

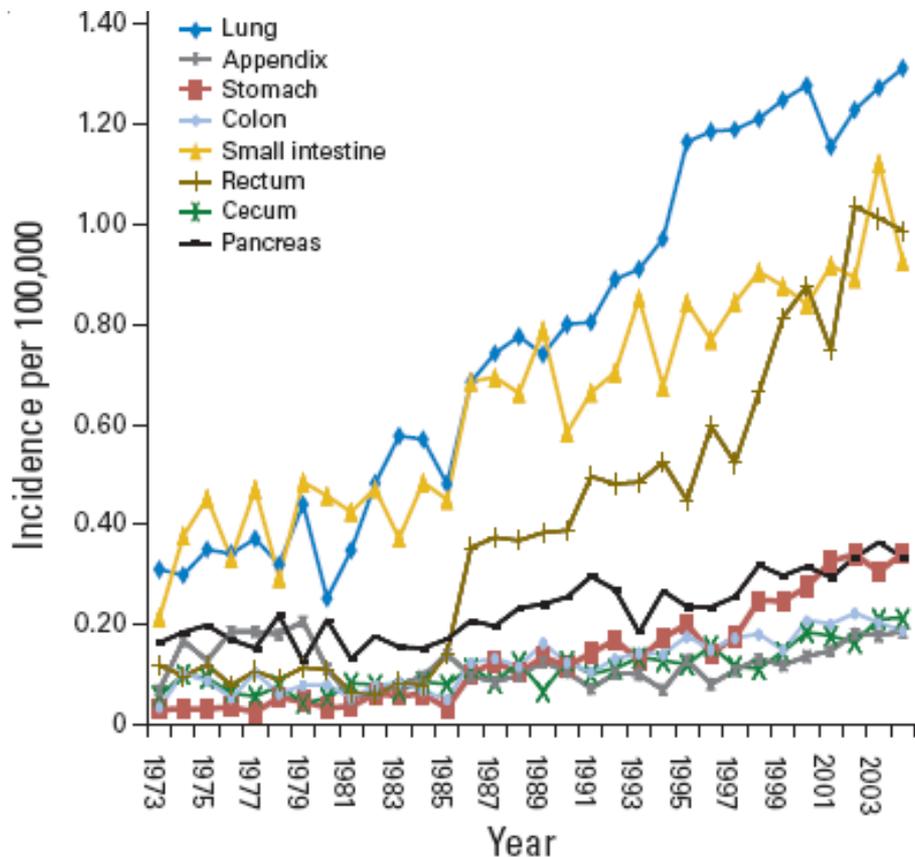


**Du Profil moléculaire à la thérapeutique : les limites**  
-  
**Exemple des Tumeurs Neuroendocrines Digestives**

Dr Thomas Walter et Dr Cécile Vercherat  
12/09/2014

# Tumeurs neuroendocrines gastroentéropancréatiques (TNE-GEPs)

- 2% des tumeurs digestives
- Incidence 3-5/100.000 hab
- Mais le second en prévalence (coût ++)



Yao, *J Clin Oncol* 2008

## Classification OMS 2010

- Tumeur neuroendocrine, G1
  - Morphologie bien différenciée
  - Index mitotique (IM)  $<2$  (/2 mm<sup>2</sup>) et index Ki67  $\leq 2\%$
- Tumeur neuroendocrine, G2
  - Morphologie bien différenciée
  - IM: 2-20 (/2 mm<sup>2</sup>) et index Ki67: 3-20%

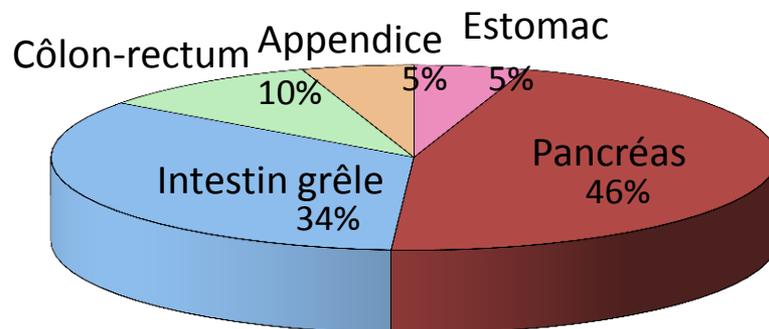
**BAS GRADE**

- Carcinome neuroendocrine
  - Morphologie peu différenciée, type petites cellules
  - Morphologie peu différenciée, type grandes cellules

**HAUT GRADE**

# Présentation des TNE

- Tumeurs hétérogènes
- Tumeurs fonctionnelles (10-30%)
- Intégrées dans le cadre syndrome génétique (10% des TNE duodéno-pancréatique)
- De multiples primitifs :

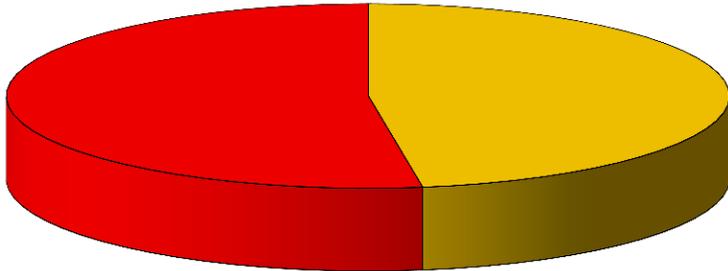


Hôpital E. Herriot  
**1985-2000, 360 cas**

# Un élément pronostique fondamental : la présence de métastases

*Hôpital Edouard Herriot, Lyon, 1985-2000, 360 cas*

Distribution des cas **métastatiques** et  
**non métastatiques** au diagnostic



# Facteurs pronostiques

La maladie :

- Différenciation,
- Grade histologique, Ki67
- Stade (métastases), nombres de site métastatique (os, poumon,...), volume métastatique
- Site primitif
- Evolutivité naturelle
- ...

Le patient :

- Age
- Comorbidité (cardio-vasculaire, ins rénale...)
- Fatigue (PS)
- ....

# TNEPs : quelles options thérapeutiques

Gastro-entérologue

Anatomopathologiste

Médecin nucléaire

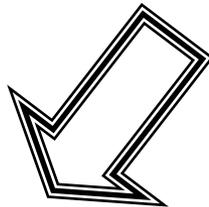
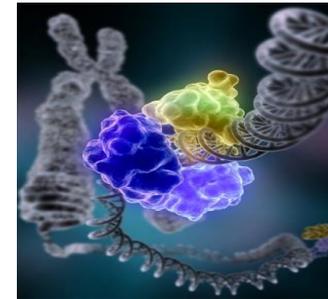
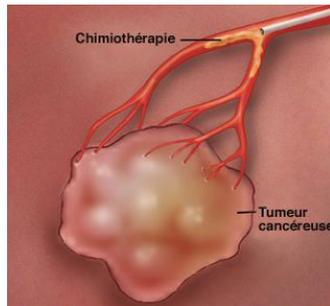
Radiologue

Oncologue

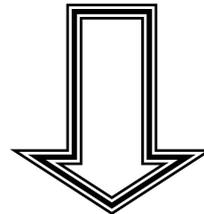
Chirurgien

Endocrinologue

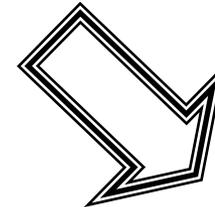
## Stratégie thérapeutique



1. Contrôle  
du syndrome sécrétoire



2. Contrôle de l'évolution  
tumorale



3. Conservation d'une  
qualité de vie acceptable

# TNEPs : quelles options thérapeutiques

## Les traitements systémiques

### TNE duodéno-pancréatique

Adria-strepto

Fu-Epiru-Dacarba

Sunitinib

Folfox/Gemox  
Temoz +/-  
Capéci

Évérolimus

Radiothérapie  
interne vectorisée

Analogue  
somatostatine

### TNE du tube digestif

chimiothérapie ???

Évérolimus ?

Interféron

Analogue  
somatostatine

Radiothérapie  
interne vectorisée

# Doublent la survie sans progression à 11 mois versus placebo

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE FEBRUARY 10, 2011

## Everolimus for Advanced Pancreatic Neuroendocrine Tumors

James C. Yao, M.D., Manisha H. Shah, M.D., Tetsuhide Ito, M.D., Ph.D.,  
Catherine Lombard Bohas, M.D., Edward M. Wolin, M.D.,

## Sunitinib Malate for the Treatment of Pancreatic Neuroendocrine Tumors

Eric Raymond, M.D., Ph.D., Laetitia Dahan, M.D., Ph.D., Jean-Luc Raoul, M.D., Ph.D., Yung-Jue Bang, M.D.,  
Ivan Borbath, M.D., Ph.D., Catherine Lombard-Bohas, M.D., Juan Valle, M.D., Peter Metrakos, M.D., C.M.,

## TNEPs : le choix initial puis l'échappement inévitable ?

### **Deux problématiques :**

#### **1. Choix du traitement**

- Traitements non comparés entre eux
- Aucun facteur prédictif de réponse aux traitements
- Très peu de marqueurs précoces de réponse aux traitements

#### **2. Echappement inévitable ?**

- Quand ? Chez qui ? « flambée » de la maladie à l'arrêt de la thérapie ciblée, jugée inefficace ?
- Faut-il associer (si possible ou substituer ?)

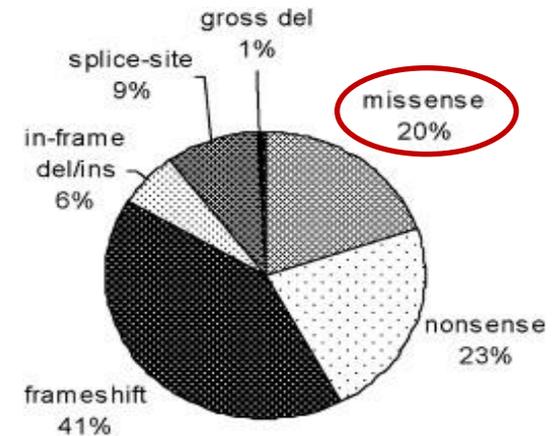
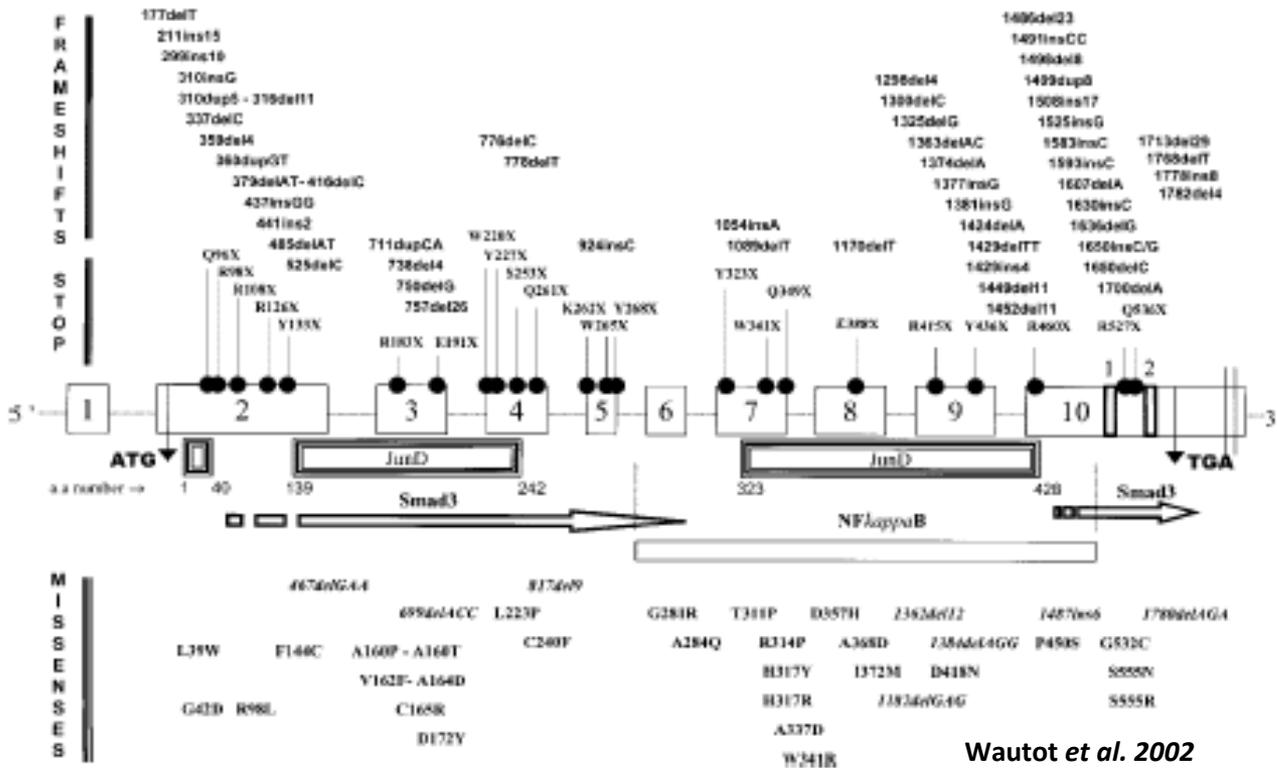
## Quel profil moléculaire pour les TNEPs?

Analyse moléculaire des TNEPs :

- Oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs habituels rarement impliqués (KRAS, SRC, Her2, cMyc, TP53, RB1...)
- Altérations moléculaires dans les TNEPs :
  - ***MEN1***
  - *DAXX, ATRX*
  - *TSC2, PTEN, PI3KCA* (**voie mTOR**)

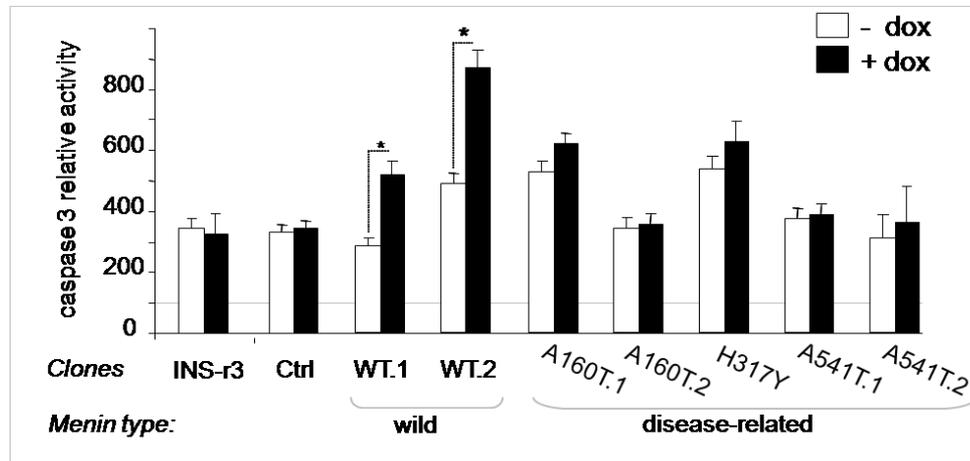
# MEN1, un gène cible mais quelle mutation?

- Pas de "hot spot" de mutation
- Pathogénicité des variants faux-sens?

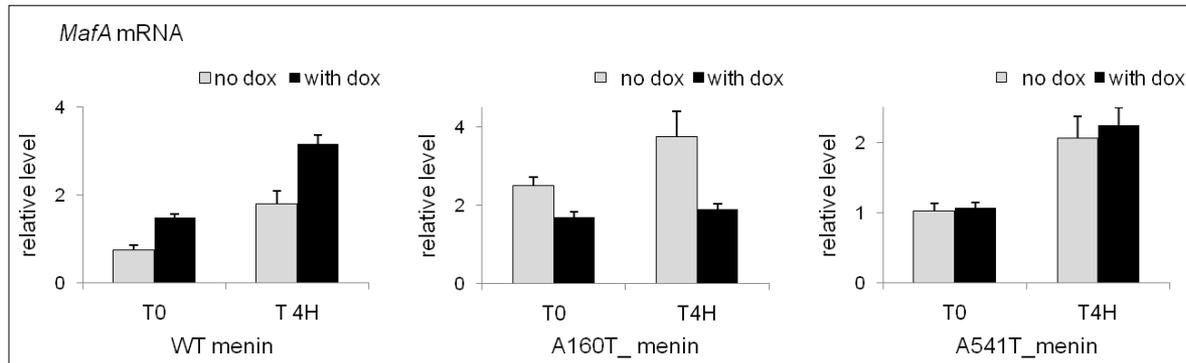


MEN1  
(n=1091)

# Tests fonctionnels des variants : l'approche biologique



Bazzi et al. 2008

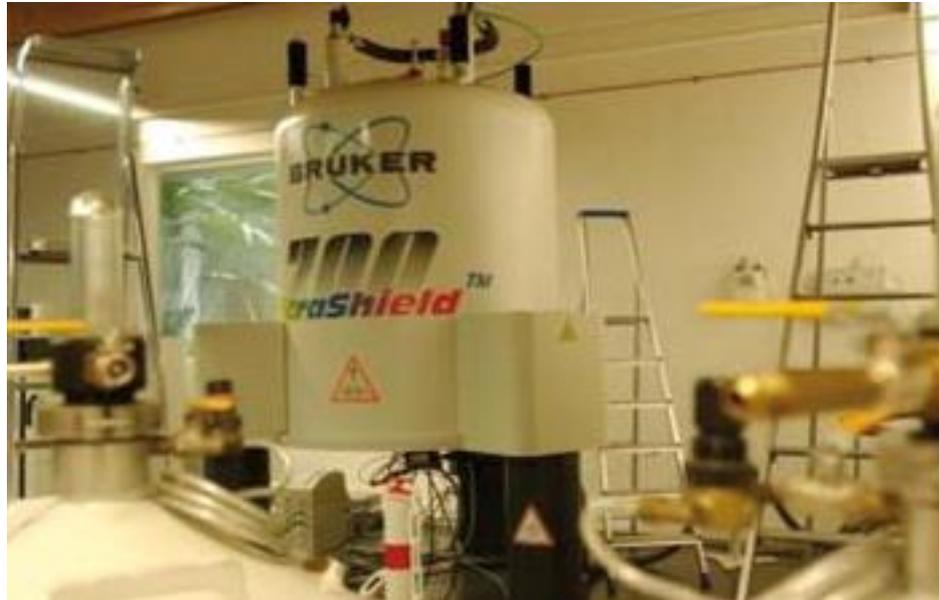


Hamze, Vercherat et al., 2013

Les variants faux-sens de la protéine menin perdent la capacité à réguler l'apoptose et/ou l'expression de gènes cibles

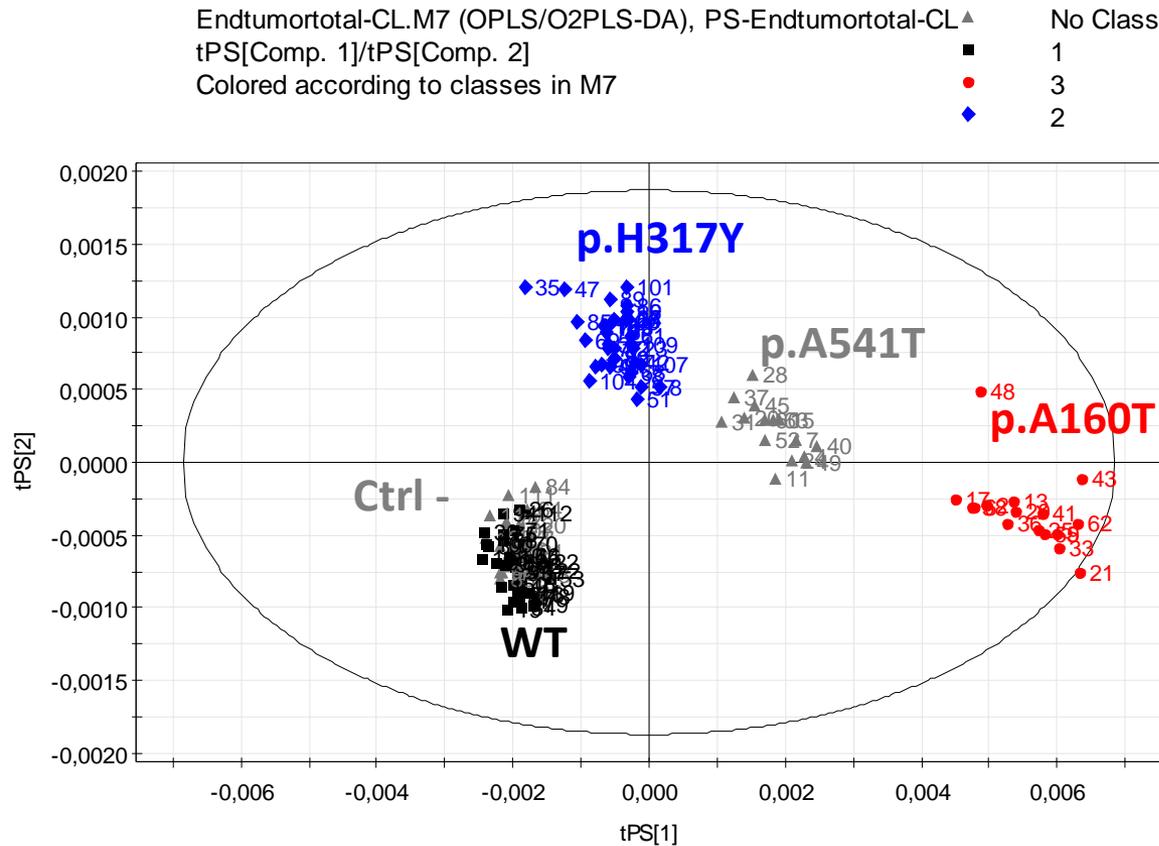
## Tests fonctionnels des variants : l'approche métabonomique

Comparaison du métabolome de cellules surexprimant ménine sauvage ou mutée par analyse statistique de données obtenues en RMN.



# Tests fonctionnels des variants : l'approche métabonomique

## Analyse supervisée :



R2X[1] = 0,223991

R2X[2] = 0,0168986

Ellipse: Hotelling T2 (0,95)

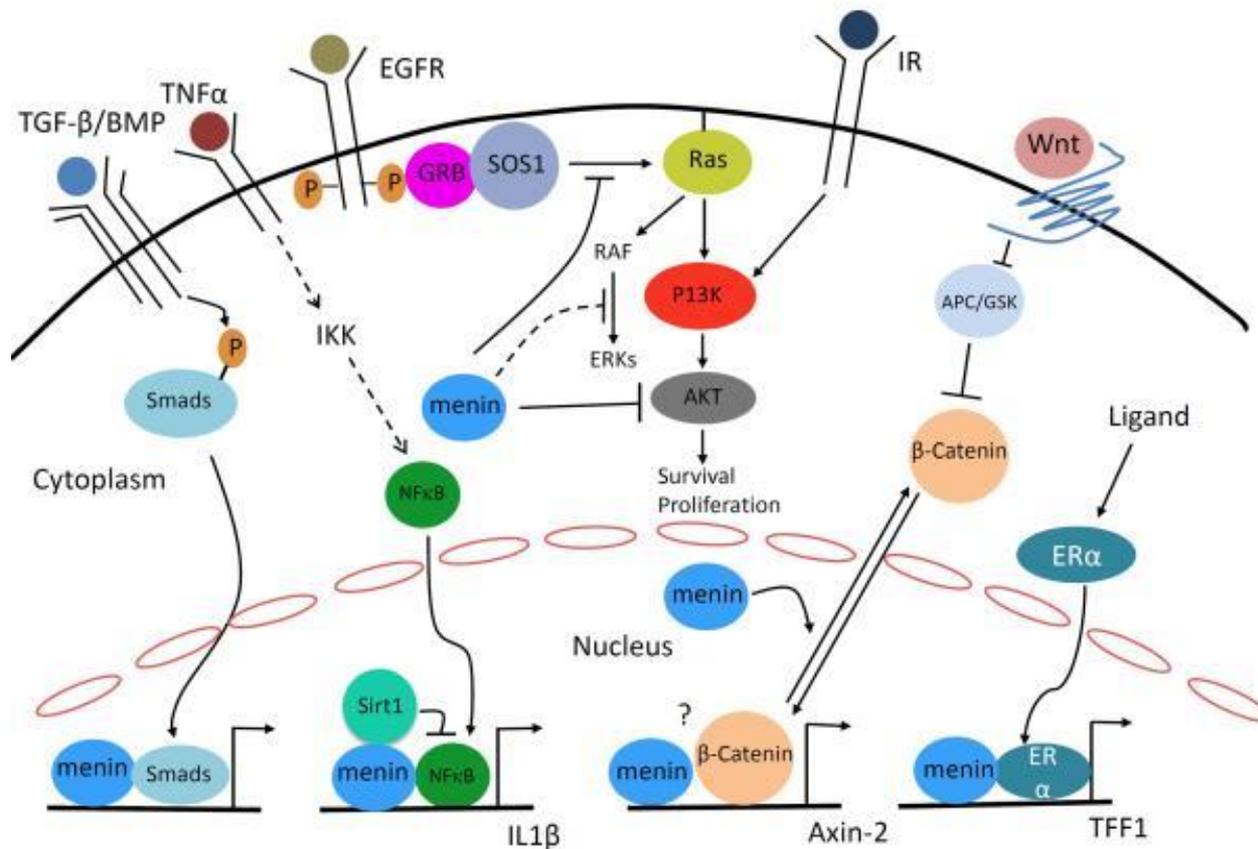
SIMCA-P+ 12 - 2011-11-14 19:12:31 (UTC+1)

Blaise, Lopez, Vercherat *et al.*, 2013

Discrimination du métabolisme basal de cellules surexprimant les formes sauvage ou mutées de ménine

# MEN1, un gène cible mais quelle voie cible?

- Pas d'analogue de menin
- Pas de fonction précise pour menin
- Implication dans de nombreuses voies de signalisation

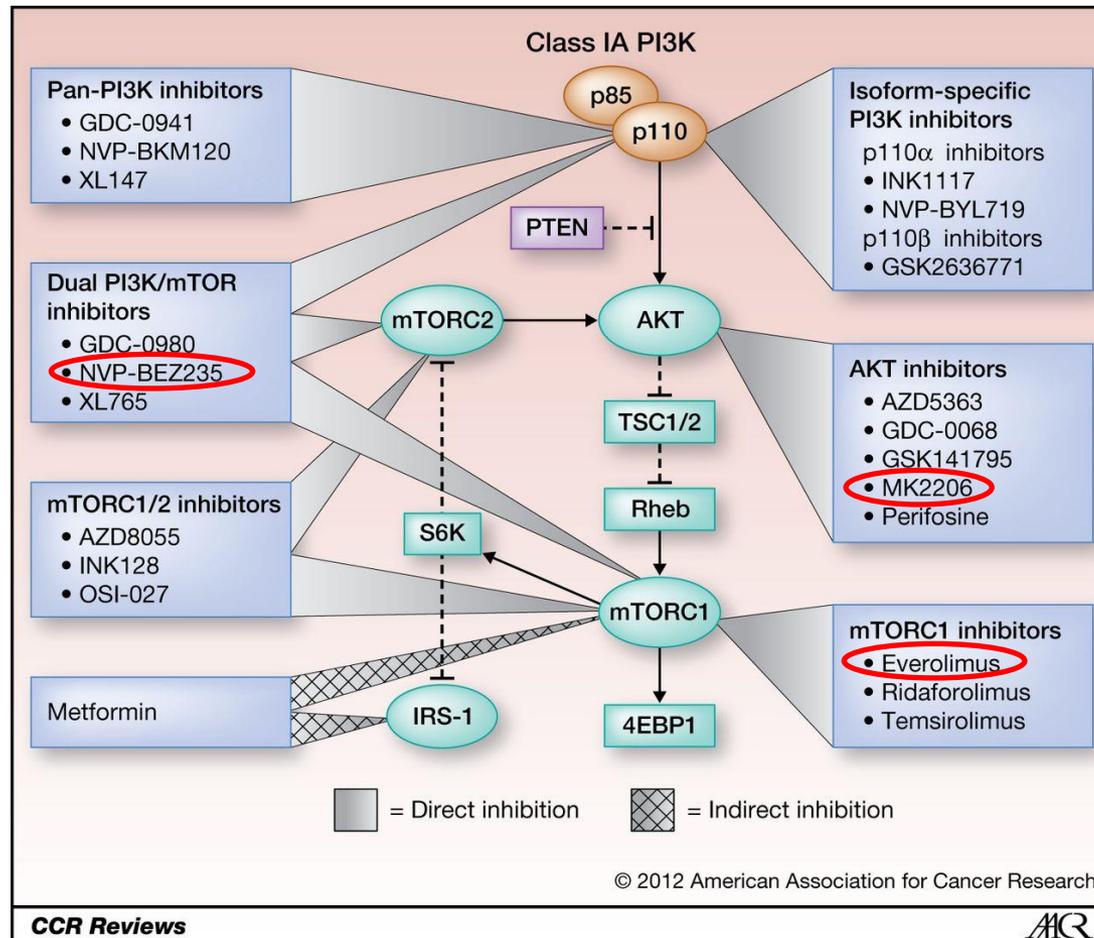


## Voie de signalisation dérégulée sans mutation identifiée...

- Mutations de facteurs de la voie mTOR dans 14% des TNEPs (analyse moléculaire)
- Dérégulation de la voie mTOR dans  $\approx 80\%$  des TNEPs
- Dépistage moléculaire doit être complété par de l'immunohistochimie

# Quelle molécule choisir?

- Développement rapide de nombreuses molécules...
- Mutation et dérégulation d'une voie sont-elles synonymes de réponse aux thérapies les ciblant?

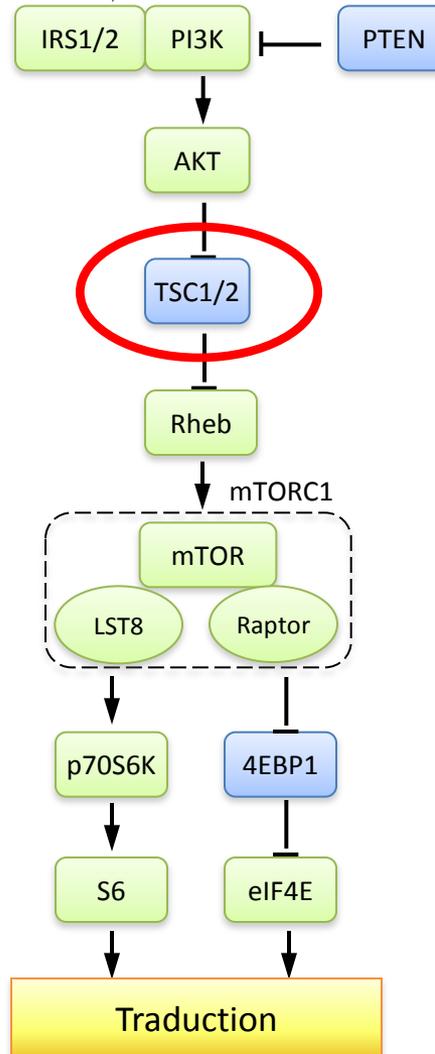


# Monsieur G. 52 ans....

Facteurs de croissance : VEGF, IGF1...

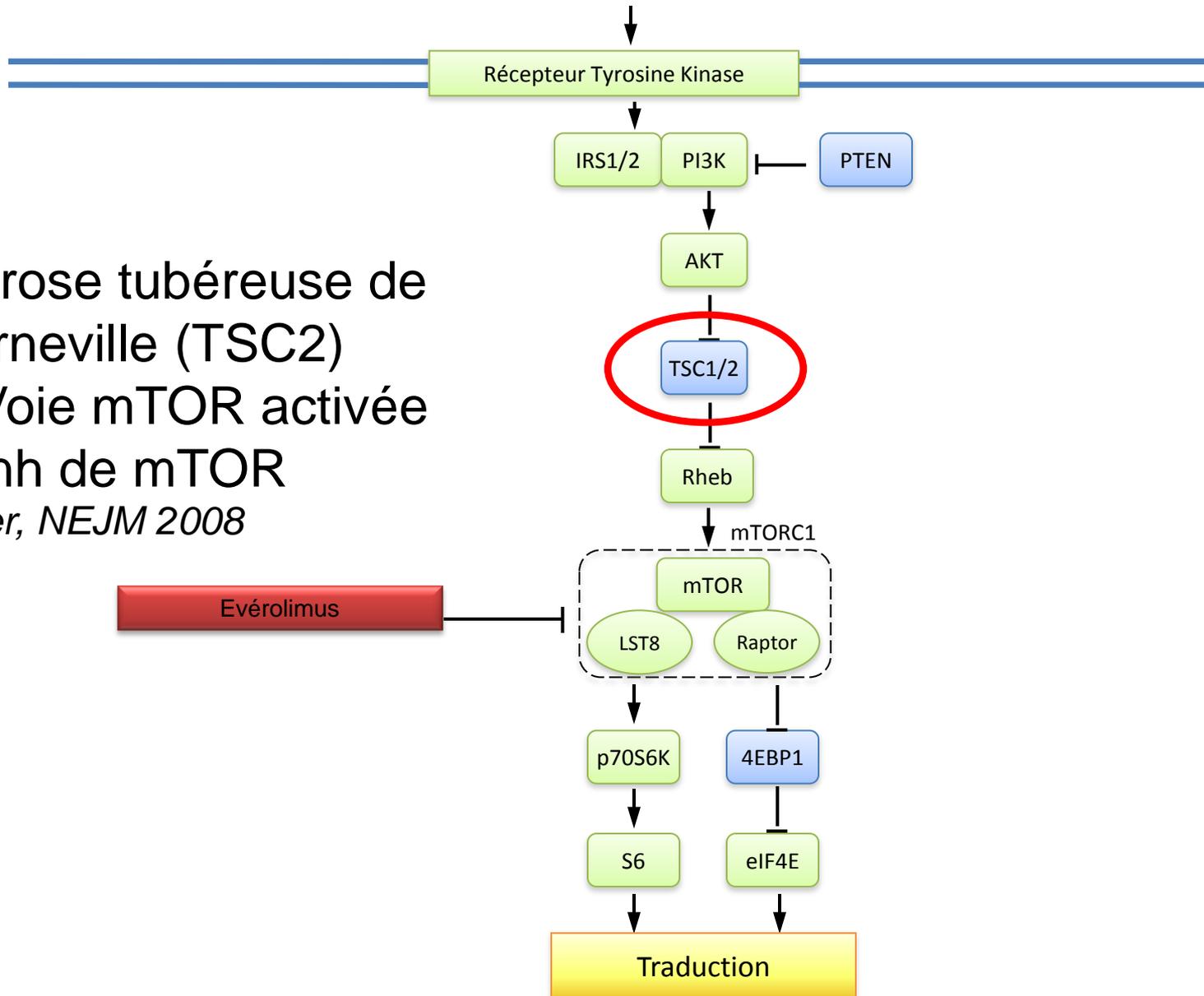
Sclérose tubéreuse de Bourneville (TSC2)  
=> Voie mTOR activée  
=> TNE pancréatique

Récepteur Tyrosine Kinase



**PTEN et TSC2 sont des gènes suppresseurs de tumeurs**

Facteurs de croissance : VEGF, IGF1...



Sclérose tubéreuse de Bourneville (TSC2)

=> Voie mTOR activée

=> inh de mTOR

*Bissler, NEJM 2008*

# Monsieur G. 52 ans....

## ATCD:

Diagnostic de Sclérose Tubéreuse de Bourneville en 1986.  
Tubaires sur IRM cérébrale.

## TNE pancréatique:

Spléno pancréatectomie gauche (aout 2005): TNE 8 cm, grade 2 (Ki67=6%). Puis apparition de métastases hépatiques et osseuses en 2008, **octréoscan +**.

## Traitement :

- Progression sous **analogue somatostatine (tt ciblé ?)**.
- Mise sous évérolimus en juillet 2010.

# Monsieur G. 52 ans...



Octobre 2011, RO>50%  
Toujours sous évérolimus  
actuellement (26 mois)

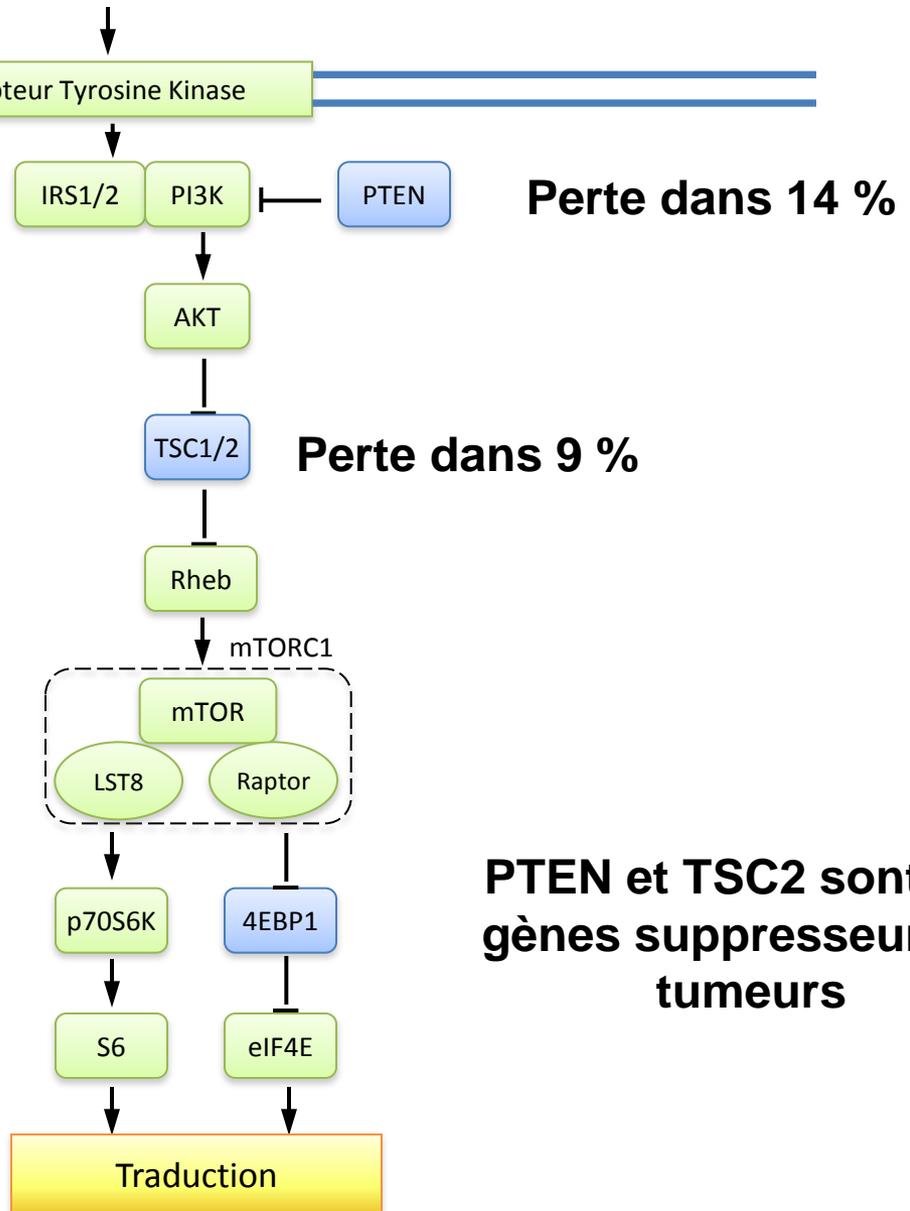


Avant évérolimus,  
Juillet 2010

# TNE pancréas sporadique

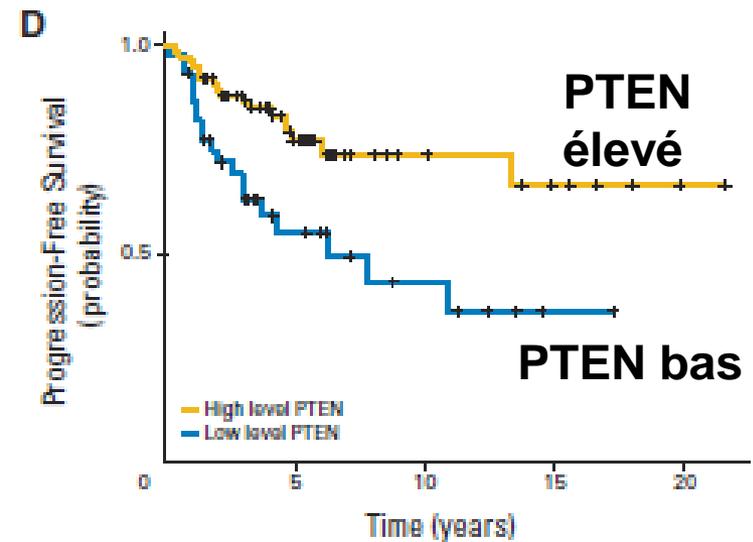
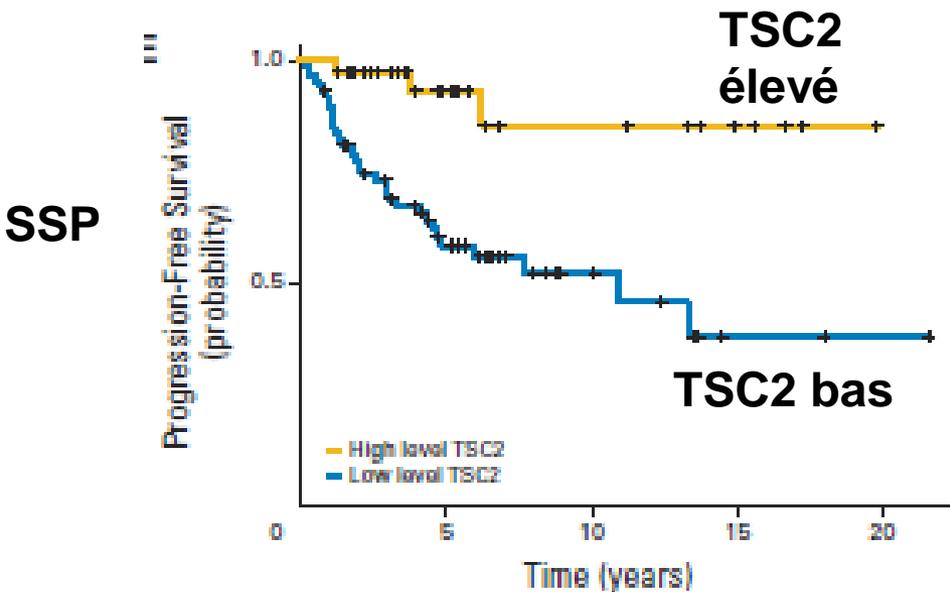
15-20% ont au moins une  
mutation sur la voie mTOR

Facteurs de croissance : VEGF, IGF1...



**PTEN et TSC2 sont des  
gènes suppresseurs de  
tumeurs**

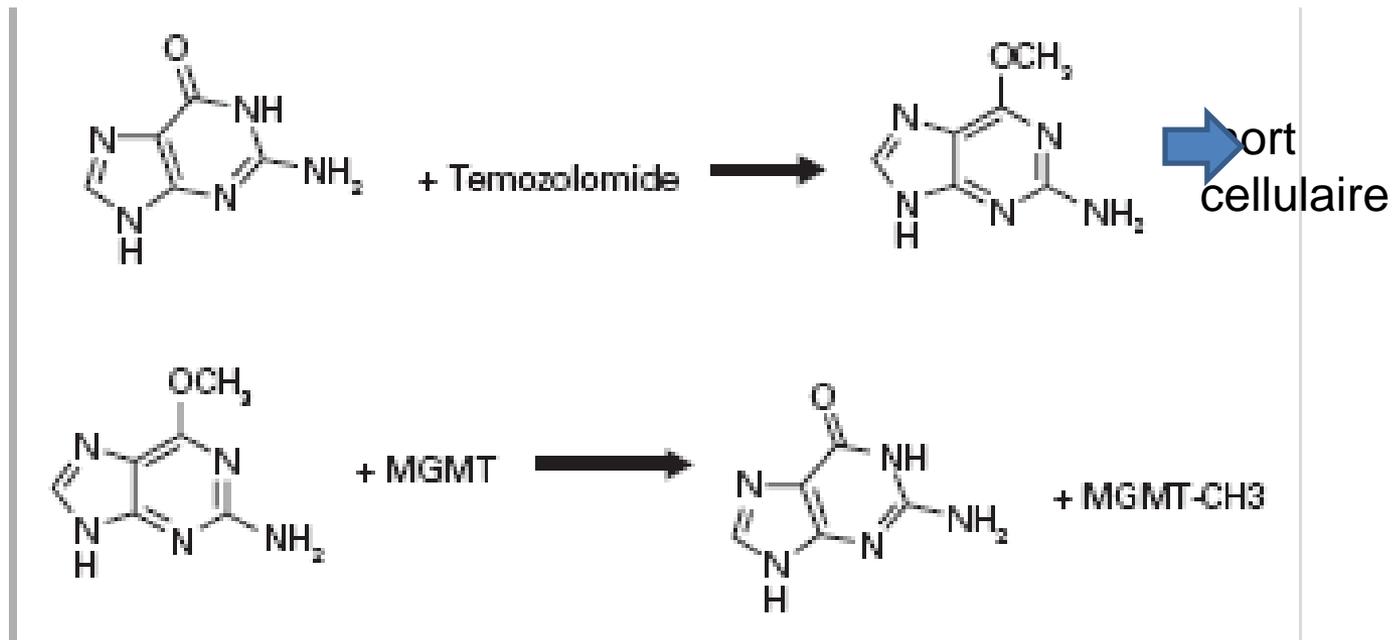
# Perte TSC2 ou PTEN dans TNE pancréatique est un facteur pronostic



- Facteur de mauvais pronostic
- Facteur prédictif de réponse à évérolimus?

Des chimiothérapies cytotoxiques devenant plus ciblées ?

## Mécanismes d'action du témozolomide



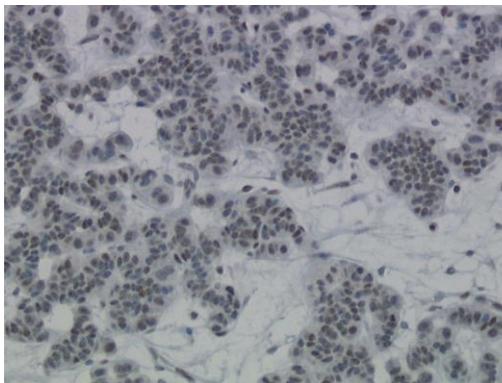
- Temozolomide induit méthylation en position 06 de la Guanine => mort cellulaire
- MGMT (enzyme) restaure l'ADN dans sa forme normale
- Donc pas de MGMT => meilleure réponse tumorale !

# MGMT : comment l'étudier

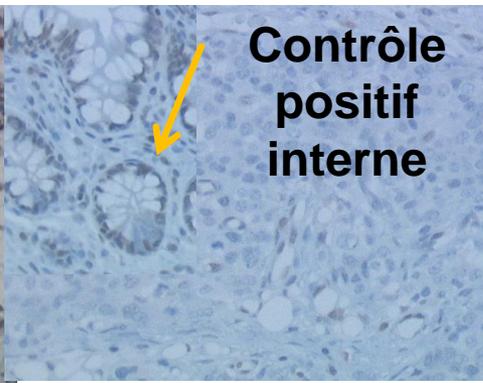
## Deux moyens :

1. Expression de MGMT déterminée par immunohistochimie
2. Méthylation du promoteur de *MGMT*  
Une perte d'expression de MGMT est associée à l'hyperméthylation de son promoteur

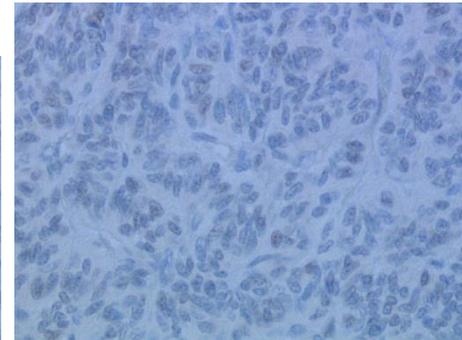
# Expression de MGMT déterminée par immuno-histochimie



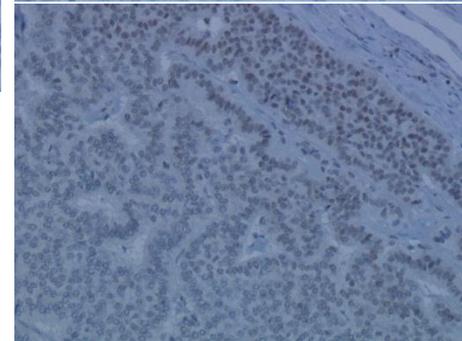
**MGMT pos**  
**TNE pancréatique**



**MGMT neg**  
**TNE iléale**



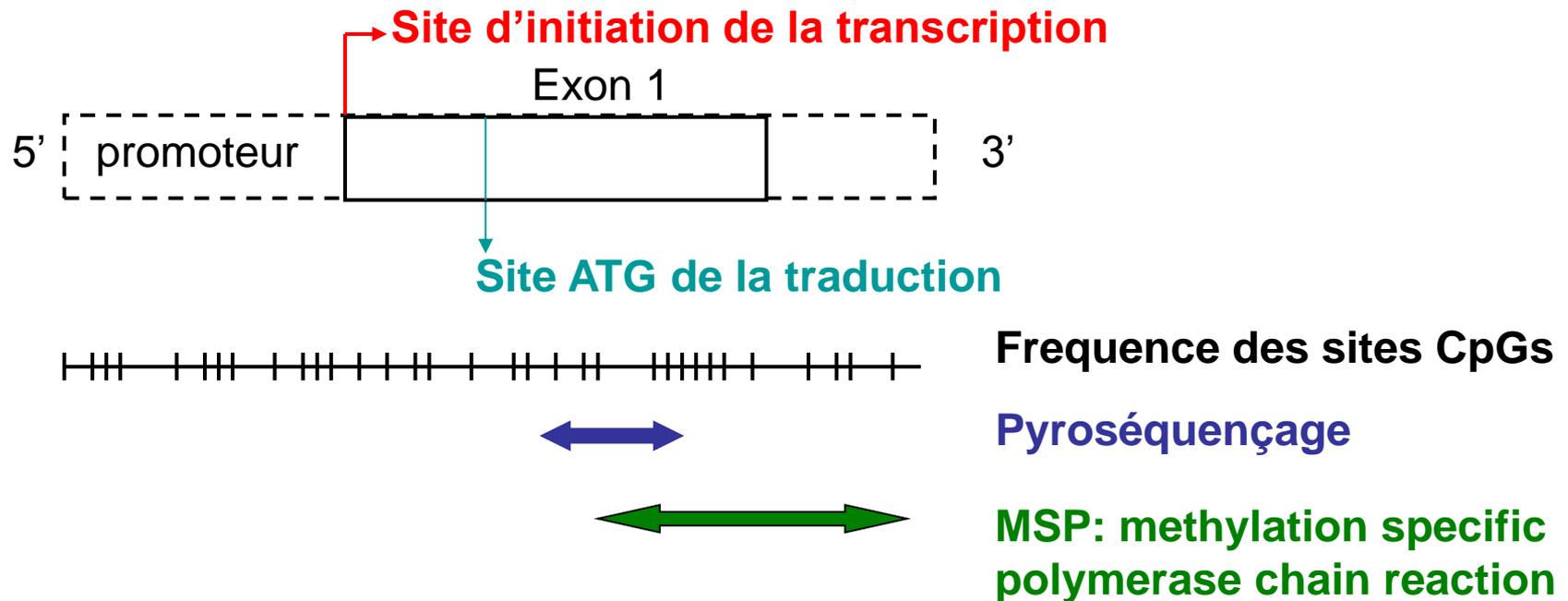
**Coloration**  
**hétérogène**



**MGMT positif**  
**uniquement en**  
**périphérie d'une**  
**TNE colique**

Immuno-histochimie de MGMT (clone MT 23,2. INVITROGEN):  
Problèmes de reproductibilité, de variabilité  
interobservateur, artéfact, qualité du matériel, scores...

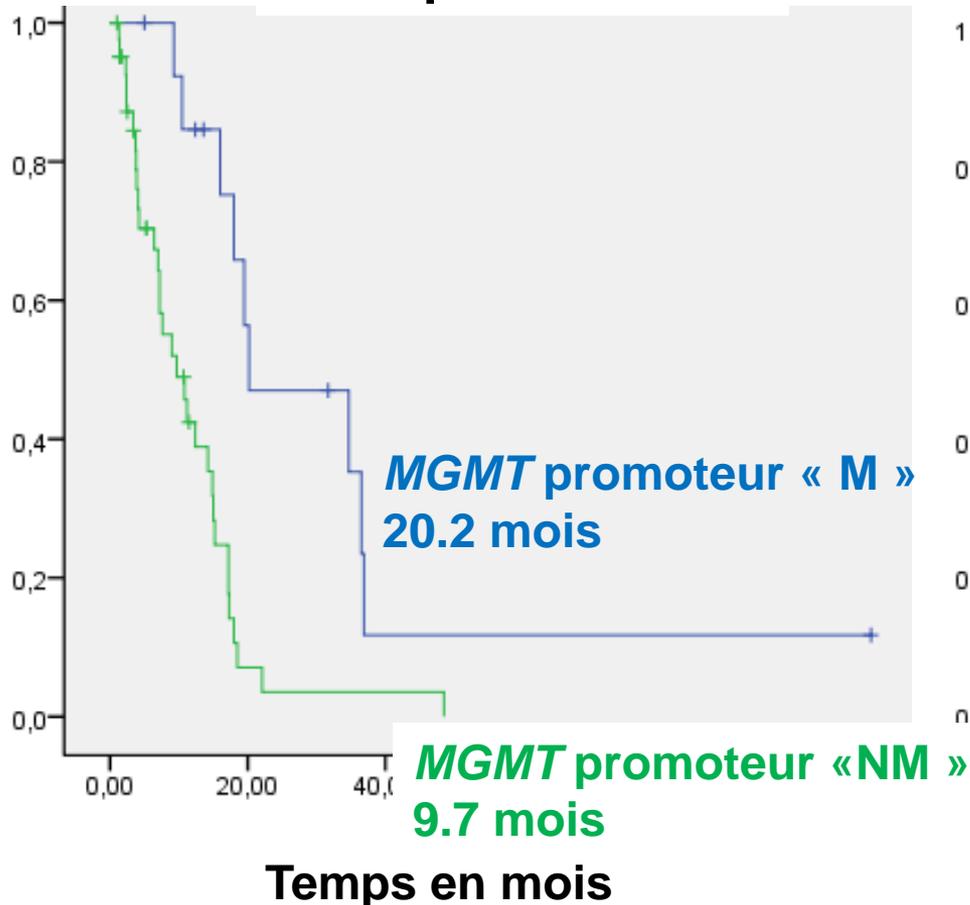
# Méthylation du promoteur de *MGMT*



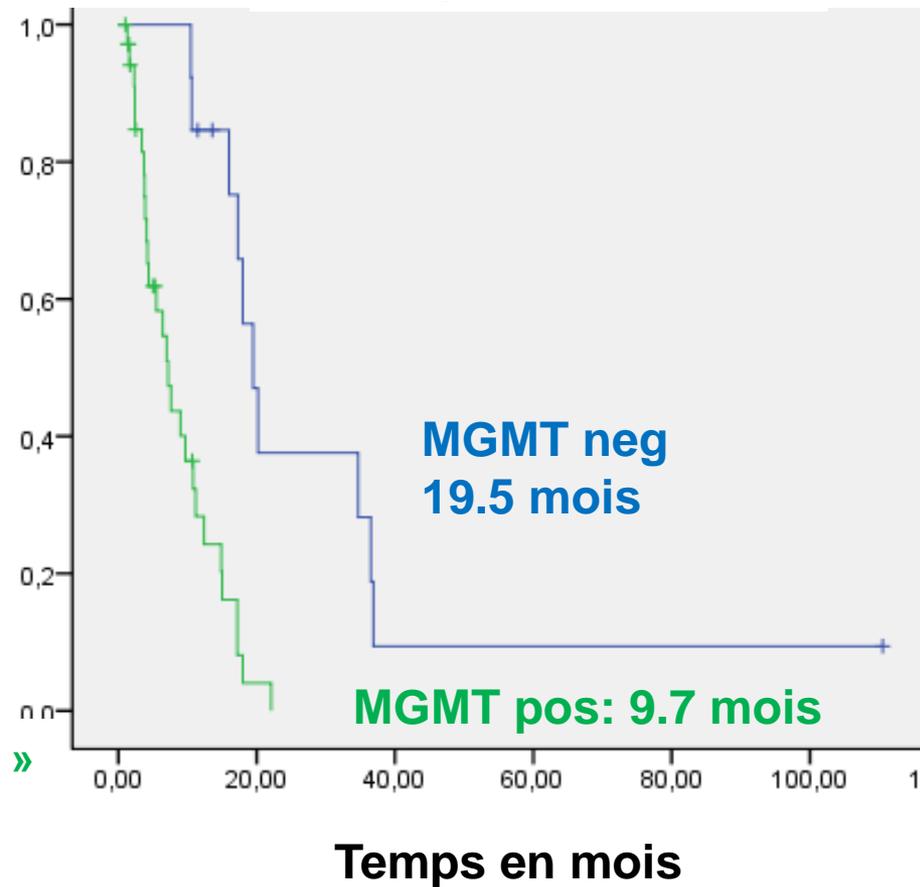
- ⇒ Difficile à mettre en place, mais reproductible !
- ⇒ Utilisée en neuro-oncologie (glioblastome):  
**methylation > IHC**
- ⇒ Parmi 5 techniques, **Pyro et MSP** sont les meilleures

# Méthylation du promoteur (PyroS) de *MGMT*, IHC et SSP

Pyrosequencage  
 $p=0.001$

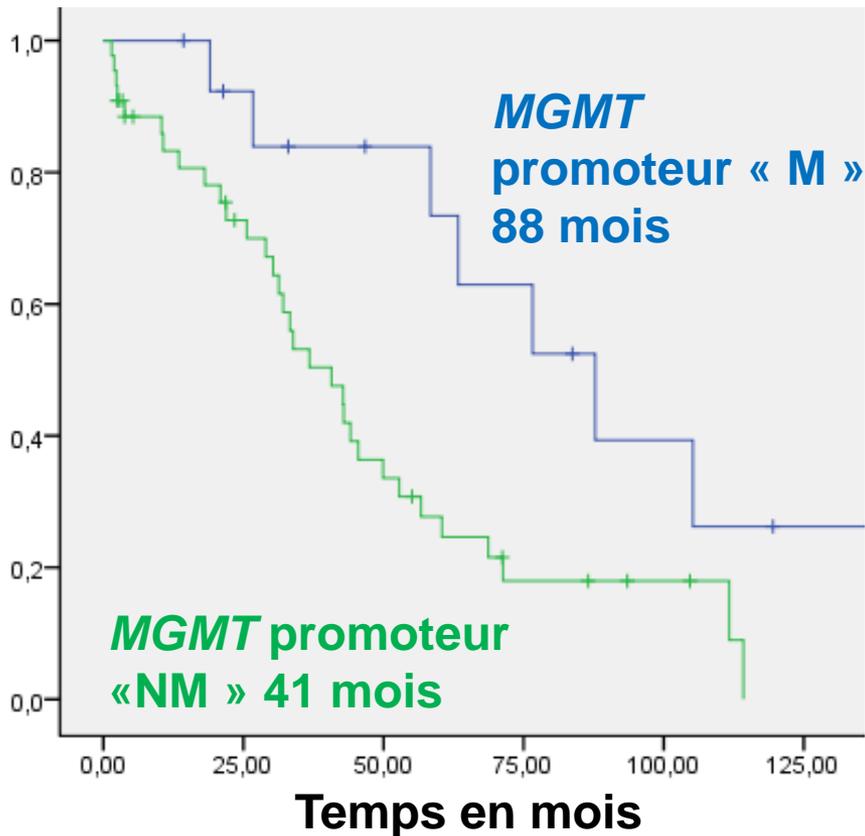


Immunohistochimie  
 $p<0.001$

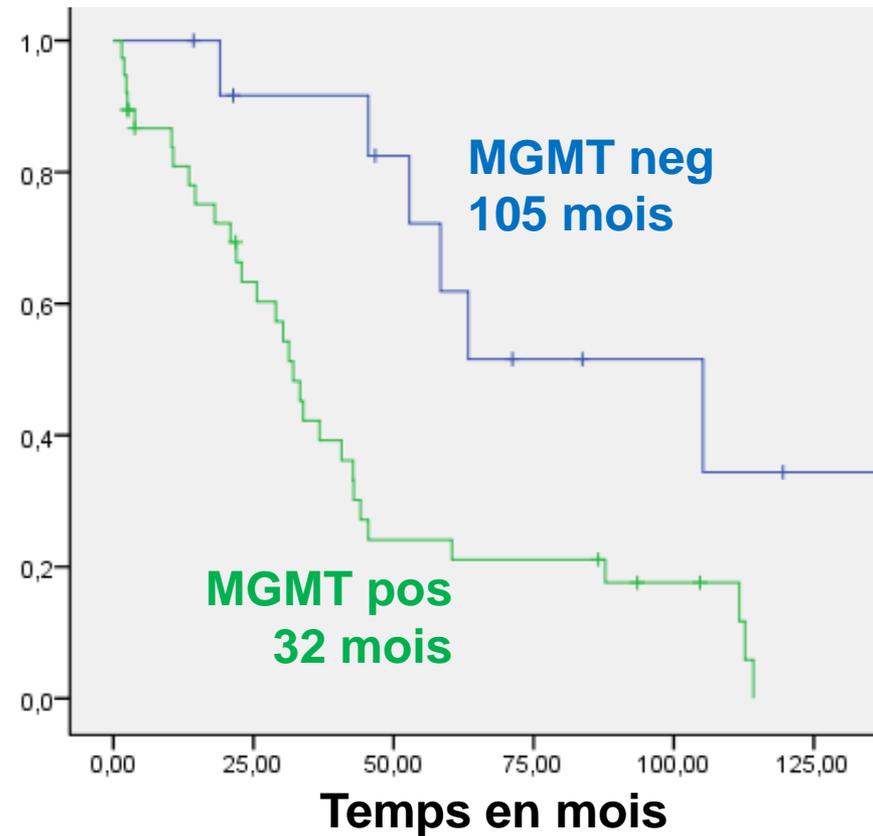


# Méthylation du promoteur (PyroS) de *MGMT*, IHC et SG

Pyrosequencage  
 $p=0.014$



Immunohistochimie  
 $p=0.004$



# Traitements systémiques des TNE du pancréas

## Une piste pour demain

MGMT, un prérequis avant un traitement par alkylant ?

MGMT méthylé/ perte de MGMT en IHC= 1/4 - 1/3

MGMT non méthylé/ persistance de MGMT en IHC

Adria-strepto

Fu-Epiru-Dacraba

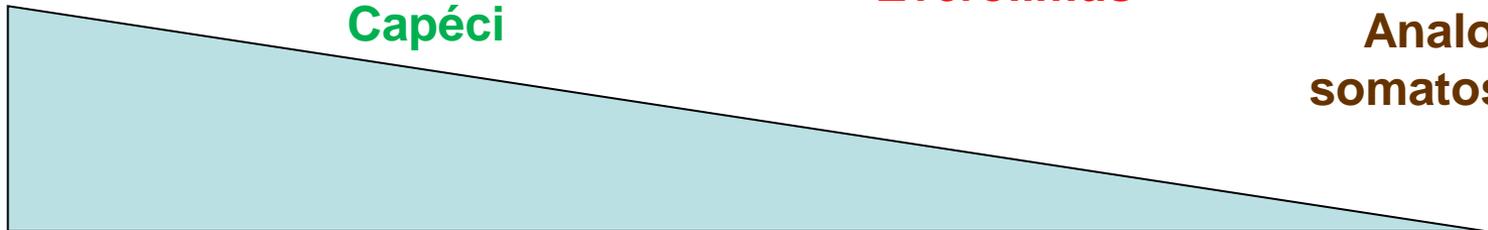
Gemox

Temoz +/-  
Capéci

Sunitinib

Évérolimus

Analogue  
somatostatine

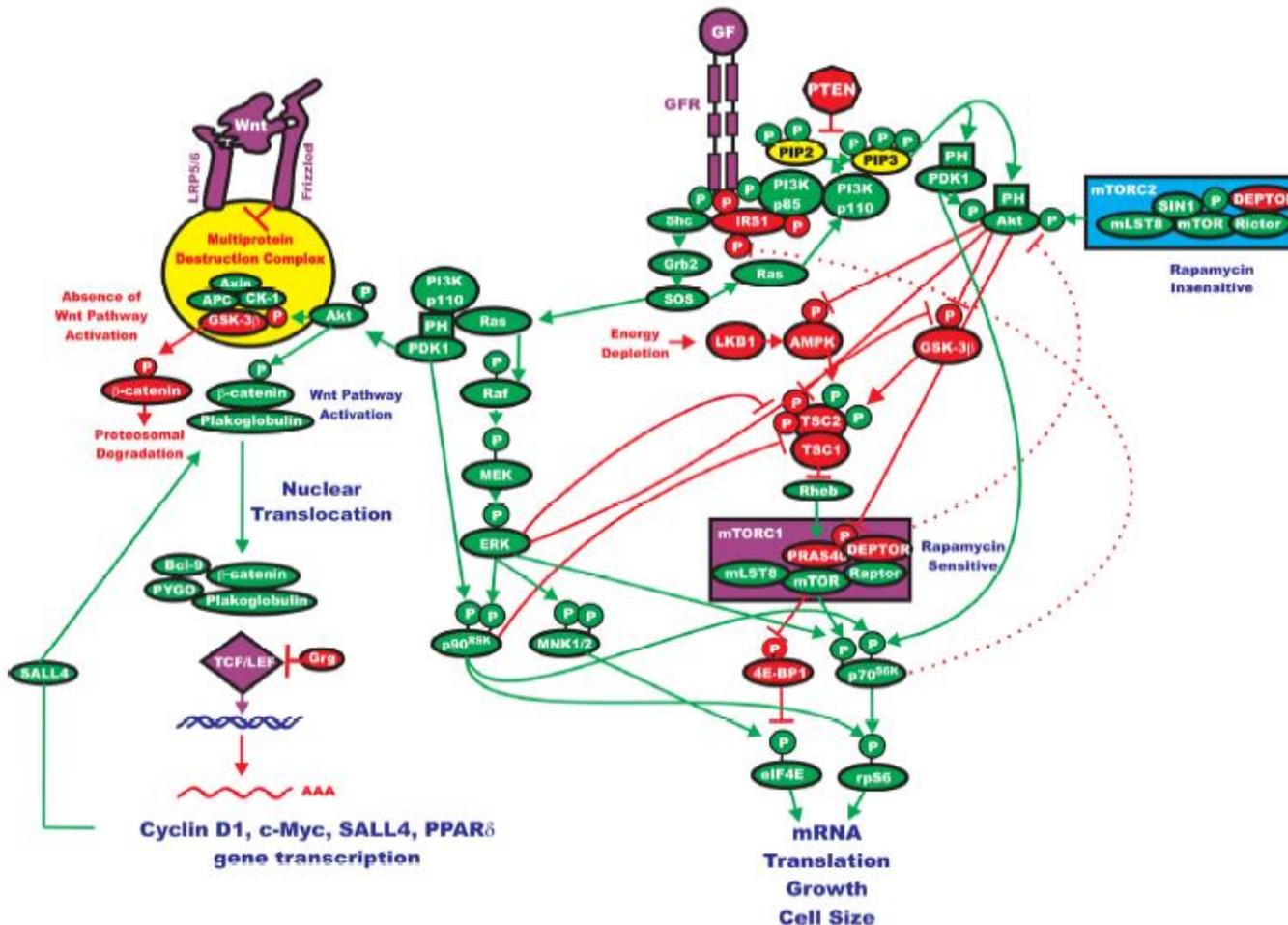


## Les combinaisons thérapeutiques, nouvel espoir?

- Combinaisons de plusieurs thérapies ciblées
  - Combinaisons d'un traitement cytotoxique conventionnel et d'une thérapie ciblée
- Nécessité d'essais cliniques avec un rationnel fort  
(recherche translationnelle préclinique)
- Effets secondaires???

# Thérapie vraiment ciblée?

- Interactions des voies de signalisation : la thérapie ciblée, frappe chirurgicale ou arme de destruction massive?



## Les limites de la thérapie ciblée

- La thérapie ciblée implique :
  - Avoir un facteur cible (gène) ou une voie cible (immunohistochimie)
  - Avoir un inhibiteur ou un agoniste
  - De connaître les interactions avec d'autres voies de signalisation ou les rétrocontrôles sur la voie
- Les solutions :
  - Associations
  - Séquence de traitement
- Les problèmes et questions :
  - Quel rationnel pour quel traitement?
  - Essais cliniques : cohortes importantes
  - Effets secondaires
  - Echappement

**CRCL – U1052**

Audrey Pierrot  
Annie LACHERETZ-BERNIGAUD  
Colette ROCHE  
Julien BOLLARD  
Patrick MASSOMA PEH  
Philippe BERTOLINO  
Martine BLANC  
Carole FERRARO-PEYRET  
Martine CORDIER-BUSSAT  
Jean-Yves SCOAZEC  
Chang ZHANG

**Anipath**

Nicolas GADOT  
Armelle PAQUET  
Lucie BEAULIEU

**Hôpital E. Herriot**

Valérie HERVIEU  
Marie-Odile JOLY-PHARABOZ  
Catherine LOMBARD-BOHAS

**Centre de Résonance Magnétique Nucléaire à  
Très Hauts Champs - Villeurbanne**

Benjamin Blaise  
Bénédicte Elena  
Lyndon Emsley  
Claire Lopez  
Mathilde Bayet-Robert

**LMT/Anican**

Isabelle GODDARD  
Virginie MAUCAUDIÈRE  
Emilie SERVOZ  
Armelle CHAPPOT DE LA CHANONIE

# NOS PARTENAIRES



Centre international de Recherche sur le Cancer



Université Claude Bernard

