

# L'hétérogénéité intratumorale

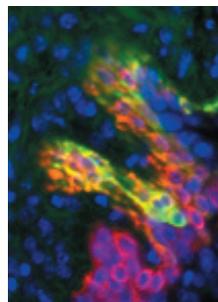
## Un obstacle darwinien à la médecine personnalisée ? (1)

Marc Billaud

### Série « L'oncogénomique : chroniques d'un avènement »

#### Avant-propos

Depuis plus d'une dizaine d'années, nous assistons à l'essor de l'oncogénomique. Cette nouvelle discipline a pour ambition de décrire à l'échelle globale du génome les caractéristiques génétiques et épigénétiques de chaque type de cancer. Ce programme de recherche est devenu une priorité pour de nombreuses équipes regroupées en consortiums internationaux dont l'ambition dépasse le cadre de projets uniquement nationaux. Malgré l'ampleur de la tâche, il ne fait plus aucun doute que les données déjà obtenues sont en train de changer radicalement le visage de la cancérologie. Non seulement la classification des cancers se transforme progressivement en nosologie moléculaire, mais les pratiques médicales sont elles aussi bouleversées par l'avènement des thérapies ciblant les défauts moléculaires spécifiques de chaque type tumoral. Sans oublier l'impact de ces données sur notre compréhension des mécanismes présidant à la formation d'une tumeur et à sa dissémination métastatique. Nos modèles théoriques longtemps basés sur une conception darwinienne stricte du processus tumoral requièrent maintenant l'intégration de nouveaux concepts afin de concilier nos schémas explicatifs de la cancérogenèse avec les nouvelles données expérimentales. C'est de cette évolution en cours que cette série de chroniques se veut le témoin. Il s'agira donc de faire ici la recension des études jugées novatrices dans ce domaine, mais aussi de mettre en perspectives les résultats publiés et d'en proposer une synthèse critique. Après tout, si la cellule tumorale sait si bien s'adapter aux conditions changeantes de son microenvironnement, le moins que nous puissions faire est de démontrer la même plasticité en modifiant nos conceptions pour prendre en compte les nouvelles connaissances nées dans notre environnement scientifique.



Institut Albert Bonniot,  
CRI Inserm/UJF U823,  
Université Joseph Fourier,  
Rond-point de la Chantourne,  
BP 170,  
38042 Grenoble Cedex 9,  
France.  
[marc.billaud@ujf-grenoble.fr](mailto:marc.billaud@ujf-grenoble.fr)

L'hétérogénéité intratumorale est une notion familière au pathologiste. Sous le microscope, les cellules cancéreuses au sein d'une même tumeur se caractérisent souvent par une diversité morphologique et une variabilité d'expression de marqueurs moléculaires [1]. La question que posent ces observations est : cette hétérogénéité reflète-t-elle la capacité des cellules malignes à s'engager partiellement dans un processus de différenciation, ou traduit-elle la présence de sous-populations différant par leurs altérations génétiques et épigénétiques ? Plusieurs études récentes ont abordé ce problème et, grâce aux progrès de la génomique, en particulier des nouvelles techniques de « séquençage parallèle en masse », l'existence d'une hétérogénéité génétique intratumorale a pu être mise en évidence dans tous les cas où ces analyses ont été réalisées [1]. Il existe donc bien un certain degré de mosaïcisme tumoral, aussi bien dans les tumeurs solides que dans les hémopathies malignes [1]. Deux types d'explications ont été proposées, qui ne sont d'ailleurs pas incompatibles, afin de rendre compte de ce phénomène d'hétérogénéité intrinsèque à la tumeur.

- L'une se réfère au mode darwinien de développement d'un cancer tel qu'il a été explicitement formulé par Peter Nowell en 1976 [2]. Selon ce modèle étiologique, une néoplasie a pour origine une cellule unique qui est la cible de mutations qui l'affranchissent des mécanismes physiologiques limitant sa prolifération. Ainsi, la succession de mutations conférant un avantage sélectif suivie de périodes d'expansion clonale, aboutit à la formation d'une tumeur maligne [2]. Dans ce cadre théorique, la masse tumorale peut alors être conçue

Vignette (© Inserm-Marisa Martin-Faraldo).



comme un ensemble dynamique de plusieurs populations de cellules en voie de transformation ou déjà transformées, dont une population numériquement majoritaire correspondant à celle en phase de dominance clonale. Chacune de ces populations, y compris les métastases, représente une des différentes étapes de la formation d'un cancer et il existe un lien phylogénétique entre elles puisque les cellules qui les composent ont en commun les mêmes mutations causales. Ces mutations qui contribuent au développement néoplasique sont appelées *drivers* pour les différencier des mutations dites *passengers* qui sont générées au cours de la progression tumorale, mais dont la présence ne confère pas d'avantage sélectif [3].

• L'autre explication qui a été avancée afin de rendre compte de cette diversité intratumorale présume l'implication des cellules souches cancéreuses dont la capacité à donner naissance à différents types cellulaires contribuerait à l'hétérogénéité phénotypique d'une même tumeur [4]. Pour autant, ce dernier modèle ne permet pas de comprendre la dynamique évolutive à l'origine de sous-populations de cellules malignes différant par leur génotype.

Le scénario darwinien de cancérogenèse [2] décrit précédemment est étayé par de nombreuses données expérimentales. Cependant, même s'il a une valeur heuristique certaine, il est une simplification de la situation clinique. Nous avons déjà eu l'occasion de relater dans ces colonnes des résultats récents qui mettent à mal l'idée d'une chronologie d'apparition des mutations s'échelonnant de manière cumulative sur plusieurs années, voire décennies [5]. Dans ce contexte, un article publié cette année dans le *New England Journal of Medicine* [6] vient enrichir notre compréhension des mécanismes oncogéniques et illustre combien nos schémas explicatifs méritent d'être affinés. De plus, comme nous le discutons dans cette revue, les résultats de cette étude posent des questions importantes d'ordre médical.

### Géographie tumorale et paysage mutationnel

L'objectif de l'équipe de Charles Swanton (*London Research Institute, Cancer Research UK*, Londres, Royaume-Uni) était de tester si une seule biopsie était suffisante pour identifier les altérations génétiques caractérisant une tumeur [6]. Dans ce but, quatre patients ont été enrôlés dans cette étude, chacun atteint de carcinome à cellules claires du rein ayant métastasé. Des échantillons ont été prélevés à partir de différentes régions de ces tumeurs obtenues après néphrectomie et aussi à partir des métastases. Pour le premier malade, des biopsies ont été collectées avant le traitement néoadjuvant de six semaines par l'évérolimus, un inhibiteur de la protéine kinase mTOR (*target of rapamycin*), qui a précédé l'exérèse rénale. Dans le cas de ce patient, neuf échantillons ont été prélevés sur la tumeur primitive et trois à partir de métastases localisées autour du rein et dans la paroi thoracique. À partir de ce matériel, auquel a été ajouté l'ADN germlinal du patient, les auteurs de ce travail ont procédé à un séquençage de l'exome entier ainsi qu'à une analyse de la ploïdie, des aberrations chromosomiques et du transcriptome.

Les enseignements de cette étude sont clairs. Parmi les mutations détectées, la même délétion de deux paires de bases affectant le

gène suppresseur de tumeur von Hippel-Lindau (*VHL*)<sup>1</sup> a été mise en évidence dans chacune des biopsies. Des mutations de ce gène sont fréquemment associées aux carcinomes à cellules claires. Ces données indiquent donc que cette mutation s'est produite précocement au cours du développement tumoral et constitue probablement un événement clef du processus tumoral. Des mutations récurrentes des gènes *SETD2* (*SET domain containing 2*, une histone méthyltransférase), *KDM5C* (*lysine [K]-specific demethylase 5C*) et *PTEN* (*phosphatase and tensin homolog*) ont aussi été identifiées, mais la nature des mutations variait en fonction des échantillons. Ainsi, trois mutations distinctes de *SETD2* ont été mises en évidence dans différentes régions de la tumeur. Ces observations suggèrent que l'altération des mécanismes biologiques contrôlés par le produit de ces gènes, remodelage de la chromatine pour la méthyltransférase *SETD2* et la déméthylase *KDM5C* et inhibition de la voie *PI3* kinase pour la phosphatase *PTEN*, est requise dans le processus d'évolution tumorale. On a donc affaire, dans ce cas, à un exemple éclairant de convergence évolutive. Par ailleurs, sur les 128 mutations détectées dans l'ensemble des échantillons de la tumeur, 66 à 69 % ne sont pas retrouvées si l'analyse ne porte que sur un seul échantillon. Cet article montre également que le profil mutationnel des métastases est plus proche de celui d'une des sous-populations de la tumeur, et que le traitement par l'évérolimus n'a pas d'incidence sur la fréquence des mutations malgré l'identification d'une même mutation activatrice de mTOR dans plusieurs échantillons. En outre, la signature transcriptionnelle des échantillons diffère en fonction de la localisation de ces derniers, et peut être soit de bon, soit de mauvais pronostic conformément aux classifications établies par les études antérieures réalisées chez des patients atteints de cancer du rein. Ces résultats, obtenus par l'analyse des spécimens biologiques provenant d'un seul patient, ont été confirmés dans les trois autres cas étudiés. Finalement, l'utilisation d'algorithmes reconstruisant les relations phylogéniques entre ces différentes populations, a permis aux auteurs britanniques de déterminer que le modèle de progression tumorale n'est pas une relation linéaire avec une même cellule accumulant successivement des mutations oncogéniques. Ce travail montre, au contraire, que la formation de ces cancers rénaux est compatible avec un processus de branchement évolutif générant différentes populations de cellules malignes

<sup>1</sup> Le gène *VHL* joue un rôle fondamental dans la réponse tissulaire à l'hypoxie en ciblant le facteur de transcription HIF vers la voie de dégradation par le protéasome. Des mutations germinales du gène sont détectées dans la maladie de von Hippel-Lindau (*VHL*) - qui prédispose au développement de tumeurs bénignes et malignes très vascularisées - et des altérations acquises du gène *VHL* sont également présentes dans la majorité des cancers du rein à cellules claires sporadiques.

occupant des régions distinctes de la même tumeur, dont une est à l'origine des métastases.

Les conclusions de cette étude sont donc sans ambiguïté. Premièrement, le prélèvement d'une seule biopsie ne permet d'identifier qu'une fraction des mutations mises en évidence par l'analyse de l'ensemble de la tumeur. Deuxièmement, une classification pronostique d'un cancer qui serait basée sur le profil transcriptionnel défini à partir d'un seul échantillon peut être biaisée et conduire à des prédictions erronées. Troisièmement, il existe, dans chacune des sous-populations tumorales, un tronc commun de voies de signalisation altérées : la voie de l'hypoxie impliquant VHL, la voie PI3 kinase et celles qui contrôlent la dynamique des mécanismes épigénétiques avec SETD2 et KDM5C. Bien sûr, ces données ne sont pas, en l'état, extrapolables à d'autres types de cancers et de futures recherches seront nécessaires pour les confirmer. Cependant, au vu de la généralité du phénomène d'hétérogénéité intratumorale, il est très probable que la situation décrite dans cet article sera la règle plus que l'exception.

### **L'hétérogénéité spatiale d'une tumeur, un concept nouveau ?**

L'idée qu'il existe une hétérogénéité spatiale de la tumeur n'est pas nouvelle. D'une part, les interactions des cellules cancéreuses avec leur microenvironnement ne sont pas uniformes dans la tumeur, et les propriétés de la trame conjonctivo-vasculaire qui constitue le stroma cancéreux ainsi que le remodelage de la matrice extracellulaire varient en fonction des régions de la tumeur [1]. D'autre part, certaines zones d'un cancer sont moins bien oxygénées que d'autres et cette hypoxie locale conduit, entre autres, à une modification du métabolisme énergétique et conditionne la résistance thérapeutique [7]. Mais la démonstration qu'au sein de la même tumeur primitive coexistent des populations de cellules cancéreuses avec des parcours évolutifs différents n'était pas envisageable avant l'avènement de la nouvelle génération des techniques de séquençage. Le travail de l'équipe de Charles Swanton a donc le mérite d'établir formellement qu'une tumeur n'est pas une masse isotrope et qu'il existe un processus continu de mutations et de sélections donnant naissance à des populations génétiquement distinctes, chacune avec sa propre distribution topographique. Les sous-populations de cellules tumorales ne sont d'ailleurs pas forcément dans des relations de compétition aboutissant à la sélection du clone le mieux adapté à son microenvironnement et qui prendrait l'ascendant sur les autres populations de cellules malignes. Il peut exister un niveau de coopération mutuelle, ainsi que cela a été montré récemment entre cellules cancéreuses d'une même tumeur soumises ou non à des conditions hypoxiques [8]. À ce point de notre revue, il n'est peut-être pas inutile d'insister sur le fait que ces considérations concernant l'hétérogénéité intrinsèque aux tumeurs ne sont pas uniquement théoriques. En effet, on sait qu'il existe un lien avéré entre la diversité clonale des lésions préneoplasiques œsophagiennes et le risque de formation d'une tumeur invasive [9]. En outre, plus une tumeur mammaire est hétérogène, plus le pronostic est péjoratif [10]. Enfin, l'hétérogénéité intratumorale crée le réservoir de cellules à l'origine des phénomènes de chimiorésistance [1].

### **Un défi ciblé à la médecine personnalisée**

Si en oncologie, la médecine personnalisée consiste à prescrire un traitement en tenant compte des caractéristiques moléculaires de la tumeur de chaque malade, alors l'article de l'équipe anglaise a des implications évidentes. En effet, définir le profil mutationnel et transcriptionnel d'un cancer en se basant sur l'analyse d'une seule biopsie revient à s'exposer au risque de proposer une chimiothérapie ciblée qui ne serait efficace que sur une sous-population de la tumeur. De même, établir un pronostic en s'appuyant sur des données génomiques partielles pourrait conduire à des conclusions fausses. On le voit, ce travail devrait avoir des retombées concrètes dans l'établissement des protocoles d'exploration génomique en cancérologie qui devrait, dans la mesure du possible, comporter l'analyse de plusieurs biopsies. Pour autant, même si la réalité de l'hétérogénéité géographique de la tumeur représente un défi à la médecine individualisée dont il faut prendre la mesure, elle ne constitue pas un handicap insurmontable. Cette étude apporte la preuve que la perturbation d'un petit nombre de voies de signalisation est commune aux différentes sous-populations tumorales (voies de signalisation VHL et PI3 kinase, altérations de l'épigénome *via* les mutations de *SETD2* et *KDM5C*) ; elle confirme les connaissances déjà acquises dans le cancer du rein et indique la direction à suivre. En effet, ces voies dérégulées sont probablement le talon d'Achille de la tumeur qu'il s'agit de cibler de manière prioritaire. On peut même imaginer qu'à terme, notre connaissance des mécanismes moléculaires responsables de la dynamique évolutive des différents types de tumeur et des phénomènes de chimiorésistance sera tellement fine qu'elle permettra de proposer des traitements spécifiques pour un cancer donné sans se préoccuper des singularités de chaque cas. Après tout, la médecine personnalisée n'est peut-être que le stade transitoire vers une nouvelle cancérologie générale fondée sur les acquis de la génomique ?

En conclusion, à la suite de ce travail et d'autres publiés récemment dans la littérature [11, 12], on peut considérer une tumeur comme un écosystème constitué de plusieurs sous-populations de cellules malignes avec leur architecture génétique spécifique et évoluant dans des niches géographiques distinctes tout en entretenant des relations complexes de compétition et de mutualisme. Le cancer est donc bien ce microcosme darwinien dont il s'agit de mieux comprendre les règles de fonctionnement afin d'améliorer l'efficacité thérapeutique. ♦

**Intratumor heterogeneity, a Darwinian stumbling block towards personalized medicine?**

## REMERCIEMENTS

Je remercie Corinne Albiges-Rizo, Laurence Lafanechère, Maïlys Le Borgne, Sylvie Mazoyer, Caroline Reynaud, Nicolas Chartier et Jean-Pierre Rouault pour leur relecture critique.

## LIENS D'INTÉRÊT

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt concernant les données publiées dans cet article.

## RÉFÉRENCES

1. Marusyk A, Almendro V, Polyak K. Intra-tumour heterogeneity: a looking glass for cancer? *Nat Rev Cancer* 2012; 12 : 323-34.
2. Nowell PC. The clonal evolution of tumor cell populations. *Science* 1976; 194 : 23-8.
3. Stratton MR, Campbell PJ, Futreal PA. The cancer genome. *Nature* 2009; 458 : 719-24.
4. Schackleton M, Quintana E, Fearon ER, Morrison SJ. Heterogeneity in cancer: cancer stem cells versus clonal evolution. *Cell* 2009; 138 : 822-9.
5. Reynaud C, Billaud M. La théorie de l'équilibre ponctué : un bond en avant dans la compréhension du cancer. *Med/Sci (Paris)* 2011; 27 : 921-4.
6. Gerlinger M, Rowan AJ, Horswell S, et al. Intratumor heterogeneity and branched evolution revealed by multiregional sequencing. *N Engl J Med* 2012; 366 : 883-92.
7. Brahimi-Horn MC, Bellot G, Pouyssegur J. Hypoxia and energetic tumour metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 2011; 21 : 67-72.
8. Sonveaux P, Végran F, Schroeder T, et al. Targeting lactate-fueled respiration selectively kills hypoxic tumor cells in mice. *J Clin Invest* 2008; 118 : 339-42.
9. Maley CC, Galipeau PC, Finley JC, et al. Genetic clonal diversity predicts progression to oesophageal adenocarcinoma. *Nat Genet* 2006; 38 : 468-73.
10. Park SY, Gönen M, Kim HJ, et al. Cellular and genetic diversity in the progression of in situ human breast carcinomas to an invasive phenotype. *J Clin Invest* 2010; 120 : 636-44.
11. Greaves M, Maley CC. Clonal evolution in cancer. *Nature* 2012; 481 : 306-13.
12. Billaud M, Santoro M. Is co-option a prevailing mechanism during cancer progression? *Cancer Res* 2011; 71 : 6572-5.

**TIRÉS À PART**  
M. Billaud

REPÈRES



PERSPECTIVE / HORIZONS

**Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur les anticorps monoclonaux en thérapeutique... dans M/S**

Tout ce que vous avez toujours voulu savoir sur les anticorps monoclonaux en thérapeutique... dans *Médecine/Sciences*. Pourquoi un numéro spécial de *Médecine/Sciences* sur les anticorps monoclonaux thérapeutiques? Il nous a semblé que le moment était venu de dresser un état des lieux de ces biomédicaments qui prennent désormais une place considérable - et croissante - dans les traitements de maladies souvent lourdes et désespérantes. Ce voyage que nous vous proposons à la découverte du monde des anticorps thérapeutiques nous a appris, ou plutôt rappelé, une évidence : les compétences en France sont fortes et nombreuses, qu'elles soient académiques ou industrielles, biotechnologiques ou cliniques. Le paysage français, trop longtemps discret, bruisse désormais de mille initiatives balayant de multiples aspects des anticorps thérapeutiques : études précliniques et cliniques menées avec de nouveaux anticorps dirigés contre des cibles originales, développement de nouveaux formats d'anticorps ou d'anticorps optimisés reposant sur des études structurales et fonctionnelles sophistiquées, recherche active de cibles pertinentes, mise au point de méthodologies de bioproduction, de couplage, etc. L'expansion industrielle rapide de ce champ est un défi que peut et doit relever notre pays, défi tant scientifique qu'économique, avec ses combats pour la propriété intellectuelle et pour l'emploi de nos jeunes scientifiques.

Alain Beck, Jean-Luc Teillaud, Hervé Watier

**Bon de commande**

À retourner à EDK, 25, rue Daviel - 75013 Paris, France

Tél. : 01 58 10 19 05 - Fax : 01 43 29 32 62 - E-mail : [edk@edk.fr](mailto:edk@edk.fr)

NOM : ..... Prénom : .....

Adresse : .....

Code postal : ..... Ville : .....

Pays : .....

Fonction : .....

Je souhaite recevoir **M/S n° 12 - décembre 2009 (Anticorps monoclonaux en thérapeutique)** : 25 € + 3 € de port = **28 € TTC**

en ..... exemplaire, soit un total de ..... €

Par chèque, à l'ordre de **EDK**

Par carte bancaire :

Visa

Eurocard/Mastercard

Carte n° | | | | | | | | | | | | | | | |

Date d'expiration : | | | | | |

N° de contrôle au dos de la carte : | | | |

Signature :