

Biopsies liquides



Inserm



Jacques Robert

**Institut Bergonié
Université de Bordeaux**

Qu'appelle-t-on biopsie liquide ?

Cellules tumorales circulantes

ADN tumoral circulant

Prélèvements peu invasifs et sans risque

Pouvant être répétés dans le temps

Représentatifs de la tumeur de façon synchrone

S'affranchissant de l'hétérogénéité tumorale

Nécessitant des techniques spéciales d'isolement

Requérant des techniques moléculaires ultra-sensibles

Cellules tumorales circulantes

Reconnues grâce à leurs marqueurs de surface

Antigènes spécifiques de cellules épithéliales (EPCAM)

Capture par système immunomagnétique

CellSearch™

Reconnues par leurs propriétés physicochimiques

Taille, densité, déformabilité, charge électrique, etc.

Utilisation de filtres, de centrifugation sur gradient, etc.

Iset™

Cellules tumorales circulantes

Analyse par cytométrie en flux (*cell sorting*)

Permet de travailler sur des volumes de sang importants, donc d'obtenir des quantités plus élevées de cellules, donc de réaliser une caractérisation moléculaire

CellSearch™ a reçu l'agrément de la FDA

Analyse par systèmes microfluidiques

Nécessite de faibles volumes de sang (< 1 ml)

Moindre précision dans le comptage d'événements rares

En développement

Cellules tumorales circulantes

Origine des CTC

Cellules mortes ou en cours d'apoptose, par desquamation

Cellules vivantes, à potentiel métastatique (DTC)

Proviennent du site primitif ou de métastases

Les CTC sont-elles des DTC ?

Quid de la transition épithélio-mésenchymateuse ?

Expression de caractères épithéliaux et mésenchymateux

Expression de caractères de cellules souches

Les CTC sont-elles des CSC ?

Cellules tumorales circulantes

Anomalies moléculaires

Cancers de la prostate

Amplification d'*AR*, délétion de *PTEN*, réarrangement d'*ERG*

Cancers du sein

Amplification d'*ERBB2*

Cancers colorectaux

Mutations de *KRAS* et de *BRAF*

Cancers bronchiques non à petites cellules

Mutation d'*EGFR*

Cellules tumorales circulantes

Disparités tumeur primitive / CTC

Disparités moléculaires

Tendance à la « perte » d'expression de *ESR1* et au « gain » d'*ERBB2*

Augmentation de la proportion de « triple négatifs »

Les CTC seraient issues de clones minoritaires de grande malignité

Disparités phénotypiques

En néo-adjuvant, maintien de CTC en situation de réponse pathologique complète

Les CTC n'auraient pas les mêmes caractères de chimiosensibilité

Faut-il le prendre en compte pour l'indication des traitements ?

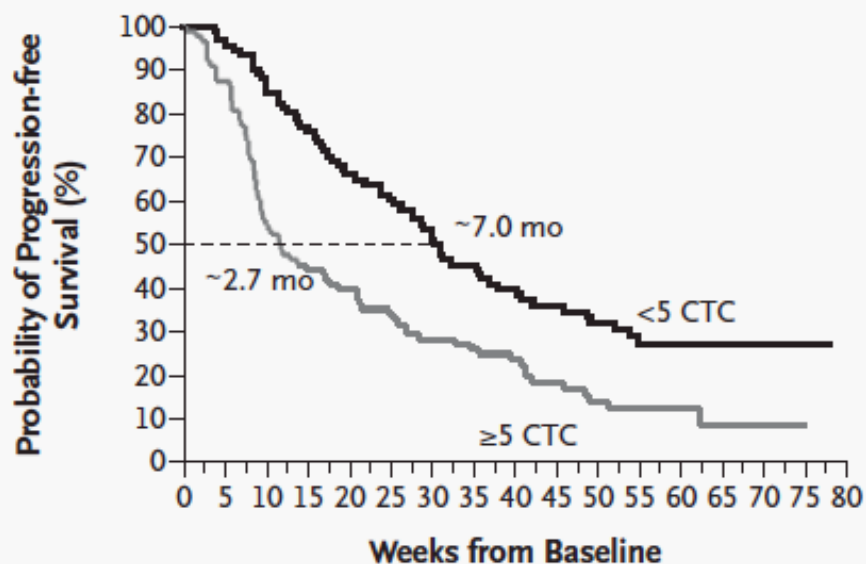
Cellules tumorales circulantes

Valeur pronostique indiscutable

Cancers du sein

Cristofanilli et al, N Engl J Med 2004; 351: 781-91

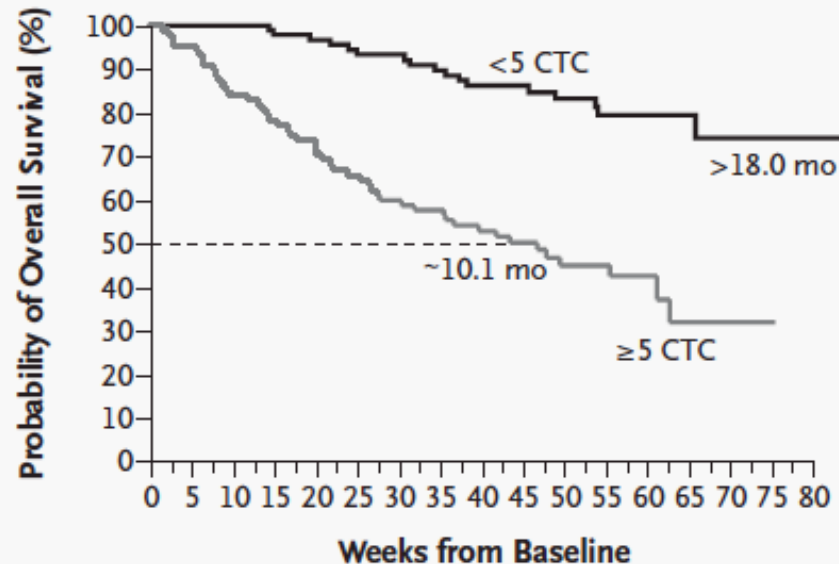
C Full Set of Data



No. at Risk

<5 CTC	90	87	77	69	59	52	44	39	33	26	22	16	12	5	4	2	0
≥5 CTC	87	76	48	38	34	29	24	22	17	12	9	8	4	1	1	1	0

F Full Set of Data



No. at Risk

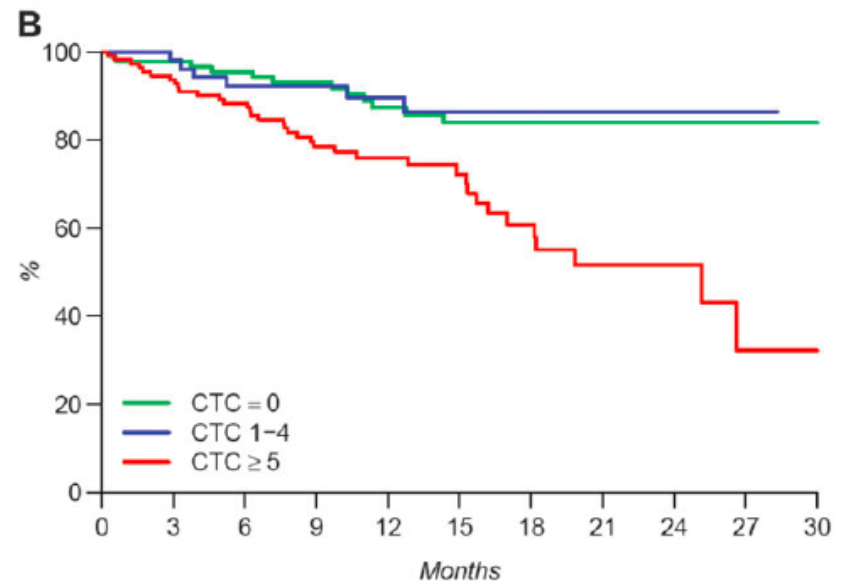
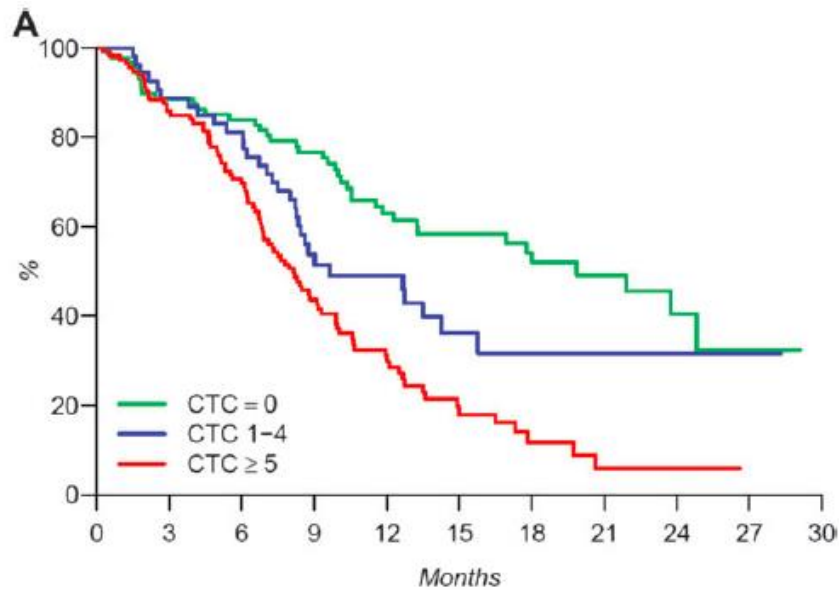
<5 CTC	90	90	90	87	85	80	80	77	67	59	50	39	28	15	10	4	2
≥5 CTC	87	83	73	68	62	57	52	49	40	33	24	18	9	2	2	1	0

Cellules tumorales circulantes

Valeur pronostique indiscutable

Cancers du sein

Pierga et al, Ann Oncol 2012; 23: 618-24



Number at risk

—	89	77	71	61	43	35	25	14	8	3	0
—	54	47	43	23	16	9	3	2	2	1	0
—	114	96	77	42	24	10	5	2	2	0	0

Number at risk

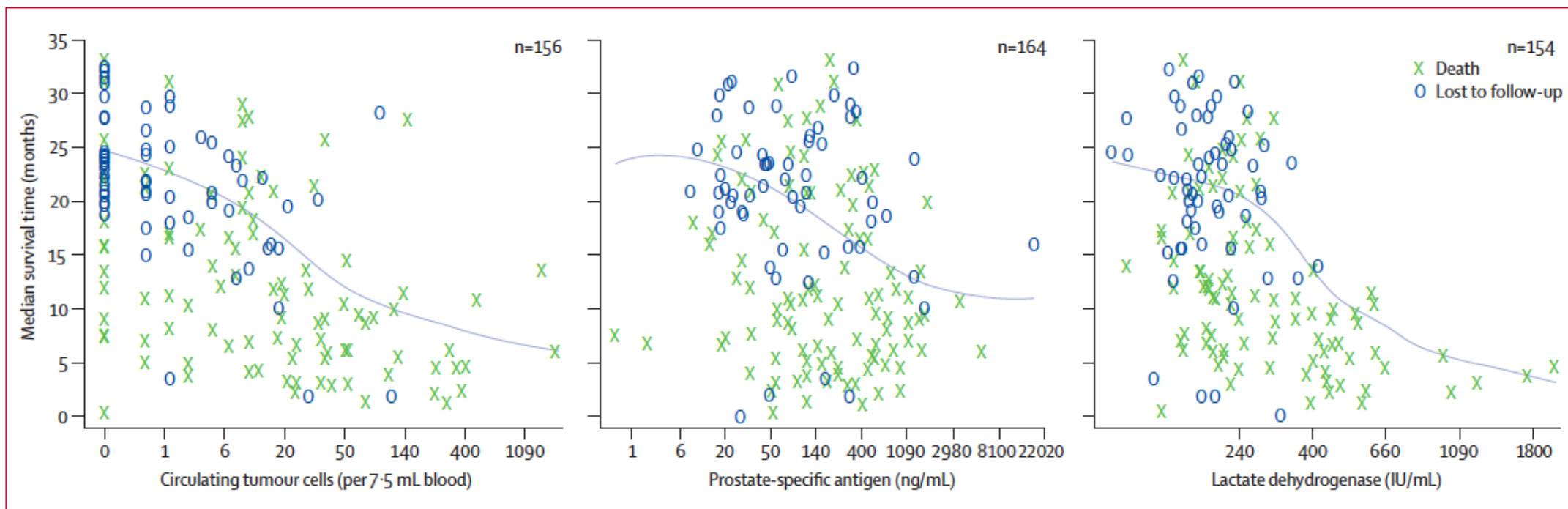
—	88	86	82	73	56	46	38	24	18	7	3
—	52	51	47	40	28	17	8	4	3	1	0
—	112	104	97	72	50	33	22	14	10	2	1

Cellules tumorales circulantes

Valeur pronostique indiscutable

Cancers de la prostate

Scher et al, Lancet Oncol 2009; 10: 933-9

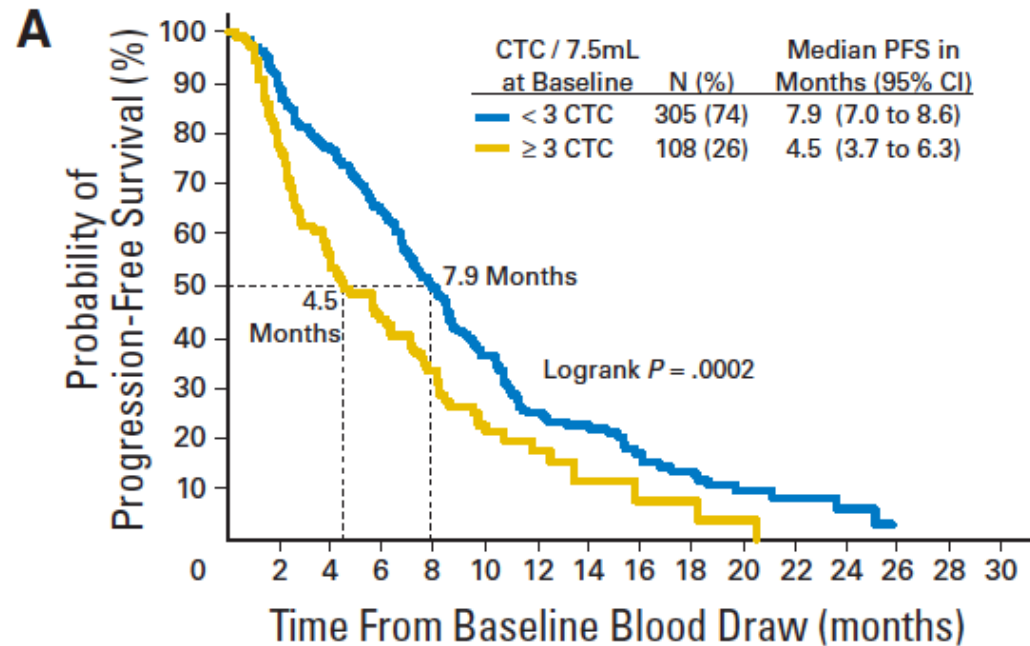


Cellules tumorales circulantes

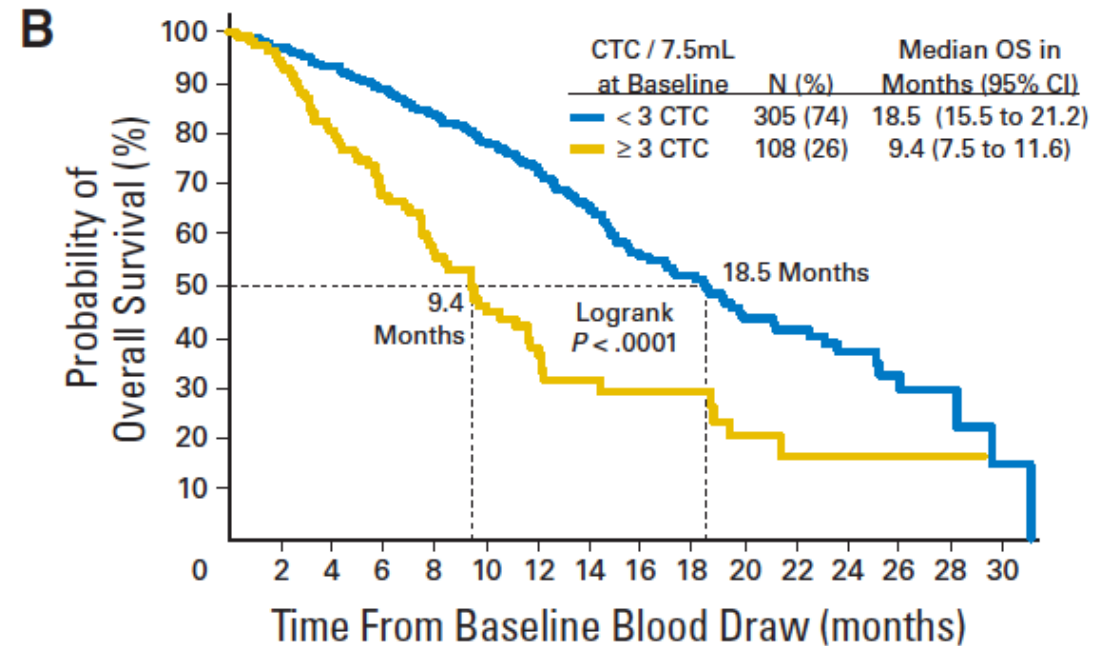
Valeur pronostique indiscutable

Cancers du côlon

Cohen et al, J Clin Oncol 2008; 29: 3213-21



No. of patients at risk															
< 3 CTC	305	269	229	187	138	88	44	32	20	15	8	6	3	0	0
≥ 3 CTC	108	84	60	42	28	16	8	3	2	2	1	0	0	0	0



No. of patients at risk																
< 3 CTC	305	289	276	252	227	180	134	107	78	60	43	32	22	11	4	2
≥ 3 CTC	108	102	86	66	49	36	24	13	12	11	7	4	2	1	1	0

ADN circulant

Présence d'ADN circulant connue depuis 1948

Fragments de petite taille (< 200 pb)

Maintien d'un environnement nucléosomique

Provient de tissus normaux, de la tumeur, des CTC

Demi-vie très brève (2 heures)

Permet des études génétiques et épigénétiques

Mutations

Amplifications

Réarrangements

Méthylation de promoteurs

ADN circulant

Présence associée à plusieurs situations

AVC et infarctus myocardique

Exercice musculaire intensif

Insuffisance rénale aiguë

Cytolyse hépatique

Traumatismes

Chirurgie

Cancer

ADN tumoral circulant

Sur le plan technique

Réalisable dans tout laboratoire de biologie moléculaire

Nécessité de mettre au point des PCR adaptées

- à la faible quantité d'ADN tumoral circulant**
- à la taille des fragments présents dans la circulation**

Plusieurs travaux initiaux n'ont pas été validés

Nombreuses études en cours

ADN tumoral circulant

Un outil diagnostique à visée thérapeutique

Mutations d'*EGFR*, de *KRAS*, de *BRAF*,

Amplification d'*ERBB2*, réarrangement *EML4-ALK*

Un outil pronostique

Concentration de l'ADNtc

ADN tumoral circulant

Quelques applications possibles, en cours d'étude

Détection précoce des cancers ?

Indication de thérapies ciblées

Évaluation de la réponse au traitement

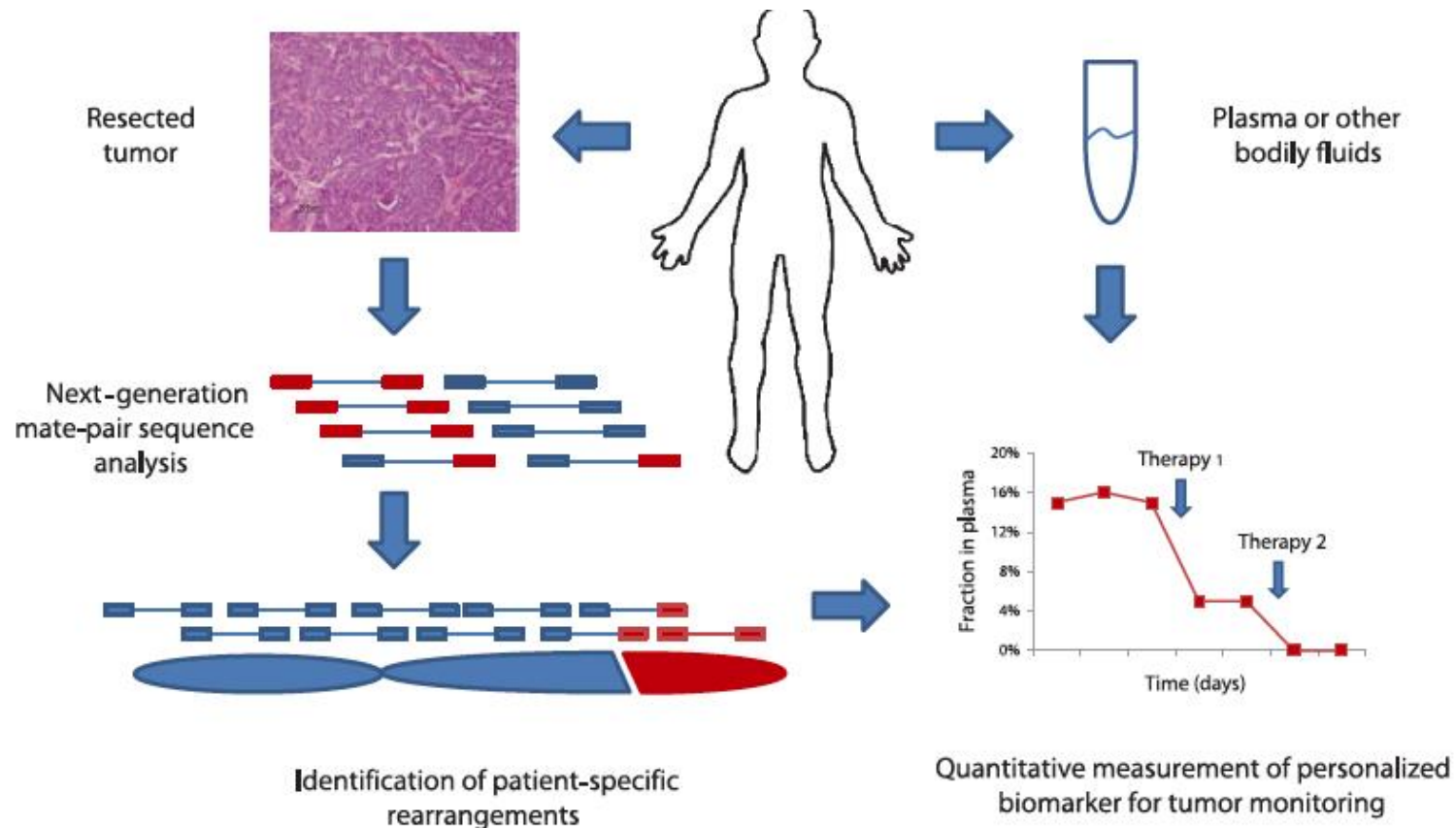
Recherche de la maladie résiduelle

Recherche de mutations de résistance

ADN tumoral circulant

Suivi de la maladie cancéreuse en temps réel

Leary et al, Sci Transl Med 2010; 2: 20ra14



Biopsies liquides

Elles apporteront un progrès considérable

Nombreuses études de validation en cours

Les CTC restent de maniement délicat

Matériel coûteux, personnel spécialisé

L'ADN circulant est approprié à une utilisation de routine

Mieux dédié à des usages variés

Permet le suivi de la maladie cancéreuse en temps réel