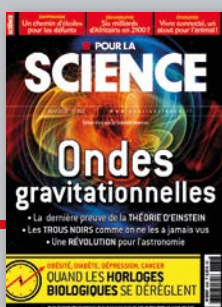


N°463 - mai 2016
□ réf. M0770463



N°462 - avril 2016
□ réf. M0770462



N°461 - mars 2016
□ réf. M0770461



N°460 - février 2016
□ réf. M0770460



N°459 - janvier 2016
□ réf. M0770459



N°458 - décembre 2015
□ réf. M0770458



N°457 - novembre 2015
□ réf. M0770457



N°456 - octobre 2015
□ réf. M0770456



N°455 - septembre 2015
□ réf. M0770455



N°454 - août 2015
□ réf. M0770454



N°453 - juillet 2015
□ réf. M0770453



N°452 - juin 2015
□ réf. M0770452



N°451 - mai 2015
□ réf. M0770451



N°450 - avril 2015
□ réf. M0770450



N°449 - mars 2015
□ réf. M0770449

Complétez votre collection dès maintenant!

Merci de découper ou photocopier ce bulletin et de le retourner accompagné de votre règlement à :

Groupe Pour la Science
628 avenue du Grain d'Or • 41350 Vineuil
e-mail : pourlasciencevpc@audin.fr

☐ Oui, je commande des numéros de *Pour la Science* au tarif unitaire de 5,50 € dès le 2^e acheté.

Je reporte ci-dessous les références à 8 chiffres correspondant aux numéros commandés :

1^{re} réf. _____ 01 x 5,50 € = _____ 6,50 €

2^e réf. _____ x 5,50 € = _____

3^e réf. _____ x 5,50 € = _____

4^e réf. _____ x 5,50 € = _____

5^e réf. _____ x 5,50 € = _____

6^e réf. _____ x 5,50 € = _____

Frais port (4,90 € France - 12 € étranger) + _____ €



Je commande la reliure *Pour la Science* (capacité 12 n°s) au prix de 14 € _____ x 14 € = _____ €

TOTAL À RÉGLER = _____ €

J'indique mes coordonnées :

Nom : _____

Prénom : _____

Adresse : _____

C.P. : _____ Ville : _____

Pays : _____ Tél. : _____
Pour le suivi client (facultatif)

Mon e-mail pour recevoir la newsletter *Pour la Science* : _____@_____

* À remplir en majuscules

Je choisis mon mode de règlement :

☐ par chèque à l'ordre de *Pour la Science*

☐ par carte bancaire

N° _____

Date d'expiration _____ Code de sécurité _____
(les 3 chiffres au dos de votre CB)

Signature obligatoire

En application de l'article 27 de la loi du 6 janvier 1978, les informations ci-dessus sont indispensables au traitement de votre commande. Elles peuvent donner lieu à l'exercice du droit d'accès et de rectification auprès du groupe Pour la Science. Par notre intermédiaire, vous pouvez être amené à recevoir des propositions d'organismes partenaires. En cas de refus de votre part, merci de cocher la case ci-contre ☐.

TOUTES LES ARCHIVES
DEPUIS 1996 SUR
www.pourlascience.fr

Une prise de sang contre les cancers

François-Clément Bidard et Stéphanie Descroix

Grâce à la microfluidique – la manipulation des fluides à l'échelle microscopique –, on sait détecter des cellules cancéreuses et de l'ADN tumoral lors d'une simple prise de sang. D'ici quelques années, ces techniques devraient remplacer la biopsie des tumeurs.

Détecter très tôt l'apparition de lésions cancéreuses, avant même qu'une tumeur ait commencé à se développer ou à réapparaître après un traitement, est un peu le graal des chercheurs qui travaillent sur les cancers. Ils savent en effet que prendre le mal à sa racine conduit à l'éradiquer plus sûrement ; et suivre son évolution permet aussi de savoir si un traitement fonctionne. Depuis les années 1950, afin de compléter, voire remplacer les biopsies pratiquées pour détecter l'éventuelle présence de cellules cancéreuses et les caractériser, on a mis au point des dizaines de tests non invasifs visant à doser dans le sang des marqueurs tumoraux, en l'occurrence certaines protéines, pour dépister et surveiller les cancers ; c'est le cas par exemple des tests qui mesurent la concentration de l'antigène prostatique, le PSA, que le cancer de la prostate peut augmenter.





Ces dernières années, la médecine semble être passée à la vitesse supérieure grâce à deux méthodes plus sensibles et précises : la détection de cellules tumorales vivantes qui circulent dans le sang après s'être détachées d'une tumeur, et celle d'ADN provenant de cellules cancéreuses mortes. Jusqu'alors, cette tâche était impossible, car les cellules provenant d'une tumeur éventuelle sont très rares dans le sang – quelques-unes parmi les quelque 50 millions de cellules à noyau présentes dans 10 millilitres de sang –, et l'ADN tumoral l'est tout autant. Il a fallu d'importants progrès techniques, notamment dans le domaine de la microfluidique et du séquençage de l'ADN, pour envisager aujourd'hui l'utilisation médicale de ces nouveaux marqueurs tumoraux.

Diagnostic, pronostic et prédiction

En oncologie, la science des cancers, le terme «biomarqueur» désigne une caractéristique biologique d'une tumeur, détectable dans un organe ou dans un fluide biologique, le sang en général, mais aussi la salive, les urines et le liquide céphalorachidien. Tout constituant moléculaire de cellules tumorales est donc un biomarqueur possible de cancer, voire même les cellules entières, nommées en l'occurrence cellules tumorales circulantes (CTC). L'intérêt d'un biomarqueur est lié d'une part à sa finalité potentielle, d'autre part à son «niveau de preuve», c'est-à-dire à une évaluation de la solidité des données le concernant, qui permet de distinguer celles

L'ESSENTIEL

- **Actuellement, les biomarqueurs des cancers sont en général des protéines que l'on détecte par des biopsies des tumeurs.**
- **Une nouvelle génération prometteuse de biomarqueurs détectables par une simple prise de sang émerge : les cellules tumorales circulantes et l'ADN tumoral circulant.**
- **Le dépistage précoce des cancers, l'affinement de leur pronostic et la prédiction de l'efficacité d'un traitement deviennent envisageables.**

qui sont établies et utilisables en pratique de celles qui demeurent douteuses. Quelle que soit la finalité d'un biomarqueur, son intérêt médical doit être évalué scientifiquement (voir l'encadré page ci-contre).

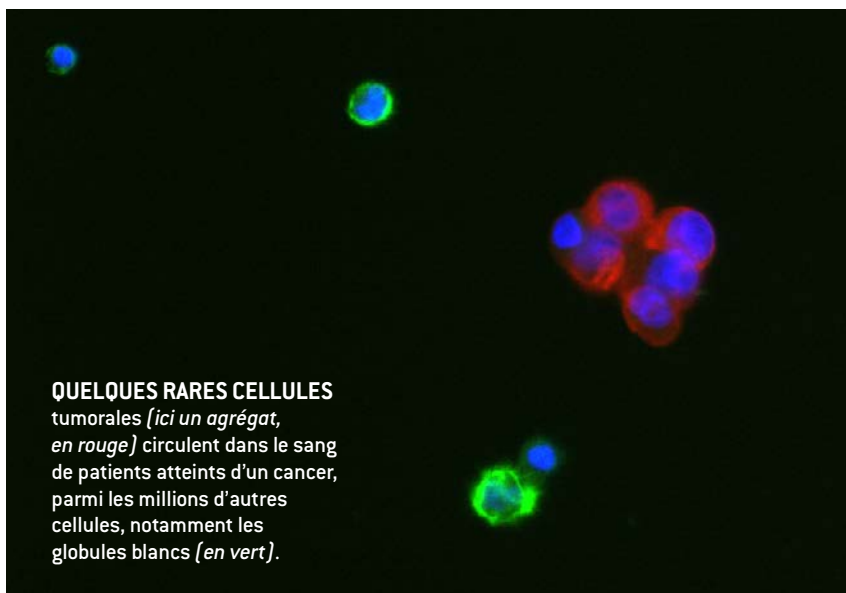
Les biomarqueurs visent trois objectifs. Certains sont utilisés comme aide au diagnostic : il s'agit de détecter un type de cancer chez un patient ou dans une population donnée, par exemple un cancer bronchopulmonaire chez les fumeurs. D'autres aident à effectuer le pronostic de la maladie. Ils renseignent alors sur l'évolution plus ou moins agressive d'une tumeur déjà diagnostiquée : on estime par exemple, en l'absence de métastases – les foyers cancéreux secondaires développés à distance de la tumeur primitive –, le risque futur de rechute ou, en présence d'un cancer incurable, sa vitesse d'évolution. Les biomarqueurs pronostiques n'ont un intérêt que s'il existe plusieurs traitements possibles, par exemple des chimiothérapies plus ou moins intensives que l'on adaptera à l'agressivité du cancer.

Enfin, les biomarqueurs les plus activement recherchés en oncologie sont ceux qui prédisent la sensibilité d'une tumeur. Ils indiquent que la tumeur a une probabilité importante d'être sensible (idéalement 100 %), ou à l'inverse résistante, à un traitement donné. L'un des exemples les plus connus est l'expression de récepteurs hormonaux dans le cancer du sein : lorsque des récepteurs aux œstrogènes et des récepteurs à la progestérone sont présents à la surface des cellules tumorales, le cancer sera très vraisemblablement sensible à l'hormonothérapie, dont le tamoxifène est un médicament représentatif. En revanche, les cancers du sein dépourvus de ces récepteurs sont résistants à ce même traitement, et il faut alors en envisager un autre.

Des cellules cancéreuses entières comme biomarqueur

Ces cinq dernières années, plusieurs études ont confirmé que les cellules tumorales circulantes retrouvées dans le sang et l'ADN tumoral circulant fourniraient des informations importantes pour détecter des cancers et optimiser les traitements. En d'autres termes, une simple prise de sang suffirait.

Les cellules tumorales se détachent de cancers dits solides – cancers du sein, du poumon, de la prostate, digestifs, etc. – par



QUELQUES RARES CELLULES tumorales (ici un agrégat, en rouge) circulent dans le sang de patients atteints d'un cancer, parmi les millions d'autres cellules, notamment les globules blancs (en vert).

J. Aufiebert

opposition aux leucémies. Une tumeur émet des cellules cancéreuses, dont certaines pénètrent dans des vaisseaux sanguins. Encore vivantes, elles sont alors entraînées dans la circulation sanguine et s'arrêtent parfois dans d'autres organes, où elles conduisent à l'apparition de métastases. On distingue ces cellules tumorales circulantes des autres cellules à noyau du sang (les globules blancs) par leur plus grande taille ou par la présence à leur surface de molécules spécifiques, des antigènes de tumeur.

Les données expérimentales obtenues chez la souris montrent que la plupart meurent en quelques heures dans la circulation sanguine. Cependant, il arrive qu'une petite fraction survive dans un organe distant et y reste au repos, sans proliférer, parfois des années. À ce stade, ces cellules tumorales sont désignées sous le terme de micrométastases. Après cette étape de dormance, dont la régulation est mal connue, elles recommencent à proliférer sous l'effet de déclencheurs de nature encore indéterminée. Ce « réveil » conduit à la formation d'une nouvelle tumeur dans un organe distant du site initial – une métastase. Celle-ci grandit et peut former à son tour d'autres métastases qui vont à terme compromettre la fonction des organes où elles croissent et entraîner le décès du patient.

En quête de mutations caractéristiques

Et l'ADN tumoral circulant ? Il provient aussi des masses tumorales solides. En revanche, il est largué dans le sang par un mécanisme biologique très différent : la mort de cellules cancéreuses. Cette mort est spontanée, du fait par exemple de l'insuffisance d'apport en oxygène ou en nutriments, ou elle se produit sous l'action de la chimiothérapie ou de la radiothérapie. L'ADN des cellules qui meurent est très fragmenté et reste intact dans le sang une heure environ avant d'être dégradé. Les fragments sont des « déchets » et n'exercent aucun rôle biologique connu à ce jour. Cependant, ils ont un intérêt majeur : ils portent la signature génétique des cellules cancéreuses dont ils proviennent.

Compte tenu de leur faible quantité dans le sang, les cellules tumorales circulantes et l'ADN tumoral circulant ne sont devenus des biomarqueurs tumoraux potentiels que depuis quelques années grâce à des progrès techniques qui ont fortement

accru la sensibilité et la spécificité de leur détection dans le sang. C'est le cas notamment des techniques microfluidiques (voir l'encadré page 48).

Les quantités de cellules tumorales circulantes et d'ADN tumoral circulant détectables sont toutes deux liées au volume de la tumeur. Néanmoins, elles ne reflètent pas forcément des tumeurs au même stade. La dissémination de cellules tumorales circulantes dans le sang n'intervient que si la tumeur initiale s'est suffisamment développée. Alors seulement les cellules circulantes deviennent plus nombreuses avec le développement de la tumeur, à l'approche d'un processus métastatique. En d'autres termes, plus ces cellules sont nombreuses à être détectées, plus la présence de métastases est probable. En revanche, la quantité d'ADN tumoral circulant dérive des mécanismes de mort cellulaire dans la tumeur, qui se produisent assez vite lorsque celle-ci se

LES AUTEURS



François-Clément BIDARD est médecin-chercheur dans le département d'oncologie médicale associé au Site de recherche intégrée sur le cancer (SiRIC) de l'institut Curie, à Paris.

Stéphanie DESCROIX est chargée de recherche CNRS à l'institut Curie dans l'unité de physicochimie (CNRS UMR 168), à l'université Pierre-et-Marie-Curie et à l'institut Pierre-Gilles-de-Gennes (IPGG), au sein de Paris Sciences et Lettres (PSL).

Valider un biomarqueur

Selon la médecine fondée sur les faits (*evidence-based medicine*), l'intérêt médical d'un biomarqueur est évalué en analysant trois critères successifs : sa validité analytique, sa validité clinique et son utilité clinique.

Le développement d'un biomarqueur jusqu'à son emploi en médecine requiert de ce fait plusieurs années.

La **validité analytique** correspond à la fiabilité de la mesure : la technique de détection du biomarqueur doit fournir le même résultat avec une faible marge d'erreur si un même échantillon est analysé plusieurs fois au sein d'un même laboratoire ou dans différents laboratoires.

La **validité clinique** évalue la qualité de l'association entre le biomarqueur et ce qu'il est censé indiquer. On étudie par exemple sur de vastes cohortes de patients sa capacité à distinguer les patients qui resteront indemnes de toute rechute de ceux qui subiront une évolution métastatique de leur tumeur au cours des années suivant le traitement initial. Il est alors souhaitable de démontrer que l'association observée est supérieure (ou complémentaire) à celle issue des critères habituellement utilisés pour décider du traitement.

L'**utilité clinique** est l'intérêt médical réel du biomarqueur. Sa démonstration reste l'étape la plus difficile à franchir pour que l'on décide de s'en servir à l'hôpital. Il s'agit de montrer que, lorsque le biomarqueur est pris en compte, la prise en charge médicale est améliorée : moins de rechute métastatique, moins d'argent dépensé, une meilleure qualité de vie, etc. De nombreux biomarqueurs cliniquement validés n'ont pas d'utilité médicale démontrée. Les tests correspondants ne sont donc pas remboursés par les systèmes de santé.

Lors des démonstrations de la validité et de l'utilité cliniques, l'objectivité et la solidité des données sont évaluées selon des échelles de **niveaux de preuve**. Les études rétrospectives de quelques cas sélectionnés correspondent au plus mauvais niveau de preuve (niveau 5). À l'inverse, les études prospectives internationales reposant sur des centaines de patients, et comparant les stratégies thérapeutiques avec et sans biomarqueur, constituent le meilleur niveau de preuve d'utilité clinique (niveau 1).

Apparue il y a une vingtaine d'années, la microfluidique suscite de nombreux espoirs. Définie initialement comme l'étude et la manipulation de fluides dans des canaux de dimensions micrométriques, la microfluidique est un champ interdisciplinaire qui allie les micro et nanotechnologies à la physique, la chimie et la biologie. L'une de ses problématiques est de développer des systèmes de la taille d'une carte de crédit – des « laboratoires sur puce » – intégrant l'ensemble des opérations d'analyse habituellement réalisées en laboratoire (séparation, identification, quantification des molécules d'un échantillon...).

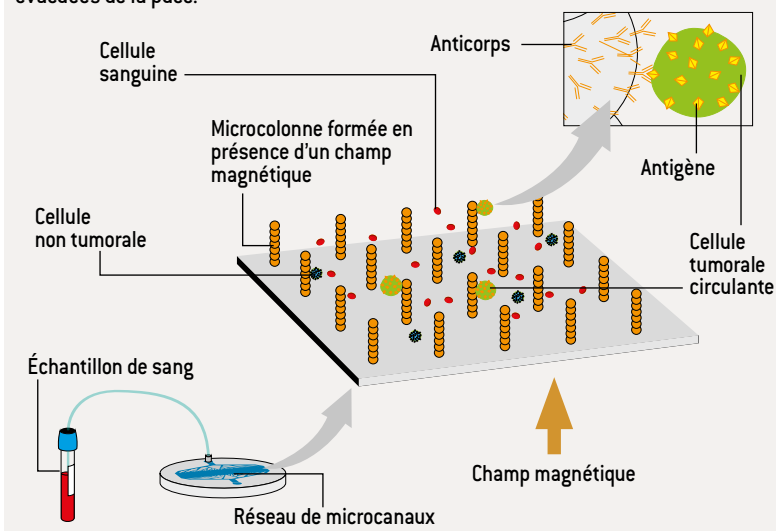
Depuis plusieurs années, la microfluidique a montré tout son potentiel dans la détection des cellules tumorales circulantes, en particulier grâce à des puces capables de trier les événements rares que représentent de telles cellules au sein de la multitude d'éléments non spécifiques que sont les globules blancs, les globules rouges et les plaquettes du sang. Il est possible à la fois de structurer les systèmes microfluidiques jusqu'à des dimensions nanométriques et de tirer parti des écoulements particuliers à l'échelle micrométrique pour trier les cellules en fonction

de leur taille ou grâce à des antigènes présents à leur surface.

Ainsi, grâce au dispositif microfluidique Ephesia (voir la figure ci-dessous), développé dans les années 2000 et validé cliniquement par l'équipe de Jean-Louis Viovy à l'institut Curie et à l'IPGG, il est possible de capturer très efficacement les cellules tumorales contenues dans le sang de patients atteints de cancers métastatiques. On recherche ensuite sur ces cellules des anomalies génétiques prédictives de l'efficacité des traitements. L'ensemble de ces étapes est réalisé dans une

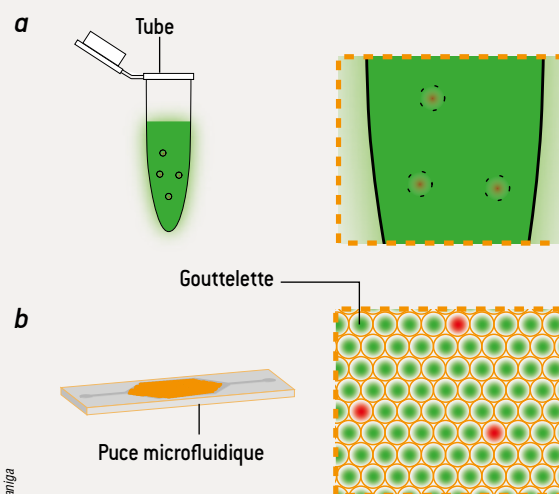
LE SYSTÈME MICROFLUIDIQUE EPHESIA

Le nom donné à cette technologie vient du temple d'Artémis à Éphèse, dont les colonnes ont été la proie de nombreuses destructions suivies de reconstructions. Dans ce dispositif, des microbilles magnétiques (*en orange*) portent un anticorps spécifique dirigé contre une protéine de surface propre aux cellules tumorales circulantes (antigène). Elles sont injectées dans des microcanaux dont le fond est tapissé de points d'encre magnétique. Soumises à un champ magnétique, elles forment spontanément des microcolonnes à partir de ces points d'encre magnétique (destructibles et reconstructibles à l'envi sous l'action de ce champ magnétique, comme celles du temple d'Artémis). Les différentes cellules injectées dans la puce microfluidique se « cognent » aux colonnes. Les cellules tumorales circulantes (*en vert*) sont capturées grâce à l'interaction des anticorps et de l'antigène tumoral, alors que les autres cellules sanguines (*en rouge et en bleu*) sont évacuées de la puce.



LA PCR DIGITALE EN GOUTTELETTES

Jusqu'à présent, pour analyser les mutations de molécules d'ADN d'un échantillon, celles-ci sont mélangées dans un même tube, qu'elles soient mutées ou normales (*a*). L'amplification par PCR (réaction en chaîne par polymérase) préalable à la détection garde les mêmes proportions entre ADN muté et ADN normal. Le signal de l'ADN muté est alors noyé dans celui des ADN sains. Dans l'approche microfluidique (*b*), chaque molécule d'ADN est encapsulée dans une gouttelette. Pour ce faire, après avoir extrait et quantifié l'ADN présent dans le sang du patient, on le dilue de telle façon qu'on encapsule



puce microfluidique grande comme une carte de crédit.

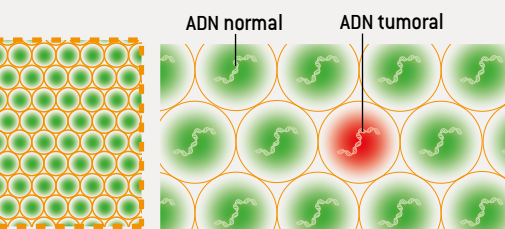
La microfluidique s'est aussi imposée comme une technologie de choix pour l'analyse de l'ADN tumoral circulant. Il s'agit, comme avec les cellules, d'analyser quelques rares fragments d'ADN tumoral dans un océan d'ADN normal issu de cellules saines. Pour cela, des millions de gouttelettes d'eau de quelques picolitres (10^{-12} litre) sont créées dans de l'huile, chacune d'elles ne contenant qu'une seule molécule d'ADN – c'est un point clé (voir la figure ci-dessus).

L'ADN contenu dans chaque gouttelette est alors amplifié par PCR (réaction en chaîne par polymérase), une technique de biologie moléculaire qui duplique en grand nombre une séquence d'ADN. Ainsi amplifié, l'ADN devient détectable. Cet ADN est soit normal soit muté, résultat que l'on peut « coder » en 0 ou 1, d'où l'appellation de microfluidique « digitale » (à deux solutions).

0 ou 1 molécule par gouttelette selon la distribution statistique de Poisson. Cette encapsulation se fait grâce à une puce microfluidique dédiée qui permet de former des gouttelettes d'eau dans l'huile. Après amplification par PCR, chaque gouttelette contient donc un grand nombre de copies soit d'ADN normal, soit d'ADN muté. Cette technique est dite digitale, car les gouttelettes n'ont finalement que deux types de fluorescence possible, correspondant au statut muté ou non de la molécule d'ADN initialement introduite dans la gouttelette.

Toutes les molécules d'ADN sont amplifiées ensemble.

Chaque gouttelette contient une molécule d'ADN, qui est amplifiée séparément.



Avec cette approche, des événements rares tels que la présence d'ADN tumoral circulant ne sont plus dilués dans le bruit de fond de l'ADN normal, comme ce serait le cas dans une analyse classique. Ils deviennent détectables. Il est alors possible de réaliser dans ces gouttelettes toutes les étapes classiques de l'analyse de mutations.

Par ce processus de digitalisation, l'équipe de Pierre Laurent-Puig, de l'unité Inserm UMR-S775 et de l'hôpital européen Georges Pompidou, a démontré en 2013 qu'une seule copie mutée du gène KRAS (impliqué dans le cancer du côlon) était détectable parmi 200 000 copies non mutées du même gène. Ainsi, la microfluidique de gouttes combine les avantages de la digitalisation, de la miniaturisation et du haut débit pour l'analyse de l'ADN tumoral circulant.

développe. Elle peut donc caractériser la présence d'une tumeur primitive.

Dans ces conditions, comment tirer parti de ces deux biomarqueurs pour le diagnostic des cancers ? Pour le comprendre, replaçons-nous dans le contexte de la prise en charge médicale actuelle. Face à une anomalie de l'examen clinique, les médecins réalisent un ou plusieurs examens de radiologie, par exemple un scanner. Si une anomalie radiologique est jugée évocatrice d'un cancer, une biopsie diagnostique est entreprise : on prélève un fragment de la masse suspecte à l'aide d'une aiguille spéciale, voire par une opération chirurgicale.

Les biopsies sont des examens de routine, mais présentent de nombreux inconvénients : coûteuses pour le système de santé, éventuellement douloureuses, elles entraînent dans de très rares cas des complications graves, par exemple des saignements liés au passage de l'aiguille de ponction. Les biopsies demandent par ailleurs du personnel médical entraîné et doivent parfois être faites à l'hôpital. Dans ce contexte, on pourrait imaginer de les remplacer par la recherche de cellules tumorales circulantes ou des mutations génétiques caractéristiques d'un cancer dans l'ADN circulant, sur simple prise de sang. En cas de détection de mutations caractéristiques d'un cancer du pancréas, par exemple, il ne serait plus nécessaire de réaliser la biopsie d'une masse pancréatique suspecte pour poser le diagnostic.

Peu d'études ont été réalisées dans ce sens sur les cellules tumorales circulantes, et la plupart sont revenues négatives. Une exception, cependant, a été observée par l'équipe de Paul Hofman au CHU de Nice, à l'automne 2014. Ces chercheurs ont utilisé une technique de filtration du sang qui permet de ne retenir que les plus grosses cellules, dont font partie les cellules tumorales circulantes – une technique différente de celles précédemment utilisées, qui reposaient sur des propriétés biologiques (expression de protéines membranaires). Résultat : dans le sang de 5 patients parmi 245 personnes présentant le risque de développer un cancer du poumon, des cellules tumorales circulantes ont été détectées un à quatre ans avant l'apparition d'une masse tumorale visible au scanner. Les patients ont été opérés et ne montraient aucun signe de récurrence un an après. Ce résultat, s'il est confirmé de manière indépendante, permettrait d'utiliser la détection

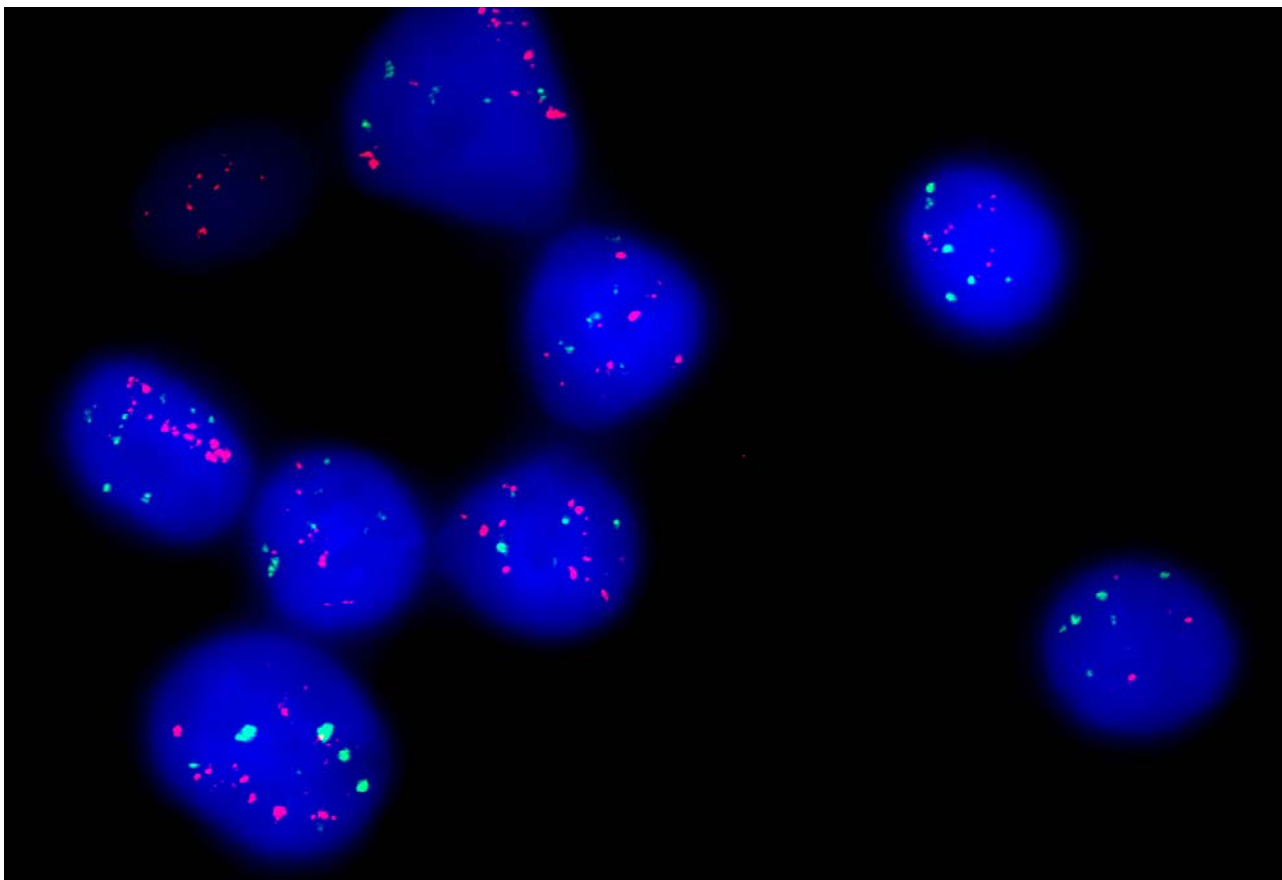
de cellules tumorales pour dépister une tumeur initiale chez des patients dont le risque est avéré. Fin 2015, Paul Hofman a lancé une nouvelle étude avec la même technique, le projet Air, cette fois-ci sur 600 personnes à risque. Les résultats sont attendus pour 2019.

L'utilisation diagnostique de l'ADN tumoral circulant semble encore plus prometteuse. Un cas anecdotique mais illustratif a été rapporté en 2013 par une équipe du Cancer Research UK Cambridge Institute : une patiente traitée successivement pour deux types de cancers, l'un de l'ovaire, puis l'autre du côlon, avait, des années après, plusieurs métastases. L'analyse de l'ADN tumoral circulant a permis de retrouver des mutations génétiques similaires à celles du cancer de l'ovaire, alors que les mutations du cancer du côlon, différentes, étaient absentes. Cette signature a guidé le choix thérapeutique vers les chimiothérapies les plus actives sur les métastases d'origine ovarienne. On voit ici que cette approche dite de biopsie liquide, où la prise de sang remplace la biopsie classique des masses tumorales, serait utile chez les patients ayant un antécédent de cancer susceptible de récidiver.

Les cellules tumorales circulantes : un intérêt pronostique majeur

Pour une utilisation dans la population générale, sans antécédent de cancer, ce type d'application diagnostique nécessite des techniques de détection extrêmement sensibles – pour ne pas rassurer faussement un patient vraiment porteur d'un cancer (faux négatif) – et spécifiques – pour ne pas diagnostiquer un cancer chez un sujet en réalité indemne (faux positif). De telles sensibilités et spécificités ne sont pas encore atteintes, mais pourraient l'être dans les années à venir avec les améliorations continues des techniques de séquençage.

La donne est assez différente s'agissant du pronostic. Plus il y a de cellules tumorales circulantes, plus un cancer semble devoir évoluer rapidement et être à l'origine de rechutes et de nouvelles métastases. Les cellules tumorales circulantes constituent de ce fait un biomarqueur pronostique majeur en cancérologie. Toutefois, le niveau de preuve soutenant cette validité pronostique varie selon le nombre d'études réalisées et donc selon le type de cancer :



K. Perez-Toralla

actuellement, la certitude est indiscutable dans les cancers métastatiques du sein et de la prostate, intermédiaire dans les cancers métastatiques du côlon et pulmonaires, et faible dans les cancers plus rares.

Plus intéressant encore, les variations précoces du nombre de cellules tumorales circulantes au cours d'une chimiothérapie renseignent sur l'évolution des patients atteints de cancers du sein, de la prostate ou du côlon, au stade métastatique. Pour ces cancers, moins il y a de cellules tumorales circulantes avant le début d'un traitement, plus l'évolution spontanée du cancer est lente; en outre, plus le niveau de cellules tumorales circulantes baisse en cours de traitement, plus celui-ci est efficace.

On distingue ainsi quatre types de patients, par ordre de gravité croissant: ceux dont le niveau de cellules tumorales est bas (indétectable) et le demeure durant la chimiothérapie, ce qui correspond à la meilleure situation; les patients dont le niveau de cellules tumorales circulantes est haut initialement, mais diminue en cours de chimiothérapie, indice que celle-ci est efficace; les patients dont le niveau de cellules tumorales circulantes est bas

L'ANALYSE DES ANOMALIES GÉNÉTIQUES des cellules tumorales circulantes fournit une indication sur les thérapies à privilégier. Dans l'analyse ci-dessus, via la technique d'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), chaque gène d'intérêt marqué se traduit par un point coloré au sein du noyau (en bleu). Dans une cellule non tumorale, le nombre de copies du gène est normal (deux copies par cellules, soit deux points de la même couleur). En revanche, dans une cellule tumorale circulante, le nombre de copies d'un gène (ici *HER2*, points rouges) peut considérablement augmenter, signe qu'une thérapie ciblée (en l'occurrence le trastuzumab) contre le gène perturbé pourrait être efficace.

initialement, mais augmente pendant le traitement, situation peu favorable; et enfin, les patients dont le niveau de cellules tumorales circulantes est haut avant traitement et le reste malgré la chimiothérapie. Dans ces deux derniers groupes, la chimiothérapie entreprise se révèle souvent un échec, le cancer augmentant de volume statistiquement plus vite que dans les deux premiers groupes de patients.

Ces observations faites et reproduites, il reste à en démontrer l'utilité clinique: l'adaptation du type de traitement à la quantité de cellules tumorales circulantes permet-elle d'améliorer la prise en charge et le devenir des patients? C'est l'enjeu de plusieurs essais cliniques. Le premier, SWOG 0500, mené par le South-West Oncology Group américain, a été un échec cuisant. Les résultats d'autres essais sont donc attendus avec

impatience: il s'agit de CirCe01 et STIC CTC, conduits en France par notre équipe à l'institut Curie, et de DETECT III, mené dans plusieurs villes d'Allemagne. Les résultats de ces trois essais seront rapportés dans les deux ans qui viennent.

L'impact pronostique de l'ADN tumoral circulant est un peu plus complexe à appréhender. En l'absence de masse tumorale visible, par exemple après qu'un cancer du sein a été opéré, sa détection signifierait la persistance de cellules cancéreuses résiduelles dans l'organisme, dont certaines meurent et libèrent de l'ADN. Cette « maladie résiduelle » serait alors susceptible de mener à une rechute ultérieure sous forme de métastases. Dans ce contexte, l'ADN tumoral circulant serait un facteur pronostique très fort. Malheureusement, les techniques actuelles ne sont pas encore

assez sensibles pour être appliquées en routine ; il faut en effet détecter les débris d'ADN largués par quelques cellules tumorales disséminées parmi les innombrables cellules saines du corps. Néanmoins, cette piste reste prometteuse.

À l'inverse, en présence de métastases, la détection d'ADN tumoral circulant n'est pas forcément associée à une évolution défavorable : en effet, la quantité d'ADN tumoral circulant est en grande partie liée à la mort des cellules tumorales, qui influe peu sur le devenir des patients (elle peut même être le signe d'une diminution de la masse tumorale).

Repérer les mutations pour mieux cibler les thérapies

La dernière piste d'utilisation des cellules tumorales circulantes et de l'ADN tumoral circulant est la prédiction de l'efficacité d'une thérapie. Il s'agit de faire coïncider celle-ci avec un biomarqueur qui indique une sensibilité particulière à un traitement donné. Certains médicaments ne sont en effet efficaces qu'en présence de mutations génétiques spécifiques : par exemple, le trastuzumab (Herceptin®), un anticorps monoclonal, stoppe la prolifération des cellules cancéreuses du sein seulement si elles sont porteuses d'anomalies dans le gène *HER2*, qui code un facteur de croissance. Actuellement, on détermine la présence de mutations dans les cellules tumorales en effectuant une analyse génétique des cellules prélevées par biopsie des tumeurs. Mais l'ADN tumoral circulant, qui correspond à des fragments d'ADN de cellules tumorales, reflète très bien les anomalies génétiques d'un cancer donné. Dans une étude que nous avons menée à l'institut Curie en 2015, les mutations retrouvées par biopsie chez une quarantaine de patients étaient quasiment identiques à celles retrouvées dans l'ADN tumoral circulant détecté lors d'une simple prise de sang. Ainsi, l'ADN tumoral circulant devrait remplacer dans un avenir proche la biopsie pour déterminer les mutations tumorales ayant un intérêt thérapeutique.

À l'inverse, l'utilisation prédictive des cellules tumorales circulantes, qui comportent dans leur noyau de l'ADN tumoral, reste limitée du fait de leur faible nombre chez certains patients. Leur intérêt semble

donc restreint aux composants ou aux anomalies génétiques, par ailleurs difficilement détectables dans le sang, telles que les changements du nombre de copies d'ADN ou les anomalies de l'ARN tumoral. Par exemple, selon une étude de 2014 de l'équipe de Jun Luo, de l'université Johns Hopkins à Baltimore, certaines formes d'ARN dans les cellules tumorales circulantes seraient associées à une résistance à l'hormonothérapie des cancers de la prostate. Là encore, cette étude préliminaire, sur quelques dizaines de patients, requiert d'être reproduite indépendamment dans de plus larges cohortes de patients pour être validée.

Malgré ces réserves, nous n'avons jamais été aussi proches de l'utilisation en routine de la « biopsie liquide » pour lutter contre les cancers. Déjà, fin 2014, une première autorisation a été donnée en Europe pour détecter des mutations d'un gène d'intérêt (*EGFR*) dans l'ADN tumoral circulant par prise de sang chez les patients atteints de cancer bronchique et dont la tumeur est inaccessible à une biopsie tumorale classique (solide). D'autres applications sont par ailleurs en cours d'exploration, telles que la détection de cancers de la bouche ou de l'oropharynx via des tests de détection d'ADN tumoral non plus sanguins, mais salivaires.

Outre ces aspects d'analyse, la microfluidique et la médecine s'attellent aujourd'hui à reproduire dans ces systèmes de puces microfluidiques des « organes miniaturisés » – des organes sur puce. Il s'agit de reproduire *in vitro* sur ce format de carte de crédit les fonctionnalités d'organes *in vivo*. Ce domaine soulève de nombreux espoirs, notamment pour une meilleure compréhension de mécanismes pathologiques tels ceux à l'œuvre dans le développement du cancer, mais aussi pour le criblage d'agents thérapeutiques sur ces modèles biomimétiques, qui permettent alors d'éviter l'expérimentation animale. La révolution microfluidique est en marche ! ■

La biopsie liquide

pourrait être utile
chez les patients ayant
un antécédent
de cancer
susceptible de récidiver

■ BIBLIOGRAPHIE

F. C. Bidard *et al.*, *Circulating tumor cells in breast cancer*, *Molecular Oncology*, vol. 10, pp. 418-430, 2016.

J. Autebert *et al.*, *High purity microfluidic sorting and analysis of circulating tumor cells: towards routine mutation detection*, *Lab Chip*, vol. 15, pp. 2090-2101, 2015.

M. Ilie *et al.*, « Sentinel » *circulating tumor cells allow early diagnosis of lung cancer in patients with chronic obstructive pulmonary disease*, *PLoS One*, vol. 9, n° 10, e111597, 2014.

C. Alix-Panabières et K. Pantel, *Circulating tumor cells: liquid biopsy of cancer*, *Clin. Chem.*, vol. 59, n° 1, pp. 110-118, 2013.

F. C. Bidard *et al.*, *Going with the flow: from circulating tumor cells to DNA*, *Sci. Transl. Med.*, vol. 5, n° 207, pp. 207ps14, 2013.

L'ESSENTIEL

- Une exoplanète géante semble entourée d'un système d'anneaux 200 fois plus étendu que celui de Saturne.
- Les modélisations suggèrent la présence d'un satellite de la taille de Mars au cœur même des anneaux. Ce serait la première lune à être détectée en dehors du Système solaire.
- Au moyen d'observations quotidiennes et des données d'archives, astronomes professionnels et amateurs collaborent pour étudier ce système plus en détail.

Ron Miller

UN AIR DE SATURNE. Autour d'une étoile distante de 400 années-lumière, une planète géante arbore un système d'anneaux qui serait 200 fois plus étendu que celui de Saturne. Sur cette vue d'artiste, le premier plan est occupé par une lune, grande comme Mars, nichée dans les anneaux de la planète que l'on distingue au centre de l'image. L'étoile brille sur la gauche.