



HAL
open science

Les réarrangements moléculaires : cibles thérapeutiques en cancérologie thoracique

Audrey Mansuet-Lupo, Simon Garinet, Diane Damotte, Marco Alifano,
Hélène Blons, Marie Wislez, Karen Leroy

► To cite this version:

Audrey Mansuet-Lupo, Simon Garinet, Diane Damotte, Marco Alifano, Hélène Blons, et al.. Les réarrangements moléculaires : cibles thérapeutiques en cancérologie thoracique. *Bulletin du Cancer*, 2020, 107, pp.896 - 903. 10.1016/j.bulcan.2020.05.008 . hal-03491246

HAL Id: hal-03491246

<https://hal.science/hal-03491246>

Submitted on 21 Sep 2022

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



Distributed under a Creative Commons Attribution - NonCommercial 4.0 International License

Les réarrangements moléculaires : cibles thérapeutiques en cancérologie thoracique

Fusion transcripts: therapeutic targets in thoracic oncology

**Audrey Mansuet-Lupo^{1,2,3}, Simon Garinet^{1,4}, Diane Damotte^{1,2,3},
Marco Alifano^{1,3,5}, Hélène Blons^{1,4}, Marie Wislez^{1,3,6}, Karen Leroy^{1,3,7*}**

1. *Faculté de Médecine, Université de Paris, Paris, France.*
2. *Service de Pathologie, AP-HP Centre, Hôpital Cochin, Paris, France.*
3. *UMR_S 1138 INSERM, Team « Inflammation, Complement and Cancer », Centre de recherche des Cordeliers, Paris, France.*
4. *Unité fonctionnelle d'Oncologie Moléculaire, service de Biochimie, AP-HP Centre, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France.*
5. *Service de Chirurgie Thoracique, AP-HP Centre, Hôpital Cochin, Paris, France.*
6. *Service de Pneumologie – unité d'oncologie thoracique, AP-HP Centre, Hôpital Cochin, Paris, France.*
7. *Service de Génétique et Biologie Moléculaires, AP-HP Centre, Hôpital Cochin, Paris, France.*

*** Auteur correspondant :** Karen Leroy

Service de Génétique et Biologie Moléculaire, Hôpital COCHIN, 27 rue du faubourg St Jacques
75014 Paris

Mail : karen.leroy@aphp.fr

Mots clefs : Réarrangement, fusion, ALK, ROS1, RET, NTRK

Keywords : Rearrangement, fusion, ALK, ROS1, RET, NTRK

Résumé

Les adénocarcinomes du poumon présentent des réarrangements chromosomiques touchant les gènes *ALK*, *ROS1*, *NTRK* et *RET* dans 5 à 10 % des cas. Ces réarrangements sont associés à la production de transcrits de fusion, aboutissant à la synthèse de protéines chimériques ayant une activité kinase constitutive. Ces protéines anormales induisent une dépendance oncogénique pouvant être ciblée par des inhibiteurs de tyrosine kinase. Dans cette revue, nous ferons le point sur l'épidémiologie clinique et moléculaire des réarrangements chromosomiques touchant les gènes *ALK*, *ROS1*, *NTRK*, et *RET*. Nous décrirons les mécanismes de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase qui ont été observés. Nous présenterons les techniques de détection pouvant être utilisées pour détecter ces réarrangements et les stratégies mises en place dans les plateformes de génétique moléculaire des cancers pour mettre en évidence ces altérations génétiques.

Mots-clés : Réarrangement ; fusion ; *ALK* ; *ROS1* ; *RET* ; *NTRK*

Abstract

Five to ten percent of Lung adenocarcinoma harbor chromosomal rearrangements affecting the *ALK*, *ROS1*, *NTRK* and *RET* genes. These rearrangements are associated with the production of fusion transcripts that lead to the synthesis of chimeric proteins with constitutive kinase activity. These abnormal proteins induce an oncogenic dependency that may be targeted by tyrosine kinase inhibitors. In this review, we will summarize the clinical and molecular epidemiology of chromosomal rearrangements affecting *ALK*, *ROS1*, *NTRK* and *RET* genes. We will describe the mechanisms of resistance to tyrosine kinase inhibitors that have been reported. We will present the molecular techniques that can be used to detect these rearrangements and the strategies set-up by the molecular oncology laboratories to diagnose these genetic alterations.

Keywords: Rearrangement, fusion, *ALK*, *ROS1*, *RET*, *NTRK*

Introduction

En France, environ 11 % des adénocarcinomes bronchiques présentent une mutation activatrice du récepteur à l'EGF (*Epidermal Growth Factor*) (EGFR) [1]. La grande majorité de ces mutations est associée à une sensibilité aux inhibiteurs de tyrosine kinase anti-EGFR et leur identification, indispensable dès la première ligne de traitement métastatique, conditionne la stratégie thérapeutique [2]. Les cancers bronchiques non à petites cellules (CBNPC) peuvent présenter d'autres situations d'addiction oncogénique et plusieurs réarrangements chromosomiques à l'origine de transcrits de fusion ont été mis en évidence au cours des dernières années, élargissant le champ des cibles thérapeutiques pertinentes dans cette pathologie (Figure 1). Ces réarrangements chromosomiques impliquent des gènes codant des récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK), et

aboutissent à la formation de protéines chimériques, comportant un domaine de dimérisation suivi d'un domaine tyrosine kinase, dont l'activation constitutive participe à l'oncogénèse (Figure 2). Les mécanismes à l'origine de ces réarrangements sont d'origine diverse : translocation intra-ou inter-chromosomique, inversion intra-chromosomique, duplication en tandem, etc. et les partenaires impliqués souvent multiples. Ils doivent désormais être recherchés précocement dans la prise en charge thérapeutique car leur présence conditionne l'accès à des thérapies ciblées ayant fait preuve d'une efficacité parfois spectaculaire.

Réarrangements du gène *ALK*

Les réarrangements oncogéniques du gène *ALK* sont observés dans environ 5 % des adénocarcinomes pulmonaires testés en France [1]. Le gène *ALK* code un récepteur à activité tyrosine kinase de la superfamille des récepteurs à l'insuline, exprimé physiologiquement dans les tissus nerveux au cours du développement. Les réarrangements de ce gène, identifiés pour la première fois en 1994 dans les lymphomes anaplasiques, sont observés dans différents cancers et conduisent *in fine* à la juxtaposition d'un domaine « hétérologue » en N-terminal au domaine kinase *ALK* en C-terminal. Les gènes partenaires impliqués dans ces réarrangements sont nombreux et conditionnent la localisation sub-cellulaire de la protéine chimérique produite, notamment dans les lymphomes anaplasiques [3]. Dans les CBNPC, les réarrangements les plus fréquemment observés sont des inversions d'un segment chromosomique du bras court du chromosome 2, à l'origine d'une protéine de fusion comportant des parties variables de la protéine Echinoderm Microtubule-Associated Protein-like 4 (*EML4*) et le domaine kinase de *ALK*, mais de nombreux autres gènes partenaires (*KIF5B*, *TFG*, *KLC1*, *PTPN3*...), impliqués dans des translocations inter-chromosomiques, sont également décrits (Table 1) [4,5].

Les patients présentant des CBNPC avec réarrangement du gène *ALK* sont généralement plus jeunes (médiane 55 ans) et peu ou pas fumeurs. Sur le plan histologique, ces tumeurs sont souvent des adénocarcinomes de type « solide » ou « cribriforme », comportant parfois des cellules en bague à

chaton. Plusieurs inhibiteurs de ALK ont fait la preuve de leur efficacité clinique et obtenu une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans les CBNPC avec réarrangement de ALK (Figure 1) et l'alectinib, un inhibiteur de deuxième génération, est actuellement recommandé en première ligne de traitement [6]. Plusieurs mécanismes de résistance aux traitements ciblés ont été décrits : i) l'apparition de mutations de résistance sur le gène de fusion, variables dans leur profil et leur fréquence en fonction de l'inhibiteur de ALK utilisé, ii) l'apparition d'un gain de copies (amplification) du gène de fusion, iii) l'activation de mécanismes indépendants de ALK, comme l'activation de voies de signalisation alternatives (impliquant les récepteurs IGF1-R, HER3, HER2, MET ou EGFR), iv) des modifications histologiques comme la transition épithélio-mésenchymateuse, la transformation en carcinome à petites cellules ou en carcinome épidermoïde [5-7]. Les mutations de résistance les plus communes sous crizotinib (inhibiteur de première génération) sont les mutations du domaine kinase de ALK : p.L1196M (7 %), p.G1269A (4 %), p.C1156Y (2 %), p.G1202R (2 %), p.I1171T (2 %), p.S1206Y (2 %) et p.E1210K (2 %), alors que la mutation p.G1202R est la mutation de résistance de loin la plus fréquente (20-40 % des cas) sous inhibiteur de deuxième génération (alectinib, ceritinib, brigatinib) [5]. De manière intéressante, des données récentes suggèrent que le type de variant de fusion EML4-ALK conditionne l'évolution sous traitement ciblé et que les variants de type 3 (fusion de l'exons 6 *EML4* à l'exon 20 *ALK*) sont associées à l'émergence de mutations de résistance, notamment p.G1202R, et à une survie sans progression plus courte sous traitement ciblé [8,9]. Le lorlatinib, inhibiteur de troisième génération, est actif sur les protéines de fusion ALK porteuses de la mutation p.G1202R, mais des résistances au lorlatinib dues à la sélection de clones porteurs de mutations composites (G1202R/G1269A, G1202R/L1196M...) sont observées [10].

Réarrangements du gène *ROS1*

La fréquence des réarrangements touchant le gène *ROS1* est de 1-2 % des CBNPC et ceux-ci impliquent de nombreux partenaires, le plus fréquent étant le gène *CD74* (Table 2) [7]. Des réarrangements de *ROS1* sont également observés à une faible fréquence dans différents types

tumoraux (tumeurs myofibroblastiques inflammatoires, cholangiocarcinomes, cancers colorectaux, cancers de l'ovaire...). Chez la souris, l'expression du récepteur *ros1* est observée dans le rein, les organes sexuels mâles, l'intestin grêle, le cœur et les poumons. Chez l'homme, le ligand de ce récepteur et sa fonction biologique ne sont pas connus [11]. Le récepteur à activité tyrosine kinase *ROS1* normal est très similaire au récepteur *ALK*, ce qui explique des propriétés pharmacologiques communes (plusieurs inhibiteurs communs, mutations de résistance structurellement équivalentes). De façon similaire à ce qui a été décrit pour *ALK*, le partenaire de fusion dicte la localisation subcellulaire de la protéine chimérique et influence les voies de signalisation activées en aval [12].

Dans les CBNPC, les réarrangements de *ROS1* sont associés à un âge plus jeune, un tabagisme absent ou faible. Les caractéristiques histologiques de ces tumeurs sont similaires à celles des tumeurs réarrangées *ALK* et elles présentent souvent, comme les tumeurs réarrangées *ALK*, une forte expression de PD-L1 [13]. Une étude suggère que le profil métastatique des tumeurs réarrangées *ROS1* diffère cependant de celui des tumeurs réarrangées *ALK*, avec des métastases cérébrales moins fréquentes [14]. De nombreux inhibiteurs de tyrosine kinase ont montré leur efficacité sur les tumeurs réarrangées *ROS1*, avec des taux de réponse supérieure à 60 % (Figure 1). La résistance au crizotinib, seul inhibiteur à avoir l'AMM en France actuellement, est souvent liée à l'apparition de mutations de résistance, notamment la mutation p.G2032R (40 % des cas). Cette mutation affecte la liaison de l'inhibiteur (*solvent-front mutation*) et est structurellement analogue à la mutation p.G1202R de *ALK* [7]. Cette mutation confère une résistance au ceritinib, au brigatinib et à l'entrectinib. Le lorlatinib semble avoir une efficacité limitée sur les fusions de *ROS1* portant cette mutation de résistance. Le repotrectinib est capable d'inhiber les fusions *ROS1* avec mutation p.G1202R et les résultats présentés à l'ASCO en 2019 montrent des taux de réponse de 39 % avec cette molécule chez les patients ayant préalablement reçu du crizotinib, avec une efficacité en cas de localisations intra-cérébrales [15].

Réarrangements des gènes *NTRK*

Les réarrangements des gènes *NTRK1*, *NTRK2* et *NTRK3* sont fréquents dans des pathologies rares (comme le carcinome sécrétoire du sein ou le fibrosarcome infantile) mais très rares dans des cancers fréquents comme les cancers du poumon (<0,5%) [16,17]. Ces gènes codent pour des récepteurs aux neurotrophines impliquées dans le développement du système nerveux. Les réarrangements observés dans les CBNPC impliquent le plus souvent *NTRK1*, et différents partenaires ont été identifiés (Table 2). La fréquence des réarrangements *NTRK1* varie de 0,1 % dans une série de patients tout venant [18] à 3,3 % dans une série pré-sélectionnée de CBNPC sans altération des gènes *EGFR*, *KRAS*, *ALK* et *ROS1* [19]. Une petite série de 11 cas de CBNPC suggère leur survenue préférentielle chez des patients plutôt jeunes (médiane 48 ans) et peu/non fumeurs, présentant des tumeurs d'histologie variée : neuf adénocarcinomes dont 2 mucineux, un carcinome épidermoïde et un carcinome neuro-endocrine à grandes cellules [20]. La rareté de ces cas ne permet pas à ce jour d'identifier des caractéristiques cliniques ou histologiques susceptibles d'orienter le criblage des tumeurs porteuses d'anomalie des gènes *NTRK*. Leur identification est néanmoins cruciale compte tenu de l'efficacité clinique spectaculaire des inhibiteurs de NTRK (larotrectinib ou entrectinib) [21].

Réarrangements du gène *RET*

Le gène *RET* joue un rôle important dans le développement nerveux et rénal et ses mutations, constitutionnelles ou somatiques, sont associées au développement de néoplasies endocriniennes multiples et aux cancers médullaires de la thyroïde. Les réarrangements du gène *RET* sont décrits depuis très longtemps dans les cancers papillaires de la thyroïde et leur survenue a été associée à l'exposition aux radiations ionisantes [22]. En 2012, plusieurs études ont décrit simultanément la présence de réarrangements KIF5B-RET dans les CBNPC [23-25]. D'autres partenaires ont été depuis identifiés (Table 2). Ces réarrangements sont globalement rares (1-2 % des CBNPC) et généralement absents dans les tumeurs présentant d'autres altérations *driver* oncogéniques [26]. Les tumeurs réarrangées RET sont susceptibles de répondre à des traitements utilisant des inhibiteurs de tyrosine kinase à large spectre, actifs sur cette kinase, mais des inhibiteurs plus spécifiques (LOXO292/

selpercatinib, BLU-667/praseltinib) ont une meilleure efficacité et sont en cours d'évaluation dans des essais cliniques de phase 3 [27,28].

Techniques de détection des réarrangements

La présence d'un réarrangement chromosomique peut être révélée par l'expression de la protéine chimérique et historiquement, les techniques immunohistochimiques ont été très largement utilisées pour repérer les tumeurs suspectes de réarrangements, avec confirmation secondaire des altérations chromosomiques par des techniques de FISH. La sensibilité et la spécificité des techniques immunohistochimiques pour la détection des réarrangements ALK, ROS1, NTRK ou RET est variable (Tableau 3). En routine, seule l'immunohistochimie ALK est aujourd'hui considérée comme suffisamment robuste, avec une sensibilité proche de 100 %, pour permettre un criblage des tumeurs et autoriser un traitement spécifique, sans confirmation moléculaire du réarrangement en cas de marquage intense 3+ [29]. L'immunohistochimie ROS1 peut être d'interprétation difficile, du fait d'une localisation subcellulaire variable de la protéine fusion et d'un marquage physiologique parfois observé au niveau des pneumocytes normaux, des macrophages alvéolaires ou des ostéoclastes [11]. La technique n'est pas assez spécifique, quel que soit le clone utilisé, et nécessite une confirmation par FISH ou biologie moléculaire [29]. Une étude récente montre une sensibilité limitée (80 %) de l'immunohistochimie pan-NTRK, notamment dans le cas des réarrangements de *NTRK3*, et une spécificité médiocre de cette technique (<80%) dans certaines tumeurs (gliomes, tumeurs des glandes salivaires, sarcomes, par exemple) [16].

Les techniques de FISH sont relativement coûteuses, consommatrices de temps technique et nécessitent une expertise médicale. Elles ont longtemps été le « *gold standard* » pour la recherche des translocations mais sont de plus en plus souvent remplacées par des techniques de biologie moléculaire multiplexes permettant de rechercher dans le même temps plusieurs réarrangements. Ainsi, les techniques FISH sont appropriées à la confirmation d'une altération détectée par l'immunohistochimie, mais peu adaptées à un criblage large des événements de fusion.

Plusieurs technologies, basées sur l'analyse de l'ADN ou de l'ARN, ont été développées au cours de ces dernières années et permettent de répondre à ce nouvel enjeu. Le séquençage ADN à haut débit des régions chromosomiques qui sont l'objet de points de cassure récurrents peut être utilisé, avec une difficulté pour certains grands introns ou dans les cas de réarrangements non encore décrits (et non explorés par définition). Par exemple, le panel MSK-IMPACT a une sensibilité limitée pour la détection des réarrangements NTRK2/3 [16]. Des techniques de séquençage des ARNs utilisant spécifiquement des sondes de capture ou des amorces d'amplification « ancrées » dans la région codant le domaine kinase susceptible d'être réarrangé (technologies HTG®, ARCHER® ou QIAGEN®, par exemple) ou la recherche de déséquilibres d'expression entre les régions 5' et 3' des transcrits d'intérêt (technologies Thermofisher ou Nanostring, par exemple), permettent de détecter la présence de réarrangements, qu'ils soient nouveaux ou déjà décrits. Seules les techniques utilisant des amorces ancrées permettent théoriquement de séquencer tous les transcrits de fusion des gènes étudiés, quel que soit leur partenaire. D'autres technologies reposent sur l'hybridation de sondes fluorescentes (technologie Nanostring) ou l'utilisation d'amorces de PCR complémentaires des points de cassure décrits dans la littérature (figure 3). Enfin, une approche par séquençage global du transcriptome a la capacité de révéler tous les transcrits de fusion produits par les cellules tumorales, connus ou inconnus. Actuellement, de nombreux kits sont proposés par les sociétés de biotechnologie pour rechercher tout un panel de transcrits de fusion, en routine, à partir d'ARNs extraits de tissus fixés, et ces technologies se mettent en place à l'échelle nationale pour répondre aux besoins cliniques.

Stratégies de criblage

Des algorithmes d'analyse moléculaire des CBNPC sont actuellement proposés par les plateformes qui souhaitent conserver une analyse hiérarchisée des cibles théranostiques (Figure 4). Ces stratégies doivent permettre de dépister la présence de transcrits de fusion avec un délai suffisamment court pour sa prise en compte dans la stratégie thérapeutique initiale. Dans le cas contraire, on s'achemine

vers un criblage large d'emblée de l'ensemble des altérations susceptibles d'orienter le traitement (panel ADN+ARN d'emblée).

Conclusion

La recherche de transcrits de fusion a pris une place incontournable dans le diagnostic moléculaire des CBNPC du fait des bénéfices des thérapeutiques spécifiques associées. Les évolutions technologiques rapides du séquençage haut débit ou d'autres technologies utilisables dans un contexte de routine diagnostique rapide doivent permettre aux plateformes de génétique moléculaire des cancers d'accompagner les changements de pratique médicale, et d'étendre la médecine de précision à des sous-groupes de tumeurs plus rares.

Conflit d'intérêt : aucun.

Références bibliographiques

1. Barlesi F, Mazieres J, Merlio J-P, Debieuvre D, Mosser J, Lena H, et al. Routine molecular profiling of patients with advanced non-small-cell lung cancer: results of a 1-year nationwide programme of the French Cooperative Thoracic Intergroup (IFCT). *Lancet Lond Engl*. 2 avr 2016;387(10026):1415-26.
2. Planchard D, Popat S, Kerr K, Novello S, Smit EF, Faivre-Finn C, et al. Metastatic non-small cell lung cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 01 2019;30(5):863-70.
3. Kruczynski A, Delsol G, Laurent C, Brousset P, Lamant L. Anaplastic lymphoma kinase as a therapeutic target. *Expert Opin Ther Targets*. nov 2012;16(11):1127-38.
4. Du X, Shao Y, Qin H-F, Tai Y-H, Gao H-J. ALK-rearrangement in non-small-cell lung cancer (NSCLC). *Thorac Cancer*. 2018;9(4):423-30.
5. Lin JJ, Riely GJ, Shaw AT. Targeting ALK: Precision Medicine Takes on Drug Resistance. *Cancer Discov*. 2017;7(2):137-55.
6. Peters S, Zimmermann S. Management of Resistance to First-Line Anaplastic Lymphoma Kinase Tyrosine Kinase Inhibitor Therapy. *Curr Treat Options Oncol*. 28 2018;19(7):37.

7. Rotow J, Bivona TG. Understanding and targeting resistance mechanisms in NSCLC. *Nat Rev Cancer*. 25 2017;17(11):637-58.
8. Woo CG, Seo S, Kim SW, Jang SJ, Park KS, Song JY, et al. Differential protein stability and clinical responses of EML4-ALK fusion variants to various ALK inhibitors in advanced ALK-rearranged non-small cell lung cancer. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. 01 2017;28(4):791-7.
9. Lin JJ, Zhu VW, Yoda S, Yeap BY, Schrock AB, Dagogo-Jack I, et al. Impact of EML4-ALK Variant on Resistance Mechanisms and Clinical Outcomes in ALK-Positive Lung Cancer. *J Clin Oncol Off J Am Soc Clin Oncol*. 20 2018;36(12):1199-206.
10. Lin JJ, Shaw AT. Refining precision cancer therapy in ALK-positive NSCLC. *EBioMedicine*. mars 2019;41:9-10.
11. Lin JJ, Shaw AT. Recent Advances in Targeting ROS1 in Lung Cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. 2017;12(11):1611-25.
12. Neel DS, Allegakoen DV, Olivas V, Mayekar MK, Hemmati G, Chatterjee N, et al. Differential Subcellular Localization Regulates Oncogenic Signaling by ROS1 Kinase Fusion Proteins. *Cancer Res*. 01 2019;79(3):546-56.
13. Lee J, Park CK, Yoon H-K, Sa YJ, Woo IS, Kim HR, et al. PD-L1 expression in ROS1-rearranged non-small cell lung cancer: A study using simultaneous genotypic screening of EGFR, ALK, and ROS1. *Thorac Cancer*. 2019;10(1):103-10.
14. Gainor JF, Tseng D, Yoda S, Dagogo-Jack I, Friboulet L, Lin JJ, et al. Patterns of Metastatic Spread and Mechanisms of Resistance to Crizotinib in ROS1-Positive Non-Small-Cell Lung Cancer. *JCO Precis Oncol*. 2017;2017.
15. Safety and preliminary clinical activity of repotrectinib in patients with advanced ROS1 fusion-positive non-small cell lung cancer (TRIDENT-1 study). [abstract] *J Clin Oncology*. 2019; 37(15_suppl), 9011.
16. Solomon JP, Linkov I, Rosado A, Mullaney K, Rosen EY, Frosina D, et al. NTRK fusion detection across multiple assays and 33,997 cases: diagnostic implications and pitfalls. *Mod Pathol Off J U S Can Acad Pathol Inc*. janv 2020;33(1):38-46.
17. Kheder ES, Hong DS. Emerging Targeted Therapy for Tumors with NTRK Fusion Proteins. *Clin Cancer Res Off J Am Assoc Cancer Res*. 01 2018;24(23):5807-14.
18. Farago AF, Le LP, Zheng Z, Muzikansky A, Drilon A, Patel M, et al. Durable Clinical Response to Entrectinib in NTRK1-Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer*. déc 2015;10(12):1670-4.
19. Vaishnavi A, Capelletti M, Le AT, Kako S, Butaney M, Ercan D, et al. Oncogenic and drug-sensitive NTRK1 rearrangements in lung cancer. *Nat Med*. nov 2013;19(11):1469-72.
20. Farago AF, Taylor MS, Doebele RC, Zhu VW, Kummar S, Spira AI, et al. Clinicopathologic Features of Non-Small-Cell Lung Cancer Harboring an NTRK Gene Fusion. *JCO Precis Oncol*. 2018;2018 Available from: URL: <https://ascopubs.org/doi/10.1200/PO.18.00037>.
21. Cocco E, Scaltriti M, Drilon A. NTRK fusion-positive cancers and TRK inhibitor therapy. *Nat Rev Clin Oncol*. 2018;15(12):731-47.

22. Li AY, McCusker MG, Russo A, Scilla KA, Gittens A, Arensmeyer K, et al. RET fusions in solid tumors. *Cancer Treat Rev.* dec 2019;81:101911.
23. Kohno T, Ichikawa H, Totoki Y, Yasuda K, Hiramoto M, Nammo T, et al. KIF5B-RET fusions in lung adenocarcinoma. *Nat Med.* 12 févr 2012;18(3):375-7.
24. Lipson D, Capelletti M, Yelensky R, Otto G, Parker A, Jarosz M, et al. Identification of new ALK and RET gene fusions from colorectal and lung cancer biopsies. *Nat Med.* 12 févr 2012;18(3):382-4.
25. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med.* 12 févr 2012;18(3):378-81.
26. Discovery Stories of RET Fusions in Lung Cancer: A Mini-Review. *Front Physiol* 2019;10:216. Available from: URL: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2019.00216/full>
27. First RET Inhibitor on Path to FDA Approval. *Cancer Discov.* nov 2019;9(11):1476-7.
28. BLU-667 Controls RET-Altered Thyroid Cancers. *Cancer Discov.* sept 2019;9(9):OF5.
29. Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, Arcila ME, Beasley MB, Bernicker EH, et al. Updated Molecular Testing Guideline for the Selection of Lung Cancer Patients for Treatment With Targeted Tyrosine Kinase Inhibitors: Guideline From the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol Off Publ Int Assoc Study Lung Cancer.* 2018;13(3):323-58.

Légendes des figures

Figure 1. Cibles thérapeutiques dans les adénocarcinomes du poumon.

La proportion d'adénocarcinomes du poumon présentant un réarrangement des gènes *ALK*, *ROS1*, *NTRK* (*NTRK1/2/3*) ou *RET*, une mutation du gène *EGFR* ou d'autres altérations génétiques pouvant être ciblées (mutation *BRAF*, mutation *ERBB2*, mutation *MET*) est indiquée de manière schématique. Différents molécules actives sur les protéines chimériques issues de ces réarrangements sont indiquées sur la partie droite du schéma, en fonction de leur niveau d'avancement par rapport à leur autorisation de mise sur le marché à la date de la publication.

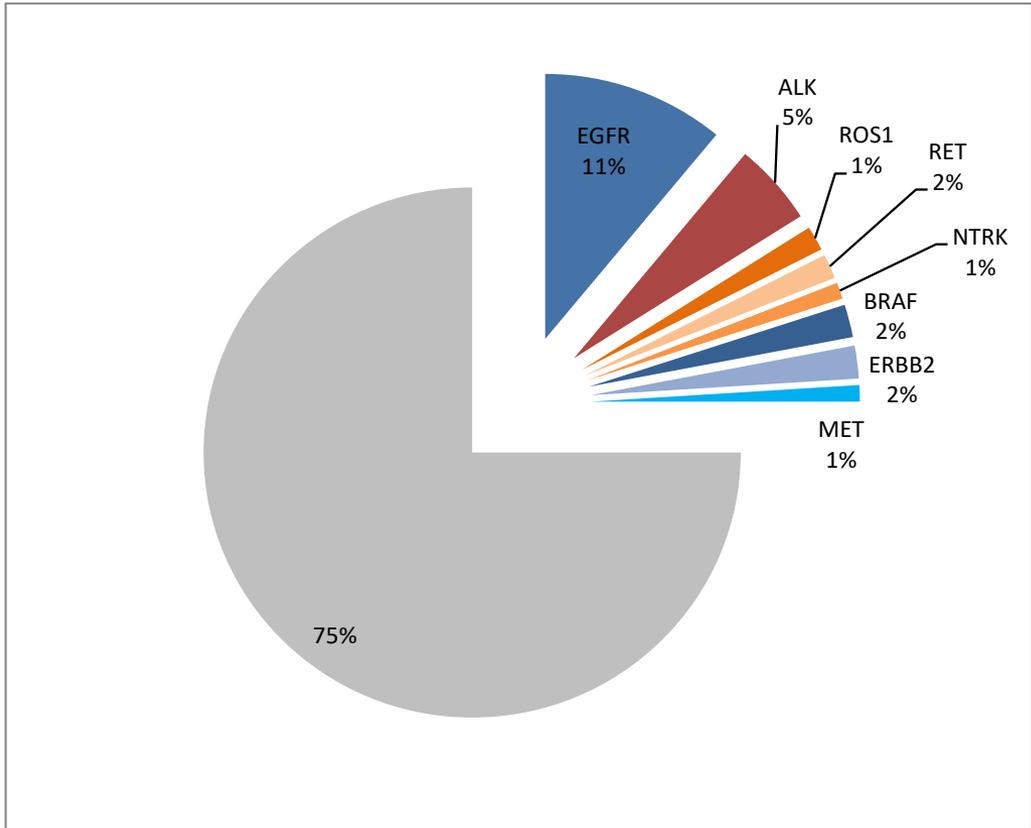
Figure 2. Mécanisme oncogénique associé aux réarrangements chromosomiques touchant des gènes codant pour des récepteurs à activité tyrosine kinase (RTK).

Haut : représentation schématique du fonctionnement physiologique d'un RTK. Bas : représentation schématique des points de cassure chromosomiques avec production d'un réarrangement chromosomique, puis d'un transcrite de fusion (ARN X-RTK) et d'une protéine chimérique X-RTK.

Figure 3. Techniques de détection des réarrangements.

Représentation schématique des techniques de séquençage utilisant initialement une capture des fragments ADN ou ARN d'intérêt (haut) ou une amplification par PCR des ADNs complémentaires obtenus après reverse transcription (RT) des ARN d'intérêt (milieu), et de la technologie d'hybridation de sondes fluorescentes suivie d'un comptage digital des fragments d'ARN développée par Nanostring (bas).

Figure 4. Exemples de stratégies de criblage des altérations moléculaires au diagnostic d'un adénocarcinome du poumon métastatique.



| <i>ALK</i> |
|------------|
| crizotinib |
| alectinib |
| ceritinib |
| brigatinib |
| lorlatinib |

| <i>ROS1</i> |
|---------------|
| crizotinib |
| lorlatinib |
| ceritinib |
| brigatinib |
| entrectinib |
| ropotrectinib |

| Cible |
|--------------------------|
| AMM |
| ATU / AMM conditionnelle |
| Essai clinique |

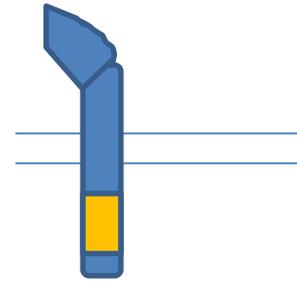
| <i>NTRK</i> |
|---------------|
| larotrectinib |
| entrectinib |

| <i>RET</i> |
|------------|
| vandetanib |
| LOXO-292 |
| BLU-667 |

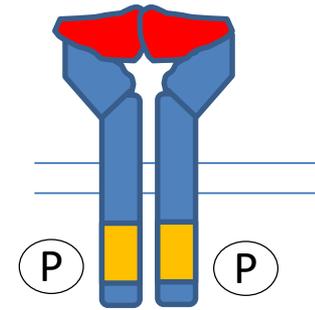
Cellule normale



ARN RTK



protéine RTK
membranaire

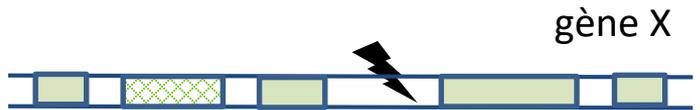


*Activation
par ligand*



prolifération
survie, migration, etc.

Cellule tumorale



gène X

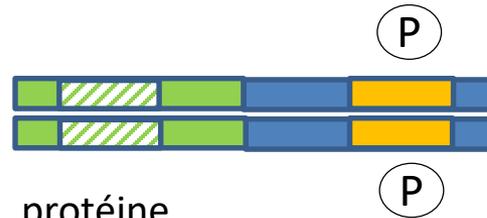
gène RTK



Réarrangement



ARN X-RTK



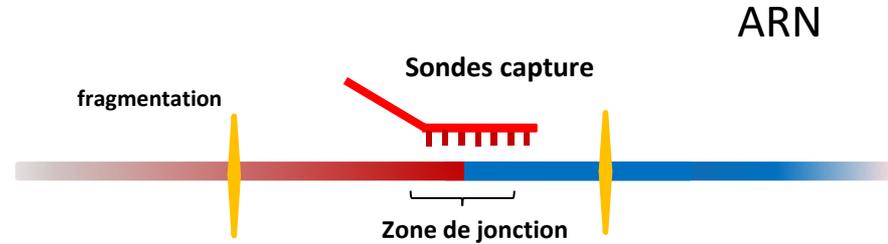
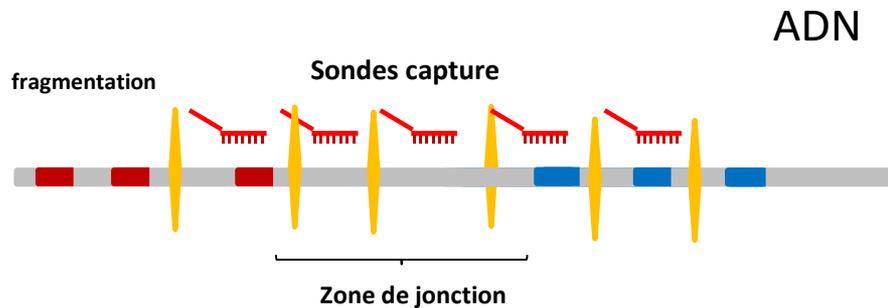
protéine
chimérique X-RTK

*Activation
constitutive*

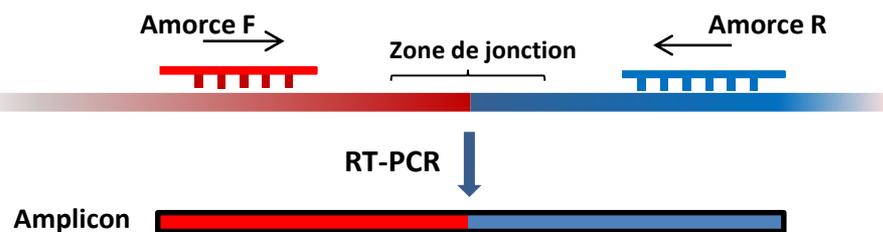


prolifération
survie, migration,
etc.

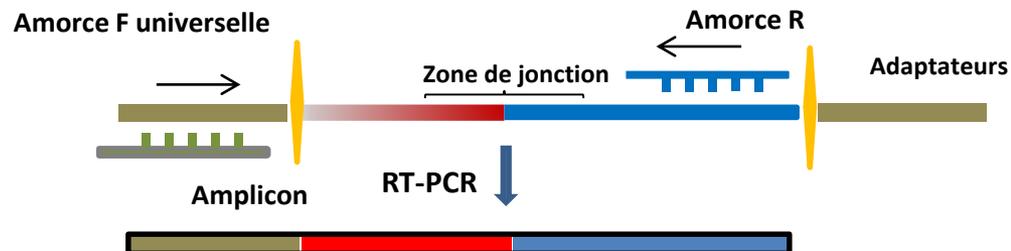
Capture + Séquençage



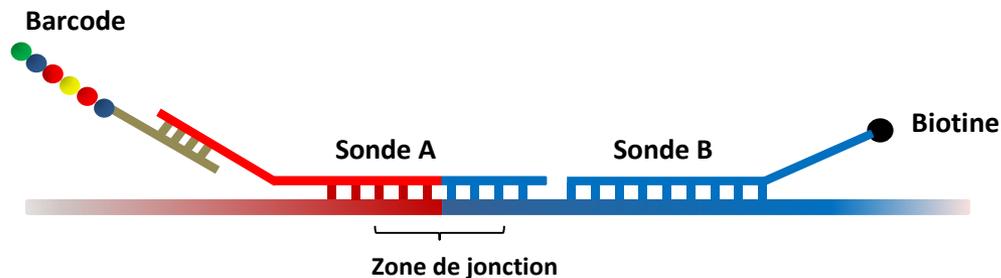
RT-PCR + Séquençage standard



avec amorce ancree (R) + amorce universelle (F)



Technologie Nanostring + comptage digital



**Diagnostic
d'adénocarcinome du
poumon métastatique**

*Exemple de stratégie
séquentielle*

*Exemple de stratégie
en un temps*

**Mutation fréquentes
EGFR-KRAS
(techniques rapides)**

Pas de mutation détectée

ADN

ARN

**Panel NGS hotspot
EGFR, KRAS, BRAF,
ERBB2, MET.....**

**Panel Fusions ALK,
ROS1, RET, NTRK1-
2-3, NRG1.....**

**Séquençage à haut débit
ADN et/ou ARN**

- mutations fréquentes et/ou ayant un impact thérapeutique (*EGFR, KRAS, BRAF, ERBB2, MET*, etc)
- réarrangements (*ALK, ROS1, RET, NTRK1-2-3, NRG1*, etc)

Tableau 1. Réarrangements du gène *ALK* dans les cancers bronchiques non à petites cellules

| Gène RTK | Gène partenaire | Variants* |
|-------------------|--|---|
| <i>ALK</i> | <i>EML4</i> | V1 : E13-A20 (54,5%) V3a/b : E6-A20 (34%) V2 : E20-A20 (10%) V5a : E2-A20 (1,5%) Autres : E2/3/10/14/15/17/18/20/21-A20 ; E6-A17 ; E6-A19 |
| | <i>KIF5B</i> | K24-A20 ; K15-A20 |
| | Autres : <i>TFG, KLC1, CRIM1, STRN, CLTC, PTPN3, HIP1, TPR, BIRC6, DCTN1, SQSTM1, BCL11A, NPM1, SEC31A</i> | |

* Les chiffres indiquent les exons des gènes fusionnés (E : *EML4*, A : *ALK*, T : *TFG*, K : *KIF5B*).

D'après les références [4,5].

Tableau 2. Réarrangements des gènes *ROS1*, *NTRK1/2/3* ou *RET* dans les cancers bronchiques non à petites cellules

| Gène RTK | Gènes partenaires |
|---------------------|---|
| <i>ROS1</i> | <i>CD74 (40-45%)</i>, <i>EZR</i>, <i>SLC34A2</i>, <i>SDC4</i>, <i>TPM3</i>, <i>GOPC(FIG)</i>, <i>LRIG3</i>, <i>CCDC6</i>, <i>MSN</i>, <i>LIMA1</i>, <i>TMEM106B</i>, <i>TPD52L1</i>, <i>KDEL2</i>, <i>CLTC</i> |
| <i>NTRK1</i> | <i>CD74</i>, <i>MPRIP</i>, <i>TPM3</i> |
| <i>NTRK2</i> | <i>TRIM24</i> |
| <i>RET</i> | <i>KIF5B</i>, <i>CCDC6</i>, <i>NCOA4</i>, <i>TRIM33</i>, <i>RUFY2</i>, <i>CUX1</i>, <i>KIAA1468</i> |

Le gène partenaire le plus fréquent est indiqué en gras. D'après les références [11, 17, 26]

Tableau 3. Techniques de détection des réarrangements ALK, ROS1, RET et NTRK dans les CBNPC

| Réarrangement | criblage | Confirmation diagnostique |
|------------------|---|---|
| ALK | <p>IHC pour le dépistage systématique de tous les CBNPC</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un résultat d'IHC 3+ ne nécessite pas de confirmation • Un résultat d'IHC 1-2+ nécessite une confirmation par une technique FISH ou autre | Confirmation du réarrangement par FISH ou technique de biologie moléculaire pour les IHC 1-2+ |
| ROS1 | <p>IHC pour le dépistage systématique de tous les CBNPC mais manque de spécificité (faux positifs)</p> | Confirmation systématique du réarrangement par FISH ou technique de biologie moléculaire pour les IHC 1+ 2+ et 3+ |
| NTRK1/2/3 | <p>IHC : Manque de sensibilité pour NTRK3 (faux positifs et faux négatifs)</p> <p>Technique de biologie moléculaire multiplexe basée sur ARN recommandée (manque de sensibilité du séquençage ADN pour <i>NTRK2</i> et <i>NTRK3</i>)</p> | Confirmation systématique du réarrangement par FISH ou technique de biologie moléculaire |
| RET | <p>IHC : Non recommandé en raison de la faible sensibilité et spécificité</p> <p>Technique de biologie moléculaire multiplexe basée sur ARN recommandée</p> | Confirmation du réarrangement par FISH (interprétation parfois difficile, faux positifs et négatifs rapportés) ou technique de biologie moléculaire |