

Les thérapies ciblées

Springer

Paris

Berlin

Heidelberg

New York

Hong Kong

Londres

Milan

Tokyo

Gaëtan des Guetz
Jean-Yves Blay

Les thérapies ciblées

 Springer

Gaëtan des Guetz
Hôpital Avicenne
Service d'oncologie médicale
125, rue de Stalingrad
93009 Bobigny Cedex

Jean-Yves Blay
Centre Léon Bérard
28, rue Laennec
69008 Lyon

ISBN: 978-2-287-36007-7 Springer Paris Berlin Heidelberg New York

© Springer-Verlag France, 2008
Imprimé en France

Springer-Verlag est membre du groupe Springer Science + Business Media

Cet ouvrage est soumis au copyright. Tous droits réservés, notamment la reproduction et la représentation, la traduction, la réimpression, l'exposé, la reproduction des illustrations et des tableaux, la transmission par voie d'enregistrement sonore ou visuel, la reproduction par microfilm ou tout autre moyen ainsi que la conservation des banques de données. La loi française sur le copyright du 9 septembre 1965 dans la version en vigueur n'autorise une reproduction intégrale ou partielle que dans certains cas, et en principe moyennant le paiement des droits. Toute représentation, reproduction, contrefaçon ou conservation dans une banque de données par quelque procédé que ce soit est sanctionnée par la loi pénale sur le copyright.

L'utilisation dans cet ouvrage de désignations, dénominations commerciales, marques de fabrique, etc. même sans spécification ne signifie pas que ces termes soient libres de la législation sur les marques de fabrique et la protection des marques et qu'ils puissent être utilisés par chacun.

La maison d'édition décline toute responsabilité quant à l'exactitude des indications de dosage et des modes d'emplois. Dans chaque cas il incombe à l'utilisateur de vérifier les informations données par comparaison à la littérature existante.

Maquette de couverture: Nadia Ouddane

Liste des auteurs

AMSALHEM Patricia
Service d'oncologie médicale
CHU Avicenne
125, route de Stalingrad
93009 Bobigny

BACHELOT Thomas
Centre Léon-Bérard
28, rue Laennec
69008 Lyon

BEDEL Romain
INSERM U645
EFS Bourgogne Franche Comté
Université de Franche Comté et
Service d'oncologie médicale
CHU Jean Minjoz
3, boulevard Alexandre-Fleming
25000 Besançon

BENNOUNA Jaafar
Service d'oncologie médicale
Centre René Gauducheau
Boulevard J. Monod
44805 Saint-Herblain Cedex

BESSE Benjamin
Département de médecine
Institut Gustave-Roussy
39, rue Camille-Desmoulins
94800 Villejuif

BEUZEBOC Philippe
Département d'oncologie médicale
Institut Curie
26, rue d'Ulm
75005 Paris

BLAY Jean-Yves
Centre Léon-Bérard
28, rue Laennec
69008 Lyon

BLOT Emmanuel
Service de médecine interne
Centre Henri Becquerel
Rue d'Amiens
76038 Rouen Cedex

BORG Christophe
INSERM U645
EFS Bourgogne Franche Comté
Université de Franche Comté et
Service d'oncologie médicale
CHU Jean Minjoz
3, boulevard Alexandre-Fleming
25000 Besançon

BOZEC Alexandre
Unité d'oncopharmacologie
Centre Antoine Lacassagne
33, avenue de Valombrose
06189 Nice Cedex

DREYER Chantal
Service interhospitalier
de cancérologie Bichat-Beaujon
Hôpital Beaujon
100, boulevard du Général-Leclerc
92110 Clichy

DUFFAUD Florence
Service d'oncologie médicale
CHU de la Timone
13335 Marseille Cedex 5

FAIVRE Sandrine
Service d'oncologie médicale
Hôpital Beaujon
100, boulevard du Général-Leclerc
92110 Clichy

FAYETTE Jérôme
Centre de médecine Léon-Bérard
28, rue Laennec
69008 Lyon

FLEURY Bertrand
Centre de médecine Léon-Bérard
28, rue Laennec
69008 Lyon

GLIGOROV Joseph
Service d'oncologie médicale
Hôpital Tenon
4, rue de Chine
75020 Paris

GUASTALLA Jean-Paul
Centre Léon-Bérard
28, rue Laennec
69008 Lyon

GUETZ (des) Gaëtan
Service d'oncologie médicale
CHU Avicenne
125, route de Stalingrad
93009 Bobigny

LE CESNE Axel
Service d'oncologie médicale
Institut Gustave-Roussy
39, rue Camille-Desmoulins
94800 Villejuif

LORIOT Yohann
Département de médecine
Institut Gustave-Roussy
39, rue Camille-Desmoulins
94800 Villejuif

MILANO Gérard
Unité d'oncopharmacologie
Centre Antoine Lacassagne
33, avenue de Valombrose
06189 Nice Cedex

MORÈRE Jean-François
Service d'oncologie médicale
Hôpital Avicenne
125, route de Stalingrad
93000 Bobigny Cedex

PAGÈS Olivier-N.
Service d'oncologie médicale
CHU Avicenne
125, route de Stalingrad
93009 Bobigny

RAY-COQUARD Isabelle
Centre Léon Bérard
28, rue Laennec
69008 Lyon

SAAS Philippe
INSERM U645
EFS Bourgogne Franche Comté
Université de Franche Comté et
Service d'oncologie médicale
CHU Jean Minjoz
3, boulevard Alexandre-Fleming
25000 Besançon

SABLIN Marie-Paule
Service interhospitalier
de cancérologie Bichat-Beaujon
Hôpital Beaujon
100, boulevard du Général-Leclerc
92110 Clichy

SENELLART Hélène
Service d'oncologie médicale
Centre René Gauducheau
Boulevard J. Monod
44805 Saint-Herblain Cedex

SCHOLL Suzy
Département d'oncologie médicale
Institut Curie
26, rue d'Ulm
75005 Paris

Sommaire

Le récepteur EGF

Anticorps anti-HER2 <i>P. Beuzeboc, S. Scholl et J. Gligorov</i>	11
Anticorps anti-EGFR <i>H. Senellart et J. Bennouna</i>	35
Thérapies ciblées : inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase du récepteur à l'EGF <i>O.-N. Pagès, P. Amsalhem et J.-F. Morère</i>	45

Le récepteur du VEGF

Anticorps anti-VEGF : un emploi universel <i>E. Blot et G. des Guetz</i>	57
Molécules inhibitrices des récepteurs du VEGF <i>Y. Lorient et B. Besse</i>	65

Discussion/Synthèse

Monoclonaux contre inhibiteurs de tyrosine kinase <i>A. Bozec et G. Milano</i>	81
--	----

Imatinib et les nouveaux inhibiteurs de KIT et PDFR

Les multiples emplois d'imatinib dans les tumeurs solides <i>F. Duffaud et A. Le Cesne</i>	101
Les autres inhibiteurs tyrosine kinase de KIT ou de la voie AKT <i>I. Ray-Coquard, T. Bachelot, J.-P. Guastalla et J.-Y. Blay</i>	117

Autres cibles, nouvelles cibles

RANK ligand et métastases osseuses <i>P. Beuzeboc</i>	133
Développement des inhibiteurs de mTOR en oncologie <i>M.-P. Sablin, C. Dreyer et S. Faivre</i>	143

Nouvelles approches dans les thérapeutiques ciblées : les récepteurs des facteurs de croissance de type insuline (IGF) et les cyclines	
<i>J. Fayette, B. Fleury et J.-Y. Blay</i>	157
CTLA-4 et Toll-like récepteurs : de nouvelles cibles en immunothérapie	
<i>R. Bedel, C. Borg et P. Saas</i>	169
Conclusion	
<i>J.-Y. Blay</i>	197

Le récepteur EGF

Anticorps anti-HER2

P. Beuzeboc, S. Scholl et J. Gligorov

Le trastuzumab (Herceptin®), premier traitement par anticorps monoclonal humanisé ciblant un oncogène représente une vraie révolution concernant la prise en charge et l'histoire naturelle du cancer du sein surexprimant HER2. L'effet est notamment spectaculaire en situation adjuvante où il permet dans cinq essais randomisés avec un recul médian de 3 à 4 ans d'éviter une rechute métastatique sur deux et un décès sur trois. Ses indications sont strictement réservées aux cancers du sein présentant une amplification d'HER2 prouvée par FISH ou une forte surexpression (3+) en immunohistochimie. Une surveillance étroite de la fonction ventriculaire gauche durant le traitement est nécessaire afin de détecter et de traiter une éventuelle cardiotoxicité. Le pertuzumab, autre anticorps monoclonal humanisé (2C4), premier inhibiteur de la classe des « antidimérisations », est encore à des stades précoces de développement clinique.

Introduction

L'enregistrement en 2000 du trastuzumab (Herceptin®) dans le cadre du cancer du sein métastatique surexprimant HER2 (*Human Epidermal growth Factor Receptor 2*), a représenté une avancée thérapeutique importante (1-3), résultant d'un long effort de développement des biotechnologies et des progrès dans la connaissance de la biologie moléculaire du cancer du sein.

Parmi les anomalies moléculaires ou génétiques des cellules tumorales susceptibles de servir de cible spécifique à de nouvelles thérapies, une attention très particulière dans les années 1980-90 s'était focalisée sur la surexpression du gène HER2. Simultanément à sa découverte, avaient été décrits deux autres oncogènes homologues : neu, retrouvé dans les neuroglioblastomes de rat (4) et v-erbB-2 intégré dans le génome de cellules d'érythroblastoses aviaires. Les gènes c-erbB et HER étant homologues, HER2/neu s'est aussi appelé c-erbB-2.

Il code pour un récepteur transmembranaire possédant une activité tyrosine kinase, la p185^{HER2/neu}, très proche structurellement du récepteur de l'EGF et des protéines c-erbB-3 et c-erbB-4. Dans l'état actuel des connaissances, c-erbB-2 n'a pas de ligand direct connu, mais participe à la signalisation de la croissance cellulaire par hétérodimérisation avec d'autres membres de cette famille. Ces facteurs de croissance et leurs récepteurs jouent un rôle important dans le développement, la croissance et la différenciation des tumeurs (5). Une amplification du gène HER2 peut être détectée dans 15 à 25 % des cancers du sein invasifs (dans 40 % des cancers du sein inflammatoires). Ceci a conduit à essayer de bloquer HER2 au moyen d'anticorps monoclonaux dirigés spécifiquement contre le domaine extra-membranaire du récepteur. Parmi les nombreux anticorps développés, l'anticorps murin mu Mab 4D5 s'est montré efficace pour inhiber la prolifération de cellules tumorales d'une lignée de cancer du sein SKBR3 et de xénotreffes de tumeurs mammaires humaines surexprimant HER2. Il a été possible grâce aux progrès biotechnologiques de développer par la firme Genentech un anticorps monoclonal humanisé (rhu mAb HER ou trastuzumab) ne conservant que 5 % d'origine murine mais préservant l'affinité de l'anticorps murin contre la partie extra-membranaire du récepteur tout en perdant l'immunogénicité spécifique d'espèce.

Le trastuzumab (Herceptin®) est un anticorps chimérique où les régions CDR de l'IGG1 murine anti-p185 ont été incorporées dans une IGG1 humaine. Produit par une lignée CHO (*Chinese Hamster Ovary*) génétiquement modifiée, il s'est montré actif dans les études précliniques. Il induit également des mécanismes de cytotoxicité anticorps-dépendante (ADCC). La part respective des deux mécanismes (blocage du récepteur, réponse immune) n'est pas connue dans l'activité antitumorale.

HER2. Données biologiques

Surexpression d'HER2, facteur pronostique

La surexpression d'HER2 dans les cancers du sein est corrélée à des facteurs de mauvais pronostic (grade élevé, statut négatif des récepteurs hormonaux, infiltration lymphoïde, index mitotique élevé). La valeur pronostique péjorative associée à la surexpression d'HER2, qui a fait l'objet de nombreux travaux, le premier publié en 1987 par D.J. Slamon (6), a été parfaitement bien établie. La plupart des grandes études ont confirmé la relation entre surexpression d'HER2 et évolution clinique défavorable (7, 8). Dans une analyse rétrospective multivariée de 47 études ayant enrôlé plus de 15 000 patientes, publiée par Ross et Fletcher (9), le statut HER2 s'est avéré être un facteur pronostique indépendant dans 60 % de ces études. Trock *et al.* (10) ont présenté une méta-analyse d'une trentaine d'études regroupant plus de 7 000 patientes n'ayant pas reçu

de traitement adjuvant. Le risque relatif de récurrence et de décès est d'environ 1,4 en cas de surexpression d'HER2, la différence étant plus marquée pour les populations avec atteinte ganglionnaire axillaire que pour les tumeurs N- (11). Dans la majorité des cas, cette surexpression est liée à une amplification du gène, qui peut être mise en évidence par une technique d'hybridation *in situ* par fluorescence (FISH). Alors que les cellules épithéliales normales de la glande mammaire possèdent environ 20 000 à 50 000 récepteurs/cellule correspondant à deux copies du gène, il peut en exister plus de 2 000 000 au niveau des cellules tumorales ayant une amplification d'HER2 avec une cinquantaine de copies. Ces tumeurs HER2+ présentent en proportion plus de métastases viscérales (pulmonaires, hépatiques) et cérébrales (12).

Surexpression d'HER2, facteur prédictif

Il est vite apparu à partir des études rétrospectives que la surexpression d'HER2 dans les cancers du sein était prédictive d'une résistance relative à une hormonothérapie par tamoxifène (13-15). Certaines données étaient néanmoins divergentes sur l'hormono-résistance des tumeurs HER2 en premier lieu du fait de l'hétérogénéité de cette population (près de la moitié de ces tumeurs exprimant des récepteurs hormonaux) et des résultats basés sur des méthodes d'analyse du statut d'HER2 non standardisées. Des études néoadjuvantes prospectives ont confirmé que ces tumeurs étaient moins sensibles au tamoxifène qu'aux anti-aromatases. De nombreuses données expérimentales ont confirmé l'existence de *cross-talks* entre les voies de transduction du signal de prolifération dépendantes des récepteurs d'œstrogène et d'HER2 pouvant expliquer cette résistance au tamoxifène.

Une chimiothérapie adjuvante par CMF ne semble pas adaptée en cas d'amplification d'HER2 (16). Il a été aussi montré qu'il était nécessaire de ne pas sous-doser les doses d'anthracyclines (17) et que les chimiothérapies intensives ne semblaient pas permettre de corriger le paramètre pronostique péjoratif lié à la surexpression d'HER2 (18).

Surexpression d'HER2 et sensibilité aux anthracyclines

Deux données semblent indiscutables

Une chimiothérapie adjuvante à base d'anthracycline est supérieure au CMF (19, 20). K.I. Pritchard (21) a notamment pu confirmer, à partir de l'étude MA.5 du NCI CTG (*National Cancer Institute Cancer Trials Group*) ayant inclus 750 patientes, qu'une chimiothérapie de type CEF (cyclophosphamide, épirubicine, fluorouracile) était dans la sous-population surexprimant HER2 supérieure

à une chimiothérapie de type CMF en termes de survie sans rechute (HR = 0,52, IC 95 % : 0,34-0,80, $p = 0,003$) et de survie globale (HR = 0,65, IC 95 % : 0,42-1,02, $p = 0,06$) au contraire des tumeurs ne surexprimant pas HER2.

Les anthracyclines en adjuvant doivent être utilisées aux bonnes doses...

Mais qu'en est-il avec les doses standard habituellement recommandées ou les fortes doses ?

Dans l'étude pivotale d'enregistrement en phase métastatique (22), en ne considérant que les tumeurs présentant une amplification confirmée par FISH, les réponses objectives dans les groupes témoins traités par le protocole AC sans trastuzumab étaient inférieures (27 % *versus* 39 %) (tableau I).

Tableau I – FISH et réponse thérapeutique dans étude pivotale HO648g.

IHC 2+ ou 3+ N = 366 patientes	FISH + Réponse objective	FISH – Réponse objective
Chimiothérapie seule (AC ou paclitaxel)	27% (19%-35%)	39% (26%-52%)
Chimiothérapie plus trastuzumab	54% (45%-63%)	41% (27%-55%)

Dans une étude conduite à l'Institut Curie (23) sur deux groupes de patientes jeunes présentant des tumeurs proliférantes à haut risque, il n'a pas été retrouvé de corrélation entre surexpression d'HER2 et taux de réponse complète pathologique (pCR) dans des formes traitées par anthracyclines à fortes doses (70 à 75 mg/m²).

L'actualisation des résultats de l'essai adjuvant BCIRG 06 (*cf.* ci-dessous) n'a pas permis de confirmer les données préliminaires qui retrouvaient un avantage dans le bras avec anthracycline en cas d'amplification de la topoisomérase II α par rapport au bras docétaxel/carboplatine.

Surtout, les données récentes de l'étude néoadjuvante multicentrique allemande Gepartrio (24) n'ont pas montré pas de différence en termes de pCR entre les tumeurs HER2+ et HER2– (proches de 20 % dans les deux cas, $p = 0,6$) alors que ces différences existent en fonction de l'expression des récepteurs hormonaux et chez les tumeurs triples négatives (fig. 1).

Quelles sont les données in vitro ?

Pegram *et al.* (25) ont cherché à répondre à la question de la sensibilité particulière aux anthracyclines de ces populations en transfectant quatre différentes lignées cellulaires de cancer du sein avec le gène HER2 et en les exposant à un traitement par doxorubicine. Aucune modification de la sensibilité à la doxorubicine n'a été retrouvée.

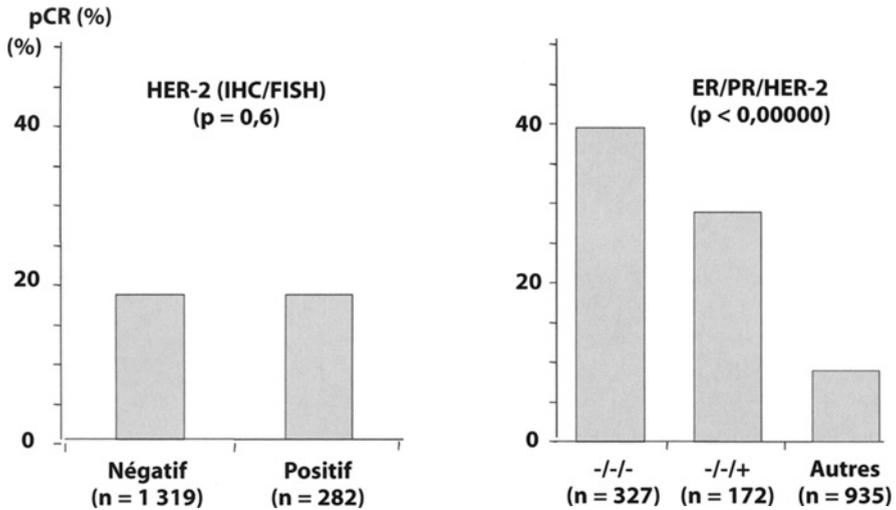


Fig. 1 – Essai Gepartrio. Réponse histologique complète (pCR) par sous-groupes (San Antonio Breast cancer Symposium, 2006, Anbst 46).

En conclusion

Au total il semble donc qu'il n'existe pas d'argumentation scientifique démontrant une sensibilité spécifique des anthracyclines des tumeurs surexprimant HER2 par rapport aux autres. Cela ouvre la possibilité d'entrevoir la possibilité de traitements adjuvants sans anthracyclines pour éviter le risque de cardiotoxicité. L'association TC (docétaxel – cyclophosphamide) qui s'est montrée aussi efficace que la classique association AC (26) pourrait représenter une alternative intéressante.

Essais en phase métastatique

Études princeps

Les résultats très probants des deux études pivotales multicentriques internationales de phase II (27) et de phase III (28) ont conduit à un enregistrement rapide du trastuzumab sous le nom d'Herceptin® en monothérapie ou en association avec le paclitaxel.

Elles ont été réalisées avec une dose de charge de 4 mg/kg en perfusion de 90 minutes suivie huit jours plus tard d'une dose hebdomadaire de 2 mg/kg en perfusion de 30 minutes chez des femmes avec une tumeur présentant

une surexpression cotée 2+ ou 3+ en immuno-histo-chimie (la lecture était centralisée).

L'étude de phase II (HO649g) de monothérapie par trastuzumab a inclus 222 patientes métastatiques traitées par une ou deux lignes de chimiothérapie (trois en cas de traitement adjuvant). Le taux de réponse objective rapporté par un comité d'évaluation indépendant chez des patientes lourdement prétraitées était de 15 % (IC 95 % : 10-20 %) avec une durée de réponse de 8,5 mois et une médiane de survie de 13 mois.

L'étude pivotale de phase III (HO648g), réalisée dans 14 pays et 150 sites a randomisé 469 patientes entre une chimiothérapie délivrée tous les 21 jours soit par le protocole AC soit par le paclitaxel seul (175 mg/m²) en cas d'utilisation préalable d'anthracycline en adjuvant, au même traitement associé à l'anticorps (32). Le critère principal était le temps jusqu'à progression qui s'est avéré significativement allongé en faveur des associations avec trastuzumab (7,4 mois *versus* 4,6 mois, $p < 0,05$). La différence s'est avérée très significative dans tous les cas en faveur du bras avec l'anticorps tant en taux de réponse (32 % *versus* 50 %, $p < 0,001$) qu'en durée de réponse (6,1 mois *versus* 9,1 mois, $p < 0,001$) (28). Surtout, le trastuzumab apportait un bénéfice statistiquement significatif en survie : 25,1 mois *versus* 20,3 mois ($p = 0,046$), plus net pour les tumeurs présentant une surexpression forte classée 3+. La surprise a été de constater une cardiotoxicité élevée, non prévue ni par les études animales ni par les essais de phase I et II chez l'homme : 27 % de toxicité grade 3 et 4 selon la classification du NHA (*National Heart Association*) dans le groupe AC associé à l'anticorps contre 8 % dans le groupe traité par la même association sans l'anticorps.

L'efficacité et la tolérance du trastuzumab ont également été testées en monothérapie de première ligne avec une étude comparative de deux doses (29). Cet essai a permis de conforter le schéma d'administration classique d'AMM. Cette étude conduite en première ligne métastatique chez 114 patientes refusant toute chimiothérapie, présentant une tumeur surexprimant HER2 (IHC 2+ ou 3+), randomisées pour recevoir soit le schéma conventionnel (dose de charge de 4 mg/kg suivie de doses d'entretien de 2 mg/kg), soit des doses deux fois plus élevées (dose de charge de 8 mg/kg suivie de doses d'entretien de 4 mg/kg) a retrouvé un taux de réponse de 23 % (IC 95 % : 15-31 %). Il n'a pas été noté de différence en termes de réponse entre les deux doses (24 % pour les doses standards et 28 % pour les fortes doses) et la médiane de durée de réponse a été de 8 mois pour les deux groupes avec une médiane de survie de 24,4 mois.

Sélection des patientes pouvant bénéficier du trastuzumab

Il est apparu rapidement évident que seules les patientes présentant une amplification confirmée par FISH ou se traduisant par une surexpression forte, 3+ en immunohistochimie (IHC) pouvaient bénéficier d'un traitement par le trastuzumab, d'où l'importance des efforts nécessaires de standardisation et de contrôle de qualité des techniques d'immunohistochimie, plusieurs anticorps

et tests étant disponibles (30, 31). Il a été montré une bonne concordance entre surexpression forte (IHC 3+) et amplification (FISH positive) (32-34). Au plan thérapeutique, les patientes avec une tumeur IHC 2+ avec une FISH positive (24 % des patientes IHC 2+) présentent le même bénéfice clinique que les patientes IHC 3+, ce qui n'est pas le cas des tumeurs IHC 2+ FISH négative. Dans l'étude de Vogel, 35 % des patientes IHC 3+, traitées par trastuzumab seul en première ligne métastatique (étude HO650g) répondaient contre 0 % des patientes surexprimant HER2 en IHC mais FISH négatives. Pour les patientes de l'étude pivotale HO649g, le taux de réponse était de 21 % pour les patientes FISH positives *versus* 15 % pour l'ensemble de la population et 0 % pour les patientes FISH négatives. Dans l'étude HO648g, les taux de réponse pour les patientes FISH positives était de 27 % pour le bras chimiothérapie seule, de 54 % pour le bras chimiothérapie plus trastuzumab *versus* respectivement 39 % et 41 % pour les patientes FISH négatives. Ce bénéfice clinique se traduisait aussi par une amélioration de la survie: la médiane de survie du groupe traité par l'association était de 25 mois pour les patientes FISH positives *versus* 22 mois pour l'ensemble de la population.

Notons qu'il est maintenant établi que l'expression du récepteur HER2 est stable entre la tumeur primitive et ses métastases (35) et que la recherche de surexpression de ce fait peut se faire aussi bien sur la tumeur primaire que les métastases.

Cardiotoxicité

Un comité d'évaluation a revu rétrospectivement les données de 1 219 patientes incluses dans sept essais de phase II ou de phase III avec le trastuzumab (36). Cent douze ont présenté des perturbations cardiaques, à l'origine de dix décès. L'incidence la plus élevée de cardiopathies a été retrouvée en cas d'association d'anthracycline, de cyclophosphamide et de trastuzumab (27 %). Le risque était moindre avec la combinaison de paclitaxel et de trastuzumab (13 %) ou avec le trastuzumab seul (3 à 7 %) (une majorité avait reçu des anthracyclines préalablement). Dans les bras témoins sans l'anticorps, il était noté une incidence de respectivement de 8 % et 1 % avec l'association anthracycline-cyclophosphamide et le paclitaxel seul. La plupart de ces cardiopathies étaient symptomatiques (75 %) et ont été bien améliorées (79 %) par un traitement adapté (diurétiques, inhibiteurs de l'enzyme de conversion, glycosides cardiaques...). Le risque chez des patients n'ayant pas reçu d'anthracyclines n'apparaît pas complètement nul (environ 1,4 %).

Le mécanisme de cette cardiotoxicité commence à trouver des explications physiopathologiques, les neurégulines étant impliquées dans le développement embryonnaire cardiaque, dans l'adaptation à des stress physiologiques ou dans des états pathologiques cardiaques (37). Le blocage de C-erbB2 semble aggraver la toxicité des anthracyclines en inhibant des voies de réparation des dommages induits.

Réversibilité de la cardiotoxicité induite par le trastuzumab

C'est ce qu'a montré l'expérience sur 38 patientes suivies dans le département de cardiologie du MD Anderson (38). Toutes avaient été traitées par anthracyclines avant le trastuzumab. Avant doxorubicine, la FEVG était en moyenne de $0,61 \pm 0,13$ chutant à $0,43 \pm 0,16$ après le trastuzumab ($p < 0,0001$). À l'arrêt du trastuzumab, la FEVG remontait à $0,56 \pm 0,11$. Le temps moyen de récupération était d'un mois et demi, sans traitement chez 6 patientes (16%) et sous traitement médical transitoire chez 32 patientes (84%). Vingt-cinq patientes ont pu être retraitées par trastuzumab sous traitement cardiotonique (sans récurrence de dysfonctionnement ventriculaire gauche dans 88% des cas)...

Des recommandations très précises de surveillance ont été définies

Les données de pharmacovigilance publiées par Cook-Bruns (39) ont montré que la cardiotoxicité et les réactions au cours de perfusion (fièvre et frissons de sévérité discrète ou modérée) étaient les deux principaux effets secondaires. L'exposition aux anthracyclines, l'âge, les facteurs de risque cardiovasculaires représentaient les paramètres prédictifs du risque de cardiotoxicité. Sur les 25 000 patientes, 74 ont présenté une réaction sévère lors de la perfusion, en majorité des manifestations respiratoires (néanmoins 33 ont pu poursuivre un traitement par Herceptin®). De ce fait, les patientes doivent être surveillées pendant les 6 heures suivant le début de la première perfusion. Des réactions de type frissons ou fièvre sont fréquentes lors de la première perfusion (jusqu'à 40%). En revanche, les réactions de type allergique et d'hypersensibilité graves (dyspnée, bronchospasme, choc anaphylactique) sont possibles mais rares (0,3%). La majorité des événements indésirables de ce type sont survenus dans les 2 heures et demi après le début de la perfusion. Les patientes présentant une dyspnée de repos sévère en rapport avec une évolution métastatique pulmonaire ou nécessitant une oxygénothérapie sont particulièrement à risque et représentent une contre-indication.

Il est indispensable d'encadrer tout traitement par Herceptin® d'un monitoring cardiaque avec une étude avant traitement et un contrôle très régulier de la fraction d'éjection ventriculaire isotopique ou échographique, toute association concomitante avec une anthracycline étant bien sûr formellement contre-indiquée en dehors d'essais thérapeutiques.

Pharmacocinétique du trastuzumab

Les données pharmacocinétiques les plus récentes suggèrent des demi-vies de l'ordre de 28 jours (28) plus prolongées que celles rapportées initialement, servant de rationnel aux schémas d'utilisation toutes les trois semaines. L'âge,

les fonctions rénale et hépatique dans la fourchette des critères d'inclusion des études ne semblent pas modifier les paramètres pharmacocinétiques de même que l'administration concomitante de cisplatine, de paclitaxel, de doxorubicine et de cyclophosphamide. Les nouvelles modalités d'administration (6 mg/kg toutes les trois semaines) basées sur les données de pharmacocinétique et de tolérance (40) se sont généralisées.

Nouvelles associations thérapeutiques en phase métastatique

Le trastuzumab présente *in vitro* une action synergique avec de nombreux cytotoxiques comme les sels de platine, la doxorubicine et les taxanes (41).

Dans les formes métastatiques, de nouvelles combinaisons notamment avec les taxanes (42), la vinorelbine (43), la gemcitabine ou les sels de platine ont fait l'objet d'une évaluation clinique.

Une étude combinant trastuzumab et paclitaxel hebdomadaire (90 mg/m² en une heure) chez 94 patientes ayant reçu pour la plupart une ligne de chimiothérapie pour un cancer du sein métastatique (44) a permis d'obtenir un taux global de réponse de 60,2 % avec une durée médiane de réponse de 6 mois. Le taux de réponse était de 83 % pour les tumeurs HER2+ *versus* 45 % pour les tumeurs HER2-.

Le trastuzumab a également été testé avec le docétaxel hebdomadaire (35 mg/m²/ semaine). Cette association s'est également montrée efficace en clinique avec un taux de réponse de 63 % (IC 95 % : 44 %-80 %) dans une étude de phase II réalisée chez 30 patientes en première ou deuxième ligne métastatique (45). Pour les tumeurs FISH positive, ce taux atteignait 67 % (16/24 patientes).

Dans une autre étude de phase II avec de la vinorelbine hebdomadaire (25 mg/m²) Burstein (46) a rapporté un taux de réponse de 73 % bien supérieur à celui observé avec une monothérapie par la vinorelbine dans les mêmes conditions. Bartsch *et al.* (47) ont publié, avec une association de vinorelbine orale à la dose de 60 mg/m² J1 et J8 tous les 21 jours, 28 % de réponses objectives et 33,8 % de stabilisation durant plus de six mois avec un TTP de six mois.

Stemmler (48) a montré chez des patientes déjà prétraitées une activité importante de l'association gemcitabine, cisplatine et trastuzumab dans une étude de phase II ayant inclus 20 patientes (taux de réponse de 40 %, bénéfice clinique de 80 %). Le temps médian jusqu'à progression était de 10,2 mois et la médiane de survie de 18,8 mois.

Dans des études précliniques, il avait été retrouvé un antagonisme avec le 5 fluorouracile qui ne s'est pas confirmé en clinique. Il a été rapporté en effet par Xu (49) un taux de réponse objective de 63 % en première ligne métastatique avec une association de capécitabine et de trastuzumab.

Pour essayer de contourner la cardiotoxicité des anthracyclines, qui sont des cytotoxiques majeurs dans les cancers du sein, des essais de combinaison

avec un cardioprotecteur (dexrazoxane) et avec la doxorubicine liposomale ont montré leur faisabilité.

Un certain nombre d'équipes ont continué à utiliser des associations d'anthracycline et de trastuzumab :

– Untch *et al.* (50) ont comparé dans les cancers du sein métastatiques la cardiotoxicité d'une association d'EC avec et sans trastuzumab dans une étude multicentrique, non randomisée, prospective d'escalade de dose (EC 60/600 et EC 90/600) pour six cycles. Les résultats intermédiaires ont montré un risque faible de cardiotoxicité. Une baisse de la FEVG < 50 % est survenue chez 1 patiente sur 26 dans le bras EC 60 et chez 2 patientes sur 25 dans le bras EC 90. Les auteurs ont conclu que cette association était faisable et avait un profil activité/toxicité favorable.

– Wenzel *et al.* (51) ont conduit une étude pilote d'association préopératoire d'épidoxorubicine et de docétaxel hebdomadaire avec le trastuzumab avec une réponse majeure chez 86 % des patientes (12/14) conduisant à une chirurgie conservatrice dans 79 % des cas (11/14).

Trastuzumab combiné avec une hormonothérapie

Environ la moitié des tumeurs HER2 expriment des récepteurs hormonaux. L'étude TANDEM comparant anastrozole seul ou associé au trastuzumab chez 208 patientes a montré une augmentation de la médiane de survie sans progression de 2 mois en faveur de l'association (4,8 mois *versus* 2,4 mois).

Concernant la partie clivable soluble de C-erbB2

Des concentrations détectables circulantes de la partie extra-cellulaire clivable du récepteur HER2 (*shed antigen*) ont été retrouvées chez 64 % (286/447) des patients de l'étude princeps de phase III. La présence de cet antigène soluble dans le sérum ne semble pas interférer avec l'efficacité du trastuzumab et pourrait servir de marqueur évolutif sous traitement.

Un taux sérique élevé est prédictif d'une mauvaise réponse à l'hormonothérapie mais d'une bonne réponse à la combinaison de chimiothérapie et de trastuzumab.

Beaucoup d'équipes s'intéressent au monitoring sous traitement de leurs concentrations sériques, qui pourrait permettre de suivre l'évolution sous traitement et d'anticiper les échecs. Dans l'étude d'Esteva (45) avec le docétaxel hebdomadaire, les patients ayant des taux de base élevés ont présenté un taux de réponse important (76 %). Les modifications des taux sous traitement semblaient bien corrélées avec la réponse clinique. Ceci nécessite d'être confirmé par de larges études prospectives.

Métastases cérébrales

La survenue de métastases cérébrales est un événement fréquent qui constitue un problème majeur dans la prise en charge de ces tumeurs HER2+ puisque 25 à 30 % des patientes métastatiques vont présenter des localisations cérébrales (52). Chez les patientes qui ont développé des localisations cérébrales, dans l'étude rétrospective de 42 patientes publiée par Stemmler (53), l'intervalle médian entre les métastases viscérales et cérébrales était de 14 mois (0-69 mois) et la médiane de survie à partir du diagnostic de métastases cérébrales de 13 mois (0-60 mois). La médiane de survie calculée à partir du premier diagnostic de métastase n'était pas significativement plus courte chez les patientes avec et sans métastases cérébrales (37 *versus* 47 mois, $p = 0,07$).

Seules environ 10% des patientes recevant du trastuzumab combiné à une chimiothérapie développent des métastases cérébrales comme premier site de progression tumorale (54). La progression au niveau neuroméningé tend à être un événement plus tardif que la progression dans d'autres sites. Le trastuzumab, très efficace dans le traitement des métastases hépatiques et pulmonaires, apparaît inefficace dans le traitement et la prophylaxie des métastases cérébrales. Les données des études adjuvantes vont dans ce sens. L'incidence des métastases cérébrales comme premier événement est plus élevée dans les bras trastuzumab dans les deux études B-31 ($n = 21$ *versus* 11) et N9831 ($n = 12$ *versus* 4).

Phase adjuvante et néoadjuvante

Traitements en situation adjuvante

Les résultats de 5 essais adjuvants ayant inclus au total 13 353 patientes en association concomitante ou séquentielle avec une chimiothérapie ou une hormonothérapie ont été rapportés (55-58). Ils ont mis en évidence des résultats majeurs avec une réduction voisine de moitié des récurrences métastatiques et d'un tiers des décès (tableau II).

Tableau II – Essais adjuvants : résultats.

	HERA		B31 + N9831		BCIRG 006	FINHER
	Observ	H x 1 an	Contrôle	H x 1 an	AC-T AC-TH TCbH	Contrôle H x 9 sem
Ptes (n)	1693	1694	1679	1672		115 116
HR (SSR)	0,54		0,48		0,61	0,42
IC 95%	(0,43-0,57)		(0,39-0,59)		(0,47-0,79)	
p	< 0,0001		< 0,0001		< 0,0001 = 0,0002	0,01
HR (SG)	0,74		0,67			0,41

IC 95%	0,47-1,23	0,48-0,93	NA	
P	0,26	0,015		0,07
Suivi médian	1 an	2 ans	2 ans	3 ans

Abr; A : adriamycine ; C : cyclophosphamide ; Cb : carboplatine ; H : herceptin ; T : taxotere ; SSR : Survie sans récurrence ; SG = survie globale.

Les données de l'étude pivotale de phase III et la bonne tolérance de l'association de paclitaxel et de trastuzumab hebdomadaire ont influencé les protocoles des études adjuvantes américaines :

- l'essai NSABP B-31 comprenant après quatre cycles d'AC, quatre cycles de paclitaxel (175 mg/m²/21 jours) avec ou sans trastuzumab 1 an ;

- l'essai de l'Intergroup NCCTG N9831 comparant après quatre cycles d'AC, trois bras : paclitaxel hebdomadaire (12 semaines) seul, associé au trastuzumab (52 semaines), débuté de façon concomitante ou retardé à la fin de la chimiothérapie ;

- l'essai BCIRG-006 comparant après quatre cycles d'AC deux bras traités par quatre cycles de docétaxel avec ou sans trastuzumab hebdomadaire pendant un an et un troisième bras traité par six cycles de carboplatine et de docétaxel associé à du trastuzumab pour une durée totale d'un an.

L'étude, internationale HERA, pragmatique, a comparé après quatre à six cycles de chimiothérapie adjuvante (quel que soit le schéma) deux bras utilisant une monothérapie par Herceptin® toutes les trois semaines selon deux durées différentes (1 an *versus* 2 ans) à un bras observation seule.

L'étude finlandaise Finher a utilisé un traitement court (9 semaines) par trastuzumab associé au docétaxel ou à la vinorelbine (trois cycles) avant trois cycles d'une association de type FEC 60.

Le délai médian de début du trastuzumab 8 mois après la chirurgie dans l'étude HERA contraste avec celui de 4 mois dans les essais B31 et N9831 et celui d'un mois dans l'étude finlandaise Finher et le bras docétaxel/carboplatine du BCIRG-006. Les schémas d'utilisation des taxanes et du trastuzumab dans ces essais étaient différents, mais il est peu probable que cela influence les résultats. Il faut relever comme point commun à ces études le jeune âge (médiane aux alentours de 50 ans), le pourcentage élevé de haut grade et une hormonothérapie programmée dans environ la moitié des cas. Il faut noter également une différence dans la proportion de tumeurs N- (basse dans l'étude combinée B31:N9831, absente dans l'essai Finher, substantielle dans les essais HERA et BCIRG-006).

Le bénéfice actualisé retrouvé dans l'essai HERA (59) est très voisin à court terme en termes de survie sans récurrence (HR = 0,54, IC 95 % : 0,43-0,67, $p < 0,0001$). Sur les 1 677 patientes traitées avec trastuzumab, une cardiopathie sévère n'a été présente que dans 0,54 % des cas ($n = 9$) mais une insuffisance cardiaque symptomatique a été retrouvée chez 29 patientes (1,73 %) et une baisse de la FEVG de 10 points ou de moins de 50 % dans 113 cas (7,08 %).

Il faut insister sur le fait que les patientes ayant une FEVG inférieure à 55 % n'étaient pas inclusables.

L'étude Finher a montré qu'un traitement court (neuf semaines) par trastuzumab associé au docétaxel ou à la vinorelbine avant anthracycline était capable dans une population de 232 tumeurs N+ ou N- à risque élevé, d'améliorer de façon très significative la survie sans récurrence à trois ans par rapport au même traitement sans l'anticorps (89 % *versus* 78 %, HR = 0,42, IC 95 % : 0,21-0,83, p = 0,01). Les données en termes de survie globale sont à la limite de la signification statistique (HR : 0,41, IC 95 % : 0,16-1,08, p = 0,07).

L'actualisation des résultats en 2006 de l'essai BCIRG 06 apporte des éléments nouveaux qui pourraient faire changer les pratiques dans un avenir proche :

- l'absence de différences significatives entre les bras docétaxel/carboplatine/trastuzumab et adriamycine suivie de docétaxel et de trastuzumab ;
- la perte du caractère prédictif d'une sensibilité augmentée à l'adriamycine dans le sous-groupe présentant une co-amplification de la topo-isomérase II ;
- la morbidité supérieure du bras avec anthracycline tant au plan cardiaque qu'hématologique (quatre leucémies dans les deux bras anthracyclines) ;
- le fait que certaines patientes, par suite des modifications de la FEV après adriamycine, n'ont jamais pu recevoir de trastuzumab et ont donc présenté une perte de chance confirmée par les données actualisées en survie du bras témoin (5 à 6 % de diminution de la survie globale).

Cardiotoxicité des essais adjuvants (tableau III)

La cardiotoxicité doit être considérée comme le facteur déterminant de choix potentiellement restrictif de l'utilisation immédiate du trastuzumab.

Tableau III – Cardiotoxicité dans les essais adjuvants.

Bras thérapeutiques	HERA		NSABP-B31		NCCTG-N9831			BCIRG 006		
	observation 1 an H		AC→P	AC→PH	AC→P	AC→PH	AC→P→H	AC→T	TCbH	AC→TH
Femmes à risque (n)	1710	1677	814	850	670	579	718	1050	1056	1068
Décès cardiaques (n)	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0
IC NYHA grade 3-4 (n)	0	9	4	31	1	20	16	3	4	17
%	0	0,5	0,8	4,1	0,3	3,5	2,5	0,2	0,4	1,6

Abr. – IC : insuffisance cardiaque ; NYHA : *New York Heart Association* ; A : adriamycine ; C : cyclophosphamide ; Cb : carboplatine ; H : Herceptin® ; T : Taxotere®.

Il apparaît clairement que la cardiotoxicité potentielle du trastuzumab est surtout influencée par les doses préalables des anthracyclines administrées et par l'intervalle entre l'administration des deux agents.

Dans l'analyse non combinée des deux études, une insuffisance cardiaque congestive a été rapportée respectivement pour les études NSABP-31 et N9831 dans 3,5 % (31/864) et 3,3 % (27/808). Il faut noter que, dans l'étude N9831, aucune patiente n'a eu d'irradiation de la chaîne mammaire interne. Sur les 3 497 patientes ayant eu une évaluation de la FEVG adéquate après anthracyclines, 233 (6,7 %) ont eu une réduction de sa valeur de base d'au moins 15 %. Parmi les 1 159 patientes ayant eu une FEVG adéquate après anthracyclines, 364 (31,4 %) ont eu une modification du rythme ou un arrêt temporaire de l'administration du trastuzumab durant les 52 semaines.

Dans l'étude HERA, sur les 1 677 patientes traitées avec trastuzumab, une cardiopathie sévère n'a été présente que dans 0,54 % des cas ($n = 9$), mais une insuffisance cardiaque symptomatique a été retrouvée chez 29 patientes (1,73 %) et une baisse de la FEVG de 10 points ou de moins de 50 % dans 113 cas (7,08 %). Il faut insister sur le fait que les patientes ayant une FEVG inférieure à 55 % après chimiothérapie n'étaient pas incluables.

Dans l'étude Finher, il n'y a eu aucune cardiotoxicité reconnue après un délai médian de 36 mois. Cette absence de toxicité pourrait s'expliquer par la précession du trastuzumab avec le docétaxel avant le FEC qui était à doses réduites (FEC 60).

Le risque à long terme n'est pas connu, néanmoins les symptômes diminuent habituellement après arrêt du traitement.

À l'avenir, l'utilisation des anthracyclines semble encore plus discutable pour les patientes N-, la DFS des groupes traités par trastuzumab étant de 93 % et 97 %. Le taux de toxicité cardiaque de grade 3 ou 4 rapportée chez les patientes traitées par adriamycine apparaît d'autant plus inacceptable que le pronostic est devenu favorable sous traitement efficace.

En situation néoadjuvante

De nombreuses études sont en cours. Burstein (60) a rapporté avec une association de paclitaxel (175 mg/m²/3 semaines) et de trastuzumab un taux de réponse complète histologique de 18 % chez 40 patientes présentant une tumeur avec une surexpression d'HER2 classée 2+ ou 3+ en immunohistochimie. Dans l'étude de Buzdar (61), sur les 42 patientes traitées par taxol puis FEC 75 et trastuzumab uniquement pendant la durée de la chimiothérapie le taux de RC histologique était de 60 % (IC 95 % : 44,3 %-74 ; 3 %). Avec un recul médian de suivi de 16,3 mois, il n'y a sur l'actualisation de 2007 (62) dans le groupe chimiothérapie et trastuzumab aucune récurrence.

Résistance au trastuzumab

On ne peut évoquer la voie d'activation de la prolifération cellulaire dépendant d'HER2 comme un système unique. Il est important de l'intégrer dans un réseau de signalisation intracellulaire activé par différents facteurs de croissance.

La compréhension des mécanismes de résistance est primordiale afin d'identifier, de façon précoce, les patientes qui ne répondront pas, mais également pour générer de nouvelles stratégies thérapeutiques basées sur des associations rationnelles ciblant les différents circuits de signalisation impliqués.

Le rôle des autres membres de la famille HER a été évoqué, compte tenu de la connaissance de la formation d'homo- et d'hétérodimères des quatre membres de la famille et de l'existence d'une co-expression d'HER2 et d'HER1 (EGF-R) dans environ 10 à 36 % des tumeurs primitives du sein. La surexpression de l'un des partenaires pourrait être responsable de l'absence de réponse au traitement ciblé d'un autre récepteur de la famille. Le lapatinib, double inhibiteur de tyrosine kinase HER1 et HER2 a démontré une activité dans les cancers du sein réfractaires au trastuzumab, étayant cette hypothèse (63, 64). Des associations avec le trastuzumab sont en cours d'évaluation.

La signalisation de l'IGF1-R est probablement aussi impliquée dans la résistance au trastuzumab mais n'est pas encore validée sur des données cliniques (65). Elle pourrait aussi jouer un rôle particulièrement important comme le laisse supposer les travaux expérimentaux de Lu (66) qui ont montré que des taux élevés d'IGF-1 interféraient négativement avec l'action du trastuzumab sur la croissance cellulaire. Dans des cellules MCF-7 surexprimant HER2 par transfection, le trastuzumab inhibe la croissance seulement si la signalisation du récepteur d'IGF-1 est bloquée par un traitement concomitant avec un anticorps anti-IGF-IR α -IR3 ou par l'IGFBP-3 (IGF-binding protein-3). Ceci ouvre la voie à de nouvelles stratégies potentielles combinant des traitements ciblant HER2 et IGF-IR pour prévenir ou traiter une résistance au trastuzumab.

Les données de Nagata (67) suggèrent que les niveaux d'expression de PTEN peuvent aussi déterminer la réponse au traitement. Les patientes dont la tumeur est déficiente en PTEN répondent moins bien au trastuzumab que celles dont la tumeur présente des taux normaux de PTEN, l'efficacité du trastuzumab étant dépendante de son efficacité à inhiber la voie PI3K par activation de PTEN. Ainsi le statut de PTEN pourrait être utilisé comme facteur prédictif de réponse au trastuzumab en clinique.

Enfin, Kim *et al.* (68) ont rapporté des résultats préliminaires de la recherche « translationnelle » de l'étude NSABP-B31 montrant que les formes avec co-amplification d'HER2 et de c-Myc semblaient tirer le maximum de bénéfice d'un traitement adjuvant par le trastuzumab... Un phénomène qui pourrait être expliqué par la fonction pro-apoptotique de la dérégulation de c-Myc.

Seules des études prospectives devraient permettre de confirmer le rôle de ces différents mécanismes possibles de résistance.

Perspectives

Perspectives d'optimisation des traitements adjuvants

Le vrai challenge des prochaines années afin de ne pas faire perdre de chances aux femmes qui peuvent bénéficier d'un traitement par trastuzumab sera de répondre à trois questions fondamentales :

- Peut-on se passer des anthracyclines pour éviter le risque de cardiotoxicité ?
- Doit-on débiter le plus tôt possible le trastuzumab ?
- Peut-on réduire la durée du traitement par trastuzumab ?

L'actualisation des résultats des études BCIRG 06 et de Jones (26) devrait permettre d'apporter des réponses à la première question.

D'une façon générale en situation adjuvante, il apparaît logique de proposer pour un traitement efficace une initialisation aussi précoce que possible. Plusieurs données corroborent ce concept pour le trastuzumab. La première publiée dans le *Lancet* par l'équipe de Menard (69) montre que des lésions tumorales résiduelles ont une augmentation de leur prolifération dans les 48 jours suivant la chirurgie d'exérèse lorsqu'elles sont HER2+ et qu'un traitement préalable par trastuzumab inhibe cette prolifération induite par le relargage de facteurs de croissance. La deuxième (70) concerne les résultats d'une étude de phase II ayant randomisé 188 patientes en première ligne métastatique montrant une amélioration de la survie par la combinaison d'emblée de docétaxel et de trastuzumab par rapport à l'introduction retardée du trastuzumab. Enfin, parmi les arguments pour un traitement plus précoce concomitant plutôt que séquentiel, il faut noter également que les données préliminaires de l'essai NCCTG N9831 suggèrent que le traitement séquentiel est moins efficace.

Un traitement précoce par trastuzumab avec une chimiothérapie sans anthracyclines pourrait peut-être également permettre dans l'avenir de diminuer le risque de survenue de métastases cérébrales et de réduire la durée du traitement au vu des résultats de l'étude finlandaise.

Perspectives en cas de progression, poursuite du trastuzumab ou passage au lapatinib ?

L'analyse rétrospective de 80 cas de l'*Hellenic Cooperative Oncology Group* (71) suggère l'intérêt de la poursuite du trastuzumab en termes de taux de réponse, de temps jusqu'à progression et de survie (la médiane de survie à partir du diagnostic de maladie avancée était de 43,4 mois, et la médiane de survie après

progression de 22,2 mois). L'observatoire français (étude Hermine) et les diverses expériences internationales vont également dans ce sens... Cependant le trastuzumab n'est pas enregistré dans cette médication.

Le lapatinib se positionne en deuxième ligne, étant donné la démonstration récente de la supériorité de l'association de lapatinib et de capécitabine par rapport à la capécitabine seule (72).

Cette étude a permis l'obtention de l'AMM pour le lapatinib après échec de trastuzumab.

Perspectives d'associations avec de nouveaux traitements ciblés

De nombreuses associations avec d'autres traitements ciblés sont en cours.

Il existe une forte association entre surexpression d'HER2 et de VEGF qui sert de rationnel aux associations en cours d'investigation de trastuzumab et de bevacizumab (anticorps anti-VEGF) (73).

La combinaison avec le lapatinib est aussi à l'étude.

Problèmes économiques

Si le trastuzumab représente une vraie révolution thérapeutique, celle-ci a un prix qui pose un réel challenge aux autorités de santé en raison des coûts élevés qu'engendrent ces traitements (74-76). Il faut souligner, sous l'égide de l'INCA, la mise en place rapide d'un PTT (protocole temporaire de traitement) pour le financement des traitements adjuvants.

Perspectives de développement dans d'autres tumeurs

Des études sont notamment en cours dans les tumeurs urothéliales où le taux de surexpression apparaît voisin de celui du cancer du sein (77). Dans les cancers de prostate, on ne retrouve généralement pas d'amplification d'HER2 et dans les cancers de l'ovaire, le taux s'est avéré très faible (de l'ordre de 4 %).

Autre anticorps anti-HER2

Pertuzumab

Il s'agit d'un autre anticorps monoclonal humanisé (2C4) se fixant sur le domaine extra-membranaire d'HER2 et bloquant sa capacité de dimérisation avec d'autres récepteurs membranaires (représentant une nouvelle classe « d'inhibiteurs de dimérisation »).

Il est encore à des stades précoces de développement clinique. Son activité biologique a été montrée dans de nombreux modèles précliniques de cancers du sein, de prostate, de poumon, d'ovaire et de côlon, avec une inhibition de la croissance tumorale indépendante du niveau d'expression d'HER2. Une étude de phase I (78) a montré une bonne tolérance clinique et un profil pharmacocinétique favorable avec un schéma d'utilisation toutes les trois semaines. Une étude de phase II (79) dans des cancers ovariens multitraités a montré quelques réponses cliniques (5 RO/117 patientes, 4,3%), des stabilisations durant plus de six mois (8 patientes, 6,8%) et des réponses biologiques avec baisse de plus de 50% du CA 125 (10 patientes). Dans les cancers de prostate hormono-résistants, aucune baisse de PSA n'a été constatée lors d'une analyse intermédiaire réalisée après 35 patients (80).

L'association trastuzumab/pertuzumab fait l'objet d'investigations cliniques (81).

Au total, les anticorps anti-HER2 ont radicalement modifié le pronostic et la prise en charge des patientes atteintes de cancer du sein, en situation adjuvante comme métastatiques. Le diagnostic moléculaire est désormais utilisé en routine, et le délai de développement de cette thérapeutique ciblée, notamment son arrivée en situation adjuvante a pu être raccourci grâce à une approche raisonnée de son utilisation.

Conclusion

Le trastuzumab reste un modèle de traitement ciblé efficace. Il allie en effet trois qualités majeures :

- son indication est restreinte à une population parfaitement bien définie actuellement sur le plan moléculaire ;
- le bénéfice apporté notamment aux stades précoces de la maladie a modifié de façon majeure l'évolution naturelle et le pronostic des tumeurs du sein surexprimant HER2 ;
- enfin sa bonne tolérance en dehors de la cardiotoxicité chez des patientes ayant reçu des anthracyclines lui confère un excellent index efficacité/morbidité.

Références

1. Beuzeboc P, Scholl S, Sastre-Garau X, *et al.* (1999) Anticorps humanisé anti-HER2 (trastuzumab ou Herceptin®): une avancée thérapeutique majeure dans les cancers du sein exprimant cet oncogène. Bull cancer 86: 544-8

2. Cornez N, Piccart M (2000) Cancer du sein et Herceptin. *Bull Cancer* 87: 847-58
3. Leyland-Jones B (2002) Trastuzumab: hopes and realities. *Lancet Oncol* 3: 137-44
4. Schechter AC, Stern BF, Vaidyanathan L, *et al.* (1984) The neu oncogene: an erbB-related gene encoding a 185 000-Mr tumor antigen. *Nature* 312: 513-6
5. Hung MC, LauYK (1999) Basic science of HER2/ neu: a review. *Seminars Oncology*, 26: 51-9
6. Slamon DJ, Clark GM, Wong SG, *et al.* (1987) Human breast cancer, correlation of relapse and survival with amplification of the HER-2/neu oncogene. *Science* 235: 177-82
7. Mitchell MS, Press MF (1999) The role of immunohistochemistry and fluorescence in situ hybridization for HER2/neu in assessing the prognostic of breast cancer. *Sem Oncol* 26: 108-16
8. Revillion F, Bonnetterre J, Peyrat JP (1998) ERBB2 oncogene in human breast cancer and its clinical significance. *Eur J Cancer* 34: 791-808
9. Ross JS, Fletcher JA (1998) The HER2/neu oncogene in breast cancer : prognostic factor, predictive factor and target for therapy. *The oncologist* 3: 237-52
10. Trock BJ, Yamauchi H, Brotzman M, *et al.* (2000) C-erbB2 as a prognostic factor in breast cancer: a meta-analysis. *Proc ASCO* 19: abstract 372
11. Press MF, Berstein L, Thomas PA, *et al.* (1997) HER/neu gene amplification characterized by fluorescence in situ hybridization: poor prognosis in node-negative breast carcinomas. *J Clin Oncol* 15: 2894-904
12. Kallioniemi OP, Holli K, Visakorpi T, *et al.* (1991) Association of c-erbB-2 protein over-expression with high rate of cell proliferation, increased risk of visceral metastasis and poor long-term survival in breast cancer. *Int J Cancer* 49: 650-5
13. Carlomagno C, Perrone F, Gallo C, *et al.* (1996) C-erbB2 over-expression decreases the benefit of adjuvant tamoxifen in early-stage breast cancer without axillary-lymph node metastases. *J Clin Oncol* 14: 2702-8
14. Elledge RM, Green S, Ciocca D, *et al.* (1998) HER-2 expression and response to tamoxifen in estrogen receptor-positive breast cancer: a southwest oncology group study. *Clin Cancer Res* 4: 7-12
15. Houston SJ, Love SB, Wright C, *et al.* (1999) C-erbB2 protein over-expression in breast cancer is an independent marker of resistance to endocrine therapy in advanced breast cancer. *Br J Cancer* 79: 1220-6
16. Stal O, Sullivan S, Wingren S, *et al.* (1995) C-erbB-2 expression and benefit from adjuvant chemotherapy and radiotherapy of breast cancer. *Eur J Cancer* 31 A: 2185-90
17. Muss HB, Thor AD, Berry DA, *et al.* (1994) C-erbB2 expression and response to adjuvant therapy in women with node-positive early breast cancer. *N Engl J Med* 330: 1260-6
18. Nieto Y, Cagnoni PJ, Nawaz S, *et al.* (2000) Evaluation of the predictive value of Her-2/neu overexpression and p53 mutations in high-risk primary breast cancer patients treated with high-dose chemotherapy and autologous stem-cell transplantation. *J Clin Oncol* 18: 2070-80
19. Paik S, Bryant J, Park C, *et al.* (1998) ErbB-2 and response to doxorubicin in patients with axillary lymph node-positive, hormone receptor-negative breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 90: 1361-70
20. Thor AD, Berry DA, Budman DR, *et al.* (1998) ErbB-2, p53, and efficacy of adjuvant therapy in lymph node-positive breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 90: 1346-60
21. Pritchard KI, Shepherd LE, O'Malley FP, *et al.* (2006) National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. HER2 and responsiveness of breast cancer to adjuvant chemotherapy. *N Engl J Med* 354: 2103-11
22. Slamon D, Leyland-Jones B, Shak S, *et al.* (2001) Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 344: 783-92
23. Vincent-Salomon A, Carton M, Freneaux P (2000) ERBB2 expression in breast carcinomas: no correlation with pathological response to high dose anthracycline-based chemotherapy. *Eur J Cancer* 36: 586-91

24. von Minckwitz G, Kuemmel S, du Bois A, *et al.* (2006) Individualized treatment strategies according to in vivo-chemosensitivity assessed by response after 2 cycles of neoadjuvant chemotherapy. Final results of the Gepartrio study of German breast group. *Breast Cancer Res Treat* S18: Abstr 42
25. Pegram MD, Finn RS, Arzoo K, *et al.* (1997) The effect of c-erbB2 Her-2/neu overexpression on chemotherapeutic drug sensitivity in human breast and ovarian cancer cells. *Oncogene* 15: 537-47
26. Jones SE, Savin MA, Holmes FA, *et al.* (2006) Phase III trial comparing doxorubicin plus cyclophosphamide with docetaxel plus cyclophosphamide as adjuvant therapy for operable breast cancer. *J Clin Oncol* 24: 5381-87
27. Cobleigh MA, Vogel CL, Tripathy D, *et al.* (1999) Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J Clin Oncol* 17: 2639-48
28. Slamon D, Leyland-Jones B, Shak S, *et al.* (2001) Use of chemotherapy plus a monoclonal antibody against HER2 for metastatic breast cancer that overexpresses HER2. *N Engl J Med* 344: 783-92
29. Vogel C, Cobleigh M, Tripathy D, *et al.* (2002) Efficacy and safety of trastuzumab (Herceptin) as single agent in first-line treatment of HER2 overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 20: 719-26
30. Vincent-Salomon A, MacGrogan G, *et al.* (2003) Calibration of immunohistochemistry for assessment of HER2 in breast cancer: results of the French multicentre GEPFICS study. *Histopathology* 42: 337-47
31. Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN, *et al.* (2007) American Society of Clinical Oncology; College of American Pathologists. American Society of Clinical Oncology/ College of American Pathologists guideline recommendations for human epidermal growth factor receptor 2 testing in breast cancer. *J Clin Oncol* 25: 118-45
32. Couturier J, Nicolas A, Beuzeboc P, *et al.* (1999) High correlation between ERBB2 amplification detected by FISH and gene overexpression detected by immuno-chemistry in breast cancers. *Modern Pathology* 12: 18A
33. Press MF, Slamon DJ, Flam KJ, *et al.* (2002) Evaluation of HER-2/neu gene amplification and overexpression: comparison of frequently used assay methods in a molecularly characterized cohort of breast cancer specimens. *J Clin Oncol* 20: 3095-105
34. Lal P, Salazar PA, Hudis CA, *et al.* (2004) HER-2 testing in breast cancer using immunohistochemical analysis and fluorescence in situ hybridization: a single-institution experience of 2,279 cases and comparison of dual-color and single-color scoring. *Am J Clin Pathol* 121: 631-6
35. Vincent-Salomon A, Jouve M, Genin M, *et al.* (2002) HER2 status in patients with breast carcinomas is not modified selectively by preoperative chemotherapy and is stable during the metastatic process. *Cancer* 94: 2169-73
36. Seidman A, Hudis C, Pierri MK, *et al.* (2002) Cardiac dysfunction in the trastuzumab clinical trials experience. *J Clin Oncol* 20: 1215-21
37. Crone AS, Zhao YY, Fan I, *et al.* (2002) ErbB2 is essential in the prevention of dilated cardiomyopathy. *Nature Med* 8: 459-65
38. Ewer MS, Voelitch MT, Durand JB, *et al.* (2005) Reversibility of trastuzumab-related cardiotoxicity: new insights based on clinical course and response to medical treatment. *J Clin Oncol* 23: 7820-6
39. Cook-Bruns N (2001) Retrospective analysis of the safety of Herceptin immunotherapy in metastatic breast cancer. *Oncology* 61: 58-66. Review
40. Baselga J, Carbonell X, Castaneda NJ, *et al.* (2005) Phase II study of efficacy, safety, and pharmacokinetics of trastuzumab monotherapy administered on a 3-weekly schedule. *J Clin Oncol* 23: 2162-71

41. Pegram MD, Konecny GE, O'Callaghan C, *et al.* (2004) Rational combinations of trastuzumab with chemotherapeutic drugs used in the treatment of breast cancer. *J Natl Cancer Inst* 96: 739-49
42. Dieras V, Beuzeboc P, Laurence V, *et al.* (2001) Interaction between Herceptin and Taxanes. *Oncology* 61: 43-9
43. Chan A, Martin M, Untch M, *et al.* (2006) Navelbine Herceptin Project. Vinorelbine plus trastuzumab combination as first-line therapy for HER 2-positive metastatic breast cancer patients: an international phase II trial. *Br J Cancer* 95: 788-93
44. Seidman AD, Fornier MN, Esteva FJ, *et al.* (2001) Weekly trastuzumab and paclitaxel therapy for metastatic breast cancer with analysis efficacy by HER2 immunophenotype and gene amplification. *J Clin Oncol* 19: 2587-95
45. Esteva F, Valero V, Booser D, *et al.* (2002) Phase II study of weekly docetaxel and trastuzumab for patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 20: 1800-8
46. Burstein HJ, Harris LN, Gelman R, *et al.* (2003) Preoperative therapy with trastuzumab and paclitaxel followed by sequential adjuvant doxorubicin/cyclophosphamide for HER2 overexpressing stage II or III breast cancer: a pilot study. *J Clin Oncol* 21: 46-53
47. Bartsch R, Wenzel C, Pluschnig U, *et al.* (2006) Oral vinorelbine alone or in combination with trastuzumab in advanced breast cancer: results from a pilot trial. *Cancer Chemother Pharmacol* 7: 554-8
48. Stemmler HJ, Kahlert S, Brudler O, *et al.* (2005) High efficacy of gemcitabine and cisplatin plus trastuzumab in patients with HER2-overexpressing metastatic breast cancer: a phase II study. *Clin Oncol* 17: 630-5
49. Xu L, Song S, Luo R, *et al.* (2006) Capecitabine + trastuzumab as first-line treatment in patients with HER-2positive metastatic breast cancer: phase II trial results. *Breast Cancer Res Treat* S102: 2065
50. Untch M, Himsl I, Kahlert S, *et al.* (2004) Anthracycline and trastuzumab in breast cancer treatment. *Oncology (Williston Park)* 18: 59-64
51. Wenzel C, Hussian D, Bartsch R, *et al.* (2004) Preoperative therapy with epidoxorubicin and docetaxel plus trastuzumab in patients with primary breast cancer: a pilot study. *J Cancer Res Clin Oncol* 130: 400-4
52. Lai R *et al.* (2004) The risk of central nervous system metastases after trastuzumab therapy in patients with breast carcinoma. *Cancer* 10: 810-6
53. Stemmler HJ, Kahlert S, Siekiera W, *et al.* (2006) Characteristics of patients with brain metastases receiving trastuzumab for HER2 overexpressing metastatic breast cancer. *Breast* 15: 219-25
54. Burstein HJ, Lieberman G, Slamon DJ, *et al.* (2005) Isolated central nervous system metastases in patients with first-line trastuzumab-based therapy. *Ann Oncol* 16: 1772-77
55. Romond EH, Perez EA, Bryant J, *et al.* (2005) Trastuzumab plus adjuvant chemotherapy for operable HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353: 1673-84
56. Slamon D, Eiermann W, Robert N, *et al.* (2005) Phase III randomized trial comparing doxorubicin and cyclophosphamide followed by docetaxel (AC T) and trastuzumab (AC TH) with docetaxel, carboplatin and trastuzumab (TCH) in HER2 positive early breast cancer patients: BCIRG 006 study. 28th Annual San Antonio Breast Cancer Symposium. San Antonio, Abstr 1
57. Piccart-Gebhart M PM, Leyland-Jones B, *et al.* (2005) Trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer. *N Engl J Med* 353: 1659-72
58. Joensuu H, Kellkumpu-Lehtinen PL, Bono P, *et al.* (2006) Adjuvant docetaxel or vinorelbine with or without trastuzumab for breast cancer. *N Engl J Med* 354: 809-20
59. Smith I, Procter M, Gelber RD, *et al.* (2007) 2-year follow-up of trastuzumab after adjuvant chemotherapy in HER2-positive breast cancer: a randomized controlled trial. *Lancet* 369: 29-36

60. Burstein HJ, Harris LN, Gelman R, *et al.* (2003) Preoperative therapy with trastuzumab and paclitaxel followed by sequential adjuvant doxorubicin/cyclophosphamide for HER2 overexpressing stage II or III breast cancer: a pilot study. *J Clin Oncol* 21: 46-53
61. Buzdar AU, Ibrahim NK, Francis D, *et al.* (2005) Significantly Higher Pathologic Complete Remission Rate After Neoadjuvant Therapy With Trastuzumab, Paclitaxel, and Epirubicin Chemotherapy: Results of a Randomized Trial in Human Epidermal Growth Factor Receptor 2-Positive Operable Breast Cancer. *J Clin Oncol* 23: 3676-85
62. Buzdar AU, Valero V, Ibrahim NK, *et al.* (2007) Neoadjuvant therapy with paclitaxel followed by 5-fluorouracil, epirubicin, and cyclophosphamide chemotherapy and concurrent trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2-positive operable breast cancer: an update of the initial randomized study population and data of additional patients treated with the same regimen. *Clin Cancer Res* 13: 228-33
63. Spector NL, Xia W, Burris H 3rd, *et al.* (2005) Study of the biologic effects of lapatinib, a reversible inhibitor of ErbB1 and ErbB2 tyrosine kinases, on tumor growth and survival pathways in patients with advanced malignancies. *J Clin Oncol* 23: 2502-12
64. Burris HA 3rd, Hurwitz HI, Dees ED, *et al.* (2005) Phase I safety, pharmacokinetics, and clinical activity study of lapatinib (GW572016), a reversible dual inhibitor of epidermal growth factor receptor tyrosine kinases, in heavily pretreated patients with metastatic carcinomas. *J Clin Oncol* 23: 5305-13
65. Albanell J, Baselga J (2001) Unraveling resistance to trastuzumab (Herceptin): Insulin-like growth factor-I receptor, a new suspect. *J Natl Cancer Inst* 93: 1830-32
66. Lu Y, Zi X, Zhao Y, *et al.* (2001) Insulin-like growth factor-I receptor signaling and resistance to trastuzumab (Herceptin). *J Natl Cancer Inst* 93: 1852-7
67. Nagata Y, Lan KH, Zhou X, *et al.* (2004) PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell* 6: 117-27
68. Kim C, Bryant J, Horne Z, *et al.* (2005) Trastuzumab sensitivity of breast cancer with co-amplification of HER2 and cMYC suggests pro-apoptotic function of dysregulated cMYC in vivo. *SABCS, Abstr* 46
69. Tagliabue E, Agresti R, Carcangiu ML, *et al.* (2003) Role of HER2 in wound-induced breast carcinoma proliferation. *Lancet* 362: 527-33
70. Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, *et al.* (2005) Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group. *J Clin Oncol* 23: 4265-74
71. Fountzilas G, Razis E, Tsavdaridis D, *et al.* (2003) Continuation of trastuzumab beyond disease progression is feasible and safe in patients with metastatic breast cancer: a retrospective analysis of 80 cases by the hellenic cooperative oncology group. *Clin Breast Cancer* 4: 120-5
72. Geyer CE, Forster J, Lindquist D, *et al.* (2006) Lapatinib plus capecitabine for HER2-positive advanced breast cancer. *N Engl J Med* 28: 2733-43
73. Pegram M, Chan, Dichmann RA, *et al.* (2006) Phase II combined biological therapy targeting the HER2 proto-oncogene and the vascular endothelial growth factor using trastuzumab and bevacizumab as first line treatment of HER2-amplified breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* S28: 301
74. Buron C, Doz M, Vincent-Salomon A, *et al.* (2007) Facteurs favorisant la diffusion de l'innovation en santé, l'exemple d'Herceptin. *Bull Cancer* 94: 297-306
75. Liberato NL, Marchetti M, Barosi G (2007) Cost effectiveness of adjuvant trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 25: 625-33
76. Kurian AW, Thompson RN, Gaw AF, *et al.* (2007) A cost-effectiveness analysis of adjuvant trastuzumab regimens in early HER2/neu-positive breast cancer. *J Clin Oncol* 25: 634-41

77. de Pinieux G, Colin D, Vincent-Salomon A, *et al.* (2004) Confrontation of immunohistochemistry and fluorescent in situ hybridization for the assessment of HER-2/ neu (*c-erbB-2*) status in urothelial carcinoma. *Virchows Arch* 444: 415-9
78. Agus DB, Gordon MS, Taylor C, *et al.* (2005) Phase I clinical study of pertuzumab, a novel HER dimerization inhibitor, in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 23: 2534-43
79. Gordon MS, Matei D, Aghajanian C, *et al.* (2006) Clinical activity of pertuzumab (rhuMAb 2C4), a HER dimerization inhibitor, in advanced ovarian cancer: potential predictive relationship with tumor HER2 activation status. *J Clin Oncol* 24: 4324-32
80. De Bono JS, Bellmunt J, Attard G, *et al.* (2007) Open-label phase II study evaluating the efficacy and safety of two doses of pertuzumab in castrate chemotherapy-naive patients with hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 25: 257-62
81. Walshe JM, Denduluri N, Berman AW, *et al.* (2006) A phase II trial with trastuzumab and pertuzumab in patients with HER-2 over expressed locally advanced and metastatic breast cancer. *Clin Breast Cancer* 6: 535-9

Anticorps anti-EGFR

H. Senellart et J. Bennouna

Rôle du récepteur à l'EGF dans la croissance tumorale

Le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) est une glycoprotéine transmembranaire de 170 kDA, membre de la famille des récepteurs ErbB (ou HER) à activité tyrosine kinase. La structure de l'EGFR comporte trois domaines distincts : un domaine extra-cellulaire (621 acides aminés), site de fixation du ligand, un domaine hydrophobe transmembranaire (23 acides aminés) permettant l'ancrage du récepteur dans la membrane plasmique, et un domaine intracellulaire à activité tyrosine kinase (542 acides aminés). L'activité tyrosine kinase nécessite la fixation d'un phosphore sur un des sites majeurs d'autophosphorylation.

Le récepteur à l'EGF existe sous forme inactive à l'état de monomère à la surface de la cellule. Il est activé par homo- ou hétérodimérisation après fixation d'un ligand sur le domaine extra-cellulaire. L'EGF (*Epidermal Growth Factor*) et le TGF- α (*Transforming Growth Factor-alpha*) sont les deux principaux ligands de l'EGFR. Les quatre autres ligands décrits sont l'héparine-binding (Hb)-EGF, l'amphiréguline, la bêtacelluline et l'épiréguline.

Après fixation du ligand et dimérisation, il se produit une modification structurale de la portion intracellulaire du récepteur induisant par phosphorylations en cascade l'activation des voies de transduction du signal de prolifération cellulaire, notamment la voie des MAP-kinases, des phosphatidyl-inositol-3 kinases et de STAT (fig. 1).

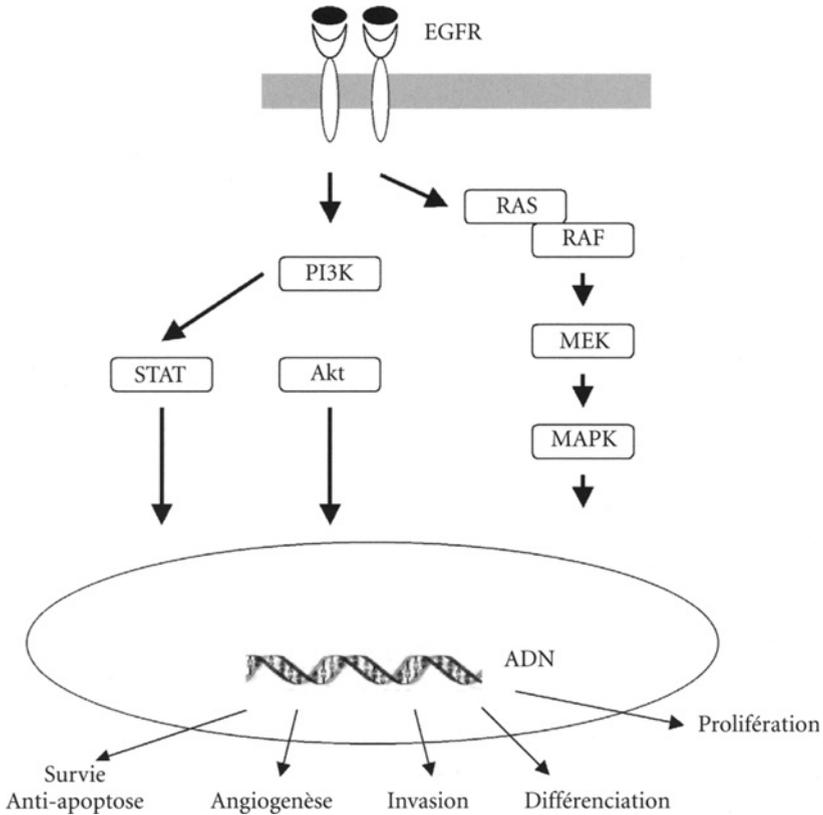


Fig. 1 – Schéma simplifié des voies de transduction du signal intracellulaire dépendantes du récepteur à l'EGF.

– La voie des MAPK (*Mitogen Activated Protein Kinases*) stimule la synthèse de nombreux facteurs de transcription comme c-myc, c-fos, c-jun, etc. Son rôle est donc essentiel dans la prolifération et la différenciation cellulaire.

– La voie de la PI3 kinase est responsable par l'activation de la protéine kinase AKT du contrôle des voies anti-apoptotiques.

– La voie de STAT3 est impliquée dans la prolifération, l'apoptose et l'angiogenèse.

À l'état physiologique, sur les cellules normales, l'EGFR est un proto-oncogène joue un rôle prépondérant dans la survie cellulaire. À l'état pathologique, l'EGFR est impliqué dans les différents processus de carcinogenèse comme la prolifération cellulaire, l'inhibition de l'apoptose, l'angiogenèse, la mobilité cellulaire et la progression métastatique. Il est alors considéré un oncogène.

Différents modes d'activation de l'EGFR peuvent être observés dans la tumeur :

- une surexpression du récepteur au niveau de la membrane cellulaire ;
- une augmentation de l'expression du ligand ;
- une activation intrinsèque du récepteur indépendante du ligand : récepteur mutant tronqué EGFRvIII par délétion des exons 2 et 7 ou récepteur muté au niveau du domaine catalytique.

La surexpression de l'EGFR est présente dans de nombreux modèles tumoraux, dont les cancers colorectaux, les cancers ORL, et les cancers bronchopulmonaires. Les récentes innovations thérapeutiques résultent donc de l'identification des molécules surexprimées par les cellules tumorales et impliquées dans le processus de carcinogenèse. Le ciblage de ces molécules impliquées dans les différents processus de carcinogenèse constitue le nouveau défi thérapeutique de ces dernières années.

Anticorps anti-EGFR : généralités

Les anticorps monoclonaux dirigés contre l'EGFR se lient spécifiquement au domaine extra-cellulaire et entrent en compétition avec la fixation du ligand. Le blocage de la dimérisation et de l'autophosphorylation tyrosine kinase inhibe les voies de transduction du signal.

Trois anticorps monoclonaux ciblant le récepteur à l'EGF peuvent être cités : le cétuximab (Erbitux®), le panitumumab (ABX-EGF), et le matuzumab (EMD72000). Le cétuximab, anticorps chimérique, est utilisé en pratique clinique dans les cancers colorectaux et les cancers ORL. Le panitumumab (ABX-EGF), anticorps humain IgG2 vient d'être approuvé pour le cancer du côlon. Le matuzumab (EMD72000), anticorps humanisé IgG1 avec 10% de protéine de souris, sont actuellement en phase d'évaluation clinique.

Cétuximab

Le cétuximab est un anticorps monoclonal chimérique (humain/murin) IgG1 se fixant électivement à la portion extracellulaire du récepteur à l'EGF. Son affinité et sa spécificité pour le récepteur à l'EGF sont supérieures à celles des ligands naturels EGF et TGF- α .

Plusieurs études de phase II ont démontré l'activité du cétuximab en monothérapie et en association à la chimiothérapie :

- dans les cancers colorectaux métastatiques exprimant l'EGFR après échec au CPT-11 ;

- dans les cancers des VADS localement évolués en association avec la radiothérapie ;
- dans les cancers bronchiques.

Cétuximab et cancer colorectal (CCR) (tableau I)

L'étude BOND I (*Bowel Oncology with cetuximab aNtiboDy*) (1) a démontré l'efficacité du kétuximab en monothérapie et en association au CPT-11. Cette étude randomisée de phase II incluait des patients avec un CCR métastatique réfractaires au CPT-11 et exprimant l'EGFR. Le kétuximab était administré avec une première dose de charge de 400 mg/m² IV suivie d'une dose hebdomadaire de 250 mg/m² IV. Selon une randomisation 2/1, 218 patients ont reçu l'association kétuximab + CPT-11 et 111 patients le kétuximab seul. Le taux de réponses objectives pour le kétuximab seul était de 11 % et la survie médiane de 6,9 mois. Avec le CPT-11, le kétuximab permettait d'obtenir une augmentation significative du taux de RO à 23 % ($p = 0,007$) et une médiane de survie globale de 8,6 mois.

Tableau I – Cetuximab et cancers du côlon métastatiques prétraités par CPT-11.

1 ^{er} auteur	Traitement	N	Taux RO	Stabilité	SSP	SG
Saltz, 2004	Cétuximab	57	9%	33%	1.4 mois	6.4 mois
Lenz, 2006	Cétuximab	346	11,6%	31,8%	1,4 mois	6.6 mois
Cunningham, 2004	Cétuximab	111	11 %	32 %	1.5 mois	6.9 mois
	Cétuximab + CPT-11	218	23 %	56 %	4.1 mois	8.6 mois

Deux autres études de phase II ont confirmé ces résultats :

- le kétuximab monothérapie (2) dans une étude de phase II de 57 patients induisait un taux de RO de 9% avec une médiane de survie globale de 6,4 mois ;

- une étude de phase II conduite par Lenz *et al.* (3), incluant des patients réfractaires au CPT-11, à l'oxaliplatine, et au 5-FU, a retrouvé avec le kétuximab seul un taux de RO de 11,6% et une médiane de survie globale de 6,7 mois.

Les études plus récentes ont pour objectif de positionner le kétuximab en première ligne de traitement, soit en association avec l'oxaliplatine, soit en association avec le CPT-11. Plusieurs études ont été présentées à différents congrès internationaux. Les résultats sont encore incomplets pour la plupart d'entre elles. À l'ASCO GI 2007, les résultats complets de l'étude ACROBAT incluant 43 patients traités par FOLFOX4 plus kétuximab ont été rapportés (4). Le taux

de RO était de 72 % avec des médianes de survie sans progression et de survie globale respectives de 12,3 mois et 30 mois. Les auteurs soulignaient le pourcentage élevé de 23 % de résections hépatiques pour des tumeurs initialement non résecables. L'apport du cétuximab aux associations 5-FU et CPT-11 est également en cours d'évaluation (tableau II). Le FOLFIRI avec le cétuximab a montré des résultats prometteurs dans une étude de phase II où 10 patients sur 42 ont pu être opérés au niveau hépatique (5).

La place du cétuximab en première ligne de traitement des CCR métastatiques ne pourra être définitivement affirmée qu'après publication des études de phase III, en particulier l'étude CRYSTAL qui comparait une chimiothérapie par FOLFIRI à la même chimiothérapie plus cétuximab.

Tableau II – Cétuximab et cancers du côlon métastatiques en première ligne de traitement.

1 ^{er} auteur	Traitement	N	Taux de R.0	SSP	SG
Andre, 2007	Cétuximab + FOLFOX-4	43	72 %	12,3 mois	30 mois
Folprecht, 2006	Cétuximab + AIO-CPT-11	20	67 %	9,9 mois	33 mois
Peeters, 2005	Cétuximab + FOLFIRI	42	45,2 %	–	23 mois

Cétuximab et cancers ORL

Le récepteur à l'EGF est exprimé dans la plupart des cancers épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures. Le cétuximab a donc été précocement testé dans ces localisations, notamment en association avec la radiothérapie dont les effets étaient potentialisés.

L'étude de phase III de Bonner *et al.* (6) a randomisé 424 patients avec un cancer ORL localement avancé. L'étude comparait une radiothérapie seule à une association radiothérapie concomitante + cétuximab (dose charge de 400 mg/m², une semaine avant la radiothérapie, puis 250 mg/m² hebdomadaire). Trois protocoles de radiothérapie étaient autorisés : 1 fois/jour, 70 Gy en 35 fractions ; 2 fois/jour, 72-76,8 Gy en 60 – 64 fractions et 72 Gy en 42 fractions. Parmi les patients randomisés dans le bras radiothérapie + cétuximab, 90 % ont reçu la dose prévue. Les résultats étaient nettement en faveur de la combinaison avec une augmentation significative de la durée du contrôle locorégional de presque 10 mois (24,4 mois *versus* 14,9 mois ; $p = 0,005$). L'objectif principal était atteint avec une amélioration de la survie globale médiane de 20 mois (49 mois *versus* 29,3 mois ; $p = 0,03$). Les effets secondaires ne semblaient pas majorés avec le cétuximab (mucites, dysphagie, radiodermite) à l'exception du syndrome acnéiforme (17 % *versus* 1 % ; $p = 0,01$). Il existait un taux de préservation laryngée supérieur dans le bras association, sans que la significativité statistique ne soit cependant atteinte.

Tableau III – Cetuximab et cancers bronchiques.

1 ^{er} auteur	Traitement	n	Taux de RO	Stabilité
Hanna, 2006	Phase II : cétuximab monothérapie (≥ 1 ^{re} ligne de chimiothérapie)	66	4,5 %	30,3 %
Kim, 2003	Phase II : docétaxel-cetuximab (2 ^e ligne de chimiothérapie)	47	27,7 %	17 %
Rosell, 2004	Phase II randomisée : (1 ^{re} ligne de chimiothérapie) Vinorelbine-cisplatine Vinorelbine-cisplatine + cétuximab	43 43	28 % 35 %	40 % 49 %
Thienelt, 2005	Phase I/II : paclitaxel-carboplatine + cétuximab (1 ^{re} ligne de chimiothérapie)	31	26 %	39 %
Robert, 2005	Phase IB/IIA : gemcitabine-carboplatine + cétuximab (1 ^{re} ligne de chimiothérapie)	33	24,2 %	42,4 %

Cette étude avait choisi comme bras de référence la radiothérapie seule puisqu'à son initiation, la supériorité de la radio-chimiothérapie n'avait pas encore été validée. Quoiqu'il en soit, l'utilisation du cétuximab peut être utilisée comme une alternative à l'utilisation du cisplatine dont la toxicité clinique constitue régulièrement un facteur limitant de la décision thérapeutique.

Plusieurs études de phase II ont été menées dans les carcinomes ORL en récidive ou évolution métastatique après échec du cisplatine (7, 8). Les taux de réponses observés avec le cétuximab ou en association avec des sels de platine étaient de 10 à 13 % avec un délai médian avant progression de 2,2 à 2,8 mois.

Cétuximab et cancers bronchiques

Le cétuximab en monothérapie, administré à 66 patients prétraités, quel que soit le statut de l'EGFR, permettait d'obtenir un taux de réponses objectives de 4,5 % (3/66) avec 30,3 % de stabilités (9). Les trois réponses observées concernaient des patients porteurs de tumeurs exprimant l'EGFR. Les médianes de survie sans progression et de survie globale étaient respectivement de 2,3 mois et 8,9 mois.

Quatre études ont combiné le cétuximab à la chimiothérapie dans les cancers bronchopulmonaires non à petites cellules alors qu'une seule étude a associé le cétuximab au docétaxel en deuxième ligne (tableau III). Elles permettent de conclure à la faisabilité de l'association chimiothérapie plus cétuximab avec des doses non diminuées. Seules des études de phase III pourront répondre à l'intérêt de l'ajout du cétuximab à la chimiothérapie en termes de survie globale.

Rosell *et al.* (10) ont rapporté une étude de phase II randomisée à l'ASCO 2004, non encore publiée, comparant vinorelbine + cisplatine à la même chimiothérapie plus cétuximab. Aucune conclusion ne peut être portée en raison du faible effectif. Les médianes de survie sans progression et de survie globale restent faibles : 4,8 mois *versus* 4,2 mois et 8,3 mois *versus* 7 mois, respectivement, avec ou sans cétuximab.

Panitumumab (ABX-EGF)

Le panitumumab est un anticorps monoclonal humain IgG2 de haute affinité pour le récepteur à l'EGF. Le tableau IV résume les résultats de trois études de phase II avec le panitumumab administré chez des patients porteurs d'un CCRm en échec après oxaliplatine et/ou CPT-11 (11, 12, 13). Les taux de RO étaient de 7 à 9 %, quel que soit le niveau d'expression de l'EGFR. À partir de ces résultats, le panitumumab a été testé en phase III pour des patients lourdement prétraités et exprimant l'EGFR en immuno-histochimie (14). Deux cent trente et un patients étaient traités par panitumumab (6 mg/kg toutes les 2 semaines), sans prémédication, et 232 patients recevaient les meilleurs soins de support. Un cross-over était autorisé après progression dans le bras « meilleurs soins de support ». L'objectif principal, la médiane de survie sans progression, était atteint avec une diminution du taux de progression de 46 % ($p < 10^{-9}$) chez les patients recevant l'anticorps anti-EGFR. Le taux de RO était de 8 % avec le panitumumab *versus* 0 % dans le bras contrôle. La toxicité cutanée (syndrome acnéiforme, prurit, érythème et rash) concernait 90 % des patients dont 14 % de grade 3-4. Une corrélation était établie entre la survie globale et l'intensité de la toxicité cutanée ($p = 0,0278$). Le panitumumab a été récemment enregistré dans cette indication.

Tableau IV – Panitumumab et études de phases dans les cancers colorectaux métastatiques prétraités.

	Berlin <i>et al.</i> (ASCO 2006)	Hecht <i>et al.</i> (ASCO 2006)	Malik <i>et al.</i> (ASCO 2005)
Expression EGFR (IHC)			
< 1 %	0 %	36 %	0 %
1 à 9 %	3 %	61 %	0 %
≥ 10 %	97 %	2 %	100 %
Nombre de patients			
– efficacité	39	89	148
– tolérance	91	118	148
Taux de RO	8 %	7 %	9 %
Médiane de SSP	8 sem	14 sem	14 sem

Le panitumumab est maintenant étudié en association avec l'oxaliplatine ou le CPT-11 en première ou deuxième ligne de traitement. Le rôle du panitumumab est aussi étudié dans d'autres localisations cancéreuses, comme les cancers du rein et du poumon.

Matuzumab (EMD72000)

Le matuzumab est un anticorps monoclonal humanisé IgG1 de haute spécificité pour le récepteur à l'EGF. Dans une étude de phase I, le matuzumab a été prescrit à des doses croissantes de 400 à 2 000 mg selon un rythme hebdomadaire ou toutes les 2 et 3 semaines (15). La dose recommandée était de 1 600 mg/sem et les toxicités dose-limitantes étaient à type de céphalées et de syndrome fébrile grade 3. Le syndrome acnéiforme, toxicité la plus fréquente, ne dépassait pas le grade 2. Sur 22 patients inclus, cinq (23 %) réponses objectives étaient obtenues (2 patients avec un cancer colorectal, 2 patients avec un cancer ORL, et 1 patient avec un cancer de l'œsophage). Dans les cancers du pancréas métastatiques, la gemcitabine a été associée au matuzumab chez 17 patients (16). Cette étude de phase I avec 3 niveaux de doses pour le matuzumab a inclus 17 patients. Sur 12 patients évaluable, 8 réponses partielles étaient observées. Une autre étude de phase I a été conduite dans les cancers bronchopulmonaires en combinaison avec le paclitaxel chez des patients exprimant l'EGFR (17). Avec des doses de 800 mg/sem pour le matuzumab et de 175 mg/m² toutes les 3 semaines pour le paclitaxel, Les toxicités restaient inférieures ou égales au grade 2 (prurit, bronchospasmes, douleurs abdominales, flush) et avec 4 réponses objectives sur 18.

Conclusion et perspectives

L'entrée des anticorps anti-EGFR dans l'arsenal thérapeutique anticancéreux a modifié la prise en charge des patients avec un cancer, notamment avec un cancer du côlon ou un cancer ORL. Leur toxicité au niveau cutané est un facteur prédictif de réponse et l'étude EVEREST utilise cette propriété pour augmenter l'efficacité du cétuximab en association avec le CPT-11 dans les CCR métastatiques prétraités (18). Augmenter la dose de cétuximab jusqu'à 500 mg/m²/semaine chez des patients avec une toxicité cutanée inférieure au grade 1 permet de majorer le taux de RO de 13 à 30 %.

Les possibilités d'utilisation des anticorps anti-EGFR restent nombreuses. De nombreuses localisations tumorales font l'objet d'études pilotes, comme par exemple les cancers du rectum lors de la phase préopératoire, les cancers de l'œsophage localement avancés en association avec la radio-chimiothérapie, ou encore les cancers du côlon en situation adjuvante. C'est aussi l'association

avec le bevacizumab, anticorps anti-VEGF, qui sera probablement à l'origine de modifications de la prise en charge thérapeutique des patients cancéreux. Dans les cancers colorectaux métastatiques, en échec d'une chimiothérapie à base de CPT-11, une étude de phase II randomisée (BOND 2) a permis d'obtenir un taux de RO de 38 % avec la combinaison CPT-11 + bevacizumab + cétuximab et de 23 % avec la bithérapie par cétuximab + bevacizumab (19). Il faudra aussi déterminer quels patients pourront bénéficier de ce type de thérapeutique ciblée. Dans une étude rétrospective, les 13 patients avec une tumeur présentant une mutation de KRAS n'étaient pas répondeurs au cétuximab (20). L'AMM du panitumumab est donnée pour les patients n'ayant pas de mutation KIRAS.

Références

1. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, *et al.* (2004) Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 351: 337-45
2. Saltz LB, Meropol NJ, Loehrer PJ Sr, *et al.* (2004) Phase II trial of cetuximab in patients with refractory colorectal cancer that expresses the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 22: 1201-8
3. Lenz HJ, Van Cutsem E, Khambata-Ford S, *et al.* (2006) Multicenter phase II and translational study of cetuximab in metastatic colorectal carcinoma refractory to irinotecan, oxaliplatin, and fluoropyrimidines. *J Clin Oncol* 24: 4914-21
4. Andre T, Tabernero J, Van Cutsem E, *et al.* (2007) Phase II study with cetuximab plus FOLFOX-4 in first-line setting for epidermal growth factor receptor (EGFR)-expressing metastatic colorectal cancer (mCRC) : Final results. *Gastrointestinal Cancers symposium*: abstract 334
5. Peeters M, Raoul JL, van Laethem JL, *et al.* (2005) Cetuximab in combination with irinotecan/5-fluorouracil (5-FU)/folinic acid (FA) (FOLFIRI) in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC). *Eur J Cancer (suppl 3)*: abstract 664
6. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, *et al.* (2006) Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 9: 567-78
7. Herbst RS, Arquette M, Shin DM, *et al.* (2005) Phase II multicenter study of the epidermal growth factor receptor antibody cetuximab and cisplatin for recurrent and refractory squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 23: 5578-87
8. Baselga J, Trigo JM, Bourhis J, *et al.* (2005) Phase II multicenter study of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab in combination with platinum-based chemotherapy in patients with platinum-refractory metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 23: 5568-77
9. Hanna N, Lilenbaum R, Ansari R, *et al.* (2006) Phase II trial of cetuximab in patients with previously treated non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 20: 5253-8
10. Rosell R, Daniel C, Ramlau R, *et al.* (2004) Randomized phase II study of cetuximab in combination with cisplatin (c) and vinorelbine (V) vs CV alone in the first-line treatment of patients (pts) with epidermal growth factor (EGFR)-expressing advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *J Clin Oncol* 22 (suppl 14): abstract 7012a
11. Berlin J, Neubauer M, Swanson P, *et al.* (2006) Panitumumab antitumor activity in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) expressing > 10 % epidermal growth factor receptor (EGFr). *J Clin Oncol* 24 (suppl 18s): abstract 3548

12. Hecht J, Mitchell E, Baranda J (2006) Panitumumab antitumor activity in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) expressing low (1-9%) or negative (<1%) levels of epidermal growth factor receptor (EGFr). *J Clin Oncol* 24 (Supplement 18s): abstract 3547
13. Malik I, Hecht JR, Patnaik A, *et al.* (2005) Safety and efficacy of panitumumab monotherapy in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC). *J Clin Oncol* 23 (suppl 16s): abstract 3520
14. Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, *et al.* (2006) A phase 3, multicenter, randomized controlled trial of panitumumab plus best supportive care (BSC) *versus* BSC alone in patients with metastatic colorectal cancer. *Proc Am Ass Cancer Res*
15. Vanhoefler U, Tewes M, Rojo F, *et al.* (2004) Phase I study of the humanized anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody EMD72000 in patients with advanced solid tumors that express the epidermal growth factor receptor. *J Clin Oncol* 22: 175-84
16. Graeven U, Kremer B, Südhoff Th, *et al.* (2006) Phase I study of the humanised anti-EGFR monoclonal antibody matuzumab (EMD 72000) combined with gemcitabine in advanced pancreatic cancer. *Br J Cancer* 94: 1293-99
17. Kollmannsberger C, Schittenhelm M, Honecker F, *et al.* (2006) A phase I study of the humanized monoclonal anti-epidermal growth factor receptor (EGFR) antibody EMD 72000 (matuzumab) in combination with paclitaxel in patients with EGFR-positive advanced non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol* 17: 1007-13
18. Van Cutsem E, Humblet Y, Gelderblom H, *et al.* (2007) Cetuximab dose-escalation study in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC) with no or slight skin reactions on cetuximab standard dose treatment (EVEREST): Pharmacokinetic and efficacy data of a randomized study. *Gastrointestinal Cancers symposium*: abstract 237
19. Saltz LB, Lenz H, Hochster H, *et al.* (2005) Randomized Phase II Trial of Cetuximab/Bevacizumab/Irinotecan (CBI) *versus* Cetuximab/Bevacizumab (CB) in Irinotecan-Refractory Colorectal Cancer. *J Clin Oncol* 23 (suppl 16s): abstract 3508
20. Lievre A, Bachet JB, Le Core D, *et al.* (2006) KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 66: 3992-5
21. Folprecht G, Lutz MP, Schoffski P, *et al.* (2006) Cetuximab and irinotecan/5-fluorouracil/folinic acid is a safe combination for the first-line treatment of patients with epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal carcinoma. *Ann Oncol* 17: 450-6
22. Kim ES, Mauer AM, Tran HT, *et al.* (2003) A phase II study of cetuximab, an epidermal growth factor receptor (EGFR) blocking antibody, in combination with docetaxel in chemotherapy refractory/resistant patients with advanced non-small cell lung cancer: final report. *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: abstract 2581
23. Thienelt CD, Bunn PA Jr, Hanna N, *et al.* (2005) Multicenter phase I/II study of cetuximab with paclitaxel and carboplatin in untreated patients with stage IV non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23: 8786-93
24. Robert F, Blumenschein G, Herbst RS, *et al.* (2005) Phase I/IIa study of cetuximab with gemcitabine plus carboplatin in patients with chemotherapy-naïve advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23: 9089-96

Thérapies ciblées : inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase du récepteur à l'EGF

O.-N. Pagès, P. Amsalhem et J.-F. Morère

L'inhibition de l'activité tyrosine-kinase du récepteur de l'*epidermal growth factor* (REGF ou HER1) diminue la prolifération cellulaire, l'angiogénèse, l'invasion tumorale locale et métastatique ; de plus, elle favorise l'apoptose et augmente la sensibilité à la radiothérapie.

Inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase du REGF dans le cancer du poumon non à petites cellules

Prérequis

Quarante à 80 % des cas de cancer du poumon non à petites cellules (CPNPC) présentent une surexpression du REGF (1).

L'erlotinib (OSI774, Tarceva®, poids moléculaire faible : 429,9 Da) est un inhibiteur spécifique et réversible, actif par voie orale, de l'activité tyrosine kinase du REGF. Il entre en compétition avec l'ATP en se liant avec le site catalytique tyrosine kinase dans le domaine intracellulaire du REGF. *In vitro* et *in vivo*, il inhibe de façon dose dépendante l'autophosphorylation tyrosine et la cascade de signaux intracellulaires.

D'autres molécules [ZD1839 (gefitinib, Iressa®), PKI 166, CI-10303] en cours de développement, sortent du cadre de cet ouvrage à visée clinique.

En pratique

L'erlotinib (Tarceva®), seul inhibiteur du REGF approuvé par l'Agence Européenne d'Évaluation des Médicaments (EMA), se présente sous la forme de comprimés dosés à 25 mg, 100 mg et 150 mg. La posologie optimale est de 150 mg/jour, en continu.

Indication de l'erlotinib

L'erlotinib est indiqué pour le traitement en monothérapie, en deuxième et troisième lignes des CPNPC de stade IIb ou IV.

Cette indication est fondée sur l'étude de phase III BR21 (2) – erlotinib *versus* placebo – qui valide une augmentation significative de deux semaines de survie sans progression de la maladie, et une augmentation significative de deux mois de la survie globale (fig. 1).

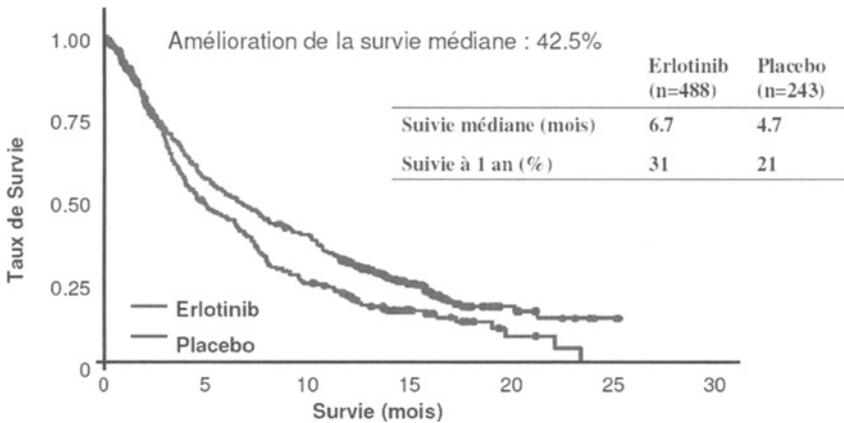


Fig. 1– Étude BR21 : survie globale.

Même dans les pays du Sud-Est de l’Asie où le gefitinib est largement utilisé (en raison notamment d’une efficacité de la molécule dans le sous-groupe de patients de type asiatique de l’étude IDEAL), l’erlotinib a été démontré récemment comme ayant un meilleur potentiel thérapeutique en termes de taux de contrôle de la maladie et de taux de réponse chez les patients atteints de CPNPC de stade IIb/IV avec un REGF de type sauvage et dont la maladie était pourtant stable sous gefitinib (3).

Utilisation de l'erlotinib non justifiée ou n’ayant pas montré d’intérêt

- En première ligne d’un traitement de CPNPC de stade IIb ou IV, en combinaison avec une chimiothérapie standard associant un sel de platine au gemcitabine [étude TALENT (4)] ou au paclitaxel [étude TRIBUTE (5)]. Cependant une amélioration significative de la survie globale a été observée dans un sous-groupe de patients non-fumeurs dans l’étude TRIBUTE.
- Patient chez lequel l’immunohistochimie est REGF négative sur les biopsies tumorales.

Contre-indications

Allergie à l'erlotinib ou à l'un des excipients, grossesse et allaitement, galactosémie, déficit en lactase, syndrome de malabsorption du glucose ou galactose, insuffisance rénale sévère, insuffisance hépatique sévère.

Tolérance des inhibiteurs du REGF et précautions d'emploi

Aucune myélotoxicité significative n'a été enregistrée dans les différentes études réalisées avec l'erlotinib.

Les effets secondaires les plus fréquemment retrouvés sont : rash cutané acnéiforme (76 %), diarrhée (55 %), anorexie (52 %), fatigue (52 %), dyspnée (41 %), toux (33 %), nausée et vomissements (23 %).

Les effets cutanés (fig. 2) semblent être un marqueur prédictif de l'efficacité de l'erlotinib (ASCO 2007, Abstract 7602). Généralement peu sévères (9 % de grades 3-4), ils apparaissent dans un délai de huit jours. Le traitement fait appel aux tétracyclines 500 mg deux fois par jour pendant quatre semaines, en association à des préparations grasses à base de cuivre ou à des crèmes hydratantes. Le traitement préventif, toujours à base de tétracyclines, permet non pas de diminuer l'incidence des réactions cutanées, mais d'en réduire considérablement la sévérité (seulement 17 % de grade 2). En cas de réaction cutanée de grade supérieur ou égal à trois, il faut suspendre l'erlotinib jusqu'à une régression des symptômes à une sévérité de grade 1, puis reprendre le traitement à posologie réduite.

Les diarrhées apparaissent à J12 en moyenne, et peuvent être traitées par lopéramide et réhydratation. La réduction des doses, voire l'interruption de l'erlotinib, est alors à discuter au cas par cas.

D'autres effets secondaires ont été plus rarement rapportés : stomatite (17 %), prurit (13 %), sécheresse cutanée (12 %), conjonctivite (12 %), mais aussi pneumopathie interstitielle diffuse (PID) chez 0,6 % des patients. Une souffrance hépatocellulaire est également possible, avec cytolyse et cholestase biologique ; ces perturbations du bilan hépatique sont généralement transitoires.

Devant la survenue ou l'aggravation de symptômes pulmonaires (dyspnée, toux, fièvre) faisant suspecter une PID, l'administration d'erlotinib doit être interrompue. Le traitement de première intention en est la corticothérapie de type dexaméthasone associée à une oxygénothérapie (6). L'association erlotinib-dexaméthasone n'est pas conseillée car le dexaméthasone est un inducteur potentiel du CYP3A4 (7).

Enfin, une contraception efficace doit être mise en œuvre pendant toute la durée du traitement et prolongée au moins quinze jours après l'arrêt de celui-ci. En cas de survenue d'une grossesse sous erlotinib, le traitement ne doit être poursuivi que si le bénéfice attendu pour la mère justifie le risque pris pour le fœtus (aucune étude n'a été réalisée chez la femme enceinte et le risque poten-

tiel chez l'homme n'est pas connu ; mais des études précliniques chez l'animal ont mis en évidence une toxicité sur la fonction de reproduction



Fig. 2 – Rash cutané acnéiforme.

Il est à noter que les essais de phase IV publiés à l'ASCO en 2007 par les équipes d'Asie du Sud-Est confirment la bonne tolérance du médicament à la dose de 150 mg par jour.

Facteurs prédictifs de réponse à l'erlotinib

Le sexe féminin, le type asiatique, l'histologie adénocarcinome, l'augmentation de l'ACE, et le fait de n'avoir jamais fumé sont des facteurs prédictifs de sensibilité aux inhibiteurs du REGF.

Cela s'explique par la présence plus fréquente dans ces différents sous-groupes de mutations du gène du REGF qui favorisent la réponse thérapeutique. Aujourd'hui, de nombreuses mutations sont identifiées (tableau I), que l'on peut rechercher par techniques de biologie moléculaire (PCR) ; des tests diagnostiques utilisables en pratique courante seront bientôt disponibles. Ces mutations n'étaient pas considérées jusqu'à cette année comme favorisant la survie, cependant une équipe coréenne a rapporté une corrélation à la survie lors de l'ASCO 2007. Le sujet reste donc controversé.

Tableau I – Quelques exemples de mutations somatiques hétérozygotes du gène codant le REGF. Ces mutations, intéressant spécifiquement le site catalytique tyrosine-kinase (portion intracellulaire du récepteur), augmentent la sensibilité du récepteur aux différents inhibiteurs pharmacologiques.

Type de mutation	Conséquences de la mutation
Exon 19	
Délétion de 15 nucléotides (2235-2249)	Délétion non décalante (746-750)
Délétion de 12 nucléotides (2240-2251)	Délétion non décalante (747-751) et insertion d'un résidu sérine
Délétion de 18 nucléotides (2240-2257)	
Exon 21	
Substitution G- T du nucléotide 2573	Substitution d'un acide aminé (L858R)
Substitution A- T du nucléotide 2582	Substitution d'un acide aminé (L861Q)
Exon 18	
Substitution T- G du nucléotide 2155	Substitution d'un acide aminé (G719C)

De même, si le nombre de copies du gène codant le REGF est augmenté au sein de la cellule tumorale, non seulement la sensibilité aux inhibiteurs du REGF est meilleure, mais aussi la survie globale est allongée. Le nombre de copies de ce gène s'évalue par la technique de FISH.

Mécanismes de résistance

Il existe à l'inverse certaines mutations du gène codant le REGF qui entraînent une résistance aux inhibiteurs du REGF. Il a été montré récemment que des patients rechutant après une réponse initiale à l'erlotinib avaient une mutation secondaire du gène codant le REGF (concernant le site de liaison de l'ATP) en addition de celle, initiale, favorisant la sensibilité.

Des mutations du système Akt/K-ras peuvent également donner des résistances.

Cas particulier du carcinome bronchiolo-alvéolaire (CBA)

Quelques cas ont été rapportés d'amélioration spectaculaire (fig. 3 et 4) avec l'erlotinib chez des patients porteurs de CBA avancé. L'étude menée par Kris *et al.* (8) rapporte même un taux de réponse à l'erlotinib de 21 %.

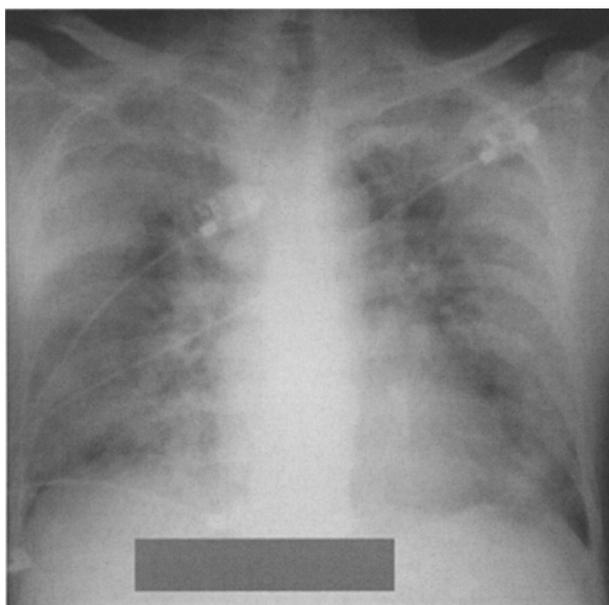


Fig. 3 – Avant traitement d'un CBA. Aspect TDM et radiographique.

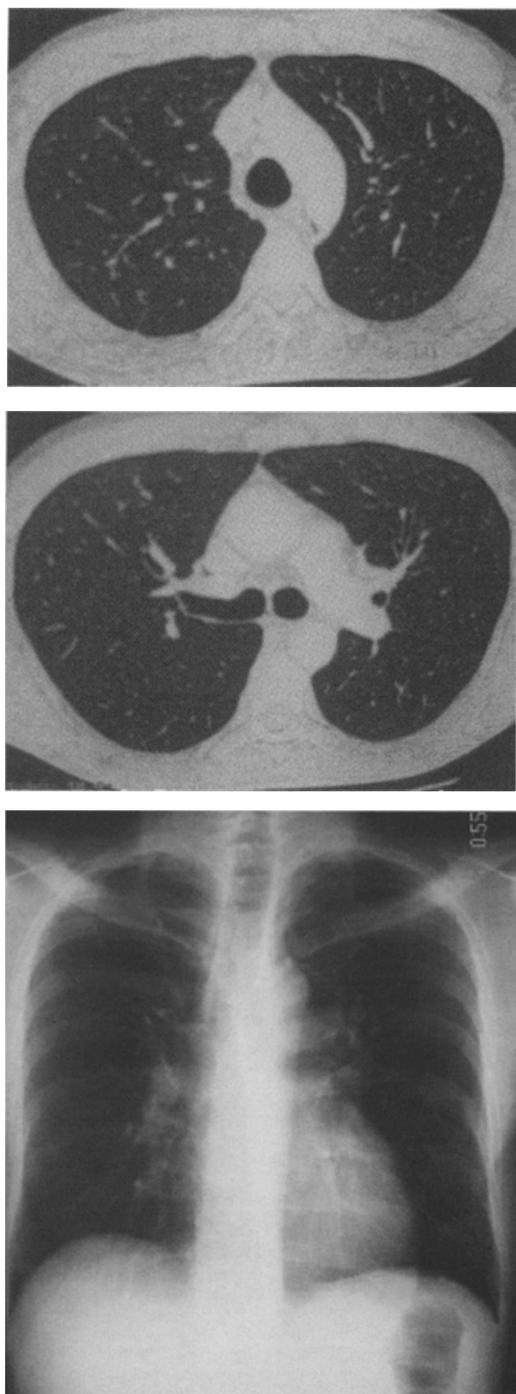


Fig. 4 – Même patient que sur la figure 3, mais 30 jours après le début d'un traitement par erlotinib.

Conclusion

La compréhension des mécanismes de sensibilisation ou de résistance aux inhibiteurs du REGF est à l'origine du criblage des patients. Ainsi, des études de phase II ont été publiées montrant l'efficacité de l'erlotinib en monothérapie d'un adénocarcinome broncho-pulmonaire stade IIIa ou IV chez la femme n'ayant jamais ou peu fumé.

Inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase du REGF dans le cancer du sein

Le lapatinib (GW572016, TYVERB®) est un inhibiteur double des récepteurs à l'EGF (HER1) et HER2. Cette molécule a démontré une activité prometteuse dans les cancers du sein en situation préclinique et dans les essais cliniques précoces.

Dans une étude de phase II (Gomez *et al.* 9, 10), 130 patientes atteintes de cancer du sein métastatique ont été traitées par une dose unique de 1 500 mg ou une dose de 500 mg, deux fois par jour, en première ligne. Un taux de réponse objective de 28% a été observé. Quarante pour cent des patientes sont restés stables.

Une étude de phase III (11) a été conduite sur une large population chez des patientes atteintes de tumeur du sein métastatique identifiée comme HER2+ et ayant progressé sous un traitement par anthracycline, taxane et trastuzumab. Les patientes étaient randomisées entre une chimiothérapie par capécitabine seule à la dose de 2 500 mg/m²/jour ou une combinaison de capécitabine à la même dose associée à du lapatinib à 1 250 mg/jour. Le lapatinib était administré selon un schéma continu du jour 1 à 14. Un gain significatif de survie sans progression est observé avec la combinaison par rapport à la chimiothérapie seule (37 *versus* 20 semaines ; p = 0,00016).

Le lapatinib a donc été actif à la fois dans les tumeurs du sein réfractaires au trastuzumab (il vient d'être enregistré dans cette indication) mais aussi chez les patientes naïves de tout traitement.

Inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase du REGF dans le cancer du pancréas

Depuis janvier 2007, l'EMEA a accordé une extension d'indication au Tarceva® pour le traitement du cancer du pancréas métastatique, en association à la gemcitabine. Dans cette situation l'erlotinib (administré à 1 comprimé de

100 mg/jour) a montré une amélioration significative de la survie globale (12). Tout comme pour le CPNPC, l'apparition d'une éruption cutanée est associée à une meilleure survie globale.

Conclusion

Deux inhibiteurs de tyrosine kinase HER 1 (erlotinib) et HER 1 et HER 2 (lapatinib) sont désormais disponibles en clinique en phase avancée de cancer du poumon, du pancréas et du sein, seuls ou en combinaison avec la chimiothérapie.

Références

1. Ranson M (2002) ZD1839 (Iressa): for more than just non-small cell lung cancer. *Oncologist* 7: 16-24
2. Fuster LM, Sandler AB (2004) Select clinical trials of erlotinib (OSI-774) in non-small-cell lung cancer with emphasis on phase III outcomes. *Clin Lung Cancer* 6: S24-9
3. Cho B, Im C, Park M, *et al.* (2007) Phase II Study of Erlotinib in Advanced Non-Small Cell Lung Cancer After Failure of Gefitinib. *J Clin Oncol* 25: 2528-33
4. Gatzemeier U, Pluzanska A, Szczesna E (2004) Results of phase II trial of erlotinib (OSI-774) combined with cisplatin and gemcitabine (GC) chemotherapy in advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: 7010
5. Herbst RS, Prager D, Hermann R, *et al.* (2005) TRIBUTE: a phase III trial of erlotinib hydrochloride (OSI-774) combined with carboplatin and paclitaxel chemotherapy in advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23: 5892-9
6. Camus PH, Foucher P, Bonniaud PH, Ask K (2001) Drug-induced infiltrative lung disease. *Eur Respir J* 32: 93s-100s
7. McCune JS, Hawke RL, LeCluyse EL, *et al.* (2000) In vivo and in vitro induction of human cytochrome P4503A4 by dexamethasone. *Clin Pharmacol Ther* 68: 356-66
8. Kris MG, Giaccone G, Davies A, *et al.* (2006) Systemic therapy of bronchioloalveolar carcinoma: results of the first IASLC/ASCO consensus conference on bronchioloalveolar carcinoma. *J Thorac Oncol* 1: S32-6
9. Gomez HL, Chavez MA, Doval DC, *et al.* (2005) A phase II, randomized trial using the small molecule tyrosine kinase inhibitor lapatinib as first-line treatment in patients with ErbB2 FISH-amplified advanced or metastatic breast cancer. *J Clin Oncol*, ASCO Annual meeting proceedings (23)16S, Part I of II (June 1 Supplement): 3046
10. Gomez HL, Chavez MA, Doval DC, *et al.* (2005) Biomarker results from a phase II randomised study of lapatinib as first line treatment for patients with ErbB2 FISH-amplified advanced or metastatic breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 94: S63
11. Geyer CE Jr, Cameron D, Lindquist D, *et al.* (2006) A phase III randomized, open-label, international study comparing lapatinib and capecitabine versus capecitabine in women with refractory advanced metastatic breast cancer. In: American society of Clinical Oncology Late-breaking. Abstract presented Atlanta, Georgia
12. Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, *et al.* (2007) Erlotinib Plus Gemcitabine Compared With Gemcitabine Alone in Patients With Advanced Pancreatic Cancer: A Phase III Trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. *J Clin Oncol* 25: 1960-6

Le récepteur du VEGF

Anticorps anti-VEGF : un emploi universel

E. Blot et G. des Guetz

Angiogenèse

Les très nombreux travaux menés depuis les années soixante sur le rôle de l'angiogenèse dans les cancers ont permis d'aboutir à des traitements ciblant ce processus physiopathologique (1, 2).

L'angiogenèse est un phénomène actif qui permet la génération de nouveaux vaisseaux à partir de ceux déjà existants. Elle joue un rôle important au cours du développement embryonnaire, dans certaines phases de la reproduction et au cours des phénomènes de cicatrisation. L'inflammation réactionnelle après un traumatisme stimule l'angiogenèse, qui permet la réparation. Elle doit s'éteindre lorsque la cicatrisation est achevée.

L'homéostasie de l'organisme correspond en fait à une balance permanente entre facteurs pro-angiogéniques et facteurs anti-angiogéniques. À l'état stable, les facteurs anti-angiogéniques sont prépondérants et les cellules endothéliales de la vasculature sont quiescentes, il n'y a pas d'angiogenèse. Quand survient une agression, la réaction inflammatoire stimule l'angiogenèse par l'augmentation des facteurs pro-angiogéniques, dont l'effet dépasse alors celui des facteurs anti-angiogéniques. L'activation de l'angiogenèse favorise la cicatrisation. Quand celle-ci est achevée, les facteurs pro-angiogéniques diminuent, la stimulation de l'angiogenèse s'éteint et les facteurs anti-angiogéniques redeviennent prédominants.

L'angiogenèse associe plusieurs phénomènes différents :

- destruction de la membrane basale vasculaire et de la matrice extra-cellulaire ;
- stimulation des cellules endothéliales, entraînant leur prolifération et leur migration pour former de nouveaux tubes capillaires à partir de leur vaisseau d'origine ;
- stimulation des cellules mésenchymateuses qui s'organisent avec ces tubes capillaires pour former de nouveaux vaisseaux stables.

Ces phénomènes sont simultanés et provoqués par des stimulus multiples :

- sécrétion de protéases et d'autres enzymes détruisant la matrice extracellulaire ;
- libération de facteurs de croissance et d'enzymes présents dans la matrice, sous forme active ou nécessitant au préalable une activation enzymatique ;
- sécrétion de facteurs de croissance et de facteurs activateurs, notamment par les cellules cancéreuses et les cellules inflammatoires présentes dans le foyer où a lieu l'angiogenèse.

Dans le même temps est généralement stimulé un processus d'extinction de ces processus d'angiogenèse, qui permet la cicatrisation sans pérennisation du processus inflammatoire.

Néanmoins, dans certains cas, l'inflammation et l'angiogenèse sont pérennisées et deviennent chroniques. Les phénomènes cellulaires et moléculaires stimulant l'angiogenèse mis en jeu lors de l'inflammation chronique sont différents de ceux qui sont présents lors de l'inflammation aiguë. Au cours des phénomènes inflammatoires chroniques, l'angiogenèse est stimulée de façon anormale ou excessive. Elle a alors un effet délétère et peut aggraver le phénomène inflammatoire, créant des lésions spécifiques qui génèrent un processus pathologique propre.

Angiogenèse tumorale

Au cours de la progression tumorale, il existe une stimulation de l'angiogenèse qui s'apparente à l'angiogenèse des phénomènes inflammatoires chroniques.

L'activation de l'angiogenèse est un phénomène indispensable à la progression tumorale et à la création de métastases. Sans angiogenèse efficace, une tumeur ne peut croître au-delà de quelques millimètres cube (3). Ceci a été démontré dans la cornée du lapin (4), où l'on constate, après l'insertion d'une tumeur millimétrique, qu'elle ne grossit pas tant qu'elle n'est pas vascularisée. En revanche, elle se met à croître dès que les vaisseaux l'atteignent.

Le phénomène responsable de ce « sommeil » tumoral tant que la tumeur n'est pas vascularisée a été expliqué. En l'absence d'angiogenèse, alors que le taux de prolifération des cellules cancéreuses reste élevé, l'inhibition de la croissance tumorale est liée à l'activation de l'apoptose des cellules cancéreuses dans une proportion équivalente à leur prolifération (5). Cette description dans un modèle de cancer murin semble correspondre à une situation connue en clinique humaine, quand des métastases apparaissent longtemps après le traitement de la tumeur initiale. Cette reprise évolutive correspond probablement à l'existence au diagnostic initial de métastases infracliniques, microscopiques, qui restent actives sans pouvoir se développer. Ultérieurement, sans doute à la faveur de l'acquisition de la capacité de générer l'angiogenèse, elles peuvent se développer, devenant alors cliniquement symptomatiques.

Facteurs angiogéniques

La stimulation de l'angiogenèse se fait par des facteurs solubles qui sont appelés facteurs angiogéniques. De nombreux facteurs angiogéniques ont été décrits au cours de la progression tumorale. Ils peuvent être de types différents :

- cytokines spécifiques stimulant l'angiogenèse, comme le *Vascular Endothelial Growth Factor* (VEGF) ou le *basic Fibroblast Growth Factor* ;
- cytokines non spécifiques mais dont l'effet sur les cellules endothéliales, direct ou indirect, aboutit à une stimulation de l'angiogenèse, comme le *Tumor Necrosis Factor alpha* ou le *Tumor Growth Factor beta* ;
- molécules particulières ou produits de dégradation de certaines molécules de la matrice extra-cellulaire responsables d'une stimulation de l'angiogenèse, comme les fragments de petit poids moléculaire de l'acide hyaluronique.

En parallèle des facteurs angiogéniques, il existe de nombreux facteurs inhibant l'angiogenèse. Ces facteurs anti-angiogéniques sont, de la même façon, des cytokines ou des molécules qui exercent leur effet sous leur forme intacte ou qui doivent être partiellement dégradées, comme l'angiostatine, un fragment du plasminogène ou l'endostatine, un fragment du fibrinogène XVIII.

Vascular endothelial growth factor

L'équilibre entre facteurs angiogéniques et facteurs anti-angiogéniques se traduit donc par une absence d'angiogenèse dans un tissu sain normal. Au cours du processus de cancérisation, cet équilibre se modifie et l'angiogenèse apparaît, permettant la progression tumorale, locale et à distance. Cette modification correspond à ce que l'on appelle le « *switch* angiogénique ».

Ce *switch* angiogénique a été étudié dans plusieurs modèles de cancérisation chez la souris. Les molécules mises en jeu sont nombreuses, mais un facteur angiogénique paraît être un facteur clé : le VEGF-A (6).

Le VEGF est un mitogène spécifique des cellules endothéliales, qui induit l'angiogenèse (7). Il est indispensable à l'angiogenèse physiologique, mais est également impliqué dans des processus pathologiques mettant en jeu des phénomènes de néovascularisation. C'est un facteur majeur de l'angiogenèse tumorale (8, 9). Plusieurs isotypes du VEGF ont été décrits, correspondant à la forme active (165 kD) ou à des formes non activées ou inactivées. Le VEGF interagit avec ses récepteurs R1, R2 et R3.

L'activation du gène du VEGF-A est sous la dépendance directe de l'hypoxie cellulaire. Dans une situation d'hypoxie, les cellules cancéreuses synthétisent un facteur appelé *Hypoxia Inducible Factor-1* (HIF-1) qui active la transcription du gène du VEGF-A (10). L'hypoxie cellulaire paraît également favoriser l'expression des récepteurs du VEGF (VEGF-R), notam-

ment le VEGF-R2 qui semble le plus important au cours de l'angiogenèse tumorale. Il semble également que le VEGF-A tumoral ne soit pas uniquement synthétisé par les cellules tumorales. En effet, le stroma tumoral est manifestement également une source de VEGF-A (11, 12). Il est également intéressant de noter que des cellules du stroma autres que les cellules endothéliales possèdent des récepteurs pour le VEGF, indiquant que ses effets ne se limitent pas à la seule stimulation des cellules endothéliales.

La corrélation du VEGF-A tumoral avec l'angiogenèse tumorale se heurte au problème de la quantification de l'angiogenèse. Les méthodes initialement proposées, qui nécessitent de compter le nombre de vaisseaux dans une tumeur après marquage par immunohistochimie sur des coupes tumorales en paraffine se heurtent à une très faible reproductibilité. Alors que le premier article sur le compte des microvaisseaux donnait un résultat pronostique spectaculaire (13), une méta-analyse des études publiées, donc avec une surreprésentation des études positives compte tenu du biais de publication, ne retrouve qu'un rôle pronostique très modeste pour l'angiogenèse mesurée par cette méthode (14). Elle montre en particulier que la reproductibilité interobservateur est médiocre. De nouvelles méthodes de quantification de l'angiogenèse sont en cours de développement, en particulier par l'utilisation de l'imagerie fonctionnelle, en marquant les cellules endothéliales activées ou en visualisant le flux de perfusion dans les tumeurs. Néanmoins, ces méthodes restent dépendantes de l'expérience de l'observateur et ne sont guère quantifiables. Surtout, toutes ces méthodes nécessiteraient une méthode de référence à laquelle se comparer, cette méthode n'existe pas aujourd'hui. Un certain nombre de travaux se sont tout de même intéressés à la quantité d'ARNm du VEGF-A dans les tumeurs, peut-être corrélée à l'agressivité tumorale.

En pratique : le bevacizumab (Avastin®)

Le bevacizumab (Avastin®) est un anticorps humanisé anti-VEGF. Si son efficacité en pratique clinique a été démontrée, l'effet biologique du bevacizumab n'est encore pas connu. En effet, il cible le VEGF circulant.

Cancers colorectaux

L'étude princeps démontrant l'efficacité du bevacizumab en pratique clinique a été réalisée dans le cancer colorectal métastatique. Elle portait sur plus de 800 patients recevant irinotécan, 5FU et acide folinique plus le bevacizumab ou un placebo (15). Le traitement par bevacizumab augmentait la médiane de survie sans progression de 60 % et la survie globale de 30 %, avec un taux de

réponse augmenté de 30 % (15). Les effets secondaires étaient essentiellement représentés par une hypertension dans le bras associant le bevacizumab, mais celle-ci était facilement contrôlée. On notait aussi des protéinuries et des cas de perforations digestives.

Le bevacizumab a également été testé dans les cancers colorectaux en association à l'autre protocole usuel, le FOLFOX (associant 5FU, acide folinique et oxaliplatine). Là encore, il existait une amélioration significative de la réponse, avec les mêmes effets secondaires (16).

Cancers du rein

Les traitements actuels par immunothérapie des cancers du rein métastatique n'ont qu'une efficacité très limitée. L'étude de nouveaux concepts thérapeutiques a donc une place naturellement importante dans leur prise en charge. Connaissant le caractère hautement hémorragique des cancers du rein, il était logique de tester dans ces tumeurs un médicament ciblant l'angiogenèse et les néovaisseaux tumoraux. La première étude publiée sur le bevacizumab comparait deux doses à un placebo et montrait une augmentation notable de la survie sans récurrence avec la dose la plus élevée, avec une tolérance acceptable (17).

Lors de l'Asco 2007, le bevacizumab associé à une immunothérapie a été comparé à une immunothérapie plus placebo dans une étude internationale de phase III, randomisée, comportant plus de 640 malades ayant un cancer du rein métastatique. Les résultats préliminaires indiquent une efficacité très importante puisque la survie sans récurrence moyenne passe de 5 à 10 mois, avec une bonne tolérance. La survie globale n'était pas encore significativement prolongée (18).

Cancers du sein

Le bevacizumab a également été testé dans le cancer du sein métastatique ayant progressé après anthracyclines et taxanes. Il s'agit d'une étude de phase III comparant la capecitabine associée au bevacizumab à la capecitabine seule (19). Malgré un taux de réponse objective doublé par le bevacizumab, la survie n'était pas modifiée par le bevacizumab. Le traitement était bien toléré en dehors d'une hypertension chez 18 % des malades.

Des études de phase II ont également permis d'associer le bevacizumab avec d'autres chimiothérapies, comme les taxanes, la vinorelbine, une hormonothérapie ou d'autres thérapies ciblées. La tolérance semblait comparable et il existait des réponses cliniques. Ces résultats méritent d'être confirmés dans des études de phase III. Une étude a récemment montré que l'association bevacizumab paclitaxel augmentait la survie sans rechute des patientes qui passait de 5,9 mois à 11,8 ce qui a permis de donner une AMM à cette association (20).

De même des projets d'utilisation du bevacizumab voient le jour au stade adjuvant. Mais la tolérance risque là d'être un facteur limitant plus important que dans les maladies localement avancées ou métastatiques.

Cancers bronchiques non à petites cellules

La première étude testant le bevacizumab dans les cancers bronchiques non à petites cellules, étude de phase II randomisée, a montré une efficacité thérapeutique en termes de réponse objective et de survie sans récurrence, mais associée à une toxicité qui pouvait paraître rédhibitoire (21). En effet, le bevacizumab paraissait favoriser les hémoptysies sévères, voire mortelles dans certains cas. Cette toxicité n'a pas été confirmée dans l'étude de phase III publiée depuis, qui écartait les cancers épidermoïdes et les malades ayant des antécédents hémorragiques ou des métastases cérébrales (22). En revanche, le bénéfice du bevacizumab en survie était confirmé par cette étude de plus de 800 malades (22).

Conclusion

Le bevacizumab semble intéressant dans plusieurs cancers en situation métastatique. Néanmoins, le bénéfice de ce médicament est variable en fonction des types de cancers étudiés, et semble d'autant plus important que les possibilités thérapeutiques autres sont faibles, comme dans le cancer du rein.

Il faut sans doute souligner en parallèle qu'il s'agit d'une thérapie ciblée, mais dont la cible réelle en situation thérapeutique n'est pas clairement déterminée. L'effet du ciblage du VEGF circulant correspond à un effet thérapeutique, mais de nombreux travaux sont encore nécessaires pour comprendre les mécanismes d'action du bevacizumab, et donc décrire un facteur prédictif de la réponse au bevacizumab. Ceci sera d'autant plus crucial que le bevacizumab va prochainement être testé en situation adjuvante, situation où la démonstration d'un bénéfice thérapeutique nécessite plus de malades et reste plus difficile à mettre en évidence.

Quarante ans de travaux ont permis de démontrer l'importance de l'angiogenèse dans la progression tumorale et de construire des traitements ciblant ce processus. Cette avancée se traduit aujourd'hui par un bénéfice incontestable pour les malades. Mais la modulation de l'angiogenèse n'est que le premier pas vers la mise en lumière du rôle fondamental du stroma tumoral dans le développement et la progression du cancer.

De nombreux travaux seront sans doute encore nécessaires pour permettre la compréhension des multiples processus qui permettent la coopération des cellules du stroma tumoral, fibroblastes, cellules immunitaires et endothéliales, avec les cellules cancéreuses.

Parions que la compréhension puis la régulation de ces mécanismes donneront la clé des traitements anti-tumoraux du futur : les cellules cancéreuses ne sont-elles pas des cellules malades qui ne survivent que grâce aux soins intensifs des cellules normales du stroma ?

Références

1. Folkman J (1971) Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 285: 1182-6
2. Giantonio BJ, Levy DE, O'dwyer PJ, *et al.* (2006) A phase II study of high-dose bevacizumab in combination with irinotecan, 5-fluorouracil, leucovorin, as initial therapy for advanced colorectal cancer: results from the Eastern Cooperative Oncology Group study E2200. *Ann Oncol* 17: 1399-1403
3. Folkman J (1995) Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 333: 1757-63
4. Gross J, Azizkhan RG, Biswas C, *et al.* (1981) Inhibition of tumor growth, vascularization, and collagenolysis in the rabbit cornea by medroxyprogesterone. *Proc Natl Acad Sci USA* 78: 1176-80
5. Holmgren L, O'Reilly MS, Folkman J (1995) Dormancy of micrometastases: balanced proliferation and apoptosis in the presence of angiogenesis suppression. *Nat Med* 1: 149-53
6. Inoue M, Hager JH, Ferrara N, *et al.* (2002) VEGF-A has a critical, nonredundant role in angiogenic switching and pancreatic beta cell carcinogenesis. *Cancer Cell* 1: 193-202
7. Dvorak HF (2002) Vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor: a critical cytokine in tumor angiogenesis and a potential target for diagnosis and therapy. *J Clin Oncol* 20: 4368-80
8. Shinkaruk S, Bayle M, Lain G, Deleris G (2003) Vascular endothelial cell growth factor (VEGF), an emerging target for cancer chemotherapy. *Curr Med Chem Anticancer Agents* 3: 95-117
9. Martiny-Baron G, Marme D (1995) VEGF-mediated tumour angiogenesis: a new target for cancer therapy. *Curr Opin Biotechnol* 6: 675-80
10. Wang GL, Jiang BH, Rue EA, Semenza GL (1995) Hypoxia-inducible factor 1 is a basic-helix-loop-helix-PAS heterodimer regulated by cellular O₂ tension. *Proc Natl Acad Sci USA* 92: 5510-4
11. Fujita M, Hayashi I, Yamashina S, *et al.* (2005) Angiotensin type 1a receptor signaling-dependent induction of vascular endothelial growth factor in stroma is relevant to tumor-associated angiogenesis and tumor growth. *Carcinogenesis* 26(2): 271-9
12. Luo Y, Zhou H, Krueger J, *et al.* (2006) Targeting tumor-associated macrophages as a novel strategy against breast cancer. *J Clin Invest* 116: 2132-41
13. Weidner N, Folkman J, Pozza F, *et al.* (1992) Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 84: 1875-87
14. Uzzan B, Nicolas P, Cucherat M, Perret GY (2004) Microvessel density as a prognostic factor in women with breast cancer: a systematic review of the literature and meta-analysis. *Cancer Res* 64: 2941-55
15. Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W, *et al.* (2004) Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 350: 2335-42

- 16 Reddy GK (2005) The addition of bevacizumab to FOLFOX4 prolongs survival in relapsed colorectal cancer: interim data from the ECOG 3200 trial. *Clin Colorectal Cancer* 4: 300-1
17. Yang JC, Haworth L, Sherry RM, *et al.* (2003) A randomized trial of bevacizumab, an anti-vascular endothelial growth factor antibody, for metastatic renal cancer. *N Engl J Med* 349: 427-34
18. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, Chevreau C, Filipek M, Melichar B, Bajetta E, Gorbunova V, Bay JO, Bodrogi I, Jagiello-Gruszfeld A, Moore N; AVOREN Trial investigators. Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet*, 2007 Dec 22; 370(9605): 2103-11
19. Miller KD, Chap LI, Holmes FA, *et al.* (2005) Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 23: 792-9
20. Miller K, Wang M, Gralow J, Dickler M, Cobleigh M, Perez EA, Shenkier T, Cella D, Davidson NE (2007) Paclitaxel plus bevacizumab versus paclitaxel alone for metastatic breast cancer. *N Engl J Med*; 357(26): 2666-76
21. Johnson DH, Fehrenbacher L, Novotny WF, *et al.* (2004) Randomized phase II trial comparing bevacizumab plus carboplatin and paclitaxel with carboplatin and paclitaxel alone in previously untreated locally advanced or metastatic non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 22: 2184-91
22. Sandler AB, Gray R, Brahmer J, *et al.* (2005) Randomized phase II/III trial of paclitaxel (P) plus carboplatin (C) with or without bevacizumab (NSC # 704865) in patients with advanced non-squamous non-small cell lung cancer (NSCLC): an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) trial FE4599 [abstract LBA4]. *J Clin Oncol* 23: 2S

Molécules inhibitrices des récepteurs du VEGF

Y. Lorient et B. Besse

Introduction

L'angiogenèse est l'un des processus clés de la croissance et la dissémination tumorale.

La famille du VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) représente un ensemble de facteurs qui possèdent des fonctions essentielles dans l'angiogenèse physiologique comme pathologique. Le VEGF augmente la perméabilité vasculaire et induit l'expression de différentes molécules d'adhésion de l'endothélium impliquées dans l'inflammation et la régulation de l'adhésion des leucocytes. La famille du VEGF est composée de plusieurs glycoprotéines dont le VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, PlGF-1 (*placenta growth factor 1*) et PlGF-2. Le VEGF-A a été le premier facteur identifié comme facteur de perméabilité vasculaire sécrété par les tumeurs et représente le principal facteur de régulation du développement du système vasculaire (1).

Le VEGF se lie à trois types de récepteurs spécifiques : le VEGFR-1, le VEGFR-2 et VEGFR-3. Ces récepteurs sont composés d'un domaine extracellulaire qui permet la fixation du VEGF, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire contenant un domaine tyrosine kinase. De plus, il existe deux autres récepteurs neuropilin 1 (NRP-1) et NRP-2 qui sont des corécepteurs pour les ligands de la famille VEGF et qui permettent d'augmenter l'affinité de ces ligands à leurs récepteurs (2). L'interaction entre le récepteur et son ligand permet l'activation du domaine tyrosine kinase des VEGFR, induit l'activation du signal de transduction intracellulaire et permet l'activation de voies de prolifération cellulaire (voie Raf/MEK/ERK) et de survie (comme la voie PI3K-AKT).

Le VEGFR-1 est un facteur de régulation physiologique du développement de l'angiogenèse, il est impliqué dans la migration et la différenciation des cellules endothéliales. Le VEGFR-2 est responsable de la perméabilité, de la prolifération des cellules endothéliales, de l'invasion, de la migration et de la survie. Le

VEGFR-3 est impliqué dans la lymphangiogenèse (3) et son expression dans les tumeurs a été corrélée à l'invasion et aux métastases ganglionnaires (4-5).

Inhibiteurs de tyrosine kinase ciblant le VEGFR

Sorafénib

Le sorafénib est un inhibiteur oral multicibles inhibant VEGFR-2, VEGFR-3 mais aussi PDGFR- β , c-Kit, B-RAF et C-RAF. Il est capable d'inhiber l'angiogenèse tumorale de nombreuses lignées tumorales sur des modèles de xénogreffes en particulier les lignées issues de tumeurs du côlon, du sein, bronchiques non à petites cellules (6). Compte tenu des résultats encourageants issus des études de phase I (7-8), le sorafénib a été évalué chez 202 patients atteints d'un cancer du rein métastatique (9). En cas de stabilité tumorale à 12 semaines, les patients étaient randomisés entre un groupe placebo et un groupe sorafénib tandis qu'en cas de réponse objective à 12 semaines les patients poursuivaient le sorafénib. La survie sans progression était de 6 semaines dans le groupe placebo contre 23 semaines dans le groupe sorafénib ($p = 0,0001$). L'efficacité du sorafénib dans cette indication a été confirmée par une étude de phase III ayant inclus 903 patients en échec d'un traitement de première ligne (10). La survie sans progression était de 5,5 mois dans le groupe sorafénib contre 2,8 mois dans le groupe placebo [hazard ratio (HR) = 0,44 ; intervalle de confiance (IC) 95 % : 0,35-0,55 ; $p < 0,01$] alors que le taux de réponse objective n'était que de 10 % pour le sorafénib contre 2 % pour les patients traités par le placebo. La survie globale, critère de jugement principal, est d'appréciation difficile compte tenu de la possibilité d'un cross-over. Celle-ci était de 14,7 mois dans le groupe placebo alors qu'elle n'était pas atteinte dans le groupe sorafénib (HR = 0,72 ; IC95 = 0,54-0,94 ; $p = 0,02$). Les toxicités les plus importantes, de grade 3/4, consistaient en un syndrome main-pied (6 %), une fatigue (5 %), une hypertension (4 %), des diarrhées (2 %). Une lymphopénie, une hypophosphatémie et une élévation de la lipase de grade 3/4 ont été également constatées chez 12 à 13 % des patients. Le traitement a été interrompu chez 10 % des patients inclus dans le groupe sorafénib contre 8 % pour les patients inclus dans le groupe placebo compte tenu des toxicités cutanées et digestives. Ces toxicités dose-dépendantes étaient habituellement bien contrôlées par une réduction de dose ou par des traitements spécifiques. Cependant, la prise concomitante de traitement symptomatique peut constituer une cause majeure d'inconfort chez le patient avec pour conséquence une mauvaise observance de la prise du sorafénib. Les modifications vasculaires évaluées à l'écho-Doppler étaient corrélées à la survie sans progression et à la survie globale. Compte tenu de ces résultats sans précédent dans le cancer du rein métastatique, le sorafénib a obtenu l'autorisation de

mise sur le marché en première et seconde ligne aux États-Unis dès le mois de décembre 2005 et en Europe en avril 2006 (en seconde ligne uniquement).

Le sorafénib connaît également un développement dans d'autres tumeurs, en particulier le mélanome, compte tenu de l'existence de mutations BRAF jusqu'à 80 % des tumeurs. Cependant aucun effet n'a été rapporté en monothérapie même dans le sous-groupe des patients avec mutations BRAF (11).

Récemment, le sorafénib a prouvé son efficacité dans le carcinome hépatocellulaire avancé pour lequel peu de ressources thérapeutiques étaient disponibles. Abou-Alfa *et al.* ont rapporté les résultats d'une étude de phase II évaluant l'efficacité et la toxicité du sorafénib chez 137 patients atteints de carcinome hépatocellulaire inopérable n'ayant pas reçu de traitement systémique antérieur (12). Les patients inclus devaient être en bon état général (performance status 0 ou 1) et devaient avoir une fonction hépatique conservée (Child-Pugh A ou B). La réponse était évaluée selon les critères OMS. Le sorafénib était prescrit à la dose de 400 mg deux fois par jour. Seuls 2,2 % des patients ont obtenu une réponse partielle, 5,8 % une réponse mineure et 33 % une maladie stable, seize semaines après le début du traitement. Le temps jusqu'à progression était de 4,2 mois et la survie globale de 9,2 mois. Le traitement était bien toléré et les toxicités de grade 3 ou 4 consistaient en une fatigue (9,5 %), diarrhée (8 %) et un syndrome pied-main (5,1 %). L'étude de biomarqueurs prédictifs a retrouvé une corrélation entre le niveau initial tumoral de pERK (évaluée en immunohistochimie) et le temps à progression. Ces résultats très encourageants ont permis le développement d'une étude de phase III dont les résultats ont été présentés à l'ASCO 2007. Cette étude internationale multicentrique a comparé le sorafénib 400 mg deux fois par jour (299 patients) à un placebo (303 patients) chez des patients atteints de CHC avancé, non éligibles pour un traitement local en bon état général (OMS 0-2) et avec une fonction hépatique correcte (Child-Pugh A). Les critères de jugement étaient le temps jusqu'à la progression symptomatique et la survie globale. Le sorafénib a amélioré significativement la survie jusqu'à progression (5,5 mois contre 2,8 mois ; $p < 0,0000007$) et la survie globale (10,7 mois contre 7,9 mois ; $p < 0,0006$). Le sorafénib améliore donc la survie de l'ordre de 31 % (hasard ratio = 0,69 ; IC 95 % : 055-0,88 ; $p = 0,00058$). La tolérance était satisfaisante avec essentiellement des diarrhées et un syndrome palmo-plantaire. Le sorafénib devrait donc constituer le traitement de choix dans cette indication. Gatzemeier *et al.* ont rapporté les résultats d'une étude de phase II concernant l'efficacité et la tolérance du sorafénib administré à la dose de 400 mg deux fois par jour chez 52 patients atteints de cancer bronchique métastatique après échec d'un traitement antérieur (13). Aucune réponse partielle n'a été obtenue alors que 59 % des patients présentaient une stabilité tumorale. La survie sans progression était de 11,9 semaines et la survie globale de 29,3 semaines. Les effets secondaires les plus fréquents étaient une diarrhée chez 40 % des patients, un syndrome pied-main chez 37 % des patients et une fatigue dans 27 % des cas.

Sunitinib

Le sunitinib est un inhibiteur multikinases ciblant VEGFR, PDGFR et c-kit. Il possède des activités anti-angiogéniques et antiprolifératives directes. Des études précliniques ont montré que l'inhibition simultanée du VEGFR et du PDGFR avait un effet antitumoral supérieur à l'inhibition d'un seul récepteur. Dans des modèles murins, le sunitinib est capable d'induire une régression du volume tumoral ou un arrêt de croissance tumorale de plusieurs types de tumeurs (14). La dose recommandée lors d'études de phase I a été fixée à 50 mg par jour pendant quatre semaines suivies de deux semaines de repos pour un cycle de six semaines au total (15). Les données pharmacocinétiques ont rapporté une bonne absorption du produit après prise orale et une demi-vie longue permettant une administration quotidienne en une seule prise. La phase I a suggéré une activité anti-tumorale intéressante dans les cancers du rein, les tumeurs stromales et les tumeurs neuroendocrines (15). Les effets secondaires les plus fréquemment rapportés au cours de ces études précoces consistaient en une fatigue dose dépendante, des diarrhées, des nausées et une dépigmentation des poils. Dans deux essais de phases II, un total de 169 patients atteints de cancer du rein métastatique en échec de traitement par cytokine ont été traités (16, 17). Dans une analyse poolée, une réponse partielle a été obtenue chez 42 % des patients, une stabilité tumorale pendant au moins 3 mois chez 24 % des patients (17). La survie sans progression était estimée à 8,2 mois. Les toxicités les plus fréquentes étaient une fatigue, une neutropénie, une anémie, une diarrhée et une élévation de la lipase (17). Compte tenu de ces résultats prometteurs, le sunitinib (50 mg par jour quatre semaines sur six) a été comparé à un traitement standard, l'interféron alfa administré trois fois par semaine (à la dose de 3 MU la première semaine puis 6 MU la seconde semaine et 9 MU les semaines suivantes) au cours d'une étude de phase III chez des patients atteints de cancer du rein métastatique (18). La survie sans récurrence était significativement supérieure dans le groupe sunitinib par rapport au groupe interféron alpha (11 mois contre 5 mois, HR = 0,42, IC 95 = 0,32-0,54 ; $p < 0,001$). Le taux de réponse était également supérieur dans le groupe sunitinib (31 % contre 6 % dans le groupe interféron alpha ; $p < 0,001$). Les toxicités les plus couramment rencontrées sous sunitinib étaient des diarrhées (5 %, absence de cas rapporté dans le groupe interféron), une hypertension (8 % contre 1 %), un syndrome main-pied (5 % et absence de cas dans le groupe interféron). L'interféron induisait plus de fatigue (12 % contre 7 %, $p < 0,05$) et de lymphopénie (22 % contre 12 %). Le sunitinib a obtenu l'autorisation de mise sur le marché en première ligne de traitement du cancer du rein avancé en juillet 2006.

Le sunitinib a également été développé avec succès dans les tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST). Une étude de phase II a inclus 97 patients traités par sunitinib : une réponse partielle a été obtenue chez 8 % des patients et une stabilité tumorale chez 70 % des patients (19). L'efficacité semble meilleure pour les tumeurs sans mutation de KIT ou avec mutation de l'exon 9

par rapport à celles avec mutation de l'exon 11. Parallèlement, les mutations secondaires de l'exon 13 et 14 de KIT améliorent la sensibilité *in vitro* et *in vivo* au sunitinib par rapport aux mutations secondaires sur de l'exon 17 et 18 (20). Une étude randomisée en double aveugle a comparé le sunitinib administré à la dose de 50 mg par jour quatre semaines sur six à un placebo chez 312 patients atteints d'un GIST réfractaire à l'imatinib ou intolérants à cette molécule (21). Le temps jusqu'à progression dans le groupe sunitinib était supérieur à celui du groupe placebo (6,3 mois contre 1,5 mois ; $p < 0,00001$). Les taux de réponse partielle et de stabilité tumorale étaient cohérents avec les données rapportées au cours des études de phases II, soit 7 % et 58 % respectivement. Les toxicités étaient similaires à celles rapportées dans les autres études sur le sunitinib.

L'asthénie, un des effets secondaires les plus fréquents du sunitinib, pourrait être partiellement expliquée par l'altération de la fonction thyroïdienne. En effet, parmi les 66 patients traités par sunitinib pour un cancer du rein métastatique, les tests biologiques thyroïdiens étaient perturbés chez 85 % d'entre eux (22). Dans 84 % des cas, les patients présentaient des signes cliniques compatibles avec une hypothyroïdie. La mise en place d'une hormonothérapie substitutive semble améliorer ces symptômes chez une partie des patients. Une attention particulière devrait être portée sur la fonction thyroïdienne chez les patients traités par sunitinib.

D'autres schémas d'administration sont actuellement en évaluation reposant sur le fait que les effets biologiques du sunitinib s'atténuent ou disparaissent pendant les deux semaines de repos du cycle de traitement. L'administration continue du sunitinib à la dose de 37,5 mg par jour a été particulièrement étudiée. Une étude de phase II incluant des patients atteints de cancer du rein a suggéré un profil de toxicité favorable sans perte évidente d'efficacité (23).

Le sunitinib a également montré une activité intéressante dans des études de phases II chez des patients atteints de cancer du sein métastatique, de cancer bronchique ou de tumeurs neuroendocrines (24-26).

Vatalanib (PTK787/ZK 222584)

Le vatalanib est un inhibiteur oral ciblant à la fois VEGFR-1, VEGFR-2, VEGFR-3 ainsi que PDGFR et c-kit à des concentrations plus importantes (27). Cet agent est capable d'inhiber l'angiogenèse tumorale et la croissance tumorale de plusieurs tumeurs sur des modèles de xénotreffes lors d'une administration en monothérapie ou associée à une chimiothérapie ou une irradiation. Les études pharmacocinétiques ont retrouvé un pic plasmatique deux heures après l'absorption et une demi-vie de quatre à six heures. Ces données pharmacocinétiques, couplées aux résultats pharmacodynamiques obtenus par résonance magnétique avec séquence dynamique, ont permis d'établir que la dose quotidienne biologiquement active est supérieure à 1 000 mg par jour et que la dose maximale tolérée est de 750 mg deux fois par jour. Plusieurs études de phase I ont rapporté un profil de tolérance favorable et des signes d'efficacité

dans plusieurs types tumoraux (28). Les effets secondaires étaient pour l'essentiel des nausées (59%), des vomissements (35%), une fatigue (41%), une toux (29%) et des céphalées (24%).

Deux études randomisées de phase III ont comparé le schéma FOLFOX4 (association de 5 fluorouracile, acide folinique et oxaliplatine) administré avec du vatalanib à la dose de 1 250 mg par jour en une prise ou un placebo chez des patients atteints de cancer du côlon métastatique en première ou seconde ligne (études CONFIRM 1 et CONFIRM 2) (29, 30). Dans la première étude ayant inclus 1 168 patients, les survies sans progression des deux bras n'étaient pas significativement différentes (7,7 mois pour le groupe FOLFOX4/vatalanib contre 7,5 mois pour le groupe FOLFOX4/placebo). L'hypertension artérielle et les thrombophlébites étaient les effets secondaires de grade 3/4 les plus fréquents dans le groupe vatalanib. Dans la seconde étude associant une chimiothérapie à base d'irinotécan au vatalanib ou à un placebo, la survie globale n'était pas améliorée dans le bras vatalanib (12,1 mois contre 11,8 mois; $p = 0,51$). La survie sans progression semble être améliorée par le vatalanib (5,5 mois contre 4,1 mois; $p = 0,026$) en cas d'élévation des lactico-déshydrogénases dans une méta-analyse de ces deux études précédentes (31). Le vatalanib a également été développé dans les tumeurs cérébrales. Deux études de phases I/II l'ont évalué seul ou associé au témozolomide ou à la lomustine chez des patients atteints de récurrence de glioblastome (32-33). Une réponse partielle a été observée chez 4% des 55 patients traités en monothérapie tandis que 56% des patients ont présenté une stabilité tumorale (durée médiane : 12,1 semaines). Parmi les 60 patients recevant une association, 4 réponses partielles et 27 stabilités tumorales ont été obtenues avec un temps jusqu'à progression variant de 12 à 16 semaines.

Une autre étude a suggéré une efficacité du vatalanib chez des patients atteints de cancer du rein métastatique (34). La survie sans progression était de 5,5 mois ($IC_{95} = 3,7-7,9$ mois), 19% des 45 patients inclus ont présenté une réponse, 46% une stabilité tumorale et 14% une progression tumorale. Dans une autre étude de phase II, 55 patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules progressant après une chimiothérapie à base de sels de platine ont été traités par vatalanib à la dose de 1 250 mg une fois par jour tandis que 55 patients supplémentaires ont reçu la même dose fractionnée en deux prises par jour. Une réponse partielle selon les critères RECIST était observée chez 4% des patients et une stabilité tumorale à 12 semaines chez 33% des patients (35). La caractérisation de marqueurs biologiques ou radiologiques de réponse et/ou de survie est une préoccupation de nombreux investigateurs. Plusieurs études de phases I ont évalué l'intérêt de l'imagerie par résonance magnétique avec séquence dynamique dans cette indication. Une corrélation entre la réduction de la prise de contraste et la réponse tumorale ou l'obtention d'une stabilité tumorale a été établie (36). D'autres études ont suggéré une relation entre l'augmentation du taux plasmatique du VEGF-A après prise orale de vatalanib et la stabilité tumorale (37). De nouvelles études sont nécessaires pour confirmer ces résultats préliminaires et/ou trouver d'autres marqueurs plus pertinents.

Vandetanib (ZD6474)

Le ZD6474 est un inhibiteur de VEGFR-2, VEGFR-3 mais aussi d'EGFR et de FGFR1 administré par voie orale. Plusieurs études de phase II ont rapporté une tolérance acceptable et une efficacité intéressante essentiellement dans le cadre du cancer bronchique non à petites cellules. Une première étude a évalué le ZD6474 chez 46 patientes atteintes d'un cancer du sein en phase métastatique à la dose de 100 mg ou de 300 mg par jour. Les toxicités les plus marquées consistaient essentiellement en une diarrhée de grade 3/4 chez 14% des patients à la dose de 300 mg par jour (38). Aucune réponse n'a été constatée. Une seconde étude de phase II d'effectif plus important (123 patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules) ayant progressé après une première ligne de chimiothérapie à base de sels de platine a évalué l'association du docétaxel au ZD6474 (à la dose de 100 mg ou 300 mg) ou à un placebo. La survie sans progression était de 19 semaines dans le groupe ZD6474 100 mg contre 17 semaines dans le groupe ZD6474 300 mg et 12 semaines dans le groupe placebo (39). Une étude de phase III est actuellement en cours pour confirmer ces résultats. Une autre étude de phase II randomisée a comparé le gefitinib (250 mg par jour) au ZD6474 (300 mg par jour) chez 168 patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules après échec d'une ou deux lignes de chimiothérapie. La survie sans progression était significativement allongée dans le groupe ZD6474 (11 semaines contre 8,1 semaines ; $p = 0,025$) mais il s'agit d'une étude de phase II et ces résultats méritent confirmation (40).

Les effets secondaires les plus fréquents, outre la diarrhée, sont le rash cutané, les nausées et un allongement de l'intervalle QTc. Ce dernier a été retrouvé chez 72%, 61% et 29% de patients japonais atteints de cancer du poumon non à petites cellules traités à la dose de 300 mg, 200 mg et 100 mg respectivement (41).

Axitinib (AG013736)

L'axitinib est un inhibiteur oral de VEGFR-1, VEGFR-2 et PDGFR- β . La dose optimale évaluée au cours des études de phase I a été établie à 5 mg deux fois par jour. Les effets secondaires induits par l'axitinib sont semblables à ceux des autres inhibiteurs oraux de VEGFR, à savoir hypertension artérielle, asthénie, diarrhée, nausées et vomissements (42). Une première étude de phase II conduite chez des patients atteints de cancer du rein métastatique et progressant après un traitement par immunothérapie a rapporté une efficacité intéressante : à la dose de 5 mg deux fois par jour, 46% des patients ont présenté une réponse partielle et 40% une stabilité tumorale (43). Les toxicités de grade 3/4 se résumaient à des diarrhées, à une hypertension et à une fatigue chez 8%, 15% et 8% des patients respectivement. Une autre étude de phase II a mis en évidence des taux de réponse partielle et de stabilisation de 23% et 47% chez des patients atteints de cancer de thyroïde non-candidats ou réfractaires à un traitement à base d'iode¹³¹. Les effets

secondaires consistaient essentiellement en une asthénie (9%), une hypertension (6%), des diarrhées et une protéinurie (3%) (44).

CP-547,632

CP-547,632 est un inhibiteur oral de tyrosine kinase ciblant VEGFR-2. Une étude de phase I a suggéré un profil de tolérance acceptable, une stabilité supérieure à 8 semaines chez 6 patients et une stabilité supérieure à 6 mois pour un patient (45). Toutefois, une étude de phase II randomisée évaluant l'association du CP-547,632 à une chimiothérapie par carboplatine – paclitaxel chez des patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules ne semble pas démontrer de bénéfice clair en termes de taux de réponse (46).

Cediranib (AZD 2171)

L'AZD 2171 est un agent oral ciblant également VEGFR-2 et qui permet d'inhiber de façon dose-dépendante la croissance de nombreuses tumeurs dans des modèles de xénogreffe, en particulier par blocage de l'angiogenèse tumorale (47). La toxicité consiste essentiellement en une hypertension artérielle de grade 3/4 (21%), une diarrhée et des céphalées (48). La combinaison de l'AZD 2171 à d'autres agents de chimiothérapie, en particulier avec le pemetrexed, le docétaxel, l'irinotécan ou l'oxaliplatine, n'induit pas de toxicité rédhitoire (49). En association avec une chimiothérapie par carboplatine/paclitaxel chez des patients atteints de cancer bronchique non à petites cellules, l'AZD2171 peut être administré à pleine dose (45 mg/jour) (50). L'association du ZD2171 au gefitinib présente une toxicité acceptable et mérite d'être explorée au cours d'études de phase II (51).

Tableau I – Inhibiteurs du VEGFR.

Agent	Cible	Phase
PTK787/ZK222584 (vatalanib)	VEGFR-1, VEGFR-2, PDGFR	III
SU 11248 (sunitinib)	VEGFR, PDGFR, Flt-3, c-kit	AMM
ZD6474 (vandetanib)	VEGFR-2, VEGFR-3, EGFR	III en cours
BAY 43-9006 (sorafénib)	VEGFR-2, PDGFR (and RAF*)	AMM
AG 013736 (axitinib)	VEGFR, PDGFR, c-kit	II
AZD2171 (cediranib)	VEGFR-2	II
CP-547,632	VEGFR-2, EGFR and PDGFR	II

Perspectives

Combinaison d'agents anti-angiogéniques

Les inhibiteurs oraux de tyrosine kinase de VEGFR et les anticorps ciblant le VEGF peuvent potentiellement être associés et cibler simultanément plusieurs niveaux d'une même voie de signalisation intracellulaire, réalisant ainsi un blocage vertical de la voie VEGF/VEGFR. Cliniquement, leur association se justifie compte tenu de leur spectre différent en termes d'activité et de toxicité. Au cours d'une étude de phase I associant le sorafénib au bevacizumab, une augmentation importante de la toxicité liée au sorafénib a été constatée : la dose maximale tolérée était de 200 mg deux fois par jour pour le sorafénib et de 5 mg/kg toutes les deux semaines pour le bevacizumab (52). Les toxicités dose-limitantes consistaient en une hypertension grade 2-4, un syndrome main-pied, une protéinurie de grade 3 et une thrombopénie. Une réponse partielle a été obtenue que dans les cas de cancers de l'ovaire (4/14, 29%) ce qui conduira à une étude de phase II dans ce type tumoral.

La plupart des molécules inhibitrices de VEGFR ne sont pas spécifiques mais multicibles. Même si la famille VEGFR constitue leur cible privilégiée, il est probable que des cibles accessoires jouent un rôle important dans l'efficacité mais aussi dans les effets secondaires de ces molécules. Une des questions futures sera de connaître l'intérêt des associations d'inhibiteurs de tyrosine kinase, par rapport à l'utilisation de molécule unique inhibant un large spectre de tyrosines kinases.

Association avec une chimiothérapie

Alors que l'association d'anticorps monoclonaux anti-VEGF avec les agents de chimiothérapie conventionnelle se révèle efficace dans plusieurs indications comme l'association du bevacizumab au FOLFOX dans le cancer du côlon, l'association d'inhibiteurs oraux du VEGFR avec une chimiothérapie n'a pas apporté à ce jour de bénéfice clair en termes de survie globale. Des résultats similaires avaient été observés avec les études d'association des inhibiteurs oraux d'EGFR avec une chimiothérapie à base de sels de platine alors même que ces agents oraux apportaient un bénéfice en monothérapie. Ces résultats sont à relativiser avec les résultats de l'essai de phase II évaluant le ZD6474 en association avec le docétaxel, plutôt en faveur de l'association (39). Ces résultats soulignent surtout la possibilité d'un effet de classe (relevant d'une interaction pharmacologique) et plaident à ce jour pour une utilisation séquentielle plutôt que concomitante, tout du moins avec les sels de platine.

Vers une utilisation optimisée des inhibiteurs oraux de VEGFR

De nombreuses questions restent encore sans réponse : quelle est la durée optimale d'un traitement par ces inhibiteurs de VEGFR ? Quels en sont les effets secondaires à long terme ? Quelle est leur place en situation adjuvante ? Les critères actuels d'évaluation de la réponse tumorale sont-ils adaptés à ces agents ? Quels sont les facteurs biologiques et radiologiques prédictifs d'efficacité ? Ce dernier point est essentiel pour permettre de mieux sélectionner les patients tirant profit des inhibiteurs de VEGFR tant en termes d'efficacité que de tolérance. Jusqu'à présent la majorité des études s'est intéressée aux marqueurs plasmatiques tels que le taux de VEGF, le taux de VEGFR soluble et d'interleukine-8. Les résultats ne sont pas univoques. Les niveaux initiaux de VEGFR-2 soluble et de VEGFR ne sont pas prédictifs d'une sensibilité au sorafénib (13). Le taux de VEGF augmente au début du traitement mais sa valeur prédictive reste débattue (37, 53). Le taux de cellules endothéliales circulantes n'a pas été corrélé à l'efficacité du sunitinib (54). L'existence de mutations BRAF n'a pas été non plus corrélée à l'activité clinique du sorafénib (11). Ainsi, la détermination de marqueurs prédictifs de l'efficacité des thérapies ciblant le VEGFR reste un domaine peu exploré.

Conclusion

Les résultats encourageants des essais cliniques évaluant les molécules inhibitrices de VEGFR démontrent que ces traitements sont en passe de devenir une des modalités thérapeutiques majeures dans le domaine de l'oncologie. De nombreuses questions restent ouvertes : quelles sont les différences d'activité et de tolérance entre ces différentes molécules ? Quelle est la toxicité à long terme de ces agents ? Quels sont les nouveaux critères de jugement pertinents pour l'évaluation de ces traitements ? Enfin quelles sont les associations possibles avec les agents cytotoxiques conventionnels ou autres thérapies moléculaires ciblées ? Autant d'études prospectives qui restent à mener pour couvrir l'ensemble de ces réflexions et mieux définir la place de ces agents dans notre arsenal thérapeutique.

Références

1. Ferrara N, Gerber HP, LeCouter J (2003) The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 9: 669-77
2. Soker S, Takashima S, Miao HQ, *et al.* (1998) Neuropilin-1 is expressed by endothelial and tumor cells as an isoform-specific receptor for vascular endothelial growth factor. *Cell* 92: 735-45

3. Paavonen K, Puolakkainen P, Jussilia L, *et al.* (2000) Vascular endothelial growth factor receptor-3 in lymphangiogenesis in wound healing. *Am J Pathol* 156: 1499-1504
4. Mandriota SJ, Jussilia, Jeltsch M, *et al.* (2000) Vascular endothelial growth factor C-mediated lymphangiogenesis promotes tumour metastasis. *EMBO* 20: 672-82
5. Stacker SA, Caesar C, Baldwin ME, *et al.* (2001) VEGF-D promotes the metastatic spread of tumor cells via the lymphatics. *Nat Med* 7: 181-91
6. Wilhem S, Carter C, Tang L (2004) BAY 43-9006 exhibits broad spectrum oral anti-tumour activity and targets the RAF/MEK/ERK pathway and tumour tyrosine kinases involved in tumour progression and angiogenesis. *Cancer Res* 64: 7099-109
7. Clark JW, Eder JP, Ryan D, *et al.* (2005) Safety and pharmacokinetics of the dual action Raf kinase and vascular endothelial growth factor receptor inhibitor, BAY 43-9006, in patients with advanced, refractory solid tumors. *Clin Cancer Res* 11: 5472-80
8. Strumberg D, Richly H, Hilger RA, *et al.* (2005) Phase I clinical and pharmacokinetic study of the Novel Raf kinase and vascular endothelial growth factor receptor inhibitor BAY 43-9006 in patients with advanced refractory solid tumors. *J Clin Oncol* 23: 965-72
9. Ratain MJ, Eisen T, Stadler WM, *et al.* (2006) Phase II Placebo-Controlled Randomized Discontinuation Trial of Sorafenib in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma. *J Clin Oncol* 24: 2505-12
10. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, *et al.* (2007) Sorafenib in Advanced Clear-Cell Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 356: 125-34
11. Eisen T, Ahmad T, Flaherty KT, *et al.* (2006) Sorafenib in advanced melanoma: a Phase II randomised discontinuation trial analysis. *Br J Cancer* 95: 581-6
12. Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, *et al.* (2006) Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 24: 4293-300
13. Gatzemeier U, Blumenschein G, Fosella F (2006) Phase II trial of single-agent sorafenib in patients with advanced non-small cell lung carcinoma. *J Clin Oncol* 24: 7002
14. Mendel DB, Laird AD, Xin X *et al.* (2003) In vivo antitumor activity of SU11248, a novel tyrosine kinase inhibitor targeting vascular endothelial growth factor and platelet-derived growth factor receptors: Determination of a pharmacokinetic/pharmacodynamic relationship. *Clin Cancer Res* 9: 327-37
15. Faivre S, Delbaldo C, Vera K, *et al.* (2006) Safety, pharmacokinetic, and antitumor activity of SU11248, a novel oral multitarget tyrosine kinase inhibitor, in patients with cancer. *J Clin Oncol* 24: 25-35
16. Motzer RJ, Michaelson MD, Redman BG, *et al.* (2006) Activity of SU11248, a multitargeted inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor and platelet-derived growth factor receptor, in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 24: 16-24
17. Motzer RJ, Rini BI, Bukowski RM, *et al.* (2006) Sunitinib in Patients With Metastatic Renal Cell Carcinoma. *JAMA: The Journal of the American Medical Association*; 295: 2516-24
18. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, *et al.* (2007) Sunitinib versus Interferon Alfa in Metastatic Renal-Cell Carcinoma. *N Engl J Med* 356: 115-24
19. Maki RG, Fletcher JA, Heinrich MC, *et al.* (2005) Results from a continuation trial of SU11248 in patients (pts) with imatinib (IM)-resistant gastrointestinal stromal tumor (GIST). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*; 23: 9011
20. Heinrich MC, Maki RG, Corless CL, *et al.* (2006) Sunitinib (SU) response in imatinib-resistant (IM-R) GIST correlates with KIT and PDGFRA mutation status. *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*; 24: 9502
21. Demetri GD, van Oosterom AT, Garrett CR, *et al.* (2006) Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 368: 1329-38
22. Rini BI, Tamaskar I, Shaheen P, *et al.* (2007) Hypothyroidism in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with sunitinib. *J Natl Cancer Inst* 99: 81-3

23. De Mulder PH, Roigas J, Gillessen S, *et al.* (2006) A phase II study of sunitinib administered in a continuous daily regimen in patients with cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma (mRCC). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*; 24: 4529
24. Miller KD, Burstein HJ, Elias AD, *et al.* (2005) Phase II study of SU11248, a multitargeted receptor tyrosine kinase inhibitor (TKI), in patients (pts) with previously treated metastatic breast cancer (MBC). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*; 23: 563
25. Socinski MA, Novello S, Sanchez JM, *et al.* (2006) Efficacy and safety of sunitinib in a multicenter phase II trial of previously treated, advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol* 17, ix218
26. Kulke MH, Lenz HJ, Meropol NJ (2005) A phase 2 study to evaluate the efficacy and safety of SU11248 in patients (pts) with unresectable neuroendocrine tumors (NETs). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 23: 4008
27. Wood JM, Bold G, Buchdunger E, *et al.* (2000) PTK787/ZK 222584, a novel and potent inhibitor of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, impairs vascular endothelial growth factor-induced responses and tumor growth after oral administration. *Cancer Res* 60: 2178-89
28. Thomas AL, Morgan B, Horsfield MA, *et al.* (2005) Phase I study of the safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of PTK787/ZK 222584 administered twice daily in patients with advanced cancer. *J Clin Oncol* 23: 4162-71
29. Hecht JR, Trarbach T, Jaeger E, *et al.* (2005) A randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III study in patients (Pts) with metastatic adenocarcinoma of the colon or rectum receiving first-line chemotherapy with oxaliplatin/5-fluorouracil/leucovorin and PTK787/ZK 222584 or placebo (CONFIRM-1). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 23: LBA3
30. Koehne C, Bajetta E, Lin E, *et al.* (2006) Results of an interim analysis of a multinational randomized, double-blind, phase III study in patients (pts) with previously treated metastatic colorectal cancer (mCRC) receiving FOLFOX4 and PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK) or placebo (CONFIRM 2). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*; 24: 3508
31. Major P, Trarbach T, Lenz H, *et al.* (2006) A meta-analysis of two randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III studies in patients (pts) with metastatic colorectal cancer (mCRC) receiving FOLFOX4 and PTK/ZK to determine clinical benefit on progression-free survival (PFS) in high LDH pts. *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*; 24: 3529
32. Conrad C, Friedman H, Reardon D, *et al.* (2004) A phase I/II trial of single-agent PTK 787/ZK 222584 (PTK/ZK), a novel, oral angiogenesis inhibitor, in patients with recurrent glioblastoma multiforme (GBM). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 22: 1512
33. Reardon D, Friedman H, Yung WKA, *et al.* (2004) A phase I/II trial of PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK), a novel, oral angiogenesis inhibitor, in combination with either temozolomide or lomustine for patients with recurrent glioblastoma multiforme (GBM). *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 22: 513
34. George DJ, Michaelson MD, Oh DK, Reitsma D (2003) A phase I study of single-agent PTK 787/ZK 222584 (PTK/ZK) in metastatic renal carcinoma. *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)*; 22: 1548
35. Besse B, Gauler T, Fischer B, *et al.* (2006) Phase II open-label study to investigate efficacy and safety of PTK787/ZK 222584 orally administered once daily or twice daily at 1250 mg as second-line monotherapy in patients (pts) with stage IIIB or stage IV non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Ann Oncol* 17: ix218-ix219
36. Morgan B, Thomas AL, Drevs J, *et al.* (2003) Dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging as a biomarker for the pharmacological response to PTK/ZK 222584, an inhibitor of the vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinases, in patients with advanced colorectal cancer and liver metastases: results from two phase I studies. *J Clin Oncol* 21: 3955-64
37. Drevs J, Zirrgiebel U, Schmidt-Gersbach CI, *et al.* (2005) Soluble markers for the assessment of the biological activity with PTK787/ZK 222584 (PTK/ZK), a vascular

- endothelial growth factor receptor (VEGFR) tyrosine kinase inhibitor in patients with advanced colorectal cancer from two phases I trials. *Ann Oncol* 16: 558-65
38. Miller KD, Trigo JM, Wheeler C, *et al.* (2005) A multicenter phase II trial of ZD6474, a vascular endothelial growth factor receptor-2 and epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with previously treated metastatic breast cancer. *Clin Cancer Res* 11: 3369-76
 39. Heymach JV, Johnson BE, Prager D, *et al.* (2006) A phase II trial of ZD6474 plus docetaxel in patients with previously treated NSCLC: Follow-up results. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts); 24: 7016
 40. Natale RB, Bodkin D, Govindan R, *et al.* (2006) ZD6474 versus gefitinib in patients with advanced NSCLC: Final results from a two-part, double-blind, randomized phase II trial. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 24: 7000
 41. Nakagawa K, Kiura K, Shinkai T, *et al.* (2006) A randomized double-blind phase IIa dose-finding study of ZD6474 in Japanese patients with NSCLC. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 24: 7067
 42. Rugo HS, Herbst RS, Liu G, *et al.* (2005) Phase I Trial of the Oral Antiangiogenesis Agent AG-013736 in Patients With Advanced Solid Tumors: Pharmacokinetic and Clinical Results. *J Clin Oncol* 23: 5474-83
 43. Rini B, Rixe O, Bukowski R, *et al.* (2005) AG-013736, a multi-target tyrosine kinase receptor inhibitor, demonstrates anti-tumor activity in a Phase 2 study of cytokine-refractory, metastatic renal cell cancer (RCC). *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 23: 4509
 44. Kim S, Rosen LS, Cohen EE, *et al.* (2006) A Phase II study of axitinib (AG-013736), a potent inhibitor of VEGFRs, in patients with advanced thyroid cancer. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 24: 5529
 45. Tolcher A, O'Leary JJ, deBono JS, *et al.* (2003) A phase I and biologic correlative study of an oral vascular endothelial growth factor-2 (VEGFR-2) tyrosine kinase inhibitor, CP-547,632, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 21
 46. Cohen RB, Langer CJ, Simon GR, *et al.* (2007) A phase I/randomized phase II, non-comparative, multicenter, open label trial of CP-547,632 in combination with paclitaxel and carboplatin or paclitaxel and carboplatin alone as first-line treatment for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *Cancer Chemother Pharmacol* 60: 81-9
 47. Wedge SR, Kendrew J, Hennequin LE, *et al.* (2005) AZD2171: A Highly Potent, Orally Bioavailable, Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Tyrosine Kinase Inhibitor for the Treatment of Cancer. *Cancer Res* 65: 4389-400
 48. Drevs J, Medinger M, Mross K, *et al.* (2005) Phase I clinical evaluation of AZD2171, a highly potent VEGF receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with advanced tumors. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 23: 3002
 49. Lorusso PM, Heath E, Valdivieso M, Pilat M (2006) Phase I evaluation of AZD2171, a highly potent and selective inhibitor of VEGFR signaling, in combination with selected chemotherapy regimens in patients with advanced solid tumors. *Journal of Clinical Oncology/ASCO Annual Meeting Proceedings Part I. Vol 24, No. 18S: 3034*
 50. Laurie SA, Arnold A, Gauthier I, *et al.* (2006) Final results of a phase I study of daily oral AZD2171, an inhibitor of vascular endothelial growth factor receptors (VEGFR), in combination with carboplatin (C) + paclitaxel (T) in patients with advanced non-small cell lung cancer (NSCLC): A study of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group (NCIC CTG). *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 24: 3054
 51. van Crujisen H, Voest EE, van Herpen CML, *et al.* (2005) Phase I clinical evaluation of AZD2171 in combination with gefitinib, in patients with advanced tumors. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 23: 3030
 52. Azad NS, Posadas EM, Kwitkowski VE, *et al.* (2006) Increased efficacy and toxicity with combination anti-VEGF therapy using sorafenib and bevacizumab. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 24: 3004

53. DePrimo SE, Friece C, Huang X, *et al.* (2006) Effect of treatment with sunitinib malate, a multitargeted tyrosine kinase inhibitor, on circulating plasma levels of VEGF, soluble VEGF receptors 2 and 3, and soluble KIT in patients with metastatic breast cancer. *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 24: 578
54. Norden-Zfoni A, Manola J, Desai J, *et al.* (2005) Levels of circulating endothelial cells (CECs) and monocytes as pharmacodynamic markers of SU11248 activity in patients (pts) with metastatic imatinib-resistant GIST. *J Clin Oncol (Meeting Abstracts)* 23: 9036

Discussion/Synthèse

Monoclonaux contre inhibiteurs de tyrosine kinase

A. Bozec et G. Milano

Introduction

Les thérapeutiques ciblées en cancérologie font actuellement principalement appel à deux grandes catégories de molécules, les anticorps monoclonaux (Mabs) et les inhibiteurs de tyrosine kinase (TKIs) (1). Dans ce domaine, le ciblage du récepteur au facteur de croissance épidermique (REGF) représente, parmi les avancées récentes, une des plus prometteuses sur le plan clinique (2-6). Ceci n'a rien d'étonnant quand on connaît le rôle clé, tenu par le REGF, dans les processus de transduction du signal régulant des fonctions cellulaires majeures telles que la survie et la prolifération. Parmi les produits ciblant le REGF, le cétuximab (Erbitux®) (7, 8) et le panitumumab (Vectibix®) pour les Mabs, le gefitinib (Iressa®) (9, 10) et l'erlotinib (Tarceva®) (11, 12) pour les TKIs, font partie des agents les mieux connus et les plus avancés dans leur développement clinique. Il devient ainsi indispensable de mieux comprendre les points communs et les différences concernant les propriétés pharmacologiques de ces deux grandes catégories de molécules. Si certains éléments sont actuellement parfaitement connus, de nombreuses questions subsistent autour du mode d'action et des conséquences pharmacologiques du ciblage du REGF par ces agents. Notre but ici est donc de comparer, tant sur le plan moléculaire que sur le plan clinique, l'action pharmacologique des Mabs et des TKIs dans ce domaine du ciblage du REGF.

Effets sur la cible : le REGF

L'activation des voies de signalisation liées au REGF passe par la fixation sur ce récepteur de facteurs de croissance, tels que l'*epidermal growth factor* (EGF), aboutissant à la dimérisation du récepteur ou à son hétérodimérisation avec

d'autres membres de la famille des récepteurs HER, comme HER-2. L'auto-phosphorylation et la transphosphorylation des récepteurs, par l'intermédiaire de leurs domaines tyrosine kinase, conduisent au recrutement des effecteurs intracellulaires, responsables de l'activation des voies de prolifération et de survie (13).

Mabs et TKIs diffèrent clairement de par leur mode d'action sur leur cible comme le REGF. Le cétuximab, un Mab chimérique, est un antagoniste compétitif de l'*epidermal growth factor* (EGF) sur son récepteur. Indépendamment de la phosphorylation du récepteur, le complexe cétuximab-REGF est consécutivement internalisé (14, 15). Le devenir de ce complexe après sa phase d'internalisation est mal connu, en particulier entre sa dégradation et le recyclage d'un récepteur intact à la surface membranaire. Au contraire, les TKIs agissent sur la portion cytosolique du REGF, au niveau du domaine de liaison à l'ATP, empêchant ainsi l'autophosphorylation du récepteur. En fonction de la nature du TKIs, l'inhibition du REGF peut être réversible comme c'est le cas avec le gefitinib et l'erlotinib, ou bien irréversible comme par exemple avec le PD 183 805 (4, 16, 17). L'irréversibilité de cette inhibition est due à la liaison covalente du TKI au niveau de la poche à ATP du REGF. À l'inverse des approches utilisant des Mabs, les TKIs ne sont pas strictement spécifiques de leur cible présumée (le REGF). En effet, les TKIs sont tous des antagonistes compétitifs de l'ATP au niveau de son site de fixation sur les tyrosines kinases (17). Ainsi, il peut exister de façon variable, une réactivité croisée entre TKIs, REGF et autres membres de la famille des récepteurs HER-B, comme HER-2 (3). Il n'est pas clairement établi si l'interaction entre les TKIs et le REGF est seulement limitée à l'inhibition de son activité tyrosine kinase ou s'il existe des effets sur les processus d'internalisation, de dégradation et de recyclage du récepteur. Citri *et al.* (18) ont récemment montré que le CI-1033, un TKI irréversible de HER-2, accélérerait l'internalisation du récepteur et sa dégradation intracellulaire. Il serait sur ce plan intéressant de rechercher l'existence de mécanismes similaires suivant l'interaction des TKIs et du REGF.

La présence de ligands du REGF, particulièrement de l'EGF et du TGF α , devrait au moins théoriquement, jouer un rôle opposé sur l'impact du ciblage du REGF, suivant le type de molécules utilisé. Vis-à-vis des Mabs, les ligands naturels du REGF peuvent entrer en compétition au niveau de la liaison au récepteur. Au contraire, en stimulant leur récepteur, ils peuvent favoriser l'action des TKIs, en rendant la cellule tumorale plus dépendante de l'activation du REGF. Ainsi, Wakeling *et al.* (19) ont montré que les CI50 du gefitinib sur les cellules KB étaient plus de cent fois plus faibles en présence d'EGF qu'en son absence. À l'inverse, Liu *et al.* (20) ont mis en évidence une nette réduction des effets pro-apoptotiques du cétuximab lorsque l'EGF était rajouté au milieu de culture. Il apparaît donc justifié de prendre en considération les boucles d'activation autocrine du REGF au niveau des tumeurs, dans les investigations cliniques utilisant des drogues ciblant le REGF.

Effets sur les voies de signalisation liées au REGF

Les effets du ciblage du REGF témoignent du rôle physiologique de ce récepteur dans les voies de transduction du signal impliquées dans les phénomènes de division cellulaire, d'apoptose et de néoangiogenèse. Sur le plan de la prolifération cellulaire d'abord, le cétuximab et le gefitinib entraînent un ralentissement du processus de division cellulaire, avec blocage des cellules en phase G1, faisant intervenir des modifications moléculaires au niveau des principaux points de contrôle du cycle cellulaire (21-23). Par ailleurs, le cétuximab (24) et le gefitinib (25) provoquent une modification de l'équilibre entre les niveaux intracellulaires de Bax et de Bcl-2, ce qui souligne l'effet pro-apoptotique du ciblage du REGF. Sur ce plan, Liu et Fan ont montré que le cétuximab activait l'initiation de la caspase-8, de même qu'il interagissait avec le récepteur membranaire de mort cellulaire (26, 27). Il serait intéressant de mieux connaître l'impact précis des Mabs et des TKIs sur les processus d'apoptose impliquant ces récepteurs de mort. Quant à l'effet anti-angiogénique du ciblage du REGF, il a été mis en évidence que le niveau intratumoral du VEGF et de l'IL 8 était diminué sur des modèles de xénogreffes, après traitement par cétuximab (28) ou par gefitinib (29). De plus, les travaux d'Hirata *et al.* (30) ont suggéré la possibilité d'un effet anti-angiogénique direct du gefitinib par ciblage du REGF qui est exprimé sur les cellules endothéliales HUVEC. Nous avons également montré *in vitro*, sur une autre lignée de cellules endothéliales humaines, les cellules HMME7, un effet cytotoxique direct du gefitinib, dont l'association à un autre TKI, ciblant le récepteur du VEGF, produit des effets cytotoxiques synergiques (31).

De façon intéressante, mais encore peu documentée, le ciblage du REGF peut conduire à une perturbation des processus de réparation de l'ADN. Ainsi, le cétuximab diminue le niveau de DNA-PK et sa présence dans la fraction nucléaire (32). Également, dans les cellules traitées par cétuximab, l'imagerie confocale révèle la colocalisation de DNA-PK avec le REGF. Il serait intéressant de savoir si les effets du ciblage du REGF sur DNA-PK sont spécifiques des Mabs ou s'ils peuvent également être obtenus avec les TKIs. Sur ce plan, nous avons montré sur les cellules endothéliales, la capacité du gefitinib à inhiber les mécanismes cellulaires de réparation de l'ADN, en particulier par diminution du niveau d'expression de l'enzyme ERCC1 (31). Des phénomènes similaires ont été également rapportés sur les cellules tumorales (33). Cette altération des mécanismes de réparation de l'ADN, par ciblage du REGF, pourrait être un des facteurs explicatifs de la synergie souvent constatée, comme nous le verrons plus loin, entre les produits anti-REGF, les agents cytotoxiques conventionnels et l'irradiation.

Effets du ciblage du REGF : différences constatées *in vitro* et *in vivo*

En général, le traitement par cétuximab de lignées cellulaires tumorales résulte en une diminution modérée de la croissance et de la prolifération cellulaires, variant suivant la lignée cellulaire étudiée entre 15 et 50 % (34, 35). Les études réalisées *in vivo* sur xéno greffes tumorales révèlent une efficacité du cétuximab très supérieure à ce que l'on observe sur lignées cellulaires *in vitro*. Ce phénomène est parfaitement illustré avec les cellules tumorales A431, qui présentent un haut niveau d'expression du REGF. En effet, le traitement de ces cellules *in vitro* par le cétuximab, résulte en une modeste inhibition de la prolifération cellulaire, variant de 30 à 40 % suivant les conditions expérimentales (15, 36). Au contraire, le traitement par cétuximab de souris porteuses de xéno greffes A431 aboutit à un arrêt complet de la croissance tumorale et à une régression de tumeurs déjà constituées (37). Ces différences d'activité *in vitro* et *in vivo* notées avec le cétuximab ne sont pas aussi marquées avec les TKIs. En effet, le gefitinib, de même que d'autres TKIs de développement plus récent, entraîne une inhibition de la prolifération cellulaire aussi bien *in vitro* que *in vivo*, sur de nombreuses lignées cellulaires (4, 38, 39). L'efficacité des Mabs *in vivo* pourrait donc s'expliquer probablement plus par des effets sur la néoangiogenèse et les processus de migration cellulaire que par une inhibition de la prolifération cellulaire. Par ailleurs, et surtout, une part importante de l'activité antitumorale des Mabs pourrait provenir de processus immunologiques tels que la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) (40, 41). Sur ce plan, le phénomène d'ADCC implique la reconnaissance du fragment Fc des Mabs par un récepteur situé sur les cellules immunologiques effectrices. Ces récepteurs (FcγR) sont le siège d'un polymorphisme génétique, pouvant influencer l'intensité des réactions d'ADCC après reconnaissance du REGF par les Mabs (42). Il existe ainsi des différences de génotype FcγR entre les individus, ce qui peut probablement constituer, un des mécanismes explicatifs des variations d'efficacité des Mabs *in vivo*.

Effets combinés des drogues ciblant le REGF et des autres agents cytotoxiques

Il ne semble pas y avoir de distinction, au plan expérimental, entre Mabs et TKIs quant à la possibilité d'obtenir une synergie des effets cytotoxiques lorsqu'ils sont associés aux agents de chimiothérapie conventionnelle ou à l'irradiation. Cette synergie peut être attribuée en grande partie aux effets connus du ciblage du REGF sur la prolifération cellulaire, l'apoptose, l'angiogenèse et la réparation de l'ADN. Peu d'études expérimentales ont étudié de façon précise et à

l'aide de méthodes appropriées (modèle de Chou et Talalay par exemple) les effets combinés des agents ciblant le REGF et des autres drogues cytotoxiques. Une exception est le travail réalisé par Ciardello *et al.* (38) qui ont étudié les effets produits par l'association du gefitinib à plusieurs agents cytotoxiques (sels de platine, taxanes, doxorubicine, VP16, topotécan et raltitrexed) sur le modèle de cancer colique humain GEO en xénogreffes. Ils ont ainsi montré que l'association du gefitinib à différents agents cytotoxiques produisait un arrêt de la croissance tumorale alors que ces différents traitements utilisés seuls n'avaient pas d'effets significatifs. Nous avons rapporté que l'association du gefitinib au cisplatine et au 5FU sur diverses lignées cellulaires de cancers de la tête et du cou humains produisait des effets cytotoxiques synergiques dépendants de la séquence thérapeutique (39). Le caractère synergique de l'association des TKIs au cisplatine a été également souligné par Gieseg *et al.* (43). Des observations similaires ont été réalisées avec des Mabs tels que le cétuximab, en association avec de nombreux agents cytotoxiques (cisplatine, 5FU, doxorubicine, gemcitabine, paclitaxel, topotécan et CPT11) (15, 35, 44-47). En particulier, l'association du cétuximab au CPT11 s'est révélée efficace *in vivo* sur des tumeurs colorectales réfractaires au CPT11, ce qui a été ensuite confirmé cliniquement (48). Sur ce plan, le cétuximab a montré son efficacité en association aux agents de chimiothérapie conventionnelle, dans le traitement de première ligne de patients atteints de cancers colorectaux métastatiques (49). Ainsi, l'association des agents ciblant le REGF, qu'ils s'agissent de Mabs ou de TKIs, aux agents cytotoxiques conventionnels, produit généralement des effets cytotoxiques additifs ou supra-additifs. Un antagonisme ne peut cependant pas être totalement écarté avec des drogues non explorées par ces diverses études.

De la même façon, de nombreux travaux ont souligné le caractère synergique de l'association du ciblage du REGF à l'irradiation, que ce soit avec des Mabs ou des TKIs. Ainsi, le cétuximab a montré à la fois *in vitro* et *in vivo* sa capacité à augmenter, de façon marquée, les effets cytotoxiques de l'irradiation sur diverses lignées de carcinome épidermoïde, en particulier, de la tête et du cou (24, 28, 50, 51). Divers travaux réalisés *in vitro* et *in vivo*, ont également rapporté une potentialisation des effets de l'irradiation par le gefitinib, non seulement sur des lignées de cancer de la tête et du cou (23, 39), mais aussi sur un large panel de lignées cellulaires tumorales d'origines diverses, incluant le poumon, le sein, l'ovaire et le côlon (52, 53). Il semble donc que la radiosensibilisation induite par le cétuximab requiert un haut niveau d'expression tumorale du REGF, comme c'est le cas dans les cancers de la tête et du cou. À l'inverse, les effets radiosensibilisants du gefitinib paraissent intéresser un plus large spectre de lignées cellulaires, d'origines très variables. L'activité antitumorale prometteuse de l'association des Mabs ou des TKIs ciblant le REGF à l'irradiation ne s'explique pas uniquement par les effets constatés sur la prolifération cellulaire, mais également par un impact négatif sur l'angiogenèse tumorale (23, 51, 52). Par ailleurs, sur le plan moléculaire, l'inhibition des enzymes impliquées dans les processus de réparation de l'ADN, pourrait être un des facteurs explica-

tifs des effets radiosensibilisants observés avec les Mabs et les TKIs ciblant le REGF (33, 54).

Cette meilleure connaissance des effets combinés des anti-REGF, des agents cytotoxiques conventionnels et de l'irradiation, est à la base d'une recherche clinique particulièrement active et productive, qui associe notamment le cétuximab au cisplatine et à la radiothérapie dans le traitement des carcinomes épidermoïdes des voies aérodigestives supérieures (VADS). Sur ce plan, le cétuximab a démontré son efficacité en association à la radiothérapie dans le traitement de tumeurs localement avancées dans une étude publiée par Bonner *et al.* (55). Cette étude multicentrique et randomisée comparait la radiothérapie exclusive à la radiothérapie associée au cétuximab, dans le traitement de carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx, de l'hypopharynx ou du larynx, non métastatiques, de stade III ou IV. Elle a montré le bénéfice de cette association par rapport à la radiothérapie seule en termes de contrôle locorégional (durée médiane du contrôle de 24,4 mois contre 14,9 mois, $p = 0,005$), de survie sans progression (42 % contre 31 % à 3 ans, $p = 0,04$) et de survie globale (médiane de 49,0 mois contre 29,3 mois, $p = 0,03$). En dehors de la toxicité cutanée propre au cétuximab (rash acnéiforme), l'incidence des toxicités de grade 3 et en particulier de la mucite, n'était pas significativement plus élevée dans le groupe radiothérapie plus cétuximab que dans le groupe radiothérapie seule. Le cétuximab a été également testé en association aux agents cytotoxiques conventionnels et en particulier aux sels de platine chez des patients atteints de carcinomes épidermoïdes des VADS récidivants et/ou métastatiques (56-58). Chez ce type de patients, l'association cétuximab – cisplatine est bien tolérée et offre des taux de réponse objective intéressants, même chez des patients réfractaires au cisplatine seul. Toujours dans ce cadre, une étude randomisée de phase III, publiée par Burtneß *et al.*, a montré la supériorité de l'association cétuximab – cisplatine par rapport au cisplatine seul, en termes de taux de réponse, mais pas en termes de survie (59). Dans cette même étude, pour les patients traités par cétuximab, la survie était significativement meilleure chez les patients présentant une toxicité cutanée au cétuximab.

Mécanismes de résistance aux agents ciblant le REGF et perspectives actuelles

Peu d'études précliniques se sont réellement penchées sur les phénomènes de résistance, qu'elle soit intrinsèque ou acquise, aux agents ciblant le REGF. Sur le plan intrinsèque, le rôle potentiel du niveau d'expression du REGF, sur l'efficacité des agents ciblant ce récepteur, demeure très controversé. La plupart des études précliniques semblent cependant montrer un lien entre le niveau d'expression tumorale du REGF et la sensibilité aux agents anti-REGF, qu'ils s'agissent de Mabs ou de TKIs. Ainsi, Bos *et al.* ont observé sur neuf lignées

de cancers humains, une relation exponentielle entre le niveau d'expression du REGF et l'inhibition de la croissance cellulaire par un nouveau TKI, le PD 153035 (36). De façon similaire, nous avons rapporté sur une série de sept lignées cellulaires issues de cancers de la tête et du cou humains, que les cellules présentant le plus haut niveau d'expression du REGF étaient les plus sensibles à l'action du gefitinib (60). Concernant les Mabs, Solbach *et al.* (61) ont montré sur six tumeurs du sein humaines en xéno greffes chez l'animal, une efficacité de l'EMD 55 900 pour les tumeurs présentant un taux de REGF au-dessus du seuil de 40 fmol.mg⁻¹ de protéines. Ces données précliniques concordantes nécessitent cependant d'être confirmées par un plus grand nombre d'études, explorant un plus large spectre de cellules tumorales. Au plan clinique, l'expression du REGF en immunohistochimie ne permet pas de prédire l'efficacité d'un traitement par anti-REGF, en particulier dans le cancer colorectal (48). En revanche, il semble exister un lien entre le degré d'amplification du gène du REGF et la réponse au cétuximab, les bons répondeurs au cétuximab présentant une augmentation du nombre de copies du gène du REGF (62). Par ailleurs, il existe en clinique une relation entre la réponse thérapeutique et la toxicité cutanée, ce qui peut être utilisé comme critère secondaire pour décider de la poursuite du traitement (63).

Plusieurs modifications du gène du REGF ont été rapportées, parmi lesquelles, la plus commune et antérieurement connue, conduisant à une délétion du domaine extra-cellulaire du récepteur, est la variation de type III (REGFvIII produit par épissage alternatif). Celle-ci aboutit à une forme du récepteur, incapable de lier l'EGF, mais constitutivement phosphorylée, et donc indépendante de la fixation de son ligand (64-66). Cette mutation a été retrouvée dans plusieurs cancers, comme ceux du poumon et du sein, mais en particulier dans les glioblastomes (67-71). La présence de cette forme altérée du récepteur peut probablement influencer l'efficacité des thérapeutiques ciblant le REGF. Heimberger (72) a montré dans un travail récent que le gefitinib était actif sur un modèle de tumeur cérébrale exprimant le REGF, mais que la présence du REGFvIII conférait une résistance au gefitinib. En revanche, dans une étude clinique récente, Mellinshoff *et al.* ont montré que la coexpression de REGFvIII et de PTEN (protéine suppressive de tumeurs) était associée à la réponse aux TKIs ciblant le REGF, chez les patients atteints de glioblastomes (73). L'action relative du cétuximab sur la forme sauvage du REGF et sur sa forme variante (REGFvIII) est mal connue, mais serait d'autant plus intéressante à analyser qu'une étude préclinique récente, publiée par Mishima *et al.*, a montré qu'un Mab reconnaissant le REGFvIII, le mAG806, était doté d'une activité significative contre des formes agressives de gliomes exprimant le REGFvIII (74).

Une avancée importante a été apportée par les travaux de Paez et de Lynch (75, 76), qui ont établi que des mutations somatiques du gène du REGF, dans le domaine tyrosine kinase intracellulaire, pouvaient favoriser l'efficacité des TKIs et en particulier du gefitinib. Ces mutations représentent des substitutions ou délétions d'acides aminés dans le site actif tyrosine kinase du récepteur. Elles sont considérées comme activatrices du REGF et responsables d'une sensibilité

accrue au gefitinib grâce à une meilleure accessibilité à la cible du médicament. La présence de telles mutations du gène du REGF est actuellement parfaitement établie dans le cadre des cancers bronchopulmonaires non à petites cellules (NSCLC), où elles sont présentes dans environ 10 % des cas (exons 18-21) (77). Différents travaux ont démontré la plus grande fréquence de ces mutations chez la femme, chez les sujets non-fumeurs et d'origine asiatique, ainsi qu'en cas adénocarcinome (78-81). Chez les sujets présentant ces mutations du REGF, les taux de réponse à l'Iressa® dans les formes métastatiques de NSCLC atteignent 53 à 83 % suivant les études et permettent une augmentation significative de la survie globale (82-84). L'efficacité du cétuximab sur les lignées de NSCLC est encore insuffisamment connue, mais des travaux récents semblent montrer que la présence de ces mutations du REGF ne favorise pas particulièrement la sensibilité à cet agent (85).

À côté du REGF, d'autres récepteurs et voies de signalisation sont capables de stimuler la prolifération cellulaire, en particulier après blocage du REGF, et peuvent donc constituer d'autres mécanismes de résistance intrinsèque aux anti-REGF. Ainsi, Chakravarti *et al.* (86) ont rapporté une sensibilité variable de différentes lignées cellulaires de glioblastomes humains à l'AG 1478, un nouveau TKI, alors qu'elles exprimaient un niveau semblable de REGF. De façon intéressante, ils montrèrent qu'une lignée résistante au TKI surexprimait l'IGFR-1, et que l'association de l'AG 1478 à un agent anti-IGFR-1 sur cette même lignée augmentait l'apoptose cellulaire spontanée et radio-induite. Par ailleurs, Bianco *et al.* (87) ont rapporté qu'une lignée cellulaire déficiente en phosphatase PTEN, était relativement résistante au gefitinib. Ceci pouvait être expliqué par le fait que le déficit en PTEN maintenait un haut niveau de phosphorylation et donc d'activation d'AKT, insensible à l'inhibition du REGF. L'activité du gefitinib était restaurée dans ces mêmes cellules après transfection de PTEN. Le statut de PTEN doit donc être considéré comme une source de variabilité de la sensibilité aux agents anti-REGF. Parmi les mécanismes de résistance au ciblage du REGF, la coexpression d'autres récepteurs de la famille HER comme HER-2 a été également évoquée. Par exemple, Chistensen *et al.* (88) ont montré que la surexpression de HER-2 contrecarrait la capacité du gefitinib à bloquer l'activité du REGF.

La fixation du ligand sur la partie extra-cellulaire du REGF induit la phosphorylation du domaine tyrosine kinase intracellulaire du récepteur. Il en résulte l'activation d'effecteurs intracellulaires (KRAS, RAF, PIK3CA...) qui sont responsables de la transmission des effets de la stimulation du REGF. La présence de mutations de ces molécules effectrices pourrait modifier la sensibilité aux agents ciblant le REGF. Ainsi, une étude clinique réalisée par Lièvre *et al.* (89), chez des patients atteints de cancers colorectaux métastatiques, a montré que l'existence de mutations de KRAS était associée à une absence de réponse au cétuximab et à un mauvais pronostic. À l'inverse, l'absence de mutations de KRAS, de même que l'amplification du REGF, était corrélée à une réponse au traitement.

Une étude réalisée *in vivo* par Vilorio-Petit *et al.* (90), avec la lignée cellulaire A431, a montré la possibilité de produire des variants, présentant une résistance

acquise à des Mabs anti-REGF. Parmi les mécanismes explicatifs potentiels, une stimulation de l'angiogenèse par surproduction de VEGF par les cellules tumorales a été mise en évidence. Sur ce plan, nous avons montré, sur une lignée de cancer des VADS d'origine humaine (CAL33) en xénogreffes, l'utilité de combiner au ciblage du REGF par le gefitinib, celui du récepteur au VEGF par l'AZD2171, un nouveau TKI, permettant d'obtenir une synergie, tant dans l'effet antitumoral qu'anti-angiogénique (91). Ceci corrobore l'intérêt actuel porté au développement de nouveaux TKIs présentant une double activité, anti-REGF et anti-RVEGF, tel le ZD6474, qui a montré son efficacité sur un modèle orthotopique de cancer gastrique (92). Cet agent a été également testé face à d'autres types de tumeurs, et en particulier, dans les carcinomes épidermoïdes des VADS, où il a récemment montré son efficacité dans une étude préclinique publiée par Sano *et al.* (93). Ces données expérimentales encourageantes ont permis le développement d'essais cliniques utilisant le ZD6474 chez des patients atteints de NSCLC avec des résultats préliminaires intéressants (94, 95). De la même façon, plusieurs études se penchent actuellement sur l'efficacité d'association entre anti-REGF et Mabs à potentiel anti-angiogénique, tel le bevacizumab (Avastin[®], anti-VEGF). Cet agent a ainsi été testé en association à l'erlotinib (Tarceva[®]), dans une étude de phase I/II, chez des patients atteints de NSCLC de stade IIIB/IV. Les résultats de cette étude publiée par Herbst *et al.* ont montré que cette association était bien tolérée et active dans ce type tumeur (96). Le bevacizumab a également montré son intérêt chez des patients atteints de formes métastatiques de cancer colorectal et de cancer du rein (97, 98). Dans le cadre des carcinomes épidermoïdes des VADS, plusieurs essais cliniques sont actuellement en cours, associant notamment le bevacizumab à l'erlotinib, avec des résultats préliminaires encourageants (99, 100). À côté des thérapeutiques anti-angiogéniques proprement dites, qui visent à inhiber la formation de néovaisseaux, il est également possible d'agir sur le réseau vasculaire préétabli des tumeurs, à l'aide d'agents dits de ciblage vasculaire. Dans ce cadre, nous avons étudié l'intérêt d'un agent de liaison à la tubuline, le ZD6126, et montré, qu'il produisait en association à un anti-REGF, des effets antitumoraux synergiques, essentiellement liés à l'action conjointe de ces agents sur la vascularisation tumorale (101). Le ZD6126 permet d'agir sur le réseau vasculaire préformé et le gefitinib inhibe la formation de néovaisseaux par une double action : diminution de la sécrétion de facteurs pro-angiogéniques par les cellules tumorales et action directe sur les cellules endothéliales. Il pourrait être intéressant de combiner à ce type d'association, un agent anti-angiogénique classique anti-RVEGF ou anti-VEGF. Sur ce plan, Shi et Siemann ont étudié les effets du ZD6474 (anti-EGFR et anti-VEGFR) associé au ZD6126 sur un modèle de cancer de l'ovaire et de cancer colorectal (102). Ils ont montré que chaque agent administré seul avait peu d'effets sur la croissance tumorale, alors que leur association augmentait significativement l'efficacité anti-tumorale. L'association d'un agent anti-REGF, d'un agent de ciblage vasculaire et d'un agent anti-angiogénique permet donc d'avoir une action optimale sur la vascularisation tumorale, agissant à la fois sur le réseau vasculaire préétabli

de la tumeur et sur la formation de néovaisseaux. Une meilleure connaissance des mécanismes de résistance aux anti-REGF, qu'ils s'agissent de Mabs ou de TKIs, notamment l'existence de voies de signalisation alternatives et l'activation de voies pro-angiogéniques, apparaît indispensable au développement de nouvelles stratégies combinant anti-REGF et autres thérapeutiques, en particulier anti-angiogéniques.

De nouveaux agents anti-REGF sont donc actuellement en cours de développement clinique, avec différentes caractéristiques. Parmi les Mabs, le panitumumab est un anticorps 100 % humain, sans effet antigénique rapporté. Parmi les TKIs, des composés ayant la double spécificité, anti-REGF et anti-RVEGF (récepteur au VEGF), ont été développés, comme le ZD6474 et l'AEE788. Des TKIs capables d'inhiber les différents membres de la famille HER (HER-1 et HER-2 en particulier) sont également en cours d'investigations, comme le lapatinib et le CI-1033. Ce dernier composé, de même que l'HKI-272 sont des inhibiteurs irréversibles (103-106). Sur le plan clinique, le panitumumab a démontré son efficacité dans les cancers colorectaux métastatiques (107). Le ZD6474 fait quant à lui partie des agents les plus prometteurs, et a montré, comme nous l'avons déjà mentionné, son intérêt dans les NSCLC (95). Le lapatinib présente une activité encourageante dans les tumeurs surexprimant HER-1 et HER-2, et notamment dans les cancers du sein métastatiques résistants au trastuzumab (108).

Agents ciblant le REGF en pratique clinique

Parmi les Mabs, le cétuximab (Erbix®) est habituellement administré en une injection intraveineuse hebdomadaire, dans le cadre du traitement des cancers colorectaux, en association à l'irinotécan, ou des cancers des VADS, en association au cisplatine ou à la radiothérapie. À l'opposé, parmi les TKIs, le gefitinib (Iressa®) et l'erlotinib (Tarceva®) sont prescrits en une prise orale quotidienne, dans le traitement des formes métastatiques de NSCLC, éventuellement en association à la chimiothérapie conventionnelle (109, 110). Tous ces produits ont une toxicité principalement cutanée (rash acnéiforme), à laquelle il faut également ajouter une toxicité digestive (diarrhée) pour les TKIs (111). Si la possibilité d'administration orale est actuellement privilégiée dans la recherche de nouvelle molécule en oncologie, l'injection intraveineuse hebdomadaire présente un intérêt évident en termes de compliance et d'assiduité au traitement, en particulier chez les patients atteints de cancer des VADS.

La variabilité pharmacocinétique des Mabs et en particulier du cétuximab dépend des variations de l'ectodomaine REGF et de la formation possible d'anticorps anti-cétuximab (112). Sur ce plan, le panitumumab est un Mab d'utilisation récente, 100 % humain, et donc, sans effet antigénique rapporté (113). Cette variabilité pharmacocinétique est plus marquée pour les TKIs comme le gefitinib, dont la clairance dépend de l'activité des cytochromes P450, et qui peut

être influencée par les différents traitements associés (système du MDR) (114). À noter, un travail récent montrant l'impact de la consommation de tabac sur la pharmacocinétique de l'erlotinib. Les fumeurs présentent des concentrations inférieures du TKI par rapport aux non-fumeurs, par un probable mécanisme d'induction enzymatique (115).

Dans le futur, il apparaît essentiel de pouvoir sélectionner les patients susceptibles de bénéficier d'un traitement anti-REGF. Cette sélection passe par l'identification précise des marqueurs prédictifs de l'efficacité de ces thérapeutiques. Sur ce plan, contrairement au trastuzumab dans le cancer du sein où le niveau d'expression du récepteur HER-2 est corrélé à la réponse thérapeutique, l'efficacité des traitements anti-REGF n'apparaît pas clairement liée au niveau d'expression du récepteur. Ainsi, comme nous l'avons mentionné plus haut, d'autres éléments plus complexes doivent être pris en compte comme les mutations du REGF (mutations activatrices, poche à ATP...), les amplifications géniques, les polymorphismes du REGF, mais aussi des FcγR.

Conclusion

Mabs et TKIs ciblant le REGF présentent des similitudes apparentes en termes de pharmacodynamie, de chimio- et de radiosensibilisation. Ils présentent cependant des différences remarquables, dont la connaissance devrait permettre leur meilleure utilisation, notamment en termes de sélection des patients. La recherche de mutations du REGF est un des éléments à prendre en considération pour prédire l'efficacité des TKIs dans les NSCLC, tandis que la prise en compte du polymorphisme des FcγR devrait permettre de mieux exploiter le phénomène d'ADCC, qui est considéré comme un des points clés de l'activité des Mabs. Les mutations Kras représentent également un important élément de résistance qui peut théoriquement jouer aussi bien pour les TKIs que pour les Mabs. La combinaison des Mabs et des TKIs, de même que celle des anti-REGF aux anti-angiogéniques, fait partie des stratégies thérapeutiques actuelles, mais leur schéma optimal d'association reste encore à définir.

Références

1. Modi S, Seidman AD (2002) An update on epidermal growth factor receptor inhibitors. *Curr Oncol Rep* 4: 47-55
2. Yarden Y (2001) The EGFR family and its ligands in human cancer: signalling mechanisms and therapeutic opportunities. *Eur J Cancer* 37 Suppl 4: S3-8
3. Arteaga CL (2001) The epidermal growth factor receptor: from mutant oncogene in nonhuman cancers to therapeutic target in human neoplasia. *J Clin Oncol* 19: 32S-40S

4. Ciardiello F, Tortora G (2001) A novel approach in the treatment of cancer: targeting the epidermal growth factor receptor. *Clin Cancer Res* 7: 2958-70
5. Baselga J (2001) Targeting the epidermal growth factor receptor: a clinical reality. *J Clin Oncol* 19: 41S-44S
6. Mendelsohn J (2002) Targeting the epidermal growth factor receptor for cancer therapy. *J Clin Oncol* 20: 1S-13S
7. Herbst RS, Kim ES, Harari PM (2001) IMC-C225, an anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody, for treatment of head and neck cancer. *Expert Opin Biol Ther* 1: 719-32
8. Baselga J (2001) The EGFR as a target for anticancer therapy--focus on cetuximab. *Eur J Cancer* 37 Suppl 4: S16-22
9. Ranson M, Mansoor W, Jayson G (2002) ZD1839 (IRESSA): a selective EGFR-TK inhibitor. *Expert Rev Anticancer Ther* 2: 161-8
10. Fukuoka M, Yano S, Giaccone G, *et al.* (2003) Multi-institutional randomized phase II trial of gefitinib for previously treated patients with advanced non-small-cell lung cancer (The IDEAL 1 Trial) [corrected]. *J Clin Oncol* 21: 2237-66
11. Bonomi P (2003) Erlotinib: a new therapeutic approach for non-small cell lung cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 12: 1395-1401
12. Herbst RS (2003) Erlotinib (Tarceva): an update on the clinical trial program. *Semin Oncol* 30: 34-46
13. Bianco R, Melisi D, Ciardiello F, Tortora G (2006) Key cancer cell signal transduction pathways as therapeutic targets. *Eur J Cancer* 42: 290-4
14. Fan Z, Lu Y, Wu X, Mendelsohn J (1994) Antibody-induced epidermal growth factor receptor dimerization mediates inhibition of autocrine proliferation of A431 squamous carcinoma cells. *J Biol Chem* 269: 27595-602
15. Prewett M, Rockwell P, Rockwell RF, *et al.* (1996) The biologic effects of C225, a chimeric monoclonal antibody to the EGFR, on human prostate carcinoma. *J Immunother Emphasis Tumor Immunol* 19: 419-27
16. Noonberg SB, Benz CC (2000) Tyrosine kinase inhibitors targeted to the epidermal growth factor receptor subfamily: role as anticancer agents. *Drugs* 59: 753-67
17. Denny WA (2002) Irreversible inhibitors of the erbB family of protein tyrosine kinases. *Pharmacol Ther* 93: 253-61
18. Citri A, Alroy I, Lavi S, *et al.* (2002) Drug-induced ubiquitylation and degradation of ErbB receptor tyrosine kinases: implications for cancer therapy. *Embo J* 21: 2407-17
19. Wakeling AE, Guy SP, Woodburn JR, *et al.* (2002) ZD1839 (Iressa): an orally active inhibitor of epidermal growth factor signaling with potential for cancer therapy. *Cancer Res* 62: 5749-54
20. Liu B, Fang M, Lu Y, *et al.* (2001) Fibroblast growth factor and insulin-like growth factor differentially modulate the apoptosis and G1 arrest induced by anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody. *Oncogene* 20: 1913-22
21. Kiyota A, Shintani S, Mihara M, *et al.* (2002) Anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody 225 upregulates p27(KIP1) and p15(INK4B) and induces G1 arrest in oral squamous carcinoma cell lines. *Oncology* 63: 92-8
22. Fan Z, Shang BY, Lu Y, *et al.* (1997) Reciprocal changes in p27(Kip1) and p21(Cip1) in growth inhibition mediated by blockade or overstimulation of epidermal growth factor receptors. *Clin Cancer Res* 3: 1943-8
23. Huang SM, Li J, Armstrong EA, Harari PM (2002) Modulation of radiation response and tumor-induced angiogenesis after epidermal growth factor receptor inhibition by ZD1839 (Iressa). *Cancer Res* 62: 4300-6
24. Huang SM, Bock JM, Harari PM (1999) Epidermal growth factor receptor blockade with C225 modulates proliferation, apoptosis, and radiosensitivity in squamous cell carcinomas of the head and neck. *Cancer Res* 59: 1935-40
25. Ciardiello F, Bianco R, Damiano V, *et al.* (2000) Antiangiogenic and antitumor activity of anti-epidermal growth factor receptor C225 monoclonal antibody in combination

- with vascular endothelial growth factor antisense oligonucleotide in human GEO colon cancer cells. *Clin Cancer Res* 6: 3739-47
26. Liu B, Fang M, Schmidt M, *et al.* (2000) Induction of apoptosis and activation of the caspase cascade by anti-EGF receptor monoclonal antibodies in DiFi human colon cancer cells do not involve the c-jun N-terminal kinase activity. *Br J Cancer* 82: 1991-9
 27. Liu B, Fan Z (2001) The monoclonal antibody 225 activates caspase-8 and induces apoptosis through a tumor necrosis factor receptor family-independent pathway. *Oncogene* 20: 3726-34
 28. Huang SM, Harari PM (2000) Modulation of radiation response after epidermal growth factor receptor blockade in squamous cell carcinomas: inhibition of damage repair, cell cycle kinetics, and tumor angiogenesis. *Clin Cancer Res* 6: 2166-74
 29. Tortora G, Caputo R, Damiano V, *et al.* (2001) Oral administration of a novel taxane, an antisense oligonucleotide targeting protein kinase A, and the epidermal growth factor receptor inhibitor Iressa causes cooperative antitumor and antiangiogenic activity. *Clin Cancer Res* 7: 4156-63
 30. Hirata A, Ogawa S, Kometani T, *et al.* (2002) ZD1839 (Iressa) induces antiangiogenic effects through inhibition of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase. *Cancer Res* 62: 2554-60
 31. Bozec A, Formento P, Ciccolini J, *et al.* (2005) Response of endothelial cells to a dual tyrosine kinase receptor inhibition combined with irradiation. *Mol Cancer Ther* 4: 1962-71
 32. Bandyopadhyay D, Mandal M, Adam L, *et al.* (1998) Physical interaction between epidermal growth factor receptor and DNA-dependent protein kinase in mammalian cells. *J Biol Chem* 273: 1568-73
 33. Yacoub A, McKinstry R, Hinman D, *et al.* (2003) Epidermal growth factor and ionizing radiation up-regulate the DNA repair genes XRCC1 and ERCC1 in DU145 and LNCaP prostate carcinoma through MAPK signaling. *Radiat Res* 159: 439-52
 34. Normanno N, Tortora G, De Luca A, *et al.* (1999) Synergistic growth inhibition and induction of apoptosis by a novel mixed backbone antisense oligonucleotide targeting CRIPTO in combination with C225 anti-EGFR monoclonal antibody and 8-Cl-cAMP in human GEO colon cancer cells. *Oncol Rep* 6: 1105-9
 35. Overholser JP, Prewett MC, Hooper AT, *et al.* (2000) Epidermal growth factor receptor blockade by antibody IMC-C225 inhibits growth of a human pancreatic carcinoma xenograft in nude mice. *Cancer* 89: 74-82
 36. Bos M, Mendelsohn J, Kim YM, *et al.* (1997) PD153035, a tyrosine kinase inhibitor, prevents epidermal growth factor receptor activation and inhibits growth of cancer cells in a receptor number-dependent manner. *Clin Cancer Res* 3: 2099-106
 37. Goldstein NI, Prewett M, Zuklys K, *et al.* (1995) Biological efficacy of a chimeric antibody to the epidermal growth factor receptor in a human tumor xenograft model. *Clin Cancer Res* 1: 1311-8
 38. Ciardiello F, Caputo R, Bianco R, *et al.* (2000) Antitumor effect and potentiation of cytotoxic drugs activity in human cancer cells by ZD-1839 (Iressa), an epidermal growth factor receptor-selective tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res* 6: 2053-63
 39. Magne N, Fischel JL, Dubreuil A, *et al.* (2002) Sequence-dependent effects of ZD1839 ('Iressa') in combination with cytotoxic treatment in human head and neck cancer. *Br J Cancer* 86: 819-27
 40. Milano G (2005) Pharmacological skills for targeting EGFR and VEGF. *Bull Cancer* 92: S17-20
 41. Bleeker WK, Lammerts van Bueren JJ, van Ojik HH, *et al.* (2004) Dual mode of action of a human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody for cancer therapy. *J Immunol* 173: 4699-707
 42. Carter P (2001) Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies. *Nat Rev Cancer* 2: 118-29

43. Gieseg MA, de Bock C, Ferguson LR, Denny WA (2001) Evidence for epidermal growth factor receptor-enhanced chemosensitivity in combinations of cisplatin and the new irreversible tyrosine kinase inhibitor CI-1033. *Anticancer Drugs* 12: 683-90
44. Fan Z, Baselga J, Masui H, Mendelsohn J (1993) Antitumor effect of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibodies plus cis-diamminedichloroplatinum on well established A431 cell xenografts. *Cancer Res* 53: 4637-42
45. Ciardiello F, Bianco R, Damiano V, *et al.* (1999) Antitumor activity of sequential treatment with topotecan and anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225. *Clin Cancer Res* 5: 909-16
46. Bruns CJ, Harbison MT, Davis DW, *et al.* (2000) Epidermal growth factor receptor blockade with C225 plus gemcitabine results in regression of human pancreatic carcinoma growing orthotopically in nude mice by antiangiogenic mechanisms. *Clin Cancer Res* 6: 1936-48
47. Prewett MC, Hooper AT, Bassi R, *et al.* (2002) Enhanced antitumor activity of anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody IMC-C225 in combination with irinotecan (CPT-11) against human colorectal tumor xenografts. *Clin Cancer Res* 8: 994-1003
48. Cunningham D, Humblet Y, Siena S, *et al.* (2004) Cetuximab monotherapy and cetuximab plus irinotecan in irinotecan-refractory metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 351: 337-45
49. Folprecht G, Lutz MP, Schoffski P, *et al.* (2006) Cetuximab and irinotecan/5-fluorouracil/folinic acid is a safe combination for the first-line treatment of patients with epidermal growth factor receptor expressing metastatic colorectal carcinoma. *Ann Oncol* 17: 450-6
50. Bianco C, Bianco R, Tortora G, *et al.* (2000) Antitumor activity of combined treatment of human cancer cells with ionizing radiation and anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody C225 plus type I protein kinase A antisense oligonucleotide. *Clin Cancer Res* 6: 4343-50
51. Bonner JA, Raisch KP, Trummell HQ, *et al.* (2000) Enhanced apoptosis with combination C225/radiation treatment serves as the impetus for clinical investigation in head and neck cancers. *J Clin Oncol* 18: 47S-53S
52. Bianco C, Tortora G, Bianco R, *et al.* (2002) Enhancement of antitumor activity of ionizing radiation by combined treatment with the selective epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (Iressa). *Clin Cancer Res* 8: 3250-8
53. Williams KJ, Telfer BA, Stratford IJ, Wedge SR (2002) ZD1839 ('Iressa'), a specific oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, potentiates radiotherapy in a human colorectal cancer xenograft model. *Br J Cancer* 86: 1157-61
54. Bozec A, Fischel JL, Milano G (2006) Epidermal growth factor receptor/angiogenesis dual targeting: preclinical experience. *Curr Opin Oncol* 18: 330-4
55. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, *et al.* (2006) Radiotherapy plus cetuximab for squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med* 354: 567-78
56. Baselga J, Trigo JM, Bourhis J, *et al.* (2005) Phase II multicenter study of the anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody cetuximab in combination with platinum-based chemotherapy in patients with platinum-refractory metastatic and/or recurrent squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 23: 5568-77
57. Bourhis J, Rivera F, Mesia R, *et al.* (2006) Phase I/II study of cetuximab in combination with cisplatin or carboplatin and fluorouracil in patients with recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 24: 2866-72
58. Herbst RS, Arquette M, Shin DM, *et al.* (2005) Phase II multicenter study of the epidermal growth factor receptor antibody cetuximab and cisplatin for recurrent and refractory squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol* 23: 5578-87
59. Burtneß B, Goldwasser MA, Flood W, *et al.* (2005) Phase III randomized trial of cisplatin plus placebo compared with cisplatin plus cetuximab in metastatic/recurrent

- head and neck cancer: an Eastern Cooperative Oncology Group study. *J Clin Oncol* 23: 8646-54
60. Magne N, Fischel JL, Dubreuil A, *et al.* (2002) Influence of epidermal growth factor receptor (EGFR), p53 and intrinsic MAP kinase pathway status of tumour cells on the antiproliferative effect of ZD1839 («Iressa»). *Br J Cancer* 86: 1518-23
 61. Solbach C, Roller M, Ahr A, *et al.* (2002) Anti-epidermal growth factor receptor-antibody therapy for treatment of breast cancer. *Int J Cancer* 101: 390-4
 62. Moroni M, Veronese S, Benvenuti S, *et al.* (2005) Gene copy number for epidermal growth factor receptor (EGFR) and clinical response to antiEGFR treatment in colorectal cancer: a cohort study. *Lancet Oncol* 6: 279-86
 63. Penault-Llorca F, Bibeau F, Arnould L, *et al.* (2005) EGFR expression in colorectal cancer and role in tumorigenesis. *Bull Cancer* 92: S5-11
 64. Huang HS, Nagane M, Klingbeil CK, *et al.* (1997) The enhanced tumorigenic activity of a mutant epidermal growth factor receptor common in human cancers is mediated by threshold levels of constitutive tyrosine phosphorylation and unattenuated signaling. *J Biol Chem* 272: 2927-35
 65. Wikstrand CJ, McLendon RE, Friedman AH, Bigner DD (1997) Cell surface localization and density of the tumor-associated variant of the epidermal growth factor receptor, EGFRvIII. *Cancer Res* 57: 4130-40
 66. Sugawa N, Ekstrand AJ, James CD, Collins VP (1990) Identical splicing of aberrant epidermal growth factor receptor transcripts from amplified rearranged genes in human glioblastomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 8602-6
 67. Moscatello DK, Holgado-Madruga M, Godwin AK, *et al.* (1995) Frequent expression of a mutant epidermal growth factor receptor in multiple human tumors. *Cancer Res* 55: 5536-9
 68. Moscatello DK, Montgomery RB, Sundareshan P, *et al.* (1996) Transformational and altered signal transduction by a naturally occurring mutant EGF receptor. *Oncogene* 13: 85-96
 69. Nagane M, Coufal F, Lin H, *et al.* (1996) A common mutant epidermal growth factor receptor confers enhanced tumorigenicity on human glioblastoma cells by increasing proliferation and reducing apoptosis. *Cancer Res* 56: 5079-86
 70. Nishikawa R, Ji XD, Harmon RC, *et al.* (1994) A mutant epidermal growth factor receptor common in human glioma confers enhanced tumorigenicity. *Proc Natl Acad Sci SA* 91: 7727-31
 71. Wikstrand CJ, Hale LP, Batra SK, *et al.* (1995) Monoclonal antibodies against EGFRvIII are tumor specific and react with breast and lung carcinomas and malignant gliomas. *Cancer Res* 55: 3140-8
 72. Heimberger AB, Learn CA, Archer GE, *et al.* (2002) Brain tumors in mice are susceptible to blockade of epidermal growth factor receptor (EGFR) with the oral, specific, EGFR-tyrosine kinase inhibitor ZD1839 (iressa). *Clin Cancer Res* 8: 3496-502
 73. Mellinghoff IK, Wang MY, Vivanco I, *et al.* (2005) Molecular determinants of the response of glioblastomas to EGFR kinase inhibitors. *N Engl J Med* 353: 2012-24
 74. Mishima K, Johns TG, Luwor RB, *et al.* (2001) Growth suppression of intracranial xenografted glioblastomas overexpressing mutant epidermal growth factor receptors by systemic administration of monoclonal antibody (mAb) 806, a novel monoclonal antibody directed to the receptor. *Cancer Res* 61: 5349-54
 75. Paez JG, Janne PA, Lee JC, *et al.* (2004) EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* 304: 1497-1500
 76. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, *et al.* (2004) Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med* 350: 2129-39
 77. Marchetti A, Martella C, Felicioni L, *et al.* (2005) EGFR mutations in non-small-cell lung cancer: analysis of a large series of cases and development of a rapid and sensitive

- method for diagnostic screening with potential implications on pharmacologic treatment. *J Clin Oncol* 23: 857-65
78. Sakurada A, Shepherd FA, Tsao MS (2006) Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in lung cancer: impact of primary or secondary mutations. *Clin Lung Cancer* 7 (Suppl 4): S138-144
 79. Pao W, Miller VA, Politi KA, *et al.* (2005) Acquired resistance of lung adenocarcinomas to gefitinib or erlotinib is associated with a second mutation in the EGFR kinase domain. *PLoS Med* 2: e73
 80. Pao W, Miller VA (2005) Epidermal growth factor receptor mutations, small-molecule kinase inhibitors, and non-small-cell lung cancer: current knowledge and future directions. *J Clin Oncol* 23: 2556-68
 81. Pao W, Miller V, Zakowski M, *et al.* (2004) EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from «never smokers» and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. *Proc Natl Acad Sci USA* 101: 13306-11
 82. Janne PA, Engelman JA, Johnson BE (2005) Epidermal growth factor receptor mutations in non-small-cell lung cancer: implications for treatment and tumor biology. *J Clin Oncol* 23: 3227-34
 83. Han SW, Kim TY, Hwang PG, *et al.* (2005) Predictive and prognostic impact of epidermal growth factor receptor mutation in non-small-cell lung cancer patients treated with gefitinib. *J Clin Oncol* 23: 2493-501
 84. Mitsudomi T, Kosaka T, Endoh H, *et al.* (2005) Mutations of the epidermal growth factor receptor gene predict prolonged survival after gefitinib treatment in patients with non-small-cell lung cancer with postoperative recurrence. *J Clin Oncol* 23: 2513-20
 85. Mukohara T, Engelman JA, Hanna NH, *et al.* (2005) Differential effects of gefitinib and cetuximab on non-small-cell lung cancers bearing epidermal growth factor receptor mutations. *J Natl Cancer Inst* 97: 1185-94
 86. Chakravarti A, Loeffler JS, Dyson NJ (2002) Insulin-like growth factor receptor 1 mediates resistance to anti-epidermal growth factor receptor therapy in primary human glioblastoma cells through continued activation of phosphoinositide 3-kinase signaling. *Cancer Res* 62: 200-7
 87. Bianco R, Shin I, Ritter CA, *et al.* (2003) Loss of PTEN/MMAC1/TEP in EGF receptor-expressing tumor cells counteracts the antitumor action of EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Oncogene* 22: 2812-22
 88. Christensen JG, Schreck RE, Chan E, *et al.* (2001) High levels of HER-2 expression alter the ability of epidermal growth factor receptor (EGFR) family tyrosine kinase inhibitors to inhibit EGFR phosphorylation in vivo. *Clin Cancer Res* 7: 4230-8
 89. Lievre A, Bachet JB, Le Corre D, *et al.* (2006) KRAS mutation status is predictive of response to cetuximab therapy in colorectal cancer. *Cancer Res* 66: 3992-5
 90. Vilorio-Petit A, Crombet T, Jothy S, *et al.* (2001) Acquired resistance to the antitumor effect of epidermal growth factor receptor-blocking antibodies in vivo: a role for altered tumor angiogenesis. *Cancer Res* 61: 5090-101
 91. Bozec A, Formento P, Fischel JL, *et al.* (2006) Combined effect of EGFR targeting with antiangiogenesis and irradiation. In *Proc Am Assoc Cancer Res*, Poster 232
 92. McCarty MF, Wey J, Stoeltzing O, *et al.* (2004) ZD6474, a vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor with additional activity against epidermal growth factor receptor tyrosine kinase, inhibits orthotopic growth and angiogenesis of gastric cancer. *Mol Cancer Ther* 3: 1041-8
 93. Sano D, Kawakami M, Fujita K, *et al.* (2007) Antitumor effects of ZD6474 on head and neck squamous cell carcinoma. *Oncol Rep* 17: 289-295
 94. Gridelli C, Rossi A, Maione P (2006) New antiangiogenic agents and non-small cell lung cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 60: 76-86
 95. Heymach JV (2005) ZD6474--clinical experience to date. *Br J Cancer* 92 Suppl 1: S14-20
 96. Herbst RS, Johnson DH, Mininberg E, *et al.* (2005) Phase I/II trial evaluating the anti-vascular endothelial growth factor monoclonal antibody bevacizumab in combination

- with the HER-1/epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor erlotinib for patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 23: 2544-55
97. Motzer RJ, Bukowski RM (2006) Targeted therapy for metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 24: 5601-8
 98. Milano M, Guerin O (2006) Recent advances in targeted therapies for colorectal cancer. *J Oncol Pharm Pract* 12: 69-73
 99. Mauer AM, Cohen EE, Wong SJ, *et al.* (2004) Phase I study of epidermal growth factor receptor (EGFR) inhibitor, erlotinib, and vascular endothelial growth factor monoclonal antibody, bevacizumab, in recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN). In *Proc Am Assoc Clin Oncol*, Abst 5539
 100. Vokes EE, Cohen EE, Mauer AM, *et al.* (2005) A phase I study of erlotinib and bevacizumab for recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck (HNC). In *Proc Am Assoc Clin Oncol*, Abst 5504
 101. Bozec A, Lassalle S, Gugenheim J, *et al.* (2006) Enhanced tumour antiangiogenic effects when combining gefitinib with the antivascular agent ZD6126. *Br J Cancer* 95: 722-728
 102. Shi W, Siemann DW (2005) Targeting the tumor vasculature: enhancing antitumor efficacy through combination treatment with ZD6126 and ZD6474. *In Vivo* 19: 1045-50
 103. Heymach JV, Nilsson M, Blumenschein G, *et al.* (2006) Epidermal growth factor receptor inhibitors in development for the treatment of non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 12: 4441s-4445s
 104. Seiden MV, Burris HA, Matulonis U, *et al.* (2007) A phase II trial of EMD72000 (matuzumab), a humanized anti-EGFR monoclonal antibody, in patients with platinum-resistant ovarian and primary peritoneal malignancies. *Gynecol Oncol* 104 : 727-31
 105. Nelson MH, Dolder CR (2006) Lapatinib: a novel dual tyrosine kinase inhibitor with activity in solid tumors. *Ann Pharmacother* 40: 261-9
 106. Christensen JG, Vincent PW, Klohs WD, *et al.* (2005) Plasma vascular endothelial growth factor and interleukin-8 as biomarkers of antitumor efficacy of a prototypical erbB family tyrosine kinase inhibitor. *Mol Cancer Ther* 4: 938-47
 107. Gibson TB, Ranganathan A, Grothey A (2006) Randomized phase III trial results of panitumumab, a fully human anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody, in metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 6: 29-31
 108. Konecny GE, Pegram MD, Venkatesan N, *et al.* (2006) Activity of the dual kinase inhibitor lapatinib (GW572016) against HER-2-overexpressing and trastuzumab-treated breast cancer cells. *Cancer Res* 66: 1630-9
 109. Arteaga CL, Baselga J (2003) Clinical trial design and end points for epidermal growth factor receptor-targeted therapies: implications for drug development and practice. *Clin Cancer Res* 9: 1579-89
 110. Ranson M (2004) Epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors. *Br J Cancer* 90: 2250-5
 111. Ranson M, Hammond LA, Ferry D, *et al.* (2002) ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor-tyrosine kinase inhibitor, is well tolerated and active in patients with solid, malignant tumors: results of a phase I trial. *J Clin Oncol* 20: 2240-50
 112. Robert F, Ezekiel MP, Spencer SA, *et al.* (2001) Phase I study of anti-epidermal growth factor receptor antibody cetuximab in combination with radiation therapy in patients with advanced head and neck cancer. *J Clin Oncol* 19: 3234-43
 113. Saif MW, Cohenuram M (2006) Role of panitumumab in the management of metastatic colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 6(2): 118-24
 114. Baselga J, Rischin D, Ranson M, *et al.* (2002) Phase I safety, pharmacokinetic, and pharmacodynamic trial of ZD1839, a selective oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with five selected solid tumor types. *J Clin Oncol* 20: 4292-302
 115. Hamilton M, Wolf J, Rusk J, *et al.* (2006) Effects of smoking on the pharmacokinetics of erlotinib. *clin Cancer Res* 1: 2166-71

Imatinib et les nouveaux inhibiteurs de KIT et PDGFR

Les multiples emplois d'imatinib dans les tumeurs solides

F. Duffaud et A. Le Cesne

L'imatinib mésylate (STI-571) est un inhibiteur sélectif des tyrosines kinases KIT, *Platelet-Derived Growth Factor Receptors* (PDGFRs), BCR-ABL, ABL, c-FMS et ARG (1). L'imatinib est une petite molécule orale qui agit par inhibition compétitive avec le site de fixation de l'ATP dans la kinase, inhibant de ce fait l'activité de la kinase et bloquant l'activation des voies de la transduction du signal impliquées notamment dans la prolifération cellulaire et l'apoptose (2). Synthétisé en 1993, l'imatinib a d'abord été développé dans la leucémie myéloïde chronique (LMC), caractérisée par une translocation spécifique dont le gène de fusion BCR-ABL produit une protéine à activité tyrosine kinase responsable de cette leucémie. L'efficacité remarquable de l'imatinib dans toutes les phases de la LMC, constituant une véritable révolution dans le traitement de cette maladie, a rapidement fait envisager son utilisation dans d'autres tumeurs présentant une protéine à activité tyrosine-kinase anormalement exprimée. Cependant, les tyrosines kinases cibles d'imatinib peuvent être présentes dans les cellules tumorales dans deux situations différentes. Lorsque l'anomalie moléculaire causale intervient précocement ou de façon causale dans le processus d'oncogénèse (BCR-ABL pour les LMC par exemple), l'imatinib semble actif pour le traitement de ces affections où la kinase activée est au centre du processus de transformation. En revanche, l'efficacité d'imatinib est plus hypothétique si les kinases sont exprimées plus tardivement dans le processus de transformation (KIT dans les cancers du poumon à petites cellules par exemple). Par ailleurs, le caractère anti-angiogénique de l'imatinib *via* le PDGFR est également en exploration dans les sarcomes de Kaposi (3). Enfin, son rôle dans l'immunité antitumorale est une autre voie en cours d'exploration (4).

Imatinib et tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST)

Les tumeurs stromales gastro-intestinales, plus connues sous l'acronyme de GIST, sont des tumeurs mésenchymateuses du tractus digestif, éventuellement du mésentère et du péritoine (5). Cette entité a été profondément redéfinie à la lumière des progrès récents de la biologie moléculaire et de la génétique. Ces tumeurs expriment KIT (CD117 en immunohistochimie) presque constamment (95 %) et sont caractérisées sur le plan moléculaire par l'existence de mutations de l'un des deux gènes cibles ; *c-kit* (homologue cellulaire de *v-kit*, virus du sarcome félin) et *PDGFR α* (Duensing A). Ces gènes codent pour des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase de classe III, KIT et *PDGFR α* . Pour les GIST, l'activité oncogénique de KIT ou *PDGFR α* est associée à l'activation du récepteur indépendamment de la liaison au ligand, par le biais d'anomalies moléculaires (6). Ces anomalies correspondent, dans 85 % des cas, à des mutations activatrices dites « gain de fonction ». Les mutations de KIT et *PDGFR α* sont exclusives l'une de l'autre. Elles sont pratiquement constantes mais de nature variable. Elles concernent KIT dans environ 85 % des cas (7) ; essentiellement au niveau de l'exon 11 (66 %). Certaines intéressent l'exon 9 (13 %), plus rarement les exons 13 (1,2 %) et 17 (< 1 %). Les mutations concernent *PDGFR α* dans environ 7,6 % des cas. Enfin, environ 5 % des tumeurs (KIT *wild type*) ne comportent aucune anomalie moléculaire de KIT ou *PDGFR α* (8). Les GIST sont des tumeurs rares. Leur incidence représente environ un sixième à un tiers de l'ensemble des sarcomes des tissus mous (9). Les études épidémiologiques récentes rapportent des taux d'incidence entre 11 et 14,5 cas par million d'habitants et par an (10-12), ce qui représenterait environ 600 à 900 nouveaux cas de GISTs par an en France. Les GIST surviennent entre 40 et 80 ans avec une discrète prédominance chez les hommes. Leur répartition géographique est décroissante de l'estomac au rectum (13). La localisation gastrique est très nettement prédominante (60-70 %), suivie par l'intestin grêle (20-30 %) et le rectum (5 %).

Le traitement des GIST primitives localisées reste une chirurgie, sans effraction tumorale, avec des marges saines de sécurité, sans curage lymphatique systématique (14). Dès que la chirurgie est macroscopiquement incomplète, la survie globale à 5 ans chute à moins de 10 % (15, 16). Avant l'ère de l'imatinib, le pronostic des GISTs métastatiques était très sombre (moins de 20 % de survivants à 1 an), car ces tumeurs sont extrêmement chimio- et radiorésistantes, avec moins de 10 % de réponses objectives rapportées avec des protocoles de chimiothérapies comportant des antracyclines (17).

Les résultats d'études précliniques *in vitro* ont suggéré que l'exploitation pharmacologique de la signature moléculaire d'une GIST (KIT dérégulée) pourrait représenter une option thérapeutique viable pour les patients. Ces études avec l'imatinib sur les lignées cellulaires malignes exprimant KIT ont eu des résultats notables tant pour les réponses antiprolifératives et proapoptotiques

que pour la diminution de la phosphorylation de la tyrosine de KIT (18). À partir de ces solides données précliniques, de la conception rationnelle de la molécule, et connaissant l'importance clinique de la phosphorylation de KIT dans les anomalies biologiques des GIST, la première application clinique de l'imatinib, s'est soldée par une réponse spectaculaire, chez une patiente finlandaise ayant une GIST c-kit+ métastatique déjà lourdement prétraitée (19). Fort de cette observation, une étude de phase I en 2001, coordonnée par l'EORTC (20), a inclus 40 patients, en quatre mois. Les patients recevaient des doses d'imatinib de 400 à 1 000 mg/j. La dose maximale tolérée ayant été atteinte au dernier palier de dose, chez 5 patients sur 8, 16 patients ont reçu la dose maximale conseillée de 800 mg/j fractionnée en deux prises, matin et soir. Trente-six patients présentaient une véritable GIST (c-kit+) alors que 4 tumeurs développées à partir du tractus digestif étaient c-kit négatif (non-GIST). Trente patients présentaient des métastases hépatiques au moment de leur inclusion dans l'étude. Seuls quatre patients ont vu leur tumeur évoluer, soit 10 % des patients inclus dans cette étude, 90 % des patients obtenaient un contrôle de leur tumeur (RP+RC+MS) et 63 % des patients présentaient une réponse objective (RP + RC). Aucun bénéfice clinique n'a été observé chez les 4 patients n'exprimant pas le c-kit. Ces résultats enthousiasmants ont conduit à la réalisation de deux études de phase II. L'une américano-finlandaise (21) a randomisé 147 patients présentant une GIST localement avancée inopérable et/ou métastatique avec deux doses d'imatinib (400 et 600 mg/j), l'autre étude, européenne, coordonnée par l'EORTC (22) administrait l'imatinib à la dose de 800 mg/j (dose maximale conseillée à la suite de l'étude de phase I). Outre l'inclusion des GIST (27 patients/51), cette étude posait la question de l'intérêt éventuel de l'imatinib dans les sarcomes des tissus mous avancés non GIST. Aucune réponse objective n'a été observée dans ce dernier groupe, alors que l'efficacité du Glivec® dans les GIST était une nouvelle fois confirmée (71 % de réponses objectives [RP + RC] et 89 % de contrôle tumoral [RP + RC + MS]). L'efficacité remarquable de l'imatinib dans les GIST retrouvée dans l'étude de phase I a été confirmée respectivement dans chacune des deux études de phases II (21, 22). En effet, la plupart des patients bénéficient du traitement par imatinib, puisqu'environ 85 % d'entre eux présentent un contrôle de leur tumeur (RP + RC + MS) et que seuls 10 à 15 % des patients voient leur tumeur évoluer sous traitement (résistance primaire à l'imatinib). La médiane de survie sans progression est de 20 à 24 mois et la survie globale médiane dépasse 36 mois. Cependant, l'imatinib entraîne exceptionnellement des réponses cliniques complètes (1 à 4 %). Le suivi à long terme (médiane de *follow up* de 52 mois) de l'étude américano-finlandaise qui vient d'être récemment publié en 2006 (25) rapporte un temps médian de réponse de 13 semaines, une durée médiane de réponse de 118 semaines, un temps médian de progression de 84 semaines et une survie globale médiane des patients sous Glivec® de 4,8 ans. De plus de façon intéressante, les patients qui présentent une maladie stabilisée (MS) ont une survie globale superposable à celle des patients qui présentent une réponse objective au Glivec®.

Depuis, les deux études de phase III (23, 24), comparant deux doses d'imatinib (400 et 800 mg/j), et incluant respectivement 946 patients dans l'étude européenne et 746 patients dans l'étude américaine, ont confirmé les excellents résultats des études de phase I et II, sans effet dose retrouvé, avec seulement 10 % de progression primaire et un temps médian jusqu'à la re-progression d'environ 24 mois. L'efficacité de l'imatinib dans les GIST confirme à la fois son activité en tant que traitement et le rôle de sa cible en tant que voie clé de ce cancer.

Tolérance de l'imatinib

Sur le plan de la tolérance, l'imatinib n'a rien à voir avec une chimiothérapie. Les effets secondaires sont modérés le plus souvent, jusqu'à des doses quotidiennes de 800 mg/j. Les toxicités de grade 3-4 ne concernent que 5 % environ des patients. Les effets secondaires les plus fréquents sont des œdèmes (74 %) surtout péri-orbitaires (47,6 %), des nausées (52,4 %, surtout lors de l'ingestion du médicament), des diarrhées (45 %), des crampes musculaires (39,5 %), une asthénie (34,7 %), des rash cutanés (30,6 %), des céphalées (26 %), des douleurs abdominales (26 %) des flatulences (22 %) (20, 21). En revanche, beaucoup plus rarement (< 1 %), des hémorragies digestives sont survenues après le début du traitement, secondaires à la lyse tumorale rapide de lésions volumineuses, pouvant menacer le pronostic vital. Ainsi, avant de commencer le traitement, une concertation avec les chirurgiens est nécessaire pour évaluer le risque d'hémorragie d'une volumineuse lésion et prévoir une exérèse à froid plutôt qu'en situation d'urgence lors d'une hémorragie aiguë et massive (15). Au niveau biologique, outre l'anémie (d'étiologie multifactorielle), une perturbation du bilan biologique hépatique peut être observée (20-22). La dose actuellement recommandée dans le traitement de première intention des GIST non résécables et/ou métastatique est de 400 mg/j, puis d'augmenter celle-ci à 800 mg/j en cas de progression. Dans la mesure où il n'est quasiment pas observé de réponse complète, il semble logique de poursuivre le traitement au long cours. Il n'existe aucune donnée permettant de recommander l'arrêt du traitement par imatinib après son instauration pour traitement de GIST avancée. Celui-ci doit être donné jusqu'à progression, intolérance ou refus du patient (15).

Facteurs prédictifs de réponse – de résistance

Dix à quinze pour cent des patients présentent une résistance primaire au Glivec®. Le statut mutationnel du gène KIT semble être l'un des mécanismes sous-tendant cette résistance. Rappelons que 88 % des GIST présentent une mutation de KIT, la plus fréquente étant une délétion dans l'exon 11. L'étude américanofinlandaise était couplée à une analyse biomoléculaire du gène KIT ; parmi les 127 patients, ceux ayant une mutation de l'exon 11 ont un taux de réponse de 83,5 %,

significativement plus important que celui des patients avec une mutation de l'exon 9 (48 %) ou sans mutation de KIT ou PDGFR α (0 %) (26,27). Ces données se traduisent également par des différences en termes de survie sans événement et de survie globale. Les analyses mutationnelles de l'étude européenne confirment ces données : 83 % de réponses pour les patients avec une anomalie de l'exon 11 contre 23 % pour l'ensemble des autres mutations (28). Dans l'étude de phase III américaine comparant les deux doses d'imatinib (400 mg/j *versus* 800 mg/j), une étude mutationnelle a été faite chez 384 patients. Les patients avec une mutation de l'exon 11 de KIT ont un meilleur taux de réponse (67 %) que ceux avec une mutation de l'exon 9 (40 %) ou que ceux sans mutation de KIT (39 % ; $p = 0,0022$) (27). Ces différences se traduisent également en durée de réponse avec 576, 306 et 251 jours respectivement.

Développement de résistances secondaires

La durée médiane de réponse à l'imatinib est de 24 mois environ du fait de l'apparition de résistances secondaires (nouvelle progression après réponse initiale). On sait maintenant qu'il existe environ 20 % de résistances secondaires par an (24). Les mécanismes de développement de cette résistance ont été étudiés. Le plus pertinent et le plus définitif est probablement l'acquisition de nouvelles mutations du gène KIT (29). Cependant, d'autres mécanismes ont été décrits comme une amplification des gènes KIT et PDGFR α (30) mais il existe malgré tout des résistances secondaires sans détection de nouvelles mutations. Il a été décrit, en particulier, une augmentation de la clairance de l'imatinib avec le temps (au-delà de 12 mois) (31). Le déterminant n'est pas clair mais peut expliquer l'atténuation des effets secondaires dans le temps et la certaine efficacité de l'augmentation des doses d'imatinib lors de l'échappement de la tumeur. Avec maintenant un peu plus de six ans de recul, du traitement des GIST métastatiques par imatinib, il apparaît que le meilleur traitement d'une progression sous imatinib, reste en février 2007, de doubler la dose de ce médicament et que le traitement par imatinib ne doit jamais être interrompu, même en cas de réponse complète, et probablement même en cas de progression.

Place de la chirurgie chez les patients traités pour une GIST avancée

Les résultats spectaculaires de l'imatinib ont changé notre façon d'appréhender la chirurgie des GIST et, aujourd'hui il n'est pas établi qu'il soit utile d'opérer les patients avec une GIST avancée et/ou métastatique en cas de réponse à l'imatinib, qui rendrait les patients opérables.

Actuellement, il n'y a pas de consensus sur l'attitude thérapeutique à adopter sur ces lésions solides résiduelles (hépatiques et péritonéales) et le bénéfice du

geste chirurgical reste à évaluer par un essai prospectif (14). De fait, la chirurgie ne dispense pas de la poursuite de l'imatinib puisque 60 % des patients opérés qui l'avaient arrêté ont progressé à six mois contre 0 % en cas de reprise (32, 33). Il s'agit en outre d'une situation rare car seulement 10 à 20 % des patients deviennent potentiellement accessibles à cette chirurgie d'exérèse secondaire selon les séries (14, 34).

La possibilité de la mise en rémission complète de patients devenus opérables se discute lors de la réponse maximale, compte tenu de l'apparition de résistances secondaires et de la grande rareté des réponses complètes. Des études sur 126 et 51 patients initialement non résecables ont montré après traitement un taux de résecabilité de 10 à 20 % (34, 35). Dans la quasi-totalité des cas, la chirurgie réalisée est R0. Il s'agit de l'exérèse de métastases hépatiques ou de nodules de sarcomatose péritonéale. Une autre indication concerne les patients ayant une progression localisée liée à l'apparition d'un clone résistant au sein d'une masse tumorale (36). La lésion dans laquelle se développe ce nodule dans la masse peut être accessible à une chirurgie ou même à une radiofréquence (37). Enfin, la troisième indication est la prévention des complications attendues. Certaines complications de l'imatinib comme des hémorragies, ou des perforations sur nécrose sont à craindre chez des patients ayant de volumineuses masses tumorales. Lors de la complication, une chirurgie en urgence est alors nécessaire et elle n'est pas dénuée de morbidité. Il est donc préférable d'opérer rapidement de façon programmée des patients qui développent de grosses masses nécrotiques susceptibles de se rompre (14).

L'imatinib en situation adjuvante

Devant la très nette efficacité de l'imatinib en situation métastatique, des essais multicentriques de phase II et III sont actuellement en cours pour le tester en situation adjuvante. Une première étude américaine de phase II en situation adjuvante a débuté (ACOSOG Z9000). Elle prévoit d'inclure des patients avec une résection macroscopiquement complète d'une tumeur exprimant c-kit. Seuls sont inclus des patients à haut risque de récurrence, c'est-à-dire en cas de tumeur supérieure à 10 cm, de rupture tumorale, ou de présence de 1 à 4 métastases péritonéales. Tous les patients reçoivent de l'imatinib à la dose de 400 mg/j pendant un an. Le recul de cette étude est encore insuffisant pour déterminer un impact de l'imatinib sur la rechute des GIST à haut risque. L'étude de phase III randomisant imatinib 400 mg/j 1 an *vs* placebo a fait l'objet d'une présentation de résultats préliminaires lors de l'ASCO 2007. Les patients porteurs de GIST de plus de 3 cm, sans plus de sélection sur l'index mitotique ni la localisation de la lésion primaire étaient inclusibles.

L'étude est positive pour le critère de jugement principal, la survie sans rechute, avec un hazard ratio de 0.35, mais sans impact sur la survie globale. L'analyse en sous groupe ne retrouve de bénéfice en survie sans rechute que pour le groupe avec tumeur > 6 cm. L'analyse est préliminaire et les courbes de rechute des patients du

bras traitement pourraient rejoindre la courbe du bras placebo. Les recommandations de pratiques de l'ESMO pour les GIST (sous presse 2008) ne recommandent donc pas (encore ?) l'administration d'imatinib en adjuvant en l'attente d'autres études (EORTC 62024, SSGXVIII/AIO) et d'un suivi plus prolongé. L'étude européenne multicentrique de phase III (EORTC 62024) est également en cours et vise à inclure 500 patients, dont 750 patients sont déjà inclus en décembre 2007. Les patients inclus devront avoir eu une résection macroscopiquement complète avec un diagnostic prouvé de GIST c-kit+. Les critères d'inclusion sont différents de ceux de l'étude américaine. Cette étude s'adresse à des patients à risque intermédiaire ou élevé de rechute. Les patients sont randomisés entre surveillance ou imatinib à la dose de 400 mg/j pendant deux ans. L'objectif principal de l'étude est la survie globale. On dispose de données pour l'étude américaine en faveur d'un traitement adjuvant particulièrement pour les tumeurs de plus de 10 cm. Enfin, le *Scandinavian Sarcoma Group* mène une étude de phase III randomisée, chez les patients à haut risque et très haut risque de récurrence, évaluant l'efficacité d'un traitement par imatinib pendant 12 ou 36 mois. L'étude prévoit d'inclure 240 patients. Tant que les résultats de l'ensemble de ces études randomisées ne sont pas connus, un traitement par imatinib en situation adjuvante n'est pas recommandé en Europe (recommandations ESMO 2008 [sous-press]). Le traitement de référence des GIST localisées non métastatiques reste la chirurgie mais pourrait évoluer très prochainement vers l'utilisation d'imatinib adjuvant dans des groupes sélectionnés.

Au total, l'apport d'une thérapeutique moléculaire ciblée et efficace sur une anomalie moléculaire causale identifiée est clairement démontré dans les GIST.

Prévalence de l'expression tumorale de c-kit, PDGFR dans d'autres tumeurs solides

L'expression de c-kit dans les autres tumeurs solides est d'un intérêt capital devant l'efficacité spectaculaire d'imatinib dans les LMC et les GIST.

Une équipe (38) a donc analysé sur plus de 3 000 tumeurs provenant de 120 types histologiques différents, l'expression immunohistochimique de c-kit mais aussi la fréquence et le type de mutation de KIT (exons 2, 8, 9, 11, 13 et 17). Tous les GISTs, 42 des 50 séminomes (84%), et 34 des 52 carcinomes adénoïdes kystiques (65%), 14 des 39 mélanomes (35%) et 8 des 47 carcinomes neuroendocrines à grandes cellules (17%) avaient une positivité de c-kit en immunohistochimie. Seulement une mutation de c-kit a été observée dans un mélanome sur l'ensemble des échantillons alors que six des 12 GISTs possédaient une mutation. Pour les tumeurs germinales, une autre étude (39) portant sur 108 échantillons tumoraux avait *a contrario* retrouvé 1% de mutation sur l'exon 11 et 20% sur l'exon 17 de KIT. Sihto *et al.* (40) ont, quant à eux, analysé les mutations de KIT (exons 9, 11, 13 et 17) et de PDGFR α (exons 11 et 17)

sur 334 échantillons tumoraux. Là encore, malgré l'expression très fréquente de la protéine c-kit, en immunohistochimie, les mutations de KIT et PDGFR α étaient absentes sur l'ensemble des tumeurs. Toutefois, les données récentes suggèrent que la réponse à l'imatinib, dans les GIST, ne dépendrait pas de l'expression immunohistochimique de c-kit mais plutôt de la présence ou non du type de mutation de c-kit.

Ainsi, la faible prévalence de tumeurs exprimant c-kit muté suggère probablement qu'une faible proportion de patients pourrait bénéficier d'un traitement par imatinib. Cependant, la protéine c-kit n'est pas la seule cible de l'imatinib. À l'image de la LMC (cible bcr-abl), d'autres tumeurs pourraient être tout de même candidates à un traitement par imatinib.

Imatinib et autres sarcomes des tissus mous

La première étude se posant la question de l'intérêt éventuel de l'imatinib dans d'autres tumeurs que les GIST est l'une des deux études de phase II déjà mentionnées précédemment (25). Parmi les patients atteints de sarcomes des tissus mous avancés/métastatiques (24 patients sur 51 inclus), déjà prétraités, sans ciblage de KIT ou de PDGFR, recevant de l'imatinib à la dose de 800 mg/j, aucune réponse objective n'a été obtenue et seulement 30 % de stabilisation ont été observées. Apperley *et al.* (41) avaient rapporté seulement deux réponses objectives dans des synoviosarcomes. Il semble donc, qu'en monothérapie, l'imatinib ne soit pas un traitement efficace pour les sarcomes des tissus mous exprimant ou non c-kit en dehors des GIST. Contrairement aux sarcomes des tissus mous, certaines tumeurs pourraient être susceptibles de posséder une cible tumorale adaptée à l'imatinib.

Fibromatose agressive/tumeur desmoïde

Mace *et al.* (42) en 2002 ont été les premiers à rapporter une activité clinique de l'imatinib dans la fibromatose agressive, avec des réponses tumorales objectives cliniques et radiographiques observées chez deux patients porteurs de fibromatose agressive extra-abdominale, traités à la dose de 800 mg/j. Plus récemment, Heinrich *et al.* (43) ont eux aussi constaté une activité clinique de l'imatinib à la dose de 800 mg/j chez des patients porteurs de tumeurs desmoïdes évolutives, rapportant trois réponses objectives chez 19 patients (15,7 %) et quatre stabilisations (21 %) d'une durée supérieure à douze mois, permettant ainsi un taux de contrôle de la maladie à 1 an de 36,8 % (7 sur 19 patients). Contrairement à Mace *et al.*, les réponses objectives rapportées par Heinrich *et al.* concernaient seulement des patients porteurs de fibromatose abdominale (3 des 12 patients porteurs de fibromatose abdominale ; 25 %). Le temps médian jusqu'à progression pour les 19 patients était de 325 jours. Une analyse moléculaire associée n'a,

en revanche, pas retrouvé de mutation des gènes KIT, PDGFR α et PDGFR β . Toutefois, 16 des 19 patients (84 %) présentaient une mutation du gène APC, sans qu'il y ait de corrélation avec la réponse au traitement. Ces résultats intéressants ont été confirmés par ceux de deux études de phase II rapportées au congrès de l'ASCO en 2006. L'étude américaine du SARC (44) étudiait l'efficacité de l'imatinib à la dose de 600 mg/j Chez des patients porteurs d'une fibromatose agressive évolutive. Trente-six patients (80 %) obtenaient une réponse objective à 2 mois et/ou une maladie stabilisée à 4 mois, avec un temps médian jusqu'à progression de 6,8 mois (95 % CI 5,8-17,1). L'étude menée par le Groupe Sarcome Français rapporte (45), après 12 semaines de traitement à la dose de 400 mg/j, un taux de non-progression (MS + RC + RP) à 3 mois de 94,4 % (33 patients sur 40 patients inclus), avec un taux de survie sans progression à 1 an de 69,4 % (95 % CI 53,2-85,6 %). Les résultats de ces deux études confirment l'activité clinique de l'imatinib dans les fibromatoses agressives évolutives même si actuellement le mécanisme d'action de celui-ci reste peu clair dans cette pathologie.

Dermatofibrosarcome protuberans

La tumeur fibrohistiocytaire de Darrier Ferrand (dermatofibrosarcome protuberans – DFSP) est une tumeur à cellules fusiformes de malignité intermédiaire caractérisée par une évolution lente, une malignité locale avec un risque de récurrence important en cas d'exérèse insuffisante (13 à 60 %). Les DFSP transformés en fibrosarcome de haut grade sont rares mais beaucoup plus agressifs, avec des risques de métastases à distance. Dans les DFSP, une anomalie génétique caractéristique par translocation des chromosomes 17q22 et 22q13 [(t17;22)(q22;-q13)] est présente dans plus de 90 % des cas. Elle aboutit à la fusion des gènes COL1A1 (promoteur du Collagène 1A1) et PDGFR β et à l'expression d'une protéine qui interagit avec le récepteur au PDGF β (PDGFR). Ce produit du gène de fusion *COL1A1:PDGFB* aurait un rôle clé dans la pathogenèse de cette maladie, entraînant une stimulation autocrine du récepteur de PDGF β (45). L'effet thérapeutique potentiel du blocage de ce stimulus prolifératif est conforté par les expériences *in vitro* et *in vivo* utilisant des fibroblastes transfectés avec le gène de fusion COL1A1/PDGFR β . Le traitement de référence des formes localisées de DFSP repose sur une exérèse chirurgicale large, celle-ci devenant de plus en plus mutilante au fur et à mesure des récurrences. La chimiothérapie utilisée exceptionnellement en situation métastatique semble d'aucune aide dans le contrôle tumoral. L'activité de l'imatinib, inhibiteur *in vitro* et *in vivo* de l'activité tyrosine kinase de PDGFR α était testée dès 2002 dans les DFSP métastatiques. L'imatinib a montré des réponses cliniques objectives chez plusieurs patients métastatiques (47-50). Une série de 10 patients traités par imatinib à la dose de 800 mg/j pour un DFSP, dont 8 pour un DFSP localement avancé et 2 pour un DFSP métastatique, a été secondairement rapportée avec des résultats très encourageants (51) ; les 8 patients avec une maladie localement avancée étaient mis en rémission complète, soit après une réponse objective complète sous imatinib (4/8 patients), soit après une réponse

objective permettant secondairement une résection chirurgicale complète (4/8 patients). Tous avaient une translocation t (17;22). Les auteurs ont corrélé la réponse clinique à l'IM, en fonction des différentes anomalies cytogénétiques. Seul le patient, porteur d'une maladie métastatique, dont la translocation t (17;22) était manquante n'a pas répondu au traitement.

Ces résultats encourageants ont suggéré la possibilité d'utiliser l'imatinib en cas de DFSP localement avancé, pour lesquels seule une chirurgie radicale sur le plan fonctionnel permettrait un contrôle tumoral, avec pour objectif d'obtenir une réponse clinique objective maximale avant la chirurgie. Un essai français de phase IIA (52) de traitement néoadjuvant par Glivec®, à la dose de 600 mg/j, dans les DFSP (DFSP primitif ou en rechute > 2 cm) démarré en juin 2004 s'est terminé en octobre 2006 après l'inclusion de 24 patients. Les premiers résultats, sur 6 patients, rapportent une réponse partielle chez 3 des 6 patients après deux mois de traitement. La translocation t (17;22) est détectée dans toutes les lésions. Les résultats définitifs sont en attente. De plus, un essai européen mené par le Soft Tissue and Bone Sarcoma Group de l'EORTC (étude 62027) est également ouvert depuis 2005 pour évaluer l'efficacité de l'imatinib, à la dose de 800 mg/j, dans les DFSP localement avancés en situation néoadjuvante.

Sarcome de Kaposi (KS)

À la fois, *in vitro* et *in vivo*, des études ont suggéré que la pathogenèse du sarcome de Kaposi impliquerait la voie de l'angiogenèse *via* le PDGF. En effet, les cellules du sarcome de Kaposi expriment les récepteurs de PDGRF α et β en immunohistochimie et en hybridation *in situ* fluorescente (FISH) (53). Les données actuelles suggèrent que le PDGFR est impliqué dans deux voies critiques du développement du sarcome de Kaposi : induction de la croissance des cellules fusiformes du KS (activité mitogène) et induction de l'angiogenèse *via* le VEGF (53, 54). Koon *et al.* (3) ont testé l'efficacité de l'imatinib à la dose de 600 mg/J Chez dix patients immunodéprimés (VIH+) atteints d'un sarcome de Kaposi évolutif malgré un traitement antirétroviral efficace et/ou une chimiothérapie. Après quatre semaines de traitement, cinq des dix patients ont présenté une réponse clinique partielle. De plus, l'analyse immunohistochimique des biopsies pré- et post-thérapeutiques de quatre patients a observé une diminution post-thérapeutique du marquage immunohistochimique de PDGFR. En revanche, chez six patients la dose d'IM a dû être réduite en raison de diarrhée. Ces résultats enthousiasmants pourraient représenter dans le futur une stratégie intéressante dans le traitement du sarcome de Kaposi.

Glioblastome multiforme

Le glioblastome multiforme exprime à la fois PDGF et PDGFRs. Des données récentes (55) suggèrent une activation autocrine des récepteurs de PDGF α

et β , responsable d'une activité mitogène importante et de l'activation de l'angiogenèse tumorale. L'imatinib, inhibiteur de KIT et PDGFR a été testé en monothérapie dans le glioblastome récidivant, avec un bénéfice thérapeutique bien modeste (56). En revanche, une association d'imatinib et hydroxyurée semble montrer une action prometteuse et une bonne tolérance chez 51 patients en bon état général, atteints de glioblastome réfractaire à l'irradiation et à une chimiothérapie par témozolomide (57). Cinquante et un patients étaient inclus dans une étude pilote, parmi eux 19 étaient traités par imatinib à la dose de 600 mg/j jusqu'à progression tumorale (groupe A, 70 cycles) et 32 recevaient 800 mg/j (groupe B, 113 cycles). Des réponses partielles ont été confirmées chez 3 patients respectivement après 3, 6 et 7 mois de traitement (2 patients dans le groupe A et 1 dans le groupe B) ; avec une durée de réponse respectivement de 10, 10 et > 12 mois. De plus, des stabilisations prolongées de la maladie (> 6 mois) ont été observées chez 5 patients (1 dans le groupe A et 4 dans le groupe B). Ainsi, l'imatinib semble bien toléré et efficace lorsqu'il est associé à de l'hydroxycarbamide, avec une activité antitumorale durable chez certains patients présentant une maladie récidivante (57, 58). Cette activité antitumorale durable de l'imatinib est la première rapportée dans le glioblastome en association avec une chimiothérapie. Ces résultats prometteurs doivent, bien entendu, être confirmés par une étude multicentrique avec des effectifs plus importants, associée à une évaluation des facteurs pronostiques issus de la biologie moléculaire. Un essai de phase III comparant l'hydroxyurée avec ou sans imatinib chez les patients résistant au témozolomide est en cours.

Cancer de la prostate

L'atteinte osseuse étant la première cause de morbidité des cancers de la prostate, une approche antitumorale, agissant directement sur l'os, pourrait possiblement infléchir l'histoire naturelle de cette maladie. En effet, des données existent pour penser que le PDGFR pourrait être impliqué dans la progression osseuse. Le PDGFR est surexprimé au niveau des métastases osseuses de cancer de la prostate (> de 80 % des cas) ainsi qu'au niveau de la tumeur prostatique au stade initial de la maladie mais aussi lors des néoplasies intraépithéliales prostatiques, suggérant son rôle précoce dans la tumorigenèse prostatique (59). À partir d'un modèle humain de cancer de la prostate à fort potentiel métastatique osseux greffé sur souris *nude*, l'association taxane + imatinib mesylate a une meilleure efficacité que chacun des agents utilisés séparément (60). Une étude de phase I (61) a été effectuée chez 28 patients ayant un cancer de la prostate hormonorésistant, examinant la faisabilité de la combinaison d'imatinib et du docétaxel hebdomadaire. La dose maximale tolérable est de 600 mg/j d'imatinib associé à 30 mg/m² hebdomadaire de docétaxel, quatre semaines sur six. L'imatinib n'a pas d'activité biologique en monothérapie. L'association permet d'obtenir 38 % de réponse biologique (PSA \geq 50 %) pendant une durée

médiane de cinq mois. Les toxicités rencontrées sont principalement l'asthénie et les nausées. Une étude de phase II randomisée est en cours chez des patients atteints de métastases osseuses hormonorésistantes non prétraitées par les taxanes et compare docétaxel + imatinib *versus* docétaxel + placebo.

Carcinome adénoïde kystique des glandes salivaires

Le carcinome adénoïde kystique concerne 22% des tumeurs des glandes salivaires, elles-mêmes représentant seulement 7% des tumeurs de la tête et du cou. Le traitement des tumeurs primitives localisées repose sur la chirurgie, suivie de radiothérapie lorsque le risque de récurrence locale est important. En situation métastatique, les taux de réponse à une chimiothérapie conventionnelle sont généralement modestes, de l'ordre de 15 à 30% avec une durée de réponse aux alentours de six à neuf mois (62). Compte tenu du nombre important de carcinomes adénoïdes kystiques surexprimant le récepteur c-kit (63) et en l'absence de traitement de référence au stade métastatique, deux études de phase II ont démarré avec des résultats discordants. Aucune réponse objective chez quinze patients et neuf autres avec une maladie stable pour l'étude américaine (64) alors qu'il a été observé une réponse partielle et trois stabilités chez huit patients traités par imatinib à la dose de 800 mg/j (65). Actuellement, aucune conclusion ne peut être faite, les résultats de l'étude multicentrique menée par l'Institut Gustave Roussy à Villejuif sont attendus.

Synovite villonodulaire pigmentée ou tumeur à cellules géantes des parties molles

Il s'agit d'une tumeur rare à agressivité locale, mais parfois métastatique, des parties molles, associée à une translocation t(1,2) (col6A3-CSF1) qui produit un gène de fusion agissant selon un mode paracrine. Lorsqu'une résection n'est pas réalisable, les options médicales étaient limitées. Une étude vient de rapporter un cas clinique de réponse complète à imatinib, qui agit en bloquant la signalisation *via* CSF1R de la protéine mutée (66). Cette observation constitue la première observation d'une thérapie ciblée d'une tumeur dépendante de CSF1.

Déception globale des études de phase II en monothérapie dans d'autres tumeurs solides

L'imatinib a été évalué dans d'autres tumeurs solides en phase II avec des résultats très décevants pour les pathologies suivantes : le mélanome malin métastatique (67), le cancer du rein métastatique (68) et le cancer du poumon à petites cellules (69,70).

Conclusion

Depuis 2000, le traitement des GIST avancées par l'imatinib est devenu le modèle de thérapeutique ciblée sur des tumeurs solides, modifiant radicalement les stratégies de prise en charge des GIST. L'imatinib semble être particulièrement efficace pour le traitement des pathologies dans lesquelles la kinase est au centre du processus tumoral de tumorigenèse. Cependant, la mutation de KIT n'est pas la voie universelle de la tumorigenèse. Les échecs relatifs des traitements par imatinib des tumeurs c-kit + non-GIST montrent bien la complexité du cancer. La biologie moléculaire et la cytogénétique vont permettre une nouvelle taxonomie des tumeurs qui, couplée à la découverte de nouvelles molécules spécifiques, va très probablement permettre le traitement des tumeurs en fonction de leurs caractéristiques génétiques.

Références

1. Okuda K, Weisberg E, Gilliland DG, Griffin JD (2001) ARG tyrosine kinase activity is inhibited by STI571. *Blood* 97: 2440-8
2. Savage DG, Antman KH (2002) Imatinib mesylate: a new oral targeted therapy. *NEJM* 346: 683-93
3. Koon HB, Bubley GJ, Pantanowitz L, *et al.* (2005) Imatinib-induced regression of AIDS-related Kaposi's sarcoma. *J Clin Oncol* 23: 982-9
4. Zitvogel L, Ghiringhelli F, Terme M, *et al.* (2006) A novel mode of Antitumor Activity For Imatinib Mesylate: consequences for the design of surrogate markers of efficacy and combination therapies. Pro Annual Meeting Proceedings, Abstr 2516
5. Eisenberg BL (2003) Imatinib mesylate: a molecularly targeted therapy for gastrointestinal stromal tumors. *Oncology* 11: 1-6
6. Duensing A, Heinrich MC, Fletcher CD, Fletcher JA (2004) Biology of gastrointestinal stromal tumors: KIT mutations and beyond. *Cancer Invest* 22: 106-16
7. Corless CL, Fletcher CA, Heinrich MC (2005) Biology of gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 22: 3813-25
8. Medeiros F, Corless CL, Duensing A, *et al.* (2004) Kit-negative gastrointestinal stromal tumors: proof of concept and therapeutic implications. *Am J Surg Pathol* 28: 889-94
9. Joensuu H (2006) Current perspectives on the epidemiology of gastrointestinal stromal tumors. *Eur J Cancer* 4 (Supl. 1): s4-9
10. Tryggvason G, Gislason HG, Magnusson MK, Jonasson JG (2005) Gastrointestinal stromal tumors in Iceland, 1990-2003.: the Icelandic GIST study, a population based incidence and pathologic risk stratification study. *Int J Cancer* 117: 289-93
11. Goettsch WG, Bos SD, Breekveldt-Postma N, *et al.* (2005) Incidence of gastrointestinal stromal tumors is underestimated: results of a nation-wide study. *Eur J Cancer* 41: 2868-72
12. Nilsson B, Bümbling P, Meis-Kindblom JM, *et al.* (2005) Gastrointestinal stromal tumors: the incidence, prevalence, clinical course, and prognostication in the preimatinib mesylate era: a population-based study in western country. *Cancer* 103: 821-9
13. Miettinen M, Majidi M, Lasota J (2002) Pathology and diagnostic criteria of gastrointestinal stromal tumors (GISTs): review. *Eur J Cancer* 38: s39-51

14. Bonvalot S, Edweny H, Le Péchoux C, *et al.* (2006) Impact of surgery on advanced gastrointestinal stromal tumors (GIST) in the imatinib era. *Ann Surg Oncol* 1: 1596-603
15. Blay JY, Bonvalot S, Casali P, *et al.* (2005) Consensus meeting for the management of gastrointestinal stromal tumors. Report of the GIST Consensus Conference of 20-21 March 2004, under the auspices of ESMO. *Ann Oncol* 16: 566-78
16. Aparicio T, Boige V, Sabourin J.-C., *et al.* (2004). Prognostic factors after surgery of primary resectable gastrointestinal stromal tumours. *Eur J Surg Oncol* 30: 1098-103
17. DeMatteo RP, Heinrich MC, El-Rifai WM, *et al.* (2002) Clinical management of gastrointestinal stromal tumors: before and after the STI-571. *Human Pathol* 33: 455-77
18. Heinrich MC, GriffithDJ, Druker BJ, *et al.* (2000) Inhibition of c-kit receptor tyrosine kinase activity by STI 571, a selective tyrosine kinase inhibitor. *Blood* 96 : 925-32
19. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M, *et al.* (2001) Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 344: 1052-6
20. Van Oosterom A, Judson I, Verweij J, *et al.* (2001) Safety and efficacy of imatinib (STI571) in metastatic gastrointestinal stromal tumors: a phase I. *Lancet* 1421-3
21. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, *et al.* (2002) Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Medicine* 347: 472-80
22. Verweij J, van Oosterom A, Blay JY, *et al.* (2003) Imatinib mesylate (STI 571 Glivec®, Gleevec) is an active agent for gastrointestinal stromal tumors, but does not yield responses in other soft-tissue sarcomas that are unselected for a molecular target. Results from an EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group Phase II study. *Eur J Cancer* 39: 2006-11
23. Demetri G, Rankin C, Fletcher C, *et al.* (2002) Phase III dose-randomized study of imatinib mesylate (Gleevec, STI571) for GIST: intergroup S0033 early results. ASCO 2002 Annual Meeting Proceedings Abstr 1651
24. Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, *et al.* (2004) Progression free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 364: 1127-34
25. Blanke CD, Joensuu H, Demetri G, *et al.* (2006) Outcome of advanced gastrointestinal stromal tumors (GIST) patients treated with imatinib mesylate: four-year follow up of a phase II randomized trial. American Society for Clinical Oncology, Gastrointestinal Cancers Symposium. San Francisco; January 26-28. Abstract 7
26. Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, *et al.* (2003) Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 21: 4342-9
27. Heinrich MC, Shoemaker JS, Corless CL, *et al.* (2005) Correlation of target kinase genotype with clinical activity of imatinib mesylate (IM) in patients with metastatic GI stromal tumors expressing KIT (KIT+). *Proc Am Soc Clin Oncol* 23; Abstr 7
28. Debiec-Richter M, Dumez H, Judson I, *et al.* (2004) Use of c-KIT/PDGFRα mutational analysis to predict the clinical response to imatinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumours entered on phase I and II studies of the EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Eur J Cancer* 40: 689-95
29. Antonescu CR, Besner P, Guo T, *et al.* (2005) Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumors occurs through secondary mutations. *Clin Cancer Res* 11: 4182-90.
30. Debiec-Richter M, Cools J, Dumez H, *et al.* (2005) Mechanisms of resistance to imatinib mesylate in gastrointestinal stromal tumor and activity of PKC 412 inhibitor against imatinib-resistant mutant. *Gastroenterology* 128: 270-9
31. Judson I, Ma P, Peng B, *et al.* (2005) Imatinib pharmacokinetics in patients with gastrointestinal stromal tumors : a retrospective population pharmacokinetic study over time. EORTC Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *Cancer Chemother Pharmacol* 55: 379-86
32. Rutkowski P, Nowecki Z, Nychowski P, *et al.* (2005) Surgical treatment of patients (pts) with gastrointestinal stromal tumors (GIST) after imatinib mesylate (IM) therapy. *Proc Am Soc Clin Oncol* 23, Abstr 9037

33. Gronchi A, Fiore M, Bertulli R, *et al.* (2005) Surgery of residual disease following Imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors (GIST). *Proc Am Soc Oncol* 23, Abstr 9038
34. Scaife CL, Hunt KK, Patel SR, *et al.* (2003) Is there a role for surgery in patients with "unresectable" gastrointestinal stromal tumors treated with imatinib mesylate? *Am J Surg* 186: 665-9
35. Bauer S, Harman JT, de Wit M, *et al.* (2005) Resection of residual disease in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumors responding to treatment with imatinib. *Int J Cancer* 117: 316-25
36. Desai J, Shnakar S, Heinrich MC, *et al.* (2004) Clonal evolution of resistance to imatinib (IM) in patients (pts) with gastrointestinal stromal tumor (GIST): molecular and radiologic evaluation of new lesions. *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: Abstr 3010
37. Dileo P, Randhawa R, Vansonnenberg E, *et al.* (2004) Safety and efficacy of percutaneous radio-frequency ablation (RFA) in patients (pts) with metastatic gastrointestinal stromal tumor (GIST) with clonal evolution of lesions refractory to imatinib mesylate (IM). *Proc Am Soc Clin Oncol* 22, Abstr 9024
38. Went PT, Dirnhofer S, Bundi M, *et al.* (2004) Prevalence of kit expression in human tumors. *J Clin Oncol* 22: 4514-22
39. Kemmer K, Corless CL, Fletcher JA, *et al.* (2004) KIT mutations are common in testicular seminomas. *Am J Pathol* 164: 305-13
40. Sihto H, Sarlomo-Rikala M, Tynneninen O, *et al.* (2005) KIT and platelet-derived growth factor receptor alpha tyrosine kinase gene mutations and KIT amplification in human solid tumors. *J Clin Oncol* 23: 49-57
41. Apperley J (2002) A rationally designed, targeted tumor treatment approach: a phase II study of imatinib mesylate (Gleevec) in patients with life threatening diseases known to be associated with imatinib-sensitive tyrosine kinases. *ASCO Annual Meeting Proceedings* Abstr 7
42. Mace J, Sybil BJ, Sondak V, *et al.* (2002) Response of extrabdominal desmoid tumors to therapy with imatinib mesylate. *Cancer* 95: 2373-9
43. Heinrich MC, McArthur GA, Demetri GD, *et al.* (2006) Clinical and Molecular Studies of the Effect of Imatinib on Advanced Aggressive Fibromatosis (desmoid tumor) *J Clin Oncol* 7: 1195-02
44. Chugh R, Maki RG, Thomas DG, *et al.* (2006) A SARC phase II multicentric trial of imatinib mesylate (IM) in patients with aggressive fibromatosis. *Proc Am Soc Clin Oncol* 24 Abstr 9515
45. Penel N, Le Cesne A, Bui B, *et al.* (2006) Imatinib for the treatment of aggressive fibromatosis (desmoid tumors) failing local treatment. A phase II trial of the French Sarcoma Group. *Proc Am Soc Clin Oncol* 24 Abstr 9516
46. Simon MP, Pedeutour F, Sirvent N, *et al.* (1997) Deregulation of the platelet-derived growth factor B-chain via fusion with collagen gene COL1A1 in dermatofibrosarcoma protuberans and giant cell fibroblastoma. *Nat Genet* 15: 95-8
47. Rubin BP, Schuetze SM, Eary JF, *et al.* (2002) Molecular targeting of platelet-derived growth factor B by imatinib mesylate in a patient with metastatic dermatofibrosarcoma protuberans. *J Clin Oncol* 20: 3586-91
48. Maki RG, Awan RA, Dixon RH, *et al.* (2002) Differential sensitivity to imatinib of 2 patients with metastatic sarcoma arising from Dermatofibrosarcoma protuberans. *Int J Cancer* 100: 623-6
49. Labropoulos S, Papadopoulos S, Hadjiyissemi L, *et al.* (2003) Response of metastatic Dermatofibrosarcoma protuberans to imatinib mesylate. *Proc Am Soc Clin Oncol* 830: Abstr 3334
50. Mizutani K, Tamada Y, Hara K, *et al.* (2004) Imatinib mesylate inhibits the growth of metastatic lung lesions in a patient with Dermatofibrosarcoma protuberans. *Br J Dermatol* 151: 235-37

51. McArthur GA, Demetri GD, van Oosterom A, *et al.* (2005) Molecular and clinical analysis of locally advanced Dermatofibrosarcoma protuberans treated with imatinib: Imatinib Target Exploration Consortium Study B2225 *J Clin Oncol* 23: 866-73
52. Kerob D, Porcher R, Vérola O, *et al.* Essai de phase IIA de traitement néoadjuvant par Glivec® (imatinib mésylate) dans les dermatofibrosarcomes de Dairer-Ferrand. (2006) *Ann Dermatol Venerol* 133: 4S1-4S69
53. Sturzl M, Roth WK, Brockmeyer NH, *et al.* (1992) Expression of platelet derived growth factor and its receptor in AIDS-related Kaposi sarcoma in vivo suggests paracrine and autocrine mechanisms of tumor maintenance. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 7046-50
54. Cornali E, Zietz C, Benelli R, *et al.* (1996) Vascular endothelial growth factor regulates angiogenesis and vascular permeability in Kaposi sarcoma. *Am J Pathol* 149: 1851-69
55. Lokker NA, Sullivan CM, Hollenbach SJ, *et al.* (2002) Platelet-derived growth factor (PDGF) autocrine signaling regulates survival and mitogenic pathways in glioblastoma cells: evidence that the novel PDGF-C and PDGF-D ligands may play a role in the development of brain tumors. *Cancer Res* 62: 3729-35
56. Raymond E, Brandes A, van Oostrom A, *et al.* (2004) Multicentre Phase II study of imatinib mesylate in patients with recurrent glioblastoma : an EORTC NDDP/BTG intergroup study *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: Abstr 1501
57. Reardon DA, Egorin MJ, Quinn JA, *et al.* (2005) Phase II study of imatinib plus hydroxyurea in adults with recurrent glioblastoma multiforme. *J Clin Oncol* 23: 9359-68
58. Dresemann G (2005) Imatinib and hydroxyurea in pretreated progressive glioblastoma multiforme: a patient series. *Ann Oncol* 16: 1702-8
59. Ko YJ, Small EJ, Kabbiniavar F, *et al.* (2001) A multi-institutional phase II of SU101, a platelet-derived growth factor receptor inhibitor, for patients with hormone refractory prostate cancer. *Clin cancer Res* 7: 800-5
60. Uehara H, Kim SJ, Karashima T, *et al.* (2003) Effects of blocking platelet-derived growth factor-receptor signalling in a mouse model of experimental prostate cancer bone metastases. *J Natl Cancer Inst* 95: 458-70
61. Mathew P, Thall PF, Jones D, *et al.* (2004) Platelet-derived growth factor receptor inhibitor imatinib mesylate and docetaxel : a modular phase I trial in androgen-independent prostate cancer. *J Clin Oncol* 22: 3323-9
62. Airoldi M, Fornari G, Pedani F, *et al.* (2000) Paclitaxel and carboplatin for recurrent salivary gland malignancies. *Anticancer Res* 20: 3781-4
63. Freier K, Fletchtenmacher C, Walch A, *et al.* (2005) Differential KIT expression in histological subtypes of adenoid cystic carcinoma (ACC) of the salivary gland. *Oral Oncol* 23: 934-9
64. Hotte SJ, Winqvist EW, Lamont E, *et al.* (2005) Imatinib mesylate in patients with adenoid cystic cancers of the salivary glands expressing c-kit: a Princess Margaret Hospital phase II consortium study. *J Clin Oncol* 23: 585-90
65. Faivre S, Raymond E, Casiraghi O, *et al.* (2005) Imatinib mesylate can induce objective response in progressing, highly expressing KIT adenoid cystic carcinoma of the salivary glands *J Clin Oncol* 23: 6271-3
66. Blay JY, El Sayadi H, Thiesse P *et al.* (2002) complete response to imatinib in relapsing PVNS/JGCT. *An Oncol* (in presse)
67. Wyman K, Atkins MB, Pristo V, *et al.* (2006) Multicenter phase II trial of high-dose imatinib mesylate in metastatic melanoma: significant toxicity with no clinical activity. *Cancer* 106: 2005-11
68. Vuky J, Isacson C, Fotoohi M, *et al.* (2006) Phase II trial of imatinib (Gleevec) in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Invest New Drugs* 24: 85-8
69. Krug LM, Crapanzono JP, Azzoli CG (2005) Imatinib mesylate lacks activity in small cell lung carcinoma expressing c-KIT protein: a phase II clinical trial. *Cancer* 103: 2128-31
70. Dy GK, Miller AA, Mandrekar SJ, *et al.* (2005) A phase II trial of imatinib (STI571) in patients with c-KIT expressing relapsed small-cell lung cancer: a CALGB and NCCTG study. *Ann Oncol* 16: 1811-16

Les autres inhibiteurs tyrosine kinase de KIT ou de la voie AKT

I. Ray-Coquard, T. Bachelot, J.-P. Guastalla et J.-Y. Blay

Introduction

Les tumeurs stromales gastro-intestinales sont des tumeurs rares, pouvant se localiser à tous les étages du tractus digestif, et représentant 10 à 50 % des sarcomes des tissus mous. Elles représentent une entité nosologique particulière depuis la découverte de leur lien avec les cellules de Cajal, les cellules pacemakers de la motricité digestive. Sur le plan phénotypique, les cellules tumorales de GIST sont caractérisées par l'expression du marqueur CD34, commun aux cellules de Cajal, et par l'expression du récepteur tyrosine kinase c-kit (CD117) sous une forme mutée et/ou activée (1). Les GIST représentent désormais une entité nosologique particulière depuis la découverte en 1998 de l'expression par les cellules tumorales du récepteur tyrosine kinase c-kit (CD117) sous une forme mutée et/ou activée à la surface des cellules tumorales (2). Ces mutations sont de survenue précoce et il est possible qu'elles constituent même l'événement oncogénétique initial de la maladie. Avant l'imatinib, la chirurgie était le seul traitement efficace de cette pathologie, la chimiothérapie restant globalement inopérante, et la radiothérapie non applicable.

En 2001, sont démarrées les premières études de phase I puis II et III évaluant l'efficacité de l'imatinib dans le traitement des GIST en phase avancée ou métastatique. Les données disponibles actuellement montrent que l'imatinib induit un taux de réponses objectives de 60 à 70 % avec l'imagerie conventionnelle (TDM/IRM), avec 15 à 20 % de maladies stabilisées et 10 à 15 % de résistance primaire.

Des résistances secondaires (re-progression après réponse initiale) sont désormais rapportées chez 10 % à 30 % des patients. La survie à un an des formes avancées était voisine de 35 % avant l'imatinib. Elle est désormais voisine de 90 %. La survie globale, sans progression, et la réponse au traitement sont influencées par la nature des mutations de kit sur les cellules tumorales, les mutations de l'exon 11 étant associées à un pronostic plus favorable. L'imatinib

n'a en revanche pas d'activité anti-tumorale établie dans les autres sarcomes non-GIST CD117 négatifs et/ou dépourvus de mutations activant une boucle autocrine PDGF. Les GIST constituent désormais un modèle en oncologie solide, représentant la première tumeur solide traitée par une thérapie ciblée sur l'anomalie moléculaire causale.

La protéine c-kit, produit du proto-oncogène c-kit, est un récepteur transmembranaire à activité tyrosine kinase dont le ligand naturel est le facteur de croissance *Stem Cell Factor* (SCF) (revue kit). Le gène kit est situé sur le bras long du chromosome 4 (3). Ce récepteur appartient à la famille des récepteurs tyrosine kinase de type III, et présente d'importantes homologies structurales avec les récepteurs du *Macrophage Colony Stimulating Factor 1* (M-CSF-1) du *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) (4).

Lorsque le récepteur kit est activé par la fixation de son ligand ou induit par une mutation, des signaux intracellulaires sont transmis par de multiples voies métaboliques de signalisations dont la voie ras/MAPK, et la voie PI3K/Akt. Cette cascade de réactions moléculaires intracellulaires permettant la transduction du message cellulaire au noyau entraîne la prolifération, la différenciation, la croissance et la survie de la cellule (14, 15). Le récepteur c-kit, exprimé à la surface des cellules souches hématopoïétiques, des mélanocytes, des cellules de la lignée germinale et de la lignée neuroectodermique, joue un rôle important dans l'hématopoïèse, la mélanogenèse, la spermatogenèse et la genèse des cellules de Cajal (5).

KIT est le siège de multiples mutations dans des modèles de sarcomes félines et, en pathologie humaine, dans les leucémies aiguës myéloïdes, dans des syndromes myélodysplasiques, dans les mastocytoses systémiques, certains lymphomes (NK nasosinusiens), certaines tumeurs germinales, et les GIST (4, 6). De fait, les différentes mutations activatrices de KIT décrites à ce jour sont toutes activatrices, de type « gain de fonction » (fig. 1).

Les mutations de KIT peuvent être classées dans deux catégories (3) : i) les mutations dans les zones régulatrices portant sur les portions extra-cellulaires de la molécule ou sur les zones transmembranaires et juxta-membranaires impliquées dans la dimérisation ; ii) les mutations dans le domaine kinase, souvent peu sensibles à l'imatinib. Ces mutations impliquent possiblement des voies de signalisations intracellulaires différentes qui sont en cours d'exploration. Dans les GIST, les mutations de ce gène, observées dans 85 à 90% des GIST (6), sont responsables d'une activation spontanée de c-kit indépendamment de sa liaison avec son ligand spécifique. Ces mutations sont rencontrées dans la lignée germinale dans les rares cas familiaux de GIST (7), et dans la majorité des tumeurs à un stade précoce ou avancé. Dans les tumeurs GIST dépourvues de mutations détectables du gène KIT, une activation constitutionnelle de la kinase est observée (8). Les mutations de KIT, et d'une manière plus générale son activation, pourraient jouer un rôle oncogénique initial dans le développement de cette maladie.

Dans les GIST, les mutations sont le plus souvent situées dans l'exon 11, plus rarement dans l'exon 9 et exceptionnellement dans les exons 13, 17, 14 et (3, 6,

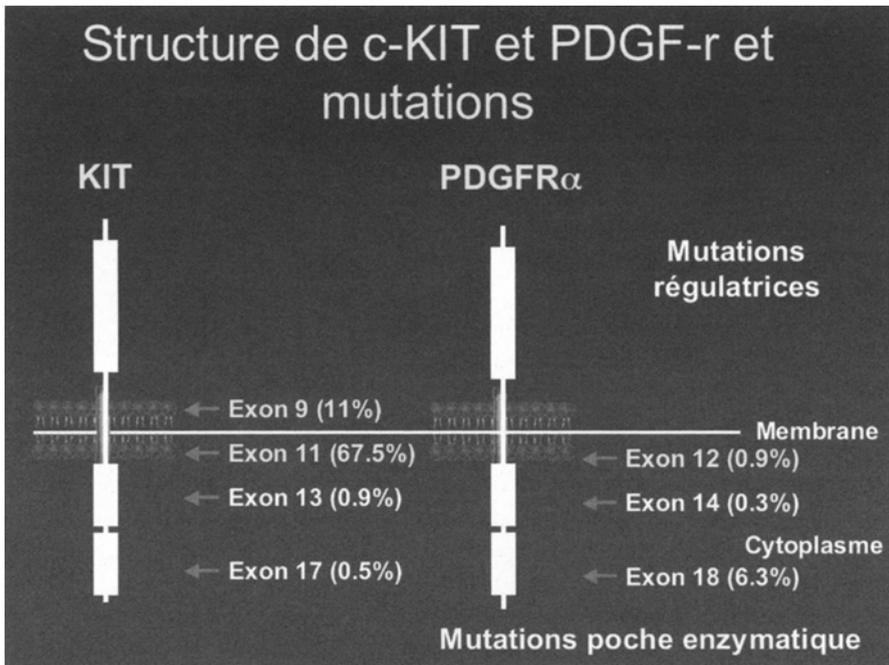


Fig. 1 – Topographie des mutations de KIT dans les tumeurs humaines.

7, 9). La grande majorité de ces mutations se trouvent de part et d'autre de la région transmembranaire du récepteur, impliquée dans la dimérisation de la kinase après fixation de son ligand. La nature des mutations semble influencer le devenir des GIST, y compris avant l'ère de l'imatinib (10, 12). La mise en évidence de ces mutations dans des GIST de petite taille (< 1 cm) et dans des GIST familiaux soulignent la précocité voire la causalité de cet événement génétique dans la carcinogenèse des GIST (7, 13). D'autres anomalies génétiques apparaissent secondairement cependant, notamment des altérations et des pertes de segments du chromosome 14, 22, 1 (14). Une analyse récemment effectuée par microarray d'expression identifie d'autres gènes surexprimés et potentiellement activés *in vivo* dans les GIST (15). Leur rôle dans la progression tumorale reste à prouver.

Traitements médicaux

Les GIST sont des tumeurs chimio-résistantes et probablement radio-résistantes, bien que les données disponibles sur ce chapitre soient quasi inexistantes (16).

GIST et imatinib

Les données sont abordées dans le détail dans le chapitre précédent. Nous rapportons ici les principaux éléments.

Les deux grandes études randomisées de phase III comparant 400 et 800 mg/j d'imatinib ont inclus 946 patients dans l'étude européenne (49) et 746 patients dans l'étude américaine (50). Le suivi se poursuit et leurs résultats ont été rapportés à l'ASCO 2002 uniquement en termes de tolérance puis publiés en 2005 (17).

L'inclusion de plus de 2 000 patients dans ces essais thérapeutiques en deux ans a permis de définir le rôle de l'imatinib dans la prise en charge des GIST de la façon suivante.

L'imatinib a transformé le pronostic des GIST localement avancés inopérables et/ou métastatiques : 30 % de patients en vie à un an avant l'ère de l'imatinib, 90 % environ après.

Le taux de réponses objectives observé avec l'imagerie conventionnelle (TDM/IRM) se situe entre 60 et 70 %. Quinze à 20 % des patients présentent une maladie stabilisée. Cependant, la presque normalisation du PET-scan dans les trois à six semaines après le début du traitement de ces patients (18) et un devenir semblable à celui des répondeurs par imagerie conventionnelle font considérer ces patients comme répondeurs à l'imatinib. Un bénéfice clinique est ainsi observé pour 80 à 90 % des patients (19). Il faut noter que les réponses sont le plus souvent partielles avec persistance de tissu tumoral « viable », CD117+ sur les pièces de résection des tumeurs en réponse partielle.

Le PET-scan est le meilleur examen pour évaluer précocement l'efficacité de ces nouveaux agents spécifiques non chimiothérapeutiques, permettant une évaluation dynamique de la captation du glucose par les cellules tumorales. Celui-ci montre une diminution de plus de 50 % des hyperfixations des masses tumorales chez 80 à 90 % des patients alors que le volume tumoral peut rester inchangé ou en diminution modérée, voire augmentée, avec les techniques d'imagerie conventionnelle. Celui-ci peut aussi préciser précocement les patients présentant une résistance primaire à l'imatinib afin de ne pas poursuivre inutilement un produit coûteux et donc inutile.

Dix à 15 % des patients présentent donc une résistance primaire à l'imatinib.

Le statut mutationnel du gène KIT est un élément clé de la sensibilité au traitement par imatinib. L'étude de phase II américano-finlandaise a couplé une analyse biomoléculaire fine du gène KIT. Soixante-huit pour cent des patients sont porteurs d'une mutation de l'exon 11, 16 % une mutation de l'exon 9, 2 % une mutation de l'exon 13 ou 17, enfin 8 à 14 % des patients présentant un GIST n'ont pas de mutation décelable du gène KIT. La réponse anti-tumorale semble être corrélée à la nature et à la présence de ces mutations puisque 72 % des patients présentant une mutation de l'exon 11 ont répondu au STI, 31 % chez les patients présentant une mutation 9 et 12 % chez les patients ne présen-

tant aucune mutation de ce gène ($p = 0,0033$) (9). Le statut mutationnel de KIT semble également influencer la survie sans progression, significativement plus longue chez les patients présentant une mutation de l'exon 11 (20). Enfin, ces réponses objectives s'observent quel que soit le traitement antérieur, l'âge du patient (âgé parfois jusqu'à 90 ans), l'état général de ces patients, le volume et le statut tumoral (tumeur localement avancée inopérable ou métastatique). Les patients répondeurs présentent une diminution significative du taux sérique du VEGF, du récepteur soluble de KIT et du bFGF dans les huit premières semaines de traitement (21) et une diminution du flux vasculaire des tumeurs en échodoppler pulsé après un mois de traitement (22).

Des résistances secondaires (re-progression après réponse initiale) sont désormais rapportées, 18% dans l'étude américano-finlandaise qui a inclus 147 patients et qui a permis l'AMM du produit aux États-Unis (23).

Il ne semble pas exister d'effet dose à partir d'une dose quotidienne de 400 mg, les résultats observés à 600 mg en termes d'efficacité et de tolérance étant identiques (24). Les résultats des deux grandes études randomisées comparant 400 et 800 mg/j d'imatinib permettront de répondre définitivement à cette question (17, 25). Certains patients ayant progressé sous 400 mg/j d'imatinib ont bénéficié secondairement d'une escalade de dose (600 ou 800 mg/j). Dans les différentes études déjà rapportées ou en cours, l'évaluation de ces patients nous permettra aussi de connaître l'intérêt de l'escalade de dose.

GIST et sunitinib

L'imatinib permet rapidement un contrôle clinique de la maladie chez 70 à 80% des malades, conduisant à une rémission partielle ou à une stabilisation prolongée. Cependant, après une moyenne de deux ans, trois quarts des malades vont progresser. Les mécanismes de résistance sont généralement dus à l'apparition d'altérations génétiques secondaires au niveau du c-kit. Si l'on prend en compte les malades avec une résistance primaire, ceux avec une résistance secondaire et ceux qui sont intolérants à l'imatinib, la plupart des malades vont avoir besoin d'un traitement (26). Dans la mesure où les traitements de chimiothérapie se sont tous montrés inefficaces, il est logique de proposer à ces patients de tester un nouvel inhibiteur du c-kit, qui agit aussi lorsque le c-kit est muté. Une sensibilité existe à d'autres inhibiteurs des signaux de transduction comme le sunitinib. La molécule Sutent est une petite molécule qui, dans les études précliniques, a été démontrée comme un inhibiteur puissant de l'activité de tyrosine kinase du VEGF, PDGFR et du c-kit. Le sunitinib est métabolisé d'abord par le système enzymatique des cytochromes P450, CYP3A4, en produisant un métabolite actif, le SU012662. Dans plusieurs modèles animaux de xénogreffes, l'administration de sunitinib a pu conduire à une inhibition de la croissance tumorale, et aussi à une diminution de la densité vasculaire liée à son effet anti-angiogénique.

Chez l'homme, le sunitinib a été étudié dans onze études cliniques, dont des études chez des volontaires sains, des études chez les patients avec leucémie myéloïde aiguë ou chez les patients avec des tumeurs solides variées, ainsi qu'une étude chez des patients souffrant de GIST. Différents schémas d'administration ont été testés comme deux semaines de traitement et deux semaines de repos, ou quatre semaines de traitement et deux semaines de repos. Des données de toxicité et d'efficacité clinique sont disponibles pour 240 patients. Chez les patients souffrant de GIST résistant à l'imatinib, 2 patients sur les 33 analysables ont eu une réponse partielle, 42 % ont aussi une stabilisation de leur maladie ou une réponse mineure. Chez la plupart des patients ayant eu une amélioration clinique, une amélioration rapide du PET a pu être démontrée. Une inhibition de la phosphorylation de c-kit par le sunitinib a pu être démontrée dans des biopsies tumorales. Cette inhibition était parallèle à une diminution du KIT soluble mesuré dans le plasma. Ces résultats préliminaires ont fait mettre en place une étude de phase III publiée qui a confirmé le bénéfice significatif du sunitinib dans cette indication (27). L'explication concernant l'activité du sunitinib après imatinib fait intervenir le ciblage plus important (VEGF, PDGF) et les mutations de l'exon 9 de KIT (28).

Les molécules de la famille de PDGF (*Platelet-Derived Growth Factor*) sont structurellement rattachées à la famille de VEGF et ont montré des propriétés angiogéniques *in vivo* et *in vitro* (29). Il est possible que PDGF joue un rôle majeur dans la régulation de l'angiogenèse contrôlée par les péricytes. Il existe actuellement quatre membres de la famille de PDGF capables de former des homo- et des hétéro-dimères. L'un des homo-dimères, PDGF-BB, est capable de réguler VEGF dans les cellules musculaires striées des vaisseaux et ainsi d'augmenter la survie des cellules endothéliales (30). *Platelet-Derived Endothelial-Cell Growth Factor* (PD-ECGF) est la thymidine phosphorylase produite par les cellules stromales, les cellules tumorales et infiltrant les macrophages. Cette thymidine phosphorylase a montré un rôle angiogénique *in vivo* et est associée à une vascularisation importante malgré un faible taux de VEGF dans les tumeurs colorectales (31). D'autres facteurs ont été rapportés comme ayant une activité angiogénique tels que angiogénine, angiopoéitine, Tie-2, les intégrines et le FGF-1 et FGF-2 (*Fibroblast Growth Factor*).

Autres inhibiteurs de c-kit ou PDGFR

Masitinib (AB Science)

Le masitinib est un inhibiteur de tyrosine kinase compétitif de l'adénosine triphosphate (ATP), un substrat important des réactions de phosphorylation de la tyrosine (*kinase reaction*). Le masitinib inhibe sélectivement les protéines de la famille tyrosine kinase comprenant (1) c-kit, le produit du proto-oncogène c-kit (*mast cell growth factor receptor*), et (2) le *Platelet-Derived Growth Factor*

(PDGF) *receptor*. La sélectivité du masitinib est importante et n'affecte pas les autres récepteurs de type III *receptor kinase family*, comme Flt-3 et Fms.

Activité anti-tumorale *in vivo*

Le masitinib est un inhibiteur de protéine kinase qui inhibe sélectivement la forme mutée de la région juxta-membranaire (JM) de c-kit récepteur et de c-kit forme non mutée [*wild-type* (WT)]. Il est capable aussi d'inhiber *PDGF receptor*.

Au niveau cellulaire, le masitinib a prouvé son inhibition sélective de la partie JM de c-kit et c-kit WT dont dépend la prolifération cellulaire avec des concentrations de 0,005 μm et 0,2 μm respectivement.

Essais thérapeutiques

Trois phases I ont été conduites en France.

1. Masitinib en monodose (40 mg, 100 mg, 200 mg, 400 mg et 800 mg) a été administré à un groupe de jeunes hommes volontaires sains dans une étude de phase I randomisée avec groupe placebo en double aveugle.

2. Dans une deuxième étude, 40 mg, 100 mg, 150 mg, 250 mg, 500 mg et 1 000 mg/jour de masitinib ont été administrés à des patients porteurs de cancers solides dans une étude ouverte de phase I conduite à l'Institut Gustave Roussy (IGR) à Paris. Dans cette étude, aucun effet indésirable sérieux n'a été noté relatif à l'AB1010 au-delà de 500 mg/jour. Ainsi, la dose maximale tolérée n'a pas été atteinte. Dans un premier temps, 27 patients ont reçu le masitinib selon 7 « échelons » de dose quotidienne : 40 mg (1 patient), 100 mg (3 patients), 150 mg (3 patients), 250 mg (4 patients), 500 mg (4 patients), 1 000 mg (6 patients) et 800 mg (6 patients). Deux cohortes supplémentaires ont été ajoutées : 6 patients porteurs d'une tumeur c-kit+ naïve de traitement par imatinib mesylate (IM) ont reçu le masitinib à la dose de 9 mg/kg/j et 7 patients avec un GIST résistant à IM ont reçu MM à la dose de 12 mg/kg/jour. Tous les patients ont présenté au moins un effet indésirable lié à la drogue. Le plus fréquent effet > grade 2 est la sensation de fatigue (34 %), les nausées (32 %), l'anorexie (21 %), les vomissements (18 %), la diarrhée (18 %), l'hypo-albuminémie (18 %), l'hypophosphatémie (18 %). Les grades 3 et 4 les plus fréquents sont survenus pour les dosages les plus élevés et 26 % des patients ont présenté au moins une DLT (nausées, vomissements, asthénie, troubles hépatiques). La MTD (dose maximale tolérée) n'a pas formellement été déterminée dans cette étude, mais des doses de 13,5 à 15 mg/kg semblent être les doses maximales tolérables du point de vue digestif.

3. Une troisième étude de phase I a été réalisée chez un groupe de jeunes hommes volontaires sains dans une étude de phase I randomisée avec groupe placebo en double aveugle où plusieurs doses de masitinib (100 mg, 200 mg, 400 mg et 800 mg) ont été administrées pour déterminer la tolérance, l'innocuité et la pharmacocinétique du masitinib. À 100 mg, 200 mg et 400 mg, aucun problème de toxicité n'a été signalé.

Dans la mesure où l'AB1010 a une forte sélectivité pour c-kit, l'hypothèse d'une meilleure efficacité du masitinib est supposée en première ligne, comparé à l'imatinib. Pour cette raison, une étude de phase II évaluant le masitinib a été conduite en France pour les patients porteurs d'un GIST. Dans cette étude, le masitinib a été donné à la dose de 7,5 mg/kg/j. Pour les 18 premiers patients, seulement 6% ont progressé sous AB1010. Ces résultats encourageants nécessitent bien sûr une confirmation à plus grande échelle et la notion de bénéfice comparé à l'imatinib mais confirme l'efficacité de cette molécule en termes d'inhibition de KIT. Une étude de phase III est donc attendue pour connaître le bénéfice du masitinib face à l'imatinib en première intention et face à la deuxième ligne actuelle (sunitinib) pour les patients intolérants ou réfractaires à l'imatinib.

Nilotinib (Tasigna®)

Activité anti-tumorale *in vivo*

Le nilotinib est un inhibiteur synthétique de seconde génération de Bcr-Abl tyrosine kinase qui, comme imatinib, cible l'anomalie responsable de la LMC. *In vitro*, le nilotinib a montré un pouvoir d'inhibition plus important que l'imatinib contre les populations cellulaires exprimant Bcr-Alb et notamment sur les populations cellulaires résistantes à l'imatinib (32). Le nilotinib a une activité anti-tyrosine kinase contre PDGRA et c-kit récepteur prouvé *in vitro* au moins aussi importante que l'imatinib. Et même récemment Le Coutre *et al.* ont montré une destruction tumorale 1,5 fois supérieure à l'imatinib concernant des populations cellulaires résistantes à l'imatinib (voie MDR1 probablement en cause) (33).

Essais thérapeutiques en cours

Une étude de phase I a été réalisée chez les patients porteurs de LMC incluant 93 patients résistant à l'imatinib. Les patients ont reçu entre 50 et 1 200 mg par jour de nilotinib (AMN107). Un second palier de prise bi-journalière (400 et 600 mg/deux fois par jour) a été récemment mis en place et permis de sélectionner la dose de 400 mg deux fois par jour pour l'étude de phase II. Dans cette étude, 120 patients ont été évalués en termes de réponse et de tolérance. La majorité des arrêts de traitement (49%) est due à une progression de la maladie. Une CHR a été rapportée chez (13%) 12 patients, une réponse médullaire chez 6 patients (6%), et un retour en phase chronique ou stable pour (18%) 17 patients respectivement. Une réponse complète a été notée chez 2 patients (6%) Ph+ALL. L'effet secondaire de grade 3 ou 4 le plus fréquent est arrivé chez les patients Ph+ALL et sont la thrombocytopenie : (9%) 3 patients, (6%) 2 patients ont présenté une neutropénie, une élévation de la bilirubine sanguine, une élévation des ALT et des douleurs osseuses. L'effet secondaire de grade 3 ou 4 le plus fréquent est arrivé chez les patients

en BC et sont la thrombocytopénie 23 (24 %), la neutropénie 17 (18 %), et l'anémie chez 9 patients (9 %).

Dans la prise en charge des GIST, le nilotinib a été évalué dans une étude de phase I évaluant la tolérance de celui-ci en association avec l'imatinib. Cinquante-trois patients ont reçu le nilotinib seul (400 mg, 2 fois/j) ou des doses grimpantes de nilotinib (200 mg/j, 400 mg/j, or 400 mg, 2 fois/j) en combinaison avec imatinib (400 mg, 2 fois/j), ou nilotinib 400 mg, 2 fois/j plus imatinib 400 mg/j. Parmi les 53 patients, 39 (74 %) avaient échappé au traitement de deuxième ligne (sunitinib ou imatinib fortes doses). Un événement sérieux est décrit chez 14 patients, lié à des douleurs abdominales, nausées, vomissements, hémorragies intra-abdominales, péritonite, perforation digestive, anémie. Les toxicités de grade $\frac{1}{2}$ rapportées sont : hyperbilirubinémie, nausées, vomissements, fatigue, myalgies, anémie, œdèmes périphériques et rash cutanés. Cinq patients ont présenté une DLT (un sous nilotinib, deux sous nilotinib 400 mg, 2 fois/j plus imatinib 400 mg, 2 fois/j, deux sous nilotinib 400 mg, 2 fois/j plus imatinib 400 mg/j). La combinaison des deux molécules à 400 mg, 2 fois/j semble donc trop toxique (notamment du point de vue cutané) et a entraîné une réduction de doses pour 100 % des patients. Trente-trois (62 %) des patients, dont 14 sous nilotinib seul, ont présenté une maladie stable. La survie sans progression a été mesurée à 153 jours pour l'ensemble de la population traitée suggérant une efficacité de cette association pour les patients GIST résistant aux autres inhibiteurs de TK.

Dasatinib (BMS)

Activité anti tumorale *in vivo*

BMS-354825 (dasatinib) est une petite molécule orale inhibant plusieurs tyrosines kinases comme Bcr-Abl, c-kit, PDGFR et src. Sa structure est radicalement différente de l'imatinib. Lors d'une comparaison directe entre BMS-354825 et l'imatinib dans des modèles expérimentaux, le pouvoir d'inhibition de l'anti-src était 65 fois plus important pour PDGFR et 325 fois pour Bcr-Abl (34).

Essais thérapeutiques en cours

Des patients porteurs de LMC ou présentant une LLA avec présence de chromosome Ph résistant ou intolérant à l'imatinib ont été inclus dans une phase I évaluant le dasatinib (15 à 240 mg par jour). Il a été administré oralement selon un schéma 4 semaines une à deux fois par jour. Une réponse complète hématologique a été obtenue pour 37 des 40 patients présentant une CML en phase chronique et une réponse hématologique majeure a été notée pour 31 des 44 patients en phase d'accélération de CML, CML en phase blastique, ou Ph-positive ALL. Chez ces patients, la majorité des réponses cytogénétiques sont respectivement de 45 % et 25 %. Les réponses se sont maintenues pour 95 % des patients en phase chronique et 82 % en phase accélérée avec un suivi médian

de 12 et 5 mois respectivement. Les réponses ont toutes été signalées pour les anomalies génotypiques de Bcr-Abl excepté la mutation T315I, responsable de la résistance à la fois au dasatinib et à l'imatinib *in vitro* (35). La myélosuppression dans cette étude a été la dose limitante la plus fréquente (36). Une étude de phase II est en cours pour évaluer le dasatinib en première ligne dans la prise en charge des GIST.

Inhibition de la voie PI3k/Akt/mTOR

Dans les GIST, nous avons vu précédemment que les mutations sont le plus souvent situées dans l'exon 11, plus rarement dans l'exon 9 et exceptionnellement dans les exons 13, 17, 14 et la nature des mutations semble influencer le devenir des GIST, y compris avant l'ère de l'imatinib (10-12).

La résistance au traitement par imatinib est presque constamment associée à l'activation de la voie de signalisation PI3k/Akt/mTor. Les inhibiteurs de cette voie, les STI (*Signal Transduction Inhibitor*), sont actuellement évalués pour leur capacité à vaincre la résistance secondaire (37).

Everolimus

Dans cette optique, l'everolimus (RAD001), dérivé de la rapamycine, inhibe donc la protéine mTOR en aval de la PI3/Akt. Ce médicament commercialisé depuis 1996 comme immunosuppresseur en association avec la cyclosporine et les corticoïdes pour la prévention du rejet de greffe rénale présente une activité anti-proliférative.

Des études précliniques ont montré un effet inhibiteur de prolifération cellulaire sur des populations cellulaires tumorales notamment en association avec certaines drogues de chimiothérapie classiques (paclitaxel, doxorubicine, cisplatine, carboplatine et gemcitabine) mais aussi en association avec la radiothérapie, les anti-aromatases et d'autres thérapeutiques ciblées telles que l'imatinib, et autre inhibiteur de EGFR ou VEGF(38).

Dans les premières études de phase I en oncologie, la monothérapie par everolimus a permis de déterminer la dose requise de 10 mg/j ou 50 à 70 mg par semaine pour les études de phase II. Actuellement, une étude de phase I dans les tumeurs stromales est en cours en association avec l'imatinib 400 mg/j. Du fait de la toxicité du RAD001 dans cette association, la dose initiale de 10 mg/j a été diminuée à 5 mg/j. En effet, l'imatinib diminue la clairance du RAD001. Dans cette étude de phase I, des réponses au traitement ont été décrites, permettant de penser que le blocage des différentes voies d'activation secondaires est une option thérapeutique intéressante en cas de résistance à l'imatinib. Les résultats de l'étude de phase II sont en attente.

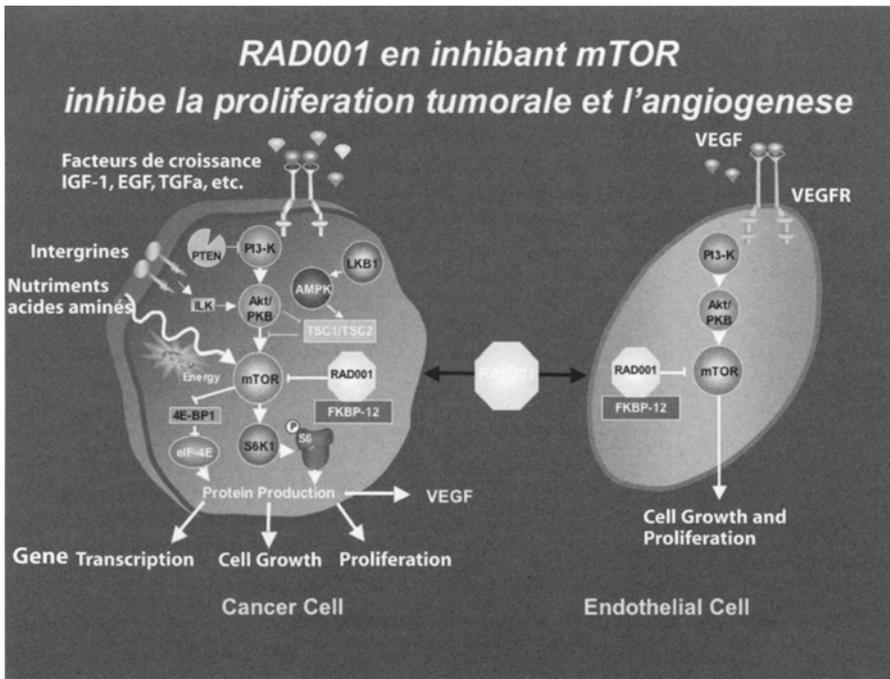


Fig. 2 – Rôle du RAD001 dans la cellule tumorale.

Conclusion

Ces résultats encourageants devront bien sûr être validés par d'autres études de plus grande envergure avant de proposer ces nouveaux inhibiteurs en pratique de routine. Elles méritent d'être citées pour deux raisons. La première étant qu'elles valident le principe de la résistance acquise à un traitement initialement adapté et capable de contenir la prolifération tumorale. Deuxièmement, elles viennent renforcer la notion de différents sites de mutations additionnelles (c-kit, PDGFR, voie de signalisation secondaire, etc.). Elles renforcent l'intérêt de l'association de ces inhibiteurs avec les cytotoxiques classiques ou d'autres thérapeutiques cibles, notamment dans le cas des GIST.

De par leurs différentes structures, ces nouveaux inhibiteurs ont différentes modalités d'inhiber leurs cibles (KIT et autres mutations). Ces inhibiteurs de protéines tyrosines kinases de type III, de par leur spécifique affinité à certains sites de liaison, inactivent les kinases selon leur conformation plastique. Or, chaque mutation nouvelle de ces kinases peut affecter leur conformation plastique et rendre l'interaction avec l'inhibiteur moindre, diminuant ainsi son efficacité. On voit donc que la recherche de nouvelles cibles à stopper et de nouveaux moyens de les stopper sont indispensables. La question qui reste non

résolue est le moyen d'évaluer leur efficacité et sur quelles mutations avec un nombre restreint de patients afin de donner la bonne réponse le plus rapidement possible aux malades (en fonction des mutations de leur pathologie). En conclusion, chaque inhibiteur de tyrosine kinase va interagir avec une seule isoforme mutée de KIT et chacune de ces différentes mutations identifiées intervient comme un événement oncogénique primaire responsable de la prolifération tumorale.

Références

1. Mazur MT, Clark HB (1983) Gastric stromal tumors. Reappraisal of histogenesis. *Am J Surg Pathol* 7: 507-19
2. Kindblom LG, Remotti HE, Aldenborg F, Meis-Kindblom JM (1998) Gastrointestinal pacemaker cell tumor (GIPACT): gastrointestinal stromal tumors show phenotypic characteristics of the interstitial cells of Cajal. *Am J Pathol* 152: 1259-69
3. Longley BJ, Reguera MJ, Ma Y (2001) Classes of c-KIT activating mutations: proposed mechanisms of action and implications for disease classification and therapy. *Leuk Res* 25: 571-6
4. Nishida T, Hirota S, Taniguchi M, *et al.* (1998) Familial gastrointestinal stromal tumours with germline mutation of the KIT gene. *Nat Genet* 19: 323-4
5. Linnekin D (1999) Early signaling pathways activated by c-Kit in hematopoietic cells. *Int J Biochem Cell Biol* 31: 1053-74
6. Heinrich MC, Corless CL, Duensing A, *et al.* (2003) PDGFRA activating mutations in gastrointestinal stromal tumors. *Science* 299: 708-10
7. Miettinen M, Sarlomo-Rikala M, Lasota J (1999) Gastrointestinal stromal tumors: recent advances in understanding of their biology. *Hum Pathol* 30: 1213-20
8. Rubin BP, Singer S, Tsao C, *et al.* (2001) KIT activation is a ubiquitous feature of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 61: 8118-21
9. Heinrich MC, Corless CL, Demetri GD, *et al.* (2003) Kinase mutations and imatinib response in patients with metastatic gastrointestinal stromal tumor. *J Clin Oncol* 21: 4342-9
10. Cunningham D, Findlay M (1993) The chemotherapy of colon cancer can no longer be ignored. *Eur J Cancer* 29A(15): 2077-9
11. Taniguchi M, Nishida T, Hirota S, *et al.* (1999) Effect of c-kit mutation on prognosis of gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 59: 4297-300
12. Singer S, Rubin BP, Lux ML, *et al.* (2002) Prognostic value of KIT mutation type, mitotic activity, and histologic subtype in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 20: 3898-3905
13. Maeyama H, Hidaka E, Ota H, *et al.* (2001) Familial gastrointestinal stromal tumor with hyperpigmentation: association with a germline mutation of the c-kit gene. *Gastroenterology* 120: 210-5
14. Joensuu H, Roberts PJ, Sarlomo-Rikala M., *et al.* (2001) Effect of the tyrosine kinase inhibitor STI571 in a patient with a metastatic gastrointestinal stromal tumor. *N Engl J Med* 344: 1052-6
15. Nielsen H, Hansen SW, Ernst P, Rorth M (1986) Prognostic value of changes in tumor marker concentrations during treatment of patients with testicular cancer. *Cancer Treat Rep* 70:1329-31

16. Le Cesne A, Judson I, Crowther D, *et al.* (2000) Randomized phase III study comparing conventional-dose doxorubicin plus ifosfamide versus high-dose doxorubicin plus ifosfamide plus recombinant human granulocyte-macrophage colony-stimulating factor in advanced soft tissue sarcomas : A trial of the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Soft Tissue and Bone Sarcoma Group. *J Clin Oncol* 18: 2676-84
17. Verweij J, Casali PG, Zalcberg J, *et al.* (2004) Progression-free survival in gastrointestinal stromal tumours with high-dose imatinib: randomised trial. *Lancet* 364: 1127-34
18. Druker BJ, Talpaz M, Resta DJ, *et al.* (2001) Efficacy and safety of a specific inhibitor of the BCR-ABL tyrosine kinase in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 344: 1031-7
19. von Mehren M (2003) Recent advances in the management of gastrointestinal stromal tumors. *Curr Oncol Rep* 5: 288-94
20. Heinrich MC, Corless CL, Blanke CD, *et al.* (2006) Molecular correlates of imatinib resistance in gastrointestinal stromal tumors. *J Clin Oncol* 24: 4764-74
21. Joensuu H, Kindblom LG (2004) Gastrointestinal stromal tumors--a review. *Acta Orthop Scand Suppl* 75: 62-71
22. Choi H, Charnsangavej C, Macapinlac H, *et al.* (2003) Correlation of computerized tomography (CT) and proton emission tomography (PET) in patients with metastatic GIST treated at a single institution with imatinib mesylate. *J Clin Oncol* 22: 20-3. Ref Type : Abstract
23. Demetri GD, von Mehren M, Blanke CD, *et al.* (2002) Efficacy and safety of imatinib mesylate in advanced gastrointestinal stromal tumors. *N Engl J Med* 347: 472-80
24. Demetri GD (2002) Targeting the molecular pathophysiology of gastrointestinal stromal tumors with imatinib. Mechanisms, successes, and challenges to rational drug development. *Hematol Oncol Clin North Am* 16: 1115-24
25. Zalcberg JR, Verweij J, Casali PG, *et al.* (2005) Outcome of patients with advanced gastro-intestinal stromal tumours crossing over to a daily imatinib dose of 800 mg after progression on 400 mg. *Eur J Cancer* 41: 1751-7
26. Antonescu CR, Besmer P, Guo T, *et al.* (2005) Acquired resistance to imatinib in gastrointestinal stromal tumor occurs through secondary gene mutation. *Clin Cancer Res* 11: 4182-90
27. Demetri GD, Van Oosterom AT, Garrett CR, *et al.* (2006) Efficacy and safety of sunitinib in patients with advanced gastrointestinal stromal tumour after failure of imatinib: a randomised controlled trial. *Lancet* 368: 1329-38
28. Maki RG (2004) Gastrointestinal Stromal Tumors Respond to Tyrosine Kinase-targeted Therapy. *Curr Treat Options Gastroenterol* 7: 13-7
29. Betsholtz C, Karlsson L, Lindahl P (2001) Developmental roles of platelet-derived growth factors. *Bioessays* 23: 494-507
30. Reinmuth N, Liu W, Jung YD, *et al.* (2001) Induction of VEGF in perivascular cells defines a potential paracrine mechanism for endothelial cell survival. *FASEB J* 15: 1239-41
31. Kitadai Y, Ellis LM, Tucker SL, *et al.* (1996) Multiparametric in situ mRNA hybridization analysis to predict disease recurrence in patients with colon carcinoma. *Am J Pathol* 149: 1541-51
32. Weisberg E, Manley PW, Breitenstein W, *et al.* (2005) Characterization of AMN107, a selective inhibitor of native and mutant Bcr-Abl. *Cancer Cell* 7: 129-41
33. Le Coutre P, Baskaynak G, Tamm I, *et al.* (2004) Activity and Induction of Apoptosis of the Specific Tyrosine Kinase Inhibitor AMN 107 in bcr-abl + Cell Lines and in Imatinib Resistant Primary Cells from CML Patients. *ASH Annual Meeting Abstracts* 104: 762
34. Shah NP, Tran C, Lee FY, Chen P (2004) Overriding Imatinib Resistance with a Novel ABL Kinase Inhibitor. *Science* 305: 399-401
35. Kantarjian H, Giles F, Wunderle L, *et al.* (2006) Nilotinib in Imatinib-Resistant CML and Philadelphia Chromosome-Positive ALL. *New Engl J Med* 354: 2542-51
36. Talpaz M, Shah NP, Kantarjian H, *et al.* (2006) Dasatinib in Imatinib-Resistant Philadelphia Chromosome-Positive Leukemias. *The New England Journal of Medicine*; 354: 2531-41

37. Hidalgo M, Rowinsky EK (2000) The rapamycin-sensitive signal transduction pathway as a target for cancer therapy. *Oncogene* 19: 6680-6
38. Fingar DC, Blenis J (2004) Target of rapamycin (TOR): an integrator of nutrient and growth factor signals and coordinator of cell growth and cell cycle progression. *Oncogene*; 23: 3151-71

Autres cibles, nouvelles cibles

RANK ligand et métastases osseuses

Philippe Beuzeboc

Les cellules tumorales secrètent des facteurs ostéolytiques dont la plupart agissent *via* la production par les ostéoblastes de RANKL, facteur de la différenciation des ostéoclastes.

RANKL est impliqué dans le cercle vicieux de la résorption osseuse et de la progression tumorale. Le denosumab (AMG 162) est un anticorps monoclonal totalement humanisé bloquant spécifiquement RANKL qui ouvre de larges perspectives thérapeutiques non seulement dans le traitement des métastases osseuses et des myélomes mais aussi dans des pathologies caractérisées par une augmentation de la résorption osseuse comme l'ostéoporose induite par les privations hormonales. Sa bonne tolérance générale représente également un avantage potentiel.

Résorption osseuse et voie RANK/RANK ligand/ ostéoprotégérine (fig. 1)

Le système RANK (*Receptor Activator for Nuclear factor Kappa B*)/RANK ligand (RANKL) a été identifié comme un des médiateurs essentiels de la formation, de la fonction, et de la survie des ostéoclastes (1-3).

RANKL est une cytokine membre de la superfamille TNF (*Tumor Necrosis Factor*), produite par les ostéoblastes. RANKL est le médiateur principal de la résorption osseuse jouant un rôle majeur aussi bien dans l'ostéoporose post-ménopausique que dans les métastases osseuses ou le myélome. Il se fixe à RANK, son récepteur sur les ostéoclastes et les précurseurs d'ostéoclastes pour stimuler, promouvoir la différenciation en ostéoclastes et activer les ostéoclastes matures pour résorber l'os. Aussi RANKL constitue-t-il une cible thérapeutique privilégiée dans des pathologies présentant une augmentation de la résorption osseuse.

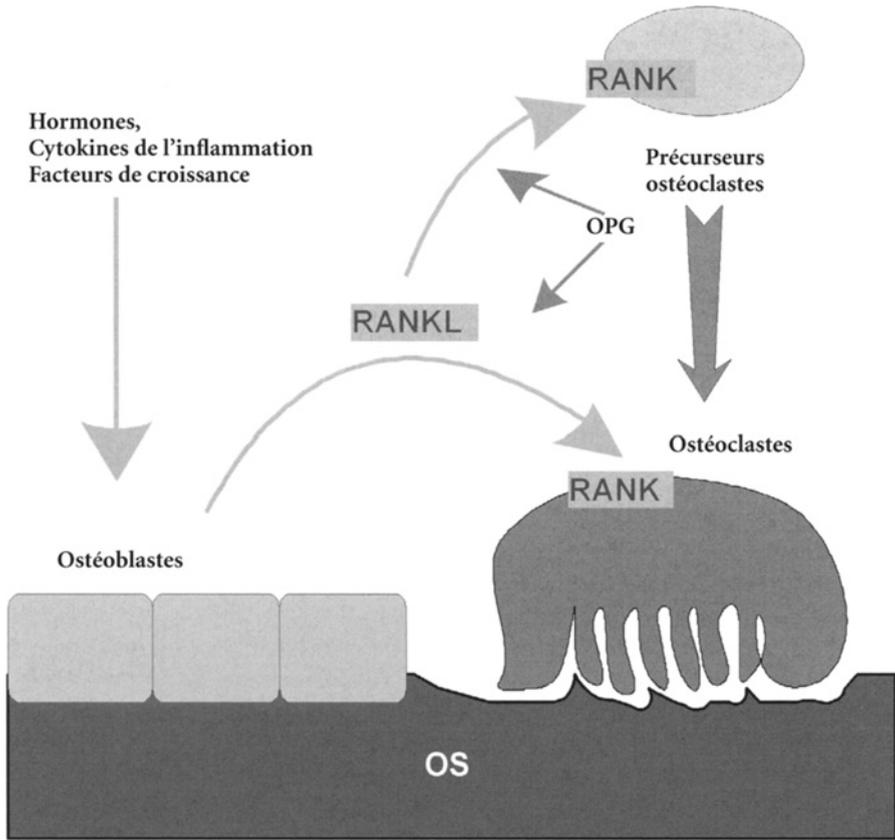


Fig. I – Voie RANKL/RANK/OPG. L'ostéoprotégérine (OPG) agit en inhibant la stimulation de la différenciation et de l'activation des ostéoclastes par le RANK ligand (RANKL), médiateur de la résorption osseuse induite par les hormones, les cytokines de l'inflammation et les facteurs de croissance produits par les tumeurs. Le denosumab en bloquant RANKL mime l'effet de l'ostéoprotégérine, inhibiteur endogène du RANKL.

L'ostéoprotégérine (OPG) produite par les ostéoblastes et les cellules stromales, récepteur « leurre » de RANKL (*decoy receptor*) est considérée comme l'inhibiteur endogène de RANKL en prévenant l'interaction entre RANK et RANKL (4-7). Elle se fixe et bloque l'action de RANKL. L'administration d'OPG recombinante chez la souris, le rat, et des primates entraîne une diminution de la résorption osseuse en inhibant la différenciation et l'activation des ostéoclastes (8). L'OPG affecte ainsi le pool d'ostéoclastes matures en réduisant la différenciation terminale des ostéoclastes. Les souris transgéniques qui surexpriment OPG présentent une ostéopétrose (9). À l'opposé, les souris déficientes en OPG présentent un phénotype d'ostéoporose sévère (10).

L'administration de Fc-OPG a montré des effets thérapeutiques dans des modèles animaux de nombreuses tumeurs tels des cancers du sein et du

côlon (11, 12), des sarcomes (13), des myélomes (14). L'OPG peut aussi prévenir le développement de métastases osseuses dans des modèles expérimentaux de cancer de prostate (15). Une étude clinique de phase I utilisant une construction d'une OPG recombinante (AMGN-0007) a été publiée par Body *et al.* (16).

Il a été suggéré qu'une molécule qui mimerait l'action d'OGP sur RANKL pourrait avoir un potentiel thérapeutique dans les pathologies caractérisées par une augmentation du *turn over* osseux.

Rationnel d'utilisation d'un anticorps anti-RANKL dans les métastases osseuses et le myélome

Les mécanismes sous-tendant la croissance tumorale au niveau de l'os sont complexes et impliquent la stimulation par la tumeur des ostéoclastes et des ostéoblastes ainsi que la réponse du micro-environnement osseux.

Quel que soit le type ostéolytique ou ostéoblastique des métastases osseuses, l'augmentation de l'activité ostéoclastique constitue la principale caractéristique biologique (17, 18).

Des données de modèles précliniques étayaient fortement l'hypothèse d'une relation facilitatrice entre l'augmentation de la résorption osseuse ostéoclastique et le développement des métastases osseuses (19, 20).

Les cellules cancéreuses produisent des facteurs humoraux comme le PTHrP (*Parathormone related Peptide*), l'interleukine 1 (IL-1) et le TNF- α qui se fixent sur des récepteurs spécifiques au niveau des ostéoblastes ou des cellules stromales médullaires pour stimuler la production de RANKL et inhiber la production d'OPG (21).

Une dérégulation du système RANK/RANKL/OPG a été décrite dans de nombreuses tumeurs comme les cancers du sein (22), les cancers de la prostate (23), les myélomes (24), les tumeurs à cellules géantes (25), les chondroblastomes (26), les neuroblastomes (27), les carcinomes épidermoïdes (28) et les maladies de Hodgkin (29)... L'augmentation de l'activité ostéoclastique qui en résulte est source potentiellement de morbidités sévères représentées par des fractures, des nécessités d'irradiation (en cas de douleurs, de menace de fracture) ou de cimentoplastie, des compressions médullaires et des hypercalcémies malignes. En cas de métastases osseuses, il a bien été montré qu'élévation des marqueurs de résorption osseuse et complications osseuses cliniques étaient liées (30, 31) et que la survenue de fractures osseuses était prédictive d'une réduction de la survie dans les cancers de prostate (32).

Dans le myélome, il existe une augmentation de RANKL dans les cellules stromales (33), le rapport RANKL/OPG est augmenté et représente un facteur prédictif indépendant de la survie (34).

Le denosumab (AMG 162), développé par Amgen, est un anticorps monoclonal totalement humanisé, présentant une haute affinité et spécificité anti-RANKL, mimant l'action de l'OPG.

En inhibant l'action de RANKL, il réduit la différenciation, l'activité, et la survie des ostéoclastes ralentissant ainsi la résorption osseuse (tableau I). Son action est rapide et réversible à l'arrêt du traitement.

Tableau I – Essais en cours avec le denosumab.

Métastases osseuses de différents cancers	Étude de phase II chez des patients atteints de cancers avec métastases osseuses et déjà traités par biphosphonate IV	N = 135
	Études de phase III comparant denosumab et zolédronate en première ligne de cancer du sein, de prostate et d'autres cancers avancés avec métastases osseuses	N = 1700
Cancer du sein	Étude de phase II randomisée chez des patientes souffrant de cancer du sein avec métastases osseuses, n'ayant jamais reçu de biphosphonate comparant de 5 cohortes avec des schémas d'utilisation différents à une cohorte traitée par biphosphonate IV	N = 255
	Étude de phase III évaluant le denosumab <i>versus</i> placebo dans les cancers du sein non métastatiques traités par anti-aromatase	N = 252
Cancer de prostate	Étude de phase II randomisée chez des patients présentant des métastases osseuses de cancer de prostate avec des taux élevés de N-peptide urinaire après traitement par zolédronate	N = 110
	Étude de phase III <i>versus</i> placebo dans le traitement de la perte osseuse en rapport de sujets sous hormonothérapie ablatrice pour un cancer de prostate non métastatique	N = 1468
	Étude randomisée, en double aveugle <i>versus</i> placebo évaluant le denosumab dans la prévention des métastases osseuses chez les hommes atteints d'un cancer de prostate hormono-réfractaire	N = 1400
Myélome	Étude de phase II dans le myélome en rechute ou en phase de plateau	N = 100

Données pharmacocinétiques et données cliniques initiales du denosumab, anticorps anti-RANKL dans des pathologies non tumorales

Le denosumab présente la particularité de s'administrer par voie sous-cutanée. Les données sont encore préliminaires même si en mars 2006 plus de 11 000 patients avaient été enrôlés dans des études cliniques.

Il a fait initialement l'objet de plusieurs études de phase I (six au total) et d'études dans l'ostéoporose de la femme post-ménopausée ainsi que dans la polyarthrite rhumatoïde. Les données pharmacocinétiques des différents essais de phase I à des doses variant de 0,01 à 3 mg/kg et des doses fixes allant de 14 à 210 mg par injections ont montré une demi-vie d'approximativement 25 à 30 jours pour des doses comprises entre 1 et 3 mg/kg (correspondant à des doses totales de 60 mg et 180 mg). Les données pharmacocinétiques ne semblent pas modifiées par des injections multiples.

Un essai réalisé chez femmes post-ménopausées en bonne santé a montré que l'anticorps restait détectable plus de neuf mois après une dose unique de 3 mg/kg (34). Des doses fixes répétées sous-cutanées tous les six mois sur une durée de plus de deux ans ont été étudiées dans l'ostéoporose. Les résultats ont montré que le denosumab entraînait une réduction du *turn over* osseux et augmentait significativement la densité minérale osseuse (BMD) au niveau du rachis et des hanches (36, 37).

D'une façon générale, le denosumab a été bien toléré dans toutes les études menées jusqu'à présent et il n'a pas été retrouvé d'association entre effets secondaires et dose administrée. Il n'entraîne pas de réactions allergiques (ou très faibles) et ne nécessite aucune prémédication.

Avec le denosumab, il n'a pas été observé d'hypocalcémie symptomatique ou persistante. En revanche, des hypocalcémies généralement transitoires, modérées, peuvent survenir dans les deux premières semaines suivant l'injection. Environ 5% des sujets ont une baisse de la calcémie corrigée inférieure à 2 mmol/L (ceci a été noté essentiellement pour des doses élevées de 180 mg/4 semaines).

Les autres effets secondaires les plus fréquemment rapportés ont été des nausées, des céphalées, des douleurs articulaires, des pharyngites et congestions nasales, des constipations, une asthénie, des diarrhées et des vomissements sans que l'imputabilité apparaisse évidente.

Il n'a pas été détecté d'anticorps anti-denosumab.

Les contre-indications à son utilisation sont une hypersensibilité à une exposition préalable et un hypoparathyroïdisme du fait du risque d'hypocalcémie.

Données cliniques préliminaires dans les métastases osseuses de cancer du sein et les myélomes

Le denosumab est actuellement dans le domaine cancérologique en cours d'évaluation dans le traitement des métastases osseuses et le myélome.

Bien que l'on dispose de biphosphonates très puissants tels le pamidronate, le zolédronate et l'ibandronate qui ont tous fait la preuve de leur efficacité pour diminuer la morbidité des métastases osseuses et des myélomes (38-41), il existe une demande pour des traitements plus efficaces, d'utilisation plus pratique

que par voie intraveineuse et mieux tolérés. Les biphosphonates peuvent en effet entraîner des nécroses de la mâchoire (42) et des insuffisances rénales (43). La néphrotoxicité de certains biphosphonates en limite leur utilisation et leur dosage (44). Les guidelines récents de l'*American Society of Clinical Oncology* sur l'utilisation des biphosphonates dans les cancers du sein n'ont pas recommandé un biphosphonate plutôt qu'un autre (45).

Body *et al.* (46) ont rapporté les résultats d'une étude multicentrique randomisée avec une double administration (sous-cutanée et intraveineuse) en double aveugle déterminant la tolérance et l'efficacité de différentes doses de denosumab chez des patient(e)s présentant un myélome ($n = 25$) ou un cancer du sein ($n = 29$), avec des lésions osseuses confirmées radiologiquement. Les patient(e)s recevaient soit une dose unique de denosumab (0,1 ; 0,3 ; 1 ou 3 mg/kg en sous-cutané) soit 90 mg de pamidronate. L'effet sur la résorption osseuse était analysé par les modifications des taux urinaires et sériques du N-télopeptide. À la suite d'une injection de denosumab, les taux sériques et urinaires diminuaient dans les 24 heures pour une durée pouvant se prolonger jusqu'à 84 jours pour les doses les plus élevées. La diminution des marqueurs de *turn over* osseux était similaire en magnitude à celui du pamidronate mais plus prolongée. Au plan pharmacocinétique, les demi-vies moyennes du denosumab étaient de 33,3 et 46,3 jours pour les deux doses les plus élevées.

Peterson (47) a rapporté les analyses de cinq cohortes de 40 patientes qui recevaient soit 30 mg, 120 mg, 180 mg SC toutes les quatre semaines, soit 60 mg ou 180 mg toutes les douze semaines. Le dosage de N-télopeptide urinaire constituait le critère de jugement principal. Les résultats basés sur les données pharmacocinétiques (PK), pharmacodynamiques (PD) et de tolérance ont suggéré que la dose de 120 mg toutes les quatre semaines constituait la dose recommandée pour les études de phase III.

Lipton *et al.* (48) ont rapporté également à l'ASCO 2006 les résultats de l'analyse intermédiaire de cette étude de 255 patientes présentant un cancer du sein avec métastases osseuses non traitées antérieurement par biphosphonates IV réparties en cinq cohortes de denosumab comparé à une cohorte traitée par biphosphonate IV. Il a été montré que le denosumab entraînait une suppression rapide et durable du *turn over* osseux au moins aussi efficace que le traitement par biphosphonate avec un bon profil de tolérance.

Perspectives

En cancérologie, les perspectives en cours de développement concernent le traitement de la perte osseuse en rapport avec une hormonothérapie suppressive, la prévention d'événements osseux des cancers avancés avec métastases osseuses et des myélomes, la prolongation de la survie sans métastases osseuses chez les patients présentant un cancer de prostate hormono-réfractaire. Les essais contrôlés en cours sont listés dans le tableau I.

Le cancer du sein représente un axe de développement privilégié, les études randomisées étant focalisées sur :

- le traitement de première ligne de cancers avec métastases osseuses en comparaison avec le zolédronate ;
- la correction de la perte osseuse des patientes présentant un cancer non métastatique traité par une anti-aromatase.

Le cancer de prostate, bien que les métastases soient essentiellement condensantes, fait l'objet de nombreuses études de phase III basées sur un rationnel fort :

- le denosumab pourrait interférer avec la croissance des cellules tumorales et leur activité métastatique, une expression de RANK ayant été rapportée dans des tumeurs primaires et des métastases de cancer de prostate (49). Chen *et al.* (23) ont pu également montrer que l'expression de RANK/ RANKL/OPG était faible dans les cellules prostatiques normales et élevée dans des lignées de cancer de prostate et sur des biopsies de tumeurs primaires. Cette expression était encore plus marquée dans les formes métastatiques, son importance étant aussi corrélée avec le score de Gleason, le stade TNM, le statut hormonal, et le taux de PSA ;

- d'autres données expérimentales laissent penser qu'une augmentation de la résorption osseuse liée à la déprivation hormonale pourrait constituer un environnement favorable pour le développement des métastases osseuses. Il est possible que l'inhibition de RANKL par le denosumab rende le micro-environnement moins favorable pour le développement de métastases osseuses, pouvant permettre de prolonger chez ces patients avec un cancer de prostate hormono-résistant la survie sans métastases osseuses ;

- si, dans les cancers de prostate avec métastases osseuses, le zolédronate constitue un traitement de référence, aucun traitement n'est approuvé dans la prévention des métastases osseuses des formes en échappement hormonal biologique ;

- la durée prolongée des hormonothérapies suppressives adjuvantes est source d'une morbidité liée à l'ostéoporose justifiant l'étude évaluant l'intérêt du denosumab chez les patients avec un cancer de prostate non métastatique traité par agoniste de la LH-RH.

Il faut signaler que les données préliminaires d'une étude de phase II randomisée dans des cancers de prostate métastatiques présentant des taux élevés de N-télopeptide après avoir été traités par zolédronate sont encourageantes. Elles montrent une réduction des marqueurs de résorption osseuse équivalente ou supérieure à celle obtenue avec le zolédronate (50).

Le traitement de métastases osseuses secondaires à d'autres primitifs fait également l'objet d'investigations cliniques.

Dans les myélomes, l'inhibition de RANKL par le denosumab pourrait favoriser l'apoptose des ostéoclastes modifiant les interactions entre ostéoclastes et cellules myélomateuses.

Enfin l'utilisation du denosumab chez les sujets présentant des perturbations de la fonction rénale est également en cours d'exploration.

Conclusion

Le denosumab ouvre le champ à de nouvelles modalités d'inhibition de l'ostéolyse basées sur une meilleure connaissance des mécanismes biologiques impliqués. Sa parfaite tolérance lui confère un atout majeur. Les espoirs qu'il suscite doivent être confirmés par la preuve de son efficacité dans les études de phase III actuellement en cours, avant de trouver sa place en thérapeutique.

Références

1. Nakagawa N, Kinosaki M, Yamaguchi K, *et al.* (1998) RANK is the essential signaling receptor for osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 253: 395-400
2. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, *et al.* (1999) Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 3540-5
3. Teitelbaum SL, Ross FP (2003) Genetic regulation of osteoclast development and function. *Nav Rev Genet* 4: 638-49
4. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, *et al.* (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89: 309-19
5. Burgess TL, Qian Y, Kaufman S, *et al.* (1999) The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts. *J Cell Biol* 45: 527-38
6. Corey E, Brown LG, Kiefer JA, *et al.* (2005) Osteoprotegerin in prostate cancer bone metastasis. *Cancer Res* 65: 1710-8
7. Grimaud E, Soubigou L, Couillaud S, *et al.* (2003) Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL)/osteoprotegerin (OPG) ratio is increased in severe osteolysis. *Am J Pathol* 163: 2021-31
8. Lacey DL, Timms E, Tan HL, *et al.* (1998) Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 93:165-76
9. Dougall WC, Glaccum M, Charrier K, *et al.* (1999) RANK is essential for osteoclast and lymph node development. *Genes Dev* 13: 2412-24
10. Mizuno A, Amizuka N, Irie K, *et al.* (1998) Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun* 247: 610-5
11. Morony S, Capparelli C, Sarosi I, *et al.* (2001) Osteoprotegerin inhibits osteolysis and decreases skeletal tumor burden in syngeneic and nude mouse models of experimental bone metastasis. *Cancer Res* 61: 4432-6
12. Vanderkerken K, De Leenheer E, Shipman C, *et al.* (2003) Recombinant osteoprotegerin decreases tumor burden and increases survival in a murine model of multiple myeloma. *Cancer Res* 63: 287-9
13. Honore P, Luger NM, Sabino MA, *et al.* (2000) Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord. *Nat Med* 6: 521-8
14. Sordillo EM, Pearse RN (2003) RANK-Fc: a therapeutic antagonist for RANK-L in myeloma. *Cancer* 97: 802-12

15. Zhang J, Dai J, Qi Y, *et al.* (2001) Osteoprotegerin inhibits prostate cancer-induced osteoclastogenesis and prevents prostate tumor growth in the bone. *J Clin Invest* 107: 1235-44
16. Body JJ, Greipp P, Coleman RE, *et al.* (2003) A phase I study of AMG-0007, a recombinant osteoprotegerin construct, in patients with multiple myeloma or breast carcinoma related bone metastases. *Cancer* 97: 887-92
17. Roodman GD (2004) Mechanisms of bone metastasis. *N Engl J Med* 350: 1655-64
18. Yonou H, Ochiai A, Goya M, *et al.* (2004) Intraosseous growth of human prostate cancer in implanted adult human bone: relationship of prostate cancer cells to osteoclasts in osteoblastic metastatic lesions. *Prostate* 58: 406-13
19. Chung LW, Baseman A, Assikis V, Zhau HE (2005) Molecular insights into prostate cancer progression : the missing link of tumor microenvironment. *J Urol* 173: 10-20
20. Padalecki SS, Carreon MR, Grubbs B, *et al.* (2005) Expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB is inversely correlated with metastatic phenotype in breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 11: 162-5
21. Mundy GR (2002) Metastasis to bone: causes, consequences, and therapeutic opportunities. *Nat Rev Cancer* 2: 584-93
22. Bhatia P, Sanders MM, Hansen MF (2005) Expression of receptor activator of nuclear factor-kappaB is inversely correlated with metastatic phenotype in breast carcinoma. *Clin Cancer Res* 11: 162-5
23. Chen G, Sircar K, Aprikian A, *et al.* (2006) Expression of RANKL/RANK/OPG in primary and metastatic human prostate cancer as markers of disease stage and functional regulation. *Cancer* 289-98
24. Farrugia AN, Atkins GJ, To LB, *et al.* (2003) Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand expression by human myeloma cells mediates osteoclast formation in vitro and correlates with bone destruction in vivo. *Cancer Res* 63: 5438-45
25. Huang L, Xu J, Wood DJ, Zheng MH (2000) Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappaB in giant cell tumor of bone: possible involvement in tumor cell-induced osteoclast-like cell formation. *Am J Pathol* 156: 761-7
26. Huang L, Cheng YY, Chow LT, *et al.* (2003) Receptor activator of NF-kappaB ligand (RANKL) is expressed in chondroblastoma: possible involvement in osteoclastic giant cell recruitment. *Mol Pathol* 56: 116-20
27. Granchi D, Amato I, Battistelli L, *et al.* (2004) In vitro blockade of receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand prevents osteoclastogenesis induced by neuroblastoma cells. *Int J Cancer* 111: 829-38
28. Tada T, Jimi E, Okamoto M, *et al.* (2005) Oral squamous cell carcinoma cells induce osteoclast differentiation by suppression of osteoprotegerin expression in osteoblasts. *Int J Cancer* 116: 253-62
29. Fiumara P, Snell V, Li Y, *et al.* (2001) Functional expression of receptor activator of nuclear factor kappaB in Hodgkin disease cell lines. *Blood* 98: 2784-90
30. Brown JE, Cook RJ, Major P, *et al.* (2005) Bone turnover markers as predictors of skeletal complications in prostate cancer, lung cancer, and other solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 97: 59-69
31. Coleman RE, Major P, Lipton A, *et al.* (2005) Predictive value of bone resorption and formation markers in cancer patients with bone metastases receiving the bisphosphonate zoledronic acid. *J Clin Oncol* 23: 4925-35
32. Oefelein MG, Ricchiuti V, Conrad W, *et al.* (2002) Skeletal fractures negatively correlate with overall survival in men with prostate cancer. *J Urol* 168: 1005-7
33. Roux S, Meignin V, Quillard J, *et al.* (2002) RANK (receptor activator of nuclear factor-kappaB) and RANKL expression in multiple myeloma. *Br J Haematol* 117: 86-92
34. Terpos E, Syzlo R, Apperley JF, *et al.* (2003) Soluble receptor activator of nuclear factor kappaB ligand-osteoprotegerin ratio predicts survival in multiple myeloma: proposal for a novel prognostic index. *Blood* 102: 1064-9

35. Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, *et al.* (2004) A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 19: 1059-66
36. McClung MR, Lewiecki EM, Cohen SB, *et al.* (2006) AMG 162 Bone Loss Study Group. Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 354: 821-31
37. Rifkin WD (2006) Denosumab in postmenopausal women with low bone mineral density. *N Engl J Med* 2006 354: 2390-1
38. Hortobagyi GN, Theriault RL, Porter L, *et al.* (1996) Efficacy of pamidronate in reducing skeletal complications in patients with breast cancer and lytic bone metastases. Protocol 19 Aredia Breast Cancer Study Group. *N Engl J Med* 335: 1785-91
39. Body JJ, Diel IJ, Lichinitser MR, *et al.* (2003) Intravenous ibandronate reduces the incidence of skeletal complications in patients with breast cancer and bone metastases. *Ann Oncol* 14: 1399-405
40. Saad F, Gleason DM, Murray R, *et al.* (2004) Zoledronic Acid Prostate Cancer Study Group. Long-term efficacy of zoledronic acid for the prevention of skeletal complications in patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *J Natl Cancer Inst* 96: 879-82
41. Berenson JR, Lichtenstein A, Porter L, *et al.* (1996) Efficacy of pamidronate in reducing skeletal events in patients with advanced multiple myeloma. Myeloma Aredia Study Group. *N Engl J Med* 334: 488-93
42. Ruggiero SL, Mehrotra B, Rosenberg TJ, Engroff SL (2004) Osteonecrosis of the jaws associated with the use of bisphosphonates: a review of 63 cases. *J Oral Maxillofac Surg* 62: 527-34
43. Markowitz GS, Fine PL, Stack JJ, *et al.* (2003) Toxic acute tubular necrosis following treatment with zoledronate (Zometa). *Kidney Int* 64: 281-9
44. Chang JT, Green L, Beitz J (2003) Renal failure with the use of zoledronic acid. *N Engl J Med* 349: 1676-9; discussion 1676-9
45. Hillner BE, Ingle JN, Chlebowski RT, *et al.* (2003) American Society of Clinical Oncology 2003 update on the role of bisphosphonates and bone health issues in women with breast cancer. *J Clin Oncol* 21: 4042-57
46. Body JJ, Facon T, Coleman RE, *et al.* (2006) A study of biological receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand inhibitor, denosumab, in patients with multiple myeloma or bone metastases from breast cancer. *Clin Cancer Res* 12: 1221-28
47. Peterson MC, Jang G, Kim W, *et al.* (2006) Selection of a phase III dose regimen for denosumab based on pharmacokinetic, pharmacodynamic, and safety data from multiple subcutaneous dosing regimens in breast cancer patients with bone metastases. *Proc ASCO*, Abstr 3086
48. Lipton A, Alvarado C, De Boer R, *et al.* (2006) Randomized, active-controlled study of denosumab (AMG 162) in breast cancer patients with bone metastases not previously treated with intravenous bisphosphonates. *Proc ASCO*, Abstr 512
49. Roudier M, Morrissey C, Huang L, *et al.* (2007) Immunohistochemical detection in post-mortem specimens of RANK/RANKL/OPG in prostate cancer bone and soft tissue metastases. *Proceedings of The prostate cancer symposium*, Abstr 62
50. Fizazi K, Bosserman L, Lipton A, *et al.* (2007) Phase II randomized trial of denosumab in patients with bone metastases from prostate cancer and elevated urineN-telopeptide levels after receiving zoledronic acid. *Proceedings of The prostate cancer symposium*, Abstr 272

Développement des inhibiteurs de mTOR en oncologie

M.-P. Sablin, C. Dreyer et S. Faivre

La voie de la phosphatidyl-inositol-3-kinase (PI3K) joue un rôle majeur dans les cellules, en régulant notamment la croissance cellulaire, la progression du cycle cellulaire et la survie cellulaire. La dérégulation de cette voie est impliquée dans de nombreux processus tumoraux, et représente une cible particulièrement intéressante pour les traitements anticancéreux. En aval de la PI3K, mTOR (*mammalian target of rapamycin*) est une kinase jouant un rôle de commutateur du métabolisme cellulaire. Cette kinase est la cible d'un antibiotique, la rapamycine, qui est doté de propriétés intéressantes pour traiter les cellules présentant des anomalies de cette voie de signalisation.

Voie PI3K/Akt/mTOR dans les cellules normales (fig. 1)

L'activation de la voie PI3K/mTOR se fait par l'intermédiaire de récepteurs à activité tyrosine kinase présents à la surface des cellules, dont les ligands sont multiples (interleukines 1, 2, 3, 4, 6, IGF, IGF1, IGF2, CSF, PDGF, EGF...). L'activation de ces récepteurs provoque l'autophosphorylation de leur domaine intracellulaire, ce qui entraîne une cascade d'activations intracellulaires médiées par des protéines kinases cytoplasmiques.

La PI3K est une protéine kinase constituée de deux sous-unités, P85 (sous-unité régulatrice) et P110 (sous-unité catalytique), et qui peut être activée par ces récepteurs tyrosine kinase, de façon directe ou par l'intermédiaire de la protéine Ras, elle-même activée par ces récepteurs membranaires. PI3K, comme toutes les kinases, agit en ajoutant un groupement phosphate à d'autres protéines, et son activation entraîne la formation de différents produits lipidiques, comme le phosphatidyl inositol-3-phosphate (PI3P), PI(3,4)P2, PI(3,4,5)P3. Différentes phosphatases peuvent antagoniser PI3K, comme l'anti-oncogène PTEN (*phosphatase and tensin homologue gene*).

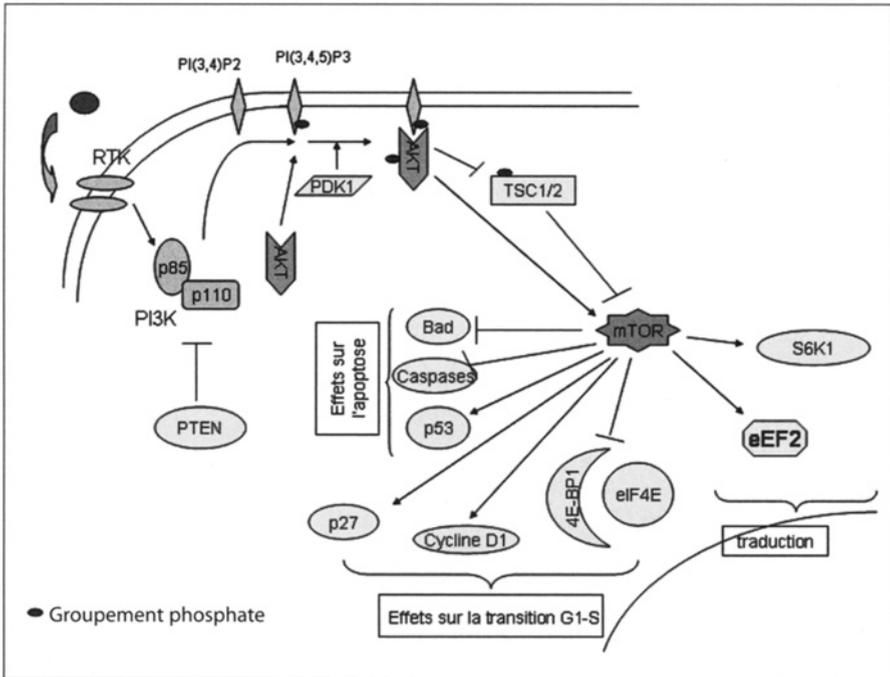


Fig. 1 – Voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR.

PI(3,4,5)P3 lie Akt (ou PKB : protéine kinase B), l’amenant au contact de la membrane cellulaire, où elle est activée par la kinase PDK1 (phosphatidylinositol 3-dépendent kinase 1). Akt a différentes cibles d’aval impliquées dans la croissance et la survie cellulaire, notamment mTOR, par l’intermédiaire de GSK3 (*glycogen synthase kinase*). Akt peut également inhiber TSC (*tuberous sclerosis*), la phosphorylation de TSC ayant pour conséquence l’inhibition de mTOR.

mTOR est une sérine/thréonine kinase régulée par le taux en acides aminés, en nutriments, en AMP, l’hypoxie, et par Akt (1, 2). Elle agit comme un commutateur du métabolisme. Elle est inhibée par la phosphatase Abl et par le complexe rapamycine-FKBP12 (FK506 *binding protein*). Elle peut former deux types de complexes, mTORC1 lorsqu’elle est liée à la protéine Raptor, et mTORC2, lorsqu’elle est liée à RICTOR (*rapamycine-insensitive companion of mTOR*), ce dernier ayant un rôle de contrôle sur la formation du cytosquelette. mTORC1, en revanche, a pour cibles d’aval 4EBP1, eEF2 et S6K1, exerçant ainsi un contrôle sur la traduction, le cycle cellulaire et l’apoptose (3, 4).

Implication de la voie PI3K/Akt/mTOR dans les fonctions cellulaires

Synthèse protéique

4EBP1, lorsqu'elle est déphosphorylée, se lie au facteur d'induction de la traduction eucaryote 4E (eIF4E), ce qui a pour conséquence la répression de la traduction de protéines nécessaires à la progression du cycle de la phase G1 à la phase S. Ce complexe se dissocie lorsque 4EBP1 est phosphorylé, par exemple par mTOR lorsque les conditions sont compatibles avec le passage en phase S. eIF4E se lie alors à d'autres facteurs d'induction (eIF4G, eIF4A et eIF4B), formant alors le complexe eIF4F, qui permet la transcription d'ARNm et la traduction de protéines, notamment cMYC, la cycline D1, ou l'ornithine décarboxylase (5-7).

S6K1, ou p70S6K, est une sérine-thréonine kinase, inhibée par mTOR. Lorsque mTOR est phosphorylée, son effet inhibiteur est levé, et p70S6K va recruter la sous-unité ribosomale 40S, permettant la formation de polysomes et la traduction d'ARNm en protéines ribosomales, facteurs d'élongation, IGF2... S6K1 peut être activé par d'autres voies n'impliquant pas mTOR, par l'intermédiaire de PDK1, MAPK (*mitogen activated protein kinase*), ou SAPK (*stress-activated protein kinase*) (8).

Régulation du cycle cellulaire

La GSK3 β (*glycogen synthase kinase*) est une kinase jouant un rôle dans la destruction protéique par la voie du protéasome, notamment celle de la cycline D1. La phosphorylation de GSK3 β entraîne son inhibition et donc une accumulation de cycline D1 dans la cellule, permettant la transition de la phase G1 à la phase S.

Le facteur d'élongation eucaryote eEF2, également régulé par mTOR, active la traduction d'ARNm essentiels à la transition de la phase G1 à la phase S (9).

Par ailleurs, Akt favorise la transition de la phase G2 à M par inhibition de la kinase Myt1 et en empêchant l'importation de p27, un inhibiteur du cycle cellulaire (10).

Survie cellulaire

La voie de la PI3K a un rôle anti-apoptotique par inhibition de facteurs pro-apoptotiques comme Bad, un membre de la famille Bcl2 (11), ou la caspase 9. Akt peut également phosphoryler Fkhr1, un facteur de transcription qui, à l'état phosphorylé, se localise dans le cytoplasme, empêchant la transcription

de gènes intervenant dans le déclenchement de l'apoptose (Bim ou le ligand de Fas par exemple) (12).

Dans les cellules tumorales (tableau I)

Dans les cellules tumorales, la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR peut être activée de manière constitutionnelle par différents mécanismes pouvant être intriqués, l'activation de mTOR favorisant la croissance et la multiplication cellulaire. Toutes les étapes de cette voie de signalisation peuvent être dérégulées et être impliquées dans l'oncogenèse de différentes tumeurs.

Tableau I – Anomalies de régulation de la voie de signalisation PI3K/Akt/mTOR dans les tumeurs humaines.

Protéine	Anomalie(s) observée(s)	Type de tumeur
K-Ras Récepteur à tyrosine kinase P110	Mutation activatrice Activation du récepteur Amplification du gène Mutation du gène	Pancréas, estomac, côlon Nombreuses tumeurs VADS, ovaire Tumeurs gastro-intestinales, cérébrales
P85 PTEN	Mutation du gène Mutation du gène, délétion ou méthylation du promoteur (perte de fonction)	Côlon, ovaire Endomètre, glioblastome, thyroïde, CHC, syndrome de Cowden
Akt TSC1/2 4EBP1 et eIF4E	Amplification du gène Surexpression du gène Mutation du gène Amplification du gène Surexpression protéique	Sein, ovaire, côlon Ovaire, sein Syndrome TSC Sein Adénocarcinome, carcinome épidermoïde Sein, ovaire
S6K1	Amplification du gène	

CHC : carcinome hépato-cellulaire ; eIF4E : facteur d'initiation eucaryote ; 4EBP1 : *eIF4E-binding protein* ; PTEN : *phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome 10* ; TSC : *tuberous sclerosis* ; VADS : voies aéro-digestives supérieures.

Les récepteurs à activité tyrosine kinase sont surexprimés dans un grand nombre de cellules cancéreuses, notamment les récepteurs de la famille des *epidermal growth factors* (HER1-4), des récepteurs à PDGF (PDGFR), ou à IGF (IGFR). On peut également retrouver une surexpression des ligands de ces récepteurs. Par ailleurs, des mutations de Ras peuvent se voir dans un certain nombre de tumeurs digestives (pancréas, côlon, estomac). Dans tous les cas, ces mutations entraînent une suractivation de PI3K, et de ses cibles d'aval (13). Les anomalies de cette voie de signalisation semblent également pouvoir être dans un certain nombre de cas corrélées au pronostic ou au stade de la maladie.

PTEN est un antagoniste de PI3K. En son absence, on observe de forts taux cellulaires de phospho-Bad (qui perd ses propriétés apoptotiques), de phospho-

Akt (forme active de Akt), ce qui entraîne une augmentation de la survie cellulaire, et une augmentation de l'activation de PI3K. Des anomalies de PTEN peuvent se voir sous forme de mutations inactivatrices, de délétions, ou de perte d'expression dans les tumeurs endométriales, du sein, de la vessie, du poumon, de l'ovaire, du côlon, les mélanomes malins, les glioblastomes, les cancers de la prostate. La maladie de Cowden, ou syndrome des hamartomes multiples, est un syndrome où l'on retrouve des mutations germinales de PTEN, ce qui entraîne chez ces patients un risque élevé de développer un cancer du sein ou de la thyroïde.

Des mutations activatrices de PI3K se voient dans les tumeurs du côlon, de l'estomac, du sein, de l'ovaire, du poumon, et les glioblastomes, et les mutations amplificatrices dans les cancers de l'ovaire, du col et des voies aéro-digestives supérieures.

En revanche, on notera qu'aucune mutation de mTOR n'a été décrite jusqu'à ce jour.

En aval de mTOR, une surexpression de eIF4E peut à elle seule entraîner une transformation cellulaire, ce qui peut se voir dans les cancers du sein. Un faible taux de eIF4E ou 4EBP1 peut être responsable d'une résistance à la rapamycine. Par ailleurs, des amplifications de S6K1 se voient dans les tumeurs du sein et de l'ovaire (14).

Inhibition de mTOR

Quatre molécules inhibitrices de mTOR sont actuellement disponibles : la rapamycine, le chef de file et ses analogues le CCI 779, le RAD001 et le AP23573.

Rapamycine

La rapamycine, ou sirolimus, est un antibiotique qui a initialement été utilisé pour ses propriétés antifongiques contre les *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*, et *Aspergillus fumigatus* (15). Elle a ensuite été utilisée comme immunosuppresseur dans le traitement antirejet des greffes rénales, en association à la ciclosporine (16) puis en cardiologie dans la prévention des resténoses coronariennes après la pose de stent (17). Ce n'est que récemment que les propriétés anticancéreuses de cette molécule ont été mises en évidence (18, 19). Cependant, la rapamycine ne possédant pas une bonne hydrosolubilité, trois analogues : le CCI 779 (temsirolimus), le RAD001 (everolimus) et l'AP23573 ont été développés avec un meilleur profil pharmacologique.

Analogues de la rapamycine

Le CCI779, le RAD001 et l'AP23573, les trois dérivés de la rapamycine, partagent la même structure centrale que la rapamycine mais le macrocycle lactonique a été remplacé par un élément permettant une administration soit intraveineuse soit orale.

Tableau II – Caractéristiques des trois analogues de la rapamycine.

	CCI779	RAD001	AP23573
Mode d'administration	Intraveineux et oral	Oral	Intraveineux ou oral
Dose schéma d'administration	7,5-220 mg/m ² / semaine 0,75-19,1/m ² /j x 5 j, toutes les 2 semaines	5-30mg/semaine	6,25-100 mg/semaine 3-28 mg/j x 5 j toutes les 2 semaines 40 mg <i>per os</i> 5 j/7
Pharmacocinétique	T _{1/2} : 15,2-17,3 heures (CCI) 61-69 heures (sirolimus)	T _{1/2} : 26-38 heures	T _{1/2} : 39-52h
Toxicité	Cutanéomuqueuse : mucite, folliculite aseptique, rash maculopapulaire, xérodermie Anorexie Asthénie Digestive : nausées, vomissements Hématologique : thrombopénie Lipidique : hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie Hépatique : augmentation des transaminases	Cutanéomuqueuse : mucite, rash Anorexie Asthénie Céphalée Lipidiques : hypercholestérolémie et triglycéridémie Hématologiques : leucothrombopénie.	Cutanéomuqueuse : mucite, rash Anorexie Asthénie Digestive : nausées, diarrhées Hématologique : anémie, leucothrombopénie Lipidique : hypercholestérolémie, hypertriglycéridémie Hépatique : augmentation des transaminases

T 1/2 : temps de demi-vie

Ainsi, le CCI779 est un dérivé ester de la rapamycine. Il peut être considéré comme un prodrogue car il est secondairement transformé en sirolimus. Cet agent, plus hydrosoluble que la rapamycine, est administré par voie orale ou par voie intraveineuse selon deux schémas : une perfusion intraveineuse hebdomadaire d'une demi-heure de 7,5 mg à 220 mg/m² (20) ou une administration quotidienne pendant cinq jours de 0,75 à 19,1 mg/m² de façon bimensuelle (21). La pharmacocinétique montre une exposition au sirolimus peu dépendante de la dose administrée de CCI779 et une demi-vie finale prolongée supérieure à 48 heures (20).

Le RAD001 ou 40-O-(2-hydroxyéthyl)rapamycine est quant à lui un analogue de la rapamycine administrable par voie orale. Sa demi-vie est comprise entre 26 et 38 heures et l'administration de 20 mg/semaine permet d'atteindre un plateau de concentration (22). Enfin, l'AP23573 est l'analogue le plus récent développé par génie informatique. Il s'administre par voie intraveineuse selon deux schémas bimensuels avec une perfusion hebdomadaire d'une demi-heure de 3 à 28 mg pendant cinq jours (23) ou hebdomadaire avec une perfusion de 30 minutes de 6,25 mg à 100 mg (24). Une forme orale est en cours d'évaluation.

Le CCI779, le RAD001 et l'AP23573 présentent le même profil de toxicité avec une asthénie, une toxicité cutanéomuqueuse, unguéale, hématologique, des perturbations du bilan lipidique. Il s'agit le plus souvent de toxicités peu sévères et réversibles. Il est par ailleurs intéressant de noter qu'aucune immunosuppression n'a été observée (20-24).

Mode d'action des inhibiteurs des mTOR

Grâce à son groupe méthoxy, la rapamycine se lie à la FKBP12 et forme un complexe qui inhibe mTOR (25). La rapamycine va ainsi agir directement sur la cellule tumorale et sur son environnement en modulant l'angiogenèse.

Action au niveau de la cellule tumorale

Comme nous l'avons évoqué précédemment, certaines lignées cellulaires tumorales présentent une activation intrinsèque de la voie PI3K/Akt/mTOR. Leur exposition à un inhibiteur de mTOR permet de restaurer le contrôle de cette voie. En effet, ces molécules bloquent la liaison entre raptor et mTOR, nécessaire à la phosphorylation de la 4EBP1 et du S6K1. Leur inactivation est à l'origine d'une diminution de la synthèse protéique participant à la croissance et la mobilité cellulaire (26) ainsi que d'un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 par diminution de la synthèse de la cycline D1, et une augmentation de la protéine p27 (27). De plus, une induction de l'apoptose cellulaire a été mise en évidence dans certaines lignées. Le mécanisme n'est pas clairement élucidé, cependant il semble que les inhibiteurs de mTOR, *via* l'inactivation de S6K1, soient à l'origine d'une activation indirecte de la protéine pro-apoptotique BAD (28).

Action anti-angiogénique

La voie PI3K/Akt/mTOR est intimement liée à l'angiogenèse. En effet, elle peut, d'une part, être activée par les différents acteurs de l'angiogenèse que sont les

facteurs de croissance vasculaires endothéliaux (VEGF, PDGF, bFGF, ANG1-2), les molécules de signalisation intracellulaire (NOTCH1, COUP TF-II) ou encore les molécules favorisant les contacts intercellulaires (VCAM1) (29). D'autre part, en cas d'hypoxie, mTOR et PTEN favorisent l'activation du facteur de transcription HIF1 (*hypoxia inducible factor*) et l'expression de facteurs de croissance vasculaire endothéliaux (30, 31). Du fait de ces interactions, les inhibiteurs de mTOR exercent une action anti-angiogénique.

Essais cliniques de phase II et III

Des résultats particulièrement intéressants ont été obtenus dans trois localisations : les tumeurs endométriales, les tumeurs rénales et les lymphomes du manteau.

En phase II, dans les récurrences ou les évolutions métastatiques des cancers de l'endomètre, l'administration hebdomadaire de CCI 779 a permis d'obtenir sur 19 patients évaluable 31 % de réponses partielles et une stabilisation de la maladie dans 63 % des cas. Il s'agit de résultats particulièrement intéressants car les possibilités thérapeutiques sont minces dans cette indication (32).

Les lymphomes du manteau se caractérisent par une translocation t(11;14)(q13;q32) qui est responsable d'une hyperexpression de la cycline D1. Le CCI 779, en inhibant mTOR, inhibe la traduction de la cycline D1. Dans les rechutes des lymphomes du manteau, l'administration de CCI 779 a ainsi permis d'observer un excellent taux de réponse global de 38 % avec une médiane de durée de réponse de six mois (33).

Enfin Hudes *et al.* ont réalisé une étude de phase III en première ligne métastatique de cancer du rein chez 626 patients de mauvais pronostic. Ils ont comparé trois bras : l'interféron alpha et le CCI 779 en monothérapie et leur association. La survie sans progression était significativement augmentée chez les patients traités par CCI 779 en monothérapie ou en association par rapport à celle des patients traités par interféron α seul. Cependant, seuls les patients traités uniquement par le CCI 779 avaient une amélioration de leur survie globale (10,9 mois *versus* 7,3 mois pour l'interféron en monothérapie) (34). À la suite de cet essai, le temsirolimus (Torisel®) a récemment reçu l'autorisation de mise sur le marché en première ligne dans le carcinome rénal à cellules claires avancé pour les patients ayant des facteurs de mauvais pronostic.

En dehors de ces indications, l'utilisation des trois dérivés de la rapamycine n'a pas mis en évidence d'activité selon les doses et schémas utilisés. Que ce soit dans les glioblastomes (35), les cancers mammaires (36) ou les carcinomes neuroendocrines (37), le CCI 779 ne permet pas d'obtenir plus de 10 % de réponses objectives. De plus, les résultats préliminaires de phase II évaluant le RAD001 ou l'AP23573 en monothérapie dans les GIST (38) ou autres sarcomes (39) sont tout aussi décevants.

Vers de nouvelles modalités de prises en charge thérapeutiques

Malgré les bons résultats obtenus dans les cancers rénaux, de l'endomètre et les lymphomes du manteau, les taux de réponse observés dans les autres localisations restent dans l'ensemble insuffisants. Il apparaît donc important de redéfinir de nouvelles stratégies d'associations à d'autres thérapeutiques et de développer des outils permettant de mieux définir la population cible et d'évaluer précocement ces thérapeutiques.

« *Surrogates markers* » ou marqueurs précoces d'activité

Depuis de nombreuses années, l'identification de marqueurs précoces d'activité est un enjeu majeur. En effet, ils permettraient une évaluation rapide des thérapeutiques utilisées.

Dans le cadre des inhibiteurs de mTOR, deux molécules ont été largement étudiées, il s'agit de S6K1 et de 4E BP1 (40). Ces molécules agissent en aval de mTOR et leur taux de phosphorylation s'avère être corrélé à l'activité de mTOR : l'inhibition de mTOR est associée à une diminution des formes phosphorylées de ces molécules. D'autres marqueurs étant nécessaires, la cycline D1 ou des marqueurs d'apoptose ou d'angiogenèse devraient faire l'objet d'explorations.

Facteurs prédictifs de réponse

Un autre élément primordial à notre stratégie de prise en charge est l'identification des types tumoraux susceptibles de répondre aux traitements administrés. Mais la mise en évidence des facteurs prédictifs de réponse aux inhibiteurs de mTOR est complexe. L'expression de mTOR étant ubiquitaire, la sensibilité ou la résistance à la rapamycine et ses dérivés ne peut être prédite uniquement en fonction de la présence ou non de la protéine cible mTOR. Seule une analyse fine de l'état d'activation de l'ensemble de la voie de signalisation pourrait amener un élément de réponse.

La perte de l'expression de PTEN (41) et l'état de phosphorylation d'Akt, S6K1 ou 4E-BP1 (42) sont les principales pistes étudiées et il semblerait que la perte d'expression de PTEN soit associée à une activation de la voie PI3K/Akt/mTOR.

Des approches multicibles

Afin de contourner l'apparition de résistance secondaire, le blocage simultané de plusieurs voies de signalisation semble une piste intéressante. De nombreuses constatations précliniques et cliniques sont en faveur d'associations d'inhibiteurs de mTOR à d'autres thérapies ciblées mais aussi à des cytotoxiques « classiques » ou à une hormonothérapie.

Ainsi, dans les cancers épidermoïdes, la résistance au cisplatine fait intervenir la voie Akt ainsi qu'une autre voie de signalisation Ras/MEK/ERK (43). Ce constat est donc un bon rationnel pour l'association d'un inhibiteur de mTOR et de cisplatine.

Dans les cancers du sein, il a été observé que la résistance au trastuzumab (anticorps anti-VEGF) pourrait être en rapport avec une perte de fonction de PTEN (44). Un blocage précoce de la voie PI3K préviendrait donc cette perte de fonction et la résistance à l'herceptine.

Enfin, dans les cancers bronchopulmonaires non à petites cellules, la résistance au gefitinib (inhibiteur de tyrosine kinase) est liée à une augmentation de la phosphorylation d'Akt et une diminution d'expression de PTEN (45).

Cependant, les tentatives d'association des inhibiteurs de mTOR actuellement disponibles avec la chimiothérapie se sont soldées par une majoration des toxicités liées à celle-ci. Les futurs développements devront donc tenir compte des interactions potentielles entre composés de diverses classes thérapeutiques.

Conclusion

La voie PI3K/Akt/mTOR est une voie de signalisation importante dont des anomalies ont été retrouvées dans de multiples cancers. À l'heure actuelle, les inhibiteurs de mTOR n'ont montré leur intérêt que dans les cancers du rein, de l'endomètre et les lymphomes du manteau, mais ces molécules pourraient voir leurs indications s'élargir dans les années à venir. En effet, grâce au développement de facteurs prédictifs de réponse, elles seront administrées à une population cible, susceptible de répondre à ce traitement. De plus, l'avènement de stratégies multicibles afin de contourner les résistances pourrait être à l'origine d'association à des thérapies ciblées mais aussi à des cytotoxiques classiques ou à une hormonothérapie élargissant leurs spectres d'action. Les inhibiteurs de mTOR devraient donc connaître un développement important et faire ainsi partie des thérapeutiques clés de l'oncologie de demain.

Références

1. Edinger AL, Thompson CB (2002) Akt maintains cell size and survival by increasing mTOR-dependent nutrient uptake. *Mol Biol Cell* 13: 2276-88
2. Dennis PB, Jaeschke A, Saitoh M, *et al.* (2001) Mammalian TOR: a homeostatic ATP sensor. *Science* 294: 1102-5
3. Guertin DA, Sabatini DM (2005) An expanding role for mTOR in cancer. *Trends Mol Med* 11: 353-61
4. Martin DE, Hall MN (2005) The expanding TOR signaling network. *Curr Opin Cell Biol* 17: 158-66
5. Easton JB, Kurmasheva RT, Houghton PJ (2006) IRS-1: auditing the effectiveness of mTOR inhibitors. *Cancer Cell* 9: 153-5
6. Gingras AC, Kennedy SG, O'Leary MA, *et al.* (1998) 4E-BP1, a repressor of mRNA translation, is phosphorylated and inactivated by the Akt (PKB) signaling pathway. *Genes Dev* 12: 502-13
7. Heesom KJ, Denton RM (1999) Dissociation of the eukaryotic initiation factor-4E/4E-BP1 complex involves phosphorylation of 4E-BP1 by an mTOR associated kinase. *FEBS Lett* 457: 489-93
8. Hara K, Yonezawa K, Weng QP, *et al.* (1998) Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70S6 kinase and eIF-4^E BP1 through a common effector mechanism. *J Biol Chem* 273: 14484-94
9. McLeod LE, Proud CG (2002) ATP depletion increases phosphorylation of elongation factor eEF2 in adult cardiomyocytes independently of inhibition of mTOR signalling. *FEBS Lett* 531: 448-52
10. Okumura E, Fukuhara T, Yoshida H (2002) Akt inhibits Myt1 in the signalling pathway that leads to meiotic G2/M-phase transition. *Nat Cell Biol* 4: 111-6
11. Li B, Desai SA, MacCorkle-Chosnek RA, *et al.* (2002) A novel conditional Akt "survival switch" reversibly protects cells from apoptosis. *Gene Ther* 9: 233-44
12. Brunet A, Bonni A, Zigmond MJ, *et al.* (1999) Akt promotes cell survival by phosphorylating and inhibiting a Forkhead transcription factor. *Cell* 96: 857-68
13. Rodriguez-Viciana P (1994) Phosphatidylinositol-3-OH kinase as a direct target of Ras. *Nature* 370: 527-32
14. Faivre S, Kroemer G, Raymond E (2006) Current development of mTOR inhibitors as anticancer agents. *Nature* 5: 671-88
15. Vezina C, Kudelski A, Sehgal SN (1975) Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. I. Taxonomy of the producing streptomycete and isolation of the active principle. *J. Antibiot* 28: 721-726
16. Kahan BD (2003) Optimization of cyclosporine therapy. *Transplant Proc* 25: 5-9
17. Sousa JE, Sousa AG, Costa MA, *et al.* (2003) Use of rapamycin-impregnated stents in coronary arteries. *Transplant Proc* 35: 165S-170S
18. Hosoi H, Dilling MB, Shikata T, *et al.* (1999) Rapamycin causes poorly reversible inhibition of mTOR and induces p53-independent apoptosis in human rhabdomyosarcoma cells. *Cancer Res* 59: 886-94
19. Shi Y, Frankel A, Radvanyi LG, *et al.* (1995) Rapamycin enhances apoptosis and increases sensitivity to cisplatin in vitro. *Cancer Res* 55: 1982-8
20. Raymond R, Alexandre J, Faivre S, *et al.* (2004) Safety and pharmacokinetics of escalated doses of weekly intravenous infusion of CCI-779, a novel mTOR inhibitor, in patients with cancer. *J. Clin Oncol* 16: 2336-47
21. Hidalgo M, Rowinsky E, Erlichman C, *et al.* (2000) CCI-779, a rapamycin analog and multifaceted inhibitor of signal transduction: a phase I study. *Proc Am Soc Clin Oncol* 19: 187a, A726

22. O'Donnell A, Faivre S, Judson I, *et al.* (2003) A phase I study of the oral mTOR inhibitor RAD001 as monotherapy to identify the optimal biologically effective dose using toxicity, pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamic (PD) endpoints in patients with solid tumors. *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: A803
23. Mita M, Rowinsky E, Goldston M *et al.* (2004) Phase I, pharmacokinetic (PK), and pharmacodynamic (PD) study of AP23573, an mTOR Inhibitor, administered IV daily 5 every other week in patients (pts) with refractory or advanced malignancies. *Proc Am Soc Clin Onco* 46: A3076
24. Desai AA, Janisch L, Berk LR, *et al.* (2004) A phase I trial of a novel mTOR inhibitor AP23573 administered weekly (wkly) in patients (pts) with refractory or advanced malignancies: A pharmacokinetic (PK) and pharmacodynamic (PD) analysis. *Proc Am Soc Clin Onco* 46: A3150
25. Sehgal SN, Baker H, Vezina C (1975) Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. II. Fermentation, isolation and characterization. *J Antibiot* 28: 727-32
26. Seufferlein T, Rozengurt E (1996) Rapamycin inhibits constitutive p70s6k phosphorylation, cell proliferation, and colony formation in small cell lung cancer cells. *Cancer Res* 56: 3895-7
27. Wiederrecht GJ, Sabers CJ, Brunn GJ, *et al.* (1995) Mechanism of action of rapamycin : new insights into the regulation of G1-phase progression in eukaryotic cells. *Prog Cell Cycle Res* 1: 53-71
28. Huang S, Liu LN, Hosoi H, *et al.* (2001). P53/p21 (CIP1) cooperate in enforcing rapamycin-induced G (1) arrest and determine the cellular response to rapamycin. *Cancer Res* 61: 3373-81
29. Guba, M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, *et al.* (2002) Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nature Med* 8: 128-35
30. Humar R, Kiefer FN, Berns H, *et al.* (2002) Hypoxia enhances vascular cell proliferation and angiogenesis in vitro via rapamycin (mTOR)-dependent signaling. *FASEB J* 16: 771-80
31. Arsham AM, Plas, DR, Thompson CB, *et al.* (2002) Phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling is neither required for hypoxic stabilization of HIF-1 α nor sufficient for HIF-1-dependent target gene transcription. *J Biol Chem* 277: 15162-70
32. Oza AM (2005) A phase II study of temsirolimus (CCI-779) in patients with metastatic and/or locally recurrent endometrial cancer. *Proc 17th Symp Mol Targets Cancer Thera* 197: 269
33. Witzig TE, Geyer SM, Ghobrial I, *et al.* (2005) Phase II trial of single-agent temsirolimus (CCI-779) for relapsed mantle cell lymphoma. *J Clin Oncol* 23: 5347-56
34. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, *et al.* (2007) Temsirolimus, interferon alpha, or both in advanced Renal-cell carcinoma. *N Eng J Med* 31; 356(22): 2271-81
35. Chang SM, Wen P, Cloughesy T, *et al.* (2005) Phase II study of CCI-779 in patients with recurrent glioblastoma multiforme. *Invest. New Drugs* 23: 357-61
36. Chan S, Scheulen ME, Johnston S, *et al.* (2005) Phase II study of temsirolimus (CCI-779), a novel inhibitor of mTOR, in heavily pretreated patients with locally advanced or metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 23: 5314-22
37. Duran I, Le L, Saltman D, *et al.* (2005) A phase II trial of temsirolimus in metastatic neuroendocrine carcinoma. *Proc Am Soc Clin Oncol* 24: A146
38. von Oosterom A, Reichardt P, Blay J, *et al.* (2005) A phase I/II trial of the oral mTOR-inhibitor everolimus (E) and imatinib mesylate (IM) in patients (pts) with gastrointestinal stromal tumor (GIST) refractory to IM: study update. *Proc Am Soc Clin Oncol* 24: 9033
39. Chawla SP (2005) A phase II trial of AP23573, a novel mTOR inhibitor, in patients (pts) with advanced soft tissue or bone sarcoma. *Proc 17th Symp Mol Targets Cancer Thera* 268: 272
40. Boulay A, Zumstein-Mecker S, Stephan C, *et al.* (2004) Antitumor efficacy of intermittent treatment schedules with the rapamycin derivative RAD001 correlates with prolonged

- inactivation of ribosomal protein S6 kinase 1 in peripheral blood mononuclear cells. *Cancer Res* 64: 252-61
41. Neshat MS, Mellinghoff IK, Tran C, *et al.* (2001) Enhanced sensitivity of PTEN-deficient tumors to inhibition of FRAP/mTOR. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 10314-9
 42. Xu G, Zhang W, Bertram P, *et al.* (2004) Pharmacogenomic profiling of the PI3K/PTEN-AKT-mTOR pathway in common human tumors. *Int J Oncol* 24: 893-900
 43. Aoki K, Ogawa T, Ito Y, Nakashima S (2004) Cisplatin activates survival signals in UM-SCC-23 squamous cell carcinoma and these signal pathways are amplified in cisplatin-resistant squamous cell carcinoma. *Onc Rep* 11: 375-9
 44. Nagata Y, Lan KH, Zhou X, *et al.* (2004) PTEN activation contributes to tumor inhibition by trastuzumab, and loss of PTEN predicts trastuzumab resistance in patients. *Cancer Cell* 6: 117-27
 45. Kokubo Y, Gemma A, Noro R, *et al.* (2005) Reduction of PTEN protein and loss of epidermal growth factor receptor gene mutation in lung cancer with natural resistance to gefitinib (IRESSA). *Br J Cancer* 92: 1711-9

Nouvelles approches dans les thérapies ciblées : les récepteurs des facteurs de croissance de type insuline (IGF) et les cyclines

J. Fayette, B. Fleury et J.-Y. Blay

Introduction

Depuis la fin des années 1990, l'arsenal anticancéreux s'est enrichi d'une nouvelle famille de molécules, les thérapies ciblées. Elles résultent des progrès de la biologie qui ont permis de mieux appréhender les molécules et les voies de signalisation prépondérantes dans les cellules tumorales. Ainsi, les avancées thérapeutiques ne reposent plus sur une approche empirique comme pour les cytotoxiques conventionnels mais sur une véritable ingénierie pour bloquer les cibles déterminées par la recherche fondamentale. La connaissance fine des phénotypes tumoraux et les thérapies ciblées permettent de proposer de véritables traitements à la carte aux patients. La présente revue se focalise sur deux nouvelles voies en cours d'exploration et porteuses d'espoir : la voie du récepteur du facteur de croissance de type insuline (IGF1R) et le ciblage des cyclines impliquées dans le cycle cellulaire.

Insulin-like growth factor receptors de type I (IGF1R)

Structure moléculaire et physiologie (1)

IGF1R est un hétérodimère (2 sous-unités α et sous-unités β) de glycoprotéines de la famille des récepteurs à tyrosine kinases. La sous-unité α , extra-cellulaire, se lie aux ligands, IGF1 avec une forte affinité et IGF2 avec une affinité plus faible. La sous-unité α du récepteur, transmembranaire et intracellulaire, porte la fonction tyrosine kinase et initie la cascade de transduction du signal. IGF1R ne possède pas de portion intracellulaire. La structure des IGF1R, surtout la sous-unité β , est proche de celle des récepteurs à l'insuline. Ainsi les thérapies ciblant IGF1R

devront être très spécifiques, et seules des molécules répondant à ce critère seront sélectionnées pour un éventuel développement. En effet, il est hors de question d'interagir avec le métabolisme glucidique dont les perturbations sont responsables de nombreuses pathologies comme le diabète ou les hypoglycémies.

Le lien des IGF sur leurs récepteurs est modulé par les IGF *binding proteins* (IGFBP) dont il existe six isoformes. Leur rôle est complexe car elles augmentent la demi-vie des IGF et donc leur effet biologique mais, comme leur affinité pour les IGF est très supérieure à celle des IGFR, elles peuvent séquestrer les IGF et exercer un contrôle négatif.

Le lien du ligand à l'IGF1R induit une modification conformationnelle du récepteur et une auto-phosphorylation des trois résidus tyrosine kinase en position 1131, 1135 et 1136 de chacune des sous-unités β . Cette phosphorylation initie la transduction du signal *via* les voies de la MAPK (Ras/Raf/*Mitogen Activated Protein Kinase*) et de la PI3K-protein kinase B (PKB). IGF1R n'est pas un oncogène en tant que tel, mais il régule positivement la prolifération, la différenciation, la survie cellulaire, et favorise les métastases en modulant l'adhésion et le cytosquelette donc la migration cellulaire.

Les IGF1 et IGF2 sont produites dans le foie essentiellement et ont une action endocrine sur les cellules tumorales. IGF1, mais pas IGF2, est régulée

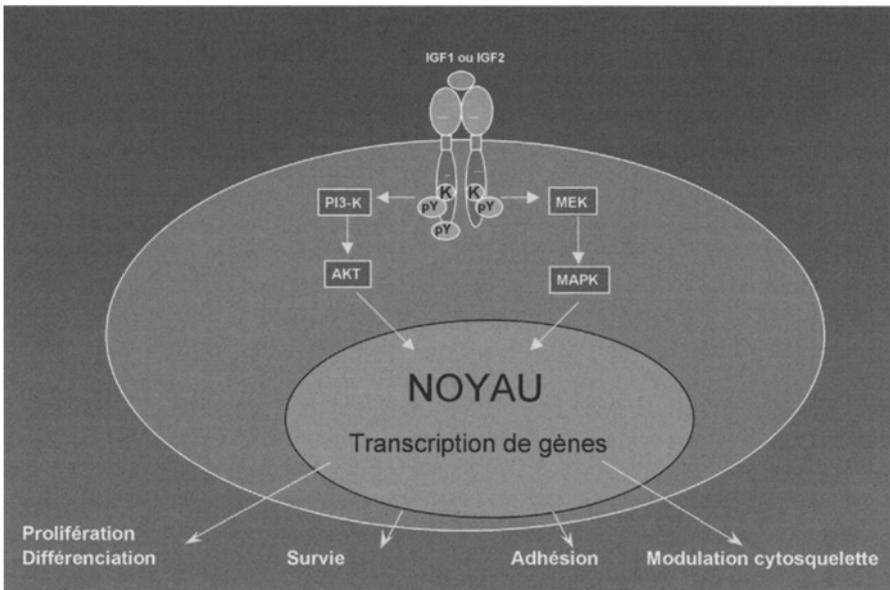


Fig. 1 – Représentation de l'IGF1R et transmission du signal. Le lien du ligand sur le récepteur entraîne une phosphorylation des unités transmembranaires et intracellulaires permettant l'activation des voies PI3K et MAPK. Cela aboutit à la transcription de gènes impliqués dans la prolifération cellulaire, la différenciation, la survie et les métastases par la modulation de l'adhésion et du cytosquelette. Les anticoprs agissent sur la portion extracellulaire alors que les inhibiteurs de tyrosine kinases agissent sur les kinases intracellulaires.

par l'hormone de croissance. Il n'a pas été observé de corrélation significative claire entre les taux circulants d'IGF et la survenue de cancers car il existe une sécrétion paracrine des IGF au sein de la tumeur.

Des données expérimentales ont montré l'effet antitumoral des traitements dirigés contre IGF1R, permettant le développement de thérapies ciblées, d'autant plus que de nombreux cancers (mammaires, colorectaux, pulmonaires, prostatiques...) surexpriment les IGF1R et/ou ont une activité IGF1R augmentée (2, 3). L'expression de IGF1R est ubiquitaire dans l'organisme et le développement de tels inhibiteurs devra être vigilant en ce qui concerne les toxicités. En effet, cette voie est impliquée dans la croissance des enfants ou dans la survie des neurones ou des myocytes (4).

Comme pour les autres types de thérapies ciblées, le blocage de la voie visée peut se faire à l'aide d'anticorps monoclonaux anti-IGF1R qui empêchent la liaison IGF1 ou 2 (endocrine et paracrine) avec l'IGF1R, ou d'inhibiteurs de tyrosine kinases qui bloquent l'initiation de la transduction du signal. Pour l'essentiel, ces molécules sont encore en cours de développement.

Anticorps anti-IGF1R

En 2008, 5 Ac-anti IGF1R sont en développement clinique. Nous rapportons ici quelques résultats précliniques.

EM164 est un des premiers anticorps murins démontrant une efficacité *in vitro* (2). Il empêche la transautophosphorylation de IGF1R, inhibe la prolifération induite par IGF1 ou 2, arrête le cycle cellulaire et stimule l'apoptose de diverses lignées cancéreuses (sein, poumon, côlon, col utérin, ovaire, pancréas, mélanome, prostate, neuroblastome, rhabdomyosarcome, ostéosarcome) (14). *In vivo*, l'EM164 ralentit la croissance tumorale de tumeurs pancréatiques humaines (BxPC-3) implantées dans des souris SCID. L'effet est potentialisé par la gemcitabine. Alors que l'anticorps n'interagit pas avec le récepteur de l'insuline (condition nécessaire pour la poursuite de son développement), des études *in vivo* montrent malgré tout qu'il entraîne une diminution de l'expression du récepteur de l'insuline ainsi qu'une inhibition fonctionnelle (il n'est plus phosphorylé en présence d'insuline) (24). Ce phénomène est expliqué par la formation d'hétérodimères entre IGF1R et le récepteur à l'insuline. On ignore à ce jour les conséquences de la formation de ces hétérodimères en clinique.

L'anticorps humain A12 reconnaît les IGFR avec une haute affinité et inhibe leur liaison avec les IGF. Spécifiques de l'IGF1R, il ne lie pas les récepteurs à l'insuline. *In vitro*, son action est double. Il entraîne une diminution des phosphorylations donc de l'activité des protéines de la transduction du signal des voies MAPK et PI3K. Ils induisent également une internalisation des IGF1R

conduisant à leur dégradation et, *de facto*, à une diminution de leur expression sur la surface cellulaire. Il inhibe la prolifération de différentes lignées tumorales. *In vivo*, l'efficacité de cette molécule a été démontrée sur différents modèles de xéno greffes (4). La croissance tumorale de lignées mammaire (MCF 7), pancréatiques (BxPC-3), rénale (Caki I) ou colique (Colo 205) est fortement ralentie par A12. Il a été observé une diminution des marqueurs de la prolifération tumorale (Ki67), une augmentation de l'apoptose. Les expériences sur des lignées prostatiques xéno greffées montrent un arrêt du cycle cellulaire à un stade différent selon la sensibilité aux androgènes : en G1 pour la lignée dépendante et en G2 pour la lignée indépendante (39). Cet anticorps augmente l'efficacité du docetaxel sur des lignées tumorales de prostate (40). De même, le blocage de l'IGF-1R est synergique avec la radiothérapie sur diverses lignées (1).

D'autres anticorps sont en cours de développement. On peut citer le CP 751, 871 (5) le h7C10 (F50035) [9], le MK-0646, IgG humaines hautement spécifiques, le 19D12 (37) ou le ScFv-Fc-IGF1R (23, 42). Ces anticorps reconnaissent l'IGF1R et inhibent leurs liaisons avec les IGF. Ils bloquent ainsi la transphosphorylation des sous-unités β , puis la phosphorylation des protéines de la transduction du signal. Comme on l'a vu précédemment, ces anticorps entraînent l'internalisation et la dégradation du récepteur donc une diminution de son expression à la surface de la cellule. Le ScFv-Fc-IGF1R a la particularité d'entraîner une activation de l'IGF1R dans un premier temps avant de le bloquer.

Tous ces anticorps montrent une action inhibitrice *in vitro* ou dans des modèles de xéno greffes sur des lignées tumorales de divers types. Il est important de noter que l'action inhibitrice est synergique avec la chimiothérapie cytotoxique. Par exemple l'effet de la doxorubicine est fortement augmenté sur une lignée d'ostéosarcome implantée chez des souris avec l'ajout du CP 751,871 (5). On observe le même phénomène en traitant des lignées de cancer colique avec du 5FU. L'effet synergique est observé avec d'autres types de traitements anticancéreux. En effet, toujours avec le CP 751,871, ou avec le ScFv-Fc-IGF1R, on observe une potentialisation du tamoxifène dans des modèles de xéno greffes avec des lignées de cancer du sein hormonodépendante (5). La synergie s'observe également avec les autres thérapies ciblées. En effet, le traitement de xéno greffes de cancers pulmonaires non à petites cellules par l'anticorps h7C10 montre une certaine efficacité. Il est observé une réponse quasi complète chez les souris en associant au h7C10 la vinorelbine ou le C225 anticorps dirigé contre l'EGFR (9). Cette synergie avec l'EGFR a conduit au développement d'un anticorps bispécifique original humain, de type IgG, appelé Di-diabody (13). Il contient les régions variables de deux anticorps, l'un dirigé contre l'EGFR et l'autre contre l'IGFR. Des études *in vitro* ont montré qu'il bloquait bien la transduction du signal de deux voies et qu'il induisait aussi une internalisation de l'IGF1R. *In vivo*, sur des modèles de xéno greffes, les effets inhibiteurs sur la prolifération tumorale sont particulièrement intéressants.

Plusieurs de ces anticorps sont actuellement en développement clinique, avec des premiers résultats encourageants dans les cancers bronchiques, mais aussi, en monothérapie, dans des tumeurs décrites comme dépendantes de l'IGF1, notamment les sarcomes d'Ewing et les rhabdomyosarcomes. Des réponses prolongées dans des sarcomes d'Ewing réfractaires ont été notamment rapportées en 2007 dans un essai de phase I. Plusieurs essais sont actuellement en cours pour explorer ces médicaments en monothérapie, et en combinaison avec des chimiothérapies cytotoxiques en première et deuxième lignes.

Inhibiteurs de tyrosine kinase

NVP-ADW742

Il s'agit d'un inhibiteur de tyrosine kinase très spécifique de IGF1R (18). *In vitro*, sur des lignées de cellules myélomateuses résistantes aux traitements conventionnels, le NVP-ADW742 stimule l'apoptose en diminuant les inhibiteurs des caspases. Des études de protéomique montrent une activation pléiomorphe des effecteurs moléculaires antiprolifératifs ou proapoptotiques. Ces effets ont été confirmés *in vivo*, chez la souris, en stoppant la croissance tumorale et en prolongeant la survie, sans toxicité associée significative. Il est intéressant de noter que la production de VEGF est affectée et que le mécanisme d'action doit donc inclure une inhibition de l'angiogenèse. Cet inhibiteur montre une synergie avec le melphalan. Une autre étude a montré également une synergie du NVP-ADW742 avec le carboplatine et l'étoposide en traitement de tumeurs établies à partir de lignées de cancer pulmonaire non à petites cellules (19). Une molécule similaire, le NVP-AEW541 a montré une efficacité sur des cellules de neuroblastome (20).

Cyclolignan PPP

Cet inhibiteur de tyrosine kinase est spécifique de la tyrosine 1136 et n'affecte pas les tyrosines 1131 et 1135 (21). Ainsi, c'est la voie PI3K/Akt qui est principalement inhibée.

Une étude sur des lignées de myélome a montré que le traitement par le cyclolignan PPP bloque les cellules en phase G2/M et induit l'apoptose (22). L'effet est durable et il n'a pas été observé ou très peu de résistance à long terme (23). Ici encore, on démontre *in vivo* une diminution de l'angiogenèse, avec dans une étude une diminution de 60 % de la densité de microvaisseaux (24).

Tous ces médicaments décrits sont en cours de développement préclinique et certains en début de phase I. Le risque majeur est qu'il n'y a pas de données de toxicité à long terme chez la souris dans la mesure où la spécificité pour l'IGF1R n'est pas parfaite et qu'il existe des réactions croisées avec les récepteurs de l'insuline et qu'une perturbation du métabolisme glucidique est à craindre avec des effets actuellement non réellement recensés.

Cyclines et kinases dépendant des cyclines : modulations du cycle cellulaire

Rappels physiologiques (fig. 2)

Le cycle cellulaire se compose de cinq phases : G₀ (phase de quiescence), G₁ (la cellule se prépare à la duplication de son ADN), S (réplication de l'ADN), G₂ (préparation à la mitose) et M (mitose). La succession de ces phases est régulée par des protéines sérine/thréonine kinases dites kinases dépendant des cyclines (CDK). Le taux de cyclines contrôle l'activité de ces CDK. Les cyclines se regroupent en deux grandes familles : la famille START (cyclines C, D -D1, D2 et D3- et E) régule la phase G₁ et la transition G₁/S avant le point de restriction, et la famille des cyclines mitotiques (cyclines A et B) régule la transition G₂/M. Après le point de restriction, la cellule n'est plus soumise aux facteurs de croissance et elle entre inexorablement en mitose (25).

Les signaux mitotiques extracellulaires empruntent les voies de transduction RAS/RAF/MAPK pour permettre la production et l'accumulation de cyclines D qui se lie aux CDK4 et 6 pour commencer à phosphoryler la protéine Rb. Initialement, Rb hypophosphorylée est liée au facteur de transcription E2F1 qui est alors inactif hormis pour la transcription de la cycline E. Cette cycline s'accumule, se lie à CDK2 qui phosphoryle Rb. À l'état phosphorylé, Rb libère E2F1 qui peut alors transcrire les protéines de la phase S. Lors de cette phase S, les cyclines D et E, après ubiquitination, sont dégradées par le protéasome, alors

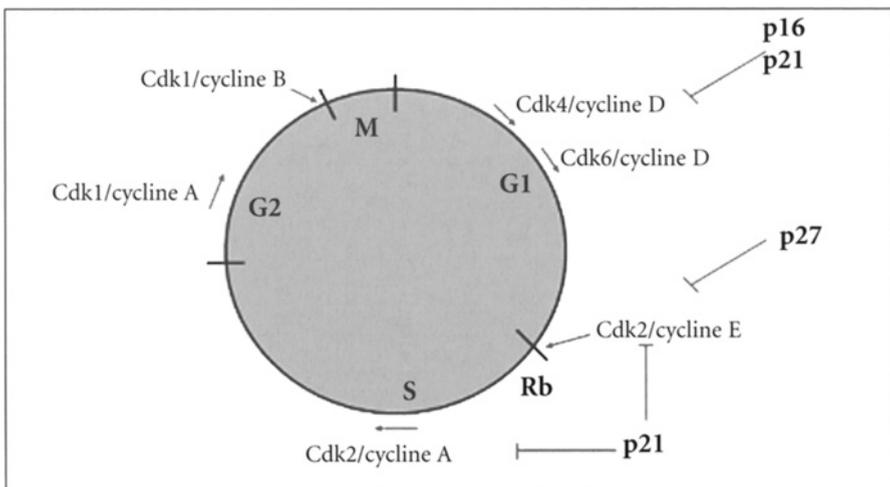


Fig. 2 – Cycle cellulaire et son contrôle. Les cyclines en association avec les CDK permettent la progression le long du cycle cellulaire. Le passage G₁/S est contrôlé par la protéine Rb. Les protéines p16, p21 et p27 régulent négativement les CDK.

que la cycline A s'accumule et se lie à CDK2 pour permettre la progression dans la phase S et neutraliser E2F1 par phosphorylation. En fin de phase S, la cycline B s'accumule, se lie à CDK1 pour préparer le passage en mitose. Ce complexe active également la survivine protéine impliquée dans la survie cellulaire. Au cours de la mitose, la cycline B est dégradée et les cyclines E et D peuvent recommencer à être produites.

Les complexes cycline-CDK sont sous la dépendance de régulateurs du cycle cellulaire, les inhibiteurs des CDK (CDKI). Les protéines inhibitrices des kinases (KIP) comprennent p21^{waf1}, p27^{kip1} et p57^{kip2}, sous la dépendance de p53 et inhibent les complexes cycline E ou A-CDK2. Les protéines de la famille des ink4 (pour inhibiteurs des CKK4) regroupent p15^{Ink4b}, p16^{Ink4a}, p18^{Ink4c} et p19^{Ink4 days} qui inhibent les kinases associées aux cyclines D (CDK2, 4 et 6).

Dans les cellules cancéreuses, les points de restriction du cycle cellulaire sont déficients. Ceci peut être dû à un déficit en CDKI ou au contraire à la surexpression de cyclines. Par exemple, dans de très nombreux cancers (mélanome, poumon, sein, colorectal), le gène de p16^{Ink4} est non fonctionnel à la suite d'une hyperméthylation de son promoteur qui inhibe sa transcription. De même, on observe souvent une hyperexpression de la cycline D1.

Le ciblage des CDK ou des cyclines offre donc des potentialités importantes dans le traitement des cancers.

Molécules inhibitrices des CDK (tableau I)

UCN-01

Cet inhibiteur de la PKC (protéine kinase C) arrête les cellules en phase G1/S en induisant le CDKI p21^{waf1} qui déphosphoryle CDK2 et empêche ainsi la phosphorylation de Rb et la libération de E2F1. L'UCN-01 supprime aussi le point de restriction en G2 autorisant l'entrée en mitose de cellules avec des dommages de l'ADN (surtout en association avec les chimiothérapies) ce qui conduit à l'apoptose. L'administration de la drogue doit être continue sur plusieurs jours. En phase I chez 47 patients, l'hyperglycémie s'est révélée une toxicité limitante. On note également une toxicité pulmonaire, des hypotensions et des vomissements (26). Il a été observé une réponse partielle pour un mélanome et une réponse complète pour un lymphome (27). Des essais d'association à la chimiothérapie ont été menés avec succès, même si on a pu craindre initialement que d'arrêter le cycle cellulaire puisse être un moyen de résistance de la cellule tumorale aux antimétabolites, en particulier les antimétabolites comme le 5FU ou le gemcitabine. L'UCN-01 doit donc être administré après la chimiothérapie. Une étude de phase I a inclus 35 patients (32 évaluable, 21 avec un cancer colique et 26 prétraités par 5FU) pour recevoir une perfusion hebdomadaire de 5FU sur 24 h suivie d'une perfusion de 135 mg/m² d'UCN-01 sur 72 h (puis 67,5 mg/m² sur 36 h les cycles suivants) (28). En plus des

Tableau I – Essais cliniques avec les modulateurs du cycle cellulaire (RO = réponse objective, RP = réponse partielle, SD = stabilisation).

Médicament	Phase	N	Résultats
UCN01 (25)	I	47	1 RC, 1 RP
UCN01 + 5FU (12)	I	35	7 SD
UCN01 + Irinotecan (8)	I	11	6 SD
Flavopiridol (29)	I	76	1 RP
Flavopiridol (31)	II (rein)	35	Étude négative
Flavopiridol (27)	II (estomac)	16	Étude négative
Flavopiridol + Docetaxel (21)	I	27	5 RP et 10 SD
Flavopiridol + Irinotecan (30)	I	51	3 RP et 18 SD
E7070 (10)	II (ORL)	14	Étude négative
Roscovidine (19)	I	29	3 SD
BMS-387032 (11)	I	36	5 SD

toxicités citées ci-dessus, on retrouve des syncopes et des arythmies. Il n'a été observé aucune réponse, mais sept patients ont été stabilisés (dont six prétraités par 5FU). Une autre étude a associé l'UCN-01 à l'irinotécan chez onze patients résistants à l'irinotécan (29). La tolérance a été acceptable et six stabilisations ont pu être obtenues. Une étude récente sur des cellules de leucémie ou de myélome a montré une forte synergie en associant à l'UCN-01 une statine qui agit en inhibant la farnésylation et l'activation de Ras (30).

Flavopiridol

Le flavopiridol est un inhibiteur de kinase avec une forte affinité pour les CDK (1, 2, 4, 6). Dans des lignées tumorales, il arrête le cycle cellulaire et induit l'apoptose (par induction des caspases et inhibition des protéines anti-apoptotiques) (25). Le schéma d'administration initial sur plusieurs jours en continu a pu être simplifié à des perfusions de 1 heure. Dans une phase I chez 76 patients, les principaux effets secondaires étaient asthénie, diarrhée, hypotension artérielle et accidents thromboemboliques (31). Une réponse partielle dans un cancer du rein et des stabilisations dans un lymphome, un cancer rénal et un cancer colique ont été observés. Une phase II a donc été menée dans des cancers rénaux, mais elle s'est révélée négative (32). Le flavopiridol est également inefficace en phase II dans les cancers gastriques (33) ou des sarcomes (34). L'association avec la chimiothérapie a été testée. En phase I, 27 patients recevaient du docétaxel suivi de flavopiridol avec cinq réponses partielles dans

des cancers du pancréas (2), du sein (2) ou de l'ovaire et dix stabilisations (dont quatre cancers du pancréas) (35). Une autre phase I a inclus 51 patients pour recevoir de l'irinotécan suivi 7 heures plus tard de flavopiridol (36). La toxicité hématologique et les diarrhées ont été notablement accrues. Il a été observé 3 réponses partielles et 18 stabilisations supérieures à six mois. Finalement, les essais cliniques de phase II se sont révélés insuffisants et le développement de ce produit est actuellement arrêté. Il est probable que des études fondamentales ou de recherche de transfert aient été insuffisantes : le schéma optimal n'a pas vraiment pu être déterminé et aucun marqueur intermédiaire n'a été défini pour juger de sa réelle efficacité.

E7070

E7070 déplete le stock de cycline E, induit p21 et p53 et inhibe la phosphorylation de CDK1. En phase I, les effets secondaires limitant sont des leucopénies, thrombopénies, anémies, colites, diarrhée et iléus (37). Une étude de phase II a testé le E7070 sur des cancers ORL (une perfusion de 1 h toutes les 3 semaines) mais a été prématurément arrêtée car aucun patient n'a atteint une survie sans progression de 4 mois (38). Une étude de phase I a montré qu'il pouvait être associé au carboplatine (39). Il a cependant été démontré une inhibition de la phosphorylation de Rb sur des biopsies après traitement. Ainsi la modification du schéma d'administration pourrait améliorer les résultats cliniques.

Autres molécules

La roscovidine (CYC202) est un inhibiteur de tyrosine kinase particulièrement actif contre les CDK1, 2 et 5. Elle s'administre oralement en deux prises quotidiennes, cinq jours de suite toutes les trois semaines. Une étude de phase I a inclus 29 patients (40). Les effets secondaires sont représentés par les vomissements, l'hypokaliémie et l'augmentation de la créatinine. Aucune réponse et trois stabilisations ont été observées.

Le BMS-387032 est également un inhibiteur de CDK2. Il a été administré en phase I chez 36 patients par perfusion de 1 h toutes les trois semaines (41). Les effets secondaires sont l'asthénie, les nausées et les vomissements, la diarrhée, la constipation. Il a été observé cinq stabilisations (2 cancers du rein, 1 cancer pulmonaire, 1 léiomyosarcome, 1 cancer ORL).

Il existe d'autres approches pour interférer sur les cyclines. L'une d'elles est l'utilisation d'inhibiteurs du protéasome qui intervient pour la dégradation des cyclines ubiquitinées. Le bortézomib, inhibiteur du protéasome, montre une bonne efficacité dans les myélomes (42).

Conclusion

Le champ d'investigation des thérapies ciblées s'est donc considérablement élargi avec le ciblage des voies de l'IGF1R et des cyclines. Le développement des produits contre ces voies en est actuellement à ses débuts. Ils ont essentiellement une action cytostatique et montrent peu d'efficacité en monothérapie. Les associations à la chimiothérapie semblent prometteuses. Les exemples présentés dans cette revue illustrent la tendance actuelle à négliger l'aspect fondamental et préclinique dans le développement des médicaments, qui conduit aux déconvenues observées avec le gefitinib dans les cancers pulmonaires ou les coxib avec la toxicité cardiaque. En effet, en ce qui concerne le ciblage de l'IGF1R, les effets secondaires toxiques potentiels à long terme semblent très importants ainsi que les interactions avec la voie de l'insuline et ces points ne semblent pas avoir été résolus avant le passage aux essais cliniques. Une étude récente incite à la prudence. En effet, il a été montré sur une lignée de cancer du sein que l'inhibition de l'IGF-1R augmente la sensibilité de ces cellules à l'insuline (43). De plus, le rôle de l'IGF1R ne semble pas parfaitement établi dans la biologie du cancer (possible rôle inhibiteur). En ce qui concerne les inhibiteurs des cyclines, le blocage du cycle cellulaire peut constituer un moyen de résistance des cellules cancéreuses à la chimiothérapie. Les déceptions des phases II conduisent à réfléchir sur les modalités exactes d'administration des inhibiteurs, données qui devraient être mieux étudiées à un stade préclinique. Le ciblage des cyclines ou de l'IGF1R soulève des espoirs importants, mais de nombreuses questions méritent d'être résolues pour débiter de véritables essais cliniques dans de bonnes conditions et éviter de déclarer inefficaces des molécules qui n'auraient été que mal utilisées ou de proposer des traitements dont les effets à long terme risquent d'être fortement délétères.

Références

1. Pollak MN, Schernhammer E, Hankinson SE (2004) Insulin-like growth factors and neoplasia. *Nat Rev Cancer* 4: 505-18
2. Bahr C, Groner B (2005) The IGF-1 receptor and its contributions to metastatic tumor growth—novel approaches to the inhibition of IGF-1R function. *Growth Factors* 23: 1-14
3. Wang Y, Sun Y (2002) Insulin-like growth factor receptor-1 as an anti-cancer target: blocking transformation and inducing apoptosis. *Curr Cancer Drug Targets* 2: 191-207
4. Miller BS, Yee D (2005) Type I insulin-like growth factor receptor as a therapeutic target in cancer. *Cancer Res* 65: 10123-7
5. Arteaga CL, Kitten LJ, Coronado EB, *et al.* (1989) Blockade of the type I somatomedin receptor inhibits growth of human breast cancer cells in athymic mice. *J Clin Invest* 84: 1418-23
6. Maloney EK, McLaughlin JL, Dagdigian NE, *et al.* (2003) An anti-insulin-like growth factor I receptor antibody that is a potent inhibitor of cancer cell proliferation. *Cancer Res* 63: 5073-83

7. Sachdev D, Singh R, Fujita-Yamaguchi Y, *et al.* (2006) Down-regulation of insulin receptor by antibodies against the type I insulin-like growth factor receptor: implications for anti-insulin-like growth factor therapy in breast cancer. *Cancer Res* 66: 2391-402
8. Burtrum D, Zhu Z, Lu D, *et al.* (2003) A fully human monoclonal antibody to the insulin-like growth factor I receptor blocks ligand-dependent signaling and inhibits human tumor growth in vivo. *Cancer Res* 63: 8912-21
9. Wu JD, Odman A, Higgins LM, *et al.* (2005) In vivo effects of the human type I insulin-like growth factor receptor antibody A12 on androgen-dependent and androgen-independent xenograft human prostate tumors. *Clin Cancer Res* 11: 3065-74
10. Wu JD, Haugk K, Coleman I, *et al.* (2006) Combined in vivo effect of A12, a type 1 insulin-like growth factor receptor antibody, and docetaxel against prostate cancer tumors. *Clin Cancer Res* 12: 6153-60
11. Allen GW, Saba C, Armstrong EA, *et al.* (2007) Insulin-like growth factor-I receptor signaling blockade combined with radiation. *Cancer Res* 67: 1155-62
12. Cohen BD, Baker DA, Soderstrom C, *et al.* (2005) Combination therapy enhances the inhibition of tumor growth with the fully human anti-type 1 insulin-like growth factor receptor monoclonal antibody CP-751,871. *Clin Cancer Res* 11: 2063-73
13. Goetsch L, Gonzalez A, Leger O, *et al.* (2005) A recombinant humanized anti-insulin-like growth factor receptor type I antibody (h7C10) enhances the antitumor activity of vinorelbine and anti-epidermal growth factor receptor therapy against human cancer xenografts. *Int J Cancer* 113: 316-28
14. Wang Y, Hailey J, Williams D, *et al.* (2005) Inhibition of insulin-like growth factor-I receptor (IGF-IR) signaling and tumor cell growth by a fully human neutralizing anti-IGF-IR antibody. *Mol Cancer Ther* 4: 1214-21
15. Sachdev D, Li SL, Hartell JS, *et al.* (2003) A chimeric humanized single-chain antibody against the type I insulin-like growth factor (IGF) receptor renders breast cancer cells refractory to the mitogenic effects of IGF-I. *Cancer Res* 63: 627-35
16. Ye JJ, Liang SJ, Guo N, *et al.* (2003) Combined effects of tamoxifen and a chimeric humanized single chain antibody against the type I IGF receptor on breast tumor growth in vivo. *Horm Metab Res* 35: 836-42
17. Lu D, Zhang H, Koo H, *et al.* (2005) A fully human recombinant IgG-like bispecific antibody to both the epidermal growth factor receptor and the insulin-like growth factor receptor for enhanced antitumor activity. *J Biol Chem* 280: 19665-72
18. Mitsiades CS, Mitsiades NS, McMullan CJ, *et al.* (2004) Inhibition of the insulin-like growth factor receptor-1 tyrosine kinase activity as a therapeutic strategy for multiple myeloma, other hematologic malignancies, and solid tumors. *Cancer Cell* 5: 221-30
19. Warshamana-Greene GS, Litz J, Buchdunger E, *et al.* (2005) The insulin-like growth factor-I receptor kinase inhibitor, NVP-ADW742, sensitizes small cell lung cancer cell lines to the effects of chemotherapy. *Clin Cancer Res* 11: 1563-71
20. Tanno B, Mancini C, Vitali R, *et al.* (2006) Down-regulation of insulin-like growth factor I receptor activity by NVP-AEW541 has an antitumor effect on neuroblastoma cells in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 12: 6772-80
21. Vasilcanu D, Girnita A, Girnita L, *et al.* (2004) The cyclolignan PPP induces activation loop-specific inhibition of tyrosine phosphorylation of the insulin-like growth factor-1 receptor. Link to the phosphatidylinositol-3 kinase/Akt apoptotic pathway. *Oncogene* 23: 7854-62
22. Stromberg T, Ekman S, Girnita L, *et al.* (2006) IGF-1 receptor tyrosine kinase inhibition by the cyclolignan PPP induces G2/M-phase accumulation and apoptosis in multiple myeloma cells. *Blood* 107: 669-78
23. Vasilcanu D, Weng WH, Girnita A, *et al.* (2006) The insulin-like growth factor-1 receptor inhibitor PPP produces only very limited resistance in tumor cells exposed to long-term selection. *Oncogene* 25:3186-95

24. Menu E, Jernberg-Wiklund H, Stromberg T, *et al.* (2006) Inhibiting the IGF-1 receptor tyrosine kinase with the cyclolignan PPP: an in vitro and in vivo study in the 5T33MM mouse model. *Blood* 107: 655-60
25. Schwartz GK, Shah MA (2005) Targeting the cell cycle: a new approach to cancer therapy. *J Clin Oncol* 23: 9408-21
26. Sausville EA (2002) Complexities in the development of cyclin-dependent kinase inhibitor drugs. *Trends Mol Med* 8: S32-7
27. Sausville EA, Arbuck SG, Messmann R, *et al.* (2001) Phase I trial of 72-hour continuous infusion UCN-01 in patients with refractory neoplasms. *J Clin Oncol* 19: 2319-33
28. Kortmansky J, Shah MA, Kaubisch A, *et al.* (2005) Phase I trial of the cyclin-dependent kinase inhibitor and protein kinase C inhibitor 7-hydroxystaurosporine in combination with Fluorouracil in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 23: 1875-84
29. Fracasso PM, Rudek MA, Naughton MJ, *et al.* (2004) Phase I study combining UCN-01 with irinotecan in resistant solid tumor malignancies. *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: Abstract 3139
30. Dai Y, Khanna P, Chen S, *et al.* (2007) Statins synergistically potentiate 7-hydroxystaurosporine (UCN-01) lethality in human leukemia and myeloma cells by disrupting Ras farnesylation and activation. *Blood*
31. Senderowicz AM, Headlee D, Stinson SF, *et al.* (1998) Phase I trial of continuous infusion flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in patients with refractory neoplasms. *J Clin Oncol* 16: 2986-99
32. Stadler WM, Vogelzang NJ, Amato R, *et al.* (2000) Flavopiridol, a novel cyclin-dependent kinase inhibitor, in metastatic renal cancer: a University of Chicago Phase II Consortium study. *J Clin Oncol* 18: 371-5
33. Schwartz GK, Ilson D, Saltz L, *et al.* (2001) Phase II study of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol administered to patients with advanced gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 19: 1985-92
34. Morris DG, Bramwell VH, Turcotte R, *et al.* (2006) A Phase II Study of Flavopiridol in Patients With Previously Untreated Advanced Soft Tissue Sarcoma. *Sarcoma* 2006: 64374
35. Rathkopf D, Fornier M, Shah MA, *et al.* (2004) A Phase I clinical and pharmacokinetic study of weekly docetaxel followed by flavopiridol: promising activity in metastatic pancreatic cancer. *Proc Am Soc Clin Oncol* 23: Abstract 4096
36. Shah MA, Kortmansky J, Motwani M, *et al.* (2005) A phase I clinical trial of the sequential combination of irinotecan followed by flavopiridol. *Clin Cancer Res* 11: 3836-45
37. Yamada Y, Yamamoto N, Shimoyama T, *et al.* (2005) Phase I pharmacokinetic and pharmacogenomic study of E7070 administered once every 21 days. *Cancer Sci* 96: 721-8
38. Haddad RI, Weinstein LJ, Wiczorek TJ, *et al.* (2004) A phase II clinical and pharmacodynamic study of E7070 in patients with metastatic, recurrent, or refractory squamous cell carcinoma of the head and neck: modulation of retinoblastoma protein phosphorylation by a novel chloroindolyl sulfonamide cell cycle inhibitor. *Clin Cancer Res* 10: 4680-7
39. Dittrich C, Zandvliet AS, Gneist M, *et al.* (2007) A phase I and pharmacokinetic study of indisulam in combination with carboplatin. *Br J Cancer* 96: 559-66
40. Pierga JY, Faivre S, Vera K, *et al.* (2003) A phase I and pharmacokinetic (PK) trial of CYC202, a novel oral cyclin-dependent kinase (CDK) inhibitor, in patients (pts) with advanced solid tumors. *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: Abstract 840
41. Jones SF, Burris HA, Kies M, *et al.* (2003) A phase I study to determine the safety and pharmacokinetics (PK) of BMS-387032 given intravenously every three weeks in patients with metastatic refractory solid tumors. *Proc Am Soc Clin Oncol* 22: Abstract 798
42. Richardson PG, Sonneveld P, Schuster MW, *et al.* (2005) Bortezomib or high-dose dexamethasone for relapsed multiple myeloma. *N Engl J Med* 352: 2487-98
43. Zhang H, Pelzer AM, Kiang DT, *et al.* (2007) Down-regulation of type I insulin-like growth factor receptor increases sensitivity of breast cancer cells to insulin. *Cancer Res* 67: 391-7

CTLA-4 et Toll-like récepteurs : de nouvelles cibles en immunothérapie

R. Bedel, C. Borg et P. Saas

Plusieurs données cliniques suggèrent que la modulation des réponses immunitaires peut être une stratégie anti-tumorale efficace. L'administration de BCG est reconnue comme un traitement efficace des cancers superficiels de la vessie. Par analogie avec les vaccinations contre certains pathogènes intracellulaires, des protocoles de vaccination ont utilisé le BCG comme adjuvant et permis l'obtention de résultats cliniques intéressants. L'allogreffe de cellules hématopoïétiques a montré de longue date sa capacité à éradiquer des maladies leucémiques réfractaires aux traitements conventionnels. Récemment, l'introduction des anticorps monoclonaux dans l'arsenal thérapeutique de l'oncologie médicale et de l'hématologie a étayé l'importance du système immunitaire anti-tumoral. Ces résultats ont motivé un plus ample développement des biothérapies favorisant les réponses immunitaires anti-tumorales. Ainsi, nous aborderons ici les données fondamentales et cliniques concernant l'utilisation de ligands agonistes des récepteurs de la famille TOLL et des anticorps neutralisant la molécule CTLA-4.

Introduction

Le système immunitaire comprend l'ensemble des mécanismes biologiques qui agissent conjointement pour protéger l'organisme des agressions pathogènes extérieures (virales, bactériennes, parasitaires ou fongiques). Cette protection est possible grâce à la discrimination entre les cellules saines de l'individu (le soi) et les cellules infectées, potentiellement dangereuses pour l'organisme (le non soi). L'immunité peut être divisée en deux compartiments distincts, l'immunité innée et l'immunité adaptative. L'immunité innée comprend les barrières biologiques (peau, muqueuses), les systèmes du complément et de l'inflammation et les cellules lymphocytaires à cytotoxicité naturelle (NK), macrophages, cellules dendritiques et autres lymphocytes à TCR invariants. L'immunité adaptative

est composée des lymphocytes T et B. Elle est spécifique de l'antigène qui a déclenché la réponse immunitaire et elle induit une mémoire à long terme qui protège plus efficacement l'organisme lors d'une seconde infection. Une coopération cellulaire et moléculaire entre ces deux compartiments est requise pour la genèse d'une réponse immunitaire efficace.

Les grandes étapes de l'initiation des réponses immunitaires sont maintenant bien connues. Les cellules dendritiques (DC) présentes en périphérie reconnaissent et captent des protéines exogènes. Elles internalisent et clivent ces protéines en peptides, puis les présentent à leur surface associés aux molécules du CMH de classe I ou II. Dans un contexte inflammatoire, les cytokines et chimiokines produites par les cellules du compartiment inné et les signaux de danger perçus par la DC vont déclencher un processus de maturation. Les DC migrent dans les organes lymphoïdes secondaires (OLS) les plus proches (ganglions, rate), pour initier l'activation des lymphocytes T ou B naïfs. Cette activation nécessite 3 signaux différents. Tout d'abord, la reconnaissance spécifique entre le complexe CMH/peptide et le TCR, récepteur spécifique du lymphocyte T. Cette première reconnaissance déclenche la phosphorylation de la partie intra-cytoplasmique du TCR, le recrutement de ZAP70 et des kinases de la famille syk et lck. Le signal n'est cependant pas suffisant pour permettre une activation efficace du lymphocyte. Des signaux de costimulation sont nécessaires. Ces protéines co-stimulatrices sont exprimées principalement sur les membranes des cellules présentatrices d'antigène (CPA) et sont induites au cours de leur maturation. La voie de costimulation la plus connue est la voie B7/CD28. CD28 est exprimé par les lymphocytes T, B7-1 (CD80) et B7-2 (CD86) sont exprimés par les DC matures. Ce second signal permet le recrutement de kinases complémentaires comme la phosphoinositide-3 kinase (PI3K), ainsi que le soutien de la phosphorylation initiée par le TCR. Un troisième signal reposant sur la présence de cytokines dans l'environnement des lymphocytes permet leur éducation et l'acquisition définitive des fonctions effectrices. Particulièrement, la différenciation Th1 qui favorise une réponse cytotoxique cellulaire (CTL) est nécessaire à la genèse d'une réponse immunitaire anti-tumorale. Cette réponse de type I est caractérisée par la production de cytokines, interféron- γ (IFN- γ) et tumor necrosis factor- α (TNF- α).

Les réponses immunitaires doivent être finement régulées pour ne pas engendrer d'auto-immunité. Ainsi, des molécules comme CTLA-4 (*Cytotoxic T-Lymphocyte Antigen-4*) sont synthétisées lors de l'activation initiale des lymphocytes T et agissent comme répresseurs de l'activation T. Les polymorphismes génétiques de CTLA-4 produisent des protéines d'une activité biologique variable. Les personnes exprimant certaines formes de CTLA-4 sont sujettes au développement de maladies auto-immunes telles que la maladie de Graves, la maladie cœliaque, l'hypothyroïdie auto-immune, le diabète de type I ou la sclérose en plaques (1).

Dans cette revue, nous indiquerons l'intérêt que peut apporter la modulation des signaux de costimulation en immunothérapie. Dans un premier temps, nous décrirons le développement de stratégies basées sur les ligands agonistes

des récepteurs de la famille TOLL favorisant l'induction de réponse immunitaire. Puis dans un second temps, nous étudierons la neutralisation des rétro-contrôles négatifs des signaux de costimulation aboutissant également à des réponses immunitaires efficaces. Dans ce contexte, nous nous consacrerons plus particulièrement à la protéine CTLA-4.

Utilisation de ligands agonistes des récepteurs *Toll-like receptors* (TLR) en oncologie

Historique des récepteurs de la famille *Toll-like receptors* (TLR)

Les récepteurs de type Toll (*Toll-like receptors*, TLR) sont des homologues de la protéine Toll, une protéine impliquée dans le développement embryonnaire chez la drosophile et notamment l'établissement de la polarité dorsoventrale. En 1997, Ruslan Medzhitov, dans le laboratoire de Charles Janeway Jr, identifie TLR4, le premier gène homologue de Toll découvert chez les mammifères. Ce TLR se révélera, un an plus tard, être le récepteur du composant majoritaire de la paroi des bactéries à Gram négatif, le lipopolysaccharide ou LPS (2). Aujourd'hui, ces récepteurs TLR comptent 11 membres chez l'Homme, mais les ligands de TLR10 et TLR11 restent inconnus à ce jour. Ces récepteurs possèdent un domaine intracellulaire conservé homologue au domaine du récepteur pour l'interleukine-1 (IL-1R). Ils sont impliqués dans la reconnaissance des motifs moléculaires des agents pathogènes conservés au cours de l'évolution et regroupés sous le terme anglo-saxon de *pathogen associated molecular pattern* (PAMP). À ce titre, les TLR font partie de la famille des PRR (*pathogen recognition receptors*), tout comme le récepteur au mannose ou encore NOD. Ces PRR sont localisés principalement à la surface des cellules de l'immunité naturelle : monocytes/macrophages, cellules dendritiques, cellules NK et polynucléaires neutrophiles. Comme nous le décrirons ci-après, certains TLR sont aussi exprimés par les cellules de l'immunité adaptative (lymphocytes B, lymphocytes T), ainsi que les cellules épithéliales et endothéliales. La fonction générale de ces PRR et donc des TLR est de percevoir les signaux « Danger ». Cette notion de « Danger » a été énoncée pour la première fois en 1994 par Polly Matzinger (3). Cette théorie du « Danger » indique que la capacité de réponse du système immunitaire est directement liée à la perception du « Danger ». Schématiquement, en l'absence de « Danger », le système immunitaire ne sera pas activé et il en résultera un phénomène de tolérance. À l'inverse, en cas de « Danger », une activation efficace du système immunitaire s'initiera (3). Quels sont les signaux « Danger » (4) et comment les TLR interviennent-ils dans la perception de ces signaux ? Il est possible de distinguer deux types de signaux « Danger » : les signaux exogènes émis par les agents pathogènes (c'est-à-dire les PAMP) et les signaux endogènes émis par l'organisme hôte suite à des dommages ou

des agressions tissulaires ou encore lors de dérèglements métaboliques. Afin de mieux clarifier cette notion de signaux « Danger » endogènes, nous citerons quelques exemples. Ainsi, rentrent dans cette catégorie les protéines du choc thermique ou HSP (pour *Heat Shock Protein*). Ces protéines chaperons intracellulaires, retrouvées en concentration élevée dans les cellules, voient leur expression augmentée lors du stress cellulaire. Certaines équipes ont proposé de les utiliser comme adjuvant en immunothérapie anti-tumorale (pour revue, 5). Des composés strictement ou majoritairement intracellulaires, comme l'acide urique (6) ou les nucléotides intracellulaires (UTP et ATP) associés au métabolisme énergétique (4) deviennent des signaux « Danger » endogènes lors de la rupture accidentelle de la membrane plasmique d'une cellule. Cette observation de la rupture de la membrane plasmique est bien connue des anatomopathologistes lors de la nécrose. L'interaction des TLR avec leurs ligands déclenche l'activation de différents mécanismes concourant à la réaction inflammatoire (induction de gènes de cytokines inflammatoires et de chimiokines, assurant le recrutement des polynucléaires neutrophiles et des macrophages) (7, 8) et à l'activation de la réponse immunitaire adaptative (induction des molécules HLA de classe II et de costimulation) (8). L'objectif de cette revue est de définir les rôles potentiels des TLR dans les réponses immunitaires anti-tumorales. Au préalable, nous aborderons la localisation cellulaire des TLR, leurs expressions et les principales voies de signalisation de ces récepteurs. Ceci permettra de mieux appréhender comment ces récepteurs PRR peuvent amplifier ou restaurer les réponses immunitaires anti-tumorales. Nous indiquerons également comment ces TLR peuvent aussi participer à la progression, l'invasion tumorale, la dissémination de métastases ou encore l'échappement au contrôle du système immunitaire (7, 9).

Localisation, expression, et principales voies de signalisation des TLR

Les TLR peuvent être classés en deux catégories en fonction de leur localisation cellulaire. Les TLR extracellulaires localisés à la membrane plasmique (TLR1, TLR2, TLR4, TLR5, TLR6 et TLR10) auront pour principale fonction de percevoir les signaux « Danger » provenant de l'extérieur, à savoir les PAMP exprimés à la surface des agents pathogènes (LPS, lipopeptides, acide lipoteichoïque, peptidoglycane des bactéries gram positif...) (tableau I). Sur la base de la séquence aminoacide et la structure génomique, les TLR1, TLR2, TLR6 et TLR10 appartiennent à la sous-famille TLR2 (10, 11). Ces TLR agissent sous forme d'hétérodimère TLR1/TLR2, TLR6/TLR2 et TLR10/TLR2. Les TLR intracellulaires (TLR3, TLR7, TLR8, TLR9), localisés au niveau des compartiments endosomaux ou lysosomaux, détectent les PAMP intracellulaires et notamment les acides nucléiques (ARN viraux simple ou double brin) et les dinucléotides CpG (séquence de cytosine-guanosine associée à des nucléotides flanquant)

Tableau I – Les principaux ligands de récepteurs TLR.

TLR	Principaux ligands exogènes (PAMP)	Ligands endogènes	Ligands ayant une activité thérapeutique en cancérologie
TLR1 + TLR2	Triacyl lipopeptides, lipoarabinomannane (mycobactéries)		
TLR2	Peptidoglycanes (bactéries à Gram +), zymosan (champignon), protéines virales (Herpes simplex-1, HCV, CMV, rougeole,...), phospholipides tréponémal, trypanosomes, glycosylphosphatidylinositol de protozoaires	Défensines, HSP60, HSP70, Radicaux oxygénés, HMGB1	BCG
TLR3	ARN double brin (virus, helminthes)	ARN messager	Poly(I :C), Poly(A :U)
TLR4	LPS (bactéries à gram -), protéines virales (protéine F du RSV), lipides <i>Trypanosoma cruzi</i> ,	HSP70, HSP90, héparine, fragments polysaccharidiques du hyaluronane (hyaluronane soluble), fibrinogène, défensine bêta, HMGB1	CFA, BCG, taxols (paclitaxel), MPL
TLR5	Flagelline		
TLR6 + TLR2	Diacyl lipopeptides (mycoplasmes)		Imiquimod, Resiquimod
TLR7/ TLR8	ARN simple brin (Influenza, VSV, VIH, VRS)		
TLR9	Motifs CpG non méthylés (ADN viraux ou bactériens), schizontes de malaria	Chromatine de l'hôte	CpG ODN*

TLR2 agit sous forme d'hétérodimères avec TLR1 ou TLR6. TLR10 pourrait s'associer sous forme d'hétérodimères avec TLR1 et TLR2. Les ligands de TLR10 et TLR11 restent actuellement inconnus.

* On compte différentes classes de d'oligodéoxynucléotides synthétiques CpG (CpD ODN) d'activité biologique différente : les CpG ODN classe A stimulent surtout la production d'IFN- α par les PDC, les classes B activent la maturation des PDC et la prolifération des lymphocytes B (ce sont les plus utilisés en thérapie antitumorale), les classes C possèdent les propriétés des classes A et B (20).

Abbréviations. CMV : cytomegalovirus ; HCV : hépatite virale C ; CFA : adjuvant complet de Freund ; BCG : bacille de Calmette et Guérin ; CpG ODN : oligodéoxynucléotide synthétique CpG ; HMGB1, *High mobility group box 1* ; MPL : LPS synthétique ; VIH : virus de l'immunodéficience humaine ; VSV : virus de la stomatite vésiculaire ; Poly(A:U) ; acide polyadénylique polyuridylique ; Poly(I:C) : acide polyinosylique polycytidylique ; VSR ; virus respiratoire syncytial.

non méthylés (10, 11). En effet, les mammifères diffèrent des procaryotes dans le degré de méthylation des dinucléotides CpG, les procaryotes présentant beaucoup de motifs CpG non méthylés. La reconnaissance spécifique de ces dinucléotides CpG non méthylés et non des dinucléotides CpG méthylés par TLR9 permet d'établir la distinction entre de l'ADN du soi et des acides nucléiques viraux. Cette compartimentation cellulaire (membrane plasmique/endosomes) des TLR n'est pas absolue. TLR8 aurait une localisation intracellulaire majoritaire, mais pourrait aussi être exprimé sur la membrane plasmique (10). TLR3 verrait sa localisation cellulaire changer selon la cellule auquel il appartient. Les cellules dendritiques l'exprimeraient seulement au niveau intracellulaire, alors qu'une expression extra-cellulaire est aussi retrouvée pour les fibroblastes et les cellules épithéliales (11). TLR4 pourrait percevoir le LPS au niveau intracellulaire dans les cellules épithéliales intestinales (11).

Du point de vue de l'expression cellulaire, les TLR sont exprimés sur les cellules de l'immunité innée (cellules dendritiques, monocytes/macrophages, polynucléaires neutrophiles, polynucléaires éosinophiles, mastocytes, cellules NK) (tableau II), les cellules de l'immunité adaptative (lymphocytes B, lymphocytes T CD4 comme CD8 et même régulateurs) (12) (tableau II), et les cellules « non immunes » comme les fibroblastes (11), les cellules endothéliales (13) et certaines cellules épithéliales (bronchiques, gastro-intestinales, urogénitales) (13, 14). De ce fait, les TLR pourront être aussi exprimés par les cellules provenant de ces tissus et soumis à un processus de transformation (7). Le profil d'expression des TLR répond ainsi à une distribution spécifique en fonction des tissus et des types cellulaires. Ceci permet de réguler plus finement la réponse immunitaire. Les cellules dendritiques plasmacytoïdes (pDC) sont la principale source d'interféron-alpha ($IFN-\alpha$) de l'organisme et jouent un rôle primordial dans la réponse immune antivirale. Elles expriment majoritairement les TLR7 et TLR9 afin de percevoir l'ADN viral simple brin et les motifs CpG non méthylés (15). À l'inverse, les cellules dendritiques myéloïdes immatures présentent un profil d'expression complémentaire avec l'expression des TLR membranaires TLR1, TLR2, TLR4, TLR5 et TLR6 et les TLR endosomaux TLR3 et TLR7 (15). La stimulation de ces TLR par leurs ligands aboutira à la synthèse et la sécrétion d'interleukine-12 (IL-12) permettant, tout comme la synthèse d' $IFN-\alpha$ par les pDC, l'initiation d'une réponse de type I (8) (tableau II).

Nous avons déjà abordé succinctement au cours de cette revue les conséquences de l'engagement d'un TLR par son ligand respectif. Ces conséquences dépendent évidemment de la cellule exprimant le TLR. Ainsi, les cellules douées de propriétés phagocytaires, comme les macrophages, les polynucléaires ou les cellules dendritiques immatures, voient leur capacité de phagocytose stimulée par l'interaction TLR/ligand (8, 15) (tableau II). Les cellules dendritiques produisent de l'IL-12 ou de l' $IFN-\alpha$ pour mettre en place une immunité à médiation cellulaire efficace aboutissant à l'élimination de l'agent pathogène (8). Citons un dernier exemple, qui pourra avoir des conséquences pour l'immunothérapie anti-tumorale, la possibilité que les ligands des TLR (TLR8 ou TLR2, notamment) puissent s'opposer à la suppression de la réponse immunitaire causée par

Tableau II – Les principales fonctions associées à la stimulation des cellules immunitaires humaines par des ligands de récepteurs TLR.

Principales cellules immunitaires	Fonctions	Principaux TLR impliqués dans la fonction
Cellules dendritiques conventionnelles*	<ul style="list-style-type: none"> – Production d'IL-12 (oriente vers réponse de type I) – Migration vers le ganglion de drainage (↑ CCR7) – ↑ Expression des molécules de HLA classe II et de costimulation – ↑ l'internalisation de l'antigène – favorise la présentation croisée aux LT CD8+ 	TLR1/2/6, TLR5, TLR8 TLR1/2/6, TLR5, TLR8 TLR1/2/6, TLR5, TLR8 TLR2, TLR7/8 TLR3
Cellules dendritiques plasmacytoïdes (PDC)	<ul style="list-style-type: none"> – Production d'IFN-α (oriente vers réponse de type I) – favorise la présentation croisée aux LT CD8+ – résistance à l'apoptose – Migration vers le ganglion de drainage (↑ CCR7) 	TLR7, TLR9 TLR9 TLR9 TLR7, TLR9
Monocytes/macrophages	<ul style="list-style-type: none"> – phagocytose – Production de cytokines pro-inflammatoires (IL-1b, IL-6, TNF-α) – Production de chémokines (CCL2, CCL3, CCL4, IL-8/CXCL8, CXCL2/3) 	TLR9 TLR1/2/6, TLR5, TLR8 TLR1/2/6, TLR5, TLR8
Cellules NK	<ul style="list-style-type: none"> – production de défensine alpha – ↑ cytotoxicité – Production d'IFN-γ – Production de TNF-α 	TLR2, TLR5 TLR3, TLR2 TLR2, TLR3, TLR5, TLR9 TLR3, TLR9
Lymphocytes B	<ul style="list-style-type: none"> – stimulation des réponses B – commutation isotypique – ↑ Expression des molécules de costimulation – résistance à l'apoptose – Migration vers le ganglion de drainage (↑ CCR7) – Différentiation en plasmocytes (avec BCR pour LB naïve sans BCR pour les LB mémoires) 	TLR9, TLR2 TLR9, TLR2 (avec BCR et coopération avec le LT CD4) TLR9 TLR9 TLR9 TLR9, TLR2
Lymphocytes T CD4	<ul style="list-style-type: none"> – Polarisation TH1 (effet via CPA) – Polarisation TH2 (effet via CPA) – ↑ de la production de cytokines (IL-2, IL-8, IL-10, TNF-α, IFN-γ) par LT CD4 mémoires – ↑ prolifération des LT CD4 mémoires – ↑ production d'IL-8 – ↓ production d'IL-8 – ↑ de la survie 	TLR4 TLR2, TLR5 TLR2, TLR5, TLR7/8 (avec TCR) TLR2, TLR5, TLR7/8 (avec TCR) TLR2, TLR5 (avec TCR) TLR7 (avec TCR) TLR3 (avec TCR)
Lymphocytes T CD8	<ul style="list-style-type: none"> – ↑ production d'IFN-γ par les LT CD8 effecteurs 	TLR3 (avec TCR)
Lymphocytes T régulateurs	<ul style="list-style-type: none"> – inhibition des fonctions suppressives (LT murins) 	TLR8, TLR2 (avec TCR)

* cellules dendritiques conventionnelles appelées autrefois cellules dendritiques myéloïdes. TLR2 agit sous forme d'hétérodimère avec TLR1 ou TLR6. TLR1 est ubiquitaire. D'après les références 8, 11-13, 15 et 20.

les lymphocytes T régulateurs (12). Ces fonctions sont délivrées par un nombre limité de voies de signalisation, conservées par les différents TLR. Il est généralement accepté que tous les TLR (en particulier TLR2, TLR5, TLR7, TLR8 et TLR9) à l'exception de TLR3 utilisent la molécule MyD88 (*Myeloid Differentiation primary response protein 88*), comme protéine adaptatrice pour initier la voie de signalisation puis des kinases de la famille IRAK (*IL-1 Receptor-Associated Kinase*) (10, 16). TLR3 implique les protéines adaptatrices, Trif (*TRIF domain containing adaptator-inducing IFN- β*) et *IFN-related factor 3* (16). TLR4 utilise à la fois des voies de signalisation dépendantes de MyD88 et indépendantes de MyD88 dont celle de Trif par l'intermédiaire de la protéine adaptatrice TRAM (*Trif-related adaptator molecule*) (10, 16). Ces voies de signalisation aboutissent à l'activation et la translocation vers le noyau des facteurs de transcription NF- κ B et AP-1 (*activating-protein-1*) (16). Il en découle ensuite la transcription de cytokines pro-inflammatoires, comme le TNF- α , l'IL-6 et l'IL-1 β .

Les TLR peuvent aussi signaler *via* les caspases les protéases impliquées dans l'induction de l'apoptose. Par exemple, l'activation de TLR peut aboutir à la sécrétion d'IL-18 de manière indépendante de MyD88. Dans ce contexte, les TLR induisent la caspase 1 qui permet la conversion de la pro-IL-18 en IL-18. Ce processus favorise la polarisation Th1 des réponses immunitaires (17).

Bases fondamentales de l'implication des TLR en cancérologie et modèles expérimentaux

Les premiers balbutiements de l'immunothérapie ont, sans le savoir, utilisé des ligands des TLR. Ainsi l'adjuvant complet de Freund – bien connu des immunologistes pour faciliter une réponse anti-tumorale cellulaire et humorale – qui correspond à la mycobactérie *Mycobacterium bovis* inactivée par la chaleur mise en suspension dans de l'huile minérale, active la réponse immunitaire *via* les TLR et plus particulièrement TLR4 (8, 18) (tableau I). L'effet adjuvant obtenu dans les cancers superficiels de la vessie avec le BCG résulte aussi d'une activation des TLR2 et TLR4 (18, 19) (tableau I). L'utilisation de ligands agonistes peut se fonder sur deux mécanismes d'action différents. D'une part, les ligands de TLR peuvent interagir avec les cellules immunitaires pour favoriser l'activation du système immunitaire inné, augmenter les signaux de costimulation nécessaires aux lymphocytes T et amplifier ainsi l'efficacité des réponses immunes. D'autre part, ces ligands pourraient également directement agir sur les cellules tumorales qui expriment des TLR.

Les ligands de TLR comme agents immunomodulateurs

Les différentes propriétés, mentionnées ci-dessus, confèrent aux TLR des fonctions adjuvantes particulièrement intéressantes pour améliorer l'efficacité des stratégies d'immunothérapies. Plus particulièrement, la capacité des ligands

de TLR à promouvoir la maturation des DC et l'activation des cellules NK est favorable à l'obtention d'une réponse vaccinale Th1 de bonne qualité. De plus, certains travaux suggèrent que des ligands de TLR (TLR2 et TLR8) pourraient abolir les fonctions suppressives de lymphocytes T tolérogènes (12).

Les ligands de TLR après administration exercent effectivement des activités anti-tumorales dans différents modèles de cancer murin (8, 20). Les ligands de TLR administrés seuls peuvent favoriser un rejet tumoral, lorsque les tumeurs sont de petite taille. Cet effet implique la réponse adaptative et les lymphocytes T. Les oligodéoxynucléotides synthétiques CpG (CpG ODN) activent en premier lieu les lymphocytes B et les PDC. Les PDC migrent de la zone marginale vers les zones T des ganglions lymphatiques, sécrètent de l'IFN- α , expriment les molécules de costimulation et activent les lymphocytes T. La cytotoxicité des cellules NK est aussi augmentée par l'intermédiaire de la production d'interférons. Lorsque les tumeurs sont plus volumineuses, une approche combinant anticorps monoclonaux, radiothérapie, chirurgie et/ou chimiothérapie anticancéreuse est nécessaire pour éradiquer la tumeur (20). L'effet adjuvant des ligands synthétiques de TLR9 est capable d'augmenter l'immunogénicité d'approches d'immunothérapie utilisant aussi bien des peptides tumoraux, de l'ADN tumoral, des cellules tumorales ou des cellules dendritiques pulsées avec des antigènes tumoraux (8). Les résultats obtenus dans ces modèles expérimentaux permettent d'envisager de manière encourageante un transfert vers la clinique.

Les ligands de TLR utilisés comme agent thérapeutique ciblant directement les cellules tumorales

Les cellules tumorales elles-mêmes pourraient exprimer les TLR. Ceci est observé pour les cellules tumorales issues des leucocytes (leucémies ou lymphomes). Les carcinomes épidermoïdes peuvent également exprimer des TLR (13). À notre connaissance, une cartographie détaillée de l'expression de TLR par type de cancer n'est pas disponible du fait de la difficulté d'analyse de l'expression de ces récepteurs en immunohistochimie. En revanche, différentes études rapportent l'expression de TLR par des lignées cellulaires tumorales établies issues des tumeurs suivantes : pulmonaire, mammaire, colique, prostatique (9), uro-épithéliales (21), carcinomes gastriques (14), ovariens (22), choriocarcinomes (23), neuroblastomes (24), mélanomes (25). Les principaux TLR exprimés par ces tumeurs seraient TLR2, TLR4, TLR9, mais aussi le TLR1, TLR3, TLR5 et TLR6 (9, 14, 21-25). Ceci confère aux cellules tumorales la capacité de répondre aux ligands de TLR utilisés en thérapeutique (tableau III). La transformation néoplasique pourrait aussi conduire à la perte de l'expression de TLR, comme le suggère une étude sur l'expression de TLR3 par les hépatocytes et les hépatocarcinomes (26). La présence de TLR3 serait nécessaire pour l'activation de la cytolysse hépatique par les lymphocytes T cytotoxiques après infection virale (27). Ainsi, la perte d'expression de TLR3 par les hépatocarcinomes pourrait

expliquer leur échappement à la cytotoxicité cellulaire des cellules NK ou des lymphocytes T cytotoxiques. Cela nous amène à considérer les effets potentiels de la stimulation des TLR exprimés par les tumeurs. L'interaction ligand/TLR exprimés par les cellules tumorales peut aboutir à différentes conséquences. La stimulation de TLR3 par son ligand l'acide polyinosinique polycytidylique (Poly(I:C)) aboutit à l'apoptose de cellules du cancer du sein (28). Après engagement du TLR3 par le poly(I:C), les cellules de cancer du sein rentrent en apoptose. Cette apoptose implique l'activation de la caspase-3 et de la caspase 8 (28). Dans ce cas, les TLR utilisent approximativement la même signalisation que les récepteurs de mort comme Fas et notamment le recrutement de la protéine adaptatrice FADD (29). Cette induction d'apoptose pourra être mise à profit pour lutter contre les tumeurs.

Néanmoins, il existe également des données indiquant que les TLR peuvent être impliqués dans des mécanismes favorables à l'échappement du système immunitaire et à la progression des cancers.

Les effets qui résultent de l'interaction d'un TLR avec son ligand sont dépendants de la dose du ligand et de la cinétique de stimulation (effet dose et temps dépendant). De même, la stimulation répétée d'un TLR peut induire un signal négatif par un système de mécanisme *feed back*, impliquant une signalisation *via* les molécules SOCS (*Suppression Of Cytokine Signalling*) par exemple (13, 20). Les signaux TLR peuvent être inhibés à différents niveaux : par la présence de TLR solubles (sTLR2 et sTLR4), des inhibiteurs intracellulaires (A20, SOCS1...) (29). L'interaction de TLR4 avec ses ligands induit la synthèse de monoxyde d'azote (NO) (7) potentiellement néfaste pour les cellules immunitaires. Il a été aussi rapporté la stimulation de la synthèse de protéases (métalloprotéinases) participant à la dégradation la matrice extra-cellulaire, de molécules d'adhérence (intégrines) qui pourraient favoriser des phénomènes d'invasion et de propagation tumorale (7). L'induction de molécules inhibant l'activation lymphocytaire comme B7H à la surface de cellules tumorales par des ligands de TLR4 a été décrite (9). Les ligands de TLR peuvent aussi induire la synthèse de cytokines immunomodulatrices comme l'IL-10 (7). Ces données doivent être prises en considération lors de la conception de stratégies thérapeutiques utilisant des ligands des TLR.

Utilisations thérapeutiques potentielles (tableau III)

La preuve du concept de l'efficacité anti-tumorale des ligands de TLR repose sur les résultats encourageants et spectaculaires obtenus lors de protocoles évaluant l'utilisation de crèmes à base d'imiquimod (AldaraTM), un ligand synthétique de TLR7 (tableau I), lors du traitement de carcinomes basocellulaires présentant une localisation superficielle (30, 31) (tableau III). Des études contrôlées randomisées ont montré la régression histologique dans 78 à 87 % de ces carcinomes superficiels après application locale cinq jours par semaine pendant six semaines (31). L'effet bénéfique de l'imiquimod résulterait d'une stimulation

Tableau III – Principaux essais cliniques menés en cancérologie utilisant des ligands de TLR.

Ligand TLR utilisé	TLR incriminé(s)	Cancer	Résultats	Mécanisme(s) suspecté(s)
BCG	TLR2, TLR4	Carcinome colorectal avancé	↑ de la réponse IgM dirigé contre l'antigène de tumeur co-administré (TA90), corrélation avec survie	Effet adjuvant (Habal), administration avec un antigène tumoral
BCG	TLR2, TLR4	Cancer du côlon	44% de réduction des rechutes après 5 ans de suivi	Effet adjuvant (Vermorken), administration avec cellules tumorales irradiées
BCG	TLR2, TLR4	Cancer superficiel de la vessie	Réponses cliniques observées	(19), administration sans antigène
CpG ODNs	TLR9	Mélanome	↑ de la réponse CTL	Effet adjuvant (32), administration avec peptide MelanA
CpG ODNs	TLR9	Lymphomes non hodgkiniens	-↑ NK et cytotoxicité NK	Effet adjuvant (20) monothérapie sans antigène
CpG ODNs	TLR9	Mélanome	↑ la réponse spécifique anti-tumorale	Effet adjuvant (20), administration avec peptide MAGE-3
CpG ODNs	TLR9	Lymphomes non hodgkininens	Marqueurs biologiques induit par CpG ODN, pas de toxicité	Combinaison avec Rituximab (33)
CpG ODNs	TLR9	Mélanome	2 réponses partielles et 3 stabilisations sur 20 patients traités	Effet adjuvant (34)
CpG ODNs	TLR9	Tumeurs solides réfractaires		Combinaison avec taxane/platinum (20)
Imiquimod	TLR7 (TLR8 ?)	Mélanome	↑ la réponse spécifique anti-tumorale (peptides NY-ESO-1), pas d'effet clinique	Effet local, association avec peptide de mélanome et le ligand de FLT3 (Shackleton)
Imiquimod	TLR7 (TLR8 ?)	Carcinome basocellulaire	Réponses cliniques observées	(30, 31), administration local sans antigène
MPL	TLR4	Mélanome, glioblastome, carcinome colorectal, carcinome pancréatique	↑ la réponse spécifique anti-tumorale, pas d'effet clinique	Effet adjuvant (pour revue Baldrige) administration avec antigène tumoral

Ligand TLR utilisé	TLR incriminé(s)	Cancer	Résultats	Mécanisme(s) suspecté(s)
Poly(A :U)	TLR3	Cancer du sein	↑ de la survie par rapport au groupe placebo	Analyse <i>a posteriori</i> de patientes traitées*
Poly(A :U)	TLR3	Cancer du sein	↑ de la survie et ↓ de l'incidence des métastases par rapport au groupe sans Poly(A :U)	Avec radiothérapie locorégionale (Laplanche)

*André F, Massard C, Assi H *et al.*, (2006) Toll like receptor 3 expression and efficacy of adjuvant treatment with polyadenylic-polyuridylic acid in patients with axillary node positive breast cancer: Results from two randomized trials. ASCO Annual Meeting Proceedings. Journal of Clinical Oncology, (June 20 Supplement), Vol 24, No 18S : 10563.

des pDC, qui à leur tour libéreraient de l'IFN- α puis activeraient les effecteurs du système immunitaire (30). Autres tumeurs superficielles, les cancers de la vessie peuvent aussi répondre à l'administration de BCG (19). En revanche, pour les tumeurs plus avancées, les réponses cliniques sont moins évidentes.

Plusieurs études cliniques rapportent l'utilisation de ligands de TLR pour exercer un effet anti-tumoral (tableau III). Il est possible de distinguer l'utilisation comme agent adjuvant avec co-administration d'un antigène au sens large (du peptide tumoral aux cellules tumorales inactivées) ou seul sans administration d'antigène.

Les ligands de TLR administrés en plus d'une autre approche d'immunothérapie

L'association de ligands de TLR et d'approches d'immunothérapie peut être toutefois un débouché intéressant pour ces molécules (comme CpG ODN). Nous avons choisi de l'illustrer par deux exemples. Le CpG ODN augmente la réponse T CD8 cytotoxique contre l'antigène de tumeur MelanA (32) et pourrait augmenter la cytotoxicité NK, la cytotoxicité cellulaire dépendante des anticorps (ADCC) lors de l'administration combinée avec un anticorps monoclonal à effet anti-tumoral (20). Le *monitoring* d'une telle étude a permis d'identifier des gènes induits par les IFN de type I (IFN- α et IFN- β) chez les patients recevant des CpG ODN avec l'anticorps rituximab (33).

Les ligands de TLR administrés seuls

Des études cliniques ont aussi choisi d'administrer le ligand de TLR seul. Ainsi, Pashenkov *et al.* rapportent une étude de phase II évaluant l'intérêt d'un CpG ODN dans le traitement des mélanomes. Vingt patients porteurs de mélanome

de stade IIIc ou IV furent inclus et traités par des injections sous-cutanées hebdomadaires. Deux réponses partielles et trois stabilisations de la maladie ont été observées, ce qui confirme l'activité biologique de ces molécules (34). Antoine Carpentier *et al.* ont réalisé une étude de phase I évaluant la faisabilité de l'administration de CpG ODN directement dans des glioblastomes, chez 24 patients réfractaires aux traitements conventionnels. L'administration de CpG ODN s'est avérée non toxique. Les auteurs rapportent une diminution de taille (< 50 %) pour deux patients et une survie globale médiane de 7,2 mois (35).

Les cibles des ligands de TLR peuvent être les cellules de l'immunité adaptative (cellules dendritiques, cellules NK), mais aussi les cellules tumorales elles-mêmes (28, 36). Certains agents anticancéreux comme les taxols pourraient induire l'apoptose des cellules tumorales après interaction avec les TLR, TLR4 en l'occurrence pour les taxols (36). Cependant, la signalisation induite par les TLR est complexe. TLR4 possède une voie impliquant MyD88 et une autre indépendante de MyD88. Il se pourrait que la voie MyD88 puisse induire la résistance des cellules du cancer de l'ovaire au paclitaxel (22). L'importance de la signalisation TLR dans la réponse au traitement est soutenue par l'association entre certains polymorphismes de TLR4 ou d'associations de polymorphismes de TLR1, TLR6 et TLR10 et la survenue de cancers de la prostate (7). Si l'on se place dans le cadre de l'immunosurveillance des cancers, ces polymorphismes de TLR qui génèreraient des récepteurs moins fonctionnels à la surface des tumeurs empêcheraient leur éradication par le système immunitaire. Une meilleure efficacité de l'utilisation des ligands de TLR (synthétique ou médicament anticancéreux) passe par une connaissance plus approfondie des voies de signalisation des TLR. Fabrice André *et al.* ont analysé l'expression de TLR3 dans une cohorte de 182 patientes incluses dans un essai thérapeutique évaluant l'intérêt de l'injection intraveineuse d'un ligand de TLR3 (polyA-U) après chirurgie d'un cancer du sein localisé et présentant un envahissement ganglionnaire. L'expression de TLR3 était observée sur 18 tumeurs mammaires (9,9%). L'administration du ligand de TLR3 était associée à une amélioration de la survie globale chez les patientes dont les cancers expriment TLR3. Les auteurs ne rapportent pas de bénéfice clinique dans le groupe de patientes dont les tumeurs n'expriment pas TLR3 (F. Andre *et al.* Proc. Am. Soc. Clin. Oncol. 2004, abstr 9619).

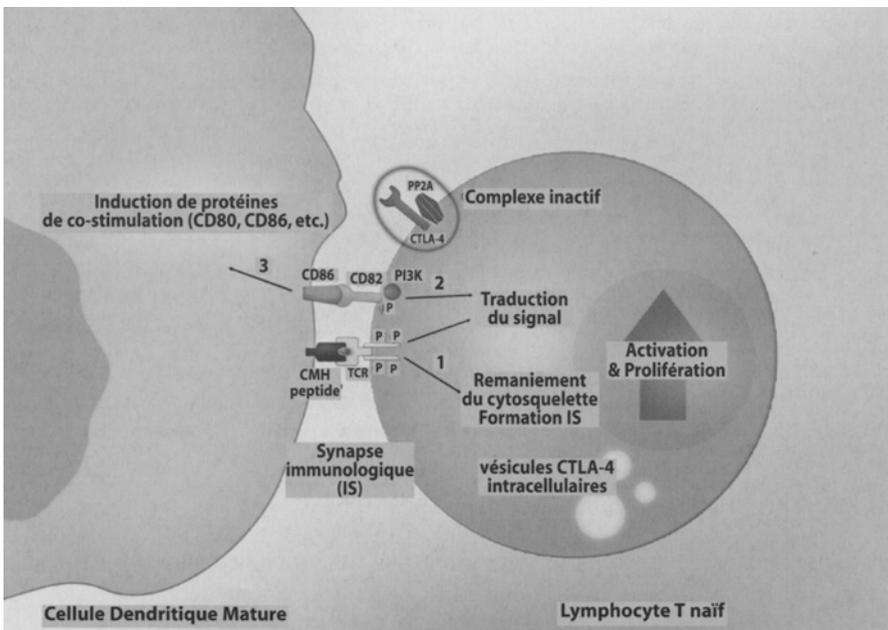
En conclusion, la stimulation *via* les TLR semble une voie d'avenir dans le traitement des cancers. Mis à part l'exception de l'imiquimod, de nouvelles recherches sont nécessaires pour accroître l'efficacité de tels traitements. En revanche, aucune toxicité significative (mis à part des syndromes grippaux) n'a été rapportée malgré le risque d'auto-immunité lié à la stimulation des TLR (34). Des outils ont été mis en place pour suivre la réponse (profil de gènes induits, évaluation des réponses anti-tumorales). Ces progrès réalisés dans le domaine du *monitoring* des patients pourront servir, au même titre que la compréhension de l'expression des TLR et leur signalisation, à développer et rendre efficace l'utilisation des ligands de TLR.

L'activation des TLR est une stratégie ciblant les signaux de costimulation. La neutralisation de CTLA-4 a principalement pour objectif de bloquer un rétrocontrôle négatif des réponses immunitaires. De nombreux travaux confirment l'intérêt de cette approche.

Utilisation d'anticorps neutralisant CTLA-4 en oncologie

Biologie de CTLA-4

Les récepteurs de la famille des récepteurs de costimulation comprenant le CD28 comportent un domaine extra-cellulaire immunoglobulinique et une portion intracytoplasmique courte. Les molécules CD28 et ICOS (*Inducible COSTimulator*) furent caractérisées secondairement à des travaux concernant des anticorps ciblant ces protéines et induisant la prolifération des lymphocytes T. CD28 est exprimé constitutivement sur la plupart des lymphocytes T CD4 et sur 50% des lymphocytes T CD8. Il est précocement induit lors de l'activation du lymphocyte, atteignant un pic d'expression à 24 heures. L'implication de CD28 dans la genèse des réponses immunitaires efficaces fut suggérée par la perte de l'expression de cette molécule lors des infections chroniques et du vieillissement. L'activation de lymphocytes T par des anticorps agonistes de CD28 engendre une augmentation de leurs fonctions métaboliques, une



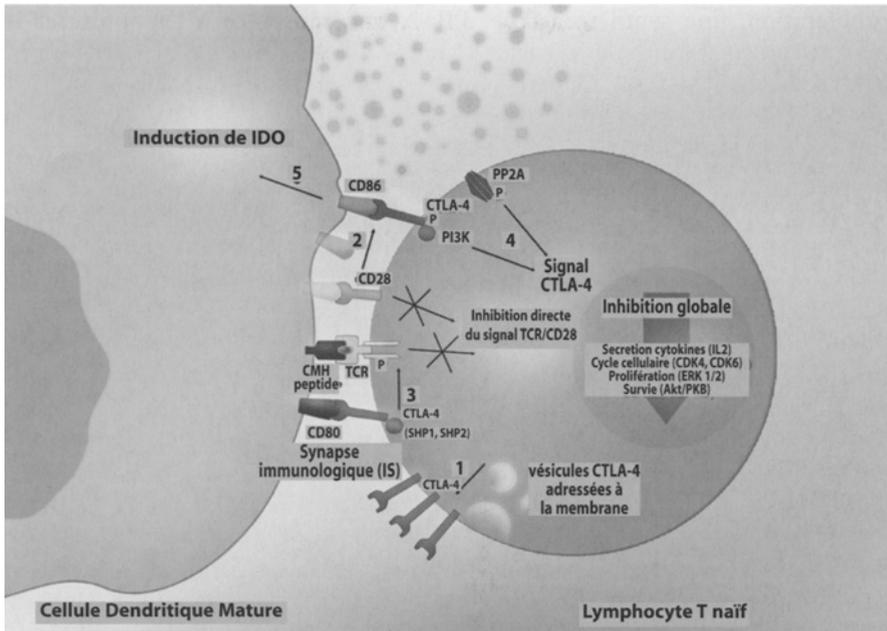


Fig. 1 – Mécanismes d'action de CTLA-4 lors d'une interaction entre un lymphocyte T naïf (LT) et une cellule dendritique mature (CDm).

(A) L'interaction LT naïfs CDm a lieu au sein des organes lymphoïdes secondaires. L'activation du LT nécessite un premier signal (1) spécifique induit par la fixation du TCR au complexe CMH : peptide présenté par la CDm. Un second signal (2) apporté par l'interaction CD28/CD86 permet d'amplifier le signal délivré par le TCR et de soutenir la phosphorylation des protéines impliquées dans l'activation du LT. L'activation du lymphocyte T amplifie également l'expression des molécules de costimulation (CD80, CD86) par les CDm (3). À noter que le signal du TCR induit un remaniement du cytosquelette d'actine et des microtubules, aboutissant à la formation d'une synapse immunologique (IS) structurant l'interaction entre les deux cellules. Des vésicules contenant des protéines de CTLA-4 sont présentes au niveau intracellulaire. Les protéines de CTLA-4 membranaires sont associées à PP2A, une sérine/thréonine phosphatase. Cette association inactive les deux protéines.

(B) Au cours de l'activation du LT, la phosphorylation de CTLA-4 entraîne son activation. Les voies d'action de CTLA-4 sont multiples et semblent inhiber l'activation du LT à de nombreux niveaux. (1) Les vésicules de CTLA-4 intracellulaires peuvent migrer dans la zone d'interaction cellulaire et augmentent rapidement l'expression membranaire de CTLA-4 (2). La plus forte avidité/affinité de CTLA-4 pour les ligands du CD28 favorise une compétition à la fixation de CD80/CD86. Ceci aboutit à la répression du signal transduit par CD28. (3) Grâce à sa partie intra-cytoplasmique, CTLA-4 recrute des phosphatases (SHP1, SHP2) qui pourraient directement interférer avec le niveau de phosphorylation du TCR. (4) CTLA-4 possède un domaine de fixation à la kinase PI3K, qui séquestre PI3K. Il est possible que CTLA-4 induise une voie de signalisation propre nécessitant le recrutement de cette protéine. PP2A est phosphorylée par la cascade d'activation et se dissocie de CTLA-4, déclenchant son activité phosphatase. Elle réprime la voie Akt/PKB. (5) Le signal transmis par CTLA-4 est bidirectionnel et engendre une synthèse d'IDO par la CDm. Cette enzyme est sécrétée et catabolise le tryptophane, un acide aminé essentiel pour le LT. La conséquence directe est l'inhibition de prolifération du LT.

prolifération, une synthèse accrue d'IL-2, une résistance à l'apoptose et la production de nombreuses cytokines comme l'IFN- γ (37).

CTLA-4 où CD152 est une glycoprotéine transmembranaire de type I appartenant à la superfamille des immunoglobulines. Elle est exprimée à la surface des lymphocytes T CD4 et CD8 sous la forme d'un homodimère de 43 kDa. Chez l'homme, le gène est localisé sur le chromosome 2 et il comporte 4 exons. L'épissage alternatif du transcript primaire peut produire une protéine transmembranaire (exons 1-4, CTLA-4) ou une forme soluble (exons 1, 2, 4, sCTLA-4). La protéine est principalement induite tardivement (48 h-72 h) au cours de l'activation du lymphocyte T. Son induction est proportionnelle à la force du signal du TCR (38). CTLA-4 et CD28 sont homologues à 30% au niveau protéique. Cette similitude est associée à la reconnaissance de ligands identiques, comme les molécules CD80 (B7-1) et CD86 (B7-2). CTLA-4 peut se fixer à deux protéines de CD80/CD86 à la fois, cela lui confère une plus forte avidité. Il a été longtemps admis que l'affinité de CTLA-4 pour CD80 et CD86 était plus forte que celle du CD28. Cependant de récentes données décrivent une plus forte affinité entre CTLA-4 et CD80 d'une part et CD28 et CD86 d'autre part. De plus, les profils d'expression de ces deux ligands miment en partie ceux de CTLA-4 et CD28, ce qui permet de mieux comprendre le déroulement séquentiel de la signalisation CD28/CTLA-4. En effet, CD86 est exprimé de manière constitutive sur les CPA et il est induit rapidement pour atteindre un pic d'expression à 24 h. CD80 a une expression plus tardive, atteignant un pic 48 h à 72 h après activation de la CPA (39). CTLA-4 est aussi exprimée de manière constitutive sur certains lymphocytes T régulateurs. Les lymphocytes T mémoires possèdent une plus grande réserve de CTLA-4 intracellulaire, rapidement adressée à la membrane secondairement à différents signaux d'activation. En effet, CTLA-4 est liée au cytosquelette par des molécules adaptatrices dépendant des clathrines, AP-1 et AP-2 (40). Lors de l'activation des lymphocytes T, CTLA-4 est recruté dans le site des interactions entre les CPA et les lymphocytes T et se co-localise avec le TCR (41).

L'inhibition des lymphocytes T par CTLA-4 semble reposer sur des mécanismes complémentaires (42). Premièrement, la forte avidité de CTLA-4 pour les récepteurs CD80 et CD86 suggère une compétition à la fixation du CD28 à ces mêmes ligands. CTLA-4 interagit avec CD86, ce qui séquestre les ligands potentiels du CD28. Quarante-huit à 72 heures après maturation des DC, CD80 est fortement induite, accentuant la séquestration et l'inhibition occasionnée. Pourtant ce mécanisme n'explique pas l'intégralité des fonctions de CTLA-4 observées *in vivo*. L'inhibition induite par CTLA-4 peut s'établir en l'absence de CD28, ce qui remet en question l'hypothèse de compétition à la fixation au ligand (43). En effet, des expériences utilisant des lymphocytes exprimant un CTLA-4 mutant ayant une portion intracytoplasmique tronquée ont démontré que l'absence de signalisation compromettrait la fonction de CTLA-4 *in vivo* (44). De plus, les autres fonctions de CTLA-4 sont liées à sa portion cytoplasmique qui contient de nombreux domaines de fixation pour des protéines de signalisation (PI3K, SHP1, SHP2 et PP2A) (45-47). Les données sont encore peu détaillées et

plusieurs modèles sont explorés. La fixation de CTLA-4 à son ligand pourrait induire le recrutement au niveau intracellulaire de phosphatases comme SHP1, SHP2 et PP2A. Son rôle serait de diminuer l'état de phosphorylation du TCR et des LAT (*Linker for Activation of T cells*) après interaction avec CTLA-4. Ainsi, des études rapportent une activité phosphatase de CTLA-4 (48), mais à ce jour les protéines impliquées ne sont pas connues. D'autres travaux mettent en avant un rôle de CTLA-4 en aval du signal du TCR. Ils suggèrent une diminution des protéines ERK-1/2 conduisant à une réduction de la production d'IL2 (49, 50). PP2A (*Protein Phosphatase 2A*), une sérine/thréonine phosphatase, est souvent évoquée dans les études de signalisation de CTLA-4. Cette protéine trimérique peut agir comme inhibiteur de la protéine kinase B et de Akt, deux composants majeurs de la signalisation du TCR (51, 52). Elle peut interagir, grâce à sa sous-unité PP2AA, avec CTLA-4. Sous cette conformation, les deux protéines sont inactives sur les lymphocytes T naïf (53). Après activation du signal du TCR, PP2A est phosphorylée et se détache de CTLA-4. Les deux protéines sont alors libres d'induire leurs signaux inhibiteurs. Enfin, CTLA-4 peut interagir directement avec la PI3K, une kinase importante dans l'activation des lymphocytes T qui est recrutée par le CD28 après engagement de CD80 ou CD86. Le recrutement de la PI3K par CTLA-4 peut se concevoir comme une compétition avec le recrutement de la PI3K par CD28 et signifier une séquestration de cette molécule pour compromettre la capacité de transmission du signal activateur. Cependant, il n'est pas exclu que PI3K ait une signalisation propre dépendante de CTLA-4, mais celle-ci n'est pas connue à ce jour. Il existe ainsi une forte corrélation entre les activités CTLA-4 et CD28 permettant une fine régulation de l'activité du lymphocyte T. Les différents mécanismes d'actions de CTLA-4 évoqués sont exposés dans la figure 1.

L'engagement de CTLA-4 a également un effet négatif sur l'organisation des synapses immunologiques. Les phosphatases recrutées par CTLA-4 pourraient prévenir l'activation des molécules adaptatrices favorisant la polymérisation du cytosquelette et la polarisation des radeaux lipidiques dans la zone d'interaction membranaire entre CPA et lymphocytes T CD4. Ainsi, CTLA-4 exercerait directement une fonction inhibitrice pour la constitution des synapses immunologiques (54, 55).

CTLA-4 a d'autres fonctions décrites dans la littérature. Elle régule négativement la sécrétion de cytokines (par inhibition de l'accumulation des facteurs de transcription AP-1, NFAT et NF- κ B dans le noyau) (56, 57). CTLA-4 peut aussi réguler la prolifération cellulaire (la cycline D3, CDK4 et 6 peuvent être inhibées) (58). Il est aussi important de noter que l'engagement de CTLA-4 par les récepteurs CD80 et CD86 n'induit pas un signal unidirectionnel. En effet, CTLA-4 active la voie de catabolisme du tryptophane au sein de la DC présentant CD80-CD86. Ainsi, l'engagement de CTLA-4 favorise la production autocrine ou paracrine de l'enzyme IDO (Indole amine 2,3-DiOxygénase) par les CPA (59). Le substrat de IDO est le tryptophane, un acide aminé essentiel. IDO dégrade le tryptophane, ce qui inhibe la prolifération cellulaire et peut

promouvoir l'apoptose. Cette propriété de CTLA-4 est particulièrement intéressante pour des thérapies visant à induire une tolérance.

CTLA-4 est aussi exprimé constitutivement par les lymphocytes T régulateurs à des taux très importants. CTLA-4 est ainsi présent dans le cytoplasme des lymphocytes T régulateurs non activés et peut être adressé à la membrane au décours d'une stimulation, où lorsque ces lymphocytes régulateurs sont purifiés à partir des tumeurs (60). Des hypothèses sur le rôle de la protéine au sein de cette population ont été avancées. Notamment, les Treg CTLA-4+ pourraient interagir directement avec les DC présents dans les OLS et stimuler la synthèse d'IDO de manière paracrine, inhibant la réponse immunitaire (61).

Fonctions de CTLA-4

Les différentes fonctions de CTLA-4 ont été étudiées dans un premier temps dans des modèles *in vitro*. Des expériences de stimulation par anticorps ciblant CTLA-4 ont montré une diminution de la prolifération et de la production d'IL-2 des lymphocytes T stimulés (62). Ces premières données suggéraient un rôle inhibiteur de CTLA-4. Par la suite, des modèles *in vivo* de souris déficientes en CTLA-4 ont permis de mieux comprendre le rôle de cette molécule dans le système immunitaire. Ces souris ont un phénotype normal à la naissance, leur thymus est de taille normale et aucune irrégularité n'est observée dans les populations lymphocytaires. Pourtant, 5-6 jours après leur naissance, une forte proportion de lymphocytes T activés envahit les tissus non lymphoïdes, induisant la mort de l'animal en trois à quatre semaines. Les pathologies observées sont multiples (63). De nombreuses destructions tissulaires comprenant des myocardites, pancréatites, lymphadénopathies et splénomégalies sont observées. De plus, les organes lymphoïdes des souris déficientes en CTLA-4 contiennent dix fois plus de lymphocytes T, traduisant ainsi une prolifération lymphocytaire excessive et incontrôlée des lymphocytes. Les lymphocytes T déficients en CTLA-4 ont un phénotype caractéristique d'un lymphocyte T activé, indépendamment de la sous-population observée. Leur production de cytokines (IFN- γ , IL-4, GM-CSF) est accrue. L'injection de CTLA-4-Ig chez des souris déficientes en cette protéine permet de prévenir le développement de cette prolifération lymphocytaire fatale et l'infiltration des organes. L'inhibition de la voie CTLA-4 peut entraîner le développement du diabète insulino-dépendant (DID) qui se caractérise par la génération de lymphocytes T spécifiques de protéines produites par les cellules β des îlots de Langerhans du pancréas (64). Dans le cas d'encéphalomyélite auto-immune expérimentale (EAE), un modèle d'étude de sclérose en plaques, l'injection de CTLA-4-Ig chez des souris après induction d'EAE prévient le développement de la maladie auto-immune (65). Ces résultats confèrent à CTLA-4 un rôle majeur dans la régulation négative de l'activation des lymphocytes T, mais aussi dans la maintenance de l'homéostasie lymphocytaire et le contrôle des lymphocytes T auto-réactifs et des maladies auto-immunes.

Le rôle de CTLA-4 chez l'homme est étayé par l'étude de polymorphismes génétiques de cette molécule, associés à la production de protéines d'une efficacité variable. Plus particulièrement, certains polymorphismes engendrent une diminution de la forme soluble de CTLA-4 et sont associés à une susceptibilité augmentée de développer des maladies auto-immunes. Ueda H *et al.* ont également rapporté la présence d'un épissage alternatif de CTLA-4 générant un variant de la protéine dont la capacité de liaison de CD80/CD86 est altérée. Les souris NOD surexprimant particulièrement cet épissage alternatif de CTLA-4 ont une susceptibilité augmentée à la survenue de diabète insulino-dépendant (66).

Le ciblage de CTLA-4 dans des thérapies immunomodulatrices fait actuellement l'objet de nombreuses études pour le traitement de certains cancers. Ainsi, une équipe californienne (67) a pu démontrer, dans un modèle murin de cancer de la prostate (TRAMP-C2), le rôle potentiel de CTLA-4. Après induction d'une tumeur métastatique puis résection, deux groupes de souris ont été générés. Un premier groupe fut traité par un anticorps contrôle et un second par un anticorps monoclonal neutralisant CTLA-4. Le nombre de récurrences métastatiques est alors réduit de 97 à 44 % avec l'anticorps anti-CTLA-4. Chez l'homme, des études cliniques sont en cours et les premiers résultats tendent à conforter les données des modèles murins.

La modulation de CTLA-4 peut aussi donner lieu à une induction de tolérance et la création d'un environnement favorable à la greffe de moelle osseuse et d'organe (ceci dépasse le sujet de cette revue).

Rationnel préclinique

L'utilisation d'anticorps neutralisant CTLA-4 dans des modèles murins permet l'obtention de régression de métastases établies ou la prévention de l'apparition de cancers dans des modèles de mélanomes, de fibrosarcomes, de cancers de la prostate (68-71). Dès les années 1999, van Elsas *et al.* démontrèrent dans un modèle de mélanome murin l'intérêt de l'utilisation d'un anticorps neutralisant CTLA-4 avec un objectif thérapeutique (72). Ces auteurs ont établi une procédure vaccinale, associant un traitement par anticorps neutralisant CTLA-4 et l'administration d'une lignée de mélanome irradiée (B16) exprimant le GM-CSF. Ces auteurs démontrèrent que l'association de vaccination thérapeutique était efficace et permettait l'éradication de micrométastases du mélanome murin (B16), établies dans des souris C57/BL6. La régression des tumeurs était corrélée à l'apparition d'une immunité mémoire prévenant l'implantation ultérieure de ce mélanome. Des symptômes auto-immuns comprenant une dépigmentation furent observés. L'efficacité de la vaccination dans le modèle de souris portant des métastases de B16 dépendait des lymphocytes T CD8+. Au contraire, dans un modèle de vaccination préventive, l'efficacité du traitement par anti-CTLA-4 était indépendante des lymphocytes T CD8 et nécessitait la présence de lymphocytes T CD4.

Afin de distinguer l'implication de CTLA4 dans l'immunité dépendant des lymphocytes T CD8 et CD4, Gattinoni *et al.* ont élaboré un modèle murin déficitaire en CTLA4, dont les lymphocytes T CD8 sont transgéniques pour un TCR et reconnaissent un antigène nominal (pmel-1 : antigène mélanocytaire). Ces souris développent rapidement un vitiligo sévère et une immunité anti-mélanome efficace. L'ablation des lymphocytes T CD4 (non transgéniques) altère l'immunité antitumorale dépendant des lymphocytes T CD8 et diminue l'incidence des vitiligos. Ainsi, les mécanismes effecteurs des traitements neutralisant CTLA-4 sont complexes et impliquent également de manière non spécifique une augmentation des fonctions auxiliaires des lymphocytes T CD4. Ceci pourrait expliquer en partie le large spectre des maladies auto-immunes observées chez les patients traités par ces stratégies.

Données cliniques

Ces différentes données furent transcrites dans la recherche clinique. La neutralisation de CTLA-4 permet d'obtenir 15 à 20 % de réponses objectives dans les protocoles dédiés aux mélanomes métastatiques (tableau IV). Deux anticorps monoclonaux neutralisant CTLA-4 sont en cours de développement (ipilimumab [MDX-010] et ticilimumab). Les patients traités par anticorps neutralisant CTLA-4 ont présenté des toxicités de grade III-IV incluant des vitiligos, des dermatites, des néphrites, des hypophysites et des colites inflammatoires. Plusieurs études rapportent une corrélation entre l'efficacité thérapeutique et la survenue de symptômes auto-immuns.

Phan GQ *et al.* publièrent en 2003 les résultats concernant 14 patients porteurs de mélanomes métastatiques traités par anticorps neutralisant CTLA-4 (ipilimumab) et vaccination sous-cutanée utilisant des peptides de gp100 (73). Quarante-trois pour cent des patients ont présenté une toxicité auto-immune de grade III ou IV associant essentiellement dermatite, entérocolite, hépatite et syndrome hypophysaire. Ces toxicités furent réversibles par traitement en corticothérapie. Le taux de réponses objectives était de 23 % (2 réponses complètes et 1 réponse partielle). Ces résultats furent confirmés par cette équipe dans une cohorte de 56 patients porteurs de mélanome de stade IV en situation d'échappement thérapeutique (JCO 2005). Ces 56 patients furent également traités par vaccination sous-cutanée utilisant des peptides de gp100 et ipilimumab. Le taux de réponses objectives était de 13 % incluant deux réponses complètes et cinq réponses partielles. Trente-six pour cent des patients qui présentèrent des toxicités auto-immunes de grade III-IV ont bénéficié de réponses objectives, alors que les auteurs ne rapportent que 5 % de régressions tumorales objectives chez les 42 patients sans symptômes auto-immuns ($p = 0,008$). Cette équipe a ainsi établi l'efficacité des stratégies d'immunothérapie basée sur la neutralisation du CTLA-4. L'obtention de manifestations auto-immunes lors de l'utilisation de l'ipilimumab est un facteur prédictif de son efficacité. La régression spontanée

Tableau IV – Principaux essais cliniques basés sur la neutralisation de CTLA-4.

Auteurs	Tumeurs	Patients	Traitement	RO	RC	Réf.
Phan GQ <i>et al.</i>	Mélanome	14	Vaccination avec peptide & anti-CTLA-4	21 %	14 %	73
Beck KE <i>et al.</i>	Mélanome et Carcinome rénal	198	Anti-CTLA4	14 %	0 %	75
Ribas A <i>et al.</i>	Mélanome	29	Anti-CTLA4	14 %	7 %	76
Marker AV <i>et al.</i>	Mélanome	24	IL2 & anti-CTLA4, 3 mg/kg	22 %	12,40 %	77

de ces toxicités a justifié un plus ample développement clinique de cette molécule dans cette pathologie sans ressource thérapeutique.

Dans une autre étude, 19 patients opérés de manière radicale pour des mélanomes de stade III ou IV ont été traités par vaccination peptidique (gp100 et MART1) et ipilimumab (74). L'anticorps anti-CTLA-4 fut administré selon une escalade de doses, toutes les quatre semaines pendant six mois puis toutes les douze semaines pendant six mois supplémentaires. Dans cette configuration, la dose maximale tolérée est de 1 mg/kg. Huit patients ont présenté des dermatites ou entérocolites de grade III-IV. Trois de ces patients récidivèrent. À l'inverse, 9 des 11 patients n'ayant pas subi de toxicité auto-immune récidivèrent.

Une récente revue de 198 patients traités par ipilimumab pour des mélanomes métastatiques ou des carcinomes rénaux a confirmé l'efficacité clinique de cette molécule avec un taux de réponse objective de 14 % sur cette large cohorte de patients. La toxicité principale fut une entérocolite survenant chez 21 % des patients et consistant en des épisodes de diarrhées de grade III et IV. Les biopsies digestives ont révélé la présence d'un infiltrat lymphocytaire de la muqueuse digestive. Ces symptômes furent sensibles à la corticothérapie pour la majorité des patients. Néanmoins, cinq patients subirent une colectomie secondairement à une perforation digestive. Cinq autres patients ayant développé des entérocolites résistant à la corticothérapie furent traités avec succès par anticorps neutralisant le TNF- α . Les auteurs n'ont pas observé d'interférence entre le traitement par corticoïdes et l'efficacité clinique (75). Le taux de réponses objectives était de 36 % et de 35 % pour les patients porteurs de mélanomes ou de cancers du rein et ayant présenté des colites inflammatoires. En l'absence de manifestations auto-immunes, les taux de réponses objectives furent respectivement de 11 % et 2 % chez ces patients.

Un second anticorps neutralisant CTLA-4 fut développé (ticilimumab). Trente-quatre patients porteurs de mélanomes métastatiques, 4 patients porteurs de cancers du rein et 1 patient porteur d'un adénocarcinome colique furent inclus dans une première étude de phase I évaluant l'intérêt d'un traitement par ticilimumab seul (76). Une dose maximale de 15 mg/kg fut adminis-

trée. Ce traitement fut également associé à des manifestations auto-immunes de type colites inflammatoires, vitiligos, dermatites, panhypopituitarisme, hypothyroïdie. Les auteurs rapportèrent deux réponses complètes et deux réponses partielles durables (25 et 26 mois). Ces réponses furent observées majoritairement pour le palier de dose supérieure, suggérant un effet dose pour cette molécule, à considérer pour la réalisation des prochains essais thérapeutiques.

Une autre approche thérapeutique a également consisté en l'association de la neutralisation du CTLA-4 et d'un traitement par IL-2 (77). Trente-six patients porteurs de mélanomes métastatiques furent ainsi traités par IL-2 (720 000 UI/8 h, IV pour un maximum de 15 injections) et par ipilimumab. Trois patients bénéficièrent de réponses complètes et les auteurs notèrent cinq réponses partielles, soit un taux de réponse objective de 22 %. Quatorze pour cent des patients ont développé des symptômes auto-immuns, principalement à type de colite inflammatoire. Cette étude montre que l'association de l'interleukine 2 et de la neutralisation du CTLA-4 est faisable. Néanmoins, les résultats cliniques n'indiquent pas une synergie entre ces deux molécules et n'incitent pas à la poursuite de ce développement.

Leçons issues du suivi immunologique des patients

Les différents protocoles évaluant l'intérêt de l'ipilimumab ou du ticilimumab pour la neutralisation du CTLA-4 furent associés à un suivi biologique des réponses immunitaires. Le CTLA-4 étant exprimé sur les lymphocytes T activés et de manière constitutive sur les lymphocytes T régulateurs, deux effets biologiques principaux pouvaient être attendus. Les données précliniques suggèrent que l'inhibition de CTLA-4 abaisse le seuil d'activation des lymphocytes T CD4 et T CD8. Un deuxième effet potentiellement envisageable est la déplétion des lymphocytes T régulateurs, ce qui est suggéré par la survenue de colites inflammatoires habituellement observées lorsque ces lymphocytes régulateurs sont déficients (IPEX, Powrie).

Maker *et al.* ont évalué les réponses immunes d'une cohorte de patients traités par ipilimumab (78). L'inhibition de CTLA-4 chez ces patients n'a pas affecté le nombre ou les fonctions des lymphocytes T régulateurs CD4+CD25+FOXP3+. À l'inverse, l'expression de marqueurs d'activation comme HLA-DR était augmentée, suggérant que l'effet principal de cette molécule est de potentialiser l'activation des lymphocytes T effecteurs.

Reuben *et al.* ont effectué une analyse similaire dans une cohorte de patients traités par ticilimumab (79). Ces auteurs suggèrent que les patients bénéficiant d'une activité thérapeutique du ticilimumab ont un taux de lymphocytes T régulateurs et une production d'IL-10 qui diminuent sous traitement. Les lymphocytes T conventionnels de ces patients ont une capacité de production d'IL-2 augmentée. Ainsi, ces résultats restent préliminaires et la recherche de biomarqueurs associés à l'efficacité de ces traitements doit constituer un enjeu majeur des protocoles en cours de réalisation.

Une autre perspective intéressante provient de l'amélioration des modèles pré-cliniques utilisables pour la sélection des anticorps thérapeutiques neutralisant le CTLA-4. Cette approche pourrait permettre d'amener au stade de la recherche clinique des anticorps inhibant CTLA-4 et pourvu d'un meilleur index thérapeutique. En effet, Lute *et al.* ont produit des souris dont la molécule CTLA-4 fut partiellement humanisée (80). Dans ce contexte, CTLA-4 reste fonctionnel chez ces souris, mais peut être reconnu et neutralisé par des anticorps ciblant CTLA-4 humain. Plusieurs anticorps neutralisant CTLA-4 furent ainsi développés et analysés pour leur toxicité et efficacité clinique dans ce modèle. Ces auteurs ont démontré que certains de ces anticorps peuvent prévenir la croissance de mélanomes sans engendrer de réponses auto-immunes cliniquement significative.

Conclusion

Les stratégies d'immunomodulation du système immunitaire font maintenant partie de l'arsenal thérapeutique de l'oncologie médicale. Une stimulation excessive du système immunitaire n'est pas sans risque pour le patient (voir les réactions auto-immunes associées au traitement par anticorps anti-CTLA-4). Ces complications peuvent être réduites en développant des modèles précliniques adéquats, mais aussi en assurant un suivi biologique approprié des patients traités par biothérapie. Les réactions auto-immunes semblent moins problématiques avec l'utilisation des ligands de TLR sur la base des études réalisées et aussi peut-être de l'utilisation locale de certains ligands (imiquimod). L'autre intérêt des ligands de TLR est leur effet direct sur les cellules tumorales. L'efficacité clinique corrélée à l'utilisation d'anticorps neutralisant CTLA-4 suggère également que les traitements interférant avec la tolérance immunologique (à l'échelle cellulaire ou moléculaire) sont un préalable important au développement des stratégies d'immunothérapie anti-tumorale.

Références

1. Stephen CL, Gough SCL, Walker L.S.K, Sansom DM (2005) CTLA4 gene polymorphism and autoimmunity. *Immunol Rev* 204: 102-15
2. Lemaitre B (2004) The road to Toll. *Nat Rev Immunol* 4: 521-7
3. Matzinger P (1994) Tolerance, danger, and the extended family. *Annu Rev Immunol* 12: 991-1045
4. Gallucci S, Matzinger P (2001) Danger signals: SOS to the immune system. *Curr Opin Immunol* 13: 114-9
5. Srivastava PK (2005) Immunotherapy for human cancer using heat shock protein-peptide complexes. *Curr Oncol Rep* 7: 104-8

6. Shi Y, Evans JE, Rock KL (2003) Molecular identification of a danger signal that alerts the immune system to dying cells. *Nature* 425: 516-21
7. Killeen SD, Wang JH, Andrews EJ, *et al.* (2006) Exploitation of the Toll-like receptor system in cancer: a doubled-edged sword? *Br J Cancer* 95: 247-52
8. van Duin D, Medzhitov R, Shaw AC (2006) Triggering TLR signaling in vaccination. *Trends Immunol* 27: 49-55
9. Huang B, Zhao J, Li H, *et al.* (2005) Toll-like receptors on tumor cells facilitate evasion of immune surveillance. *Cancer Res* 65: 5009-14
10. Miggin SM, O'Neill LA (2006) New insights into the regulation of TLR signaling. *J Leukoc Biol* 80: 220-6
11. Parker LC, Prince LR, Sabroe I (2007) Translational Mini-Review Series on Toll-like Receptors: Networks regulated by Toll-like receptors mediate innate and adaptive immunity. *Clin Exp Immunol* 147: 199-207
12. Suttmuller RP, Morgan ME, Netea MG, *et al.* (2006) Toll-like receptors on regulatory T cells: expanding immune regulation. *Trends Immunol* 27: 387-93
13. Hopkins PA, Srisakandan S (2005) Mammalian Toll-like receptors: to immunity and beyond. *Clin Exp Immunol* 140: 395-407
14. Schmausser B, Andrulis M, Endrich S, *et al.* (2005) Toll-like receptors TLR4, TLR5 and TLR9 on gastric carcinoma cells: an implication for interaction with *Helicobacter pylori*. *Int J Med Microbiol* 295: 179-85
15. Iwasaki A, Medzhitov R (2004) Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nat Immunol* 5: 987-95.
16. Kawai T, Akira S (2006) TLR signaling. *Cell Death Differ* 13: 816-25
17. Seki E, Tsutsui H, Nakano H, *et al.* (2001) Lipopolysaccharide-induced IL-18 secretion from murine Kupffer cells independently of myeloid differentiation factor 88 that is critically involved in induction of production of IL-12 and IL-1beta. *J Immunol* 166: 2651-7
18. Tsan MF (2006) Toll-like receptors, inflammation and cancer. *Semin Cancer Biol* 16: 32-7
19. Perabo FG, Muller SC (2004) Current and new strategies in immunotherapy for superficial bladder cancer. *Urology* 64: 409-21
20. Krieg AM (2006) Therapeutic potential of Toll-like receptor 9 activation. *Nat Rev Drug Discov* 5: 471-84
21. Miyazaki J, Kawai K, Oikawa T, *et al.* (2006) Uroepithelial cells can directly respond to *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin through Toll-like receptor signalling. *BJU Int* 97: 860-4
22. Kelly MG, Alvero AB, Chen R, *et al.* (2006) TLR-4 signaling promotes tumor growth and paclitaxel chemoresistance in ovarian cancer. *Cancer Res* 66: 3859-68
23. Klaffenbach D, Rascher W, Rollinghoff M, *et al.* (2005) Regulation and signal transduction of toll-like receptors in human chorioncarcinoma cell lines. *Am J Reprod Immunol* 53: 77-84
24. Hassan F, Islam S, Tumurkhuu G, *et al.* (2006) Intracellular expression of toll-like receptor 4 in neuroblastoma cells and their unresponsiveness to lipopolysaccharide. *BMC Cancer* 6: 281
25. Molteni M, Marabella D, Orlandi C, Rossetti C (2006) Melanoma cell lines are responsive in vitro to lipopolysaccharide and express TLR-4. *Cancer Letter* 235: 75-83
26. Li K, Chen Z, Kato N, *et al.* (2005) Distinct poly(I-C) and virus-activated signaling pathways leading to interferon-beta production in hepatocytes. *J Biol Chem* 280: 16739-47
27. Lang KS, Georgiev P, Recher M, *et al.* (2006) Immunoprivileged status of the liver is controlled by Toll-like receptor 3 signaling. *J Clin Invest* 116: 2456-63
28. Salaun B, Coste I, Risoan MC, *et al.* (2006) TLR3 can directly trigger apoptosis in human cancer cells. *J Immunol* 176: 4894-901
29. Liew FY, Xu D, Brint EK, O'Neill LA (2005) Negative regulation of toll-like receptor-mediated immune responses. *Nat Rev Immunol* 5: 446-58

30. Stockfleth E, Trefzer U, Garcia-Bartels C, *et al.* (2003) The use of Toll-like receptor-7 agonist in the treatment of basal cell carcinoma: an overview. *Br J Dermatol* 149 Suppl 66: 53-6
31. Schulze HJ, Cribier B, Requena L, *et al.* (2005) Imiquimod 5% cream for the treatment of superficial basal cell carcinoma: results from a randomized vehicle-controlled phase III study in Europe. *Br J Dermatol* 152: 939-947
32. Speiser DE, Lienard D, Rufer N, *et al.* (2005) Rapid and strong human CD8+ T cell responses to vaccination with peptide, IFA, and CpG oligodeoxynucleotide 7909. *J Clin Invest* 115: 739-46
33. Friedberg JW, Kim H, McCauley M, *et al.* (2005) Combination immunotherapy with a CpG oligonucleotide (1018 ISS) and rituximab in patients with non-Hodgkin lymphoma: increased interferon-alpha/beta-inducible gene expression, without significant toxicity. *Blood* 105: 489-95
34. Pashenkov M, Goess G, Wagner C, *et al.* (2006) Phase II trial of a toll-like receptor 9-activating oligonucleotide in patients with metastatic melanoma. *J Clin Oncol* 24: 5716-24
35. Carpentier A, Laigle-Donadey F, Zohar S, *et al.* (2006) Phase 1 trial of a CpG oligodeoxynucleotide for patients with recurrent glioblastoma. *Neuro-oncol* 8: 60-6
36. Byrd-Leifer CA, Block EF, Takeda K, *et al.* (2001) The role of MyD88 and TLR4 in the LPS-mimetic activity of Taxol. *Eur J Immunol* 31: 2448-57
37. June CH, Bluestone JA, Nadler LM, Thompson CB (1994) The B7 and CD28 receptor families. *Immunol Today* 7: 321-31
38. Egen JG, Allison JP (2002) Cytotoxic T lymphocyte antigen-4 accumulation in the immunological synapse is regulated by TCR signal strength. *Immunity* 16: 23-35
39. Lenschow DJ, Walunas TL, Bluestone JA (1996) CD28/B7 system of T cell costimulation. *Annu Rev Immunol* 14: 233-58
40. Shiratori T, Miyatake S, Ohno H, *et al.* (1997) Tyrosine phosphorylation controls internalization of CTLA-4 by regulating its interaction with clathrin-associated adaptor complex AP-2. *Immunity* 5: 583-9
41. Linsley PS, Bradshaw J, Greene J, *et al.* (1996) Intracellular trafficking of CTLA-4 and focal localization towards sites of TCR engagement. *Immunity* 6: 535-43
42. Rudd CE, Schneider H (2003) Unifying concepts in CD28, ICOS and CTLA4 co-receptor signalling. *Nat Rev Immunol* 3: 544-6
43. Lin H, Rathmell JC, Gray GS, Thompson CB, *et al.* (1998) Cytotoxic T Lymphocyte Antigen 4 (CTLA4) Blockade Accelerates the Acute Rejection of Cardiac Allografts in CD28-deficient Mice: CTLA4 Can Function Independently of CD28. *J Exp Med* 188: 199-204
44. Masteller EL, Chuang E, Mullen AC, *et al.* (2000) Structural Analysis of CTLA-4 Function In Vivo. *J Immunol* 164: 5319-27
45. Marengere LE, Waterhouse P, Duncan GS, *et al.* (1996) Regulation of T cell receptor signaling by tyrosine phosphatase SYP association with CTLA-4. *Science* 272: 1170-3
46. Schneider H, Prasad KV, Shoelson SE, Rudd CE (1995) CTLA-4 binding to the lipid kinase phosphatidylinositol 3-kinase in T cells. *J Exp Med* 181: 351-5
47. Chuang E, Fisher TS, Morgan RW, *et al.* (2000) The CD28 and CTLA-4 receptors associate with the serine/threonine phosphatase PP2A. *Immunity* 13: 313-22
48. Guntermann C, Alexander DR (2002) CTLA-4 suppresses proximal TCR signaling in resting human CD4+ T cells by inhibiting ZAP-70 Tyr319 phosphorylation: a potential role for tyrosine phosphatases. *J Immunol* 168: 4420-29
49. Calvo CR, Amsen D, Kruisbeek AM (1997) Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 (CTLA-4) interferes with extracellular signal-regulated kinase (ERK) and Jun NH2-terminal kinase (JNK) activation, but does not affect phosphorylation of T cell receptor ζ and ZAP70. *J Exp Med* 186: 1645-53
50. Krummel MF, Allison JP (1996) CTLA-4 engagement inhibits IL-2 accumulation and cell cycle progression upon activation of resting T cells. *J Exp Med* 183: 2533-40

51. Cazzolli R, Carpenter L, Biden TJ, Schmitz-Peiffer C (2001) A role for protein phosphatase 2A-like activity, but not atypical protein kinase C ζ , in the inhibition of protein kinase B/Akt and glycogen synthesis by palmitate. *Diabetes* 50: 2210-18
52. Resjo S, Goransson O, Harndahl L, *et al.* (2002) Protein phosphatase 2A is the main phosphatase involved in the regulation of protein kinase B in rat adipocytes. *Cell Signal* 14: 231-38
53. Baroja ML, Vijaykrishnan L, Bettelli E, *et al.* (2002) Inhibition of CTLA-4 function by the regulatory subunit of serine/threonine phosphatase 2A. *J Immunol* 168: 5070-78
54. Chikuma S, Imboden JB, Bluestone JA (2003) Negative regulation of T cell receptor-lipid raft interaction by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4. *J Exp Med* 1: 129-35
55. Martin M, Schneider H, Azouz A, Rudd CE (2001) Cytotoxic T lymphocyte antigen 4 and CD28 modulate cell surface raft expression in their regulation of T cell function. *J Exp Med* 11: 1675-81
56. Fraser JH, Rincon M, McCoy KD, Le Gros G (1999) CTLA4 ligation attenuates AP-1, NFAT and NF- κ B activity in activated T cells. *Eur J Immunol* 29: 838-44
57. Olsson C, Riesbeck K, Dohlsten M, Michaelsson E (1999) CTLA-4 ligation suppresses CD28-induced NF- κ B and AP-1 activity in mouse T cell blasts. *J Biol Chem* 274: 14400-5
58. Brunner MC, Chambers CA, Chan FK, *et al.* (1999) CTLA-4-mediated inhibition of early events of T cell proliferation. *J Immunol* 162: 5813-5820
59. Mellor AL, Munn DH (2004) IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism. *Nat Rev Immunol* 10:762-74
60. Woo EY, Yeh H, Chu CS, *et al.* (2002) Cutting edge: Regulatory T cells from lung cancer patients directly inhibit autologous T cell proliferation. *J Immunol* 9: 4272-6
61. Fallarino F, Grohmann U, Hwang KW, *et al.* (2003) Modulation of tryptophan catabolism by regulatory T cells. *Nat Immunol* 4: 1206-12
62. Walunas TL, Lenschow DJ, Bakker CY, *et al.* (1994) CTLA-4 can function as a negative regulator of T cell activation. *Immunity* 5: 405-413
63. Tivol EA, Borriello F, Schweitzer AN, *et al.* (1994) Loss of CTLA-4 leads to massive lymphoproliferation and fatal multiorgan tissue destruction, revealing a critical negative regulatory role of CTLA-4. *Immunity* 5: 541-547
64. Luhder F, Hoglund P, Allison JP (1998) Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) regulates the unfolding of autoimmune diabetes. *J Exp Med* 3: 427-32
65. Croxford JL, O'Neill JK, Ali RR, *et al.* (1998) Local gene therapy with CTLA-4-immunoglobulin fusion protein in experimental allergic encephalomyelitis. *Eur J Immunol* 28: 3904-3916
66. Ueda H, Howson JM, Esposito L (2003) Association of the T-cell regulatory gene CTLA4 with susceptibility to autoimmune disease. *Nature* 423: 506-11
67. Kwon E.D, Foster B.A, Hurwitz A.A, *et al.* (1999) Elimination of residual metastatic prostate cancer after surgery and adjunctive cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) blockade immunotherapy. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 15074-79
68. Leach DR, Krummel MF, Allison JP (1996) Enhancement of antitumor immunity by CTLA-4 blockade. *Science* 271: 1734-6
69. Yang YF, Zou JP, Mu J, *et al.* (1997) Enhanced induction of antitumor T-cell responses by cytotoxic T lymphocyte-associated molecule-4 blockade: the effect is manifested only at the restricted tumor-bearing stages. *Cancer Res* 57: 4036-41
70. Kwon ED, Hurwitz AA, Foster BA, *et al.* (1997) Manipulation of T cell costimulatory and inhibitory signals for immunotherapy of prostate cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 8099-103
71. Shrikant P, Khoruts A, Mescher MF (1999) CTLA-4 blockade reverses CD8+ T cell tolerance to tumor by a CD4+ T cell- and IL-2-dependent mechanism. *Immunity* 11: 483-93
72. van Elsas A, Hurwitz AA, Allison JP (1999) Combination immunotherapy of B16 melanoma using anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) and granulocyte/macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)-producing vaccines

- induces rejection of subcutaneous and metastatic tumors accompanied by autoimmune depigmentation. *J Exp Med* 190: 355-66
73. Phan GQ, Yang JC, Sherry RM, *et al.* (2003) Cancer regression and autoimmunity induced by cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade in patients with metastatic melanoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 8372-7
 74. Sanderson K, Scotland R, Lee P, *et al.* (2005) Autoimmunity in a phase I trial of a fully human anti-cytotoxic T-lymphocyte antigen-4 monoclonal antibody with multiple melanoma peptides and Montanide ISA 51 for patients with resected stages III and IV melanoma. *J Clin Oncol* 4: 741-50
 75. Beck KE, Blansfield JA, Tran KQ, *et al.* (2006) Enterocolitis in patients with cancer after antibody blockade of cytotoxic T-lymphocyte-associated antigen 4. *J Clin Oncol* 24: 2283-9
 76. Ribas A, Camacho LH, Lopez-Berestein G, *et al.* (2005) Antitumor activity in melanoma and anti-self responses in a phase I trial with the anti-cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 monoclonal antibody CP-675,206. *J Clin Oncol* 23: 8968-77
 77. Maker AV, Phan GQ, Attia P, *et al.* (2005) Tumor regression and autoimmunity in patients treated with cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 blockade and interleukin 2: a phase I/II study. *Ann Surg Oncol* 12: 1005-16
 78. Maker AV, Attia P, Rosenberg SA, *et al.* (2005) Analysis of the cellular mechanism of antitumor responses and autoimmunity in patients treated with CTLA-4 blockade. *J Immunol* 175: 7746-54
 79. Reuben JM, Lee BN, Li C, *et al.* (2006) Biologic and immunomodulatory events after CTLA-4 blockade with ticilimumab in patients with advanced malignant melanoma. *Cancer* 106: 2437-44
 80. Lute KD, May KF Jr, Lu PHuman, *et al.* (2005) CTLA4 knock-in mice unravel the quantitative link between tumor immunity and autoimmunity induced by anti-CTLA-4 antibodies. *Blood* 106: 3127-33

Nous sommes désormais dans l'ère des thérapeutiques ciblées du cancer. Les succès thérapeutiques enregistrés à une vitesse impressionnante dans les tumeurs les plus fréquentes (adénocarcinomes du sein, bronchiques, colorectaux, prostatiques...) comme dans les tumeurs rares (sarcomes, leucémies...) montrent la validité de l'approche qui consiste à « traiter les anomalies génétiques des cellules tumorales ». Des limites sont également évidentes : nous ne disposons actuellement du traitement que de quelques familles, certes importantes, d'oncogènes, la famille HER, la famille KIT-PDGFR, la famille des récepteurs du VEGF, la famille Abl. De nombreux autres récepteurs jouent un rôle important en oncogenèse et sont les cibles actuellement évaluées dans les programmes de recherche précliniques et cliniques, IGFR, RET, Akt, src, FAK...

On voit ainsi se dessiner les trois prochaines étapes qui auront pour but essentiel de poursuivre et d'optimiser le développement de cette classe de médicaments.

1. *La caractérisation des altérations génétiques et épigénétiques des cellules tumorales.* Les thérapeutiques ciblées sur des anomalies moléculaires causales, directement responsables de la transformation néoplasique, par exemple l'imatinib pour les leucémies myéloïdes chroniques, donnent en général un taux de réponse élevé en monothérapie ; les thérapeutiques ciblées sur des anomalies moléculaires plus tardives, qui contribuent à la progression tumorale, mais qui ne constituent pas l'étape initiale de la transformation, par exemple le trastuzumab pour l'adénocarcinome du sein avec amplification de HER2, donnent des taux de réponse limités en monothérapie, mais ont une activité antitumorale additive avec la chimiothérapie dans les modèles actuellement disponibles ; enfin les thérapeutiques ciblées sur des cibles moléculaires qui ne jouent pas un rôle direct dans la transformation n'ont en général pas ou très peu d'activité anti-tumorale en clinique.

Il faut donc développer de larges programmes de caractérisation des anomalies génétiques précoces et tardives contribuant à la progression tumorale. Les outils seront bientôt disponibles qui permettront l'analyse à un coût raisonnable du génome des cellules tumorales. Une nouvelle nosologie en découlera, avec des implications thérapeutiques immédiates.

2. *La compréhension des mécanismes de résistance aux traitements.* Ce chapitre devra comprendre une réévaluation en profondeur de nos critères de réponse, une intégration du concept de résistance clonale y compris dans les cellules tumorales avec des modifications profondes des paradigmes de traitement des affections néoplasiques, comme par exemple le maintien de l'administration des médicaments à la phase de progression lorsque la majorité des clones demeure sensible, l'étude de rotation des thérapeutiques ciblées, l'analyse de combinaisons de thérapeutiques avec des modes d'actions synergiques basés sur l'évolution de la biologie de la tumeur. Ici encore, le suivi moléculaire des tumeurs en cours de traitement sera un outil essentiel pour permettre l'adaptation du traitement.

3. *Le développement de nouveaux concepts* pour traiter les conséquences biologiques de la perte des gènes suppresseurs de tumeurs, des événements génétiques très fréquents voire prédominant dans l'oncogenèse de certains modèles de tumeurs épithéliales : les thérapeutiques ciblées actuelles bloquent des protéines activées dans les cellules tumorales. Le remplacement thérapeutique d'une protéine (et de son activité) manquante pose des problèmes actuellement non résolus, même si certaines pistes existent (traitement des cibles secondaires, exploitation de la susceptibilité spécifique aux cytotoxiques conférée par la perte du gène suppresseur de tumeur).

En 2008, nous ne sommes qu'au début du développement des thérapeutiques ciblées du cancer.