

UNIVERSITÉ TOULOUSE III – PAUL SABATIER
FACULTÉS DE MÉDECINE

ANNÉE 2021

2021 TOU3 1764

THÈSE

POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE
MÉDECINE SPÉCIALISÉE CLINIQUE

Présentée et soutenue publiquement

par

Samy RIGAL

le 08/11/2021

INTERET DU PANEL MOLECULAIRE FOUNDATION ONE CDX®
DANS LA PRATIQUE CLINIQUE A L'IUCT-ONCOPOLE :
ETUDE RETROSPECTIVE UNICENTRIQUE

Directeur de thèse : Dr Damien POUESSEL

JURY

Monsieur le Professeur Jean-Pierre DELORD

Madame le Professeur Rosine GUIMBAUD

Madame le Professeur Janick SELVES

Monsieur le Docteur Damien POUESSEL

Monsieur le Docteur Carlos GOMEZ-ROCA

Madame le Docteur Céline BASSET

Président

Assesseur

Assesseur

Assesseur

Suppléant

Membre invité

TABLEAU du PERSONNEL HOSPITALO-UNIVERSITAIRE
des Facultés de Médecine de l'Université Toulouse III - Paul Sabatier
au 1^{er} septembre 2021

Professeurs Honoraires

Doyen Honoraire	M. CHAP Hugues	Professeur Honoraire	M. FRAYSSE Bernard
Doyen Honoraire	M. GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur Honoraire	M. FREXINOS Jacques
Doyen Honoraire	M. LAZORTHES Yves	Professeur Honoraire	Mme GENESTAL Michèle
Doyen Honoraire	M. PUEL Pierre	Professeur Honoraire	M. GERAUD Gilles
Doyen Honoraire	M. ROUGE Daniel	Professeur Honoraire	M. GHISOLFI Jacques
Doyen Honoraire	M. VINEL Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. GLOCK Yves
Professeur Honoraire	M. ABBAL Michel	Professeur Honoraire	M. GOUZ Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. ADER Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. GRAND Alain
Professeur Honoraire	M. ADJOU Daniel	Professeur Honoraire	M. HOFF Jean
Professeur Honoraire	M. ARBUS Louis	Professeur Honoraire	M. JOFFRE Francis
Professeur Honoraire	M. ARLET Philippe	Professeur Honoraire	M. LAGOMME Yves
Professeur Honoraire	M. ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur Honoraire	M. LAGARRIGUE Jacques
Professeur Honoraire	M. ARNE Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. LANG Thierry
Professeur Honoraire	M. BARRET André	Professeur Honoraire	Mme LARENG Marie-Blandhe
Professeur Honoraire	M. BARTHÉ Philippe	Professeur Honoraire	M. LAURENT Guy
Professeur Honoraire	M. BAYARD Francis	Professeur Honoraire	M. LAZORTHES Franck
Professeur Honoraire	M. BLANCHER Antoine	Professeur Honoraire	M. LEOPHONTE Paul
Professeur Honoraire	M. BOCCALON Henri	Professeur Honoraire	M. MAGNAVAL Jean-François
Professeur Honoraire	M. BONAFÉ Jean-Louis	Professeur Honoraire	M. MALÉCAZE François
Professeur Honoraire	M. BONEU Bernard	Professeur Honoraire	M. MANELFE Claude
Professeur Honoraire	M. BONNEVILLE Paul	Professeur Honoraire	M. MANSAT Michel
Professeur Honoraire	M. BOUNHOURE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. MASSIP Patrice
Professeur Honoraire	M. BOUTAULT Franck	Professeur Honoraire	Mme MARTY Nicole
Professeur Honoraire	M. BUGAT Roland	Professeur Honoraire	M. MAZIERES Bernard
Professeur Honoraire	M. CAHUZAC Jean-Philippe	Professeur Honoraire	M. MONROZIES Xavier
Professeur Honoraire	M. CARATERO Claude	Professeur Honoraire	M. MOSCOVICI Jacques
Professeur Honoraire	M. CARLES Pierre	Professeur Honoraire	M. MURAT
Professeur Honoraire	M. CARON Philippe	Professeur Honoraire	M. OLIVES Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CARRIERE Jean-Paul	Professeur Honoraire	M. PARINAUD Jean
Professeur Honoraire	M. CARTON Michel	Professeur Honoraire	M. PASCAL Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. CATHALA Bernard	Professeur Honoraire	M. PESSEY Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. CHABANON Gérard	Professeur Honoraire	M. PLANTE Pierre
Professeur Honoraire	M. CHAMONTIN Bernard	Professeur Honoraire	M. PONTONNIER Georges
Professeur Honoraire	M. CHAVOIN Jean-Pierre	Professeur Honoraire	M. POURRAT Jacques
Professeur Honoraire	M. CLANET Michel	Professeur Honoraire	M. PRADERE Bernard
Professeur Honoraire	M. CONTE Jean	Professeur Honoraire	M. PRIS Jacques
Professeur Honoraire	M. COSTAGLIOLA Michel	Professeur Honoraire	Mme PUEL Jacqueline
Professeur Honoraire	M. COTONAT Jean	Professeur Honoraire	M. PUJOL Michel
Professeur Honoraire	M. DABERNAT Henri	Professeur Honoraire	M. QUERLEU Denis
Professeur Honoraire	M. DAHAN Marcel	Professeur Honoraire	M. RAILHAC Jean-Jacques
Professeur Honoraire	M. DALOUS Antoine	Professeur Honoraire	M. REGIS Henri
Professeur Honoraire	M. DALY-SCHWEITZER Nicolas	Professeur Honoraire	M. REGNIER Claude
Professeur Honoraire	M. DAVID Jean-Frédéric	Professeur Honoraire	M. REME Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. DELSOL Georges	Professeur Honoraire	M. ROCHE Henri
Professeur Honoraire	Mme DELISLE Marie-Bernadette	Professeur Honoraire	M. ROCHICCIOLI Pierre
Professeur Honoraire	Mme DIDIER Jacqueline	Professeur Honoraire	M. ROLLAND Michel
Professeur Honoraire	M. DUCOS Jean	Professeur Honoraire	M. ROQUE-LATRILLE Christian
Professeur Honoraire	M. DUFFAUT Michel	Professeur Honoraire	M. RUMEAU Jean-Louis
Professeur Honoraire	M. DUPRE M.	Professeur Honoraire	M. SALVADOR Michel
Professeur Honoraire	M. DURAND Dominique	Professeur Honoraire	M. SALVAYRE Robert
Professeur Honoraire associé	M. DUTAU Guy	Professeur Honoraire	M. SARRAMON Jean-Pierre
Professeur Honoraire	M. ESCANDE Michel	Professeur Honoraire	M. SIMON Jacques
Professeur Honoraire	M. ESCHAPASSE Henri	Professeur Honoraire	M. SUC Jean-Michel
Professeur Honoraire	M. ESCOURROU Jean	Professeur Honoraire	M. THOUVENOT Jean-Paul
Professeur Honoraire	M. ESQUERRE J.P.	Professeur Honoraire	M. TKACZUK Jean
Professeur Honoraire	M. FABIÉ Michel	Professeur Honoraire	M. TREMOULET Michel
Professeur Honoraire	M. FABRE Jean	Professeur Honoraire	M. VALDIGUIE Pierre
Professeur Honoraire	M. FOURNIAL Gérard	Professeur Honoraire	M. VAYSSE Philippe
Professeur Honoraire	M. FOURNIE Bernard	Professeur Honoraire	M. VIRENQUE Christian
Professeur Honoraire	M. FOURTANIER Gilles	Professeur Honoraire	M. VOIGT Jean-Jacques

Professeurs Émérites

Professeur ADER Jean-Louis	Professeur LAGARRIGUE Jacques
Professeur ARBUS Louis	Professeur LANG Thierry
Professeur ARLET Philippe	Professeur LAURENT Guy
Professeur ARLET-SUAU Elisabeth	Professeur LAZORTHES Yves
Professeur BOCCALON Henri	Professeur MAGNAVAL Jean-François
Professeur BOUTAULT Franck	Professeur MANELFE Claude
Professeur BONEU Bernard	Professeur MARCHOU Bruno
Professeur CARATERO Claude	Professeur MASSIP Patrice
Professeur CHAMONTIN Bernard	Professeur MAZIERES Bernard
Professeur CHAP Hugues	Professeur MOSCOVICI Jacques
Professeur CONTE Jean	Professeur MURAT
Professeur COSTAGLIOLA Michel	Professeur RISCHMANN Pascal
Professeur DABERNAT Henri	Professeur RIVIERE Daniel
Professeur DELISLE Marie-Bernadette	Professeur ROQUES-LATRILLE Christian
Professeur FRAYSSE Bernard	Professeur SALVAYRE Robert
Professeur GRAND Alain	Professeur SARRAMON Jean-Pierre
Professeur GUIRAUD-CHAUMEIL Bernard	Professeur SERRE Guy
Professeur JOFFRE Francis	Professeur SIMON Jacques

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-PURPAN

37 allées Jules Guesde - 31000 TOULOUSE

Doyen : Didier CARRIE

P.U. - P.H.

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1^{ère} classe

2^{ème} classe

M. AMAR Jacques (C.E)	Thérapeutique	Mme BONGARD Vanina	Epidémiologie
M. ATTAL Michel (C.E)	Hématologie	M. BONNEVILLE Nicolas	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M. AVET-LOISEAU Hervé (C.E.)	Hématologie, transfusion	M. BUSCAL Etienne	Chirurgie viscérale et digestive
Mme RAUZY Odile	Médecine Interne	Mme CASPER Charlotte	Pédiatrie
M. BIRMES Philippe	Psychiatrie	M. COGNARD Christophe	Neuroradiologie
M. BOSSAVY Jean-Pierre (C.E)	Chirurgie Vasculaire	M. CAVAIGNAC Etienne	Chirurgie orthopédique et traumatologie
M. BROUCHET Laurent	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire	M. DELMAS Clément	Cardiologie
M. BROUSSET Pierre (C.E)	Anatomie pathologique	M. GUBERT Nicolas	Pneumologie, Addictologie
M. BUREAU Christophe	Hépat-Gastro-Entéro	M. HERIN Fabrice	Médecine et Santé au Travail
M. CALVAS Patrick (C.E)	Génétique	M. LAIREZ Olivier	Biophysique et médecine nucléaire
M. CARRERE Nicolas	Chirurgie Générale	M. LAROCHE Michel	Rhumatologie
M. CARRIE Didier (C.E)	Cardiologie	M. LEOBON Bertrand	Chirurgie Thoracique et Cardiaque
M. CHAIX Yves	Pédiatrie	M. LOPEZ Raphaël	Anatomie
Mme CHARPENTIER Sandrine	Médecine d'urgence	M. MARTIN-BLONDEL Guillaume	Maladies infectieuses, maladies tropicales
M. CHAUVEAU Dominique	Néphrologie	M. MARX Mathieu	Oto-rhino-laryngologie
M. CHOLLET François (C.E)	Neurologie	M. OLIVOT Jean-Marc	Neurologie
M. DE BOISSEZON Xavier	Médecine Physique et Réadapt. Fond.	M. PAGES Jean-Christophe	Biologie Cellulaire et Cytologie
M. DEGUINE Olivier (C.E)	Oto-rhino-laryngologie	Mme PASQUET Marlène	Pédiatrie
M. DUCOMMUN Bernard	Cancérologie	M. PORTIER Guillaume	Chirurgie Digestive
M. FERRERES Jean (C.E)	Epidémiologie, Santé Publique	Mme RUYSEN-WITRAND Adeline	Rhumatologie
M. FOURCADE Olivier	Anesthésiologie	Mme SAVAGNER Frédérique	Biochimie et biologie moléculaire
M. FOURNIÉ Pierre	Ophthalmologie	M. SIZUN Jacques	Pédiatrie
M. GAME Xavier	Urologie	Mme TREMOLLIÈRES Florence	Biologie du développement
M. GEERAERTS Thomas	Anesthésiologie et réanimation	Mme VAYSSE Charlotte	Cancérologie
M. IZOPET Jacques (C.E)	Bactériologie-Virologie	Mme VEZZOSI Delphine	Endocrinologie
Mme LAMANT Laurence (C.E)	Anatomie Pathologique		
M. LANGIN Dominique (C.E)	Nutrition		
M. LAUQUE Dominique (C.E)	Médecine d'urgence		
M. LAUWERS Frédéric	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie		
M. LIBLAU Roland (C.E)	Immunologie		
M. MALAVALD Bernard	Urologie		
M. MANSAT Pierre	Chirurgie Orthopédique		
M. MAS Emmanuel	Pédiatrie		
M. MAZIERES Julien	Pneumologie		
M. MOLINIER Laurent	Epidémiologie, Santé Publique		
M. MONTASTRUC Jean-Louis (C.E)	Pharmacologie		
Mme MOYAL Elisabeth (C.E)	Cancérologie		
Mme NOURHASHEMI Fatemeh (C.E)	Gériatrie		
M. OSWALD Eric (C.E)	Bactériologie-Virologie		
M. PARENTE Jérémie	Neurologie		
M. PAUL Carle (C.E)	Dermatologie		
M. PAYOUX Pierre	Biophysique		
M. PAYRASTRE Bernard (C.E)	Hématologie		
M. PERON Jean-Marie	Hépat-Gastro-Entérologie		
M. PERRET Bertrand (C.E)	Biochimie		
M. RASCOL Olivier (C.E)	Pharmacologie		
M. RECHER Christian (C.E)	Hématologie		
M. RISCHMANN Pascal (C.E)	Urologie		
M. RONCALLI Jérôme	Cardiologie		
M. SALES DE GAUZY Jérôme (C.E)	Chirurgie Infantile		
M. SALLES Jean-Pierre (C.E)	Pédiatrie		
M. SANS Nicolas	Radiologie		
Mme SELVES Janick	Anatomie et cytologie pathologiques		
M. SOL Jean-Christophe	Neurochirurgie		
M. TELMON Norbert (C.E)	Médecine Légale		
		Professeurs des Universités de Médecine générale	
		M. MESTHÉ Pierre	
		M. OUSTRIC Stéphane (C.E)	
		Professeurs Associés Médecine générale	
		M. CHICOLLA Bruno	
		M. POUTRAIN Jean-Christophe	
		Professeur Associé en Bactériologie - Virologie; Hygiène Hospitalière	
		Mme MALAVALD Sandra	

FACULTE DE MEDECINE TOULOUSE-RANGUEIL

133, route de Narbonne - 31062 TOULOUSE Cedex

Doyen : Elie SERRANO

P.U. - P.H.

P.U. - P.H.

Classe Exceptionnelle et 1^{ère} classe

2^{ème} classe

M. ACAR Philippe Pédiatrie
 M. ACCADBLED Franck Chirurgie Infantile
 M. ALRIC Laurent (C.E) Médecine Interne
 Mme ANDRIEU Sandrine Epidémiologie
 M. ARBUS Christophe Psychiatrie
 M. ARNAL Jean-François Physiologie
 Mme BERRY Isabelle (C.E) Biophysique
 M. BONNEVILLE Fabrice Radiologie
 M. BUJAN Louis (C. E) Urologie-Andrologie
 Mme BURA-RIVIERE Alessandra Médecine Vasculaire
 M. BUSCAÏL Louis (C.E) Hépato-Gastro-Entérologie
 M. CANTAGREL Alain (C.E) Rhumatologie
 M. CHAUFOUR Xavier Chirurgie Vasculaire
 M. CHAYNES Patrick Anatomie
 M. CHRON Philippe (C.E) Chirurgie Orthopédique et Traumatologie
 M. CONSTANTIN Arnaud Rhumatologie
 M. COURBON Frédéric Biophysique
 Mme COURTADE SAIDI Monique Histologie Embryologie
 M. DAMBRIN Camille Chirurgie Thoracique et Cardiovasculaire
 M. DELABESSE Eric Hématologie
 M. DELOBEL Pierre Maladies Infectieuses
 M. DELORD Jean-Pierre Cancérologie
 M. DIDIER Alain (C.E) Pneumologie
 Mme DULY-BOUHANICK Béatrice (C.E) Thérapeutique
 M. ELBAZ Meyer Cardiologie
 M. GALINIER Michel (C.E) Cardiologie
 Mme GOMEZ-BROUCHET Anne-Muriel Anatomie Pathologique
 M. GOURDY Pierre Endocrinologie
 M. GROLLEAU RAOUX Jean-Louis (C.E) Chirurgie plastique
 Mme GUMBAUD Rosine Cancérologie
 Mme HANAIRE Héliène (C.E) Endocrinologie
 M. HUYGHE Eric Urologie
 M. KAMAR Nassim (C.E) Néphrologie
 M. LARRUE Vincent Neurologie
 M. LEVADE Thierry (C.E) Biochimie
 M. MARQUE Philippe Médecine Physique et Réadaptation
 M. MAURY Jean-Philippe Cardiologie
 Mme MAZEREUW Juliette Dermatologie
 M. MINVILLE Vincent Anesthésiologie Réanimation
 M. OTAL Philippe Radiologie
 M. RAYNAUD Jean-Philippe (C.E) Psychiatrie Infantile
 M. RITZ Patrick (C.E) Nutrition
 M. ROLLAND Yves (C.E) Gériatrie
 M. ROUGE Daniel (C.E) Médecine Légale
 M. ROUSSEAU Hervé (C.E) Radiologie
 M. ROUX Franck-Emmanuel Neurochirurgie
 M. SALLER Laurent Médecine Interne
 M. SCHMITT Laurent (C.E) Psychiatrie
 M. SENARD Jean-Michel (C.E) Pharmacologie
 M. SERRANO Elie (C.E) Oto-rhino-laryngologie
 M. SOULAT Jean-Marc Médecine du Travail
 M. SOULIE Michel (C.E) Urologie
 M. SUC Bertrand Chirurgie Digestive
 Mme TAUBER Marie-Thérèse (C.E) Pédiatrie
 Mme URO-COSTE Emmanuelle Anatomie Pathologique
 M. VAYSSIERE Christophe Gynécologie Obstétrique
 M. VELLAS Bruno (C.E) Gériatrie

M. ABBO Olivier Chirurgie infantile
 M. AUSSEIL Jérôme Biochimie et biologie moléculaire
 M. BERRY Antoine Parasitologie
 M. BOUNES Vincent Médecine d'urgence
 Mme BOURNET Barbara Gastro-entérologie
 M. CHAPUT Benoit Chirurgie plastique et des brûlés
 M. CORRE Jili Hématologie, Transfusion
 Mme DALENC Florence Cancérologie
 M. DE BONNECAZE Guillaume Anatomie
 M. DECRAMER Stéphane Pédiatrie
 M. EDOUARD Thomas Pédiatrie
 Mme FARUCH-BILFELD Marie Radiologie et Imagerie Médicale
 M. FAGUER Stanislas Néphrologie
 M. FRANCHITTO Nicolas Addictologie
 Mme GARDETTE Virginie Epidémiologie
 M. GARRIDO-STÓWHAS Ignacio Chirurgie Plastique
 M. GUILLEMINAULT Laurent Pneumologie
 Mme LAPRIE Anne Radiothérapie
 M. LAURENT Camille Anatomie Pathologique
 M. LEANDRI Roger Biologie du dével. et de la reproduction
 M. LE CAIGNEC Cédric Génétique
 M. MARCHEIX Bertrand Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
 Mme MARTINEZ Alejandra Cancérologie, Radiothérapie
 M. MEYER Nicolas Dermatologie
 M. MUSCARI Fabrice Chirurgie Digestive
 M. PUGNET Grégory Médecine interne, Gériatrie
 M. REINA Nicolas Chirurgie orthopédique et traumatologique
 M. RENAUDINEAU Yves Immunologie
 M. SAVALL Frédéric Médecine Légale et Droit de la Santé
 M. SILVA SIFONTES Stein Réanimation
 M. SOLER Vincent Ophtalmologie
 Mme SOMMET Agnès Pharmacologie
 Mme SOTO-MARTIN Maria-Eugénia Gériatrie et biologie du vieillissement
 M. TACK Ivan Physiologie
 M. VERGEZ Sébastien Oto-rhino-laryngologie
 M. YRONDI Antoine Psychiatrie d'Adultes ; Addictologie
 M. YSEBAERT Loïc Hématologie

Professeur des Universités de Médecine générale

Mme ROUGE-BUGAT Marie-Eve

M.C.U. - P.H.		M.C.U. - P.H.	
M. APOIL Pol Andre	Immunologie	Mme ABRAVANEL-LEGRAND Florence	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme ARNAUD Catherine	Epidémiologie	Mme BASSET Céline	Cytologie et histologie
Mme AUSSEIL-TRUDEL Stéphanie	Biochimie et Biologie Moléculaire	Mme BREHIN Camille	Pédiatrie
Mme BELLIERE-FABRE Julie	Néphrologie	Mme CAMARE Caroline	Biochimie et biologie moléculaire
Mme BERTOLI Sarah	Hématologie, transfusion	M. CAMBUS Jean-Pierre	Hématologie
M. BIETH Eric	Génétique	Mme CANTERO Anne-Valérie	Biochimie
Mme CASPAR BAUGUIL Sylvie	Nutrition	Mme CARFAGNA Luana	Pédiatrie
Mme CASSAGNE Myriam	Ophthalmologie	Mme CASSOL Emmanuelle	Biophysique
Mme CASSAING Sophie	Parasitologie	M. CHASSAING Nicolas	Génétique
Mme CHANTALAT Elodie	Anatomie	M. CLAVEL Cyril	Biologie Cellulaire
M. CONGY Nicolas	Immunologie	Mme COLOMBAT Magali	Anatomie et cytologie pathologiques
Mme COURBON Christine	Pharmacologie	M. DEDOUIT Fabrice	Médecine Légale
M. CUROT Jonathan	Neurologie	M. DEGBOE Yannick	Rhumatologie
Mme DAMASE Christine	Pharmacologie	M. DELPLA Pierre-André	Médecine Légale
Mme De GLISEZENSKY Isabelle	Physiologie	M. DESPAS Fabien	Pharmacologie
M. DUBOIS Damien	Bactériologie Virologie Hygiène	Mme ESQUIROL Yolande	Médecine du travail
Mme FILLAUX Judith	Parasitologie	Mme EVRARD Solène	Histologie, embryologie et cytologie
M. GANTET Pierre	Biophysique	Mme FLOCH Pauline	Bactériologie-Virologie; Hygiène Hospit.
Mme GENNERO Isabelle	Biochimie	Mme GALINIER Anne	Nutrition
Mme GENDOUX Annelise	Biochimie et biologie moléculaire	Mme GALLINI Adeline	Epidémiologie
M. HAMDJ Safouane	Biochimie	M. GASQ David	Physiologie
Mme HITZEL Anne	Biophysique	M. GATIMEL Nicolas	Médecine de la reproduction
M. IRIART Xavier	Parasitologie et mycologie	Mme GRARE Marion	Bactériologie Virologie Hygiène
Mme JONCA Nathalie	Biologie cellulaire	M. GUERBY Paul	Gynécologie-Obstétrique
M. KIRZIN Sylvain	Chirurgie générale	Mme GUILBEAU-FRUGIER Céline	Anatomie Pathologique
Mme LAPEYRE-MESTRE Maryse	Pharmacologie	Mme GUYONNET Sophie	Nutrition
M. LHERMUSIER Thibault	Cardiologie	Mme INGUENEAU Cécile	Biochimie
M. LHOMME Sébastien	Bactériologie-virologie	M. LEPAGE Benoit	Biostatistiques et Informatique médicale
Mme MASSIP Céline	Bactériologie-virologie	Mme MAUPAS SCHWALM Françoise	Biochimie
Mme MONTASTIER-SIMMERMAN Emille	Nutrition	M. MEUSSET Roger	Biologie du dével. et de la reproduction
M. MONTASTRUC François	Pharmacologie	M. MOULIS Guillaume	Médecine interne
Mme MOREAU Jessika	Biologie du dével. et de la reproduction	Mme NASR Nathalie	Neurologie
Mme MOREAU Marion	Physiologie	Mme QUELVEN Isabelle	Biophysique et Médecine Nucléaire
Mme NOGUEIRA M.L.	Biologie Cellulaire	M. REVET Alexis	Pédopsychiatrie, Addictologie
Mme PERROT Aurore	Hématologie ; Transfusion	M. RMAILHO Jacques	Anatomie et Chirurgie Générale
M. PILLARD Fabien	Physiologie	Mme SIEGFRIED Aurore	Anatomie et Cytologie Pathologiques
Mme PLAUSANCIE Julie	Génétique	Mme VALLET-GAREL Marion	Physiologie
Mme PUISSANT Bénédicte	Immunologie	M. VERGEZ François	Hématologie
Mme RAYMOND Stéphanie	Bactériologie Virologie Hygiène		
Mme SABOURDY Frédérique	Biochimie		
Mme SAUNE Karine	Bactériologie Virologie		
M. TREINER Emmanuel	Immunologie		
M. VIDAL Fabien	Gynécologie obstétrique		
Mme VIJA Lavinia	Biophysique et médecine nucléaire		

Maîtres de Conférences Universitaires de Médecine Générale

M. BRILLAC Thierry
Mme DUPOUY Julie

M. BISMUTH Michel
M. ESCOURROU Emile

Maîtres de Conférences Associés de Médecine Générale

Dr FREYENS Anne
Dr PIPONNIER David
Dr PUECH Marielle

Dr BIREBENT Jordan
Dr BOUSSIER Nathalie
Dr LATROUS Lella

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury :

A Monsieur le Professeur Jean-Pierre Delord,

Vous me faites l'honneur de présider mon jury de thèse. Votre parcours professionnel et votre dévouement sont un exemple pour nous tous. Merci d'être toujours disponible et attentif à nos demandes et à nos questions. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Madame le Professeur Rosine Guimbaud,

Je me souviens encore de mon premier jour en tant qu'interne, de votre accueil en oncologie digestive et du sentiment de sécurité qu'il en a découlé. Vous êtes une médecin inspirante, motivante, pleine d'envie et ayant toujours une attention particulière pour les internes de votre service. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

A Madame le Professeur Janick Selves,

Je vous remercie d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse. Votre expertise concernant le séquençage d'ADN, et bien d'autres domaines, est indispensable au jugement de ce travail. Veuillez recevoir ma plus sincère reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Damien Pouessel,

Je te remercie vivement et de tout cœur d'avoir grandement contribué à la réalisation de mes projets tant professionnels que personnels. Merci pour ta disponibilité, ta réactivité et tes conseils pour ce travail de thèse, et ta patience surtout !! Tu es une personne que j'apprécie beaucoup, qui a éveillé ma curiosité oncologique et m'a beaucoup appris.

A Monsieur le Docteur Carlos Gomez-Roca,

Ta présence dans mon jury de thèse a une valeur toute particulière à mes yeux. Je te remercie vivement d'avoir accepté de siéger à mon jury de thèse. Je te remercie également pour ta disponibilité, tes conseils et ton aide spontanée pour ce travail de thèse, qui j'espère t'a satisfait.

A Madame le Docteur Céline Basset,

Merci d'avoir accepté de siéger à mon jury. Merci pour le temps que tu m'as accordé durant mon stage de master 2, durant mon stage en anatomo-pathologie et pour les enseignements prodigués. C'est toujours un réel plaisir de discuter avec toi.

Remerciements personnels et professionnels

A ma famille :

A ma mère, un roc d'amour de fierté et de persévérance. J'espère que tu es fière du chemin que j'ai réalisé, et dont tu as grandement contribué. Merci pour tout, je t'aime.

A mon père, à ton accompagnement et à toutes tes leçons de vie dont je me suis fortement inspiré pour devenir qui je suis aujourd'hui, pour la fierté que je ressens dans tes paroles. Je t'aime.

Merci infiniment pour votre éducation et les valeurs complémentaires que vous m'avez transmises.

A ma grand-mère maternelle, la sagesse incarnée, le socle de notre si grande famille, et à toutes tes histoires du temps d'avant que j'aime écouter.

A mon grand-père paternel le pro de la pipe à tabac. Merci pour ces vacances au Mans à m'enseigner les valeurs élémentaires de la vie.

A Mina, Sophia, tonton, Cheïma, Hicham et Fethi pour tous les moments partagés ensemble, pour votre affection et votre soutien durant toutes ces années.

A toute la famille paternelle. Au cours du temps vous avez réussi à construire une belle famille heureuse et soudée.

A Fabienne, Nico et Isa pour les bons moments passés ensemble.

A mes amis :

A toute l'équipe du melting pots : Que dire !!! J'ai beaucoup trop d'évènements qui me viennent en tête, de la cour de récréation du CP, en passant par les bancs du collège, jusqu'à aujourd'hui. Simplement, merci pour tous ces moments partagés ensemble. Ce sont toujours des moments simples, agréables, drôles mais qui ont une valeur inestimable à mes yeux.

Aux lycéens : Manou !!! Bravo pour le chemin réalisé depuis la seconde, je te trouve épanouie et heureuse ! Jack encore désolé pour ton mariage, à la tienne Etienne, Pop à tes histoires incroyables, Guinardot des terrains de foot à Budapest en passant par Lille et Bruxelles ce n'est quand même pas anodin ce qui nous arrive, Bugnouf toutes mes félicitations pour le bébé en route.

A mes potes d'externats : Soso l'aventurière. Tu as débuté la plus belle des aventures, couraaaaage ! Et courage à Antoine surtout ! Marion vive Ali G et les kebabs de Salamanque. Un grand merci pour ta présence ce fameux soir de ligue des champions, et bien sûr à tes cours très instructifs ! Super prof ! La bisette à Sam ! Alice la frite, à nos conversations aussi interminables que drôles et souvent sur les mêmes sujets d'ailleurs !! La gauvinade c'est toujours un vrai plaisir de te voir. Aurel qui aurait

cru que depuis le stage de pneumo avec MCP on en arriverait là ! Raph toutes mes félicitations, entre la P2 et aujourd'hui tu en as fait du chemin au sens propre comme au figuré. Ines à nos moments de D4, à Milan et Venise en mode Lidl. A Magalouche enfin épanouiiiiie et Loulou la sénégalaise. Jonh Jonh l'anesthésiste maraîcher. Thomas B ou l'élégance intellectuelle, tous mes voeux pour ta réussite personnelle et professionnelle grosse machine !!

Flo, tu as beaucoup compté dans la réussite de mes études de médecine mais surtout, tu es un super pote et une très belle personne. C'est drôle quand même, on était les poussins de Rey, on a fait nos études de médecine ensemble, et pour l'année de thèse on est colloc. Je te remercie mille fois pour ce que tu as fait pour moi. Justine ! Flo et toi êtes la meilleure émission télé des 30 dernières années, quand vous habiterez ensemble j'aimerais avoir droit à quelques épisodes quand même, courage pour ta thèse de science, et quelque chose me dit qu'en techniques neurochirurgicales tu en connais un rayon.

A tous les services ayant contribué à ma formation,

A l'équipe d'oncologie médicale digestive de Ranguel. On n'oublie jamais son premier lieu de stage. C'était un stage très riche. Je tiens à remercier les médecins : le Pr Guimbaud, Corinne tu m'as beaucoup accompagné et communiqué ton énergie débordante, merci pour ta pédagogie. Marion tu m'auras montré mes premiers cas de lymphangite carcinomateuse et de syndrome occlusif. APL grâce à ta persévérance et ta pédagogie, j'ai enfin compris qu'il fallait toujours demander le statut HER2 chez les patients atteints du cancer du pancréas, j'espère que tu es fier de moi !! Hélène ce fut très plaisant de travailler à tes côtés, toujours de bonne humeur. Je tiens à remercier les infirmières, AS et secrétaires : Lulu, Angelique, Sylvie, Mathilde, Marie ange, Pascale, Christine, Isabelle, Julie et Stéphanie etc. et mes co-internes bien sûr ! Hermes, Laure, Jacques (enfin on peut réaliser notre essai clinique !!) et Marie tu es devenue une grande amie durant mon internat que ce soit durant nos escapades sportives autour d'un bon verre ou d'un aligot !!

Au service d'oncologie thoracique, un grand merci aux médecins le Pr Mazières, Dr Bigay Game, Dr Plat, Nicolas et Sarah supers chefs de cliniques. Et bien sûr Lise et Caro, nous étions un trio très soudé dans les bons comme dans les mauvais moments. Ainsi qu'aux IDE Pascale, Gégé l'épouse parfaite, et Jenny IPA. Longue vie à James Franco et Britney Spears.

A la radiothérapie, aux médecins qui m'ont suivi durant ce stage : le Dr Chira toujours un plaisir de discuter avec toi, le Dr Modesto, le Pr Laprie et le Dr Rives. Merci à l'accueil de la part des physiciens et des manips.

Aux services d'oncologie médicale de l'Oncopole. Merci à tous les oncologues médicaux de la structure qui ont participé à ma formation notamment, Florence merci infiniment pour ton implication et ta bienveillance. Nous t'en sommes tous reconnaissant. Marion à ta rigueur qui me fait tant défaut. Eva toujours un plaisir de passer te voir, et vive les miches ! Loïc j'ai beaucoup apprécié

travailler avec toi. Au Dr Chevreau pour votre prestance et votre implication auprès de vos patients. Sarah toutes mes félicitations pour Ambre. Clémence quand on s'appelle BRAC on est voué à faire de la sénologie. Dr Gladieff merci pour votre soutien dans le projet Cluster, etc. Et merci au Dr Vande Perre pour ton aide dans mon travail de thèse.

Merci bcp Iphigénie pour ton excellent encadrement au 3B, et merci à l'équipe pour tout ce que vous m'avez appris, en particulier Mailys. Au service du 1A, aux bons moments passés ensemble Audrey et aux discussions constructives. A l'équipe de cadres, IDE, AS et hotellière toujours en forme : Plazouille !! Merci pour ton super taf, Bessou, Doré, Coralie, Cescatti, Lautram, Bebou, Pauline, Sauveur, et Marseille bébé, etc. Et merci au service d'hospitalisation de jour avec qui j'ai toujours pris plaisir à travailler : Vincent, Berthie, Solène, Marlène, Steph, Agnès, Emma, etc.

A l'excellente équipe du secrétariat : Blandine, Stéphanie, Fanny, Nathalie la jeune grand-mère, Virginie la toute jeune maman, Françoise, Nina et Alexandra, Stéphane, Céline. Et un grand grand merci à Cathy, de ton soutien indéfectible durant notre internat !

Au service d'oncologie médical de Rodez, étape très importante dans mon internat. Merci aux Dr Mosser, Reyes, Brun, Ghenim et Fabre pour m'avoir fait confiance dans la prise en charge des patients, ainsi qu'à toute l'équipe paramédicale et aux secrétaires. C'était un régal de travailler avec vous !

L'hématologie. En tant qu'interne en oncologie, c'est un stage où l'on redoute de passer mais on est surtout triste de le quitter. Ce fut un réel plaisir de travailler avec vous tous, que ce soit dans le service de leucémie ou au lymphome. Merci au Pr Recher, au Dr Huguet, à Sarah et Suzanne, j'ai bcp aimé travailler à vos côtés et la leucémie c'est clairement la médecine du XXIème siècle ! A l'explosivité de l'équipe lymphome, Lucie, Loïc, Caro, Noémie !! Avec vos cœurs d'artichauds, saison après saison, vous entretenez toujours la flamme de l'hématologie ! Et aux IDE, AS pour leur bonne ambiance matin, midi, soir et nuit+++ ! Et bien sûr à tous les internes ayant cotisé pour la canne à pêche de Bernard Pradel : Fiona bon courage pour la suite de ton internat, Soso bon courage pour ta carrière pro ! Davy on se voit bientôt promis, le zoukeur profite bien de la Nouvelle-Calédonie, Camille profite de Castres, Léopoldine à quand une autre jam session ? Pierre Luc bon courage pour ta thèse ! Guillaume profite bien d'Albi !

Au service d'anatomopathologie, Pr Brousset, Pr Selves, Dr Franchet, Céline, Aurore, et les autres médecins et bien sûr à l'équipe d'internes, le GATA3 Football Club : Claire la gardienne de l'hémato, Ronan défenseur central du glioblastome, Axelle la remplaçante vu que tu préfères le badminton , Anna la coach du CPNPC, Vincent milieu droit très bon distributeur de blagues, Jessie attaquante du NGS, Clément, Nathalie, Marie D, Marie F, Marine, Pierre, et Guillaume qui a changé de club pour les saisons 2022/2023, et à l'équipe de tech : Caroline, Micka, Anais, Novella, Eric, le Prince Albert, Corentin, Thomas, Laurie, Béatrice, Chantal, Sophie. Et un grand merci à Jessie, David et Frederic pour m'avoir fait comprendre plus en détail le NGS.

A l'équipe 17 du CRCT. J'ai vécu une très belle année à vos côtés ? Ca fait du bien de voir une autre vision de l'oncologie. Julie, tu es clairement l'une des personnes les plus brillantes que j'ai rencontrée mais tu es surtout une source de volonté, de motivation et de bonne humeur qui déteint sur l'ensemble de l'équipe. J'espère que tu réussiras à atteindre la lune. Merci chef Coralie pour ta patience à m'apprendre les manips. Nicole toujours les mots justes. Benoit c'est un plaisir de discuter avec toi. Et Mr keskidit !!!, alias un pote, tous mes vœux de bonheur avec Caro et de belles journées à la pêche, encore merci pour ta contribution dans mon travail et pour ta bonne humeur.

A mes co internes oncologues en or. Victor le taulier des soirées internats et d'ASIO, Marion Jaff j'ai toujours été impressionné par tes capacités intellectuelles, athlétiques mais surtout ta capacité à te lever tôt le matin. Esteyrie le roi du Dab. Rollando la reine de la multi fonction et du dédoublement. A Jack le mec toujours au courant des derniers potins. Vincent je sens qu'on va encore bcp parlé boulot toi et moi. Céline à la Bosnie, l'Amérique du Sud et vive Fred le savoyard-boliviano ! Et Laeti d'une efficacité redoutable que ce soit dans ton travail ou à la course à pied ! Ifad et Anaïs bon courage pour Movember. Alouany hâte que tu reviennes pour reprendre le club de lecture. Juju la machine du gainage et de l'indépendance. Beubeu et Auranus juste pour voir leurs potentiels créatifs faites des gosses svp. Marion n'oublie pas la crème solaire. Ludovic de la Fontaine à quand l'écriture de tes fables pleines de sagesse. Coco le diable ou le gendre parfait ? Charly allez la Suisse !! Blandine allez le lymphome !! à tatie Renée the best surfeuse de la côte ouest et à la jeunesse oncologique toulousaine pleine de promesse.

A ceux que j'ai croisé durant mon internat : Valou et Camille, j'ai passé un super semestre à vos côtés, encore merci, avez-vous retrouvé à qui appartenaient les chaussures de marche ? Mathilde Garnier la pneumologue professionnelle des changements de sonde JJ par fibroscopie bronchique. Mourlanette, peu croisé mais toujours avec le sourire.

Aux ruthénois : Thibault toujours présent quand on a besoin d'une poire. CG on a toujours partagé de belles conversations et j'aimerais que cela continue. AC la militante, Nicolas, William, Cyril, David et Simon merci de m'avoir transmis la passion vélo !

Anaïs G l'homme (ou les hommes) qui partagera ta vie aura beaucoup de chance alors choisis le bien stp. Ghassan le sang de mon sang encore tous mes vœux de bonheur à Gaëlle et toi. Stephanie D profite bien de la Réunion !! Flo D toi aussi profite en bien également !

Une pensée également pour le Dr Francis Rey, qui m'a suivi depuis ma naissance et qui m'a donné l'envie d'exercer la médecine, et au Dr Valenza Patricia qui a brillamment repris le flambeau.

Et un grand merci à l'équipe de biostatisticien de l'IUCT-Oncopole, pour leur aide et implication dans ce travail, notamment Thomas Filleron, Amélie (l'USAIN BOLT des résultats statistiques), Fanny et Elodie.

Et enfin, merci aux patients et à leurs familles, qui me rappellent au quotidien pourquoi j'ai choisi d'exercer ce métier.

Serment d'Hippocrate

«Au moment d'être admis(e) à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité.

Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leur raisons et de leurs conséquences.

Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences.

Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire.

Admis(e) dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu(e) à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément.

Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés.

J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leurs familles dans l'adversité.

Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré(e) et méprisé(e) si j'y manque.»

Table des matières

Liste des abréviations	16
LISTE DES FIGURES.....	20
LES TABLEAUX.....	22
I. INTRODUCTION	23
A. L'ère de la chimiothérapie cytotoxique.....	23
B. L'utilisation du séquençage génomique en oncologie	24
1. L'acide désoxyribonucléique	24
2. Le séquençage de l'ADN.....	26
3. L'apport du séquençage de l'ADN en cancérologie	35
C. Le cancer, une maladie génétique	36
1. Les gènes impliqués dans l'oncogénèse.....	36
2. La signalisation cellulaire et les voies de signalisation impliquées en oncogénèse	38
3. Les différents processus de cancérogénèse.....	58
D. Les thérapies ciblées médicamenteuses en oncologie	62
1. Les thérapies ciblées	63
2. Mécanismes d'actions des thérapies ciblées	65
3. L'immunothérapie	68
E. L'utilité du NGS en pratique clinique.....	71
1. A visée thérapeutique	71
2. A visée prédictive de la réponse au traitement	74
3. A visée diagnostique et pronostique.....	74
F. Foundation One® CDX, un test NGS approuvé en pratique clinique	75
II. Objectifs	78
III. Matériel et Méthode.....	79
A. Description de l'étude	79
B. Recueil des données.....	79
1. Les données au diagnostic de la maladie	79
2. Les données au consentement du test FMI	80
3. Les données lors de la réception des résultats du test FMI.....	80
4. Les données en rapport avec le traitement décidé à la suite du test FMI.....	80

C.	Test Foundation One CDX®	81
D.	Critères d'évaluation	83
E.	Analyse statistique	83
IV.	Résultats.....	84
A.	Caractéristiques des patients	84
B.	Résultat du FMI :	90
1.	Altérations moléculaires	90
2.	Le statut MSS et TMB	95
3.	La RCP moléculaire	96
C.	Résultats en termes de Survie Globale et Survie Sans Progression	98
1.	Caractéristiques des deux groupes de traitement	98
2.	Analyse de la Survie Globale dans les 2 bras.....	100
3.	Survie sans progression	106
4.	Analyse du taux de réponse, de la SSP et SG selon le type de traitement.....	110
5.	Analyse en sous-groupe	115
V.	Discussion.....	120
A.	Description de la population de notre étude	120
B.	Description de la population incluse dans les études évaluant l'impact du test NGS dans la pratique clinique	121
C.	Analyse des résultats de survie dans notre étude	121
D.	Analyse de la survie dans la littérature	123
E.	Taux de réponse objective, PFS et SG par types de traitement.	124
D.	Limites de notre étude	125
F.	Points forts de l'étude	126
E.	Les perspectives d'utilisation du panel moléculaire large en pratique clinique.	126
1.	Limite technique : une meilleure interprétation du NGS.....	126
2.	L'identification de biomarqueurs robustes	127
3.	L'hétérogénéité tumorale	127
F.	Intérêt du panel moléculaire large dans le micro-environnement cellulaire.	128
VI.	Conclusion.....	130
	Bibliographie	131

Liste des abréviations

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADCC : Antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity

AKT : nom d'un oncogène viral

ALK : Anaplastic lymphoma kinase

AMM : Autorisation de mise sur le marché

AMPc : Adénosine monophosphate cyclique

ARN : Acide ribonucléique

ATM : Ataxia telangiectasia mutated

ATP : Adénosine triphosphate

ATR : Ataxia telangiectasia and Rad3 related

BAX : BCL2-associated X protein

BCL-2 : B-cell lymphoma

BH3 : Binding homologous domain 3

BRCA : Breast cancer protein

CT : Chimiothérapie

CAK : CDK-activating kinase

CCR : Cancer colorectal

CD : Cluster of differentiation

CDC25 : Cell division cycle 25

Cdk : Cyclin-dependent protein kinases

CHK : Checkpoint kinases

CNV : Copy nucleotide variant

CPA : Cellule présentatrice d'antigène

CTLA4 : Cytotoxic T lymphocyte antigen 4

dATP : Désoxyadénosine triphosphate

dCTP : Désoxycytidine triphosphate

dGTP : Désoxyguanine triphosphate

dNTP : Désoxynucléotide triphosphate

dTTP : Désoxythymidine triphosphate

EGF : Epithelial growth factor

EGFR : Epidermal growth factor receptor

ERK : Extracellular signal-regulated kinase

ESCAT : ESMO scale for clinical actionability of molecular targets

Fab : Fragment antigen-binding

Fc : Fragment crystallizable region

FGFR : Fibroblast growth factor receptors

FMI : Fondation medecine inc

GRB2 : Growth factor receptor binding protein 2

HER2 : Human epidermal growth factor receptor 2

HPV : Virus du papillome humain

IGFR : Insulin-like growth factor receptor

IRS : Insulin receptor substrate

JUNK : JUN N-terminal kinase

MAP : Mitogen-activated protein

MAPK : MAP kinase

MAP2K : MAP kinase kinase

MAP3K : MAP kinase kinase kinase

MDM2 : Murine double-minute p53 binding protein

MEK : MAPK-ERK kinase

MET : Mesenchymal-epithelial transition factor

MLH : MutL homolog 1

MMR : Mismatch repair

MSH : MutS homolog 2

mTOR : Mammalian target of rapamycin

NGS : Next-generation sequencing

NK : Natural killer

PDGFR : Platelet-derived growth factor receptors

PDK1 : Phosphoinositide-dependent kinase 1

PD1 : Program death 1

PDL1 : Program death ligand 1

PIK3 : Phosphatidylinositol-3-Kinase

PMS2 : Postmeiotic segregation Increased 2

PTEN : Phosphatase and TENsin homolog

RAF : Rat fibrosarcoma virus

RAS : Rat sarcoma virus

RB : Retinoblastoma protein

RBL : Retinoblastoma-like protein

RET : Rearranged during transfection

RMH : Royal Marsden Hospital

RTK : Récepteur tyrosine kinase

SNV : Single nucleotide variant

SOS1 : Son of sevenless homolog 1

TAA : Thérapie anti angiogénique

TCGA : The cancer genome atlas

TCM : Thérapie ciblée moléculaire

TIE : Tyrosine kinase with immunoglobulin-like and EGF-like domains

TKI : Tyrosine kinase inhibitor

TMB : Tumor mutation burden

VEGFR : Vascular endothelial growth factor receptor

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Le matériel génétique intra-nucléaire.....	25
Figure 2 : les différentes étapes de transcription et traduction, du gène à la protéine.	26
Figure 3 : Illustration de la méthode Sanger.	27
Figure 4 : Les étapes du NGS.	28
Figure 5 : Enrichissement de la librairie par technique Amplicon. A et B) Sélection et synthèse de la région d'intérêt. C) Mise en place d'adaptateurs permettant l'identification de l'ADN à son échantillon d'origine et de la région étudiée. D) Amplicon prêt pour l'amplification puis séquençage.....	29
Figure 6 : Préparation de la librairie par Capture.....	30
Figure 7: Formation de cluster par amplification sur flowcell.	31
Figure 8 : Séquençage par synthèse.....	32
Figure 9 : Etapes du pipeline informatique.	33
Figure 10 : Configuration d'un run à partir de read, fichier FASTQ.....	34
Figure 11: Mapping des séquences analysées et variant calling.....	34
Figure 12 : Les voies de signalisation impliquées en cancérologie. ²²	40
Figure 13 : Les différents récepteurs tyrosine kinase.	41
Figure 14 : Les différentes cascades de signalisation de la voie des MAP kinases	43
Figure 15 : La principale voie des MAP kinases.....	44
Figure 16 : la voie PI3K/AKT/mTOR	46
Figure 17 : La voie JAK/STAT.....	47
Figure 18 : Les 4 phases du cycle cellulaire	48
Figure 19 : la transition entre la phase G1 et la phase S	49
Figure 20 : La régulation du cycle cellulaire selon l'intégrité du génome	50
Figure 21: Fonctionnement du système MMR.....	52
Figure 22 : Un système MMR déficient modifie la séquence micro satellitaire	54
Figure 23 : Les différents mécanismes de réparation de l'ADN et les cibles thérapeutiques en cancérologie.....	55
Figure 24 : Le système de recombinaison homologue.....	56
Figure 25 : Oncogènes et hallmarks of cancer	58
Figure 26 : <i>Modèle de cancérogénèse du cancer colo-rectal LOH+</i>	59
Figure 27 : <i>Images d'IRMs pulmonaires murins. A) Souris lignée 57 muté EGFR L858R à 43 jours de la prise de Doxycycline, et à 7 jours de l'arrêt. B) Souris mutée lignée 56 EGFR L858R. C) Souris lignée 11 avec une délétion de l'exon 19.</i>	60
Figure 28 : <i>Efficacité du Gefitinib sur les souris del exon 19 et L858R</i>	61
Figure 29 : <i>Le choc oncogénique</i>	62
Figure 30 : Historique de la commercialisation des thérapies ciblées de bas poids moléculaire	64
Figure 31 : Comparaison entre anticorps monoclonaux et traitements de bas poids moléculaire.....	65
Figure 32 : Mécanismes d'action des anticorps monoclonaux	66
Figure 33 : Différents types d'anticorps	66
Figure 34 : La réponse adaptative anti tumorale	69
Figure 35 : Mécanismes d'action des inhibiteurs de checkpoints.....	70
Figure 36 : Figure récapitulative des principaux essais évaluant l'intérêt d'un test NGS en pratique clinique ⁷⁹	73
Figure 37 : Algorithme décisionnel des tumeurs neurologiques chez l'adulte	75
Figure 38 : Indications du test Foundation ONE CDX® en 2017 par la FDA	76

Figure 39 : Panel Whole exome sequencing du Fondation ONE CDX	82
Figure 40 : Zones d'intérêts de gènes sélectionnés	82
Figure 41: Flowchart de l'étude.....	93
Figure 42 : Survie globale de la cohorte	101
Figure 43 : Survie globale des deux bras de traitement.....	102
Figure 44 : Survie sans progression de la population bras A et bras B	106
Figure 45 : SSP dans chaque groupe de traitements : traitement standard et traitement FMI	107
Figure 46 : Taux de réponse objectif par organe et par gène ciblé.....	112
Figure 47: Analyse de la survie globale dans l'ensemble de la cohorte selon le traitement reçu	114
Figure 48 : Analyse de la SSP dans l'ensemble de la cohorte selon le traitement reçu	114
Figure 49 : Survie globale entre les bras A et B dans la population Glioblastome.....	115
Figure 50 : Analyse de la SSP entre les bras A et B dans la population Glioblastome	116
Figure 51 : SG dans les bras A et B chez les patients de notre cohorte atteints de tumeur autre que le Glioblastome.....	117
Figure 52: SSP dans les bras A et B chez les patients de notre cohorte atteints de tumeur autre que le Glioblastome.....	117
Figure 53 : Emergence des mécanismes de résistance aux thérapies ciblées	128
Figure 54: Exemples de protéines impliquées dans la régulation du micro-environnement inflammatoire	129

LES TABLEAUX

Tableau 1: Description des caractéristiques clinico-biologiques des patients lors de la signature du consentement du test FMI	85
Tableau 2 : Description des caractéristiques tumorales des patients	87
Tableau 3 : Prise en charge thérapeutique avant la signature du consentement du test FMI.....	88
Tableau 4 : TMB et nombre de mutations identifiées en fonction du type de prélèvement	90
Tableau 5 : Recueil des mutations ciblables dans la population totale	91
Tableau 6 : Mutations ciblées par organe.....	92
Tableau 7 : Traitement reçu par les patients du bras FMI	94
Tableau 8 : Tableau de concordance du statut MSS entre le résultat FMI et l’anatomopathologiste du centre.....	95
Tableau 9 : Dossiers présentés à la RCP moléculaire	97
Tableau 10 : Répartition des patients inclus dans un essai en fonction du passage en RCP	97
Tableau 11 : Caractéristiques cliniques des deux groupes de traitement	99
<i>Tableau 12 : Sites primitifs des deux groupes de traitement</i>	<i>100</i>
Tableau 13 : Description de la survie globale à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariable (Test du logrank) (1/2). Evt= évènement, TAA= Thérapie anti angiogénique, Immuno = Immunothérapie, CT = chimiothérapie, TCM= thérapie ciblée moléculaire	103
Tableau 14 : Description de la survie globale à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariable (Test du logrank) (2/2).....	104
Tableau 15 : Analyse multivariable SG (Modèle de Cox) (n=179)	105
Tableau 16 : Description de la SSP à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariable (Test du logrank) (1/2). Evt= évènement, TAA= Thérapie anti angiogénique, Immuno = Immunothérapie, CT = chimiothérapie, TCM = Thérapie ciblée moléculaire	108
Tableau 17 : Description de la SSP à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariable (Test du logrank) (2/2). Evt= évènement, TAA= Thérapie anti angiogénique, Immuno = Immunothérapie, C = chimiothérapie, TCM = Thérapie ciblée moléculaire	109
Tableau 18 : Analyse multivariable de la SSP (Modèle de Cox) (n=179).....	110
Tableau 19 : Taux de réponse objectif selon le type de traitement reçu dans le bras A et le bras B, CT = chimiothérapie, TAA = thérapie anti angiogénique, HT = hormonothérapie, TCM = thérapie ciblée moléculaire, Immuno = Immunothérapie.....	111
Tableau 20 : Traitement par immunothérapie des patients du bras B, corrélation avec le score TMB, la PFS, et la survenue d’un évènement	113
Tableau 21 : Analyse multivariable de la SG dans la population tous type de cancer hors glioblastome	118
Tableau 22 : Analyse multivariable de la SSP dans la population tous type de cancer hors glioblastome	119

I. INTRODUCTION

A. L'ère de la chimiothérapie cytotoxique

L'oncologie médicale est une spécialité récente du fait de la découverte des traitements médicaux anti-cancéreux à partir du XX^{ème} siècle¹.

La conception des premières chimiothérapies anti-cancéreuses est la conséquence inattendue de l'utilisation des armes chimiques durant les deux guerres mondiales.

Durant la seconde guerre mondiale, le 2 décembre 1943, un navire américain fut détruit lors d'un raid en Italie. Ce cargo transportait deux mille tonnes de gaz moutarde. Le lieutenant-colonel Stewart F. Alexander, un médecin spécialiste de la guerre chimique fut mandaté pour évaluer les effets sur les victimes. Il remarqua que celles-ci présentaient des symptômes conséquence de l'aplasie. Son hypothèse fut que les cellules très proliférantes avaient été détruites dans leur organisme. Il suggéra d'employer ce produit dans le traitement du cancer.

Ainsi, les alkylants, première classe de chimiothérapie antitumorale furent produits à partir du gaz moutarde². Il s'ensuivra l'essor des molécules de chimiothérapies durant toute la seconde moitié du XX^{ème} siècle.

Les traitements par chimiothérapie ont été conçus, souvent de manière empirique, pour bloquer la prolifération cellulaire en s'attaquant à l'ADN de la cellule ou au fuseau mitotique nécessaire à la division cellulaire³. L'inconvénient de cette approche est la relative non-spécificité de ces traitements qui ne peuvent pas épargner les cellules saines. Il s'ensuit des effets secondaires altérant la qualité de vie des patients, limitant donc les doses de ces traitements, entraînant le risque de développer un second cancer à long terme. Excepté certains cancers particulièrement chimio sensibles tels que le cancer du testicule, les lymphomes, leur efficacité est tout de même relative dans le temps⁴.

Durant la deuxième moitié du XX^{ème} siècle, les progrès technologiques ont permis une meilleure compréhension de l'oncogenèse développant ainsi de nouvelles approches thérapeutiques. Nous allons nous intéresser de façon plus spécifique à l'ADN (acide désoxyribonucléique), ses techniques de séquençage, et leurs utilités en cancérologie, amenant à l'ère de la médecine personnalisée à l'aube du XXI^{ème} siècle.

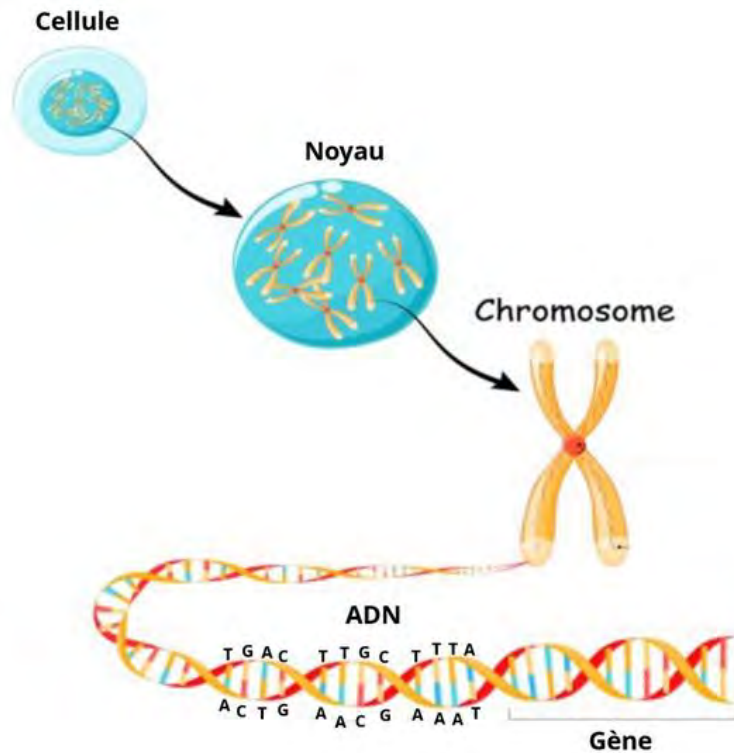
B. L'utilisation du séquençage génomique en oncologie

1. L'acide désoxyribonucléique

L'acide désoxyribonucléique est le support de l'information génétique de la cellule. Il est nécessaire au développement, au fonctionnement et la division cellulaire. Localisé principalement dans le noyau et sous forme double brin, il constitue les chromosomes. La majorité de nos cellules sont diploïdes, c'est-à-dire qu'elles possèdent 23 paires de chromosomes. Lors de la mitose, une cellule mère réplique son ADN pour transmettre à ses 2 cellules filles le même bagage génétique ⁵. L'ADN est constituée de 3 éléments : un groupement Phosphate, un sucre (le désoxyribose) et 4 bases azotées : l'adénine, la guanine, la cytosine et la thymine.

L'association d'une base avec un sucre forme un nucléoside. L'ajout d'un groupe Phosphate forme un nucléotide mono-Phosphate. Trois nucléotides successifs forment l'unité élémentaire de l'information génétique qui est le codon.

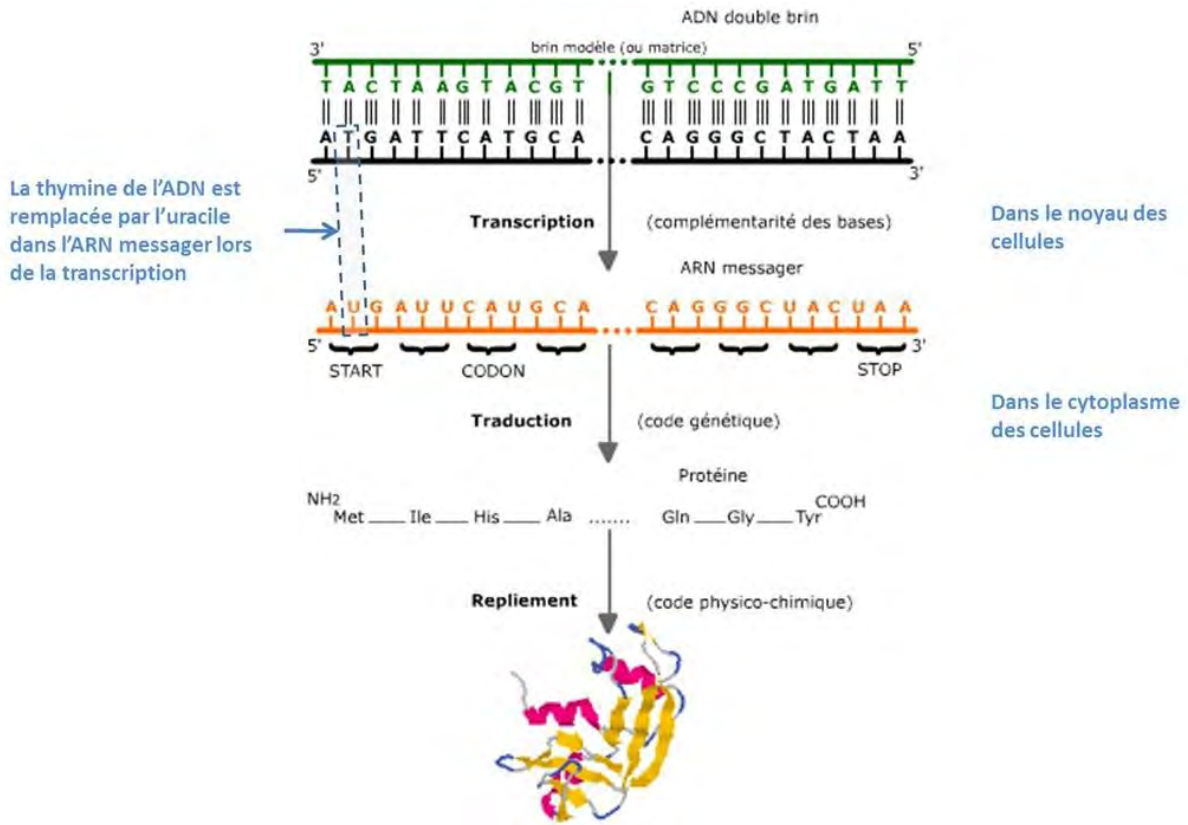
Les nucléotides s'enchainent dans un ordre qui paraît quelconque sur un squelette Phosphate-Sucre/ Phosphate- Sucre où sont branchés les bases azotées. Ces bases sont complémentaires deux à deux, C-G et A-T, et leurs liaisons d'hydrogène participent à la forme double brin de l'ADN. L'ordre de succession des bases azotées constitue la structure primaire de l'ADN appelée également séquence de l'ADN.



<https://www.elysia-bioscience.com/voyage-a-travers-ladn-nucleaire-sans-oublier-ladn-mitochondrial/>

Figure 1 : Le matériel génétique intra-nucléaire.

Un gène est une séquence d'ADN permettant de produire une molécule d'ARN. Certains ARN, que l'on appelle les ARN messagers, vont être traduits en protéines. Ils sont composés d'introns, qui vont être éliminés par épissage avant l'étape de traduction, et d'exons qui eux vont être codés en séquence d'acides aminés. L'ARN messager, une fois mature, est transloqué dans le cytoplasme et analysé au niveau d'un ribosome afin d'initier la synthèse protéique en débutant par le codon initiateur AUG, codant pour une méthionine. La synthèse se poursuit par lecture de chaque codon correspondant à des acides aminés précis, jusqu'au codon « STOP », terminant la synthèse protéique⁵.



https://www.oezratty.net/wordpress/wp-content/WindowsLiveWriter/Les-dessous-techniques-du-squenage-du-gn_82A7/ADN-a-proteines.jpg

Figure 2 : les différentes étapes de transcription et traduction, du gène à la protéine.

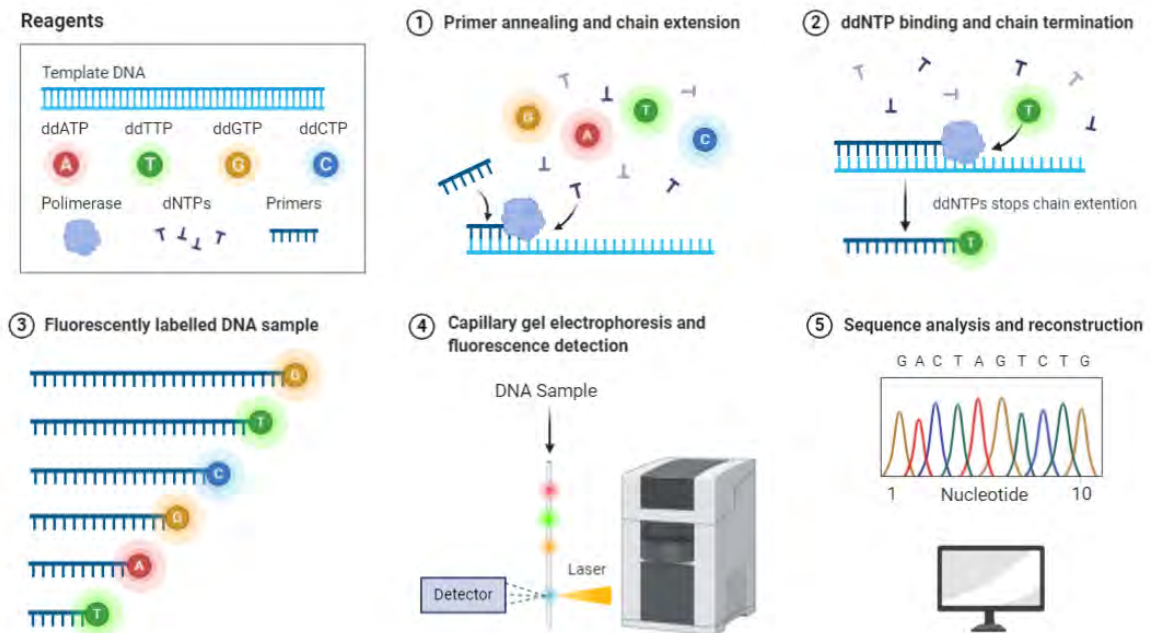
2. Le séquençage de l'ADN

En 1977, la découverte du séquençage de l'ADN par la méthode de Sanger a permis l'analyse du code génétique améliorant notre compréhension du génome humain ⁵.

a. La méthode de Sanger

La méthode Sanger se base sur l'utilisation de nucléotides terminateurs de chaîne⁶. Son principe consiste à initier la polymérisation de l'ADN à partir d'une amorce complémentaire au fragment d'ADN à séquencer. Le substrat de la polymérase est soit l'un des quatre désoxyribonucléotides (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) ou bien un nucléotide terminateur de chaînes. Il s'agit de substrat type désoxyribonucléotides qui ne possède pas de groupement OH en 3' et donc ne permettant pas la poursuite de l'élongation. Plusieurs fragments d'ADN complémentaires vont être synthétisés de

longueur différente selon l'incorporation du terminateur de chaîne, puis sont séparés par électrophorèse. La détection de ces fragments se fait en incorporant un traceur dans l'ADN synthétisé.



<https://app.biorender.com/biorender-templates/t-5ef132f6c7bcd500b388a9c3-sanger-sequencing>

Figure 3 : Illustration de la méthode Sanger.

Cette technique est améliorée dans les années 1990 avec l'arrivée sur le marché des premiers séquenceurs automatisés basés sur l'électrophorèse capillaire à la place de l'électrophorèse sur gel. Ces instruments de « première génération » étaient considérés comme à haut débit en permettant un séquençage d'environ 80 kilobases (kb) par analyse.

Ce n'est qu'au début des années 2000 qu'est apparu le séquençage « nouvelle génération » ou NGS (next-generation sequencing) avec une nouvelle approche : celle d'un séquençage clonal, « parallèle et massif » qui permet d'augmenter le débit du séquençage jusqu'à 1 gigabase (Gb) de données par analyse.

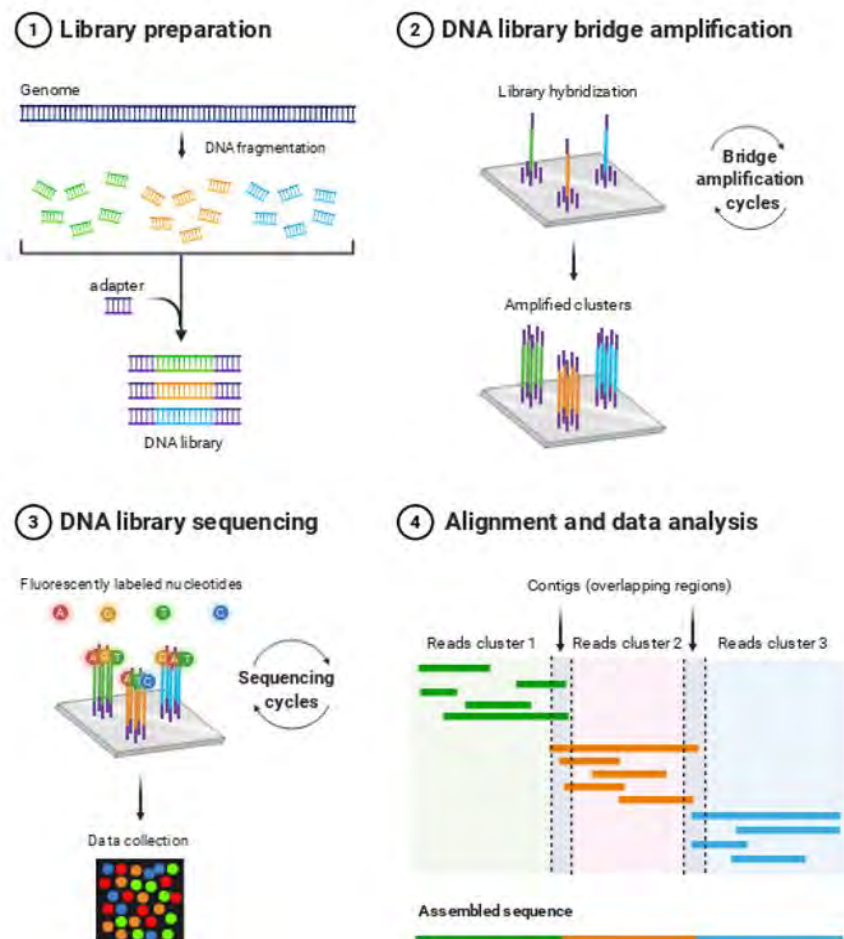
b. Le Next generation sequencing

Il existe plusieurs technologies de NGS, dont les principales sont la technologie Ion Torrent™ (Thermo Fisher Scientific), qui se base sur la détection d'ions hydrogènes libérés lors de la polymérisation de l'ADN, et la technologie Illumina®⁷ qui est basée sur le séquençage par synthèse.

Nous nous intéresserons à la technique Illumina®, qui est celle utilisée dans cette étude.

Le NGS se caractérise par un séquençage parallèle et massif, c'est-à-dire qu'au lieu de séquencer un unique fragment d'ADN, ce processus de séquençage s'applique à des millions de fragments en même temps. On parle de séquençage « whole genome » lorsqu'il s'intéresse à l'intégralité du génome et de séquençage « whole exome » lorsqu'il ne cible que les séquences codantes. En pratique de routine, on ne séquence qu'une liste définie de gènes (panel de gènes) : c'est le séquençage ciblé.

Le NGS se déroule en 4 étapes.



<https://app.biorender.com/biorender-templates/t-5ef134a11c72b100ad8d13ac-next-generation-sequencing-illumina>

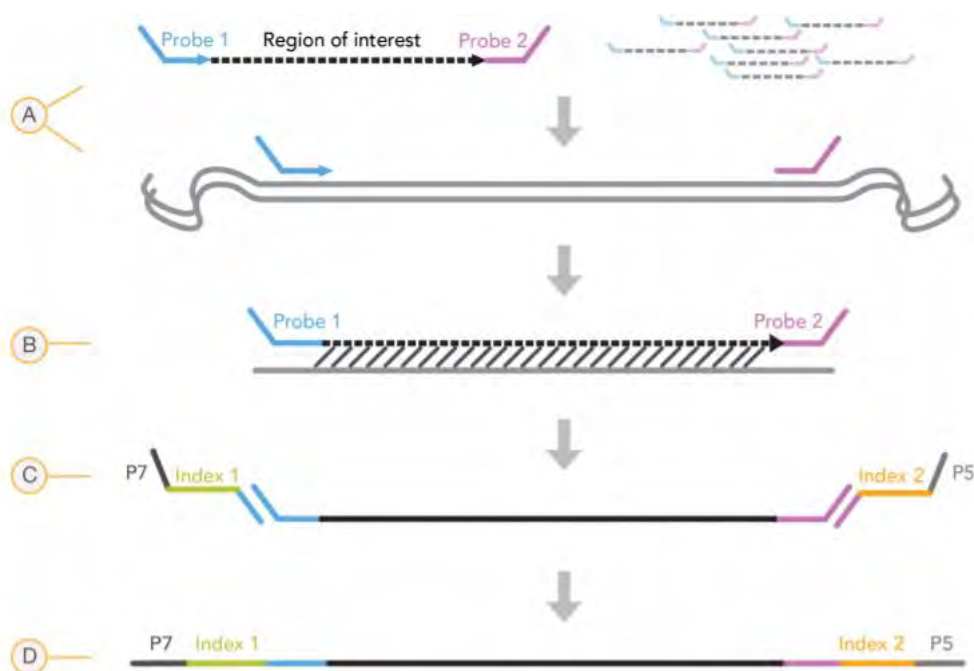
Figure 4 : Les étapes du NGS.

1- Préparation des bibliothèques

La bibliothèque constitue l'ensemble des fragments d'ADN que l'on veut séquencer. Il est nécessaire d'enrichir cette bibliothèque en sélectionnant uniquement les fragments d'ADN désirés, par le biais d'une des deux méthodes suivantes :

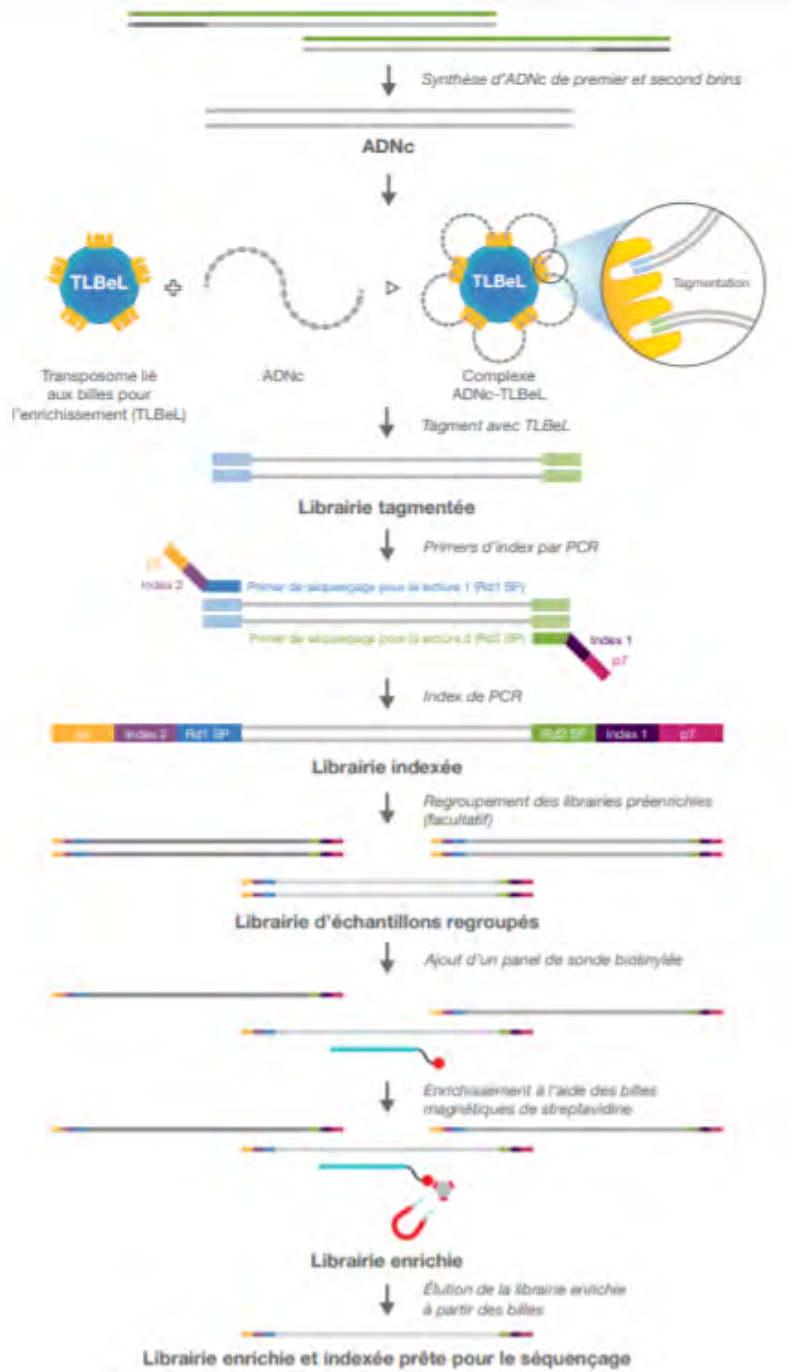
- enrichissement par amplification (technique Amplicon) : l'ADN est fragmenté de façon aléatoire avant d'être rattaché en 5' et en 3' à des adaptateurs. Les adaptateurs sont de courtes séquences nucléotidiques qui ont une fonction d'identification. Ils permettent de combiner l'analyse de plusieurs échantillons d'ADN au cours d'une même technique (multiplexage) et de contrôle d'identité tout au long de l'analyse. Ils font également fonction « d'amorce » et permettent à l'ADN polymérase d'amplifier les régions d'intérêts de façon ciblée. Après amplification, les fragments sont ensuite purifiés sur gel.

- enrichissement par Capture : après la fragmentation de l'ADN et la ligation des adaptateurs, les fragments d'intérêt sont sélectionnés. Ils sont hybridés à des séquences complémentaires disposées sur une plaque ou en milieu liquide : les fragments d'ADN non sélectionnés ne s'hybrident pas et sont éliminés par lavage.



<https://emea.illumina.com/techniques/sequencing/dna-sequencing/targeted-resequencing/amplicon-sequencing.html>

Figure 5 : Enrichissement de la bibliothèque par technique Amplicon. A et B) Sélection et synthèse de la région d'intérêt. C) Mise en place d'adaptateurs permettant l'identification de l'ADN à son échantillon d'origine et de la région étudiée. D) Amplicon prêt pour l'amplification puis séquençage.

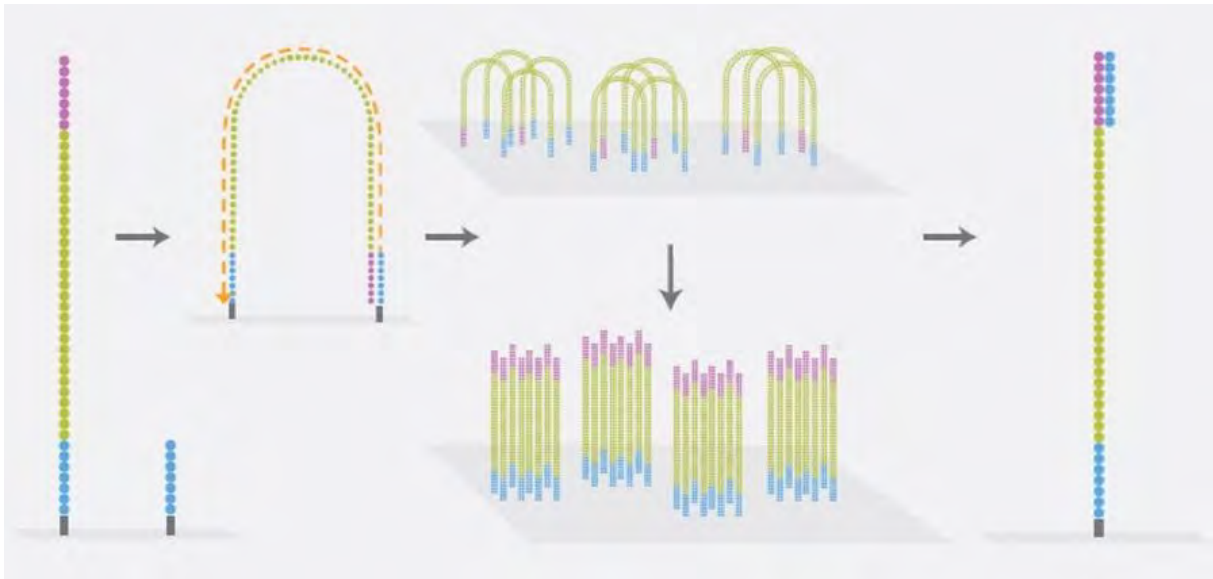


Manuel Illumina RNA Prep with Enrichment, 470-2020-001-B FRA

Figure 6 : Préparation de la librairie par Capture.

2- Génération de cluster par amplification

La librairie est déposée sur une puce (flow cell). Celle-ci présente à sa surface des oligonucléotides complémentaires aux adaptateurs et sur lesquels vont venir s'hybrider les fragments d'ADN. Chaque fragment est ensuite amplifié de façon clonale par amplification « en pont » : le fragment et ses copies identiques forment alors un cluster.



<https://qph.fs.quoracdn.net/main-qimg-2392e747a4199afdbb5e99440ec3cf2a>

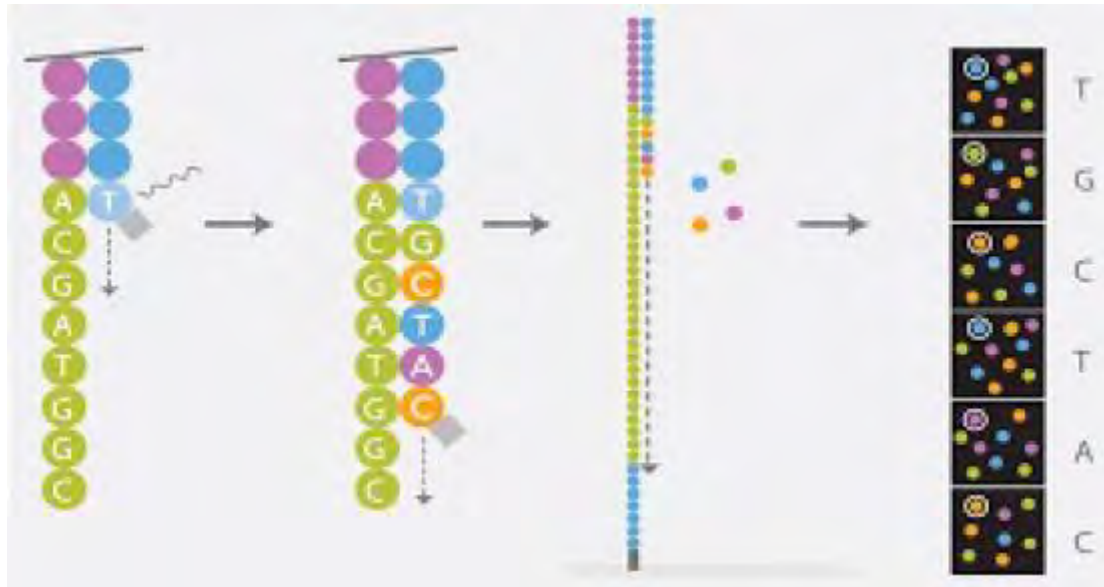
Figure 7: Formation de cluster par amplification sur flowcell.

3- Séquençage par synthèse

Le séquençage reprend la méthodologie utilisée dans la méthode Sanger.

Chaque fragment d'ADN du cluster va servir de brin matrice pour la synthèse d'un brin complémentaire par l'ADN polymérase. Ce dernier va se former à partir de dNTP (désoxynucléotide triphosphate) couplé à un fluorochrome avec une fonction « terminateur de chaîne » : un seul nucléotide peut être incorporé à la fois. Au terme de l'incorporation du nucléotide, une source lumineuse va exciter le fluorochrome, entraînant la libération d'un signal fluorescent ainsi que sa désintégration. Un nouveau cycle peut alors commencer avec incorporation du nucléotide suivant. Au début de chaque cycle, les quatre dNTP sont présents en quantité égale afin que la concurrence naturelle minimise le biais d'incorporation et le risque d'erreur.

A la fin de chaque cycle, le signal fluorescent est capturé sur une photographie.



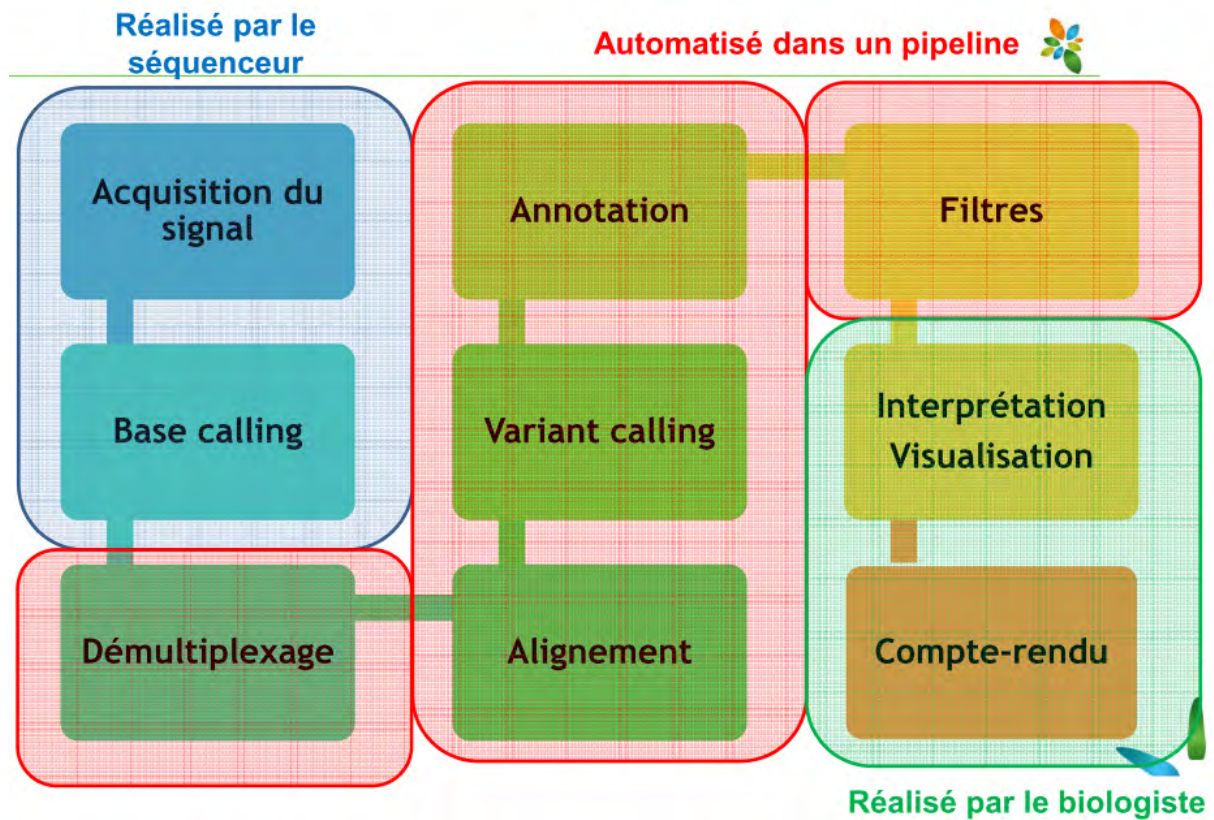
Manuel Illumina RNA Prep with Enrichment, 470-2020-001-B FRA

Figure 8 : Séquençage par synthèse.

Par la suite, le séquenceur réalise une étape de base calling, c'est à dire qu'il va convertir ce signal fluorescent en un signal informatique de nucléotide (A, T, C ou G) avec in fine l'obtention d'une séquence appelée « read ». La longueur du read est définie par défaut par le nombre de cycle de séquençage. Pour un fragment d'ADN sur la puce, deux reads seront générés : un read sens et un read anti-sens. Les informations sont collectées par le séquenceur au fur et à mesure du run.

4- Analyse des données

Les informations issues du read, à savoir la séquence nucléotidique lue associée à ses adaptateurs va être traitée par un pipeline informatique, dont on va développer les étapes.



Cours DU Biologie Moléculaire Dr Evrard

Figure 9 : Etapes du pipeline informatique.

Le pipeline débute par une étape de démultiplexage qui consiste à réattribuer chaque read à chaque échantillon et à supprimer les séquences des adaptateurs. La séquence de chaque read est détaillée avec un identifiant unique et un score de qualité. Ce score évalue le risque d'erreur du séquenceur pour chaque base lue.

```

@M02726:99:000000000-AMRKO:1:1101:15719:1378 1:N:0:36
TGGATCCGTCAGCCCCAGGGAAGGCGCTGGAGTGGATTGGGGAAATCAATTATGGTGGAAACACCAACTACAA
+
ABCCAFFFBFBAGGGGGGGGGFHHGGGGGEGFHHFGGHHHEHGGFFHFFHHHHHHHHBGGHFHFFHHGHGGFFHHHH

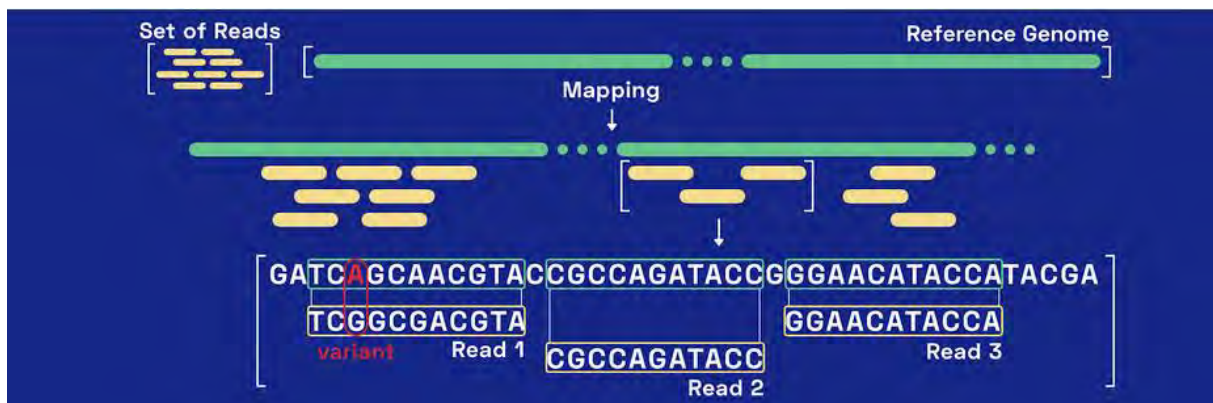
```

identifiant unique du read.
 séquence
 Score de qualité : Phred (probabilité que la base soit erronée)

Cours DU Biologie Moléculaire Dr Evrard

Figure 10 : Configuration d'un run à partir de read, fichier FASTQ.

Les reads sont ensuite alignés sur une séquence du génome de référence pendant la phase d'alignement. Ils sont ensuite triés (les reads sens sont séparés des reads anti-sens) et les duplicats (multiples versions d'un même read) sont supprimés. Durant la phase suivante, de variant calling, les séquences du patient vont être comparées au génome de référence permettant d'identifier et de lister les variants.



<https://nebula.org/blog/fr/comment-commencer-a-explorer-vos-donnees-genomiques-brutes/>

Figure 11: Mapping des séquences analysées et variant calling.

Ces variants peuvent être soit des Single Nucleotide Variant (SNV), des Copy Nucleotide Variant (CNV) physiologiques, ou bien des altérations moléculaires oncogéniques à type des insertions/délétions, décalage du sens de lecture.

Les variants recueillis pendant la phase de variant calling sont à interpréter selon plusieurs paramètres essentiels :

- Le contrôle qualité : proportion de séquences alignées dans les régions d'intérêts du génome que l'on a voulu séquencer (% de séquence on target et off target) ;
- La profondeur de lecture : nombre de fois qu'un nucléotide est lu à une position donnée ;
- La couverture de lecture : pourcentage de la région ciblée réellement séquencée à une profondeur donnée.

Ainsi, le pourcentage du variant pathogène est calculé par le nombre de fois où il est lu sur la profondeur de lecture de la séquence analysée.

La phase d'annotation consiste à fournir pour chaque variant des informations provenant de bases de données, comme le nom du gène, sa localisation, la fréquence du variant dans la population générale (bases de données GenomAD, ClinVar...), sa pathogénicité connue (COSMIC, OncoKB) afin de faciliter son interprétation. Les variants sont ensuite filtrés afin de ne garder que les variants d'intérêts. L'étape finale est réalisée par un professionnel de biologie moléculaire (biologiste ou médecin), qui va classer les variants selon leur signification et rédiger un compte-rendu final. Selon les recommandations de l'Association Nationale des Praticiens de Génétique Moléculaire (ANPGM), le compte-rendu de biologie moléculaire doit renfermer certaines informations telles que la liste des gènes séquencés, la version du génome et la technique utilisée (capture, amplicon), le pipeline bioinformatique et les indicateurs de qualité du run (couverture, profondeur).

Les variants sont listés et classés selon leur effet pathogène (pathogène, potentiellement pathogène, probablement pathogène ou de signification inconnue) et selon leur impact clinique, selon un score (ESCAT, oncoKB therapeutic level of evidence, etc.). La classification des mutations selon l'échelle ESCAT I à V permet au clinicien d'évaluer de la pertinence d'utilisation d'une thérapie ciblée adaptée à la mutation⁸.

Actuellement, de nouvelles techniques de séquençage de l'ADN sont mises au point, les techniques dites de 3^{ème} génération. Nous nous focaliserons sur le NGS et sa démocratisation dans la pratique clinique courante.

3. L'apport du séquençage de l'ADN en cancérologie

Le lien entre cancer et altération du génome date du début du XX^{ème} siècle⁹. Néanmoins, il a fallu attendre les années 70 et la découverte des oncogènes¹⁰ pour valider cette hypothèse. Les principes d'oncogènes et gènes suppresseurs de tumeurs furent supposés en 1911¹¹ mais développés dans les années 80, et les altérations génomiques impliquées dans les processus d'oncogèneses furent découverts grâce au séquençage d'ADN.

A partir des techniques de séquençage de l'ADN type Sanger, un projet international de séquençage du génome humain en totalité, le Genome Human Project, débuta en 1990. Ce projet coûta près de 3 Milliards de Dollars et se termina en 2003¹². Comparer le génome sain aux différents génomes

tumoraux a permis de détecter les altérations moléculaires intervenant dans l'oncogenèse, permettant ainsi la création de bases de données des altérations génomiques retrouvées dans les cancers tels que le Cancer Genome Atlas (TCGA) et le British Genome Project¹³.

Ainsi, le séquençage de l'ADN a dans un premier temps apporté des connaissances accrues dans le processus d'oncogenèse, mais surtout ouvert le champ à une médecine oncologique de précision en développant des thérapies ciblant les altérations moléculaires nécessaire à celui-ci.

C. Le cancer, une maladie génétique

Le cancer se caractérise par l'envahissement progressif de l'organe d'origine puis de l'organisme entier, par des cellules devenues peu sensibles ou insensibles aux mécanismes d'homéostasie tissulaire et ayant acquis une capacité de prolifération infinie¹⁴.

Les modifications du phénotype cellulaire au cours du processus de transformation maligne sont le reflet de l'acquisition consécutive de modification de leur génome ou d'éléments épigénétiques¹⁵.

Les altérations génomiques apparaissent sous l'influence de facteurs exogènes (exposition à des radiations, un virus, un produit mutagène) ou endogènes (le vieillissement, une mutation de prédisposition génétique, un défaut de réplication ou de réparation de l'ADN)¹⁶, et par étapes successives. Elles vont induire perte ou gain de fonction de protéine et permettre à la cellule de se développer et d'acquérir un avantage sélectif par rapport aux cellules voisines. Il s'agit du processus d'oncogenèse.

1. Les gènes impliqués dans l'oncogenèse

Trois familles de gènes sont impliquées dans l'oncogenèse.

1) *Les oncogènes*

Les oncogènes codent pour des protéines impliquées dans la cascade de signalisation cellulaire. Leur activité est contrôlée de façon physiologique. En cas de mutations génétiques, ces protéines peuvent être surexprimées ou subir une modification conformationnelle ayant pour conséquence une augmentation de leur activité et participer à la cancérogénèse¹⁷.

Le mécanisme génétique est dominant, une altération moléculaire sur l'un des 2 allèles suffit pour induire une activité anormale de la protéine. Les oncogènes sont répartis en 6 grandes classes en fonction des onco-protéines pour lesquels ils codent :

- les facteurs de croissance

- les récepteurs transmembranaires de facteurs de croissance
- les G-protéines ou protéines membranaires liant le GTP
- les tyrosines protéine-kinases membranaires
- les protéine-kinases cytosoliques
- les protéines à activité nucléaire

Leur activation résulte d'un des mécanismes suivants¹⁴ :

- Par intégration virale

Chez l'Homme, 15% des cancers sont liés à des virus (HPV, hépatite, ...).

- Par mutation ponctuelle

Dans une séquence codante d'un oncogène, une mutation ponctuelle peut aboutir à une modification fonctionnelle de l'oncoprotéine. Les mutations faux-sens entraînant la substitution d'un acide aminé par un autre, sont capables d'activer des proto-oncogènes en oncogènes, en touchant par exemple un site catalytique ou en entraînant une activation substitutive de la protéine

- Délétion

Les délétions, qui aboutissent le plus souvent à une perte de fonction, peuvent parfois entraîner une activation ou une inhibition anormale de certains gènes, si elles touchent une région régulatrice de l'expression de celui-ci.

- Réarrangement structural chromosomique

Des altérations chromosomiques (translocations, inversions...) peuvent avoir pour conséquence moléculaire la formation d'un gène hybride généré par la fusion de régions codantes entraînant la synthèse de protéines de fusion.

- Amplification génomique

L'amplification correspond à une augmentation anormale du nombre de copies du gène dans la cellule, les copies surnuméraires se trouvant alors, soit sous forme intégrée dans un chromosome, soit sous forme de minichromosomes surnuméraires, les chromosomes double-minute. Cette amplification entraîne généralement une surexpression protéique.

2) *Les gènes suppresseurs de tumeurs*

Ce sont des gènes codant pour des protéines régulant négativement le cycle cellulaire ou induisant l'apoptose¹⁸. Leur défaut d'expression va induire la perte de fonction de la protéine. Le mécanisme génétique est récessif.

Selon la théorie des « two hits de Knudson¹⁹ », il faut 2 événements mutagènes successifs pour inactiver la protéine codée par un gène suppresseur de tumeur :

- Le premier évènement à affecter un allèle d'un gène est un phénomène somatique ou constitutionnel (dans les formes familiales de cancer).
- Le 2^{ème} évènement est somatique

Les principaux mécanismes d'inactivation des gènes suppresseurs de tumeurs sont¹⁴ :

- La mutation ponctuelle faux sens ou non-sens
- La délétion génique
- La perte d'expression du gène : par la perte des séquences de régulation ou bien par anomalie épigénétique telle que la méthylation du promoteur

3) Gènes impliqués dans l'intégrité de l'ADN

Ces gènes participent à l'oncogenèse dans la mesure où leurs dysfonctionnements sont à l'origine d'anomalie de réparation de l'ADN, favorisant l'apparition d'altération moléculaire. Ces altérations moléculaires peuvent être responsables du phénomène de cancérogénèse. En cas de cassure simple brin de l'ADN, double brin ou de mésappariement des bases lors de la réplication de l'ADN, les mécanismes de réparation de l'ADN utilisés sont différents et sont expliqués de façon plus précise au chapitre suivant²⁰.

En modifiant l'activité des protéines qu'elles codent, les mutations génétiques vont perturber les cascades de signalisation cellulaire. Par la suite nous nous intéresserons aux voies de signalisation qui sont souvent perturbées dans la cancérogénèse.

2. La signalisation cellulaire et les voies de signalisation impliquées en oncogenèse

La signalisation cellulaire est un processus de communication entre les milieux extra et intracellulaire et coordonne les propriétés cellulaires telles que la division cellulaire, la croissance, la différenciation, la mort cellulaire, par l'intermédiaire de voies de signalisation²¹.

Ces voies de signalisation sont composées de 3 éléments :

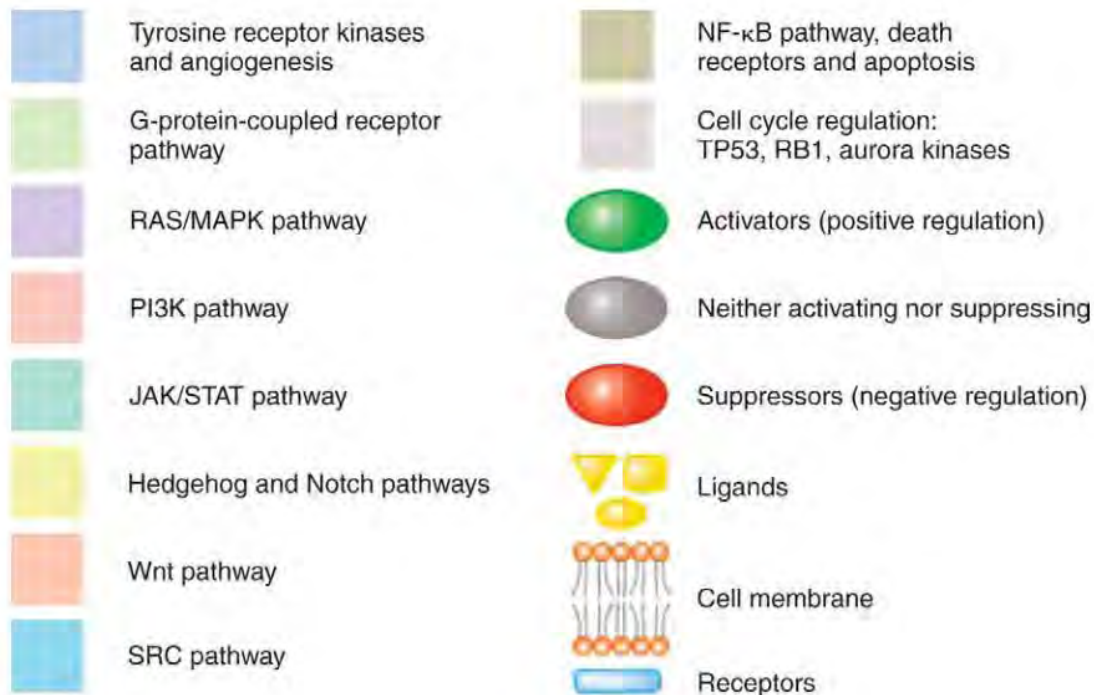
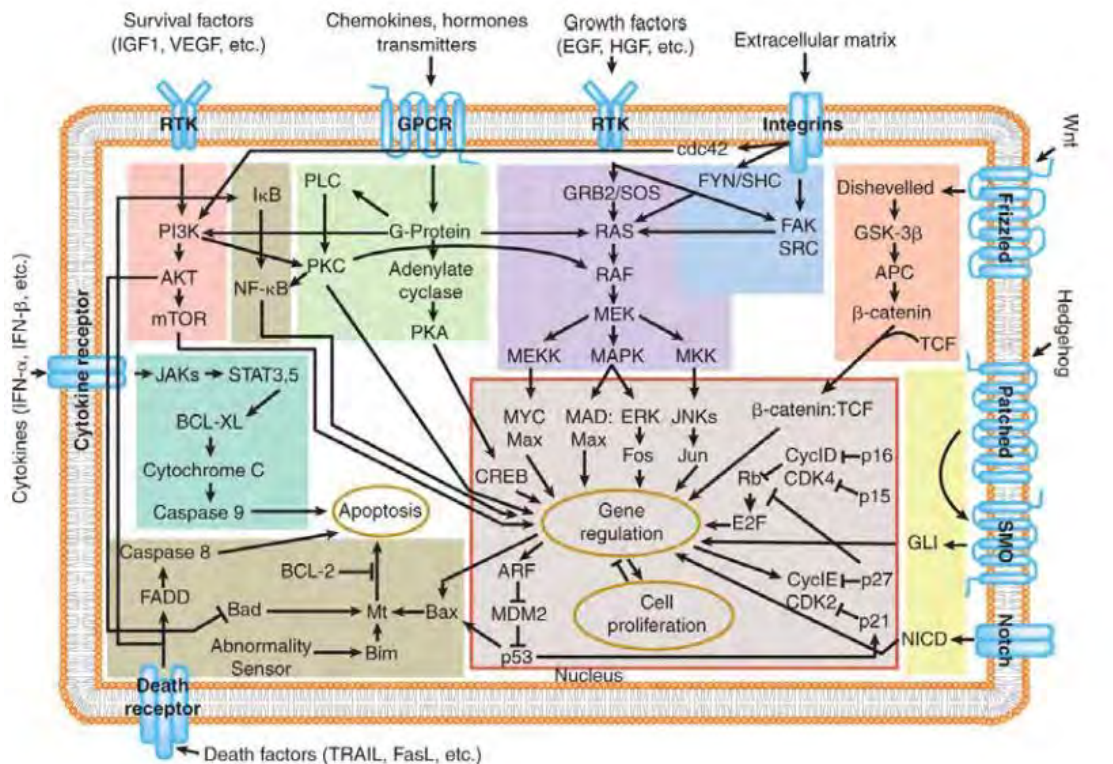
- Un récepteur membranaire où va se fixer un ligand extra cellulaire. Cette fixation va activer la cascade de signalisation intra-cellulaire.
- Une partie intracytoplasmique contenant des protéines à activité kinase. Leurs activations successives créent une cascade de réaction permettant la translocation d'un facteur de transcription vers le noyau.

- Une partie intra-nucléaire permettant de moduler l'expression génomique.

Cette expression génomique va modifier le comportement cellulaire et peut impacter le micro-environnement tumoral²¹.

L'oncogenèse, en modifiant certaines protéines de voies de signalisation, va donc induire un changement de celles-ci ayant un impact sur la cellule et son microenvironnement.

Nous nous intéresserons aux principales voies de signalisations altérées dans le processus de cancérogénèse et leurs récepteurs membranaires permettant leur stimulation.

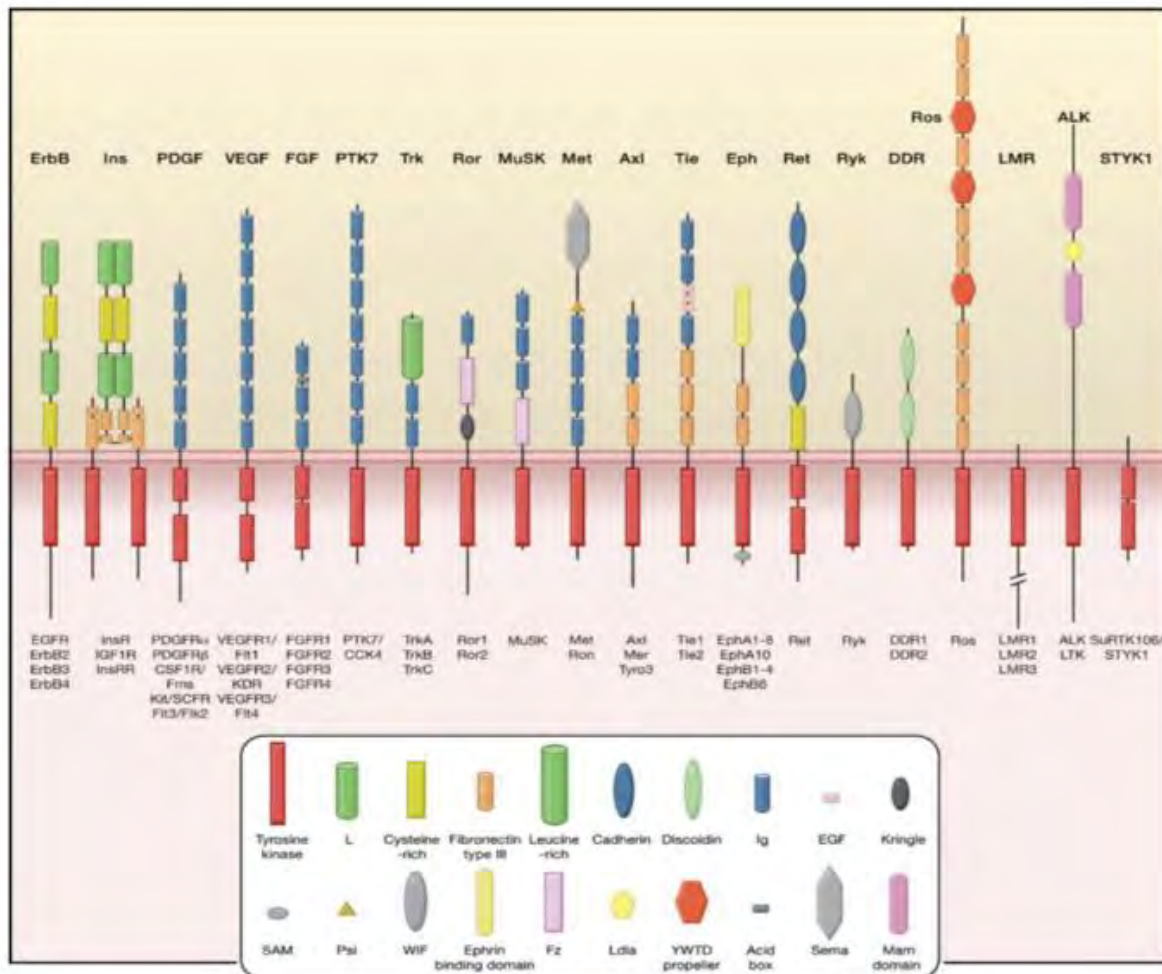


Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. Cell. 2011 Mar 4;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. PMID: 21376230

Figure 12 : Les voies de signalisation impliquées en cancérologie.²²

A. Les récepteurs tyrosines kinases

Les récepteurs à tyrosine kinase (RTK) sont des récepteurs transmembranaires exprimés à la surface des membranes des cellules. Ils participent à la diffusion d'une information du milieu extra-cellulaire au milieu intra-cellulaire, c'est-à-dire à la transduction du signal. Il en existe 58, classés en 20 sous-familles chez l'Homme²³.



Lemmon MA, Schlessinger J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. Cell. 2010 Jun 25;141(7):1117-34.

Figure 13 : Les différents récepteurs tyrosine kinase.

Ces récepteurs sont composés de 3 domaines :

- Un domaine extra-cellulaire, site de liaison avec un ligand extra-cellulaire
- Un domaine transmembranaire lipophile
- Un domaine intracellulaire à activité tyrosine kinase, dit domaine tyrosine kinase

Le ligand dans le domaine extra cellulaire va se lier au domaine extra-membranaire de façon spécifique, rapprochant deux récepteurs monomères induisant une homo-dimérisation ou hétéro-dimérisation des récepteurs conduisant à l'autophosphorylation du domaine tyrosine kinase²⁴. Cette activation va permettre le recrutement et la stimulation de protéines intracellulaire à domaine SH2, dit les premiers messagers intra cellulaires, et activer une cascade de signalisation ayant un impact sur divers processus cellulaires, dépendant de la voie de signalisation activée.

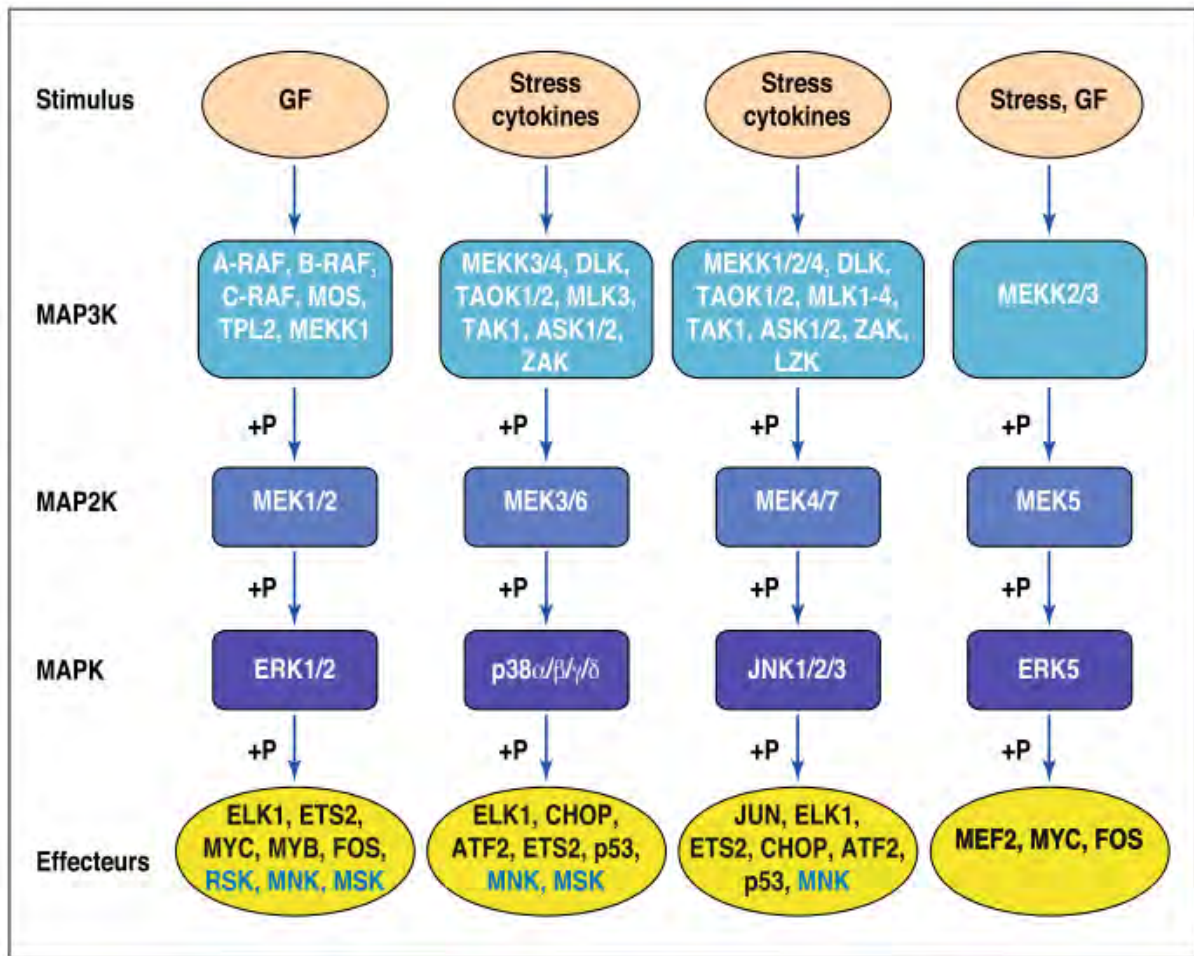
En cancérologie, les RTK présentant une altération moléculaire telle qu'une amplification, mutation activatrice ou protéine de fusion, ou bien sa surexpression sur une membrane peuvent être impliqués dans la prolifération et la survie des cellules tumorales. Ils peuvent être la cible thérapeutique de thérapie ciblant le domaine extra ou intra cellulaire. Actuellement une vingtaine de RTK sont la cible de thérapie ciblée tel que ALK, MET, EGFR, FGFR, IGFR, KIT, HER2, PDGFR, RET, TIE, VEGFR²³.

B. Les voies des MAP kinases

La voie des MAP kinases comprend plusieurs cascades de signalisation qui fonctionnent en parallèle et de manière similaire. Elles sont activées par un RTK. Elles ont chacune trois niveaux de cascades de signalisation, et bien que les protéines impliquées soient différentes dans chaque cascade elles sont regroupées sous les termes MAP3K, MAP2K, MAP1K²⁵.

On n'explicitera que 3 d'entre elles²⁶ :

- La voie RAF-MEK-ERK
- La voie p38
- La voie JNK ou JUNK (JUN N-terminal kinase)



Robert J, Signalisation cellulaire et cancer, Springer 2010

Figure 14 : Les différentes cascades de signalisation de la voie des MAP kinases

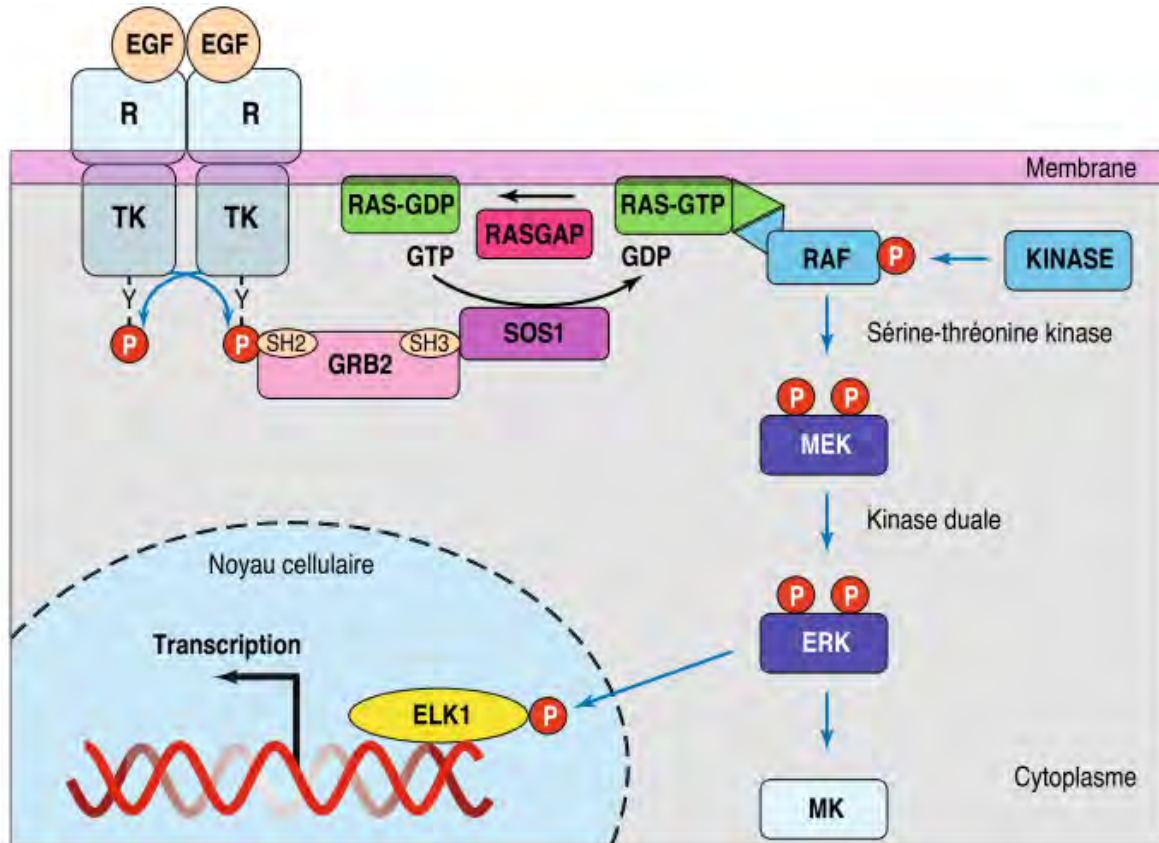
i. La voie RAF-MEK-ERK

Cette voie de signalisation, située en aval de RTK notamment de la famille EGF (Epithelial Growth Factor), est impliquée dans la réplication de l'ADN et la mitose. Sa suractivation en cancérologie a pour impact une prolifération constante des cellules cancéreuses²⁴.

L'autophosphorylation du domaine intra cellulaire du RTK EGF va recruter la protéine GRB2. Cela va permettre de recruter la protéine SOS1 qui va activer une GTPase, la protéine RAS.

Cette GTPase va modifier la conformation de la protéine RAF, la rendant apte à être phosphorylée par d'autres kinases telles que l'AMP cyclique (AMPC). Il existe 3 types de protéine RAF : A-RAF, B-RAF, C-RAF. A-RAF et C-RAF nécessitent une phosphorylation sur 4 sites pour être actives, tandis que B-RAF en nécessite deux, en position T599 et S602²⁴.

Les sérine-thréonine RAF vont ensuite phosphoryler les protéines MEK qui vont à leur tour phosphoryler ERK. ERK étant un facteur de transcription, régulant des gènes impliqués dans la prolifération cellulaire.



Robert J, Signalisation cellulaire et cancer, Springer 2010

Figure 15 : La principale voie des MAP kinases.

Intérêt de cette voie en cancérologie

La GTPase RAS est une protéine oncogénique souvent mutée dans les cancers du pancréas (90%), colorectaux (40%) et pulmonaire non à petite cellule (20%). Les mutations activatrices de cette protéine sont souvent des substitutions faux-sens se situant au niveau du codon 12 et 13. Cette GTPase passe d'un état inactif RAS-GDP à un état actif RAS-GTP. Une fois sa fonction réalisée, elle retourne à son état inactif GDP-RAS. Les mutations du codon 12 ou 13 vont rendre cette GTPase continuellement active sous la forme GTP-RAS induisant donc une stimulation constante de la voie RAF-MEK-ERK.

En aval, la sérine-théronine B-RAF est une cible oncogénique. Sa mutation activatrice V600E introduit une charge négative à proximité des sites 599 et 602, mimant donc un groupement phosphate nécessaire à son activation.

Les protéines MEK et ERK ne sont pas connues pour subir des mutations activatrices impliquées dans l'oncogénèse. Elles sont souvent surexprimées du fait des protéines mutées en amont²⁷.

ii. Les voies p38 et JNK

Il s'agit de MAP1 kinases dont leurs cascades de signalisation en amont sont dépendantes de RTK, de cytokines pro-inflammatoires et du stress cellulaire. A la différence de la cascade RAF-MEK-ERK, elles sont impliquées dans la différenciation, survie et migration cellulaire. Elles sont considérées comme des gènes suppresseurs de tumeurs, et aucune thérapeutique n'a été développée les concernant.

C. La voie PI3K/AKT/mTOR

Il s'agit d'une des voies les plus actives en cancérologie. Elle est impliquée dans la croissance cellulaire, la prolifération, la survie cellulaire, et la motilité cellulaire.

Les enzymes Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) de classe I sont au nombre de 4 : PI3K alpha, bêta, gamma et delta. Ce sont des enzymes à activité kinase composée d'une sous unité catalytique, la p110 (alpha, beta gamma ou delta selon l'enzyme) et d'une sous unité régulatrice (p85alpha, p85beta, p55gamma ou p150delta).

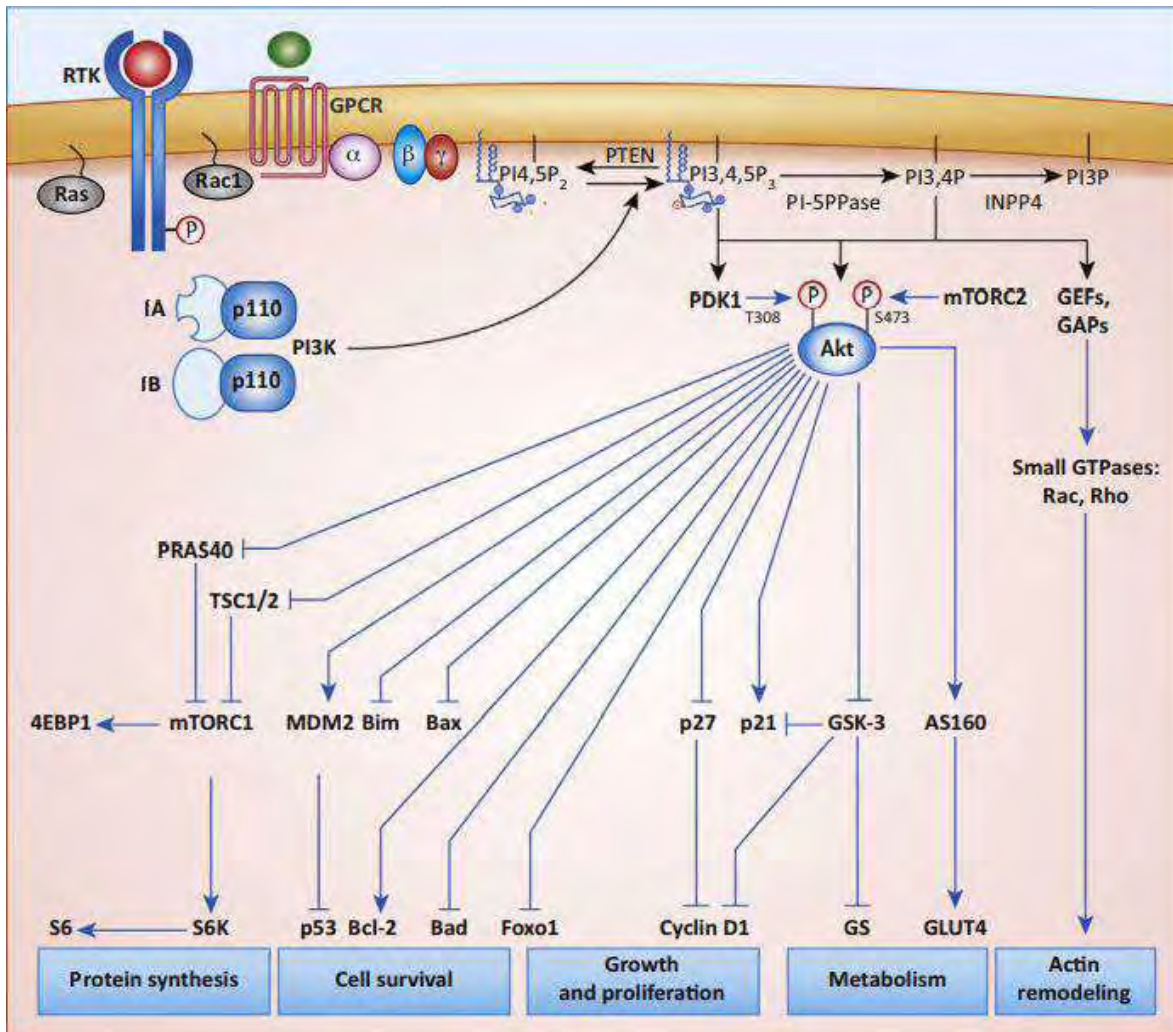
Elles phosphorylent un lipide membranaire le Phosphatidylinositol-4,5-biphosphate en PI-3,4,5-P3 qui permet l'activation de la voie Akt/mTOR induisant la prolifération cellulaire.

Elles peuvent être activées par 3 mécanismes distincts²⁴ :

- Par le RTK IGFR : en phosphorylant la sous-unité régulatrice sur son domaine SH2
- Par la protéine IRS1 : une protéine activée par le RTK IGR et qui va phosphoryler la sous-unité régulatrice.
- Par la GTPase RAS : qui va directement activer la sous-unité catalytique p110.

La PI3K va phosphoryler la PIP2 membranaire en PIP3, qui va permettre le recrutement d'une protéine PDK1 et AKT. PDK1 va phosphoryler la protéine AKT, qui va être impliquée dans de multiples cascades de réactions, notamment l'activation du complexe mTORC1²⁸.

La régulation de la voie PI3K/AKT/mTOR est donc dépendante de la phosphorylation du PIP2 en PIP3 par PI3K, mais également de la phosphatase PTEN qui dégrade le PIP3 en PIP2, diminuant l'activité de la voie PI3K/AKT/mTOR.



E Pons-Tostivint, B Thibault, J Guillermet-Guibert. Trends in Cancer 2017

Figure 16 : la voie PI3K/AKT/mTOR

Intérêt en cancérologie

C'est une voie riche en altérations mutationnelles.

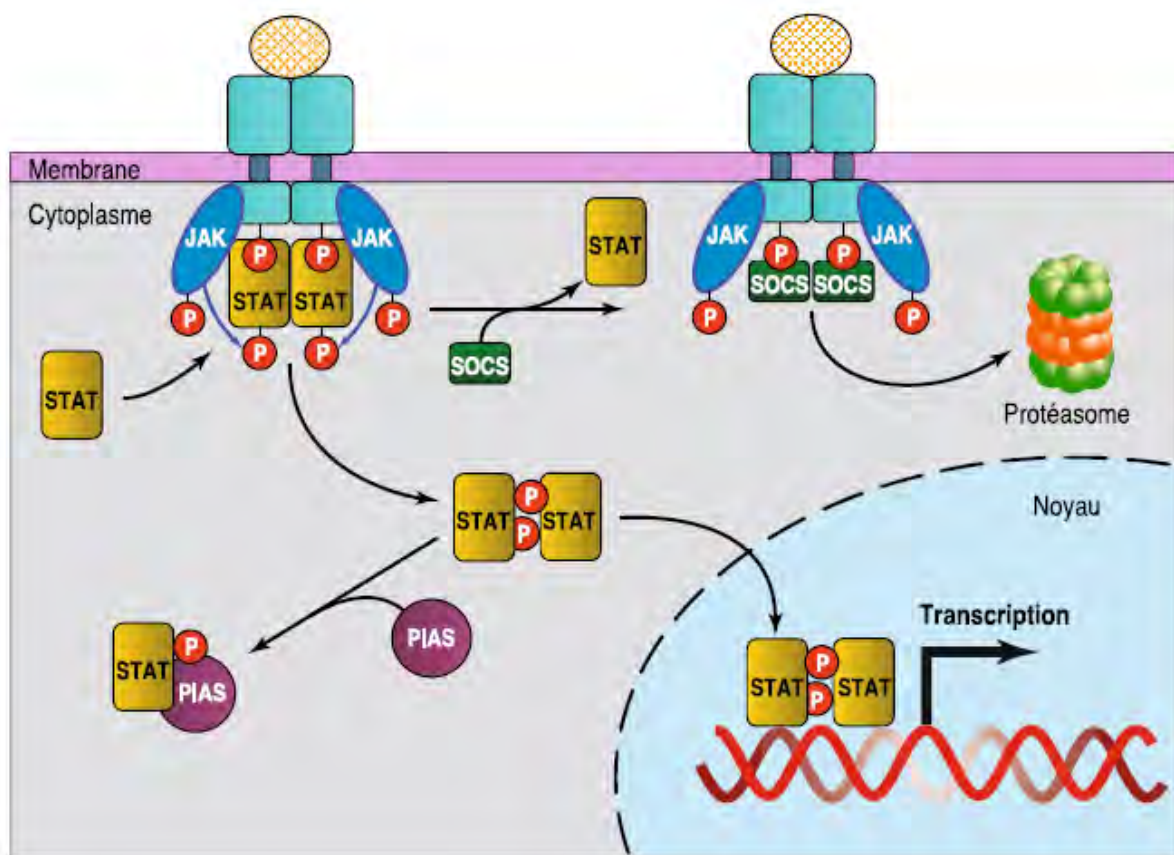
La PI3K alpha est une protéine mutée dans les cancers du sein et du colon. Elle est la cible d'inhibiteurs sélectifs tel que l'Alpélisib dans le cancer du sein métastatique hormono-dépendant²⁹. Des thérapies ciblent les autres isoformes, par exemple l'Idelalisib qui cible la PI3K delta dans les leucémies lymphoïdes chroniques.³⁰

Le complexe mTOR (mammalian target of rapamycin) est impliqué dans la prolifération cellulaire et l'autophagie. Son activation dépend des protéines en amont de la voie PI3K/AKT/mTOR et de facteurs nutritionnels. En cas de carence en nutriment, l'AMPc inhibe le complexe mTOR ce qui va majorer le processus d'autophagie, et diminuer les capacités de prolifération cellulaire. Les inhibiteurs de mTOR

sont utilisés en pratique courante chez les patients atteints de cancer du rein métastatique³¹ ou cancer du sein positif aux récepteurs hormonaux³².

D. La voie JAK/STAT

Cette voie de signalisation opère différemment. Le domaine intracytoplasmique du récepteur membranaire ne présente pas d'activité kinase. Cependant, il est fixé de façon constitutive à une protéine kinase JAK. Cette kinase assure la transduction du message jusqu'aux gènes cibles. Une fois activée, elle phosphoryle le facteur de transcription STAT qui va se transloquer au noyau. La voie STAT est impliquée dans la croissance et la différenciation cellulaire. Cette voie est également impliquée dans l'apoptose cellulaire par l'intermédiaire de STAT 3. Les protéines SOCS et PIAS régulent cette voie de signalisation, SOCS en se liant à la protéine JAK, et PIAS en se liant aux protéines STAT²⁴

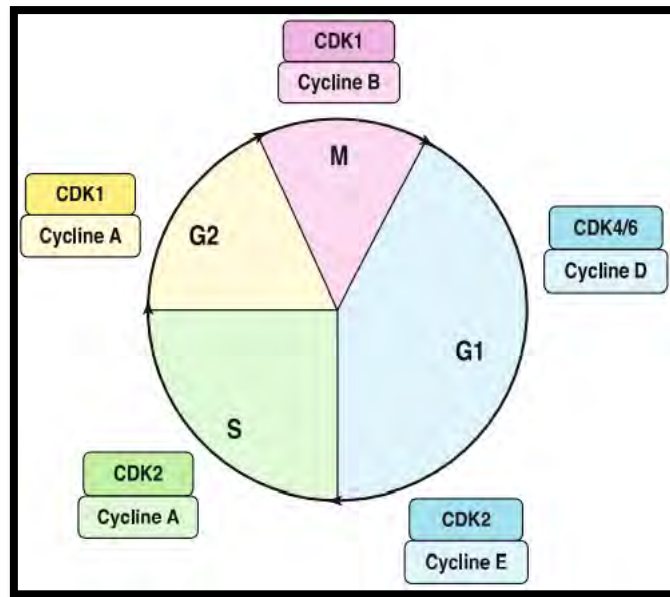


Robert, Signalisation cellulaire et cancer, Springer 2010

Figure 17 : La voie JAK/STAT.

E. Le contrôle du cycle cellulaire

La prolifération cellulaire incontrôlée est l'un des mécanismes fondamentaux du développement tumoral²². Le passage des cellules dans une phase de prolifération nécessite le déclenchement du cycle cellulaire³³. Une fois le point de restriction passé, la cellule progresse dans le cycle cellulaire, qui se décompose en quatre phases : la phase G1 qui précède la synthèse d'ADN (Gap1), la phase S (synthèse de l'ADN), et la phase G2 (Gap 2) qui précède la phase M (mitose)³⁴.



Robert J, Signalisation cellulaire et cancer, Springer 2010

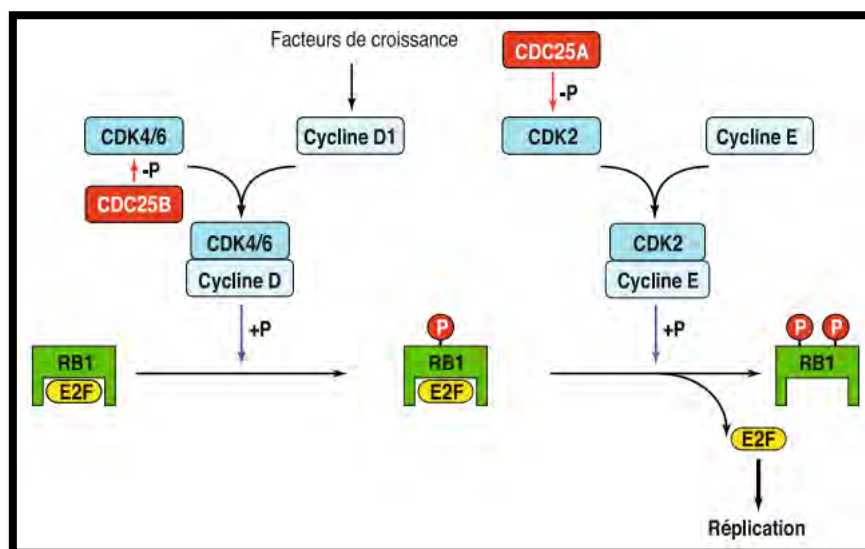
Figure 18 : Les 4 phases du cycle cellulaire

Chaque changement de phase est strictement régulé par des complexes protéiques constitués de cyclines et de leurs partenaires, les Cdk (*cyclin-dependent protein kinases*). Ces dernières ne sont actives que lorsqu'elles ont fixé leur partenaire cycline. Au niveau moléculaire, le passage de la phase G1 à S nécessite l'activation d'au moins deux types de complexes cycline-kinases, la cycline D/Cdk4-6 et la cycline E/Cdk2, qui engagent les cellules à dupliquer leurs centrosomes. Pendant toute la phase de synthèse de l'ADN, la Cdk2 est active sous forme de complexes avec la cycline E ou la cycline A. La transition G2/M est sous le contrôle du complexe cycline B/Cdk1. Un des éléments régulateurs du cycle cellulaire est donc la variation cyclique et coordonnée de l'activité des différents complexes cycline/Cdk.

Les cdk sont donc régulées par des kinases activatrices ou inhibitrice, ainsi que des phosphatases activatrices. Certains points de régulation ont une importance notable en cancérologie, tels que la transition entre la phase G1 et la phase S, ainsi que le contrôle de l'intégrité du génome avant chaque passage dans une nouvelle phase³⁵.

La transition G1/S est un point de contrôle important en cancérologie³⁶.

La cycline D va rencontrer dans la cellule les molécules CDK4 ou CDK6 et se lier à eux. Ces complexes inactifs vont être activés par une kinase CAK et par une phosphatase CDC25. Elles leur permettront d'exercer leur activité catalytique. Cette activité s'exerce sur une protéine régulatrice, la protéine RB1 et ses homologues RBL1 et RBL2. Ces protéines contrôlent l'activité des facteurs de transcription de la famille E2F. À l'état non phosphorylé, RB1 se lie à E2F et la rend inactive, maintenant les cellules en phase G1. Lorsque Rb1 est phosphorylée par le complexe cycline D-CDK4/6, elle perd progressivement son affinité pour E2F qui peut ainsi se libérer. Une fois libérée, E2F exerce son action de facteur de transcription nécessaire à la réplication de l'ADN. La dernière phosphorylation de RB1, qui permet la libération maximale d'E2F, est réalisée par un autre couple cycline-CDK : le couple d'entrée en phase S, cycline E-CDK2.



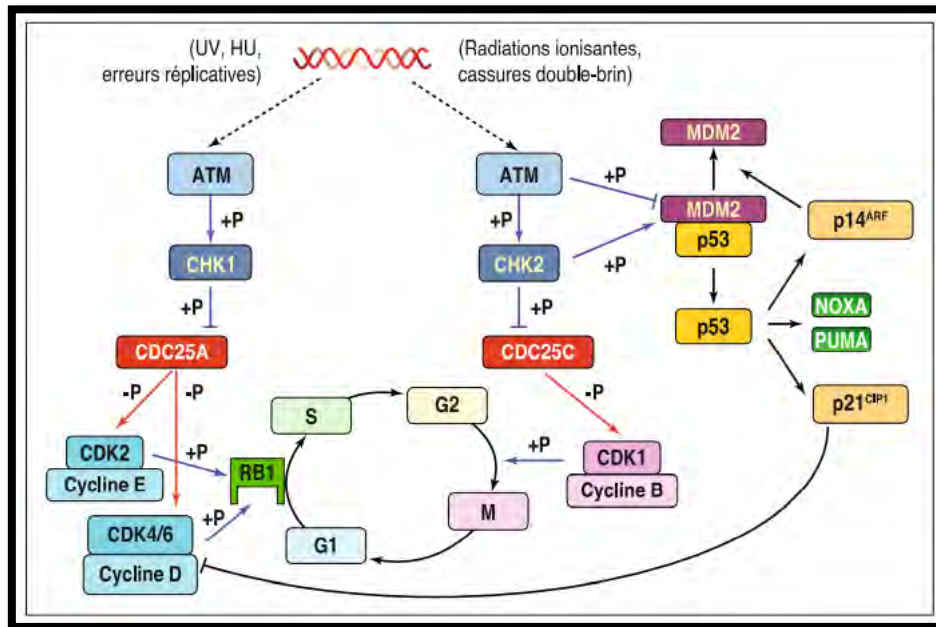
Robert J, Signalisation cellulaire et cancer, Springer 2010

Figure 19 : la transition entre la phase G1 et la phase S

L'identification des points de surveillance du cycle cellulaire a été l'une des contributions qui valut le prix Nobel à Hartwell, Nurse et Hunt. Ces points de surveillance assurent le contrôle de qualité du cycle cellulaire, et en particulier de la fidélité de la duplication du matériel génétique³⁷. En cas d'anomalies, ces mécanismes de surveillance stoppent la progression du cycle cellulaire et activent des processus de réparation ou de mort cellulaire par apoptose.

Ces mécanismes reposent sur l'activation de deux kinases ATM et ATR qui vont activer CHK1 et CHK2 (Checkpoint kinases 1 et 2). CHK 1 et 2 empêchent l'activation des complexes cycline-CDK nécessaires

soit à la transition G1/S, soit au cours de la réplication (checkpoint intra-S), soit à la transition G2/M (checkpoint G2/M). La protéine CHK2 est également capable d'activer par phosphorylation le facteur de transcription p53. Selon les dommages de l'ADN, p53 va induire la mort cellulaire par apoptose ou bien permettre la réparation de l'ADN.



Robert J, Signalisation cellulaire et cancer, Springer 2010

Figure 20 : La régulation du cycle cellulaire selon l'intégrité du génome

Intérêt en cancérologie

La dérégulation du cycle cellulaire peut induire une prolifération constante des cellules cancéreuses. De nombreuses protéines de régulation de l'avancée des cellules dans le cycle peuvent se comporter, selon les cas, comme des oncogènes ou comme des suppresseurs de tumeur. Ainsi, on retrouve une amplification de CDK4 et CDK 6 dans certains sarcomes, tandis que les protéines telles que Rb1, TP53, CHK1 et CHK2 sont considérés comme des suppresseurs de tumeur. Les mutations de p53 sont retrouvées dans près de 50% des cancers²⁵.

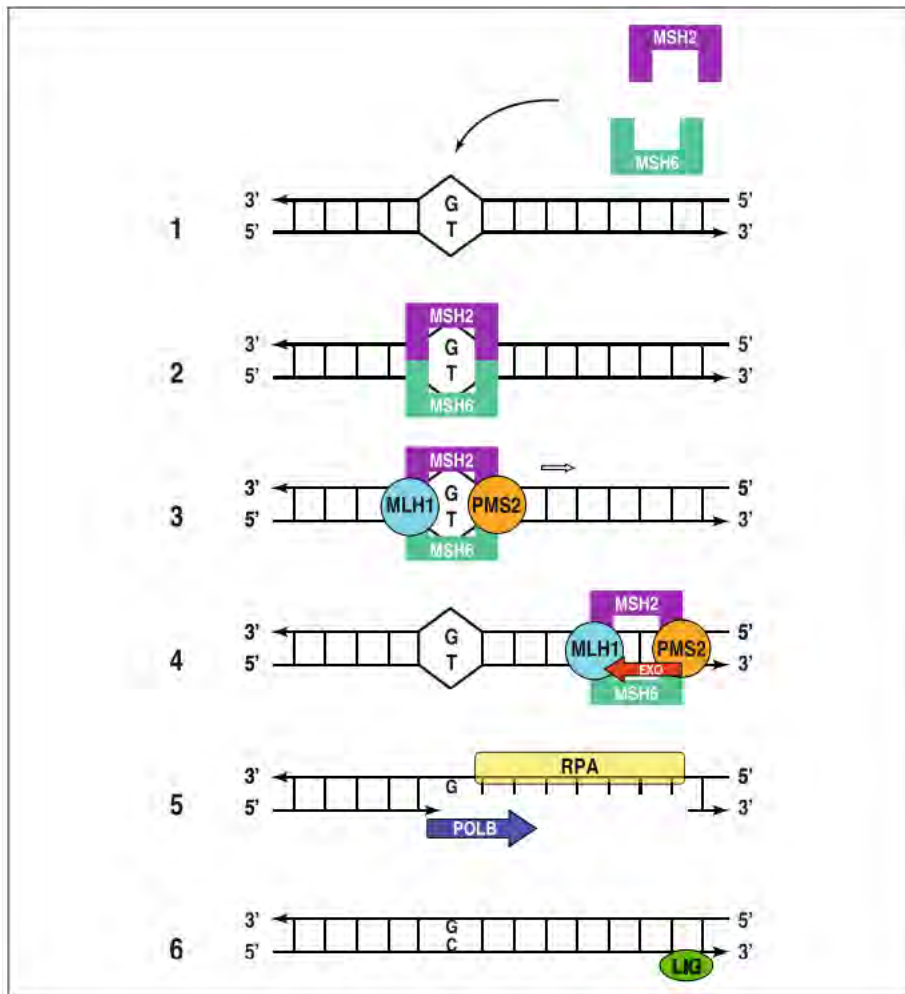
Les inhibiteurs de CDK associés à une hormonothérapie dans les cancers du sein sont une classe importante dans l'arsenal thérapeutique du cancer du sein hormonodépendant³⁸.

F. Les systèmes de réparation de l'ADN

Les mécanismes de réparation sont essentiels pour l'intégrité du génome. En cas d'anomalies de ces systèmes, l'ADN est source de mutation pouvant conduire au phénomène de cancérogénèse. Chaque système de réparation a son rôle propre selon la lésion de l'ADN.

i. Correction des mésappariements

Il est possible qu'au cours de la réplication lors de la phase S du cycle cellulaire, l'ADN polymérase réalise des erreurs en incorporant au niveau du nouveau brin d'ADN une ou plusieurs bases non complémentaires. Ces erreurs sont responsables de mésappariements de bases que la polymérase sait corriger. Néanmoins, après correction, la fréquence de mésappariement passe de $1/10^5$ à $1/10^7$. Les erreurs qui échappent à la correction des ADN polymérases nécessitent l'intervention de mécanismes de réparation spécifiques, comme le système Mismatch Repair (MMR). Ce système se compose d'hétérodimères, les complexes MSH2/MSH6 et MLH1/PMS2. Ces complexes reconnaissent le mésappariement et le corrigent par excision puis néosynthèse³⁹.



Robert J. Signalisation cellulaire et cancer, Springer 2010

Figure 21: Fonctionnement du système MMR. Le mésappariement (ici G : T) est reconnu par les protéines MSH2-MSH6 qui recrute ensuite les protéines MLH1 et PMS2. Le tétramère ainsi formé glisse à distance du mésappariement et digère le brin par une exonucléase EXO1 contenant l'erreur à partir d'une interruption de l'ADN jusqu'au mésappariement. La molécule RPA recouvre le simple brin pour empêcher sa dégradation par les nucléases. Une nouvelle synthèse est effectuée par l'ADN polymérase B et la continuité de l'ADN est restaurée par une ligase

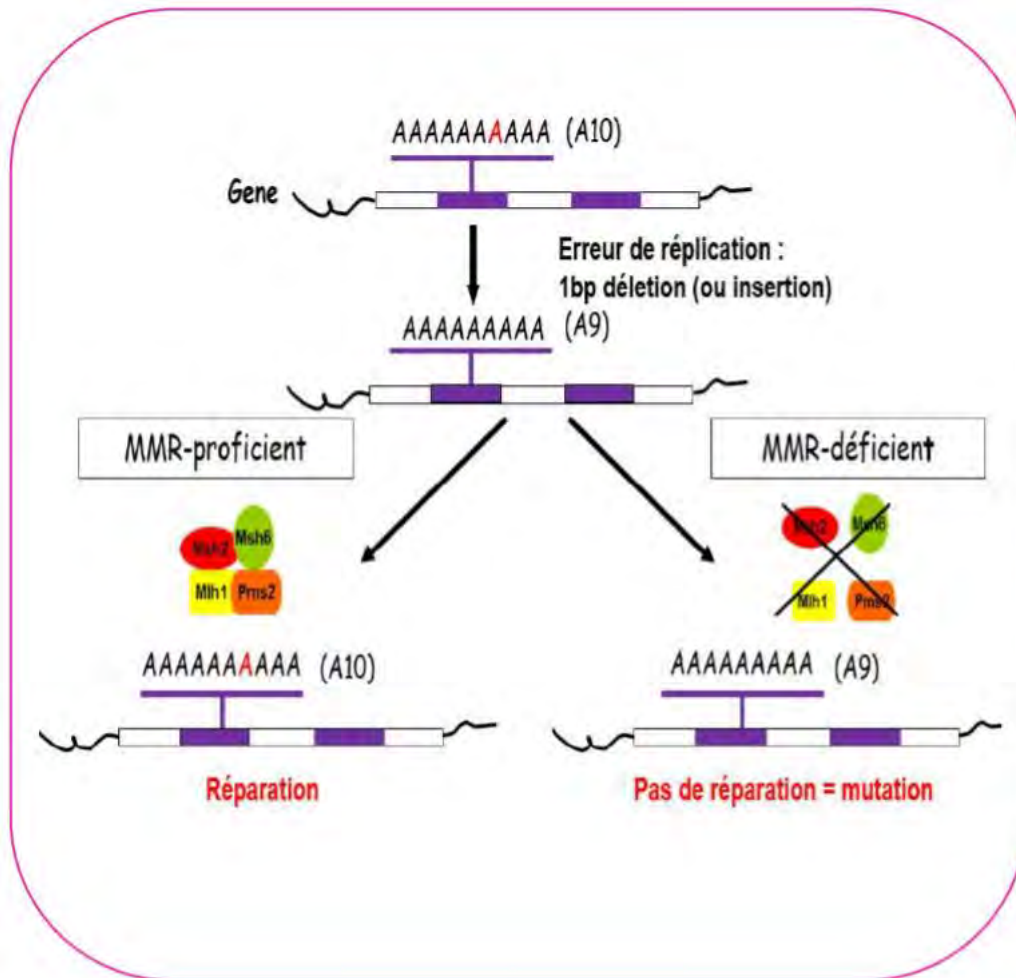
Une anomalie du fonctionnement du système MMR entraîne un défaut de réparation des mésappariements et engendre une accumulation de mutations au niveau de l'ADN. Lorsque ces mutations touchent des gènes clés du contrôle du cycle cellulaire ou de l'apoptose, elles peuvent aboutir à une activation de la cancérogénèse. Elles peuvent également entraîner une instabilité microsatellitaire.

Les microsatellites sont des séquences simples et courtes composées d'un motif nucléotidique « x » répété n fois. La longueur du motif varie de 1 à 6 bases, répétées en tandem (ex : ATATATATAT). Un microsatellite est mononucléotidique lorsque le motif est constitué d'une base, di-nucléotidique s'il est composé de deux bases etc. Le nombre de répétitions varie d'un individu à l'autre et entre

générations. Ces séquences sont retrouvées partout dans le génome, en régions codantes mais surtout en régions non codantes. Lors de la réplication de l'ADN, l'ADN polymérase peut ajouter ou oublier des nucléotides : c'est l'effet « glissement ». En raison de leurs séquences répétées, les régions microsatellitaires sont particulièrement sujettes aux erreurs de glissement pendant la réplication. En cas de déficience du système MMR, ces erreurs ne sont pas corrigées et sont transmises aux cellules des générations suivantes. Les conséquences sur le fonctionnement sont limitées lorsque ces erreurs touchent un microsatellite situé en région non codante. Cependant certains microsatellites sont localisés dans des séquences codantes du génome et seront transcrits sous la forme d'ARN messager (ARNm). Une modification de la séquence ARNm a pour conséquence la modification de la protéine traduite et s'accompagne très souvent d'une inactivation fonctionnelle de la protéine en question, conférant un avantage sélectif à la cellule tumorale MMR-déficiente. La présence de mutations au sein des séquences microsatellitaires définit l'instabilité microsatellitaire et constitue un marqueur de l'inactivation du système MMR. Il s'agit d'un mécanisme d'oncogenèse impliqué dans plusieurs cancers mais décrit initialement dans les années 1990 dans le cancer colorectal (CCR)⁴⁰.

Un système MMR déficient peut être diagnostiqué par analyse immunohistochimique des protéines MLH1, MLH6, PMS2, MLH1 ou par séquençage ADN des microsatellites.

Depuis 2002, un panel de 5 microsatellites mononucléotidiques (BAT-25, BAT-26, NR21, NR24 et NR27) désigné sous le nom de panel « Pentaplex » est utilisé pour analyser le statut MSS d'une tumeur⁴¹. En cas de 2 marqueurs instables, la tumeur présente donc une instabilité micro-satellitaire évocatrice d'un système MMR déficient.



Test MSI, recommandations onco-occitanie

Figure 22 : Un système MMR déficient modifie la séquence micro satellitaire

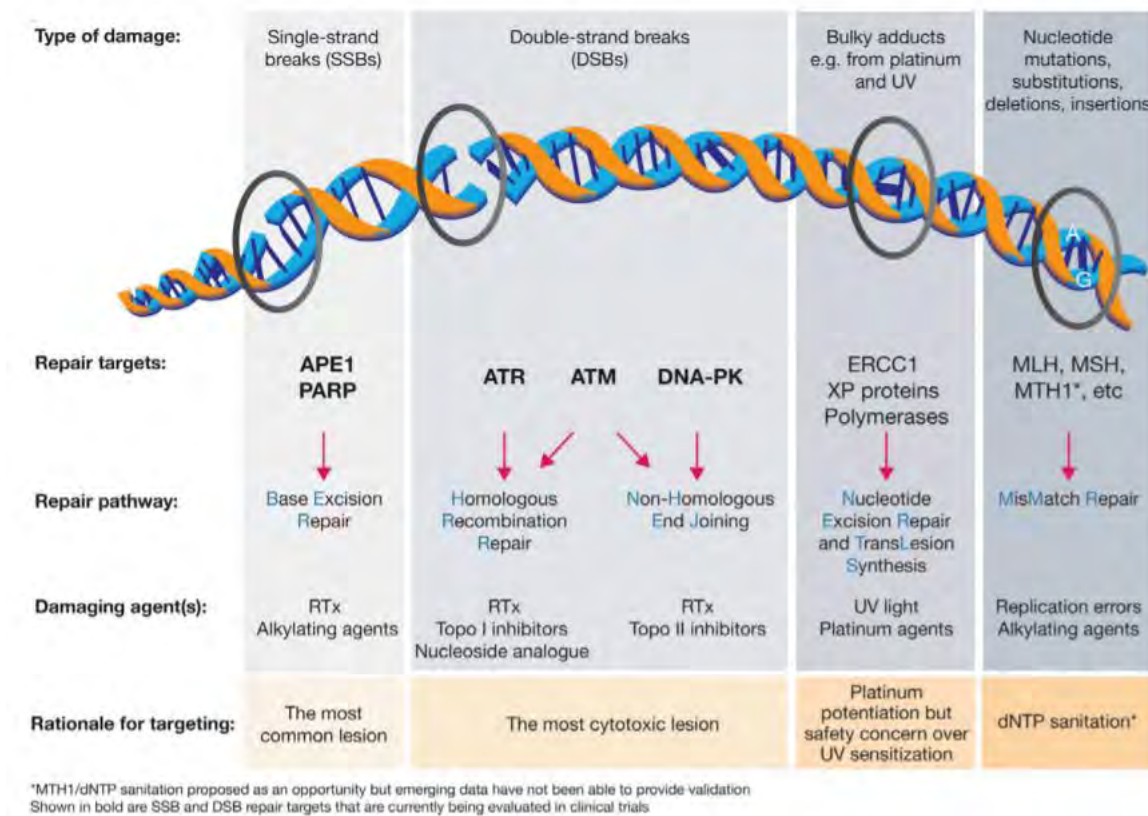
Intérêt en cancérologie

L'analyse du statut MSI a une importance pronostique, thérapeutique et dans la prise en charge oncogénétique.

Une tumeur MSI a donc une anomalie de réparation de l'ADN à l'origine de multiples mutations génétiques ayant pour conséquence la synthèse de néo-antigène tumoraux. Une forte charge mutationnelle antigénique est un facteur favorisant l'efficacité de l'immunothérapie. Un statut tumoral MSI est facteur prédictif de réponse à l'immunothérapie⁴²⁴³.

Dans le cadre des cancers colo-rectaux non métastatiques, le statut MSS tumoral est un facteur pronostique. Les patients atteints d'un CCR localisé MSI sont de meilleur pronostic que les tumeurs CCR localisées MSS⁴⁴⁴⁵.

Enfin, un système MMR déficient doit faire suspecter une origine génétique dans le cadre du syndrome de Lynch avec une recherche constitutionnelle du statut MMR/MSS.



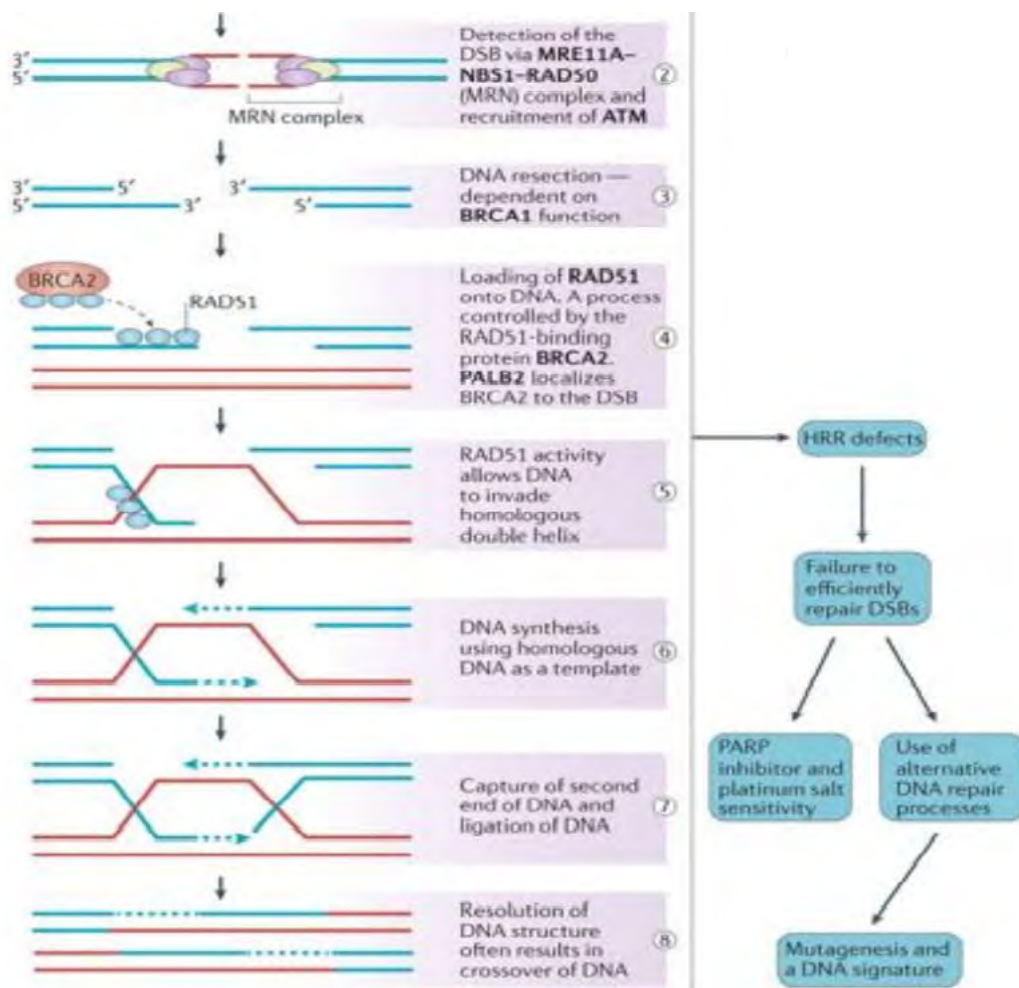
O'Connor MJ, Targeting the DNA damage response in cancer.

Figure 23 : Les différents mécanismes de réparation de l'ADN et les cibles thérapeutiques en cancérologie

ii. Réparation des cassures simples et doubles brins d'ADN

En plus des erreurs de mésappariements, l'ADN peut présenter une cassure de l'un ou de ses deux brins. Ces dégradations sont la conséquence de facteurs environnementaux physiques (rayons ultraviolets (UV) et rayonnements ionisants) ou chimiques (radicaux libres de l'oxygène et agents alkylants). Elles sont réparées via des mécanismes de réparation spécifiques : les altérations de l'ADN simple brin font intervenir la réparation par excision de base (BER) ou par excision de nucléotides

(NER), tandis que les cassures double-brins sont réparées par recombinaison homologue (RH) ou par jonction d'extrémités non homologues (NEJH).



Daniel D Karp, Handbook of targeted Cancer therapy and immunotherapy

Figure 24 : Le système de recombinaison homologue

Dans le cadre des cassures double-brin, la détection des lésions se fait principalement par un complexe MRN, qui se fixe sur la région endommagée, permettant le recrutement de 2 protéines kinases : ATM et ATR. Leurs substrats vont avoir des rôles spécifiques. CHK1 et CHK2 vont entraîner l'arrêt du cycle cellulaire pour permettre la réparation. P53 va décider de la réparation des dommages de l'ADN ou de l'induction de l'apoptose. Et les protéines BRCA1 et DNA-PK vont être impliquées dans les mécanismes de réparation par recombinaison homologue⁴⁶.

La recombinaison homologue permet la réparation des cassures doubles brins. Elle intervient en phase S tardive et G2, car elle nécessite une chromatide sœur non endommagée où elle va copier la partie similaire et intacte de la chromatide sœur pour réparer le chromatide endommagé.

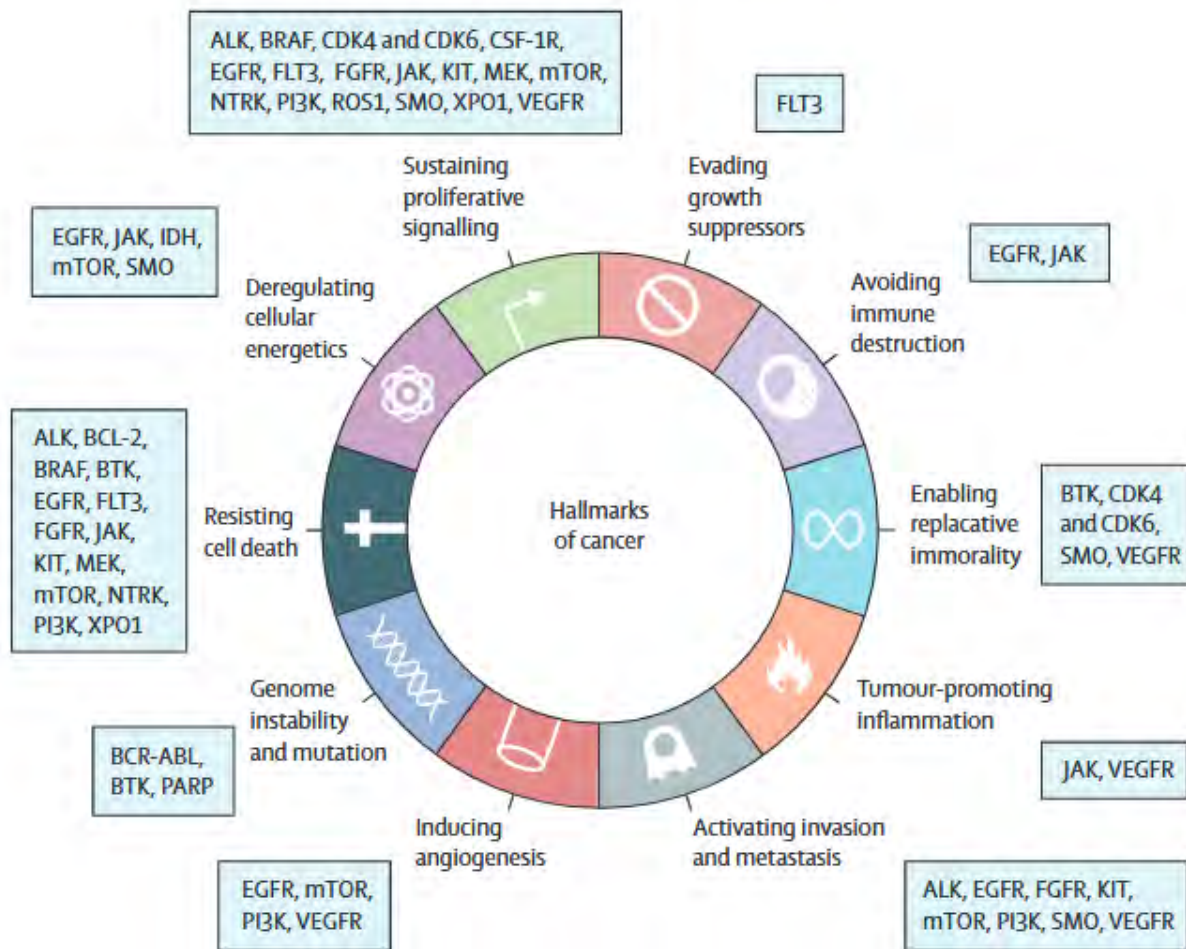
Intérêt en cancérologie

Dans le cadre des cancers de l'ovaire, les inhibiteurs de PARP ont drastiquement amélioré la survie des patientes présentant une anomalie du système de recombinaison homologue⁴⁷.

Les PARP inhibiteurs empêchent la réparation des cassures simples brins causées par la chimiothérapie, notamment les sels de platine. Lors du mécanisme de réplication, ces lésions simples brins vont s'aggraver en lésions doubles brins que le système de recombinaison homologue déficient ne pourra pas réparer induisant la mort cellulaire.

L'ensemble de ces altérations moléculaires vont modifier les cascades de signalisation intra-cellulaire et permettre à la cellule cancéreuse d'acquérir un phénotype particulier à savoir²² :

- 1- Une auto-suffisance vis-à-vis des facteurs de croissance
- 2- Une insensibilité aux signaux anti-prolifératifs
- 3- L'échappement à l'apoptose
- 4- Un potentiel illimité de réplication
- 5- La promotion de l'angiogenèse
- 6- Une invasion tissulaire et potentiel métastatique
- 7- Une instabilité génétique
- 8- La dérégulation du métabolisme cellulaire
- 9- La promotion de l'inflammation
- 10- Un échappement à la vigilance immunitaire



Bedard PL et al. Small molecules, big impact: 20 years of targeted therapy in oncology. Lancet. 2020

Figure 25 : Oncogènes et hallmarks of cancer

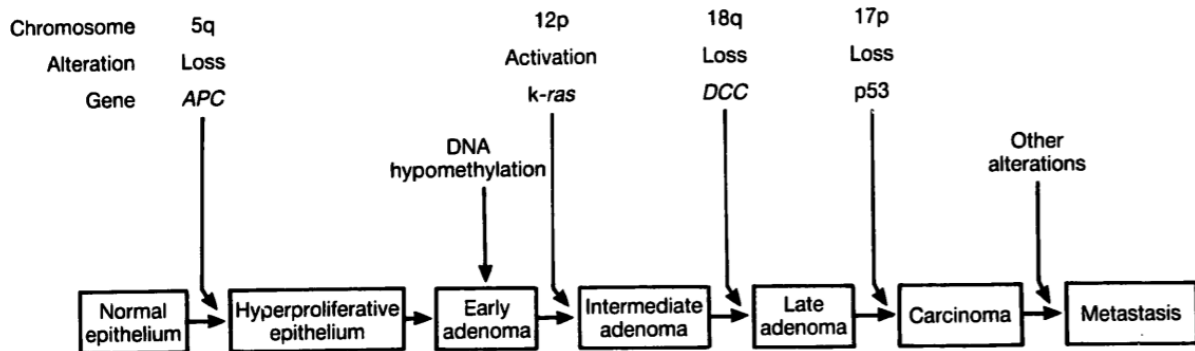
Néanmoins, l'importance de chaque mutation dans le processus de cancérogénèse est variable selon le type de tumeur et le moment d'apparition de celle-ci. Certaines ne seront que de simples mutations passagères tandis que d'autres seront essentielles dans le développement tumoral.

3. Les différents processus de cancérogénèse

A. La carcinogénèse à étapes multiples

Ce modèle illustre la cancérogénèse induite par les carcinogènes tels que le tabac, l'alcool, ou les rayons ultra-violet. Le développement d'une cellule cancéreuse est le fruit de l'accumulation de multiples altérations moléculaires. Selon les modèles de développement du cancer colo-rectal, la

cancérogénèse résulte de l'acquisition de mutations d'oncogènes ET de gènes suppresseurs de tumeur au cours du temps⁴⁸. La mutation d'un oncogène peut stimuler la croissance cellulaire, tandis que la perte d'un gène suppresseur permettra à la cellule cancéreuse d'acquies une prolifération incontrôlée ou un mécanisme d'échappement à l'apoptose.



Vogelstein, B. & Kinzler, K. W. The multistep nature of cancer. *Trends Genet.* 9, 138–141 (1993).

Figure 26 : Modèle de cancérogénèse du cancer colo-rectal LOH+

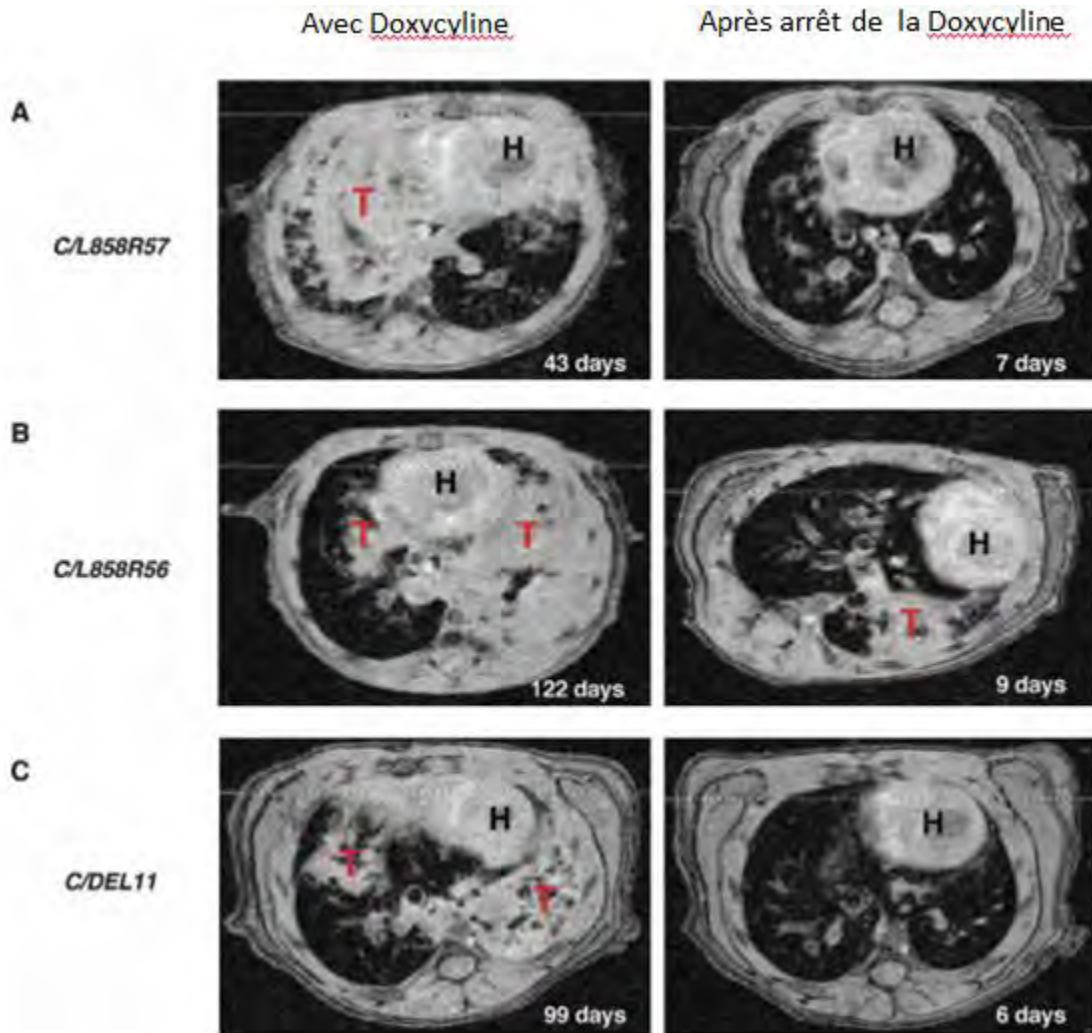
Certaines de ces altérations sont dites neutres, sans impact particulier. D'autres sont délétères pour la cellule induisant sa mort cellulaire. Et certaines confèrent un avantage sélectif permettant à la cellule de se développer⁴⁸. Cet avantage sélectif lui permet de proliférer, créant une population sous clonale. Cette dernière va également subir de nouvelles altérations lui conférant de nouvelles capacités et conduisant au développement du cancer⁴⁹.

B. L'addiction oncogénique

La carcinogénèse de certaines tumeurs peut être dépendante d'une voie de signalisation voire d'une seule mutation. L'identification du principe d'addiction oncogénique a pu être démontrée à travers les mutations du RTK EGFR dans l'adénocarcinome pulmonaire.

En 2003, la FDA approuve l'utilisation du Gefitinib, un TKI ciblant l'EGFR, en 2^{ème} ligne de traitement de l'adénocarcinome métastatique du fait d'un taux de réponse objectif de 10% (15 patients sur 142) avec une survie sans progression médiane de 7 mois, entre 4 à 18 mois selon les patients. Le rationnel de l'utilisation du Gefitinib repose sur l'identification d'une surexpression des récepteurs EGFR chez certains patients atteints de cancer du poumon tout type histologique confondu. Néanmoins, la surexpression du récepteur EGFR analysée par immunohistochimie n'est pas corrélée à l'efficacité du Gefitinib⁵⁰. En parallèle, le séquençage du gène codant pour l'EGFR sur 119 échantillons de tumeurs pulmonaires, retrouvait 16 patients présentant une mutation sur le domaine kinase de l'EGFR. Les 5 patients mutés pour l'EGFR et traités par Gefitinib présentaient un taux de réponse objective de

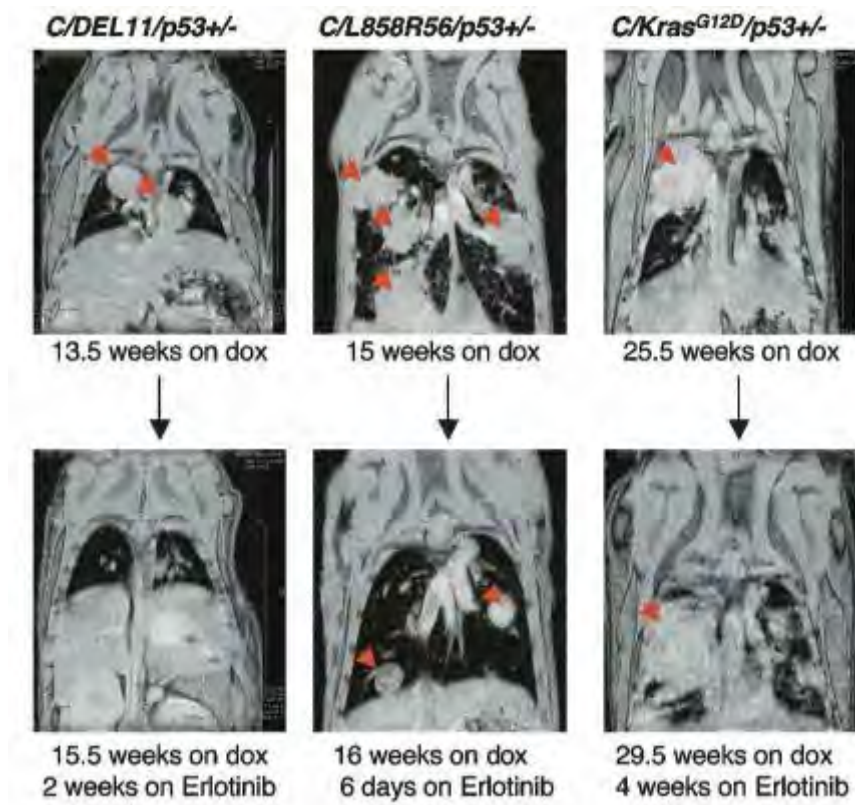
100%⁵¹. Dans le cadre d'études in vivo, des souris transgéniques présentaient une mutation du gène de l'EGFR codant pour le domaine kinase dont l'expression est conditionnée par un récepteur à la Doxycycline, dans des cellules pulmonaires saines. Les souris s'alimentant avec de la Doxycycline exprimaient l'EGFR muté et développaient un adénocarcinome pulmonaire. Après 6 à 10 jours d'arrêt de la Doxycycline, on observait une diminution de leur masse tumorale⁵².



Politi et al. Gene Dev 2006; 20:1496

Figure 27 : Images d'IRM pulmonaires murines. A) Souris lignée 57 muté EGFR L858R à 43 jours de la prise de Doxycycline, et à 7 jours de l'arrêt. B) Souris mutée lignée 56 EGFR L858R. C) Souris lignée 11 avec une délétion de l'exon 19.

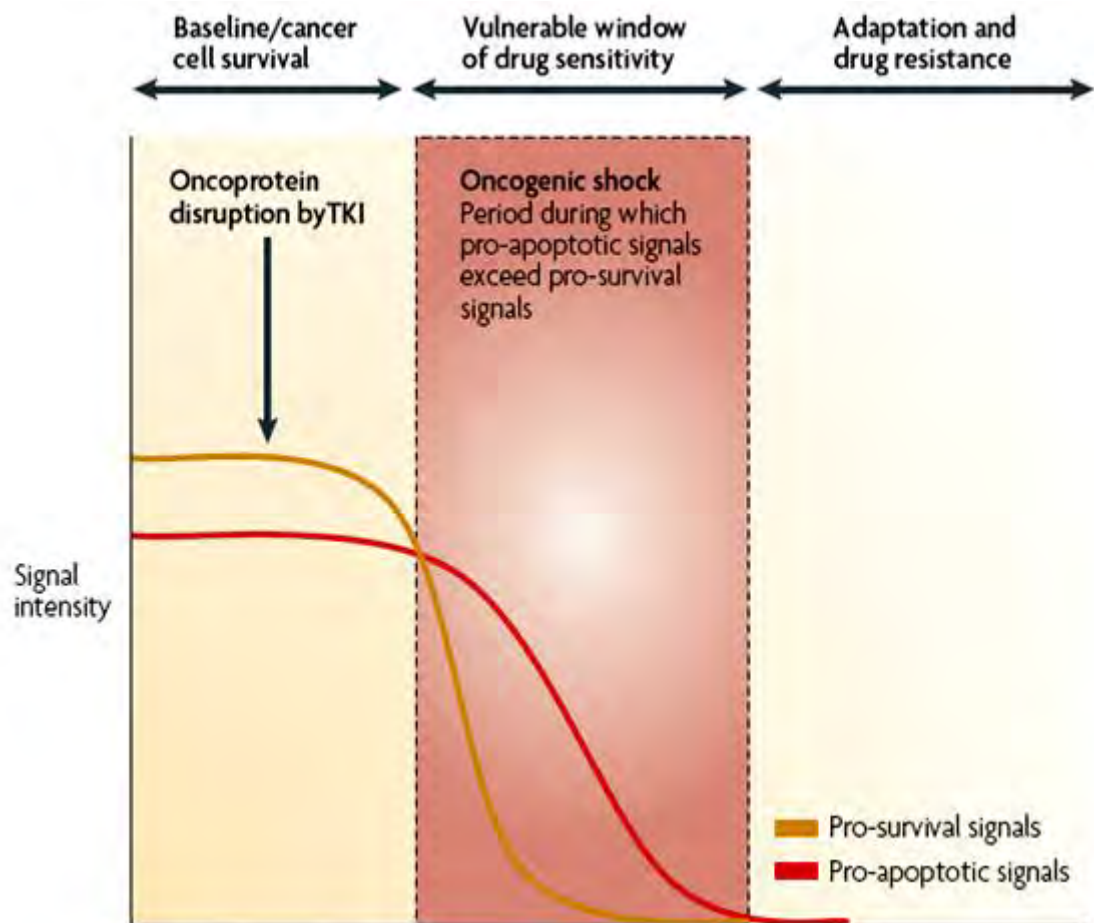
Ce driver oncogénique permet à la cellule cancéreuse de se développer et d'acquérir un gain sélectif. Ce dernier va être transmis à ces cellules filles, créant un clone cellulaire prépondérant dans la tumeur mais dépendant de ce driver oncogénique. En cas de perte de ce driver, par perte d'expression ou thérapie ciblée, la tumeur régresse.



Politi et al. Gene Dev 2006; 20:1496

Figure 28 : Efficacité du Gefitinib sur les souris del exon 19 et L858R

En inhibant l'axe principal de signaux de croissance et de survie cellulaire, ce TKI va induire un état de choc oncogénique dans la cellule. Cela a pour conséquence un déséquilibre entre signaux de survie cellulaire et signaux pro-apoptotiques en faveur de la mort cellulaire par apoptose⁵³.



Sharma, S. V., Bell, D. W., Settleman, J. & Haber, D. A. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat. Rev. Cancer* 7, 169–181 (2007).

Figure 29 : Le choc oncogénique

En pratique clinique, le principe d'oncogène driver a encouragé le développement et l'utilisation de thérapie ciblée, avec d'excellents résultats bien que le bénéfice clinique soit souvent limité dans le temps.

D. Les thérapies ciblées médicamenteuses en oncologie

Le terme thérapie ciblé fait référence à « une médecine de précision ». Ce sont des traitements développés sur la compréhension des mécanismes conduisant à l'apparition et au développement des tumeurs. Contrairement à la chimiothérapie qui va cibler et endommager l'ADN, ces thérapies vont cibler directement un processus d'oncogenèse propre à la tumeur, avec une spécificité pour les

cellules cancéreuses présentant ce processus d'oncogenèse. Pour l'utilisation de ces thérapies, nous devons identifier un ou des biomarqueurs moléculaires prédictifs de l'efficacité de ces traitements¹.

Les techniques de séquençage de l'ADN permettent de retrouver ces biomarqueurs moléculaires, que ce soit la mutation ciblable pour les thérapies ciblées ou bien un statut MSI ou TMB (Tumor mutation burden) élevé pour l'immunothérapie spécifique. Nous nous intéresserons donc aux thérapies ciblant la cellule cancéreuse mais également à l'immunothérapie, traitements phares dans le médecin de précision en oncologie.

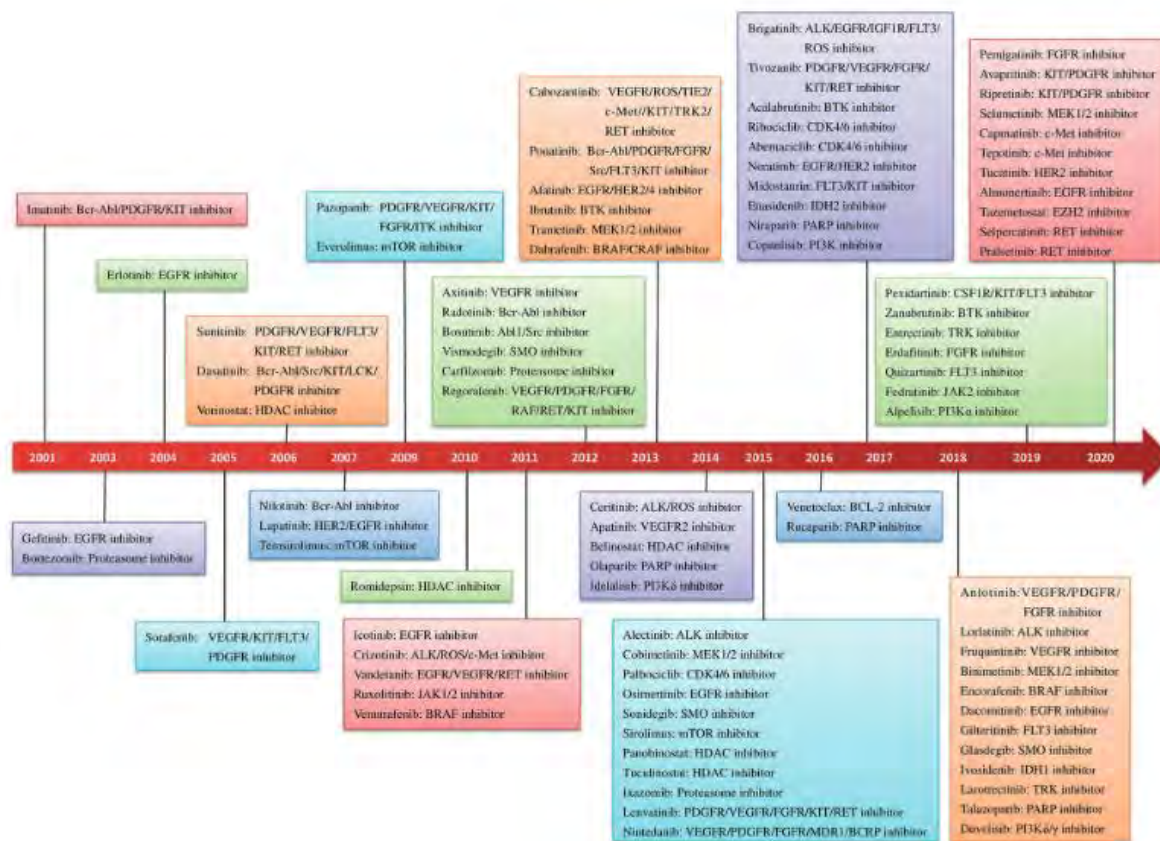
1. Les thérapies ciblées

Les premières thérapies ciblées ayant reçu l'autorisation de mise sur le marché (AMM) en France furent le Trastuzumab en 2000, chez les patientes atteintes de cancer du sein métastatique après 2 lignes de traitements et surexprimant HER2⁵⁴ et l'Imatinib chez les patients présentant une leucémie myéloïde chronique avec la protéine de fusion BCR-ABL⁵⁵.

Depuis, leur développement s'est considérablement accru. Entre 2000 et 2011, 15 thérapies ciblées ont eu l'AMM en France. Près de 26 l'ont reçu entre 2011 et 2015 et une cinquantaine entre 2015 à nos jours².

¹ INCa, Les thérapies ciblées dans le traitement du cancer en 2015 /États des lieux et enjeux, appui à la décision, INCa. Juillet 2016

² 56



Zhong L, et al Signal Transduct Target Ther. 2021.

Figure 30 : Historique de la commercialisation des thérapies ciblées de bas poids moléculaire

En 2015, les thérapies ciblées représentaient 25% des traitements médicamenteux utilisés en oncologie médicale. Près de 50% de ces traitements étaient utilisés en première ligne de traitement chez les patients métastatiques.

Parmi les avis de la Commission de la Transparence publiés fin 2015, 92 concernent des indications octroyées à des thérapies ciblées dans le traitement du cancer. Sur la base de ces avis, 95 % des indications ont reçu un avis favorable à leur prise en charge. Quatre-vingt-sept pourcents ont eu un SMR important, 6 % un SMR modéré, 2 % un SMR faible et 5% un SMR insuffisant³³.

Ces thérapies ont amélioré le pronostic des patients dans certains types de cancer. Dans le cadre du mélanome, près de 50% des mélanomes métastatiques présentent une mutation BRAF V600E. En 2011, un essai comparait la chimiothérapie standard, la Dacarbazine, au 1^{er} BRAF inhibiteur le Vémurafenib chez 675 patients présentant un mélanome de stade IV non traité.⁵⁷ Avec un taux de réponse de 48% contre 5% associé à une survie globale à 6 mois de 84% contre 64%, le Vémurafenib était supérieur à la chimiothérapie standard de 1ère ligne. Actuellement, l'association Encorafenib Binimetinib augmente la PFS médiane des patients atteints de mélanome stade IV à 14,9 mois contre 7,3 mois pour ceux traités par Vémurafenib⁵⁸. Dans le cadre de carcinome ovarien de haut grade de

stade III-IV chez des patientes BRCA mutées, l'utilisation de l'Olaparib, un inhibiteur de PARP, en traitement d'entretien après chimiothérapie adjuvant diminue le risque de récurrence dans les 3 premières années de 70%⁵⁹ par rapport au placebo.

2. Mécanismes d'actions des thérapies ciblées

Comme vu précédemment, les mécanismes d'oncogénèse reposent sur une modification des voies de signalisation, soit par l'intermédiaire des RTK soit par une protéine impliquée dans les cascades de signalisation.

Les thérapies ciblées sont divisées en deux principaux groupes :

- Les macromolécules : ce sont les anticorps monoclonaux. Du fait de leur poids moléculaire important, ils ne traversent pas la membrane cellulaire et vont donc avoir une activité extracellulaire. Ils présentent une terminologie commune, le suffixe -mab.
- Les traitements à bas poids moléculaires, ayant une activité intra-cellulaire. Ils présentent également une terminologie commune, le suffixe -inib.

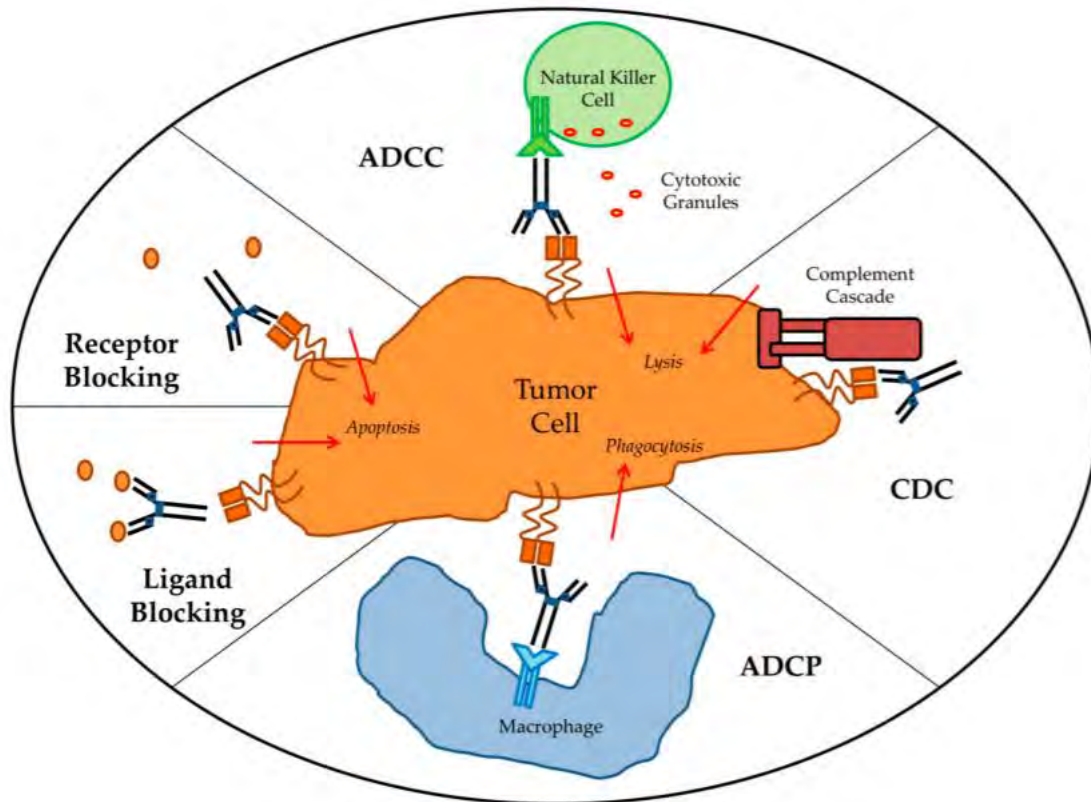
Comparaison	Traitement intra-cellulaire	Anti-corps
Poids moléculaire	< 1000 Da	1500-150000 Da
Effet off-target	Fréquent	Rare
Diffuse à travers la membrane cellulaire	Oui	Non
Pénètre la barrière hémato-méningée	Possible	Difficilement
Voie d'administration	Per os	Intra-veineuse

Figure 31 : Comparaison entre anticorps monoclonaux et traitements de bas poids moléculaire

1. Les anticorps monoclonaux

Les anticorps sont des protéines de haut poids moléculaire dont l'activité est purement extracellulaire.

Ils sont composés de deux fragments Fab se liant avec l'antigène cible afin de réaliser leur fonction qui leur est propre et un fragment Fc pouvant stimuler la voie du complément ou l'activation de cellules du système inné telles que les cellules NK ou les macrophages et induire une réponse immunitaire anti-cancéreuse⁶⁰.



Zahavi, D. & Weiner, L. Monoclonal Antibodies in Cancer Therapy. *Antibodies Basel Switz.* **9**, E34 (2020).

Figure 32 : Mécanismes d'action des anticorps monoclonaux

Il existe des anticorps chimériques murins, ayant le suffixe -xi-, comme le cétuximab, des anticorps humanisés -zu-, comme le bévacizumab, le trastuzumab, et des anticorps intégralement humanisés -mu-, comme le panitumumab ou le ramucirumab³⁷.

Ac (mab)	100 % murins	Chimériques (~30 % murin)	Humanisés (~10 % murin)	Intégralement humanisés
Suffixe	omab	ximab	zumab	(m)umab
Ex. d'Ac en oncologie digestive	-	Cétuximab	Trastuzumab Bévacizumab	Panitumumab Ramucirumab

Figure 33 : Différents types d'anticorps

Ces anticorps peuvent être dirigés contre le ligand du RTK, empêchant ainsi sa fixation (par exemple, les anticorps anti VEGF tel que le Bevacizumab). Ils peuvent également agir sur le domaine extramembranaire d'un RTK selon des mécanismes d'actions différents :

- Par inhibition compétitive : en inhibant la fixation du ligand du fait d'une affinité plus importante, comme le Trastuzumab et le récepteur HER2.
- Par activité cytotoxique : en promouvant une réaction immunitaire cytotoxique, comme le Trastuzumab.
- Par association à un cytotoxique afin de cibler au mieux les cellules cancéreuses, tel que le Trastuzumab-Emtansine.
- En induisant un effet bystander. Le cytotoxique va agir sur la cellule cible et l'environnement tumoral tel que le Trastuzumab-Deruxtecan⁶¹.

2. Les thérapies ciblées intra-cellulaires

Il s'agit de molécules de bas poids moléculaire. Leur mécanisme d'action est souvent identique, mais les cibles sont différentes. Ils inhibent l'activité d'une protéine ou d'un RTK en se fixant sur son site catalytique ou régulateur par inhibition compétitive⁶².

i. Les inhibiteurs de tyrosine-kinase

Ce sont des agents qui inhibent les protéines à activité tyrosine-kinase que ce soient des protéines cytoplasmiques impliquées dans la transduction du signal ou le domaine intramembranaire de RTK. Les TKI traversent la membrane plasmique des cellules, par diffusion passive ou par l'intermédiaire de transporteurs. Ils se fixent ensuite sur les tyrosines kinases de manière compétitive au niveau du site de fixation de l'ATP bloquant ainsi leur activation et donc la phosphorylation de leurs cibles. De ce fait, la signalisation cellulaire en aval est interrompue, rétablissant ainsi le contrôle de la prolifération et de la survie cellulaire³⁶.

Les TKI peuvent être spécifiques à une cible ou bien multisites.

ii. Les inhibiteurs de kinase autres que les tyrosines.

Le mécanisme d'action est similaire, excepté le fait qu'ils ciblent des protéines sérine ou thréonine kinase tels que les anti-BRAF.

Les inhibiteurs de CDK 4/6 se lient également au site de liaison de l'ATP inhibant la formation du complexe CDK/Cycline permettant le déroulement du cycle cellulaire⁶³.

Quant au Sorotinib, inhibiteur de KRAS G12C, celui-ci modifie la conformation du KRAS G12C GDP ne permettant pas l'échange d'une GDP pour un GTP⁶⁴.

iii. Autres exemples de mécanismes d'action

Le Vénétoclax est un traitement inhibiteur sélectif de la protéine anti-apoptotique Bcl-2. En se liant à son domaine BH3, elle empêche la fixation inhibitrice des molécules de Bax et Bam. Ces molécules vont rester actives et contribuer au phénomène d'apoptose chez les patients présentant une leucémie myéloïde chronique⁶⁵.

mTORC1 et mTORC2 sont des complexes moléculaires. En se liant avec l'une des molécules du complexe, les inhibiteurs mTOR empêchent la formation du complexe mTORC1 nécessaire à la prolifération cellulaire et impliqué dans l'autophagie²⁴.

Les inhibiteurs de PARP sont des compétiteurs sélectifs du substrat NAD⁺ de l'enzyme PAR. Ce substrat NAD⁺ est nécessaire à la PARylation de l'ADN induisant sa réparation⁶⁶.

L'utilisation des thérapies ciblées est conditionnée par la présence de la mutation ciblée. Un patient atteint d'un mélanome BRAF sauvage ne pourra pas être traité efficacement par inhibiteur de BRAF. La recherche de ces mutations nécessite différentes techniques telle que la FISH pour les protéines de fusion, le séquençage de région hot spot pour les mutations substitutrices.

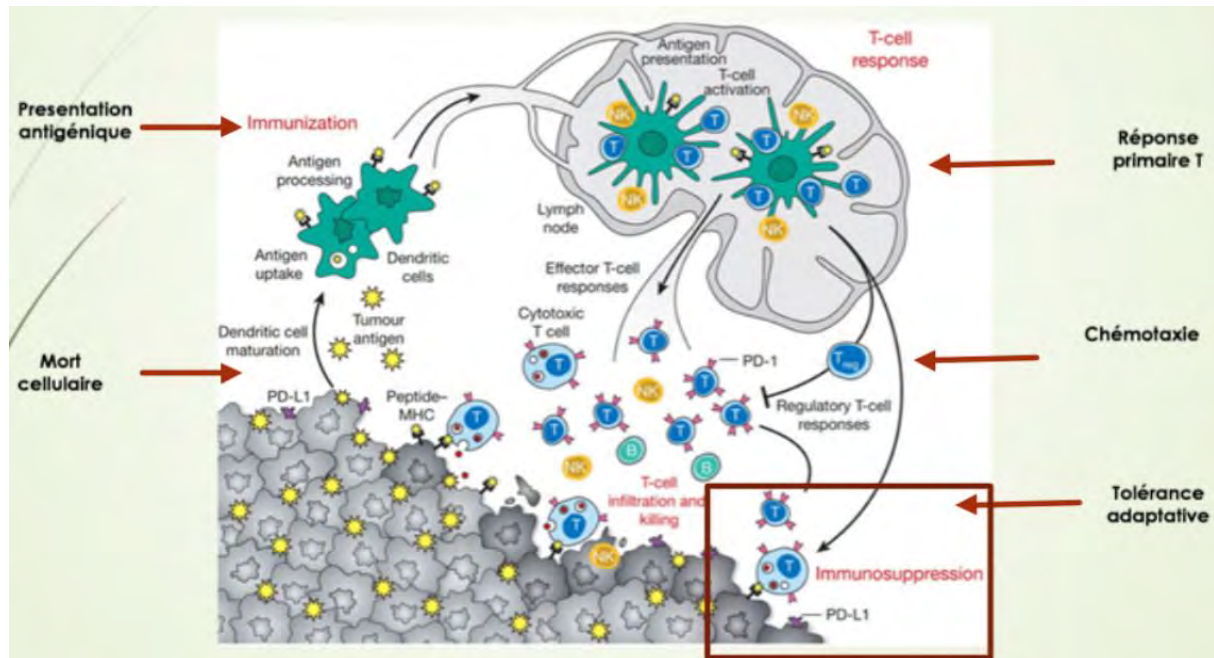
La réalisation d'un test NGS permet la recherche de l'ensemble des mutations ciblables en un seul examen ouvrant le champ donc à une médecine personnalisée, en utilisant des thérapies adaptées aux mutations de chaque patient.

3. L'immunothérapie

Outre l'acquisition de mutations induisant la cancérogénèse, l'une des propriétés tumorales nécessaire au développement d'une tumeur est l'échappement au système immunitaire²². L'immunothérapie va rompre cette immunotolérance.

L'apparition des mutations oncogénique va modifier la séquence d'acides aminées. Ces nouvelles séquences vont contribuer à l'émergence de nouveaux antigènes qui vont être reconnus par les cellules présentatrices d'antigène (CPA). Elles vont donc présenter ces antigènes au complexe TCR de lymphocytes T naïfs. La présentation de l'antigène au TCR du lymphocyte va induire l'activation du

lymphocyte T et donc la réponse immunitaire spécifique anti-cancéreuse. Cette activation est dépendante de facteurs de costimulation qui vont réguler la prolifération lymphocytaire, limitant le risque de maladie auto-immune ou de réaction inflammatoire incontrôlée. Nous nous intéresserons à deux molécules de costimulation régulant négativement l'activation des lymphocytes, les checkpoints inhibiteurs⁶⁷.

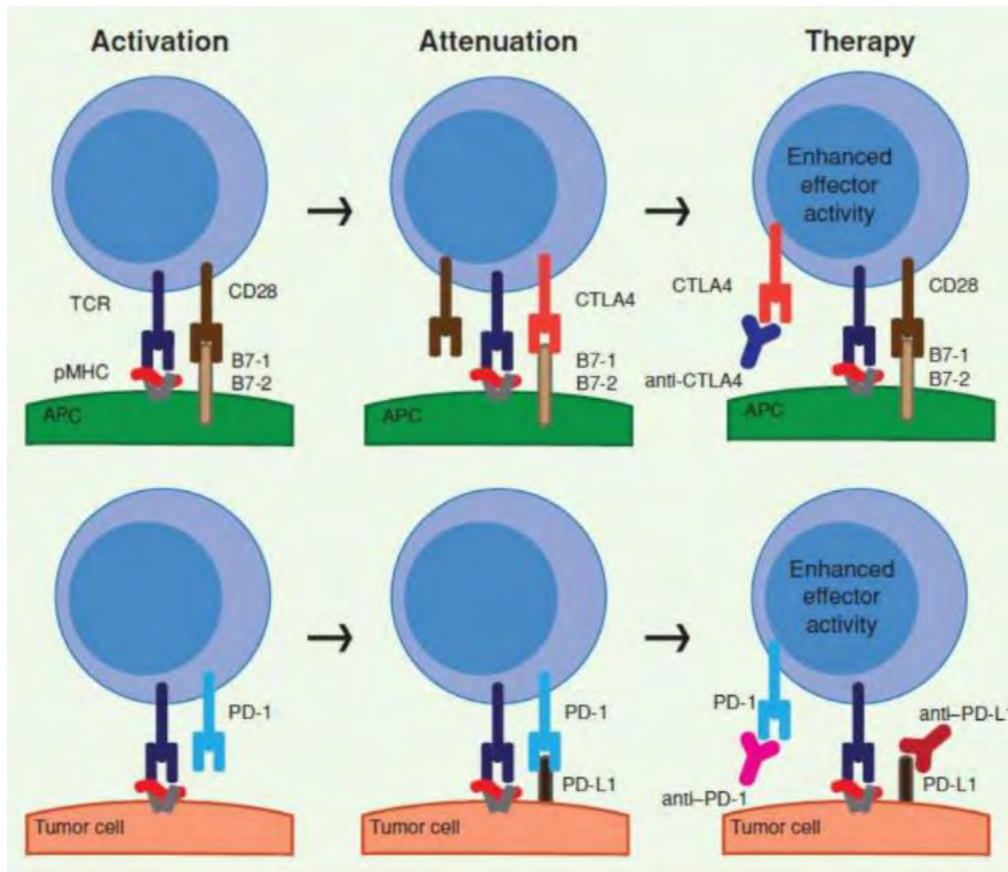


Ghiringhelli cours SIDES anticorps PDL1 092017

Figure 34 : La réponse adaptative anti tumorale

La molécule CTLA4 : Elle est exprimée sur les lymphocytes T. Ce facteur de costimulation intervient dans les organes lymphoïdes secondaires, lorsque le lymphocyte T entre en interaction avec la cellule présentatrice d'antigène. Il rentre en compétition avec le cosignal activateur CD28 contre leur récepteur respectif sur la CPA, la molécule B7. Les anti-corps anti CTLA4 vont donc inhiber la fixation de CTLA4 sur le récepteur et va induire une réaction immunitaire des lymphocytes T⁶⁸.

Les molécules PD1 et PDL1 : PD1 est exprimé sur le lymphocyte T et PDL1 est exprimé sur la CPA ou la cellule tumorale. Elles sont présentes à la phase effectrice de la réponse immunitaire (rencontre du lymphocyte avec la cellule tumorale). PD1 et PDL1 sont des facteurs de costimulation négative. L'interaction PD1/PDL1 va inhiber l'activité lymphocytaire. La présence de PD1 exprimée à la surface des cellules cancéreuses est donc un mécanisme d'échappement à la vigilance immunitaire. Les anticorps anti PD1 et PDL1 vont donc inhiber l'interaction entre ces deux moléculaires et restaurer la réaction immunitaire anti-cancéreuse.



Zappasodi R, Merghoub T, Wolchok JD. Emerging Concepts for Immune Checkpoint Blockade-Based Combination Therapies.

Figure 35 : Mécanismes d'action des inhibiteurs de checkpoints

Les anti-corps anti PD1 (Nivolumab, Pembrolizumab) et anti PDL1 (Durvalumab, Avelumab, Atézolizumab) font partie de l'arsenal thérapeutique pour les patients atteints de mélanomes, de carcinomes pulmonaires à petites cellules et non à petites cellules, de carcinomes urothéliaux, de carcinomes rénaux, de néoplasie mammaire triple négative et de carcinome épidermoïde de la tête et du cou. Néanmoins, la réalisation de biomarqueur est nécessaire dans certaines indications. Il existe de plus en plus de marqueurs utilisés en routine. Par exemple le statut PDL1, défini comme le pourcentage de cellules tumorales exprimant PDL1, ou le score CPS défini comme le nombre de cellules PDL1 positif qu'elles soient tumorales ou immunitaires divisé par le nombre de cellules tumorale. Nous nous intéresserons aux marqueurs analysés par le NGS à avoir le statut MSI et le score TMB (Tumor mutation burden).

Nous avons déjà évoqué le statut MSI tumoral, notamment en tant que biomarqueur prédictif de l'efficacité de l'immunothérapie. En effet, l'accumulation d'anomalie de réparation de l'ADN va entrainer de nouvelles mutations sources de nouveaux antigènes qui vont stimuler la réaction immunitaire anti tumorale.

Le Tumor mutation burden ou charge tumoral mutationnel est défini par le nombre total de mutations somatique présent dans une tumeur, par mégabase. Ce score est variable entre les différents types de cancer. Il est considéré comme élevé si > 10 mutations/mégabase. Il présente une corrélation avec le statut MSI, c'est-à-dire que tout patient MSI a une charge mutationnelle élevée. Sur le plan biologique, le lien entre l'efficacité de l'immunothérapie et charge mutationnelle élevée est simple. Plus le nombre de mutation est important, plus la synthèse de néo-antigène tumorale est importante et plus la tumeur est immunogène.

E. L'utilité du NGS en pratique clinique

D'un point de vue purement théorique, l'analyse des altérations moléculaires de chaque cancer nous ouvre la porte à de nombreuses cibles thérapeutiques, dont la validité en pratique clinique a été le fruit de quelques essais cliniques dans certains types de cancer. Le NGS nous permet d'identifier potentiellement les biomarqueurs moléculaires prédictifs d'efficacité des thérapies ciblées.

1. A visée thérapeutique

L'analyse moléculaire a modifié le paysage des essais cliniques, avec l'élaboration d'essais type BASKET et UMBRELLA⁶⁹.

Les essais BASKET incluent des patients ayant tous types de cancers mais présentant la même mutation ciblable. Cela permet un recrutement rapide pour des mutations rares, notamment les mutations NTRK dont les traitements LAROTRECTINIB et l'ENTRECTINIB sont approuvés par la FDA quel que soit l'organe⁷⁰. En France, les programmes AcsE ont ainsi permis de valider la prescription de thérapie ciblée en dehors des recommandations préétablies afin de sécuriser cette prise en charge et permettre l'accès aux innovations thérapeutiques rapidement.

Les essais UMBRELLA incluent des patients avec un même type de cancer pouvant présenter diverses mutations ciblables.

De nombreux essais cliniques ont évalué l'intérêt d'un test NGS en pratique clinique. Ces études ont des méthodologies, des populations et des objectifs différents. Et leurs résultats diffèrent.

Trois grandes études ne retrouvent pas d'avantage à réaliser un test NGS pour la prise en charge thérapeutique : l'étude SHIVA 01, l'étude PROFILER et l'essai WINTHER.

En 2015, l'essai de phase II randomisée SHIVA 01⁷¹ comparait en termes de PFS les patients traités par traitement conventionnel versus les patients traités par thérapie ciblée selon les résultats du test NGS. Seules les altérations présentes dans les voies des récepteurs hormonaux, PI3K/AKT/mTOR, et des MAP Kinases étaient analysées. Et 11 thérapies ciblées figuraient dans l'arsenal thérapeutique de

traitement personnalisé. Au total, 195 patients étaient randomisés, 99 patients dans le bras expérimental et 96 patients dans le bras contrôle. La PFS médiane était de 2,3 mois dans le bras expérimental contre 2 mois dans le bras contrôle, soit une différence considérée comme non significative⁷¹.

Publiée en 2019, l'étude prospective de phase II multicentrique PROFILER⁷² incluait près de 2579 patients, dont 1980 bénéficiaient d'un panel moléculaire. Le panel moléculaire analysait 69 gènes. L'objectif de cette étude était d'évaluer le pourcentage de mutation ciblable retrouvé et le nombre de patients traités par thérapie ciblée. Six cent quatre-vingt-dix-neuf patients (soit 27%) présentaient au moins une mutation ciblable, et seuls 163 patients (6%) ont reçu un traitement ciblé. Le nombre de traitements par thérapie ciblée utilisée chez les 163 patients était de 182. Sur les 182 traitements ciblés, 23 (13%) ont induit une réponse partielle, 53 (31%) une maladie stabilisée et 81 (45%) une progression de la maladie tandis que la réponse n'était pas évaluable chez 21 patients (11%).

L'essai de phase II WINTHER⁷³, publié en 2019 évaluait l'intérêt d'un séquençage de l'ARN par rapport au séquençage de l'ADN pour la recherche d'une mutation ciblable. Sur 69 patients traités par thérapie ciblée après séquençage de l'ADN par Fondation CDX One, 14 (20,3%) présentaient un ratio SSP2/SSP1 > 1,5 et 25% un ratio > 1,3. Ces résultats n'étaient pas statistiquement significatifs. La SSP2 était définie comme la SSP sous thérapie ciblée, et la SSP1 représentait la SSP de la ligne de traitement précédente⁷³.

Néanmoins, bien d'autres études sont en faveur de la réalisation du NGS en pratique clinique

L'étude MOSCATO 1⁷⁴ s'est révélée positive en termes d'amélioration de la SSP grâce aux traitements par thérapies ciblées adaptées au profil moléculaire. Publiée en 2017, cette étude prospective non randomisée évaluait le rapport SSP2/SSP1. 193 patients ont reçu une thérapie ciblée à la suite d'un test NGS. Ce test NGS analysait un panel de 75 gènes. 63 patients présentaient un rapport SSP2/SSP1 > 1,3, concluant l'étude positive puisqu'un traitement ciblé adapté augmentait la SSP de plus de 30% chez 30% des patients⁷⁴.

L'essai DRUP⁷⁵, une étude Allemande prospective de phase II était en faveur de la réalisation de NGS. Elle étudiait le bénéfice clinique de l'utilisation des thérapies ciblées adaptées aux altérations moléculaires à travers différentes cohortes. Le bénéfice clinique était défini comme une réponse partielle, ou totale, ou une maladie stable pendant au moins 16 semaines. Sur 215 patients traités par thérapie ciblée adaptée aux mutations, 74 patients, soit 34%, présentaient un bénéfice clinique⁷⁵.

Les études IMPACT 1⁷⁶ et MAST⁷⁷ évaluaient l'intérêt d'un test génomique dans le cadre d'essais de phase I/II. Ils retrouvaient une amélioration du taux de réponse objective et de la SSP chez les patients inclus dans des essais de thérapies ciblées adaptées à leur mutation par rapport aux essais évaluant des traitements sans profil moléculaire préalable.

Dans l'étude rétrospective non randomisée IMPACT 1, 3487 patients étaient inclus, 1307 (37.5%) présentaient au moins 1 altération moléculaire ciblable. 182 gènes étaient analysés par NGS. Sur les 1307 patients, 711 ont reçu une thérapie adaptée à leur mutation contrairement aux 596 n'ayant pas eu de traitement ciblé. Le taux de réponse objective était de 16.4% dans le bras thérapie ciblée contre

5.4% ($p < .0001$). La SSP médiane était néanmoins de 4.0 versus 2.8 mois ($p < .0001$) et la survie médiane de 9.3 et 7.3 mois⁷⁶.

L'étude MAST comparait la SSP des patients traités par thérapie adaptée à leur mutation dans des essais précoces et celle des patients inclus dans des essais n'adaptant pas le traitement selon le test NGS. Le panel moléculaire regroupait 87 gènes. Sur les 87 patients analysés, 24 étaient traités par thérapies ciblées contre 63 par thérapie conventionnelle. La SSP du bras thérapie ciblée était de 6,47 mois contre 2,76 mois avec également une amélioration du ratio SSP2/SSP1 > 1,3 chez 33% des patients contre 8% du bras standard⁷⁷.

En 2018, l'étude PATHWAY Study⁷⁸, un essai basket non randomisé, retrouvait un taux de réponse objective de 38% sous TRASTUZUMAB-PERTUZUMAB chez des patients atteints d'adénocarcinome colique métastatique HER2 surexprimé, démontrant l'utilité de traitement ciblé adapté au profil moléculaire bien qu'utilisé hors AMM⁷⁸.

Profiling mode	Author/Trial	Study design	Cancer type	Methods/FDA approved only	Patients enrolled - n	Patients profiled - n (% of enrolled)	Patients treated - n (% of enrolled)	Median survival (months) matched vs. unmatched	PFS-ratio > 1.3	Response (in %)
Next generation sequencing	Schwaederle et al. (PREDICT) 2016	Retrospective	solid tumors	NGS/No	347	347 (100%)	87 (25%)	PFS: 4.0 vs 3.0 $p = .056$; OS: 12.4 vs 14.4	45.3 vs 19.3 $p = .004$	SD > 6 months/PR/CR: 34.5 vs. 16.1
	Wheler et al. 2016	prospective Matched vs. unmatched	solid tumors	NGS/No	500	339 (68%)	188 (55%)	TTF: 2.8 vs 1.9, $p = .001$; OS: 9.3 vs 7.2 $p = .087$.	SD > 6 months/PR/CR: 19 vs 5 $p = .061$
	Stockley et al. (IMPACT/COMPACT) 2016	prospective	solid tumors	NGS/No	1893	1640 (87%)	84 (5%)	OS: 16 vs 13 $p = .10$.	ORR: 19 vs 9 $p = .026$
Multiplatform profiling	von Hoff et al. 2010	prospective	solid tumors	IHC, FISH, ONMGEA/Yes	106	86 (81.1%)	66 (76.6%)		27	10
	Tsimberidou et al. 2012	prospective	solid tumors	PCR, FISH/No	1238	1144 (92%)	256 (22.4%)	TTF: 5.2 vs 2.2 $p < .0001$; OS: 13.4 vs. 9.0 $p = .017$		ORR: 27 vs 5 $p < .0001$, SD > 6 months: 23 vs. 10
	Tsimberidou et al. 2014	prospective	solid tumors	PCR, FISH/No	1276	1276 (100%)	143 (11.2%)	PFS: 3.9 vs 2.2 $p = .001$; OS: 11.4 vs. 8.6 $p = .04$		ORR: 12 vs 5 $p < .0001$, SD > 6 months 16.4% vs 12.3
	André et al. (SAFIRD1/UNICANCER) 2014	prospective	breast cancer	CGH, Sanger Sequencing/No	423	299 (70.6%)	55 (18%)			ORR: 9, SD > 16 weeks: 21
	Mody et al. 2015	retrospective	solid and hematological cancer in children and adolescents	exome and transcriptome sequencing/No	102	102 (100%)	14 (13%)		n.a.	ORR: 10
	Massard et al. (MOSCATO-01) 2017	prospective	solid tumors	targeted sequencing, aCGH, RNA-seq, WGS/No	1035	843 (81%)	199 (24%)	OS: 11.9	33%	ORR: 11, SD: 52
	Byrce et al. 2017	prospective	hematologic and solid tumors	NGS, CGH, WES/NO	165	141 (85%)	29 (25%)		n.a.	ORR: 8
Prospective randomized	Tredan et al. (PROFLER) 2017	prospective	solid tumors	Targeted exon sequencing, CGH/No	2490	1826 (73.3%)	101 (4%)	PFS: 2.8	n.a.	ORR: 17.4, DCR: 51.1
	Seeber et al. 2017	pooled-analysis	solid tumors	NGS, IHC, FISH/CISH/ all approved but off-label	202	202 (100%)	166 (82%)	PFS: 4.0	52%	n.a.
	Rodon et al. (WINTHER) 2018	prospective	solid tumors	NGS, Oligo-arrays/No	303	303 (100%)	107 (35%)	PFS: 2.1	n.a.	SD > 6 months/PR/CR: 26.2
	Le Tourneau et al. (SHIVA) 2015	prospective-randomized	solid tumors	NGS, copy number alterations, IHC/all approved	741	496 (67%)	99 (20%) experimental, 92 control	PFS: 2.3 vs 2.0 $p = .41$	n.a.	n.a.
	Belin et al. (SHIVA post-hoc) 2017	post-hoc	solid tumors	NGS, copy number alterations, IHC	741	496 (67%)	99 (20%) experimental, 92 control		37	n.a.
	Meta-analysis	Schwaederle et al. 2015	meta-analysis (phase I)	hematologic and solid tumors		32,149		8078 (25.1%)	PFS: 5.9 vs. 2.7 $p < .001$; OS: 13.7 vs. 8.9 $p < .001$	
Schwaederle et al. 2016		meta-analysis (phase II)	hematologic and solid tumors		13,203		2655 (24.4%)	PFS: 5.7 vs. 2.95 $p < .001$		SD: 30.6 vs 4.9 $p < .001$

Zimmer K et al Treatment According to Molecular Profiling in Relapsed/Refractory Cancer Patients: A Review Focusing on Latest Profiling Studies.

Figure 36 : Figure récapitulative des principaux essais évaluant l'intérêt d'un test NGS en pratique clinique⁷⁹

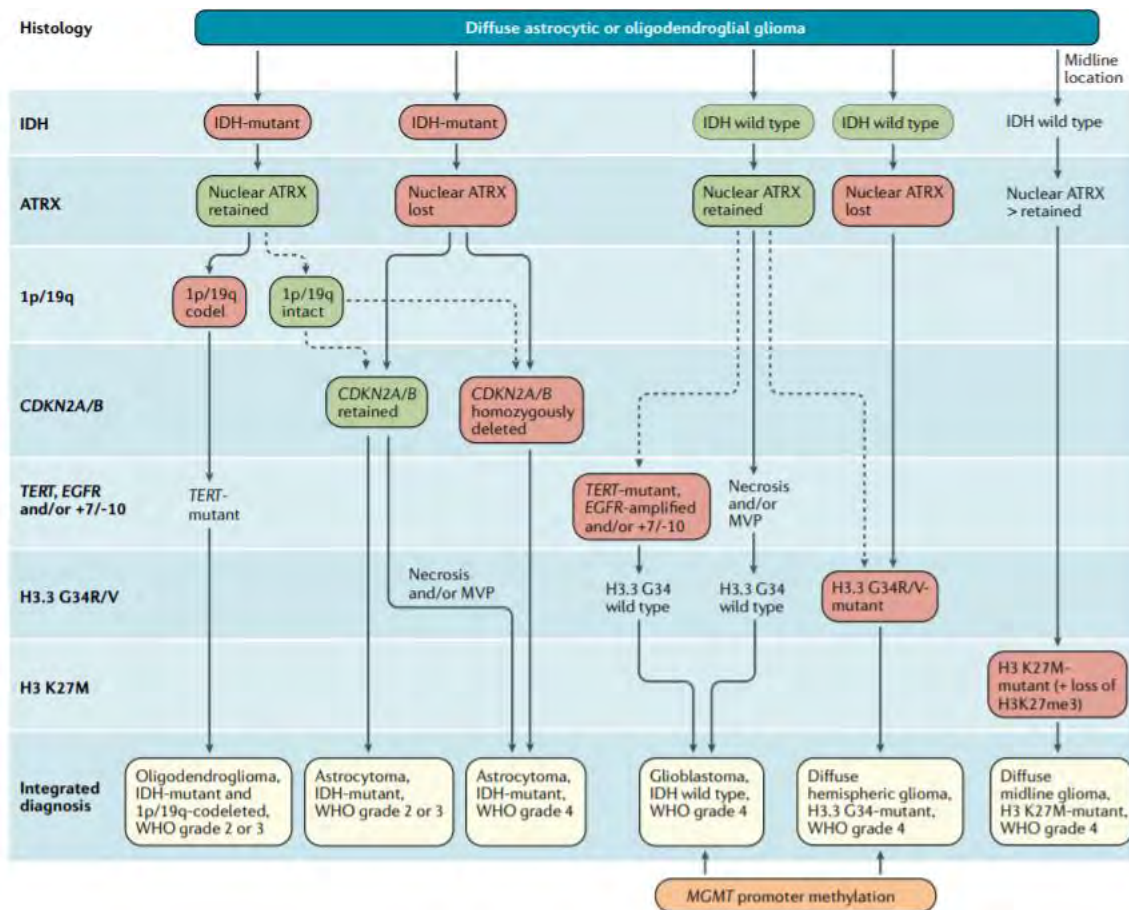
2. A visée prédictive de la réponse au traitement

Le test NGS permet d'analyser le statut MSS et le TMB d'une tumeur. De récentes études retrouvent une efficacité du Pembrolizumab chez les patients MSI colorectal et non colorectal⁴³⁴⁴.

De même, certaines mutations BRAF ou bien les mutations EGFR de l'exon 20⁸⁰ sont des mutations de résistances aux thérapies adaptées à ces protéines.

3. A visée diagnostique et pronostique

L'apport de la biologie moléculaire a transformé la classification des tumeurs neurologiques. La classification anatomo-pathologique OMS 2016 s'appuyait principalement sur des critères morphologiques en introduisant des critères moléculaires de bon ou mauvais pronostic. La classification OMS 2020 s'appuie sur les altérations moléculaires en premier lieu⁸¹, pouvant définir maintenant le grade tumoral en dépit de la morphologie. En effet, il est actuellement possible de définir l'existence d'astrocytome de grade IV lorsqu'il présente une mutation IDH1, malgré les critères morphologiques qui l'auraient fait passer en glioblastome de grade IV. L'analyse moléculaire a également permis de découvrir des mutations modifiant le pronostic. Ainsi, un patient atteint d'un astrocytome de grade III IDH muté associé à une perte de CDKN2A est classé grade IV.⁸²



EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood

Figure 37 : Algorithme décisionnel des tumeurs neurologiques chez l'adulte

F. Foundation One® CDX, un test NGS approuvé en pratique clinique

Le test Foundation One® CDX (que l'on appellera également test FMI) est le premier panel moléculaire large approuvé en 2017 par la FDA en tant que test compagnon pour le diagnostic de certaines altérations moléculaires dans différents types de cancers (figure 35). Néanmoins, il permet l'analyse de 324 gènes impliqués en cancérologie.

Indication	Biomarker	Therapy
Non-small cell lung cancer (NSCLC)	<i>EGFR</i> exon 19 deletions and <i>EGFR</i> exon 21 L858R alterations	Gilotrif [®] (afatinib), Iressa [®] (gefitinib), or Tarceva [®] (erlotinib)
	<i>EGFR</i> exon 20 T790M alterations	Tagrisso [®] (osimertinib)
	<i>ALK</i> rearrangements	Alecensa [®] (alectinib), Xalkori [®] (crizotinib), or Zykadia [®] (ceritinib)
	<i>BRAF</i> V600E	Tafinlar [®] (dabrafenib) in combination with Mekinist [®] (trametinib)
Melanoma	<i>BRAF</i> V600E	Tafinlar [®] (dabrafenib) or Zelboraf [®] (vemurafenib)
	<i>BRAF</i> V600E and V600K	Mekinist [®] (trametinib) or Cotellic [®] (cobimetinib) in combination with Zelboraf [®] (vemurafenib)
Breast cancer	<i>ERBB2</i> (HER2) amplification	Herceptin [®] (trastuzumab), Kadcyla [®] (ado-trastuzumab-emtansine), or Perjeta [®] (pertuzumab)
Colorectal cancer	<i>KRAS</i> wild-type (absence of mutations in codons 12 and 13)	Erbix [®] (cetuximab)
	<i>KRAS</i> (exons 2, 3, and 4) and <i>NRAS</i> (exons 2, 3, and 4)	Vectibix [®] (panitumumab)
Ovarian cancer	<i>BRC1/2</i> alterations	Rubraca [®] (rucaparib)

Figure 38 : Indications du test Foundation ONE CDX[®] en 2017 par la FDA

Fondation ONE CDX[®] a été développé par l'entreprise Fondation Medecine Inc (FMI). La création de cette firme repose sur les travaux de Levi Garraway et Matthew Meyerson détaillant une méthode pour séquencer 238 gènes d'une même tumeur en 2007⁸³. Leur premier panel moléculaire large est commercialisé en 2012. Du fait de leur spécialisation en séquençage génomique large et en récolte de données génomiques, Fondation Medecine Inc[®] a tissé de nombreux partenariats avec des laboratoires pharmaceutiques tels que Incyte, BMS, Novartis, afin d'utiliser le panel Fondation ONE CDX[®] dans le cadre de leurs essais cliniques. En 2015, le laboratoire Roche est devenu actionnaire principal avant de racheter l'entreprise en totalité en juin 2018.

Dans l'essai STARTRK II, le panel Foundation One CDX[®] est réalisé pour rechercher les réarrangements des gènes ROS, NTRK et ALK afin d'évaluer l'intérêt de l'ENTRECTINIB chez les patients atteints de tumeur solide au stade avancé. Le résultat de l'ensemble du panel permet certes de rechercher une mutation ROS, ALK ou NTRK 1/2/3 mais permet également aux cliniciens de rechercher des possibles mutations drivers dont le patient pourrait tirer bénéfice dans sa prise en charge thérapeutique.

Nous nous sommes donc intéressés à l'impact clinique du test Foundation One® CDX dans la prise en charge thérapeutique des patients traités à l'Institut Universitaire de Cancérologie de Toulouse Oncopole.

II. Objectifs

Les objectifs de ce travail sont d'analyser l'apport du panel moléculaire large Foundation One CDX® dans la prise en charge des patients suivis dans le service d'oncologie digestive du CHU Ranguel et à l'IUCT-Oncopole.

Notre objectif principal est d'évaluer la survie globale des patients ayant reçu un traitement adapté au résultat du test Foundation One CDX® par rapport aux patients ayant reçu un traitement conventionnel.

Nos objectifs secondaires sont :

- De comparer la survie sans progression entre les patients traités selon le résultat du test Foundation One CDX® et les patients traités de façon standard.
- D'identifier des facteurs prédictifs de survie globale et de survie sans progression.
- D'analyser les taux de réponses objectifs en fonction du gène ciblé et du primitif tumorale.
- D'évaluer l'impact de la RCP moléculaire dans l'inclusion des patients dans les essais cliniques.

III. Matériel et Méthode

A. Description de l'étude

Il s'agit d'une étude rétrospective, observationnelle non randomisée monocentrique réalisée à l'IUCT-Oncopole.

Les patients inclus étaient des hommes ou femmes de plus de 18 ans, atteints de tumeur solide à un stade avancé qui ont bénéficié du test Foundation One CDX® dans le cadre d'une des études ci-dessous :

- L'essai STARTRK 2 : un essai multicentrique de phase II visant à évaluer l'Entrectinib dans le traitement de patients atteints de tumeurs solides localement avancées ou métastatiques porteuses des réarrangements des gènes NTRK 1/2/3, ROS et ALK.
- PROFILER 2 : une étude multicentrique prospective visant à évaluer la valeur ajoutée d'un profilage moléculaire en utilisant un panel étendu de profilage moléculaire (324 gènes, Foundation One®) et un panel plus restreint (80 gènes CONTROL) pour la prise en charge de patients atteints de tumeurs solides à un stade avancé.
- INCYTE : étude de phase II multicentrique, visant à évaluer l'efficacité et la sécurité de l'emploi de l'INCB054828 chez les patients atteints d'un carcinome urothélial métastatique ou localement avancé inopérable, porteur d'altération de la voie FGF/FGFR.
- L'essai CHECKMATE 848 TMB : une étude de phase II randomisée évaluant l'association nivolumab ipilimumab contre le nivolumab chez les patients atteints de tumeurs solides à un stade avancé ou métastatique ayant une charge tumorale mutationnelle élevée (TMB High)

Un consentement éclairé spécifique à chaque essai avait été signé pour la récupération du matériel tumoral et l'analyse du test Foundation One CDX®. Les patients inclus dans notre étude ont signé leur consentement entre le 1^{er} janvier 2018 et le 31 décembre 2019.

B. Recueil des données

1. Les données au diagnostic de la maladie

Les données recueillies au diagnostic comprenaient l'âge du patient, la consommation de tabac, la date diagnostic de la pathologie tumorale, le site primitif ainsi que son profil histologique, le stade localisé ou métastatique, la date de récurrence ou d'apparition des métastases, les sites métastatiques, le diagnostic d'une mutation ciblable avant le test Fondation ONE CDX®. Nous avons également recueilli la présence ou non d'une consultation oncogénétique dans le parcours de soin, le nombre de sujets atteints de cancer dans la famille au 1^{er} et 2^{ème} degré ainsi que leur âge au diagnostic.

2. Les données au consentement du test FMI

Les données recueillies au consentement du test FMI comprenaient la date de signature du consentement, l'essai dans lequel le patient était inclus, la date d'envoi des lames au centre Fondation Medecine Inc, le type de prélèvement (biopsie ou pièce opératoire) analysé, les caractéristiques cliniques et biologiques du patient à savoir le statut OMS, le poids, la taille, l'IMC, le taux d'hémoglobine, de leucocytes, de polynucléaires neutrophiles, de lymphocytes, de plaquettes, le bilan hépatique (les transaminases, les gamma gt, la bilirubine totale), la fonction rénale, la calcémie corrigée, les LDH, l'albumine et le score RMH. Le consentement a été signé à des moments thérapeutiques différents selon les patients (lors du primo-diagnostic, en cours de surveillance, en cours de récurrence, en cours de traitement).

3. Les données lors de la réception des résultats du test FMI

Les données recueillies lors de la réception des résultats du test FMI comprenaient la date de réception du résultat, le résultat à savoir les gènes mutés présentant un variant de signification déterminée (variants connus pour leur effet pathogène), le type de mutation, la localisation de la mutation sur le gène, le statut MSS selon FMI, le statut MSS selon le compte rendu anatomo-pathologiste du site, le score TMB, la présence de mutation à risque héréditaire, l'étude du résultat en RCP moléculaire ou d'organe ou l'absence de passage en RCP, la date de passage en RCP moléculaire, le résultat de la RCP à savoir la présence ou non de mutations ciblées, d'un score TMB élevé, la nécessité d'examen complémentaire ou bien l'absence de mutation ciblable.

4. Les données en rapport avec le traitement décidé à la suite du test FMI

Les données recueillies concernant le traitement post résultat FMI comprenaient le type de traitement. Celui-ci était adapté ou non au résultat du FMI. En cas de traitement adapté, le patient pouvait être traité dans un essai clinique ou non, le type de traitement reçu était une thérapie ciblée ou une immunothérapie. En cas de traitement non adapté au résultat FMI, le type de traitement reçu pouvait être une chimiothérapie, une thérapie ciblée anti angiogénique, une hormonothérapie, une immunothérapie ou des soins de support. Nous avons également recueilli la date de début de traitement, la réponse au traitement, la date de récurrence/progression, la réalisation d'un nouveau FMI, la réalisation d'une nouvelle ligne de traitement (et le type de traitement : traitement conventionnel/essai clinique/ thérapie ciblée hors essai, date de début, réponse au traitement, date de progression), et la date de décès.

C. Test Foundation One CDX®

Ce test est réalisé à partir de matériel tumoral issu de biopsie ou pièce opératoire de la tumeur primitive ou de métastase. Le matériel tumoral est fixé au formol, conservé par la paraffine sur lame. Les lames doivent présenter un matériel tumoral suffisant (50 à 1000ng d'ADN tumoral). Elles sont donc lues par un anatomopathologiste du service du bureau des essais cliniques afin d'évaluer le matériel tumoral disponible. Les lames sont ensuite envoyées au centre Foundation Medicine Inc à Cambridge Ma aux Etats-Unis.

C'est une technique de Whole-exome-sequencing, utilisant un séquenceur Illumina® High Seq4000, qui permet une couverture de > 99% des exons analysés, avec une profondeur médiane de 500 fois.

Le test Fondation One CDX® est une technique diagnostic in vitro qui va rechercher 3 types de résultats (Annexe 1) :

- Les altérations génétiques de la tumeur.
- Le statut MSS de la tumeur.
- Le score TMB de la tumeur.

324 gènes impliqués dans l'oncogenèse sont analysés (figure 39). Pour 309 gènes, la totalité des exons sont analysés. Pour 34 gènes, des zones d'intérêt particulières sont analysées (figure 40). Pour chaque mutation avec un variant de fréquence allélique > 5%, le test nous indique le gène muté, le type d'altération retrouvée (substitution de base, insertion ou délétion de base, variation du nombre de copies d'un gène, réarrangement ou fusion d'un gène) et la localisation de la mutation. Les mutations sont classées en deux catégories : les altérations génomiques de signification déterminée (ayant un effet pathogène connu) ou les mutations classées en variants de signification indéterminée (ayant donc un effet pathogène non connu).

ABL1	BRAF	CDKN1A	EPHA3	FGFR4	IKZF1	MCL1	NKX2-1	PMS2	RNF43	TET2
ACVR1B	BRCA1	CDKN1B	EPHB1	FH	INPP4B	MDM2	NOTCH1	POLD1	ROS1	TGFBR2
AKT1	BRCA2	CDKN2A	EPHB4	FLCN	IRF2	MDM4	NOTCH2	POLE	RPTOR	TIPARP
AKT2	BRD4	CDKN2B	ERBB2	FLT1	IRF4	MED12	NOTCH3	PPARG	SDHA	TNFAIP3
AKT3	BRIP1	CDKN2C	ERBB3	FLT3	IRS2	MEF2B	NPM1	PPP2R1A	SDHB	TNFRSF14
ALK	BTG1	CEBPA	ERBB4	FOXL2	JAK1	MEN1	NRAS	PPP2R2A	SDHC	TP53
ALOX12B	BTG2	CHEK1	ERCC4	FUBP1	JAK2	MERTK	NT5C2	PRDM1	SDHD	TSC1
AMER1	BTK	CHEK2	ERG	GABRA6	JAK3	MET	NTRK1	PRKAR1A	SETD2	TSC2
APC	C11orf30	CIC	ERRF1	GATA3	JUN	MITF	NTRK2	PRKCI	SF3B1	TYRO3
AR	CALR	CREBBP	ESR1	GATA4	KDM5A	MKNK1	NTRK3	PTCH1	SGK1	U2AF1
ARAF	CARD11	CRKL	EZH2	GATA6	KDM5C	MLH1	P2RY8	PTEN	SMAD2	VEGFA
ARFRP1	CASP8	CSF1R	FAM46C	GID4 (C17orf39)	KDM6A	MPL	PALB2	PTPN11	SMAD4	VHL
ARID1A	CBFB	CSF3R	FANCA	GNA11	KDR	MRE11A	PARK2	PTPRO	SMARCA4	WHSC1
ASXL1	CBL	CTCF	FANCC	GNA13	KEAP1	MSH2	PARP1	QKI	SMARCB1	WHSC1L1
ATM	CCND1	CTNNA1	FANCG	GNAQ	KEL	MSH3	PARP2	RAC1	SMO	WT1
ATR	CCND2	CTNNB1	FANCL	GNAS	KIT	MSH6	PARP3	RAD21	SNCAIP	XPO1
ATRX	CCND3	CUL3	FAS	GRM3	KLHL6	MST1R	PAX5	RAD51	SOCS1	XRCC2
AURKA	CCNE1	CUL4A	FBXW7	GSK3B	KMT2A (MLL)	MTAP	PBRM1	RAD51B	SOX2	ZNF217
AURKB	CD22	CXCR4	FGF10	H3F3A	KMT2D (MLL2)	MTOR	PDCD1	RAD51C	SOX9	ZNF703
AXIN1	CD274	CYP17A1	FGF12	HDAC1	KRAS	MUTYH	PDCD1LG2	RAD51D	SPEN	
AXL	CD70	DAXX	FGF14	HGF	LTK	MYC	PDGFRA	RAD52	SPOP	
BAP1	CD79A	DDR1	FGF19	HNF1A	LYN	MYCL	PDGFRB	RAD54L	SRC	
BARD1	CD79B	DDR2	FGF23	HRAS	MAF	MYCN	PDK1	RAF1	STAG2	
BCL2	CDC73	DIS3	FGF3	HSD3B1	MAP2K1	MYD88	PIK3C2B	RARA	STAT3	
BCL2L1	CDH1	DNMT3A	FGF4	ID3	MAP2K2	NBN	PIK3C2G	RB1	STK11	
BCL2L2	CDK12	DOT1L	FGF6	IDH1	MAP2K4	NF1	PIK3CA	RBM10	SUFU	
BCL6	CDK4	EED	FGFR1	IDH2	MAP3K1	NF2	PIK3CB	REL	SYK	
BCOR	CDK6	EGFR	FGFR2	IGF1R	MAP3K13	NFE2L2	PIK3R1	RET	TBX3	
BCORL1	CDK8	EP300	FGFR3	IKBKE	MAPK1	NFKBIA	PIM1	RICTOR	TEK	

Figure 39 : Panel Whole exome sequencing du Fondation ONE CDX

ALK introns 18, 19	BRCA1 introns 2, 7, 8, 12, 16, 19, 20	ETV4 introns 5, 6	EZR introns 9- 11	KIT intron 16	MYC intron 1	NUTM1 intron 1	RET introns 7-11	SLC34A2 intron 4
BCL2 3'UTR	BRCA2 intron 2	ETV5 introns 6, 7	FGFR1 intron 1, 5, 17	KMT2A (MLL) introns 6-11	NOTCH2 intron 26	PDGFRA introns 7, 9, 11	ROS1 introns 31-35	TERC ncRNA
BCR introns 8, 13, 14	CD74 introns 6- 8	ETV6 introns 5, 6	FGFR2 intron 1, 17	MSH2 intron 5	NTRK1 introns 8-10	RAF1 introns 4-8	RSPO2 intron 1	TERT Promoter
BRAF introns 7- 10	EGFR introns 7, 15, 24-27	EWSR1 introns 7-13	FGFR3 intron 17	MYB intron 14	NTRK2 Intron 12	RARA intron 2	SDC4 intron 2	TMPRSS2 introns 1- 3

Figure 40 : Zones d'intérêts de gènes sélectionnés

L'analyse du statut MSI/MSS de chaque patient est réalisée à partir d'un panel de 95 microsatellites contrairement aux recommandations standards validant l'utilisation du test Pentaplex®. Le résultat rendu classe les patients en statut MSI High, MSI low, MSS, ou résultat indéterminé.

Quant à la charge mutationnelle tumorale ou Tumour mutation burden (TMB), elle est évaluée à partir du nombre de variants ayant une fréquence allélique d'au moins 5% par unité de mégabase.

D. Critères d'évaluation

La survie globale (SG) était définie par le délai entre la date de début du traitement mis en place après réception des résultats du test FMI et la date de décès (toutes causes confondues) ou la date de dernières nouvelles.

La survie sans progression (SSP) était définie par le délai entre la date de début du traitement mis en place après la réception des résultats du test FMI, et la date de progression clinique ou radiologique ou de décès (toutes causes confondues) ou la date du dernier suivi.

La réponse objective (RO) au traitement était définie par le pourcentage de patients ayant une réduction objective radiologique de leur tumeur qui est soit complète (RC) ou partielle (RP) sous traitement, selon les critères RECIST.

E. Analyse statistique

Les données sont résumées par la médiane, le minimum et le maximum pour les variables quantitatives et par la fréquence et le pourcentage pour les variables qualitatives. Le test du chi² ou Fisher exact est utilisé pour comparer les variables catégorielles, et le test de Kruskal-Wallis pour les variables continues. Les taux de survie globale et la survie sans progression sont estimées par la méthode de Kaplan-Meier et présentés avec leur intervalle de confiance à 95% sur la population globale et par groupe. Les analyses de survie univariées ont été réalisées à l'aide du test du log-rank et les analyses multivariées à l'aide du modèle à risques proportionnels de Cox.

Tous les tests statistiques sont bilatéraux et le seuil de significativité a été fixé à 5%. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel STATA version 16.

IV. Résultats

A. Caractéristiques des patients

De janvier 2018 à décembre 2019, 326 patients ont bénéficié d'un test FONDATION ONE CDX® par l'intermédiaire d'études cliniques, sur le site IUCT-Oncopole. Les patients étaient inclus dans les études STARTRK 2 (293 patients), PROFILER 2 (15), CHECKMATE 848 (10) et INCYTE (7). Lors de la signature du consentement pour le test, l'âge médian était de 60 ans. Près de 90% des patients présentaient un score OMS 0 ou 1. Et 48% des patients avaient un IMC dans les normes. Seul 5% des patients présentaient un IMC inférieur à 18. Le Royal Marsden Hospital (RMH) a pu être réalisé sur 222 patients lors de la signature du consentement. Près de 80% des patients présentaient un score RMH < 2 (Tableau 1). C'est un score pronostique des patients inclus dans les essais de phase I. Il évalue l'état général d'un patient à travers les paramètres albumine, LDH et nombre de site métastatique. Plus le score est élevé, plus le pronostic est sombre.

Caractéristiques clinico-biologiques		n (%)
Sexe	Homme	173 (53,1%)
	Femme	153 (46,9%)
Statut OMS	0	127 (40,4%)
	1	159 (50,6%)
	2	26 (8,3%)
	3	2 (0,6%)
Age	<60 ans	156 (48,3%)
	>60 ans	167 (51,7%)
IMC	<18	13 (4,6%)
	18-25	137 (48,5%)
	25-30	88 (31,1%)
	>30	45 (15,9%)
Tabac	Non	117 (44,7%)
	Actif	51 (19,5%)
	Sevré	94 (35,9%)
	Missing	64
RMH score	0	94 (42,3%)
	1	82 (36,9%)
	2	37 (16,7%)
	3	9 (4,1%)
	Missing	93

Tableau 1: Description des caractéristiques clinico-biologiques des patients lors de la signature du consentement du test FMI

Les pathologies tumorales les plus fréquentes étaient le glioblastome (110 patients), le cancer colorectal (23 patients), les sarcomes (23 patients), le cancer du sein (21 patientes). Près de 40% des patients étaient naïfs de métastase lors de la signature du consentement, contre 20% qui présentaient un site métastatique, 20% deux sites et 20% plus de deux sites. Vingt patients présentaient une mutation ciblable connue avant la réalisation du test FMI (Tableau 2).

Caractéristiques tumorales		Nombre de patients	
Site tumoral primitif	Astrocytome de grade II	1 (0.3%)	
	Oligoastrocytome de grade II	2 (0.6%)	
	Astrocytome de grade III	16 (4.9%)	
	Oligodendrogliome de grade III	2 (0.6%)	
	Glioblastome	110 (33.8%)	
	VADS	10 (3.1%)	
	Thyroïde	4 (1.2%)	
	Poumon	12 (3.7%)	
	Sein	21 (6.5%)	
	Œsophage	6 (1.8%)	
	Estomac	2 (0.6%)	
	Pancréas	6 (1.8%)	
	Foie	10 (3.1%)	
	Colo-rectal	23 (7.1%)	
	Prostate	14 (4.3%)	
	Vessie	13 (4.0%)	
	Rein	6 (1.8%)	
	Voies excrétrices hautes	1 (0.3%)	
	Cup syndrome	4 (1.2%)	
	Ovaire	4 (1.2%)	
	Endomètre	11 (3.4%)	
	Col utérin	12 (3.7%)	
	Sarcome	23 (7.1%)	
	Canal anal	1 (0.3%)	
	Autre	11 (3.4%)	
	Histologie	Carcinome épidermoïde	18 (5.6%)
		Adénocarcinome Neuro-endocrin	7 (2.2%)
		Urothélial	15 (4.6%)
		Tumeur rénale autre que cellule claire	2 (0.6%)
		Sarcome/tumeurs Mésoenchymateuses	34 (10.5%)
		Carcinome indifférencié	1 (0.3%)

	Tumeurs neurologiques	129 (39.8%)
	Tumeurs du tissu germinale et annexes embryonnaires	2 (0.6%)
	Autre	24 (7.4%)
	Missing	2
Nombre de site métastatique	< ou =2	257 (81.8%)
	>2	57 (18.2%)
	Missing	1
Nombre de site métastatique	0	130 (41,4%)
	1	63 (20,1%)
	2	64 (20,4%)
	3	44 (14%)
	4	9 (2,9%)
	5	4 (1,3%)
	Missing	1
Mutations ciblables retrouvées avant la réalisation du test FMI (n=311)	Oui	20 (6,4%)
	Non	291 (93,6%)
	Missing	15

Tableau 2 : Description des caractéristiques tumorales des patients

Sur les 326 patients inclus, 74 patients étaient naïfs de traitements médicaux lors de la signature du consentement contre 123, 59 et 70 patients qui avaient reçu une ligne, 2 lignes, ou plus de 2 lignes de traitement. Pour 201 patients, une nouvelle ligne de traitement a été débutée entre la signature du consentement et la réception des résultats (tableau 3).

Le délai médian entre la signature du consentement et la réception des résultats est de 5 semaines.

Caractéristiques thérapeutiques		N (%)
Ligne de traitement reçu avant le consentement FMI	Aucune	74 (22,7%)
	1 ligne	123 (37,7%)
	2 lignes	59 (18,1%)
	>2 lignes	70 (21,5%)
Délai entre le diagnostic du cancer et la signature du consentement	<= 1 an	135 (41,8%)
	>1an	188 (58,2%)
	Missing	3
Signature du consentement du test FMI	En cours de traitement médical	216 (66.3%)
	Au primo-diagnostic	50 (15.3%)
	En surveillance thérapeutique	7 (2.1%)
	Au diagnostic de récurrence	53 (16.3%)
Nouveau traitement entre la signature et la réception des résultats	Non	125 (38.3%)
	Oui	201 (61.7%)
Type de traitement	Chimiothérapie	133 (66.2%)
	Hormonothérapie	6 (3.0%)
	TCM	9 (4.5%)
	Thérapie anti-angiogénique	36 (17.9%)
	Immunothérapie	8 (4.0%)
	Radiothérapie	3 (1.5%)
	Autres	6 (3.0%)

Tableau 3 : Prise en charge thérapeutique avant la signature du consentement du test FMI

La signature du consentement a été réalisée à différentes périodes thérapeutiques dans le parcours du patient (figure 39). Ainsi, 216 patients ont signé le consentement en cours de traitement médical oncologique, 53 l'ont signé à la récurrence, 7 étaient en surveillance thérapeutique et 50 patients n'avaient jamais été traités.

Sur les 216 patients en cours de traitement :

- 77 patients ont progressé dans les 6 premiers mois de traitement
- 49 ont progressé après plus de 6 mois de traitement
- 90 étaient en réponse tumorale

Sur les 53 patients récidivants :

- 25 ont récidivé dans les 6 mois suivant la fin du traitement
- 28 ont récidivé à plus de 6 mois.

Pour la suite des résultats, les données des patients récidivant dans les 6 premiers mois de pause thérapeutique ainsi que ceux progressant dans les 6 premiers mois de traitement ont été analysées comme un même groupe de patients. Nous avons fait de même pour les patients récidivant à plus de 6 mois de pause thérapeutique ou progressant après plus de 6 mois de traitement.

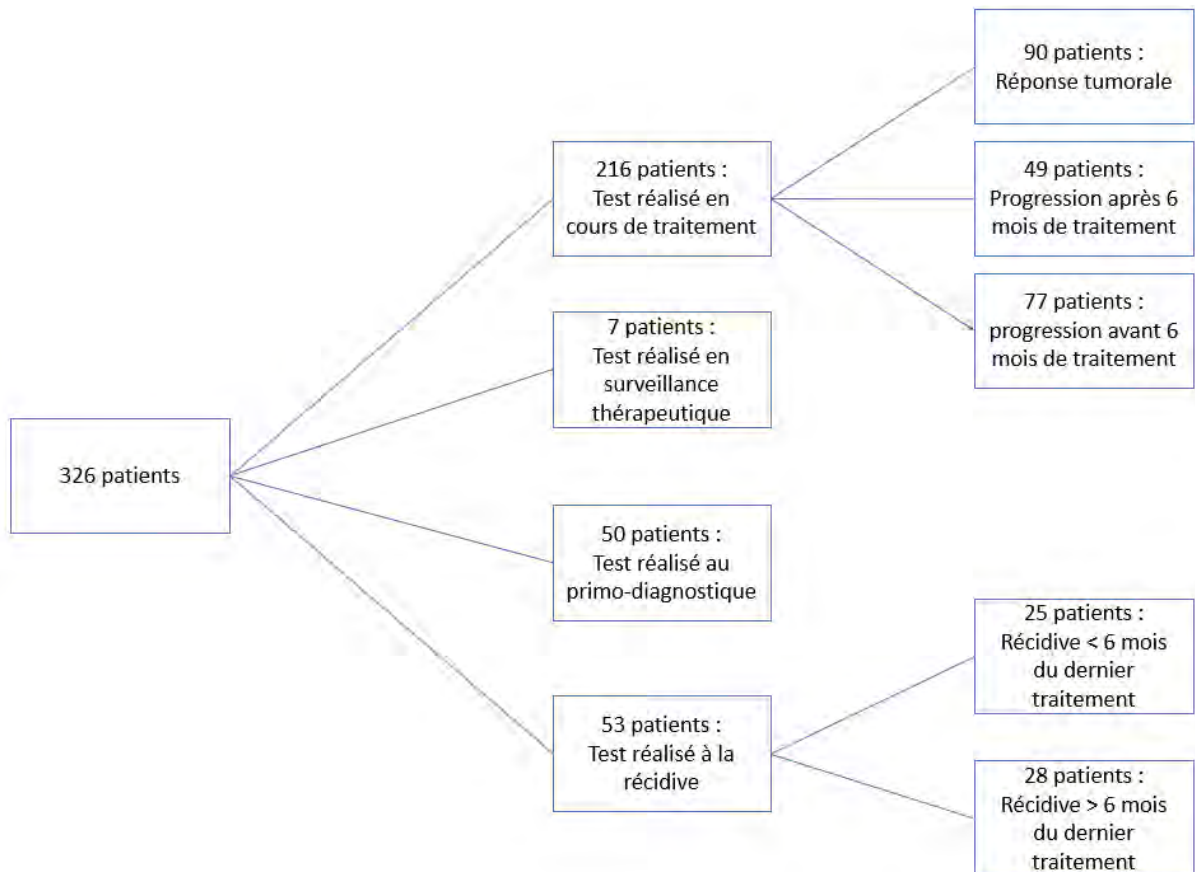


Figure 39 : Test Fondation One CDX réalisé durant le parcours thérapeutique des patients

B. Résultat du FMI :

1. Altérations moléculaires

Nous nous sommes intéressés aux variants alléliques de signification déterminée. Le pourcentage de fréquence allélique n'était pas connu. Sur 326 échantillons de patients examinés, seuls 3 échantillons ne retrouvaient pas de mutations de signification déterminée. Le nombre d'altérations de signification déterminée médiane par échantillon est de 6, allant à 1 variant retrouvé jusqu'à 27. Au total, sur 326 échantillons, près de 1995 mutations ont été retrouvées (Annexe 2).

Pour 66.9% des patients, le test FMI a été réalisé sur des lames issues de pièce opératoire et 33,1% sur biopsie. Le type de prélèvement sur lequel était réalisé le test FMI n'avait pas d'influence sur le nombre de mutations retrouvé par échantillon (Tableau 3).

	Total (n=326)	Pièce opératoire (n=218)	Biopsie (n=108)	P value
TMB élevé (n=314)				
Oui	41 (13,1%)	23 (11%)	18 (17,3%)	0,116
Non	273 (86,9%)	187 (89%)	86 (82,7%)	
Missing	12	8	4	
Nombre de mutations (n=323)				0,535
Médian	6	6	6	
(Ecart)	(1 ; 27)	(1 ; 27)	(1 ; 18)	

Tableau 4 : TMB et nombre de mutations identifiées en fonction du type de prélèvement

Deux cent trente gènes ont été retrouvés mutés sur les 324 gènes du panel. Les principales mutations retrouvées étaient sur les gènes : TP53 (50.2% des échantillons), du promoteur du gène TERT (37.8%), CDKN2A (36.2%), CDKN2B (27.9%), PTEN (23.8%), MTAP (21.4%), EGFR (16.7%), PIK3CA (12.4%), NF1 (11,1%), RB1 (10.5%) et KRAS (10.5%) (Annexe 1).

Sur 326 patients, 135 ont présenté soit une altération ciblable (117 patients soit 36%), soit un TMB élevé (41 patients soit 13,1%) ou les deux (23 patients).

Chez les 117 patients, les altérations ciblables retrouvées étaient majoritairement des altérations de PTEN (14,5%), CDKN2A (11,1%), CDKN2B (7,7%), PI3Kalpha (10,3%), BRAF (9,4%), FGFR3 (6,8%), FGFR2 (6%), BRCA2 (6,8%) et BRCA1 (6%).

Mutations (n=47)	Patients (n=117)	Mutation	Patients
PTEN	17 (14.5%)	FANCA	1 (0.9%)
CDKN2A	13 (11.1%)	IDH1	1 (0.9%)
PIK3CA	12 (10.3%)	KIT	1 (0.9%)
BRAF	11 (9.4%)	KRAS	1 (0.9%)
CDKN2B	9 (7.7%)	MDM2	1 (0.9%)
FGFR3	8 (6.8%)	MET	1 (0.9%)
BRCA2	8 (6.8%)	NTRK1	1 (0.9%)
BRCA1	7 (6.0%)	PDGFRB	1 (0.9%)
FGFR2	7 (6.0%)	PIK3C2B	1 (0.9%)
PDGFRA	5 (4.3%)	POLE	1 (0.9%)
ATRX	4 (3.4%)	RAD51C	1 (0.9%)
EGFR	4 (3.4%)	RB1	1 (0.9%)
ERBB2	4 (3.4%)	SMARCA4	1 (0.9%)
RAD51	4 (3.4%)	TSC2	1 (0.9%)
FGFR1	3 (2.6%)	VHL	1 (0,9%)
NF1	3 (2.6%)		
AKT2	2 (1.7%)		
MSH3	2 (1.7%)		
PIK3R1	2 (1.7%)		
RET	2 (1.7%)		
STK11	2 (1.7%)		
AKT1	1 (0.9%)		
AKT3	1 (0.9%)		
ALK*	1 (0.9%)		
ATR	1 (0.9%)		
BAP1	1 (0.9%)		
BRIP1	1 (0.9%)		
CCND1	1 (0.9%)		
CCNE1	1 (0.9%)		
CDK4	1 (0.9%)		
CDK6	1 (0.9%)		
CDKN2C	1 (0.9%)		

Tableau 5 : Recueil des mutations ciblables dans la population totale

Mutation (n=47)	Patients (n=117)		
Glioblastome	40 (34.2%)	Sarcome	5 (4.3%)
AKT2	1 (0.9%)	ATR	1 (0.9%)
AKT3	1 (0.9%)	FANCA	1 (0.9%)
BRAF	7 (6.0%)	NTRK1	1 (0.9%)
BRCA1	1 (0.9%)	PDGFRA	1 (0.9%)
CDK4	1 (0.9%)	PDGFRB	1 (0.9%)
CDK6	1 (0.9%)	PTEN	1 (0.9%)
CDKN2A	7 (6.0%)	Prostate	5 (4.3%)
CDKN2B	4 (3.4%)	ATR	1 (0.9%)
CDKN2C	1 (0.9%)	MSH3	1 (0.9%)
EGFR	3 (2.6%)	PIK3CA	1 (0.9%)
FGFR1	1 (0.9%)	PTEN	2 (1.7%)
FGFR3	1 (0.9%)	Astrocytome de grade III	4 (3.4%)
KIT	1 (0.9%)	BRCA2	1 (0.9%)
MDM2	1 (0.9%)	BRIP1	1 (0.9%)
NF1	3 (2.6%)	CDKN2A	3 (2.6%)
PDGFRA	4 (3.4%)	CDKN2B	2 (1.7%)
PIK3C2B	1 (0.9%)	VADS	4 (3.4%)
PIK3CA	3 (2.6%)	CDKN2A	1 (0.9%)
PTEN	8 (6.8%)	CDKN2B	1 (0.9%)
RAD51C	1 (0.9%)	EGFR	1 (0.9%)
STK11	1 (0.9%)	PIK3CA	1 (0.9%)
TSC2	1 (0.9%)	RAD51	1 (0.9%)
Sein	8 (6.8%)	RET	1 (0.9%)
BRCA2	2 (1.7%)	Colo-rectal	4 (3.4%)
CCNE1	1 (0.9%)	BRCA1	1 (0.9%)
FGFR1	1 (0.9%)	BRCA2	1 (0.9%)
MSH3	1 (0.9%)	ERBB2	1 (0.9%)
PIK3CA	3 (2.6%)	KRAS	1 (0.9%)
PIK3R1	1 (0.9%)	POLE	1 (0.9%)
PTEN	2 (1.7%)	Pancréas	4 (3.4%)
RB1	1 (0.9%)	AKT2	1 (0.9%)
Endomètre	7 (6.0%)	BRCA1	2 (1.7%)
AKT1	1 (0.9%)	BRCA2	1 (0.9%)
BRCA2	1 (0.9%)	Esophage	3 (2.6%)
ERBB2	2 (1.7%)	CCND1	1 (0.9%)
PIK3CA	3 (2.6%)	CDKN2A	1 (0.9%)
PIK3R1	1 (0.9%)	CDKN2B	1 (0.9%)
PTEN	3 (2.6%)	FGFR2	2 (1.7%)
Vessie	7 (6.0%)	Autre	3 (2.6%)
BAP1	1 (0.9%)	BRAF	1 (0.9%)
BRCA2	1 (0.9%)	CDKN2A	1 (0.9%)
FGFR1	1 (0.9%)	CDKN2B	1 (0.9%)
FGFR3	6 (5.1%)	RAD51	1 (0.9%)
Foie	7 (6.0%)	Cup syndrome	3 (2.6%)
FGFR2	4 (3.4%)	BRAF	1 (0.9%)
IDH1	1 (0.9%)	FGFR2	1 (0.9%)
PTEN	1 (0.9%)	FGFR3	1 (0.9%)
RET	1 (0.9%)	Rein	2 (1.7%)
Col utérin	6 (5.1%)	BRCA1	1 (0.9%)
ALK*	1 (0.9%)	MET	1 (0.9%)
ATR	2 (1.7%)	Thyroïde	2 (1.7%)
BRCA1	1 (0.9%)	BRAF	2 (1.7%)
BRCA2	1 (0.9%)	Astrocytome de grade II	1 (0.9%)
PIK3CA	1 (0.9%)	ATR	1 (0.9%)
RAD51	1 (0.9%)	RAD51	1 (0.9%)
STK11	1 (0.9%)	SMARCA4	1 (0.9%)
VHL	1 (0.9%)	Poumon	1 (0.9%)
		BRCA1	1 (0.9%)
		Voies excrétrices hautes	1 (0.9%)
		ERBB2	1 (0.9%)

Tableau 6 : Mutations ciblées par organe

Sur ces 135 patients, 102 ont reçu nouvelle ligne de traitement après FMI. Les 33 patients restants sont soit toujours en réponse tumorale sous leur traitement précédent ou ne peuvent plus recevoir de nouveaux traitements. Sur les 102 patients, 39 ont reçu un traitement conventionnel malgré les résultats du NGS. Ainsi, 24 ont reçu de la chimiothérapie, 1 de l'hormonothérapie, 12 une thérapie anti angiogénique et 2 de l'immunothérapie. Les raisons en sont variées : critères d'exclusion, préférence du médecin référent pour le traitement conventionnel.

Néanmoins, 63 patients ont reçu un traitement guidé par le résultat du test FMI. Sur les 63 patients, 53 mutations ciblables ont été retrouvées (Histogramme 1). Quarante et un patients ont été inclus dans un essai clinique et 22 ont reçu un traitement adapté au résultat du FMI hors essai (Figure 41).

Sur 41 patients inclus dans un essai clinique (tableau 7), 4 l'étaient dans un essai de phase I, 36 dans un essai de phase II et 1 seul dans un essai de phase III. Le type de traitement étudié dans ces essais étaient de l'immunothérapie pour 10 patients, des thérapies ciblées pour 28 patients, et une bithérapie thérapie ciblée avec immunothérapie pour 3 patients (Figure 41).

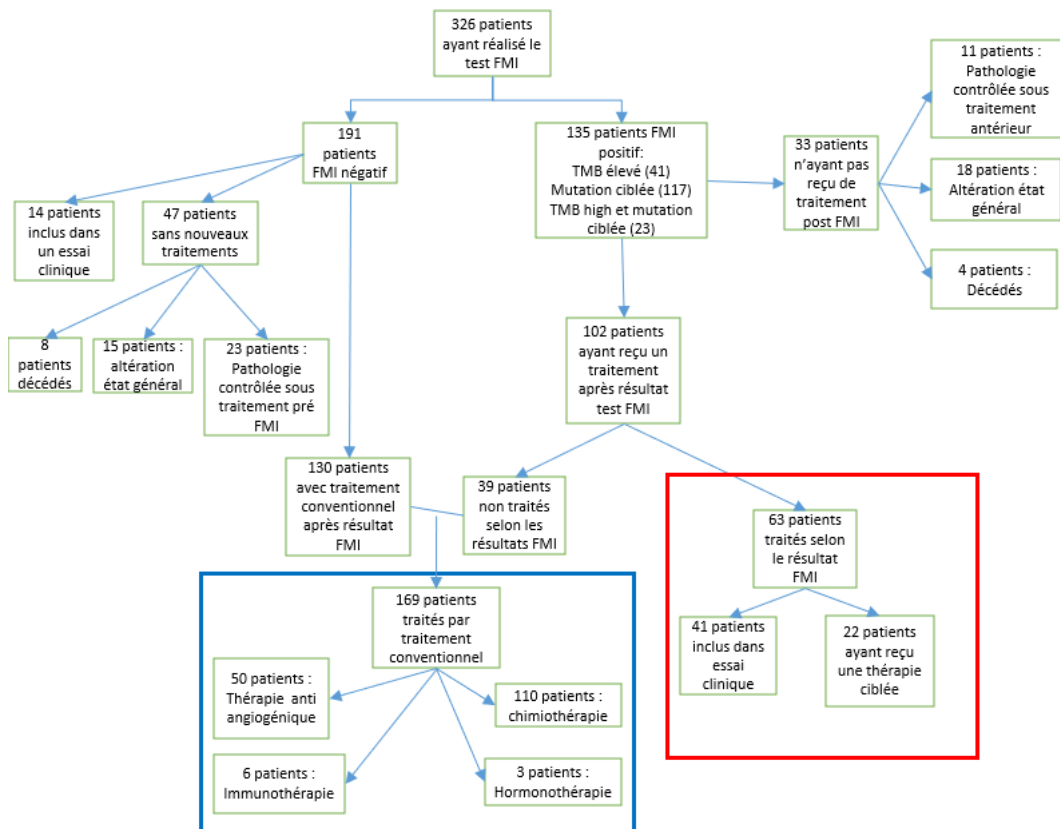
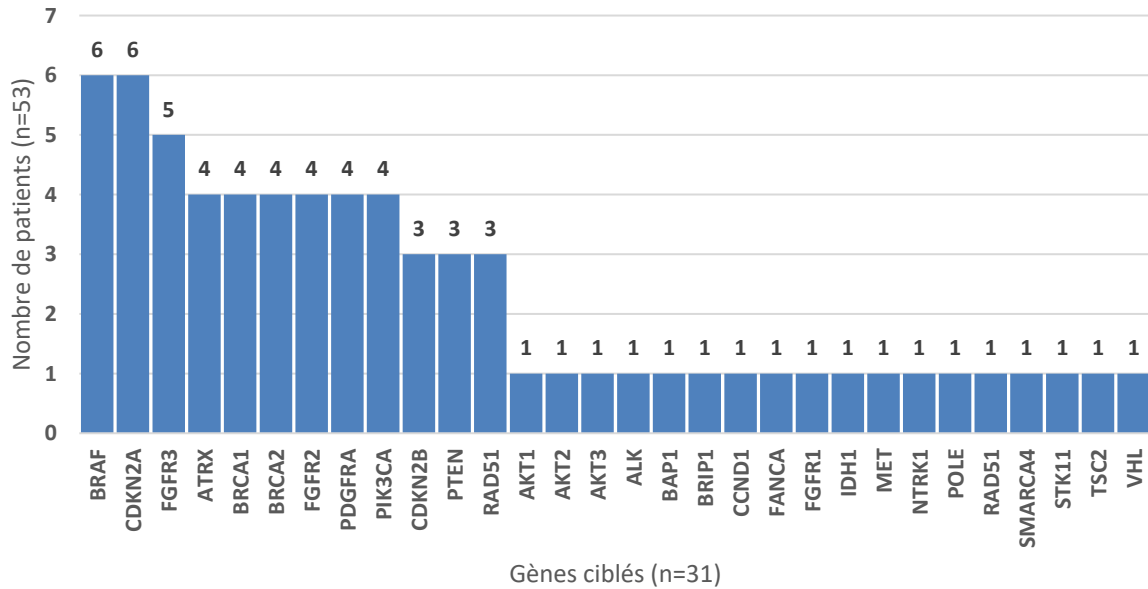


Figure 41: Flowchart de l'étude

Histogramme 1 : Mutations ciblées dans la population traitement selon test FMI



Traitement des 63 patients bras FMI	N (%)
Type d'essai (n=41)	
Phase I	4 (9.8%)
Phase II	36 (87.8%)
Phase III	1 (2.4%)
Type de traitement à l'étude dans l'essai (n=41)	
Immunothérapie	10 (24,4%)
Thérapie ciblée	28 (68,3%)
Immunothérapie + thérapie ciblée	3 (7,3%)
Type de traitement (hors essai) (n=22)	
Immunothérapie	3 (13.6%)
Thérapie ciblée	19 (86.4%)

Tableau 7 : Traitement reçu par les patients du bras FMI

2. Le statut MSS et TMB

1. Le statut MSS

Sur 326 patients, 290 ont un statut MSS analysé par FONDATION ONE CDX®. Sur les 290 patients, 286 ont un statut MSS et 4 ont un statut MSI. En parallèle, 84 patients ont eu une analyse du statut MMR par immunohistochimie, dont 7 se sont révélés dMMR.

Sur les 7 révélés par les recommandations nationales standards, 3 sont MSI par le test FONDATION ONE CDX®, un est MSS et 3 n'ont pas été analysés par le test FONDATION ONE CDX®.

	Statut MSS par FMI			
	Total N = 325	MSI N = 4	MSS N = 286	Missing N = 36
Statut MMR par anatomo-pathologiste				
dMMR	7 (2.3%)	3 (75%)	1 (0.4%)	3 (9.1%)
pMMR	77 (24.8%)	0 (0%)	68 (24.8%)	9 (27.3%)
Non analysé	227 (73%)	1 (25%)	205 (74.8%)	21 (63.6%)
Missing	14	0	12	2

Tableau 8 : Tableau de concordance du statut MSS entre le résultat FMI et l'anatomopathologiste du centre

2. Le score TMB

Il a été analysé sur 295 patients. Le TMB médian est de 4 dont les variables vont de 0 à 230. 41 patients ont un TMB élevé défini par plus de 10 mutations/mb.

Sur les 41 patients ayant un TMB élevé, 15 ont reçu une immunothérapie à la suite du résultat FMI :

- 10 ont reçu de l'immunothérapie dans le cadre d'essai clinique, soit en mono ou en bi immunothérapie
- 2 ont reçu une bithérapie associant de l'immunothérapie à une thérapie ciblée
- 3 patients ont reçu de l'immunothérapie en dehors d'essai clinique.

1 patient avec un TMB à 4 a été inclus dans un essai associant une immunothérapie associée à une thérapie ciblée.

2 patients avec un TMB à 8 ont également été inclus dans un essai clinique évaluant un traitement par immunothérapie.

On retrouvait une corrélation entre TMB élevé et profil dMMR. Les 7 patients dMMR 7 présentait un TMB > 10/mb, avec un TMB médian de 44/mb.

3. La RCP moléculaire

Sur les 326 panels moléculaires réalisés, 249 dossiers ont été discutés en RCP moléculaire, et 30 en RCP d'organe (tableau 9). 77 dossiers n'ont donc pas été analysés en RCP. Nous les avons analysés a posteriori ; 15 auraient pu être inclus dans un essai clinique et 6 auraient pu recevoir une thérapie ciblée.

Sur les 249 dossiers, la RCP moléculaire proposait l'inclusion dans un essai clinique adapté aux mutations du patient pour 64 patients, l'utilisation de thérapie ciblée hors essai pour 37 patients, et une absence de préconisation pour les autres dossiers. Finalement, 41 patients ont été inclus dans un essai clinique adapté aux mutations et 22 ont reçu une thérapie ciblée. Les recommandations de la RCP ont été suivies pour 174 patients sur les 249. Les raisons de non suivi des recommandations sont principalement la présence de critères d'exclusion (pour 20 patients) et la décision médicale du médecin référent (pour 31 patients).

RCP moléculaire		N (%)
Dossier discuté en RCP N=326	RCP moléculaire	249 (78,3%)
	RCP d'organe	39 (12,3%)
	Absence de RCP	30 (9,4%)
	Missing	8
Recommandations de la RCP biologie moléculaire	Essai clinique	64 (25.8%)
	Thérapie ciblée hors essai	37 (14.9%)
	Pas de préconisation	147 (59.3%)
	Missing	1
Demande d'examens complémentaires	Oui	10 (4,1%)
	Non	236 (95,9%)
	Missing	3
Suivi des recommandations de la RCP moléculaire	Non	62 (26.3%)
	Oui	174 (73.7%)

	Missing	13
Si recommandations non suivies, -les raisons (n=56) :	Oubli du clinicien	1 (1.8%)
	Absence d'essai	4 (7.1%)
	Critères d'exclusion	20 (35.7%)
	Décision médicale	31 (55.4%)
	Missing	6
-les traitements (n=36)	essai clinique	9 (25.0%)
	thérapie ciblée hors essai	2 (5.6%)
	Traitement conventionnel	21 (58.3%)
	Autre	4 (11.1%)
	Missing	26

Tableau 9 : Dossiers présentés à la RCP moléculaire

Il n'y avait pas de différence significative en termes d'inclusion dans un essai clinique entre les dossiers passés en RCP moléculaire par rapport aux autres ($p=0,298$). Cependant le délai entre réception des résultats et début du nouveau traitement est plus long chez les patients dont le dossier est passé en RCP (médiane de 3,6 mois contre 2 mois, $p=0,009$) (tableau 10).

	Dossier du patient discuté en RCP moléculaire			p-value
	Total (N = 326)	Non (N = 77)	Oui (N = 249)	
Délai entre réception résultats FMI et début du traitement (m) (n=245)				0.009
Median	3.3	2.0	3.6	
(Range)	(0.0;22.1)	(0.0;20.1)	(0.2;22.1)	
Missing	81	24	57	
Inclusion dans un essai clinique (n=326)				0.298
Non	271 (83.1%)	67 (87.0%)	204 (81.9%)	
Oui	55 (16.9%)	10 (13.0%)	45 (18.1%)	

Tableau 10 : Répartition des patients inclus dans un essai en fonction du passage en RCP

C. Résultats en termes de Survie Globale et Survie Sans Progression

1. Caractéristiques des deux groupes de traitement

Nous avons analysé la survie globale et la survie sans progression dans deux groupes de patients :

- Les patients ayant reçu un traitement conventionnel après les résultats Foundation One CDX®. Ce groupe comprend 169 patients que l'on appellera par la suite bras A ou bras traitement standard.
- Les patients ayant un reçu un traitement adapté aux résultats du test Foundation One CDX®, soit 63 patients, que l'on appellera bras B ou bras FMI.

Excepté l'âge médian à la signature du consentement (61 ans pour le bras traitement standard contre 55 ans pour le bras FMI), il n'existait pas de différence significative entre les deux groupes de patient. Plus de 90% des patients étaient OMS 0 ou 1. Un patient sur 2 était au stade loco-régionalement avancé. Et seuls 10% des patients présentaient 2 ou plus de 2 sites métastatiques (tableau 11).

	Population bras A et B (n=232)	Population bras A (n=169)	Population bras B (n=63)	P value
Âge médian au consentement du FMI (n=230) Missing	60,5 (20 ; 85) 2	61 (33 ; 85) 1	55,5 (20 ; 76) 1	0,013
OMS au consentement du FMI (n=226)				0,36
0-1	212 (93.8%)	151 (92.6%)	61 (96.8%)	
2-3	14 (6.2%)	12 (7.4%)	2 (3.2%)	
Missing	6	6	0	
Présence de site(s) métastatique(s) (n=229)				0,431
Non	115 (50.2%)	87 (51.8%)	28 (45.9%)	
Oui	114 (49.8%)	81 (48.2%)	33 (54.1%)	
Missing	3	1	2	

Nombre de site(s) métastatique(s) (n=185)				0,995
<2	169 (91.4%)	124 (91.2%)	45 (91.8%)	
>=2	16 (8.6%)	12 (8.8%)	4 (8.2%)	
Missing	47	33	14	
Au moins 1 ligne de traitement avant FMI (n=232)				0,145
Non	52 (22.4%)	42 (24.9%)	10 (15.9%)	
Oui	180 (77.6%)	127 (75.1%)	53 (84.1%)	
Moment de réalisation du FMI (n=180)				0,891
FMI après 1 ^{ère} ligne	94 (52.2%)	65 (51.2%)	29 (54.7%)	
FMI après 2 ^{ème} ligne	41 (22.8%)	30 (23.6%)	11 (20.8%)	
FMI après la ligne 3 ou plus	45 (25.0%)	32 (25.2%)	13 (24.5%)	

Tableau 11 : Caractéristiques cliniques des deux groupes de traitement

Les patients atteints de glioblastome représentaient la population la plus fréquente dans les 2 groupes, 40% dans le bras traitement standard contre 28% dans le bras FMI. Les autres sites tumoraux entre les deux groupes ne paraissent pas comparables.

	Total (N = 232)	Traitement standard (N = 169)	Traitement FMI (N = 63)
Site du Primitif (n=231)			
Astrocytome de grade II	1 (0.4%)	0 (0.0%)	1 (1.6%)
Oligoastrocytome de grade II	2 (0.9%)	2 (1.2%)	0 (0.0%)
Astrocytome de grade III	12 (5.2%)	9 (5.4%)	3 (4.8%)
Oligodendrogliome grade III	2 (0.9%)	1 (0.6%)	1 (1.6%)
Glioblastome	86 (37.2%)	68 (40.5%)	18 (28.6%)
VADS	5 (2.2%)	5 (3.0%)	0 (0.0%)
Thyroïde	2 (0.9%)	0 (0.0%)	2 (3.2%)
Poumon	8 (3.5%)	6 (3.6%)	2 (3.2%)
Sein	13 (5.6%)	12 (7.1%)	1 (1.6%)
Œsophage	5 (2.2%)	3 (1.8%)	2 (3.2%)
Estomac	2 (0.9%)	2 (1.2%)	0 (0.0%)
Pancréas	6 (2.6%)	2 (1.2%)	4 (6.3%)
Foie	7 (3.0%)	2 (1.2%)	5 (7.9%)
Colo-rectal	16 (6.9%)	12 (7.1%)	4 (6.3%)
Prostate	9 (3.9%)	9 (5.4%)	0 (0.0%)
Vessie	8 (3.5%)	4 (2.4%)	4 (6.3%)
Rein	3 (1.3%)	2 (1.2%)	1 (1.6%)
Cup syndrome	1 (0.4%)	1 (0.6%)	0 (0.0%)
Ovaire	3 (1.3%)	3 (1.8%)	0 (0.0%)
Endomètre	8 (3.5%)	6 (3.6%)	2 (3.2%)
Col utérin	10 (4.3%)	3 (1.8%)	7 (11.1%)
Sarcome	16 (6.9%)	12 (7.1%)	4 (6.3%)
Autre	6 (2.6%)	4 (2.4%)	2 (3.2%)
Missing	1	1	0

Tableau 12 : Sites primitifs des deux groupes de traitement

2. Analyse de la Survie Globale dans les 2 bras.

a) Survie globale

Elle est définie à partir de la date de début du traitement suivant le résultat FMI et la survenue de décès toutes causes confondues. Avec un suivi médian de 11,9 mois (IC95 : 11.0 ;14.7), la survie globale médiane était estimée à 6,8 mois (IC : 5.7; 8.1) (Figure 42). Les taux estimés de survie globale pour l'ensemble de la cohorte sont les suivants :

- A 3 mois : 77.37% (IC95 : 71.26 ; 82.35)
- A 6 mois : 53.85% (IC95 : 46.90 ; 60.29)

- A 1 an : 24.28% (IC95 : 17.96 ; 31.14)

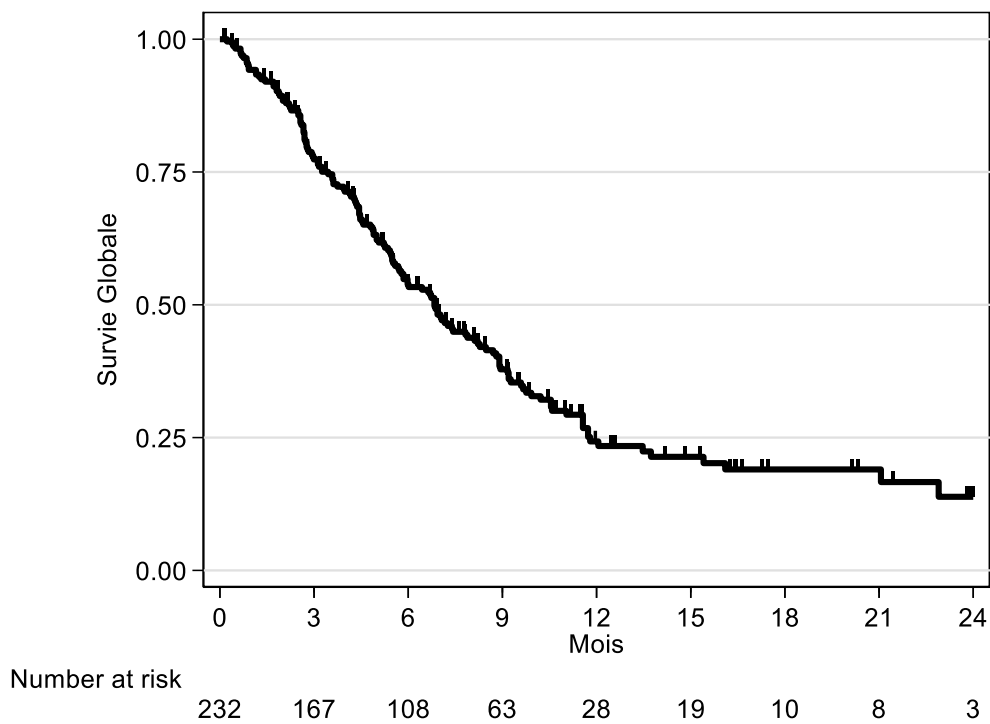


Figure 42 : Survie globale de la cohorte

Avec un suivi médian de 12 mois, on retrouve une survie globale médiane de 8,7 mois dans le bras FMI contre 6 mois dans le bras traitement conventionnel avec un HR en faveur du bras FMI à 0.67 (IC95% : 0.46;0.97 $p=0,036$). A 12 mois, 20% des patients du bras A sont en vie contre 35% du bras B (Figure 43).

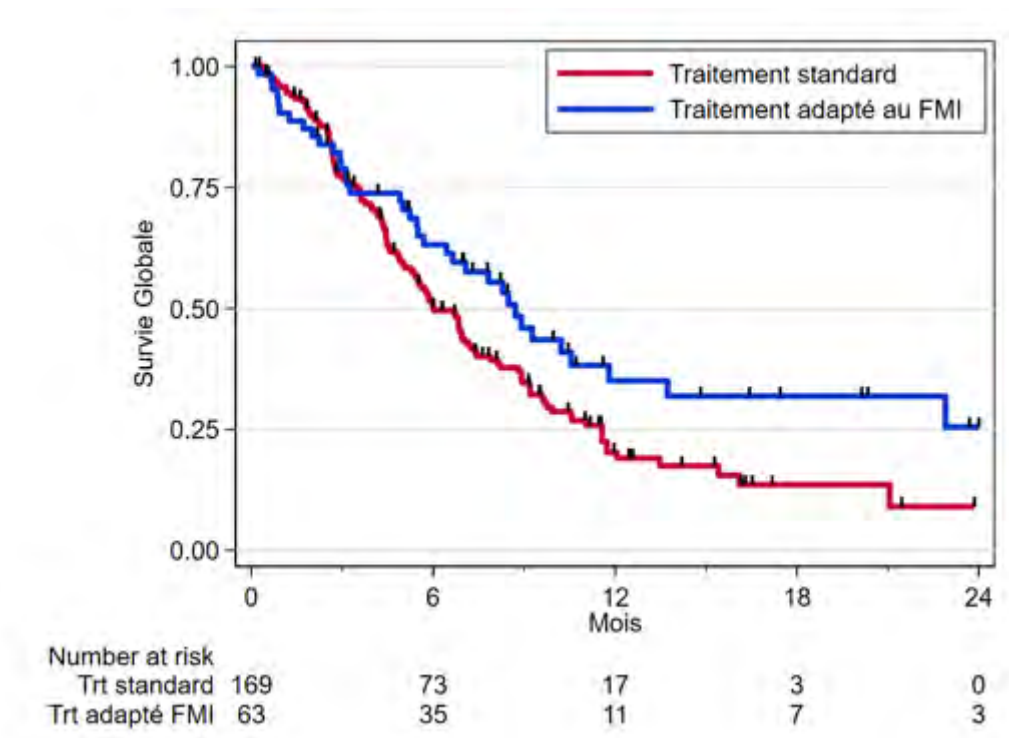


Figure 43 : Survie globale des deux bras de traitement

b) Analyses univariables de la survie globale

Dans les tableaux 14 et 15 sont représentées les analyses univariables de survie globale dans l'ensemble de la cohorte. Les patients atteints de glioblastome présentaient un risque significativement plus élevé de décès (HR 1.72 IC 95% [1.24;2.38] $p=0,0009$), ainsi que les patients dont l'histologie était en faveur d'une tumeur neurologique (HR 1.68 IC95% [1.12;2.51], $p=0,0104$). Un délai supérieur à 1 an entre le diagnostic du cancer et la signature du consentement s'avérait être un critère statistiquement significatif en faveur d'une amélioration de la survie globale (HR à 0.72 avec IC95 [0.52;0.99] $p=0,043$). On peut noter une tendance pour une survie globale diminuée chez les patients ayant signé le consentement après 60 ans (HR 1.33 IC95% [0.96;1.83] $p=0,0807$) ou ayant un taux d'albuminémie inférieur à 35g/L (HR 1.39 IC95% [0.94;2.04] $p=0,0927$). Bien que statistiquement non significatives, d'autres variables étaient en faveur de l'amélioration de la survie globale : un score TMB élevé (HR 0.64 IC95% [0.39;1.07] $p=0,0875$), les patients du bras B traités par immunothérapie (HR 0.42 IC95% [0.19;0.91] $p=0,0851$), les patients ayant progressé après 6 mois de traitement ou récidivé à plus de 6 mois de la fin du dernier traitement (HR 0.64 IC95% [0.41;1.00] $p=0,1188$).

	Evt / N	S(t=6) [95%CI]	Median [95%CI]	HR [95%CI]	
Groupes de traitement :					p = 0.0336
Bras A	118 / 169	50.3% [42.1;57.9]	6.0 [5.3; 7.3]	1.00	
Bras B	37 / 63	63.1% [49.5;74.0]	8.7 [5.7;11.8]	0.67 [0.46;0.97]	
Groupe de traitement standard ou adapté FMI, par type de traitement :					p = 0.0851
Bras A : CT	74 / 110	46.2% [36.1;55.6]	5.8 [4.5; 7.0]	1.00	
Bras A : TAA/Immuno	42 / 56	57.3% [42.6;69.5]	6.9 [5.5; 9.2]	1.06 [0.72;1.55]	
Bras B : TCM	29 / 47	62.3% [46.4;74.7]	8.5 [5.5;10.5]	0.78 [0.51;1.21]	
Bras B : Immuno	7 / 13	69.2% [37.3;87.2]	2.9 [5.2; .]	0.42 [0.19;0.91]	
Glioblastome :					p = 0.0009
Non	86 / 145	56.7% [47.8;64.6]	7.2 [5.8; 9.8]	1.00	
Oui	68 / 86	48.3% [36.9;58.8]	5.5 [4.3; 7.4]	1.72 [1.24;2.38]	
Age au consentement du FMI (cl) :					p = 0.0807
<60 ans	68 / 110	64.3% [54.1;72.8]	8.5 [6.8;10.2]	1.00	
>=60 ans	85 / 120	45.5% [36.0;54.5]	5.7 [4.4; 7.2]	1.33 [0.96;1.83]	
Histologie :					p = 0.0104
Adénocarcinome	37 / 62	51.4% [37.8;63.4]	6.7 [4.5;15.4]	1.00	
Tumeurs neurologiques	76 / 101	49.6% [39.0;59.3]	6.0 [4.9; 7.0]	1.68 [1.12;2.51]	
Autre	41 / 67	61.3% [47.9;72.1]	8.1 [5.7;11.7]	1.05 [0.67;1.64]	
Tabac :					p = 0.3299
Non	47 / 82	61.0% [48.6;71.2]	7.4 [5.8;10.2]	1.00	
Actif	30 / 41	58.3% [41.8;71.7]	7.4 [4.9; 9.3]	1.10 [0.69;1.74]	
Sevré	46 / 64	48.9% [35.5;61.0]	6.0 [4.2; 8.7]	1.36 [0.90;2.04]	
Mutations à risque héréditaire :					p = 0.2199
Non	115 / 171	50.2% [42.1;57.8]	6.0 [5.4; 7.1]	1.00	
Oui	25 / 42	61.2% [44.1;74.6]	8.2 [4.9;15.4]	0.76 [0.49;1.18]	

Tableau 13 : Description de la survie globale à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariée (Test du logrank) (1/2). Evt= évènement, TAA= Thérapie anti angiogénique, Immuno = Immunothérapie, CT = chimiothérapie, TCM= thérapie ciblée moléculaire

	Evt / N	S(t=6) [95%CI]	Median [95%CI]	HR [95%CI]
Consultation d'oncogénétique :				p = 0.8569
Non	129 / 189	53.4% [45.8;60.5]	6.8 [5.5; 8.2]	1.00
Oui	21 / 35	57.2% [36.9;73.1]	6.4 [5.2;10.2]	0.96 [0.60;1.52]
Délai entre diagnostic et consentement FMI (y) :				p = 0.0430
<=1 an	68 / 96	51.7% [40.8;61.6]	6.4 [4.9; 8.2]	1.00
>1 an	85 / 134	56.3% [47.1;64.6]	7.4 [5.7; 9.8]	0.72 [0.52;0.99]
Moment de progression/récidive après la fin du dernier traitement :				p = 0.1188
Prog/Rec < 6 mois	52 / 71	44.0% [31.9;55.3]	5.7 [4.3; 7.3]	1.00
Prog/Réc > 6 mois	32 / 59	68.5% [54.2;79.1]	9.6 [6.8;11.8]	0.64 [0.41;1.00]
Réponse tumorale	45 / 63	54.8% [41.3;66.4]	6.8 [5.4; 8.9]	0.94 [0.63;1.41]
Traitement entre J0 et réception du FMI :				p = 0.2997
Non	60 / 89	54.6% [43.5;64.5]	7.4 [5.4; 9.8]	1.00
Oui	95 / 143	53.4% [44.3;61.6]	6.7 [5.5; 7.8]	1.19 [0.86;1.64]
TMB élevé :				p = 0.0875
Non	132 / 196	50.9% [43.3;57.9]	6.4 [5.4; 7.4]	1.00
Oui	17 / 27	64.3% [42.6;79.6]	8.9 [5.2;22.9]	0.64 [0.39;1.07]
Albumine (g/L) au j0 consentement :				p = 0.0927
>=35	95 / 141	57.3% [48.3;65.3]	7.2 [5.8; 8.9]	1.00
<35	36 / 46	39.7% [25.2;53.8]	5.5 [3.0; 6.7]	1.39 [0.94;2.04]
LDH/ULN au j0 consentement :				p = 0.8854
<=N	79 / 110	55.9% [45.9;64.9]	6.9 [5.7; 8.7]	1.00
>N	38 / 59	51.9% [37.5;64.5]	7.1 [4.5;10.5]	0.97 [0.66;1.43]
Nombre de site(s) métastatique(s) :				p = 0.8252
<2	113 / 169	54.8% [46.6;62.3]	6.9 [5.7; 8.8]	1.00
>=2	40 / 60	48.5% [35.0;60.8]	5.8 [4.4; 7.2]	1.04 [0.72;1.50]

Tableau 14 : Description de la survie globale à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariée (Test du logrank) (2/2)

c) Analyses multivariées de la survie globale

L'analyse multivariée regroupait les variables glioblastome, âge médian du consentement, délai entre diagnostic et consentement, moment de progression/récidive, TMB élevé et nombre de site(s) métastatique(s) (Tableau 16).

Les variables glioblastome (HR 2.46 [1.48; 4.10] p=0,001), âge supérieur à 60 ans (HR 1.49 [1.03; 2.14] p= 0,033) et nombre de site(s) métastatique(s) égal ou supérieur à 2 (1.71 [1.06; 2.73] p=0,026) étaient associées à une survie globale diminuée. Bien que statistiquement non significative, la variable progression/récidive à plus de 6 mois de traitement semble associée à un bénéfice en survie globale (HR 0.64 [0.41; 1.02] p= 0.061).

	HR [95%CI]	p-value
Groupes de traitement		
Bras traitement standard	1.00	
Bras FMI	0.87 [0.55; 1.36]	0.528
Glioblastome		
Non	1.00	
Oui	2.46 [1.48; 4.10]	0.001
Age au consentement du FMI (c1)		
<60	1.00	
>=60	1.49 [1.03; 2.14]	0.033
Délai entre diagnostic du cancer et consentement FMI (y)		
<=1 an	1.00	
>1 an	1.11 [0.71; 1.73]	0.643
Moment de progression sous traitement/récidive depuis la date du dernier traitement :		
Progression/Récidive < 6 mois	1.00	
Progression/Récidive > 6 mois	0.64 [0.41; 1.02]	0.061
Réponse tumorale	0.73 [0.46; 1.16]	0.187
TMB élevé		
Non	1.00	
Oui	0.75 [0.41; 1.39]	0.361
Nombre de site(s) métastatique(s)		
<2	1.00	
>=2	1.71 [1.06; 2.73]	0.026

Tableau 15 : Analyse multivariable SG (Modèle de Cox) (n=179)

3. Survie sans progression

a) SSP dans l'ensemble de la cohorte

La SSP est définie par le délai entre la date de début du traitement mis en place après la réception des résultats du test FMI et la date de progression clinique ou radiologique ou de décès (toutes causes confondues), ou date du dernier suivi. Dans notre étude, la SSP médiane est de 2.8 mois (Figure 44). Les taux estimés de survie sans progression pour l'ensemble de la cohorte sont les suivants :

- A 3 mois : 45.58% [IC95 : 38.92 ; 51.98]
- A 6 mois : 22.62% [IC95 : 17.28 ; 28.41]
- A 9 mois : 12.76% [IC95 : 8.46 ; 17.97]

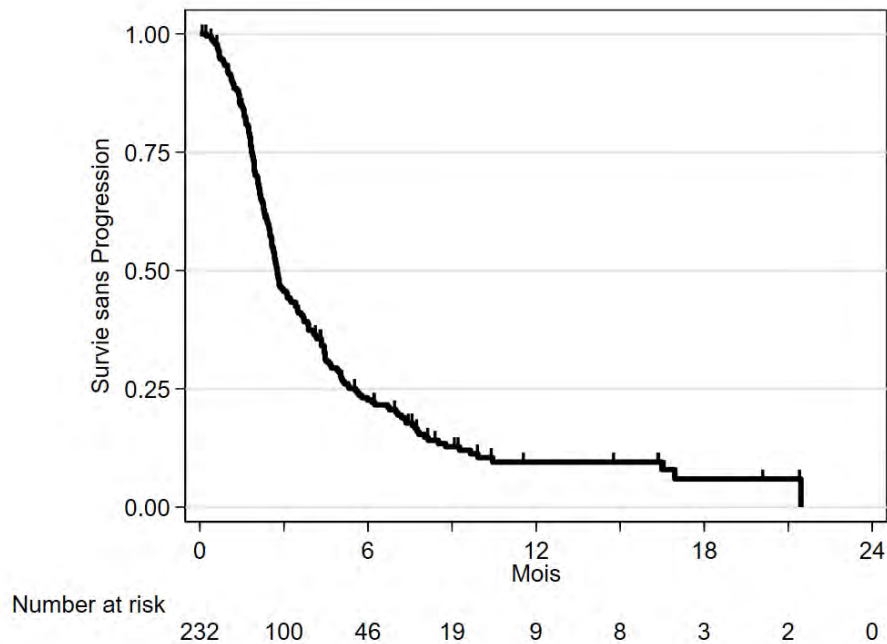


Figure 44 : Survie sans progression de la population bras A et bras B

La SSP dans les deux groupes est identique, à 2,8 mois. Néanmoins, on retrouve une meilleure SSP dans le bras B à 6 mois de traitement, où 31,8% des patients du bras B ne sont pas en progression contre 19,3% du bras standard (Figure 45).

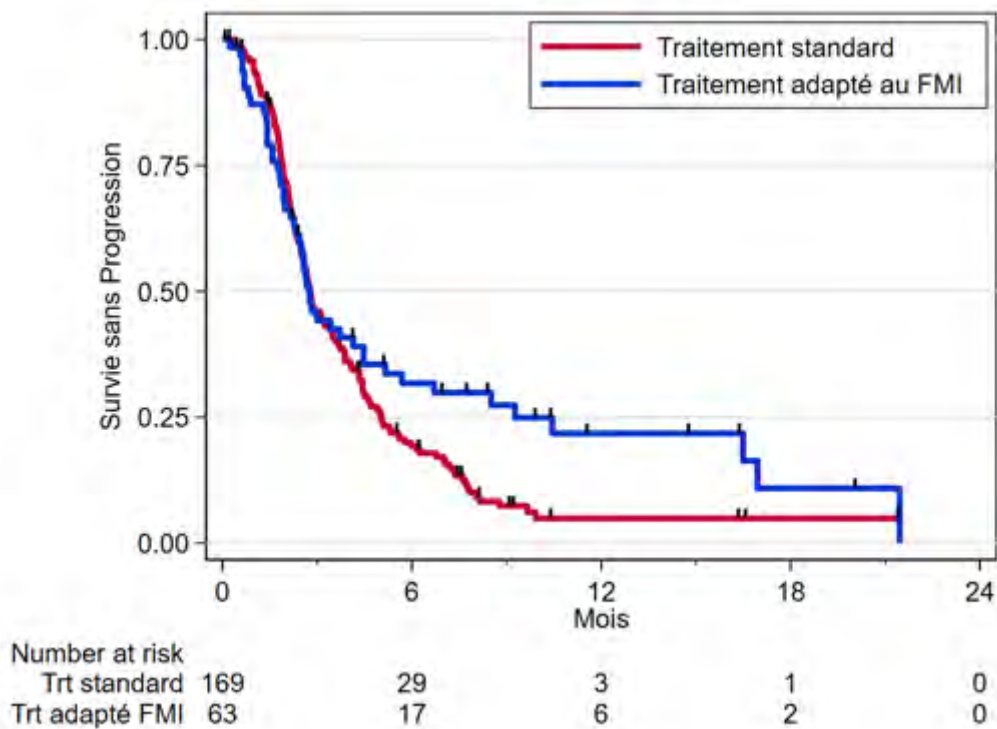


Figure 45 : SSP dans chaque groupe de traitements : traitement standard et traitement FMI

b) Analyses univariables de la SSP

Les tableaux 17 et 18 représentent les analyses univariables de SSP du traitement suivant le test FMI. Les variables Glioblastome (HR 1.62 [1.21;2.16] $p=0,0011$) et l'histologie en faveur d'une tumeur neurologique (HR 1.40 [0.99;1.97] $p=0,0003$) étaient en faveur d'un risque plus élevé de progression sous traitement. Les patients ayant reçu un traitement entre la signature du consentement et résultat du test présentaient une SSP diminuée (HR 1.35 IC95% [1.01;1.80] $p=0,0441$). A contrario, les patients ayant signé le consentement à plus de 1 an après leur diagnostic de cancer (HR 0.73 IC95% [0.55;0.97] $p=0,0303$) et les tumeurs avec un score TMB élevé (HR 0.63 IC95% [0.40;0.99] $p=0,0431$), sont des variables qui augmentent la SSP de façon statistiquement significative. On peut noter une tendance pour une SSP augmentée chez les patients du bras B traités par immunothérapie (HR 0.41 IC95% [0.21;0.82] $p=0,0662$) et chez les patients progressant/récidivant après plus de 6 mois de traitement ou de pause thérapeutique (HR 0.63 IC95% [0.43;0.93] $p=0,0590$).

	Evt / N	S(t=6) [95%CI]	Median [95%CI]	HR [95%CI]
Groupes de traitement :				<i>p</i> = 0.0558
Bras A	146 / 169	19.3% [13.6;25.8]	2.8 [2.5; 3.4]	1.00
Bras B	48 / 63	31.8% [20.3;43.8]	2.8 [2.3; 4.5]	0.72 [0.52;1.01]
Groupe de traitement standard ou adapté FMI :				<i>p</i> = 0.0662
Bras A : CT	95 / 110	18.4% [11.6;26.5]	2.7 [2.4; 3.1]	1.00
Bras A : TAA/Immuno	48 / 56	22.0% [12.0;34.0]	3.8 [2.6; 4.3]	0.84 [0.59;1.19]
Bras B : TCM	38 / 47	27.1% [15.1;40.7]	2.6 [2.0; 3.0]	0.83 [0.57;1.22]
Bras B : Immuno	9 / 13	46.2% [19.2;69.6]	5.7 [1.8; .]	0.41 [0.21;0.82]
Glioblastome :				<i>p</i> = 0.0011
Non	115 / 145	29.7% [22.2;37.6]	3.1 [2.6; 4.4]	1.00
Oui	78 / 86	9.9% [4.6;17.5]	2.5 [2.1; 2.8]	1.62 [1.21;2.16]
Age au consentement du FMI (cl) :				<i>p</i> = 0.7089
<60	90 / 110	22.6% [15.0;31.2]	2.8 [2.5; 3.7]	1.00
>=60	102 / 120	23.2% [15.9;31.3]	2.7 [2.3; 3.5]	0.95 [0.71;1.26]
Anatomo-pathologie :				<i>p</i> = 0.0003
Adénocarcinome	53 / 62	24.6% [14.4;36.2]	3.1 [2.3; 4.5]	1.00
Cellules gliales	91 / 101	9.4% [4.6;16.2]	2.5 [2.1; 2.8]	1.40 [0.99;1.97]
Autre	49 / 67	39.6% [27.4;51.4]	4.1 [2.6; 6.8]	0.68 [0.46;1.01]
Tabac :				<i>p</i> = 0.1234
Non	62 / 82	24.5% [15.4;34.7]	2.8 [2.4; 3.7]	1.00
Actif	34 / 41	31.5% [18.1;45.9]	4.2 [2.8; 5.0]	0.84 [0.55;1.28]
Sevré	57 / 64	20.4% [11.3;31.5]	2.4 [2.0; 2.8]	1.29 [0.90;1.85]
Mutations à risque héréditaire :				<i>p</i> = 0.1955
Non	144 / 171	20.6% [14.7;27.2]	2.7 [2.5; 3.1]	1.00
Oui	31 / 42	37.1% [22.4;51.8]	2.8 [2.2; 6.1]	0.77 [0.52;1.14]

Tableau 16 : Description de la SSP à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariable (Test du logrank) (1/2). Evt= évènement, TAA= Thérapie anti angiogénique, Immuno = Immunothérapie, CT = chimiothérapie, TCM = Thérapie ciblée moléculaire

	Evt / N	S(t=6) [95%CI]	Median [95%CI]	HR [95%CI]	
Consultation d'onco-génétique :					p = 0.4809
Non	161 / 189	22.8% [17.0;29.1]	2.7 [2.5; 3.1]	1.00	
Oui	25 / 35	23.7% [9.9;40.7]	3.9 [2.5; 5.1]	0.86 [0.56;1.31]	
Délai entre diagnostic et consentement FMI (y) :					p = 0.0303
<=1 an	83 / 96	15.9% [9.2;24.2]	2.7 [2.4; 2.9]	1.00	
>1 an	109 / 134	27.8% [20.3;35.9]	3.1 [2.6; 4.4]	0.73 [0.55;0.97]	
Moment de progression/récidive depuis la date de dernier traitement :					p = 0.0590
Prog/Rec<6 mois	64 / 71	15.2% [7.8;24.7]	2.3 [2.0; 3.2]	1.00	
Prog/Réc>6 mois	44 / 59	37.5% [24.9;50.0]	3.7 [2.6; 6.1]	0.63 [0.43;0.93]	
Réponse tumorale	53 / 63	22.1% [12.6;33.4]	3.4 [2.8; 4.0]	0.81 [0.56;1.17]	
Traitement entre J0 et réception du FMI :					p = 0.0441
Non	74 / 89	29.4% [20.2;39.3]	3.5 [2.7; 4.5]	1.00	
Oui	120 / 143	18.2% [12.1;25.3]	2.6 [2.3; 2.8]	1.35 [1.01;1.80]	
TMB élevé :					p = 0.0431
Non	166 / 196	20.0% [14.6;26.1]	2.7 [2.4; 2.8]	1.00	
Oui	21 / 27	32.8% [15.8;51.0]	4.7 [2.3; 6.7]	0.63 [0.40;0.99]	
Albumine (g/L) au j0 consentement :					p = 0.4976
>=35	118 / 141	19.8% [13.5;27.1]	2.8 [2.6; 3.7]	1.00	
<35	40 / 46	25.7% [13.8;39.3]	2.4 [2.0; 2.9]	1.13 [0.79;1.62]	
LDH/ULN au j0 consentement :					p = 0.3285
<=N	92 / 110	24.9% [17.1;33.4]	2.8 [2.5; 3.9]	1.00	
>N	50 / 59	16.0% [7.6;27.2]	2.7 [2.3; 3.4]	1.19 [0.84;1.68]	
Nombre de site(s) métastatique(s) :					p = 0.9902
<2	141 / 169	22.4% [16.2;29.2]	2.8 [2.5; 3.5]	1.00	
>=2	51 / 60	22.8% [12.9;34.3]	2.7 [2.2; 3.5]	1.00 [0.73;1.38]	

Tableau 17 : Description de la SSP à 6 mois dans les groupes de traitement en fonction des catégories étudiées, analyse univariable (Test du logrank) (2/2). Evt= évènement, TAA= Thérapie anti angiogénique, Immuno = Immunothérapie, C = chimiothérapie, TCM = Thérapie ciblée moléculaire

c) Analyses multivariables de la SSP

L'analyse multivariable (tableau 18) regroupait les variables glioblastome, âge médian du consentement, délai entre diagnostic et consentement, moment de progression/récidive, TMB élevé et nombre de site(s) métastatique(s). Les patients atteints de glioblastome présentaient une SSP réduite (HR 1.87 IC95% [1.17; 3.01] p=0,010), tandis que ceux progressant après plus de 6 mois de traitement ou récidivant à plus de 6 mois présentaient une SSP augmentée (HR 0.63 IC95% [0.42; 0.95] p=0,029).

	HR [95%CI]	p-value
Groupes de traitement		
Bras A	1.00	
Bras B	0.96 [0.64; 1.44]	0.843
Glioblastome		
Non	1.00	
Oui	1.87 [1.17; 3.01]	0.010
Age au consentement du FMI (c1)		
<60	1.00	
>=60	0.95 [0.68; 1.31]	0.733
Délai entre diagnostic et consentement FMI (y)		
<=1 an	1.00	
>1 an	0.97 [0.64; 1.46]	0.892
Moment de progression sous traitement/récidive depuis la date du dernier traitement		
Prog/Réc dans les 6 mois	1.00	
Prog/Réc plus de 6 mois	0.63 [0.42; 0.95]	0.029
Réponse tumorale	0.67 [0.44; 1.02]	0.061
TMB élevé		
Non	1.00	
Oui	0.69 [0.40; 1.17]	0.169
Nombre de site(s) métastatique(s)		
<2	1.00	
>=2	1.49 [0.99; 2.23]	0.054

Tableau 18 : Analyse multivariable de la SSP (Modèle de Cox) (n=179).

4. Analyse du taux de réponse, de la SSP et SG selon le type de traitement

Le taux de réponse objective se définit par la proportion de malades dont la tumeur régresse ou n'évolue pas sous traitement, preuve de l'efficacité du traitement antitumoral.

Le tableau 19 regroupe les taux de réponse objective selon le type de traitement reçu. Les patients traités par immunothérapie adaptée au test FMI présentaient le taux de RO le plus important qui est de 38,5%. Sur 13 patients sous immunothérapie, 1 patient est en réponse complète et 4 en réponse partielle, et 5 autres présentent une stabilité tumorale. Les patients du bras A sous thérapie anti angiogénique (n=50) ou immunothérapie (n=4) ont un taux de réponse objective de 30,2% ; tandis que les patients du bras B sous thérapie ciblée moléculaire (TCM) ont un taux de RO de 17,8%.

	Bras A : CT (N = 110)	Bras A : TAA ou Immuno (N = 56)	Bras A : HT (N = 3)	Bras B : TCM (N = 47)	Bras B : Immuno (N = 13)	Bras B : TCM + Immuno (N = 3)
Réponse au traitement (n=219)						
Complète	0 (0.0%)	1 (1.9%)	0 (0.0%)	1 (2.2%)	1 (7.7%)	0 (0.0%)
Partielle	10 (9.7%)	15 (28.3%)	0 (0.0%)	7 (15.6%)	4 (30.8%)	0 (0.0%)
Stable	19 (18.4%)	13 (24.5%)	0 (0.0%)	7 (15.6%)	5 (38.5%)	1 (50.0%)
Progression	74 (71.8%)	24 (45.3%)	3 (100.0%)	30 (66.7%)	3 (23.1%)	1 (50.0%)
Missing	7	3	0	2	0	1
Réponse au traitement (ci) (n=219)						
Réponse objective	10 (9.7%)	16 (30.2%)	0 (0.0%)	8 (17.8%)	5 (38.5%)	0 (0.0%)
Stable	19 (18.4%)	13 (24.5%)	0 (0.0%)	7 (15.6%)	5 (38.5%)	1 (50.0%)
Progression	74 (71.8%)	24 (45.3%)	3 (100.0%)	30 (66.7%)	3 (23.1%)	1 (50.0%)
Missing	7	3	0	2	0	1

Tableau 19 : Taux de réponse objectif selon le type de traitement reçu dans le bras A et le bras B, CT = chimiothérapie, TAA = thérapie anti angiogénique, HT = hormonothérapie, TCM = thérapie ciblée moléculaire, Immuno = Immunothérapie.

Parmi les patients du bras B sous TCM, cibler la voie FGFR dans le cancer de vessie et les tumeurs hépatiques apportait les meilleurs bénéfices thérapeutiques en termes de RO (une réponse complète, 2 patients en RP et 3 patients présentant une maladie stable sur 7 sous inhibiteurs de FGFR). Néanmoins, chez les 18 patients atteints de tumeurs neurologiques, un seul patient atteint d'un astrocytome de grade III CDKN2A et CDKN2B mutées présentait une maladie stable sous inhibiteur de PARP. Les 17 autres patients ont tous progressé dans les 3 premiers mois de traitement.

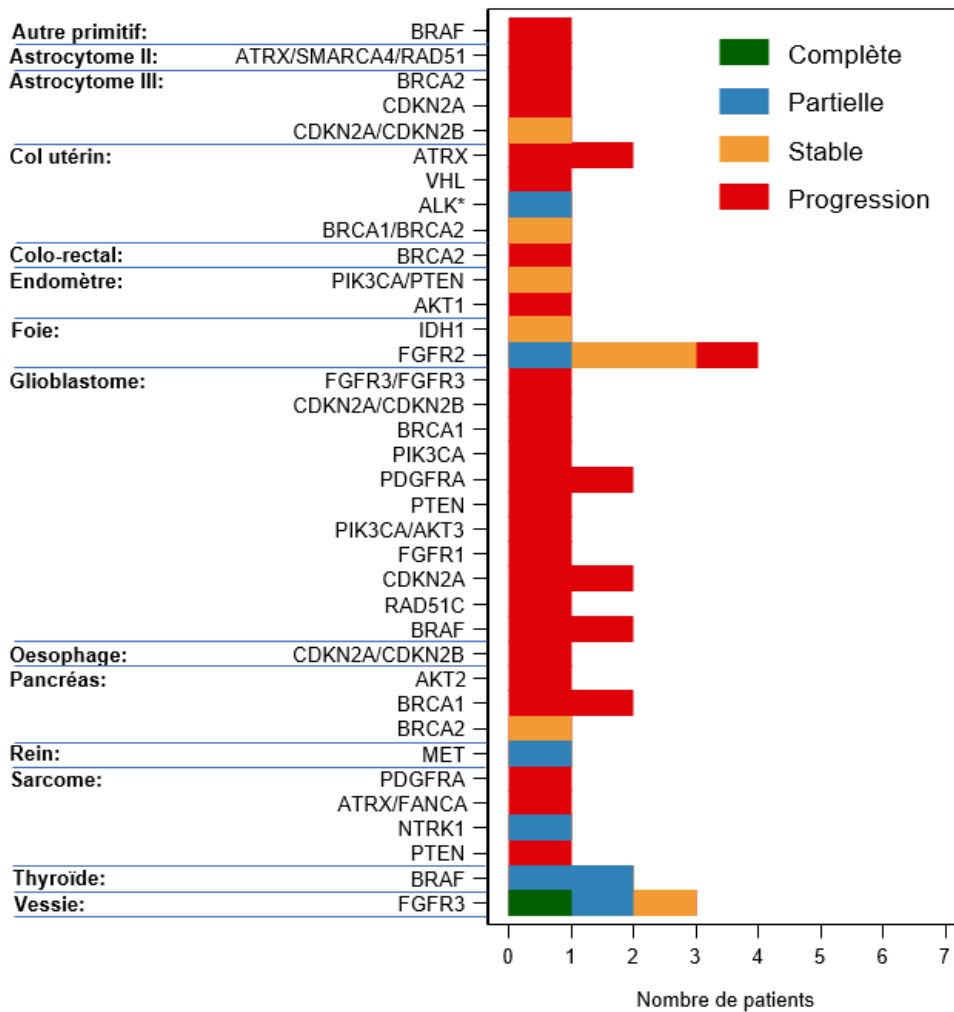


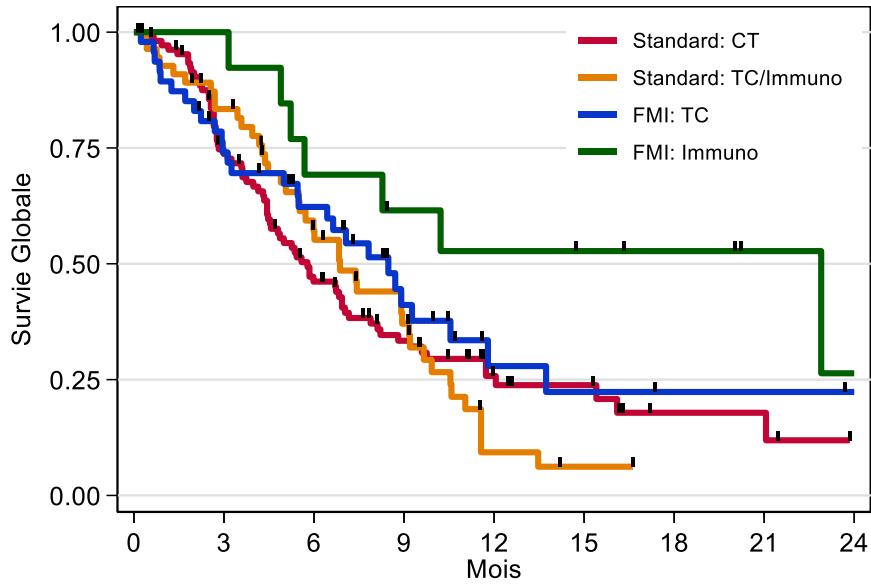
Figure 46 : Taux de réponse objectif par organe et par gène ciblé

Chez les patients du bras B traités par immunothérapie :

16 patients sont traités par immunothérapie, dont 3 par combothérapie immuno+TCM. Nous avons retiré les 3 patients pour ne nous focaliser que sur les patients immunothérapie. Le bras B immunothérapie comporte donc 13 patients, qui ne sont traités que par immunothérapie seul. Sur ces 13 patients, 1 a un score TMB à 8, les autres ont un TMB élevé (tableau 20). Du fait d'une hétérogénéité dans les traitements utilisés sur la population de 16 patients, aucune conclusion pertinente ne peut être retenue concernant l'efficacité de tel ou tel traitement. Néanmoins, en termes de la SG et de la SSP on retrouve une amélioration de celles-ci, en analyse univariée, chez les patients du bras B traités par immunothérapie par rapport aux patients du bras A sous chimiothérapie, avec un HR à 0.42 (IC95 [0.19;0.91] p=0,0852) (tableau 13) et un HR à 0,41 (IC95 [0.21;0.82] p=0,0662) (tableau 16). Bien que la différence ne soit pas statistiquement significative, les courbes des figures 47 et 48 retrouvent également cette tendance.

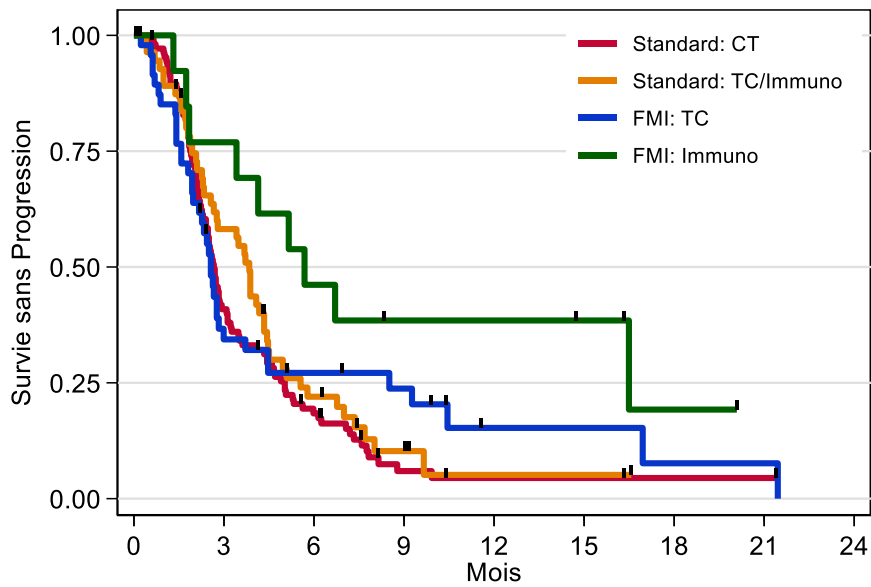
TMB	Traitement	SSP (mois)	Evènement atteint
4	Régorafenib + Nivolumab	0,39	Non
8	Rucaparib + Atzeolizumab	7,69	Non
8	Durvalumab	5,68	Oui
10	Tremelimumab + Durvalumab	14,72	Non
11	Rucaparib Atezolizumab	0,69	Oui
11	Nivolumab + Ipilimumab	20,04	Non
11	Durvalumab + Tremelimumab	8,34	Non
11	Essai AGENUS	4,14	Oui
16	Nivolumab + anti CD73	6,7	Oui
21	Nivolumab+antiCD73	1,74	Oui
35	Immuno	16,33	Non
43	Nivolumab	5,16	Oui
44	Nivolumab	1,84	Oui
51	Pembrolizumab	16,49	Oui
100	Durvalumab	1,31	Oui
230	Nivolumab	3,41	Oui

Tableau 20 : Traitement par immunothérapie des patients du bras B, corrélation avec le score TMB, la PFS, et la survenue d'un évènement



Standard: CT	110	74	44	27	13	9	3	3	0
Standard: TC/Immuno	56	44	27	16	3	1	0	0	0
FMI: TC	47	33	25	12	5	4	3	3	2
FMI: Immuno	13	13	9	7	6	5	4	2	1

Figure 47: Analyse de la survie globale dans l'ensemble de la cohorte selon le traitement reçu



Standard: CT	110	42	18	4	2	2	1	1	0
Standard: TC/Immuno	56	32	11	4	1	1	0	0	0
FMI: TC	47	15	10	7	2	2	1	1	0
FMI: Immuno	13	10	6	4	4	3	1	0	0

Figure 48 : Analyse de la SSP dans l'ensemble de la cohorte selon le traitement reçu

5. Analyse en sous-groupe

a) La sous population glioblastome

Les patients atteints de glioblastome représentent près de 40% de la population traitée après le test FMI (86 patients/ 232 dont 68 dans le bras A et 18 dans le bras B). La variable glioblastome est associée en analyses univariées et multivariées à une diminution de la survie globale et de la SSP. Nous nous sommes donc intéressés à la SG, SSP des patients atteints de glioblastome dans les bras A et B.

i. Analyse de la survie

La survie globale médiane est de 5,5 mois (IC95 : 4.3; 7.4), et la SSP médiane de 2,5 mois (IC95 : 2,1 ; 2,8).

Il n'est pas démontré de différence statistiquement significative en survie globale entre le bras A et B chez les patients atteints de glioblastome (HR en faveur du test FMI à 0.83 [0.44;1.57] $p=0,5709$). Cependant, la SSP est significativement diminuée chez les patients traités à partir du résultat du test FMI (bras B) avec un HR à 2.35 [1.31;4.22] $p=0,031$.

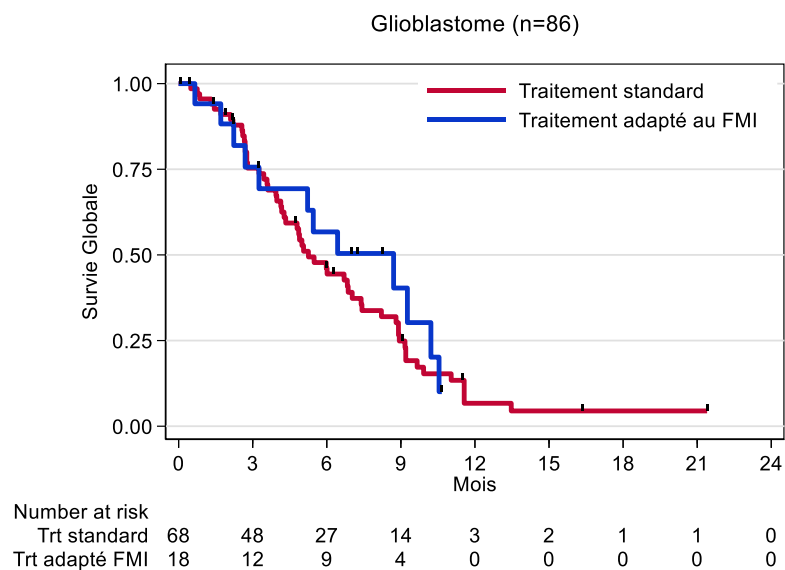


Figure 49 : Survie globale entre les bras A et B dans la population Glioblastome

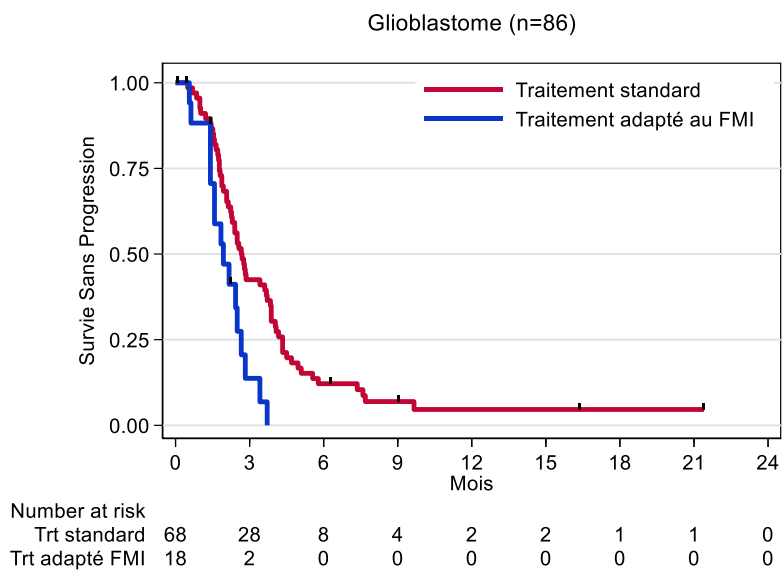


Figure 50 : Analyse de la SSP entre les bras A et B dans la population Glioblastome

b) La sous population, tous type de cancer sauf glioblastome

1. Analyse de la survie

Le nombre total de patients présentant un cancer autre que le glioblastome était de 146 dont 101 dans le bras A et 45 dans le bras B. La SG médiane était de 7,3 mois (IC95 : 5.8; 10.5) et la SSP médiane était de 3,1 mois (IC95 : 2,6 ; 4,4).

Concernant la survie globale, il n'a pas été mis en évidence de différence statistique significative entre les deux groupes de traitement (HR 0.68 [0.42;1.10] en faveur du bras FMI, (p=0,1120). La SSP est augmentée de façon significative dans le bras B (0.55 [0.35;0.84] p = 0.0051).

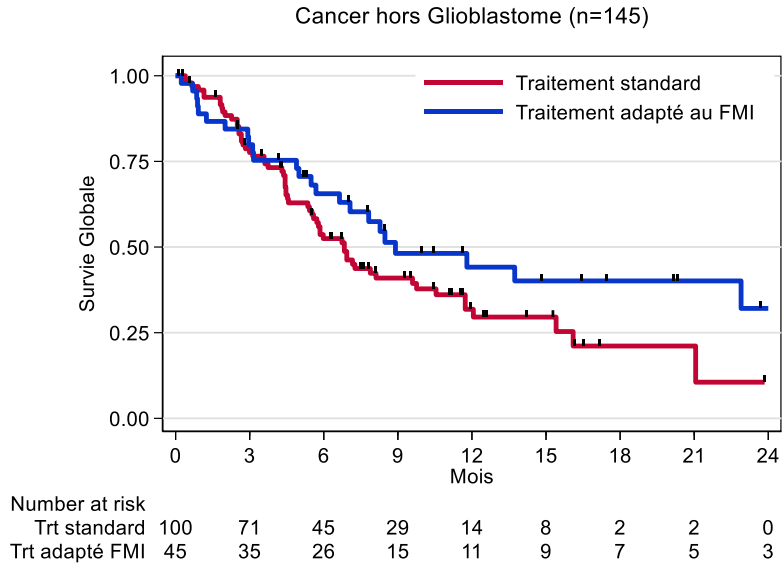


Figure 51 : SG dans les bras A et B chez les patients de notre cohorte atteints de tumeur autre que le Glioblastome

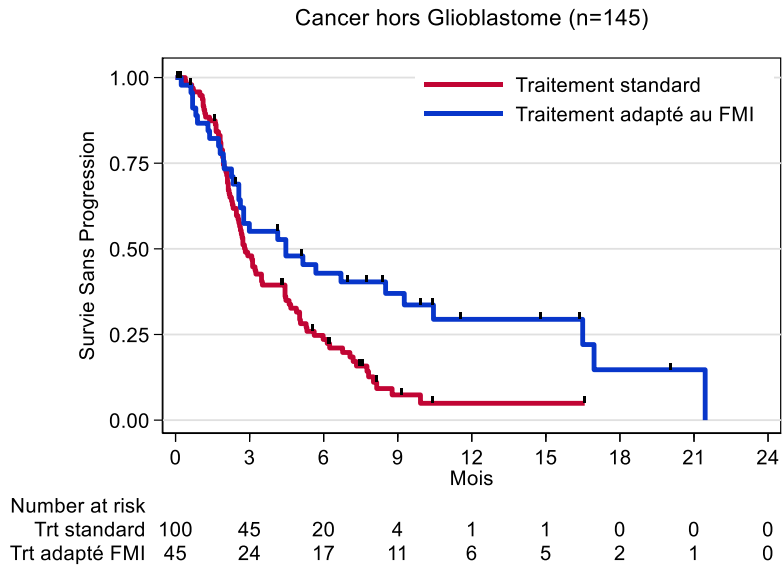


Figure 52: SSP dans les bras A et B chez les patients de notre cohorte atteints de tumeur autre que le Glioblastome

2. Analyse multivariable de la survie

Une analyse multivariable regroupait les variables groupe de traitement, âge au consentement, délai entre diagnostic et consentement, TMB élevé, nombre de site métastatique, progression sous traitement ou à la récurrence.

L'âge supérieur à 60 ans était un facteur péjoratif de SG (HR 1.65 IC95[1.01; 2.68] p= 0,044). Aucune variable n'influa de façon significative la SSP. On notait une tendance à l'amélioration de celle-ci chez les patients dont le délai entre diagnostic de cancer et signature du consentement était supérieur à 1 an (HR 0.64 IC95 [0.39; 1.07] p= 0.092), chez les patients progressant après plus de 6 mois de traitement ou récidivant à plus de 6 mois (HR 0.66 IC95 [0.41; 1.07] p= 0.090). La SSP semblait diminuer chez les patients ayant plus de 2 sites métastatiques (HR 1.45 [0.97; 2.18] p= 0.072).

	HR [95%CI]	p-value
Groupes de traitement		
Bras A	1.00	
Bras B	0.80 [0.46; 1.41]	0.449
Age au consentement du FMI (cl)		
<60	1.00	
>=60	1.65 [1.01; 2.68]	0.044
Délai entre diagnostic et consentement FMI (y)		
<=1 an	1.00	
>1 an	0.89 [0.48; 1.64]	0.705
Moment de progression/récidive		
Prog/Réc dans les 6 mois après la fin du trt	1.00	
Prog/Réc plus de 6 mois après la fin du trt	0.63 [0.36; 1.11]	0.107
Réponse tumorale	0.84 [0.46; 1.53]	0.571
TMB élevé		
Non	1.00	
Oui	0.75 [0.36; 1.55]	0.440
Nombre de site(s) métastatique(s)		
<2	1.00	
>=2	1.59 [0.99; 2.56]	0.057

Tableau 21 : Analyse multivariable de la SG dans la population tous type de cancer hors glioblastome

	HR [95%CI]	p-value
--	------------	---------

Groupes de traitement		
Bras A	1.00	
Bras B	0.61 [0.37; 1.00]	0.051
Age au consentement du FMI (c1)		
<60	1.00	
>=60	0.99 [0.66; 1.48]	0.964
Délai entre diagnostic et consentement FMI (y)		
<=1 an	1.00	
>1 an	0.64 [0.39; 1.07]	0.092
Moment de progression sous traitement traitement/récidive depuis le dernier traitement :		
Prog/Réc < 6 mois après la fin du trt	1.00	
Prog/Réc > 6 mois après la fin du trt	0.66 [0.41; 1.07]	0.090
Réponse tumorale	0.80 [0.48; 1.31]	0.365
TMB élevé		
Non	1.00	
Oui	0.70 [0.38; 1.27]	0.239
Nombre de site(s) métastatique(s)		
<2	1.00	
>=2	1.45 [0.97; 2.18]	0.072

Tableau 22 : Analyse multivariable de la SSP dans la population tous type de cancer hors glioblastome

V. Discussion

A. Description de la population de notre étude

Sur 326 patients ayant bénéficié du panel large Foundation ONE® CDX, 135 (40% de la population totale) présentaient une altération ciblable. Soixante-trois (19% de la population générale) ont reçu un traitement adapté au panel et 169 ont été traités selon les recommandations standards.

Dans notre étude, les données cliniques dans les deux groupes n'étaient statistiquement pas différentes, excepté l'âge des patients. L'âge médian était de 55 et 61 ans dans le bras A et B, 90% des patients étaient OMS 0 ou 1, et 80% présentaient moins de 2 sites métastatiques. On remarque également que pour la moitié des patients la signature du consentement était réalisée après la 1^{ère} ligne de traitement. La population de notre étude se caractérise donc par un bon état général lors de la signature du consentement.

Et pourtant la survie globale médiane de la cohorte n'est que de 6,8 mois et la SSP de 2,8 mois.

Ceci peut s'expliquer par la place prépondérante des tumeurs de pronostic péjoratif dans notre cohorte tels que les Glioblastome (37% de la cohorte), les sarcomes (6,9%), les néoplasies pancréatiques (3%) et hépatiques (3%). En analysant le sous-groupe « patients avec tous types de cancer sauf Glioblastome », on remarque une augmentation de la SG médiane à 7,3 mois, tandis que la SG médiane du sous-groupe « Glioblastome » n'est que de 5,5 mois. De plus, nos analyses de la SG et SSP portent sur des traitements débutés en 2^{ème} ligne ou plus tardivement. Par exemple, le Bevacizumab qui est le standard en 2^{ème} ligne de traitement des glioblastomes n'apporte que 3 mois de SSP médiane et aucun bénéfice en SG⁸⁴.

C'est la raison pour laquelle nous avons donc analysé nos résultats en sous-groupe glioblastome et tous type de cancer hors glioblastome. Dans le sous-groupe tous type de cancer sauf glioblastome, on retrouvait une amélioration de la SSP dans le bras B (0.55 [0.35;0.84] p = 0.0051)

La population tumorale différait entre les deux bras. Tandis que l'on retrouvait plus de glioblastome dans le bras A par rapport au bras B (68 dans le bras A contre 18 dans le bras B soit 40 vs 28%), les tumeurs du col utérin étaient plus fréquentes dans le bras B par rapport au bras A (3 dans le bras A contre 7 dans le bras B soit 1,8 vs 11%). Cela est la conséquence de la méthodologie de notre étude qui est rétrospective et non randomisée.

B. Description de la population incluse dans les études évaluant l'impact du test NGS dans la pratique clinique

Les essais cliniques évaluant l'intérêt d'un test NGS dans la prise en charge sont très hétérogènes dans leur sélection de population, le panel NGS choisi, leurs objectifs principaux et secondaires. Dans l'ensemble des essais que nous avons étudiés, le pourcentage de patients traités à partir des résultats du NGS varie entre 5 à 50%.

Dans l'étude PROFILER⁷², sur les 2579 patients bénéficiant d'un screening moléculaire large (69 gènes), 40% présentaient une altération moléculaire ciblable, 27% des patients se sont vus proposer un traitement par thérapie ciblée mais finalement seuls 6% des patients ont été traités par thérapie adaptée à leur profil. Près de 90% patients étaient OMS 0 ou 1, l'âge médian était de 55 ans. Concernant la population tumorale, les sites tumoraux les plus représentés étaient la tumeur colorectale (14,6%), le cancer du sein (14%) et les tumeurs gynécologiques (11,6%).

Dans l'étude I-PREDICT⁸⁵, sur 149 patients inclus, 73 présentaient une mutation ciblable avec le panel Foundation One CDX[®], et ont reçu un traitement adapté au résultat du NGS, soit 49% des patients. Leur âge médian était de 62 ans, et les tumeurs les plus représentées étaient les tumeurs digestives (42%), gynécologique (16,9%) et mammaire (14,5%).

Dans l'étude rétrospective non randomisée IMPACT 1⁷⁶, 3487 patients étaient inclus, 1307 (37.5%) présentaient au moins 1 altération moléculaire ciblable. 182 gènes étaient analysés par NGS. Sur les 1307 patients, 711 ont reçu une thérapie adaptée à leur mutation soit 20% de la population. 90% des patients étaient OMS 0 ou 1, avec un âge médian de 60 ans, et 66% des patients inclus présentaient moins de 2 sites métastatiques.

Dans l'étude MOSCATO 01⁷⁴, sur les 843 patients, 411 (49%) présentaient au moins une mutation ciblable, 199 (24%) ont été traités par thérapie ciblée. L'âge médian des patients inclus dans cette étude était de 57 ans, 90% étaient OMS 0 ou 1, avec un score RMH médian de 1, et 95% des patients étaient métastatiques. Les sites tumoraux principalement retrouvés étaient les tumeurs d'origine digestive (21%), pulmonaire (18%), urologique (16%).

C. Analyse des résultats de survie dans notre étude

Notre étude montre que la réalisation d'un traitement adapté aux mutations sur un panel moléculaire large apportait un bénéfice significatif en survie globale médiane de 2,8 mois (SG médiane de 6 mois dans le bras A, et 8,7 mois dans le bras B, HR 0.67 [IC95% : 0.46;0.97] p=0,036), bénéfice qui semble perdurer puisqu'à un an de suivi, 35% des patients du bras B sont en vie contre 20% du bras A.

Plusieurs facteurs semblaient influencer la SG dans notre cohorte à savoir :

- En analyse univariée, le diagnostic de glioblastome et une histologie en faveur d'une tumeur du système nerveux central étaient des facteurs délétères sur la survie globale, tandis qu'un délai supérieur à 1 an entre le diagnostic de cancer et la signature du consentement est un facteur positif en survie globale.

Le diagnostic de glioblastome et l'histologie en faveur d'une origine neurologique sont des critères quasi similaires car dans notre cohorte 86% des tumeurs neurologiques étaient des glioblastomes (86/103).

Concernant le délai entre le diagnostic de cancer et signature du consentement supérieur à 1 an, nous pensons que les patients atteints de glioblastome induisaient un biais dans cette variable car ces patients ont majoritairement signé leur consentement entre la consultation d'annonce et la fin du protocole STUPP. Néanmoins, celle-ci semble indépendante de la présence de glioblastome puisqu'elle tend à être significative en analyse multivariée sur la SSP dans le sous-groupe tous types de cancer excepté glioblastome. Enfin, d'autres études préconisaient de ne pas réaliser un test NGS chez les patients atteints de cancer progressant rapidement⁸⁶.

- En analyse multivariée, le diagnostic de glioblastome, un âge supérieur à 60 ans au consentement et la présence de plus de 2 sites métastatiques étaient également des facteurs délétères sur la survie globale.

Les résultats en analyse multivariée nous confortent sur l'impact préjudiciable du glioblastome pour la réalisation d'un test NGS. La variable > 2 sites métastatiques est intéressante puisque seulement moins de 10% de la population étudiée présentait plus de 2 sites métastatiques, elle a donc un fort impact sur la SG.

On ne remarque pas de différence de la SSP médiane qui est de 2,8 mois dans chaque bras avec un $p=0,0558$ (HR 0.72 en faveur du bras B, IC95 [0.52;1.01]). Néanmoins, à 12 mois de suivi, seuls 5% des patients du bras A sont sous traitement contre 20% du bras B.

Les facteurs influençant la SSP sont :

- En analyse univariée, on retrouve les variables Glioblastome et une histologie en faveur d'une tumeur du système nerveux central qui sont à nouveau des facteurs délétères. On retrouve la variable signature du consentement à plus de 1 an après le diagnostic de cancer comme un facteur prédictif de SSP augmenté, ainsi que les tumeurs ayant un score TMB élevé. Les patients ayant reçu un traitement entre la signature du consentement et le résultat du test présentaient une SSP diminuée.

Cette dernière variable nous informe sur la vitesse de progression du cancer. Les patients n'ayant pas eu de traitement d'attente ont été évalués comme porteurs de maladie de progression lente ou sans atteinte du pronostic vital dans l'immédiat.

- En analyse multivariée, on retrouve également la variable glioblastome comme facteur délétère de la SSP, tandis que les patients progressant après plus de 6 mois de traitement ou récidivant à plus de 6 mois présentaient une SSP augmentée.

Le temps de progression ou de récurrence depuis dernier traitement est intéressant à analyser. Les patients chimiosensibles ont une maladie contrôlée, consomment plus longuement les lignes de traitement. Le temps nécessaire entre la signature du consentement et la réception des résultats n'est pas handicapant dans leur prise en charge.

Néanmoins, les résultats d'analyses univariées sont à évaluer avec précaution. Notre étude comporte des biais liés :

- A chaque prescripteur de test FMI et à la pathologie cancéreuse. Certains patients ont signé le consentement en vue d'inclusion dans un essai clinique. Ces patients avaient un délai supérieur à 1 an entre le diagnostic de la maladie et la signature avec un état général conservé permettant la proposition d'essais cliniques. Tandis qu'une majeure partie des patients atteints de glioblastome signaient le consentement lors de la consultation d'annonce ou suivant le protocole STUPP, donc dans leur première année de diagnostic. Ainsi, dans notre étude 20% étaient naïfs de traitement médical lors de la signature, et seulement 20% ont signé le consentement après avoir reçu plus de 2 lignes de traitement. Dans l'essai MOSCATO 01, la médiane de ligne de traitement reçue était de 4 avant test NGS.

L'ensemble des analyses multivariées nous permettent de définir des caractéristiques de patient bénéficiant du test FMI : des patients de moins de 60 ans, n'ayant pas de glioblastome, avec une maladie peu métastatique et chimiosensible.

D. Analyse de la survie dans la littérature

Deux méta-analyses retrouvaient un gain en SG dans la population ayant reçu un traitement adapté au NGS^{87 88}.

Les méta-analyses comparaient la SG, SSP et taux de réponse objective des patients traités par thérapies adaptées au NGS par rapport aux patients non traités par NGS dans le cadre d'essais de phase II. Les données de 32000 patients inclus dans 570 essais de phase II entre 2010 et 2012 ont été analysées. On retrouve une amélioration de la SG (13,7 vs 8,9, $p < 0,001$), SSP (5,9 vs 2,7 $p < 0,001$) et taux de réponse (31% vs 10% $p < 0,001$)⁸⁹.

D'autres essais tels que l'étude MD Anderson retrouvent également un gain en SG. La SG médiane du groupe traitement adapté au NGS était de 11,4 mois contre 8,6 mois pour le groupe traitement non adapté au NGS.⁸⁹

Quelques essais se sont également intéressés aux caractéristiques cliniques, biologiques et carcinologiques des patients sous thérapie adapté au NGS.

L'essai WINTHER comparait l'utilisation d'un séquençage d'ADN au séquençage d'ARN dans la détection d'altérations ciblables et l'utilisation de thérapies ciblées adaptées. Tous les patients bénéficiaient d'un NGS. Les patients avec un test négatif bénéficiaient d'un séquençage d'ARN. Leur analyse multivariée concluait que des patients OMS 0 ou 1, précédemment traités par peu de ligne de traitement et avec un score de « matched therapy » élevé avaient une meilleure SSP. Le score de matched therapy était calculé selon le nombre de mutation ciblable sur le nombre de mutations retrouvées au NGS.

Dans l'essai MAST, l'analyse multivariable concluait que les patients OMS 0/1, ou avec un RMH score inférieur à 2, ainsi qu'un taux de lymphocytes dans les normes avaient une PFS sous thérapie ciblée augmentée.

L'étude du MD Anderson retrouvait comme variable influençant la SG, l'absence de métastase hépatique, une albumine supérieure à 35g/L, un taux de LDH inférieur à 618 UI/L, un taux de plaquettes dans les normes ainsi qu'une pathologie tumorale métastatique sur moins de 3 organes différents.

Notre étude retrouve donc des résultats similaires aux études publiées sur l'utilisation de NGS en pratique clinique en termes de pourcentage de la population présentant une altération ciblable (40% dans notre étude), pourcentage de patients traités selon le résultat du FMI (20%), intérêt en termes de SG (gain de 3 mois, bien que notre étude soit rétrospective et non randomisée). Les résultats des analyses uni et multivariées semblent propres à chaque étude du fait de populations tumorales hétérogènes et du recueil de données qui diffèrent d'une étude à une autre.

E. Taux de réponse objective, PFS et SG par types de traitement.

Le test FMI permet de retrouver des biomarqueurs prédictifs d'efficacité des thérapies ciblées ou de l'immunothérapie.

La population du bras B, a été traitée par thérapie ciblée ou immunothérapie. En termes de réponse objective le sous-groupe immunothérapie, adapté donc à un TMB élevé, présente le meilleur taux, près de 38,5% contre 17,8% pour les TCM. Les TCM n'ont apporté aucun bénéfice chez 60% du sous-groupe de patients du bras B traité par TCM, induisant donc un effondrement de la PFS du bras B. Les patients traités par une TCM inefficace étaient majoritairement atteints de tumeurs du SNC ou du tube digestif haut. Les patients atteints de tumeur vésicale, thyroïdienne ou hépatique présentaient des résultats encourageant sous thérapie ciblée (FGFR, BRAF, IDH1 mutés).

Les patients sous immunothérapie du bras B présentaient une amélioration de la SG et SSP, HR à 0.42 (IC95 [0.19;0.91] p=0,0852) et un HR à 0,41 (IC95 [0.21;0.82] p=0,0662), par rapport aux patients sous

chimiothérapie du bras A. Outre le meilleur taux de RO, cette sous-population obtient les durées de réponses les plus importantes (Figure 47 et 48). Néanmoins, du fait d'une population trop faible, les résultats ne sont pas statistiquement significatifs.

Le TMB apparaît comme étant un biomarqueur solide prédictif d'efficacité de l'immunothérapie tandis que l'utilisation de TCM adaptée au résultat du test NGS ne retrouve pas que des biomarqueurs efficaces de thérapie ciblées, notamment dans les tumeurs du système nerveux central et tumeurs de tube digestif haut.

Dans la littérature, les études évaluant le score TMB comme marqueur prédictif de l'efficacité de l'immunothérapie diffèrent. L'essai de phase II Keynote 158⁹⁰ évaluait l'intérêt du Pembrolizumab selon la charge mutationnelle chez des patients atteints de néoplasies rares (cholangiocarcinome, carcinome épidermoïde du canal anal, de l'endomètre, de la vulve, tumeur neuroendocrine digestive et pulmonaire, carcinome folliculaire ou papillaire de la thyroïde). 1066 patients ont été inclus. L'analyse de la charge mutationnelle a été réalisée chez 790 patients, par le test Foundation One CDX. Sur les 790 patients, 102 (13%) ont eu un score TMB > 10 mutations/mb. Sur les 102 patients, 30 ont eu une réponse objective sous Pembrolizumab (soit 29%) contre 46 patients sur 688 (soit 6%) qui présentaient un TMB < 10. Sur les 30 patients, 57% étaient toujours sous Pembrolizumab à 1 an de traitement. A la suite de ces résultats, la FDA a approuvé la prescription de Pembrolizumab chez les patients avec TMB > 10/mb, métastatique, en absence d'autre alternative thérapeutique⁹¹.

D. Limites de notre étude

Notre étude comporte plusieurs limites.

En premier lieu la prépondérance de patients atteints de glioblastome induit un biais de sélection dans notre étude. Sur les 15 thérapies utilisées chez ces patients, aucune n'a démontré de réponse partielle ou complète. Les hypothèses sont multiples.

Le glioblastome est peut-être une tumeur peu sensible aux thérapies ciblées car elles traversent difficilement la barrière hémato-méningée, principalement les anticorps du fait de leur grand poids moléculaire⁹². Une autre hypothèse serait le modèle de carcinogénèse des glioblastomes qui sont souvent des maladies récidivantes avec un profil mutationnel différent à chaque récurrence qui est parfois encouragé par l'utilisation du TEMOZOLAMIDE⁸⁷.

Une autre limite est le peu de patients traités selon le résultat du FMI, notamment traités par immunothérapie. Avec 63 patients, la puissance statistique est faible et ne permet pas de valider des résultats qui tendent à être statistiquement significatifs en analyse multivariée telle que l'augmentation de la PFS des patients du bras B traités ayant un TMB élevé.

Le caractère rétrospectif de notre étude est également une limite dans la mesure où nous n'avons pas pu collecter l'ensemble des données biologiques que nous voulions. Aucune variable biologique n'est ressortie dans notre étude, et le score RMH n'a pas pu être utilisé.

Le caractère non randomisé de notre étude est également une limite dans la mesure où nous ne pouvons affirmer avec certitude le gain en SG en comparant deux populations différentes.

Le manque de renseignements concernant les biopsies et pièces opératoires. Nous n'avons pas collecté les données concernant la localisation du prélèvement, sur site primitif ou sur métastase. Et nous n'avons pas également relevé si le patient avait reçu un traitement entre la date de la biopsie et la signature du consentement. Du fait de l'hétérogénéité tumorale et de l'évolution dynamique des sites tumoraux sous traitement, il aurait été intéressant de comparer l'efficacité des traitements selon que la localisation du prélèvement.

L'ouverture des essais cliniques. Sur les 63 patients du bras FMI, 41 ont été inclus dans des essais cliniques permettant la prescription de traitement hors AMM. Sur les 41 patients plus de 50% étaient inclus dans les essais BASKET de phase 2 MOST, MOST PLUS et MEGAMOST. MOST évaluait le bénéfice clinique de thérapie ciblée, en traitement d'induction ou de maintenance, adaptée aux altérations moléculaires. Il a été fermé en janvier 2020. MOST et MEGA MOST ont été ouverts par la suite. Actuellement de nouveaux essais tels que TAPISTRY, les cohortes de TAPUR permettent d'inclure les patients avec anomalies moléculaires ciblables. Ainsi la prescription de thérapie adaptée au NGS est dépendant des essais ouverts lors de la réception des résultats du test.

F. Points forts de l'étude

La réalisation du test NGS avec un panel moléculaire large de plus de 300 gènes analysés est une force dans notre étude. Pour mémoire, l'étude SHIVA 01 n'analysait que les altérations dans 3 voies de signalisation. Un panel moléculaire large nous a permis d'inclure le plus de patient possible dans les essais cliniques ou en traitement ciblé hors AMM. L'une des autres forces du test Foundation One CDX® est l'analyse du score TMB de chaque patient permettant l'utilisation de l'immunothérapie.

La réalisation de l'étude dans un centre de lutte permet un accès à un grand nombre d'essais, bien que la majorité des patients aient été inclus dans les essais MOST, MOST plus, MEGAMOST et INCYTE.

Cette étude a été menée en vie réelle et retrouve donc des résultats similaires aux études de test NGS.

E. Les perspectives d'utilisation du panel moléculaire large en pratique clinique.

1. Limite technique : une meilleure interprétation du NGS

La figure analysant la SSP selon le type de traitement (Figure 48) nous apporte diverses informations.

Sur 47 patients traités par TCM, seuls 15 étaient toujours sous traitement adapté après 3 mois de traitement, supposant un mauvais ciblage des altérations moléculaires retrouvées. A partir de 9 mois de traitement, seuls 7 patients sont toujours sous traitement. La problématique des TCM repose sur l'identification de mutations certes ciblables mais surtout drivers. Les notions d'hétérogénéité tumorale et d'acquisition de mécanisme de résistance impactent l'efficacité sur le long terme des TCM.

2. L'identification de biomarqueurs robustes

L'identification de biomarqueur robuste nécessite des analyses in vitro, in vivo puis validée dans le cadre d'essais cliniques. L'échelle européenne ESCAT permet de classifier les différentes altérations moléculaires en biomarqueur selon les études réalisées (Annexe 3).

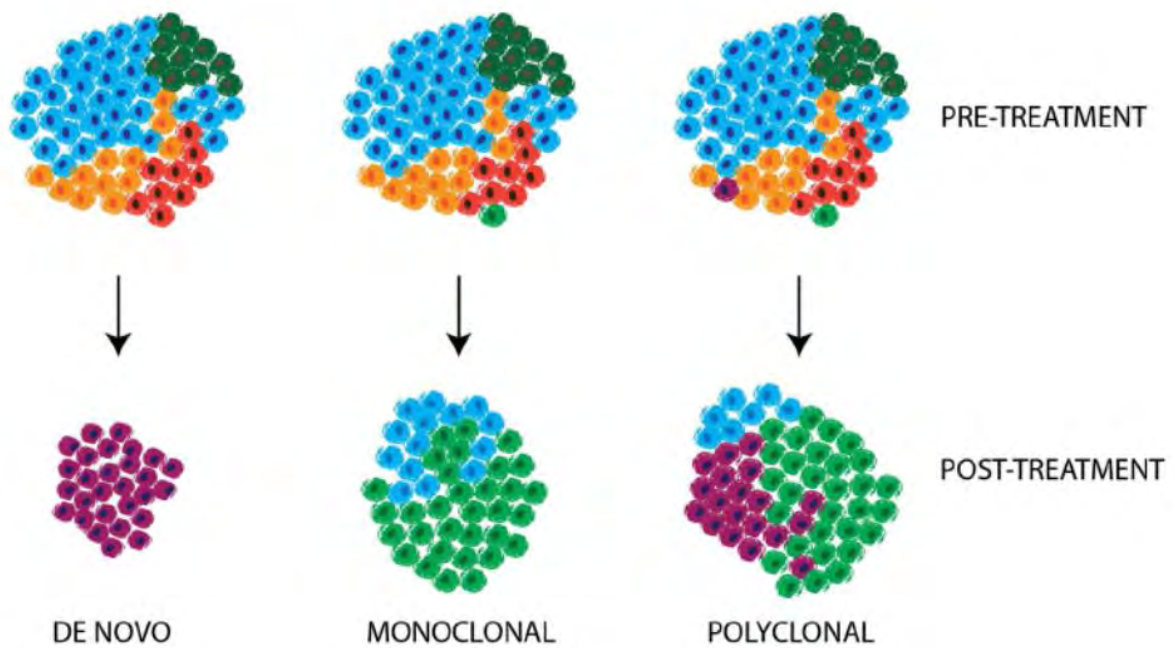
Certaines bases de données tels que COSMIC, OncoKb offrent également des informations sur la pathogénicité des altérations moléculaires selon le type tumoral ainsi que les études réalisées (Annexe 4).

Actuellement des algorithmes d'intelligence artificielle (logiciel LOTUS ou le test 20+/20) sont testés pour mieux comprendre la cartographie des mutations et identifier les drivers oncogéniques de chaque cancer⁹³.

3. L'hétérogénéité tumorale

Au sein d'une même tumeur se développent des sous populations dont les mutations diffèrent. Chaque cellule subit des mutations qui, lorsqu'elles engendrent un avantage sélectif, conduisent au développement d'une sous population tumorale. Cette hétérogénéité s'observe au sein d'une même tumeur mais également entre sites métastatiques^{94,95}.

Ainsi, une thérapie ne ciblant qu'un mécanisme oncogénique précis ne peut être pérenne dans le temps du fait de l'apparition d'une résistance à cette thérapie soit par l'apparition de mutation de novo ou bien de l'émergence d'un sous clone présentant déjà une mutation de résistance. Une étude analysant les altérations moléculaires entre le site primitif et les lésions secondaires de carcinome rénal à cellules claires retrouvait une concordance de 69% entre les différents sites. Il existe donc une hétérogénéité intra et inter tumorale⁹⁶.



Burrell RA, Swanton C. Tumour heterogeneity and the evolution of polyclonal drug resistance. *Mol Oncol.* 2014

Figure 53 : Emergence des mécanismes de résistance aux thérapies ciblées

Néanmoins, le suivi des altérations moléculaires par NGS à chaque progression offre une meilleure compréhension de la dynamique mutationnelle tumorale, permettant le développement de thérapies ciblant à la fois la mutation princeps et la mutation de résistance tel que l’Osimertinib chez les patients EGFR muté atteints d’un CBNPC⁹⁷.

F. Intérêt du panel moléculaire large dans le micro-environnement cellulaire.

La réalisation d’un panel large nous offre l’opportunité d’apporter des précisions sur les mutations ayant un impact dans le micro-environnement tumoral. Certaines mutations sont prédictives de l’efficacité de l’immunothérapie. Dans les CBNPC KRAS muté, la présence de la mutation STK11/LKB1 est prédictive de mauvaise réponse aux inhibiteurs de PDL 1⁹⁸. D’autres voies de signalisation sont impliquées dans le processus de micro-environnement.

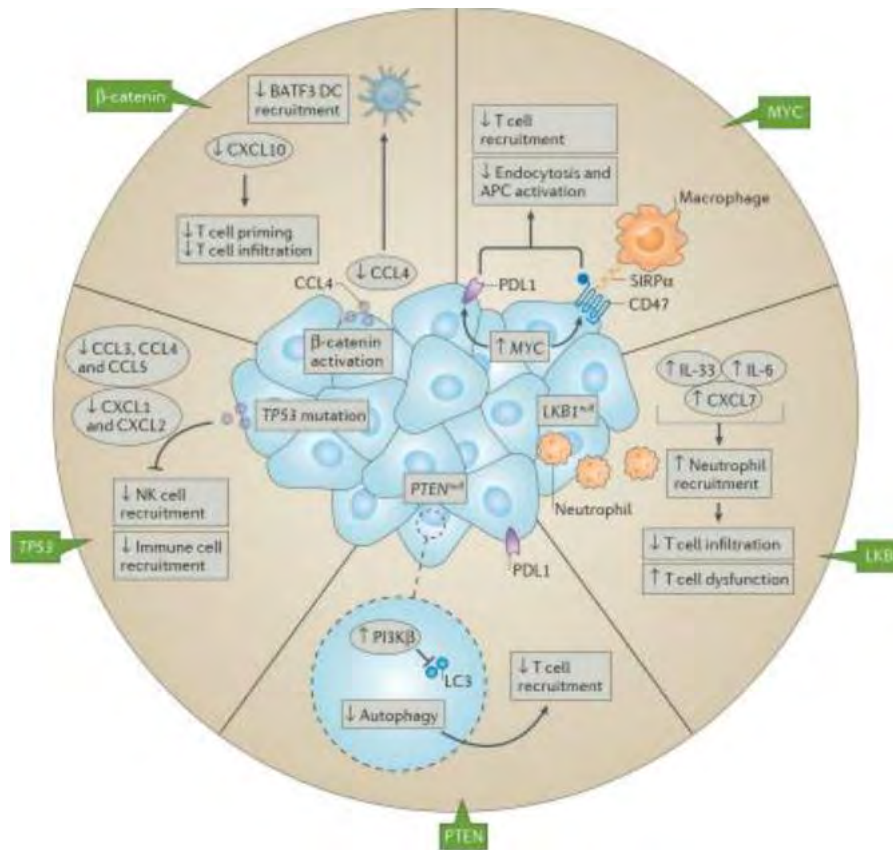


Figure 54: Exemples de protéines impliquées dans les voies d'oncogenèse et dans la régulation du micro-environnement inflammatoire

L'utilisation de l'immunothérapie repose sur la costimulation des lymphocytes T majorant leur activité anti-tumorale. L'expression de ces récepteurs est dépendante des voies de signalisation intra cellulaire tels que la voie PI3K/Akt/mTOR. Cette voie a également un autre impact dans le micro-environnement inflammatoire, à travers le mécanisme d'autophagie.

Selon les travaux de Yamamoto et al, l'autophagie participe à l'environnement immunosuppresseur de la tumeur. En effet, les cellules d'adénocarcinome du pancréas présentent peu de molécules du CMH à la membrane cellulaire donc peu d'antigènes. En phagocytant les complexes CMH, l'autophagie diminue la présentation d'antigène à la surface des cellules cancéreuses et participe à un terrain immunogène froid des cellules d'adénocarcinome du pancréas⁹⁹. La voie PI3K/Akt/mTOR est impliqué dans la régulation de l'autophagie. Dans le cadre d'études in vitro sur cellules de mélanomes, la perte de PTEN est corrélée à une diminution e l'infiltration des lymphocytes T dans le stroma, tandis que l'inhibition de la PI3K bêta par thérapie ciblée améliore l'efficacité de l'immunothérapie dans le cadre d'études in vivo sur souris atteintes de mélanome¹⁰⁰.

VI. Conclusion


Les techniques de séquençage de l'ADN ont contribué à l'amélioration de la compréhension et à la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cancer. En ciblant les mutations qui leur sont propres, le séquençage a permis le développement de nouvelles thérapies ainsi que de nouvelles approches en essai clinique, contribuant à une médecine oncologique personnalisée.

Notre étude rétrospective uni-centrique non randomisée à l'IUCT-Oncopole retrouve une amélioration de la survie globale chez les patients ayant reçu une thérapie adaptée au résultat du séquençage de l'ADN tumoral. Nous avons pu également sélectionner des critères cliniques et carcinologiques de patients ayant majoritairement bénéficié d'un séquençage de l'ADN. Enfin, l'utilisation de biomarqueur robuste est une véritable nécessité pour la prescription des traitements adaptés.

La réalisation du test FMI apparaît utile à peu de patients, néanmoins cela peut transformer leur pronostic, notamment chez les patients à forte charge tumorale.

Outre, le ciblage des mutations impliquées dans la cancérogénèse et l'utilisation de l'immunothérapie, le test NGS large peut être utilisé à d'autres fins. Certaines mutations sont étudiées comme facteurs prédictifs de réponse à l'immunothérapie tandis que d'autres mutations, une fois ciblées peuvent améliorer l'efficacité de l'immunothérapie.

Actuellement, la réalisation d'un NGS apporte donc des informations sur les mécanismes oncogéniques et sur les biomarqueurs prédictifs de réponse à l'immunothérapie. La constante amélioration de cette technique que ce soit en rapidité de réalisation, en amélioration de la sensibilité et à travers les nouveaux horizons de recherche va donc occuper une place de plus en plus prépondérante dans la médecine personnalisée de demain, notamment à travers l'étude de l'impact des mécanismes oncogéniques sur le micro-environnement tumoral.

Vu permis d'imprimer
Le Doyen de la Faculté
De Médecine Rangueil

E. SERRANO
22.10.2021



Bibliographie

1. DeVita, V. T. & Chu, E. A History of Cancer Chemotherapy. *Cancer Res.* **68**, 8643–8653 (2008).
2. The poisonous history of chemotherapy. <https://www.nature.com/articles/d41586-020-02605-w>.
3. Raymond, E. Les médicaments chimioprotecteurs. Mécanismes d'action et applications cliniques. *Rev. Médecine Interne* **17**, 936–944 (1996).
4. Galmarini, D., Galmarini, C. M. & Galmarini, F. C. Cancer chemotherapy: A critical analysis of its 60 years of history. *Crit. Rev. Oncol. Hematol.* **84**, 181–199 (2012).
5. Heather, J. M. & Chain, B. The sequence of sequencers: The history of sequencing DNA. *Genomics* **107**, 1–8 (2016).
6. Sanger, F., Nicklen, S. & Coulson, A. R. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **74**, 5463–5467 (1977).
7. An Introduction to Next-Generation Sequencing Technology. 16.
8. Mateo, J. *et al.* A framework to rank genomic alterations as targets for cancer precision medicine: the ESMO Scale for Clinical Actionability of molecular Targets (ESCAT). *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **29**, 1895–1902 (2018).
9. Über mehrpolige Mitosen als Mittel zur Analyse des Zellkerns (pp.67-90). by Boveri, Theodor: (1903) | Antiq. F.-D. Söhn - Medicusbooks.Com. <https://www.abebooks.com/first-edition/mehrpilige-Mitosen-Mittel-Analyse-Zellkerns-pp.67-90/14073871969/bd>.
10. Stehelin, D., Varmus, H. E., Bishop, J. M. & Vogt, P. K. DNA related to the transforming gene(s) of avian sarcoma viruses is present in normal avian DNA. *Nature* **260**, 170–173 (1976).
11. Rous, P. A SARCOMA OF THE FOWL TRANSMISSIBLE BY AN AGENT SEPARABLE FROM THE TUMOR CELLS. *J. Exp. Med.* **13**, 397–411 (1911).

12. International Human Genome Sequencing Consortium. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature* **431**, 931–945 (2004).
13. Garraway, L. A. & Lander, E. S. Lessons from the Cancer Genome. *Cell* **153**, 17–37 (2013).
14. Cours. http://campus.cerimes.fr/anatomie-pathologique/enseignement/anapath_8/site/html/1.html.
15. Watson, I. R., Takahashi, K., Futreal, P. A. & Chin, L. Emerging patterns of somatic mutations in cancer. *Nat. Rev. Genet.* **14**, 703–718 (2013).
16. Peters, J. M. & Gonzalez, F. J. The Evolution of Carcinogenesis. *Toxicol. Sci.* **165**, 272–276 (2018).
17. Torry, D. S. & Cooper, G. M. Proto-Oncogenes in Development and Cancer. *Am. J. Reprod. Immunol.* **25**, 129–132 (1991).
18. Vogelstein, B. & Kinzler, K. W. Cancer genes and the pathways they control. *Nat. Med.* **10**, 789–799 (2004).
19. Knudson, A. G. Mutation and Cancer: Statistical Study of Retinoblastoma. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **68**, 820–823 (1971).
20. Jitawatanarat, P. Handbook of Targeted Cancer Therapy and Immunotherapy. *Bang. Med. J.* **16**, 109–109 (2020).
21. Martin, G. S. Cell signaling and cancer. *CANCER CELL* **8** (2003).
22. Hanahan, D. & Weinberg, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* **144**, 646–674 (2011).
23. Lemmon, M. A. & Schlessinger, J. Cell signaling by receptor tyrosine kinases. *Cell* **141**, 1117–1134 (2010).
24. Yamaoka, T., Kusumoto, S., Ando, K., Ohba, M. & Ohmori, T. Receptor Tyrosine Kinase-Targeted Cancer Therapy. *Int. J. Mol. Sci.* **19**, 3491 (2018).

25. Robert, J. *Signalisation cellulaire et cancer: bases biologiques de la cancérologie*. (Lavoisier médecine-sciences, 2017).
26. Dhillon, A. S., Hagan, S., Rath, O. & Kolch, W. MAP kinase signalling pathways in cancer. *Oncogene* **26**, 3279–3290 (2007).
27. Roberts, P. J. & Der, C. J. Targeting the Raf-MEK-ERK mitogen-activated protein kinase cascade for the treatment of cancer. *Oncogene* **26**, 3291–3310 (2007).
28. Pons-Tostivint, E., Thibault, B. & Guillermet-Guibert, J. Targeting PI3K Signaling in Combination Cancer Therapy. *Trends Cancer* **3**, 454–469 (2017).
29. Alpelisib for PIK3CA-Mutated, Hormone Receptor–Positive Advanced Breast Cancer | NEJM. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa1813904>.
30. Furman, R. R. *et al.* Idelalisib and Rituximab in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N. Engl. J. Med.* **370**, 997–1007 (2014).
31. Hudes, G. *et al.* Temsirolimus, Interferon Alfa, or Both for Advanced Renal-Cell Carcinoma. *N. Engl. J. Med.* **356**, 2271–2281 (2007).
32. Baselga, J. *et al.* Everolimus in Postmenopausal Hormone-Receptor–Positive Advanced Breast Cancer. *N. Engl. J. Med.* **366**, 520–529 (2012).
33. Pardee, A. B. A Restriction Point for Control of Normal Animal Cell Proliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **71**, 1286–1290 (1974).
34. Cell Cycle - an overview | ScienceDirect Topics. <https://www.sciencedirect.com/topics/biochemistry-genetics-and-molecular-biology/cell-cycle>.
35. Barnum, K. J. & O’Connell, M. J. Cell Cycle Regulation by Checkpoints. *Methods Mol. Biol. Clifton NJ* **1170**, 29–40 (2014).
36. Kastan, M. B. & Bartek, J. Cell-cycle checkpoints and cancer. **432**, 8 (2004).

37. Zhou, B. B. & Elledge, S. J. The DNA damage response: putting checkpoints in perspective. *Nature* **408**, 433–439 (2000).
38. Finn, R. S. *et al.* Palbociclib and Letrozole in Advanced Breast Cancer. *N. Engl. J. Med.* **375**, 1925–1936 (2016).
39. Postreplicative Mismatch Repair. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3683899/>.
40. Ubiquitous somatic mutations in simple repeated sequences reveal a new mechanism for colonic carcinogenesis | Nature. <https://www.nature.com/articles/363558a0>.
41. Suraweera, N. *et al.* Evaluation of tumor microsatellite instability using five quasimonomorphic mononucleotide repeats and pentaplex PCR. *Gastroenterology* **123**, 1804–1811 (2002).
42. André, T. *et al.* Pembrolizumab in Microsatellite-Instability–High Advanced Colorectal Cancer. *N. Engl. J. Med.* **383**, 2207–2218 (2020).
43. Research, C. for D. E. and. FDA grants accelerated approval to pembrolizumab for first tissue/site agnostic indication. *FDA* (2019).
44. Ribic, C. M. *et al.* Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N. Engl. J. Med.* **349**, 247–257 (2003).
45. Roth, A. D. *et al.* Integrated analysis of molecular and clinical prognostic factors in stage II/III colon cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* **104**, 1635–1646 (2012).
46. Khalifa, J., Boyrie, S. & Moyal, É. Réparation des lésions de l'ADN radio-induites et radiosensibilité. *7* (2012).
47. Mirza, M. R. *et al.* Niraparib Maintenance Therapy in Platinum-Sensitive, Recurrent Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **375**, 2154–2164 (2016).
48. Vogelstein, B. & Kinzler, K. W. The multistep nature of cancer. *Trends Genet.* **9**, 138–141 (1993).
49. Solary, É. Une approche réductionniste du cancer. *médecine/sciences* **30**, 683–687 (2014).

50. Cohen, M. H., Williams, G. A., Sridhara, R., Chen, G. & Pazdur, R. FDA Drug Approval Summary: Gefitinib (ZD1839) (Iressa®) Tablets. *The Oncologist* **8**, 303–306 (2003).
51. Paez, J. G. *et al.* EGFR mutations in lung cancer: correlation with clinical response to gefitinib therapy. *Science* **304**, 1497–1500 (2004).
52. Politi, K. *et al.* Lung adenocarcinomas induced in mice by mutant EGF receptors found in human lung cancers respond to a tyrosine kinase inhibitor or to down-regulation of the receptors. *Genes Dev.* **20**, 1496–1510 (2006).
53. Sharma, S. V., Bell, D. W., Settleman, J. & Haber, D. A. Epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *Nat. Rev. Cancer* **7**, 169–181 (2007).
54. Cobleigh, M. A. *et al.* Multinational study of the efficacy and safety of humanized anti-HER2 monoclonal antibody in women who have HER2-overexpressing metastatic breast cancer that has progressed after chemotherapy for metastatic disease. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **17**, 2639–2648 (1999).
55. Druker, B. J. *et al.* Efficacy and Safety of a Specific Inhibitor of the BCR-ABL Tyrosine Kinase in Chronic Myeloid Leukemia. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM200104053441401>
<https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM200104053441401> (2009)
doi:10.1056/NEJM200104053441401.
56. Zhong, L. *et al.* Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives. *Signal Transduct. Target. Ther.* **6**, 1–48 (2021).
57. Chapman, P. B. *et al.* Improved Survival with Vemurafenib in Melanoma with BRAF V600E Mutation. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2507–2516 (2011).
58. Dummer, R. *et al.* Encorafenib plus binimetinib versus vemurafenib or encorafenib in patients with BRAF-mutant melanoma (COLUMBUS): a multicentre, open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol.* **19**, 603–615 (2018).

59. Moore, K. *et al.* Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer. *N. Engl. J. Med.* **379**, 2495–2505 (2018).
60. Zahavi, D. & Weiner, L. Monoclonal Antibodies in Cancer Therapy. *Antibodies Basel Switz.* **9**, E34 (2020).
61. Trastuzumab Deruxtecan in Previously Treated HER2-Positive Breast Cancer | NEJM. <https://www.nejm.org/doi/full/10.1056/nejmoa1914510>.
62. Bedard, P. L., Hyman, D. M., Davids, M. S. & Siu, L. L. Small molecules, big impact: 20 years of targeted therapy in oncology. *Lancet Lond. Engl.* **395**, 1078–1088 (2020).
63. O’Leary, B., Finn, R. S. & Turner, N. C. Treating cancer with selective CDK4/6 inhibitors. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **13**, 417–430 (2016).
64. Hong, D. S. *et al.* CodeBreak 100: Phase I study of AMG 510, a novel KRASG12C inhibitor, in patients (pts) with advanced solid tumors other than non-small cell lung cancer (NSCLC) and colorectal cancer (CRC). *J. Clin. Oncol.* **38**, 3511–3511 (2020).
65. Roberts, A. W. *et al.* Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *N. Engl. J. Med.* **374**, 311–322 (2016).
66. Mittica, G. *et al.* PARP Inhibitors in Ovarian Cancer. *Recent Patents Anticancer Drug Discov.* **13**, 392–410 (2018).
67. Coulie, P. G., Van den Eynde, B. J., van der Bruggen, P. & Boon, T. Tumour antigens recognized by T lymphocytes: at the core of cancer immunotherapy. *Nat. Rev. Cancer* **14**, 135–146 (2014).
68. Zappasodi, R., Merghoub, T. & Wolchok, J. D. Emerging Concepts for Immune Checkpoint Blockade-Based Combination Therapies. *Cancer Cell* **33**, 581–598 (2018).
69. Park, J. J. H. *et al.* Systematic review of basket trials, umbrella trials, and platform trials: a landscape analysis of master protocols. *Trials* **20**, 572 (2019).

70. Doebele, R. C. *et al.* Entrectinib in patients with advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase 1–2 trials. *Lancet Oncol.* **21**, 271–282 (2020).
71. Le Tourneau, C. *et al.* Molecularly targeted therapy based on tumour molecular profiling versus conventional therapy for advanced cancer (SHIVA): a multicentre, open-label, proof-of-concept, randomised, controlled phase 2 trial. *Lancet Oncol.* **16**, 1324–1334 (2015).
72. Trédan, O. *et al.* Molecular screening program to select molecular-based recommended therapies for metastatic cancer patients: analysis from the ProfILER trial. *Ann. Oncol. Off. J. Eur. Soc. Med. Oncol.* **30**, 757–765 (2019).
73. Rodon, J. *et al.* Genomic and transcriptomic profiling expands precision cancer medicine: the WINTHER trial. *Nat. Med.* **25**, 751–758 (2019).
74. Massard, C. *et al.* High-Throughput Genomics and Clinical Outcome in Hard-to-Treat Advanced Cancers: Results of the MOSCATO 01 Trial. *Cancer Discov.* **7**, 586–595 (2017).
75. Hoes, L. R. *et al.* 594P The Drug Rediscovery Protocol (DRUP): Results of the first 500 treated patients. *Ann. Oncol.* **31**, S498 (2020).
76. Tsimberidou, A.-M. *et al.* Long-term overall survival and prognostic score predicting survival: the IMPACT study in precision medicine. *J. Hematol. Oncol. J Hematol Oncol* **12**, 145 (2019).
77. Gambardella, V. *et al.* Molecular profiling of advanced solid tumours. The impact of experimental molecular-matched therapies on cancer patient outcomes in early-phase trials: the MAST study. *Br. J. Cancer* 1–9 (2021) doi:10.1038/s41416-021-01502-x.
78. Hainsworth, J. D. *et al.* Targeted Therapy for Advanced Solid Tumors on the Basis of Molecular Profiles: Results From MyPathway, an Open-Label, Phase IIa Multiple Basket Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **36**, 536–542 (2018).

79. Zimmer, K. *et al.* Treatment According to Molecular Profiling in Relapsed/Refractory Cancer Patients: A Review Focusing on Latest Profiling Studies. *Comput. Struct. Biotechnol. J.* **17**, 447–453 (2019).
80. Yasuda, H., Kobayashi, S. & Costa, D. B. EGFR exon 20 insertion mutations in non-small-cell lung cancer: preclinical data and clinical implications. *Lancet Oncol.* **13**, e23-31 (2012).
81. Weller, M. *et al.* EANO guidelines on the diagnosis and treatment of diffuse gliomas of adulthood. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* **18**, 170–186 (2021).
82. Lu, V. M. *et al.* The prognostic significance of CDKN2A homozygous deletion in IDH-mutant lower-grade glioma and glioblastoma: a systematic review of the contemporary literature. *J. Neurooncol.* **148**, 221–229 (2020).
83. Thomas, R. K. *et al.* High-throughput oncogene mutation profiling in human cancer. *Nat. Genet.* **39**, 347–351 (2007).
84. Gilbert, M. R. *et al.* A Randomized Trial of Bevacizumab for Newly Diagnosed Glioblastoma. *N. Engl. J. Med.* **370**, 699–708 (2014).
85. Sicklick, J. K. *et al.* Molecular profiling of cancer patients enables personalized combination therapy: the I-PREDICT study. *Nat. Med.* **25**, 744–750 (2019).
86. Colomer, R. *et al.* When should we order a next generation sequencing test in a patient with cancer? *EClinicalMedicine* **25**, 100487 (2020).
87. Schwaederle, M. *et al.* Impact of Precision Medicine in Diverse Cancers: A Meta-Analysis of Phase II Clinical Trials. *J. Clin. Oncol.* **33**, 3817–3825 (2015).
88. Schwaederle, M. *et al.* Association of Biomarker-Based Treatment Strategies With Response Rates and Progression-Free Survival in Refractory Malignant Neoplasms: A Meta-analysis. *JAMA Oncol.* **2**, 1452–1459 (2016).

89. Tsimberidou, A.-M. *et al.* Personalized medicine for patients with advanced cancer in the phase I program at MD Anderson: validation and landmark analyses. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **20**, 4827–4836 (2014).
90. Marabelle, A. *et al.* Efficacy of Pembrolizumab in Patients With Noncolorectal High Microsatellite Instability/Mismatch Repair-Deficient Cancer: Results From the Phase II KEYNOTE-158 Study. *J. Clin. Oncol. Off. J. Am. Soc. Clin. Oncol.* **38**, 1–10 (2020).
91. Marcus, L. *et al.* FDA Approval Summary: Pembrolizumab for the Treatment of Tumor Mutational Burden-High Solid Tumors. *Clin. Cancer Res. Off. J. Am. Assoc. Cancer Res.* **27**, 4685–4689 (2021).
92. Lafaye, P., Lesuisse, D. & Declèves, X. Améliorer le ciblage tissulaire des anticorps thérapeutiques par de nouveaux formats: L'exemple de la barrière hémato-encéphalique. *médecine/sciences* **35**, 1106–1112 (2019).
93. Collier, O., Stoven, V. & Vert, J.-P. LOTUS: A single- and multitask machine learning algorithm for the prediction of cancer driver genes. *PLOS Comput. Biol.* **15**, e1007381 (2019).
94. Gambardella, V. *et al.* Personalized Medicine: Recent Progress in Cancer Therapy. *Cancers* **12**, 1009 (2020).
95. Tumour heterogeneity and the evolution of polyclonal drug resistance Rebecca A. Burrella,b, *, Charles Swanton - Recherche Google.
https://www.google.com/search?q=Tumour+heterogeneity+and+the+evolution+of+polyclonal+drug+resistance+Rebecca+A.+Burrella%2Cb%2C+*%2C+Charles+Swanton&rlz=1C1CHBF_frFR920FR920&oq=Tumour+heterogeneity+and+the+evolution+of+polyclonal+drug+resistance+Rebecca+A.+Burrella%2Cb%2C+*%2C+Charles+Swanton&aqs=chrome..69i57.1717828j0j7&sourceid=chrome&ie=UTF-8 (2021).
96. Gerlinger, M. *et al.* Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregion sequencing. *N. Engl. J. Med.* **366**, 883–892 (2012).

97. Ramalingam, S. S. *et al.* Overall Survival with Osimertinib in Untreated, EGFR-Mutated Advanced NSCLC. *N. Engl. J. Med.* **382**, 41–50 (2020).
98. Skoulidis, F. *et al.* STK11/LKB1 Mutations and PD-1 Inhibitor Resistance in KRAS-Mutant Lung Adenocarcinoma. *Cancer Discov.* **8**, 822–835 (2018).
99. Yamamoto, K. *et al.* Autophagy promotes immune evasion of pancreatic cancer by degrading MHC-I. *Nature* **581**, 100–105 (2020).
100. Peng, W. *et al.* Loss of PTEN Promotes Resistance to T Cell-Mediated Immunotherapy. *Cancer Discov.* **6**, 202–216 (2016).

Annexe 1 : Compte-rendu d'un résultat FMI



Report Date Subject ID FMI Sample ID
 21 Feb 2020 05013-0835 ORD-0751069-01

Clinical Trial Information / Patient Information	Sample Information
Partner Name: Roche	Accession Number:
Partner Study ID:	Diagnosis: Colon Adenocarcinoma Grade IV
FMI Study ID:	Received Date:
Site:	Vial Type: Not Provided
Patient Sex:	Date Collected:
Patient Date of Birth:	Sample Type: Slide Deck

For Microsatellite Instability (MSI) Results, confirmatory testing using a validated orthogonal method should be performed.

Enrollment Eligible Alterations

GENE	ALTERATION
No Eligible Variants Detected	

Genomic Alterations Identified

GENE	ALTERATION
APC	Q1338*
APC	R232*
KRAS	G12D
PIK3CA	E542K
SOX9	Y428fs*1

Variants of Unknown Significance Identified

GENE	ALTERATION
BRCA1	Y105C
CREBBP	D1581Y
EP300	N2209_Q2213>K
FLT1	V960I
IRS2	A701_V702insA
PARP2	Q384P
PPP2R1A	E50K
RNF43	amplification
ZNF703	V113fs*29

Advanced Genomic Analysis

Biomarker	Status/Score
TMB	5.04
MSI	MSI-Stable

Electronically signed by Shakti Ramkissoon, Associate Medical Director | 21 February 2020 | Foundation Medicine, Inc.
 1.888.988.3639
 Julia Elin, M.D., Ph.D., Laboratory Director, CLIA: 2202027531

Sample Preparation: 150 Second St., Cambridge, MA 02141-CLIA: 2202027531
 Sample Analysis: 150 Second St., Cambridge, MA 02141-CLIA: 2202027531
 Post-Sequencing Analysis: 150 Second St., Cambridge, MA 02141-CLIA: 2202027531

Annexe 2 : Types de mutations par gène

	Overall (n=323)	
	Occ	Pts
OVERALL	1995	323 (100%)
TP53	189 (9.5%)	162 (50.2%)
Codon stop	30 (1.5%)	29 (9.0%)
Frameshift	18 (0.9%)	18 (5.6%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Perte	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Substitution	130 (6.5%)	115 (35.6%)
TERT promoter	123 (6.2%)	122 (37.8%)
Substitution	123 (6.2%)	122 (37.8%)
CDKN2A	118 (5.9%)	117 (36.2%)
Codon stop	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Perte	100 (5.0%)	99 (30.7%)
Substitution	6 (0.3%)	6 (1.9%)
CDKN2B	90 (4.5%)	90 (27.9%)
Perte	89 (4.5%)	89 (27.6%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PTEN	83 (4.2%)	77 (23.8%)
Codon stop	15 (0.8%)	15 (4.6%)
Frameshift	15 (0.8%)	14 (4.3%)
Insertion-délétion	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Perte	27 (1.4%)	27 (8.4%)
Substitution	23 (1.2%)	23 (7.1%)
MTAP	69 (3.5%)	69 (21.4%)
Perte	69 (3.5%)	69 (21.4%)
EGFR	112 (5.6%)	54 (16.7%)
Amplification	47 (2.4%)	45 (13.9%)
Fusion/Réarrangement	6 (0.3%)	5 (1.5%)
Insertion-délétion	32 (1.6%)	27 (8.4%)
Substitution	27 (1.4%)	21 (6.5%)
PIK3CA	45 (2.3%)	40 (12.4%)
Amplification	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Substitution	38 (1.9%)	34 (10.5%)
NF1	41 (2.1%)	36 (11.1%)
Codon stop	16 (0.8%)	14 (4.3%)
Frameshift	14 (0.7%)	14 (4.3%)
Perte	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
RB1	39 (2.0%)	34 (10.5%)
Codon stop	12 (0.6%)	11 (3.4%)
Frameshift	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	11 (0.6%)	11 (3.4%)
Substitution	8 (0.4%)	8 (2.5%)
KRAS	35 (1.8%)	34 (10.5%)
Amplification	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Substitution	30 (1.5%)	30 (9.3%)
APC	36 (1.8%)	26 (8.0%)
Codon stop	17 (0.9%)	15 (4.6%)
Frameshift	16 (0.8%)	12 (3.7%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
ATRX	25 (1.3%)	25 (7.7%)
Codon stop	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Frameshift	14 (0.7%)	14 (4.3%)

Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
CDK4	21 (1.1%)	21 (6.5%)
Amplification	21 (1.1%)	21 (6.5%)
IDH1	21 (1.1%)	21 (6.5%)
Substitution	21 (1.1%)	21 (6.5%)
MYC	21 (1.1%)	21 (6.5%)
Amplification	21 (1.1%)	21 (6.5%)
ARID1A	23 (1.2%)	20 (6.2%)
Codon stop	9 (0.5%)	7 (2.2%)
Frameshift	13 (0.7%)	12 (3.7%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PDGFRA	19 (1.0%)	18 (5.6%)
Amplification	15 (0.8%)	15 (4.6%)
Insertion-délétion	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
BRAF	17 (0.9%)	16 (5.0%)
Fusion/Réarrangement	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	14 (0.7%)	14 (4.3%)
CCND1	16 (0.8%)	16 (5.0%)
Amplification	16 (0.8%)	16 (5.0%)
FGF19	16 (0.8%)	16 (5.0%)
Amplification	16 (0.8%)	16 (5.0%)
FGF3	15 (0.8%)	15 (4.6%)
Amplification	15 (0.8%)	15 (4.6%)
MDM2	15 (0.8%)	15 (4.6%)
Amplification	15 (0.8%)	15 (4.6%)
FGF4	14 (0.7%)	14 (4.3%)
Amplification	14 (0.7%)	14 (4.3%)
FGFR1	14 (0.7%)	14 (4.3%)
Amplification	12 (0.6%)	12 (3.7%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
WHSC1L1	14 (0.7%)	14 (4.3%)
Amplification	14 (0.7%)	14 (4.3%)
ERBB2	15 (0.8%)	13 (4.0%)
Amplification	12 (0.6%)	12 (3.7%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
KMT2D (MLL2)	15 (0.8%)	13 (4.0%)
Codon stop	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Frameshift	7 (0.4%)	5 (1.5%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
SOX2	13 (0.7%)	13 (4.0%)
Amplification	13 (0.7%)	13 (4.0%)
ATM	12 (0.6%)	12 (3.7%)
Codon stop	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Frameshift	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	5 (0.3%)	5 (1.5%)
KDM6A	12 (0.6%)	12 (3.7%)
Codon stop	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Frameshift	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
RAD21	12 (0.6%)	12 (3.7%)
Amplification	12 (0.6%)	12 (3.7%)
BCL2L1	11 (0.6%)	11 (3.4%)
Amplification	11 (0.6%)	11 (3.4%)
MDM4	11 (0.6%)	11 (3.4%)
Amplification	10 (0.5%)	10 (3.1%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PIK3C2B	11 (0.6%)	11 (3.4%)
Amplification	11 (0.6%)	11 (3.4%)
BRCA2	11 (0.6%)	10 (3.1%)

Frameshift	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
FGFR2	11 (0.6%)	10 (3.1%)
Amplification	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
MCL1	10 (0.5%)	10 (3.1%)
Amplification	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Insertion-délétion	3 (0.2%)	3 (0.9%)
SMAD4	10 (0.5%)	10 (3.1%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
ZNF703	10 (0.5%)	10 (3.1%)
Amplification	10 (0.5%)	10 (3.1%)
KIT	10 (0.5%)	9 (2.8%)
Amplification	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Insertion-délétion	2 (0.1%)	1 (0.3%)
NOTCH1	10 (0.5%)	9 (2.8%)
Frameshift	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	6 (0.3%)	6 (1.9%)
GNAS	9 (0.5%)	9 (2.8%)
Amplification	9 (0.5%)	9 (2.8%)
RICTOR	9 (0.5%)	9 (2.8%)
Amplification	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FGFR3	10 (0.5%)	8 (2.5%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	7 (0.4%)	6 (1.9%)
CCND2	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Amplification	8 (0.4%)	8 (2.5%)
CCNE1	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Amplification	8 (0.4%)	8 (2.5%)
CDK6	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Amplification	8 (0.4%)	8 (2.5%)
KDR	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Amplification	8 (0.4%)	8 (2.5%)
PIK3R1	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
STAG2	8 (0.4%)	8 (2.5%)
Codon stop	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
BRCA1	8 (0.4%)	7 (2.2%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PTPN11	8 (0.4%)	7 (2.2%)
Substitution	8 (0.4%)	7 (2.2%)
SMARCA4	8 (0.4%)	7 (2.2%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Perte	2 (0.1%)	2 (0.6%)

Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
ARFRP1	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Amplification	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CDK8	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Amplification	7 (0.4%)	7 (2.2%)
CDKN2C	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Perte	5 (0.3%)	5 (1.5%)
FAS	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Perte	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FBXW7	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	6 (0.3%)	6 (1.9%)
MET	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Amplification	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PTCH1	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
TERC	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Amplification	7 (0.4%)	7 (2.2%)
TET2	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Codon stop	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
ZNF217	7 (0.4%)	7 (2.2%)
Amplification	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MAP3K1	7 (0.4%)	6 (1.9%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	3 (0.2%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CHEK2	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Frameshift	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
CUL3	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Codon stop	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
EP300	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
HGF	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Amplification	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MUTYH	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
PRKCI	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Amplification	6 (0.3%)	6 (1.9%)
STK11	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Perte	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
TMPRSS2	6 (0.3%)	6 (1.9%)
Fusion/Réarrangement	6 (0.3%)	6 (1.9%)

VHL	6 (0.3%)	5 (1.5%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
AKT2	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Amplification	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
ASXL1	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
AURKA	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Amplification	5 (0.3%)	5 (1.5%)
BAP1	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
BCOR	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Codon stop	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CREBBP	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Codon stop	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
FGF23	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Amplification	5 (0.3%)	5 (1.5%)
FGF6	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Amplification	5 (0.3%)	5 (1.5%)
KDM5A	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Amplification	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
NTRK1	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Amplification	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
SPEN	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
TSC2	5 (0.3%)	5 (1.5%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
AR	5 (0.3%)	4 (1.2%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	4 (0.2%)	3 (0.9%)
NOTCH3	5 (0.3%)	4 (1.2%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
BRIP1	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CTNNB1	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
CUL4A	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Amplification	4 (0.2%)	4 (1.2%)
DNMT3A	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
ERRF1	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Perte	2 (0.1%)	2 (0.6%)

Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
FLT3	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Amplification	4 (0.2%)	4 (1.2%)
H3F3A	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Substitution	4 (0.2%)	4 (1.2%)
HRAS	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
JUN	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Amplification	4 (0.2%)	4 (1.2%)
NF2	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
PBRM1	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
PIK3CB	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Amplification	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PIM1	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Amplification	4 (0.2%)	4 (1.2%)
RNF43	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	3 (0.2%)	3 (0.9%)
SETD2	4 (0.2%)	4 (1.2%)
Codon stop	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
JAK1	4 (0.2%)	3 (0.9%)
Frameshift	3 (0.2%)	2 (0.6%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MSH6	4 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CDK12	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CDKN1B	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CIC	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
DAXX	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
DIS3	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Amplification	3 (0.2%)	3 (0.9%)
EPHB4	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Amplification	3 (0.2%)	3 (0.9%)
ERBB3	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Amplification	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FANCA	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FANCG	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
FGF10	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Amplification	3 (0.2%)	3 (0.9%)
IKZF1	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Fusion/Réarrangement	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
INPP4B	3 (0.2%)	3 (0.9%)

Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
IRS2	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Amplification	3 (0.2%)	3 (0.9%)
MAP3K13	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MSH2	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MYCL	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Amplification	3 (0.2%)	3 (0.9%)
MYCN	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Amplification	3 (0.2%)	3 (0.9%)
NRAS	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
PTPRO	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
RAD51C	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
ROS1	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
SMARCB1	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
SOX9	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Frameshift	3 (0.2%)	3 (0.9%)
SPOP	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Substitution	3 (0.2%)	3 (0.9%)
SUFU	3 (0.2%)	3 (0.9%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CDH1	3 (0.2%)	2 (0.6%)
Frameshift	3 (0.2%)	2 (0.6%)
PALB2	3 (0.2%)	2 (0.6%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
AKT1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
ALK*	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	2 (0.1%)	2 (0.6%)
CTCF	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
ESR1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
GATA3	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
GID4 (C17orf39)	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	2 (0.1%)	2 (0.6%)
GRM3	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
IGF1R	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	2 (0.1%)	2 (0.6%)
KDM5C	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)

KEAP1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
KEL	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MAP2K1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
MAP2K4	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MED12	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MEN1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MITF	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	2 (0.1%)	2 (0.6%)
MPL	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
MRE11A	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MSH3	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
MYB	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	2 (0.1%)	2 (0.6%)
NKX2-1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	2 (0.1%)	2 (0.6%)
NOTCH2	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PPP2R1A	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
QKI	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
RAD51	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
RBM10	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Frameshift	2 (0.1%)	2 (0.6%)
RET	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
SF3B1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Substitution	2 (0.1%)	2 (0.6%)
SGK1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
SRC	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
TSC1	2 (0.1%)	2 (0.6%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PMS2	3 (0.2%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	2 (0.1%)	1 (0.3%)
ABL1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
AKT3	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
ATR	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)

AXL	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
BCL2L2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
BCORL1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
BRD4	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CALR	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CASP8	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CBFB	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CBL	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CCND3	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CD274	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CEBPA	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CSF1R	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
CSF3R	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
DDR2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
EED	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
ERBB4	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
ETV6	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
EWSR1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FAM46C	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FANCL	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FGFR4	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FH	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FLCN	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FLT1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
FOXL2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
GNA13	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
HNF1A	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
IDH2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
IRF2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)
JAK2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
KLHL6	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
KMT2A (MLL)	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)

LYN	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MAP2K2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MEF2B	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MLH1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
MTOR	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
NBN	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Codon stop	1 (0.1%)	1 (0.3%)
NFE2L2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
NTRK2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
NTRK3	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PARK2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PAX5	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Perte	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PDCD1LG2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PDGFRB	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PIK3C2G	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
POLE	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
PRDM1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
RAD51D (RAD51L3)	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
SDHA	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
SMAD2	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
STAT3	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Insertion-délétion	1 (0.1%)	1 (0.3%)
SYK	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
TBX3	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
TIPARP	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
TNFAIP3	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
TNFRSF14	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
TYRO3	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
U2AF1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Substitution	1 (0.1%)	1 (0.3%)
VEGFA	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Amplification	1 (0.1%)	1 (0.3%)
WHSC1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Frameshift	1 (0.1%)	1 (0.3%)
WT1	1 (0.1%)	1 (0.3%)
Fusion/Réarrangement	1 (0.1%)	1 (0.3%)

Annexe 3 : Echelle ESCAT

	ESCAT evidence tier	Required level of evidence	Clinical value class	Clinical implication
Ready for routine use	I: Alteration-drug match is associated with improved outcome in clinical trials	I-A: prospective, randomised clinical trials show the alteration-drug match in a specific tumour type results in a clinically meaningful improvement of a survival end point I-B: prospective, non-randomised clinical trials show that the alteration-drug match in a specific tumour type, results in clinically meaningful benefit as defined by ESMO MCBS 1.1 I-C: clinical trials across tumour types or basket clinical trials show clinical benefit associated with the alteration-drug match, with similar benefit observed across tumour types	Drug administered to patients with the specific molecular alteration has led to improved clinical outcome in prospective clinical trial(s)	Access to the treatment should be considered standard of care
Investigational	II: alteration-drug match is associated with antitumour activity, but magnitude of benefit is unknown	II-A: retrospective studies show patients with the specific alteration in a specific tumour type experience clinically meaningful benefit with matched drug compared with alteration-negative patients II-B: prospective clinical trial(s) show the alteration-drug match in a specific tumour type results in increased responsiveness when treated with a matched drug, however, no data currently available on survival end points	Drug administered to a molecularly defined patient population is likely to result in clinical benefit in a given tumour type, but additional data are needed	Treatment to be considered 'preferable' in the context of evidence collection either as a prospective registry or as a prospective clinical trial
Hypothetical target	III: alteration-drug match suspected to improve outcome based on clinical trial data in other tumour type(s) or with similar molecular alteration	III-A: clinical benefit demonstrated in patients with the specific alteration (as tiers I and II above) but in a different tumour type. Limited/absence of clinical evidence available for the patient-specific cancer type or broadly across cancer types III-B: an alteration that has a similar predicted functional impact as an already studied tier I abnormality in the same gene or pathway, but does not have associated supportive clinical data	Drug previously shown to benefit the molecularly defined subset in another tumour type (or with a different mutation in the same gene), efficacy therefore is anticipated for but not proved	Clinical trials to be discussed with patients
	IV: pre-clinical evidence of actionability	IV-A: evidence that the alteration or a functionally similar alteration influences drug sensitivity in preclinical <i>in vitro</i> or <i>in vivo</i> models IV-B: actionability predicted <i>in silico</i>	Actionability is predicted based on preclinical studies, no conclusive clinical data available	Treatment should 'only be considered' in the context of early clinical trials. Lack of clinical data should be stressed to patients.
Combination development	V: alteration-drug match is associated with objective response, but without clinically meaningful benefit	Prospective studies show that targeted therapy is associated with objective responses, but this does not lead to improved outcome	Drug is active but does not prolong PFS or OS, probably in part due to mechanisms of adaptation	Clinical trials assessing drug combination strategies could be considered
	X: lack of evidence for actionability	No evidence that the genomic alteration is therapeutically actionable	There is no evidence, clinical or preclinical, that a genomic alteration is a potential therapeutic target	The finding should not be taken into account for clinical decision

Annexe 4 : Base de données des mutations en oncologie

Table 3. Most relevant databases and public data resources for interrogating tumour genomics and clinical actionability data					
Resource	Declared aim	Focus alterations (if applicable)	Interface	Annotation process	URL
Cancer Genome Interpreter (CGI)	The CGI is a web platform dedicated to the interpretation of variants identified in patient's tumours	Point mutations and structural variants	Browser, download, API Interactive reports are provided as a result of analysis of a patient's tumour	Semi-automated annotation and manual curation of literature. Oncologists' review of biomarkers. In house tools	cancergenome-interpreter.org
cBioPortal	Resource collecting alterations observed across patients' tumours (probed at whole-exome, whole-genome or gene panel level)	Point mutations and structural variants	Browser, download, API	Automated annotation and analysis of tumour alterations data	www.cbioportal.org/
Catalog of somatic mutation in cancer (COSMIC)	Resource collecting alterations observed across patients' tumours (probed at whole-exome, whole-genome or gene panel level) and cancer cell lines	Point mutations and structural variants	Browser, download, API	Automated annotation and analysis of tumour alterations data	cancer.sanger.ac.uk/cosmic
Clinical Interpretation of Variants in Cancer (CIVIC)	Clinical relevance of variants in cancer	Point mutations and structural variants	Browser and API	Community-driven annotation and curation. Experts review	civicdb.org/
Database of Curated Mutations (DoCM)	Database of known, disease-causing mutations with direct links to source citations	Point mutations (SNVs and short indels)	Browser, download	Manual curation of literature	http://docm.info/
Jackson Laboratory	Database cataloguing cancer alterations and biomarkers	Point mutations and structural variants	Browser	Semi-automated annotation and manual curation of literature	ckb.jax.org
MyCancerGenome	Database of validated driver alterations in a list of cancer genes and their influence on the response to a range of therapeutic agents, with links to clinical trials	Point mutations and structural variants	Browser	Manual curation of literature	www.mycancer-genome.org
Precision medicine knowledgebase (PMKB)	Information (including clinical relevance) about cancer variants	Point mutations and structural variants	Browser	Community-driven annotation and curation. Review by cancer pathologists	pmkb.weill-cornell.edu/
OncoKB	Information about the effects and treatment implications of specific cancer gene alterations	Point mutations and structural variants	Browser, download, API	Manually curated by a network of clinical fellows, research fellows, and faculty members at MSK from resources and literature	oncokb.org/
T-Quest	Open source platform to link molecular abnormalities to potential therapies	Point mutations and structural variants	Browser, download, API	Automated text search of clinicaltrials.gov database and public databases	http://tquest.us/

**INTERET DU PANEL MOLECULAIRE FOUNDATION ONE CDX® DANS LA
PRATIQUE CLINIQUE A L'IUCT-ONCOPOLE :
ETUDE RETROSPECTIVE UNICENTRIQUE**

Introduction : Le séquençage de l'ADN tumoral a modifié la prise en charge thérapeutique des patients atteints de cancer. En identifiant les altérations moléculaires impliquées dans l'initiation et le développement tumoral, le séquençage a permis le développement de thérapies ciblant ces mutations. Le test Foundation One CDX® (FMI) est un test de séquençage d'ADN tumoral. Nous nous sommes intéressés à l'impact thérapeutique, en termes de survie globale (SG) et survie sans progression (SSP), de la réalisation du test FMI chez les patients à l'IUCT-Oncopole.

Matériel et méthodes : Le test FMI recherche les substitutions, insertions, délétions de bases, réarrangements et amplification génique sur 324 gènes impliqués en cancérologie. Il analyse également le statut MSS et TMB tumoral. Les patients inclus dans notre étude non randomisée avaient signé le consentement pour le test FMI entre janvier 2018 et décembre 2019. Les données du diagnostic tumoral, du résultat de test FMI, du traitement suivant le test et de la survie des patients ont été recueillis de façon retrospective.

Résultats : Entre janvier 2018 et décembre 2019, 326 patients ont été inclus ; 135 présentaient une mutation ciblable (117 patients) ou un score TMB élevé (41) ou les deux (23). Sur ces 135 patients, 63 ont reçu un traitement adapté aux mutations retrouvées sur le test FMI (bras FMI) tandis que 169 ont reçu un traitement standard (bras standard). Les patients restants n'ont pas reçu de nouveau traitement après le test FMI. La survie globale médiane était augmentée de 2,7 mois dans le bras FMI par rapport au bras standard (HR 0,67 IC 95 [] p=0,036). La survie sans progression médiane était similaire dans les 2 groupes à 2,8 mois (HR 0.72 IC95% [0.52;1.01] p=0,0558).

Conclusion : La survie globale médiane est supérieur de 2,7 mois dans le bras FMI par rapport au bras standard. La SSP médiane est similaire dans les deux bras.

TITRE EN ANGLAIS : Clinical impact of the large molecular panel FoundationOne CDx in medical practice at IUCT-Oncopole : unicentric retrospective study.

DISCIPLINE ADMINISTRATIVE : Oncologie option oncologie médicale

MOTS-CLÉS : Séquençage d'ADN, NGS, FoundationOne CDx, thérapie ciblée, traitement personnalisé, médecine de précision

INTITULÉ ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE :

Université Toulouse III-Paul Sabatier
Faculté de médecine Toulouse-Purpan,
37 Allées Jules Guesde 31000 Toulouse

Directeur de thèse : Damien POUESSEL