

Carcinogénèse des carcinomes bronchiques non a petites cellules et implications thérapeutiques

Mona Mlika*, Aida Ayadi-Kaddour*, Soumeiya Laabidi**, Sadok Boudaya*, Hamouda Boussen**, Faouzi El Mezni*

(*)Département de Pathologie. Hôpital Abderrahman Mami. Ariana

(**)Département de Carcinologie Clinique. Hôpital Abderrahman Mami. Ariana

M. Mlika, A. Ayadi-Kaddour, S. Laabidi, S. Boudaya, H. Boussen, F. El Mezni

M. Mlika, A. Ayadi-Kaddour, S. Laabidi, S. Boudaya, H. Boussen, F. El Mezni

Carcinogénèse des carcinomes bronchiques non à petites cellules et implications thérapeutiques

Carcinogenesis of non small cell lung cancer and therapeutic implications

LA TUNISIE MEDICALE - 2014 ; Vol 92 (n°06) : 368-372

LA TUNISIE MEDICALE - 2014 ; Vol 92 (n°06) : 368-372

R É S U M É

La survenue d'un cancer bronchique est un long processus multi-étapes aboutissant à la transformation d'une cellule normale en une cellule tumorale. Les quatre étapes de transformation sont sous-tendues par différentes altérations de la génétique cellulaire.

L'étude moléculaire des lésions pré-cancéreuses bronchiques permet actuellement d'établir la relation entre continuum lésionnel et carcinogénèse par étapes. La survenue successive d'altérations géniques augmente le potentiel prolifératif et invasif des lésions précancéreuses et facilite la formation de lésions à potentiel plus agressif. Nous nous proposons de développer la carcinogénèse des carcinomes non micro-cellulaires du poumon et d'exposer les voies thérapeutiques originales qui en découlent.

S U M M A R Y

The occurrence of a lung cancer is a consequence of a long-lasting process dealing with a transformation of a normal cell to a malignant one. The four steps of transformation reflect the genetic modifications of the cells. The molecular studies of pre-invasive lesions have already established a correlation between the lesion continuum and the multi-step carcinogenesis. Gradual genetic alterations are correlated with the increase of the cell's malignant potential. We tried to present the carcinogenesis of the lung non microcellular carcinomas and to highlight the main therapeutic targets.

M o t s - c l é s

carcinogénèse, carcinomes non micro-cellulaires pulmonaires, thérapies ciblées.

K e y - w o r d s

Carcinogenesis, non micro-cellular lung cancer, target therapy.

La carcinogénèse des carcinomes pulmonaires est actuellement mieux connue en particulier au niveau biomoléculaire. La chronologie d'apparition du cancer bronchique est mieux cernée sur le plan des anomalies cellulaires et également des différents événements biomoléculaires. Ce progrès dans la connaissance de la carcinogénèse bronchique a ouvert la voie à de nouvelles thérapies ciblées selon le profil moléculaire tumoral (1, 2).

Nous nous proposons de présenter les voies de la carcinogénèse des carcinomes non à petites cellules (CNPC) du poumon et d'exposer les éventuelles cibles thérapeutiques qui en découlent.

ETAPES DE LA CANCEROGENESE

La carcinogénèse pulmonaire peut être divisée en quatre phases successives. L'initiation est la première phase et résulte de mutations génétiques irréversibles de la cellule qui vont se transmettre aux cellules filles et persister dans l'organisme. La promotion est l'expansion clonale des cellules initialisées qui manifestent en général un taux de croissance accru. Ainsi, la survenue de mutation étant directement proportionnelle au taux de division, cette étape contribue à l'augmentation du nombre de mutations génétiques de la cellule. La conversion, est probablement l'étape la plus importante et correspond à la transformation proprement dite des cellules pré-néoplasiques en cellules malignes, due à l'accumulation de nouvelles mutations. Enfin, la progression désigne la phase où une cellule maligne sous l'influence de nouvelles mutations génétiques, va être capable d'envahir de nouveaux tissus pour former des métastases (2). Les différentes étapes de la cancérogénèse sont représentées sur la figure 1.

ANOMALIES MORPHOLOGIQUES ET CYTOGENETIQUES

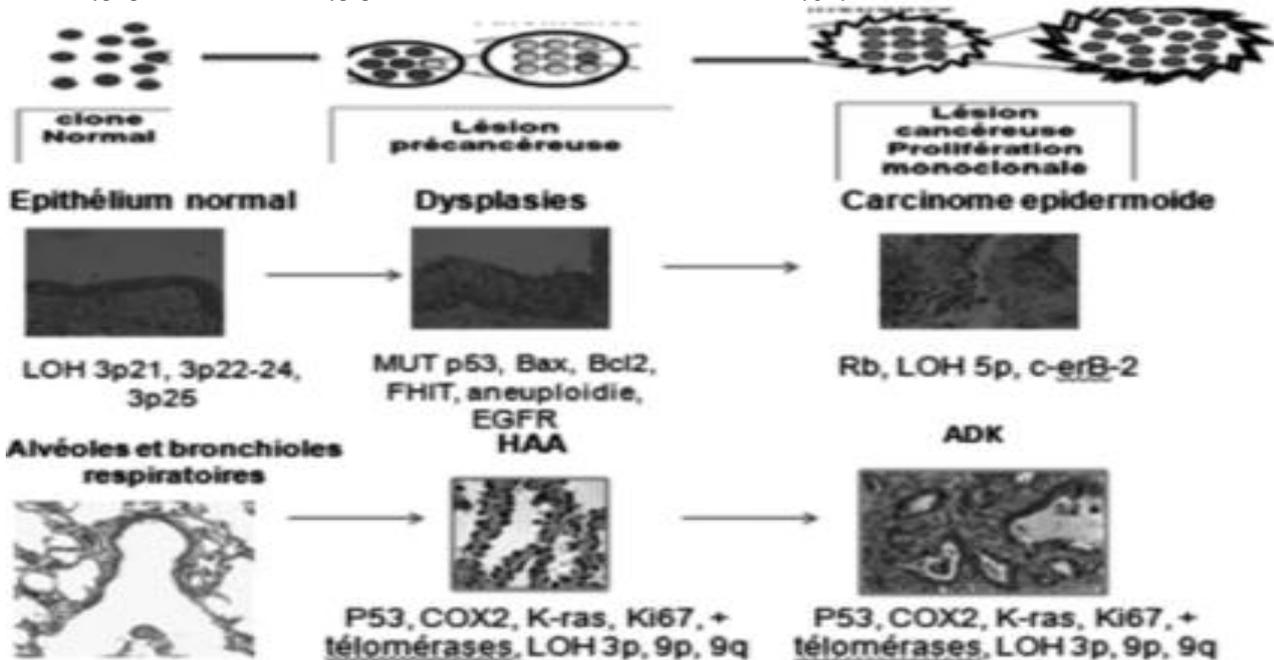
La classification de l'OMS 2004 reconnaît 2 types de lésions pré-cancéreuses pour les CNMC : la dysplasie malpighienne pour les carcinomes épidermoïdes et l'hyperplasie adénomateuse atypique probablement à l'origine des adénocarcinomes (4). La dysplasie malpighienne est répartie en trois grades selon l'importance de la perte de polarité des cellules observée en histomorphologie et ce dans les couches de l'épithélium, les atypies cyto-nucléaires et les mitoses. L'hyperplasie adénomateuse atypique, se définit quant à elle, comme une lésion périphérique ne dépassant pas 5 mm, respectant les septa alvéolaires et détectée en l'absence d'inflammation interstitielle ou de fibrose sous-jacente (Figure 1). Les espaces alvéolaires et les bronchioles respiratoires sont revêtus par des cellules légèrement atypiques (5).

ANOMALIES CYTOGENETIQUES

La présence d'anomalies cytogénétiques dans les CNMC a été montrée dans les lésions pré-néoplasiques précoces, voire dans l'épithélium morphologiquement normal de sujets fumeurs (6). Aucune de ces anomalies cytogénétiques ne peut être considérée comme spécifique d'un sous-type histologique donné. Les délétions chromosomiques sont responsables de l'inactivation de gènes récessifs, inactivés par la délétion d'un allèle (perte d'hétérozygotie, LOH) et la perte de l'allèle restant (par mutation, délétion, voire méthylation du promoteur entraînant un arrêt de la transcription du gène). Ils sont nommés gènes suppresseurs de tumeurs. Leur activité normale vise à freiner la prolifération cellulaire ou induire l'apoptose. Plus rarement, dans le cancer bronchique, sont observés des gains de

Figure 1 : Principales étapes de la cancérogénèse bronchique (2)

HAA : Hyperplasie adénomateuse atypique, ADK : adénocarcinome, LOH : loss of heterozygoty



matériel génétique avec des amplifications de segments chromosomiques (amplicons) au niveau desquels siègent des gènes dominants proto-oncogéniques, le plus souvent codant pour des récepteurs à des facteurs de croissance (epidermal growth factor receptor, EGF-R, erbB2/neu) ou des régulateurs nucléaires du cycle cellulaire (cyclineD1, HNF3 α /FOXA1) ou de l'apoptose (p63AIS). L'altération de ces gènes permet à la cellule d'acquies de nouvelles compétences à savoir l'indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance qui permet aux cellules de rester dans un état de prolifération active, l'acquisition d'un potentiel réplicatif illimité par division illimitée des chromosomes, la capacité d'échapper à la mort cellulaire programmée (apoptose), l'insensibilité aux signaux antiprolifératifs provenant du milieu extracellulaire (cytokines) via des récepteurs membranaires, la capacité d'induire un réseau de néovaisseaux permettant un apport d'oxygène et de nutriments aux cellules tumorales et le pouvoir métastasant. Les principales anomalies cytogénétiques identifiées sont représentées sur la figure 1.

VOIES DE LA CARCINOGENESE BRONCHIQUE ET IMPLICATIONS THERAPEUTIQUES

Plusieurs voies de signalisation sont impliquées dans l'altération de la régulation de la transition G1/S du cycle cellulaire, la régulation de l'apoptose, les facteurs de croissance et récepteurs tyrosine kinase (TK) aux facteurs de croissance, le potentiel réplicatif illimité, l'angiogénèse ainsi que le phénotype invasif et métastasant.

1- Les facteurs de croissance et récepteurs tyrosine kinase aux facteurs de croissance :

Le gène erbB1/EGF-R (Epidermal growth factor receptor):
Le récepteur membranaire à l'EGF est surexprimé dans 60 à 80 % des CNMC (et près de 100 % des adénocarcinomes), (7).
L'EGF est également un puissant agent proangiogénique

stimulant la prolifération des cellules endothéliales et la formation de néovaisseaux. L'anomalie génétique la plus fréquemment en cause pour l'EGF-R est une amplification du nombre de copies. Des mutations activant le domaine kinase intracellulaire des récepteurs à l'EGF ont aussi été décrites dans 16 % des carcinomes épidermoïdes bronchiques.

Tableau 1 : Principales anomalies moléculaires observées dans les carcinomes non à petites cellules

Gènes	Anomalies	Pourcentages
K-Ras	Mutation	30% (adénocarcinome)
Myc	Amplification	5-10%
ERB-B1	Expression	40-80%
ERB-B2	Expression	30% (adénocarcinome)
Kit/SCF	Coexpression	15%
3p LOH	Délétion	50-90%
4p LOH	Délétion	20%
4q LOH	Délétion	30%
8p21-23	Délétion	80-100%
p53	Délétion/mutation	50%
RB	Délétion/inactivation	15-20%
INK4a	Délétion/mutation/inactivation	60-70%
Microsatellites	Instabilité	22%
Bcl-2	Expression	10-35%
VEGF	Hyperexpression	
Téломérase	Activité	80-85%
Métalloprotéase	Expression	65%
COX 2	Expression	70% (adénocarcinome)

L'EGFR est ciblé par l' Erlotinib (Tarceva®), drogue orale utilisée de façon prolongée.

Il permet d'obtenir, surtout chez les femmes et les non fumeurs, une réduction de la taille et une amélioration des symptômes et de la qualité de vie. Le Gefitinib (Iressa®) est également un

Tableau 2 : Traitements anti-EGFR en cours d'étude

Médicament	Type	Stade de développement
Gefitinib (9)	TKI réversible	Phase III : approuvé pour le traitement de NSCLC chimioréfractaire dans plusieurs pays
Erlotinib (8)	TKI réversible	Phase III : résultats positifs pour les stades avancés de NSCLC chimioréfractaire
Cetuximab (10)	Anticorps monoclonal chimérique	Phase III
PKI-166 (10)	TKI réversible contre EGFR/HER-2	Phase I
ABX-EGF (10)	Anticorps monoclonal humain	Phase I
EMD 72000 (10)	Anticorps monoclonal humanisé	Phase I
h-R3 (10)	Anticorps monoclonal humanisé	Phase I
CI-1033 (10)	TKI irréversible contre HER	Phase I
EKI-569 (10)	TKI irréversible contre EGFR/HER-2	Phase I
GW-2016 (10)	TKI réversible contre EGFR/HER-2	Phase I

traitement anti-EGFR, actuellement proposé dans le traitement des formes localement avancées ou métastatiques des CNPC. Le tableau 2 concerne les traitements anti-EGFR actuellement en cours d'essais dans les CNPC (8, 9, 10).

Le gène *erbB2/Her-2* :

ErbB2 est une partie d'un récepteur tyrosine kinase de la famille du récepteur à l'EGF. *erbB2* est surexprimé dans 20 % des CNPC (11). Les signalisations en aval de *erbB2* sont responsables d'un potentiel prolifératif accru, d'un pouvoir invasif et d'un phénotype angiogénique accru. Le niveau d'expression de ce récepteur sur la membrane plasmique apparaît cependant très inférieur à celui du récepteur à l'EGF d'où, vraisemblablement, un effet plus limité de l'inhibition de ce récepteur comparé à l'inhibition du récepteur à l'EGF.

La principale thérapie ciblée en cours d'essai est *BIBW 2992*. Ce dernier est un anilino-quinazoline anti EGFR et *HER2*. Ce traitement paraît être préconisé pour les CNPC avec une résistance primaire ou acquise aux anti-EGFR de première génération (*erlotinib*). Il n'est pas encore d'utilisation courante (12).

Le gène *ALK*

ALK est un récepteur TK à l'origine de la prolifération cellulaire. Dans 4-5 % des tumeurs bronchiques, on observe une translocation *EML4-ALK* avec la formation d'un gène de fusion qui conduit à l'activation constitutionnelle de la kinase *ALK*.

La thérapie ciblée en cours d'essais est l'inhibiteur de la MET tyrosine kinase ou *PF-02341066* (*crizotinib*) qui bloque l'effet de la protéine de fusion *ALK* et intervient ainsi dans le blocage de la croissance cellulaire, la migration, l'invasion et l'angiogenèse tumorale (13). Ce produit, également utilisé per os a permis d'obtenir des réponses objectives avec réduction tumorale et amélioration de l'état général des patients.

Le gène *Ras*

Ras est un transducteur de signaux extracellulaire muté dans 10 à 30% des CNPC. Le gène *K-ras* a un double rôle de proto-oncogène et de suppresseur de tumeur. Il semble que les mutations du gène *Ras* interviennent assez tard dans le développement du cancer broncho-pulmonaire. Il a récemment été prouvé que la famille des proto-oncogènes *MYC* encode des produits nucléaires qui sont la cible ultime du signal de transduction *Ras*.

8- 20 % des CNMC ont une amplification d'au moins un membre de la famille *MYC*. Les thérapies ciblées en cours d'expertise sont le *Lonafarnib* (*SCH 66336*) qui est actif par voie orale et induit une toxicité gastro-intestinale et générale, le *Zarnestra* (*R115777*) qui est actif par voie orale mais paraît à l'origine d'une myélo et neurotoxicité, le *BMS 214662* qui est à l'origine d'une toxicité sévère gastro-intestinale et hépatique et le *FTI 277*. Des essais de vaccination avec le peptide mutant *KRAS* sont également en cours (14).

2- Altération de la régulation de la transition G1/S du cycle cellulaire

La voie de signalisation *RB/p16/p15/cycline D1*

Le gène du rétinoblastome (*RB*) a été un des premiers gènes suppresseurs de tumeur identifié dans le cancer du poumon (15). La perte d'expression du gène *RB* résulte principalement de délétions chromosomiques. Dans les cas où le gène *RB* reste sauvage, il a été démontré une altération de *CDKN2A/p16* qui conduit à une prolifération cellulaire anarchique. Contrairement à *RB*, *p16* est généralement altéré par hyperphosphorylation de l'ADN empêchant l'expression de l'ARNm et donc de la protéine. Les cyclines ont aussi été identifiées comme cible de mutation cancérogène.

La voie de signalisation *p53/p14ARF/MDM2*

P53 est un gène suppresseur de tumeur inactivé dans plus de 75% des CNPC

Les mutations de *p53* ont été liées à la réponse aux chimiothérapies à base de cisplatine et à la réponse à la radiothérapie. Sa mutation signe un mauvais pronostic. Des essais de thérapie génique réintroduisant le gène *p53* sauvage ont permis d'inhiber la croissance de cancer du poumon. Ces thérapies ne sont pas encore bien mises au point.

3- Régulation de l'apoptose

Le gène *PTEN*

PTEN est une protéine/lipide phosphatase impliquée dans la promotion du système anti-apoptotique *Bad/Bcl2* qui n'a pas encore fait l'objet d'essais thérapeutiques (16).

La protéine kinase *C*

Elle semble impliquée dans la prolifération cellulaire, l'angiogenèse, l'apoptose et la résistance aux médicaments. La principale thérapie ciblée en cours d'essai est *ISIS 3521* qui est proposé en association à carboplatine-paclitaxel. Ce traitement est en phase III d'essais cliniques avec de bons résultats (17).

4- Potentiel réplicatif illimité

Activation de la télomérase

La télomérase est une DNA polymérase qui participe à l'allongement du télomère. La longueur du télomère diminue à chaque division cellulaire jusqu'à une longueur limite. L'activité télomérase est augmentée dans 85% des cancers rendant les cellules capables de se reproduire presque indéfiniment. La télomérase peut être une cible thérapeutique, puisque son inhibition peut induire une mort par apoptose indépendante de *p53*.

5- Phénotype invasif et métastasant

Métalloprotéases de la matrice extra-cellulaire (*MMP*)

Les *MMP* sont des enzymes impliquées dans la dégradation de la membrane basale épithéliale permettant aux cellules tumorales d'infiltrer le chorion sous-jacent. Les inhibiteurs des métalloprotéases actuellement en cours d'expertise sont le *Prinomastat* (*AG 3340*) et *Néovastat*. Les premiers résultats pour ces 2 molécules semblent négatifs en termes de réponse clinique et de survie (18).

6- Angiogenèse

VEGF

Le vascular endothelial growth factor est le principal facteur de croissance des cellules endothéliales dont il stimule la prolifération et la migration pour former de nouveaux bourgeons vasculaires. Le bevacizumab (Avastin) est un anti-VEGF actuellement prescrit dans les CNPC sauf les carcinomes épidermoïdes car il augmente le risque de saignement (19).

INTERETS DIAGNOSTIQUES

La connaissance des principales voies de la cancérogenèse bronchique a permis l'identification de biomarqueurs, est basée sur des techniques génétiques (DNA arrays, PCR, Rt-PCR, séquençage, FISH), épigénétiques, protéomiques (spectrométrie de masse, ELISA, IHC), métaboliques (acides aminés, peptides, lipides), radiologiques et cliniques. L'individualisation de ces biomarqueurs permettrait un

diagnostic précoce des CNPC à l'instar de l'hyper-expression de mi-ARN observée dans les stades initiaux de la carcinogénèse épidermoïde. Les mutations des gènes de p53 et de K-ras pourraient également être détectées dans l'année avant le diagnostic d'une néoplasie pulmonaire. Ces mutations existent également dans la tumeur primitive. Il en est de même pour des instabilités génomiques découvertes par la méthode des microsatellites (2).

CONCLUSION

La meilleure connaissance de la carcinogénèse des CNPC est indispensable afin d'améliorer le diagnostic, le traitement et le pronostic de ces cancers qui demeurent la première cause de mortalité par cancer dans le monde. Les thérapies ciblées vont probablement révolutionner le pronostic de ces tumeurs et en améliorer la prise en charge

References

- 1- Coll, J., Vandenbunder B, Stehelin, D. Oncogenes and antioncogenes. *Gynecology* 1992; 43: 344-349.
- 2- Mascaux C. Cancérogenèse bronchique. *Rev Mal Respir* 2008;28:3532-3539.
- 3- Chang S.C, Tucker T, Thorogood N.P, Brown C.J. Mechanisms of Xchromosome inactivation. *Front Biosc* 2006; 11: 852-866.
- 4- Mao L, Lee JS, Kurie JM, et al. Clonal genetic alterations in the lungs. *J Natl Cancer Inst* 1997; 89: 857-862.
- 5- Parkin M, Tyczinski JE, Boffetta P, Samet J, Shields P, Caporaso N. Lung cancer. In; Travis WD, Brambilla E, Muller-Hermelink HK, Harris CC. World Health Organization Classification of tumours, IARCC Press Lyon, 2004: 9-122
- 6- Shijubo N, Kojima H, Nagata M, et al. Tumor angiogenesis of non-small cell lung cancer. *Microsc Res Tech* 2003; 60: 186-98.
- 7- Rusch V, Klimstra D, Linkov I., Dmitrovsky E. Aberrant expression of p53 or the epidermal growth factor receptor is frequent in early bronchial neoplasia, and coexpression precedes squamous cell carcinoma development. *Cancer Res* 1995; 55:1365-1372.
- 8- Choi DR, Lee DH, Choi CM, Kim SW, Suh C, Lee JS. Erlotinib in First-line Therapy for Non-small Cell Lung Cancer: A Prospective Phase II Study. *Anticancer Res.* 2011;31:3457-62.
- 9- Gaafar RM, Surmont VF, Scagliotti GV, et al. A double-blind, randomised, placebo-controlled phase III intergroup study of gefitinib in patients with advanced NSCLC, non-progressing after first line platinum-based chemotherapy (EORTC 08021/ILCP 01/03). *Eur J Cancer.* 2011;47:2331-2340.
- 10- Lazzari C, Spreafico A, Bachi A, et al. Changes in Plasma Mass-Spectral Profile in Course of Treatment of Non-small Cell Lung Cancer Patients with Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitors. *J Thorac Oncol.* 2012 ; 7 : 40-8..
- 11- Rachwal WJ, Bongiorno PF, Orringer MB, Whyte RI., Ethier SP, Beer DG. Expression and activation of erbB-2 and epidermal growth factor receptor in lung adenocarcinomas. *Br J Cancer* 1995; 72: 56-64.
- 12- Hirsh V. Afatinib (BIBW 2992) development in non-small-cell lung cancer. *Future Oncol.* 2011;7:817-25.
- 13- Shaw AT, Yeap BY, Solomon BJ, et al. Effect of crizotinib on overall survival in patients with advanced non-small-cell lung cancer harbouring ALK gene rearrangement: a retrospective analysis. *Lancet Oncol.* 2011 ; 12 : 1004-12.
- 14- Castellano E, Downward J. RAS Interaction with PI3K: More Than Just Another Effector Pathway. *Genes Cancer.* 2011;2:261-74.
- 15- Xu HJ, Hu SX, Cagle PT, Moore GE, Benedict WF. Absence of retinoblastoma protein expression in primary non-small cell lung carcinomas. *Cancer Research* 1991; 51: 2735-2739.
- 16- Soria JC, Lee HY, Lee JI, et al. Lack of PTEN expression in non-small cell lung cancer could be related to promoter methylation. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1178-1184.
- 17- Villalona-Calero MA, Ritch P, Figueroa JA, et al. A phase I/II study of LY900003, an antisense inhibitor of protein kinase C-alpha, in combination with cisplatin and gemcitabine in patients with advanced non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res.* 2004;10:6086-93.
- 18- Bissett D, O'Byrne KJ, von Pawel J, et al. Phase III study of matrix metalloproteinase inhibitor prinomastat in non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2005;23:842-9.
- 19- Planchard D. Bevacizumab in non-small-cell lung cancer: a review. *Expert Rev Anticancer Ther.* 2011;11:1163-79.