

# La biopsie liquide, une nouvelle opportunité pour l'oncologie personnalisée

Drs CHRISTOFOROS ASTARAS<sup>a</sup>, ANA DOLCAN<sup>a</sup>, BETTINA BISIG<sup>b</sup> et KHALIL ZAMAN<sup>c</sup>

Rev Med Suisse 2018; 14: 1028-32

Les connaissances sur la biologie tumorale s'affinent et ont des répercussions grandissantes sur la prise en charge des patients. Il en découle un besoin croissant de connaître la biologie tumorale non seulement au diagnostic, mais tout au long de la prise en charge. Les biopsies tissulaires tumorales sont particulièrement utiles, mais se prêtent mal à des analyses répétitives vu la nécessité de gestes invasifs. Les progrès en biotechnologie permettent actuellement de retirer de plus en plus d'informations des biopsies liquides, basées sur des petites quantités de matériel d'origine tumorale larguées notamment dans le sang périphérique. Utilisées déjà dans le cadre du traitement des cancers pulmonaires non à petites cellules, ces nouvelles techniques représentent plus globalement une étape importante pour l'oncologie personnalisée.

## Liquid biopsy, a new opportunity for personalized oncology

Knowledge about cancer biology is extending and has meaningful repercussions on patients' care. Therefore, there is a growing need to assess tumor biology not only at diagnosis, but also throughout the course of management. Tumor tissue biopsies are particularly useful, but are not convenient for repetitive analyses because of the need for invasive procedures. Advances in biotechnology allow currently getting more and more information from liquid biopsies, based on small amounts of tumor material released for instance into the peripheral blood. Already used in the treatment of non-small cell lung cancers, these new techniques represent more generally an important step forward for personalized oncology.

## INTRODUCTION

L'analyse anatomopathologique d'un échantillon tumoral est une pierre angulaire de la prise en charge des patients présentant un cancer. Elle précise le stade de la maladie, son type histologique, et définit certaines caractéristiques biologiques, le tout permettant d'opter pour une attitude thérapeutique adaptée. Les nouvelles thérapies consistent de plus en plus en des molécules ciblant des spécificités biologiques tumorales, reflétées par la surexpression ou la mutation de certaines protéines, l'amplification ou la mutation de certains gènes ou

encore les composants du microenvironnement tumoral. Ces altérations sont généralement étudiées dans le tissu tumoral, à l'aide de diverses techniques de pathologie moléculaire. Le cancer étant un processus dynamique avec le développement de sous-clones, ces caractéristiques peuvent varier au cours du temps. Le besoin d'analyser la tumeur régulièrement devient donc une nécessité, mais se heurte à la faisabilité et au risque de gestes invasifs répétés, tels que biopsies à l'aiguille, prélèvements endoscopiques ou chirurgie ouverte. Ceci d'autant plus que certaines des caractéristiques recherchées peuvent être relativement rares et donc nécessiter des prélèvements chez beaucoup de patients pour n'en faire bénéficier que quelques-uns.

Une solution vient de récents progrès de la biotechnologie permettant de détecter et analyser de petites quantités de matériel, larguées par les masses tumorales dans le sang périphérique (ou l'urine, le LCR, la salive), sous forme de cellules malignes (cellules tumorales circulantes, CTC), de fragments libres d'ADN (ADN tumoral circulant, ctDNA) ou d'ARN, de protéines ou encore d'exosomes (**tableau 1**).<sup>1</sup> Ces approches, regroupées sous le terme de « biopsies liquides », commencent à montrer leur utilité en clinique, et les attentes sont grandes,

	TABLEAU 1	Glossaire
Terminologie francophone	Acronyme et/ou terminologie anglophone	Définition
Biopsie liquide	Liquid biopsy	Prélèvement de sang périphérique ou d'autres liquides corporels (urine, LCR, salive, épanchements) dans le but d'y analyser des composants tumoraux, tels que ci-dessous
ADN libre circulant	cfDNA (circulating cell-free DNA)	Fragments libres d'ADN présents dans le plasma (ou dans d'autres liquides corporels), pouvant provenir de cellules non tumorales et/ou tumorales
ADN tumoral circulant	ctDNA (circulating tumor DNA)	Correspond à la fraction de cfDNA qui provient de la tumeur et qui reflète ainsi les altérations moléculaires spécifiques à la tumeur
Cellules tumorales circulantes	CTC (circulating tumor cells)	Cellules tumorales isolées ou en petits agrégats, s'étant détachées activement ou passivement de la masse tumorale pour entrer dans la circulation sanguine
Exosomes	Exosomes	Microvésicules produites par les cellules (non tumorales et tumorales) par exocytose, pouvant contenir différentes protéines et acides nucléiques

<sup>a</sup> Service d'oncologie médicale, Département d'oncologie, CHUV, Rue du Bugnon 46, 1011 Lausanne, <sup>b</sup> Service de pathologie clinique, CHUV, Rue du Bugnon 25, 1011 Lausanne, <sup>c</sup> Centre du sein, Service d'oncologie, Département d'oncologie, CHUV, Rue du Bugnon 46, 1011 Lausanne  
christoforos.astaras@chuv.ch | ana-maria.dolcan@chuv.ch | bettina.bisig@chuv.ch  
khalil.zaman@chuv.ch

tant pour le guidage des traitements que pour le dépistage ou l'estimation du risque de rechute. C'est pourquoi il nous a paru utile d'aborder cette nouvelle stratégie, rencontrée de plus en plus fréquemment dans notre pratique, en nous concentrant sur des analyses déjà appliquées en clinique ou proches de celle-ci, dans trois cancers fréquents que sont les cancers pulmonaires, mammaires et colorectaux.

**CARCINOME PULMONAIRE**

Le carcinome pulmonaire reste la première cause de décès parmi tous cancers confondus; le cancer pulmonaire non à petites cellules est responsable d'environ 85% de ces décès. Pendant plusieurs décennies, les combinaisons de chimiothérapie à base de platine ont été le standard thérapeutique. Plus récemment, des thérapies ciblées se sont avérées particulièrement efficaces en présence de certaines altérations spécifiques du génome tumoral. A titre d'exemple, certaines mutations du gène *EGFR*, présentes dans les adénocarcinomes pulmonaires chez 50% des Asiatiques et 10-15% des Caucasiens, procurent une sensibilité accrue de la tumeur aux inhibiteurs de la tyrosine kinase de l'*EGFR* (*EGFR*-TKI), tels que le géfitinib, l'erlotinib et l'afatinib. La survie médiane sans progression (mPFS), le taux de réponse et la durée de réponse ont été supérieurs à ceux de la chimiothérapie chez les patients métastatiques et ceci avec une meilleure tolérance.<sup>2</sup> Au moment de la progression, une mutation additionnelle du gène *EGFR* (mutation T790M dans l'exon 20) peut être mise en évidence chez 50% des patients, induisant une résistance à ces *EGFR*-TKI dits de 1<sup>re</sup> et 2<sup>e</sup> générations. Ce sous-groupe peut alors bénéficier d'un *EGFR*-TKI de 3<sup>e</sup> génération, l'osimertinib, avec des chances de réponse > 60%, supérieures à la chimiothérapie.<sup>3</sup> En revanche, les mutations de *KRAS*, obser-

vées chez 25-30% des patients, prédisent plutôt une faible chance de réponse aux TKI. En cas de réarrangement des gènes *ALK* (2-7% des patients) ou *ROS1* (1-2% des patients), d'autres TKI, comme le crizotinib ou le céritinib, offrent des taux de réponse supérieurs à 50%.<sup>4,5</sup>

Dans ces circonstances, la nécessité d'évaluer les mutations en temps réel semble évidente, alors que l'accessibilité au tissu tumoral peut être particulièrement limitée. Aujourd'hui, l'analyse du ctDNA, extrait du plasma à partir d'une simple prise de sang, permet la détection de ces mutations prédictives avec, pour le gène *EGFR*, une spécificité de 93% et une sensibilité de 70% par rapport aux analyses effectuées sur le tissu tumoral. La biopsie liquide peut donc être utilisée comme alternative lorsqu'une biopsie tissulaire ne peut être obtenue, en particulier pour la recherche de mutations de résistance développées secondairement (exemple clinique **figure 1**).<sup>1</sup>

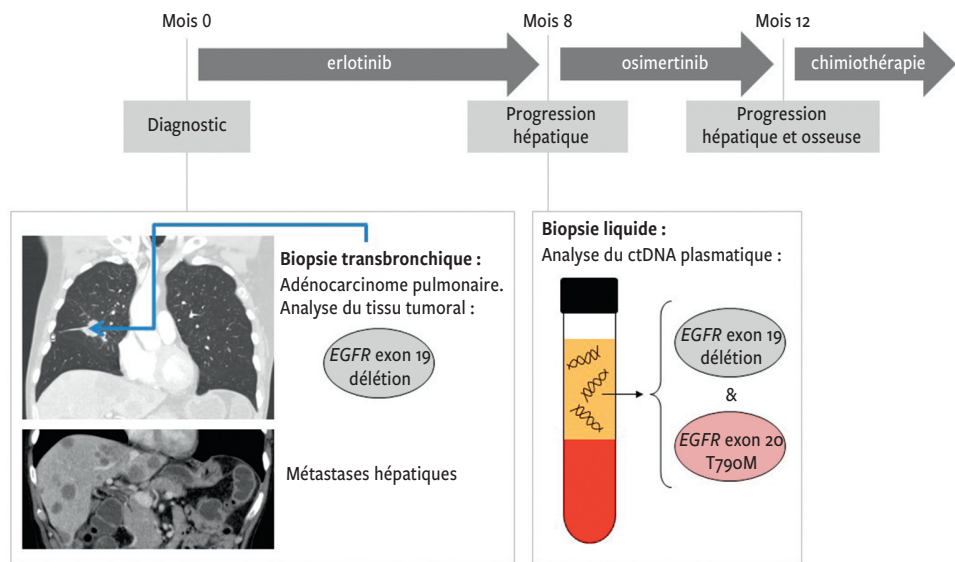
Une autre application des biopsies liquides dans les carcinomes pulmonaires, cette fois-ci dans les stades précoces, se rapporte aux CTC, dont le nombre aurait une valeur pronostique tant pour les carcinomes à petites cellules<sup>6</sup> que pour les carcinomes pulmonaires non à petites cellules.<sup>7</sup> La recherche de CTC pourrait donc être utile pour sélectionner les patients à haut risque et à qui une surveillance accrue ou un traitement complémentaire pourraient être proposés.

**CARCINOME MAMMAIRE**

Des données préliminaires encourageantes suggèrent que les analyses sanguines pourraient prédire le risque de rechute et ainsi aider à sélectionner les patientes nécessitant un traitement systémique adjuvant après un cancer du sein de stade

**FIG 1 Exemple d'application des biopsies liquides: recherche de la mutation de résistance T790M du gène EGFR**

Cas d'un patient de 69 ans, ancien léger fumeur, chez qui une masse pulmonaire de 3,2 cm est mise en évidence. Le bilan montre une maladie d'emblée métastatique. L'analyse histologique de la biopsie transbronchique révèle un adénocarcinome pulmonaire et les examens moléculaires mettent en évidence une mutation activatrice du gène *EGFR* (délétion dans l'exon 19). Une 1<sup>re</sup> ligne de traitement palliatif par erlotinib est proposée et permet le contrôle de la maladie durant huit mois. A la progression, une analyse du ctDNA plasmatique est entreprise et révèle, en plus, la mutation de résistance T790M dans l'exon 20 du gène *EGFR*. Un traitement de 2<sup>e</sup> ligne par osimertinib lui est alors proposé, permettant de repousser l'initiation de la chimiothérapie de quatre mois.



précoce. En effet, Garcia-Murillas et coll. ont recherché dans le sang de 55 patientes, ayant terminé leur chimiothérapie néo-adjuvante et la chirurgie, des mutations observées dans la tumeur primaire. Ils ont pu prédire, grâce à l'analyse du ctDNA, 12 rechutes sur les 15 observées (80%) et ceci huit mois en avance par rapport au diagnostic clinique de récurrence. Les trois patientes non détectées avaient uniquement des métastases cérébrales. En plus, 96% des patientes sans ctDNA détectable n'ont pas rechuté.<sup>8</sup> De même, la présence et la quantité de CTC détectées par le système CellSearch avant la chimiothérapie préopératoire ou après la chirurgie sont des facteurs pronostiques indépendants en termes de rechute et de survie.<sup>9</sup> Les cancers du sein hormonosensibles peuvent parfois rechuter tardivement. Sparano et coll. ont retrouvé des CTC chez 5,1% des patientes à cinq ans de leur diagnostic initial. Le risque de rechute était alors 20 fois plus élevé chez ces patientes comparées à celles sans CTC.<sup>10</sup> Ces dernières pourraient donc aider à sélectionner les patientes à risque et à qui une prolongation de l'hormonothérapie au-delà de cinq ans pourrait être proposée.

L'analyse du ctDNA s'avère particulièrement utile en situation métastatique pour l'identification de mutations somatiques spécifiques, prédictives de la sensibilité ou de la résistance à un traitement particulier. L'hormonothérapie permet chez la majorité des patientes présentant un cancer du sein métastatique hormonosensible de contrôler la maladie. Cependant, quasi systématiquement cette dernière finit par progresser. Observées dans à peine 1% des analyses tissulaires, les mutations du gène du récepteur aux œstrogènes (*ESR1*) avaient été considérées comme une cause rare de résistance à l'hormonothérapie. Or récemment, la recherche de mutations d'*ESR1* effectuée sur le ctDNA a révélé que plus d'un tiers des cancers métastatiques progressant après un inhibiteur de l'aromatase (IA) présentaient une mutation activatrice d'*ESR1* dans le domaine de liaison de l'œstrogène.<sup>11</sup> Le récepteur reste donc actif en l'absence de ligand et le cancer progresse sous IA. La surveillance régulière du ctDNA plasmatique peut permettre ainsi de prédire précocement une progression sous IA. En cas de mutation, le choix pourrait se porter alors sur une hormonothérapie par inhibiteur du récepteur, comme le fulvestrant, qui semble conserver son efficacité, plutôt qu'un autre IA.<sup>12</sup>

La voie de signalisation de la PI3K semble correspondre à l'un des mécanismes principaux de résistance à l'hormonothérapie. Néanmoins, l'étude BELLE-2, évaluant l'association d'un inhibiteur de PI3K à l'hormonothérapie, n'a montré qu'un bénéfice très modeste avec une mPFS passant de 5 à 6,9 mois. Par contre, l'analyse du ctDNA a révélé une mutation pathogène du gène *PIK3CA* (codant pour la sous-unité catalytique de la PI3K) chez plus 30% des patientes. Dans ce sous-groupe, le bénéfice était alors nettement plus important avec une mPFS passant de 3,2 à 7 mois.<sup>13</sup>

## CARCINOME COLORECTAL

Le cancer colorectal (CRC) est la 3<sup>e</sup> cause de mortalité par cancer en Suisse. Bien que la majorité des cancers soient diagnostiqués à un stade non métastatique, 30 à 50% de ces patients rechutent. La chimiothérapie adjuvante diminue

significativement le risque de rechute lors d'atteinte ganglionnaire (stade III), toutefois le bénéfice est plus incertain dans les stades plus précoces. Dans une cohorte de 230 patients opérés d'un CRC de stade II, le ctDNA a été détecté en postopératoire chez 7,9% des patients n'ayant pas reçu de chimiothérapie adjuvante. Parmi eux, 79% ont rechuté après un suivi médian de 27 mois, alors que seulement 9,8% de ceux sans ctDNA détectable ont rechuté.<sup>14</sup>

Le dépistage précoce de la rechute métastatique est important dans le CRC, puisque dans certains cas oligométastatiques un traitement à but curatif peut être offert. Actuellement, le dosage du marqueur tumoral CEA et l'imagerie sont utilisés dans ce but. Dans une petite étude menée sur 45 patients, l'analyse du ctDNA a permis de diagnostiquer la rechute en moyenne 9,4 mois avant l'imagerie.<sup>15</sup> Du ctDNA a été mis en évidence chez les 14 patients ayant rechuté, alors qu'aucun des patients en rémission n'avait du ctDNA détectable.

Dans le même sens, la persistance de ctDNA en postopératoire, recherchée chez 18 patients bénéficiant d'une métastasectomie, prédisait un fort risque de rechute dans l'année qui suivait.<sup>16</sup>

Du ctDNA peut être retrouvé chez la grande majorité des patients métastatiques. Dans l'étude PLACOL, mesurant le taux de ctDNA chez 82 patients métastatiques sous chimiothérapie, la survie globale était respectivement de 6,8 et 33,4 mois, en cas de taux élevé versus faible. D'autre part, la baisse du niveau de ctDNA, mesurée en tout début de traitement, prédisait un pronostic nettement supérieur en termes de taux de réponse, mPFS et survie globale.<sup>17</sup>

Plus encore, l'analyse du ctDNA peut aider à conduire le traitement. Les anticorps anti-EGFR (cétuximab ou panitumumab), administrés en complément de la chimiothérapie, améliorent significativement le devenir des patients atteints de CRC métastatique pour autant que leur tumeur ne comporte pas de mutation des gènes *RAS* (*KRAS* et *NRAS*). Normanno et coll. ont montré dans un sous-groupe de 92 patients traités par chimiothérapie et cetuximab que l'apparition d'une mutation *RAS* dans le ctDNA plasmatique pouvait prédire, aussi bien que l'analyse sur le tissu tumoral, une survie sans progression et une survie globale plus courtes (concordance de 78,3% entre le tissu et le ctDNA).<sup>18</sup>

Selon ces études préliminaires, le ctDNA pourrait donc être utile pour évaluer le risque de maladie résiduelle chez les patients opérés, pour détecter plus précocement la rechute et pour conduire le traitement chez les patients métastatiques. Il est également en cours d'évaluation dans le dépistage. Une étude, comparant 75 patients avec CRC versus 75 donneurs sains, a montré par exemple que l'association du niveau d'ADN libre circulant (cell-free DNA, cfDNA) et du marqueur tumoral CEA permettait d'atteindre dans le dépistage une sensibilité de 84% et une spécificité de 88%.<sup>19</sup>

## CONCLUSION

Les biopsies liquides sont particulièrement intéressantes par leur accessibilité en comparaison aux prélèvements tissulaires. Le développement très rapide de la biotechnologie

permet de retirer de plus en plus d'informations à partir de minimales quantités de matériel tumoral. Cependant, des études de plus grande taille doivent encore valider les données préliminaires et faire chaque fois la preuve de l'utilité clinique. La découverte précoce d'une rechute métastatique n'implique pas forcément que l'on puisse changer le devenir des patients, alors qu'il existe un risque d'altérer inutilement leur qualité de vie par la connaissance d'une probabilité de rechute imminente. Les résultats faussement positifs ou le surdiagnostic, reproché notamment au dépistage du cancer du sein par mammographie ou à celui du cancer de la prostate par dosage du PSA, pourraient être un problème avec des tests sanguins très (trop) sensibles. D'autre part, la biopsie liquide ne permet pas de connaître l'histologie de la tumeur et son microenvironnement, contrairement à l'analyse tissulaire. Elle peut par contre mieux refléter l'hétérogénéité tumorale que la biopsie tissulaire qui ne reflète que la biologie de la zone prélevée.<sup>12</sup> A relever aussi que, pour l'instant, l'efficacité des traitements a été surtout validée sur l'analyse tissulaire, qui reste la référence. Une surexpression d'HER2 dans le tissu tumoral mammaire a un impact thérapeutique démontré, ce qui n'est, par exemple, pas le cas de l'expression d'HER2 sur des CTC (étude TreatCTC).

Le ctDNA est maintenant entré en clinique principalement dans la prise en charge du cancer du poumon. Cependant son

potentiel est énorme également pour les autres cancers, dans le dépistage, dans l'évaluation du risque de rechute ainsi que dans la sélection et le suivi des traitements. Ceci est d'autant plus important lorsque des biomarqueurs prédictifs de la réponse ou de la résistance à un traitement sont connus. Les biopsies liquides représentent donc une étape supplémentaire importante dans l'effort de personnaliser la prise en charge des patients.

**Conflit d'intérêts:** Les auteurs n'ont déclaré aucun conflit d'intérêts en relation avec cet article.

### IMPLICATIONS PRATIQUES

- La connaissance précise de la biologie tumorale influence de plus en plus la prise en charge des patients
- Les biopsies liquides ont l'avantage de pouvoir être répétées de façon peu invasive
- Les biopsies liquides pourraient à l'avenir jouer un rôle pour le dépistage, l'évaluation du risque de rechute et la gestion de la prise en charge
- La biopsie tissulaire, permettant d'évaluer à la fois les cellules cancéreuses et leur microenvironnement, reste toutefois l'analyse de référence

1 \*\* Siravegna G, Marsoni S, Siena S, et al. Integrating liquid biopsies into the management of cancer. *Nat Rev Clin Oncol* 2017;14:531-48.

2 Batson S, Mitchell SA, Windisch R, et al. Tyrosine kinase inhibitor combination therapy in first-line treatment of non-small-cell lung cancer: systematic review and network meta-analysis. *Oncotargets Ther* 2017;10:2473-82.

3 Goss G, Tsai CM, Shepherd FA, et al. Osimertinib for pretreated EGFR Thr790Met-positive advanced non-small-cell lung cancer (AURA2): a multicentre, open-label, single-arm, phase 2 study. *Lancet Oncol* 2016;17:1643-52.

4 Shaw AT, Kim DW, Nakagawa K, et al. Crizotinib versus chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med* 2013;368:2385-94.

5 Shaw AT, Ou SH, Bang YJ, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2014;371:1963-71.

6 Krebs MG, Sloane R, Priest L, et al.

Evaluation and prognostic significance of circulating tumor cells in patients with non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2011;29:1556-63.

7 Molina-Vila MA, Mayo-de-Las-Casas C, Gimenez-Capitan A, et al. Liquid biopsy in non-small cell lung cancer. *Front Med (Lausanne)* 2016;3:69.

8 \* Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B, et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. *Sci Transl Med* 2015;7:302ra133.

9 Rack B, Schindlbeck C, Juckstock J, et al. Circulating tumor cells predict survival in early average-to-high risk breast cancer patients. *J Natl Cancer Inst* 2014;106.

10 Sparano JA, ONA, Alpaugh K. Circulating tumor cells and late recurrence of breast cancer. *San Antonio Breast Cancer Symposium* 2017;5-9:abstract GS6-03.

11 \* Clatot F, Perdrix A, Augusto L, et al. Kinetics, prognostic and predictive values of ESR1 circulating mutations in

metastatic breast cancer patients progressing on aromatase inhibitor. *Oncotarget* 2016;7:74448-59.

12 Spoerke JM, Gendreau S, Walter K, et al. Heterogeneity and clinical significance of ESR1 mutations in ER-positive metastatic breast cancer patients receiving fulvestrant. *Nat Commun* 2016;7:11579.

13 Baselga J, Im SA, Iwata H, et al. Buparlisib plus fulvestrant versus placebo plus fulvestrant in postmenopausal, hormone receptor-positive, HER2-negative, advanced breast cancer (BELLE-2): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2017;18:904-16.

14 Tie J, Wang Y, Tomasetti C, et al. Circulating tumor DNA analysis detects minimal residual disease and predicts recurrence in patients with stage II colon cancer. *Sci Transl Med* 2016;8:346ra92.

15 \* Scholer LV, Reinert T, Orntoft MW, et al. Clinical implications of monitoring circulating tumor DNA in patients with

colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2017;23:5437-45.

16 Diehl F, Schmidt K, Choti MA, et al. Circulating mutant DNA to assess tumor dynamics. *Nat Med* 2008;14:985-90.

17 Garlan F, Laurent-Puig P, Sefrioui D, et al. Early evaluation of circulating tumor DNA as marker of therapeutic efficacy in metastatic colorectal cancer patients (PLACOL Study). *Clin Cancer Res* 2017;23:5416-25.

18 Normanno N, Esposito Abate R, Lambiase M, et al. RAS testing of liquid biopsy correlates with the outcome of metastatic colorectal cancer patients treated with first-line FOLFIRI plus cetuximab in the CAPRI-GOIM trial. *Ann Oncol* 2018;29:112-8.

19 Flamini E, Mercatali L, Nanni O, et al. Free DNA and carcinoembryonic antigen serum levels: an important combination for diagnosis of colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2006;12:6985-8.

\* à lire

\*\* à lire absolument