang M, Reiter JG, et al. Limited heterogeneity of known driver gene mutations among the metastases of individual patients with pancreatic cancer. *Nature Genetics*. 2017;49(3):358-366. doi:10.1038/ng.3764
45. Palmer AC, Sorger PK. Combination Cancer Therapy Can Confer Benefit via Patient-to-Patient Variability without Drug Additivity or Synergy. *Cell*. 2017;171(7):1678-1691.e13. doi:10.1016/j.cell.2017.11.009

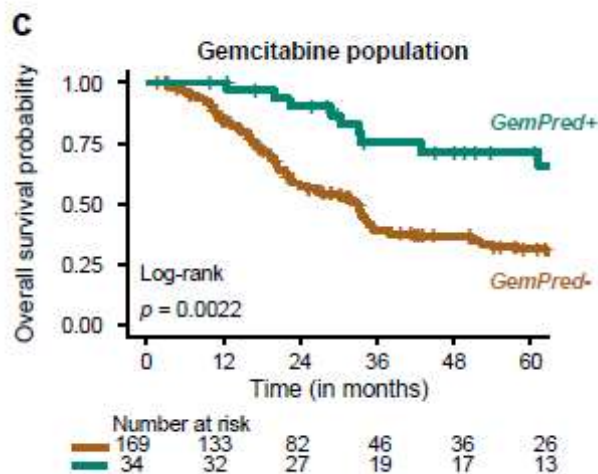
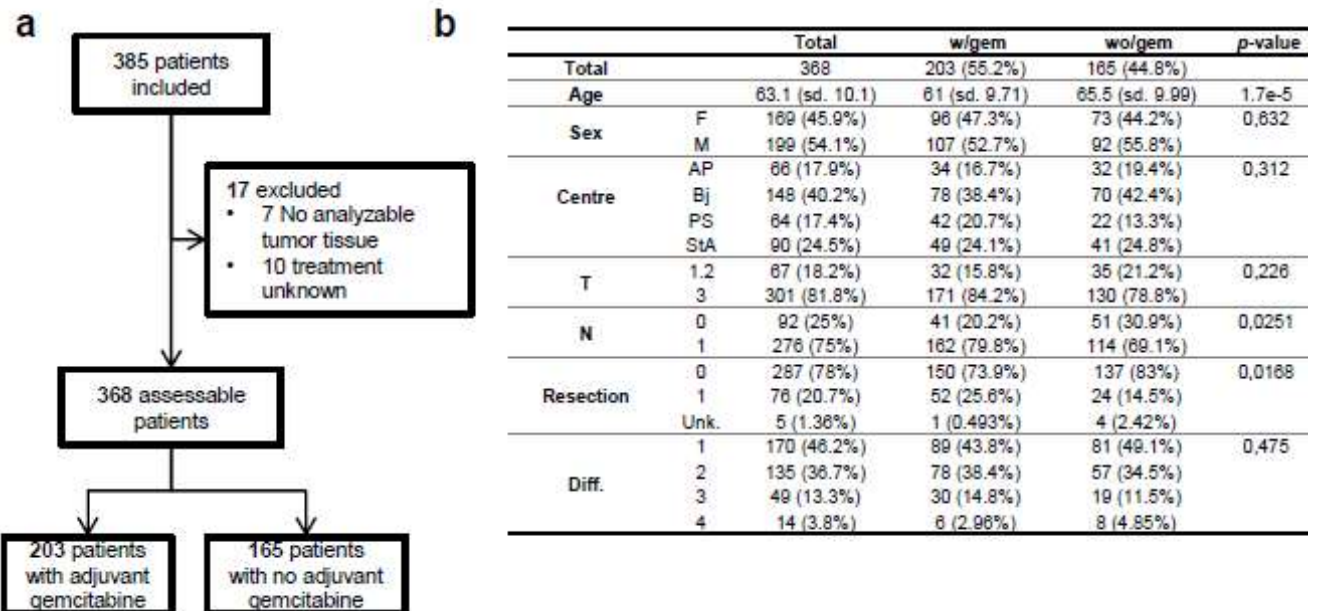




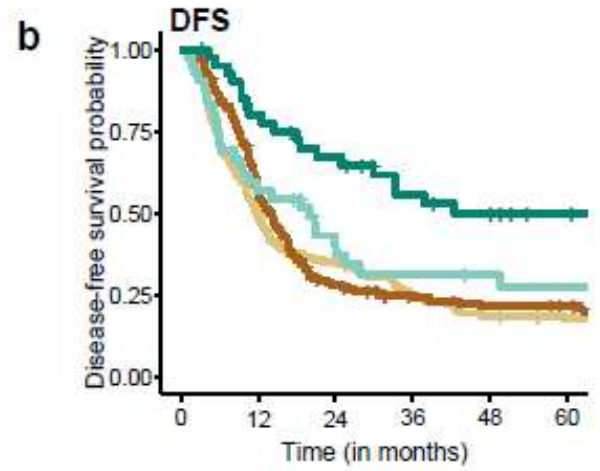
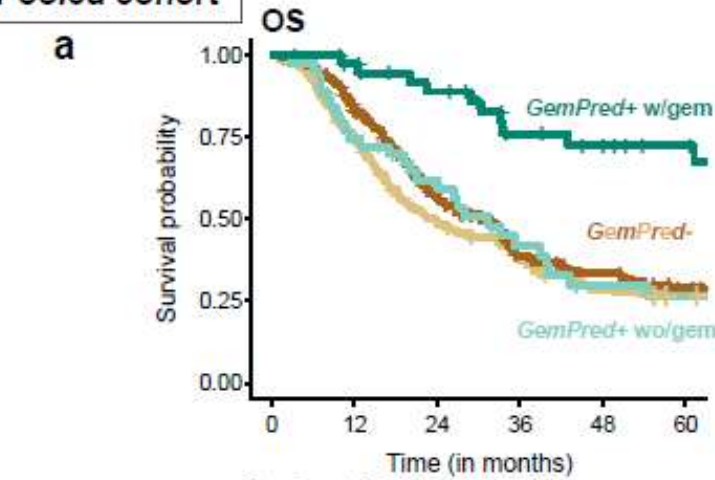
b

		Total	w/gem.	wo/gem.	p-value
Total		67	43 (64.2%)	24 (35.8%)	
Age		64 (sd. 10.7)	61.6 (sd. 10.2)	68.1 (sd. 10.5)	0.0167
Sex	F	27 (40.3%)	18 (41.9%)	9 (37.5%)	0.929
	M	40 (59.7%)	25 (58.1%)	15 (62.5%)	
T	1.2	9 (13.4%)	7 (16.3%)	2 (8.33%)	0.589
	3	58 (86.6%)	36 (83.7%)	22 (91.7%)	
N	0	21 (31.3%)	15 (34.9%)	6 (25%)	0.574
	1	46 (68.7%)	28 (65.1%)	18 (75%)	
Resection	0	59 (88.1%)	37 (86%)	22 (91.7%)	0.774
	1	8 (11.9%)	6 (14%)	2 (8.33%)	
Diff.	1	15 (22.4%)	11 (25.6%)	4 (16.7%)	0.251
	2	37 (55.2%)	25 (58.1%)	12 (50%)	
	3	15 (22.4%)	7 (16.3%)	8 (33.3%)	
	4	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	





Pooled cohort



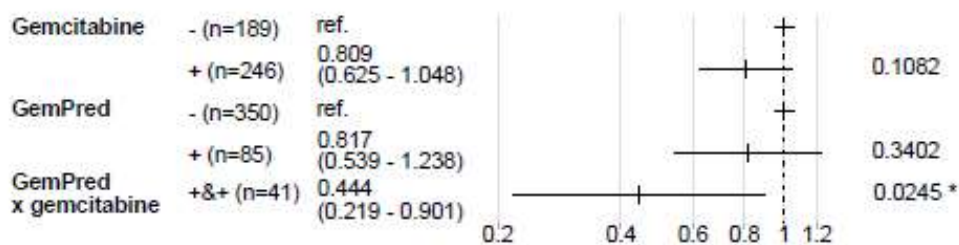
	Number at risk					
	0	12	24	36	48	60
<i>GemPred-</i> wo/gem	145	107	66	49	36	29
<i>GemPred-</i> w/gem	205	161	96	54	40	30
<i>GemPred+</i> wo/gem	44	32	23	14	9	8
<i>GemPred+</i> w/gem	41	37	31	22	19	15

	Number at risk					
	0	12	24	36	48	60
<i>GemPred-</i> wo/gem	141	69	49	33	25	21
<i>GemPred-</i> w/gem	195	107	47	36	30	28
<i>GemPred+</i> wo/gem	42	23	15	10	9	8
<i>GemPred+</i> w/gem	41	32	26	19	16	12

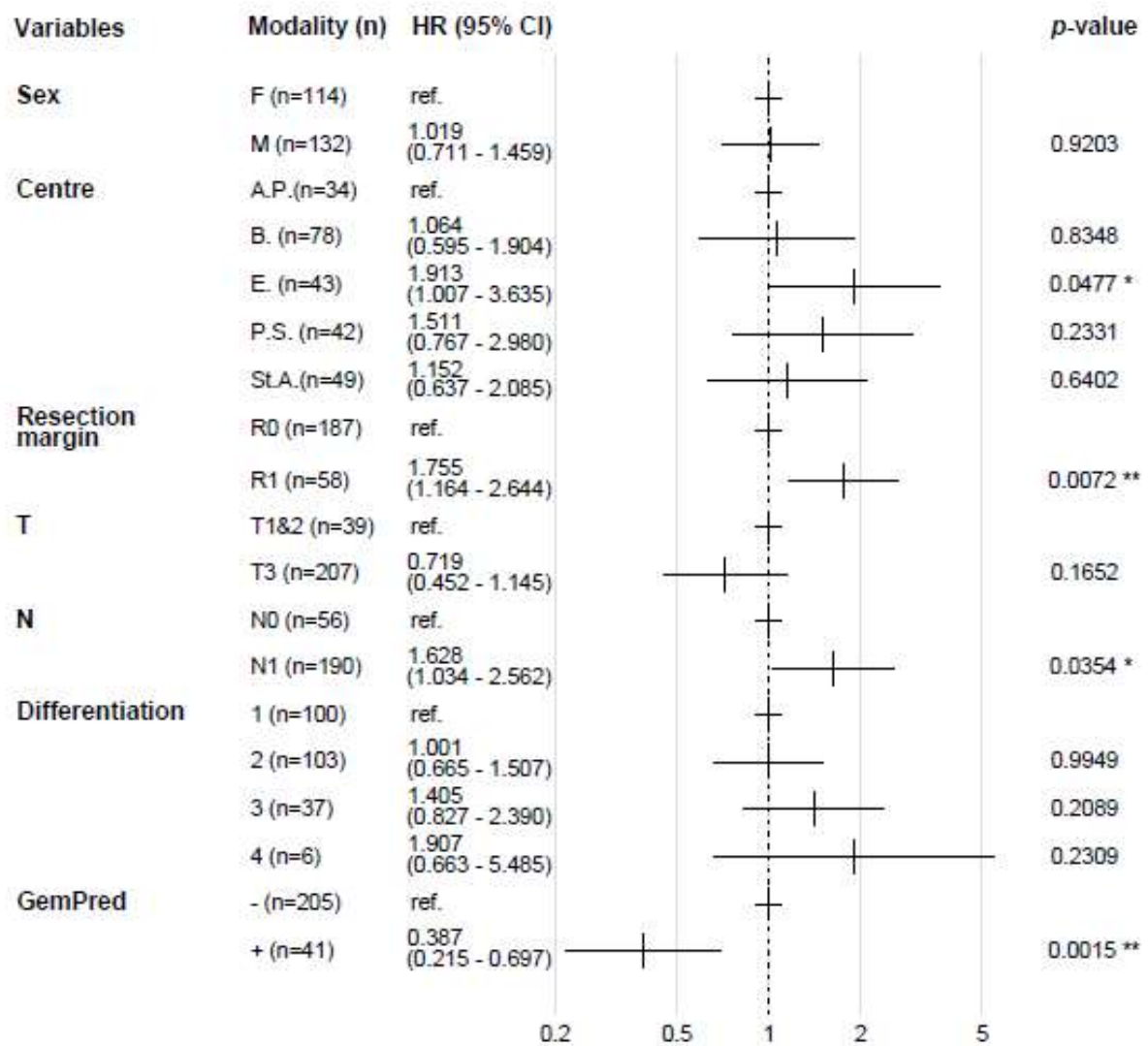
c

reference	versus	Log-rank p-value	HR (95% CI)
<i>GemPred+</i> w/gem (n=41)	Other (n=394)	4.93 [*] -5	0.333 (0.191-0.582)
<i>GemPred+</i> w/gem (n=41)	<i>GemPred+</i> wo/gem (n=44)	1.05 [*] -3	0.348 (0.18-0.673)
<i>GemPred+</i> w/gem (n=41)	<i>GemPred-</i> w/gem (n=205)	2.12 [*] -4	0.355 (0.2-0.629)

d



Pooled cohort



SERMENT D'HIPPOCRATE

Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.

