



HAL
open science

Analyses moléculaires de sarcomes avancés : recherche de facteurs pronostics et prédictifs en marge de deux essais de médecine de précision (ProfiLER et MOSCATO)

Elise Nassif

► To cite this version:

Elise Nassif. Analyses moléculaires de sarcomes avancés : recherche de facteurs pronostics et prédictifs en marge de deux essais de médecine de précision (ProfiLER et MOSCATO). Médecine humaine et pathologie. 2020. dumas-04548387

HAL Id: dumas-04548387

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04548387v1>

Submitted on 16 Apr 2024

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.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial - NoDerivatives 4.0 International License

AVERTISSEMENT

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'État de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

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

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

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

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

UNIVERSITÉ DE PARIS

Faculté de Santé

UFR de Médecine

Année 2020

N°

THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Présentée et soutenue publiquement le : 28 octobre 2020

Par

Elise NASSIF

**Analyses moléculaires de sarcomes avancés : recherche de facteurs
pronostics et prédictifs en marge de deux essais de médecine de
précision (ProfiLER et MOSCATO)**

Dirigée par Mme la Docteure Armelle Dufresne

JURY

M. le Professeur Jean-Yves Blay, PU-PH

Mme la Docteure Armelle Dufresne, Praticien spécialiste CLCC

M. le Professeur Christophe Massard, PU-PH

Mme la Professeure Isabelle Ray-Coquard, PU-PH

M. le Docteur Axel Le Cesne, Praticien spécialiste CLCC

M. le Docteur Mehdi Brahmi, Praticien spécialiste CLCC

Président

Directrice

Membre du jury

Membre du jury

Membre du jury

Membre du jury

Remerciements

A ma Directrice de Thèse, Madame la Docteure Armelle DUFRESNE

Merci pour ta disponibilité, ton temps et tes conseils. Merci d'avoir fait de ce travail quelque chose de cohérent et d'original, par ton exigence et ta rigueur. Tu as été d'une grande aide et un vrai soutien pour ce passage important dans ma vie de médecin !

Au Président du Jury, Monsieur le Pr Jean-Yves BLAY

Merci d'être, à tous points de vue, un professeur exceptionnel : pédagogue, inspirant, optimiste et patient. Merci d'avoir accepté de présider le jury de cette thèse, merci d'avoir accepté de diriger la prochaine. Merci d'être toujours de bon conseil sur le plan scientifique mais également plus global.

A Monsieur le Professeur Axel LE CESNE

MERCI infiniment de m'avoir guidée sur cette voie, de m'avoir toujours accompagnée dans toutes mes décisions professionnelles, d'être toujours à l'écoute, toujours disponible, accueillant et bienveillant. Merci de croire en moi. Je suis extrêmement chanceuse de vous avoir !

A Monsieur le Professeur Christophe MASSARD

Merci pour ta bienveillance et ton soutien, constants et stables. Merci de la confiance dont tu me fais preuve pour l'avenir. Ton sens de la cohésion d'équipe et de la solidarité font du DITEP une vraie petite famille, où il fait bon travailler.

A Madame la Professeure Isabelle RAY-COQUARD

Merci pour vos conseils et votre écoute, tout au long du semestre au CLB. Merci d'avoir accepté de juger ce travail et de m'avoir aidée à pouvoir mettre en place ma prochaine thèse.

A Monsieur le Docteur Mehdi BRAHMI

Sans nul doute un des médecins qui m'a le plus appris sur les sarcomes : toujours de bonne humeur, toujours pédagogue, toujours patient. Merci pour tout ce que tu m'as appris pendant ces 7 mois au CLB.

Aux autres Professeurs de l'internat, pour le temps passé auprès des internes et leurs pédagogies : Professeur Karim FIZAZI, Professeur Benjamin BESSE, Professeur Eric TARTOUR, Professeur Stéphane OUDARD, Professeur Hervé FRIDMANN, Pr Christophe TOURNIGAND.

A Monsieur le Docteur Edouard AUCLIN

Merci pour ton aide sur ce projet, qui a été inestimable ! Merci de ta gentillesse et de ta disponibilité.

« Pour apprécier la joie à sa pleine mesure, il faut quelqu'un avec qui la partager. »

- *Mark Twain*

A ma famille, mon éternel soutien.

A mes parents, pour leur amour aveugle. Merci d'avoir fait de notre famille, un cocon uni, face à tout, qui est ma plus grande force. A ma maman, pour son écoute, sa bienveillance, sa patience, sa résilience et notre complicité naturelle. Merci de me supporter dans mes pires moments et d'être toujours une oreille attentive. A mon papa, exigeant, qui croit en moi plus que la principale intéressée. Merci de me pousser et de me soutenir dans tous mes projets. Grâce à vous, rien n'est impossible !

A ma petite sœur adorée, ma Lulu, qui est devenue une magnifique jeune femme rayonnante. Ces 22 années à te voir grandir n'ont été que du bonheur ! A tous nos moments partagés !

A ma grande-sœur, Hélène, son mari David, et notre magnifique petit Mathis !!! Loin des yeux, tout près du cœur.

A mes cousins, à notre solidarité, à votre soutien, à nos caractères explosifs qui rendent la vie moins ennuyante.

A mon oncle et ma tante, Sophie et Christophe, qui ont toujours su être présents, toujours à l'écoute.

A mes amis, une petite famille que l'on se choisit.

A Maya, à notre amitié fusionnelle. Ma plus belle rencontre. A toutes ces soirées, toutes ces vacances, tous ces week-ends ensemble ! La vie avec toi est plus stimulante !

A Thomas G, à ces 5 ans de vie commune à la fac, à ces innombrables soirées passées à refaire le monde. Un pilier dans ma vie, sur lequel je sais que je peux toujours m'appuyer.

A Pierre, qui me rappelle toujours que la vie ne vaut la peine d'être vécue que si on profite de chaque instant. Je nous revois jeunes et insouciant il y a 12 ans, et je nous constate, avec plaisir, inchangés malgré tout !

Aux amis de la fac, qui m'ont accompagnée pendant toutes ces années. Camille et sa sagesse, pour tes conseils, anxieux et bienveillants ; malgré l'internat qui nous a éloigné, notre amitié reste intacte. A ceux que j'ai le plaisir de revoir plus fréquemment, Alexandre, Ugo, Marie, Iyad, Anne. Aux prochaines années ensemble !

Aux amis de la fête, ces rencontres autour de moments de joie, qui ont su perdurer depuis plusieurs années. Ces amitiés faites sur une alchimie qui ne s'explique pas ! Fanny, cette femme pétillante et rayonnante. Alexandre, plein de vie, d'énergie et d'optimisme. Jonas, toujours dans les bons coups.

A Antonin, pour son encadrement pendant mon Master 2. Tu m'as appris beaucoup, autant (voire plus ?) sur le plaisir de vivre que sur le plan scientifique.

Au VAN 1, pour sa veille bibliographique inestimable & surprenante... !

A Arthur et Ronan, pour leur écoute, leur soutien et leurs conseils. Vous m'aidez quotidiennement à gérer mon anxiété (et ce n'est pas de tout repos !). Merci de votre patience, de votre bonne humeur, de votre humour et de votre auto-dérision !

Aux co-internes, TOUS, car l'internat ne vaut pas la peine sans eux. A Noémie pour ce semestre de rires partagés, envers et contre tout. Au trio infernal de Curie avec Benjamin et Thomas, parmi les meilleurs semestres de l'internat ! A Emilie, une amitié sincère qui s'est créée avec nos styles de vie si différents, notre complicité est réelle et sincère. A Hortense, ton honnêteté

et ta simplicité, une vraie force tranquille. Merci à Louise et son naturel touchant. A Felix, plus vrai que nature, droit au but, d'une efficacité redoutable, et toujours prêt à aider ! A Lola, Paul et Marine, pour ce semestre en radiothérapie qui nous a tous fait du bien ! A Camille, Alexandra et Tiphaine, pour nos angoisses partagées, et qui savent mieux que quiconque, à quel point la solidarité entre internes est essentielle ! Aux co-internes du CLB. Hélène, et son rire communicatif. Khalil, plein d'amour, toujours de bons conseils. Charlotte, pleine de joie et de vie. Mathilde, Romane, Ana, Madeleine, pour le soutien dans les moments difficiles. Aux co-internes du Gard, Kevin, Noémie, Rachel, Nita, Helena... quel semestre ! A Thomas, pour cette semaine de COVID à faire l'intendance, dans la joie et la bonne humeur !

Aux équipes économes, Fred, Pernelle, Sarah, Steven, Maya, Nicolas, Giulio, Sophie et Thomas.

Aux équipes paramédicales, pas assez valorisées, et pourtant si essentielles aux patients et aux médecins ! A Herault, Aurélie, Jaimie, Sandrine et Anne-Lise, qui continuent de rester en contact, après plus de 3 ans depuis mon passage dans le service. Au DITEP, Céline, Cindy, Janine, avec qui ce fut un plaisir de travailler et qui restent fidèles avec le temps. A Laetitia au Gard, qui a su m'aider et garder le sens des réalités dans des moments difficiles.

Aux séniors qui m'ont tant appris. Entre autres, Constance, Hélène, Charlotte, Alexandre, Louis, Patricia, Capucine, Andreea, Pernelle, Emeline, Giulia, Mich-mich, Stéphane, Benoite.

Aux patients, pour lesquels nous nous devons de continuer à progresser.

Avertissement

Cette thèse d'exercice est le fruit d'un travail approuvé par le jury de soutenance et réalisé dans le but d'obtenir le diplôme d'Etat de docteur en médecine. Ce document est mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

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

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

Code de la Propriété Intellectuelle. Articles L 122.4

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

Liste des principales abréviations

- AACR : American Association of Cancer Research
- aCGH : puces d'hybridation génomique comparative
- DDLPS : Liposarcome dédifférencié
- GIST : Tumeurs stromales gastro-intestinales
- HHV8 : Human Herpes Virus 8
- IHC : immunohistochimie
- LMS : Léiomyosarcomes
- LPS : Liposarcomes
- MOSCATO : Molecular Screening for Cancer Treatment Optimization
- NGS : Séquençage nouvelle génération
- PDGFRA : Platelet-Derived Growth Factor Receptor Alpha
- PFS : Progression-free survival
- PI3K : phosphoinositide 3-kinase
- PNET : tumeurs neuro-ectodermiques primitives
- ProfiLER : Profilage Lyric Et Région
- RMS : rhabdomyosarcomes
- RTK : récepteurs aux tyrosines kinases
- RCP : réunion de concertation pluridisciplinaire
- SSM : survie sans maladie
- STM : sarcomes des tissus mous
- TCGA : The Cancer Genome Atlas
- TKI : inhibiteurs de tyrosines kinases
- UPS : sarcomes indifférenciés pléomorphes
- VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

Sommaire

REMERCIEMENTS	2
AVERTISSEMENT	5
LISTE DES PRINCIPALES ABREVIATIONS	6
SOMMAIRE	7
INTRODUCTION.....	9
LES SARCOMES.....	11
1. EPIDEMIOLOGIE	11
2. TRAITEMENTS	12
SARCOMES OSSEUX	12
SARCOMES DES TISSUS MOUS.....	14
GIST	16
3. FACTEURS PRONOSTICS	18
CLINIQUES	18
BIOLOGIQUES.....	18
RELATIFS AUX TRAITEMENTS	20
4. BIOLOGIE MOLECULAIRE	21
CLASSIFICATION MOLECULAIRE DES SARCOMES	21
INTERET THERAPEUTIQUE	22
5. OBJECTIFS.....	24
MATERIEL ET METHODES.....	25
1. ESSAIS DE MEDECINE DE PRECISION	25
MOSCATO	25
PROFILER.....	26
2. DONNEES CLINIQUES	27
3. DONNEES MOLECULAIRES	27
ANOMALIES MOLECULAIRES SIGNIFICATIVES	27
CLASSIFICATION DES ANOMALIES MOLECULAIRES.....	29
4. ANALYSES STATISTIQUES.....	29
RESULTATS.....	32
1. POPULATION ETUDIEE	32
2. DESCRIPTION DES ANOMALIES MOLECULAIRES	34
DISTRIBUTION DES ANOMALIES MOLECULAIRES	34
CORRELATION DES ANOMALIES MOLECULAIRES AVEC LES DONNEES HISTOLOGIQUES.....	36
CORRELATION DES ANOMALIES MOLECULAIRES AVEC LES PRESENTATIONS CLINIQUES	38

CORRELATION DES ANOMALIES MOLECULAIRES	41
3. ETUDES DE SURVIE	43
4. TRAITEMENT PAR ANTHRACYCLINES.....	45
<u>DISCUSSION</u>	<u>46</u>
1. LIMITES DE NOTRE ETUDE.....	46
2. DESCRIPTION MOLECULAIRE	47
3. ETUDE DE SURVIE ET PREDICTIVE.....	48
4. LE ROLE DE TP53.....	48
<u>CONCLUSION.....</u>	<u>50</u>
<u>BIBLIOGRAPHIE</u>	<u>51</u>

Introduction

Les sarcomes sont des tumeurs rares et hétérogènes, aussi bien en termes de sous-types histologiques que de présentations cliniques. Elles représentent 1% des tumeurs de l'adulte, avec une incidence de 5 cas pour 100.000 habitants par an et contiennent plus de 120 sous-types histologiques reconnus. Leur pronostic est réservé avec un taux de récurrence de l'ordre de 40% à 5 ans au stade localisé et une survie globale médiane de l'ordre de 18 à 20 mois au stade métastatique.

Au niveau cellulaire, la cellule d'origine de ces tumeurs est une cellule mésenchymateuse, celle-ci pouvant provenir des nombreux types de tissus de soutien de l'organisme. Cette spécificité en explique la diversité et l'hétérogénéité clinique et moléculaire.

Sur le plan clinique, on classe les sarcomes selon deux grandes entités : les sarcomes des tissus mous (STM) et les sarcomes osseux. Les sarcomes osseux comprennent des sous-types différents, avec notamment les sarcomes d'Ewing et autres tumeurs primitives neuro-ectodermiques (PNET) d'une part, et de l'autre les ostéosarcomes et les chondrosarcomes. Les STM représentent la majeure partie des sarcomes et comprennent un groupe extrêmement varié de tumeurs. Dans la prise en charge oncologique clinique, on différencie les sarcomes des extrémités, les sarcomes rétropéritonéaux et les autres localisations (viscérales, tronc, sphère ORL particulièrement). Les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST) sont le sous-type de STM le plus fréquent. C'est le premier exemple de tumeur solide dans lequel le concept de médecine de précision a pu être appliqué. A ce titre, l'imatinib, inhibiteur de KIT et PDGFRa, permet d'obtenir des taux de réponse de l'ordre de 60% dans les GIST.

Sur le plan moléculaire, on oppose classiquement les sarcomes dit à génomique simple et les sarcomes à génomique complexe. Les sarcomes à génomique simple représentent environ 40% des sarcomes, et sont caractérisés par des anomalies moléculaires oncogéniques clonales (mutations, translocations, amplifications par exemple). Les sarcomes à génomique complexe, soit 60% des sarcomes, présentent de multiples anomalies chromosomiques, le plus souvent des anomalies de nombres de gènes ou de segments chromosomiques.

Pour certains sous-types histologiques, les progrès de la biologie moléculaire ont permis des traitements ciblés spécifiques. Cependant, le traitement des STM repose toujours essentiellement sur de la chimiothérapie à base d'anthracyclines (adriamycine essentiellement), depuis plus de 40 ans, qui peut être associée à d'autres chimiothérapies alkylantes, avec des

taux de réponses de l'ordre de 15 à 25%. Les traitements des lignes ultérieures reposent sur des inhibiteurs de tyrosines kinases (TKI) avec une activité anti-angiogénique, tels que le pazopanib, ou sur d'autres molécules de chimiothérapies, comme la trabectedine, la gemcitabine, le déticène ou l'eribuline.

Ces traitements systémiques sont associés aux traitements locaux par radiothérapie et chirurgie, en fonction du stade de la maladie. Les traitements locaux ont une place prépondérante dans la prise en charge des sarcomes, du fait de la faible efficacité des traitements systémiques.

Plusieurs facteurs pronostics cliniques et paracliniques sont reconnus et utilisés dans le suivi et la prise en charge de ces tumeurs : la taille tumorale, la localisation du primitif (rétropéritonéale, extrémités etc.), l'histologie, le grade histologique, la présence de métastases, leurs tailles et leurs localisations. Plusieurs facteurs de prise en charge ont également un impact pronostic : la prise en charge dans un centre de référence et la qualité de la chirurgie essentiellement.

L'objet de ce travail est la description de la biologie moléculaire des sarcomes.

Les objectifs secondaires exploratoires sont la recherche de facteurs pronostics moléculaires dans les sarcomes et la recherche d'anomalies moléculaires prédictives de réponses aux traitements par adriamycine.

Les sarcomes

1. Epidémiologie

Les sarcomes sont des tumeurs rares, représentant 1% des tumeurs de l'adulte et 21% des tumeurs de l'enfant. L'incidence des sarcomes est aux alentours de 5,6 cas incidents pour 100.000 habitants par an¹. Cette incidence varie en fonction du sous-type histologique. On dénombre actuellement 120 sous-types histologiques de sarcomes² (Figure 1).

En termes de présentation clinique, de traitements et de pronostics, on différencie classiquement deux groupes de tumeurs : les sarcomes des tissus mous (STM) et les tumeurs primitives osseuses. Les STM représentent 84 à 87% de tous les sarcomes^{1,3}. Les tumeurs osseuses sont beaucoup plus rares représentant entre 12 et 15% des tumeurs mésoenchymateuses. Les GIST sont un sous-type de STM du tube digestif caractérisées par une sensibilité aux TKI inhibiteurs de KIT et de PDGFRa. Ce sous-type histologique est le plus fréquent des STM, avec une incidence de l'ordre de 1/100.000 habitants par an⁴.

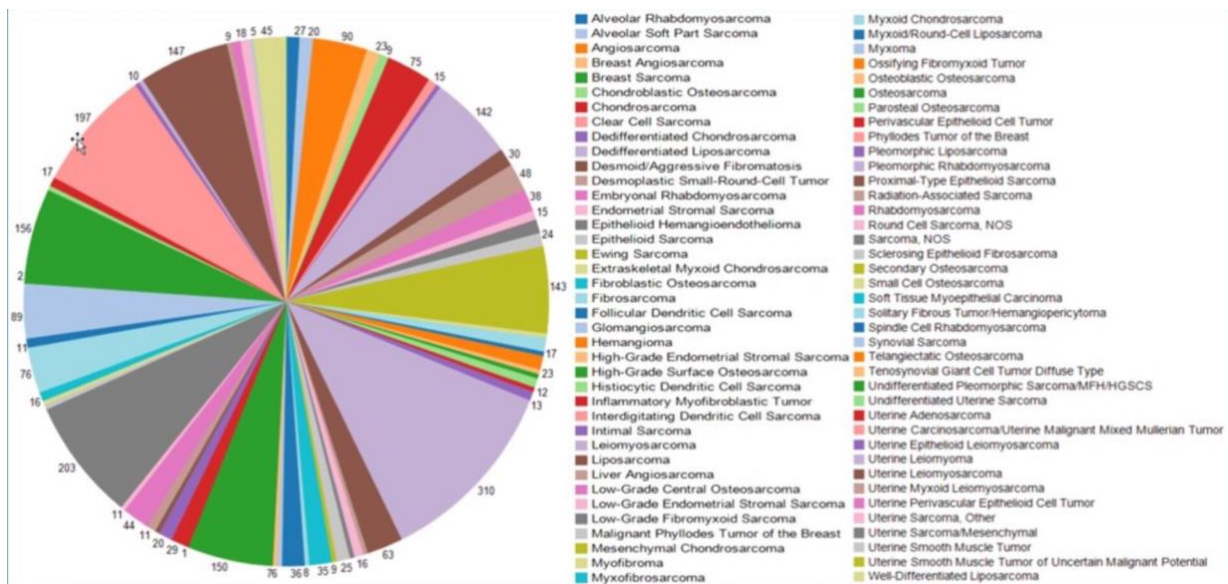


Figure 1 : Répartition des différents sous-types histologiques de sarcomes selon la nouvelle classification OMS, Source : AACR GENIE

Les sarcomes sont des tumeurs survenant à un âge médian plus jeunes que les autres tumeurs solides, avec comme spécificité d'avoir beaucoup de formes pédiatriques. L'âge médian au diagnostic des STM et sarcomes osseux est de 58 et 40 ans, respectivement³. Les STM de l'adulte les plus fréquents, hors GIST, sont les sarcomes indifférenciés pléomorphes (UPS), les

liposarcomes (LPS) et les léiomyosarcomes (LMS)⁵. Les sarcomes osseux contiennent trois types principaux de tumeurs : les tumeurs d'Ewing et autres tumeurs neuro-ectodermiques primitives (PNET), les ostéosarcomes et les chondrosarcomes. L'incidence en fonction de l'âge au diagnostic varie grandement en fonction du sous-type histologique⁶. On constate que les sarcomes de l'enfant et de l'adulte jeune sont très majoritairement des sarcomes à génomique simple (rhabdomyosarcomes embryonnaires, PNET, synovialosarcomes), alors que les sarcomes de l'adulte sont plus fréquemment des sarcomes à génomique complexe⁷.

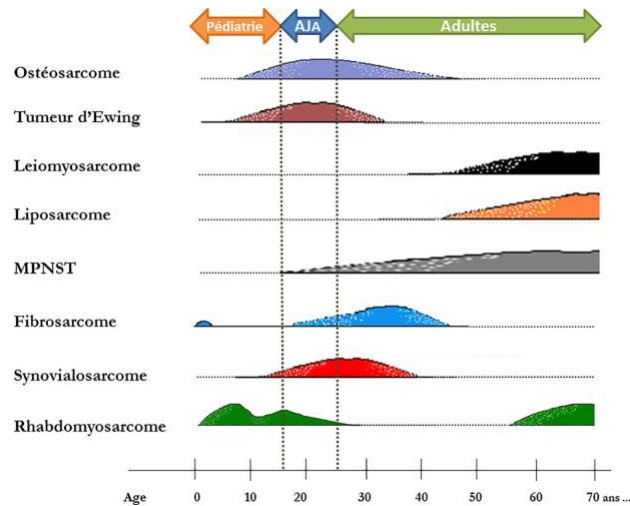


Figure 2 : Incidence des principaux sous-types histologiques de sarcomes en fonction de l'âge au diagnostic, Source : N. Gaspar *et al.*, Évolution de la prise en charge des sarcomes de l'enfant et de l'adolescent. *Oncologie* 18, 216-229 (2016).

2. Traitements

Le traitement de tout sarcome ne se conçoit que dans des centres de références ayant l'habitude de prendre en charge ces pathologies rares⁸⁻¹².

Sarcomes osseux

Ostéosarcomes

Le traitement des ostéosarcomes repose sur la chimiothérapie péri-opératoire, qui améliore le pronostic de survie sans maladie (SSM) des patients de l'ordre de 20% avec une chirurgie seule, à plus de 60% à 2 ans pour les stades localisés¹³⁻¹⁵. La chimiothérapie néo-adjuvante (pré-opératoire) permet d'optimiser le geste chirurgical, en diminuant notamment le nombre d'amputations, mais permet également de connaître la réponse histologique au traitement, qui

est un facteur pronostic majeur¹⁶⁻¹⁹. La chimiothérapie adjuvante (post-opératoire) est ensuite adaptée à cette réponse histologique^{20,21}.

Les drogues de chimiothérapie utilisées diffèrent selon l'âge des patients, car la tolérance des différentes drogues est également âge-dépendante²². Ainsi, pour les ostéosarcomes adultes, les drogues utilisées sont l'adriamycine, le cisplatine, et l'ifosfamide à hautes doses²³, alors que pour les ostéosarcomes pédiatriques, on y ajoute le méthotrexate à hautes doses et l'étoposide²⁴⁻²⁶. Les adultes jeunes peuvent bénéficier des deux schémas, et le schéma optimal n'est pas défini²⁷.

Au stade métastatique, une prise en charge curative reposant sur les mêmes principes qu'au stade localisé permet d'obtenir des survies prolongées dans 20-30% des cas²⁸. Dans des maladies oligo-métastatiques, si un geste chirurgical est possible sur tous les sites métastatiques, la prise en charge est similaire aux stades localisés. En cas de maladie non opérable, un traitement systémique est alors souvent associé à une radiothérapie ou d'autres traitements locaux des sites métastatiques (radiofréquence, cryoablation). La drogue majeure chez l'adulte reste l'adriamycine, avec un pronostic très réservé et une survie globale médiane autour d'un an²⁹.

Ewing et PNET

Les PNET sont des tumeurs à petites cellules rondes, CD99 positives en immunohistochimie (IHC), le plus souvent osseuses. Les plus fréquentes et les mieux décrites sont les tumeurs d'Ewing. Sur le plan moléculaire, les tumeurs d'Ewing classique présentent une fusion entre un gène de la famille TET (protéine de liaison à l'ARN, EWSR1 et FUS) et un gène de la famille ETS (facteurs de transcription). De nouvelles entités moléculaires ont été décrites récemment³⁰, notamment les fusions CIC-DUX4³¹ et BCOR-CCNB3³². La présentation clinique, l'évolution et la réponse aux traitements de ces tumeurs sont différentes des tumeurs d'Ewing classique^{33,34}. Cependant, le traitement des PNET non-Ewing est actuellement le même que pour les tumeurs d'Ewing classique.

Les tumeurs d'Ewing sont chimiosensibles et radiosensibles. Le traitement de ces tumeurs est multi-modal avec une chimiothérapie néo-adjuvante contenant de l'adriamycine en polychimiothérapie, une chirurgie complète quand celle-ci est faisable, une radiothérapie post-

opératoire (discutée en cas de mauvaise réponse histologique ou de chirurgie incomplète) et une chimiothérapie adjuvante. En cas d'inopérabilité, une radiothérapie exclusive est réalisée à la place de la chirurgie³⁵. La chirurgie est à privilégier lorsque celle-ci est faisable.

Le schéma optimal de chimiothérapie est encore à l'étude, celui-ci comprend une association d'adriamycine, ifosfamide, cyclophosphamide, étoposide, vincristine et actinomycine D.

Le pronostic reste réservé avec une survie globale de 66% à 10 ans au stade localisé et de 28% au stade métastatique³⁶.

Chondrosarcomes

La prise en charge des chondrosarcomes est essentiellement chirurgicale. Ces tumeurs sont peu radiosensibles et très peu chimio-sensibles. Les tumeurs de bas grade opérables sont traitées par chirurgie seule. Lorsque celles-ci ne sont pas opérables, la radiothérapie est une alternative. Pour les tumeurs de haut grade, le traitement dépend du sous-type histologique, de la localisation et de la présence de métastases^{37,38}.

Sarcomes des tissus mous

Localisés

Le traitement des sarcomes localisés repose sur une chirurgie d'exérèse complète R0³⁹, effectuée par un chirurgien expert dans un centre de référence⁴⁰. Le taux de rechute est de l'ordre de 40-50% à 5 ans, après chirurgie. La prise en charge péri-opératoire dépend ensuite de la localisation tumorale.

Pour les sarcomes des membres, la radiothérapie améliore le contrôle local et permet de diminuer le taux d'amputation⁴¹⁻⁴⁵. Celle-ci ne rattrape pas une chirurgie de mauvaise qualité^{46,47}. La radiothérapie n'apporte pas de bénéfice en cas de tumeur de petite taille (<5cm)^{48,49}, superficielle⁴⁶ ou de bas grade.

La place de la chimiothérapie adjuvante à base d'adriamycine est limitée et celle-ci ne peut compenser une chirurgie de mauvaise qualité³⁹. La chimiothérapie adjuvante est à discuter au cas par cas, au sein de réunion de concertation pluridisciplinaire (RCP)⁸. Elle apporterait un

bénéfice en cas de tumeur de haut grade^{50,51}, de grande taille (>5cm), chez les hommes de plus de 40 ans, après une chirurgie R1^{39,52,53} et dans certaines histologies particulières⁵⁴. Un sous-groupe de patient tire probablement un bénéfice de la chimiothérapie adjuvante, mais l'identification exacte des patients à qui celle-ci doit être proposée reste peu claire, car on manque de facteur pronostic de rechute métastatique mais également de facteurs prédictifs de réponse aux traitements de chimiothérapie par adriamycine.

La chimiothérapie néo-adjuvante permet de faciliter le geste chirurgical et d'apporter une information sur la réponse aux traitements systémiques. Elle doit être discutée au sein de RCP dans des centres experts avant toute administration. Lorsqu'il est décidé d'un traitement systémique néo-adjuvant, celui-ci doit consister en une association d'adriamycine et d'ifosfamide à hautes doses. Les chimiothérapies d'induction adaptées au sous-type histologique ont été testées dans un essai prospectif : celui-ci a retrouvé une moins bonne SSM et une moins bonne survie globale pour les patients traités par chimiothérapie adaptée au sous-type histologique, comparé au standard à base d'anthracyclines et d'ifosfamide⁵⁵.

Métastatiques et localement avancés inopérables

La survie globale médiane des STM en phase avancée est de l'ordre de 20 mois actuellement. En cas de maladie potentiellement opérable, ou oligo-métastatique avec un traitement local accessible sur l'ensemble des sites métastatiques, une association de chimiothérapie à base d'adriamycine est recommandée. Celle-ci permet d'augmenter le taux de réponses à la chimiothérapie comparé à une monothérapie par adriamycine seule. La monothérapie permet d'obtenir des taux de réponse de l'ordre de 15 à 20%, alors qu'il est de l'ordre de 30% en cas de bithérapie. Aucune étude n'a permis de démontrer un bénéfice en survie globale à l'utilisation de poly-chimiothérapie à base d'adriamycine en première ligne de traitement des sarcomes des tissus mous (association avec des chimiothérapies comme l'ifosfamide⁵⁶, de l'evofosfamide⁵⁷, du palifosfamide⁵⁸ ou des thérapies ciblées comme l'olaratumab⁵⁹). Ainsi, en cas de maladie inopérable ou non accessible à un traitement local de l'ensemble des sites métastatiques, il convient d'utiliser une monothérapie d'adriamycine, traitement de référence depuis 40 ans⁶⁰. Celle-ci permet d'obtenir des survies sans progression de l'ordre de 6 mois en première ligne de traitement.

En deuxième ligne de traitement, plusieurs options thérapeutiques sont possibles, en fonction du sous-type histologique⁶¹⁻⁶⁷ (Figure 3).

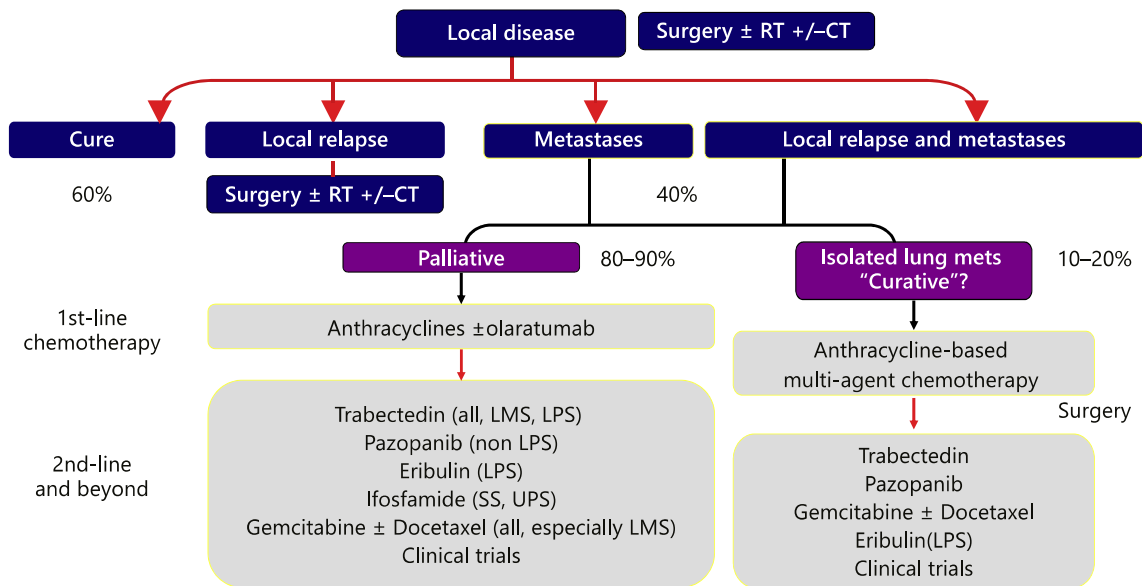


Figure 3 : Algorithme de traitement des sarcomes des tissus mous. Source : *Le Cesne, A. Making the Best of Available Options for Optimal Sarcoma Treatment. Oncology 95, 11-20, doi:10.1159/000494861 (2018).*

GIST

La prise en charge médicale des GIST est adaptée en fonction de la biologie moléculaire, et plus particulièrement du statut mutationnel tumoral de KIT et PDGFRA, qui prédisent la réponse aux traitements systémiques^{10,68}. Environ 80% des GIST présentent des mutations de KIT⁶⁹ au diagnostic, dans l'exon 11 du gène dans la grande majorité des cas, dans l'exon 9 dans 10% des cas et plus rarement dans l'exon 13. Les mutations de l'exon 11 sont particulièrement sensibles à l'imatinib.

Au stade localisé, la prise en charge repose sur une chirurgie d'exérèse complète. Un traitement per-opératoire par imatinib peut être indiqué et discuté en RCP en fonction du risque de récurrence selon les classifications de Miettinen ou Joensuu^{70,71}, de la localisation tumorale, des possibilités chirurgicales et du statut mutationnel. En l'absence de mutation de sensibilité au traitement par imatinib, celui-ci n'est pas indiqué en péri-opératoire. En cas de tumeur à haut risque de récurrence, un traitement péri-opératoire de 3 ans est indiqué⁷¹⁻⁷³. En cas de chirurgies complexes prévisibles, l'acte opératoire peut être facilité par un traitement néo-adjuvant de 6 à 12 mois maximum, la réponse tumorale maximale étant habituellement obtenue autour de 6 mois⁷⁴⁻⁷⁶.

Au stade métastatique, le traitement de première ligne est l'imatinib, en l'absence de mutation de résistance. Celui-ci permet d'obtenir des survies sans progression de l'ordre de 30 mois en première ligne actuellement⁷⁷.

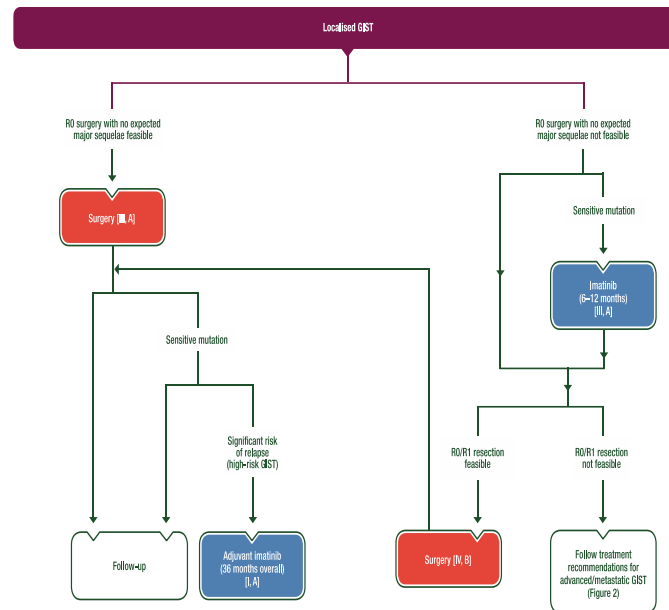


Figure 4a : Algorithme de prise en charge des GIST localisés. Source : ESMO Guidelines

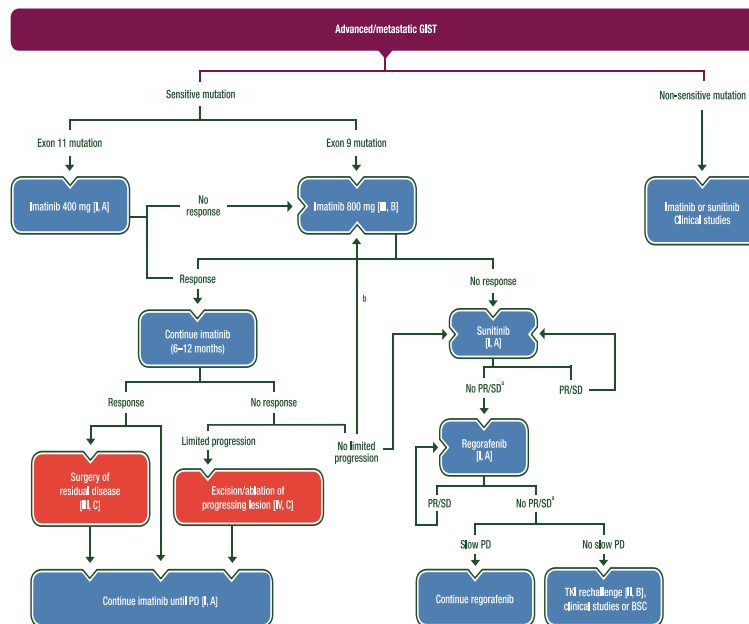


Figure 4b : Algorithme de prise en charge des GIST avancés. Source : ESMO Guidelines

Les GIST sont un exemple typique de thérapie ciblée sur la biologie moléculaire de la tumeur avec une excellente efficacité. Le traitement à tous les stades est adapté à la biologie moléculaire de la tumeur.

3. Facteurs pronostics

De nombreux nomogrammes ont été développés pour essayer d'identifier les maladies de moins bon pronostic, nécessitant une prise en charge plus agressive⁷⁸⁻⁸³. Certains ont été développés dans des localisations spécifiques⁸⁴, d'autres pour des sous-types histologiques spécifiques⁸⁵, dans des situations de rechute locale⁸⁶. L'objectif de ces nomogrammes en situation spécifique est de définir au mieux le pronostic individuel pour chaque patient.

Cliniques

L'âge est fréquemment retrouvé comme facteur pronostic, aussi bien au stade localisé que métastatique, avec un pronostic plus favorable pour les plus patients plus jeunes. La répartition histologique des sarcomes varie en fonction de ce facteur, ce qui peut être un biais potentiel. La tolérance des traitements est également dépendante de l'âge²².

Le sexe est inconstamment retrouvé dans les études comme facteur pronostic, les hommes ayant tendance à avoir un pronostic plus défavorable que les femmes.

Le stade initial (métastatique, localement avancé inopérable ou localisé)⁸⁷, la taille tumorale (avec des seuils de 5cm et 10cm), la profondeur (tumeur superficielle versus profonde) et la localisation (rétropéritonéale, viscérale, extrémité, tronc ou tête) sont des facteurs pronostics majeurs, utilisés en pratique clinique de routine pour guider la prise en charge⁴⁰, et retrouvés dans l'ensemble des nomogrammes⁸¹. Ainsi, une maladie métastatique est de moins bon pronostic qu'une maladie localement avancée non opérable, une taille plus grande de la tumeur primitive est une caractéristique défavorable, une tumeur profonde sera de moins bon pronostic, une maladie rétropéritonéale récidive plus souvent qu'une maladie située dans les extrémités.

Biologiques

Périphériques

Plusieurs marqueurs sanguins périphériques ont été évalués, ils sont un reflet de l'inflammation liés à la tumeur et de l'état général du patient : le ratio neutrophiles-sur-lymphocytes⁸⁸ ou d'autres marqueurs inflammatoires⁸⁹⁻⁹². De manière générale, une inflammation systémique est corrélée à une moins bonne survie.

Tumoraux

L'histologie est un facteur pronostic majeur^{7,93-95} (Figure 5).

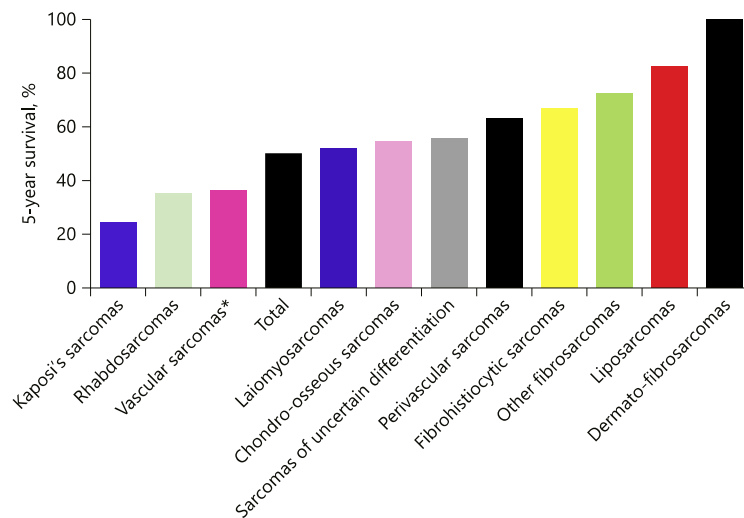


Figure 5 : Survie globale en fonction des sous-types de STM. Source : *Le Cesne, A. Making the Best of Available Options for Optimal Sarcoma Treatment. Oncology 95, 11-20, doi:10.1159/000494861 (2018).*

Le grade histologique tel que défini par la FNCLCC en 1984⁹⁶ reste un facteur pronostic majeur présents dans tous les nomogrammes⁸¹. Celui-ci prend en compte trois paramètres : la différenciation, l'index mitotique et le pourcentage de nécrose. Il permet de classer les STM en trois grades, du grade 1 le moins agressif au grade 3. Il est corrélé à la survie globale et la survie sans métastases⁴⁰.

Dans la plupart des nomogrammes, le grade et de l'histologie sont les paramètres les plus discriminants en termes de pronostic.

Récemment, une signature d'expression génique (CINSARC) de 67 gènes reliés à la mitose et à l'instabilité chromosomique a été corrélé à la SSM aussi bien dans les STM que les GIST⁹⁷. Elle est actuellement en cours de validation prospective, afin d'étudier son impact pronostic mais également prédictif de réponse à la chimiothérapie.

Il n'existe pas de facteur de biologie moléculaire tumoral reconnu et validé à ce jour à visée pronostic dans les sarcomes. Il n'existe pas non plus de facteur biologique tumoral prédictif de réponse au traitement de première ligne par adriamycine.

Relatifs aux traitements

La discussion en RCP dans un centre de référence avant la mise en place des traitements améliore la survie sans récurrence d'environ 10% à deux ans en valeur absolue¹².

Localisés

La qualité de la chirurgie est primordiale, une chirurgie en centre de référence est corrélée à une meilleure SSM⁴⁰. Une chimiothérapie adjuvante améliore le pronostic d'une chirurgie R1 mais ne permet pas de rattraper la perte de chance par rapport à une chirurgie R0.

Dans la prise en charge des sarcomes localisés, la chirurgie en centre de référence, la qualité de cette chirurgie (R0, R1, R2), l'administration d'une radiothérapie et d'une chimiothérapie péri-opératoire sont des facteurs pronostics⁸².

Lorsqu'une chimiothérapie néo-adjuvante est administrée, la réponse histologique à celle-ci est un facteur pronostic débattu^{98,99}.

Métastatiques et localement avancés inopérables

Outre les thérapies systémiques, les traitements locaux des différents sites métastatiques sont associés à une survie globale prolongée au stade métastatique^{94,100,101}.

Cliniques		Biologiques		Traitements	
Liés au patient	Liés à la tumeur	Périphériques	Tumoraux	Localisés	Métastatiques
<u>Age</u>	<u>Stade</u>	<i>CRP</i>	<u>Histologie</u>	<u>Chirurgie en centre de référence</u>	<u>Traitements locaux</u>
Sexe	<u>Taille</u>	<i>NLR</i>	<u>Grade FNCLCC</u>	<u>Marges de résection</u>	
	<u>Profondeur</u>	<i>PLR</i>	<i>CINSARC</i>	Radiothérapie	
	<u>Localisation</u>			Chimiothérapie	
				<i>Réponse à la chimiothérapie</i>	

Tableau 1 : Facteurs pronostics reconnus dans les sarcomes. Les facteurs soulignés ont un impact pronostic majeur, retrouvés dans plusieurs études. Les facteurs en italique sont débattus ou en cours de validation.

4. Biologie moléculaire

Le démantèlement des sarcomes sur le plan moléculaire a permis de mieux les caractériser, avec plusieurs cibles menant à des traitements spécifiques efficaces¹⁰². On distingue généralement les sarcomes en fonction des mutations canoniques qui les caractérisent, qui peuvent être des mutations actionnables pour les thérapies ciblées (mutations, pertes de gènes suppresseurs de tumeur, translocations, amplifications...). Cependant certains sarcomes sont caractérisés par une génomique complexe.

Classification moléculaire des sarcomes

Génomique simple

Les sarcomes à génomique simple représentent 40 à 50% des sarcomes. Ils sont caractérisés par des anomalies génétiques oncogéniques fortes, d'évolution clonale sur toutes les cellules tumorales. On distingue schématiquement quatre types d'anomalies moléculaires¹⁰³ :

- Les translocations représentent 15 à 20% des sarcomes. C'est une fusion de deux gènes, dont l'un est en général un promoteur et l'autre un effecteur (par exemple, un facteur de transcription, une tyrosine kinase ou un facteur de croissance).
- Les mutations activatrices oncogéniques (comme KIT dans les GIST) représentent 15 à 20% des sarcomes.
- Les amplifications de gènes représentent 10% des sarcomes (par exemple l'amplification de MDM2 dans les liposarcomes).
- Les mutations inactivatrices sont rares, représentant 1% des sarcomes (par exemple les tumeurs rhabdoïdes SMARCA4 déficientes).

Génomique complexe

On observe dans les sarcomes à génomique complexe des anomalies de nombre de copie des gènes et des chromosomes mais un faible taux de mutation de paires de base. Parmi les tumeurs malignes, ce sont les tumeurs qui présentent le plus fort ratio d'anomalie de nombre de copies par rapport au taux de mutations ponctuelles (Figure 6). Le Cancer Genome Atlas (TCGA) est un consortium ayant séquencé l'ADN et l'ARN de la plupart des sous-types de tumeurs connues, dont les sarcomes. Dans un objectif de cohérence, ils se sont intéressés

majoritairement aux sarcomes à génomique complexe. Seuls certains oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs sont mutés de façon récurrente dans tous les sous-types de sarcomes étudiés : TP53, RB1 et ATRX principalement. Parallèlement, on retrouve une hétérogénéité transcriptomique au sein même des sous-types histologiques étudiés¹⁰⁴. Les sous-types histologiques à génomique complexe les plus fréquents dans les STM sont les léiomyosarcomes (LMS), les sarcomes indifférenciés pléiomorphes (UPS) et les liposarcomes dédifférenciés (DDLPS).

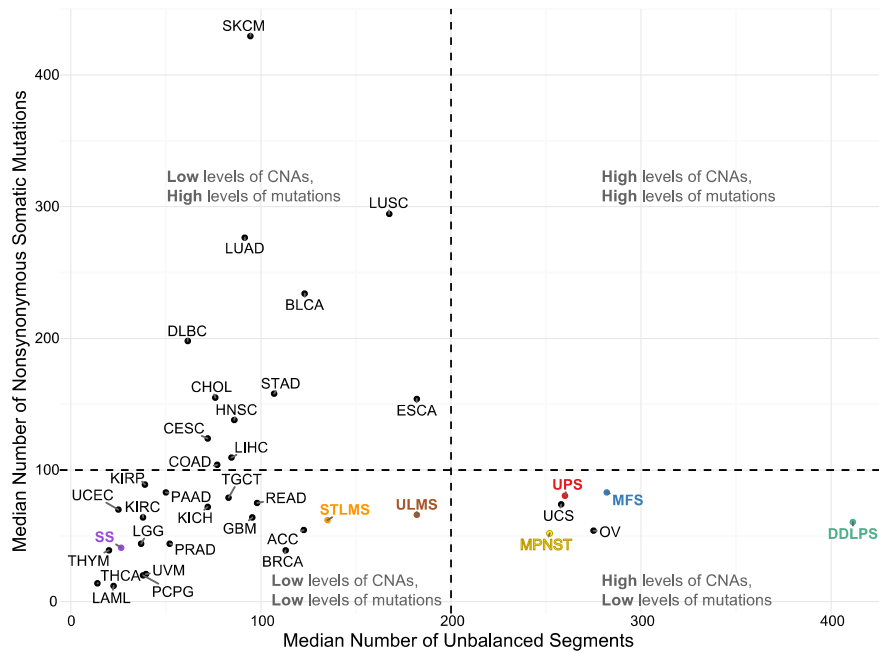


Figure 6 : Répartition des sous-types histologiques tumoraux en fonction du nombre de mutations ponctuelles et du nombre d'anomalies de nombres fragments de chromosomes. Les sarcomes sont en couleurs (SS : synoviosarcomes, génomique simple ; STLMS : léiomyosarcomes des tissus mous, génomique complexe ; ULMS : léiomyosarcomes utérins, génomique complexe ; UPS : sarcomes indifférenciés pléiomorphes, génomique complexe ; MPNST : tumeurs malignes des gaines nerveuses périphériques, génomique complexe ; MFS : myxofibrosarcomes génomique complexe ; DDLPS : liposarcomes dédifférenciés, génomique complexe). Source : *Abeshouse, A. et al. Comprehensive and Integrated Genomic Characterization of Adult Soft Tissue Sarcomas. Cell 171, 950-965.e928, doi:10.1016/j.cell.2017.10.014 (2017).*

Intérêt thérapeutique

Contrairement aux mutations oncogéniques activatrices comme dans les GIST, la plupart des anomalies moléculaires identifiées n'ont pas encore de thérapeutique permettant de les cibler. Par exemple, cibler un facteur de transcription est extrêmement compliqué¹⁰⁵. Actuellement, en dehors de certaines histologies spécifiques et souvent très rares, l'intérêt thérapeutique de la biologie moléculaire dans les sarcomes n'est pas démontré¹⁰⁶.

Certains sous-types histologiques sont caractérisés par des anomalies moléculaires ciblables, et ciblées de manière efficace, par exemple :

- Les tumeurs avec une translocation impliquant les gènes NTRK, répondent aux traitements ciblés, quelles que soit leur sous-type histologique^{107,108}
- Les tumeurs myofibroblastiques inflammatoires présentant des altérations de ALK sont particulièrement sensibles au Crizotinib¹⁰⁹
- Les dermatofibrosarcomes caractérisés par une translocation impliquant PDGFB, sont traités par Imatinib¹¹⁰
- Les sarcomes épithélioïdes avec perte d'expression d'INI1 sont sensibles au tazemetostat¹¹¹
- Les GIST déjà sus-mentionnés⁷⁷

Deux études importantes ont cherché le taux d'anomalies moléculaires potentiellement ciblables sur le plan thérapeutique chez des patients atteints de sarcomes tout venant, sur la base de profilages moléculaires nouvelle génération :

- Une étude sur la base de données de l'American Association of Cancer Research (AACR) retrouve sur 584 sarcomes ayant un profil moléculaire par séquençage nouvelle génération (NGS), dont 41% d'anomalies moléculaires potentiellement ciblables avec nos thérapeutiques actuelles
- Une large étude sur 5635 sarcomes du MSKCC retrouve 42% de tumeurs présentant au moins une anomalie moléculaire ciblable¹¹².

Aucune de ces études ne bénéficiaient de données cliniques. Nous n'avons donc pas de données dans ces cohortes sur la réponse aux traitements ciblés lorsque l'on identifie une anomalie moléculaire théoriquement ciblable.

D'autres études de plus petites envergures, retrouvent un taux de sarcomes présentant au moins une anomalie moléculaire ciblable entre 30 et 60%¹¹³⁻¹¹⁵. Le taux de bénéfice clinique rapporté après traitement ciblé dans ces études varie alors entre 26% et 50%, chez les patients qui ont pu réellement avoir accès à un traitement ciblé^{106,116,117}.

Il y a donc une preuve de concept dans plusieurs sous-types histologiques, de l'efficacité d'un traitement ciblé sur la biologie moléculaire. Des données suggèrent que 40% des sarcomes présenteraient des anomalies potentiellement ciblables théoriquement. Cependant, ces données

théoriques sont à mettre en balance avec la disponibilité d'un médicament efficace pour cibler ces anomalies. Il y a peu de données indiquant un bénéfice à cibler toutes les anomalies dites ciblables dans l'ensemble des sarcomes, indépendamment du sous-type histologique et de l'anomalie ciblée. Plusieurs études de médecine de précision ont posé cette question en pan-tumoral, dont ProfiLER (Profilage Lyric Et Région)¹¹⁸ et MOSCATO (MOlecular Screening for CAncer Treatment Optimization)¹¹⁹. Les données de ProfiLER concernant uniquement les sarcomes inclus dans l'essai viennent d'être publiées. Sur 164 patients inclus, une recommandation de traitement ciblée sur la biologie moléculaire avait été faite chez 47 d'entre eux, dont 13 patients qui ont pu recevoir une drogue ciblée, avec une seule réponse objective observée¹²⁰.

Sur le plan thérapeutique standard, l'adriamycine est recommandée en première ligne pour tous les sous-types histologiques depuis 40 ans, à toutes les phases de la maladie, sans facteur biologique moléculaire pronostic ni prédictif de réponse. L'intérêt thérapeutique de la biologie moléculaire dans les sarcomes tous sous-types histologiques confondus reste à démontrer.

5. Objectifs

Notre objectif principal est la description des anomalies moléculaires fréquentes retrouvées dans les sarcomes, et leur corrélation aux présentations cliniques.

Nos objectifs secondaires sont la recherche d'anomalie moléculaire ayant un impact pronostic sur la survie globale à partir du diagnostic initial, la survie globale à partir du diagnostic de maladie métastatique et la survie sans maladie.

Nous avons également pour objectif la recherche d'anomalies moléculaires prédictives de réponse à la chimiothérapie par anthracyclines, du taux de contrôle de maladie sous anthracyclines et de la survie sans progression sous anthracyclines pour les maladies métastatiques.

Matériel et Méthodes

1. Essais de médecine de précision

Nous nous sommes intéressés ici à deux essais français de médecine de précision, en utilisant dans notre travail uniquement les données relatives aux patients atteints de sarcomes.

MOSCATO

L'essai MOSCATO-01 est un essai prospectif monocentrique ayant pour objectif de montrer qu'un profilage moléculaire améliorerait la survie sans progression des patients pris en charge pour des tumeurs avancées de décembre 2011 à Mars 2016. Dans cet essai, tous les patients étaient en échec d'au moins une ligne de traitement pour une tumeur considérée comme incurable au moment de l'inclusion.

Tous les patients étaient biopsiés, soit au niveau de la tumeur primitive, soit d'une métastase. La cellularité tumorale était estimée par un anatomopathologiste. Lorsque celle-ci était supérieure à 30%, les échantillons étaient analysés par un panel NGS et par puces d'hybridation génomique comparative (aCGH). Lorsque la cellularité tumorale du prélèvement était entre 10 et 30 %, seul le panel NGS était réalisé. Le panel NGS comportait initialement 40 puis 50 et enfin 75 gènes impliqués dans la cancérogenèse.

L'analyse finale des anomalies moléculaires identifiées était ensuite rediscutée dans une réunion pluridisciplinaire hebdomadaire pour décider si une anomalie identifiée pouvait être ciblée par un traitement spécifique.

L'objectif principal de l'étude est la proportion de patients pour lesquels le ratio PFS2/PFS1 était supérieur à 1,3. Le ratio PFS2/PFS1 correspond à la survie sans progression sous traitement ciblé (PFS2) comparé à la survie sans progression à la ligne juste antérieure. L'hypothèse nulle, de non-efficacité d'un traitement ciblé après analyses moléculaires, est fixée à une proportion de patient de 15% ayant un ratio PFS2/PFS>1,3.

Sur 1110 patients inclus dans tous les types histologiques de tumeurs, 948 ont eu une biopsie tumorale, 843 ont pu avoir un portrait moléculaire, 411 portaient une anomalie potentiellement actionnable, 199 ont reçus un traitement ciblé et 193 patients ont pu être analysés pour le ratio PFS2/PFS1. En pan-tumoral, 33% des patients présentaient un ratio PFS2/PFS1>1,3. L'essai MOSCATO-01 est un essai positif de médecine de précision.

ProfiLER

L'essai ProfiLER est un essai multicentrique prospectif ayant pour objectif la description moléculaire des tumeurs avancées. Les patients pouvaient être inclus dès lors que la tumeur avait échappé à une première ligne de traitement systémique et qu'aucun traitement standard curatif n'était envisageable.

Les analyses moléculaires pouvaient être réalisées sur du tissu archivé ou des biopsies fraîches, si aucun tissu n'était disponible. Les analyses moléculaires étaient réalisées dès lors que la cellularité tumorale des prélèvements était supérieure à 10%. Celles-ci consistaient en un panel NGS de 59 puis 69 gènes impliqués dans la cancérogenèse et une aCGH.

Le compte rendu d'analyses moléculaires était discuté dans des réunions pluridisciplinaires toutes les semaines afin de décider de la possibilité d'un traitement orienté.

L'objectif principal de l'étude était l'incidence des anomalies moléculaires détectées dans les tumeurs.

Sur 2579 patients inclus, 1980 ont pu avoir une analyse moléculaire, 1032 ont retrouvées une anomalie moléculaire ciblable et 163 ont reçu un traitement orienté par l'analyse moléculaire réalisée. Sur ces 163 patients, 23 ont eu une réponse tumorale partielle et 57 ont eu une maladie stabilisée par le traitement.

2. Données cliniques

Les données cliniques ont été recueillies en utilisant la base du Groupe Sarcomes Français, les bases de données disponibles des deux essais puis par recueil rétrospectif dans les dossiers pour les données manquantes.

Les données cliniques recueillies sont :

- Pronostic : âge au diagnostic, sexe, stade tumoral initial, taille tumorale initiale, profondeur et localisation de la tumeur primitive, histologie, grade FNCLCC, type de prise en charge initiale (chirurgie en centre de référence, marges de résection, radiothérapie et chimiothérapie à visée curative), prise en charge métastatique (traitements locaux des sites métastatiques et nombres de lignes systémiques)
- Liées à la réponse sous anthracyclines, pour étude de l'impact prédictif de réponse au traitement : moment d'utilisation des anthracyclines (néo-adjuvant, adjuvant, métastatique), monothérapie ou polychimiothérapie, réponse selon RECIST (si évaluable), date de la progression sous anthracyclines, date du début du traitement systémique de la ligne ultérieure aux anthracyclines.
- Descriptif dans un objectif exploratoire pour recherche d'association avec des anomalies moléculaires : génomique simple ou complexe, localisation des métastases
- Nécessaire pour le calcul de la survie : date au diagnostic, date à la première rechute, date de la première métastase, date de décès ou des dernières nouvelles

3. Données moléculaires

Anomalies moléculaires significatives

Certaines anomalies moléculaires ne sont que passagères, et le reflet d'une instabilité génomique globale, sans incidence sur la cellule tumorale. Ainsi, seules les mutations répertoriées dans COSMIC pour être pathogènes ont été retenues.

Pour l'essai MOSCATO, pour les analyses en aCGH, seules les amplifications et délétions étaient retenues, correspondant respectivement à des gains $>x0,7\log_2\text{ratio}$ et des pertes $<x0,5\log_2\text{ratio}$. Pour l'essai ProfiLER, les amplifications étaient définies comme un nombre de copie du gène ≥ 6 et seules les délétions homozygotes étaient prises en compte.

Les panels NGS des deux essais sont représentés tableaux 2 et 3, les gènes différents dans les deux panels ont été surlignés en jaune.

Gene	RefSeq	target exons	Gene	RefSeq	target exons	Gene	RefSeq	target exons
ABL1	NM_007313.2	4 to 7	FLT1	NM_002019.4	1 to 30	NFE2L2	NM_006164.3	2
AKT1	NM_005163.2	3;6	FLT3	NM_004119.2	11;14;16;20	NOTCH1	NM_017617.3	24;27;34
AKT2	NM_001626.3	3	GNA11	NM_002067.2	5	NOTCH2	NM_024408.	34
AKT3	NM_005465.3	3	GNAQ	NM_002072.3	5;8	NOTCH4	NM_004557.3	1 to 30
ALK	NM_004304.3	20 to 26	GNAS	NM_000516.4	8;9	NPM1	NM_002520.6	12
APC	NM_000038.5	16 (partial)	HNF1A	NM_000545.5	3;4	NRAS	NM_002524.3	2 to 4
ATM	NM_00005.3	8;9;12;17;26;34 to 36;39;50;54;59;61;63	HRAS	NM_005343.2	2 to 4	PDGFRA	NM_006206.4	12;14;15;18
BRAF	NM_004333.4	11;15	IDH1	NM_005896.2	4	PIK3CA	NM_006218.2	2;5;7;8;10;14;19;21
BRCA1	NM_007294.3	2 to 23	IDH2	NM_002168.2	4	PIK3R1	NM_181523.1	10;12;14;15
BRCA2	NM_000059.3	2 to 27	INPP4B	NM_003866.2	5 to 27	PPP2R1A	NM_014225.5	5;6
CDH1	NM_004360.2	3;8;9	JAK2	NM_004972.3	14	PTEN	NM_000314.4	1 to 9
CDKN2A	NM_00077.4	2	JAK3	NM_000215.3	4;13;16	PTPN11	NM_002834.3	3;13
CSF1R	NM_005211.3	7;22	KDR	NM_002253.2	1 to 30	RBI	NM_000321.2	4;6;10;11;14;17;18;20 to 22
CTNNB1	NM_NM	3	KEAP1	NM_203500.1	2 to 6	RET	NM_020975.4	10;11;13;15;16
DDR2	NM_001014796.	4 to 19	KIT	NM_000222.2	2;9to11;13;15;17;18	ROS1	NM_002944.	38
EGFR	NM_005228.3	3;7;12;15;18 to 21	KRAS	NM_033360.2	2 to 4	SMAD4	NM_005359.5	3to6;8to12
ERBB2	NM_004448.2	8;19to21	MAP2K1	NM_002755.3	2;3	SMARCB1	NM_003073.2	2;4;5;9
ERBB3	NM_001982.3	1 to 28	MAP2K4	NM_003010.2	1 to 11	SMO	NM_005631.4	3;5;6;9;11
ERBB4	NM_005235.2	3 to 9;15;23	MAP3K1	NM_005921.1	1 to 20	SRC	NM_005417.3	14
EZH2	NM_004456.4	16	MET	NM_001127500.2 (partial);11;14;16 to 19		STK11	NM_000455.4	1 to 9
FBXW7	NM_033632.2	2 to 12	MLH1	NM_000249.3	12	TP53	NM_000546.4	1 to 11
FGFR1	NM_023110.2	4;7;12;14;15	MLL3	NM_170606.2	8;9;43	TP53	NM_000546.4	2;4to8;10
FGFR2	NM_000141.4	7;9;12;14	MPL	NM_005373.2	1	TSC1	NM_000368.4	1 to 23
FGFR3	NM_000142.4	7;9;14;16;18	MTOR	NM_004958.3	1 to 58	TSC2	NM_000548.3	2 to 42
FGFR4	NM_002011.3	2 to 18	NF1	NM_001042492.	1 to 58	VHL	NM_000551.3	1 to 3

Tableau 2 : Panel NGS de MOSCATO-01

Gene	RefSeq	Exons	Gene	RefSeq	Exons	Gene	RefSeq	Exons
ABL1	NM_007313	1 to 11	FGFR3	NM_000142	2 to 19	PTCH1	NM_001083603	1 to 28
AKT1	NM_005163	4	FGFR4	NM_002011	2 to 18	PTEN	NM_000314	1 to 9
AKT2	NM_001626	2 to 14	GNAQ	NM_002072	5	RBI	NM_000321	1 to 27
ALK	NM_004304	1 to 29	HRAS	NM_005343	2 to 4	RET	NM_020975	1 to 20
APC	NM_001127511	1 to 15	IGF1R	NM_000875	1 to 4	ROR1	NM_005012	1 to 9
AXL	NM_021913	1 to 20	JAK2	NM_004972	1 to 25	ROR2	NM_004560	1 to 9
BRAF	NM_004333	15	JAK3	NM_000215	2 to 24	ROS1	NM_002944	1 to 43
BRCA1	NM_007294	2 to 24	KDR	NM_002253	1 to 30	RYK	NM_002958	1 to 15
BRCA2	NM_000059	2 to 27	KIT	NM_000222	1 to 21	SDHAF2	NM_017841	1 to 43
RAF1	NM_002880	1 to 17	KRAS	NM_004985	2 et 3 (+ 4)	SDHB	NM_003000	1 to 8
CDKN2A	NM_000077	1 to 3	MERTK	NM_006343	1 to 19	SDHC	NM_001035511	1 to 5
CSF1	NM_172212	1 to 9	MET	NM_001127500	2 to 21	SDHD	NM_003002	1 to 43
CSF1R	NM_005211	2 to 22	MPL	NM_005373	1 to 12	SMARCB1	NM_003073	1 to 9
DDB2	NM_000107	1 to 10	MST1R	NM_001244937	1 to 19	SMO	NM_005631	1 to 12
DDR1	NM_001202523	3 to 21	MTOR	NM_004958	1 to 58	SRC	NM_005417	4 to 14
DDR2	NM_006182	4 to 19	MUSK	NM_001166280	1 to 16	STK11	NM_000455	1 to 10
EGFR	NM_005228	19 to 21	NRAS	NM_002524	2 to 4	TEK	NM_000459	1 to 23
ERBB2	NM_004448	1 to 27	PDGFA	NM_033023	1 to 17	TIE1	NM_005424	1 to 23
FLT1	NM_002019	1 to 32	PDGFB	NM_002608	1 to 8	TP53	NM_000546	2 to 12
FLT3	NM_004119	1 to 24	PDGFRA	NM_006206	2 to 23	TSC1	NM_001162427	3 to 23
FLT4	NM_182925	1 to 30	PDGFRB	NM_002609	2 to 23	TSC2	NM_000548	2 to 42
FGFR1	NM_023106	4 to 21	PIK3CA	NM_006218	10 et 21	TYRO3	NM_006293	1 to 10
FGFR2	NM_000141	2 to 27	PIK3R1	NM_181523	2 to 16	VHL	NM_000551	1 to 9

Genes added in Panel V2 (October 2014)

Tableau 3 : Panel NGS de ProfiLER-01

Classification des anomalies moléculaires

Afin de donner un sens biologique et de regrouper les anomalies moléculaires retrouvées, celles-ci ont été classées selon les voies moléculaires définies par le TCGA¹²¹(Figure 7). Ce regroupement a pour objectif d'augmenter la puissance statistique des descriptions, devant l'hétérogénéité des présentations cliniques et la diversité des gènes responsables de la cancérogenèse.

Seuls les gènes impactés le plus fréquemment ont ensuite été retenus pour analyses spécifiques des gènes.

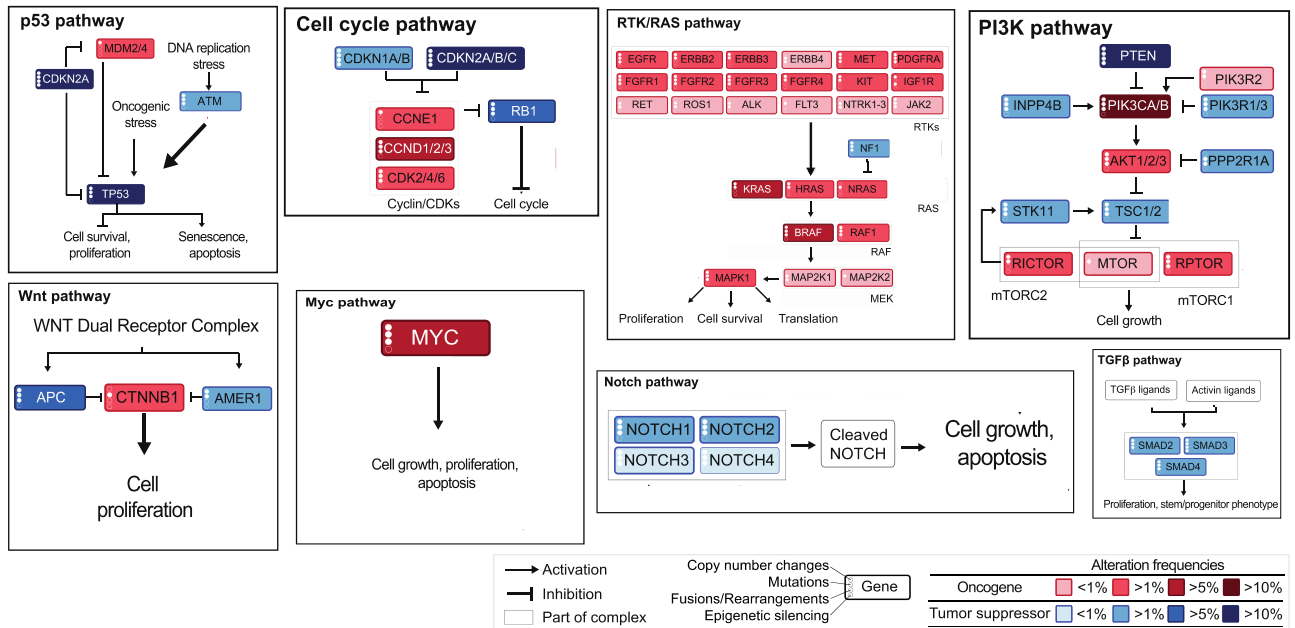


Figure 7 : Voies moléculaires du TCGA adaptées à notre panel (NB : pas de mutation de la voie Hippo ni nf2 dans notre cohorte, ces voies ont été supprimées de la figure pour plus de clarté), Source : *Sanchez-Vega, F. et al. Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. Cell 173, 321-337.e310, doi:10.1016/j.cell.2018.03.035 (2018).*

4. Analyses statistiques

Une description de la population a été réalisée. Les variables quantitatives ont été décrites sous forme de pourcentages. Les variables continues sont décrites sous forme de moyennes. Lorsqu'une comparaison était nécessaire, les variables catégorielles étaient comparées grâce au test du Chi2 ou de Fisher selon les cas, et les variables continues par un test de Student ou test Anova selon les cas.

L'étape descriptive en sous-groupe recherchait des associations entre des caractéristiques cliniques et moléculaires, notamment association des anomalies moléculaires avec :

- Le type de tissu biopsié : métastatique ou tumeur primitive
- Le type de sarcomes : STM, osseux ou GIST
- Les sous-types histologiques
- La génomique : complexe ou simple
- Le grade FNCLCC
- La présentation clinique initiale : métastatique d'emblée ou métastases métachrones
- La localisation primitive : par exemple, rétropéritonéale ou des membres
- Certaines localisations métastatiques : poumon, foie, péritoine, os
- Le type de première rechute : locale ou métastatique
- Association de certaines anomalies moléculaires ou voies moléculaires entre elles

La corrélation des différentes anomalies moléculaires entre elles a été faite en calculant les coefficients de corrélation.

La corrélation entre la présence des différentes anomalies moléculaires / voies moléculaires a été recherchée par le calcul du coefficient de corrélation de Pearson, et rapportée sous forme d'une matrice de corrélation.

Les analyses de survie ont été réalisées pour les critères de jugement suivants :

- survie globale à partir du diagnostic : entre la date du diagnostic initial et la date du décès
- survie globale à partir de la première métastase : entre la date du premier diagnostic de métastase et le décès
- survie sans maladie : uniquement pour les patients ayant été opérés et initialement localisés, entre la date du diagnostic initial et la première rechute, qu'elle soit métastatique ou loco-régionale
- survie sans progression : pour les patients ayant reçu un traitement par anthracyclines, entre la date du premier cycle de chimiothérapie et la date de progression sous anthracyclines.

Pour ces critères de jugement, les médianes de survie ont été calculées grâce à la méthode de Kaplan Meier, et les comparées à l'aide du test du log rank. Pour ces études de survie, des études de sous-groupes ont été faites selon le type de sarcomes (osseux, tissus mous ou GIST).

Les analyses ont été réalisées avec le logiciel RStudio. Toute valeur de $p \leq 0.05$ était considérée comme significative.

Résultats

1. Population étudiée

Un total de 235 patients a été inclus dans cette étude. Une majorité de patients étaient issus du Centre Léon Bérard (67,23%). Il y avait 52,77% de femmes (N=124) et 47,23% d'hommes (N=111). L'âge médian était de 46 ans. Les patients avaient eu un diagnostic initial de maladie localisée dans 74,25% (N=173). La taille médiane de la tumeur primitive au diagnostic était de 89mm, avec une moyenne de 101,59mm. La première rechute était métastatique dans 75,15% des cas (N=130). (Tableau 4)

<i>Co-variable étudiée</i>	Cohorte (N=235)	
<i>D'emblée métastatique</i>	Non	173 (74.25%)
	Oui	60 (25.75%)
	NA	2
<i>Localisation du primitif</i>	Abdo	51 (21.79%)
	Membres	76 (32.48%)
	ORL	15 (6.41%)
	Rétropéritonéale	21 (8.97%)
	Thorax	38 (16.24%)
	Uterus	33 (14.1%)
	NA	1
	<i>Première rechute</i>	Loco-régionale
Métastatique	130 (75,15%)	
	Pas de rechute	3 (1.73%)
<i>Présence de métastases</i>	Non	15 (6.41%)
	Oui	219 (93.59%)
	NA	1
<i>Métastases pulmonaires</i>	Non	85 (36.32%)
	Oui	149 (63.68%)
	NA	1
<i>Métastases hépatiques</i>	Non	175 (74.79%)
	Oui	59 (25.21%)
	NA	1
<i>Métastases péritonéales</i>	Non	194 (82.91%)
	Oui	40 (17.09%)
	NA	1
<i>Métastases osseuses</i>	Non	185 (79.06%)
	Oui	49 (20.94%)
	NA	1

Tableau 4 : Caractéristiques cliniques de la cohorte. NA= Non applicable

La majorité des patients avaient des STM (73,19%, N=172), 49 patients avaient des sarcomes osseux (20,85%) et 14 patients avaient des GIST (5,96%). La majorité des patients avaient des

sarcomes à génomique complexe soit 140 patients (59,57%) pour 95 patients avec des sarcomes à génomique simple (40,43%). 27 patients avaient des sarcomes de grade 1, 50 patients des sarcomes de grade 2 et 72 patients des sarcomes de grade 3. Le grade FNCLCC ne s'applique pas aux tumeurs osseuses, au GIST et aux STM utérins. La répartition des différentes histologies est représentée figure 8.

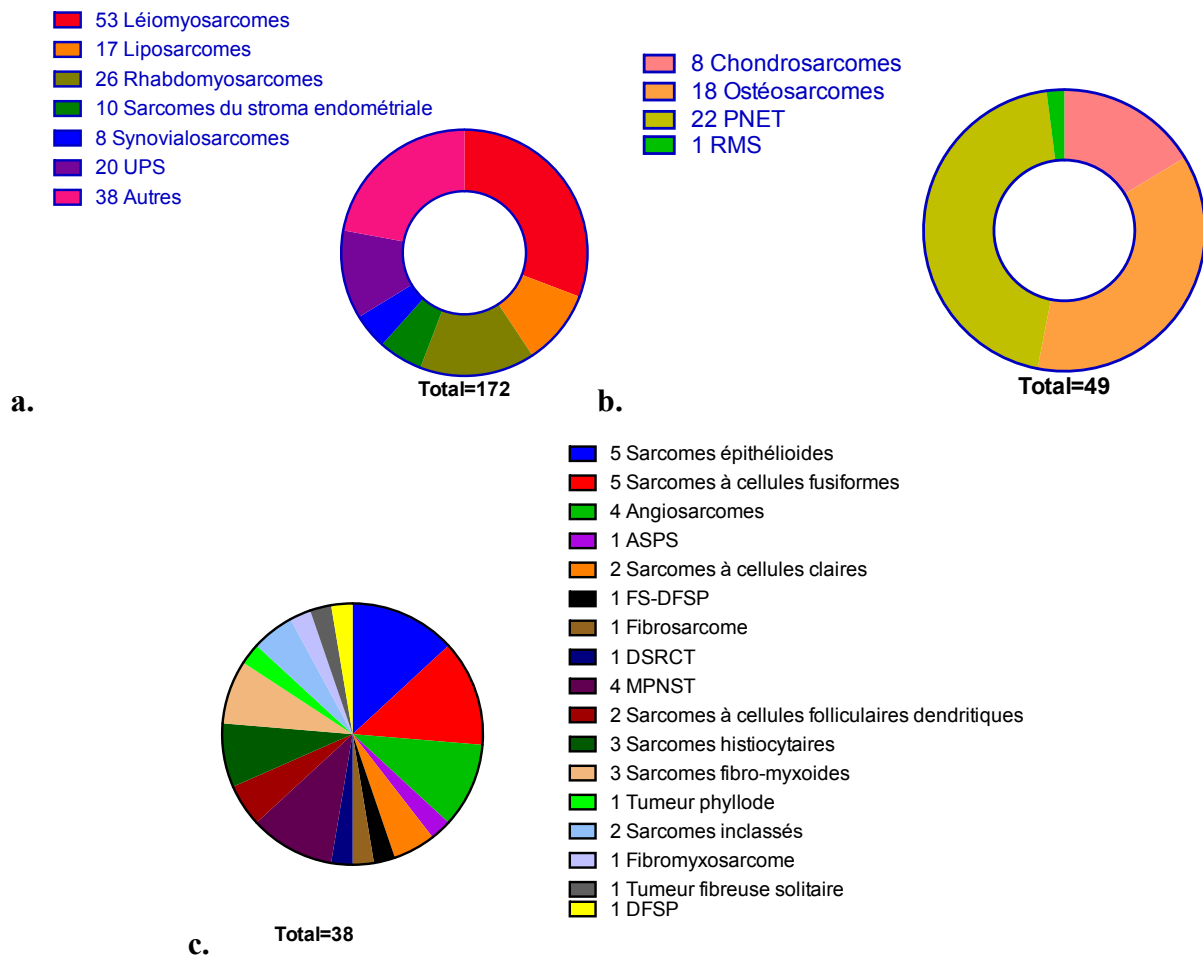


Figure 8 : Répartition des sous-types histologiques dans cette cohorte : a) Sarcomes des tissus mous, b) Tumeurs osseuses, c) STM regroupés dans la catégorie « autres » ; *ASPS* = sarcome alvéolaire des parties molles, *DSRCT* = sarcome desmoplastique à petites cellules rondes, *FS-DFSP* = dermatofibrosarcome protuberans transformé, *MPNST* = tumeur des gaines nerveuses périphériques, *DFSP* = dermatofibrosarcomes protuberans

La prise en charge de la tumeur primitive avait consisté en une exérèse dans 86,75% des cas (N=203), celle-ci avait été faite dans un centre de référence dans seulement 31,7% des cas (N=71). La résection était complète dans 46,89% des cas (N=98). Au stade métastatique, les patients avaient reçu en moyenne 4,1 lignes de traitements systémiques, avec une médiane de 4 lignes de traitements au total. Un traitement loco-régional des métastases a été entrepris chez 156 patients (67,83%). Les caractéristiques des traitements sont résumées dans le tableau 5.

<i>Co-variable étudiée</i>	Cohorte (N=235)	
<i>Exérèse de la tumeur primitive</i>	Non	31 (13.25%)
	Oui	203 (86.75%)
	NA	1
<i>Chirurgie en centre de référence</i>	NC	31 (13.84%)
	Network	71 (31.7%)
	Outside network	122 (54.46%)
	NA	11
<i>Marges de résection</i>	NC	31 (14.83%)
	R0	98 (46.89%)
	R1	43 (20.57%)
	R2	37 (17.7%)
	NA	26
<i>Radiothérapie du primitif</i>	Non	142 (60.68%)
	Oui	92 (39.32%)
	NA	1
<i>Chimiothérapie à visée curative</i>	Non	130 (55.56%)
	Oui	104 (44.44%)
	NA	1
<i>Traitement loco-régional des métastases</i>	Non	74 (32.17%)
	Oui	156 (67.83%)
	NA	5
<i>Nombre de lignes de traitements systémiques</i>	=<2	64 (27.59%)
	> 2	168 (72.41%)
	NA	3

Tableau 5 : Caractéristiques des traitements de la cohorte. NA= Non applicable, NC= Non connu

2. Description des anomalies moléculaires

Distribution des anomalies moléculaires

Le nombre d'anomalies moléculaires retrouvées au total était de 764. Parmi celles-ci, 456 était considérées comme significatives : 147 amplifications (32,24%), 188 délétions (41,23%) et 121 mutations délétères (26,53%). Les anomalies de nombre de copie sont prépondérantes par rapport aux mutations pathogènes.

Le nombre d'anomalies moléculaires retrouvées par échantillon était de 3,24 en moyenne, avec un écart-type de 3,86 et une médiane de 2 anomalies moléculaires par échantillon. Le nombre d'anomalies moléculaires classées comme significatives, c'est-à-dire pathogènes, était de 2,05 en moyenne, avec un écart-type de 2,24 et une médiane de 1. Sur notre cohorte et avec les techniques utilisées, 52 patients (22,12%) n'avaient aucune anomalie moléculaire identifiée et 72 patients (30,64%) n'avaient pas d'anomalie moléculaire pathogène identifiée. Dans nos

analyses, seules les anomalies moléculaires pathogènes ont été prises en compte. Sauf lorsque ceci est indiqué spécifiquement, le terme d'anomalie moléculaire fait référence uniquement aux anomalies délétères dans la suite de ce manuscrit (amplifications, délétions ou mutations pathogènes). Les gènes impactés le plus fréquemment étaient TP53, CDKN2A, RB1, CDK4, MDM2 et PTEN (Figure 9).

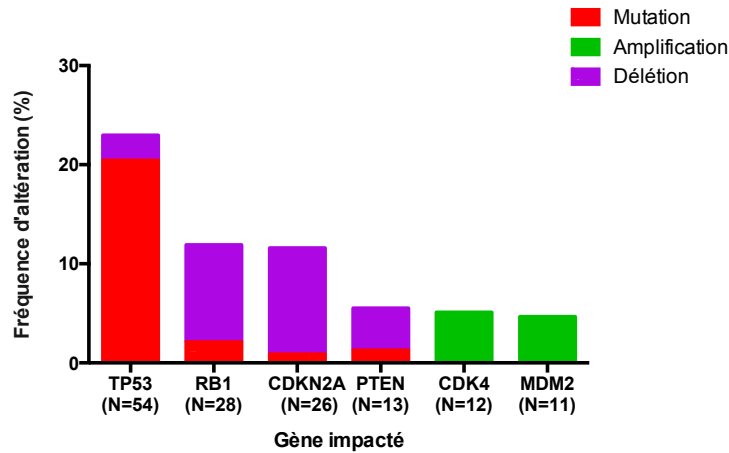


Figure 9 : Fréquence des anomalies moléculaires les plus fréquentes dans toute la cohorte

Sur les 456 anomalies significatives, 256 appartenait aux voies moléculaires du TCGA et ont pu être regroupées pour donner un sens biologique. Les voies moléculaires altérées étaient p53 dans 36,6% des tumeurs (N=86), le cycle cellulaire (Cell Cycle) dans 30,21% (N=71), les récepteurs aux tyrosines kinases (RTK) dans 21,28% (N=50), la voie des phosphoinositol-3-kinases (PI3K) dans 10,64% (N=25), la voie Wnt dans 2,1% de la cohorte (N=5), la voie NOTCH chez 2 patients puis les voies MYC et TGFB était chacune altérée chez un patient. (Figure 10)

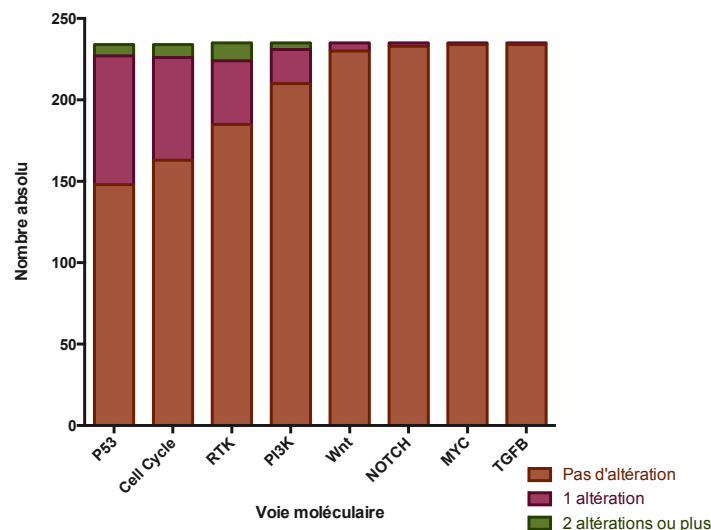


Figure 10 : Répartition des altérations dans les voies moléculaires du TCGA sur l'ensemble de la cohorte.

La voie p53 est principalement altérée par TP53 lui-même (N=54). Les anomalies les plus fréquentes dans la voie du cycle cellulaire sont RB1 (N=28) et CDKN2A (N=26). La voie des récepteurs aux tyrosines kinases (RTK) est la plus hétérogène, avec 28 gènes différents impactés, les plus fréquents étant KIT (N=8) et HRAS (N=7). Les délétions de PTEN sont les anomalies moléculaires principales retrouvées dans la voie des PI3K (N=13).

Les échantillons analysés étaient des métastases dans 51,28% des cas (N=120) et des tumeurs primitives dans 48,72% des cas (N=114). En ce qui concerne le type de tissu biopsié, il n'y a pas de différence significative concernant le nombre d'anomalies moléculaires entre la tumeur primitive et les métastases. Le nombre moyen d'anomalies moléculaires (pathogènes ou non) retrouvées dans les tissus métastatiques étaient de 3,27 alors qu'il était de 3,18 dans les tumeurs primitives ($p=0,844$). Il y avait 2,06 anomalies moléculaires pathogènes sur les biopsies de métastases contre 2,01 dans les biopsies de tumeur primitive ($p=0,865$). Aucune des voies moléculaires, ni des gènes étudiés ici n'a été retrouvé plus fréquemment sur un type de tissu, métastatique ou primitif.

Corrélation des anomalies moléculaires avec les données histologiques

Au vu des effectifs et de l'hétérogénéité, aucune analyse statistique par sous-groupe n'était réalisable pour étudier la distribution des anomalies moléculaires par sous-type histologique. On a donc regroupé les analyses en trois grands groupes de sarcomes : tumeurs osseuses, GIST et STM. La fréquence des altérations moléculaires les plus fréquemment retrouvées au sein des types de sarcomes est représentée dans la figure 11. CDKN2A et RB1 sont les anomalies retrouvées avec une différence statistiquement significative entre les types de sarcomes (respectivement, $p<0,001$ et $p=0,01$). On retrouve une altération de CDKN2A dans 50% des GIST (N=7, sur un total de 14 GIST). A l'inverse, on retrouve une anomalie de CDKN2A dans seulement 8,72% des STM (N=15 sur 172) et 8,16% des tumeurs osseuses (N=4 sur 49). RB1 n'est impacté dans aucun GIST de notre cohorte, alors qu'il est altéré dans 15,7% des STM (N=27) et seulement une tumeur osseuse (2,04%). MDM2 est exclusivement retrouvé dans les STM dans notre cohorte. En ce qui concerne les voies moléculaires, aucune différence statistiquement significative n'a été retrouvée entre les différents types de sarcomes.

Répartition des anomalies par type de sarcomes

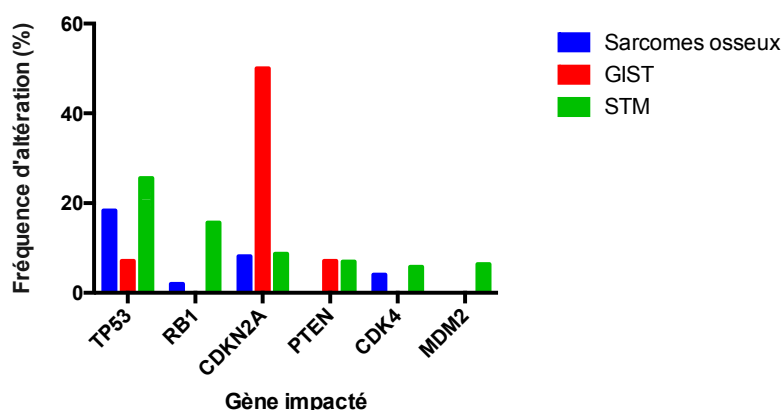


Figure 11 : Fréquence d'altérations au sein de chaque sous-type de sarcomes étudiés

Pour illustration de l'hétérogénéité au sein des sous-groupe de sarcomes, la figure 12 représente la fréquence d'altération de chaque mutation au sein de chacun des sous-types de STM étudiés. On note l'absence de mutation dans les six gènes étudiés pour les synoviosarcomes, qui sont des sarcomes à génomique simple. Il y a de même une faible fréquence d'anomalies moléculaires ici pour les rhabdomyosarcomes. Les fréquences de mutation les plus élevées sont TP53 dans les léiomyosarcomes (49,1%, N=26), CDK4 et MDM2 dans les liposarcomes (41,2%, N=7), résultats cohérents avec les données de la littérature et le sens biologique.

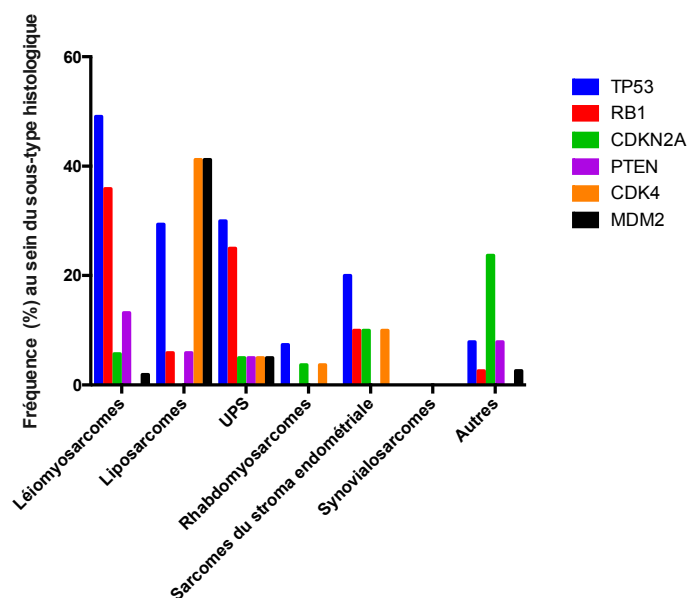


Figure 12 : Fréquence des altérations des gènes étudiés au sein de chaque sous-type histologique de STM.

En ce qui concerne l'étude de la corrélation avec le grade FNCLCC, on retrouve significativement plus d'altérations moléculaires par échantillon dans les sarcomes de haut grade ($p=0,041$) avec en moyenne 1,3 altérations significatives dans les sarcomes de grade 1, et respectivement 2,78 et 2,58 altérations dans les sarcomes de grade 2 et 3. Parmi les gènes

étudiés et les voies moléculaires analysées, la voie des RTK et de p53 sont significativement plus altérées dans les sarcomes de grade 2 et 3 (respectivement, $p=0,014$ et $p=0,031$).

Lorsqu'on s'intéresse à la génomique simple ou complexe, les sarcomes à génomique simple présentaient significativement moins d'altérations moléculaires significatives ($p=0,015$). La présence d'une mutation TP53 est plus fréquente dans les sarcomes à génomique complexe (27,86% des sarcomes à génomiques complexes, $N=39/140$) que les sarcomes à génomique simple (15,79%, $N=15/95$) ($p=0,031$). De manière générale et logique, on retrouve une augmentation de la fréquence des altérations dans les sarcomes à génomiques complexes, notamment pour RB1 ($p<0,001$) et la voie des PI3K ($p=0,008$).

Corrélation des anomalies moléculaires avec les présentations cliniques

Dans notre cohorte, 173 patients avaient une maladie initialement localisée et 60 présentaient des métastases au diagnostic. Aucun patient métastatique d'emblée ne présentait d'altération de CDK4 ($p=0,04$), ni de MDM2 ($p=0,07$), alors que les patients avec une maladie localisée initialement présentaient des anomalies de CDK4 dans 6,94% ($N=12$) et de MDM2 dans 6,36% des cas ($N=11$). Aucune autre voie moléculaire ni gène étudié n'était corrélé à la présence ou l'absence de métastases synchrones.

En termes de localisation primitive, RB1 est significativement plus fréquemment retrouvé dans les localisations utérines avec une fréquence de 33,33% versus 7,96% dans les autres localisations ($p<0,001$). TP53 est altéré dans 42,42% des sarcomes utérins ($N=14$ sur 33 sarcomes utérins dans notre cohorte) alors qu'une altération de TP53 est retrouvée dans 19,4% des autres localisations ($p=0,003$). La voie du cycle cellulaire est altérée dans 45,5% des sarcomes utérins et dans 27,86% des autres localisations ($p=0,04$).

On retrouve une fréquence moins élevée d'altérations de TP53 dans les sarcomes des membres comparés aux autres localisations avec 14,47% ($N=11$) contre 26,58% ($p=0,038$). De même, on retrouve une fréquence d'altérations de la voie p53 de 25% ($N=19$) dans les sarcomes de membres alors qu'elle est de 41,78% ($N=66$) dans les autres localisations ($p=0,012$).

Il y a une fréquence plus élevée d'altérations de CDK4 ($p=0,046$) et de MDM2 ($p=0,001$) dans les sarcomes rétro-péritonéaux, ce qui est attendu au vu de la prépondérance des liposarcomes rétro-péritonéaux avec amplification de MDM2 (Figure 13).

	TP53	RB1	CDKN2A	PTEN	CDK4	MDM2
Abdominal	21,6	7,84	17,65	9,8	3,9	1,9
Membres	14,5	9,21	6,58	2,63	5,3	5,26
ORL	20	0	20	0	6,7	0
Rétro-péritonéale	28,57	9,5	4,76	0	14,3	19,05
Thoracique	21,1	7,89	18,42	5,26	2,6	5,26
Utérus	42,42	33,33	3,03	12,12	3	12,12

Figure 13 : Fréquence des altérations moléculaires au sein des sarcomes en fonction de leurs localisations primitives. Les fréquences les plus élevées sont rouge et les moins élevées en vert.

Les premières rechutes étaient métastatiques chez 130 patients (75,15%) et loco-régionales dans 40 cas (23,12%). Trois patients n'ont pas rechuté pendant le suivi (2 rhabdomyosarcomes embryonnaires et un léiomyosarcome). Les rechutes métastatiques présentaient une altération de TP53 chez 30% des patients (N=39) alors qu'une anomalie de TP53 n'était présente que dans 7,5% des rechutes loco-régionales ($p=0,017$). On ne retrouve pas de corrélation entre les voies moléculaires étudiées et le type de rechute.

Gènes	Cohorte localisée N= 173 (Fréquence)	Rechute loco-régionale N=40 (Fréquence)	Rechute métastatique N=130 (Fréquence)	p-value
TP53	54 (31,21%)	3 (7,5%)	39 (30%)	0.017
CDKN2A	26 (15,02%)	7 (17,5%)	13 (9,95%)	0.362
RB1	28 (16,18%)	1 (2,5%)	22 (16,92%)	0.106
CDK4	12 (6,93%)	5 (12,5%)	7 (5,38%)	0.07
MDM2	11 (6,35%)	5 (12,5%)	6 (4,62%)	0.037
PTEN	13 (7,51%)	1 (2,5%)	10 (7,69%)	0.559

Tableau 6 : Corrélation entre le type de rechute et les anomalies moléculaires les plus fréquentes.

En ce qui concerne les localisations métastatiques, 149 patients (63,68%) ont développés des métastases pulmonaires au cours de l'évolution de leur maladie. La présence de métastases pulmonaires étaient corrélées aux anomalies de TP53 ($p=0,033$). Parmi les patients avec des métastases pulmonaires, 27,52% (N=40) avaient une altération de TP53, alors que celle-ci était présente chez 15,29% (N=13) des patients sans métastases pulmonaires. La voie des PI3K étaient significativement plus souvent impactée dans les maladies métastatiques pulmonaires avec une fréquence de 14,09% en présence de métastases pour une fréquence d'altération de

4,71% chez les patients en l'absence de mutation de la voie des PI3K (p=0,025). A l'inverse, la présence d'une anomalie de CDKN2A était retrouvée chez 8,05% (N=12) des patients avec métastases pulmonaires et chez 16,47% (N=14) des patients ne présentant pas de métastases pulmonaires (p=0,049).

Dans notre cohorte, 59 patients (25,21%) ont développé des métastases hépatiques au cours du suivi. La présence de métastases hépatiques était fortement corrélée à une altération de TP53 (p=0,008). Celle-ci était présente chez 35,59% des patients avec métastases hépatiques (N=21) contre 18,86% des patients sans maladie hépatique (N=33). CDK4 n'était altéré chez aucun patient présentant des métastases hépatiques, alors qu'une altération de CDK4 était retrouvée chez 6,86% des patients en l'absence de métastases hépatiques (p=0,04).

Aucune corrélation n'a été retrouvée entre la présence de métastases osseuses et les différentes altérations moléculaires pour les 49 patients présentant des métastases osseuses.

Dans notre étude, 40 patients (17,09%) avaient des métastases péritonéales. Parmi eux, 10% (N=4) présentaient une altération de la voie des RTK alors que 23,71% (N=46) du reste de la population présentaient une altération de cette voie. L'association avec l'absence d'altération était particulièrement significative lorsqu'on prenait en compte le nombre d'altération sur la voie par échantillons tumoraux (p=0,002), les tumeurs ne présentant pas de métastases péritonéales présentaient plus fréquemment de multiples altérations sur la voie des RTK. De même, il n'y avait aucune altération de la voie Wnt chez les patients avec une maladie péritonéale (p=0,025).

	TP53	RB1	CDKN2A	PTEN	CDK4	MDM2
Poumon	27,5	13,4	8,1	6,71	4,7	4,1
Foie	35,6	15,3	11,9	10,2	0	1,7
Péritoine	15	10	17,5	2,5	7,5	7,5
Os	22,5	12,2	6,1	6,1	2,04	0

a.

	P53	Cell Cycle	RTK	PI3K	Wnt	NOTCH	MYC	TGFB
Poumon	36,9	28,9	23,5	14,1	2,7	1,3	0	0,7
Foie	45,8	27,1	22	13,6	3,4	0	0	0
Péritoine	40	40	10	5	0	0	0	0
Os	26,5	22,4	18,4	10,2	2	0	0	0

b.

Figure 14 : Fréquence des altérations moléculaires en fonction de la présence de métastases dans les localisations étudiées.

Corrélation des anomalies moléculaires

La corrélation la plus forte entre les gènes étudiés est entre CDK4 et MDM2 (coefficient de corrélation=0,68). Cette corrélation est expliquée par la biologie car ces 2 gènes sont situés dans la même région chromosomique et sont fréquemment co-altérés. Ainsi dans notre cohorte, 66,66% des tumeurs présentant une altération de CDK4 présentaient également une amplification de MDM2 ($p < 0,001$). De même, 72,73% des patients présentant une anomalie de MDM2 présentaient une altération de CDK4 ($p < 0,001$).

On retrouve une corrélation faible entre RB1 et TP53 (coefficient de corrélation=0,39). Parmi les 54 sarcomes présentant une altération de TP53, 19 d'entre eux présentaient également une anomalie de RB1 soit 35,19%, alors que parmi les tumeurs sans altération de TP53, seulement 4,97% (N=9/181) présentaient une altération de RB1 ($p < 0,001$). De même, parmi les 28 sarcomes présentant une altération de RB1, 19 d'entre eux présentaient également une altération de TP53 (67,86%), alors que parmi les 207 patients sans anomalie de RB1, 35 présentaient une mutation de TP53 (16,91%) ($p < 0,001$). Cette corrélation est également retrouvée entre TP53 et la présence d'une altération dans la voie du cycle cellulaire, dont nous avons précédemment décrit que RB1 était un composant majoritaire. Parmi les 54 tumeurs avec une altération de TP53, 25 présentaient également une altération de la voie du cycle cellulaire soit 46,29%, alors que 25,97% des sarcomes sans altérations de TP53 présentaient une anomalie du cycle cellulaire ($p = 0,004$).

Le même type d'association est retrouvé pour la co-occurrence des anomalies de TP53 et PTEN ($p = 0,041$), avec une association entre TP53 et la voie des PI3K ($p = 0,008$), avec des effectifs et

des proportions moins importants : 6 tumeurs altérées PTEN sur les 13 présentaient une anomalie de TP53 (soit 46,15% versus 21,62% de mutations TP53 en l'absence d'altération de PTEN). On note l'absence de corrélation entre les altérations de PTEN et la voie p53 ($p=0,055$).

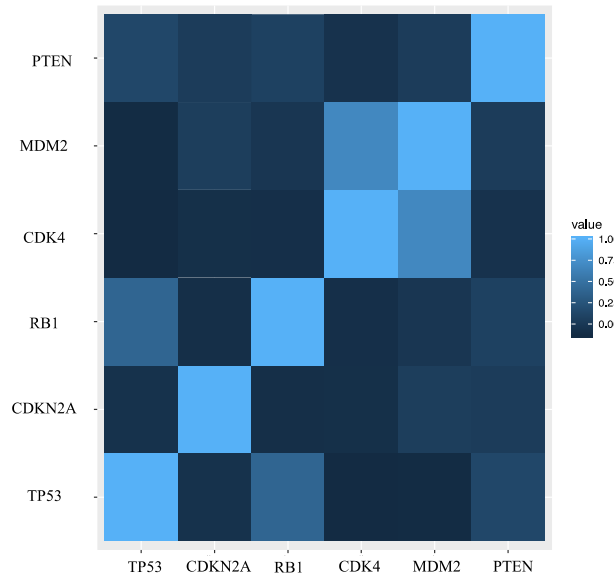


Figure 15 : Heat maps des gènes étudiés, représentant les coefficients de corrélation entre les gènes impactés.

Les corrélations des différentes voies moléculaires entre elles sont représentées sur la figure 16. On retrouve une corrélation entre la voie TP53 et celle du cycle cellulaire, avec un coefficient de corrélation de 0,576.

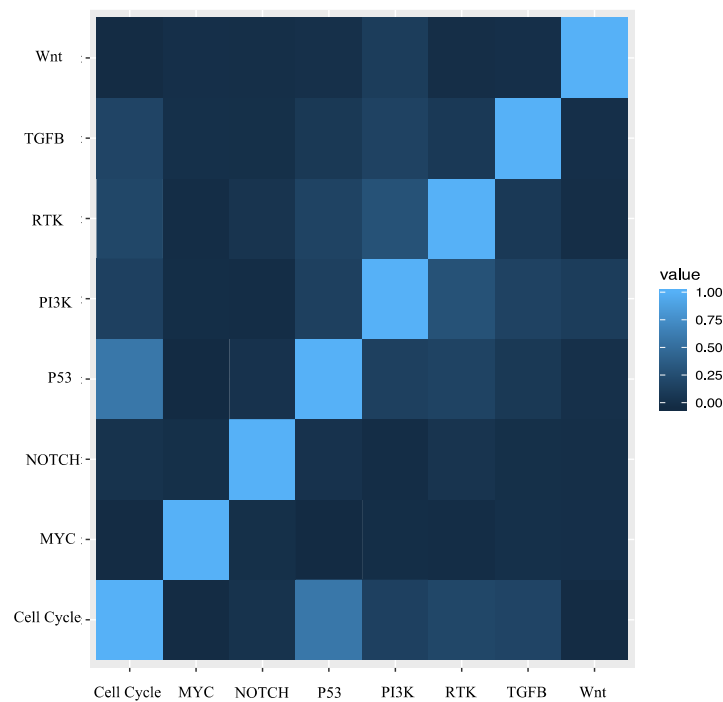


Figure 16 : Heat maps des voies moléculaires étudiées

3. Etudes de survie

Dans la cohorte entière, on retrouve une survie globale médiane à partir du diagnostic de 51,2 mois (IC95%=45,8-59,5). A partir du diagnostic de maladie métastatique, la survie globale médiane est de 31,2 mois (IC95%=26,6-36,4). Pour les maladies initialement localisées, on retrouve une SSM de 15,7 mois (IC95%=13,4-18,8).

Les études de survie retrouvent un impact pronostic sur la survie globale à partir du diagnostic initial dans les sarcomes ayant une mutation de TP53 ($p=0,05$). La médiane de survie globale est de 56,1 mois chez les patients ne présentant pas de mutation de TP53, alors qu'elle est de 44,9 mois dans les maladies avec altération de TP53. (Figure 17)

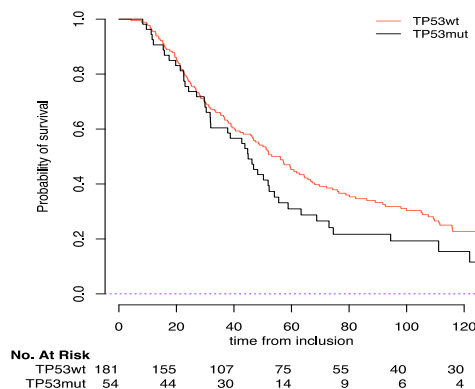


Figure 17 : Survie globale dans toute la cohorte en fonction de la présence d'une mutation TP53

Pour les patients qui avaient initialement une maladie localisée, la SSM était significativement plus courte si une mutation de TP53 était présente avec une SSM de 13,3 mois contre 17 mois ($p=0,01$).

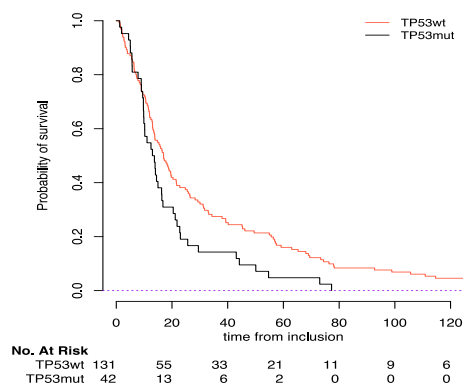


Figure 18 : Survie sans maladie chez les patients avec une maladie initialement localisée en fonction de la présence d'une mutation TP53

Aucune altération ni voie moléculaire ne semble avoir d'impact pronostic sur la survie globale à partir du stade métastatique. Notamment, la survie globale à partir du diagnostic de métastases était en médiane de 31,0 mois et 32,9 mois dans les maladies respectivement sans ou avec présence d'une altération de TP53 ($p=0,6$).

A visée exploratoire, nous avons fait des études de survie au sein des trois groupes de sarcomes (GIST, STM et tumeurs osseuses). Pour les STM initialement localisés, la SSM était significativement meilleure en l'absence d'anomalies de TP53, avec une SSM médiane de 15,9 mois contre 12,7 mois en présence d'une mutation TP53 ($p=0,04$). Nous n'avons pas retrouvé de différence en survie globale pour les STM en fonction de la présence ou non d'une altération de TP53 ($p=0,5$).

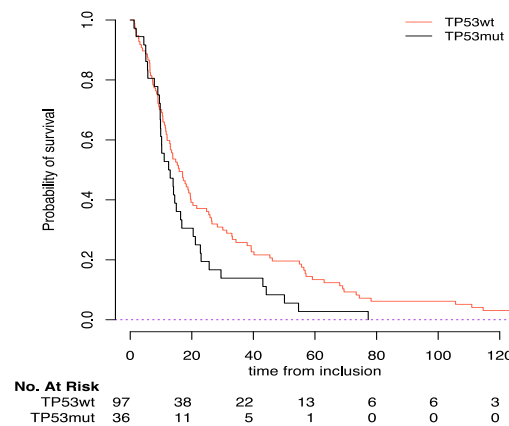


Figure 19 : Survie sans maladie chez les patients avec un STM initialement localisé en fonction de la présence d'une mutation TP53

Bien que non significatif, on retrouve une tendance à une SSM d'autant plus diminuée que le nombre d'altérations de la voie p53 est important (Figure 20).

Survie sans maladie en fonction des altérations de la voie P53

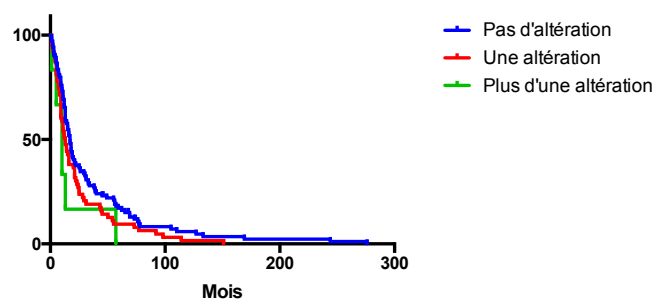


Figure 20 : Survie sans maladie chez les patients avec une maladie initialement localisée en fonction du nombre d'altérations de la voie p53

4. Traitement par anthracyclines

Un traitement par anthracyclines a été nécessaire chez 85,41% des patients (N=199). Ce traitement a été délivré dans un cadre adjuvant dans 10,55% des cas (N=21), dans un contexte néo-adjuvant dans 21,61% des cas (N=43) et à l'encontre d'une maladie métastatique dans 67,84% des cas (N=135). Il a été prescrit en monothérapie dans 23,12% des cas (N=46) et en polychimiothérapie chez 153 patients (76,88%).

Le taux de réponse globale était de 38,79%, soit une réponse observée chez 64 patients. La survie sans progression médiane sous anthracyclines était de 9,69 mois (IC95%=8,05-11,47). Aucune anomalie moléculaire n'a été corrélée à la réponse sous anthracyclines ni à la survie sans progression sous anthracyclines.

Discussion

1. Limites de notre étude

Notre travail a consisté à implémenter rétrospectivement les données cliniques de deux essais cliniques dont l'objectif était le profilage moléculaire de tumeurs à un stade avancé. Ceci a eu pour effet un biais de sélection de tumeurs ayant déjà eu les lignes thérapeutiques standards avec des patients toujours aptes à être inclus dans un essai thérapeutique. On constate ce biais de recrutement par un pronostic particulièrement favorable des patients inclus dans notre analyse. Le nombre médian de lignes thérapeutiques systémiques reçues est de 4, alors que dans la pratique clinique le nombre médian de lignes thérapeutiques total est de 3⁹⁴. On observe également une proportion importante de patients ayant bénéficié du traitement loco-régional des métastases (>60%). La survie globale médiane au stade métastatique est de 31,2 mois dans notre étude, alors qu'il est aux alentours de 20 mois en pratique clinique. Ceci se traduit également dans la répartition des sous-types histologiques, avec peu d'UPS et une représentation importante notamment des sarcomes du stroma endométrial. Notre cohorte a de ce fait dans son ensemble un pronostic significativement meilleur qu'attendu dans une cohorte de sarcomes traités hors essai.

Les panels NGS réalisés dans ces essais ne contiennent pas certaines anomalies qui sont désormais décrites, notamment des anomalies épigénétiques. Par ailleurs les techniques de aCGH et panels NGS n'ont pas d'aussi bonnes performances diagnostiques que le séquençage complet des ARN messagers (RNAseq) ou le séquençage complet des exomes. Cependant, ces techniques sont actuellement réservées à la recherche et ne peuvent être généralisées à la pratique clinique de routine.

L'hétérogénéité des présentations cliniques, des sous-types histologiques et des prises en charge rend difficile les analyses statistiques dans tous projets de recherche dans le domaine des sarcomes. Cependant, même en l'absence de puissance significative, notre travail est le premier à décrire les présentations cliniques (notamment localisations primitives et métastatiques) en fonction des anomalies moléculaires tumorales.

Afin de limiter l'hétérogénéité, nous avons regroupé les voies moléculaires et certaines entités cliniques entre elles, en essayant de donner un sens au nombre important de données cliniques et moléculaires.

En termes de description moléculaire, les gènes retrouvés mutés le plus fréquemment dans notre cohorte sont cohérents et retrouvés dans les mêmes proportions que les données de la littérature, donnant une validité externe à nos analyses¹⁰⁴.

2. Description moléculaire

Au sein d'une cohorte de 235 patients traités pour des sarcomes avancés, nous retrouvons que les gènes le plus fréquemment mutés sur nos panels NGS sont TP53, RB1 et CDKN2A. Comparativement aux données moléculaires du TCGA dans les sarcomes, ATRX n'était présent dans aucun de nos deux panels et la fréquence dans notre cohorte n'est donc pas connue. Les voies moléculaires du TCGA le plus souvent impactées sont la voie de p53, la voie du cycle cellulaire et la voie des récepteurs aux tyrosines kinases. CDKN2A et RB1 appartenant à la voie du cycle cellulaire, et p53 à sa propre voie, ces données sont cohérentes.

RB1 est statistiquement significativement plus souvent exprimés dans les STM et CDKN2A dans les GIST. Nous avons pu décrire pour les léiomyosarcomes, les liposarcomes, les UPS, les synoviosarcomes, les sarcomes du stroma endométrial et les rhabdomyosarcomes une fréquence d'altération des gènes TP53, CDKN2A, RB1, CDK4, MDM2 et PTEN. Il est cohérent de retrouver une fréquence élevée d'anomalies de CDK4 et MDM2 au sein des liposarcomes dont l'amplification constitue l'anomalie driver. Nous avons classifié 764 anomalies moléculaires selon les voies moléculaires du TCGA et décrit pour chacun des sous-types histologiques sus-mentionnés la distribution des altérations dans ces voies.

Nous avons corrélé les données moléculaires et cliniques pour décrire des fréquences d'altérations dans les gènes les plus fréquemment mutés et les voies moléculaires du TCGA en fonction des localisations primitives et métastatiques.

Enfin, nous avons pu retrouver des corrélations entre certains gènes mutés et certaines voies moléculaires entre elles. La corrélation entre CDK4 et MDM2 est déjà décrite, et confirme la validité externe de nos données. Nous retrouvons une corrélation entre RB1 et TP53, ainsi

qu'entre la voie du cycle cellulaire et de p53. Celle-ci est cohérente au vu de l'interaction biologique entre CDKN2A et TP53 et l'interaction entre CDKN2A et RB1. La co-occurrence de ces mutations avaient déjà été décrites au sein d'une cohorte de sarcomes et pourrait être intéressante à comprendre sur le plan de l'oncogenèse des sarcomes.

3. Etude de survie et prédictive

A visée exploratoire, nous avons recherché un impact pronostic de certaines mutations sur notre cohorte. Nous retrouvons un impact pronostic défavorable en survie globale et en survie sans maladie de la présence d'une mutation TP53. Nos données sont rétrospectives et la cohorte sur laquelle nous avons travaillé n'avait pas été construite pour explorer ce point. Ces analyses préliminaires pourraient être explorées en comparant une cohorte de patients récidivants à une cohorte de patients non récidivants.

Nos recherches d'impact prédictif n'ont pas retrouvé d'anomalies moléculaires corrélées à la réponse sous anthracyclines. L'hétérogénéité des prises en charge limite toute extrapolation de nos résultats. Dans notre cohorte, 85,41% des patients avaient reçus un traitement par anthracyclines (N=199), dont 67,84% en phase métastatique, 21,61% en phase néo-adjuvante et 10,55% en adjuvant. La majorité des patients avait reçu un traitement de polychimiothérapie. Notre cohorte comportant des sous-types histologiques très différents avec des sensibilités à la chimiothérapie très hétérogènes, il était peu probable de trouver une anomalie statistiquement corrélée à la réponse ou la survie sans progression sous anthracyclines. A visée purement descriptive, sans significativité statistique, il est intéressant de noter que le taux de réponse aux anthracyclines dans notre cohorte était de 50% (N=18/36) en cas de mutation TP53, alors qu'il était de 35,66% (N=46/129) en l'absence de mutation de TP53.

4. Le rôle de TP53

TP53 est l'anomalie moléculaire la plus fréquente retrouvée dans les sarcomes. C'est également la voie moléculaire la plus fréquemment impactée. Elle est corrélée dans notre étude à plusieurs facteurs de mauvais pronostics : haut grade, rechute métastatique, métastases hépatiques. Il est intéressant de noter son interaction avec la voie du cycle cellulaire. Notre étude ne permet pas

de dire si la présence d'une co-occurrence dans la voie p53 et la voie du cycle cellulaire ou d'une mutation RB1 et de TP53 apporte une information pronostic significative.

TP53 est bien connu comme facteur de mauvais pronostic dans d'autres sous-types histologiques¹²². De façon intéressante, il est notamment décrit comme facteur de mauvais pronostic pour les tumeurs localisées, avec une survie sans rechute diminuée. Dans notre étude, la SSM et la survie globale au diagnostic sont diminuées en cas de présence d'une mutation TP53, mais pas la survie globale à partir du diagnostic de métastases. Nous suggérons que la diminution de la survie globale est liée à l'impact pronostic au stade localisé essentiellement. Par ailleurs, la corrélation entre TP53 et la rechute plus fréquemment métastatique que loco-régionale est également cohérente avec d'autres études dans d'autres sous-types tumoraux¹²³. Notre étude suggère un rôle potentiel métastasant de TP53, cohérent biologiquement avec d'autres sous-types histologiques.

Par ailleurs, bien que notre étude ne permette pas de conclure à ce sujet, il a été décrit dans les tumeurs du sein une sensibilité accrue aux anthracyclines dans les tumeurs présentant une mutation de TP53¹²⁴⁻¹²⁶. Ces observations sont biologiquement cohérentes, TP53 ayant un rôle de gardien du génome. En l'absence de protéine TP53 fonctionnelle, on peut imaginer une génotoxicité plus importante des drogues de chimiothérapies, et donc une meilleure réponse aux traitements.

Enfin, il est notable que TP53 est une protéine dont l'atteinte est facilement caractérisable à bas coût par immunohistochimie, avec une bonne reproductibilité¹²⁷.

Nos résultats nécessitent évidemment des confirmations par d'autres cohortes, notamment prospectives, au vu des limitations précédemment évoquées. Cependant, nous suggérons un impact pronostic, spécialement en termes de rechute métastatique, d'une mutation de TP53. Il pourrait être intéressant, de regarder si on retrouve également un impact prédictif de réponse à la chimiothérapie par anthracyclines. Si tel est le cas, une étude prospective randomisée pourrait s'intéresser au rôle de la chimiothérapie péri-opératoire en cas de mutation TP53.

Conclusion

Notre travail est la première description corrélant les répartitions des mutations les plus fréquentes et des voies moléculaires du TCGA impactées dans les sarcomes aux caractéristiques cliniques sur une cohorte aussi large. Notre travail suggère une corrélation entre la voie p53 et celle du cycle cellulaire, qu'il serait intéressant d'explorer sur le plan biologique de la carcinogenèse. Notre étude suggère également un impact pronostic de la présence des mutations TP53 dans les sarcomes. Cette donnée nécessite une validation prospective. Ces deux derniers points pourraient en outre avoir des implications thérapeutiques s'ils sont confirmés. Nos descriptions moléculaires sont cohérentes avec les données de la littérature, donnant une validité externe à ceux-ci.

Bibliographie

- 1 Stiller, C. A. *et al.* Descriptive epidemiology of sarcomas in Europe: report from the RARECARE project. *Eur J Cancer* **49**, 684-695, doi:10.1016/j.ejca.2012.09.011 (2013).
- 2 Fletcher CDM, B. J., Hogendoorn PCW, Mertens F. *WHO Classification of Tumours of Soft Tissue and Bone WHO Classification of Tumours, 5th Edition, Volume 3.* (2020).
- 3 Burningham, Z., Hashibe, M., Spector, L. & Schiffman, J. D. The epidemiology of sarcoma. *Clin Sarcoma Res* **2**, 14, doi:10.1186/2045-3329-2-14 (2012).
- 4 Hemming, M. L., Heinrich, M. C., Bauer, S. & George, S. Translational insights into gastrointestinal stromal tumor and current clinical advances. *Ann Oncol* **29**, 2037-2045, doi:10.1093/annonc/mdy309 (2018).
- 5 Gaspar, N. *et al.* Évolution de la prise en charge des sarcomes de l'enfant et de l'adolescent. *Oncologie* **18**, 216-229, doi:10.1007/s10269-016-2610-z (2016).
- 6 Toro, J. R. *et al.* Incidence patterns of soft tissue sarcomas, regardless of primary site, in the surveillance, epidemiology and end results program, 1978-2001: An analysis of 26,758 cases. *Int J Cancer* **119**, 2922-2930, doi:10.1002/ijc.22239 (2006).
- 7 Penel, N. *et al.* Presentation and outcome of frequent and rare sarcoma histologic subtypes: A study of 10,262 patients with localized visceral/soft tissue sarcoma managed in reference centers. *Cancer* **124**, 1179-1187, doi:10.1002/cncr.31176 (2018).
- 8 Casali, P. G. *et al.* Soft tissue and visceral sarcomas: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* **29**, iv268-iv269, doi:10.1093/annonc/mdy321 (2018).
- 9 Casali, P. G. *et al.* Bone sarcomas: ESMO-PaedCan-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* **29**, iv79-iv95, doi:10.1093/annonc/mdy310 (2018).
- 10 Casali, P. G. *et al.* Gastrointestinal stromal tumours: ESMO-EURACAN Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* **29**, iv68-iv78, doi:10.1093/annonc/mdy095 (2018).
- 11 Blay, J. Y. *et al.* Surgery in reference centers improves survival of sarcoma patients: a nationwide study. *Ann Oncol* **30**, 1407, doi:10.1093/annonc/mdz170 (2019).
- 12 Blay, J. Y. *et al.* Improved survival using specialized multidisciplinary board in sarcoma patients. *Ann Oncol* **28**, 2852-2859, doi:10.1093/annonc/mdx484 (2017).
- 13 Link, M. P. *et al.* The Effect of Adjuvant Chemotherapy on Relapse-Free Survival in Patients with Osteosarcoma of the Extremity. *New England Journal of Medicine* **314**, 1600-1606, doi:10.1056/nejm198606193142502 (1986).
- 14 Link, M. P. *et al.* Adjuvant chemotherapy of high-grade osteosarcoma of the extremity. Updated results of the Multi-Institutional Osteosarcoma Study. *Clinical orthopaedics and related research*, 8-14 (1991).
- 15 Eilber, F. *et al.* Adjuvant chemotherapy for osteosarcoma: a randomized prospective trial. *Journal of Clinical Oncology* **5**, 21-26, doi:10.1200/jco.1987.5.1.21 (1987).

- 16 Bramer, J. A. M., van Linge, J. H., Grimer, R. J. & Scholten, R. J. P. M. Prognostic factors in localized extremity osteosarcoma: A systematic review. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)* **35**, 1030-1036, doi:10.1016/j.ejso.2009.01.011 (2009).
- 17 Picci, P. *et al.* Relationship of chemotherapy-induced necrosis and surgical margins to local recurrence in osteosarcoma. *Journal of Clinical Oncology* **12**, 2699-2705, doi:10.1200/jco.1994.12.12.2699 (1994).
- 18 Bielack, S. S. *et al.* Prognostic Factors in High-Grade Osteosarcoma of the Extremities or Trunk: An Analysis of 1,702 Patients Treated on Neoadjuvant Cooperative Osteosarcoma Study Group Protocols. *Journal of Clinical Oncology* **20**, 776-790, doi:10.1200/jco.2002.20.3.776 (2002).
- 19 Huvos - Rosen, G., Rosen - Marcove, R. C. & Marcove, R. C. Primary osteogenic sarcoma: pathologic aspects in 20 patients after treatment with chemotherapy en bloc resection, and prosthetic bone replacement.
- 20 Rosen G Fau - Caparros, B. *et al.* Preoperative chemotherapy for osteogenic sarcoma: selection of postoperative adjuvant chemotherapy based on the response of the primary tumor to preoperative chemotherapy.
- 21 Bacci, G. *et al.* Primary chemotherapy and delayed surgery for nonmetastatic osteosarcoma of the extremities. Results in 164 patients preoperatively treated with high doses of methotrexate followed by cisplatin and doxorubicin. *Cancer* **72**, 3227-3238, doi:10.1002/1097-0142(19931201)72:11<3227::aid-cncr2820721116>3.0.co;2-c (1993).
- 22 Ferrari, S. *et al.* Sex- and Age-Related Chemotherapy Toxicity in Patients with Non-Metastatic Osteosarcoma. *Journal of Chemotherapy* **21**, 205-210, doi:10.1179/joc.2009.21.2.205 (2013).
- 23 Assi, H. *et al.* Intensive induction chemotherapy without methotrexate in adult patients with localized osteosarcoma: results of the Institut Gustave-Roussy phase II trial. *Current Oncology* **17**, doi:10.3747/co.v17i6.578 (2010).
- 24 Ferrari, S. *et al.* Neoadjuvant Chemotherapy With High-Dose Ifosfamide, High-Dose Methotrexate, Cisplatin, and Doxorubicin for Patients With Localized Osteosarcoma of the Extremity: A Joint Study by the Italian and Scandinavian Sarcoma Groups. *Journal of Clinical Oncology* **23**, 8845-8852, doi:10.1200/jco.2004.00.5785 (2005).
- 25 Le Deley, M.-C. *et al.* SFOP OS94: A randomised trial comparing preoperative high-dose methotrexate plus doxorubicin to high-dose methotrexate plus etoposide and ifosfamide in osteosarcoma patients. *European Journal of Cancer* **43**, 752-761, doi:10.1016/j.ejca.2006.10.023 (2007).
- 26 Gaspar, N. *et al.* Results of methotrexate-etoposide-ifosfamide based regimen (M-EI) in osteosarcoma patients included in the French OS2006/sarcome-09 study. *European Journal of Cancer* **88**, 57-66, doi:10.1016/j.ejca.2017.09.036 (2018).
- 27 Piperno-Neumann, S. *et al.* Zoledronate in combination with chemotherapy and surgery to treat osteosarcoma (OS2006): a randomised, multicentre, open-label, phase 3 trial. *The Lancet Oncology* **17**, 1070-1080, doi:10.1016/s1470-2045(16)30096-1 (2016).
- 28 Kager, L. *et al.* Primary Metastatic Osteosarcoma: Presentation and Outcome of Patients Treated on Neoadjuvant Cooperative Osteosarcoma Study Group Protocols. *Journal of Clinical Oncology* **21**, 2011-2018, doi:10.1200/jco.2003.08.132 (2003).

- 29 Song, K. *et al.* Survival analysis of patients with metastatic osteosarcoma: a Surveillance, Epidemiology, and End Results population-based study. *International Orthopaedics* **43**, 1983-1991, doi:10.1007/s00264-019-04348-4 (2019).
- 30 Watson, S. *et al.* Transcriptomic definition of molecular subgroups of small round cell sarcomas. *The Journal of Pathology* **245**, 29-40, doi:10.1002/path.5053 (2018).
- 31 Kawamura-Saito, M. *et al.* Fusion between CIC and DUX4 up-regulates PEA3 family genes in Ewing-like sarcomas with t(4;19)(q35;q13) translocation. *Human Molecular Genetics* **15**, 2125-2137, doi:10.1093/hmg/ddl136 (2006).
- 32 Pierron, G. *et al.* A new subtype of bone sarcoma defined by BCOR-CCNB3 gene fusion. *Nature Genetics* **44**, 461-466, doi:10.1038/ng.1107 (2012).
- 33 Antonescu, C. R. *et al.* Sarcomas With CIC-rearrangements Are a Distinct Pathologic Entity With Aggressive Outcome. *The American Journal of Surgical Pathology* **41**, 941-949, doi:10.1097/pas.0000000000000846 (2017).
- 34 Yamada, Y. *et al.* Histological and immunohistochemical characteristics of undifferentiated small round cell sarcomas associated with CIC-DUX4 and BCOR-CCNB3 fusion genes. *Virchows Archiv* **470**, 373-380, doi:10.1007/s00428-017-2072-8 (2017).
- 35 Schuck, A. *et al.* Local therapy in localized Ewing tumors: results of 1058 patients treated in the CESS 81, CESS 86, and EICESS 92 trials. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics* **55**, 168-177, doi:10.1016/s0360-3016(02)03797-5 (2003).
- 36 Duchman, K. R., Gao, Y. & Miller, B. J. Prognostic factors for survival in patients with Ewing's sarcoma using the surveillance, epidemiology, and end results (SEER) program database. *Cancer Epidemiology* **39**, 189-195, doi:10.1016/j.canep.2014.12.012 (2015).
- 37 Amer, K. M., Munn, M., Congiusta, D., Abraham, J. A. & Basu Mallick, A. Survival and Prognosis of Chondrosarcoma Subtypes: SEER Database Analysis. *Journal of Orthopaedic Research* **38**, 311-319, doi:10.1002/jor.24463 (2019).
- 38 Huang, R. *et al.* Identifying the Prognosis Factors and Predicting the Survival Probability in Patients with Non-Metastatic Chondrosarcoma from the SEER Database. *Orthopaedic Surgery* **11**, 801-810, doi:10.1111/os.12521 (2019).
- 39 Le Cesne, A. *et al.* Doxorubicin-based adjuvant chemotherapy in soft tissue sarcoma: pooled analysis of two STBSG-EORTC phase III clinical trials. *Annals of Oncology* **25**, 2425-2432, doi:10.1093/annonc/mdu460 (2014).
- 40 Blay, J. Y. *et al.* Surgery in reference centers improves survival of sarcoma patients: a nationwide study. *Ann Oncol* **30**, 1143-1153, doi:10.1093/annonc/mdz124 (2019).
- 41 Pisters, P. W. *et al.* Long-term results of a prospective randomized trial of adjuvant brachytherapy in soft tissue sarcoma. *Journal of Clinical Oncology* **14**, 859-868, doi:10.1200/jco.1996.14.3.859 (1996).
- 42 Yang, J. C. *et al.* Randomized prospective study of the benefit of adjuvant radiation therapy in the treatment of soft tissue sarcomas of the extremity. *Journal of Clinical Oncology* **16**, 197-203, doi:10.1200/jco.1998.16.1.197 (1998).
- 43 Rosenberg, S. A. *et al.* The Treatment of Soft-tissue Sarcomas of the Extremities. *Annals of Surgery* **196**, 305-315, doi:10.1097/00000658-198209000-00009 (1982).
- 44 Beane, J. D. *et al.* Efficacy of Adjuvant Radiation Therapy in the Treatment of Soft Tissue Sarcoma of the Extremity: 20-year Follow-Up of a Randomized Prospective

- Trial. *Annals of Surgical Oncology* **21**, 2484-2489, doi:10.1245/s10434-014-3732-4 (2014).
- 45 Koshy, M., Rich, S. E. & Mohiuddin, M. M. Improved Survival With Radiation Therapy in High-Grade Soft Tissue Sarcomas of the Extremities: A SEER Analysis. *International Journal of Radiation Oncology*Biophysics*Physics* **77**, 203-209, doi:10.1016/j.ijrobp.2009.04.051 (2010).
- 46 Rydholm, A. *et al.* Limb-sparing surgery without radiotherapy based on anatomic location of soft tissue sarcoma. *Journal of Clinical Oncology* **9**, 1757-1765, doi:10.1200/jco.1991.9.10.1757 (1991).
- 47 Baldini, E. H. *et al.* Long-Term Outcomes After Function-Sparing Surgery Without Radiotherapy for Soft Tissue Sarcoma of the Extremities and Trunk. *Journal of Clinical Oncology* **17**, 3252-3259, doi:10.1200/jco.1999.17.10.3252 (1999).
- 48 Alektiar, K. M., Leung, D., Zelefsky, M. J. & Brennan, M. F. Adjuvant Radiation for Stage II-B Soft Tissue Sarcoma of the Extremity. *Journal of Clinical Oncology* **20**, 1643-1650, doi:10.1200/jco.2002.20.6.1643 (2002).
- 49 Fleming, J. B. *et al.* Long-Term Outcome of Patients With American Joint Committee on Cancer Stage IIB Extremity Soft Tissue Sarcomas. *Journal of Clinical Oncology* **17**, 2772-2772, doi:10.1200/jco.1999.17.9.2772 (1999).
- 50 Italiano, A. *et al.* Effect of adjuvant chemotherapy on survival in FNCLCC grade 3 soft tissue sarcomas: a multivariate analysis of the French Sarcoma Group Database. *Annals of Oncology* **21**, 2436-2441, doi:10.1093/annonc/mdq238 (2010).
- 51 Italiano, A. *et al.* Prognostic factors and impact of adjuvant treatments on local and metastatic relapse of soft-tissue sarcoma patients in the competing risks setting. *Cancer* **120**, 3361-3369, doi:10.1002/cncr.28885 (2014).
- 52 Adjuvant chemotherapy for localised resectable soft-tissue sarcoma of adults: meta-analysis of individual data. Sarcoma Meta-analysis Collaboration. *Lancet (London, England)* **350**, 1647-1654 (1997).
- 53 Pervaiz, N. *et al.* A systematic meta-analysis of randomized controlled trials of adjuvant chemotherapy for localized resectable soft-tissue sarcoma. *Cancer* **113**, 573-581, doi:10.1002/cncr.23592 (2008).
- 54 Pasquali, S. *et al.* The impact of chemotherapy on survival of patients with extremity and trunk wall soft tissue sarcoma: revisiting the results of the EORTC-STBSG 62931 randomised trial. *European Journal of Cancer* **109**, 51-60, doi:10.1016/j.ejca.2018.12.009 (2019).
- 55 Gronchi, A. *et al.* Histotype-tailored neoadjuvant chemotherapy versus standard chemotherapy in patients with high-risk soft-tissue sarcomas (ISG-ST5 1001): an international, open-label, randomised, controlled, phase 3, multicentre trial. *The Lancet Oncology* **18**, 812-822, doi:10.1016/s1470-2045(17)30334-0 (2017).
- 56 Judson, I. *et al.* Doxorubicin alone versus intensified doxorubicin plus ifosfamide for first-line treatment of advanced or metastatic soft-tissue sarcoma: a randomised controlled phase 3 trial. *The Lancet Oncology* **15**, 415-423, doi:10.1016/s1470-2045(14)70063-4 (2014).
- 57 Tap, W. D. *et al.* Doxorubicin plus evofosfamide versus doxorubicin alone in locally advanced, unresectable or metastatic soft-tissue sarcoma (TH CR-406/SARC021): an international, multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *The Lancet Oncology* **18**, 1089-1103, doi:10.1016/s1470-2045(17)30381-9 (2017).

- 58 Ryan, C. W. *et al.* PICASSO III: A Phase III, Placebo-Controlled Study of Doxorubicin With or Without Palifosfamide in Patients With Metastatic Soft Tissue Sarcoma. *Journal of Clinical Oncology* **34**, 3898-3905, doi:10.1200/jco.2016.67.6684 (2016).
- 59 Tap, W. D. *et al.* Effect of Doxorubicin Plus Olaratumab vs Doxorubicin Plus Placebo on Survival in Patients With Advanced Soft Tissue Sarcomas. *Jama* **323**, 1266, doi:10.1001/jama.2020.1707 (2020).
- 60 Benjamin, R. S., Wiernik, P. H. & Bachur, N. R. Adriamycin chemotherapy—efficacy, safety, and pharmacologic basis of an intermittent single high-dosage schedule. *Cancer* **33**, 19-27, doi:10.1002/1097-0142(197401)33:1<19::aid-cncr2820330107>3.0.co;2-m (1974).
- 61 Wagner, M. J. *et al.* A retrospective chart review of drug treatment patterns and clinical outcomes among patients with metastatic or recurrent soft tissue sarcoma refractory to one or more prior chemotherapy treatments. *BMC Cancer* **15**, doi:10.1186/s12885-015-1182-4 (2015).
- 62 Schöffski, P. *et al.* Eribulin versus dacarbazine in previously treated patients with advanced liposarcoma or leiomyosarcoma: a randomised, open-label, multicentre, phase 3 trial. *The Lancet* **387**, 1629-1637, doi:10.1016/s0140-6736(15)01283-0 (2016).
- 63 Švancárová, L. *et al.* Gemcitabine in advanced adult soft-tissue sarcomas. A phase II study of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *European Journal of Cancer* **38**, 556-559, doi:10.1016/s0959-8049(01)00408-7 (2002).
- 64 van der Graaf, W. T. A. *et al.* Pazopanib for metastatic soft-tissue sarcoma (PALETTE): a randomised, double-blind, placebo-controlled phase 3 trial. *The Lancet* **379**, 1879-1886, doi:10.1016/s0140-6736(12)60651-5 (2012).
- 65 Demetri, G. D. *et al.* Efficacy and Safety of Trabectedin or Dacarbazine for Metastatic Liposarcoma or Leiomyosarcoma After Failure of Conventional Chemotherapy: Results of a Phase III Randomized Multicenter Clinical Trial. *Journal of Clinical Oncology* **34**, 786-793, doi:10.1200/jco.2015.62.4734 (2016).
- 66 Cesne, A. L. *et al.* Interruption versus continuation of trabectedin in patients with soft-tissue sarcoma (T-DIS): a randomised phase 2 trial. *The Lancet Oncology* **16**, 312-319, doi:10.1016/s1470-2045(15)70031-8 (2015).
- 67 Penel, N. *et al.* Phase II Trial of Weekly Paclitaxel for Unresectable Angiosarcoma: The ANGIOTAX Study. *Journal of Clinical Oncology* **26**, 5269-5274, doi:10.1200/jco.2008.17.3146 (2008).
- 68 Heinrich, M. C. *et al.* Molecular Correlates of Imatinib Resistance in Gastrointestinal Stromal Tumors. *Journal of Clinical Oncology* **24**, 4764-4774, doi:10.1200/jco.2006.06.2265 (2006).
- 69 Hirota, S. Gain-of-Function Mutations of c-kit in Human Gastrointestinal Stromal Tumors. *Science* **279**, 577-580, doi:10.1126/science.279.5350.577 (1998).
- 70 Joensuu, H. *et al.* Risk of recurrence of gastrointestinal stromal tumour after surgery: an analysis of pooled population-based cohorts. *The Lancet Oncology* **13**, 265-274, doi:10.1016/s1470-2045(11)70299-6 (2012).
- 71 Casali, P. G. *et al.* Time to Definitive Failure to the First Tyrosine Kinase Inhibitor in Localized GI Stromal Tumors Treated With Imatinib As an Adjuvant: A European Organisation for Research and Treatment of Cancer Soft Tissue and Bone Sarcoma Group Intergroup Randomized Trial in Collaboration With the Australasian Gastro-Intestinal Trials Group, UNICANCER, French Sarcoma Group, Italian Sarcoma Group, and Spanish Group for Research on Sarcomas. *Journal of Clinical Oncology* **33**, 4276-4283, doi:10.1200/jco.2015.62.4304 (2015).

- 72 DeMatteo, R. P. *et al.* Adjuvant imatinib mesylate after resection of localised, primary gastrointestinal stromal tumour: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *The Lancet* **373**, 1097-1104, doi:10.1016/s0140-6736(09)60500-6 (2009).
- 73 Joensuu, H. *et al.* One vs Three Years of Adjuvant Imatinib for Operable Gastrointestinal Stromal Tumor. *Jama* **307**, 1265, doi:10.1001/jama.2012.347 (2012).
- 74 Rutkowski, P. *et al.* Neoadjuvant Imatinib in Locally Advanced Gastrointestinal Stromal Tumors (GIST): The EORTC STBSG Experience. *Annals of Surgical Oncology* **20**, 2937-2943, doi:10.1245/s10434-013-3013-7 (2013).
- 75 Verweij, J. *et al.* Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *The Lancet* **364**, 1127-1134, doi:10.1016/s0140-6736(04)17098-0 (2004).
- 76 Debiec-Rychter, M. *et al.* KIT mutations and dose selection for imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours. *European Journal of Cancer* **42**, 1093-1103, doi:10.1016/j.ejca.2006.01.030 (2006).
- 77 Demetri, G. D. *et al.* Efficacy and Safety of Imatinib Mesylate in Advanced Gastrointestinal Stromal Tumors. *New England Journal of Medicine* **347**, 472-480, doi:10.1056/NEJMoa020461 (2002).
- 78 Kattan, M. W., Leung, D. H. Y. & Brennan, M. F. Postoperative Nomogram for 12-Year Sarcoma-Specific Death. *Journal of Clinical Oncology* **20**, 791-796, doi:10.1200/jco.2002.20.3.791 (2002).
- 79 Eilber, F. C. *et al.* Validation of the postoperative nomogram for 12-year sarcoma-specific mortality. *Cancer* **101**, 2270-2275, doi:10.1002/cncr.20570 (2004).
- 80 Mariani, L. *et al.* Validation and adaptation of a nomogram for predicting the survival of patients with extremity soft tissue sarcoma using a three-grade system. *Cancer* **103**, 402-408, doi:10.1002/cncr.20778 (2005).
- 81 Callegaro, D., Miceli, R., Mariani, L., Raut, C. P. & Gronchi, A. Soft tissue sarcoma nomograms and their incorporation into practice. *Cancer* **123**, 2802-2820, doi:10.1002/cncr.30721 (2017).
- 82 Callegaro, D. *et al.* Development and external validation of two nomograms to predict overall survival and occurrence of distant metastases in adults after surgical resection of localised soft-tissue sarcomas of the extremities: a retrospective analysis. *The Lancet Oncology* **17**, 671-680, doi:10.1016/s1470-2045(16)00010-3 (2016).
- 83 Bagaria, S. P. *et al.* Validation of a Soft Tissue Sarcoma Nomogram Using a National Cancer Registry. *Annals of Surgical Oncology* **22**, 398-403, doi:10.1245/s10434-015-4849-9 (2015).
- 84 Ardoino, I. *et al.* Histology-specific nomogram for primary retroperitoneal soft tissue sarcoma. *Cancer, NA-NA*, doi:10.1002/cncr.25057 (2010).
- 85 Dalal, K. M., Kattan, M. W., Antonescu, C. R., Brennan, M. F. & Singer, S. Subtype Specific Prognostic Nomogram for Patients With Primary Liposarcoma of the Retroperitoneum, Extremity, or Trunk. *Transactions of the ... Meeting of the American Surgical Association* **124**, 47-57, doi:10.1097/01.sla.0000234795.98607.00 (2006).
- 86 Gronchi, A. *et al.* Outcome Prediction in Primary Resected Retroperitoneal Soft Tissue Sarcoma: Histology-Specific Overall Survival and Disease-Free Survival Nomograms Built on Major Sarcoma Center Data Sets. *Journal of Clinical Oncology* **31**, 1649-1655, doi:10.1200/jco.2012.44.3747 (2013).

- 87 Verschoor, A. J. *et al.* Prognostic relevance of distant metastases versus locally advanced disease in soft tissue sarcomas: An EORTC-STBSG database study. *European Journal of Cancer* **94**, 187-198, doi:10.1016/j.ejca.2018.02.015 (2018).
- 88 Chan, J. Y. *et al.* Biological significance and prognostic relevance of peripheral blood neutrophil-to-lymphocyte ratio in soft tissue sarcoma. *Scientific Reports* **8**, doi:10.1038/s41598-018-30442-5 (2018).
- 89 Cheng, Y., Mo, F., Pu, L., Li, Q. & Ma, X. Pretreatment Inflammatory Indexes as Prognostic Predictors of Survival in Patients Suffering From Synovial Sarcoma. *Frontiers in Oncology* **9**, doi:10.3389/fonc.2019.00955 (2019).
- 90 Liang, Y. *et al.* Combined Use of the Neutrophil-Lymphocyte and Platelet-Lymphocyte Ratios as a Prognostic Predictor in Patients with Operable Soft Tissue Sarcoma. *Journal of Cancer* **9**, 2132-2139, doi:10.7150/jca.24871 (2018).
- 91 Nakamura, T., Asanuma, K., Hagi, T. & Sudo, A. Is Serum Lactate Dehydrogenase Useful for Predicting Oncological Outcome in Patients With Soft Tissue Sarcoma? *Anticancer Research* **39**, 6871-6875, doi:10.21873/anticanres.13905 (2019).
- 92 Netanyahu, Y. *et al.* Innate inflammatory markers for predicting survival in retroperitoneal sarcoma. *Journal of Surgical Oncology*, doi:10.1002/jso.26178 (2020).
- 93 Corey, R. M., Swett, K. & Ward, W. G. Epidemiology and survivorship of soft tissue sarcomas in adults: a national cancer database report. *Cancer Medicine* **3**, 1404-1415, doi:10.1002/cam4.288 (2014).
- 94 Savina, M. *et al.* Patterns of care and outcomes of patients with METAstatic soft tissue SARcoma in a real-life setting: the METASARC observational study. *BMC Medicine* **15**, doi:10.1186/s12916-017-0831-7 (2017).
- 95 Le Cesne, A. Making the Best of Available Options for Optimal Sarcoma Treatment. *Oncology* **95**, 11-20, doi:10.1159/000494861 (2018).
- 96 Trojani, M. *et al.* Soft-tissue sarcomas of adults; study of pathological prognostic variables and definition of a histopathological grading system. *International Journal of Cancer* **33**, 37-42, doi:10.1002/ijc.2910330108 (1984).
- 97 Chibon, F. *et al.* Validated prediction of clinical outcome in sarcomas and multiple types of cancer on the basis of a gene expression signature related to genome complexity. *Nature Medicine* **16**, 781-787, doi:10.1038/nm.2174 (2010).
- 98 Eilber, F. C. *et al.* Treatment-Induced Pathologic Necrosis: A Predictor of Local Recurrence and Survival in Patients Receiving Neoadjuvant Therapy for High-Grade Extremity Soft Tissue Sarcomas. *Journal of Clinical Oncology* **19**, 3203-3209, doi:10.1200/jco.2001.19.13.3203 (2001).
- 99 Vaynrub, M. *et al.* Prognostic value of necrosis after neoadjuvant therapy for soft tissue sarcoma. *Journal of Surgical Oncology* **111**, 152-157, doi:10.1002/jso.23775 (2015).
- 100 de Baere, T. *et al.* Interventional radiology: Role in the treatment of sarcomas. *European Journal of Cancer* **94**, 148-155, doi:10.1016/j.ejca.2018.02.017 (2018).
- 101 Carbonnaux, M. *et al.* Very long-term survivors among patients with metastatic soft tissue sarcoma. *Cancer Medicine* **8**, 1368-1378, doi:10.1002/cam4.1931 (2019).
- 102 Dufresne, A., Brahmi, M., Karanian, M. & Blay, J.-Y. Using biology to guide the treatment of sarcomas and aggressive connective-tissue tumours. *Nature Reviews Clinical Oncology* **15**, 443-458, doi:10.1038/s41571-018-0012-4 (2018).
- 103 Watson, S. & Delattre, O. Biology of Bone and Soft Tissue Sarcoma: From Molecular Features to Clinical Applications. doi:10.1016/b978-0-12-801238-3.65255-8 (2018).

- 104 Abeshouse, A. *et al.* Comprehensive and Integrated Genomic Characterization of Adult Soft Tissue Sarcomas. *Cell* **171**, 950-965.e928, doi:10.1016/j.cell.2017.10.014 (2017).
- 105 Bushweller, J. H. Targeting transcription factors in cancer — from undruggable to reality. *Nature Reviews Cancer* **19**, 611-624, doi:10.1038/s41568-019-0196-7 (2019).
- 106 Carmagnani Pestana, R., Groisberg, R., Roszik, J. & Subbiah, V. Precision Oncology in Sarcomas: Divide and Conquer. *JCO Precision Oncology*, 1-16, doi:10.1200/po.18.00247 (2019).
- 107 Doebele, R. C. *et al.* Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *The Lancet Oncology* **21**, 271-282, doi:10.1016/s1470-2045(19)30691-6 (2020).
- 108 Laetsch, T. W. *et al.* Larotrectinib for paediatric solid tumours harbouring NTRK gene fusions: phase 1 results from a multicentre, open-label, phase 1/2 study. *The Lancet Oncology* **19**, 705-714, doi:10.1016/s1470-2045(18)30119-0 (2018).
- 109 Schöffski, P. *et al.* Crizotinib in patients with advanced, inoperable inflammatory myofibroblastic tumours with and without anaplastic lymphoma kinase gene alterations (European Organisation for Research and Treatment of Cancer 90101 CREATE): a multicentre, single-drug, prospective, non-randomised phase 2 trial. *The Lancet Respiratory Medicine* **6**, 431-441, doi:10.1016/s2213-2600(18)30116-4 (2018).
- 110 Rutkowski, P. *et al.* Imatinib Mesylate in Advanced Dermatofibrosarcoma Protuberans: Pooled Analysis of Two Phase II Clinical Trials. *Journal of Clinical Oncology* **28**, 1772-1779, doi:10.1200/jco.2009.25.7899 (2010).
- 111 Italiano, A. *et al.* Tazemetostat, an EZH2 inhibitor, in relapsed or refractory B-cell non-Hodgkin lymphoma and advanced solid tumours: a first-in-human, open-label, phase 1 study. *The Lancet Oncology* **19**, 649-659, doi:10.1016/s1470-2045(18)30145-1 (2018).
- 112 Gounder, M. M. *et al.* Impact of next-generation sequencing (NGS) on diagnostic and therapeutic options in soft-tissue and bone sarcoma. *Journal of Clinical Oncology* **35**, 11001-11001, doi:10.1200/JCO.2017.35.15_suppl.11001 (2017).
- 113 Jour, G. *et al.* Molecular profiling of soft tissue sarcomas using next-generation sequencing: a pilot study toward precision therapeutics. *Human Pathology* **45**, 1563-1571, doi:10.1016/j.humpath.2014.04.012 (2014).
- 114 Cote, G. M., He, J. & Choy, E. Next-Generation Sequencing for Patients with Sarcoma: A Single Center Experience. *The Oncologist* **23**, 234-242, doi:10.1634/theoncologist.2017-0290 (2017).
- 115 Harris, M. H. *et al.* Multicenter Feasibility Study of Tumor Molecular Profiling to Inform Therapeutic Decisions in Advanced Pediatric Solid Tumors. *JAMA Oncology* **2**, 608, doi:10.1001/jamaoncol.2015.5689 (2016).
- 116 Boddu, S. *et al.* Clinical Utility of Genomic Profiling in the Treatment of Advanced Sarcomas: A Single-Center Experience. *JCO Precision Oncology*, 1-8, doi:10.1200/po.18.00096 (2018).
- 117 Groisberg, R. *et al.* Clinical genomic profiling to identify actionable alterations for investigational therapies in patients with diverse sarcomas. *Oncotarget* **8**, 39254-39267, doi:10.18632/oncotarget.16845 (2017).
- 118 Trédan, O. *et al.* Molecular screening program to select molecular-based recommended therapies for metastatic cancer patients: analysis from the ProFiLER trial. *Annals of Oncology* **30**, 757-765, doi:10.1093/annonc/mdz080 (2019).

- 119 Massard, C. *et al.* High-Throughput Genomics and Clinical Outcome in Hard-to-Treat Advanced Cancers: Results of the MOSCATO 01 Trial. *Cancer Discovery* **7**, 586-595, doi:10.1158/2159-8290.cd-16-1396 (2017).
- 120 Arnaud-Coffin, P. *et al.* Therapeutic relevance of molecular screening program in patients with metastatic sarcoma: Analysis from the ProfiLER 01 trial. *Translational Oncology* **13**, 100870, doi:10.1016/j.tranon.2020.100870 (2020).
- 121 Sanchez-Vega, F. *et al.* Oncogenic Signaling Pathways in The Cancer Genome Atlas. *Cell* **173**, 321-337.e310, doi:10.1016/j.cell.2018.03.035 (2018).
- 122 Li, V. D., Li, K. H. & Li, J. T. TP53 mutations as potential prognostic markers for specific cancers: analysis of data from The Cancer Genome Atlas and the International Agency for Research on Cancer TP53 Database. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology* **145**, 625-636, doi:10.1007/s00432-018-2817-z (2018).
- 123 Tang, Q., Su, Z., Gu, W. & Rustgi, A. K. Mutant p53 on the Path to Metastasis. *Trends in Cancer* **6**, 62-73, doi:10.1016/j.trecan.2019.11.004 (2020).
- 124 Wang, Y. *et al.* TP53 mutations are associated with higher rates of pathologic complete response to anthracycline/cyclophosphamide-based neoadjuvant chemotherapy in operable primary breast cancer. *International Journal of Cancer* **138**, 489-496, doi:10.1002/ijc.29715 (2016).
- 125 Lehmann, B. D. *et al.* Evaluation of public cancer datasets and signatures identifies TP53 mutant signatures with robust prognostic and predictive value. *BMC Cancer* **15**, doi:10.1186/s12885-015-1102-7 (2015).
- 126 Glynn, S. A. *et al.* Value of TP53 Status for Predicting Response to Neoadjuvant Chemotherapy in Breast Cancer: A Meta-Analysis. *PLoS ONE* **7**, e39655, doi:10.1371/journal.pone.0039655 (2012).
- 127 Robles, A. I. & Harris, C. C. Clinical Outcomes and Correlates of TP53 Mutations and Cancer. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* **2**, a001016-a001016, doi:10.1101/cshperspect.a001016 (2009).

Titre: Analyses moléculaires de sarcomes avancés : recherche de facteurs pronostics et prédictifs en marge de deux essais de médecine de précision (ProfiLER et MOSCATO)

Objectifs: Les sarcomes sont des tumeurs rares et hétérogènes. Notre objectif principal est la description moléculaire des sarcomes avancés. Nos objectifs secondaires sont la recherche d'altérations moléculaires pronostiques ou prédictives de réponse au traitement.

Matériel et Méthodes: Les profils moléculaires et données cliniques des patients traités pour des sarcomes inclus dans deux essais de médecine de précision, MOSCATO et ProfiLER, ont été analysés. Les analyses moléculaires consistaient en un panel de séquençage nouvelle génération et des puces d'hybridation génomique. Des tests de Student et du Chi2 ont été faits pour étudier la corrélation entre les anomalies moléculaires et les données cliniques. L'étude de survie a utilisé un modèle univarié du log-rank, pour la survie sans maladie, la survie globale et la survie sans progression sous anthracyclines.

Résultats: 235 patients ont été inclus. La maladie était initialement localisée chez 173 patients. La cohorte était constituée de 73,19% de sarcomes des tissus mous, 20,85% de sarcomes osseux et 5,96% de GIST. Les six gènes impactés le plus fréquemment étaient TP53, RB1, CDKN2A, PTEN, CDK4 et MDM2. Les altérations de TP53 étaient corrélées avec une rechute métastatique plutôt que loco-régionale ($p=0,02$). La présence d'une altération de TP53 était associée à une moins bonne survie sans maladie ($p=0,01$). Une altération de TP53 conférait un moins bon pronostic en termes de survie globale ($p=0,05$).

Conclusion: Un impact pronostic des altérations de TP53 est suggéré dans notre étude. Celui-ci nécessite des analyses complémentaires pour confirmation.

Mots clés: Sarcomes, biologie moléculaire, médecine de précision, TP53, pronostic

Title: Molecular description of advanced sarcomas: prognostic and predictive markers in a pooled analysis of MOSCATO and ProfiLER studies

Objective: Sarcomas are rare and heterogeneous. The aim of this study was the molecular description of sarcomas, and identification of molecular alterations as prognostic or predictive of response to treatment.

Methods: Molecular profiles and clinical data of patients included in two French multicentric prospective precision medicine clinical trials, MOSCATO and ProfiLER, were analyzed. Molecular analysis was done on archived tissue or fresh tumor biopsy, and consisted of NGS panels with aCGH. Correlations between clinical and molecular data were done using Chi2 or Fisher tests and Student or ANOVA tests, as required. Clinical and molecular data were included in univariate model using log-rank test to seek for correlation with overall survival (OS), disease-free survival (DFS) and progression-free survival with anthracyclines.

Results: 235 patients were included in this pooled analysis. The majority were soft-tissue sarcomas (73,2%), followed by bone sarcomas (20,8%) and GISTs (5,9%). The six most frequently altered genes were TP53, RB1, CDKN2A, PTEN, CDK4 and MDM2. First recurrence was metastatic in 130 patients and local in 40 patients. TP53 alterations were significantly correlated with metastatic rather than local relapse ($p=0,02$). The presence of TP53 mutation was significantly associated with worse outcomes in terms of DFS in log rank model ($p=0,01$) as well as in terms of OS from initial diagnosis ($p=0,05$).

Conclusion: A prognostic impact of TP53 mutations in patients with advanced sarcomas was suggested. These results warrant further confirmatory analysis.

Keywords: Sarcoma, molecular biology, prognosis, TP53, precision oncology

Université Paris Descartes
Faculté de Médecine Paris Descartes
15, rue de l'Ecole de Médecine
75270 Paris cedex 06