

## LE DOSSIER

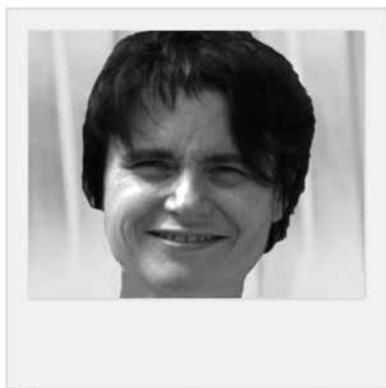
### Mélanome : actualités

# Les mécanismes d'échappement aux thérapies ciblées : le point aujourd'hui

**RÉSUMÉ :** Les thérapies ciblées dirigées contre la voie MAP kinase constituent une avancée thérapeutique dans le mélanome. Toutefois, des résistances parfois *de novo* ou très souvent acquises, après plusieurs mois de traitement, sont observées.

Les mécanismes de résistance entraînent dans 80 % des cas à une réactivation de la voie MAP kinase, soit par un rétrocontrôle négatif de régulateurs de cette voie, soit par la survenue d'altérations génétiques les plus fréquentes étant les mutations de NRAS et la production de variants d'épissage de BRAFV600E. La voie PI3K/AKT peut également être activée, en particulier en cas de mélanome BRAFV600E, ce qui suggère l'intérêt de la coadministration d'inhibiteurs de BRAF et de la voie PI3K/AKT.

Ainsi, une meilleure compréhension des mécanismes impliqués devrait permettre d'améliorer la prise en charge thérapeutique des patients.



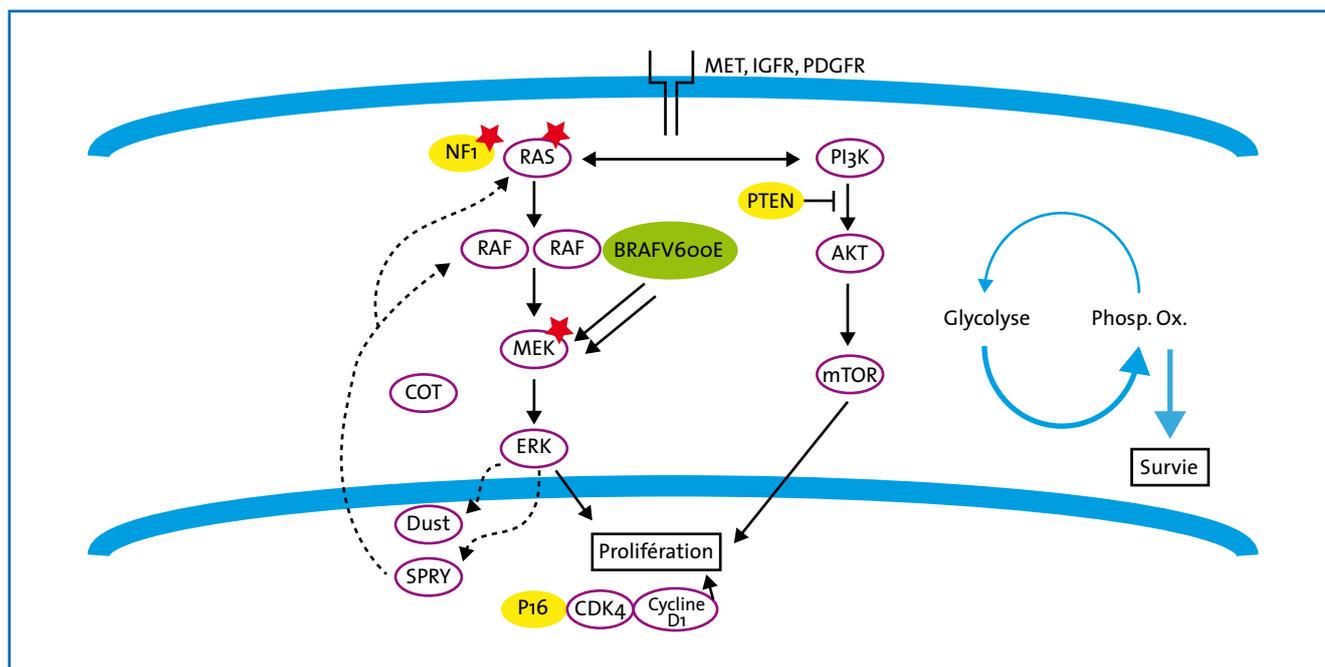
→ È. MAUBEC  
Hôpital Bichat – Claude-Bernard,  
PARIS.

Des mutations de BRAF sont identifiées dans environ 45 % des cas de mélanome. La plupart de ces mutations sont localisées au niveau du codon 600, et elles confèrent une sensibilité accrue aux inhibiteurs de BRAF et de MEK. BRAF est une protéine kinase sérine/thréonine appartenant à la famille RAF qui inclut ARAF, BRAF et CRAF. Les RAF kinases sont situées en aval des GTPases RAS et en amont de MEK et ERK. Habituellement, les GTPases RAS activent les protéines RAF qui transmettent leur signaux grâce à la formation d'homodimères RAF comme BRAF/BRAF et d'hétérodimères comme BRAF/ARAF. Dans les cellules tumorales, la kinase BRAFV600E active de façon constitutive la voie MAP kinase, ce qui aboutit à la prolifération et à la survie cellulaire.

L'administration d'inhibiteurs de BRAF (vemurafenib, dabrafenib,...)

conduit à une réponse rapide dans environ 50 % des cas et à un effondrement de l'activation de ERK. Les inhibiteurs de MEK ont également une activité antitumorale bien que les taux de réponse soient moindres. Des progressions d'emblée (sans réponse initiale) correspondant à des résistances intrinsèques sont observées. De plus, bien que l'administration des thérapies ciblant BRAF améliore la survie, la sélection de cellules non sensibles au traitement est à l'origine d'un échappement qui survient en général après 6 ou 7 mois de traitement.

Cette résistance est la conséquence de la réactivation de la voie MAP kinase par différents mécanismes, ou de la dérégulation de voies parallèles comme la voie PI3/AKT. La compréhension de ces mécanismes de résistance est importante afin de pouvoir proposer des alternatives thérapeutiques (**fig. 1**).



**FIG. 1 :** Mécanismes d'échappement aux thérapies ciblées dans le mélanome. RAS active à la fois la voie MAP kinase (RAS, RAF, MEK, ERK) et la voie PI3K/AKT. L'échappement peut être lié à la réactivation de la voie MAP kinase par la survenue d'une mutation de MEK, une mutation de RAS, une surexpression de COT, des variants d'épissage ou l'amplification de BRAF. NF1 inactivé entraîne l'activation de RAS, ce qui aboutit à la survie des cellules tumorales. La surexpression ou l'activation des récepteurs tyrosines kinases (PDGF, IGFR, MET) active ERK via RAS ou la voie PI3K/AKT.

### Rétrocontrôle négatif des régulateurs de la voie MAP kinase induit par les inhibiteurs de BRAF

La réduction de l'activation de ERK induite par les inhibiteurs de BRAF conduit à la réduction de l'activité de régulateurs négatifs comme les protéines Sprouty et Dust qui régulent négativement la voie de signalisation MAP kinase au niveau de RAS, RAF et ERK. L'augmentation de l'activation de RAS qui en résulte est à l'origine d'une dimérisation de BRAF à l'origine d'une transactivation de RAF, puis d'une activation de MEK puis ERK [1-2].

### Activation de la voie PI3K/AKT

La voie PI3K/AKT étant activée par RAS, elle peut constituer un mécanisme d'échappement aux inhibiteurs de BRAF. Dans un modèle murin de surexpression conditionnelle de BRAFV600E, les souris

exprimant BRAFV600E développent des lésions mélanocytaires bénignes lorsque PTEN n'est pas inactivé et des mélanomes d'emblée métastatiques en cas d'inactivation de PTEN [3]. Dans des modèles de cultures cellulaires humaines, les lignées résistantes aux inhibiteurs de BRAF ont des taux élevés d'AKT phosphorylé [4] pouvant être liés dans certains cas à une activation de récepteurs tyrosines kinase comme MET et IGFR [5-7].

La coadministration de produits ciblant la voie AKT/mTOR ou MET/IGFR peut restaurer la sensibilité de lignées résistantes aux inhibiteurs de BRAF/MEK [5, 7, 8]. Des interactions entre les cellules tumorales et leur microenvironnement peuvent aussi contribuer à la résistance par la production d'HGF qui active MET, conduisant à l'activation des voies MAP kinase et PI3K/AKT. Chez l'homme, une inactivation de PTEN, par mutation ou délétion, est observée dans 13 % des cas d'une série de 121 mélanomes et dans

presque la moitié (44 %) des mélanomes présentant une mutation de BRAF, alors qu'elle est rare en cas de mutation de NRAS [9]. La perte de PTEN est associée à un délai sans rechute moins bon dans l'étude de Nathanson [10]. Ces données suggèrent l'intérêt de développer des traitements qui ciblent la voie AKT/mTOR et les récepteurs tyrosines kinases activant la voie AKT/mTOR.

### Altérations génétiques qui réactivent la voie MAP kinase

Les deux altérations génétiques les plus fréquentes sont la survenue de mutations de NRAS et de variants d'épissage de BRAF, mais de nombreux autres mécanismes peuvent être également impliqués.

#### 1. Mutations de NRAS

La survenue d'une mutation de NRAS entraîne l'activation de la voie de signa-

## LE DOSSIER

# Mélanome : actualités

lisation MAP kinase avec une augmentation de la dimérisation de RAF et la transactivation des dimères de RAF, puis l'activation de ERK si le traitement par inhibiteur de BRAF est poursuivi [6]. Un traitement par MEK inhibiteurs ou l'administration d'un inhibiteur de HSP90 pourrait être intéressant dans le contexte.

### 2. Variant d'épissage de BRAFV600E

Ce variant d'épissage aboutit à une forme tronquée de la protéine BRAF dont l'interaction avec RAS est augmentée, conduisant à la formation de dimères entre la forme tronquée BRAF et la forme sauvage de RAF. L'inhibiteur de BRAF induit la transactivation et réactivation de la voie MAP kinase [1, 2].

### 3. Activation de récepteurs tyrosine kinase

L'activation de récepteurs tyrosine kinase comme MET, mais possiblement aussi IGFR et PDGFR, peut conduire à l'activation de la voie MAP kinase [5].

### 4. Augmentation de l'expression de COT

COT codé par le gène MAP3K8, agoniste de la voie MAP kinase, active ERK à travers un mécanisme dépendant de MEK et sa surexpression, est impliquée dans la résistance *de novo* ou acquise aux inhibiteurs de BRAF et de MEK [11].

### 5. Augmentation du nombre de copies de l'allèle BRAFV600E

Une augmentation du nombre de copies de BRAFV600E a été observée chez l'homme et dans des modèles animaux. Elle est impliquée dans la résistance aux inhibiteurs de BRAF et de MEK [1, 2].

### 6. Inactivation de NF1

Le gène suppresseur de tumeur NF1 inhibe l'activation de RAS. Ainsi, dans les tumeurs où NF1 est inactivé, on

observe une activation de RAS et de la voie d'aval MAP kinase. Chez la souris, en présence de mutations de BRAF et NF1, on observe une prolifération mélanocytaire nettement accrue et la survenue plus fréquente de mélanomes. Cette coopération des altérations de NF1 avec les mutations de BRAF semble reposer sur la modulation de la sénescence induite par l'oncogène BRAF [12]. Les mutations de NF1 induisent également une activation de la voie PI3K/AKT. L'addition d'un inhibiteur de la voie mTOR peut ainsi restaurer la sensibilité aux inhibiteurs de BRAF. Ce mécanisme de résistance peut être présent *de novo* ou être acquis sous inhibiteurs de BRAF.

### 7. Inactivation de CDKN2A

Des mutations du gène suppresseur de tumeur CDKN2A sont observées quel que soit le statut mutationnel BRAF et NRAS dans environ 20 % des mélanomes [9]. Dans l'étude de Nathanson [10], la perte de CDKN2A est associée à une moins bonne DFS chez les patients ayant une mutation somatique de BRAF. De même, une amplification de la cycline D1 (CCND1) est associée à une moins bonne DFS chez ces patients. Cela suggère l'intérêt potentiel de thérapies ciblant CDKN2A.

### 8. Mutations de MEK

Les mutations de MEK sont essentiellement des mutations MEK1P<sup>124</sup> observées chez 10 % des patients naïfs de traitement d'après les données d'une série de 123 patients présentées à l'ASCO en 2014 (Carlino MS *et al.* *J Clin Oncol*, 32:5s,2014; abstr 9004). Elles sont associées à une moins bonne réponse aux inhibiteurs de BRAF et de MEK et aussi à une moins bonne PFS. Les cellules tumorales double mutées BRAFV600MEK1P124 sont moins sensibles aux inhibiteurs de BRAF, et inhibent moins bien la phosphorylation de ERK que les cellules BRAFV600MEK1WT. Les cellules

tumorales BRAFV600MEK1P124 et BRAFV600MEK1<sup>WT</sup> sont sensibles aux inhibiteurs de MEK et aux inhibiteurs de ERK de façon similaire, suggérant que les patients ayant ces mutations pourraient être traités avec des inhibiteurs de ERK/MEK. Des mutations acquises de MEK ont également été rapportées et sont associées à une résistance à la combinaison d'inhibiteurs de MEK/BRAF [13].

### 9. Mutation de RAC1 P29S

Il a été montré par des études de séquençage d'exome que les mutations oncogéniques de RAC1 surviennent chez 4-9 % des sujets atteints de mélanome. RAC1 appartient à la famille Rho de protéines de liaison au GTP impliquées dans la tumorigénèse. Une étude sur des lignées cellulaires a montré que les lignées cellulaires comportant le variant RAC1 P29S sont résistantes aux inhibiteurs de RAF : elles présentent sous inhibiteur de BRAF une viabilité accrue, une réduction de l'apoptose et une augmentation de la croissance tumorale *in vivo* [14]. RAC1 pourrait être un facteur prédictif de résistance au traitement, et doit être évalué comme tel chez l'homme.

## Régulation du métabolisme oxydatif

Récemment, un autre mécanisme de résistance a été identifié : il s'agit de la dérégulation de processus métaboliques qui conduisent à la progression tumorale. Ainsi, il a été montré que les cellules tumorales BRAFV600E développaient une phosphorylation oxydative (via MITF et le facteur mitochondrial PGC1 $\alpha$ ) qui entraînait la survie cellulaire en présence d'un inhibiteur de BRAF [15]. Cette dépendance vis-à-vis de la phosphorylation oxydative dans les mélanomes traités avec des inhibiteurs de BRAF suggère que les inhibiteurs mitochondriaux devraient être évalués en association avec des inhibiteurs de la voie de BRAF *in vivo*.

## Conclusion

Les mécanismes d'échappement aux thérapies ciblées dans le mélanome sont multiples, mais aboutissent le plus souvent à une réactivation de la voie MAP kinase. Il existe également des mécanismes de résistance indépendant de la voie MAP kinase passant le plus souvent par une activation de la voie PI3K/AKT. Ces mécanismes sont d'autant plus complexes que plusieurs mécanismes peuvent être impliqués à la fois, et parce qu'il existe également une hétérogénéité de ces mécanismes au sein d'une même tumeur. Bien que les progrès technologiques récents de séquençage aient contribué à la découverte de nouveaux mécanismes, il est vraisemblable qu'une partie de ces mécanismes reste à identifier. Leur identification nécessite du matériel tumoral prélevé avant l'initiation du traitement et, si possible, lors de la survenue d'un échappement thérapeutique. La meilleure compréhension de ces mécanismes devrait contribuer à ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques.

## Bibliographie

- POULIKAKOS PI, ZHANG C, BOLLAG G *et al.* RAF inhibitors transactivate RAF dimers and ERK signalling in cells with wild-type BRAF. *Nature*, 2010;464:427-430.
- POULIKAKOS PI, SOLT DB. Resistance to MEK inhibitors: should we co-target upstream? *Sci Signal*, 2011;4:pe16.
- DANKORT D, CURLEY DP, CARLIDGE RA *et al.* Braf(V600E) cooperates with Pten loss to induce metastatic melanoma. *Nat Genet*, 2009;41:544-552.
- SHAO Y, APLIN AE. Akt3-mediated resistance to apoptosis in B-RAF-targeted melanoma cells. *Cancer Res*, 2010;70:6670-6681.
- STRAUSSMAN R, MORIKAWA T, SHEE K *et al.* Tumour micro-environment elicits innate resistance to RAF inhibitors through HGF secretion. *Nature*, 2012;487:500-504.
- NAZARIAN R, SHI H, WANG Q *et al.* Melanomas acquire resistance to B-RAF(V600E) inhibition by RTK or N-RAS upregulation. *Nature*, 2010;468:973-977.
- VILLANUEVA J, VULTUR A, LEE JT *et al.* Acquired resistance to BRAF inhibitors mediated by a RAF kinase switch in melanoma can be overcome by cotargeting MEK and IGF-1R/PI3K. *Cancer Cell*, 2010;18:683-695.
- ATEFI M, VON EUW E, ATTAR N *et al.* Reversing melanoma cross-resistance to BRAF and MEK inhibitors by co-targeting the AKT/mTOR pathway. *PLoS ONE*, 2011;6:e28973.
- HODIS E, WATSON IR, KRYUKOV GV *et al.* A landscape of driver mutations in melanoma. *Cell*, 2012;150:251-263.
- NATHANSON KL, MARTIN AM, WUBBENHORST B *et al.* Tumor genetic analyses of patients with metastatic melanoma treated with the BRAF inhibitor dabrafenib (GSK2118436). *Clin Cancer Res*, 2013;19:4868-4878.
- JOHANNESSEN CM, BOEHM JS, KIM SY *et al.* COT drives resistance to RAF inhibition through MAP kinase pathway reactivation. *Nature*, 2010;468:968-972.
- MAERTENS O, JOHNSON B, HOLLSTEIN P *et al.* Elucidating distinct roles for NF1 in melanomagenesis. *Cancer Discov*, 2013;3:338-349.
- WAGLE N, EMERY C, BERGER MF *et al.* Dissecting therapeutic resistance to RAF inhibition in melanoma by tumor genomic profiling. *J Clin Oncol*, 2011;29:3085-3096.
- WATSON IR, LI L, CABECEIRAS PK *et al.* The RAC1 P29S Hotspot Mutation in Melanoma Confers Resistance to Pharmacological Inhibition of RAF. *Cancer Res*, 2014;74:4845-4852.
- HAQ R, SHOAG J, ANDREU-PEREZ P *et al.* Oncogenic BRAF regulates oxidative metabolism via PGC1 $\alpha$  and MITF. *Cancer Cell*, 2013;23:302-315.

L'auteur a déclaré ne pas avoir de conflits d'intérêts concernant les données publiées dans cet article.

## Ialugen Advance

Activement impliqués dans la mutation du monde de la beauté, les laboratoires Genévrier mettent à disposition sur le marché une nouvelle gamme: ialugen advance, une nouvelle gamme anti-âge de cosmétiques.

En vieillissant, l'aspect de la peau se modifie. Le collagène, l'élastine et l'acide hyaluronique qui lui confèrent résistance, élasticité et souplesse diminuent, et les rides apparaissent. Plus fine, moins élastique, moins ferme, la peau demande des soins nutritifs particuliers.

Pour lutter contre les effets de l'âge, la nouvelle gamme de soins anti-âge ialugen advance à l'acide hyaluronique avec ingrédients jeunesse synergiques convient à tous types de peaux, jeunes et matures.

Elle se décline en cinq références :

- Soins effet combleur haute précision sans injection,
- Capsules anti-âge revitalisantes,
- Crème anti-âge régénérante,
- Brume régénérescence,
- Crème capital jeunesse photoprotect (commercialisation prévue en 2015).

J.N.

D'après un communiqué de presse des laboratoires Genévrier