



**LES TRANSVERSALES SANTÉ**  
de Paris Innovation  
en association avec Medicen Paris Region

## SYNTHESE

---

### → Les biomarqueurs en clinique : comment adapter les thérapeutiques

Mardi 15 avril 2008  
18h30 – 21h  
Medicen Paris Région

**Intervenants :**

**Vanessa HANIFA**, Responsable de mission de l'unité Biotechnologies & Innovation d'ALCIMED.

**Christophe VALAT**, Serial Genetics, Evry.

**Mariana GUERGOVA-KURAS**, Directeur de la bioinformatique, BioSystems International, Evry

**Paul COTTU**, Hôpital de jour, Institut Curie, Paris

**Grand Témoin : Laurent BECQUEMONT**, Professeur de Pharmacologie Clinique, Faculté de Médecine Paris Sud, Université Paris Sud, Service de Génétique moléculaire et pharmacogénétique, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre

*Le développement de nouveaux médicaments implique de pouvoir évaluer rapidement et précisément la réponse des patients, en fonction du type ou du sous-type de pathologie. Cette évaluation passe par l'utilisation appropriée de marqueurs biologiques de la maladie, sensibles, fiables et si possible prédictifs. Cette transversale a illustré quelques approches d'identification de tels biomarqueurs et leurs utilisations durant les essais cliniques et à l'hôpital.*

## Le marché des biomarqueurs

**Vanessa HANIFA,**

*Responsable de mission de l'unité Biotechnologies & Innovation d'ALCIMED*

vanessa.hanifa@alcimed.com

www.alcimed.com

En 2007, le marché mondial des biomarqueurs était estimé à 5,6 milliards de dollars **(1)**. Les applications pour la découverte de médicaments (*drug discovery*, 48 % du marché) et le diagnostic moléculaire (43 % du marché) étaient prédominantes, l'utilisation de biomarqueurs durant les essais cliniques, pour l'évaluation de l'efficacité et de la toxicité d'un candidat médicament, ne représentant que 9 % du marché.

En médecine, les tests qui visent à mieux choisir un médicament et la dose à prescrire en fonction des caractéristiques du patient, ou tests théranostiques, constituent l'un des segments de marché du diagnostic moléculaire les plus porteurs, avec des croissances annuelles de l'ordre de 25 %, alors que la croissance prévue de l'ensemble du marché des biomarqueurs destinés au diagnostic moléculaire est de 17 % par an.

### **La théranostique a commencé à faire ses preuves**

Cette forte croissance du marché théranostique s'explique d'abord par le fait que les premiers tests théranostiques ont fait la preuve de leurs avantages.

#### *Bénéfices pour les industries du médicament*

Les tests théranostiques peuvent faire obtenir l'AMM à un médicament qui, sans eux, ne l'aurait pas obtenu ; cela a été le cas pour l'Herceptine commercialisée par Roche pour le traitement du cancer du sein. Ces tests permettent également de négocier des niveaux de prix plus élevés pour le médicament. Par exemple, le Gleevec était vendu autour de 2 500 dollars par mois en 2001 ; en 2003, son prix est monté à 3 500 dollars alors qu'un test théranostique associé était prêt à être commercialisé **(2)**.

#### *Bénéfices pour les sociétés qui développent des tests*

Les tests théranostiques commercialisés se révèlent très lucratifs pour les sociétés les ayant développés. Ainsi, grâce au test Oncotype DX, lancé en 2004, Genomic Health (Redwood City, Californie, [www.genomichealth.com](http://www.genomichealth.com)) a généré 5,2 millions de dollars de chiffre d'affaires dès 2005 et réalise 32 millions de dollars aujourd'hui.

#### *Avantages pour les systèmes de soins et les patients*

On peut penser que les tests conduisent à moins de gaspillage de médicaments puisque les malades sont mieux sélectionnés. Pour les patients, il est évidemment préférable d'avoir accès au traitement le plus approprié, notamment celui qui provoquera le moins d'effets secondaires.

### **Des signaux encourageants**

Autre aspect qui explique la croissance du marché théranostique : les autorités publiques multiplient les encouragements envers le développement de biomarqueurs et de tests théranostiques.

L'organisation de colloques facilite les interactions entre chercheurs, sociétés savantes, professionnels de santé sur le thème des biomarqueurs. Les autorités soutiennent financièrement le domaine (via le 6<sup>e</sup> et 7<sup>e</sup> PCRD ou via des structures telles que l'OSEO avec le programme ADNA (Avancées Diagnostiques pour de Nouvelles Approches thérapeutiques). Aux Etats-Unis, le projet de loi « Genomics and Personalized Medicine Act » déposé au Sénat en 2006, a pour but de financer le développement de la théranostique.

En outre, l'agence européenne du médicament (EMA), la Fédération européenne des industries et associations pharmaceutiques (EFPIA) et l'agence américaine de l'alimentation et des médicaments (FDA) ont recommandé un recours plus systématique aux biomarqueurs, à la génomique et à la protéomique. La FDA conseille même le développement conjoint du couple médicament / test théranostique.

Notre sponsor



### **Les freins scientifiques**

Identifier et valider des biomarqueurs pertinents reste toutefois un véritable défi scientifique. Les biomarqueurs doivent être pertinents en clinique alors que les réponses biologiques à un médicament sont très complexes et que des facteurs environnementaux interfèrent. Des difficultés éthiques ont également surgi quant à l'utilisation des données pharmacogénomiques, en particulier génétiques. Enfin, l'éducation des professionnels est indispensable pour chaque test afin qu'il soit correctement prescrit aux patients et pour convaincre les cliniciens des bénéfices apportés par le test.

### **Les freins liés au processus de soumission et d'autorisation**

Pour beaucoup d'industriels, l'établissement de processus et de seuils clairs pour obtenir l'approbation de tests théranostiques est critique pour poursuivre le développement d'une stratégie de développement axée sur des couples médicament / test théranostique.

En Europe, l'autorisation de commercialisation d'un test diagnostique correspond à la procédure du « marquage CE » : les fabricants s'engagent de bonne foi à garantir la qualité du produit et la sécurité des patients. Le contrôle se fait a posteriori, par l'Afssaps en France.

Aux Etats-Unis, en revanche, la validation des tests repose sur des essais cliniques. Depuis 2006, un guide explique le processus à suivre pour le développement conjoint d'un couple médicament / test théranostique : dates de soumission des données pharmacogénomiques, format et contenu, modalités et date d'utilisation, etc. Les Etats-Unis vont donc plus loin que l'Europe dans la sécurisation des tests tout en assurant une plus grande clarté des modalités d'aide au développement.

### **Les freins liés au remboursement**

Actuellement, rien ne garantit le remboursement adéquat des tests théranostiques. L'assurance d'avoir accès à un taux de remboursement « raisonnable » serait pourtant le premier levier pour que les sociétés s'engagent davantage dans le développement de tests.

Une telle demande peut prendre plusieurs années pour une prise en charge publique. Lorsqu'une prise en charge (publique ou privée) est accordée, le taux de remboursement accordé est souvent faible parce que comparable aux tests de diagnostic existants, même si le test théranostique apporte un réel bénéfice. Une entreprise doit donc âprement négocier, soit avec les spécialistes et « Key Opinion Leaders » du domaine, soit avec les organismes de prise en charge.

Aux Etats-Unis, il existe toutefois un projet, l'« Advanced Laboratory Diagnostics Act 2006 », qui vise à établir un nouveau système de paiement des tests de diagnostic moléculaire.

Ces différents freins d'une part peuvent freiner l'engagement des entreprises dans le développement de tests théranostiques (bien qu'elles soient conscientes de leurs avantages, d'autre part se traduisent par l'absence d'une industrie théranostique à proprement parler.

### **Les positionnements des sociétés de théranostique**

Le premier type d'entreprises théranostiques comprend des sociétés de diagnostic moléculaire dont la stratégie consiste à étendre au domaine théranostique leurs technologies de diagnostic *in vitro*, tout en gardant leur cœur d'activité initial. Objectifs : se différencier, en se positionnant comme acteur de la médecine personnalisée, ou se relancer, en particulier auprès des investisseurs potentiels. Pour cela, elles développent une division théranostique en interne ou acquièrent des sociétés clairement positionnées sur ce secteur.

Exemples : Affymetrix, Becton Dickinson, BioSite, Clinical Data, DakoCytomation, LabCorp, Ventana Medical Systems.

Un deuxième type d'entreprises correspond aux sociétés de biotechnologies d'emblée spécialisées en théranostique. Les unes affichent leurs compétences dans ce domaine mais cherchent à assurer leur pérennité en valorisant leurs savoir-faire de pointe et leurs technologies propriétaires pour une gamme plus large de produits et de services. Par exemple, Cambridge Theranostics (Royaume-Uni, [www.cambridgetheranostics.co.uk/](http://www.cambridgetheranostics.co.uk/)), après avoir développé le test AtheroAlzyme, élargit ses savoir-faire vers la nutraceutique pour le screening des ingrédients, en partenariat avec une société allemande, dans une logique étendue de médecine personnalisée.

Les autres sont positionnées depuis l'origine dans le théranostique et souhaitent se diversifier vers d'autres applications (screening, tests d'efficacité, etc.). Ces sociétés, telles que PharmaNetics et

Notre sponsor



Monogram Biosciences (San Francisco, [www.monogrambio.com](http://www.monogrambio.com)), ont été confrontées aux freins du marché théranostique et à une trop forte dépendance vis-à-vis d'une poignée d'industriels. Cela a contribué au déclin de PharmaNetics, qui avait développé un test compagnon du Lovenox d'Aventis. Un procès a eu lieu contre la firme française, accusée de mauvais marketing du produit et donc des mauvaises ventes du test en 2003. PharmaNetics a par la suite dû licencier ses employés en 2004.

Rares sont les sociétés théranostiques qui ont réussi. C'est le cas de Genomic Health, déjà citée, grâce au test Oncotype DX qui est censé permettre à la fois d'orienter la thérapeutique et de prédire les risques de récurrence du cancer du sein.

### **L'industrie pharmaceutique**

Les firmes pharmaceutiques s'implantent sur le marché théranostique en développant une division diagnostique en interne, ou en achetant des sociétés de diagnostic ou de biotechnologies. Dans le premier cas, les acteurs phares sont Abbott, Novartis, Roche et Wyeth. Dans le second cas, ce sont Bayer (acquisition de PharmaNetics en 2004 et de Visible Genetics en 2002), Fornix (achat de Laprolan en 2005) ou Roche (acquisition de Ventana Medical Systems en cours).

Ce positionnement stratégique est croissant, mais uniquement parmi les grands industriels pharmaceutiques leaders qui peuvent se permettre de se positionner de front sur le médicament et le théranostique.

### **Perspectives**

L'utilité des tests théranostiques ne fait plus de doute, tant pour les patients et les systèmes de soins que pour les industries développant ces tests. Leur marché devrait ainsi croître à raison d'au moins 25 % par an. Néanmoins, beaucoup de difficultés subsistent pour les acteurs qui souhaitent s'y positionner. Ceux-ci doivent soigneusement prendre en compte tous ces paramètres pour définir leur modèle de développement.

- (1) « Biomarkers : The expanding global market », BBC Research, novembre 2007.
- (2) [www.oralcancerfoundation.org](http://www.oralcancerfoundation.org), Gleevec Patient Assistance Program USA

## **Les marqueurs moléculaires**

**Christophe VALAT,**

*Serial Genetics, Evry*

[cvalat@serialgenetics.com](mailto:cvalat@serialgenetics.com)

Un marqueur moléculaire est une variation d'ADN ou d'ARN qui constitue le signal de l'existence d'une pathologie (mutation pour les maladies héréditaires, amplifications et délétions en cancérologie, variants d'épissage), ou d'une déficience de la cible ou de la métabolisation d'un médicament. En microbiologie, le marqueur peut indiquer la présence d'un micro-organisme ou d'un virus, ou l'existence d'un gène qui modifie l'action d'un médicament (par exemple un gène de résistance à un antibiotique).

### **De la découverte du marqueur au test compagnon**

Le cycle de vie d'un marqueur moléculaire commence par sa validation dans des études d'association puis dans des études cliniques. Plus on va vers un test compagnon, associé à un traitement thérapeutique, plus le nombre de marqueurs mis en jeu est restreint, mais plus la taille du marché est importante (la taille du marché est inversement proportionnelle au nombre de marqueurs analysés).

Le recul permet d'affirmer que l'étude de marqueurs moléculaires contribue à limiter le taux d'échec de développement des médicaments. Comment ?

D'abord en accélérant les études et en améliorant l'efficacité du médicament : le recrutement de patients « bon répondeurs » au traitement, ou ayant une pathologie caractérisée par un profil ADN/ARN particulier, ou porteurs de micro-organismes d'intérêt (développement d'antibiotiques). Le cas du trastuzumab (Herceptine) est le mieux connu : Genentech et Roche ont recruté des patients

Notre sponsor



ayant une expression importante de HER2, ce qui a permis d'augmenter le nombre de patients « bons répondeurs » au trastuzumab. Dans ce cas, le développement d'un test compagnon n'est toutefois pas indispensable.

Les marqueurs moléculaires permettent également de limiter les échecs dus à la toxicité d'un candidat médicament. En excluant de l'étude clinique les patients hypersensibles à la molécule (« hyperrépondeurs »), et en adaptant les dosages, on finit par commercialiser un produit qui ne peut être prescrit qu'aux patients normo-répondeurs ou faiblement répondeurs. Cela impose de commercialiser le médicament en même temps que le test compagnon.

### **Des tests pour compenser l'inefficacité relative des médicaments**

De plus en plus de tests compagnons ont été mis sur le marché ces dernières années, surtout en oncologie. C'est le cas du test BCR-ABL pour le Gleevec dans la leucémie myéloïde chronique, ou du test UGT1A1 destiné à éviter les effets secondaires du Camptosar (irinotecan) dans le traitement du cancer du côlon. Cette croissance est à mettre en rapport avec l'inefficacité de nombreux médicaments chez une proportion importante de patients : les médicaments contre l'asthme de type bêta-2 agonistes sont inefficaces dans 40 à 70 % des cas ; les statines anticholestérol chez 30-70 % des patients, les antidépresseurs dans 20-50 % des cas, les bêta-bloquants sont sans action chez 15-25 % des hypertendus.

Un autre moteur de l'apparition des tests compagnons est l'accessibilité croissante des marqueurs moléculaires. Cependant des contraintes très importantes rendent ce développement très exigeant : le clinicien a besoin de tests simples à interpréter, comprenant le juste nombre de marqueurs ; le développement et la production doivent être réalisés sous assurance qualité ; enfin il faut respecter la réglementation européenne sur les dispositifs médicaux et de diagnostic *in vitro* (CE IVD).

### **Les tests de Serial Genetics**

Serial Genetics s'inscrit dans ce contexte en proposant des trousse de diagnostic sur biopuces utilisables pour la mise au point de tests compagnons simples. Créée en 2003 sur le Génopôle d'Evry, la société devrait demander la Certification ISO 13485 (CE IVD) fin 2008. Elle propose des kits de diagnostic moléculaires médicaux notamment pour les maladies héréditaires, les cancers et la pharmacologie, et des kits de diagnostic cliniques à façon, réalisés à la demande de clients, en microbiologie et en pharmacogénétique.

Ces kits sont simples à utiliser (une seule PCR), rapides (4 heures), puissants (plusieurs types de marqueurs sont analysés simultanément) et évolutifs. La technologie propriétaire sur laquelle ils reposent est celle des sondes HairLoop. Il s'agit de sondes d'ADN structurées en épingle à cheveux et immobilisées sur une puce ou tout type de surface solide. Chaque sonde est composée d'une boucle et d'une tige, la boucle étant complémentaire de la cible (échantillon d'ADN amplifié par PCR). La présence de la tige augmente la spécificité de l'analyse : le test peut différencier des produits de PCR ne différant que d'une seule base sur six cents. L'hybridation boucle-ADN est effectuée à température ambiante en une heure. Seule l'hybridation parfaite a la force nécessaire pour ouvrir la boucle, ce qui génère un signal fluorescent. Les autres produits non appariés sont éjectés.

Serial Genetics souhaite commercialiser dix trousse de diagnostic moléculaire en Europe et aux Etats-Unis à l'horizon 2011. Pour l'heure, une trousse est commercialisée pour le diagnostic de la mucoviscidose. Un autre test va être mis sur le marché avant la fin 2008 pour le dosage d'une enzyme impliquée dans la métabolisation et donc l'efficacité de la warfarine (traitement des thromboses).

La technologie HairLoop permet l'analyse de tous les types de marqueurs ADN simultanément, y compris des variations de microsatellites. C'est une technologie souple, adaptable à tout programme clinique visant à valider des biomarqueurs en fonction des besoins des cliniciens. Le marqueur une fois validé, le test correspondant peut être converti en test compagnon d'un médicament à la norme CE-IVD, pour une commercialisation en Europe..

### **Pour en savoir plus**

- [www.serialgenetics.com](http://www.serialgenetics.com)
- Dossier Biopuces de Paris Développement  
<http://www.parisdeveloppement.com/la-technopole-parisienne/3-poles-innovants/pole-sante/actualites-du-pole-sante/dossiers-dactualites-sante/dossier-biopuces-2007/2eme-partie-dossier-biopuces-2007.html>

Notre sponsor



## Discussion

**Vous avez surtout mis en avant des freins réglementaires au développement des tests théranostiques. Mais leur validation scientifique n'est-elle pas aussi un obstacle ? Ne vend-on pas du rêve avec la théranostique ?**

### Vanessa HANIFA

Bien sûr il est toujours difficile de trouver le bon marqueur. Mais quand on interroge les industriels sur ce qui leur permettrait de systématiser ce type de développement, le remboursement des tests et la clarté des processus d'autorisation représentent 60 % des réponses. Par ailleurs, les tests déjà commercialisés ne sont pas remis en cause scientifiquement ; ce n'est pas du rêve mais bien une réalité médicale.

### Laurent BECQUEMONT

Professeur de Pharmacologie clinique, Faculté de médecine Paris Sud, Université Paris Sud, Service de Génétique moléculaire et pharmacogénétique, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre

Il existe un autre frein majeur à l'utilisation des tests théranostiques : convaincre nos collègues médecins. En pharmacogénétique, une dizaine de tests bien prédictifs ont été introduits dans les mentions légales par la FDA. Or ils sont très peu utilisés par les cliniciens en France. Par exemple, un médicament utilisé dans le traitement du sida, l'abacavir (Ziagen), provoque des effets indésirables de type allergique chez 10 % des patients. Un allèle HLA (HLA-B\*5701) est très prédictif de ces effets. Un premier grand essai clinique prospectif, contrôlé et randomisé de pharmacogénétique, PREDICT-1, a montré en 2007 que le test fondé sur la détection de ce motif HLA est parfaitement prédictif du risque allergique. Malgré cela, très peu de collègues utilisent ce test. Il n'est certes pas remboursé. A l'inverse, les tests pharmacogénétiques sont très utilisés aux Etats-Unis et dans d'autres pays européens, au Royaume-Uni notamment.

### Un participant

A-t-on étudié économiquement les délais et les coûts de développement de médicaments associés à des tests compagnons et les économies réalisées ?

### Vanessa HANIFA

Je ne connais pas de témoignage direct en ce sens. La majorité des tests théranostiques ont été développés a posteriori après la commercialisation du médicament correspondant. En revanche, à l'avenir, on devrait avoir une idée plus claire des économies réalisées en utilisant mieux les médicaments.

### Laurent BECQUEMONT

Sur ce point, il faut être clair : on ne fera jamais d'économie de santé avec les biomarqueurs. On peut tout au plus limiter l'explosion des coûts des médicaments, en rationalisant leur utilisation. Les tests théranostiques permettront peut-être une économie pour les industriels mais pas pour la santé publique.

### Christophe VALAT

Les tests compagnons peuvent générer des économies sur le temps de développement d'un médicament dans les domaines où le diagnostic reste en retrait de l'état de l'art, notamment en microbiologie. Pour le développement des antibactériens, les gains ont été estimés à un tiers du temps de développement d'une molécule jusqu'à la phase II.

### Un participant

Pour le test AmpliChip d'analyse du profil des cytochromes et du métabolisme, connaît-on tous les polymorphismes génétiques du cytochrome P450 ?

Notre sponsor



## Christophe VALAT

Oui, mais le test AmpliChip (Roche Diagnostics) ne permet pas d'analyser tous les polymorphismes, ce qui n'aurait pas d'intérêt d'ailleurs.

## Laurent BECQUEMONT

En fait, le test AmpliChip analyse deux gènes du système des cytochromes P450, CYP2D6 et CYP2C19, alors que sept ou huit gènes de ce système sont impliqués dans le métabolisme humain. La puce est de bonne qualité et permet de détecter de très nombreux polymorphismes sur ces deux gènes. On sait donc faire de très bons tests mais la vraie question est de savoir à quoi ils servent. Or pour AmpliChip, on manque de données convaincantes relatives aux gènes CYP2D6 et CYP2C19 capables d'aider à prédire les réponses à des médicaments mal tolérés.

## Un participant

Un autre frein au développement de la théranostique est le manque de standardisation des plates-formes d'analyse. Il n'existe pas beaucoup de biomarqueurs qui ont été validés sur des plates-formes qui satisfont aux critères du diagnostic *in vitro* et de l'enregistrement. Par ailleurs, on constate qu'il y a une grande réticence des industriels du diagnostic et des industriels de la pharmacie à travailler ensemble pour innover en tenant compte des contraintes économiques de chacun.

## Laurent BECQUEMONT

L'un des arguments qui peuvent convaincre les firmes pharmaceutiques à inclure des tests diagnostiques au plus tôt dans le développement des médicaments est le fait que les tests leur permettraient de viser les bons répondeurs et donc d'assurer une exploitation commerciale réelle. On a vu des molécules bien actives mais provoquant des effets secondaires être finalement peu remboursées. Par exemple, l'antagoniste des récepteurs cannabinoïdes de Sanofi, le rimonabant (Acomplia), avait démontré son efficacité contre l'obésité durant les phases cliniques. Mais loin d'être le blockbuster annoncé, ses effets secondaires font qu'il n'est remboursé en France que pour une petite frange de malades obèses, ceux qui souffrent de diabète de type 2 et dont le diabète est mal contrôlé par les antidiabétiques oraux. Si des tests théranostiques avaient identifié les patients qui pouvaient en bénéficier le plus, la réussite aurait pu être au rendez-vous.

## Paul COTTU

Il ne faut pas confondre la validation biologique d'un test et la validation clinique. Les différents tests associés au gène codant HER2 ont permis, par le seul biais d'essais randomisés prospectifs, de valider le concept et la thérapie proposée, c'est-à-dire l'Herceptine. Pour le clinicien, ce traitement est aujourd'hui un plus très important. Le contre-exemple, c'est le test *Oncotype DX* déjà cité. Ce test, qui analyse l'expression d'un groupe de 21 gènes pour mesurer le risque de récurrence du cancer du sein, a été validé biologiquement par une technologie discutable, mais n'a jamais été validé en clinique au cours d'un essai prospectif. Le seul seul essai prospectif en cours a été conçu de manière à ne pas répondre à la question cruciale de son efficacité prédictive comparée aux marqueurs classiques : HER2, le récepteur des œstrogènes (RE) et les marqueurs de prolifération. En Europe, beaucoup de cliniciens demeurent donc sceptiques quant à la validité clinique de ce test. Quant aux assurances privées qui remboursent l'*Oncotype* malgré son coût, il ne faut pas se leurrer : elles voient là la possibilité de moins rembourser la chimiothérapie.

## Un participant

Je rejoins Paul Cottu. Si l'on veut que les autorités de santé remboursent les tests il faut s'assurer de leur validité clinique. Le CDC d'Atlanta a mis en place une procédure qui valide l'utilité clinique des tests génétiques. Ce processus long et coûteux aboutit à des données claires. En Europe, on serait bien inspiré d'avoir ce type de modalités, gérées par un organisme indépendant, si l'on veut que les tests par biomarqueurs soient pris au sérieux.

Notre sponsor



## Les marqueurs de la protéomique

### Mariana GUERGOVA-KURAS

Directeur de la bioinformatique, BioSystems International, Evry  
mariana.kuras@biosys-intl.com

L'une des sources les plus intéressantes de biomarqueurs est le plasma. Entre autres avantages, il est très représentatif du protéome humain tout en étant représentatif des variations individuelles entre les patients. Il contient des produits d'importation et d'exportation de toutes les cellules de l'organisme.

#### L'analyse du protéome plasmatique

Le plasma contient toutefois une large gamme de concentrations protéiques allant du picogramme par millilitre au milligramme par millilitre, même si dix à vingt protéines représentent plus de 99 % de la masse protéique totale du plasma. Les protéines les plus intéressantes en tant que biomarqueurs se trouvent dans les gammes du pg/ml ou du ng/ml.

La méthode d'analyse protéomique par excellence est la spectrométrie de masse. Elle permet d'analyser et d'identifier un large nombre d'analytes mais avec une précision très relative ; ce n'est donc pas une méthode quantitative, et elle produit des faux-positifs. Le passage vers la pratique clinique de biomarqueurs protéiques découverts dans le plasma exige de les sélectionner progressivement à l'aide de techniques de spectrométrie en tandem en mode MRM (*Multiple Reaction Monitoring*), qui permettent une bonne quantification des marqueurs, puis par des techniques immunochimiques. On doit en effet établir des anticorps monoclonaux contre les biomarqueurs confirmés précédemment afin de tester leur présence dans un grand nombre d'échantillons plasmatiques.

#### La technologie de BSI

BioSystems International a mis au point une technique, la *mAb proteomics*, qui permet de générer une dizaine de milliers d'anticorps monoclonaux uniques spécifiques d'antigènes protéiques, et ainsi de réaliser une étude globale des protéines du plasma. Celui-ci passe d'abord par des étapes d'immunopurification afin de diminuer la complexité du contenu protéique et d'augmenter l'abondance relative des antigènes ayant une faible concentration. La génération des anticorps monoclonaux par des hybridomes de souris est suivie de plusieurs étapes de criblage à haut débit qui permettent d'identifier une petite cohorte d'anticorps capables de différencier le plasma de patients du plasma des contrôles par la quantité des antigènes présents. On peut alors copurifier les antigènes originaux à partir des anticorps sélectionnés afin d'identifier les biomarqueurs.

Cette approche est donc une protéomique inverse : on part d'anticorps monoclonaux pour arriver à l'identité des biomarqueurs.

#### Application au traitement du cancer du poumon

Le cancer du poumon est le cancer humain ayant le plus fort taux de mortalité. Il est en effet généralement détecté très tardivement à l'occasion d'une radiographie. Or la survie et le traitement de ce cancer dépendent étroitement du type histologique du cancer. Dans 80 % des cas, il s'agit d'un cancer non à petites cellules, notamment l'adénocarcinome (30-50 % des cas), qui peut être opérable chirurgicalement s'il est pris dans ses premiers stades. Dans 20 % des cas, il s'agit d'un cancer plus agressif, le cancer à petites cellules, traitable dans la vaste majorité des cas uniquement par chimiothérapie et radiothérapie, mais généralement fatal rapidement.

En collaboration avec le Barnett Institute (Northeastern University, Boston), nous avons donc cherché à valider notre approche par anticorps monoclonaux en étudiant si elle permettait de détecter des biomarqueurs plasmatiques spécifiques du cancer du poumon. La cohorte étudiée comprenait vingt patients atteints de cancer non à petites cellules sans métastase. Les résultats montrent que plusieurs anticorps permettent bien de classer les sous-types histologiques du cancer du poumon non à petites cellules. Ces anticorps devraient permettre de développer des tests qui pourront être utilisés soit pour compléter la panoplie actuelle des outils de diagnostic du cancer du poumon, et ainsi permettre de mieux orienter le traitement des patients, soit dans des programmes de dépistage précoce de cette pathologie.

Pour en savoir plus <http://www.biosys-intl.com/>

Notre sponsor



## Les biomarqueurs prédictifs dans les cancers du sein et de l'ovaire

**Paul COTTU**

*Hôpital de jour, Oncologie médicale, Institut Curie, Paris*

Pour un clinicien, les applications possibles des biomarqueurs sont multiples : diagnostic initial ou tardif, détection de la rechute, suivi de la maladie avancée, évaluation pronostique, prédiction d'efficacité d'un médicament, mais aussi indications plus « cognitives » comme l'établissement d'une nouvelle nomenclature des cancers.

Concernant le potentiel prédictif des biomarqueurs face à un médicament, le clinicien se pose trois questions : est-ce grave ou pas ? Quelle drogue utiliser, comment, à quelle dose, à quel rythme ? Comment éviter les effets secondaires ?

### Les signatures moléculaires

Les premières « signatures moléculaires » - l'association d'un panel de gènes surexprimés ou sous-exprimés - permettant de « profiler » différents sous-types de tumeurs du sein ont été publiées en 2000 par l'équipe de Charles Perou (Université de Caroline du Nord, Chapel Hill) (1). La découverte depuis lors de nombreuses signatures moléculaires conduit à une nouvelle classification nosologique des cancers du sein, mais son application en routine n'est pas faisable puisque le diagnostic moléculaire n'est pas possible partout.

Schématiquement, certaines signatures globales liées à la surexpression des récepteurs aux œstrogènes (RE) permettent de détecter des carcinomes de type basal, que l'on sait associés à des pronostics défavorables. En revanche, un grand nombre de signatures ne sont pas encore validées : celle dite de Rotterdam (76 gènes), celle d'Amsterdam (70 gènes), étudiée par l'essai prospectif MINDACT (*Microarray In Node-negative Disease may Avoid ChemoTherapy*), et la signature génomique NSABP (16 gènes), analysée par l'essai TAILORx (*Trial Assigning Individualized Options for Treatment Rx*).

### Le modèle HER2

La première description de l'association de la surexpression du gène qui code la protéine HER2 avec un pronostic défavorable d'évolution du cancer du sein date de 1987. La protéine HER2 est le récepteur membranaire d'un facteur de croissance qui amplifie les signaux de croissance cellulaire. Cette découverte a conduit très rapidement au concept thérapeutique de l'inhibition d'HER2 par un anticorps monoclonal recombinant, le trastuzumab (Herceptine). Cet anticorps spécifique est synergique des chimiothérapies cytotoxiques (taxanes, vinorelbine, capecitabine)

Par comparaison, le gène *p53*, dont la mutation est associée au risque de cancer depuis 1979, n'est toujours pas un biomarqueur prédictif fiable.

Les mécanismes d'action de l'Herceptine n'ont pas encore été complètement élucidés. Mais on a découvert que l'anticorps est un médiateur de la cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante (ADCC), impliquant des interactions avec les cellules immunocompétentes, notamment les cellules NK, et avec leurs récepteurs, parmi lesquels existent des variants. Il est ainsi possible que des polymorphismes génétiques correspondant à des variations de ces récepteurs soient en jeu dans l'efficacité plus ou moins grande de l'anticorps ou dans la résistance des tumeurs observée dans 30 % des cas.

Fait intéressant, le gène codant HER2 est voisin, sur le chromosome 17, du gène de la topoisomérase II, cible des anthracyclines. Or, selon le niveau d'expression du récepteur HER2, les anthracyclines sont bénéfiques ou pas. La co-amplification des deux gènes est responsable de cancers plus agressifs, qui pourraient être traités avantageusement par du trastuzumab et /ou des anthracyclines.

Pour le traitement par le tamoxifène, on ne dispose pas de donnée prospective pour le moment. Il est probable qu'en fonction de la capacité à métaboliser le tamoxifène, qui est une prodrogue, en produit actif, l'effet thérapeutique sera plus ou moins important. Des marqueurs de type cytochrome sont à valider prospectivement.

Notre sponsor



En revanche, on dispose de plusieurs éléments de prédiction de l'efficacité du traitement par les taxanes (paclitaxel, etc.) : des prédicteurs pharmacogénétiques (CYP3A4, ABC) et des prédicteurs pharmacogénomiques (tubuline, MAP-tau).

### **Le cancer de l'ovaire**

Le traitement de ce cancer a peu progressé durant les dernières années et ne bénéficie que de très peu de biomarqueurs pertinents. On sait seulement que le statut BRCA 1 (*breast cancer 1*) a une valeur pronostique et que des mutations secondaires rendent les tumeurs résistantes au cisplatine. Malgré ce manque d'informations, la découverte et la validation des biomarqueurs prédictifs devront être soumises aux mêmes règles de rigueur que dans d'autres domaines médicaux.

(1) C.M. Perou *et al.* (2000) Molecular Portraits of Human Breast Tumors, *Nature*, 406, 747-52.

## **Discussion**

### **Laurent BECQUEMONT**

Ces deux exposés illustrent bien les deux facettes du problème : d'un côté la validation biologique et clinique des tests, de l'autre l'utilisation en pratique médicale. Ils montrent aussi que la cancérologie n'est pas un domaine où il est facile de développer des tests de biomarqueurs utilisables.

### **Paul COTTU**

On peut aller assez vite pour valider des biomarqueurs en cancérologie si l'on pose bien le problème au départ. Par exemple, pour l'Iressa (Gefitinib), un inhibiteur de tyrosine kinases liées au récepteur du facteur de croissance épidermique (EGF) utilisé dans le traitement du cancer du poumon, l'approche théranostique aurait pu être mise en œuvre. Les récepteurs EGF sont un monde mouvant où l'on commence à connaître des mutations et associations prédictives.

### **Mariana GUERGOVA-KURAS**

Pour la mise au point de biomarqueurs, la cancérologie est un domaine sans doute moins difficile que celui des maladies chroniques pour lesquelles les études d'efficacité des biomarqueurs prennent des années.

## **Quelle est l'amélioration de la survie liée au couple HER2 - Herceptine ?**

### **Paul COTTU**

En phase précoce le bénéfice net de survie relative sans récurrence est de l'ordre de 7 à 8 % (85 % vs 77 %), un bénéfice jamais observé en dehors du traitement par le tamoxifène. En revanche, deux faits sont inquiétants : la courbe de survie décroît sans atteindre de plateau, ce qui veut dire que certaines patientes sous Herceptine vont quand même rechuter. De plus, le niveau de bénéfice à deux ans est moindre, comme si le bénéfice initial s'estompait au fil du temps. Il est donc urgent de trouver des réponses face aux résistances primaires à l'Herceptine et des relais thérapeutiques.

### **Laurent BECQUEMONT**

Mariana Guergova-Kuras, quel est en fait l'objectif de votre test par anticorps monoclonaux pour le cancer du poumon : est-ce le diagnostic du type de cancer du poumon ou bien s'agit-il d'établir un diagnostic très précoce ?

### **Mariana GUERGOVA-KURAS**

L'étude a commencé en tant que preuve de concept de la technologie, afin de vérifier si l'on pouvait détecter certains marqueurs du cancer du poumon. Puis on s'est aperçu que le test pouvait distinguer les types histologiques. Ce test pourrait être utilisé également dans un dépistage précoce.

## **Les méthodes protéomiques seraient-elles utilisables pour le cancer de l'ovaire ?**

### **Paul COTTU**

Notre sponsor



Beaucoup de travaux ont été publiés voilà quelques années en protéomique sur ce cancer mais aucun marqueur protéique n'a été validé, à ma connaissance.

### Laurent BECQUEMONT

La question éthique est centrale dans le développement des tests par biomarqueurs. Le cas de la société Metagenex, dont la technologie de détection de cellules cancéreuses dans le sang a fait l'objet d'un conflit entre ses fondateurs et sa direction en 2007 souligne qu'il est nécessaire de réfléchir en amont de manière approfondie aux usages possibles d'un test avant de le commercialiser. A quoi servirait une technique qui informerait des patients qu'ils ont des cellules cancéreuses dans le sang alors que cela ne signifie pas qu'ils puissent être atteints d'un cancer ?

Des réseaux de pharmacogénétique qui se sont formés sous l'impulsion de l'Inserm essaient de réfléchir à ces questions (voir [www.pharmacogenetics.fr/](http://www.pharmacogenetics.fr/)). La technologie va très vite et il est primordial d'anticiper ses conséquences éventuelles.

### Paul COTTU

Le travail des cliniciens est sous-tendu par ces considérations éthiques, à commencer par la volonté de valider rigoureusement les tests afin d'offrir un vrai bénéfice thérapeutique aux patients.

\*\*\*\*\*

---

## Prochaine Transversale Santé :

### La recherche et développement en robotique médicale

Le 10 juin 2008 à 18h30

Sup'Biotech 14-16 rue Voltaire 94270 Le Kremlin-Bicêtre, Métro Porte d'Italie, Paris

[\[Inscription\]](#)

<http://www.parisdeveloppement.com/la-technopole-parisienne/3-poles-innovants/pole-sante/les-transversales-sante/inscription.html>

---

Notre sponsor

