

LES AUTEURS NOUS EXPLIQUENT...

Cette rubrique est destinée aux auteurs qui, ayant publié un travail original dans une revue internationale, désirent le porter à la connaissance d'un public francophone. Un résumé et une analyse commentée des auteurs sont alors proposés.

Analyse pharmacogénétique de la toxicité et de l'efficacité de la chimiothérapie chez des patients traités par LV5FU2, FOLFOX et FOLFIRI pour un cancer colorectal métastatique : résultats issus d'une étude randomisée de stratégie thérapeutique (FFCD 2000-05)

Pharmacogenetic assessment of toxicity and outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with LV5FU2, FOLFOX, and FOLFIRI: FFCD 2000-05

Valérie Boige, Jean Mendiboure, Jean-Pierre Pignon, Marie-Anne Loriot, Marine Castaing, Michel Barrois, David Malka, David-Alexandre Trégouët, Delphine Le Corre, Isabelle Miran, Claire Mulot, Michel Ducreux, Philippe Beaune, Pierre Laurent-Puig

J Clin Oncol 2010 May 20;28(15):2556-64.
boige@igr.fr

■ Résumé

L'objectif de ce travail était la recherche de biomarqueurs moléculaires prédictifs de la tolérance et de l'efficacité des chimiothérapies utilisées dans le colorectal (CCR) métastatique. Nous avons effectué le génotypage de 20 polymorphismes présents au sein de 9 gènes connus ou suspectés d'être impliqués dans la voie du 5FU, de l'oxaliplatine, ou de l'irinotécan, à partir de l'ADN extrait du sang de 346 patients traités dans le cadre d'un essai de phase III. Cet essai comparait une chimiothérapie séquentielle par 5FU (schéma LV5FU2) suivie d'une association 5FU plus oxaliplatine (schéma FOLFOX) à une chimiothérapie combinée de type FOLFOX d'emblée en première ligne de traitement. Nous avons trouvé un risque de toxicité hématologique sévère sous FOLFOX significativement augmenté chez les patients porteurs de l'allèle ERCC2-K751QC. La présence de l'allèle TS-5'UTR3RG du gène de la thymidylate synthase était associée à un taux de réponse significativement plus élevé sous LV5FU2. Le taux de réponse au FOLFOX en 2^e ligne était significativement supérieur chez les patients porteurs de l'allèle ERCC1-IVS3+74G, et chez ceux ayant au moins un allèle de GSTT1 présent. L'analyse

prédictive a montré un effet dépendant du traitement de certains polymorphismes. En effet, une survie sans progression significativement allongée par l'ajout de l'oxaliplatine en 1^{re} ligne a été observée uniquement chez les patients ayant un génotype TS-5'UTR2R/2R ou 2R/3R, suggérant l'absence de bénéfice d'une bithérapie par FOLFOX d'emblée en première ligne chez les patients TS-5'UTR3R/3R. Ces résultats montrent que l'étude des polymorphismes constitutionnels permettent de prédire non seulement la toxicité mais aussi l'efficacité des chimiothérapies antitumorales du cancer colorectal, et ainsi (sous réserve d'une validation sur une population indépendante) d'orienter la stratégie thérapeutique à l'échelle de l'individu.

■ Contexte et objectifs

Ces 15 dernières années, d'importants progrès ont été réalisés dans le domaine de la chimiothérapie du cancer colorectal (CRC) ayant permis d'allonger la médiane de survie globale (SG) des patients métastatiques à plus de 20 mois. Outre une meilleure utilisation du 5FU, la disponibilité de l'irinotécan, de l'oxaliplatine

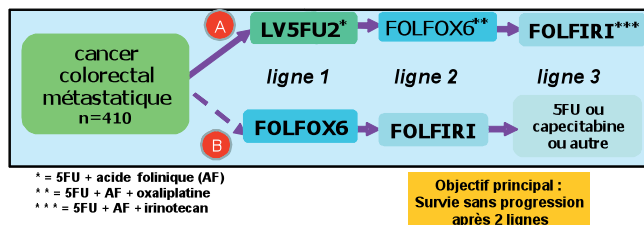


Figure 1
Conception de l'essai FFCD 2000-05

et, plus récemment, des « thérapies ciblées » expliquent, en grande partie, ces améliorations. Cet enrichissement thérapeutique pose toutefois la question de la meilleure stratégie thérapeutique à l'échelle d'un patient donné. En effet, l'efficacité et les toxicités plus fréquemment observées en cas de polychimiothérapie restent imprévisibles et très variables d'un patient à l'autre. L'enjeu est donc de pouvoir identifier, avant d'initier toute chimiothérapie, les patients pour lesquels le traitement sera efficace et bien toléré. Certains biomarqueurs potentiellement prédictifs de l'efficacité et/ou de la toxicité des chimiothérapies utilisés dans le CRC ont été identifiés comprenant, notamment, certains polymorphismes génétiques situés au sein des gènes codant pour les cibles de ces médicaments ou pour les protéines impliquées dans leur métabolisme. Le but de notre étude était l'analyse pharmacogénétique (étude de l'influence des variations de séquence en ADN sur la réponse aux médicaments) des patients inclus dans l'essai de phase III FFCD 2000-05. L'objectif de cet essai stratégique était de comparer, chez des patients métastatiques, une chimiothérapie séquentielle par 5FU suivie d'un schéma FOLFOX en cas de progression (bras A) à une bithérapie par FOLFOX d'emblée (bras B) en termes de SSP après deux lignes sachant qu'en cas de progression sous FOLFOX, les patients étaient traités par FOLFIRI (Fig. 1). En effet, bien que les polychimiothérapies aient été montrées plus efficaces que les monochimiothérapies à base de 5FU en termes de réponse et de survie sans progression (SSP) chez les patients atteints de CRC métastatique, elles augmentent le risque de toxicité. Chez des patients ayant une maladie polymétastatique clairement non-opérable à visée curative, l'objectif prioritaire n'est pas le taux de réponse mais l'obtention d'un contrôle de la maladie durable tout en préservant la qualité de vie. Dans le cadre de cette étude, nous avons effectué le génotypage de 20 polymorphismes au sein de 9 gènes candidats susceptibles d'influencer la toxicité et/ou l'efficacité du 5FU, de l'oxaliplatine et de l'irinotécan, dans le but d'identifier les polymorphismes pronostiques et prédictifs de la toxicité et/ou de l'efficacité de ces différents traitements.

Matériels et méthodes

Nous avons recueilli, de manière prospective, un échantillon de sang périphérique chez 346 des 410 malades inclus dans cet essai randomisé. Après extraction de l'ADN, le génotypage de 20 polymorphismes au sein des gènes suivants a été effectué par

PCR ou QMPSF (Quantitative Multiplex PCR of Short Fluorescent Fragments) : *DPD*, *TS*, *MTHFR*, *ERCC1*, *ERCC2*, *GSTT1*, *GSTM1*, *GSTP1*, et *UGT1A1*. La sélection des polymorphismes a été faite en se basant sur les données de la littérature, sur leur conséquence fonctionnelle supposée, et sur la faisabilité d'une analyse haplotypique.

Les critères de jugement étaient les suivants : la survenue d'une toxicité sévère (grades 3-4 selon la classification NCI-CTC), l'existence d'une réponse objective (selon les critères OMS), la SSP et la SG. Une analyse pronostique de la toxicité et de l'efficacité du 5FU en fonction des génotypes de *TS* et de *MTHFR* a été réalisée sur le sous-groupe des patients recevant une monochimiothérapie par 5FU (LV5FU2) en première ligne (stratégie séquentielle). Une analyse pronostique de la toxicité et de l'efficacité de l'oxaliplatine en fonction des génotypes de *ERCC1*, de *ERCC2*, de *GSTT*, de *GSTM* et de *GSTP* a été réalisée en regroupant tous les patients traités par FOLFOX (1^{re} ligne du bras B + 2^e ligne du bras A) et en stratifiant cette analyse sur le bras de traitement. Une analyse pronostique de la toxicité et de l'efficacité de l'irinotécan en fonction des génotypes de *UGT1A1* a été réalisée en regroupant tous les patients traités par FOLFIRI (2^e ligne du bras B + 3^e ligne du bras A) et en stratifiant cette analyse sur le bras de traitement. Une des particularités de l'étude statistique de ce travail a été, grâce à l'existence d'un bras traité par 5FU seul, de pouvoir réaliser également une analyse prédictive de la toxicité et de l'efficacité de l'oxaliplatine (influence d'un SNP dépendant du traitement) en étudiant les patients traités par LV5FU2 en 1^{re} ligne et les patients traités par FOLFOX en 1^{re} ligne (1^{re} ligne du bras A + 1^{re} ligne du bras B). Étant donné le grand nombre de tests effectués, la valeur du seuil de significativité a été fixée à 0,01. Une analyse multivariée ajustée sur les caractéristiques cliniques pronostiques de la survenue d'une toxicité sévère (âge, sexe et état général) et de la survie (score de Köhne) a été effectuée. Pour construire les haplotypes et étudier leur effet pronostique sur la toxicité et l'efficacité, le logiciel THESIAS a été utilisé.

Résultats

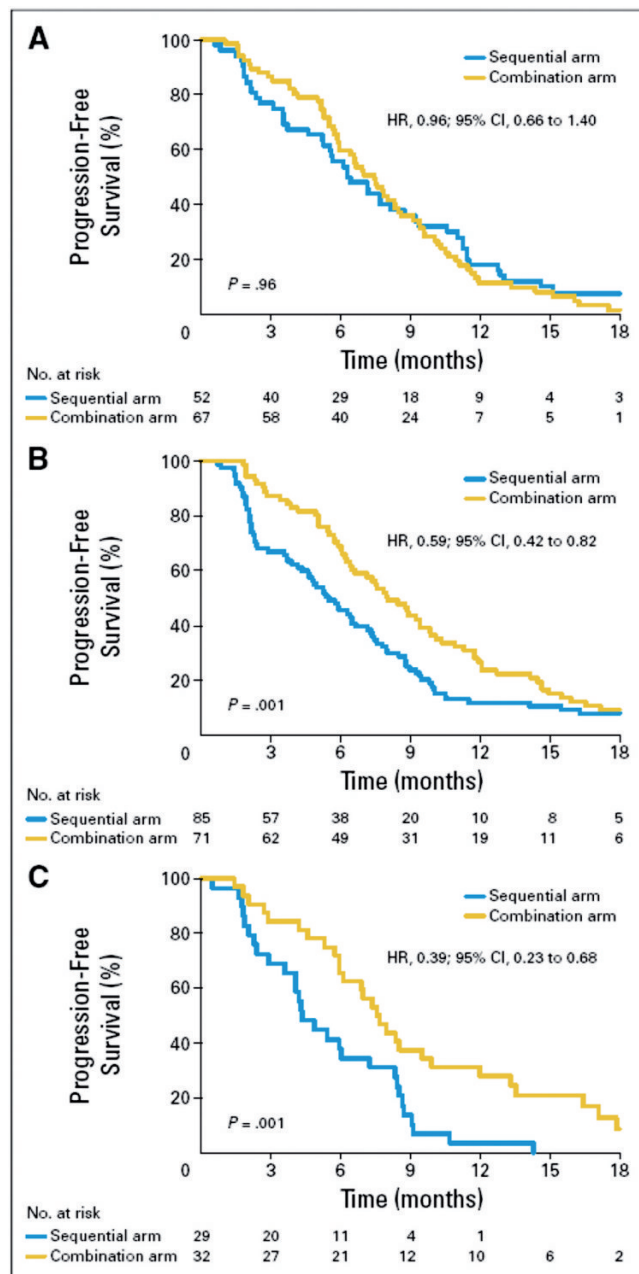
Hormis 2 patients présentant une mutation de *DPD* ayant présenté une toxicité hématologique sévère sous 5FU, aucun génotype n'était significativement associé à la survenue d'une toxicité hématologique ou digestive sévère sous LV5FU2, ou d'une neurotoxicité de grade ≥ 2 sous FOLFOX. Le risque de toxicité hématologique de grades 3-4 sous FOLFOX était augmenté de manière significative chez les patients porteurs de l'allèle variant *ERCC2-K751QC* ($p = 0,01$ en analyse multivariée) et augmenté de manière non-significative sous FOLFIRI chez les patients porteurs de l'haplotype *UGT1A1-7A* ($p = 0,04$). La présence d'un allèle *TS-5'UTR3RG* était associée à un taux de réponse significativement plus élevé sous LV5FU2 ($p = 0,009$) mais pas sous FOLFOX ($p = 0,46$). Aucun génotype n'était pronostique de la réponse tumorale sous FOLFOX mais l'analyse prédictive a montré un effet dépendant du traitement du génotype *MTHFR-1298A>C*, car l'effet de l'oxaliplatine sur la réponse

augmentait avec le nombre d'allèles *MTHFR-1298C* (respectivement OR = 1,57 intervalle de confiance à 95 % (IC) [0,97-2,56] ; OR = 2,61 [1,47-4,66] ; OR = 6,35 [1,42-28,45], $p = 0,008$ en analyse multivariée). En considérant uniquement les patients recevant le FOLFOX en 2^e ligne après échec du FU dans le bras chimiothérapie séquentielle (effet plus spécifique de l'oxaliplatine sur la réponse), le taux de réponse était significativement supérieur chez les patients porteurs de l'allèle *ERCC1-IVS3+74G* ($p = 0,01$ en analyse univariée, et $p = 0,02$ en analyse multivariée). Dans ce même groupe de patients, un taux de réponse significativement meilleur sous FOLFOX a été observé chez les patients ayant au moins un allèle de *GSTT1* présent ($p = 0,01$). Le génotype de *UGT1A1* n'était pas prédictif de la réponse au FOLFIRI.

Aucun génotype n'était globalement pronostique de la SSP. En revanche, l'analyse prédictive de la SSP a montré une SSP significativement allongée par l'ajout de l'oxaliplatine en 1^{re} ligne uniquement chez les patients ayant un génotype *TS-5'UTR2R/2R* ou *2R/3R* (respectivement HR, 0,39 ; IC 95 % [0,23-0,68] ; HR 0,59 ; [0,42-0,82]). Inversement, le patient ayant un génotype *TS-5'UTR3R/3R* ne semblait pas bénéficier d'une bithérapie avec oxaliplatine en 1^{re} ligne (HR 0,96 ; 95 % CI, 0,66-1,40) (Fig. 2). Seul le génotype *GSTP1-590C>T* était pronostique en termes de survie globale. L'analyse haplotypique n'a pas révélé d'autre corrélation pertinente.

Discussion

Les données de la littérature et de notre étude illustrent bien le fait qu'une partie de la variabilité interindividuelle de tolérance et d'efficacité des chimiothérapies du CRC est liée au génome constitutionnel des individus et, par conséquent, l'intérêt d'une approche basée sur la pharmacogénétique pour identifier de nouveaux biomarqueurs pronostiques et prédictifs, dans la perspective d'un traitement personnalisé. Néanmoins, de nombreux résultats restent discordants pour plusieurs raisons : le manque de puissance de la plupart des études incluant des effectifs de patients insuffisants, les biais induits par le caractère très souvent rétrospectif des analyses, l'hétérogénéité des populations étudiées en termes d'ethnies, de situations cliniques, de schémas d'administration et de compositions des chimiothérapies administrées, illustrant bien l'impact des interactions gène-environnement insuffisamment pris en compte. En outre, le caractère très polymorphe de la plupart des gènes impliqués dans le déterminisme de l'action des médicaments anticancéreux rend l'analyse d'un seul polymorphisme fonctionnel insuffisante. Nous avons effectué une étude pharmacogénétique globale ayant testé, de manière prospective, 20 polymorphismes au sein de 9 gènes candidats potentiellement impliqués dans la toxicité et/ou l'efficacité du 5FU, de l'oxaliplatine et de l'irinotécan qui sont les trois principaux cytotoxiques utilisés dans le traitement de CRC. De ce point de vue, il s'agit du travail le plus exhaustif réalisé dans ce domaine. Le fait que l'étude porte sur 346 patients homogènes du point de vue clinique (tous en situation de CRC métastatiques traités avec des schémas thérapeutiques



Survie sans progression en fonction du génotype de TS-5'UTR

(A) TS-5'UTR3R/3R

(B) TS-5'UTR2R/3R

(C) TS-5'UTR2R/2R

identiques) inclus dans un essai thérapeutique est fondamental, notamment pour le descriptif des toxicités qui ne peut être fiable que dans un contexte de recueil prospectif.

Contrairement aux données de trois études précédemment publiées [1], nous n'avons pas trouvé d'impact du génotype de *TS* sur la toxicité du 5FU chez les 168 patients traités par le

schéma LV5FU2. Cependant, il s'agit d'un schéma de type LV5FU2 simplifié globalement très bien toléré (toxicité sévère observée chez 4 à 8 % des patients de l'essai FFCD 2000-05) et peu étudié dans les études pharmacogénétiques antérieures.

Notre étude ne confirme pas l'influence du génotype de *GSTP1-105A/G* sur la survenue d'une neurotoxicité de grade ≥ 2 secondaire à l'oxaliplatine. Cependant, les données de la littérature sont contradictoires à cet égard [2,3]. Dans notre étude, les patients porteurs de l'allèle *ERCC2-K751QC* avaient un risque augmenté de toxicité hématologique sévère sous FOLFOX. Cet allèle, tout comme *ERCC2-D312NA*, serait associé à un taux d'adduits à l'ADN supérieur et donc à une moindre capacité de réparation de l'ADN par le système NER (Nucleotide Excision Repair). L'oxaliplatine pourrait donc être plus toxique par ce biais. Nous confirmons, dans notre étude, une toxicité hématologique plus fréquente sous irinotécan chez les patients porteurs de l'haplotype *UGT1A1-7A* [4]. Le fait que ce résultat n'atteigne pas le seuil de significativité est probablement lié au fait que les patients recevaient le FOLFIRI en 2^e ou 3^e ligne thérapeutique et que, de ce fait, d'autres facteurs acquis interviennent dans la survenue d'une toxicité hématologique chez ces patients lourdement prétraités.

Dans un groupe homogène de 156 patients traités par LV5FU2, nous avons trouvé un taux de réponse significativement augmenté chez les porteurs de l'allèle *TS-5'UTR3RG*. Ce résultat paraît surprenant dans la mesure où ce génotype est habituellement associé une augmentation d'expression de la TS et que plusieurs études avaient montré un taux de réponse moindre en cas de surexpression de la protéine. Les études pharmacogénétiques antérieures ont toutefois rapporté des résultats contradictoires en ce qui concerne l'influence du génotype de TS : certaines avaient montré un meilleur taux de réponse en cas d'allèle *2R* ; d'autres, en cas d'allèle *3R* ; enfin, d'autres n'avaient pas montré d'influence de ce génotype [5]. Ces discordances sont liées au moins en partie au caractère souvent rétrospectif de ces études incluant un faible effectif de patients hétérogènes en termes de stade tumoral et de schémas thérapeutiques utilisés. Il est intéressant de souligner que dans la seule étude réalisée au moins en partie de manière prospective, le taux de réponse était presque doublé en cas de génotype *3R/3R* mais le polymorphisme *G > C* SNP au sein de l'allèle *3R* n'avait pas été recherché [5]. Une autre source de discordance de ces résultats est aussi liée à l'utilisation ou non de l'ADN tumoral pour la réalisation du génotypage de *TS*, le gène *TS* étant localisé sur une région chromosomique fréquemment délétée (chromosome 18p) dans le CCR.

Le schéma thérapeutique de l'essai de phase III sur lequel a été réalisée notre étude pharmacogénétique comportant une monothérapie par 5FU *versus* une bithérapie par 5FU + oxaliplatine nous a permis de détecter un effet différentiel en fonction du bras de traitement comportant, ou non, de l'oxaliplatine. Ainsi, nous avons mis en évidence une influence dépendante du traitement du polymorphisme *MTHFR-1298A > C*, car l'effet de l'oxaliplatine sur la réponse au traitement augmentait avec le nombre d'allèles *MTHFR-1298C*. Contrairement aux données obtenues *in vitro*, ce

polymorphisme n'était pas, jusqu'à présent, considéré comme pronostique de la réponse au traitement par 5FU seul, mais a récemment été montré comme pronostique de la réponse au FOLFOX administré dans le cadre d'un essai de phase III (essai OPTIMOX 2) réalisé dans le CCR métastatique.

Dans notre étude prospective, aucun polymorphisme n'était pronostique de la réponse au FOLFOX en considérant l'ensemble des patients traités en 1^{re} et 2^e lignes par ce schéma thérapeutique. Cependant, en ne considérant que les patients traités en 2^e ligne après échec du 5FU dans le bras séquentiel, un meilleur taux de réponse était observé chez les patients porteurs de l'allèle variant *ERCC1-IVS3+74G*, ainsi que chez les patients ayant au moins un allèle du gène *GSTT1*. Il est hautement probable qu'il s'agisse d'un effet pronostique spécifique de la réponse à l'oxaliplatine, dans la mesure où les patients répondeurs au FOLFOX après échec du 5FU bénéficient vraisemblablement davantage de l'effet antitumoral de l'oxaliplatine. Les GST étant impliquées dans la détoxification des xénobiotiques, il paraît logique de supposer *a priori* que les patients ayant un génotype nul répondent mieux aux traitements cytotoxiques, comme cela a été suggéré dans plusieurs types de cancers. Pourtant, nos résultats montrent un meilleur taux de réponse au FOLFOX après échec du 5FU chez les patients ayant au moins un allèle de *GSTT1*. Ces résultats sont concordants avec ceux de plusieurs études, incluant une étude pharmacogénétique récente ayant analysé 156 patients traités dans un essai randomisé par 5FU avec cisplatine ou oxaliplatine pour un adénocarcinome œsogastrique métastatique [2]. Une des explications pourrait être que l'absence d'activité des GSTs puisse aboutir à une augmentation du taux de glutathion intracellulaire et, par ce biais, à une diminution des capacités de liaison du sel de platine à l'ADN car il a été montré que le glutathion est capable de se lier au cisplatine.

L'analyse prédictive, réalisée grâce à l'existence d'un bras de traitement avec et sans oxaliplatine, nous a permis de mettre en évidence un effet dépendant du traitement du génotype *TS-5'UTR* sur la SSP. En effet, l'amélioration significative de SSP apportée par l'oxaliplatine est limitée aux sous-groupes des patients *TS-UTR5'2R/2R* ou *2R/3R*, ce qui suggère que seuls ces patients bénéficient du FOLFOX en première ligne. La SSP des patients *TS-UTR5'3R/3R* étant non significativement différente sous LV5FU2 et sous FOLFOX, on pourrait se contenter, chez ces patients, d'une chimiothérapie de 1^{re} ligne par LV5FU2. Le moins bon pronostic des patients *TS-UTR5'2R/2R* sous 5FU seul a déjà été constaté en situation métastatique ou adjuvante. Deux autres études de phases III ont également validé le concept de chimiothérapie séquentielle chez les patients ayant un CCR métastatique inopérable. De ce fait, une chimiothérapie première par 5FU ou un de ses analogues en monothérapie est une option valable en situation non-curative. Dans cette optique, notre étude pharmacogénétique permet de mieux cibler les patients chez qui cette attitude est plus appropriée et constitue donc un pas vers une personnalisation du traitement du CCR métastatique. Cependant, il serait nécessaire de valider une telle approche par d'autres études étant donné le risque de faux-positifs engendré par la

multitude de tests effectués dans le cadre de cette analyse pharmacogénétique. Ceci est d'autant plus nécessaire que les 3 essais comparant chimiothérapie séquentielle *versus* bithérapie d'emblée n'ont pas incorporé les thérapies ciblées comme le bevacizumab ou le cetuximab ayant une AMM en première ligne thérapeutique en situation métastatique. Si nos résultats étaient confirmés, ils pourraient également aider à sélectionner les patients bénéficiant davantage du FOLFOX actuellement recommandé en situation adjuvante dans les CCR de stade III par rapport au 5FU seul.

■ Conclusion et perspectives

Ces résultats issus d'une étude prospective montrent que certains polymorphismes constitutionnels sont non seulement prédictifs de la toxicité des chimiothérapies cytotoxiques, mais aussi de la réponse tumorale au traitement. Le schéma de cet essai comportant un bras de traitement avec ou sans oxaliplatine nous a permis d'identifier un sous-groupe de patients bénéficiant davantage d'une association 5FU/oxaliplatine en première ligne thérapeutique. Ces résultats constituent donc une avancée vers une stratégie thérapeutique personnalisée adaptée en fonction des caractéristiques du génome constitutionnel du patient. Il est toutefois nécessaire de valider ces résultats sur des populations indépendantes de patients traités dans les mêmes conditions

avant d'entreprendre des essais prospectifs de stratégie thérapeutique basés sur des résultats de pharmacogénétique qui constituent la preuve scientifique ultime de la validité des données obtenues.

■ Références

1. Schwab M, Zanger UM, Marx C, et al: Role of genetic and non-genetic factors for fluorouracil treatment-related severe toxicity: a prospective clinical trial by the German 5FU Toxicity Study Group. *J Clin Oncol* 2008;26:2131-8.
2. Goekkurt E, Al-Batran SE, Hartmann JT, et al. Pharmacogenetic analyses of a phase III trial in metastatic gastroesophageal adenocarcinoma with fluorouracil and leucovorin plus either oxaliplatin or cisplatin: a study of the *arbeitsgemeinschaft internistische onkologie*. *J Clin Oncol* 2009;27:2863-73.
3. Ruzzo A, Graziano F, Loupakis F, et al. Pharmacogenetic profiling in patients with advanced colorectal cancer treated with first-line FOLFOX-4 chemotherapy. *J Clin Oncol* 2007;25:1247-54.
4. Hoskins JM, Goldberg RM, Qu P, et al. UGT1A1*28 genotype and irinotecan-induced neutropenia: dose matters. *J Natl Cancer Inst* 2007;99:1290-5.
5. Jakobsen A, Nielsen JN, Gyldenkerne N, et al. Thymidylate synthase and methylenetetrahydrofolate reductase gene polymorphism in normal tissue as predictors of fluorouracil sensitivity. *J Clin Oncol*. 2005;23:1365-9.