

# Sélection et décryptage

## Les mutations activatrices de *PIK3CA* et les mutations invalidantes de *PTEN* ne sont pas redondantes : elles coopèrent pour accélérer la progression des cancers prostatiques et leur résistance à la castration\*

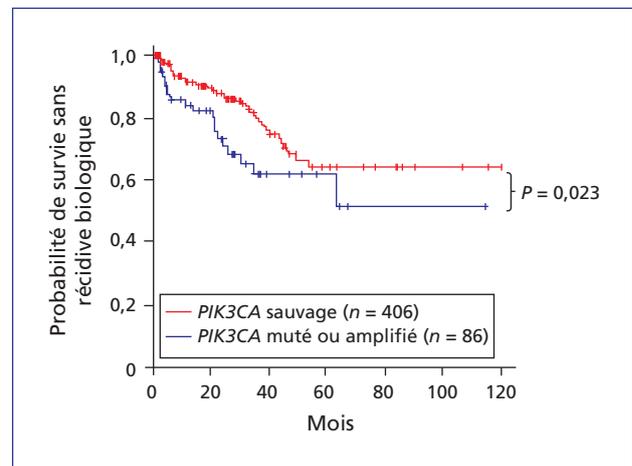
Rares sont les mutations concomitantes de deux gènes dans une même voie de signalisation : la présence d'une mutation de *KRAS* exclut généralement la présence de mutations de *BRAF*, et réciproquement. On pourrait s'attendre à ce que les mutations invalidantes de *PTEN*, fréquentes dans les cancers prostatiques, excluent de la même façon les mutations de la PI3 kinase. Nous allons voir qu'il n'en est rien... Rappelons en quelques lignes que les PI3 kinases de classe IA sont des hétérodimères constitués de deux sous-unités, une protéine p85, régulatrice (il en existe trois, p85 $\alpha$ , p85 $\beta$  et p85 $\gamma$ , codées par les gènes *PIK3R1*, *PIK3R2* et *PIK3R3*), et une protéine p110, catalytique (il en existe également trois, p110 $\alpha$ , p110 $\beta$  et p110 $\delta$ , codées par les gènes *PIK3CA*, *PIK3CB* et *PIK3CD*). L'activation de ces kinases se fait, soit à la suite de celle de récepteurs à activité tyrosine kinase, les p85 étant capables de reconnaître certains résidus tyrosine phosphate sur récepteur activé grâce à leur domaine SH2 ; soit à la suite de l'activation d'une protéine RAS en RAS-GTP, qui peut directement activer à son tour p110 $\alpha$ . L'effecteur principal des PI3 kinases, via la formation de phosphatidylinositol-3,4,5-triphosphate, est la kinase AKT, qui est au carrefour de voies de signalisation multiples, gouvernant la survie et la prolifération cellulaires. Ce que fait une kinase, une phosphatase peut le défaire : c'est le rôle de *PTEN* qui enlève le phosphate porté par le carbone n°3 de l'inositol du lipide, celui précisément que les PI3 kinases ajoutent, comme leur nom l'indique.

Il est connu de longue date que *PTEN* est muté dans 40 à 50 % des cancers prostatiques, mais la PI3 kinase elle-même a été peu étudiée. Les auteurs ont recherché dans la littérature et dans le *The Cancer Genome Atlas* (TCGA) ce qu'il en était. Il ont ainsi identifié des altérations génétiques de *PIK3CA* dans les cancers prostatiques humains : quelques rares mutations classiques des exons 9 (E542K, E545K) et 20 (H1047R), mais surtout de fréquentes amplifications et gains. Dans les deux cas, ces altérations génomiques sont de pronostic péjoratif (figure 1). Ce qui est intéressant, c'est que, dans la moitié des cas, ces mutations sont associées à une mutation ou à une diminution du nombre de copies de *PTEN*. Il existe même une corrélation très significative entre la présence d'une altération oncogénique de *PIK3CA* et une altération délétère de *PTEN*.

Les auteurs se sont posé la question du rôle de cette co-occurrence dans l'oncogenèse prostatique. Pour y répondre, ils ont généré un modèle murin génétiquement

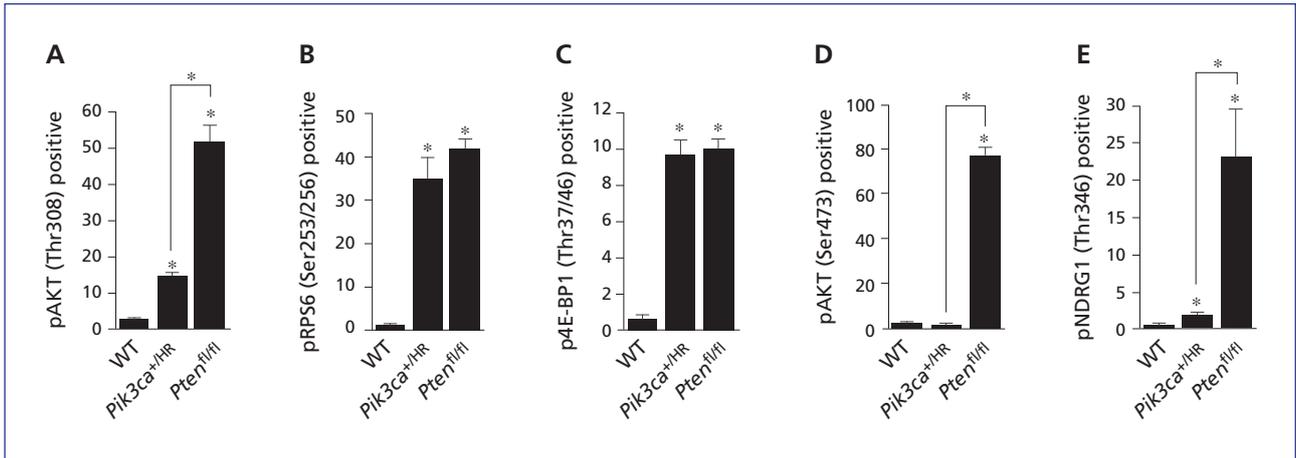
modifié, porteur d'une mutation activatrice de *Pik3ca* (H1047R) inducible dans les cellules épithéliales de la prostate. L'induction de l'expression de la protéine mutée chez ces souris *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup> résulte en un cancer prostatique invasif. Ils ont alors comparé leur modèle à un modèle déjà existant de cancer prostatique murin porteur d'une délétion de *Pten*. Les souris porteuses d'une délétion biallélique de *Pten* (*Pten*<sup>fl/fl</sup>) dans les cellules épithéliales prostatiques développent des cancers de façon plus précoce, plus rapide et plus invasive que les souris *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup>. Pourquoi ces différences ? Dans les deux cas, il y a bien une activation d'AKT via sa phosphorylation en Thr308, certes moins importante dans les tumeurs des souris *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup> que dans celles des souris *Pten*<sup>fl/fl</sup>, mais l'activation des protéines en aval d'AKT, après phosphorylation et activation de TORC1, est la même dans les tumeurs des deux souches de souris : la protéine ribosomique S6 (RPS6) et la protéine 4E-BP1 sont phosphorylées de façon identique (figure 2).

La différence entre les phénotypes observés dans les souris *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup> et *Pten*<sup>fl/fl</sup> semble résider au niveau de l'activation de TORC2. Ce deuxième complexe où est engagée la protéine mTOR possède beaucoup moins de



**Figure 1.** Probabilité de survie selon Kaplan-Meier des patients porteurs ou non d'une altération génomique de *PIK3CA* (mutation, amplification, augmentation du nombre de copies). Extrait de la base de données du TCGA.

**Figure 1.** Probability of survival according to Kaplan-Meier analysis of patients carrying or not carrying a genomic alteration of *PIK3CA* (mutation, amplification, increase in copy number). Taken from the TCGA database.



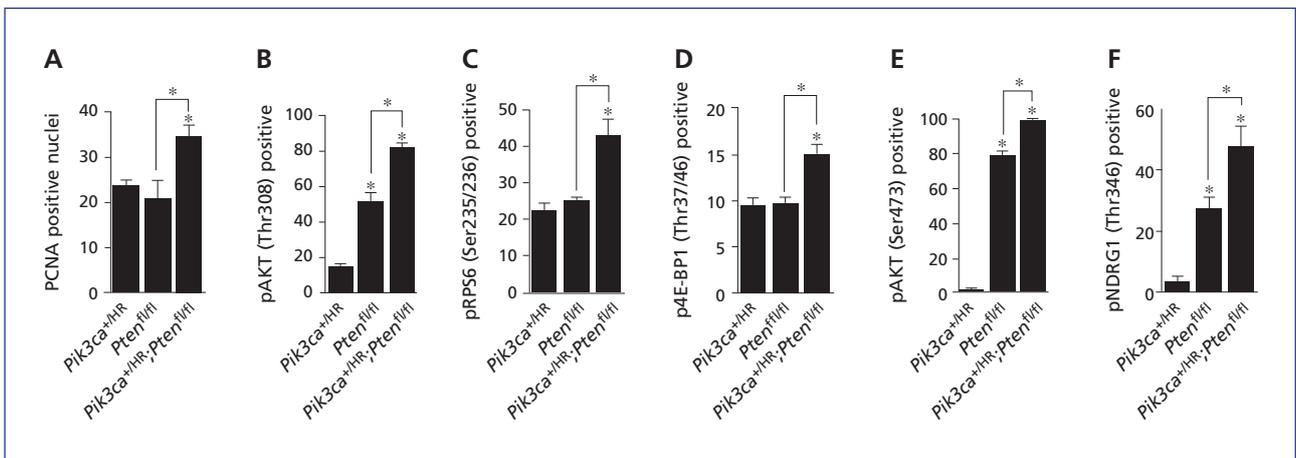
**Figure 2.** Quantification des lames d'immunohistochimie des tumeurs murines de type sauvage (WT), *Pik3ca*<sup>+HR</sup> et *Pten*<sup>fl/fl</sup> pour différents marqueurs d'activation de protéines. (A) phospho-AKT (Thr308) ; (B) phospho-RPS6 (Ser253/256) ; (C) phospho-4E-BP1 (Thr37/46) ; (D) phospho-AKT (Ser473) ; (E) pNDRG1 (Thr346).

**Figure 2.** Quantification of immunohistochemical slides for wild-type (WT) and *Pik3ca*<sup>+HR</sup> and *Pten*<sup>fl/fl</sup> mouse tumours for different protein activation markers. (A) phospho-AKT (Thr308); (B) phospho-RPS6 (Ser253/256); (C) phospho-4E-BP1 (Thr37/46); (D) phospho-AKT (Ser473); (E) pNDRG1 (Thr346).

substrats que TORC1, essentiellement des kinases de la famille AGC, en particulier AKT qu'elle phosphoryle en Ser473, amplifiant ainsi le signal véhiculé par cette kinase par un *feed-back* positif ; et SGK1, qui elle-même phosphoryle et inactive le suppresseur de métastases NDRG1 (*N-myc downstream regulated 1*). Effectivement, les anticorps spécifiques des sites de phosphorylation de ces deux kinases par TORC2 donnent bien des signaux beaucoup plus forts dans les extraits de tumeurs prostatiques des souris *Pten*<sup>fl/fl</sup> que dans ceux des souris *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup> (figure 2).

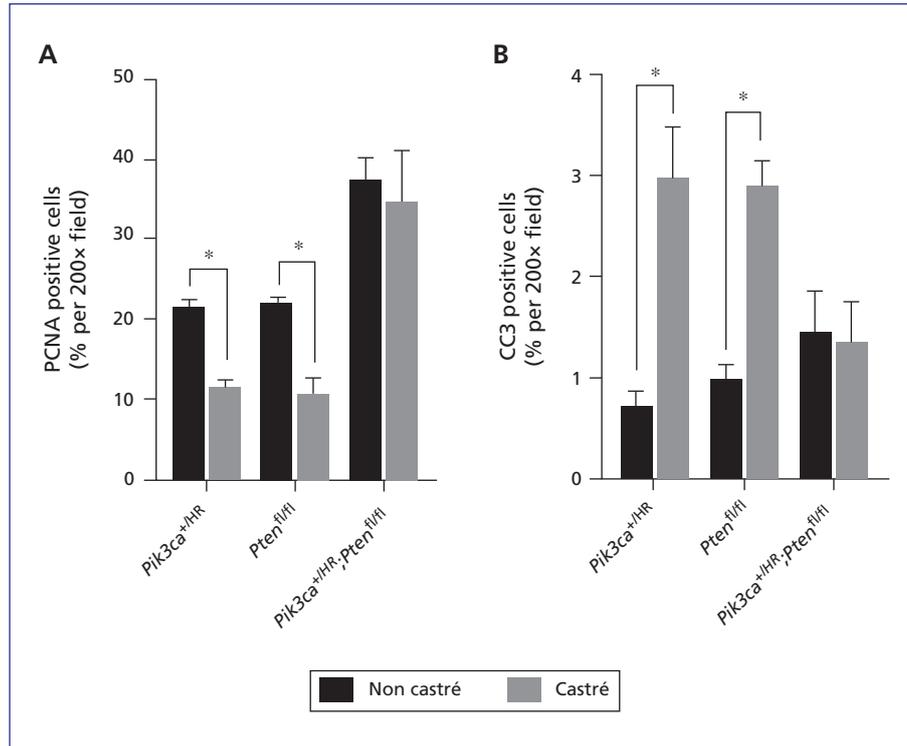
Une autre différence pourrait résider au niveau des différentes p110 ; ces dernières ne sont pas identiques

quant aux modalités de leur activation (p110 $\alpha$  est activable par RAS-GTP alors que p110 $\beta$  est activable par une autre petite protéine G, RAC1). L'intervention de RAS et de RAC1 a donc été étudiée ; la voie RAS est activée de façon identique dans les tumeurs des deux souches de souris, comme en témoigne le marquage de pERK, mais RAC1 n'est activé que dans les tumeurs de la souche *Pten*<sup>fl/fl</sup>, et pas dans celle des tumeurs de la souche *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup>. Les conséquences thérapeutiques de cette différence entre les deux souches sont tout à fait intéressantes ; un inhibiteur spécifique de p110 $\alpha$ , A66, est effectif sur les seules tumeurs *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup>, alors qu'un inhibiteur spécifique de p110 $\beta$ , TGX-221, n'a d'effet sur aucun des



**Figure 3.** Quantification des lames d'immunohistochimie des tumeurs murines *Pik3ca*<sup>+HR</sup>, *Pten*<sup>fl/fl</sup> et *Pik3ca*<sup>+HR</sup>; *Pten*<sup>fl/fl</sup> pour différents marqueurs d'activation de protéines. (A) PCNA (marqueur de prolifération) ; (B) phospho-AKT (Thr308) ; (C) phospho-RPS6 (Ser235/236) ; (D) phospho-4E-BP1 (Thr37/46) ; (E) phospho-AKT (Ser473) ; (F) pNDRG1 (Thr346).

**Figure 3.** Quantification of immunohistochemical slides for *Pik3ca*<sup>+HR</sup>, *Pten*<sup>fl/fl</sup> and *Pik3ca*<sup>+HR</sup>; *Pten*<sup>fl/fl</sup> murine tumours for different protein activation markers. (A) PCNA (proliferation marker); (B) phospho-AKT (Thr308); (C) phospho-RPS6 (Ser235/236); (D) phospho-4E-BP1 (Thr37/46); (E) phospho-AKT (Ser473); (F) pNDRG1 (Thr346).



**Figure 4.** Quantification des lames d’immunohistochimie des tumeurs murines *Pik3ca*<sup>+HR</sup>, *Pten*<sup>fl/fl</sup> et *Pik3ca*<sup>+HR</sup>; *Pten*<sup>fl/fl</sup> pour (A) un marqueur de prolifération (PCNA) et (B) un marqueur d’apoptose (CC3).  
**Figure 4.** Quantification of immunohistochemical slides for *Pik3ca*<sup>+HR</sup>, *Pten*<sup>fl/fl</sup> and *Pik3ca*<sup>+HR</sup>; *Pten*<sup>fl/fl</sup> murine tumours for (A) proliferation (PCNA) and (B) apoptosis (CC3).

deux types de tumeurs ; les tumeurs *Pten*<sup>fl/fl</sup> ne répondent qu’à un pan-inhibiteur de PI3 kinases (BMK-120) ou à la combinaison A66–TGX-221. Cela montre bien que l’activation oncogénique ne concerne que la voie p110α dans les tumeurs *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup>, alors que la perte de PTEN concerne à la fois les voies p110α et p110β dans les tumeurs *Pten*<sup>fl/fl</sup>. Il est donc nécessaire d’envisager le ciblage combiné des deux PI3 kinases si l’on veut traiter les cancers prostatiques porteurs d’une mutation délétère de *PTEN*.

Les mutations de *PI3KCA* et la perte de *PTEN* ne sont donc pas des événements exclusifs dans l’oncogénèse prostatique. Il est intéressant par conséquent de générer des tumeurs porteuses des deux anomalies simultanément, ce à quoi sont parvenus les auteurs en croisant les deux souches de souris. Grâce à ce modèle, ils ont pu montrer une coopération entre les deux altérations génomiques, dont les conséquences sur l’oncogénèse prostatique sont synergiques (figure 3, page précédente). En outre, alors que la castration réduit les marqueurs de prolifération et augmente un marqueur d’apoptose dans les tumeurs *Pik3ca*<sup>+H1047R</sup> et *Pten*<sup>fl/fl</sup>, elle n’a aucun effet

sur ces marqueurs dans les tumeurs *Pik3ca*<sup>+HR</sup>; *Pten*<sup>fl/fl</sup> (figure 4).

Bien des choses restent à expliquer dans cette somme d’observations fondamentales pour la compréhension de l’oncogénèse prostatique... les auteurs en sont bien conscients ! Par quels mécanismes, en particulier, la synergie de la perte de *PTEN* et du gain de *PIK3CA* parvient-elle à annihiler les effets de la castration sur l’évolution tumorale ; la question est importante en raison du fait que les tumeurs humaines portent bien les deux altérations de façon concomitante dans une grande proportion de cancers de la prostate, et que c’est bien la résistance à la castration qui constitue le problème n°1 de la prise en charge de ces cancers.

\* Pearson HB, Li J, Meniel VS, et al. Identification of *Pik3ca* mutation as a genetic driver of prostate cancer that cooperates with *Pten* loss to accelerate progression and castration-resistant growth. *Cancer Discov* 2018 ; 8 : 764-779. doi : 10.1158/2159-8290.CD-17-0867

Jacques Robert

## Des mutations d'*ERBB2* et *ERBB3* sont présentes dans les cancers colorectaux et sont associées au phénotype MSI et aux mutations de *PIK3CA*\*

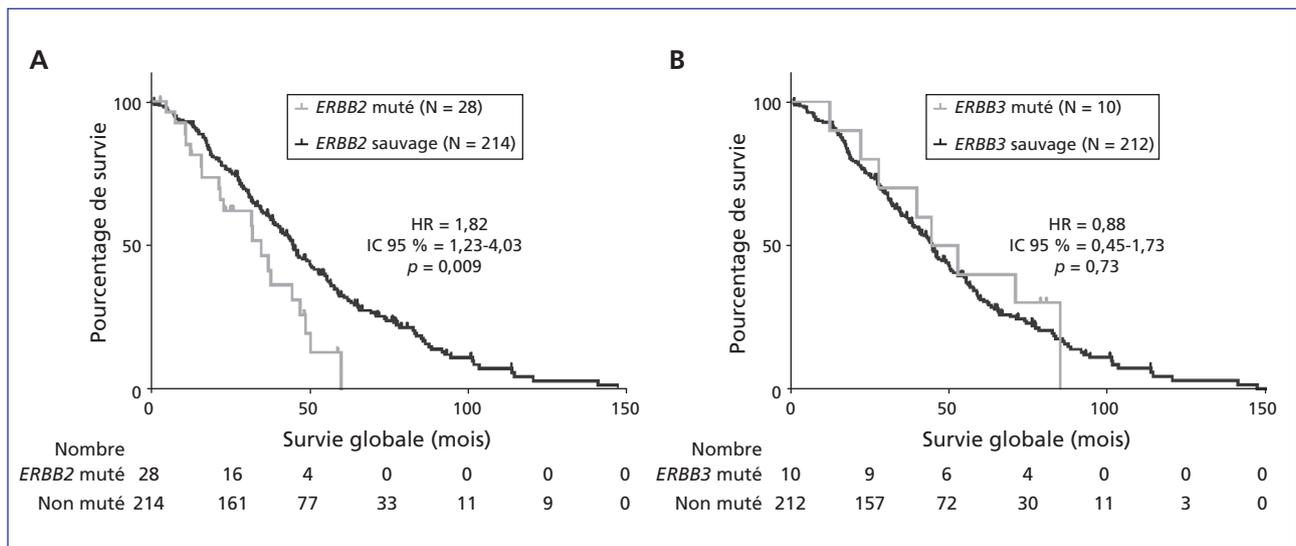
L'amplication d'*ERBB2* (HER2) est maintenant un grand classique de l'oncologie, avec des conséquences thérapeutiques majeures pour les cancers du sein, les cancers gastriques et d'autres cancers – dont les cancers colorectaux. Dans cette localisation, cette amplification est à l'origine d'une résistance aux anticorps anti-EGFR mais d'une sensibilité aux anticorps anti-HER2. Moins connues sont les mutations, qui surviennent, de façon certes peu fréquente, dans de nombreux cancers ; les cancers colorectaux ne font pas exception. Moins connues encore sont les mutations d'*ERBB3*, qui code le troisième récepteur de la famille ERBB. Les auteurs de cet article ont tenté d'en dresser la liste et de les associer aux autres altérations oncogéniques présentes dans les cancers colorectaux.

Les tumeurs étudiées proviennent de deux cohortes de patients, totalisant 1 038 tumeurs entièrement séquencées, auxquelles s'ajoutent 1 623 patients chez lesquels le séquençage d'*ERBB2* a pu être réalisé sur l'ADN tumoral circulant. Les mutations d'*ERBB2* ont une fréquence comprise entre 4,1 et 5,8 % selon la cohorte, et celles d'*ERBB3* une fréquence de 5,7 % dans les deux cohortes – une proportion élevée si on la compare à celle que l'on trouve dans les autres types tumoraux. Dans aucune des cohortes n'est observée de relation entre la présence de ces mutations et l'âge des patients, le stade tumoral ou la localisation du cancer. Il faut noter toutefois que la présence de mutations d'*ERBB2* dans la tumeur est de mauvais pronostic (figure 1). Mais dans une analyse multivariée sur un modèle de Cox, la

présence de ces mutations n'est plus associée à la survie globale.

Dans les deux cohortes de patients dont la tumeur a pu être étudiée complètement, il existe une association très significative entre la présence de mutations d'*ERBB2* ou d'*ERBB3* et le phénotype d'instabilité microsatellitaire (MSI). En outre, dans une des cohortes, les auteurs ont observé une association significative entre la présence de mutations d'*ERBB2* ou d'*ERBB3* et le phénotype « hyperméthylateur » CIMP (CpG island methylator phenotype), une entité « à cheval » sur les phénotypes MSI et MSS (stabilité microsatellitaire). Aucune association n'a été observée entre la présence de mutations d'*ERBB2* ou *ERBB3* et les mutations des gènes *TP53*, *APC*, *KRAS*, *NRAS* ou *BRAF*, mais en revanche une association très significative a été notée avec la présence de mutations de *PIK3CA*.

Cet article pose finalement plus de questions qu'il n'en résout... On sèche sur les mécanismes qui sous-tendent les associations des mutations d'*ERBB2/3* avec celles de *PIK3CA*, et surtout avec le phénotype MSI, dont l'origine moléculaire n'est pas recherchée (MLH1 ? MSH2 ? *via* des mutations ? *via* une perte d'expression ? et dans ce cas, au niveau génomique ? au niveau épigénomique ?) Voilà une série de questions sans réponse ! Et voilà du travail pour les équipes de recherche... La seule explication qui vient à l'esprit pour l'association du phénotype MSI avec les mutations d'*ERBB2/3* est non mécanistique et peu convaincante : ces dernières seraient liées passivement à la charge mutationnelle globale des tumeurs MSI, toujours élevée en



**Figure 1.** Impact des mutations somatiques d'*ERBB2* (A) et d'*ERBB3* (B) sur la survie globale des sujets atteints d'un cancer colorectal métastatique, en comparaison avec les sujets ne portant pas une telle mutation dans leur tumeur.

**Figure 1.** Impact of somatic mutations of *ERBB2* (A) and *ERBB3* (B) on the overall survival of patients with metastatic colorectal cancer, compared to patients with no such mutations in their tumour.

raison de la non-réparation des *mismatches*. Quant à l'association des mutations d'*ERBB2/3* avec celles de *PIK3CA*, elle peut avoir une conséquence thérapeutique en faveur d'une prise en charge « multicible » des cancers colorectaux métastatiques.

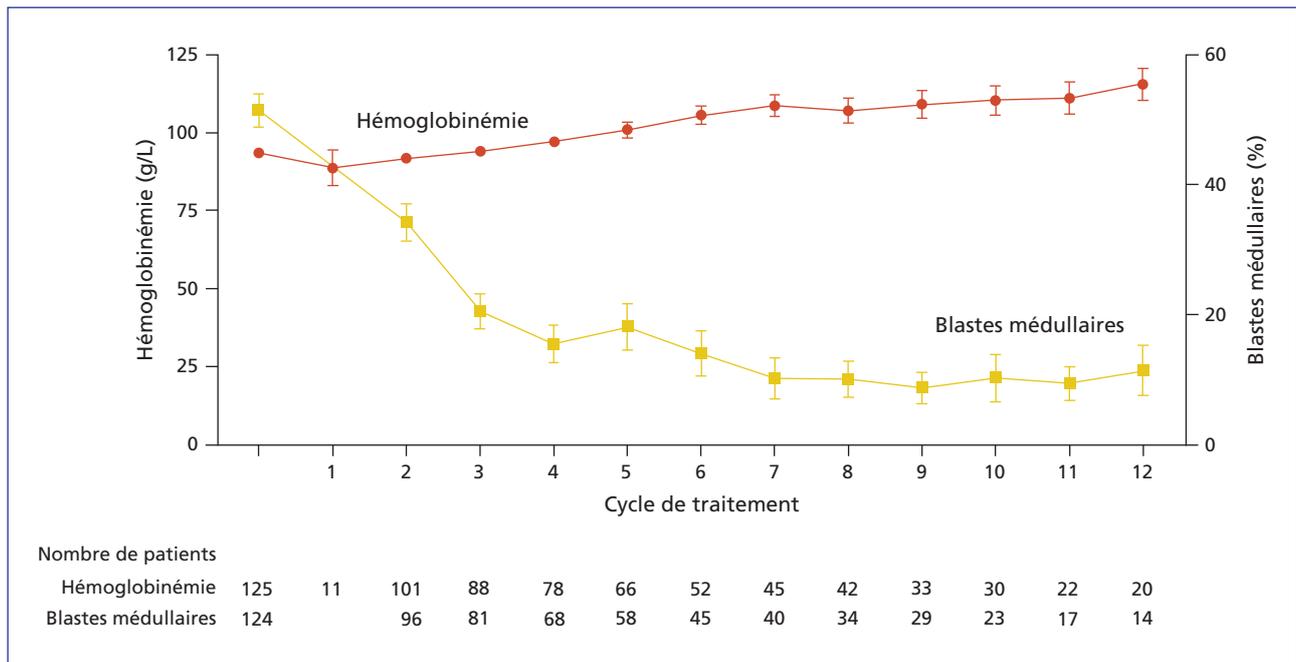
\* Loree JM, Bailey AM, Johnson AM, et al. Molecular landscape of *ERBB2/ERBB3* mutated colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2018 ; djy067 (sous presse). doi : 10.1093/jnci/djy067

Jacques Robert

## Une molécule active sur les leucémies aiguës myéloïdes présentant une mutation d'*IDH1*\*

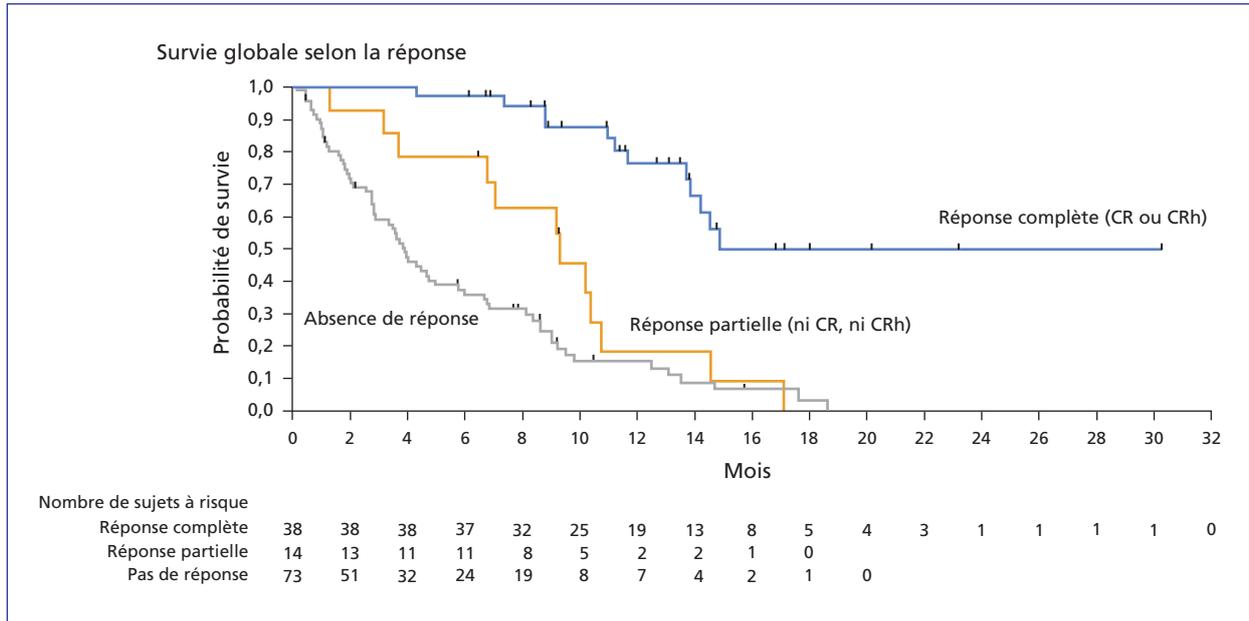
Les mutations des gènes codant les isocitrate déshydrogénases, *IDH1* et *IDH2*, se rencontrent dans une assez grande variété de cancers : mélanomes, leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) et quelques tumeurs plus rares comme chondrosarcomes et cholangiocarcinomes. Rappelons que ces enzymes sont responsables de la transformation, dans le cytosol et dans la mitochondrie respectivement, de l'isocitrate en  $\alpha$ -céto-glutarate. Les mutations des gènes *IDH1* et *IDH2* confèrent à ces enzymes une activité nouvelle, « néomorphique », de réduction de l' $\alpha$ -céto-glutarate en 2-*R*-hydroxyglutarate. Il en résulte un déficit en  $\alpha$ -céto-glutarate, métabolite essentiel pour le fonctionnement du cycle de Krebs et pour d'autres fonctions. Le déficit en  $\alpha$ -céto-glutarate a un impact sur diverses dioxygénases qui l'utilisent comme accepteur d'électrons, en même temps que l'oxygène moléculaire et le fer ferreux  $Fe^{2+}$ , pour réaliser des hydroxylations. Parmi ces dioxygénases figurent les prolyl-hydroxylases (PHD), et l'asparagine hydroxylase

(FIH), responsables de l'hydroxylation de HIF1 $\alpha$  et HIF2 $\alpha$  ; il en résulte un phénomène de pseudo-hypoxie, qui entraîne une stimulation de l'angiogenèse, en particulier *via* une production importante de VEGF. D'autres dioxygénases sont des histones déméthylases KDM qui régulent le degré de méthylation des histones. Une méthylation excessive des marques répressives des histones est la conséquence de la diminution d'activité des KDM liée à l'absence d' $\alpha$ -céto-glutarate ; plusieurs gènes suppresseurs de tumeurs peuvent alors être sous-exprimés lors de l'accumulation des oncométabolites. Les ADN déméthylases TET (*ten-eleven translocation enzymes*), qui agissent d'abord *via* une hydroxylation du groupement méthyle des résidus cytosine des îlots CpG, sont également des dioxygénases utilisant l' $\alpha$ -céto-glutarate. De la même façon que pour les histones, la déficience en  $\alpha$ -céto-glutarate conduit à un maintien de la méthylation de l'ADN et par conséquent en la répression de la transcription de gènes suppresseurs de



**Figure 1.** Évolution de l'hémoglobininémie et de la numération des blastes dans la moelle au cours du traitement des patients par l'ivosidenib.

**Figure 1.** Evolution of haemoglobinemia and number of bone marrow blasts during treatment of patients with ivosidenib.



**Figure 2.** Survie globale des patients selon qu'ils ont présenté une rémission complète CR (ou une rémission complète avec récupération hématologique partielle CRh), une réponse autre que CR ou CRh, ou une absence de réponse.

**Figure 2.** Overall survival of patients according to whether they presented complete remission (CR) (or complete remission with partial haematological recovery [CRh]), a response other than CR or CRh, or no response.

tumeurs ou de gènes impliqués dans la transition épithélio-mésenchymateuse. Enfin, d'autres dioxygénases permettent l'hydroxylation du collagène sur des résidus proline et lysine ou sur la réparation directe des adduits méthyle en N<sup>1</sup> de l'adénine et N<sup>3</sup> de la cytosine par les enzymes de la famille ABH (*ALK-B homologs*). La déficience en  $\alpha$ -cétoglutarate liée aux mutations des IDH peut alors conduire à une inhibition de ces mécanismes de réparation, contribuant ainsi à l'oncogenèse.

Cette brève mise au point faite, comment inhiber cette activité néomorphique des IDH ? Bien sûr, les agents déméthylants de l'ADN peuvent suppléer l'inhibition des déméthylases TET ; mais, plus spécifiquement, des molécules inhibitrices des IDH mutées ont été développées et sont entrées en essais cliniques. Un inhibiteur de la protéine IDH2 mutée est maintenant commercialisé aux États-Unis, l'énasidénib, mais il manquait encore à la panoplie antileucémique un inhibiteur spécifique d'IDH1, vide qui est maintenant comblé par l'ivosidénib, grâce à ce travail international exemplaire qui n'a pas souffert, fort heureusement pour la science, des tergiversations ahurissantes de décideurs politiques inconséquents. Rappelons que 6 à 10 % des LAM s'accompagnent d'une mutation du gène *IDH1* et 9 à 13 % d'une mutation d'*IDH2*.

Un total de 258 patients ont été inclus et sont évaluables pour la toxicité de la molécule ; sur les 179 patients avec une LAM en rechute ou réfractaire, on note un

allongement de l'intervalle QT (7,8 %), un syndrome de différenciation de l'IDH (un syndrome potentiellement léthal, déjà noté lors du développement de l'énasidénib, avec fièvre, infiltration pulmonaire, effusions pleurales ou péricardiques, œdème et rétention d'urée) (3,9 %), une thrombocythémie (3,4 %) et une leucocytose (1,7 %). Sur le plan de l'efficacité, 125 patients étaient évaluables, et le taux de rémissions complètes était de 21,6 % [95 % IC : 14,7-29,8] pour un taux global de réponses de 41,6 % [95 % IC : 22,5-39,3]. La durée médiane de ces réponses était respectivement de 9,3 mois [95 % IC : 5,6-18,3] et de 6,5 mois [95 % IC : 4,6-9,3].

J'ai choisi pour illustrer cette présentation une image montrant l'évolution de l'envahissement médullaire au cours du traitement (*figure 1*, page précédente) et un autre montrant le bénéfice en survie des répondeurs (*figure 2*). On peut conclure de cette phase III que les patients en situation de rechute ou de résistance de leur LAM peuvent bénéficier de l'ivosidénib en monothérapie, avec une tolérance tout à fait bonne et des rémissions de longue durée. Les essais cliniques en situation moins avancée sont en cours...

\* DiNardo CD, Stein EM, de Botton S, et al. Durable remissions with ivosidenib in *IDH1*-mutated relapsed or refractory AML. *N Engl J Med* 2018 ; 378(25) : 2386-98. doi : 10.1056/NEJMoa1716984

Jacques Robert

## Le vénétoclax, premier médicament pro-apoptotique sur le marché\*

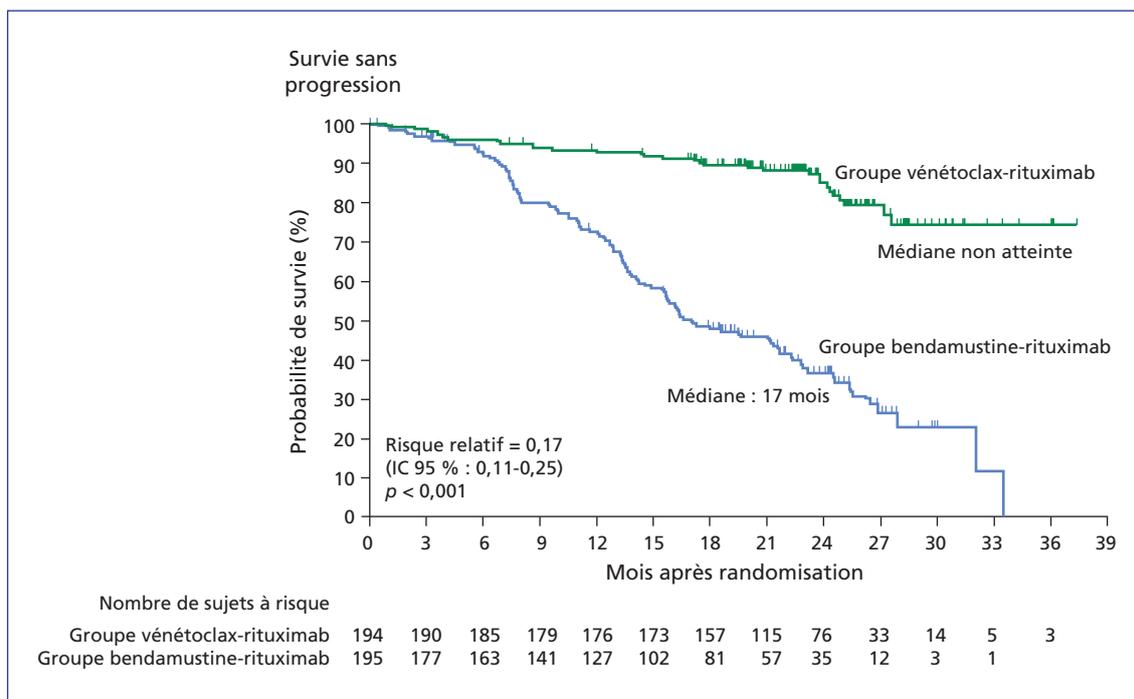
**A** lors que l'échappement à l'apoptose – et aux autres mécanismes actifs de mort cellulaire – constitue un des *hallmarks* du cancer depuis le célèbre article de Hanahan & Weinberg en 2000, force est de constater que nous disposons de peu de cibles dans cette famille de mécanismes potentiels d'oncogenèse... En ce qui concerne l'apoptose « extrinsèque », des anticorps agonistes de TRAIL sont « en développement » depuis déjà plusieurs années, et pour l'apoptose « intrinsèque », mitochondriale, des molécules mimétiques des protéines *BH3-only* (protéines pro-apoptotiques de la famille BCL2) ainsi que des molécules mimétiques de SMAC (inhibiteur des protéines inhibitrices de caspases) sont « dans les tuyaux ». L'oblimersen (oligodésoxynucleotide antisens dirigé contre le messenger de BCL2) a failli être approuvé il y a quelques années et finalement ne s'est pas montré suffisamment actif pour être mis sur le marché.

C'est un *BH3-mimetic compound* (BMC) qui aura franchi le premier la ligne d'arrivée, le vénétoclax, mis sur le marché en 2015 aux États-Unis pour le traitement de la leucémie lymphoïde chronique (LLC) en situation de récurrence ou de résistance au traitement. Dans cette étude, la combinaison vénétoclax-rituximab a été comparée, dans un essai de phase III randomisé, à la combinaison plus classique du rituximab avec une moutarde azotée, la bendamustine. Cette étude de phase III fait suite à l'étude

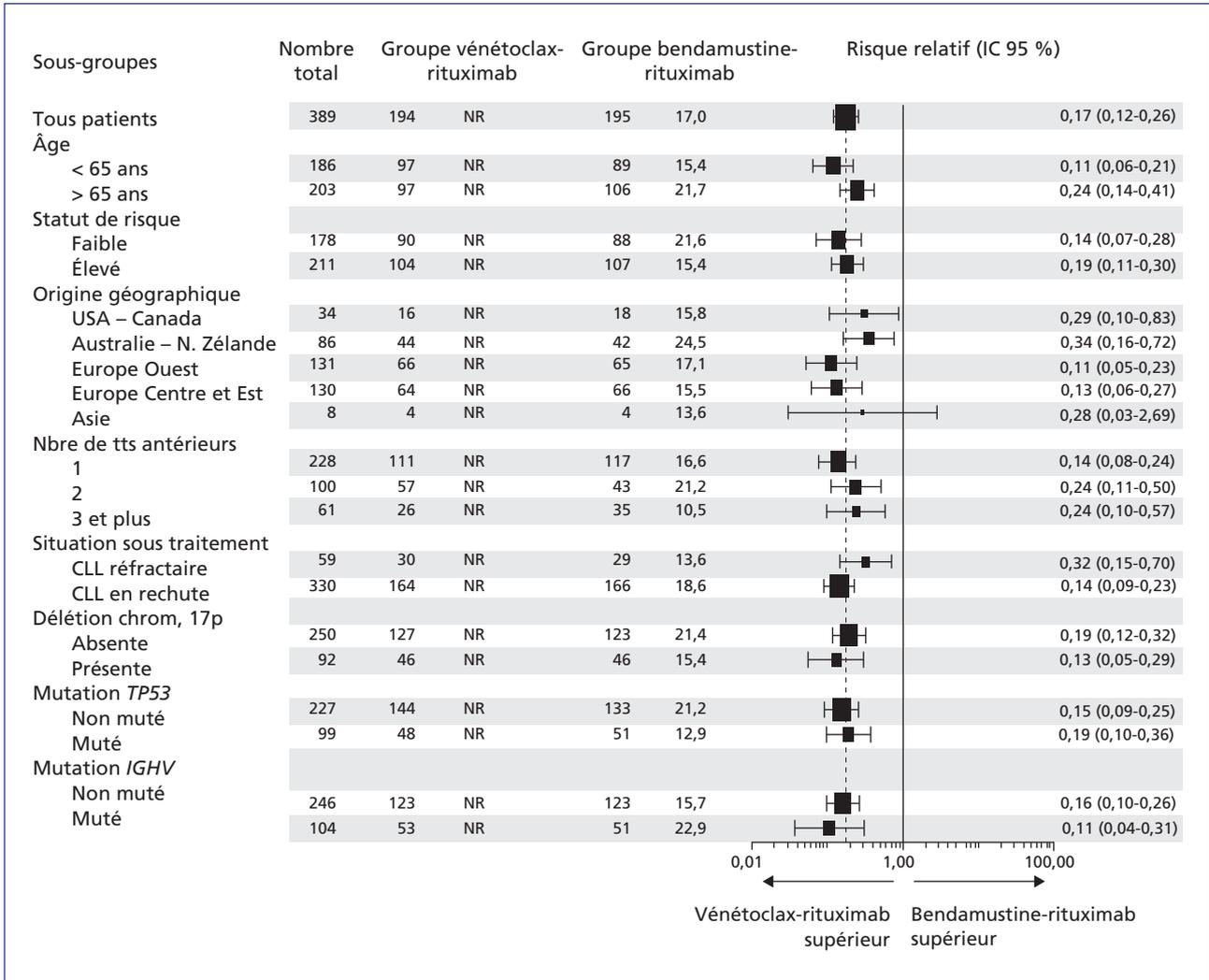
de phase I et à celle de phase II publiées toutes deux en 2016 [1, 2].

Un total de 389 patients a été inclus dans 109 sites répartis dans 20 pays, avec une stratification relative à la présence d'une délétion 17p, un facteur de mauvais pronostic. Après un suivi médian de près de deux ans, le taux de survie sans progression était significativement plus élevé dans le groupe de patients du bras vénétoclax-rituximab (32 événements chez 194 patients) que dans le groupe du bras bendamustine-rituximab (114 événements chez 195 patients). Les taux de survie sans progression étaient de 84,9 % et de 36,3 % respectivement, avec un risque relatif de progression ou décès de 0,17 [IC 95 % = 0,11-0,25],  $p < 0,001$  (figure 1). Ce bénéfice était présent dans tous les sous-groupes de patients, y compris ceux présentant la délétion 17p ou une mutation invalidante de la protéine p53 (figure 2). Quant à la tolérance, on peut noter que les neutropénies de grades 3 et 4 étaient plus fréquentes dans le groupe vénétoclax-rituximab, mais que les neutropénies fébriles (ainsi que les infections) étaient plus fréquentes dans le groupe bendamustine-rituximab. Ces résultats augurent bien de l'efficacité à long terme du vénétoclax.

Une belle étude, bien démonstrative, qui devrait encourager les laboratoires de recherche privés et publics à poursuivre des travaux dans le domaine de la stimulation de l'apoptose. La leucémie lymphoïde chronique a



**Figure 1.** Estimation, selon Kaplan-Meier, de la survie sans progression de la population totale.  
**Figure 1.** Estimate, according to Kaplan-Meier analysis, of progression-free survival of the total population.



**Figure 2.** Analyse de la survie sans progression dans divers sous-groupes, selon la représentation dite de *forest plot*.  
**Figure 2.** Analysis of progression-free survival in various sub-groups, according to the forest plot representation.

bénéficié depuis une dizaine d’années de toute une série de nouvelles molécules actives (bendamustine en 2008, idéalalisib en 2014, ibrutinib en 2015). Une nouvelle piste est ouverte dans cette pathologie, piste dont pourraient bénéficier d’autres hémopathies malignes B.

\*Seymour JF, Kipps TJ, Eichhorst B, et al. Venetoclax-rituximab in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2018 ; 378 : 1107-20. doi : 10.1056/NEJMoa1713976

**RÉFÉRENCES**

1. Roberts AW, Davids MS, Pagel JM, et al. Targeting BCL2 with venetoclax in relapsed chronic lymphocytic leukemia. *N Engl J Med* 2016 ; 374 : 311-22. doi : 10.1056/NEJMoa1513257
2. Stilgenbauer S, Eichhorst B, Schetelig J, et al. Venetoclax in relapsed or refractory chronic lymphocytic leukaemia with 17p deletion : a multicentre, open-label, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2016 ; 17 : 768-78. doi : 10.1016/S1470-2045(16)30019-5

Jacques Robert

## Cancers de la prostate et récepteur des androgènes : de l'intérêt de rechercher des altérations moléculaires en dehors de l'exome\*,\*\*

Deux articles importants pour la compréhension de l'activation du récepteur des androgènes (AR) dans les cancers de la prostate résistants à la castration (CRPC) sont parus en juillet dans *Cell*. Tous deux proviennent pour l'essentiel du *Dana-Farber Cancer Institute* de Boston, mais, étrangement, ils sont produits par deux équipes distinctes !

Rappelons l'importance de ce récepteur nucléaire à fonction de facteur de transcription qu'est le récepteur des androgènes ; il est la cible depuis plus de 50 ans des traitements des cancers de la prostate : déprivation androgénique par castration « chimique » ou par des inhibiteurs de la biosynthèse des androgènes, blocage du récepteur par les anti-androgènes. On sait depuis longtemps que les cancers de la prostate deviennent résistants à la castration tout en demeurant dépendants de la signalisation androgénique, en compensant la déprivation androgénique par différents moyens. Le mécanisme le plus fréquent, survenant dans 50 % des cancers de la prostate, est l'amplification du gène *AR*, avec pour conséquence une surproduction du récepteur qui, même limitée quantitativement, apparaît suffisante pour que le cancer devienne résistant à l'hormonothérapie. Toutefois, les altérations moléculaires du gène *AR* se rencontrent essentiellement dans les CRPC et sont généralement absentes des cancers prostatiques précoces.

Dans nombre de cancers, la recherche des altérations moléculaires, mutations au premier chef, s'effectue au niveau de l'exome et d'importants programmes de thérapie de précision s'appuient sur le séquençage exclusif des régions codantes. Mais il est clair qu'au-delà des altérations du gène lui-même, il est nécessaire de rechercher les altérations moléculaires des régions régulatrices : c'est ainsi, pour ne citer qu'un exemple, que les altérations du promoteur de *TERT* ont permis de comprendre la réactivation de ce gène dans les mélanomes et d'autres cancers. Les altérations des *enhancers* de certains gènes peuvent contribuer de façon décisive à l'oncogenèse : mutations altérant la reconnaissance par des facteurs de transcription, augmentation du nombre de copies, réarrangements géniques sont ainsi rencontrés dans les cancers et constituent des mécanismes oncogéniques analogues à ceux rencontrés au niveau des oncogènes eux-mêmes.

Lors de l'étude du nombre de copies des régions du chromosome X contenant le gène *AR*, il a été montré la fréquence de l'amplification de la région du gène lui-même, mais aussi la présence d'une seconde zone dupliquée ou amplifiée, à 650 kb en aval, observée dans 2 % des cancers localisés (1 sur 57), mais dans 87 % des cancers métastatiques résistants à la castration (20 sur 23). Les auteurs du premier article (\*) ont donc voulu montrer que cette zone amplifiée contenait bien un *enhancer* du gène *AR*. Pour cela, ils ont d'abord réalisé

une immuno-précipitation de chromatine suivie de séquençage (ChIP-seq) et ont trouvé une zone de 9 kb acétylée en H3K27 dans la région ciblée dans quatre CRPC et dans plusieurs lignées de cancers prostatiques, mais dans aucun des six cancers localisés non traités étudiés. Sur le plan fonctionnel, l'utilisation de la technique CRISPR-Cas9 pour déléter la région *enhancer* présumée leur a permis de montrer que cette suppression s'accompagnait d'une diminution de la prolifération cellulaire *in vitro* et de la perte de l'expression de transcrits de gènes de réponse au récepteur des androgènes. À l'inverse, le *knock-in* de cette région par cette même technique CRISPR-Cas9 augmente la prolifération cellulaire en présence d'une stimulation androgénique faible.

Enfin, les auteurs signalent que, d'après des données de ChIP-seq d'accès public, plusieurs facteurs de transcription sont susceptibles de se lier à cette région (FOXA1, HOXB13, NKX3-1, GATA2 et AR lui-même). Ils constatent que, dans les cancers localisés, ces différents facteurs sont capables de se lier à l'*enhancer* présumé. Mais comme cet *enhancer* est dépourvu des marques de méthylation des histones (H3K4me3 et H3K27me3), cette liaison à des facteurs de transcription est sans conséquences. Ils font logiquement l'hypothèse que cet *enhancer* est en fait vestigial et qu'il est utilisé pendant le développement, désactivé ensuite, et réactivé au cours de la progression des CRPC, comme l'illustre la *figure 1*.

Ainsi, la duplication, puis l'amplification, de l'*enhancer* d'*AR* apparaît représenter un mécanisme récurrent de l'oncogenèse prostatique. Au stade antérieur au changement du nombre de copies, cet *enhancer* n'est pas activé par mutation ou par la présence d'un polymorphisme comme cela a été observé pour d'autres *enhancers* oncogéniques, avec création *de novo* d'un site de liaison à un facteur de transcription ; c'est une régulation épigénétique qui est en cause, avec une modification des taux de méthylation de résidus lysine de diverses histones. Sur le plan thérapeutique, l'inhibition de l'effet de cet *enhancer* est envisageable, soit par ciblage direct (le jour où on saura concevoir des petites molécules aptes à se lier spécifiquement à des séquences définies d'ADN !), soit par inhibition des facteurs de transcription déjà identifiés comme susceptibles de se lier à cet *enhancer*.

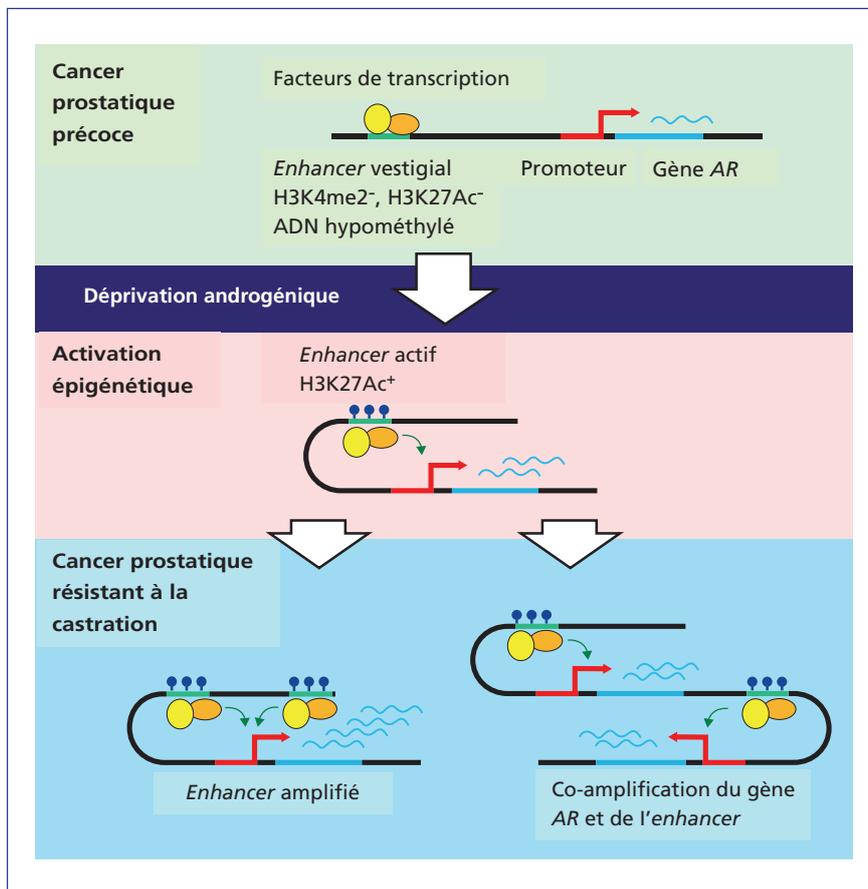
Le deuxième article (\*\*) est plus ambitieux. Il s'appuie sur le fait que les diverses métastases des CRPC présentent, chez le même patient, des réarrangements variables (mais fonctionnellement convergents) du gène *AR*, montrant bien que la pression de sélection sur ce gène persiste au stade de résistance à la castration. Les auteurs ont réalisé un séquençage complet du génome (WGS) de 23 biopsies de cancers prostatiques « avancés » (c'est-à-dire métastatiques et résistants à la castration), avant (11 cas) ou après (12 cas) traitement par enzalutamide ou abiratéron, et avant et après traitement dans trois

cas. Une moyenne de 230 altérations structurales ont été identifiées dans les échantillons et ont été classées en variations simples, complexes, équilibrées et non-équilibrées.

Dans 19 cas sur 23, les auteurs ont observé l'inactivation bi-allélique de gènes suppresseurs de tumeurs (GST) par réarrangement, alors que dans 15 cas l'inactivation de GST reposait sur des mutations simples, des insertions/délétions (*indels*) ou une variation du nombre de copies. Parmi les GST les plus souvent inactivés, par un type de mécanisme ou un autre, figure *PTEN*, bien connu, mais aussi des gènes moins bien identifiés en ce qui concerne leur rôle dans l'oncogenèse, comme *CDK12*, qui code une kinase capable de phosphoryler la grande sous-unité de l'ARN polymérase II, et qui est impliquée dans la réponse au *DNA damage*. Ainsi, un nouveau type d'altération récurrente des cancers de la prostate est-il identifié, venant s'ajouter au remaniement d'*ETS* et aux mutations de *SPOP*. Plus

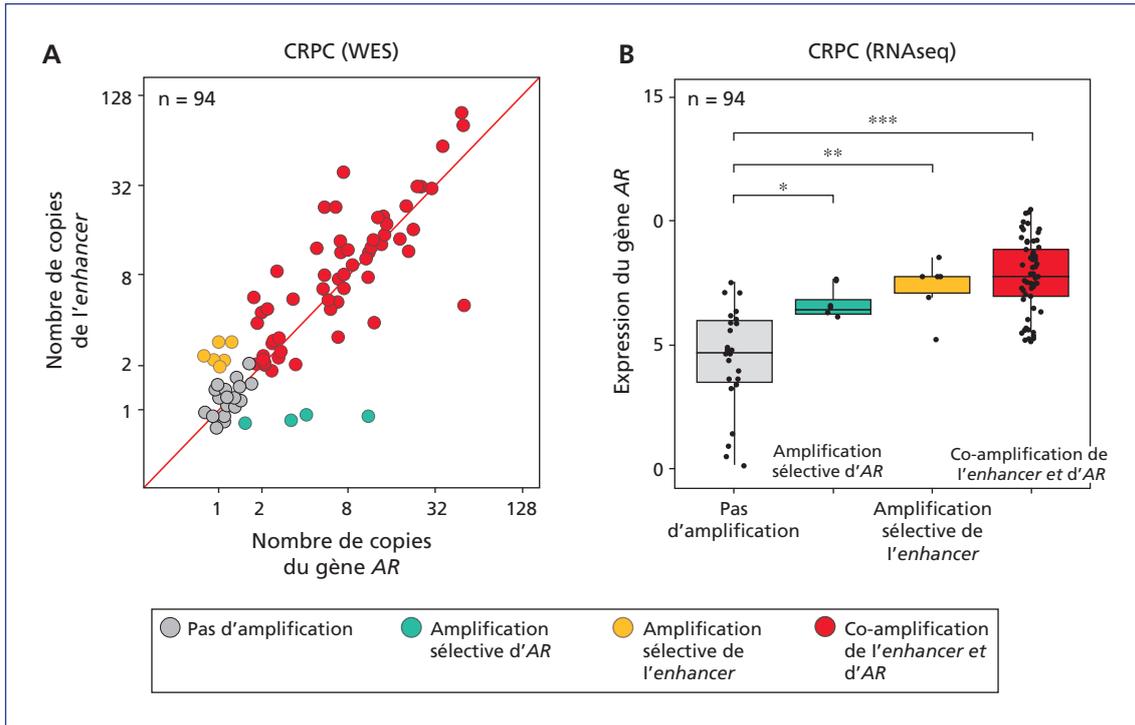
originale encore est l'observation que certains échantillons (cinq au total) présentent un taux élevé de duplications en tandem sur l'ensemble du génome, cette altération globale définissant un phénotype somatique particulier appelé TDP (*tandem duplication phenotype*), retrouvé dans une proportion significative de biopsies liquides étudiées pour validation. Ce TDP est associé à l'inactivation de *CDK12* (sans que l'on sache le lien de causalité entre les deux phénomènes) et à l'activation (par augmentation du nombre de copies) de certains oncogènes, en particulier *MYC* et *AR*, et de gènes régulateurs d'*AR* comme *NCOR1* (*nuclear receptor corepressor 1*).

Pour en revenir à l'*enhancer* d'*AR* situé 650 kb en aval de celui-ci, les auteurs confirment l'essentiel de ce qu'avaient observé les auteurs de l'article précédent : très peu de gains dans les tumeurs précoces, duplication ou amplification fréquentes dans les tumeurs avancées. À l'aide d'une cohorte supplémentaire de 205 échantillons provenant de



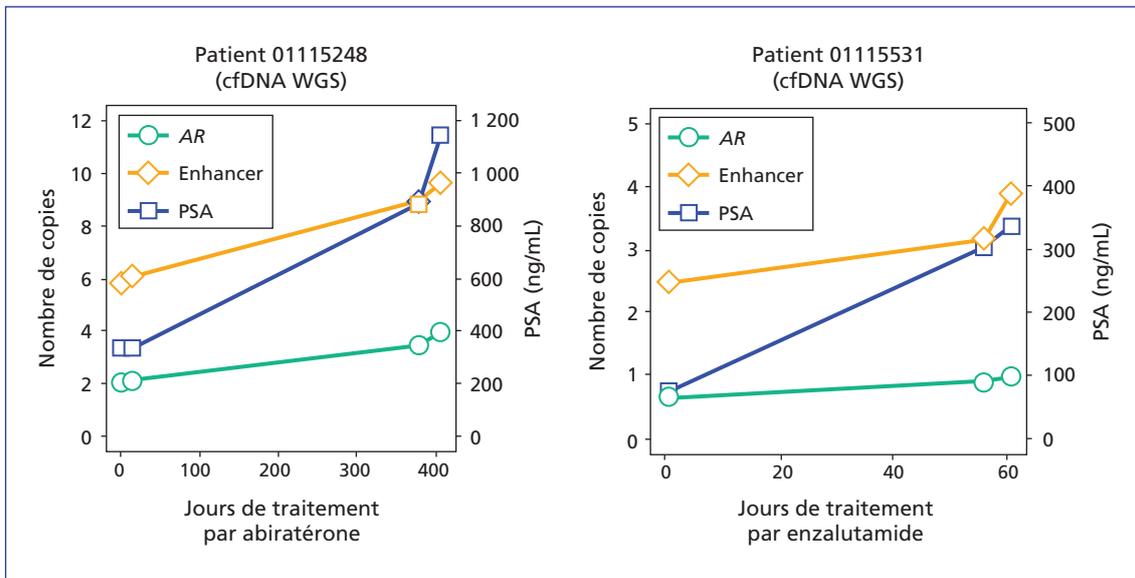
**Figure 1.** Dans le tissu prostatique et dans les cancers précoces, l'*enhancer* vestigial d'*AR*, situé 650 kb en aval d'*AR*, n'est ni acétylé au niveau de l'histone H3K27, ni méthylé au niveau de l'histone H3K4 ; il n'a pas d'effet sur la transcription d'*AR*. Lors de la déprivation androgénique, l'*enhancer* est activé par un mécanisme épigénétique et la transcription d'*AR* est augmentée. Lors de l'installation de la résistance à la castration, l'*enhancer* est dupliqué, puis amplifié et le gène *AR* a un degré de transcription maximal, renforcé par la duplication et l'amplification d'*AR* lui-même.

**Figure 1.** In prostate tissue and early-stage cancers, the vestigial enhancer of AR, situated 650 Kb downstream of AR, is neither acetylated at histone H3K27 nor methylated at H3K4, and has no effect on the transcription of AR. Upon androgen deprivation, the enhancer is activated by an epigenetic mechanism and the transcription of AR is increased. Upon establishing resistance to castration, the enhancer is duplicated and then amplified, and transcription of the AR gene is maximal, reinforced by the duplication and amplification of AR itself.



**Figure 2.** (A) Corrélation entre le nombre de copies d'AR et le nombre de copies de l'enhancer dans les cancers de la prostate résistants à la castration (CRPC). Un petit nombre de tumeurs n'ont pas d'amplification ou une amplification exclusive d'AR ou de son enhancer ; la majeure partie des tumeurs présentent une co-amplification des deux régions. (B) Niveaux d'expression d'AR dans les tumeurs ne présentant aucune amplification, une amplification exclusive d'AR ou de son enhancer, ou une co-amplification des deux.

**Figure 2.** (A) Correlation between the copy number of AR and enhancer in CRPC. Whereas a small number of tumours do not exhibit amplification or specific amplification of AR or its enhancer, the majority of tumours present co-amplification of the two regions. (B) The level of expression of AR in tumours is not amplified and is unrelated to specific amplification of AR or its enhancer, or co-amplification of the two.



**Figure 3.** Évolution parallèle, chez deux patients traités par abiratéronne ou par enzalutamide, de la concentration sanguine en antigène spécifique prostatique (PSA), et du nombre de copies d'AR ou de son enhancer.

**Figure 3.** Correlation of PSA blood concentration and copy number of AR or its enhancer in two patients treated with abiraterone or enzalutamide.

cancers avancés, ils prouvent en outre la fonctionnalité de l'*enhancer* : il existe une corrélation très significative entre la présence d'un gain de cette région et l'expression d'*AR* (*figure 2*, page précédente). Enfin, les auteurs montrent la poursuite de la pression de sélection exercée par le traitement sur la mise en jeu de la surexpression d'*AR* via son *enhancer* ou directement (*figure 3*, page précédente) : l'antigène spécifique prostatique (PSA) augmente régulièrement sous traitement par abiratérone ou enzalutamide, parallèlement avec le nombre de copies d'*AR* et/ou de son *enhancer*.

On voit donc que l'on ne peut se satisfaire du séquençage d'exome pour identifier, dans une tumeur donnée, les

mécanismes oncogéniques à l'œuvre : le séquençage du génome entier reste un outil indispensable.

\* Takeda DY, Spisák S, Seo JH, *et al.* A somatically acquired enhancer of the androgen receptor is a noncoding driver in advanced prostate cancer. *Cell* 2018 ; 174 : 422-32. doi : 10.1016/j.cell.2018.05.037

\*\* Viswanathan SR, Ha G, Hoff AM, *et al.* Structural alterations driving castration-resistant prostate cancer revealed by linked-read genome sequencing. *Cell* 2018 ; 174 : 433-47. doi : 10.1016/j.cell.2018.05.036

Jacques Robert