



Critères biologiques d'éligibilité pour un traitement anti-EGFR

Pierre Laurent-Puig

► Le protéasome joue un rôle central de régulation des protéines activées par les récepteurs cellulaires transmembranaires. La voie du récepteur de l'EGF est cruciale dans le développement et la progression des cancers épithéliaux. Les chimiothérapies conventionnelles, en association avec un anti-EGFR, ont un effet synergique sur l'inhibition de la croissance et l'activité pro-apoptotique qui ont activé la voie autocrine dépendante de EGFR à travers une inhibition de Akt plus efficace. Des résistances ont néanmoins été observées, en particulier en cas de mutations activatrices de l'oncogène *KRAS*. L'inhibition d'une seule voie de signalisation est souvent inefficace, un phénomène de relais se produisant généralement par l'activation des voies alternatives. Le ciblage de la voie mTOR pourrait suppléer à la résistance aux inhibiteurs de l'EGFR. L'évaluation clinique de cette hypothèse pourrait ouvrir la voie aux thérapies ciblées combinées dont l'application en cancérologie pourrait dépasser largement le champ du cancer colorectal. ◀



Inserm UMR-S775,
Bases moléculaires
de la réponse
aux xénobiotiques,
Laboratoire
de Toxicologie Moléculaire,
45, rue des Saints- Pères,
75006 Paris, France.
pierre.laurent-puig@univ-paris5.fr

AKT, mTOR (*Figure 1*). Dans le cancer du côlon, certains partenaires de ces voies de signalisation sont activés par des mutations somatiques, parfois en association :

- Les gènes *RAS*, *KRAS*, muté dans 40 % des cancers colorectaux, sur le codon 12 ou 13.
- Le gène *BRAF*, muté dans 10 % à 15 % des cancers colorectaux, plus fréquemment en cas d'instabilité génomique MSI.
- la sous-unité catalytique de la PI3-kinase, mutée dans 15 % à 20 % des cas.

L'activation de ces deux voies principales a des conséquences sur la prolifération, la résistance à l'apoptose et l'angiogenèse, fonctions essentielles dans le contrôle de la prolifération tumorale.

Études françaises

Dans un premier temps, nous avons formulé l'hypothèse selon laquelle une activation du gène *KRAS* pouvait modifier le comportement des tumeurs vis-à-vis d'un traitement par anti-EGFR, et nous avons mis en regard le statut mutationnel et la réponse au cetuximab pour 30 patients porteurs d'un cancer colorectal. Il n'y avait aucun patient répondeur avec une mutation somatique du gène *KRAS*. Nous avons ensuite validé cette observation sur une série indépendante de 89 patients, chez lesquels ont été observés :

- une réponse objective dans 26 cas (une réponse complète et 25 réponses partielles) ;

Pour mémoire, les tumeurs qui ne régressent pas sous traitement anti-EGFR ont le plus souvent une mutation acquise sur le gène *KRAS* (40 % des cancers colorectaux en général). Parallèlement, une réponse positive est observée chez 40 % à 50 % des patients dont la tumeur a un gène *KRAS* normal. Il reste donc 25 % à 30 % des patients chez qui le traitement sera inefficace sans événement génétique connu, susceptible d'expliquer cette résistance.

Voies de signalisation de l'EGFR

Le récepteur de l'EGF (EGFR) est un récepteur transmembranaire qui va subir une phosphorylation et une dimérisation lorsque l'EGF se fixe. Il s'ensuit une cascade de phosphorylations de protéines intracytoplasmiques qui activent plusieurs voies. Les deux principales sont celle des MAP-kinases et celle de la PI3-kinase,

- une durée de réponse médiane de 35 semaines ;
- un rash acnéiforme chez quasiment tous les patients ;
- une mutation de *KRAS* dans 27 % des cas.

Comme dans la série précédente, aucun patient répondeur n'avait de mutation somatique du gène *KRAS*. En l'absence de réponse, la progression est rapide et immédiate, c'est-à-dire sans passage par une phase de stabilisation ; symétriquement, en cas de réponse, la diminution de taille des métastases est observable après seulement 8 jours de traitement [1].

Synthèse de la littérature

En méta-analyse, parmi 400 patients traités et suivis, 3 patients porteurs d'une mutation somatique du gène *KRAS* ont une réponse objective au cetuximab. Parmi les patients avec un gène *KRAS* normal, 10 % à 40 % tirent un bénéfice du traitement en terme de réponse objective selon des études, les meilleurs taux de réponse étant observés chez les patients traités par une association de plusieurs drogues. Cette différence de réponse selon le statut mutationnel de *KRAS* se double d'une différence en terme de survie sans progression (10 semaines en présence de mutation et 31 semaines sans mutation), ainsi que de survie globale. L'évaluation du statut mutationnel de *KRAS* prend donc une valeur pronostique

dans la prise en charge des cancers colorectaux. En effet, les patients peuvent être classés en 3 grandes catégories :

- deux facteurs de « bon pronostic », toxicité cutanée et absence de mutation : la survie médiane de 15 mois, en 4^e ou 5^e ligne de chimiothérapie ;
- un seul facteur de « bon pronostic », toxicité cutanée ou absence de mutation ;
- aucun facteur de « bon pronostic », absence de toxicité cutanée et présence de mutation : la survie médiane est de 5 mois. Ce dernier groupe correspond au groupe dont quelques patients ont pu bénéficier d'une intensification de dose dans l'étude EVEREST.

La démonstration du caractère prédictif du statut mutationnel du gène *KRAS* a été obtenue une première fois dans l'essai « Panitumumab » [2]. Le *hazard ratio* est globalement à 0,59 en faveur du traitement par le panitumumab. L'intégration du statut mutationnel de *KRAS* montre que cet effet n'est observé qu'en l'absence de mutation (*hazard ratio* à 0,45, contre 0,99 en présence d'une mutation). Dans l'étude CRYSTAL, les *hazard ratio* étaient de 0,68 contre 1,07. Les études OPUS et CAIRO ont confirmé les observations avec un

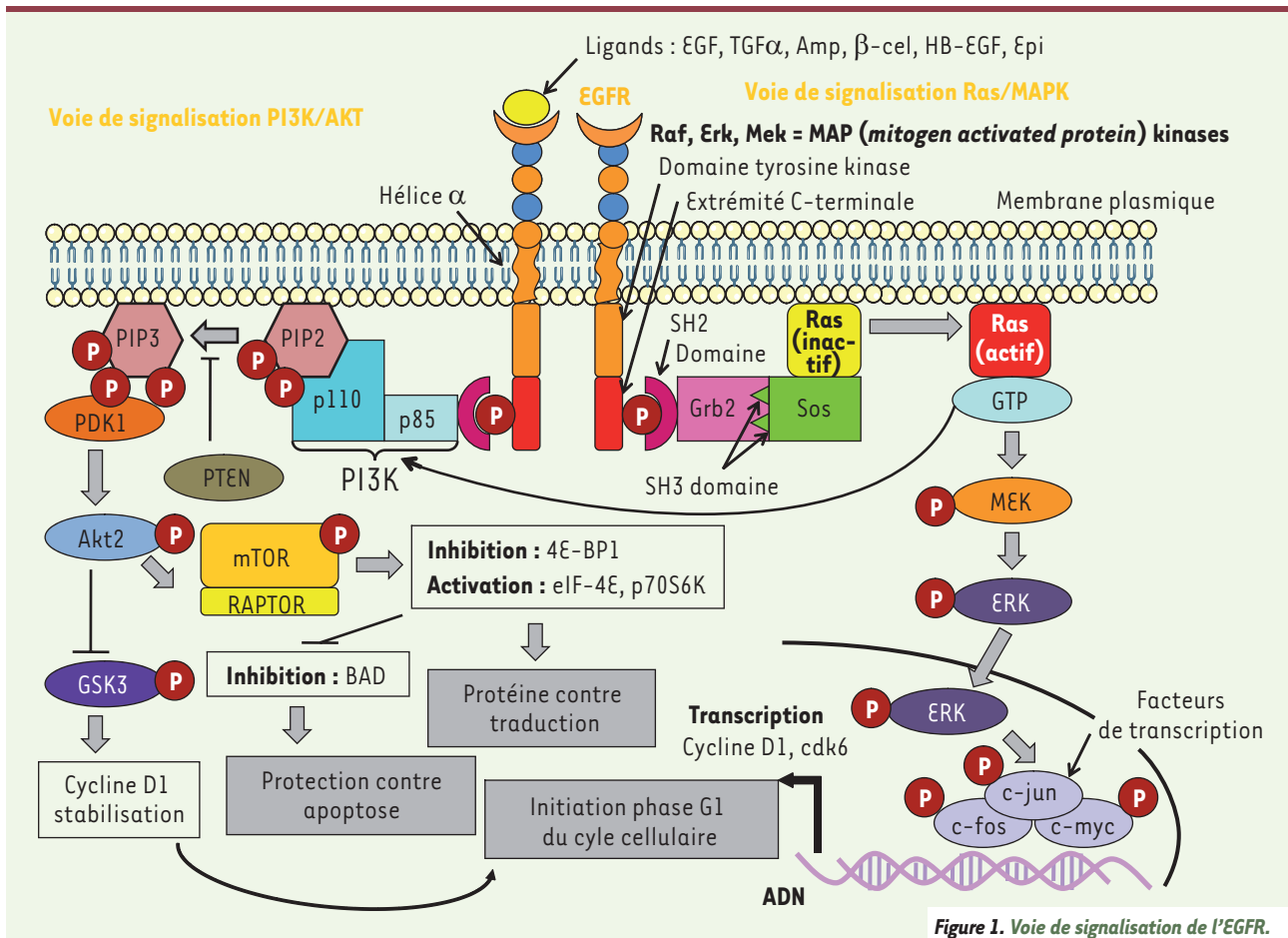


Figure 1. Voie de signalisation de l'EGFR.



hazard ratio de 0,57 sans mutation pour un traitement en 1^{re} ligne en association avec FOLFIRI ou FOLFOX ; elles ont souligné par ailleurs que l'association d'un anti-EGFR avec FOLFOX n'était pas indiquée en cas de mutation.

L'ensemble de ces résultats a aujourd'hui pour conséquence l'attribution d'une AMM conditionnelle, c'est-à-dire subordonnée à la détermination du statut mutationnel du gène *KRAS*. La première a été donnée au panitumumab en 3^e ligne. Le cetuximab bénéficiera quant à lui d'une AMM conditionnelle pour les traitements de 1^{re} ligne.

Amphiréguline et épériréguline

D'autres facteurs ont été étudiés pour tenter de trouver des éléments prédictifs de la réponse aux anti-EGFR. Dans la voie de signalisation par l'EGF, d'autres ligands, l'amphiréguline (AREG) et l'épiréguline (EREG) ont également la capacité de se fixer sur le récepteur EGFR. Un travail récent montre qu'un taux élevé d'amphiréguline et d'épiréguline est observé en présence d'une bonne réponse thérapeutique, à savoir que la survie sans progression est plus longue chez les patients ayant un taux élevé d'amphiréguline [3]. L'analyse a été menée chez 110 patients *via* une caractérisation globale du transcriptome des tumeurs sur puces Affymetrix, et les niveaux d'expression de l'épiréguline et de l'amphiréguline étaient, parmi les gènes signant la prédiction d'une réponse au cetuximab, les paramètres les plus discriminants.

Pour notre part, nous avons analysé cette signature en fonction du statut mutationnel de *KRAS* sur 140 tumeurs intégrées au programme « Carte d'Identité des Tumeurs » de la LNCC, provenant de patients pris en charge il y a plusieurs années et n'ayant donc pas bénéficié d'un essai de traitement par anti-EGFR. Le statut mutationnel de *KRAS* étant lui-même associé à une signature d'expression, nous avons comparé les deux signatures et avons constaté que les deux gènes respectivement les plus discriminants étaient identiques ($p \approx 10^{-10}$), et que cette proximité des signatures était significative pour un sous-groupe d'environ 3 000 gènes. Nous avons également comparé la signature de « réponse au cetuximab » publiée au statut du gène *KRAS* dans notre série de tumeurs, et les 16 premiers gènes de la liste sont également significativement associés à l'absence de mutation. En conclusion, l'étude de l'expression des gènes dans les tumeurs fait ressortir une étroite relation en la prédiction de la réponse et la prédiction de l'absence de mutation.

Les autres bio-marqueurs candidats

D'autres gènes de la voie de signalisation de l'EGF sont susceptibles d'influencer la réponse aux anti-EGFR.

- En premier lieu, *BRAF* et *PI3-kinase*. Les données dans la littérature suggèrent que *BRAF* pourrait être un facteur prédictif. Néanmoins, les mutations somatiques du gène *BRAF* survenant essentiellement dans les tumeurs de type MSI, connues pour leur faible

capacité à produire des métastases, la prévalence de ces mutations est très faible chez les patients métastatiques, autour de 5 % ; la caractérisation du gène *BRAF* n'est donc pas d'une grande aide sur le plan médical.

- *PTEN* joue probablement un rôle important. Des données récentes semblent indiquer qu'une absence d'expression de *PTEN* (mesurée en immunohistochimie) pourrait être prédictive de non-réponse par extinction de la voie de signalisation [4].

- Des gènes activant directement la voie, ou permettant une mesure de l'état d'activation, pourraient être de bons candidats à une étude : l'effecteur NF- κ B, le degré de phosphorylation des protéines de la voie AKT, de MAP-kinases par exemple. Nous avons mesuré le degré de phosphorylation de N ϵ C, ERK et p70-RPS6-kinase chez les patients dont la tumeur ne présentait pas de mutation sur le gène *KRAS*, et cette mesure permet, dans une étude très préliminaire qui demande confirmation, d'affiner la prédiction chez environ la moitié des patients.

Enfin, à côté des gènes activés ou inactivés en aval du récepteur, la coopération des récepteurs entre eux commence à être décryptée, avec en particulier l'induction d'une surexpression de récepteurs pour l'activité tyrosine-kinase par des mécanismes de *trans*-phosphorylation. La voie de signalisation de MET semble bénéficier de cette fonction de l'EGFR. Son blocage pourrait donc également inhiber les *trans*-phosphorylations, indépendamment du statut de *KRAS*.

En conclusion, le gène *KRAS*, identifié en 1982, a été très largement étudié et il a fallu attendre 2006 pour qu'une étude montre l'intérêt de sa caractérisation dans les tumeurs colorectales, à savoir que la présence d'une mutation était prédictive d'une absence de réponse au traitement par anti-EGFR. Un an plus tard, la caractérisation du gène *KRAS* devenait un pré-requis à la prescription d'une des molécules de la famille, le panitumumab, qui sera très certainement étendu au cetuximab cette année. Il s'agit là du premier exemple pour lequel le transfert de la recherche vers la pratique médicale a été aussi rapide, qui ouvre la voie au traitement « à la carte » du cancer colorectal. Mais il faut garder à l'esprit que ces études sont des évaluations statistiques qui améliorent la définition du risque de groupes de patients ; à l'échelle individuelle, il est impossible d'affirmer le risque, et ceci renvoie à l'ensemble des informations habituellement données aux patients concernant leur chance de guérison, qui reste toujours une probabilité, jamais une certitude. ♦

SUMMARY

Biological criteria of eligibility for a treatment against EGFR

The proteasome plays a pivotal role in the turnover of regulatory transduction proteins induced by activated cell membrane growth factor receptors. The epidermal growth factor receptor (EGFR) pathway is crucial in the development and progression of human epithelial cancers. The combined treatment with EGFR inhibitors has a synergistic growth inhibitory and pro-apoptotic activity in different human cancer cells which possess a functional EGFR-dependent autocrine growth pathway through to a more efficient and sustained inhibition of Akt. But resistance has been observed in case of *KRAS* mutation. Inhibition of a single transduction pathway is often inefficient due to activation of alternative signalling. The mammalian target of rapamycin (mTOR) is a key intracellular kinase integrating proliferation, survival and angiogenic pathways and has been implicated in the resistance to EGFR inhibitors. Thus, mTOR blockade is pursued to interfere at multiple levels with tumour growth. Targeting mTOR pathway overcomes resistance to EGFR inhibitors and produces a cooperative effect with EGFR inhibitors, providing a valid therapeutic strategy to be tested in a clinical setting. ♦

RÉFÉRENCES

1. De Roock W, Piessevaux H, De Schutter J, *et al.* KRAS wild-type state predicts survival and is associated to early radiological response in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *Ann Oncol* 2008 ; 19 : 508-15.
2. Amado RG, Wolf M, Peeters M, *et al.* Wild-type KRAS is required for panitumumab efficacy in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008 ; 26 : 1626-34.
3. Khambata-Ford S, Garrett CR, Meropol NJ, *et al.* Expression of epiregulin and amphiregulin and K-ras mutation status predict disease control in metastatic colorectal cancer patients treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2007 ; 25 : 3230-7.
4. Razis E, Briasoulis E, Vrettou E, *et al.* Potential value of PTEN in predicting cetuximab response in colorectal cancer: an exploratory study. *BMC Cancer* 2008 ; 8 : 234.

TIRÉS À PART

P. Laurent-Puig