

Atlanta & Chicago 2019. La recherche sur les cancers rares : tumeurs germinales du testicule

Atlanta & Chicago 2019. Research on Rare Cancers: Testicular Germ Cell Tumors

D. Grazziotin-Soares · J.-P. Lotz

© Lavoisier SAS 2019

Cette année, lors de l'AACR, les travaux présentés sur les maladies testiculaires ont essentiellement porté sur la recherche de biomarqueurs pronostiques ou prédictifs de réponse aux traitements ainsi que sur les mécanismes de résistance aux platines. Des altérations détectées dans l'ADN tumoral circulant (ADNtc) ont ainsi contribué à identifier des tumeurs résistantes aux chimiothérapies. En parallèle, à Chicago, le congrès de la Société américaine d'oncologie a permis la présentation des premiers résultats d'une étude clinique de phase II utilisant l'avélumab et de plusieurs autres travaux abordant la qualité de vie des patients ayant survécu à un cancer du testicule. L'analyse du déclin des marqueurs tumoraux et de l'expression des protéines de réparation de l'ADN a également été présentée lors d'une phase II comparant la combinaison standard BEP (bléomycine, étoposide et cisplatine) et le traitement expérimental TIP (paclitaxel, cisplatine et ifosfamide). Enfin, l'apparition de néoplasies secondaires, hématologiques ou solides, après traitement a été répertoriée chez 24 900 patients.

Le développement d'un biomarqueur et de son outil de mesure est très complexe. Dans le cas du cancer, la recherche de nouvelles stratégies thérapeutiques innovantes (combinaison de médicaments, thérapies alternatives, repositionnement des molécules déjà présentes sur le marché) capables de contourner les phénotypes de résistance qui surviennent suite au traitement des patients par les médicaments anticancéreux est un enjeu majeur.

D. Grazziotin-Soares (✉)
Service d'oncologie médicale, hôpital Tenon,
AP-HP Sorbonne Université,
Alliance pour la recherche en cancérologie (APREC),
4, rue de la Chine, F-75970 Paris, France
e-mail : daniele.grazziotin-soares@aphp.fr

J.-P. Lotz (✉)
Service d'oncologie médicale et de thérapie cellulaire,
Institut universitaire de cancérologie (IUC),
hôpital Tenon, AP-HP Sorbonne Université,
4, rue de la Chine, F-75970 Paris, France
e-mail : jean-pierre.lotz@aphp.fr

Lorsque le cancer est rare, cela devient encore plus problématique. Le nombre réduit de patients atteints de la maladie et la diversité des mécanismes impliqués dans les phénomènes de chimiorésistance peuvent éloigner les Big Pharma de la recherche de nouveaux biomarqueurs, notamment lorsque les coûts de développement sont jugés excessifs au regard des retours financiers escomptés. Néanmoins, le développement de nouvelles stratégies thérapeutiques capables de contourner les phénotypes de résistance, de ralentir leur émergence ou de prédire leur survenue est strictement lié à l'identification de nouveaux biomarqueurs.

Le cancer germinal du testicule (GCT) est rare puisqu'il concerne 1 à 2 % seulement des cancers de l'homme [1]. De plus, les tumeurs du testicule sont considérées comme chimiosensibles, car 85 % des patients peuvent être guéris par chimiothérapie [2]. Malgré un taux de guérison déjà considérablement élevé des tumeurs germinales métastatiques traitées par une chimiothérapie, il subsiste encore 10 à 20 % des patients qui rechutent [3]. Environ la moitié de ces patients peuvent être sauvés par le traitement à hautes doses de chimiothérapie (HDCT) avec support de cellules souches extraites du sang périphérique [4]. Néanmoins, une rechute après la HDCT conduit à un pronostic très sombre. Il existe donc un besoin urgent de développer des traitements alternatifs pour ces patients.

À l'AACR, dans la session « Initiation et promotion tumorale », un poster sur le facteur de transcription HOXA10 a présenté le rôle clé de ce dernier dans la prolifération de cellules tumorales du testicule [5]. *HOXA10* est un gène codant pour une classe de facteurs de transcription appelés *homeobox*. L'expression de ces protéines est régulée spatialement et temporellement au cours du développement embryonnaire. Les chercheurs de l'université de Toronto ont étudié l'expression de *HOXA10* et la régulation de ses voies de signalisation dans les cancers du testicule. Des techniques d'immunohistochimie et d'immunofluorescence ont été réalisées pour mesurer l'expression et la localisation cellulaire de *HOXA10* dans des tissus cancéreux des patients et dans des modèles cellulaires du testicule (cellules TCam2, NT-2

et NCCIT). Après avoir analysé 5 tumeurs bénignes, 96 séminomes, 8 tumeurs spermatocytaires et 17 non-séminomes, les auteurs ont pu montrer qu'une expression nucléaire réduite et une expression cytoplasmique accrue de *HOXA10* sont associées au cancer du testicule. Ces changements ont été cohérents dans les séminomes et les non-séminomes. En effet, bien que fortement exprimé dans les spermatocytes de testicules bénins, *HOXA10* avait une expression nucléaire extrêmement faible ou nulle dans tous les testicules cancéreux.

Ensuite, des cellules tumorales infectées par un lentivirus avec expression contrôlée de *HOXA10* ont été utilisées pour l'analyse des phases du cycle cellulaire. Après synchronisation des cellules en phase G0 ou G2/M, il a été montré que la surexpression de *HOXA10* a inhibé la prolifération des cellules tumorales du testicule en empêchant la progression du cycle cellulaire de cellules G2/M. En conclusion, ce travail a montré qu'une localisation modifiée de *HOXA10* est associée au GCT et qu'une perte de fonction canonique de *HOXA10* nucléaire se traduit par une signalisation augmentée des voies impliquées dans la prolifération tumorale et par une augmentation du cycle cellulaire par dérégulation du point de contrôle G2/M. Néanmoins, fait très intéressant, il est peu probable que les niveaux d'expression de *HOXA10* soient utiles comme un biomarqueur, car l'expression absolue de *HOXA10* reste inchangée dans les tumeurs germinales du testicule. Cependant, étant donné que *HOXA10* perd souvent ses fonctions canoniques dans ces tumeurs, il serait intéressant d'étudier si les effecteurs en aval de *HOXA10* sont détectés cliniquement.

Dans la session « dérégulation de modification d'histones », une équipe de l'université de l'Illinois a présenté un poster sur les mécanismes de résistance au cisplatine [6]. Pour cela, ils ont généré plusieurs clones cellulaires avec une résistance acquise au cisplatine. Des lignées cellulaires parentales NT2/D1, 833K et 2102EP ont été traitées par cisplatine en utilisant un protocole *in vitro* conçu pour imiter le schéma thérapeutique standard du cisplatine utilisé pour traiter les patients atteints de cancer du testicule. Après confirmation de la résistance au cisplatine, les chercheurs ont étudié le profil transcriptomique de l'ARN par la technique de séquençage de l'ARN (RNA-seq). De façon remarquable, le profil de transcription fondé sur le RNA-seq a révélé des altérations très significatives partagées entre la majorité des cellules résistantes, quelle que soit leur cellule parentale d'origine. Cela inclut l'amplification de la région chromosomique 17q21-25 dans huit des dix lignées cellulaires. Sept lignées présentaient un enrichissement hautement significatif en gènes régulés par la méthylation de H3K27 et par le complexe polycomb répressif 2 (PRC2). Ce complexe a une activité histone-méthyltransférase, et son rôle principal est de triméthylérer l'histone H3 sur sa lysine 27 (H3K27me3) et ainsi de réguler la compaction de la chromatine et l'ex-

pression des gènes. En résumé, ce travail a présenté le rôle de la méthylation de PRC2 et de H3K27 dans la médiation de la résistance au cisplatine dans des lignées cellulaires et dans des échantillons de patients. Les auteurs suggèrent que la répression de la méthylation de H3K27 pourrait être un mécanisme de résistance acquise au cisplatine dans les tumeurs germinales et que la restauration de la fonction de la CRP2 pourrait constituer une approche viable pour surmonter la résistance. De plus, les modifications épigénétiques pourraient être utilisées comme biomarqueurs diagnostiques et pronostiques pour les tumeurs germinales du testicule. La méthylation de l'ADN, les modifications d'histones post-traductionnelles et les ARN non codants sont tous dysrégulés dans le cancer et sont détectables à des degrés divers dans les biopsies liquides.

Sachant que l'ADNtc offre un moyen non invasif de caractériser et de suivre l'ADN tumoral, 31 tumeurs de patients atteints de GCT et traités dans diverses institutions américaines ont été analysées par la plateforme Guardant360. Cette plateforme analyse les mutations ponctuelles présentes dans un total de 73 gènes, les « indels » présents dans 23 gènes, les amplifications (18 gènes) et fusions (6 gènes) géniques. Parmi les 31 patients atteints de GCT, 26 (84 %) ont montré la présence de 162 altérations touchant 41 gènes. Un nombre médian de trois altérations (1–19) par échantillon a été calculé. Parmi les 162 modifications identifiées, 88 étaient considérées comme pathologiques et détectables chez 20 patients (65 %). Il a été également établi que chez 12 patients (39 %) les altérations sont apparues après la mise en place d'un traitement systémique. Les altérations somatiques pathologiques les plus courantes affectaient les gènes *KRAS* ($n = 12/88$; 14 %), *CCND2* ($n = 8/88$; 9 %), *MET* ($n = 8/88$; 9 %), *CDK6* ($n = 7/88$; 8 %), *TP53* ($n = 6/88$; 7 %) et *RAF1* ($n = 5/88$; 6 %). Chez deux patients pour lesquels des échantillons ont été collectés en série, cinq nouvelles altérations pathologiques (acquises) ont pu être détectées dans leur second échantillon : *FGFR2*, *APC*, *CDK6*, *RAF1* et *MAPK1*. Ensemble, ces travaux ont permis d'identifier des altérations de l'ADNtc fréquemment détectées dans les GCT testiculaires résistants. Celles-ci semblent similaires aux altérations décrites précédemment dans les analyses du tissu tumoral des GCT testiculaires [7].

Dans un travail parallèle, des auteurs ont réalisé une recherche de biomarqueurs lors d'un essai clinique de phase II comparant la combinaison standard BEP avec le traitement expérimental TIP [8]. Dans cet essai, aucune différence dans les taux de réponse favorable entre les deux traitements pour les patients GCT à risque intermédiaire ou faible n'a pu être mise en évidence [9]. Des analyses d'immunohistochimie (IHC) pour *ERCC1*, *RAD51*, *PARP1*, *HER-2* et *p-AKT* ont par contre été réalisées sur des échantillons tumoraux avant traitement. Un score H (0–300) a été calculé pour chaque coloration (H = intensité de coloration

[0–3], x % de cellules positives [0–100]). Ce score ainsi que le profil de déclin des marqueurs (AFP, HCG) ont ainsi pu être corrélés aux réponses favorables (PR + CR) et à la survie sans récidive (PFS) des patients. L'ICH était positif ($H > 0$) pour PARP pour 68/73, ERCC1 pour 54/71, RAD51 pour 54/73, p-AKT pour 5/72 et HER2 pour 4/72 patients. Seule PARP1 était associée à une PFS plus dégradée pour le tiers des patients dont l'expression était la plus faible ($H < 180$; $p = 0,013$). Ce travail a ainsi montré que des études futures incluant le déclin des marqueurs dans l'attribution du traitement et la validation de la puissance pronostique de l'expression de PARP1 sont justifiées.

Dans la plus grande étude menée à ce jour sur la population américaine survivant à un cancer du testicule (24 900 patients), il a été rapporté une augmentation importante (6 %) du risque de développer des tumeurs solides et un risque de leucémie multiplié par 2. Ainsi, parmi les 24 900 survivants participant à l'étude, 1 625 ont développé un cancer secondaire solide, et 228 une néoplasie hémato-logique, parmi lesquelles on compte 107 lymphomes, 92 leucémies et 29 dyscrasies plasmocytaires. Les efforts visant à réduire au minimum l'exposition aux chimiothérapies et à réduire les doses de radiothérapie pendant la phase de traitement des cancers du testicule doivent donc se poursuivre. Les survivants devraient également être informés sur la prévention et le dépistage nécessaire au diagnostic de nouveaux cancers [10].

Enfin, chez huit patients atteints de GCT résistants aux platines, l'avérumab, un anticorps anti-PDL1, a été administré à une dose de 10 mg/kg toutes les deux semaines jusqu'à progression de la maladie ou survenue d'une toxicité importante. Dans cet essai, cinq tumeurs (62,5 %) étaient réfractaires aux platines, et cinq patients (62,5 %) présentaient des métastases viscérales non pulmonaires. Le critère de jugement principal était la PFS à 12 semaines. Avec une médiane de suivi de 2,6 mois (0,3–14,4), sept patients (87,5 %) ont présenté une progression de la maladie, et six (80,0 %) sont décédés. La SSP sur 12 semaines était de 0 %, la SSP médiane de 1,4 mois, IC 95 % (0,9–1,4) et la SG médiane de 2,7 mois, IC 95 % (1,0–3,3). Aucune réponse objective n'a ainsi pu être observée. L'avérumab a néanmoins été bien toléré, aucun effet indésirable grave n'ayant été observé.

Cette étude suggère un manque d'efficacité de l'avérumab dans les GCT résistants et réfractaires aux platines [11].

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

1. Park JS, Kim J, Elghiyat A, Ham WS (2018) Recent global trends in testicular cancer incidence and mortality. *Medicine (Baltimore)* 97:e12390
2. Feldman DR (2015) Update in germ cell tumors. *Curr Opin Oncol* 27:177–84
3. Beyer J, Albers P, Altena R, et al (2013) Maintaining success, reducing treatment burden, focusing on survivorship: highlights from the Third European Consensus Conference on diagnosis and treatment of germ-cell cancer. *Ann Oncol* 24:878–88
4. Selle F, Wittnebel S, Biron P, et al (2014) A phase II trial of high-dose chemotherapy (HDCT) supported by hematopoietic stem-cell transplantation (HSCT) in germ-cell tumors (GCTs) patients failing cisplatin-based chemotherapy: the multicentric TAXIF II study. *Ann Oncol* 25:1775–82
5. Chen R, Li H, Li Y, et al (2019) Loss of nuclear HOXA10 is associated with proliferation of testicular germ cell tumors. *Cancer Research* 79 (13 suppl; abstr 4646)
6. Singh R, Fazal Z, Bikorimana E, et al (2019) Epigenetic changes mediated by polycomb repressive complex 2 are associated with cisplatin-acquired resistance in testicular germ cell tumor. *Proceedings of the American Association for Cancer Research*, vol. 60, March, Poster 5188/6
7. Nassar A, Agarwal A, Nagy R, et al (2019) Circulating tumor (ct)-DNA alterations in patients with testicular germ tumors. *J Clin Oncol* 37 (suppl; abstr e16063)
8. Feldman DR, Hu JS, Patil S, et al (2019) Biomarkers of outcomes in a randomized phase II trial of first-line paclitaxel, ifosfamide, and cisplatin (TIP) versus bleomycin, etoposide, and cisplatin (BEP) for intermediate- and poor-risk germ cell tumors (GCT). *J Clin Oncol* 37 (suppl; abstr 4563)
9. Feldman DR, Hu J, Dorff TB, et al (2016) Paclitaxel, ifosfamide, and cisplatin efficacy for first-line of patients with intermediate- or poor-risk germ cell tumors. *J Clin Oncol* 34:2478–83
10. Abu Zaid MI, Milano MT, Dinh PC, et al (2019) Second solid (SMN) and hematologic malignant neoplasms (HMN) among 24,900 United States testicular cancer survivors (TCS) after chemotherapy (CHEM), radiotherapy (RT), or surgery only (SURG). *J Clin Oncol* 37 (suppl; abstr 11573)
11. Mego M, Svetlovska D, Chovanec M, et al (2019) Phase II study of avelumab in multiple relapsed/refractory testicular germ cell cancer. *J Clin Oncol* 37 (suppl; abstr e16045)