

**Voies moléculaires dans le cancer du rein : de la biologie
aux traitements de demain. [Signalling pathways in
renal-cell carcinoma: from the molecular biology to the
future therapy]**

Julien Edeline, Cécile Vigneau, Jean-Jacques Patard, Nathalie Rioux-Leclercq

► **To cite this version:**

Julien Edeline, Cécile Vigneau, Jean-Jacques Patard, Nathalie Rioux-Leclercq. Voies moléculaires dans le cancer du rein : de la biologie aux traitements de demain. [Signalling pathways in renal-cell carcinoma: from the molecular biology to the future therapy]. Bulletin du Cancer, John Libbey Eurotext, 2010, 97, pp.5-15. <10.1684/bdc.2010.1066>. <inserm-00480057>

HAL Id: inserm-00480057

<http://www.hal.inserm.fr/inserm-00480057>

Submitted on 29 Apr 2011

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.

Voies moléculaires dans le cancer du rein : de la biologie aux traitements de demain

Signalling pathways in renal cell carcinoma: from the molecular biology to the futur therapy

Julien Edeline ⁽¹⁾, Cécile Vigneau ⁽²⁾, Jean-Jacques Patard ⁽²⁾, Nathalie Rioux-Leclercq ^(1,2)

(1) Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, Pôle Cellules et Tissus, CHU Pontchaillou, 35033 Rennes Cedex 9, France

(2) CNRS/UMR 6061, IFR 140, Faculté de Médecine, Université de Rennes 1, 35043 Rennes Cedex, France

Correspondance : Nathalie Rioux-Leclercq, Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques, Pôle Cellules et Tissus, CHU Pontchaillou, 2 rue Henri le Guilloux, 35 033 Rennes Cedex.

Tél : 02 99 28 42 79

Fax : 02 99 28 42 84

E-mail : nathalie.rioux@chu-rennes.fr

Mots clés : Carcinome rénal, thérapies ciblées, voies moléculaires

Key words: Renal cell carcinoma, antiangiogenic therapies, signalling pathways

Résumé :

Le carcinome à cellules rénales, et notamment sa forme la plus fréquente, le carcinome à cellules claires, a vu son traitement médical récemment bouleversé par l'arrivée des thérapies ciblées. Le développement de ces molécules ciblées a été rendu possible par la meilleure connaissance des mécanismes moléculaires impliqués dans la carcinogénèse de ces tumeurs. Nous présentons dans cet article les voies moléculaires ayant permis l'émergence des thérapies ciblées dans le carcinome rénal à cellules claires : les voies VHL/HIF/VEGF et PI3K/AKT/mTOR. Nous présentons également succinctement la voie de l'EGFR, ainsi que les mécanismes moléculaires impliqués dans la carcinogénèse des autres types histologiques. Les mécanismes d'action des thérapies ciblées seront ensuite développés, ainsi que l'apport potentiel futur de la biologie dans la meilleure utilisation de ces traitements, notamment par la définition de facteurs pronostiques et prédictifs de réponse.

Summary:

The medical treatment of renal-cell carcinoma, and of its most frequent subtype, clear cell renal cell carcinoma, has recently been drastically changed by the emergence of targeted therapies. The development of these drugs has been made possible by more precise knowledge of molecular mechanisms involved in the carcinogenesis of these tumors. We present in this article the molecular pathways linked to targeted therapies for clear cell renal cell carcinoma: VHL/HIF/VEGF and PI3K/AKT/mTOR pathways. We also describe succinctly the EGFR pathways, and the molecular mechanisms involved in other histological subtypes. Then, we briefly describe how these targeted therapies work. We finally discuss how biology could improve the use of these therapies, by developing new prognostic factors, and predictive factors of response to treatment.

I - Introduction

Le cancer du rein, longtemps parent pauvre en matière de thérapeutiques anticancéreuses, a connu un bouleversement récent avec l'arrivée des thérapies ciblées. Ce développement découle de la meilleure connaissance des voies moléculaires impliquées dans la carcinogénèse du cancer du rein, et notamment des voies de la néoangiogénèse tumorale. Le cancer du rein devient ainsi un modèle d'innovation thérapeutique en cancérologie.

Il existe plusieurs types histologiques de cancer du rein, regroupés sous le terme de carcinome à cellules rénales (CCR) [1] :

- le carcinome à cellules claires du rein (CCCR) ou carcinome à cellules rénales de type conventionnel, représente 75% des tumeurs malignes rénales de l'adulte. Il est issu des cellules du tube contourné proximal. Son aspect histologique est celui d'une prolifération de cellules claires à cytoplasme optiquement vides s'associant à une néoangiogénèse marquée.
- le CCR de type tubulo-papillaire représente 15% des tumeurs rénales de l'adulte. Il est originaire des cellules du tube contourné distal. Histologiquement il existe 2 sous-types d'aspect histologique et de pronostic différents. Le sous-type 1 de bon pronostic, est d'architecture papillaire prédominante, avec présence dans les axes des papilles d'amas d'histiocytes spumeux ou de calcifications. Les cellules sont petites et cubiques à cytoplasme basophiles avec un noyau peu nucléolé et peu atypique. Dans le sous-type 2, l'architecture est plus compacte avec des cellules plus cylindriques à cytoplasme éosinophile avec stratification nucléaire. Les noyaux sont plus atypiques et nucléolés et il n'existe que très rarement des cellules spumeuses et des calcifications. Son pronostic est plus péjoratif que le sous-type 1.
- le CCR de type chromophile qui se développe à partir des cellules intercalaires de type B, survient chez des patients plus jeunes et représente 5% des tumeurs rénales de l'adulte. Histologiquement la tumeur présente des cellules claires non optiquement vides, avec des membranes cytoplasmiques très nettes. Le noyau est d'aspect fripé entouré d'un halo clair

[1].

Une autre tumeur rénale fréquente est l'oncocytome, tumeur bénigne développée à partir des cellules intercalaires A (5% des tumeurs rénales).

Les circonstances du diagnostic de ces différents CCR sont très proches et seule l'analyse histologique permettra de les distinguer et de déterminer le sous type histologique. Le pathologiste devra également définir les facteurs pronostiques histologiques reconnus comme facteurs pronostiques indépendants pour la survie : le stade TNM, le grade nucléaire de Fuhrman et la présence d'une composante sarcomatoïde, qui peut être observée dans chacun des 3 sous-types histologiques de CCR [2].

II - Biologie du cancer du rein.

Dans chaque type histologique de CCR, des voies moléculaires sont impliquées dans les étapes de la carcinogenèse et sont prises en compte dans les choix thérapeutiques.

2.1 - La voie VHL-HIF-VEGF dans le CCCR (Figure 1)

Cette voie moléculaire présente une importance majeure dans le CCCR. Quand elle est activée, elle permet le développement d'une néoangiogénèse tumorale par surexpression de facteurs proangiogéniques par les cellules tumorales, qui activeront à leur tour les cellules endothéliales entraînant la formation de néovaisseaux tumoraux.

La découverte et le clonage du gène suppresseur de tumeur *VHL* sont issus de l'étude de la maladie héréditaire de Von Hippel-Lindau. Les patients atteints de la maladie de VHL présentent un risque accru et à un âge jeune avant 40 ans, de nombreuses tumeurs : carcinome à cellules claires du rein (CCCR), hémangioblastome du système nerveux central, tumeurs endocrines du pancréas, phéochromocytomes, cystadénome de l'épididyme et/ou du ligament large. Chez ces patients, une mutation inactivatrice germinale du gène *VHL* a été retrouvée,

l'inactivation du deuxième allèle conduisant au développement d'une tumeur selon la théorie de Knudson de la carcinogénèse à « deux coups » (two hits carcinogenesis). Des études ont ensuite pu établir *VHL* comme gène suppresseur de tumeur [3]. L'inactivation de *VHL*, que ce soit par mutation de la séquence codante ou par altération du promoteur, est retrouvée dans environ 60% des CCCR sporadiques [4], faisant de l'étude de cette voie moléculaire un objet de recherche majeur pour la compréhension de la carcinogénèse de ces tumeurs.

Le produit du gène *VHL* est la protéine pVHL. Les fonctions de pVHL sont encore en voie d'exploration, mais la principale est la régulation du facteur HIF [5] : en effet, la plupart des gènes surexprimés en cas d'inactivation de *VHL* sont également sous la dépendance de HIF. Il existe deux formes importantes de HIF, HIF1 et HIF2, toutes deux régulées par pVHL ; ces deux formes sont constituées de deux sous-unités, α et β . La régulation de la sous-unité α de HIF par pVHL est médiée par un complexe multienzymatique protéique associant les protéines Culin2, Elongin B, Elongin C, NEDD8 et Rbx. Ce complexe, en présence d'oxygène qui est nécessaire à une hydroxylation préalable par la prolyl-hydroxylase (PHD), induit la poly-ubiquitinylation de HIF α , ayant pour conséquence la dégradation de ce facteur par le protéasome. En cas d'hypoxie ou d'inactivation de *VHL*, HIF α s'hétérodimérise dans le noyau avec la sous-unité β de HIF, agissant alors comme facteur de transcription. Les gènes activés par HIF sont nombreux, plus de 80, et leurs fonctions sont variées : angiogénèse (via VEGF-A et PDGF β), métabolisme du glucose au niveau de son transport (GLUT1) ou de la glycolyse (6-phosphofructose-2-kinase), contrôle du pH (anhydrases carboniques, dont CA IX), prolifération cellulaire (avec implication de PDGF β et TGF α), régulation de l'érythropoïèse (EPO). HIF1 et HIF2 vont présenter des profils différents d'expression de ces gènes : on considère que HIF2 aurait un potentiel plus oncogénique que HIF1. Ces facteurs conduisent en situation physiologique à faciliter la survie cellulaire en condition d'hypoxie, et en situation pathologique à stimuler la croissance tumorale et stopper l'entrée des cellules en

apoptose. Ces différents facteurs, notamment le VEGF, ne sont pas sous la dépendance exclusive de HIF, mais peuvent être régulés également par d'autres voies.

Le VEGF, facteur proangiogénique majeur, joue un rôle particulièrement important dans la carcinogénèse du CCCR, par son rôle primordial dans la néoangiogénèse [6]. Il existe plusieurs membres de la famille VEGF, (VEGF A, B, C, D et E) dont le principal est le VEGF-A ou VEGF. Le VEGF-A possède 9 isoformes générées par épissage alternatif, isoformes qui diffèrent par la présence ou non d'un domaine de liaison à l'héparine et aux héparanes sulfates. L'isoforme prédominante est l'isoforme VEGF 165, existant à la fois en forme soluble et liée à la matrice extracellulaire. Dans les CCCR, les isoformes retrouvées surexprimées sont les VEGF 165, 121 et 189. Les autres molécules importantes dans l'angiogénèse et la lymphangiogénèse tumorales sont les VEGF-C et VEGF-D, qui sont exprimés sous le contrôle d'autres voies ne répondant pas à l'hypoxie.

Les récepteurs au VEGF (VEGFR), qui sont des récepteurs transmembranaires à activité tyrosine kinase, sont également de plusieurs types : VEGFR1 (ou Flt-1), VEGFR2 (KDR/FLK-1) et VEGFR3 (Flt-4). Le VEGFR2 est exprimé principalement par les cellules endothéliales des vaisseaux sanguins, alors que le VEGFR3 est exprimé sur les cellules endothéliales aussi bien des vaisseaux sanguins que lymphatiques. Leur rôle va donc être différent, avec une action majeure dans la néoangiogénèse pour le VEGFR2, alors que le VEGFR3 interviendra surtout dans la lymphangiogénèse. Il existe par ailleurs une affinité différente des isoformes du VEGF pour les différents récepteurs : les VEGF-A 121 et 165 se lient sur les VEGFR1 et R2, tandis que les VEGF-C et D se lient sur les VEGFR2 et R3.

Parmi les autres gènes cibles de HIF :

- le PDGF joue également un rôle dans l'angiogénèse. En effet, les cellules périvasculaires (pericytes et cellules musculaires lisses) expriment les récepteurs au PDGF, et jouent un rôle primordial dans le soutien aux cellules endothéliales permettant

ainsi le maintien des néovaisseaux et vaisseaux matures [7].

- le TGF α est un facteur de croissance des tissus épithéliaux, qui joue un rôle autocrine de stimulation de la prolifération pour la cellule tumorale, comme décrit ultérieurement.
- CA IX joue un rôle de protection en situation de stress hypoxique, en contrôlant le pH intracellulaire. Cette fonction est primordiale au sein d'une tumeur, où les cellules tumorales en position centrale sont soumises à un niveau élevé d'hypoxie.
- de même, les gènes du métabolisme du glucose facilitent certainement la survie de la cellule tumorale en situation de stress.

Ainsi l'activation de la voie de signalisation VHL/HIF/VEGF par inactivation du gène VHL serait un événement précoce de la carcinogenèse dans le CCCR : la conséquence majeure en est l'hyper-expression de facteurs proangiogéniques. Les tumeurs en phase de croissance vont dépendre de cette néoangiogénèse à la fois pour leur propre développement mais également pour leur dissémination locorégionale et le développement de métastases. L'étude de la voie VHL a donc permis d'appréhender les mécanismes impliqués dans la néoangiogénèse tumorale, cette néoangiogénèse étant en partie responsable du caractère agressif et du potentiel métastatique de la tumeur et de ce fait, une cible thérapeutique majeure dans le CCCR.

2.2 - La voie PI3K/AkT/mTOR dans le CCCR (Figure 2)

Une autre voie moléculaire apparaît également incontournable dans la biologie du cancer du rein : la voie PI3K/AkT/mTOR [8]. Cette voie se situe en aval des récepteurs aux facteurs de croissance, récepteurs pour la plupart à activité tyrosine kinase, en parallèle avec la voie des MAPKinases, présentée brièvement ultérieurement (chapitre 2.3). Dans la voie PI3K/AkT/mTOR, le récepteur active la PI3K, qui active à son tour AkT en phosphorylant le phosphatidyl-inositol-di-phosphate (PIP2) en phosphatidyl-inositol-triphosphate (PIP3).

PTEN est une phosphatase jouant un rôle d'inhibiteur d'AkT, en contrant l'action de la PI3K par la transformation du PIP3 en PIP2. AkT agit alors en régulant de nombreux substrats, dont mTOR. Le mode d'action de mTOR se fait au niveau de la synthèse protéique [9]. mTOR agit en effet en stimulant la traduction des ARNm en protéines, principalement par l'intermédiaire des facteurs 4E-BPs et p70S6K, dont les substrats sont réciproquement eIF4E, facteur d'initiation de la traduction, et la protéine ribosomale p70S6. Son action consiste donc en une augmentation globale de la synthèse protéique. Cependant, les facteurs initiateurs de la traduction ont une affinité variable envers les différents ARNm, en fonction de leur structure. Cette affinité est généralement plus importante pour les ARNm qui doivent être fortement régulés, notamment ceux codant pour les protéines impliquées dans le contrôle du cycle cellulaire, de la prolifération ou de l'apoptose. L'activation de mTOR est principalement sous la dépendance de la voie PI3K/AkT, AkT inactivant des inhibiteurs de mTOR en les phosphorylant. Cependant, elle répond également à la stimulation par la voie des MAPKinases (Mitogene Activated Protein Kinases), mTOR pouvant être directement activée par ERK [9].

L'action de mTOR est observée à plusieurs niveaux de la carcinogénèse du CCCR :

- Interaction avec la voie VHL-HIF-VEGF. En effet, l'activation de mTOR va conduire à l'augmentation de la traduction des ARNm de HIF α . mTOR agit donc, par l'intermédiaire de HIF, sur la néoangiogénèse tumorale indépendamment de VHL.
- Action de mTOR dans la transduction du signal. En effet, cette molécule apparaît comme un acteur « central » des voies de signalisation intracellulaires, agissant très en aval de la chaîne de transduction, en favorisant fortement le métabolisme tumoral par augmentation de la synthèse protéique. Cette augmentation de synthèse protéique, peu spécifique, touche l'ensemble du métabolisme tumoral, et va se traduire par une surexpression des molécules impliquées dans la carcinogénèse, telles que les molécules

favorisant l'entrée en cycle, ou les molécules anti-apoptotiques.

Dans le cadre du cancer du rein, l'action de mTOR va se dérouler au niveau de deux types cellulaires : d'une part au niveau de la cellule tumorale elle-même, où mTOR va agir à différents niveaux du métabolisme tumoral (survie cellulaire, prolifération) en amplifiant l'expression de facteurs déterminés par d'autres processus oncogéniques (de la même manière qu'elle amplifie la voie VHL/HIF/VEGF) ; d'autre part, elle agit également au niveau de la cellule endothéliale, en aval de la signalisation par le VEGFR, favorisant donc son action proangiogénique. mTOR apparaît donc essentielle à la carcinogénèse du cancer du rein, en jouant sur la néoangiogénèse à la fois au niveau de la cellule tumorale et de la cellule endothéliale, et en agissant par activation non spécifique du métabolisme tumoral.

2.3 - Les voies de l'EGF et des MAPKinases dans le CCCR

Le récepteur à l'EGF (EGFR) apparaît fréquemment surexprimé dans le cancer du rein. Un de ses ligands est le TGF α , dont l'expression est notamment sous la dépendance de la voie VHL/HIF [10]. Les voies de signalisation sous la dépendance de l'EGFR sont connues pour leur rôle dans la carcinogénèse de nombreux cancers, conduisant à la stimulation de la prolifération et à l'inhibition de l'apoptose des cellules tumorales. Il y a donc un mécanisme d'entraînement, l'activation de la voie VHL/HIF permettant la surexpression de TGF α , qui stimule en retour la prolifération tumorale via l'EGFR.

Deux voies de signalisation principales existent en aval des récepteurs à activité tyrosine kinase tels que l'EGFR : la voie PI3K/AkT/mTOR, déjà présentée, et la voie des MAPKinases. Dans cette voie, plusieurs kinases (Ras, Raf, MEK, ERK) sont successivement activées (les unes activant les autres dans une « cascade » de signalisation) et sont finalement responsables de modification d'expression de gènes multiples. Il est souvent proposé, de manière un peu simplificatrice, que la voie des MAPKinases joue en rôle prépondérant dans la

prolifération, tandis que la voie PI3K/AkT/mTOR jouerait plus un rôle dans la survie et la croissance cellulaire. Il convient cependant de souligner l'interconnexion de ces différentes voies de signalisation, comme on l'a vu par exemple au niveau de mTOR.

2.4 - Biologie du CCR de type tubulo-papillaire

Le deuxième type histologique de cancer du rein en terme de fréquence est le cancer tubulo-papillaire. Deux sous-types sont décrits, le sous-type 1 étant associé à une moindre agressivité que le sous-type 2.

Les voies de signalisation du CCR tubulo-papillaire de sous-type 1 ont été décrites à partir de cas de carcinomes tubulo-papillaires héréditaires à transmission autosomique dominante, qui comportent des mutations germinales non-sens sur le domaine tyrosine kinase du protooncogène MET situé sur le chromosome 7 et qui lie l'HGF (Hépatocyte Growth Factor). Les mutations de MET n'apparaissent pas comme étant le mécanisme le plus fréquent dans les CCR tubulo-papillaires sporadiques, mais MET y apparaît par contre fréquemment surexprimé, notamment par des anomalies de nombre du chromosome 7 [11]. L'activation de MET conduit, par l'intermédiaire des voies des MAPKinases et PI3K/AkT à des signaux de survie cellulaire, de prolifération et de modifications du cytosquelette conduisant au phénotype de « branching morphogenesis ». Il est par ailleurs intéressant de noter que l'expression de MET est sous la dépendance de HIF [12].

D'autres maladies héréditaires associés à des CCR tubulo-papillaires de sous-type 2 souvent agressifs, comportent des mutations germinales portant sur le gène FH codant pour une enzyme du cycle de Krebs, la Fumarate Hydratase, transformant le fumarate en malate [13]. L'anomalie de ce gène entraîne une augmentation de la teneur en fumarate et en amont de succinate. Cette teneur excessive en succinate inhiberait l'action d'une enzyme, EGLN, qui joue un rôle dans la stabilisation de HIF. C'est probablement par ce mécanisme que la

mutation de FH jouerait un rôle dans la carcinogénèse des cancers tubulo-papillaires du rein.

2.5 - Maladie de Birt-Hogg-Dubé

La maladie de Birt-Hogg-Dubé est une maladie héréditaire à transmission autosomique dominante associant une atteinte cutanée (fibrofolliculomes et trichodiscomes) et pulmonaire (kystes pulmonaires responsables de pneumothorax) dans 90% des cas et une tumeur rénale dans 15% à 30% des cas. Les tumeurs du rein sont en général bilatérales et multifocales, représentées par des tumeurs hybrides dans 50% des cas, des CCR chromophobes (34%), des CCCR (9%), des oncocytomes (5%) et plus rarement des CCR tubulo-papillaires (2%). Un gène a été identifié, le gène BHD, dont on ne connaît pas encore la fonction [14] et qui est situé sur le bras court du chromosome 7. Ce gène est en cours d'étude en particulier dans les formes sporadiques de CCR chromophobes.

III – Les nouveaux traitements dans le cancer du rein

Les connaissances récentes des voies de signalisation impliquées dans le cancer du rein ont permis de développer de nouveaux médicaments. En effet, la chimiothérapie n'a pas d'efficacité dans ces tumeurs, et l'immunothérapie n'entraîne de réponse objective que dans moins de 15% des cas. La description des voies moléculaires impliquées dans le cancer du rein a permis de désigner des cibles potentiellement intéressantes pour l'émergence de nouvelles thérapies dites ciblées (Figure 3).

3.1 – Thérapies ciblées anti-VEGF

La néoangiogénèse tumorale étant indispensable à la croissance et à l'extension tumorale, le VEGF a été une cible privilégiée pour le développement d'inhibiteurs.

La molécule anti-VEGF ayant abouti à une commercialisation est le bevacizumab. Il

s'agit d'un anticorps monoclonal humanisé anti-VEGF ciblant le facteur de croissance lui-même, et l'empêchant donc de se fixer à son récepteur sur les cellules endothéliales. La néoangiogénèse tumorale est ainsi inhibée. C'est la première thérapie ciblée ayant présenté des signes d'activité dans le cancer du rein. Son efficacité est maintenant bien établie, notamment en première ligne métastatique [15].

D'autres médicaments sont en cours de développement pour cibler le VEGF lui-même, le médicament le plus avancé est le VEGF-trap. Il s'agit d'une molécule reproduisant la fraction extracellulaire du VEGFR, le but étant d'établir une compétition avec le vrai récepteur pour détourner le VEGF de sa cible.

3.2 – Thérapies ciblées anti-VEGFR

L'autre cible pour inhiber la néoangiogénèse est le VEGFR. Le site d'action de la molécule est alors la cellule endothéliale. Le VEGFR étant un récepteur à activité tyrosine kinase, les molécules ciblées de type inhibiteurs de tyrosine kinase peuvent entrer en compétition avec l'ATP nécessaire pour la réaction de phosphorylation du VEGFR par fixation dans la poche à ATP de ces enzymes.

En ce qui concerne le VEGFR, des inhibiteurs spécifiques ont dans un premier temps été développés. Leur activité en préclinique a cependant été décevante, et cette voie de recherche n'a finalement pas aboutie. Les inhibiteurs du VEGFR arrivés en clinique sont donc finalement des molécules dites « multi-cibles », se fixant dans la poche à ATP de plusieurs molécules à activité tyrosine kinases différentes, dont le VEGFR.

Deux inhibiteurs de tyrosine kinase ont actuellement l'AMM dans le carcinome à cellules claires du rein localement avancé ou métastatique: le sunitinib [16] et le sorafenib [17]. Il est intéressant de noter que ces deux inhibiteurs ciblent également le PDGFR, qui joue un rôle dans la carcinogénèse du CCCR en favorisant le maintien des néovaisseaux. Ils ont de

plus des affinités différentes pour d'autres molécules à activité tyrosine kinase, ce qui leur donne chacun des spécificités, notamment, le sorafenib qui cible Raf, une des MAPKinases. Le sunitinib a montré une efficacité supérieure à l'immunothérapie en première ligne de traitement des CCCR métastatiques, tandis que le sorafenib a montré son efficacité en deuxième ligne de traitement. Ces deux traitements permettent d'augmenter la survie des patients atteints de CCCR métastatiques. Cette réponse en situation métastatique [16, 17] a conduit à la mise en place d'essais thérapeutiques en situation adjuvante [18].

3.3 – Thérapies ciblant mTOR

mTOR intervient très en aval dans la transduction du signal, à la fois au niveau de la cellule tumorale, en amont de HIF et en aval des récepteurs de facteurs de croissance, et au niveau de la cellule endothéliale. mTOR joue donc un rôle pro-angiogène et également un rôle de facilitation de la croissance de la cellule tumorale elle-même. Ce rôle pouvant être indépendant de la voie VHL/HIF, il peut s'observer dans les cancers à cellules claires mais également dans les autres types histologiques.

Plusieurs molécules ciblant mTOR ont été développées. Le premier a été la rapamycine, qui a donné son nom à mTOR (mammalian Target Of Rapamycin). D'autres inhibiteurs, plus maniables chez l'homme, ont été ensuite testés dont le premier à avoir été commercialisé est le temsirolimus [19]. Cette molécule a prouvé sa supériorité à l'immunothérapie dans les cancers du rein en première ligne métastatique. Cette efficacité concerne tous les sous-types histologiques, ce que n'ont pas encore formellement démontré les inhibiteurs du VEGFR. De plus, les patients inclus présentaient des tumeurs de plus mauvais pronostic que les patients inclus dans les essais avec inhibiteurs du VEGFR. Le ciblage de mTOR apparaît donc comme une approche particulièrement intéressante dans ces tumeurs. D'autres inhibiteurs de mTOR sont à l'essai, parmi eux l'everolimus qui devrait prochainement

obtenir son autorisation de mise sur le marché [20].

3.4 – Autres cibles ?

L'efficacité remarquable de ces premières thérapies ciblées, bouleversant les schémas thérapeutiques du cancer du rein, incite à poursuivre dans cette voie, et d'autres molécules pourraient émerger comme potentiellement intéressantes.

Le ciblage des facteurs de croissance épithéliaux, et au premier plan de l'EGF, a fait l'objet d'études dans le cancer du rein. Des essais de molécules ciblant l'EGF et l'EGFR ont été menés, que ce soit seules ou en association avec les traitements antiangiogènes. On citera le cetuximab, anticorps anti-EGFR, l'erlotinib et le gefitinib, inhibiteurs de tyrosine kinase spécifiques de l'EGFR. Le lapatinib, inhibiteur de tyrosine kinase ciblant à la fois l'EGFR et HER2 a également été testé. Pour l'instant, et malgré quelques résultats intéressants en phase II, les études comprenant de plus grandes cohortes de patients n'ont pas montré d'avantage pour ces molécules dans les différentes situations où elles ont été testées.

Une autre cible potentiellement intéressante dans le cancer du rein est HIF [21]. Son rôle central dans la carcinogénèse du CCCR, ainsi que son importance démontrée dans d'autres types tumoraux a conduit au développement d'inhibiteurs spécifiques. Plusieurs essais sont en cours actuellement. Il conviendra bien évidemment de leur trouver une juste place à côté des inhibiteurs de mTOR et des traitements antiangiogènes.

IV – Problématiques liées aux thérapies ciblées

4.1 - Positionnement respectif des différentes molécules

L'émergence concomitante de plusieurs thérapies ciblées soulève bien évidemment le problème de leur positionnement respectif dans l'arsenal thérapeutique. En effet, ces nouvelles molécules ont été testées dans des essais thérapeutiques de manière parallèle, dans des

situations cliniques et avec des critères d'inclusion légèrement différents, notamment en ce qui concerne les types histologiques. La place restant à l'immunothérapie devra également être précisée. Il est probable que la définition biologique de facteurs prédictifs de réponse ou de non-réponse aux différents traitements permettrait de mieux sélectionner, pour chaque patient, le traitement le plus à même de lui apporter un réel bénéfice.

4.2 - L'apparition de résistance

Ces différentes molécules ont prouvées leur intérêt comme « première ligne de thérapie ciblée ». Les cliniciens sont cependant confrontés à l'émergence de résistances d'emblée ou secondaires et sont d'ores et déjà amenés à prescrire des « deuxième lignes de thérapie ciblée », par exemple en prescrivant du sorafenib après apparition de résistance au sunitinib. Les données cliniques validant ces prescriptions sont encore faibles (sauf en ce qui concerne l'évérolimus en seconde ligne après traitement ciblant le VEGFR), et une preuve par étude comparative contre placebo a peu de chance d'être menée pour toutes les situations. C'est donc la meilleure connaissance possible de la biologie de ces résistances qui permettra de mettre aux points de nouveaux traitements pouvant contourner celles-ci [22].

4.3 - Associations de thérapies ciblées

Une autre question rapidement évoquée pour ces traitements est celle de leur association [23]. Il existe un rationnel théorique pour associer deux classes différentes, comme les inhibiteurs de tyrosine kinase multi-cibles et les inhibiteurs de mTOR, par exemple. En effet, leurs cibles étant suffisamment différentes mais pouvant avoir des interactions entre elles, on peut imaginer que ces associations produisent des effets synergiques. De plus, leurs profils de toxicité sont assez différents pour espérer ne pas produire trop d'intolérance en association. Il n'y a cependant que peu de modèles précliniques

proposant ces associations ; il conviendrait de les encourager.

4.4 - Critères biologiques pronostiques et prédictifs de réponse au traitement

L'implication des voies de signalisation dans la carcinogénèse -au cœur même du mécanisme d'action des thérapies ciblées- a permis d'étudier les différentes molécules activées (ou non) dans ces voies comme facteurs pronostiques, mais également en tant que facteurs prédictifs de réponse ou de non-réponse. Les molécules impliquées peuvent être analysées à différents niveaux : celui du gène (par séquençage, PCR), de la protéine dans la tumeur (par immunohistochimie) ou de la protéine dans les liquides biologiques (plasma, sérum, urine).

L'inactivation de *VHL* pourrait intervenir comme facteur de bon pronostic mais ces données diffèrent dans les études en fonction du stade localisé ou métastatique de la tumeur, du type d'altération du gène *VHL* (délétion, mutation avec perte de fonction ou non de la protéine) [24]. Par ailleurs, l'inactivation de *VHL* pourrait créer une dépendance particulière de la tumeur à cette voie : il apparaît donc intéressant d'étudier ce paramètre comme facteur de meilleure sensibilité aux traitements les inhibant. Une étude retrouve un tel lien en termes de réponse, mais pas en termes de survie, après analyse des mutations entraînant une perte de fonction [25]. D'autres molécules en aval de pVHL, notamment HIF [26] et CA IX [27], semblent intéressantes comme facteurs pronostiques : la surexpression de HIF, et la sous-expression de CA IX seraient de mauvais pronostic, même s'il existe des études contradictoires [28] ; le rôle de HIF en tant que facteurs prédictifs de réponse a été présenté dans une étude à l'ASCO 2008, avec une plus grande probabilité de réponse chez les patients présentant une forte expression de HIF [29]. L'étude de l'expression du VEGF apparaît quant à elle particulièrement intéressante à la fois comme facteur de mauvais pronostic en cas de surexpression [30] et comme possible facteur prédictif de réponse aux traitements antiangiogènes. On peut également s'intéresser à l'expression du VEGFR. La variation des

taux de VEGF et de ses récepteurs sous traitement pourrait aussi avoir un intérêt lors du suivi thérapeutique des patients traités. En ce qui concerne la voie PI3K/Akt/mTOR, une étude a montré que différentes molécules de cette voie (PTEN, Akt, mTOR et p70S6) présentaient une valeur pronostique intéressante [31]. Une autre étude affirme par ailleurs que l'expression de la protéine p70S6 activée pourrait être prédictive de réponse au temsirolimus [32]. Il pourrait également apparaître pertinent de s'intéresser au phénotype angiogénique lui-même (par exemple en caractérisant la densité vasculaire microscopique de la tumeur), plutôt qu'à des molécules particulières.

La définition de ces nouveaux facteurs pronostiques et prédictifs n'aura d'intérêt que si elle peut être standardisée, reproductible en routine et si elle apporte un gain en terme de changement de stratégie thérapeutique par rapport aux critères pronostiques standards (TNM, Fuhrman...). Les études publiées jusqu'à présent représentent encore trop peu de patients, et n'ont pas été validées par des études prospectives.

V – Conclusion

La meilleure connaissance de la biologie du cancer du rein a permis de définir les molécules essentielles à la carcinogénèse de cette tumeur et de développer dans ce carcinome de nouvelles thérapies ciblées en particulier à visée antiangiogénique. Le CCCR devient donc un modèle d'efficacité de la démarche ayant conduit au développement de ces thérapies ciblées : alors que les traitements médicaux se limitaient à l'immunothérapie, en quelques années sont apparues plusieurs molécules apportant un réel bénéfice clinique aux patients. Ces avancées se poursuivent, par l'extension possible d'indications en situation adjuvante et par l'apparition de nouvelles molécules. De plus, la biologie continuera à apporter des réponses à certaines questions restées en suspens, en identifiant de nouveaux facteurs pronostiques et en définissant des facteurs prédictifs de réponse à ces nouveaux traitements.

Figures

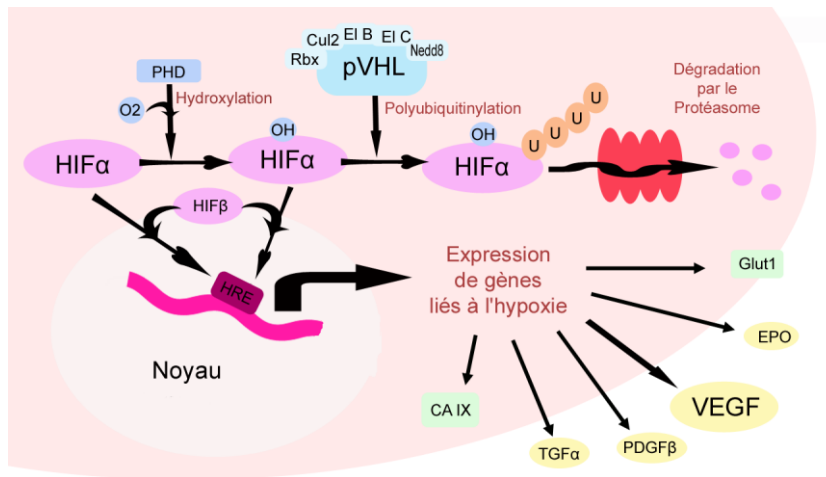


Figure 1 : Voie VHL/HIF/VEGF : En présence d'oxygène, la prolyl-hydroxylase (PHD) réalise l'hydroxylation de HIF. Une fois hydroxylé, HIF peut être polyubiquitinylé par le complexe poly-enzymatique formé autour de pVHL (qui comprend Rbx, Culin2 (Cul2), Elongin B (El B), Elongin C (El C) et Nedd8), et être ensuite dégradé par le protéasome. En cas d'hypoxie ou d'inactivation de VHL, HIF α va se lier à HIF β , se transloquer dans le noyau entraînant une surexpression de nombreux gènes liés à l'hypoxie en interagissant avec des domaines HRE (Hypoxia Responsive Elements) que contiennent les promoteurs de ces gènes. Ces gènes-cibles comprennent notamment le VEGF, le PDGF β , le TGF α , CA IX, l'EPO et Glut1.

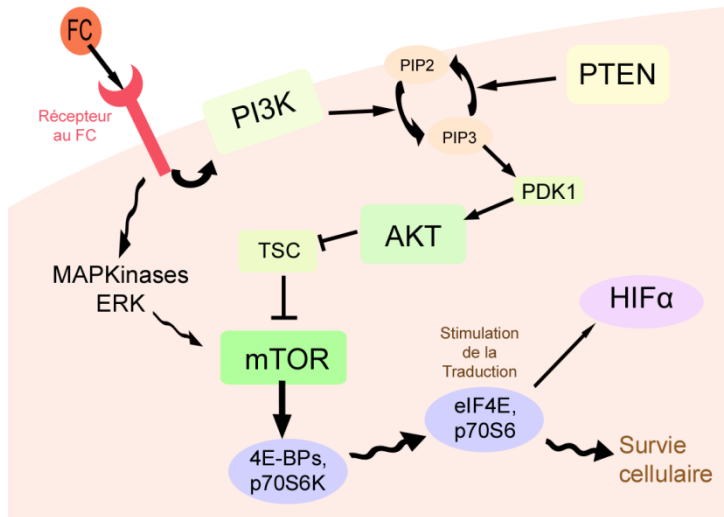


Figure 2 : Voie PI3K/Akt/mTOR dans le CCCR : Après fixation du facteur de croissance (FC) sur son récepteur, celui-ci active la PI3Kinase, qui phosphoryle le phosphatidyl-inositol-diphosphate (PIP2) en phosphatidyl-inositol-triphosphate (PIP3). PTEN est une phosphatase qui induit la transformation du PIP3 en PIP2. Le PIP3 va activer PDK1, qui activera à son tour Akt. Akt va inhiber TSC (Tuberous Sclerosis Complex), qui inhibe à son tour mTOR. Finalement, mTOR joue sur la régulation de facteurs qui contrôlent eux-mêmes des protéines-clés dans la traduction : d'une part, mTOR inhibe les protéines 4E-BP qui lient en l'inhibant le facteur initiateur de la traduction eIF4E, et d'autre part, mTOR active la p70S6K qui active la protéine ribosomale p70S6. Au total, il en résulte une stimulation peu spécifique de la traduction, qui conduit notamment à une augmentation de protéines liés à la survie cellulaire, et par ailleurs à une augmentation de l'expression de HIF α . De plus, mTOR peut également être activée par la voie des MAPKinases.

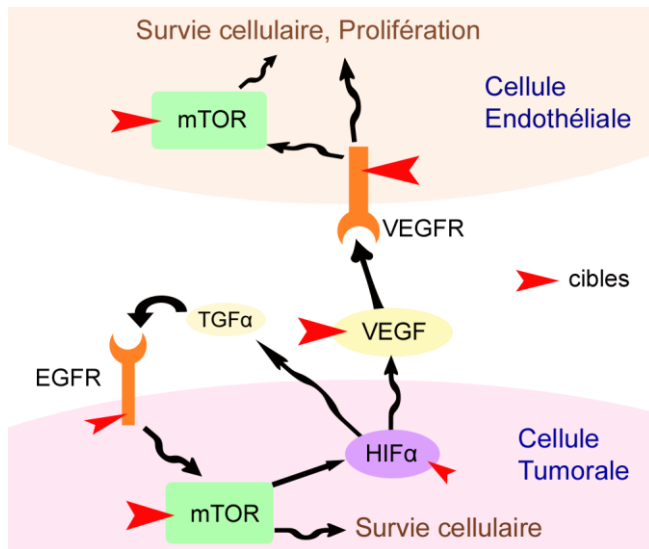


Figure 3 : Cibles thérapeutiques explorées dans le cancer du rein. Elles comprennent : dans la cellule tumorale, l'EGFR, mTOR et HIF ; en extracellulaire, le VEGF ; dans la cellule endothéliale, le VEGFR et mTOR. Les médicaments ayant obtenu l'AMM dans le cancer du rein ciblent mTOR (temsirolimus), le VEGF (bevacizumab) et son récepteur (sunitinib et sorafenib).

Références

1. Lopez-Beltran A, Scarpelli M, Montironi R and Kirkali Z. 2004 WHO classification of the renal tumors of the adults. *Eur Urol* 2006; 49: 798-805.
2. Kirkali Z, Algaba F, Scarpelli M, Trias I, Selvaggi FP and Van Poppel H. What does the urologist expect from the pathologist (and what can the pathologists give) in reporting on adult kidney tumour specimens? *Eur Urol* 2007; 51: 1194-201.
3. Iliopoulos O, Kibel A, Gray S and Kaelin WG, Jr. Tumour suppression by the human von Hippel-Lindau gene product. *Nat Med* 1995; 1: 822-6.
4. Foster K, Prowse A, van den Berg A, Fleming S, Hulsbeek MM, Crossey PA, *et al.* Somatic mutations of the von Hippel-Lindau disease tumour suppressor gene in non-familial clear cell renal carcinoma. *Hum Mol Genet* 1994; 3: 2169-73.
5. Kondo K and Kaelin WG, Jr. The von Hippel-Lindau tumor suppressor gene. *Exp Cell Res* 2001; 264: 117-25.
6. Ferrara N, Gerber HP and LeCouter J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-76.
7. Jain RK. Molecular regulation of vessel maturation. *Nat Med* 2003; 9: 685-93.
8. Vivanco I and Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 489-501.
9. Sabatini DM. mTOR and cancer: insights into a complex relationship. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 729-34.
10. Everitt JJ, Walker CL, Goldsworthy TW and Wolf DC. Altered expression of transforming growth factor- α : an early event in renal cell carcinoma development. *Mol Carcinog* 1997; 19: 213-9.
11. Schmidt L, Duh FM, Chen F, Kishida T, Glenn G, Choyke P, *et al.* Germline and somatic mutations in the tyrosine kinase domain of the MET proto-oncogene in papillary renal carcinomas. *Nat Genet* 1997; 16: 68-73.
12. Boccaccio C and Comoglio PM. Invasive growth: a MET-driven genetic programme for cancer and stem cells. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 637-45.
13. Tomlinson IP, Alam NA, Rowan AJ, Barclay E, Jaeger EE, Kelsell D, *et al.* Germline mutations in FH predispose to dominantly inherited uterine fibroids, skin leiomyomata and papillary renal cell cancer. *Nat Genet* 2002; 30: 406-10.
14. Khoo SK, Bradley M, Wong FK, Hedblad MA, Nordenskjold M and Teh BT. Birt-Hogg-Dube syndrome: mapping of a novel hereditary neoplasia gene to chromosome 17p12-q11.2. *Oncogene* 2001; 20: 5239-42.
15. Escudier B, Pluzanska A, Koralewski P, Ravaud A, Bracarda S, Szczylik C, *et al.* Bevacizumab plus interferon alfa-2a for treatment of metastatic renal cell carcinoma: a randomised, double-blind phase III trial. *Lancet* 2007; 370: 2103-11.
16. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, *et al.* Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 115-24.
17. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, *et al.* Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 125-34.
18. Rodriguez AR and Fishman MN. Growing opportunities for adjuvant therapy of renal cell carcinoma: targeted drugs and vaccines. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 2979-90.
19. Hudes G, Carducci M, Tomczak P, Dutcher J, Figlin R, Kapoor A, *et al.* Temsirolimus, interferon alfa, or both for advanced renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 2007; 356: 2271-81.
20. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, *et al.* Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet* 2008; 372: 449-56.

21. Olenyuk BZ, Zhang GJ, Klco JM, Nickols NG, Kaelin WG, Jr. and Dervan PB. Inhibition of vascular endothelial growth factor with a sequence-specific hypoxia response element antagonist. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 16768-73.
22. Bergers G and Hanahan D. Modes of resistance to anti-angiogenic therapy. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 592-603.
23. Sosman JA, Puzanov I and Atkins MB. Opportunities and obstacles to combination targeted therapy in renal cell cancer. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 764s-69s.
24. Parker AS, Chevillie JC, Lohse CM, Igel T, Leibovich BC and Blute ML. Loss of expression of von Hippel-Lindau tumor suppressor protein associated with improved survival in patients with early-stage clear cell renal cell carcinoma. *Urology* 2005; 65: 1090-5.
25. Choueiri TK, Vaziri SA, Jaeger E, Elson P, Wood L, Bhalla IP, *et al.* von Hippel-Lindau gene status and response to vascular endothelial growth factor targeted therapy for metastatic clear cell renal cell carcinoma. *J Urol* 2008; 180: 860-5; discussion 65-6.
26. Klatte T, Seligson DB, Riggs SB, Leppert JT, Berkman MK, Kleid MD, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 alpha in clear cell renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 7388-93.
27. Bui MH, Seligson D, Han KR, Pantuck AJ, Dorey FJ, Huang Y, *et al.* Carbonic anhydrase IX is an independent predictor of survival in advanced renal clear cell carcinoma: implications for prognosis and therapy. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 802-11.
28. Leibovich BC, Sheinin Y, Lohse CM, Thompson RH, Chevillie JC, Zavada J, *et al.* Carbonic anhydrase IX is not an independent predictor of outcome for patients with clear cell renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4757-64.
29. Patel P, Chadalavada R and Ishil N. HIF1 α and HIF2 α levels in cell lines and human tumor predicts response to sunitinib in renal cell carcinoma. *J Clin Oncol* 2008; 26s: 5008.
30. Rioux-Leclercq N, Fergelot P, Zerrouki S, Leray E, Jouan F, Bellaud P, *et al.* Plasma level and tissue expression of vascular endothelial growth factor in renal cell carcinoma: a prospective study of 50 cases. *Hum Pathol* 2007; 38: 1489-95.
31. Pantuck AJ, Seligson DB, Klatte T, Yu H, Leppert JT, Moore L, *et al.* Prognostic relevance of the mTOR pathway in renal cell carcinoma: implications for molecular patient selection for targeted therapy. *Cancer* 2007; 109: 2257-67.
32. Cho D, Signoretti S, Dabora S, Regan M, Seeley A, Mariotti M, *et al.* Potential histologic and molecular predictors of response to temsirolimus in patients with advanced renal cell carcinoma. *Clin Genitourin Cancer* 2007; 5: 379-85.