



Disponible en ligne sur

**ScienceDirect**  
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France

**EM|consulte**  
www.em-consulte.com



Communication brève

## Séquençage des tumeurs : évolutions et révolutions



### Tumour sequencing: Evolutions and revolutions

N. Piton<sup>a,b</sup>, A. Lamy<sup>a,b</sup>, J.-C. Sabourin<sup>a,\*,b</sup><sup>a</sup> Service de pathologie, hôpital Charles-Nicolle, Normandie université, CHU de Rouen, 1, rue de Germont, 76031 Rouen, France<sup>b</sup> Inserm U1245, 1, rue de Germont, 76000 Rouen, France

#### INFO ARTICLE

##### Mots clés :

Tumeurs solides  
Séquençage de nouvelle génération  
NGS  
Panel de gènes  
INCa  
Facteurs théranostiques

##### Keywords:

Solid tumours  
Next generation sequencing (NGS)  
Gene panel  
INCa  
Theranostic factors

#### RÉSUMÉ

Nous sommes depuis quelques années entrés pleinement dans l'ère génomique de l'analyse génétique des cancers à visée médicale. Les bouleversements technologiques en biologie associés à ceux des sciences de l'information permettent maintenant une analyse du génome des cancers en pratique courante, avec dans certains cas un impact majeur sur la prise en charge des patients, sur le plan thérapeutique bien sûr (exemple des mutations du gène *EGFR*, codant pour l'*epidermal growth factor receptor*, dans l'adénocarcinome pulmonaire), mais aussi dans le diagnostic et le suivi de la maladie. Le génotypage des tumeurs s'effectue le plus souvent à partir du tissu fixé au formol et inclus en paraffine à partir duquel un diagnostic de malignité a été posé. Cependant, de nouvelles approches voient le jour, comme la pratique maintenant de plus en plus répandue des « biopsies liquides ». La diffusion sur tout le territoire français de séquenceurs « à haut débit » rend possible en routine l'analyse de plusieurs dizaines de gènes d'intérêt dans la prise en charge de certains types de cancer, et il est à parier que le perfectionnement de ces automates rendra encore plus facile et accessible le génotypage des tumeurs dans un avenir proche. Le défi actuel n'est cependant principalement plus la détection des anomalies moléculaires, mais leur traitement, leur analyse et leur interprétation pertinente, de manière à être le plus utile possible au patient dans le traitement de sa maladie.

© 2017 Publié par Elsevier Masson SAS au nom de Société française de radiothérapie oncologique (SFRO).

#### ABSTRACT

For some years now, we have entered the genomic age of tumour genotyping from a medical point of view. Technological breakthroughs in both biology and information science now allow a genomic analysis of cancers in everyday medical practice with, in some case, a major impact on patient care not only for the choice of therapy (i.e. *EGFR* mutations in lung adenocarcinoma), but also for diagnosis and monitoring of the disease. Tumour genotyping is performed from formalin-fixed paraffin-embedded tissues used for diagnosis of cancer. However, new approaches have emerged, with for example the more and more spread use of “liquid biopsies”. Genotyping of a gene panel implicated in carcinogenesis is now routinely performed in some cancer types, with the help of high-throughput sequencers, and it is likely that improvement of these machines will make tumour genotyping easier and more accessible in the near future. Nevertheless, the current challenge is not anymore detection of molecular alterations, but their relevant interpretation, so as to be the most useful in patient care.

© 2017 Published by Elsevier Masson SAS on behalf of Société française de radiothérapie oncologique (SFRO).

## 1. Introduction

Depuis la description des lois de Mendel en 1865, les connaissances en génétique ont connu des bouleversements exponentiels, avec une accélération très nette durant les deux dernières décennies. En 1953 était découverte la structure de l'acide

\* Auteur correspondant.

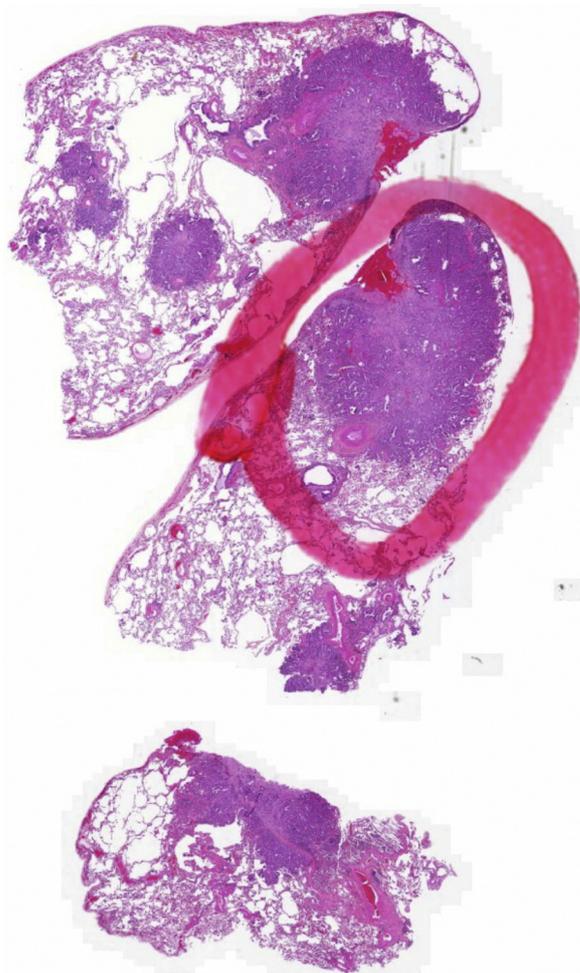
Adresse e-mail : jean-christophe.sabourin@chu-rouen.fr (J.-C. Sabourin).

désoxyribonucléique (ADN) par Watson et Crick, et en 1977, le séquençage d'ADN, certes laborieux, était rendu possible par Sanger. Cette avancée majeure a fait entrer la génétique dans l'ère moléculaire. En 1993, l'apparition de séquenceurs automatiques d'ADN a marqué le début du séquençage du génome humain, aventure scientifique internationale colossale qui a duré une décennie. Par la suite, l'amélioration continue des techniques d'étude de l'ADN a marqué l'entrée dans l'ère de la génomique, notamment avec l'avènement des séquenceurs dit « à haut débit » ou « de nouvelle génération » à la fin des années 2000. Actuellement, le séquençage du génome d'un individu se fait en quelques jours pour un coût d'environ 500 euros !

Il est actuellement admis qu'une cellule humaine comporte environ 22 280 gènes, soit  $3 \times 10^9$  paires de bases. L'exome, c'est-à-dire la partie exprimée du génome, représente environ 1 % de celui-ci et comprend 160 000 exons sur environ 30 mégabases. Sur ces 22 280 gènes, il est considéré qu'une cellule tumorale en comporte environ une centaine qui sont mutés : 80 environ de ces altérations génétiques ne sont en fait que le reflet de l'instabilité génétique propre au cancer, et on les appelle « passager mutations ». En revanche, 15 ou peut-être un peu moins de ces mutations sont directement responsable du processus malin : on les nomme « driver mutations ». Ces « driver mutations » sont impliquées dans les différentes voies biologiques du cancer qui aboutissent à des signaux continus de prolifération, un échappement aux signaux biologiques freinant la croissance cellulaire, une résistance à la mort cellulaire, une activation de l'angiogenèse locale, une immortalité cellulaire ou encore la possibilité d'envahir le tissu sain adjacent et de métastaser [1]. Le cancer est considéré comme un processus génétique multiétapes, rendu possible par l'accumulation d'altération du génome. Les « driver mutations » peuvent toucher plusieurs types de gènes. Les proto-oncogènes, responsables des cascades de transduction du signal prolifératif, sont touchés par des mutations activatrice, à l'inverse des gènes suppresseurs de tumeurs qui sont eux inactivés. Ces gènes suppresseurs de tumeurs peuvent être classés en deux catégories : les « gate keepers », assurant les points de contrôle du cycle cellulaire, et les « care takers » qui permettent la réparation des erreurs de l'ADN. Un point crucial à aborder pour bien comprendre les enjeux du séquençage des tumeurs est celui du concept d'hétérogénéité tumorale. On peut considérer que les cellules tumorales ne sont « clonales » qu'au début du processus, mais qu'à mesure que la maladie progresse, l'accumulation des altérations génétiques se fera différemment dans chaque sous-clone [2], aboutissant à une maladie très « hétérogène » sur le plan génétique : à titre d'exemple, dans une tumeur rénale, jusqu'à 67 % des mutations somatiques n'étaient pas retrouvées dans l'ensemble des régions analysées [3].

## 2. Sur le plan pratique, comment séquence-t-on aujourd'hui les tumeurs humaines ?

S'il est possible de travailler à partir de matériel tumoral congelé, il est beaucoup plus pratique et courant d'utiliser le tissu fixé au formol et inclus en paraffine, le même qui a été utilisé pour poser le diagnostic de cancer par le médecin pathologiste. Cela comporte l'avantage majeur de savoir exactement ce qui a été analysé (cellules tumorales mais aussi cellules du stroma tumoral, comme des cellules inflammatoires) et d'en déterminer les proportions respectives, à savoir le pourcentage de cellules tumorales [4]. À partir du bloc tissulaire paraffiné, une coupe micrométrique (5 à 10  $\mu\text{m}$ ) est effectuée et apposée sur lame de verre. En s'aidant d'une lame colorée par l'hémalun-éosine-safran (HES) confectionnée à partir du même bloc et sur laquelle la région tumorale a été repérée par le médecin pathologiste (Fig. 1), la zone tissulaire d'intérêt est macrodisséquée et disposée dans un



**Fig. 1.** Estimation du pourcentage de cellules tumorales présentes sur une coupe hémalun-éosine-safran (HES) d'un wedge pulmonaire, siège d'un adénocarcinome pulmonaire. La zone tumorale est cerclée, permettant l'extraction sélective de l'ADN génomique d'une zone tissulaire comportant plus de 50 % de cellules tumorale.

tube pour microcentrifugeuse à partir duquel l'ADN sera extrait, le plus souvent à l'aide d'extracteurs automatiques. S'ensuit le plus souvent une amplification ciblée des régions géniques d'intérêt à l'aide d'une *polymerase chain reaction* (PCR).

Il n'y a pas encore si longtemps en France, 2 à 3 ans, chaque type de cancer nécessitait un séquençage ciblé sur les altérations « théranostiques » (prédisant une bonne réponse ou au contraire une résistance à une thérapie ciblée) qui lui étaient propres : gène *BRAF* dans le mélanome, gènes *KRAS* et *NRAS* dans le cancer colorectal, gène *EGFR* (*epidermal growth factor receptor*) dans l'adénocarcinome pulmonaire, etc. [5]. Outre la lourdeur technique de cette organisation, seule une infime proportion du génome tumoral était analysée et la sensibilité des méthodes employées (séquençage classique, pyroséquençage, SNaPshot® par exemple) était parfois insuffisante au regard du faible pourcentage en cellules tumorales au sein des échantillons disponibles, ce qui est souvent le cas pour des petites biopsies. L'essor de l'informatique, permettant de traiter très rapidement des quantités considérables de données a ouvert la voie aux stratégies de multiplexage de haut débit, révolutionnant ainsi le génotypage des tumeurs. Ces techniques de séquençage « haut débit » se sont progressivement diffusées sur le territoire français avec l'aide de l'Institut national du cancer (INCa). Ce dernier a édité une liste minimale de gènes à analyser dans le cadre d'un usage à visée diagnostique pour les tumeurs solides. En moins d'une dizaine d'année, la puissance d'analyse des génomes tumoraux a

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/5525782>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/5525782>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)