



UNIVERSITE LILLE 2 DROIT ET SANTE
FACULTE DE MEDECINE HENRI WAREMBOURG

Année : 2017

THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN MEDECINE

**Rebiopsies des cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules
présentant une addiction oncogénique**

Présentée et soutenue publiquement le 22 Mai à 18 heures
Au Pôle Recherche
Par David Nunes

JURY

Président :

Monsieur le Professeur A. SCHERPEREEL

Assesseurs :

Madame le Professeur MC. COPIN

Madame le Docteur F. ESCANDE

Monsieur le Docteur F. WALLYN

Directeur de Thèse :

Monsieur le Professeur A. CORTOT

Avertissement

La Faculté n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses : celles-ci sont propres à leurs auteurs.

Liste des abréviations

CBNPC	Cancer broncho-pulmonaire non à petites cellules
EGFR	Epidermal Growth Factor Receptor
ALK	Anaplastic Lymphoma Kinase
EML4	Echinoderm Microtubule-Like 4
HER2	Human Epidermal Growth Factor Receptor-2
TKI	Tyrosine Kinase Inhibitor
PCR	Polymerase Chain reaction
FISH	Fluorescence In Situ Hybridization

Table des matières

Résumé	1
Introduction	2
1) Epidémiologie du cancer-broncho-pulmonaire.....	2
2) Anatomopathologie.....	2
3) Addictions oncogéniques	3
a. Généralités.....	3
b. Mutation de l'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)	4
c. Réarrangement de l'Anaplastic Lymphoma Kinase	7
d. Mutations de HER2	9
e. Autres mutations	9
4) Mécanismes de résistance aux thérapies ciblés.....	10
a. Mutation T790M.....	11
b. MET	11
c. Résistance aux inhibiteurs d'ALK	12
5) Rebiopsies.....	12
6) Objectifs.....	13
Matériels et méthodes.....	15
1) Critères d'inclusions et d'exclusions des patients	15
2) Données recueillies.....	15
a. Caractéristiques des patients	15
b. Rebiopsies.....	16
3) Méthode de recherche des addictions oncogéniques	16
a. Recherche du gène de l'EGFR.....	16
b. Recherche du réarrangement ALK.....	17
c. ADN tumoral circulant	17
d. Next Generation Sequencing (NGS).....	18
e. Recherche des autres mutations	18
4) Analyse statistique	19
Résultats	20
1) Flow chart	20
2) Caractéristiques générales de la population.....	21
3) Patients présentant une mutation de l'EGFR.....	22
a) Caractéristiques de la population.....	22
b) Techniques de rebiopsies des patients EGFR-mutés	24
c) Rentabilité de la rebiopsie	28
d) Délais rebiopsies	32
e) Recherche de MET	34
f) Conséquence thérapeutique	34
g) Comparaison des patients T790M+ et T790M- à la première rebiopsie.....	36
4) Patients avec réarrangement EML4-ALK	38
5) Autres mutations.....	41
a) Patients avec mutation HER2.....	41
b) Patients avec mutations BRAF	42

c) Patient avec la mutation PIK3CA	42
Discussion	43
Conclusion.....	52
Références bibliographiques	53
Annexes	58

RESUME

Contexte : Les patients atteints d'un cancer broncho-pulmonaire présentant une addiction oncogénique peuvent bénéficier de thérapies ciblées, les inhibiteurs de tyrosine kinase, plus efficaces que les chimiothérapies usuelles. Une progression est systématique après plusieurs mois de traitement du fait d'apparition de mécanisme de résistance. L'objectif est d'étudier les différentes techniques de rebiopsies et leurs résultats.

Méthode : Il s'agissait d'une étude rétrospective. Les patients ont été identifiés via la plateforme de biologie moléculaire du CHRU de Lille. Etait inclus tout patient présentant une addiction oncogénique, à l'exception des mutations KRAS, ayant bénéficié d'au moins une rebiopsie.

Résultats : Il y avait 95 patients mutés EGFR, 14 réarrangements EML4-ALK, 6 mutations HER2, 3 mutations BRAF et 1 mutation PIK3CA. Parmi les patients mutés EGFR, un mécanisme de résistance a été identifié chez 48 patients (50,5%) incluant 49 mutations T790M, 2 amplifications de MET, 1 transformation en carcinome à petites cellules, 1 mutation C797S et 1 mutation KRAS. Il y a eu 87 rebiopsies solides et 70 biopsies liquides des patients mutés EGFR. Une mutation EGFR était retrouvée dans 85% des biopsies solides et 60,6% des biopsies liquides. Une mutation T790M était retrouvée dans 36,8% des biopsies solides et 25,3% des biopsies liquides. Il y avait une concordance de 88,6% entre les résultats des biopsies solides et liquides des mutés EGFR. L'utilisation des biopsies liquides était de plus en plus fréquente au fur et à mesure du temps et des rebiopsies. Les ponctions biopsies hépatiques et chirurgie de métastase (sauf intra-thoracique, surrénalienne et adénopathies) étaient les plus rentables pour mettre en évidence la mutation T790M alors que les ponctions lombaires étaient décevantes. Parmi les réarrangements EML4-ALK les résistances identifiées étaient 2 mutation G1202R, 1 mutation L1196M, 1 mutation V1180L, 1 mutation C1156Y et 1 amplification de ALK. Il n'y a pas eu de mécanisme de résistance mis en évidence pour les autres mutations

Conclusion : La recherche de mécanisme de résistance à progression sous thérapie ciblée par rebiopsie est faisable et rentable chez une majorité de patients. La recherche sur tissu solide est la plus rentable, mais les biopsies liquides sont une alternative intéressante.

INTRODUCTION

1) *Epidémiologie du cancer-broncho-pulmonaire*

On estime le nombre de nouveaux cas dans le monde à 1,8 million et à 39495 en France en 2012 dont 71% sont survenus chez l'homme (INCA).

Il représente la deuxième cause de cancer chez l'homme après le cancer de la prostate soit 14,1% des cancers, et la troisième cause de cancer chez la femme après le cancer du sein et le cancer colorectal soit 7,3% des cancers.

Le cancer broncho-pulmonaire est la première cause de décès par cancer en France avec une estimation de 29 000 décès en 2012. Il se classe ainsi devant le cancer colorectal et le cancer du sein.

Entre 1980 et 2012 il existe une tendance à la stabilité du taux standardisé d'incidence du cancer broncho-pulmonaire chez l'homme passant de 50 à 51,7 avec une diminution entre les années 2000 et 2010. L'évolution est différente chez la femme avec une augmentation du taux standardisé d'incidence qui passe de 4 à 18,6. Ces variations sont également valables pour le taux de mortalité avec une baisse chez l'homme estimée à 47,7 en 2000 à 37 en 2012 et en augmentation chez la femme (3,5 en 2000 à 12,9 en 2012).

La région Nord-Pas-de-Calais est particulièrement touchée avec un taux d'incidence à 63,5 (l'un des plus élevés de France) et une surmortalité de 15 à 35% par cancer-broncho-pulmonaire.

L'âge médian de diagnostic est de 65,5 ans. Il existe une augmentation du nombre de patients de plus de 80 ans qui représente ainsi 10,5% des cas. La part des non-fumeurs a également augmentée pour atteindre 10,9% des cas (1).

Le principal facteur de risque reste le tabac mais des facteurs d'exposition professionnel interviennent dans 30% des cas (2).

2) *Anatomopathologie*

La confirmation diagnostique d'un cancer broncho-pulmonaire se base sur des techniques d'anatomopathologie ou de cytologie. Ces analyses sont réalisées sur des

biopsies (chirurgicale, sous fibroscopie, prélèvements de métastase...) ou des cellules en suspension (ponction ganglionnaire par écho-endoscopie, liquide pleural, LCS).

Les cancers broncho-pulmonaires se divisent en carcinomes à petites cellules (CBPC) (15% des cas) et en carcinomes non à petites cellules (CBNPC) (85% des cas).

Parmi les CBNPC on distingue les carcinomes épidermoïdes d'une part et les carcinomes non épidermoïdes d'autre part représentés en particulier par les adénocarcinomes.

L'adénocarcinome est devenu le type histologique le plus fréquent passant de 52,8 à 64,6% chez l'homme et de 31,5 à 48,7% chez la femme.

3) Addictions oncogéniques

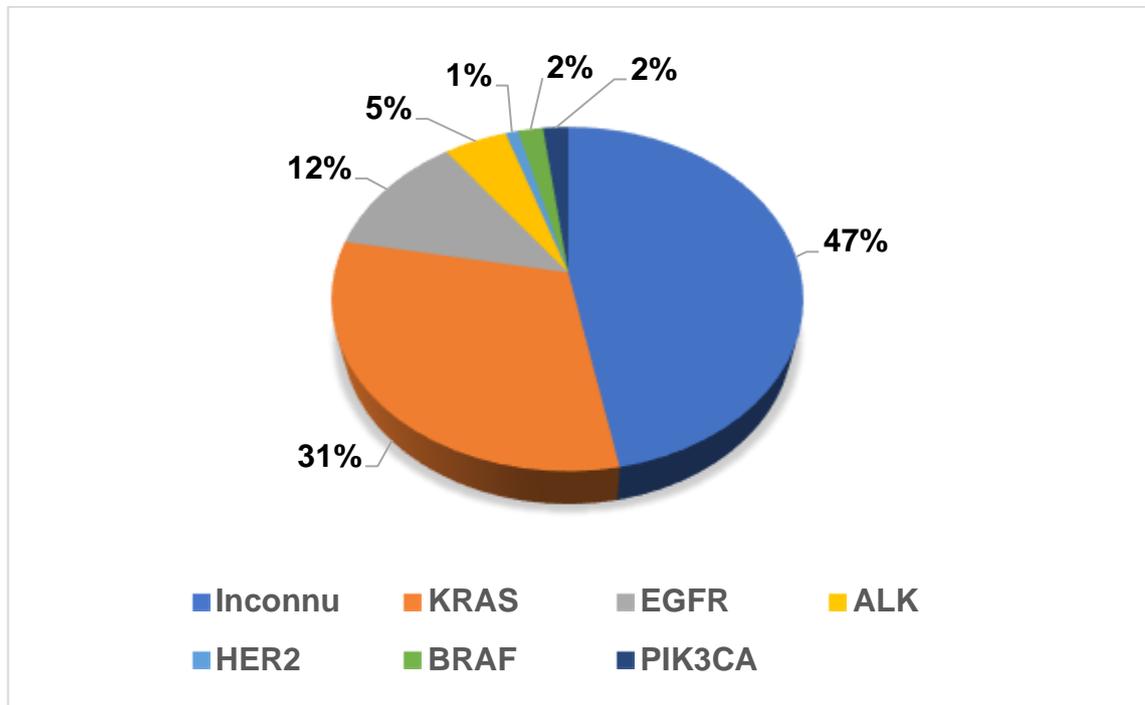
a. Généralités

En 2004 ont été découvertes les mutations de l'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) modifiant considérablement la prise en charge des patients porteurs de ce type de mutation (3).

Depuis les différentes techniques de détection des biomarqueurs tels que l'immunohistochimie, la FISH (fluorescence in situ hybridisation) et les tests de biologie moléculaire comme la PCR (polymerase chain reaction) ont été utilisés pour effectuer un véritable démantèlement moléculaire des cancers broncho-pulmonaires.

Ainsi l'étude BIOMARQUEURS France (4) a permis de réaliser une cartographie des anomalies moléculaires des carcinomes pulmonaires. Ces addictions ont ouvert la voie à de nombreuses possibilités thérapeutiques ciblées (**figure 1**).

Figure 1 : Répartition des anomalies moléculaires selon l'étude BIOMARQUEURS France



b. Mutation de l'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR)

EGFR est un récepteur tyrosine kinase qui appartient à la famille HER. Trois domaines le constituent, un domaine extracellulaire capable de fixer certains ligands, un domaine transmembranaire et un domaine intracellulaire (**figure 2**). La fixation du ligand entraîne une homo ou hétérodimérisation du récepteur entraînant la transphosphorylation des résidus tyrosines. Différentes voies de signalisation sont alors activées telle que la voie PI3kinase-Akt-mTOR qui favorise la survie cellulaire et la voie des MAP-kinases qui favorise la prolifération cellulaire (**figure 3**).

Figure 2 : Structure du récepteur de l'EGFR (5)

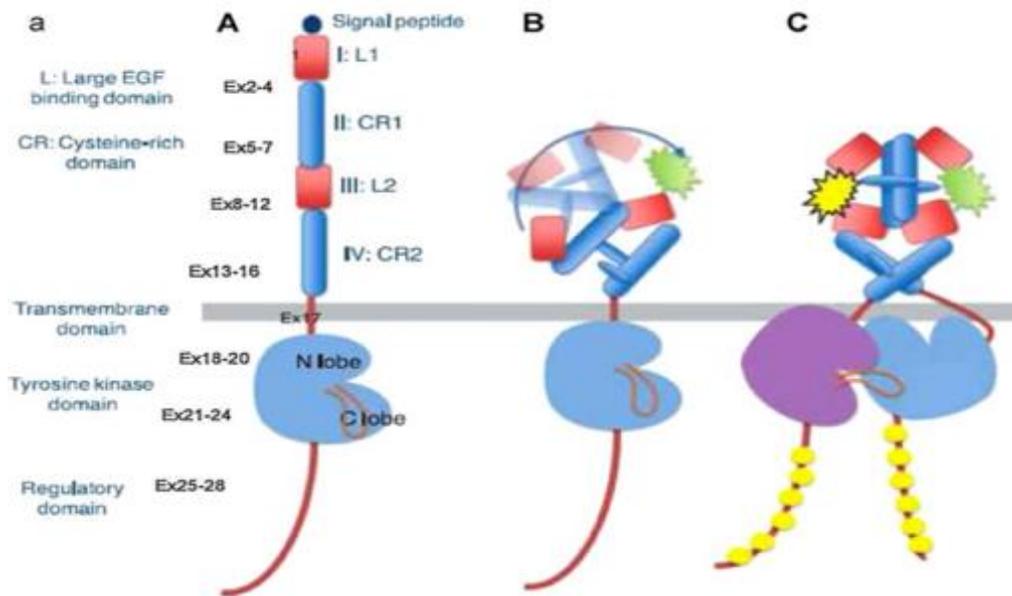
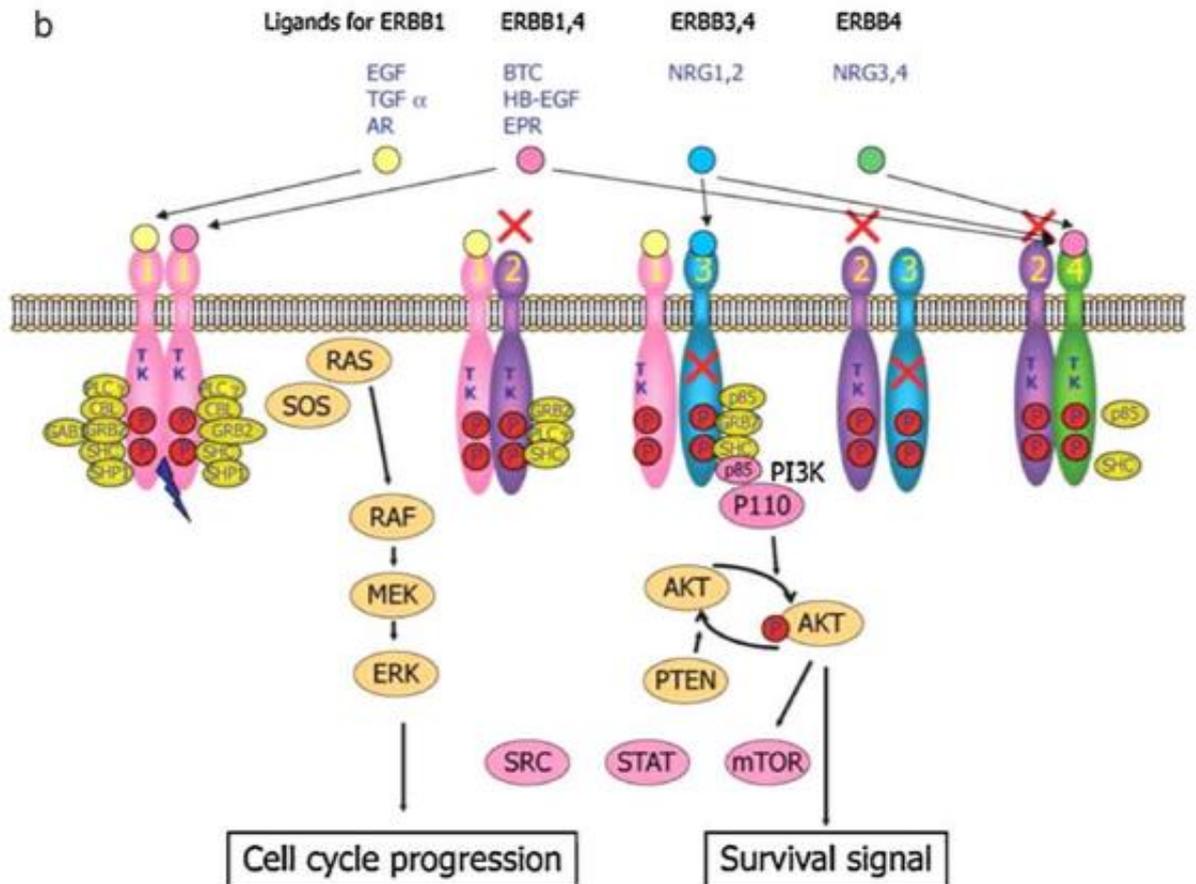


Figure 3 : schématisation des voies de signalisation de l'EGFR (5)

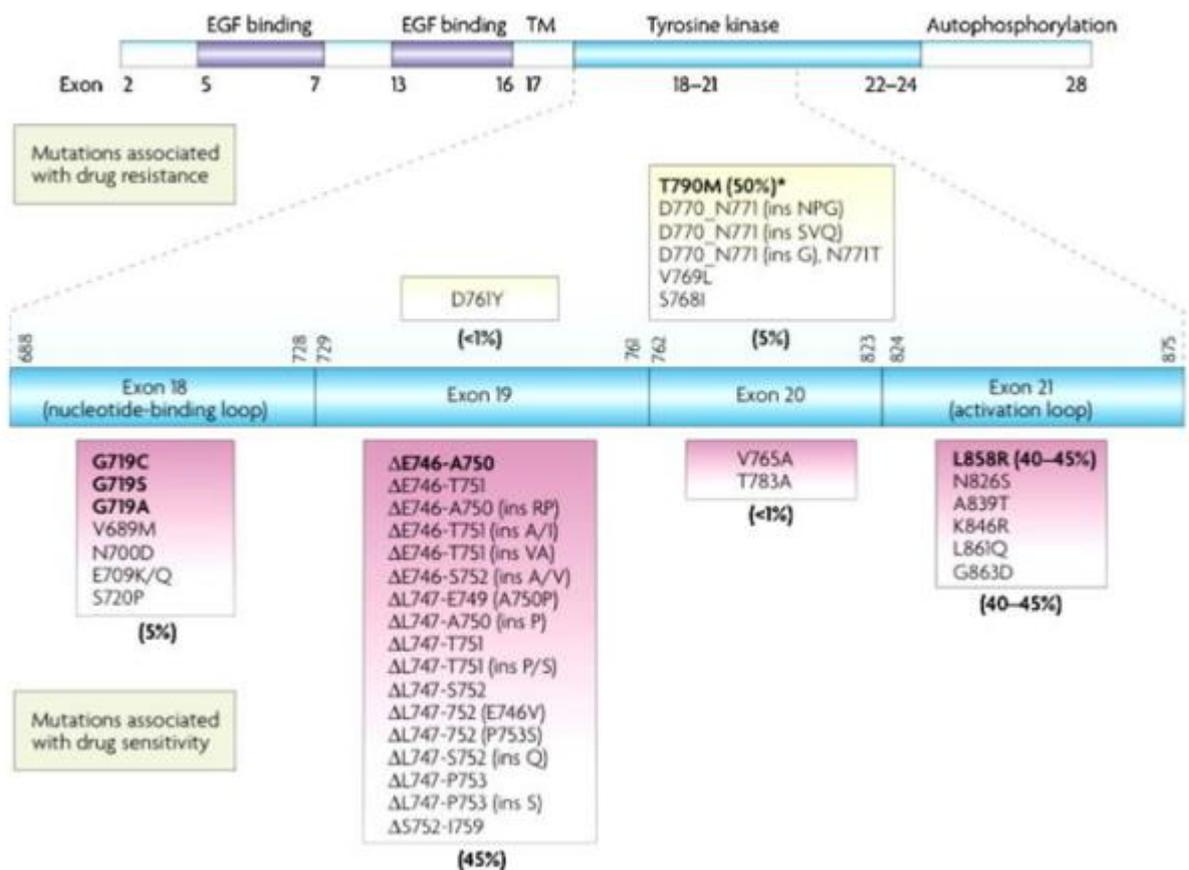


EGFR est exprimé à la surface des cellules épithéliales bronchiques normales.

Les mutations EGFR surviennent exclusivement dans le domaine tyrosine kinase d'EGFR qui est codé par les exons 18 à 21 (6). Ces mutations surviennent préférentiellement dans des sous-groupes de patient incluant les femmes, les non-fumeurs et les patients d'origines asiatiques (7). Cette mutation est détectée chez 10 à 12% des patients porteurs d'un adénocarcinome (4).

Parmi les différentes mutations possibles deux altérations représentent 90% de l'ensemble des mutations EGFR. Il s'agit des délétions dans l'exon 19 qui emportent une série d'acides aminés (leucine, arginine, glutamate et alanine) ainsi qu'une substitution qui modifie la leucine en position 858 en arginine dans l'exon 21. Il existe d'autres lésions mais moins fréquentes telles que des mutations de l'exon 18 (G719X), de l'exon 20 (T790M) ou exon 21 (L861Q) ou encore des insertions dans l'exon 20. (Figure 4). Ces mutations aboutissent à des activations de voies qui engendrent des signaux de prolifération cellulaire excessive et de survie.

Figure 4 : répartition des différentes mutations de l'EGFR



Des thérapies ciblées visant à inhiber l'activité kinase de l'EGFR se sont donc développées car l'inhibition de l'EGFR induit l'apoptose cellulaire traduisant bien une addiction oncogénique des cellules vis à vis de cette voie. Il existe à l'heure actuelle 4 inhibiteurs de tyrosine kinase qui sont commercialisés, le géfitinib, l'erlotinib, l'afatinib et l'osimertinib qui peuvent être utilisés pour les CBNPC mutés EGFR métastatiques.

L'erlotinib et le géfitinib sont des inhibiteurs dit de première génération qui ont démontrés une efficacité dès la première ligne en comparaison à un doublet de chimiothérapie à base de sel de platine (8,9).

L'afatinib est un inhibiteur de tyrosine kinase de deuxième génération car il se lie de manière irréversible au récepteur EGFR. L'osimertinib est un inhibiteur de 3ème génération irréversible mais pouvant cibler la mutation de résistance T790M.

La tolérance de ces traitements est globalement meilleure que la chimiothérapie. Les principaux effets secondaires sont des diarrhées, des mucites et des éruptions cutanées acnéiformes. Des effets plus sévères ont été rapportés tels que des pneumopathies interstitielles diffuses et des cas d'hépatites toxiques.

Le choix de l'inhibiteur de tyrosine kinase en première ligne ne fait pas consensus. Aucune étude à ce jour n'a comparé les 3 molécules entre elles. L'essai de phase II LUX-Lung 7 a comparé l'afatinib au géfitinib en première ligne et montré un bénéfice de l'afatinib mais tardif, au delà d'un an de traitement (10). Une autre étude comparant l'erlotinib au géfitinib en première ligne n'a pas montré de différence (11).

c. Réarrangement de l'Anaplastic Lymphoma Kinase

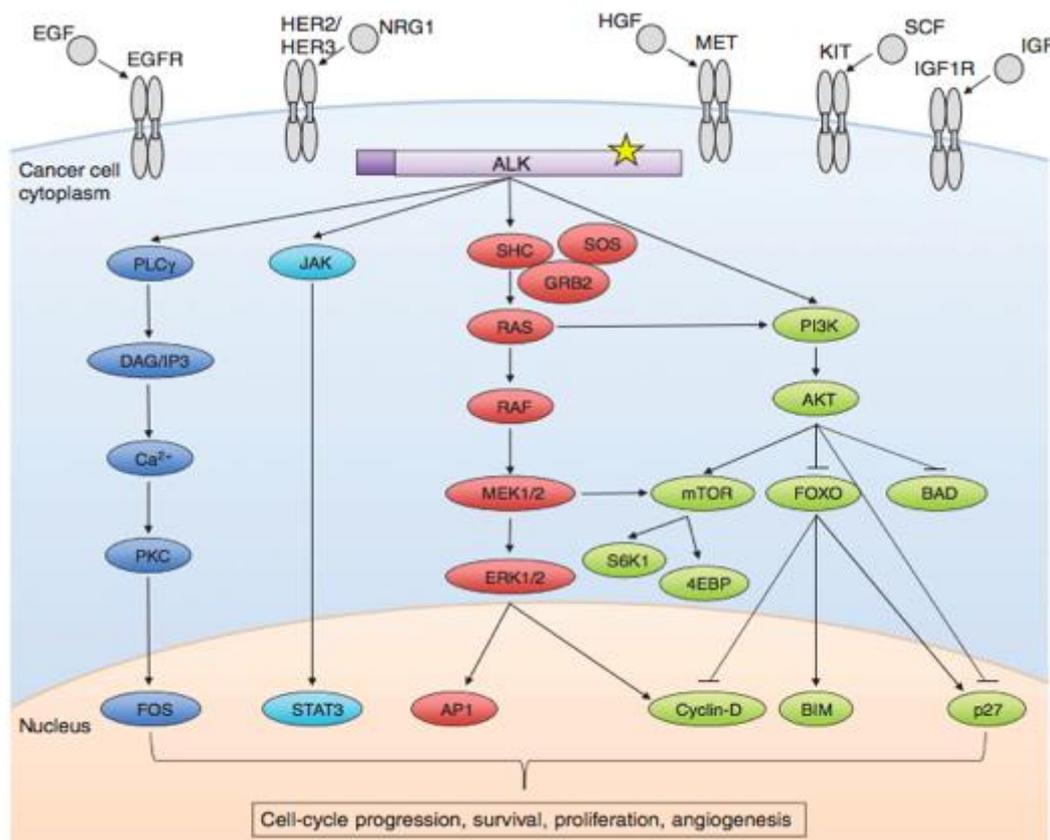
L'Anaplastic Lymphoma Kinase (ALK) est un récepteur à tyrosine kinase. Son gène se situe sur le bras court du chromosome 2. En 2007 il a été mis en évidence que dans certains cancers broncho-pulmonaires il existait un réarrangement du gène ALK (12). Cette anomalie est présente dans environ 5% des cas des adénocarcinomes (4).

Cette translocation peut s'effectuer avec plusieurs partenaires qui aboutissent tous à une activation constitutive du domaine kinase de ALK. Dans les cancer-broncho-pulmonaires, ce réarrangement se fait avec l'Echinoderm Microtubule-Like 4 (EML4) qui consiste en une inversion au sein du bras court du chromosome 2 amenant la création d'un gène de fusion.

Ce gène de fusion conduit à l'activation permanente du domaine tyrosine kinase qui, comme pour les mutations de l'EGFR, via les voies PI3K-Akt, mTOR, la voie STAT ou la voie RAS produit divers signaux de résistance à la mort cellulaire, de survie et de prolifération cellulaire (13) (**figure 5**).

Il s'agit plutôt de patients jeunes, non-fumeurs avec une maladie étendue (14).

Figure 5 : schématisation des voies d'activation du réarrangement ALK-EML4



Les thérapies ciblées se sont rapidement développées. Ainsi une première molécule inhibitrice de l'activité tyrosine kinase de la protéine de fusion, le crizotinib a montré son efficacité dans l'étude PROFILE 1007 où le crizotinib en deuxième ligne est supérieur à la chimiothérapie (15). De même l'essai PROFILE 1014 (16) a imposé le crizotinib comme traitement de référence dès la première ligne dans les cancers broncho-pulmonaires avec réarrangement ALK.

Ces traitements sont plutôt bien tolérés, l'effet le plus grave reste la toxicité hépatique.

Il existe des échappements à ces thérapeutiques. Actuellement des inhibiteurs de tyrosine kinase anti-ALK de deuxième génération sont en cours de développement. Ainsi le céritinib vient d'obtenir son AMM après échec du crizotinib (17).

d. Mutations de HER2

Cette protéine fait partie des récepteurs à tyrosine kinase mais il n'a pas été identifié de ligand pour ce récepteur. Il existe des mutations, que l'on retrouve dans environ 1% des adénocarcinomes pulmonaires (4). Il s'agit dans 80% des cas d'une insertion dans l'exon 20 du gène codant pour HER2 (18). Cette mutation engendre une activation des voies PI3K-Akt, mTOR et MEK/ERK impliquées dans la prolifération cellulaire, la différenciation et la migration. Les patients atteints sont plutôt non-fumeurs et de sexe féminin (19). A ce jour aucune molécule ne possède l'AMM pour le traitement des cancer-broncho-pulmonaires mutés HER2. Des cas ont rapporté l'efficacité de l'utilisation de trastuzumab (19) avec des taux de réponse intéressants mais aucune étude prospective n'a confirmé ces résultats. Ainsi la chimiothérapie conventionnelle reste le traitement de première intention.

e. Autres mutations

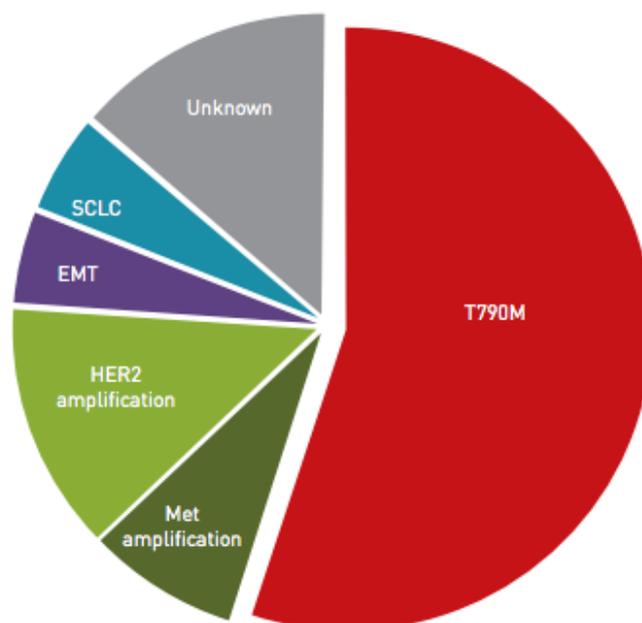
Les protéines RAF sont impliquées dans la régulation de la voie de signalisation RAS-RAF-MAPK avec un rôle dans la prolifération et la survie cellulaire. La mutation du gène BRAF est la plus fréquemment rencontrée dans le CBNPC avec environ 1% de cas, cette protéine relie la GTPase de RAS aux autres protéines de la voie MAP-kinase avec un rôle dans la prolifération cellulaire (4). La mutation la plus fréquente est la V600E retrouvée dans la moitié des cas puis les mutations G469A (39%) et D549G (11%) (20). Des réponses au vémurafénib ont été rapportées dans la littérature (21) et un essai avec le dabrafénib a montré des résultats intéressants (22). L'association de dabrafénib et tramétinib (inhibiteur de MEK) a montré des résultats d'efficacité supérieurs au dabrafénib seul (22). Ces 2 molécules ont obtenu récemment leur AMM dans cette indication.

Les protéines PI3K ont un rôle dans la transduction des signaux en aval des récepteurs tyrosine kinases. La mutation PIK3CA est la plus fréquemment trouvée et entraîne une hyper activation de la protéine AKT, elle concerne 1 à 3% des mutations des adénocarcinomes bronchiques (4). Ces mutations peuvent être associés à d'autres anomalies de KRAS, EGFR, BRAF ou ALK (23). Il n'existe pas de thérapeutique ciblée à l'heure actuelle dans les CBNPC. Des essais cliniques sont en cours afin de juger de l'utilité d'inhibiteurs de mTOR.

4) Mécanismes de résistance aux thérapies ciblées

Les réponses parfois spectaculaires aux thérapies ciblées des CBNPC présentant une addiction oncogénique se sont également accompagnées d'apparition de mécanismes de résistance au traitement. Cela peut être dû à un changement de la mutation ciblée initialement (amplification, apparition d'une deuxième mutation), l'activation d'autres voies de signalisation permettant un échappement (bypass, avec amplification de c-MET par exemple) ou encore la transformation histologique (cancer bronchique à petite cellule ou une transition épithélio-mésenchymateuse) (24).

Figure 6 : Principaux mécanismes de résistance des CBNPC EGFR mutés (24)



a. Mutation T790M

Les patients traités par inhibiteur de tyrosine kinase et répondeurs vont tous présenter une progression tumorale qui survient généralement entre 9 et 12 mois après instauration du traitement par thérapie ciblée.

La mutation T790M est responsable de 50 à 60% des mutations acquises sous inhibiteur de tyrosine kinase des patients EGFR mutés. Cette mutation se situe dans l'exon 20 du gène de l'EGFR au niveau d'un résidu « gatekeeper » entraînant une modification conformationnelle de la poche AKT qui induit une chute d'affinité des TKI. Le récepteur peut ensuite fournir à nouveau les signaux de prolifération cellulaire.

Des TKI de 3^{ème} génération tels que l'osimertinib ont vu le jour. Son efficacité a été démontré dans l'essai AURA 3 dès la seconde ligne dans les CBNPC EGFR mutés progressant sous ITK (25).

b. MET

Il s'agit d'un récepteur à tyrosine kinase, la fixation de son ligand (HGF) entraîne une activation des voies MAP Kinase, PI3K-AKT et STAT entraînant une prolifération cellulaire. Des dysrégulations de MET ont été observés dans différents cancers (sein, colo-rectal).

Des amplifications de MET ont été décrites dans environ 5% des adénocarcinomes pulmonaires mutés EGFR progressant sous TKI (26). Cette anomalie peut être associée à d'autres mécanismes de résistance comme la mutation T790M. Une étude de phase 2 évaluant le gefitinib associé au capmatinib chez les patients EGFR mutés progressant sous TKI a montré une réponse de 40% chez les patients avec amplification de MET (27).

D'autres anomalies ont été décrites tel qu'une hyper-expression de MET en immuno-histochimie détectée dans 15 à 70% des séries mais ne constituant pas à ce jour une cible thérapeutique (28).

Il existe également des anomalies primaires de MET avant tout traitement par TKI, comme l'altération de l'exon 14 du gène MET, qui peuvent être variées et identifiées dans 4% des adénocarcinomes pulmonaires (28). Des amplifications de

novo de MET ont également été décrites variant de 1 à 5% des adénocarcinomes. Mutations et amplifications semblent présenter des réponses intéressantes au crizotinib (28) mais les traitements ciblant MET ne font l'objet d'aucune recommandation à l'heure actuelle.

c. Résistance aux inhibiteurs d'ALK

Comme pour les patients avec mutations EGFR, après une réponse importante aux thérapies ciblées les patients porteurs d'un réarrangement EML4-ALK progressent systématiquement à partir de 9 mois de traitement du fait d'apparition de mécanisme de résistance. Tous les mécanismes ne sont pas identifiés.

On retiendra des mécanismes de résistances où persiste une dépendance à la voie ALK tels que l'amplification de ALK ou les mutations secondaires du domaine tyrosine kinase de ALK (la mutation G1202R est la plus fréquente), ou des résistances indépendantes de la voie ALK telles que l'activation de voie « bypass » comme l'amplification de MET ou une mutation PIK3CA ou alors un changement histologique avec transformation en carcinome à petites cellules (13). Des traitements inhibiteurs de ALK de seconde génération ont vu le jour tels que le ceritinib, le lorlatinib, l'alectinib ou le brigatinib. Le ceritinib a montré une efficacité notamment après progression sous crizotinib (29,30) et un essai de phase 3 est en cours pour confirmer ce résultat.

5) Rebiopsies

La multiplication des thérapies ciblées dans le cancer broncho-pulmonaire rend indispensable l'identification des cibles moléculaires sur les prélèvements initiaux. Malheureusement il existe une progression quasi systématique après utilisation de ces traitements. La recherche clinique a permis de mettre en évidence de nombreux mécanismes de résistance et de développer de nouvelle thérapeutique ciblée. Aucune forme de progression clinique ou radiologique ne permet de prédire un type de mécanisme de résistance rendant indispensable d'effectuer de nouveau prélèvement afin d'adapter au mieux les traitements.

Les principales limites des techniques usuelles sont : l'état général du patient et la localisation du site tumoral en progression. Quand bien même le site en progression est accessible, les nouveaux prélèvements peuvent ne pas permettre la réalisation des techniques de biologie moléculaire du fait de nécrose tumorale importante, de cellules tumorales trop peu nombreuses voire totalement absentes. L'autre écueil est représenté par l'hétérogénéité tumorale des mécanismes de résistance, qui peuvent survenir sur un site tumoral sans être présent sur un autre.

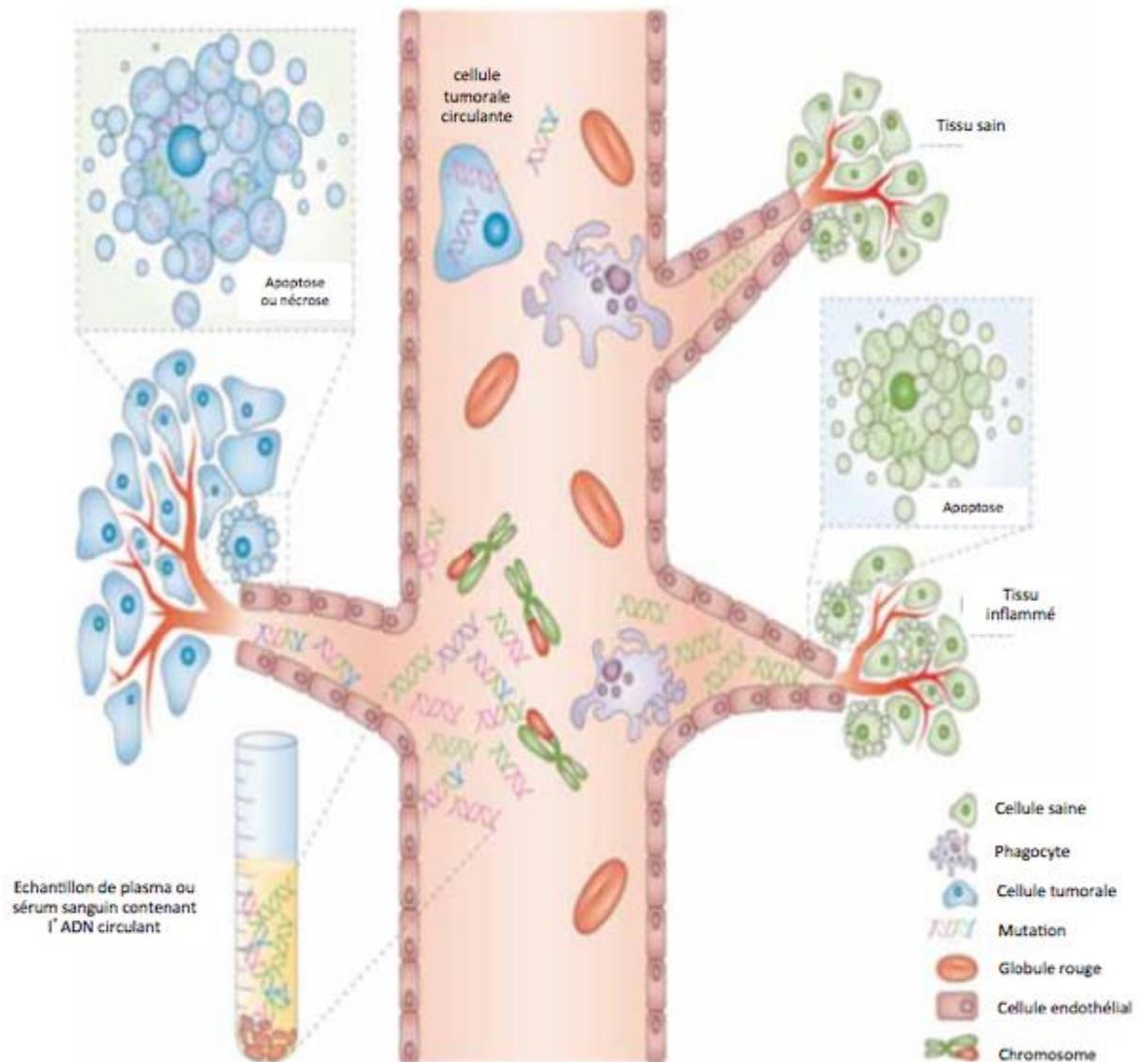
Pour s'affranchir de ces techniques guidées sur un site, se sont développées depuis plusieurs années les biopsies liquides et notamment la recherche d'ADN tumoral circulant. C'est Mandel et Métais en 1948 (31) qui ont établis que de l'ADN était véhiculé dans le sang chez des individus sains. Différentes études ont par la suite individualisé l'ADN tumoral circulant (32,33). Deux grandes hypothèses expliquent la présence de cet ADN tumoral. Premièrement il serait dû à la sécrétion active de la tumeur primitive ou à la lyse des cellules tumorales circulantes ou des micrométastases (34). La deuxième hypothèse serait un relargage passif par apoptose ou nécrose des cellules de la tumeur primitive (35), (**figure 7**). L'avantage théorique des biopsies liquides est qu'elles sont non invasives et qu'elles représentent l'ensemble des cellules tumorales de l'organisme (tumeur primitive, métastase, micrométastase, cellules tumorale circulantes) permettant de s'affranchir des techniques de biopsies solides.

6) Objectifs

L'objectif principal de ce travail est d'étudier tous les patients porteurs d'une addiction oncogénique ayant bénéficié d'au moins une rebiopsie afin de décrire les techniques utilisées, la rentabilité de la biopsie et les conséquences thérapeutiques.

Les objectifs secondaires seront d'étudier l'apport et la rentabilité des biopsies liquides, d'apprécier le taux de recherche du mécanisme de résistance MET et de comparer les patients après la première rebiopsie porteurs d'une mutation de l'EGFR et d'une mutation de résistance T790M à ceux porteurs d'une mutation de l'EGFR seule.

Figure 7 : Schématisation de l'origine de l'ADN tumoral circulant (36)



MATERIELS ET METHODES

1) *Critères d'inclusions et d'exclusions des patients*

Nous avons réalisé une étude rétrospective, multicentrique et observationnelle. Les patients étaient sélectionnés via la plateforme de biologie moléculaire de Lille.

Était inclus tout patient présentant un CBPNPC avec une mutation sur la biopsie initiale et ayant bénéficié d'au moins une rebiopsie. Les patients présentant une mutation KRAS initialement ou étant pris en charge en dehors du Nord-Pas-de-Calais étaient exclus.

La période d'inclusion s'étendait de la date d'ouverture de la plateforme en 2009 jusqu'au 1er Juillet 2016.

2) *Données recueillies*

Le recueil de données se faisait via le dossier médical après identification du médecin référent du patient à partir des demandes effectuées auprès de la plateforme de biologie moléculaire.

Les données recueillies étaient les suivantes.

a. **Caractéristiques des patients**

- Sexe
- Age au diagnostic
- Statut tabagique
- Index de Karnofsky
- Année du diagnostic
- Type histologique
- Stade de la maladie au diagnostic

- Technique de diagnostic
- Mutation initiale
- Traitements avant la première rebiopsie
- Date de décès et des dernières nouvelles

b. Rebiopsies

Pour chaque rebiopsie

- Délais avant la rebiopsie
- Délais entre la mise en place d'un TKI et la rebiopsie
- Délais entre la progression et la rebiopsie
- Année de rebiopsie
- Techniques de rebiopsies
- Résultat de la rebiopsie
- Conséquence thérapeutique de la rebiopsie

3) Méthode de recherche des addictions oncogéniques

a. Recherche du gène de l'EGFR

L'anatomopathologiste analyse la biopsie et définit la zone riche en cellules tumorales. L'ADN tumoral est extrait de fins copeaux réalisés à partir de la zone définie. L'analyse moléculaire s'effectue par la technique de Snapshot pour la recherche des mutations ponctuelles (telles que la L858R) sur les exons 18 à 21 du gène de l'EGFR codant pour le domaine tyrosine kinase ou par analyse de fragments pour la recherche d'insertion ou de délétion dans les exons 20 et 19 du gène de l'EGFR.

La technique de SnaPshot est une technique ciblée permettant, après amplification d'une zone d'intérêt, comme par exemple l'exon 21, la visualisation d'une mutation ponctuelle grâce à une réaction d'extension réalisée à partir d'une amorce spécifique localisée en position -1 de la mutation à caractériser. L'extension est réalisée avec les bases G, A, T ou C qui seront chacune fluoromarkée différemment

permettant ainsi la détection de variant qui se présentera sous la forme d'un pic de couleur surnuméraire.

L'analyse de fragments est une technique adaptée à la détection de mutations de types petites délétions ou insertions. Après amplification par PCR via des amorces marquées par un fluorophore, le fragment amplifié est analysé sur un séquenceur capillaire qui permet la migration du fragment amplifié en fonction de sa taille. Ainsi en fonction de la mutation insertion ou délétion le pic sera plus tardif ou au contraire plus précoce que le pic de l'exon normal.

b. Recherche du réarrangement ALK

Deux techniques sont utilisés et complémentaires.

La première analyse consiste en une technique d'immunohistochimie. Après préparation de la biopsie, les lames sont mises en contact avec des anticorps dirigés contre la protéine de fusion EML4-ALK. La confirmation se fait au microscope optique ou le cytoplasme des cellules néoplasiques prends une couleur particulière si la protéine de fusion est présente.

En cas de positivité l'analyse est complété par une technique de fluorescence in situ hybridization (FISH). Le principe est l'utilisation de sondes de couleurs différentes et fluorescentes qui encadrent la région 2p23 qui contient le gène ALK. Après préparation, l'ADN dénaturé est mis au contact des sondes. S'il n'existe pas de réarrangement du gène ALK les sondes apparaissent côte à côte, en revanche s'il existe un réarrangement EML4-ALK les sondes de couleurs différentes apparaissent bien séparés.

Pour retenir le diagnostic il faut qu'au moins 100 cellules soient analysées et que 15% d'entre elles contiennent le réarrangement.

c. ADN tumoral circulant

Un échantillon sanguin est prélevé sur le patient. Le sang est recueilli soit dans des tubes EDTA (dans ce cas la centrifugation des prélèvements doit se faire dans les 2h suivant la prise de sang) soit dans des tubes Cell-free DNA BCT (dans ce cas les prélèvements peuvent être conservés stables plusieurs jours).

Après centrifugation, l'ADN tumoral circulant est extrait du plasma par un kit spécifique (kit QIAamp circulating nucleic acid, Qiagen).

Différentes techniques d'analyses des mutations peuvent être utilisées avec des niveaux de sensibilités et des coûts différents. A Lille, c'est la technique de PCR spécifique d'allèle ou ARMS (amplified refractory mutation system) qui est utilisée (kit Therascreen, Qiagen).

Un complément par séquençage haut débit peut également être effectué.

d. Next Generation Sequencing (NGS)

Il s'agit d'une méthode de séquençage haut débit basé sur l'amplification de différentes régions de l'ADN.

Cette technique permet d'étudier les gènes suivants : *EGFR – AKT1 - ALK – BRAF - CTNNB1 - ERBB2 - ERBB4 - FBXW7 - FGFR1 - FGFR2 – FGFR3 - KRAS – MET - NOTCH1 – NRAS - PIK3CA – PTEN - SMAD4 - STK11 - TP53 – ALK - DDR2 – MAP2K.*

e. Recherche des autres mutations

Les mutations de HER2 (insertion dans l'exon 20) sont recherchées par analyse de fragment.

Les mutations de BRAF sont recherchées par pyroséquençage du codon 600 puis vérifiés par SNaPshot.

Les mutations de PIK3CA sont recherchées par SNaPshot via la recherche des hotspots dans les nucléotides 1624, 1633 et 3140.

4) Analyse statistique

Les paramètres qualitatifs ont été décrits en termes de fréquence et de pourcentage. Les paramètres numériques gaussiens ont été décrits en termes de moyenne et de déviation standard et les paramètres numériques non gaussiens en termes de médiane et d'intervalle interquartiles. La normalité des paramètres numériques a été vérifiée graphiquement et testée à l'aide du test de Shapiro-Wilk.

Les comparaisons des patients avec une mutation T790M par rapport aux patients n'ayant pas cette mutation à la première rebiopsie chez les patients présentant une mutation de l'EGFR initialement, ont été réalisées à l'aide d'un test du Chi-deux pour les paramètres qualitatifs (le sexe, le statut tabagique, la mutation initiale, le traitement de première ligne, la technique de rebiopsie solide et les biopsies liquides). Un test t de Student a été utilisé pour comparer les paramètres continus gaussiens (le délai de rebiopsie et le délai après instauration d'un TKI) entre les groupes.

Les statistiques ont été réalisées par l'unité de méthodologie biostatistique du CHRU de Lille. Le niveau de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel SAS (SAS Institute version 9.4).

RESULTATS

1) Flow chart

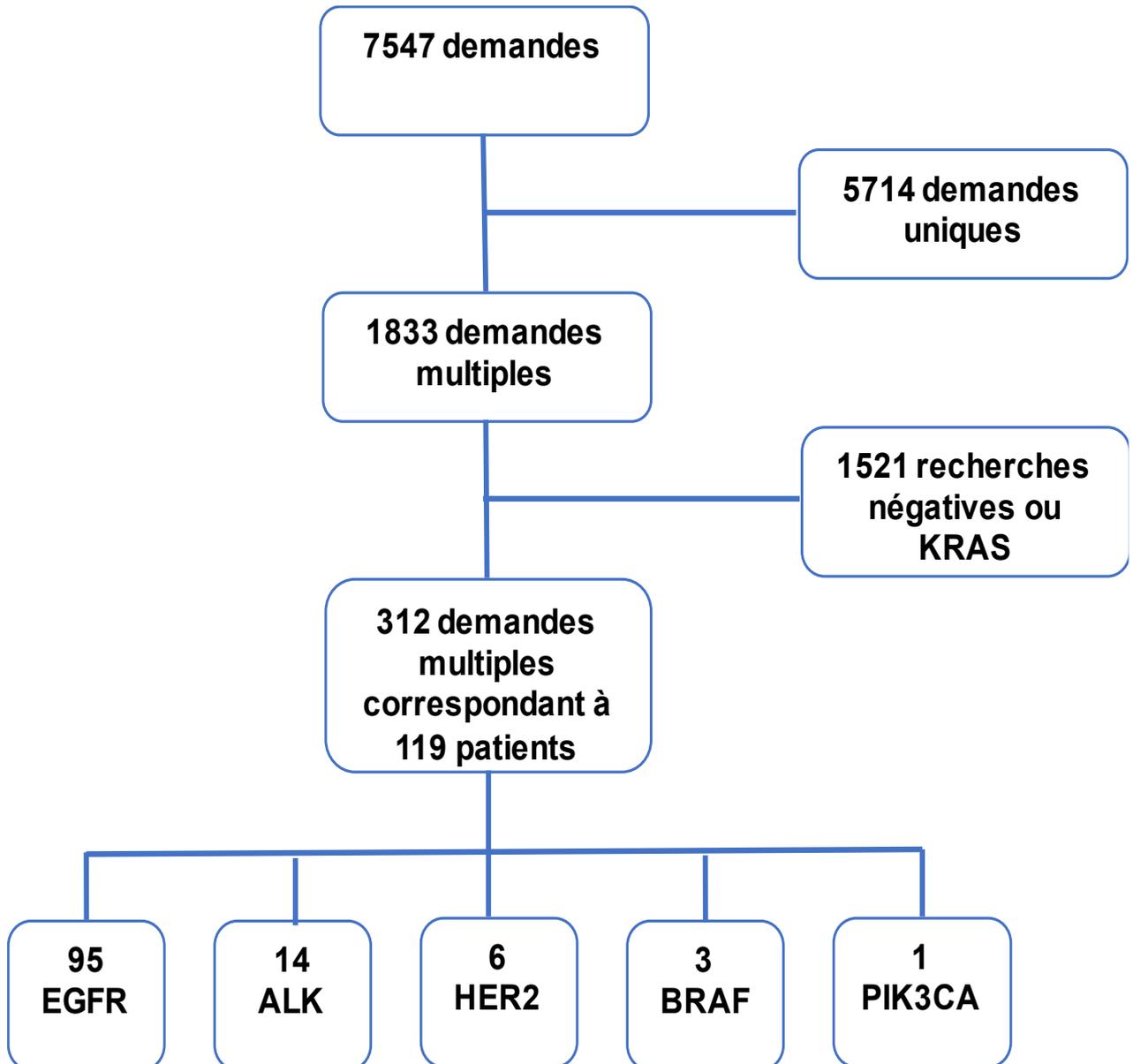


Figure 8 : diagramme de flux de l'étude.

2) Caractéristiques générales de la population

Cent-dix-neufs patients présentant une addiction oncogénique et ayant bénéficié d'au moins une rebiopsie ont pu être inclus entre l'année 2009 et le 1^{er} Juillet 2016. Il y avait 74 femmes (61,7%) et 46 hommes (38,3%). L'âge au diagnostic était compris entre 23 ans et 83 ans avec une moyenne à 60 ans ($\pm 12,4$). Les patients étaient en bon état général au diagnostic avec un index de Karnofsky moyen à 90 ($\pm 8,3$). Il existait une majorité de non-fumeurs avec 82 patients (81,2%) qui n'avaient jamais fumé. Les patients étaient généralement métastatiques au diagnostic avec 80 patients au stade IV se répartissant en 12 patients (12%) au stade IVa (métastase pulmonaire ou pleurale) et 68 patients (69%) au stade IVb (métastase à distance). Soixante-cinq patients (58,7%) étaient encore vivants à la fin de la période d'inclusion (**tableau 1**).

Tableau 1 : Caractéristiques générales de la population

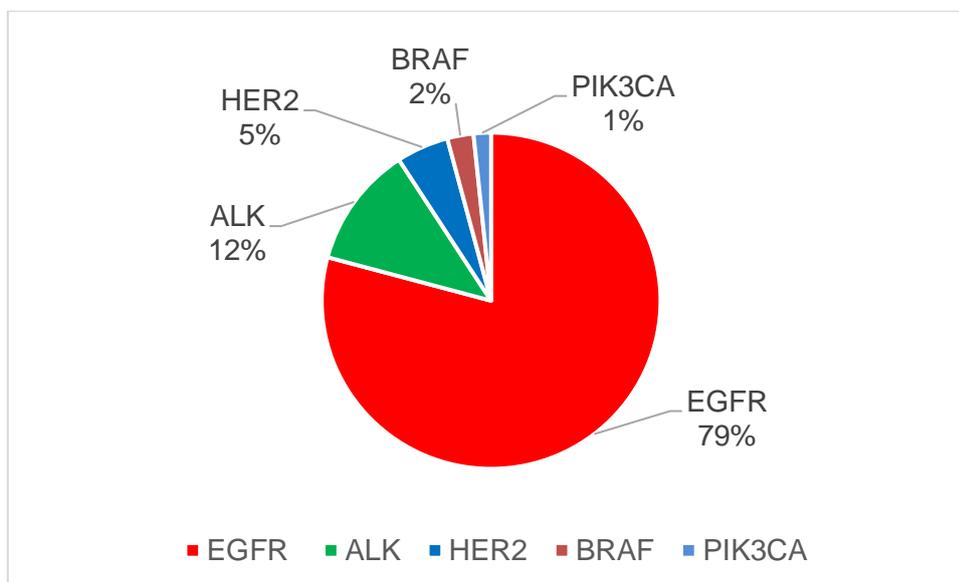
Donnée	Valeur
Sexe	
Femme, n (%)	74 (61,7)
Homme, n (%)	45 (38,3)
Age	60 ($\pm 12,4$)
Tabac	
Non-fumeur, n (%)	82 (81,2)
Fumeur, n (%)	19 (18,8)
Karnofsky	90 ($\pm 8,3$)
Stade au diagnostic	
I, n (%)	3 (3)
II, n (%)	11 (11)
III, n (%)	5 (5)
Iva, n (%)	12 (12)
Ivb, n (%)	68 (69)
Statut	
Vivant n (%)	65 (58,7)
Décédé n (%)	46 (41,4)

Résultats exprimés en nombre (pourcentage) ou moyenne (\pm écart-type)

La répartition des différentes addictions oncogéniques était la suivante :

Quatre-vingt-quinze patients présentaient une mutation de l'EGFR, 14 patients un réarrangement EML4-ALK, 6 patients une mutation HER2, 3 patients une mutation de BRAF et 1 patient une mutation PIK3CA (**figure 9**).

Figure 9 : répartition des différentes additions oncogéniques



3) Patients présentant une mutation de l'EGFR

a) Caractéristiques de la population

Quatre-vingt quinze patients présentaient une mutation de l'EGFR. Il y avait 62 femmes (65,3%) pour 33 hommes (34,7%). Il existait une prédominance de non-fumeurs avec 62 patients (78,5%). Les patients étaient en bon état général avec un index de Karnofsky moyen à 90 (± 5). Une large majorité des patients étaient métastatiques au diagnostic avec 67 patients au stade IV, dont 56 patients (70,9%) au stade IVb (métastases à distance).

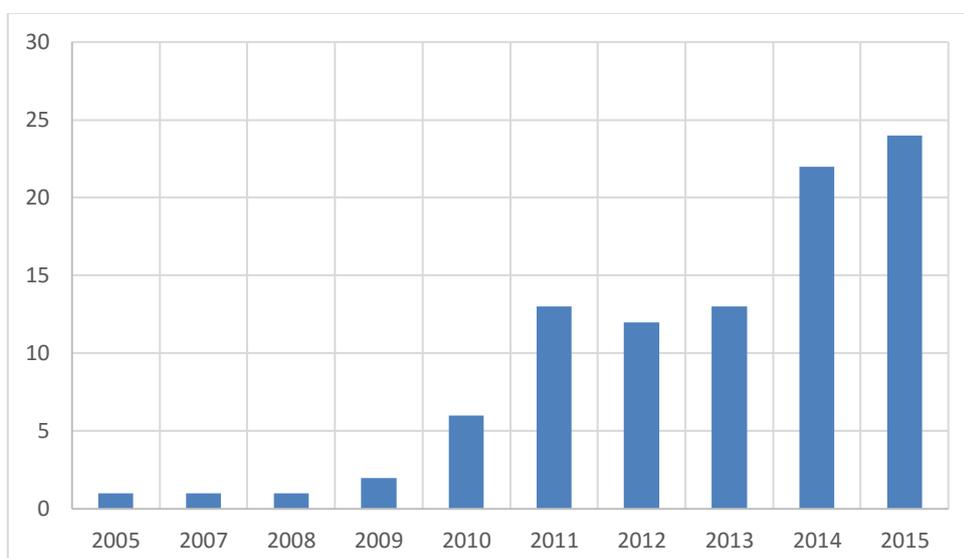
Pour retenir le diagnostic 54 patients (56,8%) avaient bénéficié d'une fibroscopie bronchique, 13 patients avaient bénéficié d'une pleuroscopie, 12 patients (12,6%) avaient bénéficié d'une chirurgie thoracique, 8 patients avaient bénéficié d'une échocardiographie et 8 patients avaient bénéficié d'autres techniques diagnostics (ponction sous scanner, ponction biopsie hépatique, surrénalectomie...) (**tableau 2**).

Tableau 2 : caractéristiques des patients mutés EGFR

Donnée	Valeur
Sexe	
Femme, n (%)	62 (65,3)
Homme, n (%)	33 (34,7)
Age	59 (\pm 11,5)
Tabac	
Non-fumeur, n (%)	62 (78,5)
Fumeur, n (%)	17 (21,5)
Karnofsky	90 (\pm 5)
Stade au diagnostic	
I, n (%)	3 (3,8)
II, n (%)	9 (11,4)
III, n (%)	0 (0)
Iva, n (%)	11 (13,9)
Ivb, n (%)	56 (70,9)
Technique de diagnostic	
Fibroskopie n (%)	54 (56,8)
Echo-Endoscopie n (%)	8 (8,4)
Chirurgie thoracique n (%)	12 (12,6)
Autres techniques n (%)	21 (22,1)
Nombre de rebiopsie	1,5 (\pm 0,62)

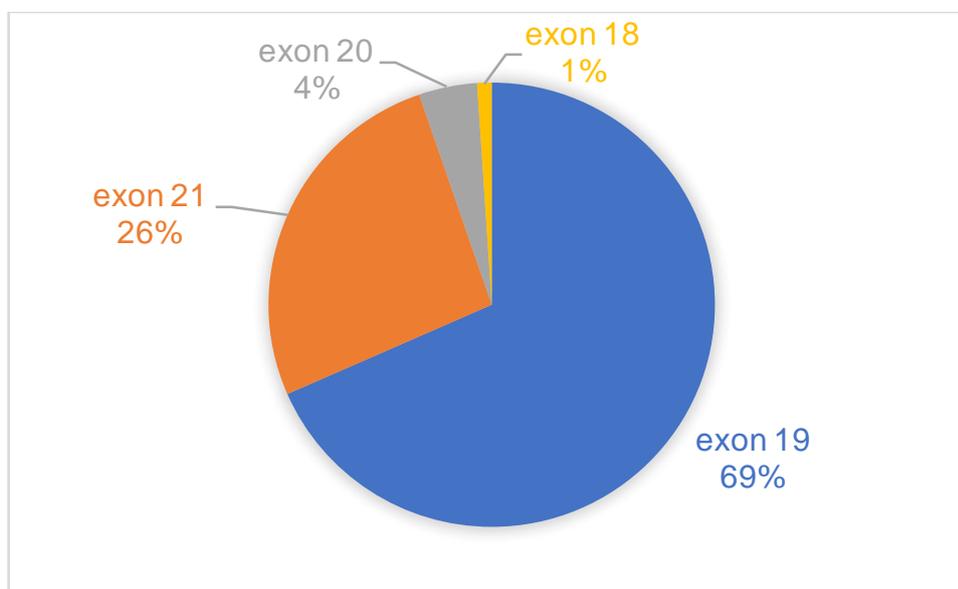
Résultats exprimés en nombre (pourcentage) ou moyenne (\pm écart-type)

La répartition de l'année de diagnostic des patients est représentée sur la figure 10.

Figure 10 : année de diagnostic des patients EGFR mutés

La répartition des différents types de mutation de l'EGFR est représentée sur la figure 11.

Figure 11 : répartition des mutations EGFR



Soixante-cinq patients (69%) présentaient une délétion de l'exon 19, 25 patients (26%) présentaient une insertion dans l'exon 21, 4 patients présentaient une mutation de l'exon 20 (4%) (2 patients une insertion dans l'exon 20, 1 patient une mutation S768I de l'exon 20 et 1 patient avec une mutation T790M d'emblée), enfin 1 patient présentait une mutation G719C de l'exon 18 (**figure 11**).

Concernant les traitements avant la 1^{ère} rebiopsie : 40% des patients étaient traités par erlotinib, 32% des patients par chimiothérapie, 18,7% par gefitinib, 5,3% par afatinib et 4% par chirurgie.

b) Techniques de rebiopsies des patients EGFR-mutés

Tous les patients ont bénéficié d'au moins une rebiopsie, 45 patients d'une seconde rebiopsie et 6 patients d'une troisième rebiopsie répartis en 87 rebiopsies solides et 70 biopsies liquides.

Concernant la première rebiopsie la répartition des patients étaient la suivante :

- 38 biopsies liquides
- 32 fibroscopies bronchiques,
- 12 patients (12,6%) ont eu une association biopsie solide/biopsie liquide
- 9 ponctions lombaires,
- 8 écho-endoscopies,
- 5 prélèvements d'adénopathies périphériques,
- 4 chirurgies thoraciques
- 4 pleuroscopies
- 2 ponction-biopsies hépatiques,
- 2 surrénalectomies,
- 1 mini-sonde,
- 1 ponction sous scanner,
- 1 biopsie mammaire,

Concernant la seconde rebiopsie la répartition des patients étaient la suivante

- 28 biopsies liquides
- 7 fibroscopies,
- 5 patients (12,5%) ont pu avoir une association biopsie solide/biopsie liquide
- 2 ponction-biopsies hépatiques,
- 1 ponction-lombaire,
- 1 ponction pleurale,
- 1 pleuroscopie,
- 1 chirurgie utérine,
- 1 chirurgie d'adénopathie,
- 1 chirurgie thoracique
- 1 biopsie cutanée
- 1 écho-endoscopie,

Enfin pour la troisième rebiopsie la répartition était la suivante

- 4 biopsies liquides seules.
- 1 chirurgie d'adénopathie associée à une biopsie liquide

Les répartitions sont représentées sur la figure 12.

Figure 12 : répartition des techniques de rebiopsie



L'utilisation de biopsie liquides semblaient augmenter avec le nombre de rebiopsies au détriment des techniques de biopsies solides (**figure 13 et 14**). De même le recours aux biopsies liquides semblait augmenter avec les années avec une baisse des biopsies solides (**figure 15**).

Figure 13 : répartition des techniques solides et liquides en fonction de la rebiopsie en pourcentage

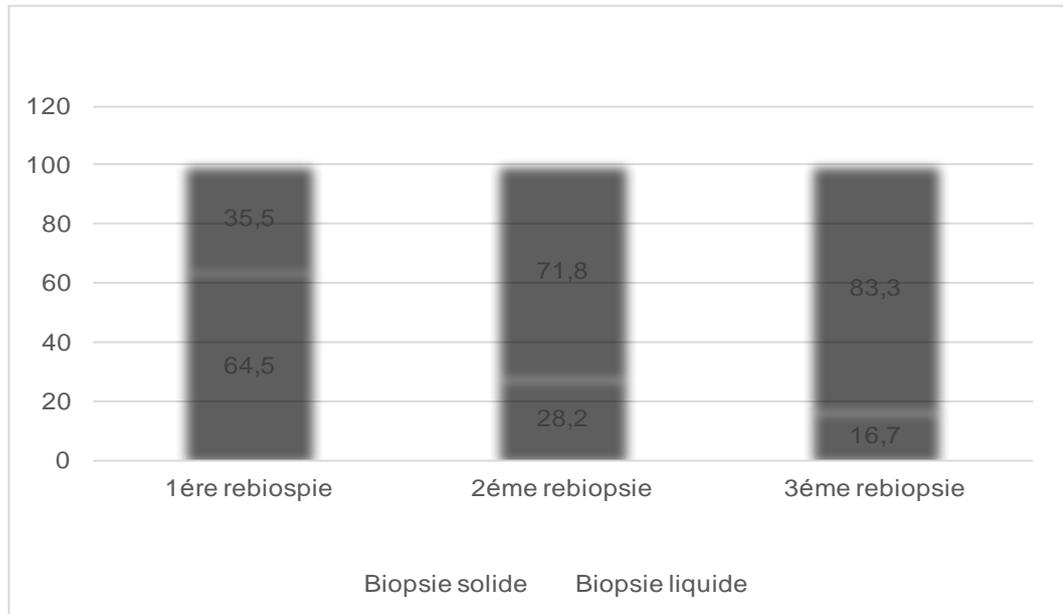


Figure 14 : répartition des techniques solides et liquides en fonction de la rebiopsie en valeurs absolues

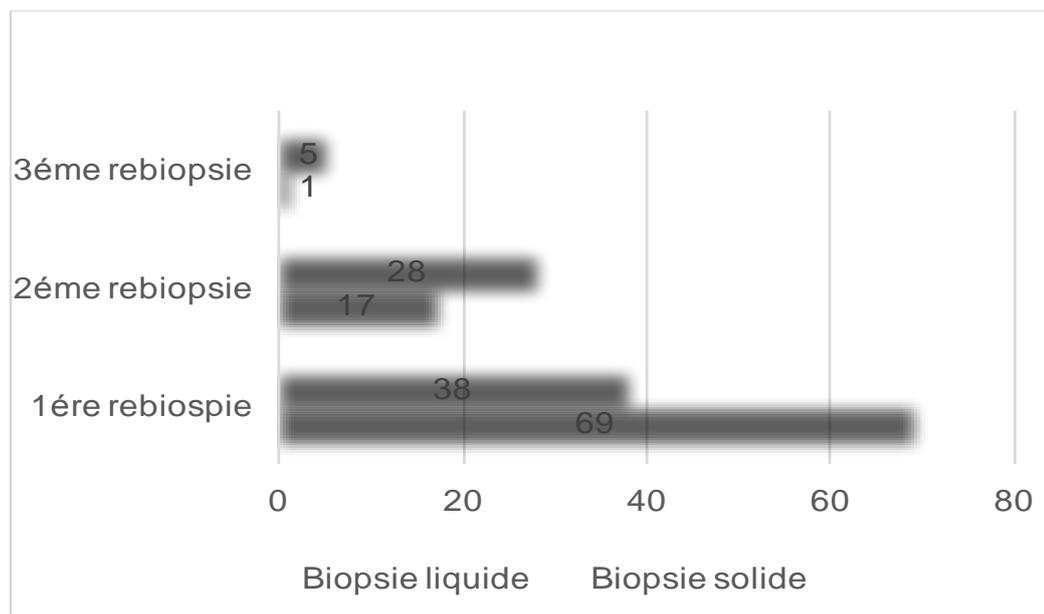
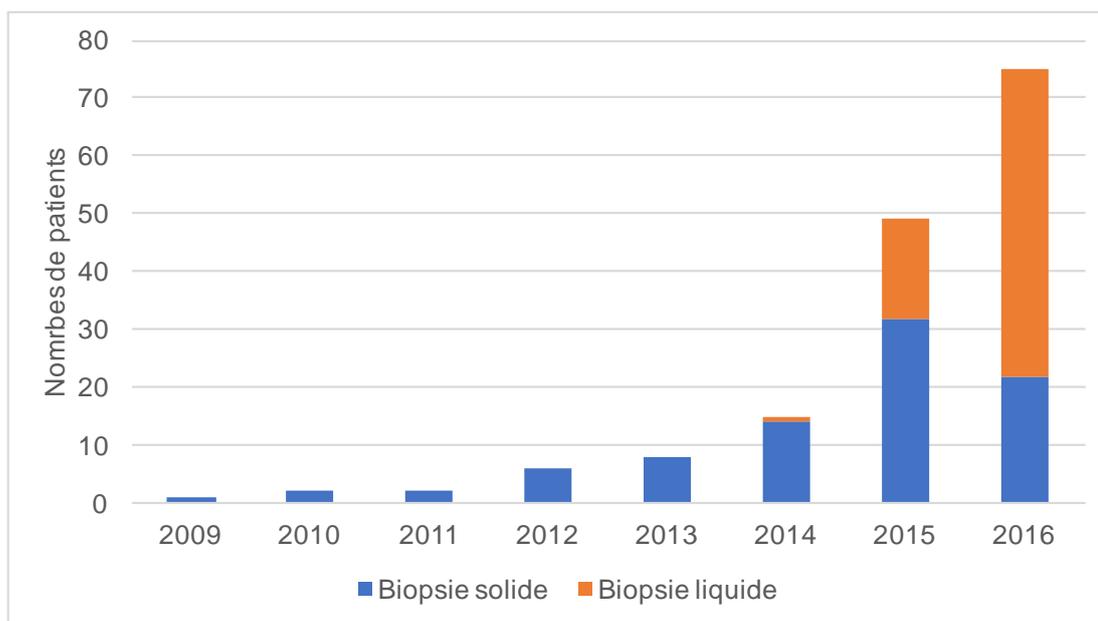


Figure 15 : utilisation des rebiopsies solides et liquides selon l'année

c) Rentabilité de la rebiopsie

Mécanisme de résistances

Les mécanismes de résistances mis en évidence étaient les suivants :

- 49 mutations T790M soit 43 patients
- 2 patients avec amplifications de MET
- 1 patient avec transformation en carcinome à petites cellules
- 1 patient avec mutation de résistance C797S
- 1 patient avec mutation KRAS

Les recherches d'amplification HER2 n'ont pas pu être récupérées.

Il n'y avait pas de mécanisme de résistance identifié pour 47 patients.

À la vue du grand pourcentage de mutation T790M, les résultats présentés ci-dessous concernent exclusivement la mise en évidence de cette mutation de résistance.

Résultats en fonction des techniques utilisées

La rentabilité de la biopsie en fonction de la technique est représentée sur la figure 16.

Toute technique confondue 74 rebiopsies solides (85%) sont positives à une mutation et 32 rebiopsies solides (36,8%) étaient positives pour la mutation T790M. Au total, lorsque la rebiopsie était contributive (mise en évidence de la mutation EGFR initiale), la mutation T790M était donc identifiée dans 43% des cas.

La catégorie « autres rebiopsies » comportait 1 biopsie d'utérus, 1 biopsie mammaire, 1 biopsie cutanée, 1 ponction sous scanner et 1 biopsie par technique de mini-sonde. Chacune de ses techniques retrouvait la mutation initiale et la mutation de résistance T790M.

Les prélèvements d'adénopathies périphériques, la chirurgie thoracique, la ponction biopsie-hépatique, la ponction lombaire, l'écho-endoscopie et la fibroscopie semblaient avoir de bons résultats pour mettre en évidence la mutation initiale allant de 87,2% à 100% de positivité.

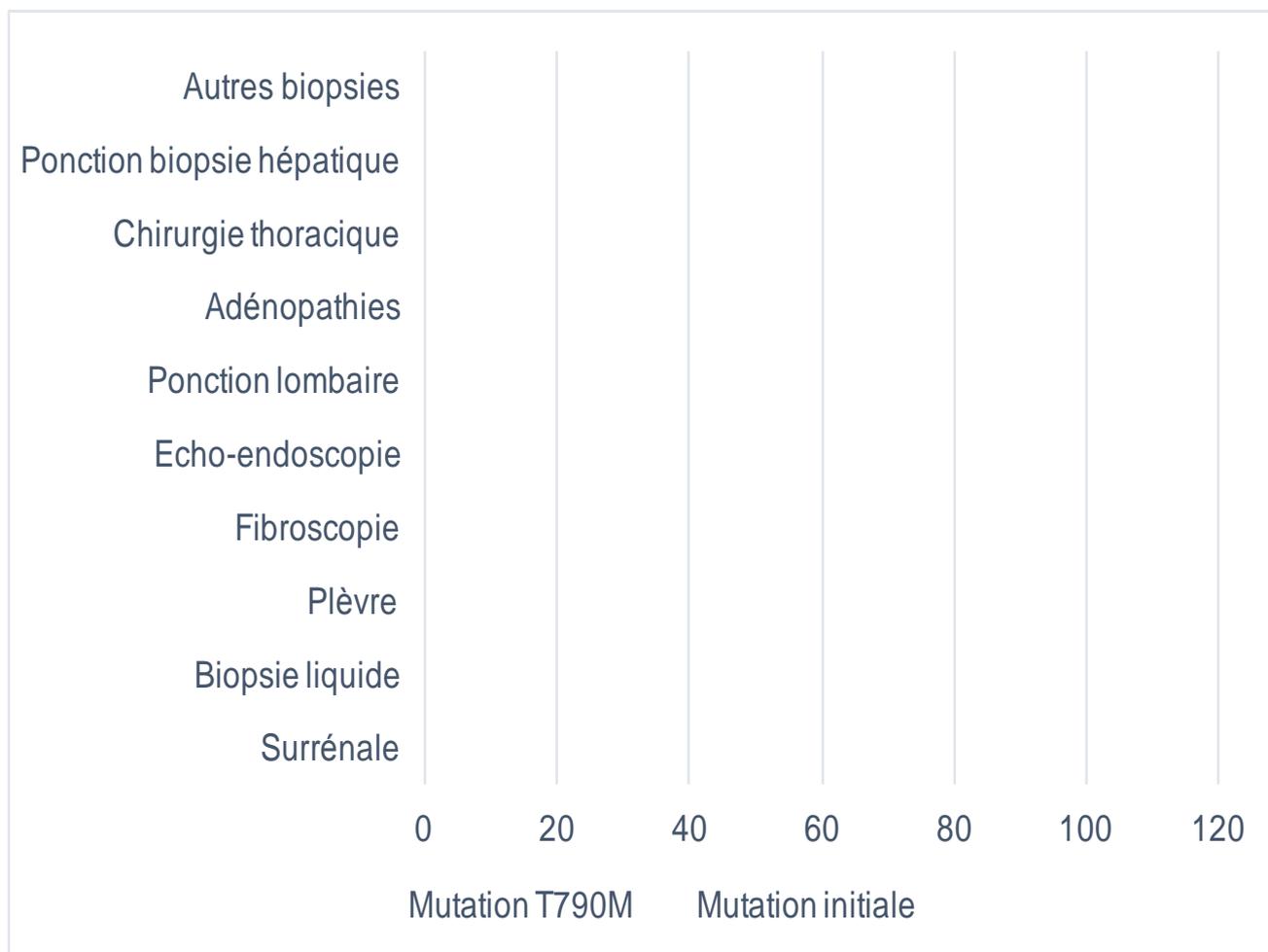
Les 4 ponction biopsies-hépatiques avaient le meilleur résultat pour mettre en évidence la mutation T790M avec un taux de positivité à 100%.

En revanche les biopsies de surrénales étaient les moins rentables avec 1 seule (50%) positive pour la mutation initiale et aucune mutation T790M mise en évidence. De même si toutes les ponctions lombaires étaient positives pour la mutation initiale, la mutation T790M n'était retrouvé que dans 1 cas (10%).

Les biopsies liquides trouvaient la mutation initiale dans 43 cas (60,6%) et la mutation de résistance T790M dans 18 cas (25,3%). Au total, lorsque la rebiopsie était contributive (mise en évidence de la mutation EGFR initiale), la mutation T790M était donc identifiée dans 47,5% des cas.

Enfin 13 biopsies solides étaient négatives soit 15% des rebiopsies solides (5 fibroscopies, 5 analyse de liquide pleural, 2 echo-endoscopie et 1 surrénalectomie). Les causes étaient l'absence matériel tumorale (8%), matériel tumoral insuffisant (46%) et absence de mutation mise en évidence (46%).

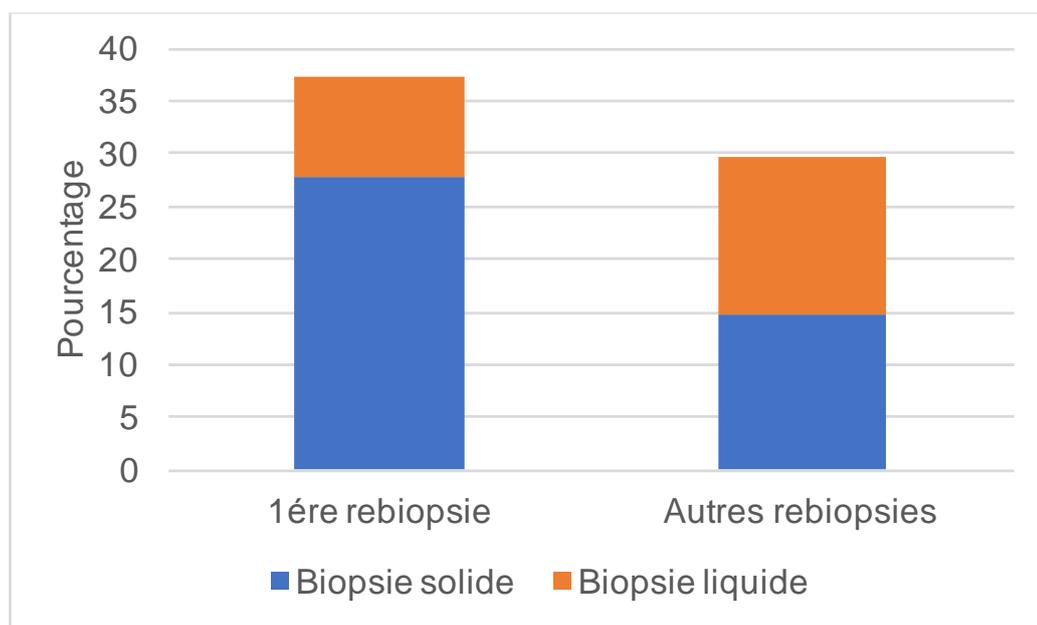
Figure 16 : positivité pour la mutation initiale et la mutation T790M en fonction des techniques de rebiopsies.



Intérêt de la rebiopsie après négativité de la première

Il y a eu 26 rebiopsies (12 solides et 14 liquides) après qu'une première rebiopsie revenait négative pour un mécanisme de résistance. Dans 9 cas une mutation T790M était mise en évidence dont 5 rebiopsies solides (41,7%) et 4 rebiopsies liquides (28,4%) retrouvaient la mutation T790M. Ainsi lors d'une première rebiopsie une mutation T790M était mise en évidence dans 37,3% des cas et lorsque la première rebiopsie était négative une mutation T790M était mise en évidence dans 29,6% des autres rebiopsies (**figure 17**). Il existait donc un intérêt à répéter les prélèvements même si la première rebiopsie était négative.

Figure 17 : Pourcentage de mutation T790M à la première rebiopsie et aux autres rebiopsies quand la première est négative

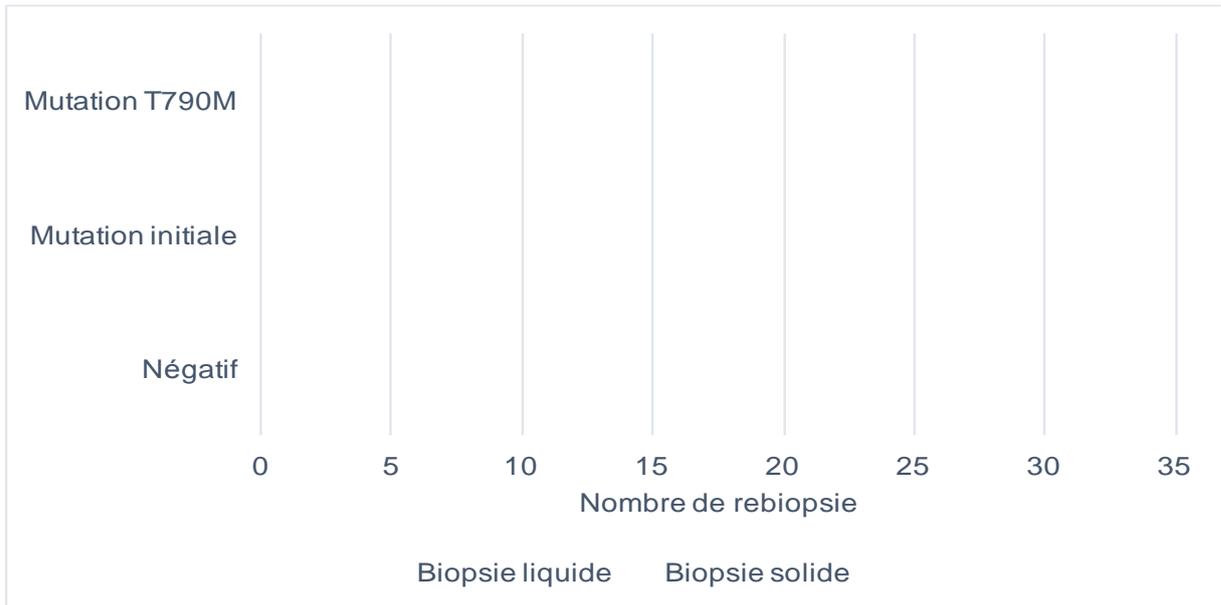


Concordance des résultats entre biopsies liquide et solide

Toutes rebiopsies confondues, 44 cas de biopsie liquide étaient concomitants à une rebiopsie solide. Dans 88,6% des cas (39 rebiopsies) les résultats des 2 biopsies étaient similaires avec 13 cas (29,5%) où les 2 biopsies étaient négatives et 26 cas (59,1%) où les 2 biopsies étaient positives. Il y avait 5 cas (11,4%) où la biopsie solide seule était positive il y avait donc une concordance de positivité de 83,8% pour toutes les mutations EGFR. Il n'existait aucun cas où la biopsie liquide était positive alors que la biopsie solide était négative (**figure 18**).

La mutation T790M a été mise en évidence dans 21 cas (47,7%). Il n'y avait aucun cas où la biopsie solide retrouvait cette mutation alors que la biopsie liquide ne la retrouvait pas. De même il n'y avait aucun cas où la mutation liquide retrouvait cette mutation alors que la biopsie solide était négative. Il y avait donc une concordance de 100% entre les résultats des biopsies solides et liquides pour la mutation T790M.

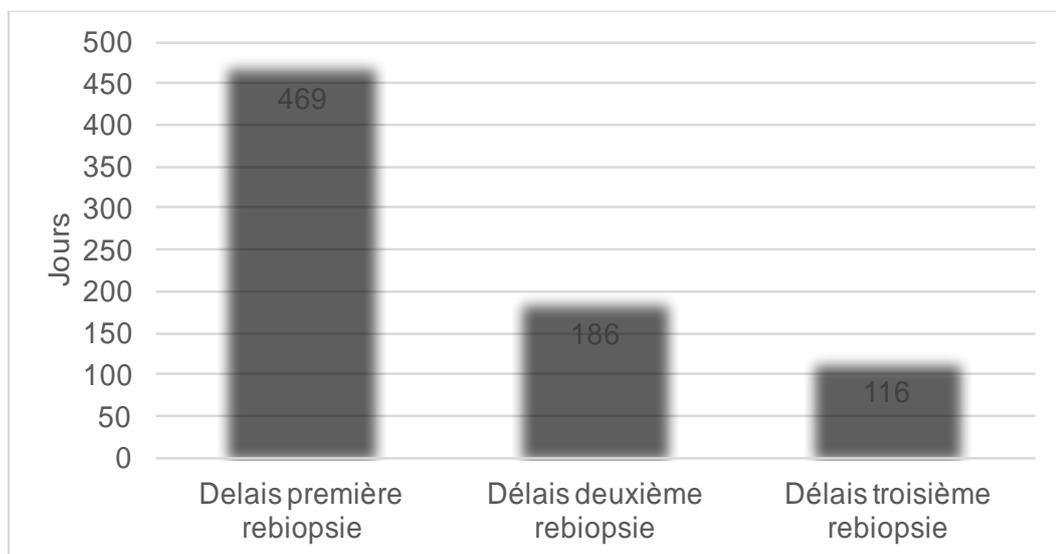
Figure 18 : concordance des résultats entre biopsie solide et liquide lorsqu'elles sont réalisées ensemble



d) Délais rebiopsies

Le délai médian de réalisation de la première rebiopsie était de 469 jours, ce délai diminuait au fur et à mesure des rebiopsies suivantes. On avait donc tendance à rebiopsier de plus en plus rapidement à mesure que la maladie progressait (**figure19**).

Figure 19 : délai médian entre chaque rebiopsie



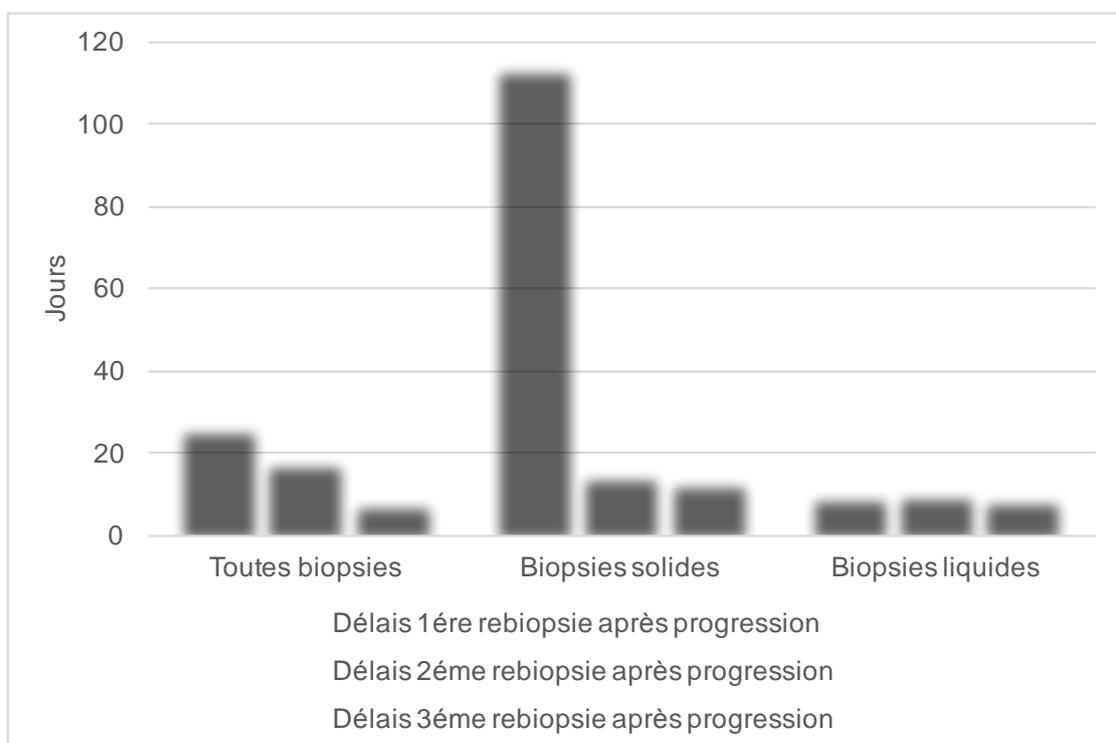
En regardant le délai de rebiopsie par rapport à la date de progression de la maladie on notait qu'il y avait également un raccourcissement du délai au fur et à mesure des rebiopsies.

Dans le détail on constatait que le délai médian était plus court après progression quand il y avait une biopsie liquide seule par rapport à une rebiopsie solide. Ainsi à la première rebiopsie le délai entre la constatation de la progression et la rebiopsie avait une médiane à 113 jours pour les techniques solides contre une médiane de 9 jours pour les biopsies liquides (**figure 20**).

Ensuite pour la deuxième rebiopsie le délai après progression avait une médiane à 13,5 jours pour les techniques solides contre une médiane de 9,5 jours pour une biopsie liquide.

Enfin pour la troisième rebiopsie le délai après progression avait une médiane de 12 jours pour les techniques solides et de 8,5 jours pour les biopsies liquides (**figure 20**).

Figure 20 : délai médian de la rebiopsie après constatations de la progression en fonction de la technique utilisée



e) Recherche de MET

Il y a eu 22 demandes de recherches d'altération de MET sur des rebiopsies solides soit 25% de l'ensemble des rebiopsies solides.

Il y avait 10 cas de surexpression de MET (score à 3+ en immuno-histochimie) et 2 cas d'amplification de MET.

Dans 2 cas la surexpression de MET était associée à une mutation de résistance T790M.

f) Conséquence thérapeutique

Si la rebiopsie était négative, les choix s'équilibraient avec dans 54% des cas un changement de thérapeutique et dans 46% des cas une poursuite du même traitement (**figure 20**). Les choix préférentiels étaient l'utilisation d'un TKI dans 43,3% des cas et d'une chimiothérapie dans 29,7% des cas. A noter que dans 10,8% des cas la thérapeutique était modifiée pour de l'Osimertinib (**figure 21**). Les autres techniques comportaient de la chirurgie, l'utilisation d'immunothérapie, des essais thérapeutiques ou radiothérapie.

Si la rebiopsie était positive, mais mutation T790M négative, un changement de traitement avait lieu dans 69% des cas. Les traitements étaient l'utilisation d'un TKI dans 39% des cas et l'utilisation de chimiothérapie dans 51% des cas. Les autres traitements (4%) comportaient chirurgie, essai clinique ou radiothérapie (**figure 21**).

Enfin si une mutation T790M était mise en évidence sur la rebiopsie un changement de thérapie était effectué dans 93,2% des cas avec une large utilisation de l'Osimertinib (72,7%). Les autres traitements s'équilibraient avec 13,6% de chimiothérapie, 11,3% d'autres TKI et 13,1% d'autres thérapeutiques (chirurgie, essai clinique) (**figure 21**).

Figure 20 : conséquence thérapeutique en fonction des résultats de la rebiopsie

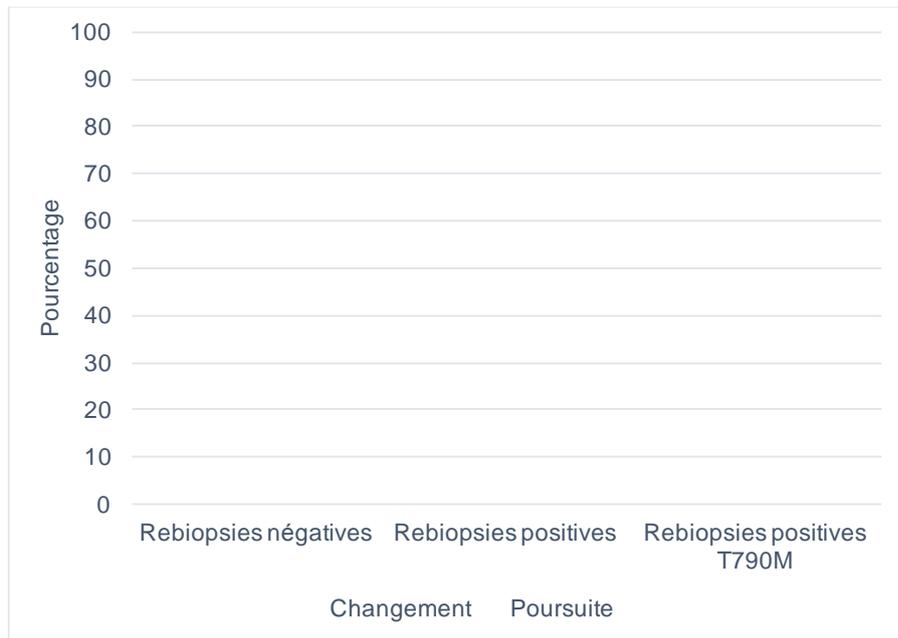
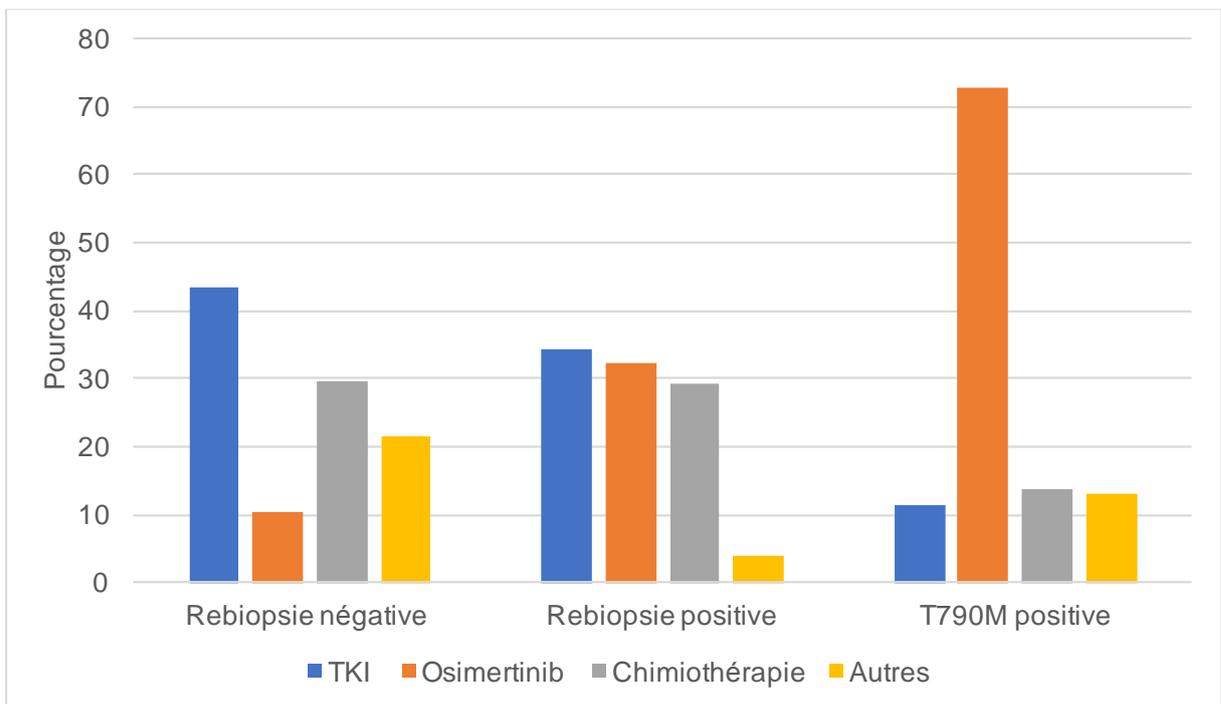


Figure 21 : Choix de thérapies en cas de changement en fonction du résultat de la rebiopsie



g) Comparaison des patients T790M+ et T790M- à la première rebiopsie

La mutation initiale seule était retrouvée chez 37 patients à la première rebiopsie tandis que la mutation T790M était mise en évidence chez 36 patients.

Il n'y avait pas de différence statistiquement significative sur l'âge, le sexe, le statut tabagique, le stade au diagnostic et le type de mutation initiale.

L'analyse statistique n'a pas pu être réalisée sur les traitements de première ligne du fait d'effectifs trop faible dans certaines catégories néanmoins dans le groupe patient T790M- plus de patient étaient traités par géfitinib et chimiothérapie tandis que dans le groupe T790M+ il y avait plus de traitement par erlotinib.

De façon statistiquement significative le délai de rebiopsie, qui était le délai entre la biopsie initiale et la rebiopsie est plus élevé dans le groupe T790M+ à 6,5 mois ($\pm 0,66$) contre 5,9 mois ($\pm 0,7$) dans le groupe T790M- ($p=0,0015$). De même le délai après instauration d'un TKI, qui était le délai entre l'instauration d'un traitement par TKI et la rebiopsie, était plus élevé dans le groupe T790M+ à 6,3 mois ($\pm 0,72$).

Les patients ayant bénéficié de plusieurs lignes de traitement étaient plus nombreux dans le groupe T790M+ ainsi que les patients ayant reçu de l'erlotinib, de manière statistiquement significative.

L'analyse statistique n'a pu être réalisée sur les traitements post-rebiopsie mais davantage de patients recevaient une chimiothérapie dans le groupe T790M- tandis que l'osimertinib s'imposait dans le groupe T790M+ (**tableau 3**).

Tableau 3 : comparaison des populations T790M négative et positive à la première rebiopsie

	T790M - n= 37	T790M+ n=36	p
Age	62,6 (±11,4)	58,6 (±11,6)	0,14
Sexe			
Homme n, (%)	16 (43,2)	12 (33,3)	0,38
Femme n (%)	21 (56,8)	24 (66,7)	
Tabac			
non, n (%)	25 (83,3)	25 (80,6)	0,78
oui n(%)	5 (16,7)	6 (19,4)	
Stade au diagnostic			
I n(%)	1 (3,3)	1 (3,2)	
II n(%)	3 (10)	4 (12,9)	
III n(%)	0	0	
IVa n(%)	5 (16,7)	5 (16,1)	
IVb n(%)	21 (70)	21 (67,7)	
Mutation initiale			
EGFR del exon 19, n(%)	26 (70,2)	28 (77,8)	0,46
EGFR exon 21, n (%)	9 (24)	8 (22,2)	
EGFR exon 20, n(%)	2 (5,4)	1 (2,8)	
Delais rebio (mois)	5,9 (±0,7)	6,5 (±0,66)	0,0015
Delais apres instauration TKI (mois)	5,8 (±0,75)	6,3 (±0,72)	0,0125
Traitement de première ligne			
chimiotherapie n(%)	11 (36,7)	7 (23,3)	
Gefitinib n(%)	12 (40)	7 (23,3)	
Erlotinib n(%)	3 (10)	11 (36,7)	
Afinatinib n(%)	2 (6,7)	2 (6,7)	
Autre traitement n(%)	2 (6,7)	3 (10)	
Plusieurs lignes de traitement			
non(%)	20 (66,7)	12 (40)	
oui n(%)	10 (33,3)	18 (60)	0,0384
erlotinib n(%)	3 (30)	13 (72)	0,0497
genfetinib n(%)	4 (40)	2 (11)	
afatinib n(%)	0	1(5)	
Technique solide de rebiopsie			0,0503
Fibroscopie, n(%)	16 (43,2)	12 (33,3)	
Echo-endoscopie, n(%)	2 (5,41)	5 (13,9)	
Ponction lombaire n(%)	8 (21,6)	1 (2,8)	
Autres techniques, n(%)	6 (16,2)	12 (33,3)	
Biopsie liquide, n(%)	11 (29,7)	10 (27,8)	0,85
Consequence du resultat			
changement de traitement, n(%)	23 (76,7)	29 (96,7)	0,0523
poursuite du meme traitement, n(%)	7 (23,3)	1 (3,3)	
Traitement post-rebiopsie			
chimiotherapie n(%)	17 (56,7)	4 (13,3)	
gefitinib n(%)	8 (26,7)	2 (6,7)	
erlotinib n(%)	3 (10)	1 (3,3)	
afatinib n(%)	1 (3,3)	0	
osimertinib, n(%)	0	22 (73,3)	
autre traitement n(%)	1 (3,3)	1 (3,3)	

Résultats exprimés en nombre (pourcentage) ou moyenne (± écart-type)

4) Patients avec réarrangement EML4-ALK

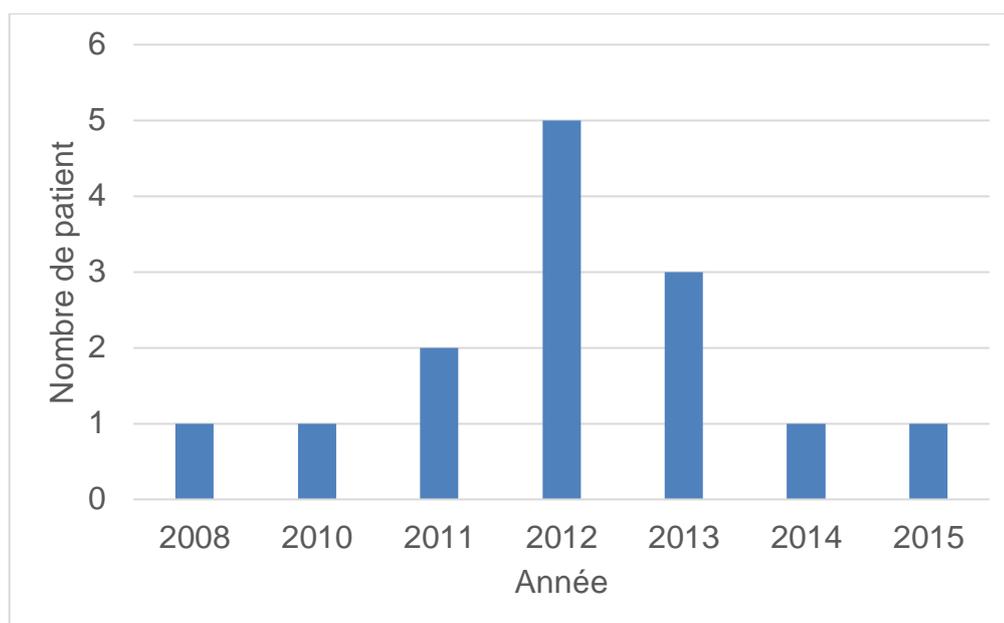
Quatorze patients présentaient un réarrangement EML4-ALK. Il y avait 8 hommes (57%) pour 6 femmes (43%). L'âge variait de 23 ans à 70 ans avec une moyenne à 52,6 ans. Tous les patients étaient non-fumeurs. Une large majorité des patients (72%) étaient diagnostiqués au stade IVb (métastase à distance). Le nombre moyen de rebiopsie par patient était de 1,6 (**tableau 4**).

Tableau 4 : Caractéristiques générales des patients EML4-ALK

Donnée	Valeur
Sexe	
Homme n (%)	8 (57)
Femme n (%)	6 (43)
Age	52,6 (\pm 14,3)
Statut tabagique	
Fumeur n (%)	0
Non fumeur n (%)	14 (100)
Karnofsky	90 (\pm 3,1)
Stade au diagnostic	
III n (%)	2 (14)
Iva n (%)	2 (14)
Ivb n (%)	10 (72)
Technique diagnostique	
Fibroscopie n (%)	7 (50)
Echo-endoscopie n (%)	2 (14)
Chirurgie n (%)	4 (29)
Pleuroscopie n (%)	1 (7)
Nombre rebiopsie	1,6 (\pm 0,7)

Résultats exprimés en nombre (pourcentage) ou moyenne (\pm écart-type)

Dix patients (72%) des patients EML4-ALK ayant eu au moins une rebiopsie ont été diagnostiqués entre 2011 et 2013 (**figure 22**).

Figure 22 : année du diagnostic des patients avec réarrangement ALK

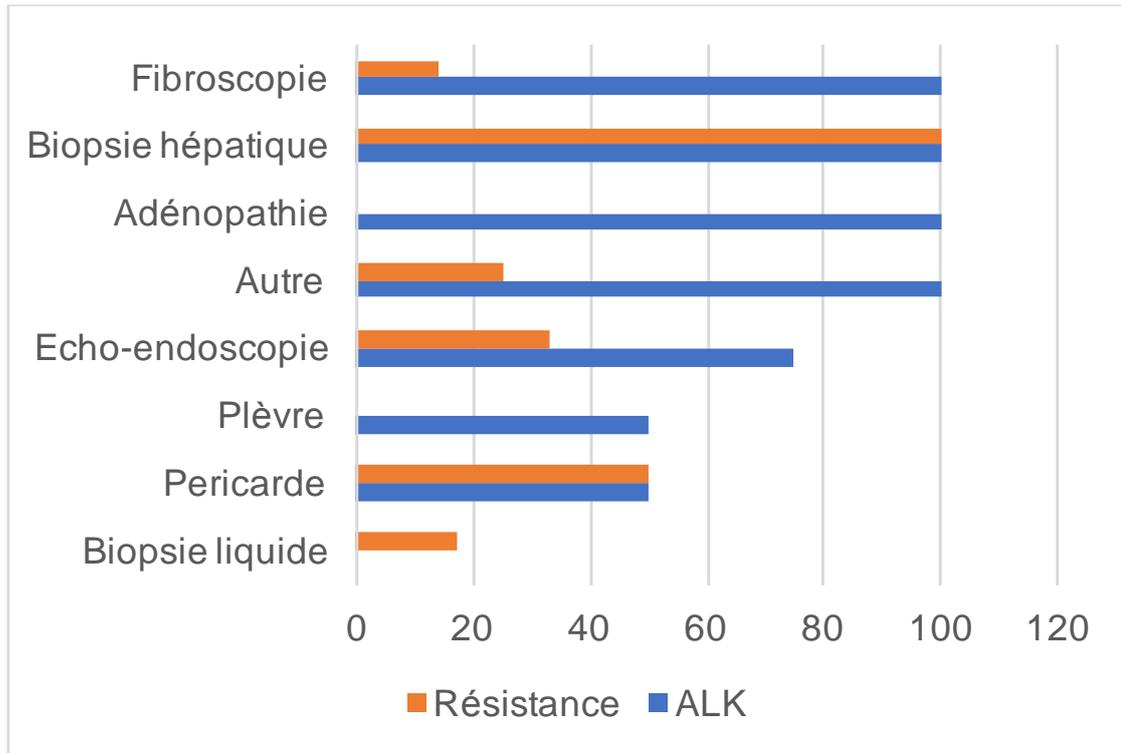
Il y a eu 22 rebiopsies solides et 6 biopsies liquides de patients réarrangés EML4-ALK. Sur les 22 rebiopsies solides 19 étaient positives pour EML4-ALK soit 86%.

Les différents prélèvements étaient les suivants :

- 7 fibroscopies bronchiques
- 3 écho-endoscopies
- 2 ponctions-biopsies hépatique
- 2 prélèvements pleuraux
- 2 prélèvements péricardique
- 2 chirurgie d'adénopathie
- 1 chirurgie thoracique
- 1 chirurgie cérébrale
- 1 prélèvement mammaire
- 1 prélèvement de péritoine

Les 3 biopsies solides négatives étaient dues à une absence de matériel tumoral (pour le liquide péricardique) et à un matériel tumoral insuffisant pour réaliser les analyses (1 écho-endoscopie et 1 ponction pleurale) (**Figure 23**).

Figure 23 : positivité des rebiopsies solides pour le réarrangement ALK et les mécanismes de résistance en fonction des techniques



Concernant les mécanismes de résistance il a été retrouvé :

- 2 mutations G1202R
- 1 mutation L1196M
- 1 mutation V1180L
- 1 mutation C1156Y
- 1 amplification de ALK

Les 2 prélèvements hépatiques ont permis de mettre en évidence un mécanisme de résistance ainsi qu'une fibroscopie bronchique, 1 écho-endoscopie, 1 prélèvement cérébral et un prélèvement de péricarde. Une biopsie liquide était positive à la mutation G1202R (réalisé de manière concomitante à une ponction-biopsie hépatique).

La mutation ROS1 a été recherché sur 4 rebiopsies (18%), les résultats étaient tous négatifs.

La recherche d'anomalie de MET a été effectuée sur 7 rebiopsies (32%), les résultats étaient négatifs pour 4 rebiopsies, une surexpression à 3+ pour 3 rebiopsies et aucune amplification n'a été mise en évidence.

Les mutations EGFR ont été recherchées sur toutes les rebiopsies solides et liquides et aucune n'avait de résultats positifs.

Le délai moyen entre la biopsie diagnostique et la première rebiopsie était de 507 jours (± 87).

Concernant les thérapeutiques tous les patients avaient un changement de traitement après leur rebiopsie quel que soit le résultat. Le manque de donnée clinique ne permet pas de précision concernant la thérapeutique engagée mais au moins 6 patients ont bénéficié de chimiothérapie et 7 autres de traitement anti-ALK de seconde génération.

Au 1^{er} Juillet 2016 7 patients étaient décédés et 7 vivants. Pour les patients décédés la moyenne de survie était de 34,9 mois ($\pm 19,6$) et pour les patients vivants la moyenne de survie était de 56 mois ($\pm 9,4$).

5) Autres mutations

Il y avait 6 patients avec mutation HER2, 2 patients avec mutation BRAF et 1 patient avec une mutation PIK3CA.

Les données cliniques étaient manquantes pour 6 patients sur 9.

a) Patients avec mutation HER2

L'âge variait de 52 à 68 ans pour une moyenne à 59 ans. Les patients étaient tous non-fumeur. Il y avait 5 femmes pour 1 homme.

Le diagnostic a été effectué par fibroscopie dans 50% des cas et par chirurgie pour les autres cas.

Les rebiopsies solides étaient toutes positives pour HER2, les techniques étaient les suivantes :

- 2 fibroscopies
- 1 écho-endoscopie
- 1 ponction-biopsie hépatique
- 1 chirurgie de métastase cérébrale
- 1 ponction lombaire

Il n'y a eu qu'une biopsie liquide dont le résultat était négatif.

b) Patients avec mutations BRAF

Seulement 2 patients présentaient une mutation V600E de BRAF. Il s'agissait de deux hommes de 82 et 83 ans et d'une femme de 60 ans, tous les 3 étaient diagnostiqués au stade IVb au moyen d'une fibroscopie.

Deux rebiopsies ont été positives pour la même mutation une par ponction-biopsie hépatique et une autre par écho-endoscopie. Une rebiopsie liquide s'est avérée négative.

c) Patient avec la mutation PIK3CA

Il s'agissait d'une patiente de 60 ans non fumeuse, diagnostiquée au stade métastatique IVb par une ponction-biopsie hépatique.

La rebiopsie avait consisté en une ponction de liquide d'ascite 5 mois après le diagnostic et retrouvait une mutation PIK3CA associée à une mutation KRAS.

Discussion

Peu d'études se sont attachées à étudier les rebiopsies solides et liquides des patients porteurs d'addiction oncogénique. Dans notre étude 87 biopsies solides ont été réalisées chez les patients mutés EGFR toutes techniques confondues. Dans 82,8% des cas le matériel tumoral était suffisant pour réaliser les analyses moléculaires. D'autres études concernant les rebiopsies solides uniquement retrouvaient des taux de positivité similaires, l'étude de Sun et al (37) affichait un taux de positivité des biopsies à 89,4% et l'étude française de Chouaid et al (38) un taux de 72,5%.

Dans notre étude les rebiopsies des métastases pulmonaires ne permettaient pas une mise en évidence systématique de mutation EGFR alors que dans ce travail assez peu de biopsies n'autorisaient pas une analyse correcte des prélèvements (13 sur 82). Il existait des disparités selon les techniques ainsi les prélèvements par ponction-biopsie hépatique ou chirurgie thoracique étaient très rentables dans la mise en évidence de mécanisme de résistance par contre les chirurgies de surrenale ou les prélèvements de plèvre ne retrouvaient la mutation initiale que dans moins de 60% des cas. D'autres techniques telles que la ponction lombaire se montraient réellement efficaces pour la mise en évidence de mutation de l'EGFR mais était médiocres lorsqu'il s'agissait de trouver la mutation T790M.

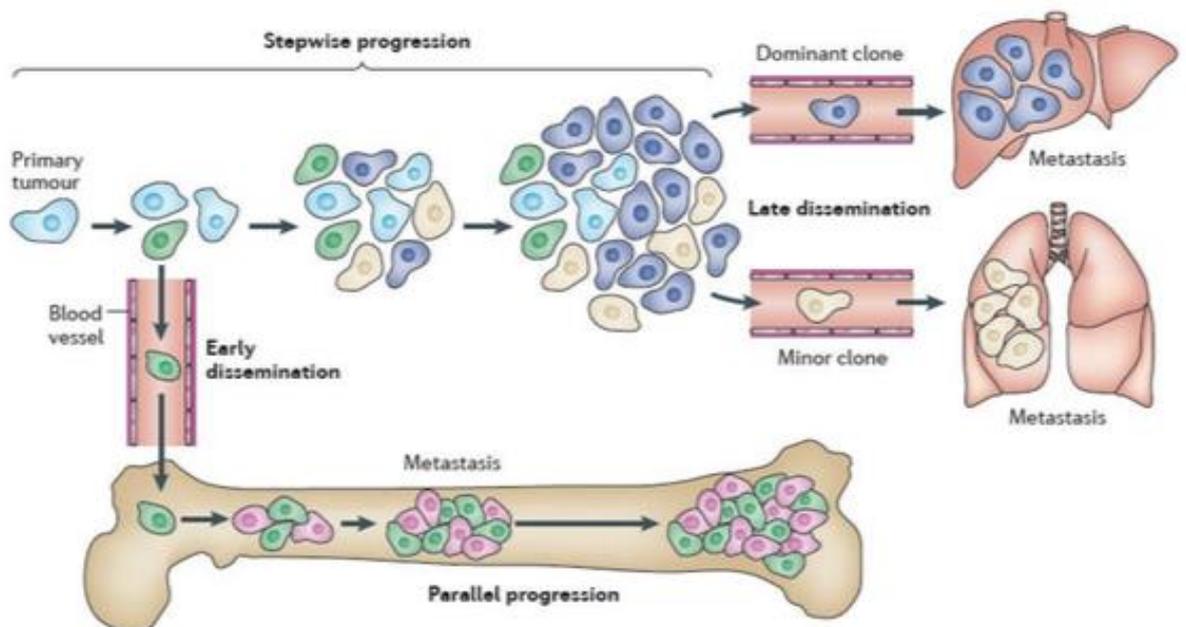
Hata et al (39) a étudié les biopsies multiples chez les patients avec mutation EGFR et T790M. Sur 12 prélèvements de LCS 10 étaient négatifs pour la mutation de T790M alors qu'elle était présente sur d'autres sites de biopsie. Il existait donc une hétérogénéité spatiale de la mutation. La barrière hémato-encéphalique pourrait expliquer ce phénomène car elle limite la diffusion des TKI au niveau cérébral, or la présence d'une mutation T790M dépend de l'exposition des cellules néoplasiques EGFR mutés aux TKI (40). Ainsi les patients EGFR mutés présentant une méningite carcinomateuse présentent un moins bon pronostic (41). Des études ont étudiés l'intérêt de forte dose de TKI ou l'utilisation de dose « pulsé » de TKI afin d'améliorer la pénétration au niveau du système nerveux central (42,43). Actuellement il n'y a pas de consensus sur la meilleure thérapeutique à entreprendre.

Si le mécanisme est plutôt bien compris au niveau cérébral il est beaucoup moins clair pour les autres métastases. Assez peu d'étude se sont intéressées au sujet, une méta-analyse relativement récente (44) concluait même à une absence de différence significative entre le statut mutationnel de la tumeur primitive et des métastases. Cependant une majorité des études portant sur ce sujet semblait rapporter des différences de statut mutationnel que ce soit pour les prélèvements de plèvre (45) ou d'adénopathie (46) ou en général (Gow CH Annals of oncology 2007).

Différentes hypothèses peuvent expliquer ces différences. Premièrement il existerait une progression plus hétérogène des cellules tumorales métastatiques du fait d'une sélection clonale durant la progression tumorale (47,48). Ensuite on sait que les micrométastases apparaissent précocement dans les cancers, ainsi les tumeurs primitives et métastatiques évoluent indépendamment dans des environnements différents ce qui pourrait avoir des conséquences sur les caractéristiques génétiques de ces tumeurs (49,50). Enfin les clones responsables des métastases pourraient avoir un statut EGFR différent du fait de l'hétérogénéité intra tumorale du cancer primitif (51) (**figure 24**).

Il ne faut pas oublier que les techniques de biologie moléculaire de détection des mutations ont des sensibilités qui diffèrent. Il pourrait être intéressant d'adapter les techniques en fonction des tissus analysés.

Figure 24 : Schématisation des théories expliquant l'hétérogénéité tumorale (52)



L'un des moyens de s'affranchir des prélèvements de métastases et de l'hétérogénéité clonale serait l'utilisation des biopsies liquides qui théoriquement reflètent l'ensemble des sites tumoraux du patient. Dans notre étude la positivité des biopsies liquides pour toute mutation était de 60,6% ce qui correspondait aux données de la littérature puisqu'en fonction de la technique de biologie moléculaire utilisée la sensibilité variait de 36 à 100% (53). Lorsqu'une rebiopsie était contributive (identification d'une mutation) la mutation T790M était retrouvé dans 43% des cas alors que dans d'autres études les taux avoisinaient les 45% (54,55). Cette petite différence peut s'expliquer par le fait qu'au CHRU de Lille nous utilisons une technique d'ARMS qui est moins sensible que la technique de ddPCR utilisée dans les autres études. De même nous obtenons un taux de concordance biopsie solide-biopsie liquide de 59,1% pour toutes les mutations EGFR alors que d'autres études retrouvent des taux allant jusqu'à 96,5%(56) mais ces études utilisaient des techniques de détection plus sensibles et s'intégraient dans le cadre de la recherche clinique ou les pratiques pouvaient différer de notre activité quotidienne. D'autres hypothèses peuvent être évoquées, la progression tumorale au moment des biopsies pouvaient être faible ayant pour résultat une biopsie solide positive mais une biopsie liquide négative. De même la facilité d'utilisation des biopsies liquides pourrait avoir des conséquences. Un doute sur une progression tumorale ou une progression tumorale minime peut faire réaliser facilement une biopsie liquide qui rendrait des résultats plus souvent négatifs. La réalisation de biopsie solide est plus souvent réfléchi en fonction d'une progression manifeste du fait de son caractère invasif ce qui pourrait donner des résultats plus souvent positifs.

Cependant nous avons observé une concordance biopsie solide-biopsie liquide de 100% pour la mutation T790M alors que ce taux avoisinait les 66% dans une autre étude (55). Ce résultat pourrait s'expliquer d'une part par un effectif plus faible dans notre étude puisqu'il n'y avait que 44 cas de biopsies concomitantes et d'autre part par un biais de sélection puisque les cas de biopsie solide et liquide concomitantes ont toutes été réalisées fin 2015 et en 2016. Cette période pourrait correspondre à l'utilisation du NGS qui améliore quelque peu la sensibilité.

La mise en évidence d'une mutation EGFR sur une biopsie liquide n'est pas anodine et peut même avoir des conséquences thérapeutiques. Mok et al (57) a démontré que la réponse à un TKI était similaire si la mutation de l'EGFR avait été

mise en évidence sur une biopsie liquide ou solide. De même Remon et al (58) a montré que la présence de la mutation T790M sur les biopsies liquides (avec une biopsie solide non réalisable) était associée aux mêmes résultats en termes de réponse à l'osimertinib et de survie globale que les patients avec une mutation T790M positive sur une biopsie solide. En revanche, Oxnard et al. a montré qu'une biopsie liquide positive, alors que la biopsie tissulaire est négative, était associée à une moindre réponse à l'osimertinib (59). Ceci pourrait s'expliquer par l'hétérogénéité clonale des mécanismes de résistance, suggérant que certains sites tumoraux ne sont pas porteurs des mêmes mécanismes de résistance et ne sont donc pas sensibles aux mêmes traitements. Cependant, nous n'avons pas observé de tels cas dans notre cohorte sous réserve du nombre modéré de patients. Ces résultats posent néanmoins la question de la place de la biopsie liquide, et incitent à ne l'envisager que si la biopsie solide n'est pas réalisable.

L'utilisation de biopsie liquide est d'autant plus utile que l'état général du patient se détériore souvent au fur et à mesure de la maladie. Ainsi dans ce travail lorsque l'on réalise une 3^{ème} rebiopsie une étude sur ADN circulant est effectuée dans 83,3% des cas. Le délai de réalisation d'une rebiopsie liquide était plus court du fait de contrainte technique moindre. Il est aussi possible qu'arrivés à ce stade de la maladie les patients acceptent moins de réaliser des techniques invasives.

Quand on compare le délai médian entre la constatation d'une progression radiologique et la première rebiopsie il y avait 113 jours avant une rebiopsie solide contre 9 jours pour une biopsie liquide. Plusieurs éléments pourraient expliquer cette différence. D'abord la progression de la maladie peut initialement se faire sur un site tumoral non accessible à un prélèvement, ensuite il existe dans un certain nombre de cas des progressions oligométastatiques ou le traitement par TKI de 1^{ère} ligne n'est pas forcément remis en cause si le lieu de la progression est accessible à un traitement particulier (radiothérapie notamment) (60,61) et qui donc ne nécessite pas obligatoirement de prélèvement de tissu. De plus dans notre étude une partie des 1^{ères} rebiopsies a été effectuée avant que les biopsies liquides ne soient disponibles. Dans d'autres cas, une progression tumorale lente et non menaçante ne justifie pas forcément un changement thérapeutique, et peut donc être « tolérée » sous réserve d'une surveillance attentive. Enfin la facilité d'accès et de réalisation des biopsies liquides fait qu'elles sont rapidement proposées et effectuées.

Ces explications sont également validées par les délais qui séparent les rebiopsies passant de 469 jours entre la biopsie diagnostic et la première rebiopsie à 116 jours entre la 2^{ème} et 3^{ème} rebiopsie. Le moindre doute clinique ou radiologique peut faire réaliser une recherche de mutation sur ADN circulant s'il existe un impact thérapeutique. Par exemple lors d'une progression diffuse entraînant un changement de thérapie si un mécanisme de résistance est identifié la biopsie peut être intéressante. S'il s'agit d'une progression localisée accessible à un traitement spécifique comme la radiothérapie l'identification d'une résistance est moins indispensable et ne doit donc pas faire réaliser systématiquement une rebiopsie.

Ainsi au sujet de la recherche de mutations sur l'ADN tumoral circulant nous pourrions retenir les éléments suivants :

- Utilité lorsqu'un prélèvement tissulaire n'est pas disponible (non réalisable, bloc épuisé, tissu pauvre en cellules tumorales, ADN de mauvaise qualité).
- Les variations de sensibilités en fonction des techniques de biologie moléculaire utilisées ne permettent pas de se passer totalement des biopsies solides.
- Elle pourrait être utile dans le suivi d'efficacité de la maladie (62) avec un véritable monitoring de la présence des mutations (63). Néanmoins, il n'existe pas encore de recommandation sur le suivi « moléculaire » des patients EGFR-mutés, en raison notamment de l'absence de seuil à partir duquel une progression tumorale serait retenue. Et il faut par ailleurs prendre en compte le coût de ces analyses répétées.
- Un intérêt dans la détection précoce des progressions qu'il s'agisse d'une réapparition de la mutation initiale mais surtout pour la recherche de la présence d'une mutation de résistance (54).

L'intérêt pour les techniques de détection non-invasive, fiable et reproductible est important. Wakelee et al (64) en présentant les résultats de l'essai TIGER-X (rociletinib chez les patients avec une mutation T790M) a également étudié différents prélèvements pour détecter la mutation. Il y avait l'analyse du tissu, de l'ADN circulant et des urines. Ainsi la sensibilité de détection dans les urines par NGS était de 81% ouvrant la voie à d'autres possibilités.

Le but principal de la rebiopsie reste de mettre en évidence un mécanisme de résistance afin d'adapter au mieux les thérapeutiques. Ainsi la mise en évidence d'une mutation T790M dans notre étude aboutissait dans 93,2% des cas à un changement de traitement et majoritairement pour de l'Osimertinib (72,7% des cas). L'utilisation de ce TKI n'était pas de 100% car les patients étaient inclus depuis 2009 alors que ce traitement n'est disponible que depuis 2015. Il existait quelques cas où la mutation de résistance a été mise en évidence mais était déjà connu et où l'osimertinib était maintenu.

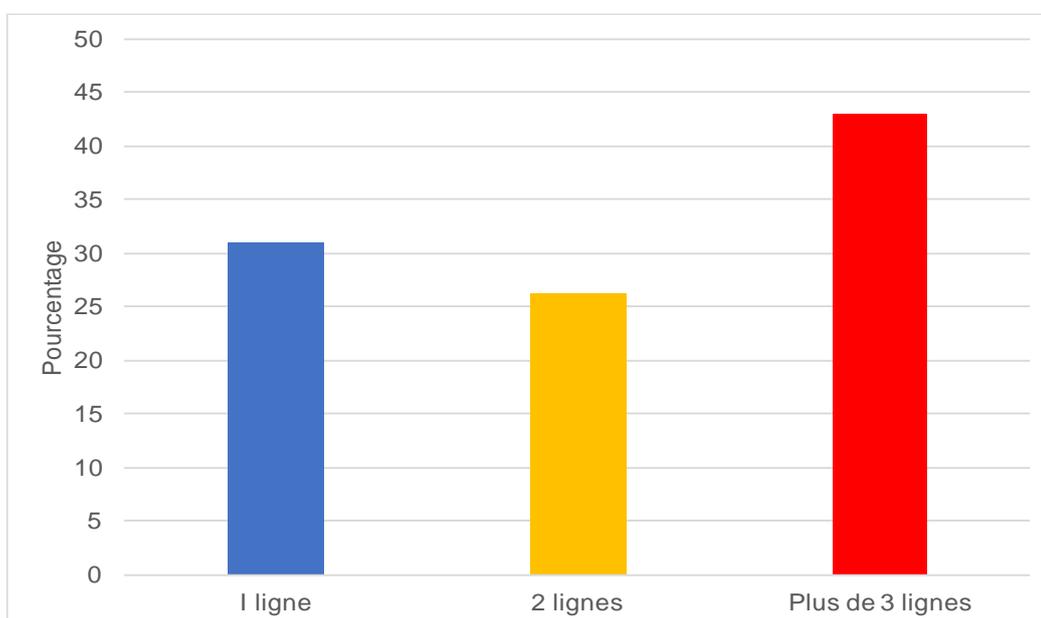
Lorsqu'une mutation hors T790M était mise en évidence le changement de thérapeutique restait la principale alternative avec une majorité de chimiothérapie. Néanmoins on observait la poursuite du traitement par le même TKI dans 31% des cas. Cette attitude n'est pas étonnante puisque l'on sait que lors de progression tumorale lente et sans menace clinique il existe un bénéfice à maintenir le TKI (65–67). De plus dans certains cas la progression se faisait sous forme oligométastatique ou l'on associait un traitement local (tel que la radiothérapie) au maintien du même TKI (68). L'utilisation large de TKI après mise en évidence d'une mutation EGFR sans mécanisme de résistance pourrait s'expliquer par certaines séquences thérapeutiques. Soit le patient avait bénéficié d'une chimiothérapie première et donc un relais par TKI est initié, soit il s'agissait d'une réintroduction de TKI après une séquence TKI-chimiothérapie. Quelques études ont montré, rétrospectivement, qu'il existait un avantage à reprendre un TKI en 3^{ème} ligne après avoir bénéficié d'un traitement ciblé en première ligne puis d'une chimiothérapie en seconde ligne du fait d'un phénomène de sélection de clones cellulaires sous la pression thérapeutique (69).

En comparant les patients T790M positifs et négatifs à la première rebiopsie il y avait peu d'éléments statistiquement significatifs. Les délais de rebiopsie ainsi que les délais après instauration d'un traitement par TKI étaient objectivement plus longs chez les patients T790M+ avec respectivement 6,5 mois et 6,3 mois. Sachant que la révélation d'une mutation de résistance dépend de l'exposition des cellules tumorales au TKI (40) il semble logique d'observer un délai plus long à la rebiopsie et après instauration d'un TKI chez ces patients. Les patients T790M positifs semblaient avoir bénéficié de plus de lignes de traitement (TKI et chimiothérapie confondus) confortant

l'hypothèse d'émergence d'un clone cellulaire suite à une pression de sélection (**figure 25**). Une donnée plus étonnante était la prédominance de traitement par erlotinib chez les patients T790M+, aucune étude n'a montré à ce jour que le traitement par erlotinib était associé à une émergence plus précoce de la mutation T790M. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que l'erlotinib était l'un des tout premier TKI commercialisé et donc largement utilisé au début de la période 2009-2016 de notre étude.

Des analyses statistiques n'ont pas pu être réalisées pour comparer les techniques de rebiopsies et de traitement post rebiopsie chez les patients T790M + et – du fait de faible effectif dans certaines sous catégories. Néanmoins il est flagrant que la ponction lombaire n'était pas une technique idéale pour mettre en évidence un mécanisme de résistance (8 dans le groupe T790M- vs 1 dans le groupe T790M+). De même qu'en traitement post rebiopsie la chimiothérapie était largement utilisé dans le groupe T790M- (17 patients vs 4) alors que l'osimertinib n'était utilisé que dans le groupe T790M+ (22 patients vs 0).

Figure 25 : Nombre de ligne de traitement reçu à la première biopsie positive pour la mutation T790M



La recherche d'autre mécanisme de résistance que T790M était assez décevante. La recherche d'anomalies de MET n'a été demandée que dans 25% des biopsies solides et il ne s'agissait que de patients suivis au CHRU ou en centre de lutte

contre le cancer. L'absence de thérapeutique en dehors d'essai clinique est probablement le principal facteur limitant.

Un patient avait la particularité de présenter une mutation KRAS sur une rebiopsie alors qu'il était porteur d'une mutation EGFR initialement. Ce cas est un exemple probant d'hétérogénéité tumorale.

Nous n'avons pas cherché les cas d'amplification d'HER2.

Parmi les 14 patients ALK 6 ont présentés un mécanisme de résistance après utilisation d'un TKI anti-ALK. Il existait une certaine hétérogénéité des mécanismes de résistance avec 2 mutations G1202R, 1 mutation L1196M, 1 mutation V1180L, 1 mutation C1156Y et 1 amplification de ALK. Une mutation liquide a permis de mettre en évidence une mutation G1202R avec utilisation d'un NGS.

Aucune mutation EGFR n'a été retrouvée chez l'ensemble des patients que ce soit sur une biopsie solide ou liquide.

Une analyse plus complète des conséquences thérapeutiques n'a pu être réalisée car il manquait plusieurs données cliniques néanmoins 6 patients ont bénéficié de chimiothérapie et 7 autres de traitement anti-ALK de seconde génération.

Une série de 103 biopsies à résistance des inhibiteurs d'ALK a été publiée récemment (70). Cette étude nous apprend que le taux de mutation diffère en fonction du traitement utilisé, variant de 20% pour le crizotinib à 71% pour le brigatinib. Les inhibiteurs d'ALK de seconde génération semblent donc avoir une meilleure activité. Actuellement le crizotinib a l'AMM en première ligne et le ceritinib peut être utilisé à progression. Il existe des cas de re-sensibilisation au crizotinib après utilisation de lorlatinib (71). Il semble cependant que les mécanismes de résistance des patients ALK ne soient pas aussi « simples » que pour les patients EGFR du fait de la possibilité de combinaison de mutation de résistance et de réponse différente aux inhibiteurs d'ALK de seconde génération.

Il y avait des données manquantes, notamment sur les traitements, pour les patients porteurs des autres mutations HER2, BRAF et PIK3CA.

Pour les patients HER2 toutes les rebiopsies sont revenues positives pour HER2 et négatives pour EGFR. Il existe peu de données sur d'éventuels mécanismes de résistance de même qu'il existe peu d'études sur les traitements à entreprendre.

Cependant Mazières et al (72) dans sa cohorte de 101 patients, 7% des patients présentaient une deuxième mutation (EGFR, ALK ou ROS1).

Il n'existait aucun élément sur d'éventuels mécanismes de résistance chez les patients porteurs d'une mutation BRAF. Le traitement par dabrafenib n'est pas encore recommandé en première ligne et des études s'intéressent à l'association dabrafenib-trametinib avec des résultats en phase 2 qui semblent intéressants (22).

Parmi les limites de l'étude, on peut retenir le caractère rétrospectif. Nous avons également sélectionné uniquement les patients chez qui les rebiopsies avaient été possibles et excluant de fait tous les autres patients ou une rebiopsie solide était envisagée mais non réalisée ne permettant pas d'apprécier la faisabilité des rebiopsies. Les techniques de biologie moléculaire n'ont pas été détaillées de même que l'apport du NGS dans les rebiopsies récentes. Il existe également de nombreuses données manquantes dans les population ALK, HER2, BRAF et PIK3CA.

CONCLUSION

Les rebiopsies ont démontré leur utilité et efficacité à mettre en évidence des mécanismes de résistance aux thérapies ciblées chez les patients porteurs d'addiction oncogéniques. Les techniques solides sont limitées par l'état général du patient, la localisation de la progression ainsi que par leur manque de reproductibilité. L'apport des biopsies liquides est majeur bien que leur sensibilité soit plus faible aux alentours de 60%. Leur caractère simple d'utilisation et le fait que l'on puisse réitérer les prélèvements à de faible intervalle sans gêne pour le patient les rendent indispensables.

Tout patient porteur d'une addiction oncogénique et dont la maladie progresse sous thérapie ciblée doit pouvoir bénéficier systématiquement d'une rebiopsie solide si elle est possible ou dans le cas contraire d'une biopsie liquide.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Locher C, Debieuvre D, Coëtmeur D, Goupil F, Molinier O, Collon T, et al. Major changes in lung cancer over the last ten years in France: the KBP-CPHG studies. *Lung Cancer Amst Neth*. 2013 Jul;81(1):32–8.
2. Boffetta P, Autier P, Boniol M, Boyle P, Hill C, Aurengo A, et al. An estimate of cancers attributable to occupational exposures in France. *J Occup Environ Med*. 2010 Apr;52(4):399–406.
3. Lynch TJ, Bell DW, Sordella R, Gurubhagavatula S, Okimoto RA, Brannigan BW, et al. Activating mutations in the epidermal growth factor receptor underlying responsiveness of non-small-cell lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med*. 2004 May 20;350(21):2129–39.
4. Barlesi F, Mazieres J, Merlio J-P, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *The Lancet*. 2016 Apr 8;387(10026):1415–26.
5. Ruppert A-M, Wislez M, Poulot V, Lacave R, Antoine M, Cadranel J. [A simple view on lung cancer biology: The EGFR pathway]. *Rev Mal Respir*. 2011 Apr;28(4):565–77.
6. Johnson BE, Jänne PA. Epidermal growth factor receptor mutations in patients with non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2005 Sep 1;65(17):7525–9.
7. Gibault L, Cazes A, Narjoz C, Blons H. [Molecular profiling of non-small cell lung cancer]. *Rev Pneumol Clin*. 2014 Apr;70(1–2):47–62.
8. Mok TS, Wu Y-L, Thongprasert S, Yang C-H, Chu D-T, Saijo N, et al. Gefitinib or carboplatin-paclitaxel in pulmonary adenocarcinoma. *N Engl J Med*. 2009 Sep 3;361(10):947–57.
9. Rosell R, Carcereny E, Gervais R, Vergnenegre A, Massuti B, Felip E, et al. Erlotinib versus standard chemotherapy as first-line treatment for European patients with advanced EGFR mutation-positive non-small-cell lung cancer (EURTAC): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2012 Mar;13(3):239–46.
10. Paz-Ares L, Tan E-H, O’Byrne K, Zhang L, Hirsh V, Boyer M, et al. Afatinib versus gefitinib in patients with EGFR mutation-positive advanced non-small-cell lung cancer: overall survival data from the phase IIb LUX-Lung 7 trial. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2017 Feb 1;28(2):270–7.
11. Yang JJ, Zhou Q, Yan HH, Zhang XC, Chen HJ, Tu HY, et al. A phase III randomised controlled trial of erlotinib vs gefitinib in advanced non-small cell lung cancer with EGFR mutations. *Br J Cancer*. 2017 Feb 28;116(5):568–74.
12. Soda M, Choi YL, Enomoto M, Takada S, Yamashita Y, Ishikawa S, et al. Identification of the transforming EML4-ALK fusion gene in non-small-cell lung cancer. *Nature*. 2007 Aug 2;448(7153):561–6.
13. Lin JJ, Riely GJ, Shaw AT. Targeting ALK: Precision Medicine Takes on Drug Resistance. *Cancer Discov*. 2017 Feb;7(2):137–55.
14. Rodig SJ, Mino-Kenudson M, Dacic S, Yeap BY, Shaw A, Barletta JA, et al. Unique clinicopathologic features characterize ALK-rearranged lung adenocarcinoma in the western population. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2009 Aug 15;15(16):5216–23.
15. Shaw AT, Kim D-W, Nakagawa K, Seto T, Crinó L, Ahn M-J, et al. Crizotinib versus

- chemotherapy in advanced ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2013 Jun 20;368(25):2385–94.
16. Solomon BJ, Mok T. First-line crizotinib in ALK-positive lung cancer. *N Engl J Med.* 2015 Feb 19;372(8):782.
 17. Shaw AT, Engelman JA. Ceritinib in ALK-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2014 Jun 26;370(26):2537–9.
 18. Stephens P, Hunter C, Bignell G, Edkins S, Davies H, Teague J, et al. Lung cancer: intragenic ERBB2 kinase mutations in tumours. *Nature.* 2004 Sep 30;431(7008):525–6.
 19. Mazières J, Peters S, Lepage B, Cortot AB, Barlesi F, Beau-Faller M, et al. Lung cancer that harbors an HER2 mutation: epidemiologic characteristics and therapeutic perspectives. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2013 Jun 1;31(16):1997–2003.
 20. Paik PK, Arcila ME, Fara M, Sima CS, Miller VA, Kris MG, et al. Clinical characteristics of patients with lung adenocarcinomas harboring BRAF mutations. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2011 May 20;29(15):2046–51.
 21. Gautschi O, Pauli C, Strobel K, Hirschmann A, Printzen G, Aebi S, et al. A patient with BRAF V600E lung adenocarcinoma responding to vemurafenib. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2012 Oct;7(10):e23-24.
 22. Planchard D, Kim TM, Mazieres J, Quoix E, Riely G, Barlesi F, et al. Dabrafenib in patients with BRAF(V600E)-positive advanced non-small-cell lung cancer: a single-arm, multicentre, open-label, phase 2 trial. *Lancet Oncol.* 2016 May;17(5):642–50.
 23. Chaft JE, Arcila ME, Paik PK, Lau C, Riely GJ, Pietanza MC, et al. Coexistence of PIK3CA and other oncogene mutations in lung adenocarcinoma-rationale for comprehensive mutation profiling. *Mol Cancer Ther.* 2012 Feb;11(2):485–91.
 24. Cortot AB, Jänne PA. Molecular mechanisms of resistance in epidermal growth factor receptor-mutant lung adenocarcinomas. *Eur Respir Rev.* 2014 Sep 1;23(133):356–66.
 25. Mok TS, Wu Y-L, Ahn M-J, Garassino MC, Kim HR, Ramalingam SS, et al. Osimertinib or Platinum-Pemetrexed in EGFR T790M-Positive Lung Cancer. *N Engl J Med.* 2017 16;376(7):629–40.
 26. Sequist LV, Waltman BA, Dias-Santagata D, Digumarthy S, Turke AB, Fidias P, et al. Genotypic and histological evolution of lung cancers acquiring resistance to EGFR inhibitors. *Sci Transl Med.* 2011 Mar 23;3(75):75ra26.
 27. Bauer TM, Schuler M, Berardi R, Lim W-T, Van Geel R, De Jonge M, et al. MINI01.03: Phase (Ph) I Study of the Safety and Efficacy of the cMET Inhibitor Capmatinib (INC280) in Patients with Advanced cMET+ NSCLC: Topic: Medical Oncology. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2016 Nov;11(11S):S257–8.
 28. Drilon A, Cappuzzo F, Ou S-HI, Camidge DR. Targeting MET in Lung Cancer: Will Expectations Finally Be MET? *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2017 Jan;12(1):15–26.
 29. Kim D-W, Mehra R, Tan DSW, Felip E, Chow LQM, Camidge DR, et al. Activity and safety of ceritinib in patients with ALK-rearranged non-small-cell lung cancer (ASCEND-1): updated results from the multicentre, open-label, phase 1 trial. *Lancet Oncol.* 2016 Apr;17(4):452–63.
 30. Crinò L, Ahn M-J, De Marinis F, Groen HJM, Wakelee H, Hida T, et al. Multicenter Phase II Study of Whole-Body and Intracranial Activity With Ceritinib in Patients With ALK-Rearranged Non-Small-Cell Lung Cancer Previously Treated With Chemotherapy and Crizotinib: Results From ASCEND-2. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol.* 2016 Aug 20;34(24):2866–73.
 31. Mandel P, Metais P. [Not Available]. *C R Seances Soc Biol Fil.* 1948 Feb;142(3–4):241–3.
 32. Bendich A, Wilczok T, Borenfreund E. CIRCULATING DNA AS A POSSIBLE

- FACTOR IN ONCOGENESIS. *Science*. 1965 Apr 16;148(3668):374–6.
33. Leon SA, Shapiro B, Sklaroff DM, Yaros MJ. Free DNA in the serum of cancer patients and the effect of therapy. *Cancer Res*. 1977 Mar;37(3):646–50.
 34. Stroun M, Lyautey J, Lederrey C, Olson-Sand A, Anker P. About the possible origin and mechanism of circulating DNA apoptosis and active DNA release. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2001 Nov;313(1–2):139–42.
 35. Jahr S, Hentze H, Englisch S, Hardt D, Fackelmayer FO, Hesch RD, et al. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells. *Cancer Res*. 2001 Feb 15;61(4):1659–65.
 36. Crowley E, Di Nicolantonio F, Loupakis F, Bardelli A. Liquid biopsy: monitoring cancer-genetics in the blood. *Nat Rev Clin Oncol*. 2013 Aug;10(8):472–84.
 37. Sun J-M, Rampal S, Lee G, Lee J, Choi Y-L, Parasuraman B, et al. Real world impact of epidermal growth factor receptor mutation status on treatment patterns in patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth*. 2013 May;80(2):191–6.
 38. Chouaid C, Dujon C, Do P, Monnet I, Madroszyk A, Le Caer H, et al. Feasibility and clinical impact of re-biopsy in advanced non small-cell lung cancer: a prospective multicenter study in a real-world setting (GFPC study 12-01). *Lung Cancer Amst Neth*. 2014 Nov;86(2):170–3.
 39. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, Kaji R, Masago K, Fujita S, et al. Spatiotemporal T790M Heterogeneity in Individual Patients with EGFR-Mutant Non-Small-Cell Lung Cancer after Acquired Resistance to EGFR-TKI. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2015 Nov;10(11):1553–9.
 40. Chmielecki J, Foo J, Oxnard GR, Hutchinson K, Ohashi K, Somwar R, et al. Optimization of dosing for EGFR-mutant non-small cell lung cancer with evolutionary cancer modeling. *Sci Transl Med*. 2011 Jul 6;3(90):90ra59.
 41. Hata A, Katakami N, Yoshioka H, Takeshita J, Tanaka K, Masago K, et al. Prognostic impact of central nervous system metastases after acquired resistance to EGFR-TKI: poorer prognosis associated with T790M-negative status and leptomeningeal metastases. *Anticancer Res*. 2015 Feb;35(2):1025–31.
 42. Grommes C, Oxnard GR, Kris MG, Miller VA, Pao W, Holodny AI, et al. “Pulsatile” high-dose weekly erlotinib for CNS metastases from EGFR mutant non-small cell lung cancer. *Neuro-Oncol*. 2011 Dec;13(12):1364–9.
 43. Kawamura T, Hata A, Takeshita J, Fujita S, Hayashi M, Tomii K, et al. High-dose erlotinib for refractory leptomeningeal metastases after failure of standard-dose EGFR-TKIs. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2015 Jun;75(6):1261–6.
 44. Wang S, Wang Z. Meta-analysis of epidermal growth factor receptor and KRAS gene status between primary and corresponding metastatic tumours of non-small cell lung cancer. *Clin Oncol R Coll Radiol G B*. 2015 Jan;27(1):30–9.
 45. Han H-S, Eom D-W, Kim JH, Kim K-H, Shin H-M, An JY, et al. EGFR mutation status in primary lung adenocarcinomas and corresponding metastatic lesions: discordance in pleural metastases. *Clin Lung Cancer*. 2011 Nov;12(6):380–6.
 46. Shimizu K, Yukawa T, Hiramami Y, Okita R, Saisho S, Maeda A, et al. Heterogeneity of the EGFR mutation status between the primary tumor and metastatic lymph node and the sensitivity to EGFR tyrosine kinase inhibitor in non-small cell lung cancer. *Target Oncol*. 2013 Dec;8(4):237–42.
 47. Sasatomi E, Finkelstein SD, Woods JD, Bakker A, Swalsky PA, Luketich JD, et al. Comparison of accumulated allele loss between primary tumor and lymph node metastasis in stage II non-small cell lung carcinoma: implications for the timing of lymph node metastasis and prognostic value. *Cancer Res*. 2002 May 1;62(9):2681–9.
 48. Klein CA. Gene expression signatures, cancer cell evolution and metastatic progression.

- Cell Cycle Georget Tex. 2004 Jan;3(1):29–31.
49. Klein CA. Parallel progression of primary tumours and metastases. *Nat Rev Cancer*. 2009;9(4):302–12.
50. Gray JW. Evidence emerges for early metastasis and parallel evolution of primary and metastatic tumors. *Cancer Cell*. 2003 Jul;4(1):4–6.
51. Nakano H, Soda H, Takasu M, Tomonaga N, Yamaguchi H, Nakatomi K, et al. Heterogeneity of epidermal growth factor receptor mutations within a mixed adenocarcinoma lung nodule. *Lung Cancer Amst Neth*. 2008 Apr;60(1):136–40.
52. Greaves M, Maley CC. CLONAL EVOLUTION IN CANCER. *Nature*. 2012 Jan 18;481(7381):306–13.
53. Qiu M, Wang J, Xu Y, Ding X, Li M, Jiang F, et al. Circulating tumor DNA is effective for the detection of EGFR mutation in non-small cell lung cancer: a meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomark Prev Publ Am Assoc Cancer Res Cosponsored Am Soc Prev Oncol*. 2015 Jan;24(1):206–12.
54. Murtaza M, Dawson S-J, Tsui DWY, Gale D, Forshew T, Piskorz AM, et al. Non-invasive analysis of acquired resistance to cancer therapy by sequencing of plasma DNA. *Nature*. 2013 May 2;497(7447):108–12.
55. Takahama T, Sakai K, Takeda M, Azuma K, Hida T, Hirabayashi M, et al. Detection of the T790M mutation of EGFR in plasma of advanced non-small cell lung cancer patients with acquired resistance to tyrosine kinase inhibitors (West Japan oncology group 8014LTR study). *Oncotarget*. 2016 Sep 6;7(36):58492–9.
56. Douillard J-Y, Ostoros G, Cobo M, Ciuleanu T, Cole R, McWalter G, et al. Gefitinib treatment in EGFR mutated caucasian NSCLC: circulating-free tumor DNA as a surrogate for determination of EGFR status. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2014 Sep;9(9):1345–53.
57. Mok T, Wu Y-L, Lee JS, Yu C-J, Sriuranpong V, Sandoval-Tan J, et al. Detection and Dynamic Changes of EGFR Mutations from Circulating Tumor DNA as a Predictor of Survival Outcomes in NSCLC Patients Treated with First-line Intercalated Erlotinib and Chemotherapy. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2015 Jul 15;21(14):3196–203.
58. Remon J, Menis J, Hasan B, Peric A, De Maio E, Novello S, et al. The APPLE Trial: Feasibility and Activity of AZD9291 (Osimertinib) Treatment on Positive PLasma T790M in EGFR-mutant NSCLC Patients. EORTC 1613. *Clin Lung Cancer*. 2017 Mar 1;
59. Oxnard GR, Thress KS, Alden RS, Lawrance R, Paweletz CP, Cantarini M, et al. Association Between Plasma Genotyping and Outcomes of Treatment With Osimertinib (AZD9291) in Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 2016 Oct 1;34(28):3375–82.
60. Yu HA, Sima CS, Huang J, Solomon SB, Rimner A, Paik P, et al. Local therapy with continued EGFR tyrosine kinase inhibitor therapy as a treatment strategy in EGFR-mutant advanced lung cancers that have developed acquired resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2013 Mar;8(3):346–51.
61. Weickhardt AJ, Scheier B, Burke JM, Gan G, Lu X, Bunn PA, et al. Local ablative therapy of oligoprogressive disease prolongs disease control by tyrosine kinase inhibitors in oncogene-addicted non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2012 Dec;7(12):1807–14.
62. Oxnard GR, Paweletz CP, Kuang Y, Mach SL, O’Connell A, Messineo MM, et al. Noninvasive detection of response and resistance in EGFR-mutant lung cancer using quantitative next-generation genotyping of cell-free plasma DNA. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2014 Mar 15;20(6):1698–705.
63. Sorensen BS, Wu L, Wei W, Tsai J, Weber B, Nexø E, et al. Monitoring of epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor-sensitizing and resistance mutations in the

- plasma DNA of patients with advanced non-small cell lung cancer during treatment with erlotinib. *Cancer*. 2014 Dec 15;120(24):3896–901.
64. Karlovich C, Goldman JW, Sun J-M, Mann E, Sequist LV, Konopa K, et al. Assessment of EGFR Mutation Status in Matched Plasma and Tumor Tissue of NSCLC Patients from a Phase I Study of Rociletinib (CO-1686). *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 2016 May 15;22(10):2386–95.
65. Nishino M, Dahlberg SE, Cardarella S, Jackman DM, Rabin MS, Ramaiya NH, et al. Volumetric tumor growth in advanced non-small cell lung cancer patients with EGFR mutations during EGFR-tyrosine kinase inhibitor therapy: developing criteria to continue therapy beyond RECIST progression. *Cancer*. 2013 Nov 1;119(21):3761–8.
66. Faehling M, Eckert R, Kamp T, Kuom S, Griese U, Sträter J, et al. EGFR-tyrosine kinase inhibitor treatment beyond progression in long-term Caucasian responders to erlotinib in advanced non-small cell lung cancer: a case-control study of overall survival. *Lung Cancer Amst Neth*. 2013 Jun;80(3):306–12.
67. Asami K, Okuma T, Hirashima T, Kawahara M, Atagi S, Kawaguchi T, et al. Continued treatment with gefitinib beyond progressive disease benefits patients with activating EGFR mutations. *Lung Cancer Amst Neth*. 2013 Mar;79(3):276–82.
68. Conforti F, Catania C, Toffalorio F, Duca M, Spitaleri G, Barberis M, et al. EGFR tyrosine kinase inhibitors beyond focal progression obtain a prolonged disease control in patients with advanced adenocarcinoma of the lung. *Lung Cancer Amst Neth*. 2013 Sep;81(3):440–4.
69. Chang G-C, Tseng C-H, Hsu K-H, Yu C-J, Yang C-T, Chen K-C, et al. Predictive factors for EGFR-tyrosine kinase inhibitor retreatment in patients with EGFR-mutated non-small-cell lung cancer - A multicenter retrospective SEQUENCE study. *Lung Cancer Amst Neth*. 2017 Feb;104:58–64.
70. Gainor JF, Dardaei L, Yoda S, Friboulet L, Leshchiner I, Katayama R, et al. Molecular Mechanisms of Resistance to First- and Second-Generation ALK Inhibitors in ALK-Rearranged Lung Cancer. *Cancer Discov*. 2016 Oct;6(10):1118–33.
71. Shaw AT, Friboulet L, Leshchiner I, Gainor JF, Bergqvist S, Brooun A, et al. Resensitization to Crizotinib by the Lorlatinib ALK Resistance Mutation L1198F. *N Engl J Med*. 2016 Jan 7;374(1):54–61.
72. Mazières J, Barlesi F, Filleron T, Besse B, Monnet I, Beau-Faller M, et al. Lung cancer patients with HER2 mutations treated with chemotherapy and HER2-targeted drugs: results from the European EUHER2 cohort. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 2016 Feb;27(2):281–6.

ANNEXES

Annexe 1 : Echelle de Karnofsky

100 - normal, aucunes évidence de maladie

90 - capable d'assurer une activité normale, signes mineurs de maladie

80 - capable exécuter une activité normale mais avec effort ; quelques signes apparents de la maladie

70 - peut assurer ses soins, mais incapable d'exécuter une activité normale ou de faire un travail actif

60 - dépendance occasionnelle, exige l'assistance occasionnelle mais est capable d'assurer la plupart de ses propres besoins

50 - dépendance totale, exige une assistance considérable et un soin médical fréquent

40 - exige un soin spécial et une assistance, statut de handicap

30 - l'hospitalisation est indiquée, même si la mort n'est pas tout de suite, handicap sévère

20 - hospitalisation nécessaire, très malade, traitement positif actif exigé.

10 - le processus fatal progresse rapidement ; moribond

Annexe 2 : Classification TNM du cancer broncho-pulmonaire

7^{ème} édition de la classification TNM (2009) proposée par l'IASLC :

- **T : tumeur primitive**

- **Tx** = tumeur ne pouvant être évaluée ou étant démontrée par la présence de cellules malignes dans les expectorations ou un lavage bronchique, sans visualisation de la tumeur par des examens d'endoscopie ou d'imagerie
- **T0** = pas d'évidence de tumeur primitive
- **Tis** = carcinome in situ
- **T1** = tumeur de 3cm ou moins dans sa plus grande dimension, entourée par le poumon ou la plèvre viscérale, sans évidence bronchoscopique d'invasion plus proximale que la bronche lobaire (c'est-à-dire pas la bronche souche)
 - T1a = tumeur de 2cm ou moins dans sa plus grande dimension
 - T1b = tumeur de plus de 2cm sans dépasser 3cm dans sa plus grande dimension
- **T2** = tumeur de plus de 3cm sans dépasser 7cm dans sa plus grande dimension ou présentant des caractéristiques suivantes :
 - atteinte de la bronche souche à 2cm ou plus de la carène
 - invasion de la plèvre viscérale
 - présence d'une atélectasie ou d'une pneumopathie obstructive s'étendant à la région hilare sans atteindre l'ensemble du poumon
 - **T2a** = tumeur de plus de 3cm sans dépasser 5cm dans sa plus grande dimension
 - **T2b** = tumeur de plus de 5cm sans dépasser 7cm dans sa plus grande dimension
- **T3** = tumeur de plus de 7cm ; ou envahissant directement une des structures suivantes : paroi thoracique (y compris syndrome de Pancoast-Tobias), diaphragme, nerf phrénique, plèvre médiastinale, péricarde ; ou une tumeur dans la bronche souche à moins de 2cm de la carène sans l'envahir ; ou associée à une atélectasie ou une pneumopathie obstructive du poumon entier ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans le même lobe
- **T4** = tumeur de toute taille envahissant directement une des structures suivantes : médiastin, cœur, gros vaisseaux, trachée, nerf laryngé récurrent, œsophage, corps vertébral, carène ; ou présence d'un nodule tumoral distinct dans un autre lobe ipsilatéral

- **N : ganglions lymphatiques régionaux**

- **Nx** = ganglions ne pouvant être évalués
- **N0** = pas de métastase ganglionnaire lymphatique régional
- **N1** = métastase dans les ganglions lymphatiques péri-bronchiques, hilaires et/ou intrapulmonaire du côté du poumon atteint, y compris par envahissement direct
- **N2** = métastase dans les ganglions lymphatiques médiastinaux et/ou sous-carénaux du côté du poumon atteint
- **N3** = métastase dans les ganglions lymphatiques médiastinaux ou hilaires controlatéraux, scalènes ou sus-claviculaires

- **M : métastase à distance**

- **Mx** = métastase à distance ne pouvant être évaluée
- **M0** = pas de métastase à distance
- **M1** = métastase à distance
 - M1a = nodule tumoral distinct dans un lobe controlatéral ; tumeur avec nodules pleuraux ou épanchement pleural malin ou péricardique
 - M1b = métastase(s) extrathoracique(s)

Annexe 3 : stades du cancer-broncho-pulmonaire

7^{ème} édition de la classification TNM (2009) proposée par l'IASLC : stades TNM :

Nouvelle classification TNM	N0	N1	N2	N3
T1a	IA	IIA	IIIA	IIIB
T1b	IA	IIA	IIIA	IIIB
T2a	IB	IIA	IIIA	IIIB
T2b	IIA	IIB	IIIA	IIIB
T3	IIB	IIIA	IIIA	IIIB
T4	IIIA	IIIA	IIIB	IIIB
M1a et b	IV	IV	IV	IV

Source : O. Bylicki, J.-M. Pelsoni, J.-M. Dot. Classification TNM 2009, la 7^{ème} édition en pratique. 2013 ; revue des Maladies Respiratoires.

AUTEUR : Nom : Nunes

Prénom : David

Date de Soutenance : 22/05/2017

Titre de la Thèse : Rebiopsies des cancers broncho-pulmonaires non à petites cellules présentant une addiction oncogénique.

Thèse - Médecine - Lille 2017

Cadre de classement : Oncologie thoracique

DES + spécialité : Pneumologie

Mots-clés : Cancer broncho-pulmonaire, rebiopsies, EGFR, ADN tumoral circulant, résistance, T790M

Contexte : Les patients atteints d'un cancer broncho-pulmonaire présentant une addiction oncogénique peuvent bénéficier de thérapies ciblées, les inhibiteurs de tyrosine kinase, plus efficaces que les chimiothérapies usuelles. Une progression est systématique après plusieurs mois de traitement du fait d'apparition de mécanisme de résistance. L'objectif est d'étudier les différentes techniques de rebiopsies et leurs résultats.

Méthode : Il s'agissait d'une étude rétrospective. Les patients ont été identifiés via la plateforme de biologie moléculaire du CHRU de Lille. Etait inclus tout patient présentant une addiction oncogénique, à l'exception des mutations KRAS, ayant bénéficié d'au moins une rebiopsie.

Résultats : Il y avait 95 patients mutés EGFR, 14 réarrangements EML4-ALK, 6 mutations HER2, 3 mutations BRAF et 1 mutation PIK3CA. Parmi les patients mutés EGFR, un mécanisme de résistance a été identifié chez 48 patients (50,5%) incluant 49 mutations T790M, 2 amplifications de MET, 1 transformation en carcinome à petites cellules, 1 mutation C797S et 1 mutation KRAS. Il y a eu 87 rebiopsies solides et 70 biopsies liquides des patients mutés EGFR. Une mutation EGFR était retrouvé dans 85% des biopsies solides et 60,6% des biopsies liquides. Une mutation T790M était retrouvé dans 36,8% des biopsies solides et 25,3% des biopsies liquides. Il y avait une concordance de 88,6% entre les résultats des biopsies solides et liquides des mutés EGFR. L'utilisation des biopsies liquides était de plus en plus fréquente au fur et à mesure du temps et des rebiopsies. Les ponctions biopsies hépatiques et chirurgie de métastase (sauf intra-thoracique, surrénalienne et adénopathies) étaient les plus rentables pour mettre en évidence la mutation T790M alors que les ponctions lombaires étaient décevantes. Parmi les réarrangements EML4-ALK les résistances identifiées étaient 2 mutation G1202R, 1 mutation L1196M, 1 mutation V1180L, 1 mutation C1156Y et 1 amplification de ALK. Il n'y a pas eu de mécanisme de résistance mis en évidence pour les autres mutations

Conclusion : La recherche de mécanisme de résistance à progression sous thérapie ciblée par rebiopsie est faisable et rentable chez une majorité de patients. La recherche sur tissu solide est la plus rentable, mais les biopsies liquides sont une alternative intéressante.

Composition du Jury :

Président : Pr A.Scherpereel

Assesseurs : Pr MC.Copin, Pr A.Cortot, Dr F.Escande, Dr F.Wallyn