

SOMMAIRE

INTRODUCTION

1	EPIDEMIOLOGIE	3
1.1	INCIDENCE ET MORTALITE	3
1.2	FACTEURS DE RISQUE	4
1.3	EVOLUTION ET PRONOSTIC	5
2	NOTIONS DE CARCINOGENESE	6
2.1	NOTION DE CLONALITE	7
2.2	CANCEROGENESE MULTI-ETAPES	8
3	PRINCIPALES ANOMALIES BIOLOGIQUES DANS LES CE DES VADS	9
3.1	ALTERATION DE LA VOIE P53	9
3.2	CDKN2A, P16 ET PRB	11
3.3	PD1 / PDL1	12
3.4	EPIDERMAL GROWTH FACTOR RECEPTOR : EGFR	14
3.4.1	<i>Famille des HER</i>	14
3.4.2	<i>Activation du récepteur</i>	15
3.4.3	<i>Voie de signalisation intracellulaire</i>	16
3.4.3.1	La voie RAS	16
3.4.3.2	La voie PI3K	17
3.4.3.3	Autres voies intracellulaires	18
3.4.4	<i>Inactivation de l'EGFR</i>	19
3.5	MICRO-ENVIRONNEMENT TUMORAL	19
4	PRINCIPES THERAPEUTHIQUES	20
4.1	STADES PRECOCES (I ET II)	20
4.2	STADES AVANCES (III ET IV)	20
4.3	PATIENTS METASTATIQUES	21
5	APPORTS DES THERAPIES CIBLEES	22
5.1	GENERALITES	22
5.2	CETUXIMAB	23
5.2.1	<i>Association Radiothérapie-Cetuximab (RTCx)</i>	24
5.2.2	<i>Association à une poly-chimiothérapie</i>	25
5.2.3	<i>Effets secondaires</i>	27
5.2.4	<i>Facteurs prédictifs de réponse ou de résistance au Cetuximab</i>	28
5.2.4.1	Expression EGFR (IHC / copie de gènes)	28
5.2.4.2	Mutation du récepteur EGFR	29
5.2.4.3	Mutation KRAS	29
5.2.4.4	Mutation BRAF	30
5.2.4.5	Altération de la voie PI3K /PTEN	30
5.2.4.6	Variation KRAS LCS6 (rs61764370).	30
6	PROBLEMATIQUE	32

PATIENTS ET METHODES

1	PATIENTS	33
2	OBJECTIFS	33

SOMMAIRE

2.1	OBJECTIF PRINCIPAL	33
2.2	OBJECTIFS SECONDAIRES	33
3	CRITERE D'EVALUATION	34
3.1	CRITERE D'EVALUATION PRINCIPAL	34
3.2	CRITERES D'EVALUATIONS SECONDAIRES	34
4	RECUEILS DE DONNEES	34
5	ANALYSES MOLECULAIRES	35
5.1	SELECTION DES ECHANTILLONS ET EXTRACTION D'ADN	35
5.2	ANALYSES DES VARIANTS KRAS	35
5.2.1	PCR d'amplification	36
5.2.2	Réaction de séquence	37
6	STATISTIQUE :	38

RESULTATS

1	DESCRIPTION GENERALE DE LA POPULATION DE L'ETUDE	39
1.1	LESIONS INITIALES	39
1.2	PRISE EN CHARGE PALLIATIVE	40
2	DESCRIPTION DE LA POPULATION AYANT BENEFICIE DES ANALYSES GENOTYPIQUES (N=111)	42
3	OBJECTIF PRINCIPAL ET SURVIE SELON LE GENOTYPE	42
4	SURVIE SELON LE TRAITEMENT REÇU	45
5	AUTRES RESULTATS	45

DISCUSSION

1	CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION	47
2	LIMITES DE L'ETUDE	48
3	ROLE DE LA VARIATION KRAS LCS6.	48
3.1	ANALYSE GENETIQUE ET FREQUENCE DE LA VARIATION	48
3.2	EFFET DE LA VARIATION KRAS LCS6	49
3.2.1	Un facteur de risque de cancer ?	49
3.2.2	Un facteur pronostic ?	50
3.2.3	Un facteur prédictif de réponse au Cetuximab?	51
4	CETUXIMAB	53
4.1	APPORT DU CETUXIMAB	53
4.2	CETUXIMAB ET RASH CUTANE	54
4.3	BENEFICE ET ETAT GENERAL	55

CONCLUSION	58
------------	----

BIBLIOGRAPHIE	59
---------------	----

INTRODUCTION

1 EPIDEMIOLOGIE

1.1 Incidence et mortalité

Selon les données de l'INCa, les cancers des voies aéro-digestives supérieures (VADS) représentaient 14638 cas pour 4098 décès en 2012. Bien qu'ils touchent de manière prépondérante les hommes (74%), leur incidence augmente chez la femme (+1% par an depuis 2005), tandis qu'elle diminue chez l'homme (-5% par an depuis 2005)¹. Concernant la mortalité, cette évolution inverse ne se retrouve pas, avec une diminution nette chez les hommes (-6.5% par an) et plus faible chez les femmes (-2.2% par an). Les modélisations réalisées à partir des recueils de données du réseau FRANCIM de 1990 à 2005 montraient déjà cette tendance qui se poursuit encore actuellement (Figure 1). Le pic de fréquence se situe entre 50 et 65 ans. Les carcinomes épidermoïdes (CE) représentent 90% de ces cancers².

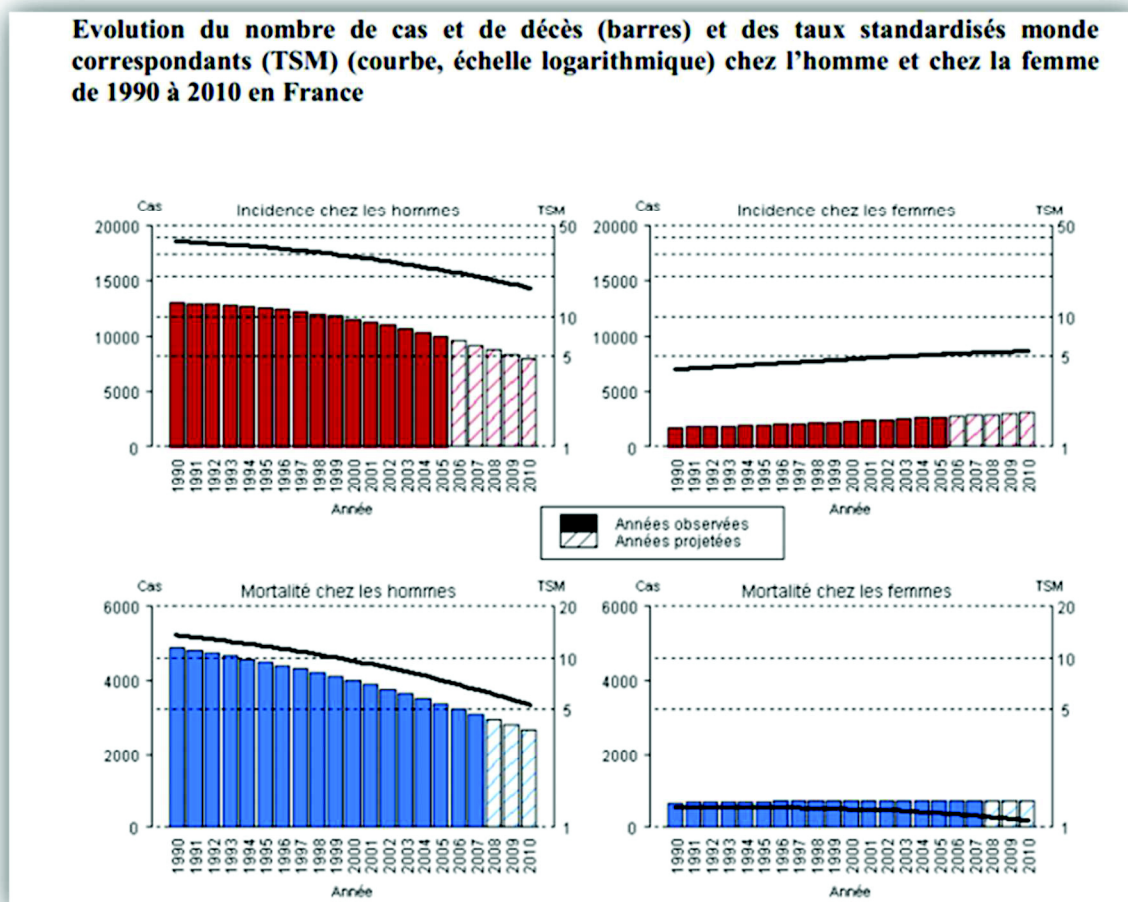


Figure 1 : Modélisation de l'incidence et de la mortalité des carcinomes épidermoïdes chez l'homme et la femme en 2010, d'après Bossard et al³.

1.2 Facteurs de risque

Les principaux facteurs de risque des cancers des VADS sont le tabagisme, avec une relation dose-effet, le risque étant majeur à partir de 20 PA (RR 10 - 12) et la consommation éthylique, elle aussi avec une relation dose-effet (RR 2 à 4)⁴. Les deux ont un effet synergique avec un risque majeur chez les grands fumeurs et grands buveurs (RR = 15)⁵.

L'évolution de la prévalence est principalement liée aux modifications de comportements vis-à-vis de ces deux facteurs. On note en effet, en France, une diminution de la consommation d'alcool constante au cours des ans (diminution de 50% depuis 1960)⁶. La consommation tabagique quotidienne reste quant à elle stable chez les hommes, mais en augmentation significative chez les femmes et plus particulièrement entre 45 et 64 ans, âge où l'incidence des cancers des VADS est la plus forte⁷. Cette recrudescence peut expliquer les changements épidémiologiques précédemment cités.

D'autres facteurs sont parfois évoqués : carences vitaminiques, noix de Bétel, immunosuppression, exposition au nickel ou à l'amiante, mais l'évolution majeure au niveau mondial reste l'émergence des cancers oropharyngés induits par le Human Papilloma Virus (HPV)⁸. Les sérotypes 16 et, dans une moindre mesure, 18, sont les principaux impliqués. Dans certains pays comme les Etats-Unis, la prévalence de carcinomes oropharyngés viro-induits serait proche de 80%⁸. En France, seule une étude multicentrique a été réalisée, retrouvant la présence d'HPV dans 46,5% des cancers oropharyngés et 10% des carcinomes épidermoïdes buccaux, avec une prédominance chez la femme⁹. Cette prévalence varie entre régions et est plus faible dans les zones à forte intoxication alcoolo-tabagique telles que la Normandie⁹.

Il semble que ces cancers induits par HPV soient une entité à part entière : profil clinique différent (patients plus jeunes, non alcoolo-tabagiques, meilleure survie globale et sans récurrence, meilleure radio et chimio sensibilité), profil génétique différent (moins de mutations au sein des cellules tumorales, inhibition de p53 et de pRb par les protéines virales E6, E7), histoire clinique différente avec une atteinte ganglionnaire plus fréquente mais également un meilleur pronostic global¹⁰. Néanmoins, il n'existe pas de protocole de prise en charge particulière de ces néoplasies en pratique courante à l'heure actuelle.

1.3 Evolution et pronostic

Les carcinomes épidermoïdes ORL sont des cancers de mauvais pronostic. Le taux de survie globale, tous stades confondus, est de l'ordre de 50% à 5 ans¹¹. Cette survie est évidemment liée à l'extension de la maladie au moment de sa prise en charge initiale. Celle-ci est évaluée grâce au stade TNM et AJCC défini en fonction de l'évolution locale et de l'extension ganglionnaire et métastatique (Tableau 1). Ainsi, d'une survie de 90% à 5 ans pour des stades précoces (Stade I et II)¹², celle-ci chute pour les stades avancés non métastatiques (Stade III à IVb) avec une survie à 5 ans variant de 20%¹² à 40%¹³. Le pronostic global est d'autant plus sombre que nombre de patients se présentent d'emblée avec des tumeurs de stade avancé¹³.

TNM			
<i>Stade 0</i>	Tis	N0	M0
<i>Stade I</i>	T1	N0	M0
<i>Stade II</i>	T2	N0	M0
<i>Stade III</i>	T3	N0, N1	M0
	T1, T2	N1	M0
<i>Stade IVa</i>	T4a	N0, N1, N2	M0
	T1, T2, T3	N2	M0
<i>Stade IVb</i>	T4b	Tous N	M0
	Tous T	N3	M0
<i>Stade IVc</i>	Tous T	Tous N	M1

Tableau 1 : Stade AJCC d'après l'UICC 7ème édition, 2009

Malgré l'importance du stade initial, de récentes études montrent, pour les carcinomes oropharyngés, l'importance du statut HPV. Il serait pour cette localisation le facteur pronostic principal avant même le stade initial¹⁴. Les autres facteurs pronostics de haut risque de récurrence ou de métastase à distance sont post-opératoires : marges envahies, plus de 2 ganglions métastatiques, rupture capsulaire d'une adénopathie envahie, embolies endo-lymphatiques ou vasculaires, engrammements péri-nerveux¹⁵.

Après traitement d'une tumeur localisée, les récurrences locorégionales sont fréquentes (30 à 40% des cas) et leur traitement difficile en raison des séquelles des traitements initiaux¹².

Le risque de métastase à distance est également proche de 30%, toutes localisations confondues, au cours de la prise en charge¹², et de 10% lors du diagnostic initial¹⁶. Les sites métastatiques préférentiels sont pulmonaires, osseux, et plus rarement hépatiques. Le pronostic de ces patients est sombre avec une survie nulle à 5 ans¹⁷.

2 NOTIONS DE CARCINOGENESE

L'évolution des connaissances sur la biologie et la génétique des cellules tumorales permet aujourd'hui de comprendre la genèse des cancers comme un ensemble de mutations, parfois sur terrain prédisposé, qui permet à la cellule d'acquérir des caractéristiques physiologiques propres. Hanahan, dans ces célèbres « hallmarks of cancer »¹⁸, en recense dix chacune pouvant être à la base de thérapies spécifiques (Figure 3).

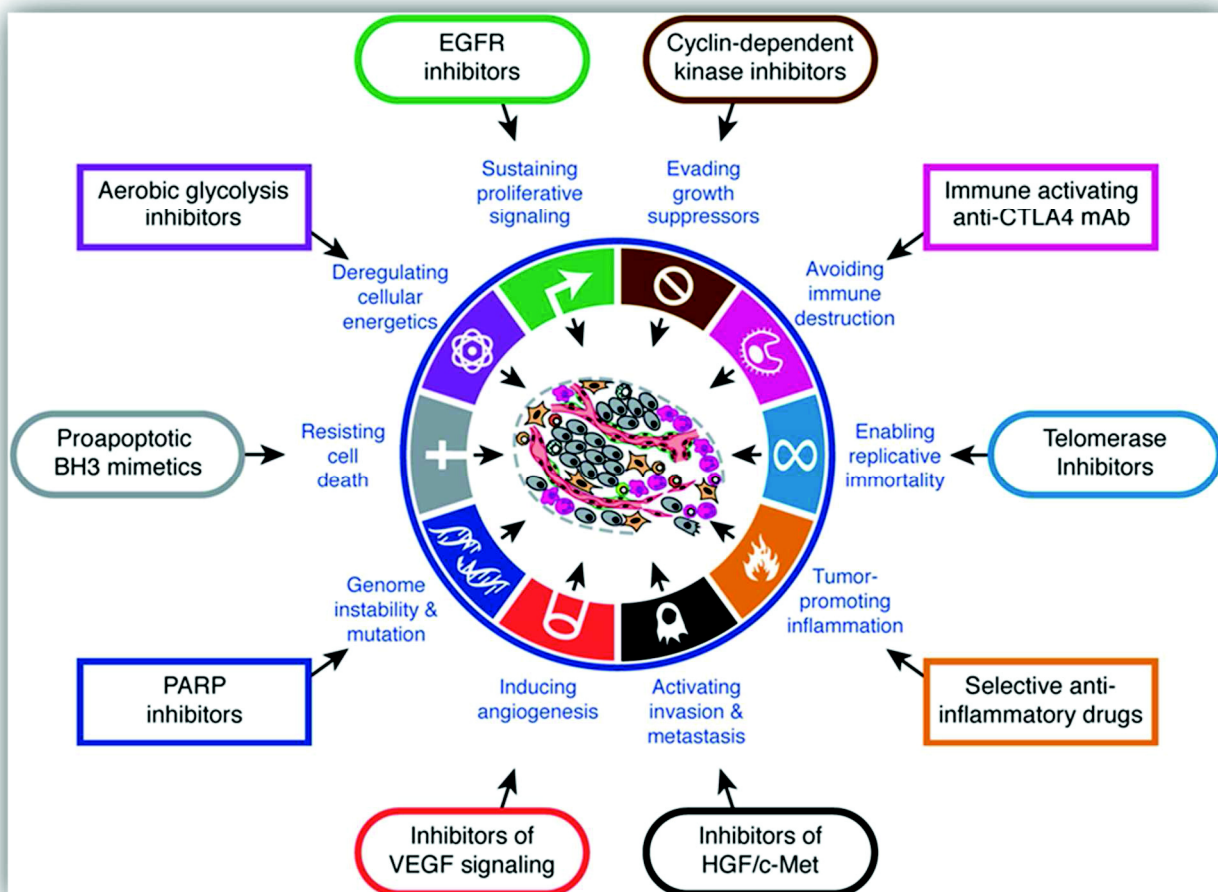


Figure 2 : Caractéristiques acquises des cellules tumorales et cibles thérapeutiques associées, d'après Hanahan¹⁸.

Ces caractéristiques sont :

- Indépendance vis-à-vis des facteurs de croissance ;
- Echappement aux signaux inhibiteurs de croissance ;
- Résistance à la mort cellulaire programmée ;
- Réplication illimitée avec perte de la senescence répllicative et immortalisation ;
- Promotion de la néo-angiogenèse ;
- Perte de l'inhibition de contact et capacité à envahir les tissus adjacents et à distance (métastase) ;
- Reprogrammation du métabolisme énergétique en vue de promouvoir la croissance et la division cellulaire ;
- Echappement aux réponses immunitaires anti-tumorales ;
- Instabilité génomique ;
- Sécrétion par la tumeur elle-même de facteurs péri-tumoraux inflammatoires créant un microenvironnement favorable à la progression locale et à distance.

L'ensemble de ces caractéristiques est issu de processus complexes qui varient selon le type de tumeur et le microenvironnement qui l'entoure.

2.1 Notion de clonalité

Les premiers travaux considérant le tissu tumoral comme provenant d'une anomalie cellulaire débutent avec l'avènement de l'anatomopathologie et notamment les travaux de Müller, puis Vorchow en 1858, Harrison en 1889, puis Fibiger dans ses travaux de 1913 qui lui ont valu le prix Nobel de Médecine en 1926 concluent qu'un facteur déterminé appliqué à un tissu cellulaire peut provoquer la différenciation de celui-ci en tumeur¹⁹.

C'est Slaughter qui finalement introduit la notion de « cancérisation en champ » dans une étude de 1953 dans laquelle il montre l'existence d'anomalies histologiques dans 100% des cas à distance de la lésion initiale et dans 10% la présence d'une seconde lésion indépendante de la première²⁰. C'est le principe de la « muqueuse condamnée » où les mêmes contraintes, comme l'exposition aux carcinogènes, appliquées à un même tissu, vont provoquer une maladie globale de l'ensemble de la muqueuse, ici des VADS. Les lésions précancéreuses comme les leucoplasies en sont le signe visible.

Une meilleure compréhension des anomalies génétiques liées au processus de carcinogénèse a permis que de nombreux travaux s'intéressent à l'application, sur le plan génomique, du principe de cancérisation en champ et à la présence d'anomalies génétiques à distance de la tumeur initiale. Ainsi Voravud et al.²¹ montraient la présence de polysomie au niveau des chromosomes 7 et 17 dans le tissu péri-tumoral, anomalie retrouvée au sein de la tumeur, tandis que ces altérations disparaissaient à distance de la lésion. Ces anomalies peuvent se retrouver à plus de 5mm de la tumeur, marges normalement considérées comme satisfaisantes en cas d'exérèse²².

Plusieurs études sont actuellement en cours afin de mieux déterminer l'extension microscopique après exérèse des lésions et les marges de résection nécessaires. Trois voies de recherche sont principalement suivies : l'étude des anomalies moléculaires en immunohistochimie²³, l'étude des anomalies de l'expression de certains gènes et l'étude de méthylation de gènes cibles²⁴. Il n'existe actuellement pas d'adaptation thérapeutique ou de surveillance basée sur ces observations.

Comment alors expliquer la présence, au sein de ces « champs de cancérisation », de zones présentant des carcinomes invasifs et d'autres zones présentant de simples altérations génétiques ou épigénétiques n'aboutissant pas à une lésion cancéreuse ? De plus, en cas de seconde localisation, le profil génétique peut parfois différer²⁵. Il faut donc considérer l'apparition de ces lésions comme une cancérogénèse multi-étapes et parallèle.

2.2 Cancérogénèse multi-étapes

Au fil du temps se produit une accumulation des anomalies génétiques moléculaires favorisée par l'exposition aux carcinogènes avec, notamment, l'altération des gènes de régulation cellulaire de manière séquentielle : altération de p53 (rôle dans l'induction de l'apoptose), de p16 (rôle dans le contrôle la division cellulaire), de la cycline D1 (progression dans le cycle). A chaque étape, chacune des cellules peut ou non progresser dans les anomalies qu'elle présente et faire évoluer le tissu auquel elle appartient, de la dysplasie légère jusqu'au carcinome invasif avec la possibilité de régression à chaque étape. Cette évolution parallèle des cellules tumorales explique l'hétérogénéité des lésions au sein des champs de cancérisation. Leemans²⁶ en 2011 a proposé un modèle séquentiel reliant ces différentes altérations à l'apparition de tumeurs à partir d'un tissu en passant par des lésions précancéreuses (Figure 3).

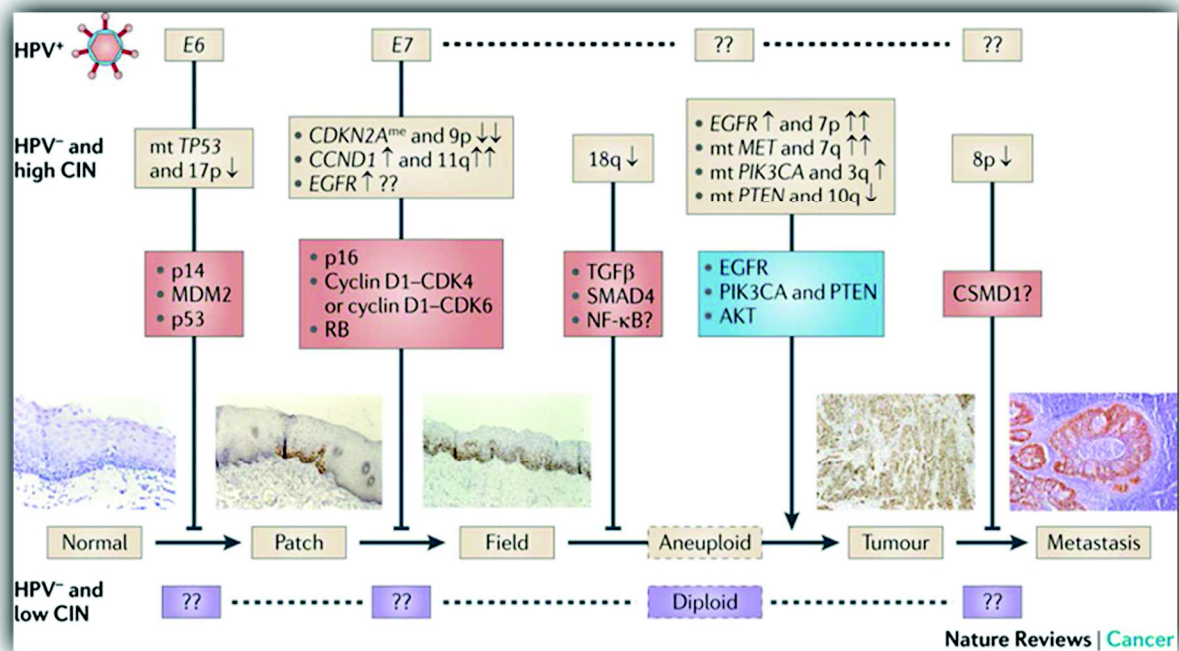


Figure 3 : Modèle de cancérogénèse multi-étapes, d'après Leemans et al.²⁶

3 PRINCIPALES ANOMALIES BIOLOGIQUES DANS LES CE DES VADS

L'apport des nouvelles techniques de séquençage permettant des analyses parallèles à haut débit sur l'ensemble du génome humain, a permis d'identifier les anomalies génétiques principales dans les carcinomes épidermoïdes de VADS. Ainsi Agrawal et al.²⁷ et Stransky et al.²⁸ ont rapporté, de manière simultanée, les principales altérations retrouvées dans ces cancers : *TP53*, *RAS*, *PIK3CA*, *CDKN2A*, *PTEN*, *NOTCH1* et plus rarement *IRF6* et *TP63*. S'y associent également d'autres spécificités telle que l'hyperactivité de la voie PD1/PDL-1 et l'hyper-expression de l'Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR). L'importance et la hiérarchisation de chacune de ces anomalies restent encore incertaines ; néanmoins quelques-unes apparaissent comme prépondérantes : p53, p16, EGFR, PD1/PDL-1 et leurs voies respectives.

3.1 Altération de la voie p53

Plus de la moitié des carcinomes épidermoïdes des VADS est associée à des altérations de *TP53*, gène suppresseur de tumeur présent sur le chromosome 17 et codant la protéine p53²⁷⁻³⁰. Cette protéine a un rôle clé dans le maintien de l'intégrité génétique de la cellule. En cas de

INTRODUCTION

détection d'une altération de l'ADN, l'activation de p53 par séparation du complexe MDM2-p53 va permettre de bloquer le cycle cellulaire et d'induire la réparation de l'ADN ; si les dommages sont trop importants et que la réparation n'est pas possible, p53 va induire l'apoptose cellulaire ou la sénescence³¹.

Les principales voies déclenchées par p53 sont résumées dans la figure 4, les deux plus importantes étant p21 qui, par l'inhibition des protéines CDK1 et CDK2 (Cyclin-Dependant Kinase 1 et 2), va bloquer le cycle cellulaire, et BAX (Bcl-2- Associated protein X) qui, lorsqu'elle est exprimée en plus grande quantité que Bcl-2, va induire le relargage de cytochrome-c et ainsi l'apoptose³².

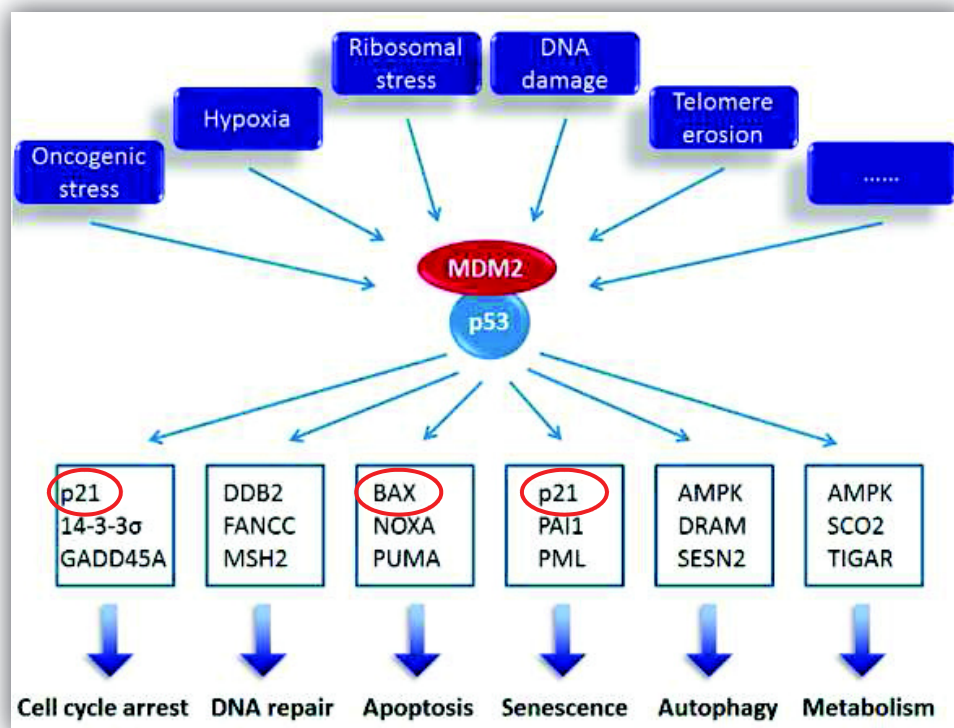


Figure 4 : Principales voies activées par p53 après séparation du complexe MDM2 -p53, d'après Hao et al.³²

On comprend aisément que les altérations de cette voie (hyperexpression de MDM2, altération de p53) jouent un rôle dans l'acquisition de l'immortalisation de la cellule et de la résistance à l'apoptose. Celles-ci ont été retrouvées de manière précoce dans l'apparition de cancers ORL et ce, dès le stade de dysplasie qui présente alors un risque accru de transformation en lésion invasive. Les mutations de *TP53* au sein de la tumeur sont également un facteur de mauvais pronostic concernant la survie et la sensibilité aux traitements de radio et chimiothérapie³³.

Dans les tumeurs HPV positives, l'altération de la voie de p53 ne passe pas par une mutation de *TP53* mais par la synthèse d'une protéine E6 qui va induire une dégradation de p53 et donc une perte de fonction de celle-ci (Figure 5)²⁶. Agrawal et al. notaient d'ailleurs que le nombre de mutations des oncogènes par tumeur était bien moindre dans les tumeurs HPV+ par rapport aux tumeurs HPV- (4.8 vs 20,6), relation qui se confirmait selon l'exposition au tabac (9.5 vs 21.6)²⁷.

3.2 CDKN2A, p16 et pRB

Tout comme pour *TP53*, l'implication du gène codant p16, *CDKN2A* (Cyclin-Dependent Kinase Inhibitor 2A), survient très tôt au cours de l'oncogenèse et ses altérations sont retrouvées dans les champs de cancérisation indemnes de tumeur³⁴.

p16 a un rôle crucial dans le contrôle du cycle cellulaire. Il s'agit d'un inhibiteur des Cycline-Dependant Kinase 4 et 6 (CDK4/CDK6) dont le rôle est de phosphoryler la protéine Ribosomale (pRb), cette phosphorylation provoque la libération de E2F avec lequel pRb réalise un complexe inactif. Une fois libérée, E2F va permettre le passage de la cellule de la phase G1 à la phase S et favoriser la division cellulaire³⁵. La diminution de l'expression de p16 au cours du processus de carcinogénèse va être responsable d'une levée de cette inhibition et favoriser la prolifération cellulaire. Des mutations de *CDKN2A* ont été retrouvées dans 9 à 18% des tumeurs mais son expression est abaissée la plupart du temps, indépendamment de lésions génétiques^{27,36}.

A l'instar des altérations de la voie p53, il est important de différencier ici les tumeurs HPV négatives et HPV positives pour lesquelles l'infection virale va aboutir à une libération de E2F par un biais différent. En effet, l'intégration du génome viral au sein de la cellule va induire la synthèse d'une protéine E7 qui va interagir avec le complexe pRb-E2F et être responsable de la libération permanente de E2F et donc le passage en phase S (Figure 5).

Par un mécanisme de rétrocontrôle, on observera une surexpression de p16, marqueur utilisé en immunohistochimie courante pour différencier les tumeurs HPV+ (tumeur p16+) et HPV- (tumeur p16-). Ce marqueur, bien que sensible, n'est que partiellement spécifique puisque 15 à 20% des tumeurs p16+ sont en réalité HPV- lors de recherches de génome viral par PCR ou par hybridation in situ³⁷⁻³⁹. De plus, ces tumeurs sur-exprimant p16 mais non liées à l'HPV ont un phénotype bien plus proche des tumeurs p16-/HPV- que des tumeurs

p16+/HPV+^{14,37}. Il est donc nécessaire pour diagnostiquer ces tumeurs HPV + d'associer une seconde technique à la détection de p16 en immunohistochimie, que ce soit la recherche d'ADN ou d'ARN spécifique à HPV par PCR ou hybridation in situ³⁹.

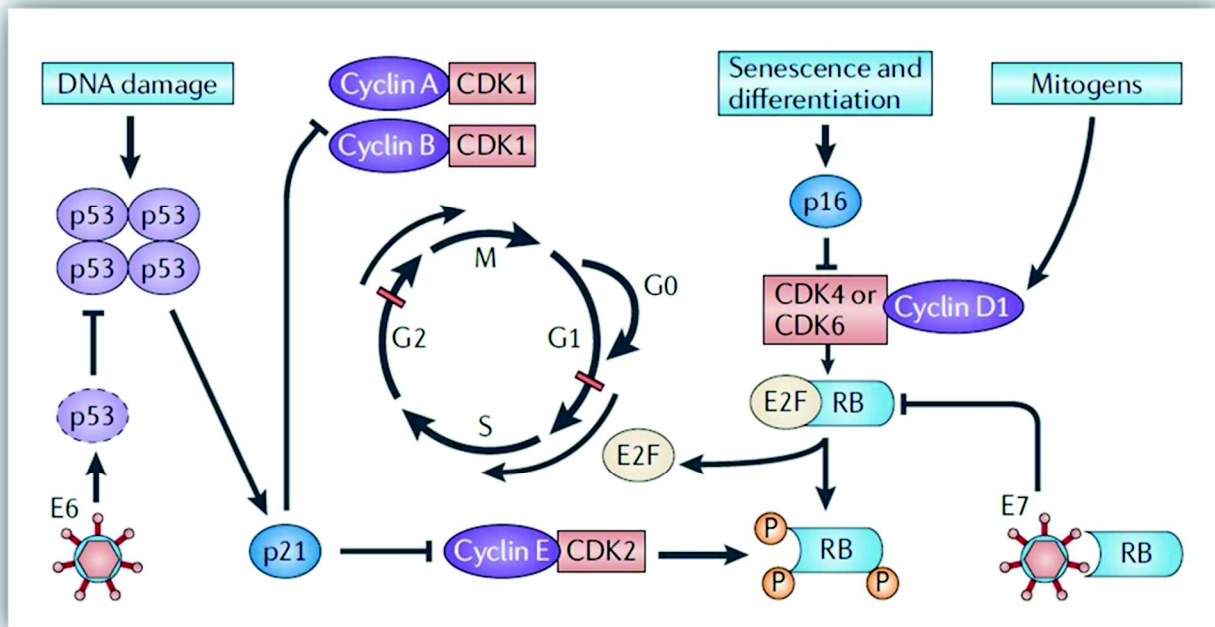


Figure 5 : Altération de p53 et de pRB par action des protéines E6 et E7 dans les carcinomes épidermoïdes HPV+ ou par altération de génomique dans les carcinomes épidermoïdes HPV-. D'après Leemans et al.²⁶

3.3 PD1 / PDL1

L'une des caractéristiques des tissus tumoraux est l'échappement à la réponse immunitaire anti-tumorale¹⁸. Il existe de manière physiologique des points de blocage à la réponse immunitaire médiée par les lymphocytes T et B afin d'éviter les phénomènes d'auto-immunités : les « immune checkpoint ». Certaines cellules tumorales ont la capacité de détourner ces points de contrôle et d'échapper ainsi à la réponse immunitaire cellulaire. L'une de ces voies, actuellement au cœur de recherches dans la thérapeutique de nombreux cancers, est l'interaction PD-1 / PDL-1.

Les lymphocytes T CD8+, CD4+, Natural Killer et B expriment sur leur membrane un récepteur PD1 dont le ligand PDL-1 est, lui, exprimé par la cellule tumorale. L'interaction récepteur-ligand provoque un phénomène de tolérance et bloque l'activation du lymphocyte T

INTRODUCTION

normalement déclenché par l'interaction TCR (T Cell Receptor) - CMH (Complexe Majeur d'Histocompatibilité) (Figure 6)⁴⁰.

Or PDL-1 est surexprimé dans les carcinomes épidermoïdes dans 45 à 70% des cas⁴¹. Cette surexpression semble notamment liée à l'action d'IFN gamma secrété par les cellules NK ou les lymphocytes CD8+ et le microenvironnement péri-tumoral⁴² ce qui peut expliquer qu'elle soit plus importante au sein de tumeurs HPV+, l'interféron gamma étant associé à la réponse immunitaire anti-virale⁴³. De plus la production d'IFN gamma par le lymphocyte T lui-même en cas d'activation va induire l'expression membranaire de PDL-1 et créer un échappement immunitaire adaptatif (Figure 6)⁴⁴.

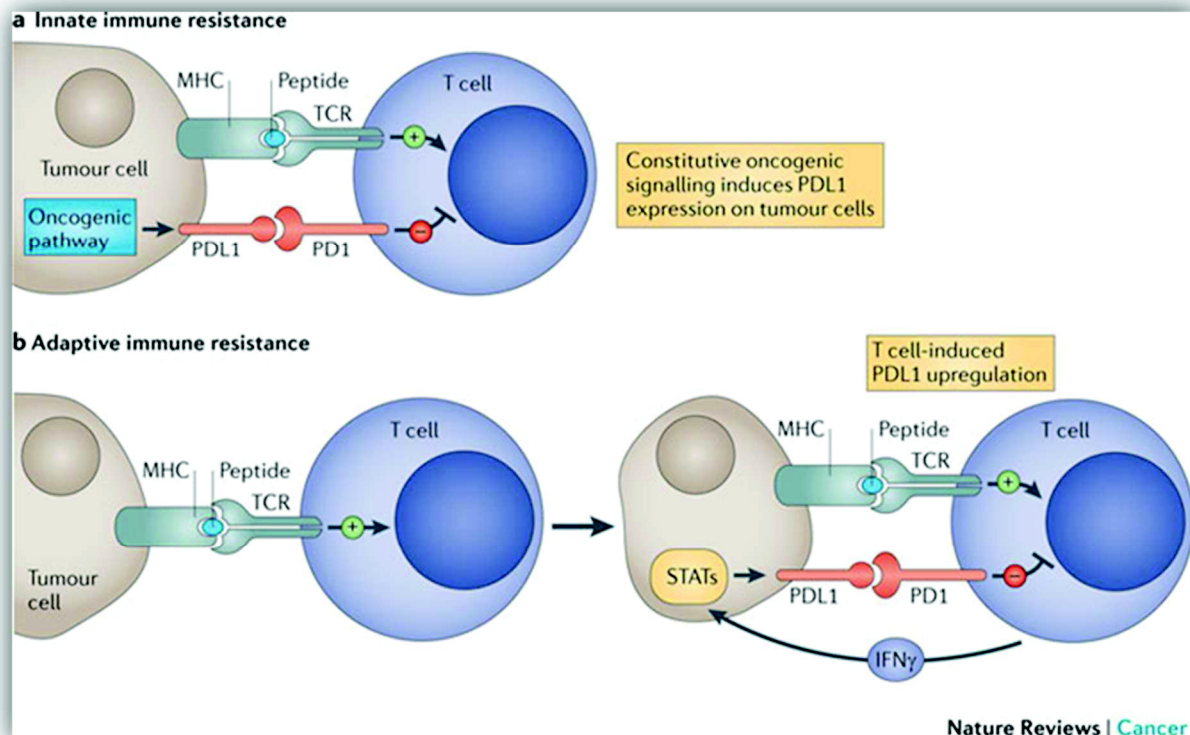


Figure 6 : Mécanisme d'échappement immunitaire inné et acquis par l'interaction PD1-PDL1. D'après Pardoll⁴⁴

En outre, sur une cohorte de 182 patients présentant un carcinome épidermoïde des VADS, Feldman et al. retrouvaient, en plus de la surexpression PDL-1, une hyperexpression de PD1 sur les membranes des lymphocytes infiltrant la tumeur dans 68% des cas renforçant cet échappement²⁹.

Le développement d'anticorps anti-PD1 et anti PDL-1 vise à supprimer le détournement tumoral de ces « immune checkpoint » en bloquant l'interaction récepteur / ligand afin de restaurer la sensibilité de nombreux cancers aux défenses immunitaires naturelles.

Plusieurs essais cliniques ont été présentés lors du congrès de l'ASCO 2016. Parmi ceux-ci on citera les études CheckMate-141 et KEYNOTE-012 qui ont permis de valider l'intérêt en pratique courante de l'inhibition de la voie PD1-PDL1. Ces inhibiteurs, tel que le Nivolumab ou le Pembrozolumab, permettent un bénéfice en survie globale en 2^{ème} ligne de traitement dans les cancers ORL métastatiques. On peut souligner la présence de longs répondeurs chez les patients qui tirent un bénéfice de ce traitement, dans une population avec une médiane de survie minime avec les chimiothérapies standards de 2^{ème} ligne^{45,46}. Des biomarqueurs de sensibilité au traitement sont actuellement recherchés.

3.4 Epidermal Growth Factor Receptor : EGFR

La voie de l'EGFR est l'une des plus importantes voies impliquées dans la cancérogénèse des carcinomes épidermoïdes des VADS. Son hyperactivation, présente dans plus de 90% des cancers ORL, est le plus souvent liée à la surexpression de l'EGFR sur les membranes cellulaires sans qu'il y ait de mutation retrouvée. Dans leur récente étude, Feldman et al.²⁹ retrouvaient une surexpression du récepteur en immunohistochimie dans 90% des tumeurs testées tandis que seul 1% était muté. La connaissance de cette voie est nécessaire pour appréhender les principes des thérapeutiques actuelles qui visent à la bloquer.

3.4.1 Famille des HER

L'Epidermal Growth Factor Recepteur (EGFR) est un récepteur à tyrosine-kinase appartenant à la famille des récepteurs HER, comprenant 4 récepteurs indépendants : l'EGFR ou HER1, également appelé ErbB 1, HER2 (ErbB2), HER 3, HER 4. Chacun de ces récepteurs est composé d'un domaine extracellulaire présentant le site de réception complémentaire au ligand et un domaine intra-cytoplasmique à activité tyrosine-kinase (Figure 7)⁴⁷.

Ces récepteurs ErbB sont activés par des facteurs de croissance appartenant à la famille des EGF (Epidermal Growth Factor), qui sont produits, soit par sécrétions autocrines par les cellules exprimant ces récepteurs sur les membranes, soit par des cellules annexes (sécrétions paracrines)⁴⁸. Parmi eux on notera : EGF (Epidermal Growth Factor), TGF- α (Transforming

Growth Factor alpha), Epiréguline (EPR), Amphiréguline (AR), Béta-Celluline (BTC), Heparin-Binding EGF-like Growth Factor (HB-EGF)⁴⁷.

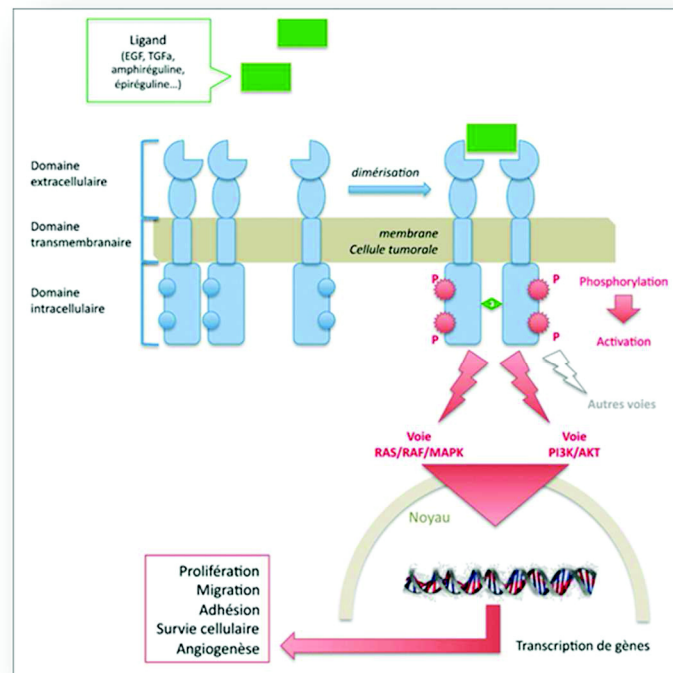


Figure 7: Le récepteur EGFR et son activation, d'après Laurenty et al.⁴⁹

3.4.2 Activation du récepteur

De manière inactive, l'EGFR forme un monomère. La fixation du ligand va changer la conformation tridimensionnelle de la partie extracellulaire en le faisant passer d'une forme repliée à une forme ouverte. Ce changement de conformation va permettre une dimérisation des récepteurs, soit avec un récepteur EGF activé identique (homo-dimérisation), soit avec un autre récepteur de la famille HER (Hétéro-dimérisation)⁵⁰. Cette dimérisation met en contact les domaines tyrosines-kinases intra-cytoplasmiques des 2 monomères et déclenche leur phosphorylation de manière réciproque (Figure 7). Des protéines cytoplasmiques, présentant des domaines SH2 (Src Homology domain 2) complémentaires des tyrosines ainsi phosphorylées, peuvent alors s'ancrer sur la partie C-terminale du récepteur. C'est le cas notamment du complexe Grb2/hSos, capable d'activer les protéines RAS et Pi3K et leurs voies respectives⁵¹.

3.4.3 Voie de signalisation intracellulaire

Les voies RAS et PI3K, toutes deux intimement connectées⁵², sont les deux voies principales activées par le récepteur EGFR. D'autres voies plus accessoires peuvent également être déclenchées tel que JAK/STAT, Phospholipase C γ (PLC γ) ou Src/FAK (*Focal adhesion kinase*).

3.4.3.1 La voie RAS

La famille RAS, famille de protéines G, inclut 3 protéines isoformes : HRAS, KRAS, NRAS. Ce sont des GTPases dont l'activation par le biais de récepteurs tyrosine-kinases (principalement l'EGFR), va déclencher des signaux de prolifération, de migration et de survie (Figure 8)⁵³.

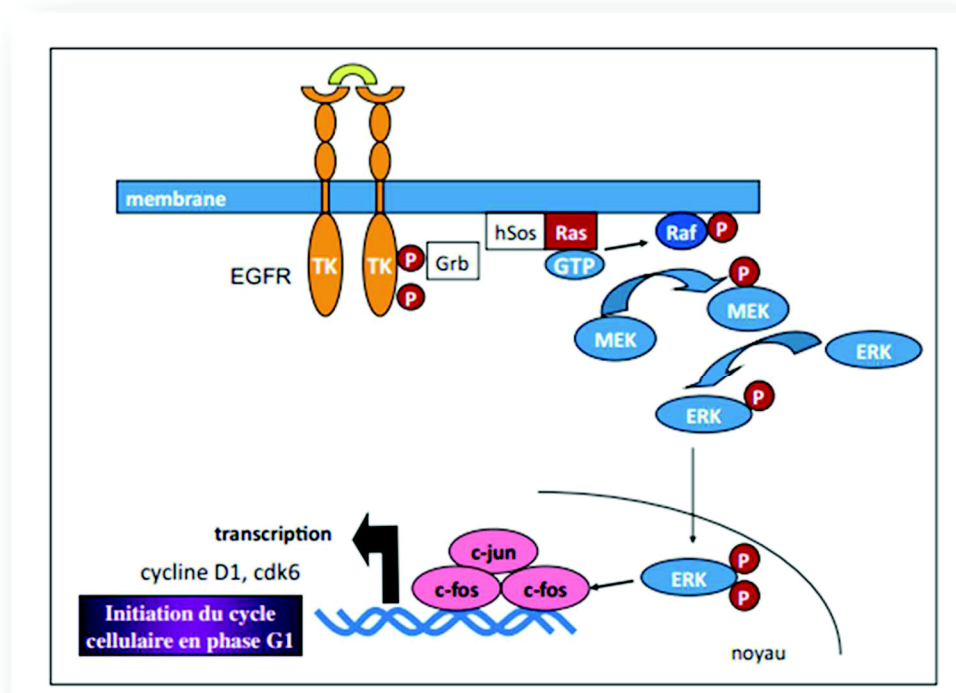


Figure 8 : La voie de signalisation RAS/MAPK d'après Lièvre et al.⁵³

Dans sa forme inactivée Ras est liée à un Guanine Di-Phosphate (GDP). Sa phosphorylation par l'activité tyrosine kinase de l'EGFR permet l'échange de GDP en GTP (Guanine Tri-Phosphate), lui donnant sa forme activée. Les effecteurs de RAS, notamment RAF, interagissent avec sa forme activée et engagent une cascade de phosphorylations intracytoplasmiques par la voie RAS $\rightarrow$ RAF $\rightarrow$ MEK1 et 2 $\rightarrow$ ERK 1 et 2⁵⁴. La phosphorylation de ERK 1 et 2 va permettre leur internalisation au sein du noyau et l'expression de c-FOS c-MYC,

c-JUN ou JUN, eux-même responsables de nombreux signaux de croissance (dont l'expression de la cycline D1 et de CDK6), de migration et de division cellulaire⁵⁵.

Une fois la cascade engagée, une protéine GAP (GTPase Activating Proteins) vient catalyser le GTP en GDP, restaurant RAS dans sa forme inactive⁵⁶.

Dans les carcinomes épidermoïdes, les mutations de *RAS* intéresseraient principalement *HRAS* et représenteraient seulement 5% des patients²⁷⁻²⁹. Il s'agit d'une grande différence avec les cancers du côlon où les mutations de *KRAS* (codon 12 et 13) sont présentes dans 30 à 40% des tumeurs⁵⁷. Elles provoquent l'activation permanente de RAS et donc de sa cascade intracellulaire indépendamment de l'activation des récepteurs tyrosine-kinases. Cette activation permanente est l'une des causes de résistance aux thérapeutiques ciblées contre les récepteurs à tyrosine-kinase, rendant la recherche de la mutation indispensable dans le cancer du côlon avant d'initier un traitement anti-EGFR⁵⁸. Cette activation va également être responsable d'une suractivation de Pi3K.

3.4.3.2 La voie Pi3K

Pi3K est une kinase qui, tout comme RAS, active une cascade de phosphorylations et d'activations de molécules intracellulaires et notamment la voie Pi3K → AKT → mTOR, responsable de signaux de survie cellulaire, d'angiogenèse, de prolifération, de croissance et de migration. Elle est activée par RAS dans une certaine mesure, mais surtout par les récepteurs tyrosine-kinases et une fois encore principalement par l'EGFR. Le principal modulateur de son activité est PTEN, qui exerce sur elle une action inhibitrice³¹. L'ensemble de cette voie est résumé dans la figure 9.

La voie Pi3K est fréquemment suractivée dans les carcinomes épidermoïdes des VADS et corrélée à un mauvais pronostic⁵⁹. Les mutations activatrices de *PIK3CA*, gène qui code Pi3K peuvent être retrouvées dans 10 à 20% des tumeurs ORL^{29,60}, et celles inhibitrices de PTEN dans environ 10%^{27,29}.

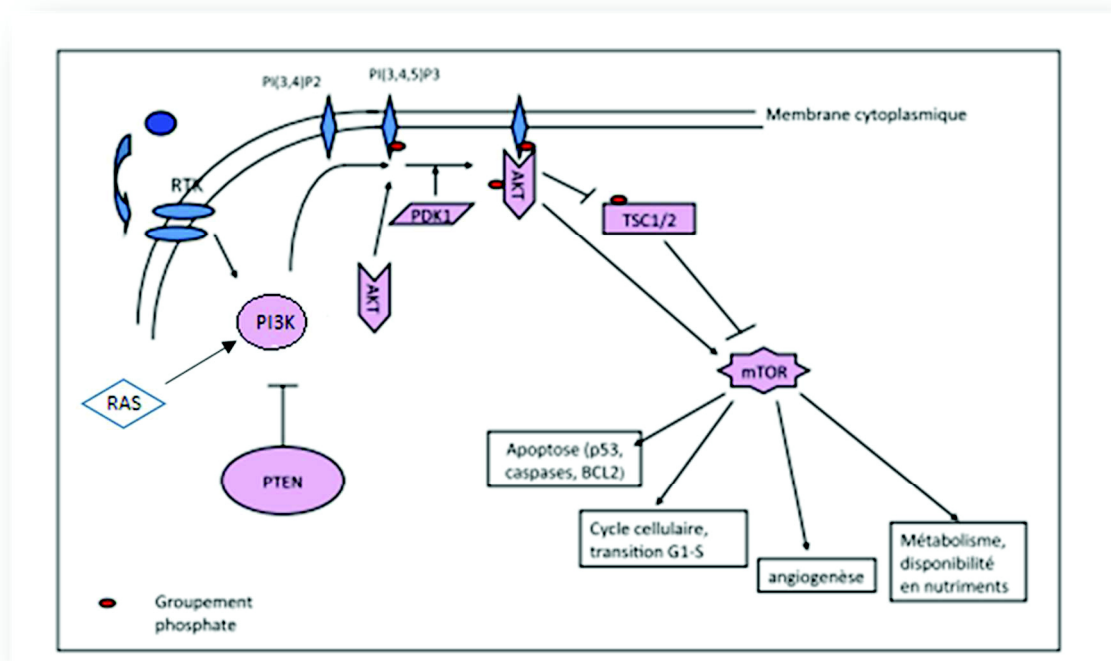


Figure 9 : Voie de signalisation PI3K : PI3K est activé soit directement par un récepteur Tyrosine Kinase (RTK) soit par la protéine RAS. PI3K va transformer PIP2, un lipide membranaire, en PIP3 auquel va se lier AKT, une protéine kinase. AKT, après phosphorylation par PDK1, va activer plusieurs facteurs dont mTOR, responsable de signaux de prolifération, de mitose, de survie et d'angiogenèse. PTEN est le principal inhibiteur de PI3K par déphosphorylation de PIP3 en PIP2. d'après Faivre et al⁶¹

3.4.3.3 Autres voies intracellulaires

D'autres voies plus accessoires peuvent également être activées par l'EGFR :

- Voie JAK/STAT capable d'activer la transcription de gènes impliqués dans la résistance à l'apoptose (Bcl-XL, Mcl1, AKT, survivine), la migration (MMP3, MMP9), la prolifération cellulaire (c-myc, c-fos, cycline D1, cdc25A, télomérase) et l'angiogenèse (VEGF, EPAS1)⁶² ;
- La voie Phospholipase C γ (PLC γ) qui a un rôle important dans la mobilité cellulaire et donc l'invasion tumorale⁶³. Par ailleurs elle peut activer une protéine DAG qui elle-même peut activer RAS et sa voie propre, PKC (Protéine Kinase C), et IP3 (Inositol Triphosphate) aboutissant à des signaux de survie et de prolifération cellulaire⁶⁴ ;
- La voie Src/FAK (*Focal adhesion kinase*) qui diminue l'adhésion cellulaire et favorise la migration et l'invasion tumorale⁶⁵.

3.4.4 Inactivation de l'EGFR

La régulation négative des récepteurs EGFR se fait par son internalisation dans des vésicules de Clathrine. Le signal d'endocytose des récepteurs est principalement le fait de l'ubiquitination des récepteurs bien que celle-ci ne soit pas systématique. Cette ubiquitination est réalisée par une E2 Ligase activée par Cbl (Casitas B-lineage Lymphoma) qui peut se fixer soit directement sur les résidus tyrosines du récepteur, soit via le domaine SH3 de la protéine Grb2. Ainsi Grb2 possède à la fois un rôle pro-oncogène, via l'activation de la voie RAS, et suppresseur de tumeur via l'endocytose des récepteurs. Une fois les vésicules de clathrine internalisées, celles-ci sont adressées, soit aux lysosomes où les protéines sont digérées, soit recyclées vers la membrane⁵¹.

3.5 Micro-environnement tumoral

L'ensemble de ces anomalies ne doit pas être conçu uniquement à l'échelle cellulaire et il est impératif d'intégrer ce modèle au niveau tissulaire. En effet, le rôle du micro-environnement tumoral apparaît crucial tant dans les phénomènes de cancérogénèse que dans la progression et l'évolution métastatique des cancers et les différents éléments qui composent le tissu péri-tumoral participent tous à ces phénomènes.

Nous avons précédemment vu les interactions avec les cellules immunitaires via l'interaction PD1-PDL1, mais plus encore il semble que les macrophages activés au sein des tumeurs sécrètent des facteurs anti-inflammatoires et pro-oncogènes⁶⁶. De même, les fibroblastes infiltrant le tissu tumoral possèdent des caractéristiques propres. Ces FAC (Fibroblastes Associés aux Cancers), qui pourraient se différencier en myofibroblastes et participer ainsi à l'invasion tumorale, sécrètent de nombreux facteurs de croissances et pro-angiogéniques. Ils participent également au modelage de la matrice extracellulaire (MEC)⁶⁶.

Cette MEC péri tumorale est en perpétuel renouvellement notamment sous l'action de métalloprotéases de la matrice (MMP) sécrétées par les cellules qui s'y trouvent. L'hypoxie, particulièrement importante dans les carcinomes épidermoïdes ORL, est un élément-clé de l'activation des MMPs qui vont eux-mêmes stimuler l'activité de facteurs de croissances, de facteurs pro-angiogéniques et de chémokines⁶⁶.

Il se crée de cette manière une homéostasie particulière, spécifique au tissu tumoral et indépendant du tissu sain adjacent, où la cellule tumorale dispose d'un milieu favorable à sa croissance et à l'acquisition de potentiel invasif et métastatique.

4 PRINCIPES THERAPEUTHIQUES

Longtemps considérée comme le seul traitement curatif, la chirurgie n'est actuellement que l'une des options thérapeutiques avec la radiothérapie seule ou en association à un traitement systémique. A ce jour, le choix du traitement dépend avant tout de données cliniques : stade initial et localisation anatomique.

4.1 Stades précoces (I et II)

La plupart des études thérapeutiques sont des études de faible niveau de preuve et il est difficile de conclure à la supériorité d'un traitement par rapport à l'autre. Il semble que pour les stades précoces (T1, T2 et N0), la radiothérapie plus ou moins potentialisée par la chimiothérapie ait des résultats similaires à la chirurgie pour certaines localisations (oropharynx, hypopharynx)^{67,68}. Le choix du traitement dépendra donc des séquelles potentielles des traitements envisagés et du choix du patient.

En cas de chirurgie première, la réalisation d'une radiothérapie post-opératoire sera guidée par la présence de facteurs de gravité constatés sur la pièce opératoire : la taille de la tumeur, les marges de résection atteintes, plus de 2 ganglions envahis, la présence d'embolies endo-lymphatiques ou vasculaires ou d'engainements périnerveux, adénopathie en rupture capsulaire^{69,70}. L'indication de la potentialisation de la radiothérapie par une chimiothérapie est formelle en cas de marges envahies ou de rupture capsulaire chez les patients de moins de 70 ans. Le standard dans ce cas est l'utilisation de Cisplatine 100mg/m² à J1, J22 et J43 de la radiothérapie.

4.2 Stades avancés (III et IV)

Pour les stades avancés, le traitement comporte, dans la majorité des cas, une association de chirurgie première avec radiothérapie adjuvante plus ou moins potentialisée selon les critères

précédemment cités. Néanmoins, les avancées récentes sur la connaissance des tumeurs oropharyngées HPV+ et leurs radio et chimio sensibilités devraient changer prochainement ce paradigme en permettant de proposer une radio-chimiothérapie seule, y compris pour des stades localement avancés⁷¹. Actuellement le traitement par radio-chimiothérapie est basé, comme dans la situation post-opératoire, sur l'association radiothérapie-Cisplatine 100 mg/m² J1-J22-J43. A noter que dans la situation de tumeur non opérée, le Cetuximab constitue une alternative au Cisplatine, en particulier en cas d'insuffisance rénale ou de polyneuropathie⁷².

On notera également le cas particulier des lésions laryngées ou hypopharyngées classées T3 et pouvant bénéficier au cas par cas d'un protocole de préservation laryngée associant une chimiothérapie d'induction par Taxotere - Cisplatine - 5FU (TPF) permettant de sélectionner les patients bons répondeurs carcinologiques et fonctionnels, suivie, selon la qualité de cette réponse initiale, d'une radio-chimiothérapie ou d'une chirurgie radicale^{11,73,74}.

Malgré ces traitements, le risque de poursuite évolutive ou de métastase à distance reste élevé.

4.3 Patients métastatiques

Malgré l'évolution des thérapeutiques, le pronostic des patients porteurs de métastases reste faible, faisant considérer ces patients comme relevant d'emblée d'un traitement palliatif. Celui-ci associe soins de support (prise en charge antalgique, nutritionnelle, psychologique, sociale etc.) déjà partie intégrante du traitement curatif, et une chimiothérapie à visée palliative ou « retardatrice ». Le standard de première ligne métastatique était, à partir des années 1990, l'association de Sel de platine (Cisplatine ou à défaut Carboplatine si l'état général ou les comorbidités l'indiquent) à du 5'FluoroUracile (5FU) avec une médiane de survie globale d'environ 6 mois.⁷⁵ Cette association permettait, au prix de plus de complications, un meilleur contrôle local sans pour autant obtenir un grand bénéfice en termes de survie globale. Les associations Sel de Platine - Taxanes ont également montré leur efficacité⁷⁶.

Le développement des thérapies ciblées, et notamment du Cetuximab en ORL, a permis d'accroître cette survie avec un taux de réponse d'environ 30%, et une médiane de survie globale de 10 mois¹⁷. L'association Platine - 5FU - Cetuximab est, depuis 2009, devenue le standard de chimiothérapie palliative de première ligne. Les patients présentant des carcinomes épidermoïdes récidivants et ne relevant pas d'un traitement curatif, bénéficient également de ce

protocole. Les principales difficultés résident dans les comorbidités, l'état général et l'âge de ces patients qui rendent souvent difficile la mise en place et le suivi d'un traitement optimal, et grèvent d'eux-mêmes le pronostic. D'autres traitements systémiques peuvent alors être proposés tels que l'association Paclitaxel - Cetuximab, ou encore le Méthotrexate en monothérapie⁷⁷. Les soins de support seuls demeurent parfois l'unique prise en charge possible ou raisonnable chez des patients altérés.

Les anticorps anti-PD1 et antiPDL1 semblent, comme évoqué précédemment, une voie prometteuse. Elle pourrait devenir prochainement le standard de chimiothérapie de 2^{ème} ligne si les prochaines études en cours confirment son efficacité.

Une attitude plus agressive, visant à éradiquer les foyers tumoraux secondaires, a par ailleurs été décrite chez certains patients oligométastatiques bien sélectionnés et contrôlés au niveau local. Une méta-analyse portant 403 patients de 13 études rétrospectives publiées de 1986 à 2011 montrait ainsi une probabilité de survie à 5 ans de 29,1% après métastasectomie⁷⁸. Cette étude présente néanmoins de nombreux biais (hétérogénéité des traitements, hétérogénéité des patients, différence entre métastase unique et primitive pulmonaire parfois non évidente, différence de suivi...), et il existe peu de données actuellement sur les techniques de métastasectomie non-chirurgicales telles que la radiothérapie stéréotaxique en ORL. L'étude OMET (GORTEC 2014-04) est actuellement en cours afin d'évaluer la place de la radiothérapie stéréotaxique sur les localisations secondaires, chez les patients oligométastatiques.

L'adjonction des thérapies ciblées aux chimiothérapies cytotoxiques classiques en ORL reste actuellement le principal élément ayant permis d'améliorer le pronostic de ces patients.

5 APPORTS DES THERAPIES CIBLEES

5.1 Généralités

Les thérapies ciblées, à l'inverse des chimiothérapies cytotoxiques classiques, ont pour but d'agir de manière spécifique sur les cellules tumorales en ciblant un marqueur distinctif de la cellule tumorale. La surexpression de l'EGFR dans la plupart des cancers et en particulier dans les cancers du côlon et des VADS en a fait l'une des voies les plus précocement étudiées. Outre les thérapeutiques dirigées vers les protéines situées en aval du récepteur (par exemple l'Évérolimus, une molécule anti-mTor⁷⁹), deux groupes de molécules ont été développés contre l'EGFR : les inhibiteurs de tyrosine kinase et les anticorps monoclonaux anti-EGFR.

Les inhibiteurs de tyrosine-kinase ne sont pas spécifiques de l'EGFR. L'inhibition réalisée passe par leur action compétitive vis-à-vis de l'ATP. Les deux principaux étudiés en cancérologie ORL sont l'Erlotinib et le Lapatinib qui peinent tous deux à démontrer leur efficacité⁷⁹⁻⁸¹.

Les anticorps monoclonaux anti-EGFR se fixent sur la partie extracellulaire de l'EGFR et bloquent son activation par le ligand. Le seul anti-EGFR ayant démontré une certaine efficacité dans les carcinomes épidermoïdes des VADS et ayant l'AMM en France reste le Cetuximab.

5.2 Cetuximab

Le Cetuximab est un anticorps monoclonal dirigé vers la partie extracellulaire du récepteur EGFR. Il s'agit d'une immunoglobuline chimérique associant les parties constantes d'une immunoglobuline humaine à des fragments variables murins⁸². Après fixation de l'immunoglobuline par son fragment Fab, trois modes d'action entrent en jeu : compétition avec les ligands naturels et blocage du récepteur dans sa forme repliée (inactive) ; augmentation de l'internalisation du récepteur ; promotion de l'ADCC par activation des lymphocytes T CD8 + et Natural Killer grâce à la fixation des cellules immunitaires par leurs récepteurs FcγRIIa ou FcγRIIIa sur les fragments Fcγ de l'immunoglobuline (Figure 10)⁸².

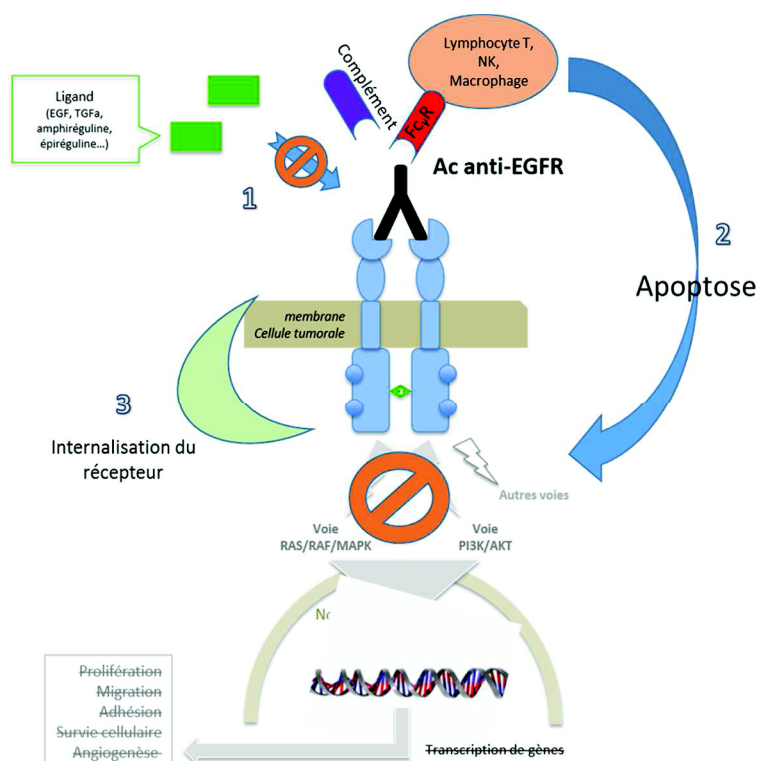


Figure 10 : Mode d'action du Cetuximab :

1 - compétition avec les ligands naturel et blocage du récepteur dans sa forme repliée ;

2 - promotion de l'ADCC et de l'immunité cellulaire ;

3 - augmentation de l'internalisation du récepteur.

Si les deux premiers mécanismes aboutissent au blocage de la voie intracellulaire pro-tumorale induite par l'EGFR, la promotion de l'ADCC est probablement quant à elle l'un des facteurs importants expliquant la différence d'efficacité entre les différents anticorps anti-EGFR. Dans une étude *in vitro* sur cellules tumorales de cancer ORL, Trivedi et al.⁸³ ont comparé les mécanismes d'action du Panitumumab (un autre anti-EGFR) et du Cetuximab. Ils concluaient que, bien que les deux aient la capacité de bloquer les voies intracellulaires de l'EGFR, le Cetuximab induisait de manière bien plus importante l'immunité cellulaire anti-tumorale. Cela est probablement lié à la composante murine de l'immunoglobuline.

Actuellement le Cetuximab est utilisé en pratique courante dans deux indications : en association avec la radiothérapie à visée curative sur tumeur non-opérée ou en association avec d'autres chimiothérapies à visée palliative.

5.2.1 Association Radiothérapie-Cetuximab (RTCx)

L'étude princeps ayant permis l'obtention de l'AMM en 2006 pour le Cetuximab (Cx) en association à la radiothérapie dans les carcinomes épidermoïdes des VADS localement avancés a été réalisée par Bonner et al.⁸⁴ Elle comparait l'efficacité de l'association radiothérapie-Cx vs radiothérapie seule retrouvant un bénéfice significatif pour le bras RT-Cx, que ce soit en termes de contrôle locorégional, de survie sans récurrence ou de survie globale. Ces bénéfices n'étaient pas retrouvés chez les patients de plus de 65 ans. Les résultats actualisés en 2010 montrent un bénéfice de survie globale à 5 ans passant de 36,4% pour le bras RT seule, à 45,6% pour le bras RT-Cx (HR 0,7 IC95[0,6 – 0,95] ; $p=0.02$) pour les patients ayant bénéficié de l'association radiothérapie-anticorps monoclonale⁷².

Malgré ces résultats, il faut noter que cette étude ne comparait pas l'association RT-Cx au gold standard qu'est l'association Radiothérapie - Cisplatine (RT-Cis). Il n'existe pas à ce jour d'étude prospective de niveau de preuve suffisante pour conclure à l'équivalence de ces deux traitements. Bien qu'elle comporte de nombreux biais (comparaison d'étude prospective vs rétrospective, hétérogénéité des patients entre les différents bras, différents critères d'inclusion), une méta-analyse récente retrouvait de manière significative une meilleure survie globale ($p=0.02$) et sans récurrence ($p=0.02$) à 2 ans pour la potentialisation de la radiothérapie par Cisplatine plutôt que par Cetuximab⁸⁵.

5.2.2 Association à une poly-chimiothérapie

La seconde utilisation du Cetuximab, la plus fréquente, est son association à une polychimiothérapie cytotoxique. Avant l'introduction du Cetuximab, le standard de traitement de première ligne à visée palliative était l'association sel de platine - 5 Fluoro-uracile (PFU). Avec l'apparition des anticorps anti monoclonaux et leur efficacité en association avec la radiothérapie, plusieurs études se sont intéressées à l'ajout du Cetuximab dans les protocoles standards de chimiothérapie (Platine - 5FU). La plus concluante, étude comparative randomisée réalisée par Vermorken et al.¹⁷ (étude EXTREME), comparait le PFU +/- Cx. Les auteurs retrouvaient un bénéfice significatif de survie globale (médiane de survie de 7,4 mois pour le bras PFU vs 10,1 pour le bras PFU - Cx (HR 0,80 ; IC95% (0.64 - 0.99) ; p=0,04). Ce bénéfice était également retrouvé en termes de contrôle locorégional et de survie sans progression (Figure 11)¹⁷.

Variable	Cetuximab plus Platinum-Fluorouracil (N=222)	Platinum-Fluorouracil Alone (N=220)	Hazard Ratio or Odds Ratio (95% CI)	P Value
Survival — mo†				
Overall	10.1 (8.6–11.2)	7.4 (6.4–8.3)	Hazard ratio, 0.80 (0.64–0.99)	0.04‡
Progression-free	5.6 (5.0–6.0)	3.3 (2.9–4.3)	Hazard ratio, 0.54 (0.43–0.67)	<0.001‡
Best response to therapy — %				
Overall	36 (29–42)	20 (15–25)	Odds ratio, 2.33 (1.50–3.60)	<0.001§
Disease control¶	81 (75–86)	60.0 (53–67)	Odds ratio, 2.88 (1.87–4.44)	<0.001§
Time to treatment failure — mo†	4.8 (4.0–5.6)	3.0 (2.8–3.4)	Hazard ratio, 0.59 (0.48–0.73)	<0.001‡
Duration of response — mo	5.6 (4.7–6.0)	4.7 (3.6–5.9)	Hazard ratio, 0.76 (0.50–1.17)	0.21‡

* Data in the treatment columns are median (95% CI). The P values, hazard ratios, and odds ratios are stratified according to receipt or non-receipt of previous chemotherapy and the Karnofsky performance score at randomization.

† The number of months was estimated with the use of the Kaplan–Meier method.

‡ The P value was calculated with the use of the log-rank test.

§ The P value was calculated with the use of the Cochran–Mantel–Haenszel test.

¶ Disease control includes complete response, partial response, and stable disease. Time to treatment failure was defined as the time from randomization until the first occurrence of one of the following events: disease progression as assessed by the investigator, discontinuation of treatment because of disease progression, discontinuation of treatment because of an adverse event, initiation of any new anticancer therapy, or withdrawal of consent or death within 60 days after the final tumor assessment or randomization.

|| Data on the duration of response were available for 62 patients in the cetuximab group and 36 patients in the chemotherapy-alone group; data on disease progression in these patients were available at the time of the analysis. The number of months was estimated with the use of the Kaplan–Meier method.

Figure 11 : Réponse au traitement et survie selon les groupes Cx + ou C- dans l'étude EXTREME, d'après Vermorken et al.¹⁷

L'association Sel de platine – 5 Fluoro-Uracile – Cetuximab est, depuis lors, devenue le standard de première intention de chimiothérapie à visée palliative dans les carcinomes épidermoïdes des VADS, avec obtention de l'AMM en France pour cette indication en 2009.

INTRODUCTION

A noter que ce protocole propose, au-delà des 6 cures de PFUCx, une poursuite du Cx en entretien en monothérapie, jusqu'à progression tumorale.

Chez certains patients extrêmement fragiles, le Cetuximab peut être utilisé en monothérapie lorsque l'ensemble des autres traitements semble déraisonnables, mais le bénéfice est faible.

Plus récemment, l'étude de phase II du GORTEC 2008-03, a démontré l'efficacité d'une chimiothérapie associant Docétaxel - Cisplatine - Cetuximab (TPEx) dans cette même indication⁸⁶. Ces résultats encourageants doivent encore être comparés à ceux du PFU-Cx. C'est ce que vise l'étude de phase IIb du GORTEC TPExtreme (GORTEC 2014-01) devant inclure 416 patients et comparant, de manière randomisée, les protocoles TPEx et Extreme (Figure 12).

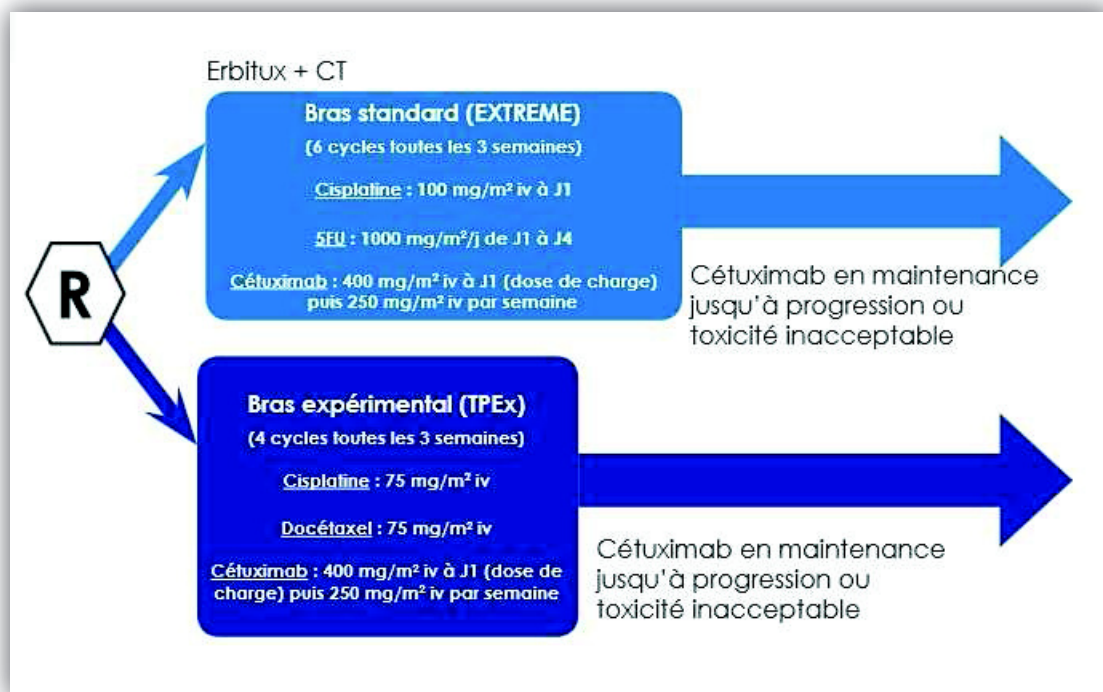


Figure 12 : Protocole de l'étude TPExtreme (GORTEC 2014-01)

Il faut noter que l'ensemble de ces études a été réalisé sur des patients sélectionnés (OMS Performance Status ≤ 1 , Age < 70 ans, sans comorbidité significative) et bien différents de la réalité clinique. A notre connaissance, il n'existe pas à l'heure actuelle d'étude comparative sur patients non-sélectionnés, aussi serait-il intéressant de confirmer ces résultats dans une large cohorte de cette population.

5.2.3 Effets secondaires

Bien que relativement bien toléré, le Cetuximab ajoute des effets secondaires propres à ceux des chimiothérapies. Le risque principal lié à l'utilisation du Cetuximab est le choc anaphylactique allergique qui peut survenir dès le début de l'induction. Bien que rares (1 à 5% de réactions de grade 3-4), les réactions anaphylactiques sévères peuvent engager le pronostic vital (0.1% des patients)^{87,88}.

Beaucoup plus fréquente mais généralement moins sévère, la toxicité dermatologique constitue le principal effet secondaire observé sous Cetuximab. Elle surviendrait chez plus de 80% des patients dont 20 à 30% de toxicité de grade 3-4. Elle se caractérise par un érythème associé à un rash acnéiforme du tronc et du visage, une xérose cutanée et une atteinte unguéale à type de fissure ou de péri-onyxis. Cette atteinte s'explique par la présence de nombreux récepteur EGFR au sein des cellules de la couche basale de l'épiderme⁸⁷. L'association de Doxycycline, d'émollients et de corticoïdes locaux permet le plus souvent de contrôler ces réactions. L'apparition de ces lésions serait un facteur prédictif de bonne réponse au traitement. En effet, dans leur étude comparant Cisplatine - Cetuximab vs Cisplatine – Placebo, Herbst et al.⁸⁹ retrouvaient une médiane de survie globale de 2, 2 mois pour les patients ne présentant pas de réaction cutanée, pour une médiane de 7,1 mois pour les patients ayant une réaction de grade 2 ou 3 (Figure 13).

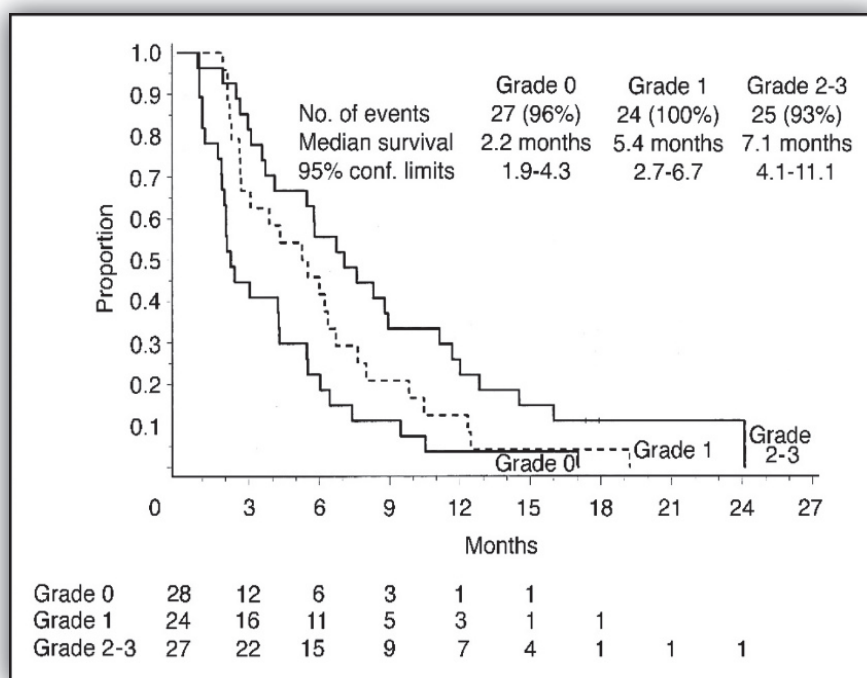


Figure 13 : Survie globale en mois chez les patients traité par Cetuximab en fonction de l'importance du rash cutané dans l'étude de Herbst et al.⁸⁹

Les hypomagnésémies par inhibition de la réabsorption de magnésium au niveau de l'anse de Henlé surviennent dans environ 10% des cas. Elles sont souvent rapidement résolutes mais peuvent nécessiter une supplémentation au long cours⁸⁷. D'autres effets secondaires plus rares sont également cités : diarrhée, déshydratation, atteinte oculaire (kératite, conjonctivite), cytolyse hépatique.

Dans l'étude de Vermorken et al.¹⁷, les patients traités par Cetuximab présentaient plus de réaction cutanée ($p < 0.001$), d'anorexie ($p = 0.05$), de sepsis ($p = 0.02$) et d'hypomagnésémie ($p = 0.05$) que sous PFU. Néanmoins il n'existait pas plus d'arrêt de traitement (20%) dû aux effets secondaires dans le groupe Cetuximab par rapport au groupe chimiothérapie seul.

Il importe également de considérer l'augmentation conséquente des coûts de santé qu'impliquent ces traitements pour seulement une partie de bons répondeurs⁹⁰.

Ces éléments imposent de trouver des facteurs pronostics de réponse à ces traitements afin de sélectionner les patients pouvant en tirer réellement un bénéfice et ceux pour lesquels l'apport du Cetuximab n'implique qu'une augmentation des effets secondaires et des risques de complications et de coût de santé.

5.2.4 Facteurs prédictifs de réponse ou de résistance au Cetuximab

Plusieurs facteurs ont déjà été testés en ORL, principalement orientés sur l'expression de l'EGFR et de ses voies, sans pour autant avoir montré à l'heure actuelle de significativité suffisante pour être intégrés à la pratique courante.

5.2.4.1 Expression EGFR (IHC / copie de gènes)

L'une des premières hypothèses était que l'expression de l'EGFR pouvait être corrélée à la réponse au Cetuximab. Celle-ci a donc été évaluée sur les tumeurs des patients de l'étude EXTREME. Il existait une tendance à une meilleure PFS et OS chez les patients ayant reçu du Cetuximab et présentant des scores élevés d'expression de l'EGFR en immunohistochimie mais sans résultat significatif et avec un bénéfice médiocre. Les auteurs concluaient que l'expression de l'EGFR ne pouvait être utilisée comme facteur prédictif de réponse au Cetuximab⁹¹.

De même, l'augmentation du nombre de copies d'un gène (polysomie ou amplification locale) semble indiquer une dépendance oncogénique importante. Les patients présentant ces

anomalies vis-à-vis de l'EGFR pourraient donc être plus sensibles aux anti-EGFR. Licitra et al.⁹² ont ainsi étudié, sur la même population, la corrélation entre le bénéfice de survie apporté par le Cetuximab et nombre de copies de gène de l'EGFR en FISH. Là encore, aucune différence significative n'a pu être retrouvée entre les groupes.

5.2.4.2 Mutation du récepteur EGFR

Dans les cancers du poumon non à petites cellules les mutations du récepteur EGFR ont un rôle central dans l'efficacité ou la résistance aux traitements. Les mutations activatrices au niveau des codons 19 ou 21 sont les plus fréquentes et sont responsables de l'activation permanente de leur domaine TK ; ainsi les tumeurs arborant ces récepteurs présentent une très grande sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase⁹³. Leur présence constituerait une contre-indication théorique au Cetuximab, le blocage du récepteur survenant en amont de ces domaines. Dans les cancers des VADS ces mutations ne sont retrouvées que de manière sporadique^{93,94}. Les analyses exhaustives de codons 18 à 20 montrent d'ailleurs dans les cancers ORL une grande conservation de ces domaines et leurs mutations sont trop rares pour que leur recherche soit intégrée à la pratique courante^{94,95}.

Par ailleurs, un polymorphisme de la partie extracellulaire du récepteur EGF, EGFRvIII, principalement secondaire à des délétions acquises des exons 2-7, a également été rapporté dans 30 à 40% des glioblastomes. Ils aboutissent à une version tronquée du récepteur avec perte du domaine extracellulaire. La fixation des anticorps monoclonaux anti-EGFR serait alors impossible ce qui entraînerait une résistance au Cetuximab. Dans une vaste étude sur 638 carcinomes épidermoïdes des VADS, Katthri et al.⁹⁶ n'ont pu mettre évidence que 2 cas de mutation EGFRvIII (0,31%), excluant son intérêt prédictif de sensibilité au traitement.

5.2.4.3 Mutation KRAS

Les mutations activatrices de RAS, tel que *KRAS* codon 12 et 13, sont l'un des facteurs majeurs de résistance au Cetuximab dans les cancers du côlon. 30 à 40% de ces tumeurs présentent ces mutations rendant la recherche de ces anomalies systématiques avant d'initier un traitement anti-EGFR.⁵⁷ En ORL cette mutation intéresserait moins de 5% des tumeurs^{27,28}. Ainsi, dans une série étudiant la prévalence de ces mutations sur 197 patients traités par radio chimiothérapie, seuls 3,5% présentaient une mutation *KRAS* codon 12 et aucun ne présentait de

KRAS codon 13⁹⁷. Cette faible fréquence ne rend pas pertinente sa recherche en pratique courante dans les carcinomes épidermoïdes des VADS.

Cependant il n'existe que peu de donnée à propos de l'incidence des mutations *HRAS*, plus fréquentes que les mutations *KRAS* dans les carcinomes épidermoïdes des VADS, sur la sensibilité au Cetuximab en ORL. Elles ne représentent que 5 à 8% des tumeurs ORL mais ont été désignées comme facteur de résistance au Cetuximab dans des études *in vitro*⁹⁸.

5.2.4.4 Mutation *BRAF*

De manière identique les mutations *BRAF* sont rares dans les carcinomes épidermoïdes ORL et ne participent pas de manière active aux résistances aux anti-EGFR en ORL, tandis qu'elles sont présentes dans 5 à 10% des cancers colo-rectaux^{27,28,31}.

5.2.4.5 Altération de la voie *PI3K /PTEN*

Bien que des études *in vitro* suggèrent un lien entre l'hypo-expression de *PTEN* et une moins bonne réponse aux anti-EGFR dans les cancers colorectaux, cette association n'est pas retrouvée dans des lignées de cellules tumorales ORL⁹⁹.

En revanche, les résultats prometteurs d'inhibiteurs *pi3K/mTOR*, sur des tumeurs résistantes au Cetuximab, semblent indiquer le rôle des mutations activatrices de *PI3KCA* dans la résistance aux anti-EGFR¹⁰⁰. Il n'existe pas à l'heure actuelle de données suffisantes pour une application clinique.

5.2.4.6 Variation *KRAS LCS6 (rs61764370)*.

Une variation germinale de la partie non codante 3' UTR du gène *KRAS*, décrite pour la première fois en 2008, est responsable d'un polymorphisme de la zone cible d'un micro ARN (miR) Let- 7 sur le gène *KRAS*. Les miR sont de petits brins d'ARN non codant, interagissant avec des ARN messagers (ARNm) afin de contrôler leur expression. Leur formation est résumée dans la figure 14. Ils forment, avec des protéines Argonautes, des complexes RISC (RNA-induced silencing complex) qui vont induire la répression, ou la dégradation de l'ARNm ciblé par le miR¹⁰¹.

La variation *KRAS LCS 6* bloque donc la fixation du complexe RISC-Let-7 par non complémentarité des nucléotides entre miR let 7 et ARNm *KRAS*. Il s'agit d'un SNP, avec

INTRODUCTION

remplacement d'une Thymine (Allèle TT = allèle sauvage) par une Guanine (Allèle TG ou GG = allèle variant)¹⁰². La fréquence de cette mutation serait d'environ 20% dans les carcinomes épidermoïdes ORL¹⁰²⁻¹⁰⁵.

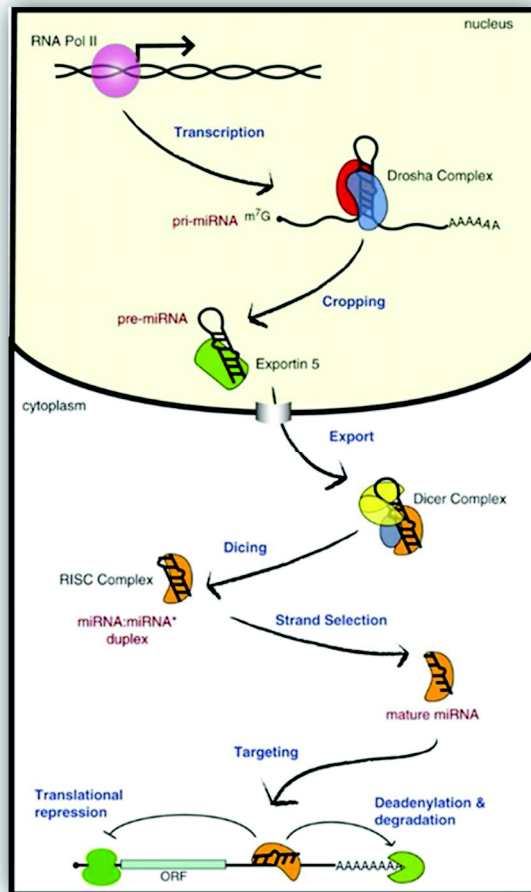


Figure 14 : Formation des micro ARN : Transcription d'un microARN primaire (primiARN) par une ARN Polymerase 2, clivage par un protéine DROSHA en précurseur-miARN (prémiARN), transport cytoplasmique du prémiARN par une Exportine-5. Clivage par une enzyme DICER, association avec le complexe protéique RISC. D'après Davis-Dusenbery¹⁰⁰

La perte de l'inhibition de la transcription par Let-7 serait donc responsable d'une hyper-expression de KRAS dans la cellule, mais aussi d'une baisse de Let-7 lui-même¹⁰². De plus l'hyper expression de KRAS est associée à la prolifération tumorale dans les cancers des VADS. On peut donc penser que ce gain de fonction du KRAS entraîne une dépendance carcinogène vis-à-vis de la voie EGFR -> RAS -> RAF -> MAPK.

L'hypothèse est qu'une thérapeutique anti-EGFR serait ainsi plus efficace chez les patients présentant cette variation par blocage de cette voie doublement suractivée (hyperexpression de l'EGFR classique des cancers ORL, hyperexpression de KRAS). La présence d'une variation KRAS LCS6 pourrait alors être un facteur pronostic de réponse au Cetuximab. A ce jour, seule une étude a observé ce gain de survie chez les patients métastatiques ou localement avancés pour des carcinomes épidermoïdes ORL, et ce sur une très

faible population (26 patients traités par Cetuximab dont seulement 7 variants)¹⁰⁵. Les auteurs concluaient que :

- Il existait une différence significative de survie sans progression dans le groupe KRAS variant entre les patients bénéficiant d'un traitement par Cetuximab et ceux n'en bénéficiant pas ;
- Cette différence n'existait pas dans le groupe KRAS non-variant ;
- Il existait une différence de survie significative entre variant et non-variant quel que soit le traitement reçu.

Ces résultats nécessitent d'être confirmés et approfondis sur une cohorte plus importante.

6 PROBLEMATIQUE

En résumé, les carcinomes épidermoïdes des VADS sont des cancers de mauvais pronostic. La survie des patients métastatiques ou présentant une évolutivité locorégionale ne relevant pas d'un traitement curatif est faible. L'apport récent des thérapies ciblées, basées sur les connaissances de la biologie des cancers, a permis d'accroître modérément le pronostic de ces patients. Néanmoins, les études présentant ces bénéfices sont toutes réalisées sur patients sélectionnés, en bon état général et avec peu de comorbidités, ce qui est parfois bien loin des réalités de la pratique courante. Il est donc nécessaire de confirmer le bénéfice potentiel du protocole PFUCx sur cohorte non-sélectionnée. En outre, seule une partie des patients semble répondre au Cetuximab et cela au prix de plus d'effets secondaires et d'un coût de santé conséquent, ce qui rend nécessaire le développement de marqueurs prédictifs de réponse aux anti-EGFR. Des études suggèrent que la présence d'un KRAS LCS6 variant pourrait être l'un de ces marqueurs, ces résultats doivent toutefois être vérifiés sur une plus large population.

PATIENTS ET METHODES

1 PATIENTS

Les dossiers de l'ensemble des patients traités par Sel de Platine + 5FU +/- Cetuximab au Centre Henri Becquerel, entre 2005 et 2014, pour un carcinome épidermoïde (CE) des VADS en 1^{ère} ligne métastatique ou localement avancé ne relevant pas d'un traitement curatif ont été examinés.

L'inclusion s'est faite en fonction du traitement effectivement reçu (analyse per-protocole) afin d'étudier la réponse différentielle au Cetuximab en cas de variant ; aussi les patients n'ayant pas reçu 2 cures de chimiothérapie complètes ont été exclus, ainsi que ceux pour lesquels les prélèvements anatomopathologiques étaient indisponibles, ou ceux pour qui un consentement à l'utilisation du matériel archivé n'était pas disponible.

Cette étude a été validée par le Comité d'Ethique Institutionnel du Centre Henri Becquerel (n° 1605B).

2 OBJECTIFS

2.1 Objectif principal

L'objectif principal était de comparer le bénéfice de survie globale après adjonction d'un traitement anti-EGFR (Cetuximab) chez les patients présentant un KRAS LCS6 variant par rapport à ceux présentant un KRAS non-variant dans une cohorte de patients présentant un carcinome épidermoïde des VADS avancé loco-régionalement et inopérable, ou métastatique, en première ligne de chimiothérapie.

2.2 Objectifs secondaires

Les objectifs secondaires étaient de comparer le bénéfice en survie sans progression après adjonction de Cetuximab entre les patients présentant un KRAS variant et KRAS non variant ; d'étudier l'apport du Cetuximab associé à une poly-chimiothérapie dans une population non-sélectionnée en termes de survie sans progression et de survie globale ; de déterminer l'incidence de la mutation KRAS LCS 6 variant et son caractère pronostic.

3 CRITERE D'EVALUATION

3.1 Critère d'évaluation principal

La survie globale était définie comme la durée entre le début de la 1^{ère} cure de chimiothérapie et la date de décès ou de dernière nouvelle.

3.2 Critères d'évaluations secondaires

La survie sans progression était définie comme la durée entre le début de la 1^{ère} cure et la date de diagnostic de progression locale ou loco-régionale ou métastatique, de manière clinique ou radiologique ou, en l'absence de celle-ci, la date des dernières nouvelles.

4 RECUEILS DE DONNEES

Pour chacun des dossiers étaient recueillis les éléments suivants :

- Concernant le patient :
 - Nom, prénom, sexe, date de naissance, lieu de la prise en charge initiale afin de récupérer les prélèvements anatomopathologiques ;
 - L'antécédent d'intoxication alcoolo-tabagique et le cas échéant le sevrage de celui-ci ;
 - Les comorbidités avec calcul du score de comorbidités de Charlson au moment du diagnostic de maladie métastatique ou localement avancée ;
 - Les antécédents néoplasiques du patient.
- Concernant la pathologie initiale :
 - L'âge au moment du diagnostic initial ;
 - La localisation ;
 - Le stade TNM initial et le score AJCC ;
 - Le cas échéant, les traitements reçus avant l'évolution métastatique :
 - Chirurgie ;
 - Radiothérapie : post-opératoire ou non ;
 - Chimiothérapie ou thérapie ciblée.

- Concernant la prise en charge palliative :
 - La nature métastatique, ou localement avancée (tumorale ou ganglionnaire) de la pathologie ;
 - L'âge au moment du diagnostic ;
 - L'indice de performance OMS et le dosage de l'albumine (g/L) lors de la consultation oncologique initiale ;
 - La date de début de la chimiothérapie ;
 - Traitement par Sels de platine + 5FluoroUracile (5FU) seuls ou associés au Cetuximab ;
 - Réalisation ou non d'un entretien par Cetuximab ;
 - Date de progression, de décès ou des dernières nouvelles.

5 ANALYSES MOLECULAIRES

5.1 Sélection des échantillons et extraction d'ADN

Pour chaque patient, les prélèvements anatomopathologiques ont été sélectionnés sur compte-rendu anatomopathologique, en provenance du Centre Henri Becquerel (Dr J.-M. Picquenot), du CHU de Rouen (Dr A. François) et des cabinets d'Anatomo-cytopathologie libéraux. Sous réserve de disponibilité des prélèvements, deux lames histologiques ont été sélectionnées par un anatomo-pathologiste sénior pour chaque patient : l'une comprenant au moins 50% de cellules tumorales, l'autre comprenant uniquement du tissu sain. Les blocs paraffinés correspondants ont été désarchivés puis coupés par tranche de 10µ avant dissolution de la paraffine avec le kit Maxwell® 16 FFPE Plus LEV DNA Purification Kit pendant 12h à 70°C pour extraction de l'ADN et purification automatique sur extracteur ADN ARN Maxwell 16 ® (Ref AS2000) Promega®. La présence d'ADN double-brin et la pureté des prélèvements extraits ont été contrôlés par spectrophotométrie sur Thermo Scientific™ NanoDrop™ One Spectrophotometers. Des coupes supplémentaires ont été réalisées sur les blocs tumoraux afin d'analyser l'expression de p16 au sein des tumeurs et leur statut HPV.

5.2 Analyses des variants KRAS

A partir des ADN extraits, un pyroséquençage comportant une PCR première puis une réaction de séquence a été réalisés au sein de l'unité INSERM U 918 (Pr Jardin).

5.2.1 PCR d'amplification

Les techniques de PCR ont été réalisées avec adjonction de GoldStar® Mix kit Eurogentec® à l'aide d'un thermocycleur Eppendorf Mastercycler® sur une région de 146 paires de bases correspondant à la région 3'UTR du gène codant pour KRAS et cible du microARN Let7 (rs61764370).

Les deux amorces centrées sur la région d'intérêt étaient pour le primer Forward biotinylé (FBiot) : GTCTCGAACTCCTGACCTCA et pour le primer Reverse (R) : TGGTGACTGGCATCTGGTAG. (Figure 15)



Figure 15 : Séquence des amorces Reverse et Forward ciblant la région d'intérêt de la partie 3'UTR du gène KRAS

Les cycles de PCR comprenaient :

- Une phase de dénaturation initiale de 10 minutes à 94°C ;
- Puis 34 cycles associant :
 - une phase de dénaturation de 1 minute à 94°C,
 - une phase d'appariement de 1 minute à 60°C,
 - puis une phase d'élongation de 90 secondes à 72°C ;
- Une phase d'élongation terminale de 10 minutes à 72°C.

La spécificité des produits d'amplification par PCR a ensuite été confirmée par électrophorèse sur gel d'Agarose avec témoin permettant de confirmer la présence de fragment d'ADN double brin de 146pb et révélé par Gel-Red.

5.2.2 Réaction de séquence

Pour le séquençage de la région d'intérêt et la recherche de la variation KRAS 3'UTR LCS6, nous avons choisi d'utiliser une technique de pyro-séquençage. Il s'agit d'une technique rapide permettant le séquençage ciblé d'un court fragment d'ADN, et d'autant plus facile à réaliser que la séquence et la mutation attendue est connue. Elle est donc particulièrement efficace lors de la recherche d'un SNP. Elle se décompose en plusieurs étapes : dénaturation et séparation en ADN simple brin, fusion avec une amorce de séquençage complémentaire au brin biotinylé permettant, après purification, de ne garder que les brins d'ADN sens biotinylé hybridé à l'amorce.

Par la suite les brins sont mis en contact d'une Taq-polymérase, chaque nucléotide est alors ajouté dans le milieu réactionnel un par un dans l'ordre attendu. Si celui-ci est complémentaire au brin en cours d'élongation, il est intégré par la polymérase, ce qui va libérer un Pyrophosphate rapidement catalysé en ATP qui sera utilisé par une luciférase pour envoyer un signal lumineux. L'intensité du signal lumineux capté par le pyroséquenceur est proportionnelle au nombre de nucléotides intégrés. La réponse se fait sous forme de pic, appelé pyrogramme. (Figure 16)

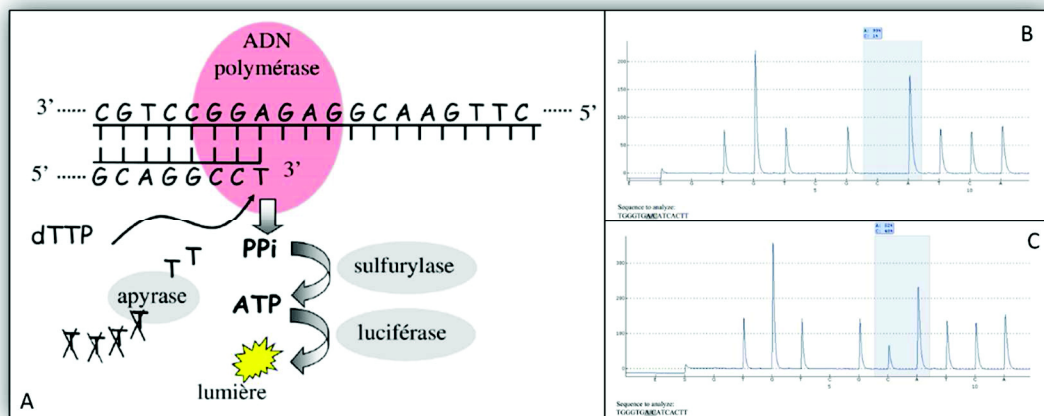


Figure 16 : A : Principe du pyroséquençage d'après M. Falque 2011; B : Pyrogramme d'un patient KRAS Sauvage ; C : Pyrogramme d'un patient KRAS LCS6 variant

Le séquençage a donc été réalisé grâce à l'amorce de séquençage : ACAGGTTTATGAGGCCAAGG (Figure :17), et sur Pyromark Q24[®] (QIAGEN[®]) à l'aide des kits PyroMark Q24 Gold Q24 Reagents[®] (QIAGEN[®]).



Figure 17 : Amorce de séquençage (en vert) à proximité de la zone de la mutation recherchée (en bleu).

6 STATISTIQUE :

Un calcul du nombre de sujets nécessaires à inclure a été réalisé par M. Michaël Bubenheim (service de biostatistique et méthodologie du CHU de Rouen). Ainsi, avec une fréquence de variant attendue entre 15 et 20% pour un HR à 1,75 avec probabilité de survenue à 50%, il était nécessaire d'obtenir deux groupes de patients de 49 patients chacun minimum. Avec la perte de matériel cellulaire et génétique attendu, le nombre de patients à inclure a été estimé à 70 patients dans les deux groupes soit 140 patients.

L'ensemble des analyses statistiques a ensuite été réalisé à l'aide du logiciel MedCalc Software ©v12.1.4.0.

Les courbes de survie ont été réalisées par la méthode de Kaplan Meier et comparées par le test du Log-Rank. Les variables qualitatives ont été comparées à l'aide du test du Chi² et les variables quantitatives par test t de Student.

Les moyennes ont été présentées sous la forme « moyenne [Intervalle de confiance à 95% (IC95)] » et les médianes sous la forme : « médiane [valeur basse – valeur haute] ».

Le seuil de significativité était $p < 0.05$.

RESULTATS

1 DESCRIPTION GENERALE DE LA POPULATION DE L'ETUDE

134 patients, présentant un carcinome épidermoïde des VADS, ont été inclus. 84% d'entre eux étaient de sexe masculin. La quasi-totalité des patients présentaient une intoxication alcoolo-tabagique.

1.1 Lésions initiales

L'âge moyen au moment du diagnostic initial était de 55 ans [54,2 – 56,9]. Les localisations tumorales initiales et leurs stades au moment du diagnostic sont résumés dans la figure 18 et 19. Trois patients présentaient une double localisation associant une lésion hypopharyngée à une lésion oropharyngée, buccale ou œsophagienne.

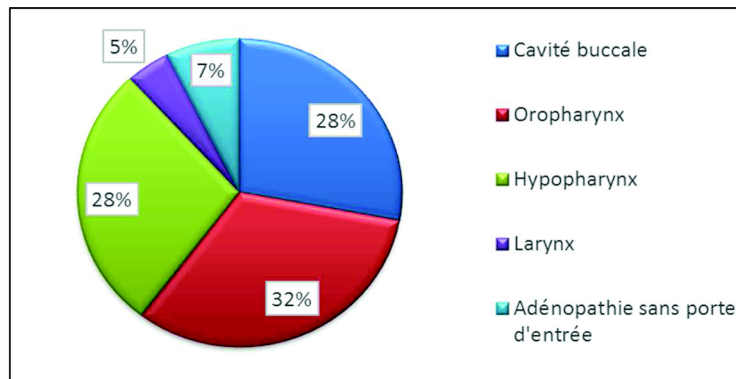


Figure 18 Localisation des lésions initiales dans la population totale de l'étude

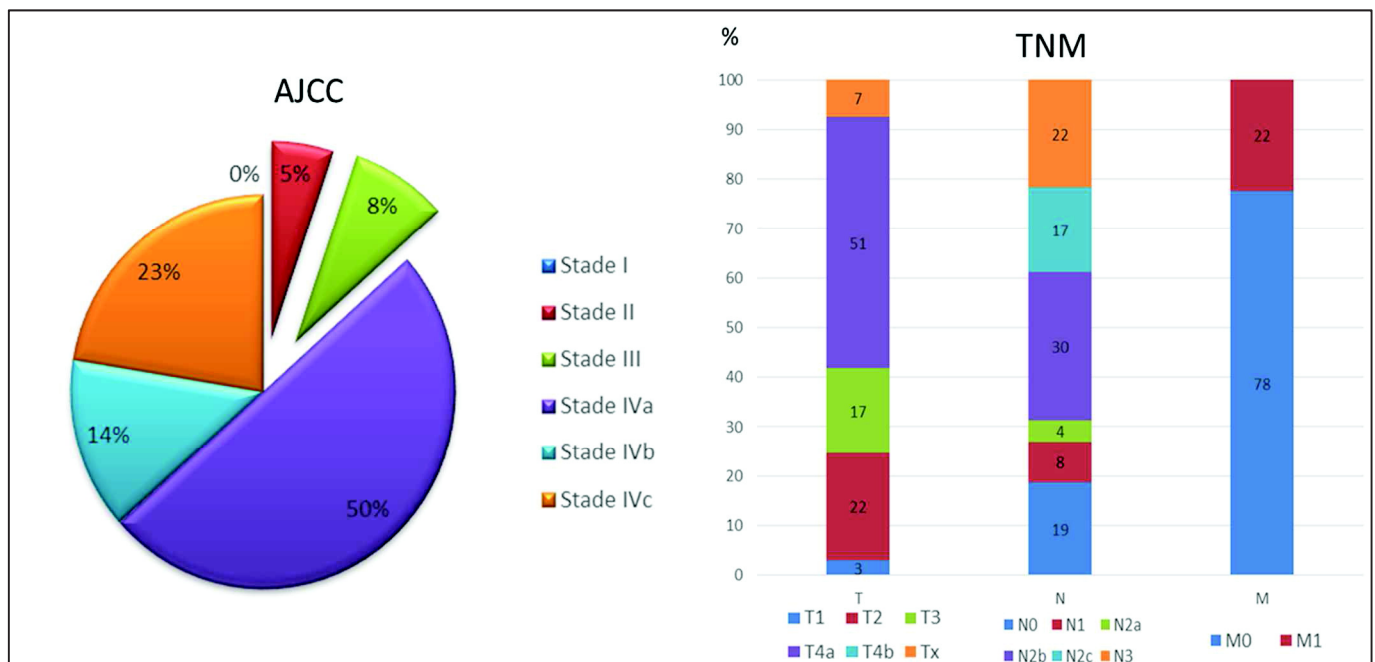


Figure 19 : Stades tumoraux initiaux dans la population totale de l'étude

RESULTATS

La répartition des traitements reçus pour la tumeur initiale est résumée dans la figure 20. 25% des patients n'ont pas eu de traitement de la phase localisée et ont bénéficié directement d'une chimiothérapie à visée palliative. Concernant la chimiothérapie d'induction, 8 patients (6%) ont bénéficié de chimiothérapie néo-adjuvante, 4 par TPF et 4 par PFU. Pour 8 patients, la potentialisation de la radiothérapie a été faite par Cetuximab. Trois d'entre eux ont bénéficié d'association de Sel de platine + 5FU seul lors de la prise en charge palliative.

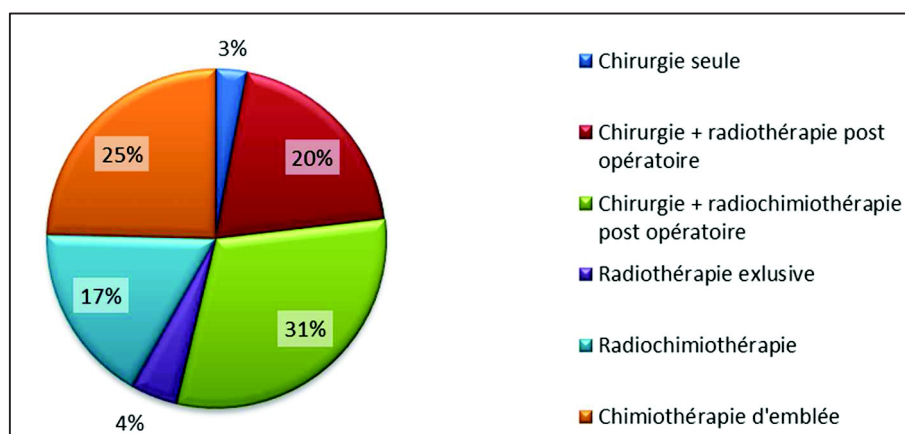


Figure 20 : Traitement reçu concernant la lésion initiale dans la population totale de l'étude.

1.2 Prise en charge palliative

20 % des patients ont présenté une évolutivité locorégionale ne pouvant relever d'un traitement curatif et 80% des patients ont présenté une évolution métastatique. Parmi eux 86 % présentaient des localisations secondaires pulmonaires, 14 % osseuses, 12% hépatiques et 4% autres (cutanée, thyroïdienne et axillaire). L'âge moyen au moment de la prise en charge palliative était de 56,5 ans [55,2 – 57,9]. La médiane de survie globale était de 9,5 mois [1,6 - 44] et de survie sans progression de 5 mois [1,5 – 32,2].

56% (75) des patients ont pu bénéficier d'un traitement associant Sel de Platine – 5FU – Cetuximab (Groupe Cx+) tandis que 44% (59) des patients ont bénéficié de l'association Sel de Platine – 5FU (Groupe Cx -). Deux patients ayant présenté une réaction allergique au Cetuximab ont été inclus dans le groupe Cx-.

Les caractéristiques des groupes Cx+ et Cx- sont présentées dans le tableau 2. L'année médiane d'inclusion du groupe Cx- était 2007 [2004 -2014] et 2012 [2009 - 2014] pour le groupe Cx+. Il existait une tendance à plus de localisations initiales oropharyngées dans le groupe Cx+ (40 vs 23% p=0,07). De même les patients du groupe Cx+ étaient significativement plus âgés (57,9 [56,3 – 59,5] vs 54,8 [52,7 – 56,8] p=0,02 au moment de la prise en charge palliative). Le groupe Cx + présentait légèrement plus de comorbidités (score de Charlson à 7

RESULTATS

[6,6 -7,4] vs 6,3 [5,7 – 6,9] ; p=0,05). Les données sur l'expression de p16 ne sont pas encore disponibles.

	Cx + 56% (n=75)	Cx- 44% (n=59)	Significativité, p
Masculin	85%	83%	n.s.
Age moyen au diagnostic initial	56,7 [55,1 – 58,4]	54 [52 – 56,1]	0,04
Intoxication Tabagique	97%	97%	n.s.
Intoxication Alcoolique	87%	95%	n.s.
Sevrage Tabac	41 %	30%	n.s.
Sevrage Alcool	46%	36%	n.s.
Localisation initiale :			
Cavité buccale	26%	31%	n.s.
Oropharynx	40%	24 %	0,07
Hypopharynx	23%	35%	n.s.
Larynx	4%	5.08 %	n.s.
ADP sans PE	8%	6.78%	n.s.
Stade AJCC I	0	0	
II	4%	7%	n.s.
III	8%	8%	n.s.
IVa	51%	49%	n.s.
IVb	13%	15%	n.s.
IVc	24%	20%	n.s.
Traitement antérieur :			
CT néo-adjuvante	8%	3%	n.s.
Chirurgie	1%	5%	n.s.
Chirurgie + RT po	17%	24%	n.s.
Chirurgie + RTCT po	36%	24%	n.s.
RT	4%	5%	n.s.
RTCT	15%	20%	n.s.
Chimiothérapie d'emblée	27%	22%	n.s.
Age moyen début de PEC palliative	57,9 [56,3 – 59,5]	54,8 [52,7 – 56,8]	0,02
Cause chimiothérapie palliative :			
Evolution LR non curative	16%	25%	n.s.
Evolution métastatique	56%	49%	n.s.
Evolution LR et métastatique	28%	25%	n.s.
Stade OMS			
OMS: 0	21%	20%	n.s.
OMS: 1	51%	47%	n.s.
OMS: 2	25%	27%	n.s.
OMS: 3	3%	5%	n.s.
Score de Charlson (moyenne)	7 [6,6 -7,4]	6,3 [5,7 – 6,9]	0,05
Taux d'albumine (moyenne)	41,2 [40,4 – 42]	40 [38,8 – 41,2]	0,09
Cause d'échec du traitement (n=74) :			
Evolution LR	28%	19%	n.s.
Evolution Méta	41 %	40%	n.s.
Evolution Méta et LR	18%	26%	n.s.
Décès	14 %	16%	n.s.

Tableau 2 : Caractéristiques démographiques et tumorales des patients ayant reçu du Cetuximab en association à une poly chimiothérapie (groupe Cx+) et les patients ayant reçu une poly chimiothérapie seule (groupe Cx-). CT : chimiothérapie. RT : Radiothérapie. RTCT : radiochimiothérapie. Po : post opératoire. LR : Loco-régionale.

En raison de la disponibilité des échantillons histologiques, le génotype variant ou sauvage a pu être testé chez 111 des 132 patients (84%).

2 DESCRIPTION DE LA POPULATION AYANT BENEFICIE DES ANALYSES GENOTYPIQUES (n=111)

Un seul échec de la technique d'analyse génomique a été observé. Les résultats sont donc présentés pour les 110 autres patients. La prévalence de la variation KRAS LCS6 était de 25%. Les caractéristiques des patients présentant un KRAS variant (groupe KRAS LCS6) ou sauvage (groupe KRAS Sauvage) sont résumées dans le tableau 3.

Il existait plus de patients avec un stade AJCC initial IVc dans le groupe KRAS LCS6 ; ce résultat était à la limite de la significativité : 37% vs 18% ($p=0,07$). Cette différence se faisait au dépend du stade IVa (33% vs 54% ; $p = 0,09$). Néanmoins il n'existait pas de différence significative concernant les stades T et N du score TNM.

Concernant le traitement par Cetuximab, 17 patients (63%) présentant un génotype KRAS LCS6 ont bénéficié d'une chimiothérapie palliative avec Cetuximab ainsi que 75,5% des patients du groupe KRAS Sauvage ($p=0,07$). Parmi eux, respectivement 47% et 43% des patients, ont présenté des réactions cutanées de grade 2 ou 3 ($p=0,9$).

Il n'existait pas d'autre différence significative entre ces deux groupes.

3 OBJECTIF PRINCIPAL ET SURVIE SELON LE GENOTYPE

Il n'existait pas de différence de survie entre les groupes KRAS variant et KRAS Sauvage en termes de survie globale ou de survie sans progression (Tableau 3 et figure 21).

	KRAS LCS6 (n=27)	KRAS Sauvage (n=83)	Hazard Ratio [IC95]	Valeur de p
Médiane SG	10,7 [3 – 38,5]	9,4 [1,6 – 44,1]	0,9 [0,6 – 1,4]	0,6
Médiane SSP	6,1 [1,5 – 19,2]	4,8 [1,5 – 32,2]	0,9 [0,6 – 1,4]	0,7

Tableau 4 : Survie globale (SG) et survie sans progression (SSP) en fonction du génotype KRAS variant ou sauvage

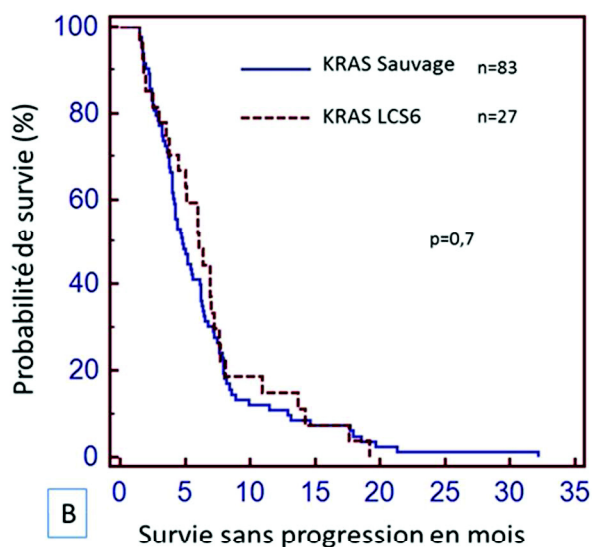
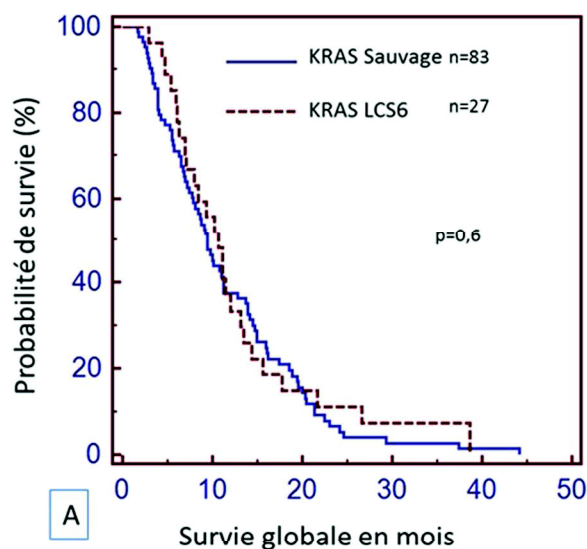
Chez les patients ayant bénéficié d'un traitement par Cetuximab, la présence d'une variation KRAS LCS6 n'était pas prédictive de réponse au traitement en survie globale ($HR = 0,9 [0,5 – 1,5]$; $p=0,5$) ou en survie sans progression (Figure 21).

Il n'existait pas de différence de survie globale entre les groupes KRAS LCS6/Cx+, KRAS Sauvage/ Cx+, KRAS LCS6/ Cx-, KRAS Sauvage/ Cx- ; cependant il existait entre ces groupes une différence de survie sans progression en faveur des patients exposés au Cetuximab ($p=0,04$). (Figure 21)

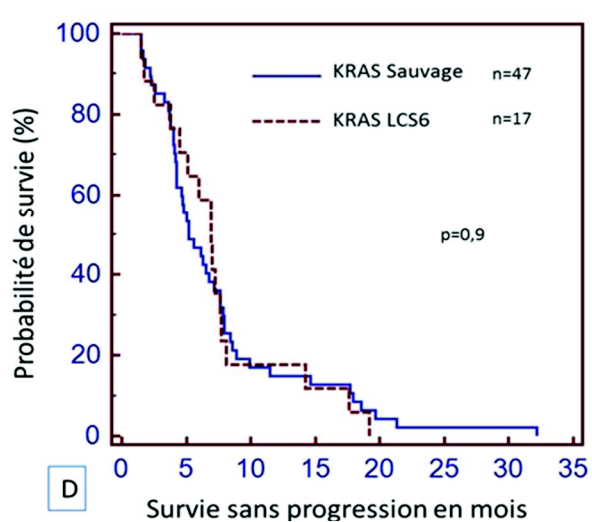
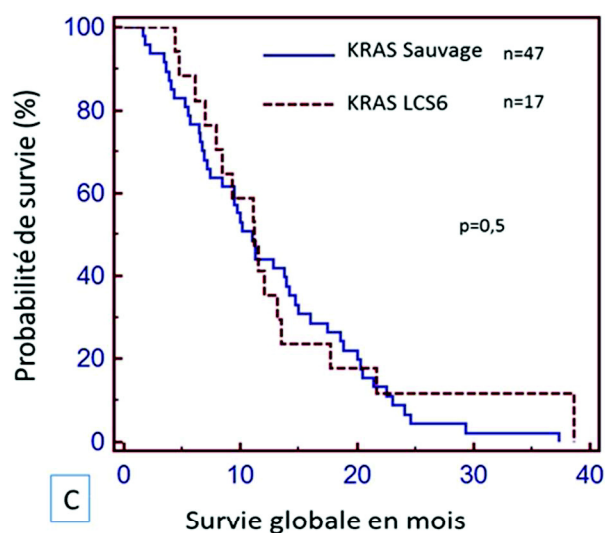
	KRAS LCS6 25% (n=27)	KRAS Sauvage 75% (n=83)	Significativité, p
Masculin	74%	86%	n.s.
Age moyen au diagnostic initial	54.4 [51.7 – 57.2]	55.9 [54.0 – 57.7]	n.s.
Intoxication Tabagique	100%	96%	n.s.
Intoxication Alcoolique	81%	92 %	n.s.
Sevrage Tabac	48%	30%	n.s.
Sevrage Alcool	44%	34%	n.s.
Localisation initiale :			
Cavité buccale	30%	31%	n.s.
Oropharynx	33%	34%	n.s.
Hypopharynx	30%	25%	n.s.
Larynx	0%	4%	n.s.
ADP sans PE	11%	6%	n.s.
Stade AJCC I	0%	0%	
II	4%	6%	n.s.
III	7%	8%	n.s.
IVa	33%	54%	0.09
IVb	19%	13%	n.s.
IVc	37%	18%	0.07
Traitement antérieur :			
CT néo-adjuvante	11%	5%	n.s.
Chirurgie	7 %	1%	n.s.
Chirurgie + RT po	14%	22%	n.s.
Chirurgie + RTCT po	30%	31%	n.s.
RT	0	6%	n.s.
RTCT	11%	19%	n.s.
Chimiothérapie d'emblée	37%	20%	0.1
Age moyen début de PEC palliative	55.6 [52.7 – 58.39]	56.9 [55.1 – 58.6]	n.s.
Cause chimiothérapie palliative :			
Evolution LR non curative	22%	17%	n.s.
Evolution métastatique	63 %	51%	n.s.
Evolution LR et métastatique	15%	33%	0.1
Stade OMS			
OMS: 0	15%	17%	n.s.
OMS: 1	59%	47%	n.s.
OMS: 2	26%	30%	n.s.
OMS: 3	0%	6%	n.s.
Score de Charlson (moyenne)	6,4 [5,7 – 7,1]	6,9 [6,4 – 7,3]	n.s.
Taux d'albumine (moyenne)	41 [39,7 – 42,3]	40,3 [39,4 – 41,2]	n.s.
Traitement par Cetuximab	63%	57%	n.s.
Eruption cutanée grade 2-3 chez les patients traités par Cetuximab	47% (n=8/17)	43% (n=20/47)	n.s.
Cause d'échec du traitement :			
Evolution LR	26%	20%	n.s.
Evolution Métastatique	26%	46%	0.1
Evolution Métastatique et LR	33%	19%	n.s.
Décès	15%	14%	n.s.

Tableau 3 : Caractéristiques démographiques et tumorales des patients présentant un KRAS variant LCS6 (KRAS LCS6) et les patients présentant un KRAS non-variant (KRAS Sauvage). CT : chimiothérapie. RT : Radiothérapie. RTCT : radiochimiothérapie. Po : post opératoire. LR : Loco-régionale.

Survie selon le génotype



Survie selon génotype chez les patients traités par Cetuximab



Survie selon le génotype et le traitement reçu

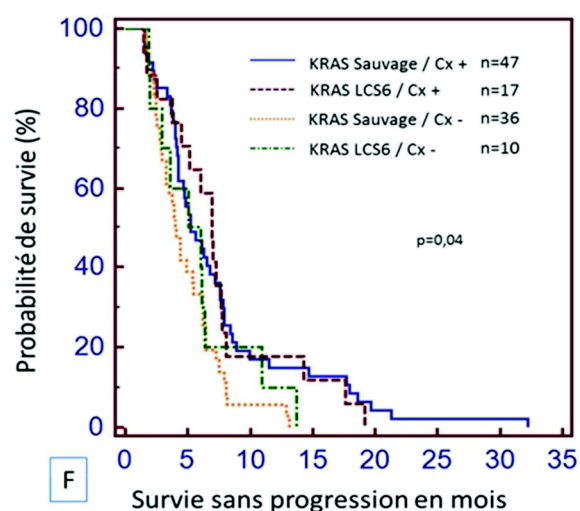
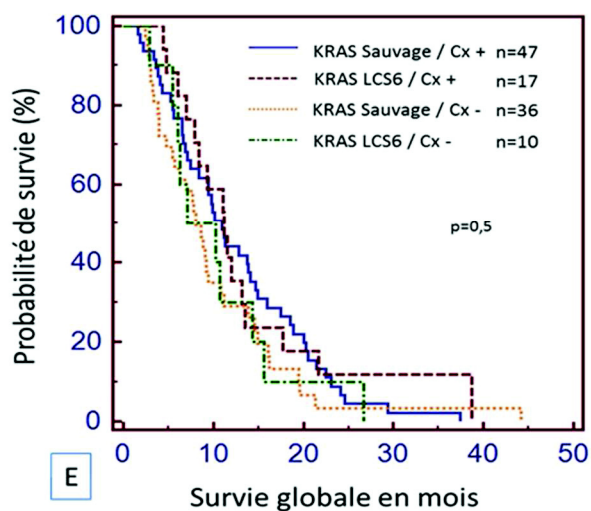


Figure 21 : Survie globale et sans progression selon le génotype et le traitement reçu

4 SURVIE SELON LE TRAITEMENT REÇU

Les analyses de survie selon le traitement reçu ont été réalisées sur l'ensemble de la population de l'étude (n=134).

La médiane de survie sans progression était de 6,1 mois [1,5 – 32,2] dans le groupe Cx+ et de 4,4 mois [1,6 – 26,5] dans le groupe Cx - (HR 0.68 IC95 [0,5 - 0,97], p=0,02). (Figure 22) Concernant la survie globale, elle était de 11,1 mois [1,6 – 38,6] dans le groupe Cx+ et 9,1 mois [2,3 – 44,1] dans le groupe Cx- (HR 0,8 IC95 [0,6 – 1,1] ; p=0,2). (Figure 22)

Parmi les patients ayant reçu du Cetuximab, la survie sans progression était significativement meilleure chez les patients présentant une réaction cutanée de grade 2 ou 3 (HR 0,6 IC95 [0,4 – 0,9] p=0,008). Il existait une tendance à l'amélioration de la survie globale pour le groupe Cx + (HR 0,7 IC95 [0,4 – 1,1] p =0,1). (Figure 22)

En analyse en sous-groupe chez les patients OMS 0-1, il n'existait pas de différence significative de SG entre les groupes Cx + et Cx- (p=0,6) tandis que celle-ci était à la limite de la significativité dans le sous-groupe OMS 2-3 avec une SG de 7 mois [2,3 – 19,6] pour le groupe Cx- et de 10,2 mois [1,8 – 37,4] pour le groupe Cx + (HR 0,06 IC95 [0,3 – 1,1] ; p=0,06]. En termes de survie sans progression il n'existait pas de différence significative au sein de ces sous-groupes mais une tendance à l'amélioration de la PFS par le Cetuximab dans le sous-groupe OMS 0-1 (p=0,1). (Tableau 5)

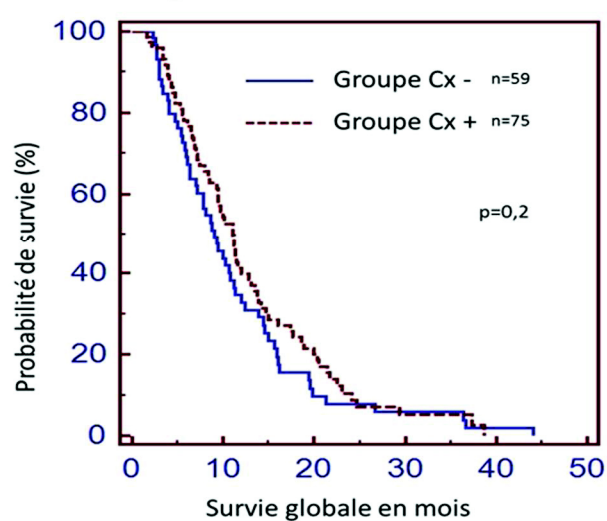
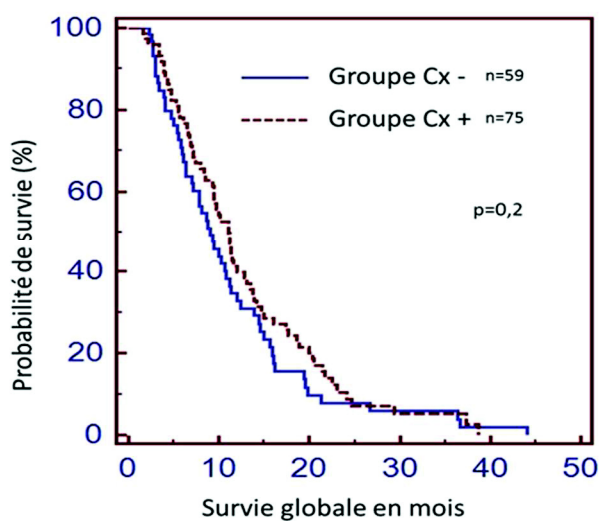
5 AUTRES RESULTATS

Les différences de survie en fonction de l'âge et du statut OMS sont rapportées dans le tableau 5

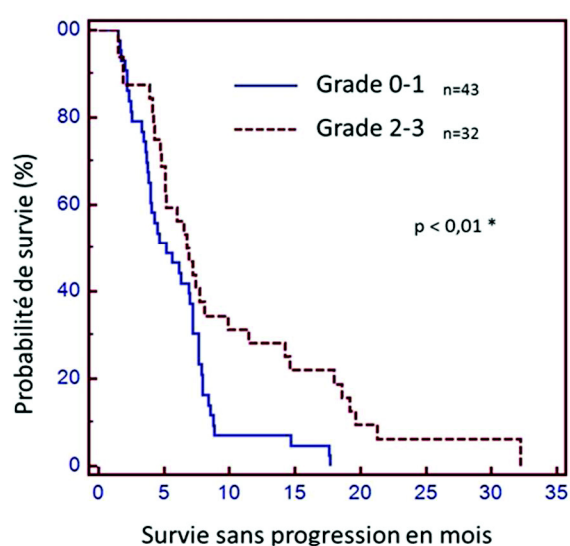
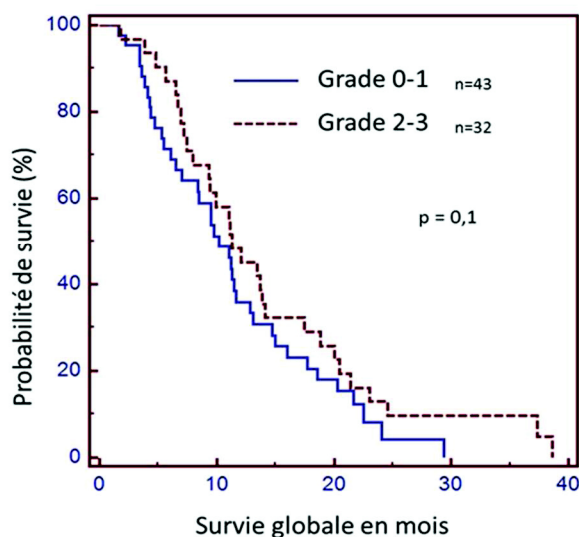
Survie :	Médiane de SSP	Hazard Ratio[IC95]	Médiane de SG	Hazard Ratio
Selon statut OMS				
OMS 0-1 (n=94)	5 [1,5 – 26,5]	1 [0,7 – 1,5] p=0,9	11,2 [1,6 – 44,1]	1,43 [0,9 - 2,2] p= 0,06
OMS 2-3 (n=40)	5,2 [1,5 – 32,2]		8,8 [1,8 – 37,3]	
Selon l'âge				
≤ 55 ans (n=64)	4,5 [1,5 – 21,3]	0,8 [0,6 – 1,2] ⁴ p=0,3	9,5 [1,6 – 44,2]	0,94 [0,66 – 1,34] p=0,72
> 55 ans (n=70)	6,2 [1,5 – 32,2]		11 [2,1 – 37,4]	
Sous-Groupe OMS 0-1				
Groupe Cx + (n=54)	6,7 [1,5 – 22,9]	0,7 [0,5 – 1,1] p=0,1	11,3 [1,6 – 38,6]	0,9 [0,6 – 1,4] p=0,6
Groupe Cx – (n=40)	4,4 [1,7 – 26,5]		10,8 [2,5 – 44,1]	
Sous-Groupe OMS 2-3				
Groupe Cx + (n=21)	5,2 [1,5 – 32,2]	0,6 [0,3 – 1,2] p=0,2	10,2 [1,8 – 37,4]	0,6 [0,3 – 1,1] p=0,06
Groupe Cx – (n=19)	5,5 [1,6 – 13,2]		7 [2,3 – 19,6]	

Tableau 5 : Médiane de survie sans progression (SSP) et de survie globale (SG) selon l'âge, le statut OMS et, dans les sous-groupes OMS 0-1 et 2-3, selon le traitement reçu. Cx : Cetuximab.

Survie selon le traitement reçu



Survie selon la toxicité cutanée chez les patients traités par Cetuximab



Survie selon le statut OMS

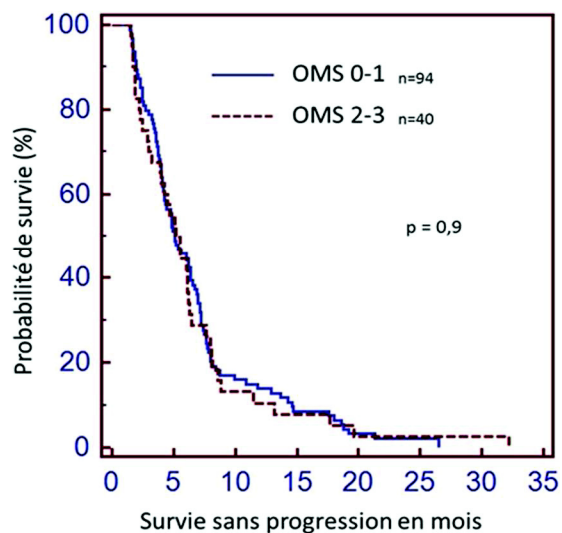
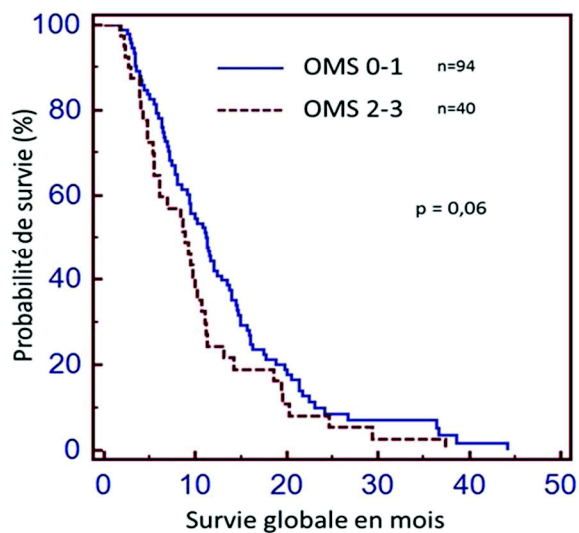


Figure 22: Survie globale et sans progression dans la population totale de l'étude selon le traitement reçu, la toxicité cutanée liée au Cetuximab et le statut OMS

DISCUSSION

1 CARACTERISTIQUES DE LA POPULATION

Cette étude, rétrospective et comparative sur cohorte historique, a inclus 134 patients présentant un carcinome épidermoïde des VADS métastatique ou récurrent et traité par chimiothérapie à visée palliative. Les caractéristiques démographiques étaient comparables à celles décrites dans la littérature pour ce type de population⁸. Étaient ainsi retrouvés la forte prédominance de patients masculins (84%), l'âge moyen de 55 ans, et l'importance de l'intoxication alcool-tabagique.

L'hétérogénéité constatée sur les localisations tumorales et la plus forte représentation des lésions oropharyngées dans le groupe Cx+ par rapport au groupe Cx- peut s'expliquer par les changements démographiques et l'accroissement du nombre de carcinomes épidermoïdes de l'oropharynx observé au niveau mondial⁸. A notre échelle, cette étude dont le groupe Cx+ a une médiane d'inclusion en 2012 pour une médiane en 2007 pour le groupe Cx-, témoigne de cette évolution.

Les autres caractéristiques (stades des tumeurs initiales, localisations des métastases, traitements antérieurs) correspondent aux données de la littérature^{8,12}. On notera aussi que près du tiers de la population présentait un stade OMS de 2-3 tandis que les études randomisées excluent, pour la plupart, ces patients^{17,72,73,75}. Comme attendu, leur survie globale était plus altérée par rapport à ceux en bon état général (HR 1,43 IC95 [0,9 - 2,2] p= 0,06) et cela sans différence de survie sans progression (HR 1 IC95 [0,7 – 1,5] p=0,9).

La présence de la variation génotypique n'était pas associée à une modification de la survie globale (p=0,6) ou de la survie sans progression (p=0,7). De même, la présence du génotype KRAS LCS6 variant n'était pas prédictive de la réponse au Cetuximab, que ce soit en survie globale (p=0,6) ou en survie sans progression (p=0,9), résultat également retrouvé en analysant les quatre groupes selon le génotype et le traitement reçu.

En revanche les patients traités par Cetuximab avaient une survie significativement meilleure en termes de survie sans progression (p=0,02), avec une tendance à l'amélioration de la survie globale.

2 LIMITES DE L'ETUDE

Outre les biais inhérents aux études rétrospectives, une certaine hétérogénéité au sein des groupes Cx + et Cx- peut limiter l'interprétation de nos résultats. Le groupe Cx + était ainsi légèrement plus âgé au moment du diagnostic initial (56.7 vs 54 ; $p=0,04$) et de la prise en charge palliative (57,9 vs 54,8 ; $p=0,02$). De même, le score de comorbidités de Charlson était légèrement plus élevé dans le groupe Cx+ ($p=0,05$). Il faut noter que les données concernant les antécédents et comorbidités des patients et sur le sevrage tabagique et œnologique ont été les plus difficiles à extraire des dossiers, notamment pour les plus anciens d'entre eux (groupe Cx), ce qui peut avoir accru artificiellement la différence observée concernant le score de Charlson.

L'importance des localisations oropharyngées dans le groupe Cx+ peut entraîner un biais dans les comparaisons de survie. En effet, nous avons vu l'incidence des cancers viro-induits dans les carcinomes oropharyngés et leur profil de survie spécifique. Bien que les analyses soient en cours, nous ne disposons pas actuellement des conclusions des analyses immuno-histochimiques sur l'expression de p16, mais ils seront indispensables pour conforter nos résultats en analyses multivariées. Il est néanmoins probable que ce biais demeure limité : premièrement, la prévalence de cancers HPV induits n'est pas prédominante dans notre région ; secondairement la quasi-totalité des patients présentaient une intoxication alcoolo-tabagique. Or, chez les patients HPV+, l'intoxication tabagique est le second facteur pronostic de survie, celle-ci étant fortement grevée dès que l'intoxication dépasse 10 Paquets-années¹⁴.

Pour finir il s'agit d'une étude per-protocole et les patients n'ayant pas reçu au moins 2 cures de chimiothérapie ont été exclus, ce qui peut biaiser les bénéfices à attendre de la chimiothérapie puisque les patients ayant présenté une mauvaise tolérance ou une poursuite évolutive tumorale lors du premier cycle de chimiothérapie ont été exclus.

3 ROLE DE LA VARIATION KRAS LCS6.

3.1 Analyse génétique et fréquence de la variation

La recherche de la variation KRAS LCS6 par extraction d'ADN sur paraffine et pyroséquençage s'est révélée une technique fiable, efficace et rapide. Sur l'ensemble des analyses réalisées, seule une a été un échec par manque de matériel génétique au niveau du prélèvement utilisé. Le délai d'obtention des résultats, avec des manipulations réalisables en

24h et comprenant une nuit de digestion des coupes paraffinées, est raisonnable dans l'optique d'une analyse réalisée en pratique courante lors des analyses anatomo-pathologiques des biopsies ou pièces opératoires.

La fréquence de KRAS LCS6 variant retrouvée dans cette cohorte (25%) correspond à celle décrite dans la littérature. Celle-ci varie de 10%¹⁰⁶ à 30%¹⁰⁷ et est proche de 20% dans la majorité des études et notamment dans les localisations ORL^{103,104,108}.

3.2 Effet de la variation KRAS LCS6

Depuis sa description en 2008 comme facteur de risque de cancer du poumon non à petites cellules par Chin et al.¹⁰² la variation KRAS LCS6 a fait l'objet d'analyses contradictoires. Étudiés dans différentes localisations (colon, ovaire, sein, VADS, poumon, vésicule biliaire), trois éléments sont discutés : son statut de facteur de risque de cancer, de facteur pronostic et de biomarqueur prédictif de réponse au traitement.

3.2.1 Un facteur de risque de cancer ?

Plusieurs auteurs ont suggéré le rôle de KRAS LCS6 variant comme facteur de risque de cancer. Ainsi, dans le sein, Paranjape et al.¹⁰⁹ retrouvaient sur plus de 1000 patientes, en analyses multivariées en sous-groupe, une association entre la présence de la variation et le risque de cancer du sein triple négatif en pré ménopause (OR 2,3 IC95[1,3 – 4,2] ; p=0,007). Ratner et al.¹¹⁰ présentaient des résultats similaires dans le cancer de l'ovaire et Chin et al.¹⁰² dans les cancers du poumon, ou encore dans les cancers de la vésicule biliaire¹¹¹.

En contradiction avec ces conclusions, plusieurs publications exposaient des résultats opposés dans les cancers du sein, de l'ovaire et du poumon.^{112,113} Dans les cancers du côlon, Dai et al.¹⁰⁷ ne retrouvaient pas d'association avec le KRAS LCS6 chez 430 cas et 430 sujets contrôles, tout comme Christensen et al.¹⁰⁴ dans les cancers des VADS chez plus de 1000 patients (OR 1,3 IC95 [0,9 – 1,8] *ns*).

Afin d'augmenter la puissance de ces études, parfois réalisées sur un petit nombre de patients deux méta-analyses ont été réalisées en 2014¹¹⁴ et 2016¹¹⁵. Aucune association entre la présence de la variation et le risque de cancer n'a pu être établie, toutes localisations confondues et chaque localisation indépendamment. Les résultats détaillés sont présentés dans le tableau 6.

Auteur / Date / n	Localisation tumorale	OR [IC95]
Ying et al. 2014¹¹⁴ n = 14796 cas + 147985 contrôles	Total	1,06 [0,97 – 1,15]
	Ovaire	1,06 [0,95 – 1,19]
	Sein	0,99 [0,83 – 1,19]
	Colorectal	1,13 [0,83 – 1,54]
	Poumon	0,93 [0,6 – 1,43]
Zhang et al. 2016¹¹⁵ n= 14936 cas + 14168 contrôles	Total	1,05 [0,97 – 1,14]
	Ovaire	1,06 [0,96 – 1,19]
	Sein	1,05 [0,97 – 1,13]
	Colorectal	1,13 [0,84 – 1,22]
	Poumon	0,93 [0,6 – 1,43]
	VADS	1,17 [0,5 – 1,52]

Tableau 6 : Résultats des méta-analyses sur KRAS LCS6 variant et risque de cancer, toutes localisations confondues et par localisation. VADS : voies aérodigestives supérieures. OR : Odds-Ratio. IC95 : intervalle de confiance à 95%.

Mais si le génotype rs61764370 ne semble pas lié à l'initiation du processus de cancérogénèse, peut-être est-il lié à la progression tumorale.

3.2.2 Un facteur pronostic ?

De manière semblable le caractère pronostic de la variation est sujet à débat : là où Smits et al.¹¹⁶ voient un facteur de bon pronostic dans les stades précoces de cancers colorectaux (n=409), Graziano et al.¹¹⁷ la décrivent comme facteur de mauvais pronostic dans les stades avancés (n=134) ; là où de Ruyck et al.¹⁰³ retrouvent une meilleure survie associée au KRAS LCS6 dans les cancers oropharyngés (n=122), Christensen et al.¹⁰⁴ rapportent une aggravation du pronostic dans les cancers de la cavité buccale liée à cette variation sans modification de la survie dans les localisations pharyngées (n=344). Il semble que la seule différence des caractéristiques épithéliales propres à ces deux revêtements des VADS ne suffise pas à expliquer ces différences. En gynécologie, une large étude sur 15 357 cancers de l'ovaire et 37 640 cancers du sein organisée par l'« Ovarian Cancer Association Consortium » et le « Breast Cancer Association Consortium », n'a montré aucune association entre la variation KRAS LCS6 et la survie globale et conclut à l'inutilité de sa recherche en pratique courante¹¹⁸.

Dans notre étude, la présence de la variation KRAS LCS6 n'était pas prédictive de la survie globale, et ce, quelles que soient les localisations tumorales initiales.

Par ailleurs, dans notre cohorte, plus de patients du groupe LCS6 étaient d'emblée métastatiques par rapport au groupe sauvage ($p=0,07$). Peu de données sont disponibles dans la littérature concernant ce point : soit la population sélectionnée est non-métastatique et bénéficie d'un traitement curatif, soit les caractéristiques tumorales des patients métastatiques ne détaillent pas le caractère d'emblée métastatique ou secondairement métastatique.

Trois éléments pourraient corroborer cette observation. Tout d'abord un risque d'évolution métastatique retrouvée de manière significativement plus importante ($p=0,008$) chez les KRAS variants dans une population de 320 cancers colorectaux par Dai et al.¹⁰⁷; deuxièmement, une étude in vitro sur culture cellulaire issue de pièces opératoires d'ostéosarcome, montrant, dans les lignées présentant un génotype rs61764370, une augmentation de l'activité KRAS associée à une augmentation du pouvoir invasif et migratoire¹¹⁹; enfin, une seconde étude in vitro montrant l'association de KRAS variant à une hyper-activation de protéines associées aux cytosquelettes et microtubules liés à la migration cellulaire et suggérant une signature génétique pro-métastatique. Ces résultats restent à interpréter avec beaucoup de précautions.

3.2.3 Un facteur prédictif de réponse au Cetuximab ?

Une fois encore le rôle prédictif de réponse au Cetuximab de la variation KRAS-LCS6 apparaît incertain.

La plupart des études concerne les cancers métastatiques colorectaux et les parallèles avec les localisations ORL sont à prendre avec beaucoup de précautions en raison de la grande différence de structure tissulaire, de microenvironnement et de fonctionnement microbiologique et oncogénétique. Deux méta-analyses se sont intéressées à la sensibilité au Cetuximab, reprenant les quatre mêmes études et ne montrant pas d'association significative entre sensibilité au Cetuximab et présence de KRAS LCS6^{120,121}.

Nonobstant, ces méta-analyses concernant les cancers colorectaux présentent des limitations : tout d'abord elles n'incluent pas les résultats de Saridaki et al.¹²² à propos de 512 patients présentant un cancer colorectal métastatique tous traités par anti-EGFR, les méta-analyses ayant été publiées au même moment que cette publication. Or cette étude montrait une meilleure survie sans progression dans le groupe Variant ($p=0,02$) et plus particulièrement si celui-ci était associé à un génotype KRAS sauvage (codon 12 et 13) et BRAF sauvage ($p=0,04$) ; les 4 études incluses présentaient une grande disparité en termes de population et de

DISCUSSION

traitement reçu (anti-EGFR seul, en association avec Irinotecan, en association avec Oxaliplatine : ou 5FU-Leucovorin-Oxaliplatine), pour finir une seule possédait un bras contrôle sans anti-EGFR.

Dans les carcinomes épidermoïdes des VADS, Chung et al.¹⁰⁵ réalisèrent l'analyse rétrospective de 95 patients métastatiques ou présentant une évolutivité loco-régionale prise en charge par chimiothérapie palliative. Parmi eux, 26 patients ont bénéficié de traitement par Cisplatine + Cetuximab. Les auteurs retrouvaient d'une part une plus mauvaise survie des patients KRAS LCS6, mais surtout une augmentation significative de la survie sans progression chez les patients présentant un KRAS LCS6 et traités par Cetuximab (1,9 mois pour le groupe Cisplatine seul vs 3,9 mois dans le groupe Cisplatine + Cetuximab ; $p = 0,03$), tandis que cet effet n'était pas observé dans le groupe KRAS Sauvage ($p=0,57$). Ces résultats suggéraient une meilleure efficacité du Cetuximab chez les patients présentant un génotype rs61764370 qui pourrait alors servir de marqueur prédictif de réponse au traitement.

Ces données issues d'analyse en sous-groupe, et sur un très petit nombre de patients devaient être contrôlées sur une cohorte plus large et dédiée. Ceci était l'objectif principal de notre étude. Celle-ci n'a mis en évidence aucune association entre la présence de KRAS LCS6 variant et la réponse au Cetuximab.

Plusieurs éléments pourraient l'expliquer. Si les effets de ce polymorphisme génétique sont encore discutés, la plupart des études *in vivo* retrouvent un lien entre la présence de la variation et l'hyper-expression de KRAS^{102,105,109}. Cette hyperexpression s'explique par la perte de contrôle de la synthèse de ces protéines par défaut de fixation du miR Let7 au sein du complexe RISC et de l'ARNm de KRAS. Or, il semble que cette absence de fixation soit associée à une baisse de Let7 au sein même des cellules variantes selon le principe de « use it or loose it »¹²³. Crowley et al. ne retrouvaient d'ailleurs, dans une étude *in vitro*, qu'une diminution de Let-7 sans modification de l'expression du KRAS sur des cellules knock-in rs61764370. Par conséquent ce pourrait être la perte de la régulation par Let-7 sur le reste des ARNm contrôlés par elle (cMyc, CDK4 et 6, BAX2...) qui serait impliquée dans les anomalies observées et non KRAS directement.

De surcroît, il se pourrait que d'autres microARN puissent se fixer sur 9 autres sites de liaison complémentaire présentant des domaines similaires de la partie 3'UTR et réprimer la transcription et l'expression de KRAS à la place de Let-7. Ces potentiels miR ne sont actuellement pas connus¹¹⁵.

Enfin, nous avons vu que le Cetuximab n'agissait pas seulement par blocage de la voie intra-cellulaire de l'EGFR, mais aussi par stimulation de l'immunité cellulaire via l'ADCC et que cette activité pouvait expliquer les différences de réponses entre les anti-EGFR en fonction de leur capacité à la stimuler⁸³. Pareillement, la mauvaise efficacité de ces traitements en cas de polymorphisme FcγRIIIa sur les cellules NK étaye cette hypothèse¹²⁴. Il est donc possible que l'efficacité du Cetuximab dans les carcinomes épidermoïdes des VADS soit plus liée à sa capacité à induire une réponse immunitaire via l'ADCC qu'au blocage de la voie de l'EGFR. L'ajout d'immuno-modulateur comme le Lenalidomide est en cours d'évaluation en ORL bien qu'il n'ait pas montré de bénéfice évident dans les cancers colorectaux métastatiques¹²⁴.

Ainsi, quoique facilement réalisable, la recherche du génotype KRAS LCS6 dans les carcinomes épidermoïdes des VADS n'apparaît pas utile en pratique courante, que ce soit en termes de recherche de facteur de risque de cancer, de facteur pronostic ou de marqueur de réponse au Cetuximab.

4 CETUXIMAB

4.1 Apport du Cetuximab

Cette étude a permis de mettre en évidence une augmentation significative de la survie sans progression lors de l'adjonction de Cetuximab dans cette population, avec une SSP médiane de 6,1 mois dans le groupe Cx + et de 4,4 mois dans le groupe Cx - (HR 0.68 IC95 [0,5 - 0,97], p=0,02). Parmi les patients ayant reçu du Cetuximab 17 (23%) ont présenté une bonne réponse et reçu plus de 6 cures de Cetuximab en entretien. Parmi eux 10 (13%) étaient longs répondeurs et ont reçu au moins 15 cures d'entretien. Ces résultats sont semblables à ceux de Vermorken et al.¹⁷ qui observaient une médiane de SSP de 5,6 mois dans le groupe Cx+ et de 3,3 mois dans le groupe Cx- (HR : 0.54 IC95 [0.43 - 0.67] ; P<0.001). Ils correspondent également aux survies décrites chez les patients traités par protocole EXTREME.(Tableau 7)^{90,125-129}.

Ce bénéfice n'était pas retrouvé de manière significative en survie globale, bien qu'il existe une tendance à l'amélioration de celle-ci dans le groupe Cetuximab (11,14 mois dans le groupe Cx+ vs 9,07 mois dans le groupe Cx- avec HR 0,79 IC95 [0,6 – 1,1] ; p=0,2). Ces survies sont proches de celles retrouvées dans la littérature, et avec une puissance plus

importante (n=442) cette différence était significative dans l'étude de Vermorken et al.¹⁷ (10,1 mois vs 7,4 mois ; HR 0,80 IC95[0,64-0,99] ; p=0,04).

Plusieurs éléments peuvent expliquer ce défaut de significativité. Tout d'abord, les patients du groupe Cx+ étaient, comme nous l'avons vu précédemment, significativement plus âgés au moment de la prise en charge métastatique. Or l'âge est un facteur lié à une plus faible survie¹⁷, même s'il n'a pas été noté de différence de survie entre les patients de plus et de moins de 55 ans dans notre étude, que ce soit en SSP (p=0,3) ou en SG (p=0,7). Pareillement, les patients ayant bénéficié du Cetuximab présentaient plus de comorbidités (p=0,5), ce qui peut, bien entendu, aboutir à une moins bonne survie.

4.2 Cetuximab et rash cutané

L'intensité de l'éruption cutanée secondaire au Cetuximab est le seul marqueur, actuellement établi, prédictif de réponse à cet anticorps monoclonal. Herbst et al.⁸⁹ sont les premiers à décrire cette association retrouvée dans l'étude de phase II du protocole EXTREME¹⁷. Dans notre étude, les patients présentant un rash cutané de grade 2 ou 3 présentaient une survie sans progression significativement meilleure (HR 0,6 IC95 [0,4 – 0,9] p=0,008). Ce résultat était retrouvé sous forme de tendance en termes de survie globale. La confirmation dans notre cohorte de la valeur pronostique des principaux facteurs connus pour cette population (statut OMS, rash cutané), nous conforte dans l'idée que le variant KRAS n'est pas associé à la réponse au PFUCx dans les cancers ORL métastatiques.

Il est intéressant de noter que la relation entre rash acnéiforme et réponse tumorale est aussi retrouvée pour les autres molécules ciblant la voie de l'EGFR (Erlotinib¹³⁰, Zalutumumab¹³¹, Gefitinib¹³²).

Les mécanismes de ce rash ne sont que partiellement connus. Deux éléments principaux semblent impliqués. D'une part la réaction immunitaire cellulaire : les biopsies cutanées réalisées sur tissu cutané présentant ces réactions montrent un infiltrat de lymphocyte T CD4+ activé et de cellule de Langerhans activée tout au long du derme et de l'épiderme, avec, au niveau des zones de lésion les plus importantes, des macrophages et des cellules dendritiques activées¹³³. Ces observations nous paraissent être en faveur du rôle important joué par l'ADCC dans l'efficacité de ces traitements d'autant que ces infiltrats cutanés semblent être plus le fait d'une réponse immunitaire innée du tissu cutané que d'une réponse secondaire à des signaux pro-inflammatoires¹³³. D'autre part le blocage de l'EGFR pourrait modifier l'expression des

cytokines et chémokines pro et anti-inflammatoire et renforcer cette réponse immunitaire innée¹³³.

Des études d'escalades de doses d'anticorps anti-EGFR et anti-TK jusqu'à apparition d'un rash cutané n'ont pas montré d'augmentation de l'efficacité de ces molécules par rapport aux doses usuelles utilisées dans les protocoles d'étude, suggérant l'absence de bénéfice à l'optimisation des doses par titration en fonction du rash cutané^{132,134}. Certains auteurs proposent des tests in vitro d'exposition de biopsie cutanée au Cetuximab avant l'initiation du traitement pour préjuger de la réponse aux anticorps antiEGFR¹³³.

4.3 Bénéfice et état général

Cette étude est, à notre connaissance, la seule étude comparative sur cohorte non-sélectionnée comparant l'association Sel de Platine - 5FU +/- Cetuximab. Depuis la publication princeps de Vermorken et al.¹⁷, peu de publications se sont appliquées à confirmer ces résultats (Tableau 7). Deux d'entre elles avaient pour objectif principal de vérifier l'efficacité de ce protocole sur patients sélectionnés mais aucune ne présentait de bras contrôle Cx-^{127,128}. De plus la totalité des patients de la cohorte étudiée par Lynggaard et al.¹²⁸ présentait un Performance Status de 0 ou 1. Tandis que l'une concluait à une bonne efficacité de ce traitement, l'autre jugeait le bénéfice trop faible pour des effets secondaires et un coût financier jugé trop important. Les différentes médianes de survie, résumées dans le tableau 7, étaient comparables, seul Chang et al.¹²⁵ retrouvaient, sur seulement 13 patients, une survie globale particulièrement élevée (28 mois).

Un élément réfute l'idée que, dans notre étude, l'absence de bénéfice en survie globale soit secondaire à la sous-population OMS 2-3. En effet, en analyse en sous-groupe les patients avec un score OMS 2 ou 3, tout en ayant un pronostic plus sévère, profitait plus en termes de survie globale de l'apport du Cetuximab (HR 0,06 IC95 [0,3 – 1,1] ; p=0,06) que les patients OMS 0 ou 1 (HR 0,9 IC95 [0,6 – 1,4] p=0,6).

Ces résultats sont à prendre avec beaucoup de précautions : tout d'abord il s'agit d'une analyse en sous-groupe, sur seulement 40 patients, et avec des résultats à la limite de la significativité. De plus, bien qu'il n'existe pas de résultat contraire, cette information n'est pas retrouvée dans la littérature ; à l'inverse, dans l'étude de Vermorken et al.¹⁷, les patients avec un score de Karnofsky <80, tous OMS 0-1, bénéficiaient moins de l'apport du Cetuximab que les patients avec un score ≥ 80 . Enfin, les patients ayant bénéficié de moins de deux cures de

DISCUSSION

chimiothérapie étaient exclus de notre cohorte, or il est probable que ce soit justement les plus altérés d'entre eux sur le plan général qui n'aient pas pu supporter ce traitement. Confirmer ce résultat nécessiterait impérativement une étude en intention de traiter sur une plus large population.

DISCUSSION

Auteur /date	Contexte de l'étude	Type d'étude	n	Survie en mois (IC95%)	Conclusions des auteurs
Chang et al. 2010 ¹²⁵	Etudier l'efficacité du Cetuximab chez les consommateurs de noix de Bétel et 1 ^{ère} et 2 ^{ème} ligne de chimiothérapie palliative.	Etude rétrospective, non contrôlée.	*n=13	*SG : 28 mois *SSP : 4,8 mois	Efficacité du Cetuximab, pas de différence chez les consommateurs de noix de Bétel
Yoshino et al. 2013 ¹²⁶	Etudier l'efficacité du protocole EXTREME dans la population japonaise en vue de l'AMM.	Etude de phase II, ouverte, prospective non contrôlée, sur cohorte sélectionnée.	n=33	SSP : 4,1 (4,0 – 5,5) SG : 14,1 (10,2- 15,4)	Efficacité du protocole dans la population japonaise.
De Mello et al. 2014 ¹²⁷	Etudier l'efficacité du protocole EXTREME en dehors d'un protocole d'étude.	Etude rétrospective, non contrôlée, patients non sélectionnés (15% d'OMS 2-3)	n=21	SG : 11 (8,68 – 13,31) SSP : 8 (6,5 – 9,9)	Efficacité du protocole Extrême même dans une population non sélectionnée, toxicité tolérable. Meilleure efficacité du Cisplatine par rapport au Carboplatine.
Lynggaard et al. 2014 ¹²⁸	Etudier l'efficacité du protocole EXTREME en dehors d'un protocole d'étude.	Rétrospective, non contrôlée, patients non sélectionnés (0% d'OMS 2-3)	n=22	SSP : 5,8 (4,3 - 7,3) SG : 7,3 (5,0 – 9,7)	Efficacité médiocre vis-à-vis des protocoles habituels, toxicité importante, nécessité de trouver un autre standard mieux toléré. Coût important.
Van der Linden et al. 2016 ⁹⁰	Etude descriptive concernant les différentes chimiothérapies utilisées au Pays-Bas en 1 ^{ère} ligne et leur coût respectif	Etude rétrospective observationnelle	*n=40	*SSP : 4,8 (3,2 - 6,4) *SG : 6,7 (4,4 - 8,9)	Survie faible quel que soit la chimiothérapie proposée pour un coût important.
Soulières et al. 2016 ¹²⁹	Comparer 2 techniques de fabrication du Cetuximab en vue de l'autorisation de fabrication.	Etude prospective, randomisée, en double aveugle Absence de bras contrôle sans Cetuximab	n=145	SG : 9,2 (7,1 – 11,8) vs 9,5 (6,9 – 11,4) <i>ns</i> SSP : 4,7 (3,5 – 5,8) vs 5,65 (4 – 6,5) <i>ns</i>	Efficacité similaire entre les deux techniques de fabrication.

Tableau 7 : Etudes portant sur l'efficacité du protocole EXTREME (Sel de Platine-5FU-Cetuximab), en première ligne de chimiothérapie palliative pour des carcinomes épidermoïdes de VADS depuis les résultats de l'étude de Vermorken et al¹⁷. Aucune de ces études ne présentent de bras contrôle sans Cetuximab. *ne sont rapportés ici que les résultats concernant le protocole EXTREME et en première ligne. SSP : survie sans progression. SG : survie globale. ns : différence non significative

CONCLUSION :

Les carcinomes épidermoïdes des VADS métastatiques ou récidivants et relevant d'un traitement palliatif affichent un pronostic sévère. L'apport récent des thérapies ciblées et particulièrement du Cetuximab a permis ces dernières années d'améliorer modérément la survie de ces patients. Cependant, seule une partie d'entre eux y est bon répondeur malgré une augmentation des effets secondaires et des coûts de prise en charge, imposant la recherche de facteur prédictif de réponse aux anti-EGFR.

La variation KRAS LCS6, responsable d'un défaut de fixation des microARN let7 sur la région 3'UTR du gène de KRAS et de la perte de la régulation de son expression n'apparaît pas comme préjugeant de l'efficacité du Cetuximab dans notre cohorte. Ce polymorphisme ne semble également pas associé à un sur-risque de cancer, ou à un plus mauvais pronostic, et sa recherche ne s'avère que peu utile en pratique courante.

En outre, notre étude a permis de confirmer l'efficacité du Cetuximab en adjonction d'une polychimiothérapie associant Sel de platine et 5FU dans une cohorte non-sélectionnée, en termes de survie sans progression, avec une tendance à l'amélioration de la survie globale. Les patients les plus altérés présentaient une bonne réponse aux anti-EGFR. Ces résultats nécessitent d'être étayés par des études plus larges et les conclusions immuno-histochimiques sur l'expression de p16.

BIBLIOGRAPHIE

1. Binder-Foucard F, Belot A, Delafosse P, et al. Estimation nationale de l'incidence et de la mortalité par cancer en France entre 1980 et 2012. *Etude à partir du registre des cancers du réseau Francim*. 2013;1:122.
2. Vigneswaran N, Williams MD. Epidemiological Trends in Head and Neck Cancer and Aids in Diagnosis. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am*. 2014;26(2):123-141.
3. Bossard N, Estève J, Remontet L, et al. Projection de l'incidence et de la mortalité par Cancer en France En 2010. Technical report. *Saint-Maurice: Institut de veille sanitaire*; 2011.
4. Righini CA, Karkas A, Morel N, Soriano E, Reyt E. [Risk factors for cancers of the oral cavity, pharynx (cavity excluded) and larynx]. *Presse Médicale Paris Fr* 1983. 2008;37(9):1229-1240.
5. Tuyns AJ, Estève J, Raymond L, et al. Cancer of the larynx/hypopharynx, tobacco and alcohol: IARC international case-control study in Turin and Varese (Italy), Zaragoza and Navarra (Spain), Geneva (Switzerland) and Calvados (France). *Int J Cancer*. 1988;41(4):483-491.
6. Bastianic T, Brisacier AC, Cadet-Tairou A, et al. Drogues et addictions, données essentielles. *Obs Fr Drogue Toxicom*. 2013.
7. Guignard R, Beck F, Richard JB, Peretti-Wattel P. Le Tabagisme en France : Analyse de l'enquête Baromètre Santé 2010. *Saint Denis: Inpes*; 2013:56p.
8. Rettig EM, D'Souza G. Epidemiology of Head and Neck Cancer. *Surg Oncol Clin*. 2015;24(3):379-396.
9. St Guily JL, Jacquard A-C, Prétet J-L, et al. Human papillomavirus genotype distribution in oropharynx and oral cavity cancer in France—The EDiTH VI study. *J Clin Virol*. 2011;51(2):100-104.
10. Clair JM-S, Alani M, Wang MB, Srivastan ES. Human Papillomavirus in Oropharyngeal Cancer: The Changing Face of a Disease. *Biochim Biophys Acta*.
11. Pignon J-P, Maître A le, Maillard E, Bourhis J. Meta-analysis of chemotherapy in head and neck cancer (MACH-NC): An update on 93 randomised trials and 17,346 patients. *Radiother Oncol*. 2009;92(1):4-14.
12. Marur S, Forastiere AA. Head and neck cancer: changing epidemiology, diagnosis, and treatment. *Mayo Clin Proc*. 2008;83(4):489-501.
13. Seiwert TY, Cohen EEW. State-of-the-art management of locally advanced head and neck cancer. *Br J Cancer*. 2005;92(8):1341-1348.
14. Ang KK, Harris J, Wheeler R, et al. Human papillomavirus and survival of patients with oropharyngeal cancer. *N Engl J Med*. 2010;363(1):24-35.

15. Cooper JS, Pajak TF, Forastiere A, et al. Precisely defining high-risk operable head and neck tumors based on RTOG #85-03 and #88-24: targets for postoperative radiochemotherapy? *Head Neck*. 1998;20(7):588-594.
16. Loh KS, Brown DH, Baker JT, Gilbert RW, Gullane PJ, Irish JC. A rational approach to pulmonary screening in newly diagnosed head and neck cancer. *Head Neck*. 2005;27(11):990-994.
17. Vermorken JB, Mesia R, Rivera F, et al. Platinum-based chemotherapy plus cetuximab in head and neck cancer. *N Engl J Med*. 2008;359(11):1116-1127.
18. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*. 2011;144(5):646-674.
19. Barthelmé E. Histoire de la notion du cancer. *Hist Sci Médicales*. 1981;15:167–172.
20. Slaughter DP, Southwick HW, Smejkal W. Field cancerization in oral stratified squamous epithelium; clinical implications of multicentric origin. *Cancer*. 1953;6(5):963-968.
21. Voravud N, Shin DM, Ro JY, Lee JS, Hong WK, Hittelman WN. Increased Polysomies of Chromosomes 7 and 17 during Head and Neck Multistage Tumorigenesis. *Cancer Res*. 1993;53(12):2874-2883.
22. Tabor MP, Brakenhoff RH, van Houten VM, et al. Persistence of genetically altered fields in head and neck cancer patients: biological and clinical implications. *Clin Cancer Res*. 2001;7(6):1523-1532.
23. Nathan C-AO, Amirghahri N, Rice C, Abreo FW, Shi R, Stucker FJ. Molecular analysis of surgical margins in head and neck squamous cell carcinoma patients. *The Laryngoscope*. 2002;112(12):2129-2140.
24. Hayashi M, Wu G, Roh J-L, et al. Correlation of gene methylation in surgical margin imprints with locoregional recurrence in head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer*. 2015;121(12):1957-1965.
25. Chung KY, Mukhopadhyay T, Kim J, et al. Discordant p53 gene mutations in primary head and neck cancers and corresponding second primary cancers of the upper aerodigestive tract. *Cancer Res*. 1993;53(7):1676-1683.
26. Leemans CR, Braakhuis BJM, Brakenhoff RH. The molecular biology of head and neck cancer. *Nat Rev Cancer*. 2011;11(1):9-22.
27. Agrawal N, Frederick MJ, Pickering CR, et al. Exome Sequencing of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma Reveals Inactivating Mutations in NOTCH1. *Science*. 2011;333(6046):1154-1157.
28. Stransky N, Egloff AM, Tward AD, et al. The Mutational Landscape of Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Science*. 2011;333(6046):1157-1160.
29. Feldman R, Gatalica Z, Knezetic J, et al. Molecular profiling of head and neck squamous cell carcinoma. *Head Neck*. 2016;38(S1):1625-1638.

30. Poeta ML, Manola J, Goldwasser MA, et al. TP53 mutations and survival in squamous-cell carcinoma of the head and neck. *N Engl J Med*. 2007;357(25):2552-2561.
31. Loyo M, Li RJ, Bettegowda C, et al. Lessons learned from next-generation sequencing in head and neck cancer. *Head Neck*. 2013;35(3):454-463.
32. Hao Q, Cho WC. Battle Against Cancer: An Everlasting Saga of p53. *Int J Mol Sci*. 2014;15(12):22109-22127.
33. Temam S, Flahault A, Périé S, et al. p53 gene status as a predictor of tumor response to induction chemotherapy of patients with locoregionally advanced squamous cell carcinomas of the head and neck. *J Clin Oncol*. 2000;18(2):385-394.
34. Strzelczyk JK, Gołabek K, Krakowczyk Ł, Owczarek AJ. Expression profiles of MGMT, p16, and APC genes in tumor and matching surgical margin from patients with oral squamous cell carcinoma. *Acta Biochim Pol*. 2016;63(3):505-509
35. Liggett WH, Sidransky D. Role of the p16 tumor suppressor gene in cancer. *J Clin Oncol*. 1998;16(3):1197-1206.
36. Tinhofer I, Budach V, Saki M, et al. Targeted next-generation sequencing of locally advanced squamous cell carcinomas of the head and neck reveals druggable targets for improving adjuvant chemoradiation. *Eur J Cancer*. 2016;57:78-86.
37. Rietbergen MM, Brakenhoff RH, Bloemena E, et al. Human papillomavirus detection and comorbidity: critical issues in selection of patients with oropharyngeal cancer for treatment De-escalation trials. *Ann Oncol*. 2013;24(11):2740-2745.
38. Rietbergen MM, Snijders PJF, Beekzada D, et al. Molecular characterization of p16-immunopositive but HPV DNA-negative oropharyngeal carcinomas. *Int J Cancer*. 2014;134(10):2366-2372.
39. Melkane AE, Mirghani H, Aupérin A, et al. HPV-related oropharyngeal squamous cell carcinomas: A comparison between three diagnostic approaches. *Am J Otolaryngol*. 2014;35(1):25-32.
40. Sznol M, Chen L. Antagonist Antibodies to PD-1 and B7-H1 (PD-L1) in the Treatment of Advanced Human Cancer. *Clin Cancer Res*. 2013;19(5):1021-1034.
41. Zandberg DP, Strome SE. The role of the PD-L1:PD-1 pathway in squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol*. 2014;50(7):627-632.
42. Concha-Benavente F, Srivastava RM, Trivedi S, et al. Identification of the Cell-Intrinsic and -Extrinsic Pathways Downstream of EGFR and IFN γ That Induce PD-L1 Expression in Head and Neck Cancer. *Cancer Res*. 2016;76(5):1031-1043.
43. Lyford-Pike S, Peng S, Young GD, et al. Evidence for a role of the PD-1:PD-L1 pathway in immune resistance of HPV-associated head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Res*. 2013;73(6):1733-1741.
44. Pardoll DM. The blockade of immune checkpoints in cancer immunotherapy. *Nat Rev Cancer*. 2012;12(4):252-264.

45. Ferris RL, Blumenschein GR, Fayette J, et al. Further evaluations of nivolumab (nivo) versus investigator's choice (IC) chemotherapy for recurrent or metastatic (R/M) squamous cell carcinoma of the head and neck (SCCHN): CheckMate 141. *J Clin Oncol*. 2016;34(suppl):abstr-6009.
46. Mehra R, Seiwert TY, Mahipal A, et al. Efficacy and safety of pembrolizumab in recurrent/metastatic head and neck squamous cell carcinoma (R/M HNSCC): pooled analyses after long-term follow-up in KEYNOTE-012. In: *ASCO Meeting*. ; 2016.
47. Normanno N, De Luca A, Bianco C, et al. Epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling in cancer. *Gene*. 2006;366(1):2-16.
48. Olayioye MA, Neve RM, Lane HA, Hynes NE. The ErbB signaling network: receptor heterodimerization in development and cancer. *EMBO J*. 2000;19(13):3159-3167.
49. Laurenty A-P, Selves J, Guimbaud R. Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique. *Hépto-Gastro Oncol Dig*. 2015;22(3):217-227.
50. Jorissen RN, Walker F, Pouliot N, Garrett TPJ, Ward CW, Burgess AW. Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. *Exp Cell Res*. 2003;284(1):31-53.
51. Tomas A, Futter CE, Eden ER. EGF receptor trafficking: consequences for signaling and cancer. *Trends Cell Biol*. 2014;24(1):26-34.
52. Castellano E, Downward J. RAS Interaction with PI3K. *Genes Cancer*. 2011;2(3):261-274.
53. Lièvre A, Laurent-Puig P. La voie de signalisation RAS/MAPK. *Cancero Dig*. 2010;2(1):38-42.
54. Fey D, Matallanas D, Rauch J, Rukhlenko OS, Kholodenko BN. The complexities and versatility of the RAS-to-ERK signalling system in normal and cancer cells. *Semin Cell Dev Biol*. 2016;58:96-107
55. Meloche S, Pouysségur J. The ERK1/2 mitogen-activated protein kinase pathway as a master regulator of the G1- to S-phase transition. *Oncogene*. 2007;26(22):3227-3239.
56. Zhou B, Der CJ, Cox AD. The role of wild type RAS isoforms in cancer. *Semin Cell Dev Biol*. 2016;58:60-9
57. Vaughn CP, Zobel SD, Furtado LV, Baker CL, Samowitz WS. Frequency of KRAS, BRAF, and NRAS mutations in colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer*. 2011;50(5):307-312.
58. Lin L, Chen L-L, Wang Y, Meng X-Y, Liang C, Zhou B. Efficacy of cetuximab-based chemotherapy in metastatic colorectal cancer according to RAS and BRAF mutation subgroups: A meta-analysis. *Mol Clin Oncol*. 2016;4(6):1017-1024.
59. García-Carracedo D, Villaronga MÁ, Álvarez-Teijeiro S, et al. Impact of PI3K/AKT/mTOR pathway activation on the prognosis of patients with head and neck squamous cell carcinomas. *Oncotarget*. 2016;7(20):29780-29793.

BIBLIOGRAPHIE

60. de la Rochefordiere A, Kamal M, Floquet A, et al. PIK3CA Pathway Mutations Predictive of Poor Response Following Standard Radiochemotherapy ± Cetuximab in Cervical Cancer Patients. *Clin Cancer Res.* 2015;21(11):2530-2537.
61. Faivre S, Raymond É, Dreyer C. La voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR. *Cancero Dig.* 2009;1(3):187-189.
62. Vigneron A. Rôle des facteurs de transcription stat3 dans la réponse aux inhibiteurs de topoisomerase : Implication dans la résistance aux traitements de chimiothérapie. *Thèse de Science - Ecole doctorale de l'Université d'Angers.* 2006 :1-175.
63. Kassis J, Moellinger J, Lo H, Greenberg NM, Kim H-G, Wells A. A Role for Phospholipase C- γ -mediated Signaling in Tumor Cell Invasion. *Clin Cancer Res.* 1999;5(8):2251-2260.
64. Okkenhaug K, Ali K, Vanhaesebroeck B. Antigen receptor signalling: a distinctive role for the p110 δ isoform of PI3K. *Trends Immunol.* 2007;28(2-2):80-87.
65. Lu Z, Jiang G, Blume-Jensen P, Hunter T. Epidermal growth factor-induced tumor cell invasion and metastasis initiated by dephosphorylation and downregulation of focal adhesion kinase. *Mol Cell Biol.* 2001;21(12):4016-4031.
66. Koontongkaew S. The tumor microenvironment contribution to development, growth, invasion and metastasis of head and neck squamous cell carcinomas. *J Cancer.* 2013;4(1):66-83.
67. Chan JYW, Wei WI. Current management strategy of hypopharyngeal carcinoma. *Auris Nasus Larynx.* 2013;40(1):2-6.
68. Amdur RJ, Mendenhall WM, Stringer SP, Villaret DB, Cassisi NJ. Organ preservation with radiotherapy for T1-T2 carcinoma of the pyriform sinus. *Head Neck.* 2001;23(5):353-362.
69. Bensadoun R-J, Bourhis J, Calais G, Lacau Saint Guily J, De Raucourt D. *Indication de La Radiothérapie : Cancers Des VADS.* Institut National du Cancer; 2009.
70. Harari PM, Harris J, Kies MS, et al. Postoperative Chemoradiotherapy and Cetuximab for High-Risk Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: Radiation Therapy Oncology Group RTOG-0234. *J Clin Oncol.* 2014;32(23):2486-2495.
71. Lassen P, Primdahl H, Johansen J, et al. Impact of HPV-associated p16-expression on radiotherapy outcome in advanced oropharynx and non-oropharynx cancer. *Radiother Oncol.* 2014;113(3):310-316.
72. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus cetuximab for locoregionally advanced head and neck cancer: 5-year survival data from a phase 3 randomised trial, and relation between cetuximab-induced rash and survival. *Lancet Oncol.* 2010;11(1):21-28.
73. Blanchard P, Bourhis J, Lacas B, et al. Taxane-Cisplatin-Fluorouracil As Induction Chemotherapy in Locally Advanced Head and Neck Cancers: An Individual Patient

- Data Meta-Analysis of the Meta-Analysis of Chemotherapy in Head and Neck Cancer Group. *J Clin Oncol*. 2013;31(23):2854-2860.
74. Forastiere AA, Zhang Q, Weber RS, et al. Long-term results of RTOG 91-11: a comparison of three nonsurgical treatment strategies to preserve the larynx in patients with locally advanced larynx cancer. *J Clin Oncol*. 2013;31(7):845-852.
 75. Forastiere AA, Metch B, Schuller DE, et al. Randomized comparison of cisplatin plus fluorouracil and carboplatin plus fluorouracil versus methotrexate in advanced squamous-cell carcinoma of the head and neck: a Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol*. 1992;10(8):1245-1251.
 76. Sacco AG, Cohen EE. Current Treatment Options for Recurrent or Metastatic Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Oncol*. 2015;33(29):3305-3313.
 77. Péron J, Ceruse P, Lavergne E, et al. Paclitaxel and cetuximab combination efficiency after the failure of a platinum-based chemotherapy in recurrent/metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Anticancer Drugs*. 2012;23(9):996-1001.
 78. Young ER, Diakos E, Khalid-Raja M, Mehanna H. Resection of subsequent pulmonary metastases from treated head and neck squamous cell carcinoma: systematic review and meta-analysis. *Clin Otolaryngol*. 2015;40(3):208-218.
 79. Massarelli E, Lin H, Ginsberg LE, et al. Phase II trial of everolimus and erlotinib in patients with platinum-resistant recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Oncol*. 2015;26(7):1476-1480.
 80. Harrington K, Temam S, Mehanna H, et al. Postoperative Adjuvant Lapatinib and Concurrent Chemoradiotherapy Followed by Maintenance Lapatinib Monotherapy in High-Risk Patients With Resected Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: A Phase III, Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study. *J Clin Oncol*. 2015;33(35):4202-4209.
 81. de Souza JA, Davis DW, Zhang Y, et al. A phase II study of lapatinib in recurrent/metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res*. 2012;18(8):2336-2343.
 82. Bon-Mardion N. Le polymorphisme des gènes des récepteurs FcγRIIIa et FcγRIIa peut-il constituer un biomarqueur prédictif de l'efficacité clinique du cetuximab dans les carcinomes épidermoïdes des voies aéro-digestives supérieures? *Thèse de médecine - Ecole de doctorale de l'Université de Rouen* 2011:1-73
 83. Trivedi S, Srivastava RM, Concha-Benavente F, et al. Anti-EGFR targeted monoclonal antibody isotype influences anti-tumor cellular immunity in head and neck cancer patients. *Clin Cancer Res*. January 2016:2971.2015.
 84. Bonner JA, Harari PM, Giralt J, et al. Radiotherapy plus Cetuximab for Squamous-Cell Carcinoma of the Head and Neck. *N Engl J Med*. 2006;354(6):567-578.
 85. Petrelli F, Coinu A, Riboldi V, et al. Concomitant platinum-based chemotherapy or cetuximab with radiotherapy for locally advanced head and neck cancer: a systematic review and meta-analysis of published studies. *Oral Oncol*. 2014;50(11):1041-1048.

86. Guigay J, Fayette J, Dillies AF, et al. Cetuximab, docetaxel, and cisplatin as first-line treatment in patients with recurrent or metastatic head and neck squamous cell carcinoma: a multicenter, phase II GORTEC study. *Ann Oncol.* 2015;26(9):1941-1947.
87. Tejani MA, Cohen RB, Mehra R. The contribution of cetuximab in the treatment of recurrent and/or metastatic head and neck cancer. *Biol Targets Ther.* 2010;4:173-185.
88. Tronconi MC, Sclafani F, Rimassa L, Carnaghi C, Personeni N, Santoro A. Fatal infusion reaction to cetuximab: the need for predictive risk factors and safer patient selection. *J Clin Oncol.* 2011;29(23):680-681.
89. Herbst RS, Arquette M, Shin DM, et al. Phase II multicenter study of the epidermal growth factor receptor antibody cetuximab and cisplatin for recurrent and refractory squamous cell carcinoma of the head and neck. *J Clin Oncol.* 2005;23(24):5578-5587.
90. van der Linden N, Buter J, Pescott CP, et al. Treatments and costs for recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck in the Netherlands. *Eur Arch Otorhinolaryngol.* 2016;273:455-464.
91. Licitra L, Störkel S, Kerr KM, et al. Predictive value of epidermal growth factor receptor expression for first-line chemotherapy plus cetuximab in patients with head and neck and colorectal cancer: Analysis of data from the EXTREME and CRYSTAL studies. *Eur J Cancer.* 2013;49(6):1161-1168.
92. Licitra L, Mesia R, Rivera F, et al. Evaluation of EGFR gene copy number as a predictive biomarker for the efficacy of cetuximab in combination with chemotherapy in the first-line treatment of recurrent and/or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck: EXTREME study. *Ann Oncol.* 2011;22(5):1078-1087.
93. Carlson M, Wuertz B, Lin J, Taylor R, Ondrey F. Exons 19 and 21 of epidermal growth factor receptor are highly conserved in squamous cell cancer of the head and neck. *Int J Otolaryngol.* 2009;2009:649615.
94. Loeffler-Ragg J, Witsch-Baumgartner M, Tzankov A, et al. Low incidence of mutations in EGFR kinase domain in Caucasian patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Eur J Cancer.* 2006;42(1):109-111.
95. Boeckx C, Weyn C, Vanden Bempt I, et al. Mutation analysis of genes in the EGFR pathway in Head and Neck cancer patients: implications for anti-EGFR treatment response. *BMC Res Notes.* 2014;7:337.
96. Khattri A, Zuo Z, Brägelmann J, et al. Rare occurrence of EGFRvIII deletion in head and neck squamous cell carcinoma. *Oral Oncol.* 2015;51(1):53-58.
97. Bissada E, Abboud O, Abou Chacra Z, et al. Prevalence of K-RAS Codons 12 and 13 Mutations in Locally Advanced Head and Neck Squamous Cell Carcinoma and Impact on Clinical Outcomes. *Int J Otolaryngol.* 2013;2013:848021.
98. Rampias T, Giagini A, Siolos S, et al. RAS/PI3K Crosstalk and Cetuximab Resistance in Head and Neck Squamous Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res.* 2014;20(11):2933-2946.

99. Mriouah J, Boura C, Pinel S, et al. Cellular response to cetuximab in PTEN-silenced head and neck squamous cell carcinoma cell line. *Int J Oncol*. 2010;37(6):1555-1563.
100. D'Amato V, Rosa R, D'Amato C, et al. The dual PI3K/mTOR inhibitor PKI-587 enhances sensitivity to cetuximab in EGFR-resistant human head and neck cancer models. *Br J Cancer*. 2014;110(12):2887-2895.
101. Davis-Dusenbery BN, Hata A. Mechanisms of control of microRNA biogenesis. *J Biochem (Tokyo)*. 2010;148(4):381-392.
102. Chin LJ, Ratner E, Leng S, et al. A SNP in a let-7 microRNA complementary site in the KRAS 3'UTR Increases Non-Small Cell Lung Cancer Risk. *Cancer Res*. 2008;68(20):8535-8540.
103. De Ruyck K, Duprez F, Ferdinande L, et al. A let-7 microRNA polymorphism in the KRAS 3'-UTR is prognostic in oropharyngeal cancer. *Cancer Epidemiol*. 2014;38(5):591-598.
104. Christensen BC, Moyer BJ, Avissar M, et al. A let-7 microRNA-binding site polymorphism in the KRAS 3' UTR is associated with reduced survival in oral cancers. *Carcinogenesis*. 2009;30(6):1003-1007.
105. Chung CH, Lee JW, Slebos RJ, et al. A 3'-UTR KRAS-variant is associated with cisplatin resistance in patients with recurrent and/or metastatic head and neck squamous cell carcinoma. *Ann Oncol*. 2014;25(11):2230-2236.
106. Ustinova M, Daneberga Z, Bērziņa D, et al. Impact of KRAS variant rs61764370 on breast cancer morbidity. *Exp Oncol*. 2015;37(4):292-294.
107. Dai Q, Wei HL, Huang J, Zhou TJ, Chai L, Yang Z-H. KRAS polymorphisms are associated with survival of CRC in Chinese population. *Tumour Biol*. 2016;37(4):4727-4734.
108. Santiago MB, DE Lima Marson FA, Secolin R, Ribeiro JD, Lima CSP, Bertuzzo CS. SLC23A2-05 (rs4987219) and KRAS-LCS6 (rs61764370) polymorphisms in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oncol Lett*. 2014;7(6):1803-1811.
109. Paranjape T, Heneghan H, Lindner R, et al. A 3'-untranslated region KRAS variant and triple-negative breast cancer: a case-control and genetic analysis. *Lancet Oncol*. 2011;12(4):377-386.
110. Ratner E, Lu L, Boeke M, et al. A KRAS-variant in ovarian cancer acts as a genetic marker of cancer risk. *Cancer Res*. 2010;70(16):6509-6515.
111. Kazmi HR, Chandra A, Kumar S, et al. A let-7 microRNA binding site polymorphism in the KRAS 3'UTR is associated with increased risk and reduced survival for gallbladder cancer in North Indian population. *J Cancer Res Clin Oncol*. September 2016.
112. Caiola E, Rulli E, Fruscio R, Buda A, Broggin M, Marabese M. KRas-LCS6 polymorphism does not impact on outcomes in ovarian cancer. *Am J Cancer Res*. 2012;2(3):298-308.

113. Nelson HH, Christensen BC, Plaza SL, Wiencke JK, Marsit CJ, Kelsey KT. KRAS mutation, KRAS-LCS6 polymorphism, and non-small cell lung cancer. *Lung Cancer Amst Neth.* 2010;69(1):51-53.
114. Ying H-Q, Wang F, He B-S, et al. The involvement of Kras gene 3'-UTR polymorphisms in risk of cancer and influence on patient response to anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis. *OncoTargets Ther.* 2014;7:1487-1496.
115. Zhang S-Y, Shi J. rs61764370 polymorphism of Kras and risk of cancer in Caucasian population: A meta-analysis. *J Cancer Res Ther.* 2016;12(2):699.
116. Smits KM, Paranjape T, Nallur S, et al. A let-7 microRNA SNP in the KRAS 3'UTR is prognostic in early-stage colorectal cancer. *Clin Cancer Res.* 2011;17(24):7723-7731.
117. Graziano F, Canestrari E, Loupakakis F, et al. Genetic modulation of the Let-7 microRNA binding to KRAS 3'-untranslated region and survival of metastatic colorectal cancer patients treated with salvage cetuximab-irinotecan. *Pharmacogenomics J.* 2010;10(5):458-464.
118. Hollestelle A, Van Der Baan FH, Berchuck A, et al. No clinical utility of KRAS variant rs61764370 for ovarian or breast cancer. *Gynecol Oncol.* 2016;141(2):386-401.
119. Zhang S, Hou C, Li G, et al. A single nucleotide polymorphism in the 3'-untranslated region of the KRAS gene disrupts the interaction with let-7a and enhances the metastatic potential of osteosarcoma cells. *Int J Mol Med.* 2016;38(3):919-926.
120. Langevin SM, Christensen BC. Let-7 microRNA-binding-site polymorphism in the 3'UTR of KRAS and colorectal cancer outcome: a systematic review and meta-analysis. *Cancer Med.* 2014;3(5):1385-1395.
121. Ying H-Q, Wang F, He B-S, et al. The involvement of Kras gene 3'-UTR polymorphisms in risk of cancer and influence on patient response to anti-EGFR therapy in metastatic colorectal cancer: a meta-analysis. *OncoTargets Ther.* 2014;7:1487-1496.
122. Saridaki Z, Weidhaas JB, Lenz H-J, et al. A let-7 microRNA-binding site polymorphism in KRAS predicts improved outcome in patients with metastatic colorectal cancer treated with salvage cetuximab/panitumumab monotherapy. *Clin Cancer Res.* 2014;20(17):4499-4510.
123. Crowley EH, Arena S, Lamba S, Di Nicolantonio F, Bardelli A. Targeted knock-in of the polymorphism rs61764370 does not affect KRAS expression but reduces let-7 levels. *Hum Mutat.* 2014;35(2):208-214.
124. Taylor RJ, Saloura V, Jain A, et al. Ex vivo antibody-dependent cellular cytotoxicity inducibility predicts efficacy of cetuximab. *Cancer Immunol Res.* 2015;3(5):567-574.
125. Chang PM-H, Hsieh Y-Y, Chen M-H, et al. Cetuximab-based therapy in recurrent/metastatic head and neck squamous cell carcinoma: experience from an area in which betel nut chewing is popular. *J Chin Med Assoc.* 2010;73(6):292-299.

126. Yoshino T, Hasegawa Y, Takahashi S, et al. Platinum-based Chemotherapy Plus Cetuximab for the First-line Treatment of Japanese Patients with Recurrent and/or Metastatic Squamous Cell Carcinoma of the Head and Neck: Results of a Phase II Trial. *Jpn J Clin Oncol*. 2013;43(5):524-531.
127. de Mello RA, Gerós S, Alves MP, Moreira F, Avezedo I, Dinis J. Cetuximab plus platinum-based chemotherapy in head and neck squamous cell carcinoma: a retrospective study in a single comprehensive European cancer institution. *PloS One*. 2014;9(2):86697.
128. Lynggaard CD, Therkildsen MH, Kristensen CA, Specht L. The EXTREME regimen for recurrent/metastatic head and neck squamous cell carcinoma (R/M HNSCC): treatment outcome in a single institution cohort. *Acta Oncol*. 2015;54(7):1071-1075.
129. Soulières D, Aguilar JL, Chen E, et al. Cetuximab plus platinum-based chemotherapy in head and neck squamous cell carcinoma: a randomized, double-blind safety study comparing cetuximab produced from two manufacturing processes using the EXTREME study regimen. *BMC Cancer*. 2016;16.
130. Soulieres D, Senzer NN, Vokes EE, Hidalgo M, Agarwala SS, Siu LL. Multicenter phase II study of erlotinib, an oral epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitor, in patients with recurrent or metastatic squamous cell cancer of the head and neck. *J Clin Oncol*. 2004;22(1):77-85.
131. Saloura V, Cohen EEW, Licitra L, et al. An open-label single-arm, phase II trial of zalutumumab, a human monoclonal anti-EGFR antibody, in patients with platinum-refractory squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer Chemother Pharmacol*. 2014;73(6):1227-1239.
132. Perez CA, Song H, Raez LE, et al. Phase II study of gefitinib adaptive dose escalation to skin toxicity in recurrent or metastatic squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol*. 2012;48(9):887-892.
133. Holcmann M, Sibilía M. Mechanisms underlying skin disorders induced by EGFR inhibitors. *Mol Cell Oncol*. 2015;2(4).
134. Machiels J-P, Subramanian S, Ruzsa A, et al. Zalutumumab plus best supportive care versus best supportive care alone in patients with recurrent or metastatic squamous-cell carcinoma of the head and neck after failure of platinum-based chemotherapy: an open-label, randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol*. 2011;12(4):333-343.

RESUME

Introduction : Une variation du gène KRAS (3'UTR KRAS Variant, LCS6) au niveau d'un site de fixation de micro-ARN Let-7 induirait une dépendance oncogénique vis-à-vis de l'EGFR par perte de la régulation négative de KRAS, impliquant une plus grande sensibilité aux anti-EGFR comme le Cetuximab (Cx). L'objectif principal est d'évaluer l'association entre la variation KRAS LCS6 et la réponse au Cetuximab dans les carcinomes épidermoïdes des VADS métastatiques.

Méthodes : Les patients traités par au moins deux cures chimiothérapie en 1^{ère} ligne palliative par Platine – 5FU +/- Cx de 2005 à 2014 étaient inclus. Le génotype KRAS LCS6 variant (rs61764370) était déterminé par pyroséquençage après extraction des ADN sur prélèvements paraffinés. Les survies globales (SG) et sans progression (SSP) étaient calculées par méthode de Kaplan Meier et comparées par test du log-rank.

Résultats : 134 patients ont été inclus dont 56% traité par Cx. Le génotype KRAS a pu être déterminé chez 110 patients. La prévalence de KRAS LCS6 était de 25%. Il n'existait pas de différence de survie entre les groupes KRAS variant et KRAS Sauvage en SG (HR 0,9 IC95 [0,6 – 1,4] ; p=0,6) et en SSP (HR 0,9 IC95 [0,6 – 1,4] ; p=0,7). Chez les patients traités par Cx la présence de la variation n'était pas associée à la réponse au traitement (HR = 0.9 [0,5 – 1,5] ; p=0,5). Sur l'ensemble de population (n=134) la médiane de SSP était de 6,1 mois [1,5 – 32,2] dans le groupe Cx + et de 4,4 mois [1,6 – 26,5] dans le groupe Cx - (HR 0.68 IC95 [0,5 - 0,97], p=0,02). La médiane de SG était de 11,1 mois [1,6 – 38,6] dans le groupe Cx+ et de 9,07 mois [2,3 – 44,1] dans le groupe Cx- (HR 0,79 IC95 [0,6 – 1,1] ; p=0,2).

Conclusion : La présence de la variation KRAS LCS6 ne semble pas prédictive de réponse au Cetuximab dans les carcinomes épidermoïdes de VADS métastatique. Ce polymorphisme n'apparaît pas comme facteur pronostic dans cette population. Par ailleurs, nous avons pu confirmer l'efficacité du protocole EXTREME dans une population non sélectionnée.

Mots Clés : KRAS LCS6, rs61764370, polymorphisme KRAS 3'UTR, Cetuximab, Métastatique, carcinomes épidermoïdes des VADS, Chimiothérapie, EGFR,

Introduction : KRAS LCS6 variant is a single nucleotide polymorphism in the 3'UTR of KRAS, (a Let7 microRNA binding site) and could induced an EGFR oncogenic dependance by loss of KRAS downregulation. It could thus involve a greater sensibility to EGFR-targeted therapy. The main objective is to evaluate the association between KRAS LCS6 variant and response to Cetuximab (Cx) in metastatic Head and Neck carcinoma.

Methods : Patients treated by Platinum – 5FU +/- Cx in first line of palliative chemotherapy were included. KRAS LCS6 variant (rs61764370) was determined by pyrosequencing after DNA extraction on formalin-fixed paraffin-embedded tissues. The overall (OS) and progression-free survival (PFS) was calculated by Kaplan-Meier method and compared by log-rank test.

Results: 134 patients were included. 56% were treated with Cx. KRAS genotype could be determined in 110 patients. The prevalence of KRAS LCS6 was 25%. There was no survival difference between KRAS-variant and KRAS-wildtype in OS (HR IC95 0.9 [0.6 to 1.4]; p = 0.6) and PFS (HR 0.9 IC95 [0.6 to 1.4], p = 0.7). In the Cx+ group, presence of variation was not associated with response to treatment (HR = 0.9 [0.5 to 1.5]; p = 0.5). Over the whole population (n = 134), median PFS was 6.1 months [1.5 to 32.2] in Cx+ group and 4.4 months [1.6 to 26.5] in Cx- group (HR 0.68 CI95 [0.5 to 0.97], p = 0.02). Median OS was 11.1 months [1.6 to 38.6] in Cx+ group and 9.07 months [2.3 to 44.1] in Cx- group (HR 0.79 IC95 [0.6 to 1.1], p = 0.2).

Conclusion: KRAS LCS6 variant does not seem to be predictive of response to Cetuximab in metastatic Head and Neck carcinoma. This polymorphism does not appear as a prognostic factor in this population. Furthermore, we confirmed the effectiveness of EXTREME protocol in an unselected population.

Keywords: KRAS LCS6, rs61764370, KRAS 3'UTR polymorphism, Cetuximab, Metastatic Head and Neck Carcinoma, chemotherapy, EGFR, HNSCC.