

Une méthode innovante pour mieux suivre le rhabdomyosarcome



© Institut Curie / VOISIN Thibaut

Dans le rhabdomyosarcome (RMS), la tumeur mésoenchymateuse maligne la plus fréquente chez l'enfant et l'adolescent, les altérations génétiques peuvent être de différents types, touchant le nombre, la structure ou la séquence des chromosomes et des gènes qu'ils portent. Dès lors, comment détecter celles-ci, et identifier celles qui pourraient représenter des cibles thérapeutiques pertinentes ? Le Dr Gaëlle Pierron, responsable adjointe de l'unité de génétique somatique à l'Institut Curie, et son équipe, ont trouvé une solution :

la combinaison de deux techniques de séquençage NGS (Next Generation Sequencing) de l'ADN tumoral.

Combiner un séquençage exhaustif et séquençage ciblé

La première va se concentrer sur un panel d'une quarantaine de gènes et régions d'intérêt dans les RMS, pour en identifier les mutations (une partie du gène comporte une erreur d'écriture) mais aussi les translocations (une partie du gène a été déplacée vers une autre région du génome). Comme peu de gènes sont séquencés dans cette première analyse, ils peuvent l'être un très grand nombre de fois, ce qui permet d'avoir une grande sensibilité. La seconde, le *shallow sequencing*, sera moins sensible, mais va analyser la totalité du génome permettant ainsi de repérer des régions gagnées ou perdues dans l'échantillon étudié.

« En combinant ces deux méthodes, nous pouvons repérer les différents types d'altérations et établir une carte d'identité moléculaire pour chaque tumeur », se réjouit le Dr. Gaëlle Pierron. Les outils bio-informatiques nécessaires à l'analyse intégrée de ce séquençage ont été mis au point et testés avec succès. **La méthode, appliquée à 35 tumeurs, a permis d'identifier les mutations présentes lors du diagnostic ainsi que celles apparaissant lors de la rechute**

Suivre la maladie, anticiper la rechute, adapter le traitement

« Cela offre trois opportunités : d'une part, obtenir des caractéristiques de la tumeur dès le diagnostic et donc définir des cibles de traitement adaptées ; d'autre part, observer les effets du traitement via les évolutions de l'ADN tumoral circulant ; et enfin, détecter précocement une éventuelle rechute », résume le Dr Gaëlle Pierron. **Car, détail important, la méthode mise au point ne nécessite pas d'avoir accès directement à la tumeur, car elle se base sur une biopsie liquide (via une prise de sang).** L'éventuelle récurrence pourra ainsi être détectée sur l'ADN tumoral circulant isolé dans le plasma, à partir d'une simple prise de sang.

L'étape suivante consistera à généraliser ces outils : le nouveau protocole FAR-RMS qui va être mis en place à l'échelle internationale d'ici la fin de l'année visera justement à utiliser la méthode en clinique. L'accès en routine au portrait moléculaire des RMS, ainsi que le suivi tout au long du traitement des altérations identifiées, permettront aux cliniciens d'adapter la prise en charge de chaque patient et de proposer des traitements innovants.

Rétinoblastome : pas de lien démontré entre les marqueurs moléculaires d'agressivité et l'intensité du traitement



© Institut Curie

Le rétinoblastome affecte un jeune enfant sur 15 à 20 000. Cette tumeur de la rétine se soigne bien, si elle est diagnostiquée à temps, souvent en effectuant une chimiothérapie suivie par un traitement ophtalmologique (laser, cryothérapie) ou par traitement ophtalmologique seul (allant jusqu'à devoir parfois enlever l'œil malade en cas de maladie avancée).

Aujourd'hui, de nouvelles perspectives s'ouvrent avec la possibilité pour les médecins de prélever des gouttes d'humeur aqueuse dans la chambre

antérieure de l'œil, pour réaliser une carte d'identité des anomalies génétiques de la tumeur. À partir de là, certains scientifiques ont proposé d'utiliser ces informations pour améliorer la prise en charge des patients : si des marqueurs moléculaires d'agressivité sont repérés, ils pourraient servir à classer les rétinoblastomes et donc à mieux adapter le niveau de traitement.

Le lien entre marqueurs moléculaires, facteur de risque histologique et recours à un traitement complémentaire en question

Centre de référence national du rétinoblastome, l'Institut Curie a étudié la relation entre des marqueurs moléculaires d'agressivité et l'analyse histologique des tumeurs prélevées, afin de guider l'intensité du traitement post-opératoire.

« Nous avons sélectionné 87 patients atteints de rétinoblastome, qui avaient été énucléés d'emblée » confie le Dr Yassine Bouchoucha, chef de clinique assistant dans le service de pédiatrie de l'Institut Curie *« pour réaliser la carte d'identité moléculaire de la maladie en séquençant des fragments d'ADN des tumeurs. »*

Or, l'étude n'a pas constaté de lien entre les biomarqueurs et l'intensité nécessaire des traitements post-opératoires. En particulier, des enfants dont la tumeur présente des fragments d'ADN repères d'agressivité (correspondant à l'amplification du gène MYCN) se portent très bien sans recours à une chimiothérapie complémentaire. Des études prospectives complémentaires sont donc nécessaires pour se servir des marqueurs moléculaires dans une nouvelle classification du risque des rétinoblastomes, et aboutir à une meilleure adaptation des traitements à chaque patient.

L'intérêt des ponctions d'humeur aqueuse pour le conseil génétique

La ponction de quelques gouttes d'humeur aqueuse, pratiquée désormais en routine à l'Institut Curie, participe d'ores et déjà à l'amélioration du conseil génétique. Ces prélèvements facilitent en effet l'identification des enfants atteints de rétinoblastome qui ont une prédisposition génétique, liée à une anomalie constitutionnelle du gène RB1, et donc un surrisque de sarcome à l'âge adulte. *« Cette ponction systématique de l'humeur aqueuse dans l'œil des enfants (si accord des parents), permet de chercher les divers marqueurs moléculaires d'agressivité, »* conclut le Dr Yassine Bouchoucha. *« Ces résultats fournissent le substrat nécessaire aux études qui permettront à l'avenir de réduire les traitements pour les enfants dont le rétinoblastome ne présente pas de marqueur d'agressivité, avec pour objectif ultime de diminuer les séquelles à long terme. C'est une piste à explorer. »*

Poster presentation : Prognostic value of molecular markers in unilateral retinoblastoma treated by first-line enucleation. Yassine Bouchoucha, Jessica Le Gall, Alexandre Matet, Sarah Mezghani, Hrant Ghazelian, A. Savignoni, Meriam Mahmoudi, Clément Hua, Jennifer Carrière, Marion Gauthier-Villars, Arnaud Gauthier, Paul Fréneaux, Hervé Brisse, Nathalie Cassoux, Livia Lumbroso-Le Rouic, Isabelle Aerts, François Doz, François Radvanyi, Liesbeth Cardoen, Lisa Golmard.