

Les addictions oncologiques : aspects biologiques

Cours du GOLF,
Paris, septembre 2018

Celine Mascaux, MD, PhD



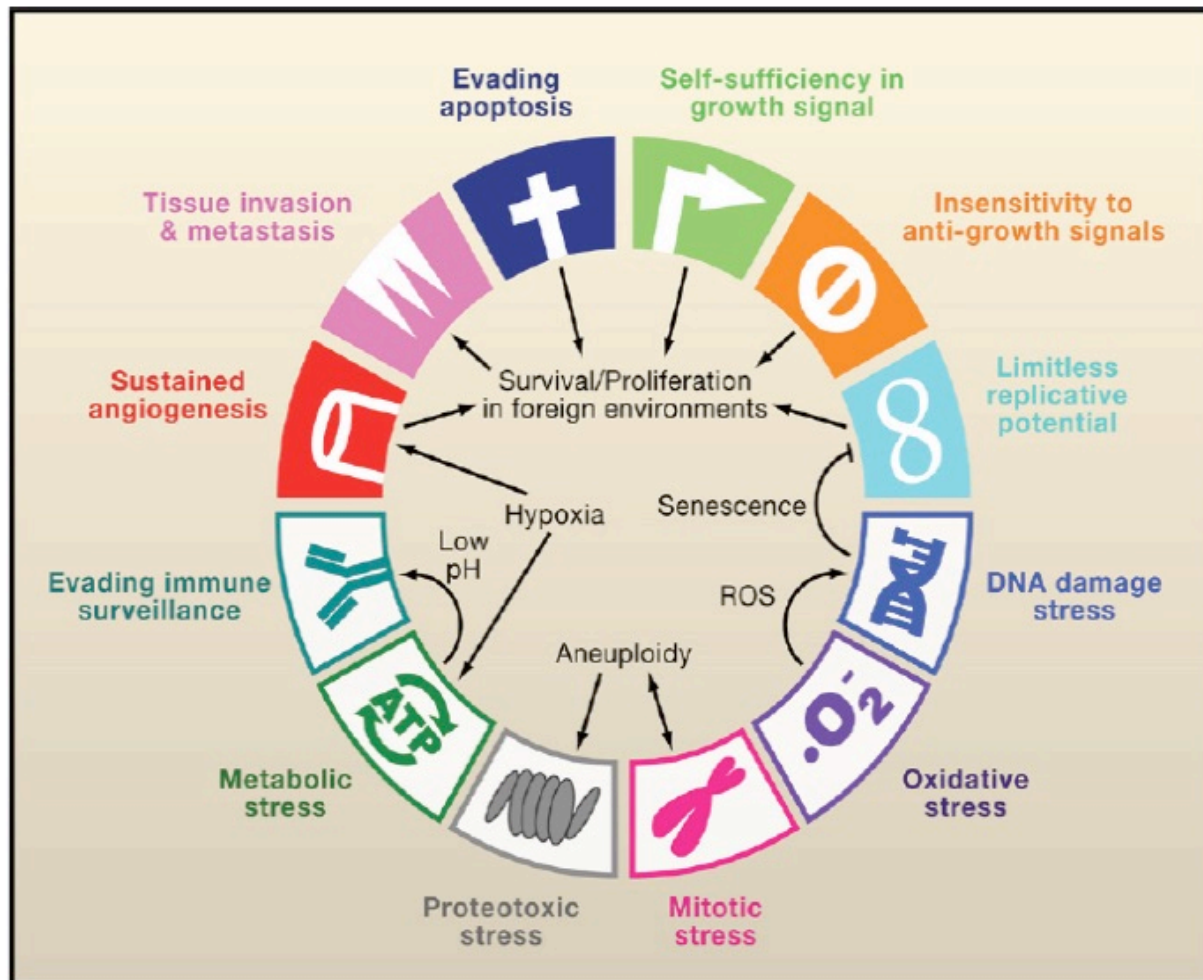
*Multidisciplinary Oncology & Therapeutic Innovations Dept
Centre de Recherche en Cancérologie de Marseille, Inserm UMR1068, CNRS
UMR7258, Aix-Marseille Université UM105
France*



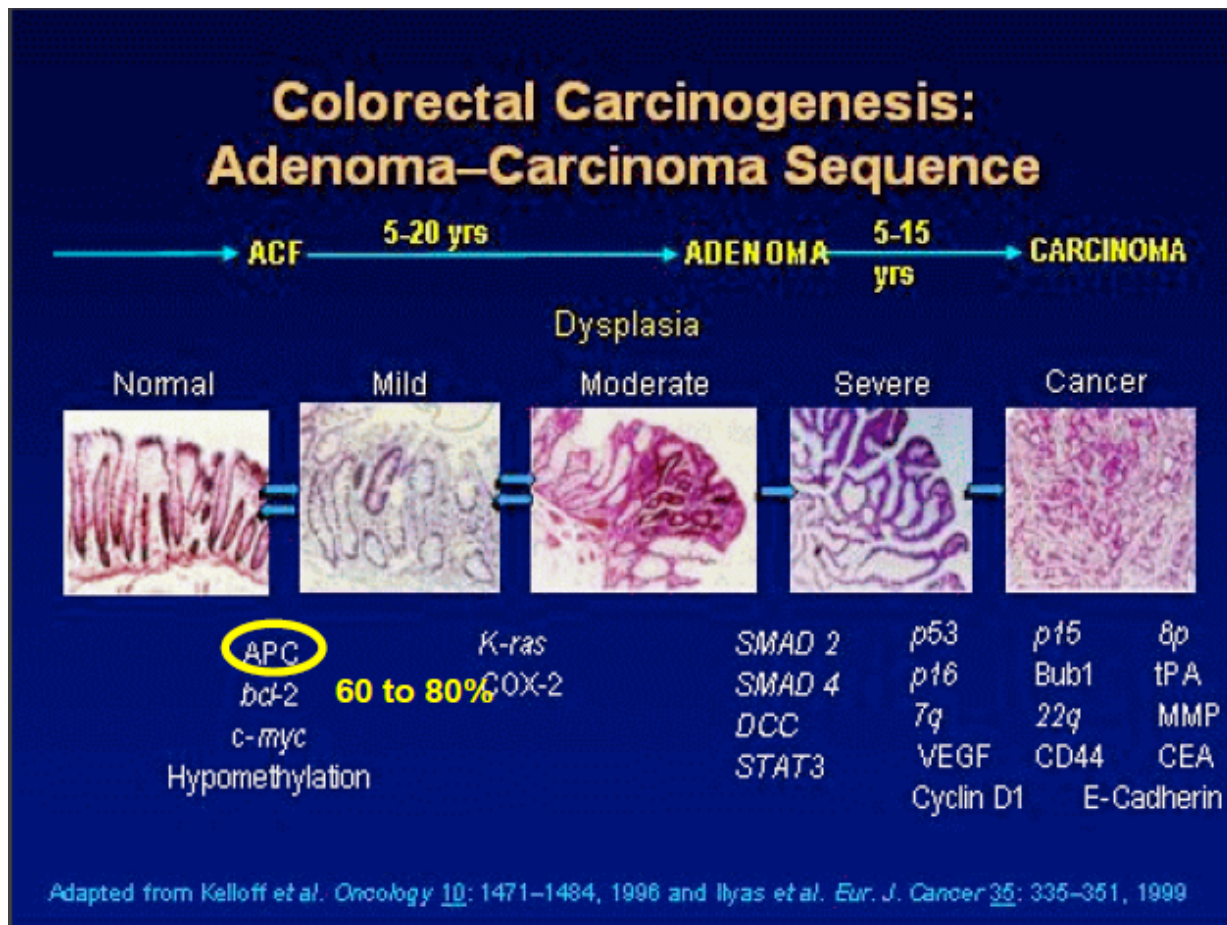
Conflict of interest to disclose

- Received honoraria as expert/speaker from Boehringer Ingelheim, Lilly, Bristol Myers Squibb, AstraZeneca, Roche
- Advisory board : Roche, Kephren, AstraZeneca, Bristol Myers Squibb,
- Funding for attending meeting from Novartis, Roche, AstraZeneca, Bristol Myers Squibb,

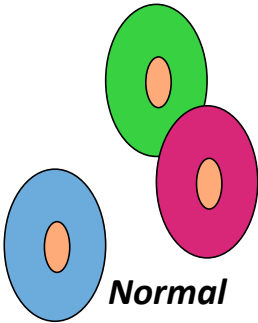
Hallmarks of cancer



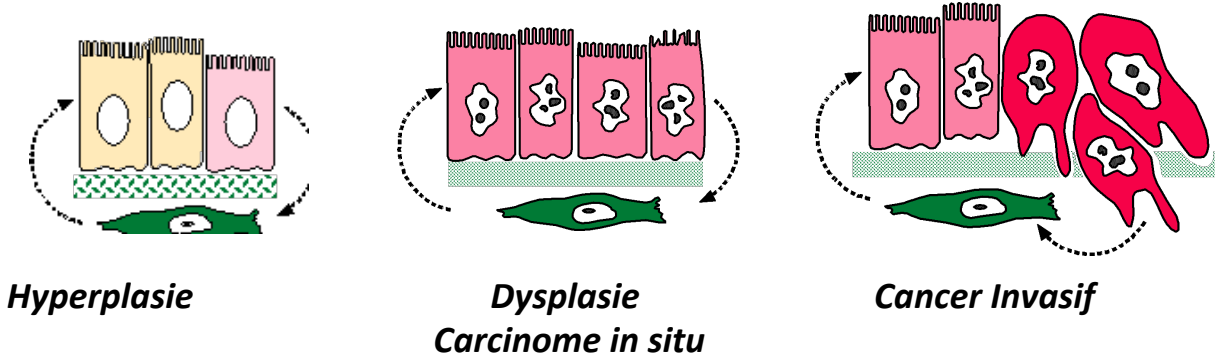
Multistep process



Multistep process



ACTIVATION DES "PROMOTEURS" DE TUMEUR
INACTIVATION DES "INHIBITEURS" DE TUMEUR



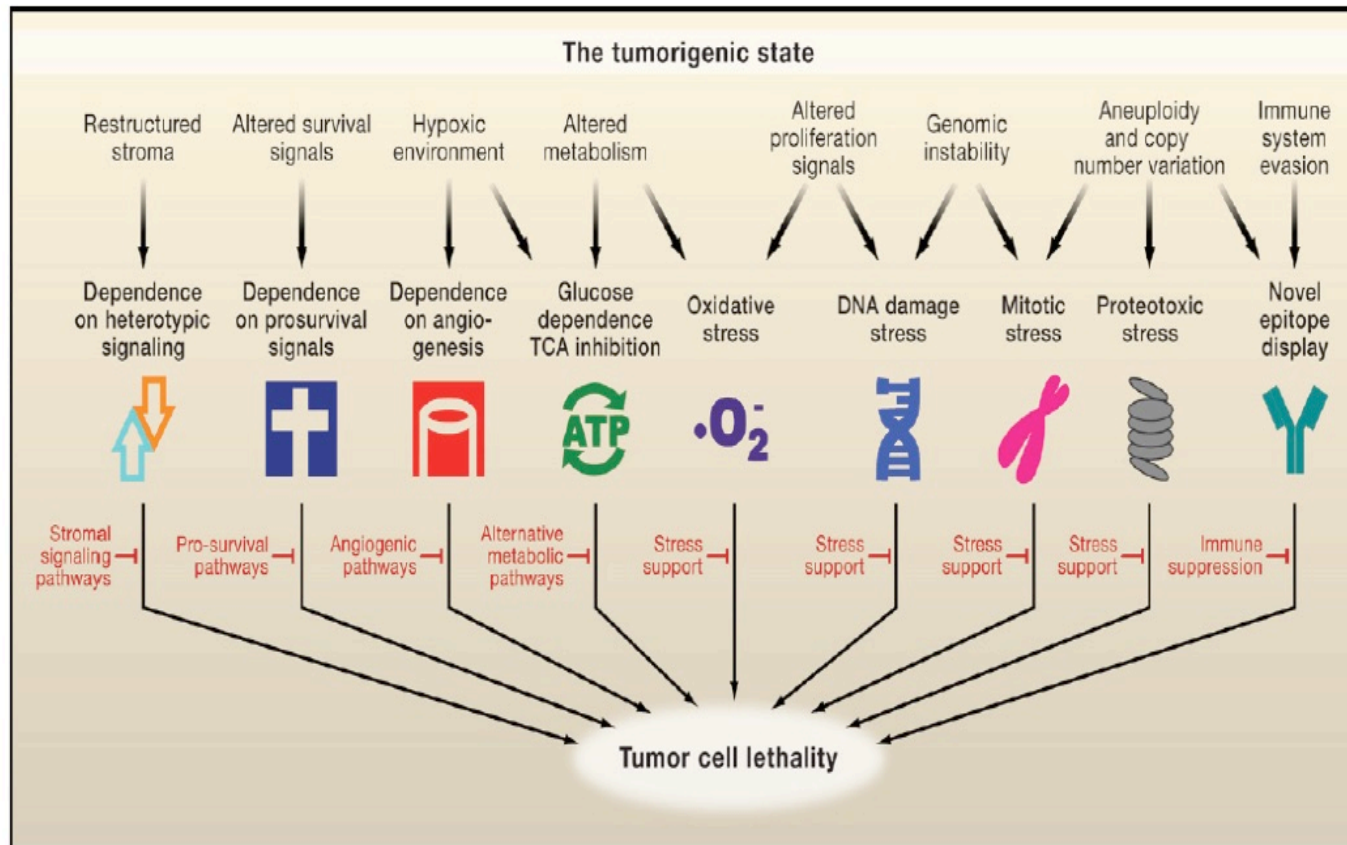
Addiction oncogénique

- Dépendances des cellules cancéreuses à l'activité d'un oncogène (ou la perte d'un gène suppresseur de tumeurs)
- L'oncogène envoie de forts signaux pro-survie et anti-apoptose, favorisant la croissance et la survie des cellules tumorales
- En cas d'inhibition de la fonction oncogénique, la balance penche ne faveur de la mort cellulaire

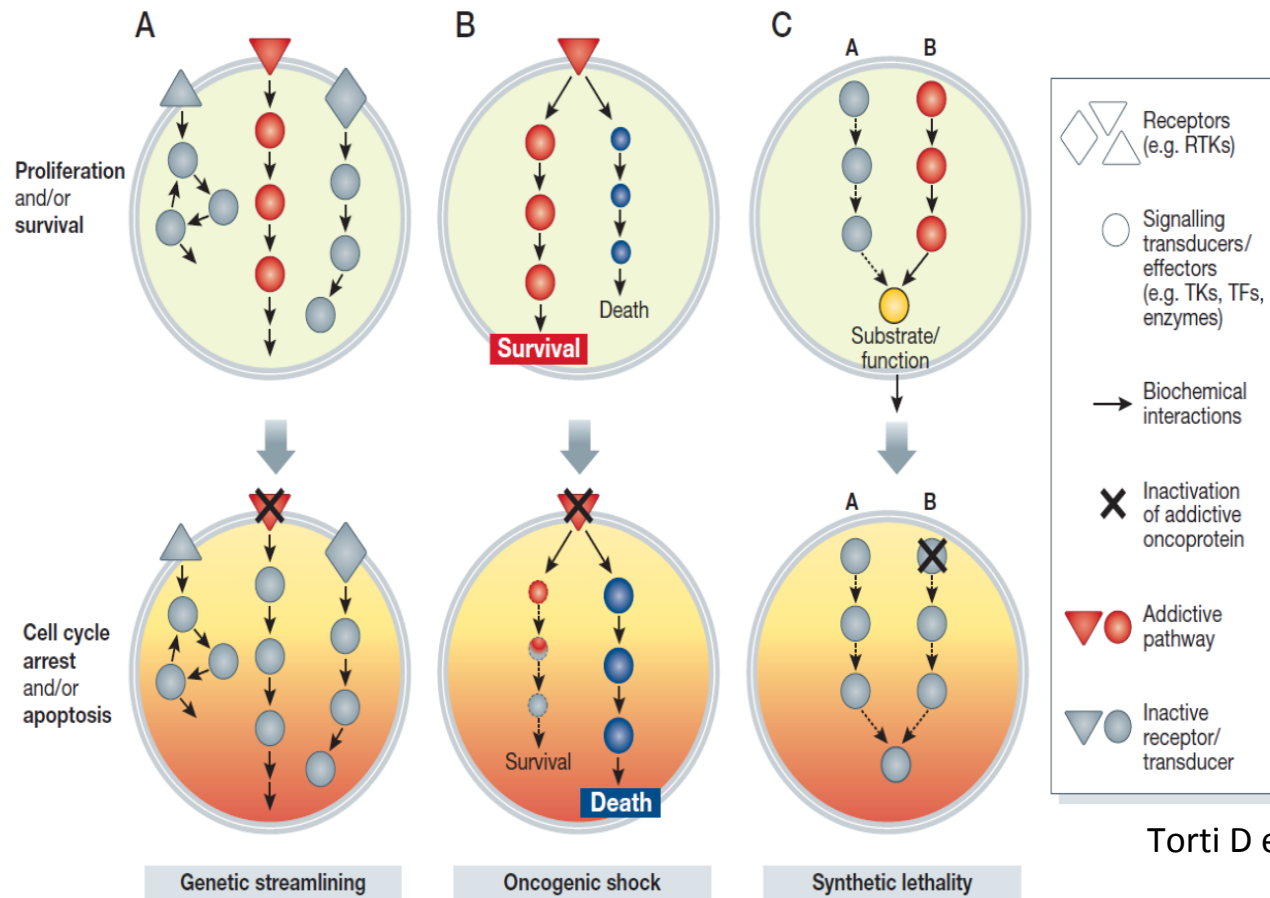
Table 1. Experimental examples of oncogene addiction

Oncogene	Models		
	<i>In vitro</i>	<i>In vivo</i>	References
<i>MYC</i>	RNAi in haematopoietic cells	Conditional MYC-driven mouse models of leukaemia	Felsher and Bishop (1999), Loke et al (1988)
<i>H-RAS, K-RAS</i>	Farnesyl transferase inhibitors in H-RAS-transformed and K-RAS ^{mut} expressing cell lines	Conditional K-RAS ^{mut} -driven mouse model of lung cancer	Fisher et al (2001), Kohl et al (1994)
<i>ABL</i>	Small-molecule inhibitor in BCR-ABL expressing cell lines	Systemic antisense oligodeoxynucleotides delivery in mouse model of CML	Druker et al (1996), Skorski et al (1994)
<i>HER2</i>	RNAi in erbB-2 amplified breast carcinoma cell lines	Conditional erbB-2-driven mouse model of mammary cancer	Colomer et al (1994), Moody et al (2002)
<i>EGFR</i>	Ribozyme against aberrant EGFR-expressing cell line	mAB in EGFR-amplified xenografts	Luwor et al (2001), Yamazaki et al (1998)

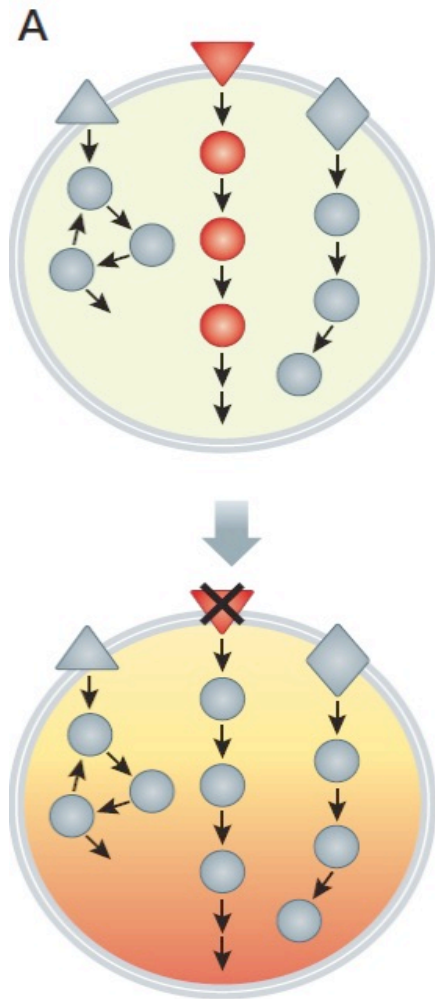
Non oncogenic addictions



Models of oncogenic addiction



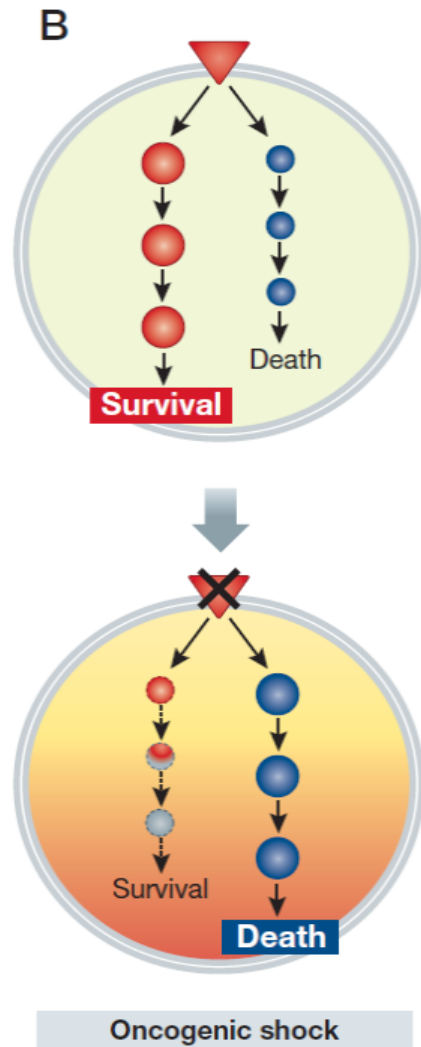
Torti D et al, EMBO 2011



Genetic streamlining

Genetic streamline

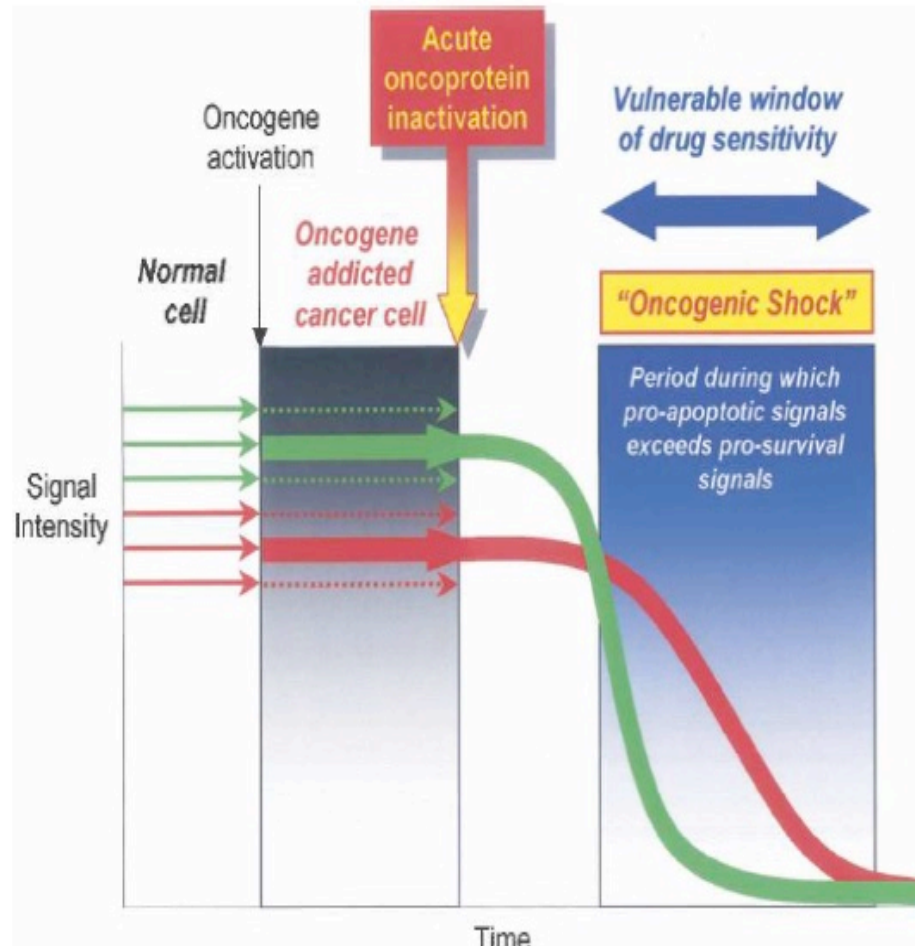
- Sélection darwinienne
- Les voies non essentielles sont inactivées durant l'évolution de la tumeur
- Les voies dominantes addictives ne sont alors plus compensées par des voies parallèles
- En de blocage du signal dominant, la cellule entre en souffrance avec arrêt du cycle cellulaire et apoptose



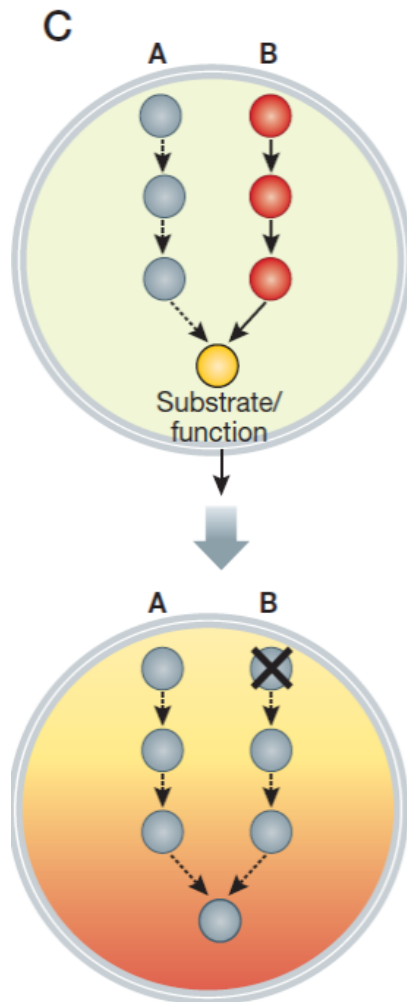
Oncogenic shock

- Les oncoprotéines addictives stimulent à la fois des messages pro-survie et des messages pro-apoptotiques
- Dans les cellules cancéreuses, le signal de survie domine celui de l'apoptose
- Quand on bloque le récepteur addictif, il y a un déclin rapide de l'activité pro-survie, jusqu'à faire pencher la balance en faveur des signaux de mort, qui durent plus longtemps et induisent l'apoptose de la cellule

Oncogenic shock: differential signal attenuation



Sharma SV et al, Genes and dev 2007

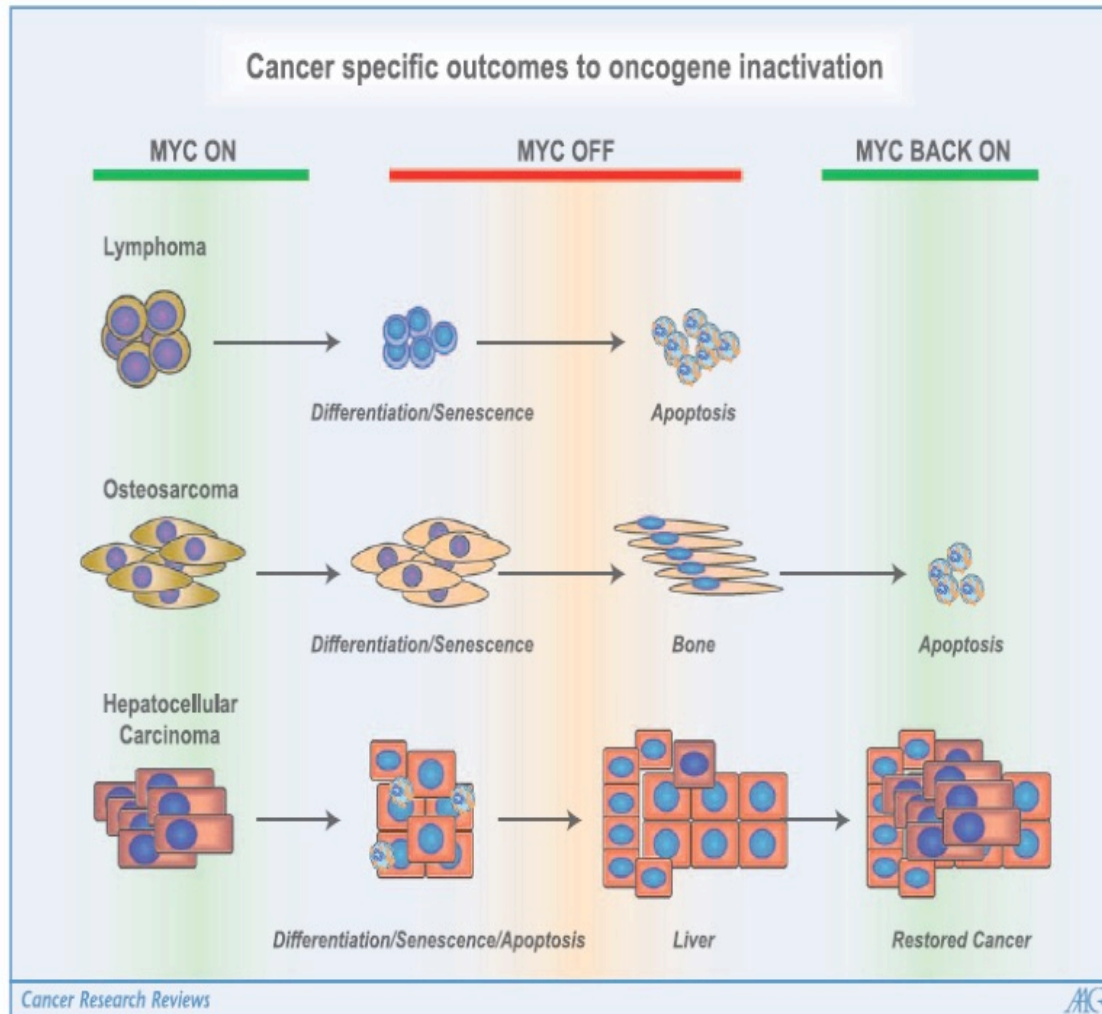


Synthetic lethality

Synthetic lethality

- Deux gènes sont complémentaires létaux quand la perte de l'un est encore compatible avec la survie mais que la perte des deux est fatale
- Quand la voie A est inactivée, l'activité est compensée par la voie B car elles convergent vers un substrat commun
- Mais quand la voie B est inactivée aussi, la fonction commune de A et de B est perdue et la cellule subit l'arrêt du cycle cellulaire et/ou l'apoptose

Cancer site specific outcomes for a oncogene



Felsher D et al , Cancer Res, 2008

Table 1. Examples of dominant oncogenes that confer oncogene addiction

Oncogene	Cancer	Oncogene addiction and oncogenic shock		
		Cell lines	Mouse models	Clinical (approved)
<i>MYC</i>	Lymphoma, leukemia	RI [Yokoyama and Imamoto 1987; Loke et al. 1988]	IE [Felsner and Bishop 1999; Wu et al. 2007]	
<i>RAS</i>	Pancreatic, thyroid, colon, NSCLC	RI [Mukhopadhyay et al. 1991; Tokunaga et al. 2000] SMI [Kohl et al. 1994; Liu et al. 1998]	H-RAS [Chin et al. 1999]; K-RAS [Fisher et al. 2001]	
<i>HER2</i>	Breast, ovarian, NSCLC	Ab [Hudziak et al. 1989] RI [Brysch et al. 1994; Colomer et al. 1994]	Ab [Shepard et al. 1991; Ohnishi et al. 1995; Tokuda et al. 1996] SMI [Xia et al. 2002; Rabindran et al. 2004; Wong et al. 2006]	Trastuzumab/Herceptin [Breast cancer]; Lapatinib/Tykerb [Herceptin refractory breast cancer]
<i>BRAF</i>	Melanoma, thyroid, colorectal	RI [Hingorani et al. 2003; Sumimoto et al. 2004] SMI [Karasarides et al. 2004]	SMI [Karasarides et al. 2004; Sharma et al. 2005]	Sorafenib/Nexavar [Renal cell carcinoma]
<i>EGFR</i>	NSCLC, glioblastoma, colon, pancreas	RI [Yamazaki et al. 1998; Halatsch et al. 2000; Sordella et al. 2004] Ab [Luwor et al. 2001]	SMI [Ii et al. 2006a,b; Politi et al. 2006] Ab [Luwor et al. 2001]	Gefitinib/Iressa [NSCLC]; Erlotinib/Tarceva [NSCLC, pancreatic cancer]; Cetuximab/Erbitux [head and neck, colorectal cancer]; Panitumumab/Vectibix [colorectal cancer]
<i>MET</i>	Gastric, NSCLC	RI [Stabile et al. 2004; Ma et al. 2005] SMI [Sattler et al. 2003; Ma et al. 2005; Smolen et al. 2006]	RI [Stabile et al. 2004]; SMI [Puri et al. 2007; Zou et al. 2007] Ab [Cao et al. 2001; Burgess et al. 2006]	
<i>ABL</i>	CML	SMI [Druker et al. 1996; Carroll et al. 1997; Golas et al. 2003] RI [Smesers et al. 1994]	RI [Skorski et al. 1994] SMI [Golas et al. 2003]	Imatinib/Gleevec [Ph* CML, Ph* ALL]
<i>PDGFR</i>	Glioma, GIST	SMI [Shawver 1997]	SMI [Laird et al. 2000; Kilic 2000; Blaskovich 2000]	Imatinib/Gleevec [GIST] Sunitinib/Sutent [GIST, Renal cell carcinoma] Imatinib/Gleevec [GIST]
<i>KIT</i>	GIST	SMI [Tuveson et al. 2001; Prenen et al. 2006]	SMI [Decaudin et al. 2005; Carton et al. 2006]	
<i>FGFR3</i>	Myeloma	Ab [Trudel et al. 2006] SMI [Trudel et al. 2004, 2005; Chen et al. 2005; Grand et al. 2004; Paterson et al. 2004]	SMI [Trudel et al. 2004, 2005; Paterson et al. 2004] Ab [Trudel et al. 2006]	
<i>ALK</i>	ALCL	RI [Piva et al. 2006; Hsu et al. 2007] SMI [Galkin et al. 2007]	SMI [Galkin et al. 2007]	
<i>AURORA KINASE</i>	Colon, breast	SMI [Emanuel et al. 2005; Soncini et al. 2006] RI [Hata et al. 2005]	SMI [Harrington et al. 2004; Emanuel et al. 2005; Soncini et al. 2006; Manfredi et al. 2007; Wilkinson et al. 2007]	
<i>RET</i>	Thyroid	RI [Parthasarathy et al. 1999]; DN [Drostsen et al. 2002] SMI [Akeno-Stuart et al. 2007; Mologni et al. 2006]	DN [Drostsen et al. 2003] SMI [Petrangolini et al. 2006; Akeno-Stuart et al. 2007]	
<i>VEGF</i>	Tumor angiogenesis		Ab [Kim et al. 1993; Kondo et al. 1993]; SMI [Sola et al. 1995]; RI [Saleh et al. 1996; Cheng et al. 1996]	Bevacizumab/Avastin [Metastatic, colorectal cancer]; Sunitinib/Sutent [GIST, Renal cell carcinoma]; Sorafenib/Nexavar [Renal cell carcinoma]

Targeted treatment for oncogenic addiction

Table 2. Targeted therapies in oncogene-addicted cancers

Name	Target	Disease	FDA first approval
Imatinib mesylate (Gleevec [®])	BCR-ABL, KIT ^{mut} , PDGFR ^{mut}	CML, GIST	2001 2002
Trastuzumab (Herceptin [®])	HER2 ^{ampl}	Breast cancer	1998
Erlotinib (Tarceva [®])	EGFR ^{mut}	NSCLC	2004
Gefitinib (Iressa [®])	EGFR ^{mut}	NSCLC	2003
Vemurafenib (PLX4032)	BRAF ^{mut}	Melanoma	Phase 3
Crizotinib (PF002341066)	ALK ^{transl}	NSCLC	Phase 3
Iniparib (BSI201)	PARP-1	BRCA-associated (hereditary) or 'BRCAness'-associated (sporadic) breast and ovarian cancer	Phase 2
Olaparib (AZD2281)	PARP-1	BRCA-associated (hereditary) or 'BRCAness'-associated (sporadic) breast and ovarian cancer	Phase 2/3

Torti D et al, EMBO 2011

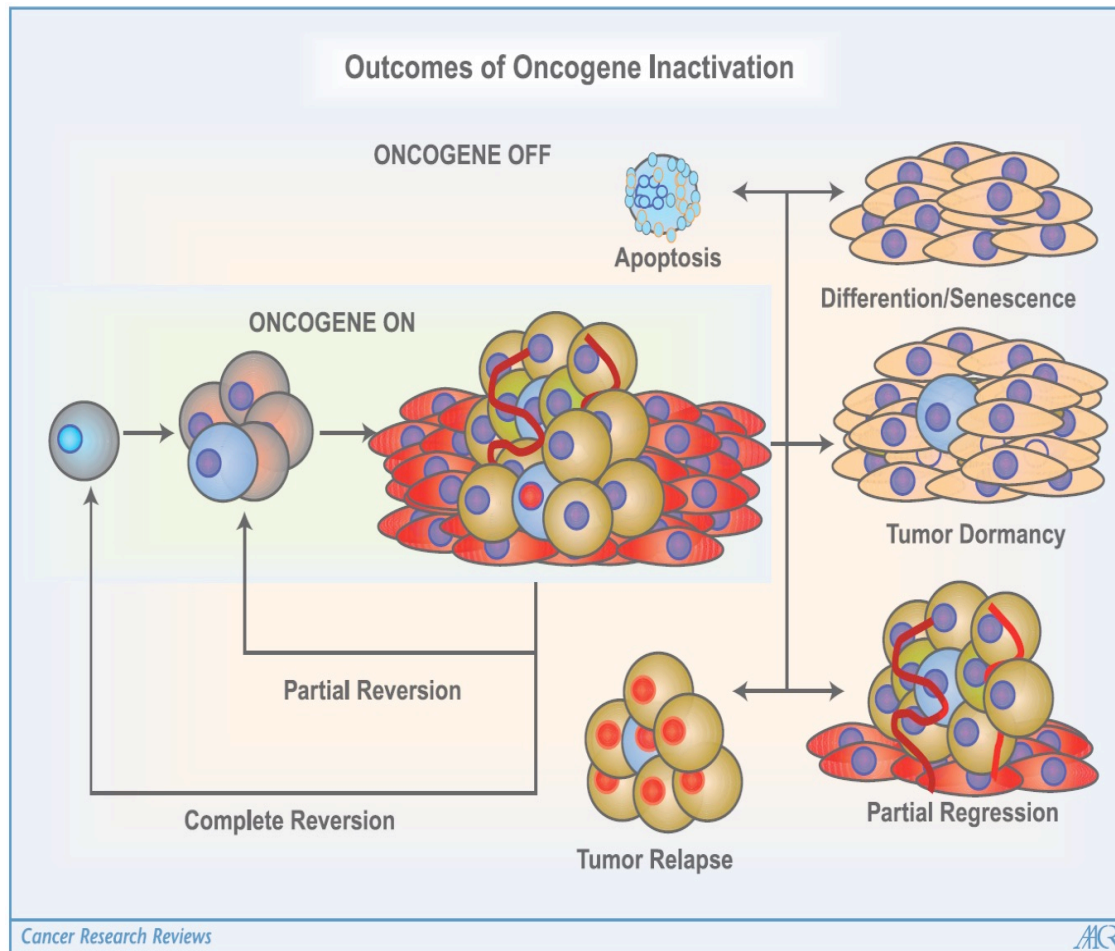
Sharma SV et al, Genes and dev 2007

Gene suppressors with oncogene addiction

Table 2. *Examples of tumor suppressor genes that confer oncogene addiction*

Tumor suppressor	Cancer	Oncogene addiction and oncogenic	
		Cell lines	Mouse models
P53	Cervical, multiple	Adachi et al. 1996; Gomez-Manzano et al. 1996; Vater et al. 1996 SMI: Hietanen et al. 2000	Martins et al. 2006; Ventura et al. 2007; Xue et al. 2007
LKB1	Peutz-Jeghers syndrome	Qanungo et al. 2003	
DLC-1	Hepatocellular carcinoma	Zhou et al. 2004	
FHIT	Lung, cervical, breast	Roz et al. 2002; Sevignani et al. 2003	Sevignani et al. 2003; Pichiorri et al. 2006
ARLTS1	Breast, ovarian, lung, familial cancer	Petrocca et al. 2006	Petrocca et al. 2006
IRF-1	Leukemia	Kim et al. 2004; Bouker et al. 2005; Iliopoulos et al. 2007	Kim et al. 2004; Watson et al. 2006
WWOX	Lung, breast, prostate	Fabbri et al. 2005; Qin et al. 2006; Iliopoulos et al. 2007	Fabbri et al. 2005; Qin et al. 2006; Iliopoulos et al. 2007
TESTIN	Breast, uterine	Sarti et al. 2005	Sarti et al. 2005
PTEN	Gliomas	Tian et al. 1999	Sharma SV et al, Genes and dev 2007

Results of oncogene inactivation



Felsher D et al , Cancer Res, 2008

Activation d'oncogènes

- Trois grands types de modifications génétiques peuvent activer un proto-oncogène
 - Les mutations ponctuelles
 - Les amplifications
 - Les translocations
- Mais aussi
 - Intégrations virales
 - Délétions
- Tous les mécanismes, un résultat: produit hyperactif qui stimule la division cellulaire de sorte qu'elle échappe à la régulation normale

Les oncogènes

- Les oncogènes sont répartis en 4 grandes classes en fonction des oncoprotéines pour lesquels ils codent :
- **les facteurs de croissance** (assurent une boucle de régulation autocrine),
Exemple : proto-oncogènes codant pour les protéines de la famille FGF (fibroblast growth factor)
- **les récepteurs transmembranaires de facteurs de croissance**
Exemple : le proto-oncogène erb B code pour le récepteur à l'EGF (epidermal growth factor)
- **les G-protéines ou protéines membranaires liant le GTP**
Exemple : proto-oncogènes de la famille ras, les tyrosines protéine-kinases membranaires, les protéine-kinases cytosoliques
- **les protéines à activité nucléaire** : contrôlent la transcription de gènes cibles en interagissant avec l'ADN.
Exemple : les proto-oncogènes fos, jun et c-myc

Activation du proto-oncogène en oncogène

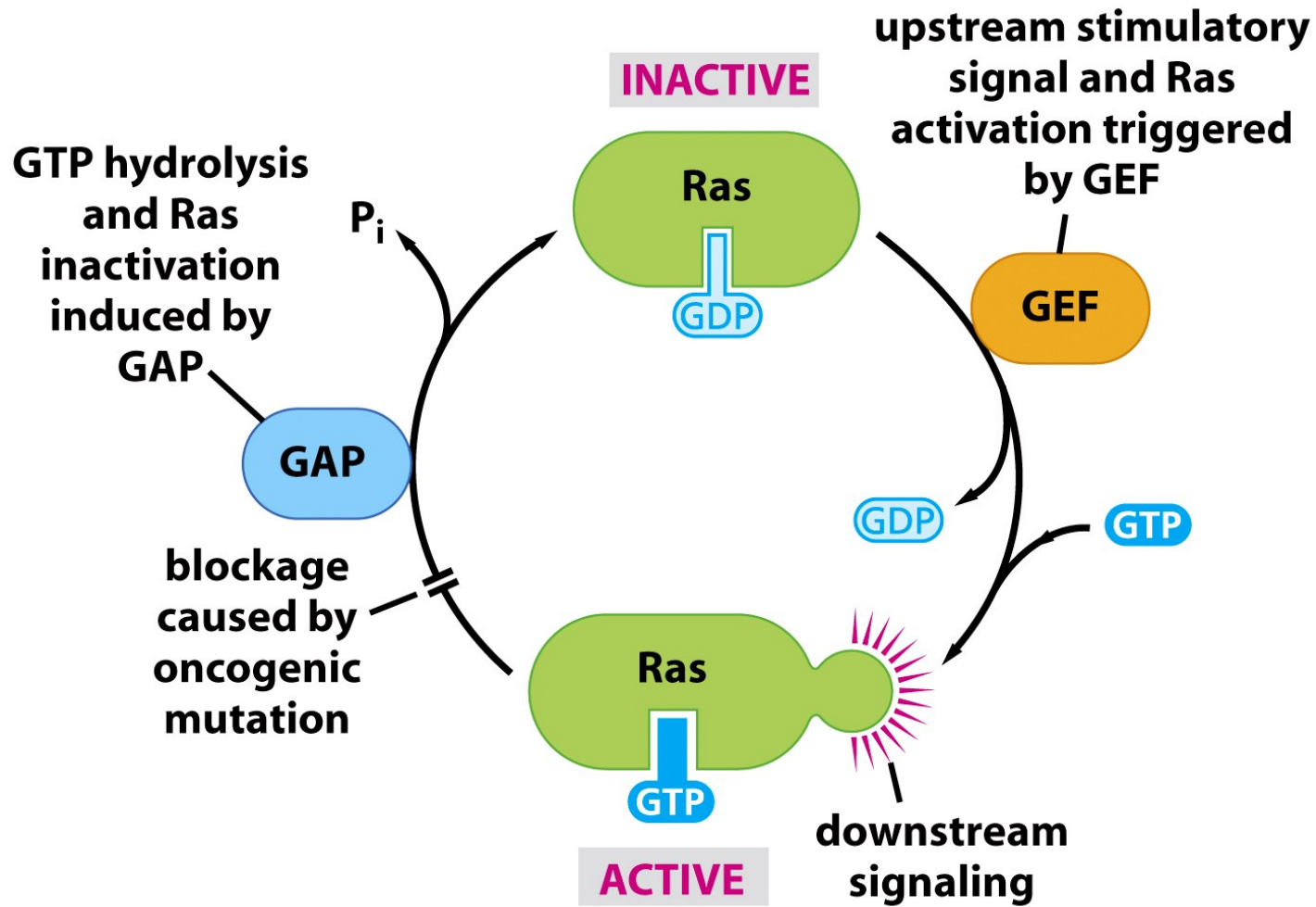
- Par mutation
- Par amplification
- Par translocation chromosomique

Activation du proto-oncogène en oncogène

- Par mutation

- Par amplification

- Par translocation chromosomique



GAP : GTPase activating proteins
 GEF : guanine exchange factors

Figure 5.30 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

Mutation de RAS et cancer du poumon

- 15 – 20 % cancers bronchiques non à petites cellules
- 30 - 50 % des adénocarcinomes
- 90 % des mutations sont sur Kras et 80 % au codon 12
- 70 % transversions G-->T
Gly (GGT) => Val (GTT) ou Cys (TGT)
- Construction de modèles murins par mutation de K-Ras

La voie de Raf/MEK/Erk

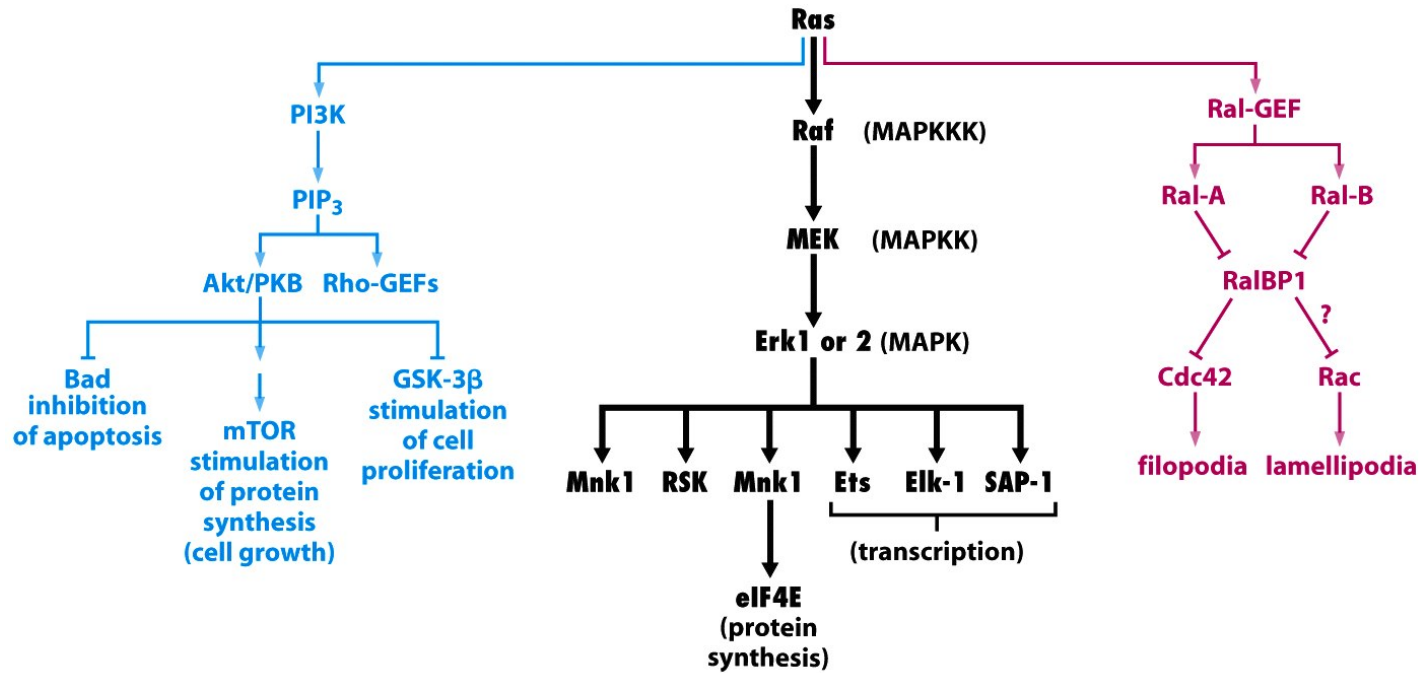


Figure 6.14 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

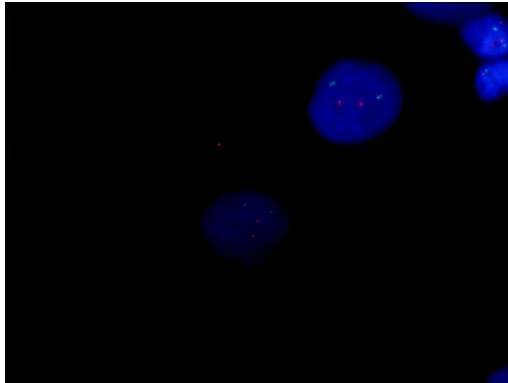
Activation du proto-oncogène en oncogène

- Par mutation

- Par amplification

- Par translocation chromosomique

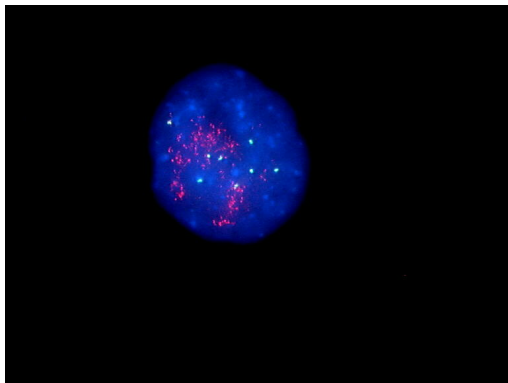
Amplification de HER2



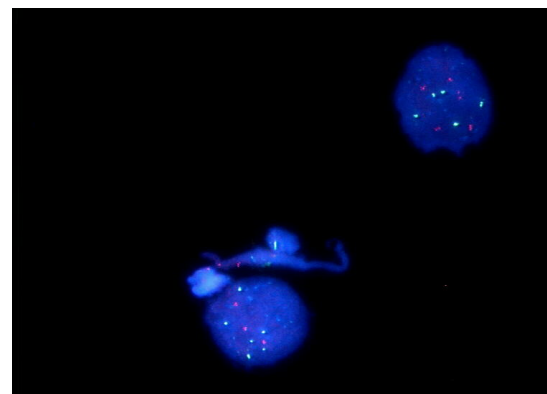
Normal



Amplification de HER-2



Amplification/Aneuploidie



Aneuploidie

Activation du proto-oncogène en oncogène

- Par mutation
- Par amplification
- Par translocation chromosomique

Translocation chromosomique

- Cet événement peut générer deux types de modifications
 - 1) des modifications quantitatives
 - Quand la translocation change complètement l'environnement génétique des gènes présents sur les fragments de chromosomes et dérègle leur expression
 - 2) des modification qualitatives
 - Quand la translocation peut engendrer la synthèse de protéines ayant des fonctions aberrantes

CHROMOSOME DE PHILADELPHIE

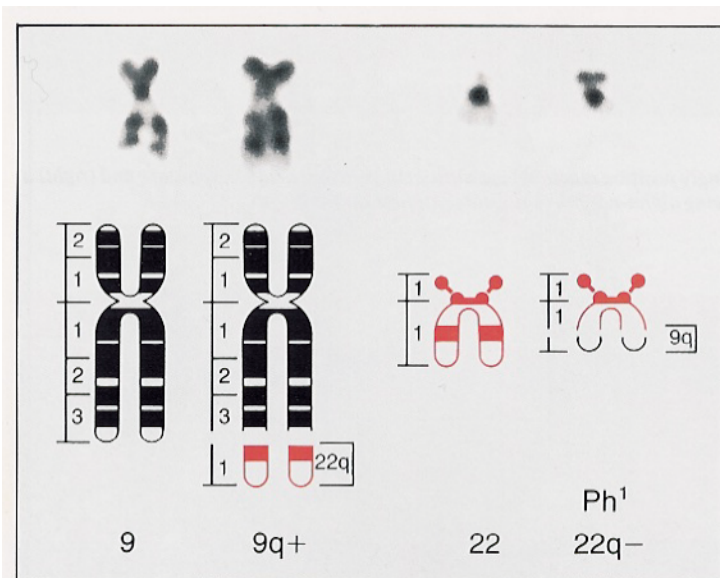


Fig. 9.34
Chronic myeloid leukaemia: (upper) partial karyotypes of G-banded chromosomes 9 and 22; the right-hand member of each pair shows the results of the reciprocal translocation. A diagrammatic representation is given below. Ph is the Philadelphia chromosome. Courtesy of Dr L.M. Secker-Walker.

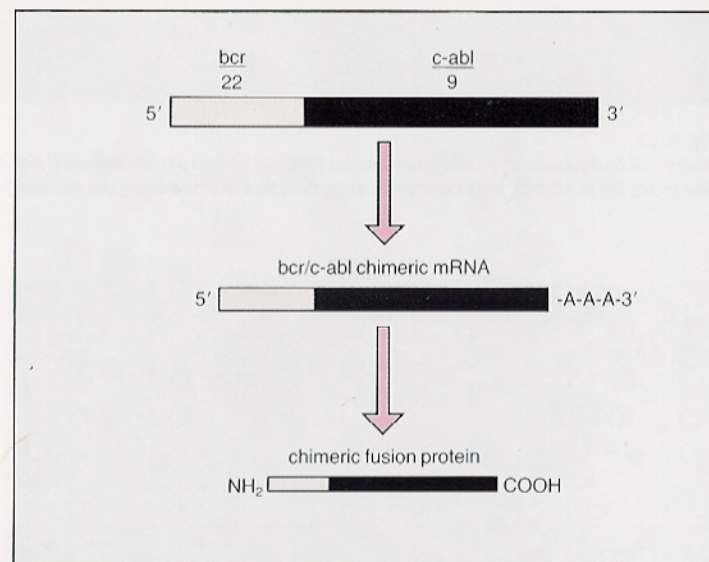
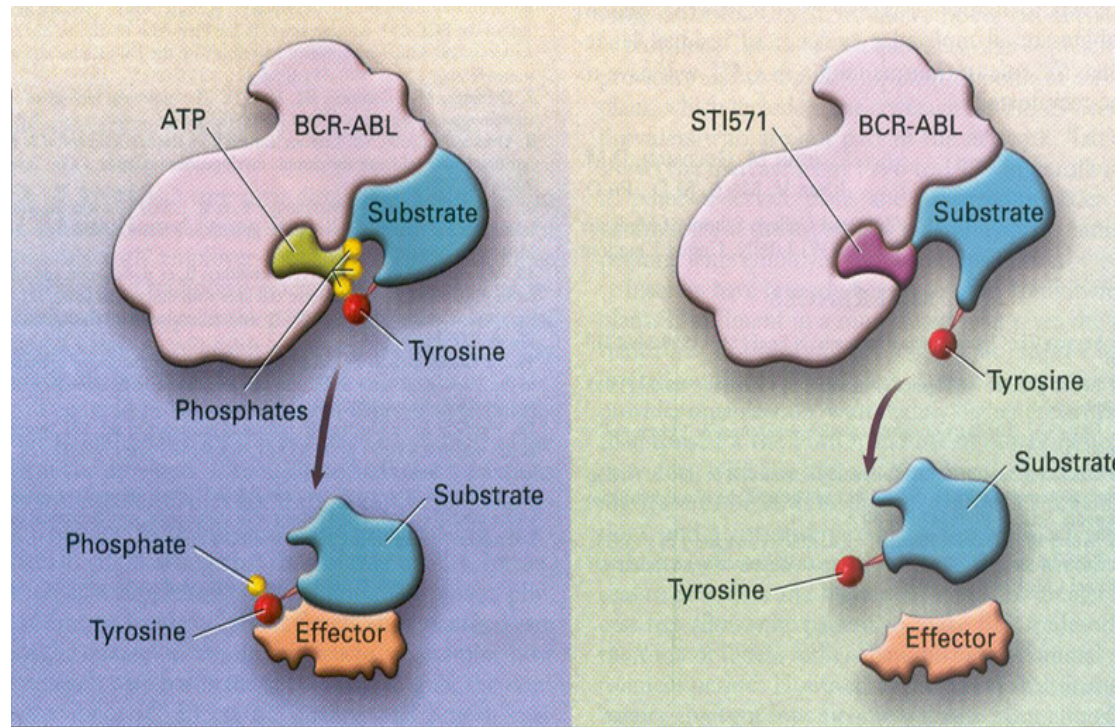


Fig. 9.35
Chronic myeloid leukaemia: chimeric bcr/c-abl mRNA encoded for partly by the bcr (breakpoint cluster region) of chromosome 22 and partly by the c-abl oncogene translocated from chromosome 9 to 22.

Dans la leucémie myéloïde chronique, la translocation génère un produit aberrant qui active continuellement la division cellulaire.

Mécanisme d'action de l'Imatinib

Inhibe la kinase de Abl



Goldman JM, Melo JV. *N Engl J Med.* 2001;344:1084-1086.

Translocation chromosomique concernant Myc

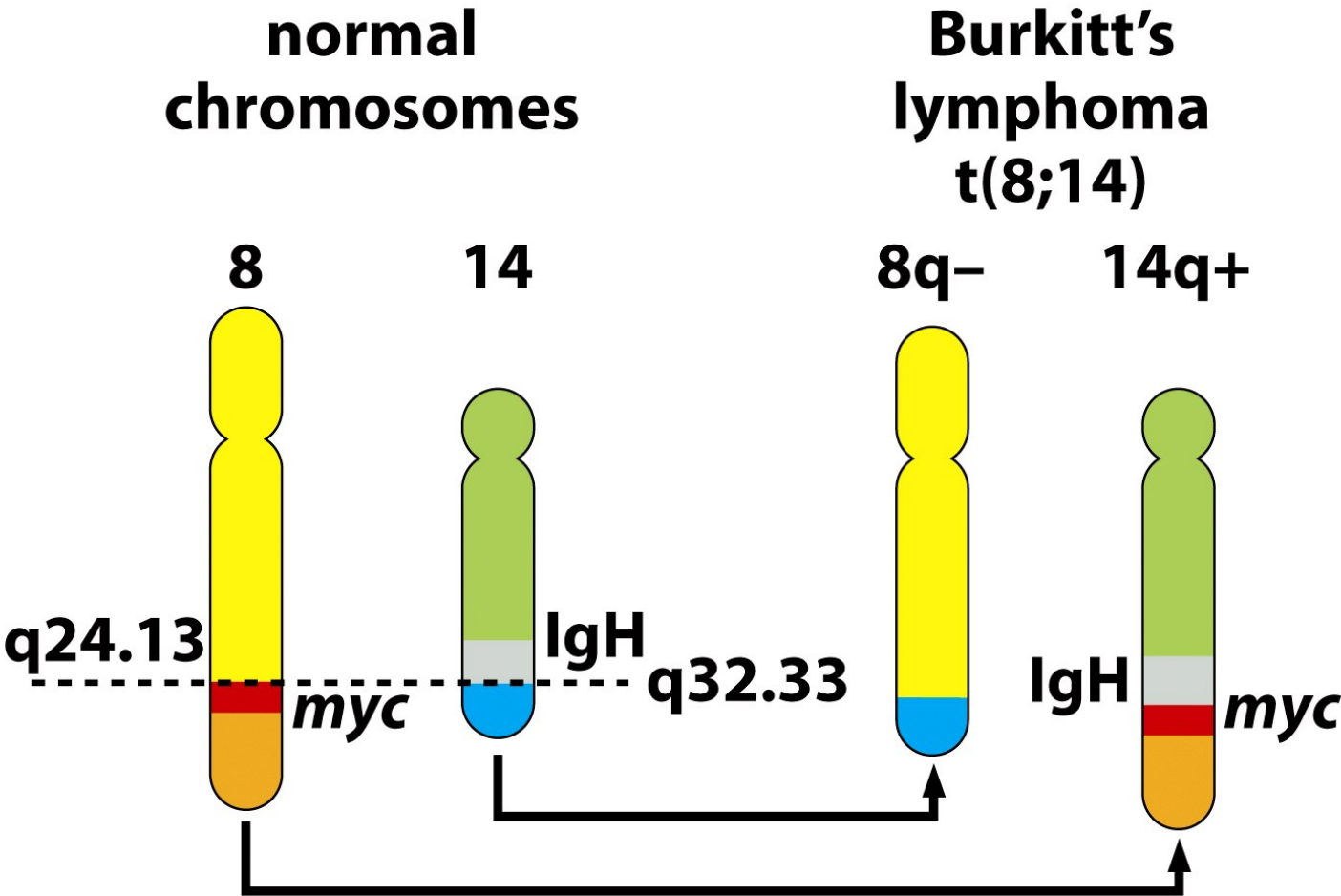
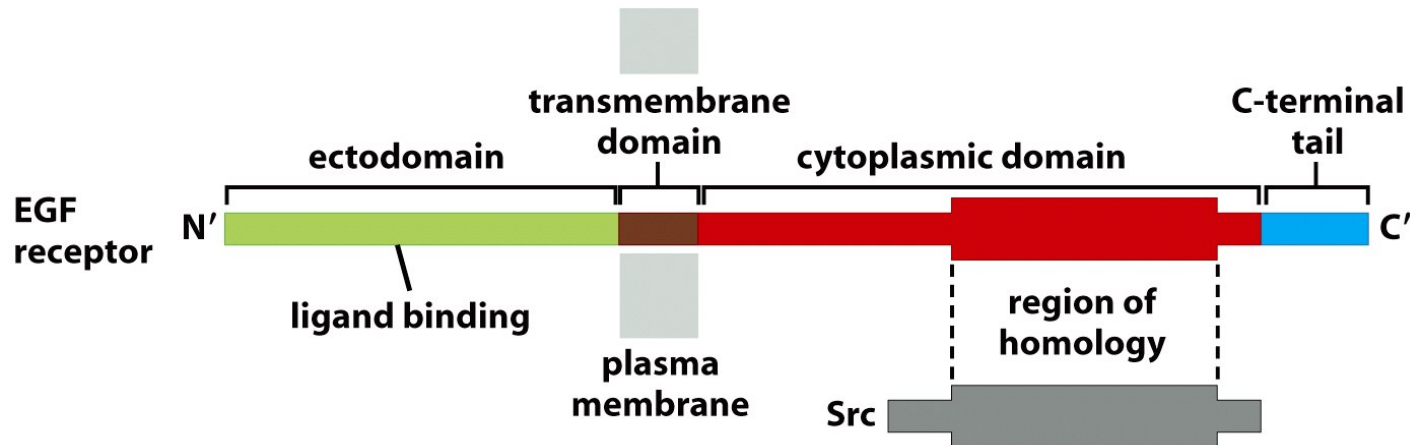


Figure 4.13a *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

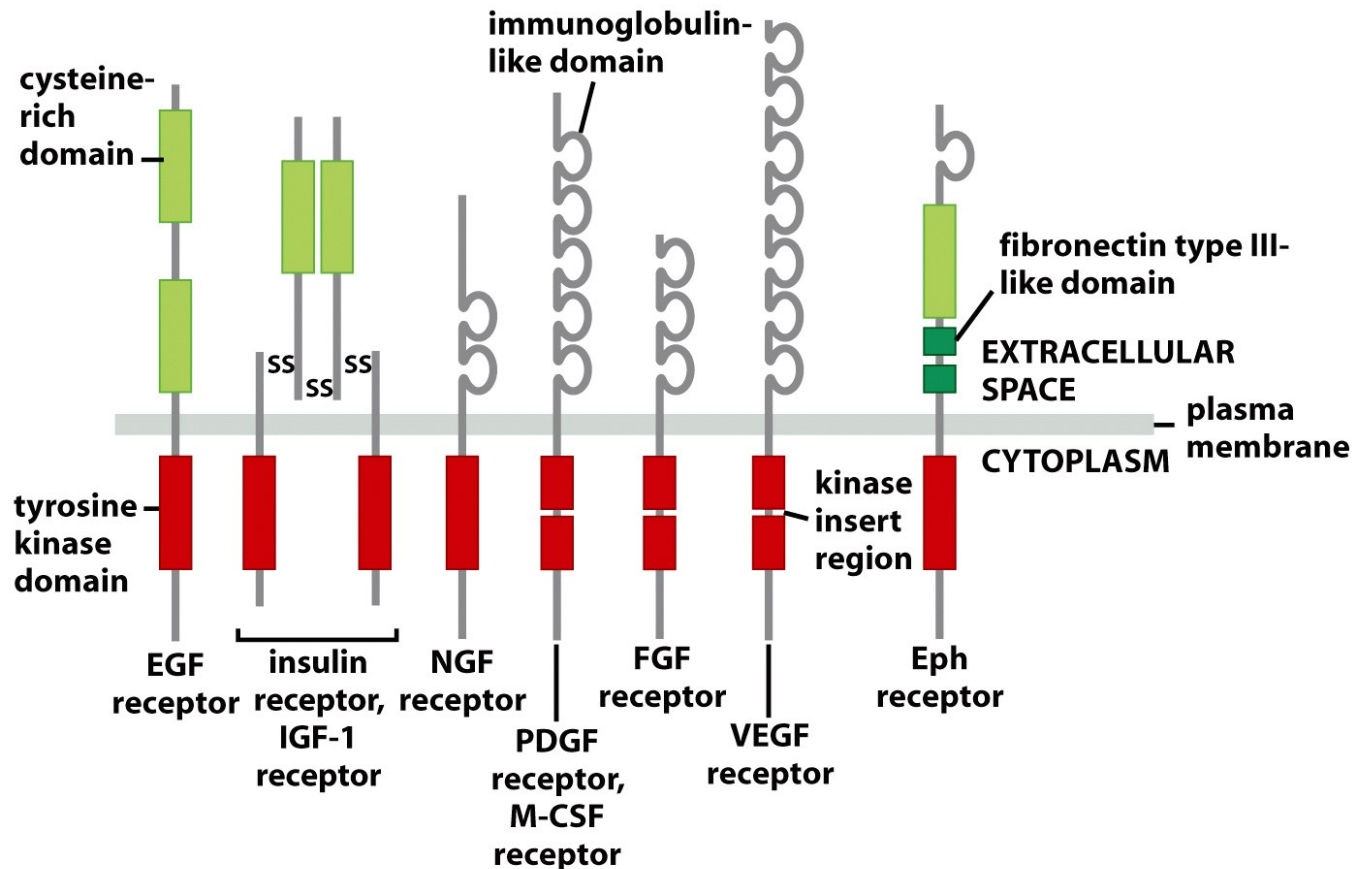
Beaucoup d'addictions oncologiques sont liées aux tyrosines kinases

- EGFR
- ALK
- ROS1
- RET
- HER2
- NTRK
- ...



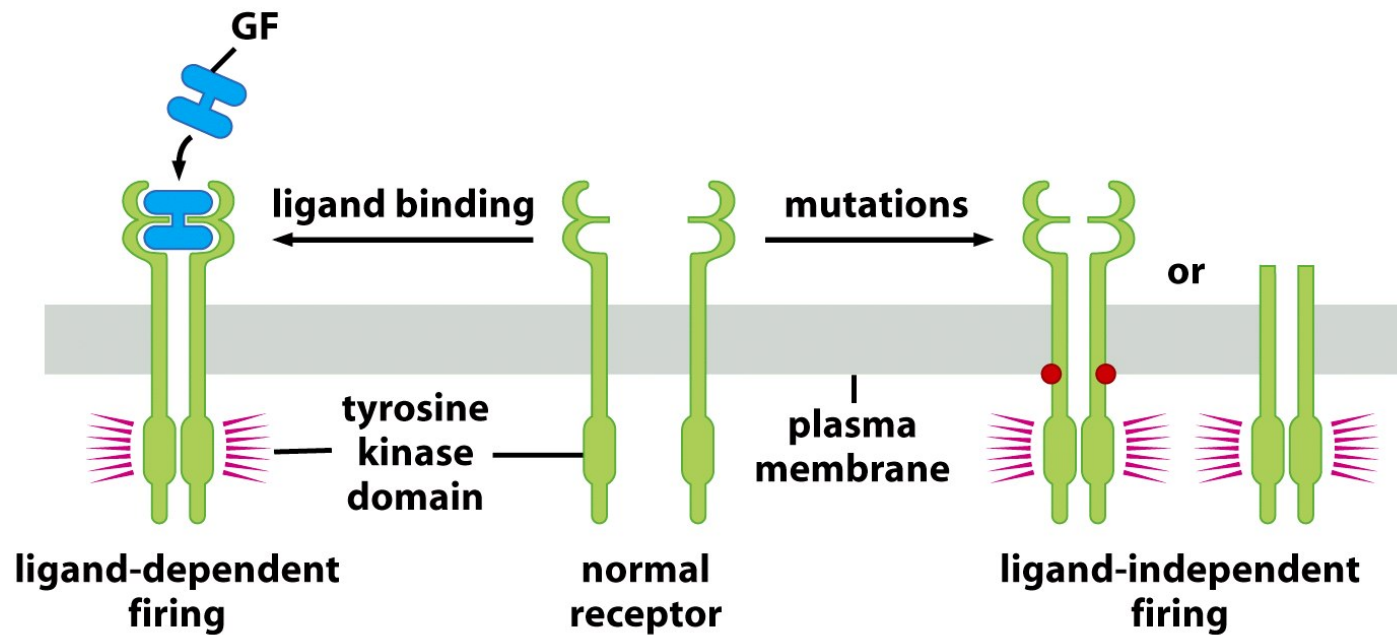
EGFR est constitué d'un domaine extracellulaire, un domaine transmembranaire et un domaine intracytoplasmique.

La partie intracytoplasmique présente une partie dont la séquence est homologue à Src. Et en fait, EGFR transmet un signal de prolifération, tout comme Src, en phosphorylant des tyrosines sur toute une série de protéines cytoplasmiques.



Ce type d'homologie de séquence est observé dans toute une série de tyrosines kinases qui agissent comme des oncoprotéines. Tous ces récepteurs ont des domaines tyrosines kinases semblables, sauf que certains ont une petite région dans le milieu appelée « kinase insert region ». Les domaines extra-cellulaires de ces récepteurs ont des structures très diverses reflétant le fait qu'ils reconnaissent des ligands divers et variés.

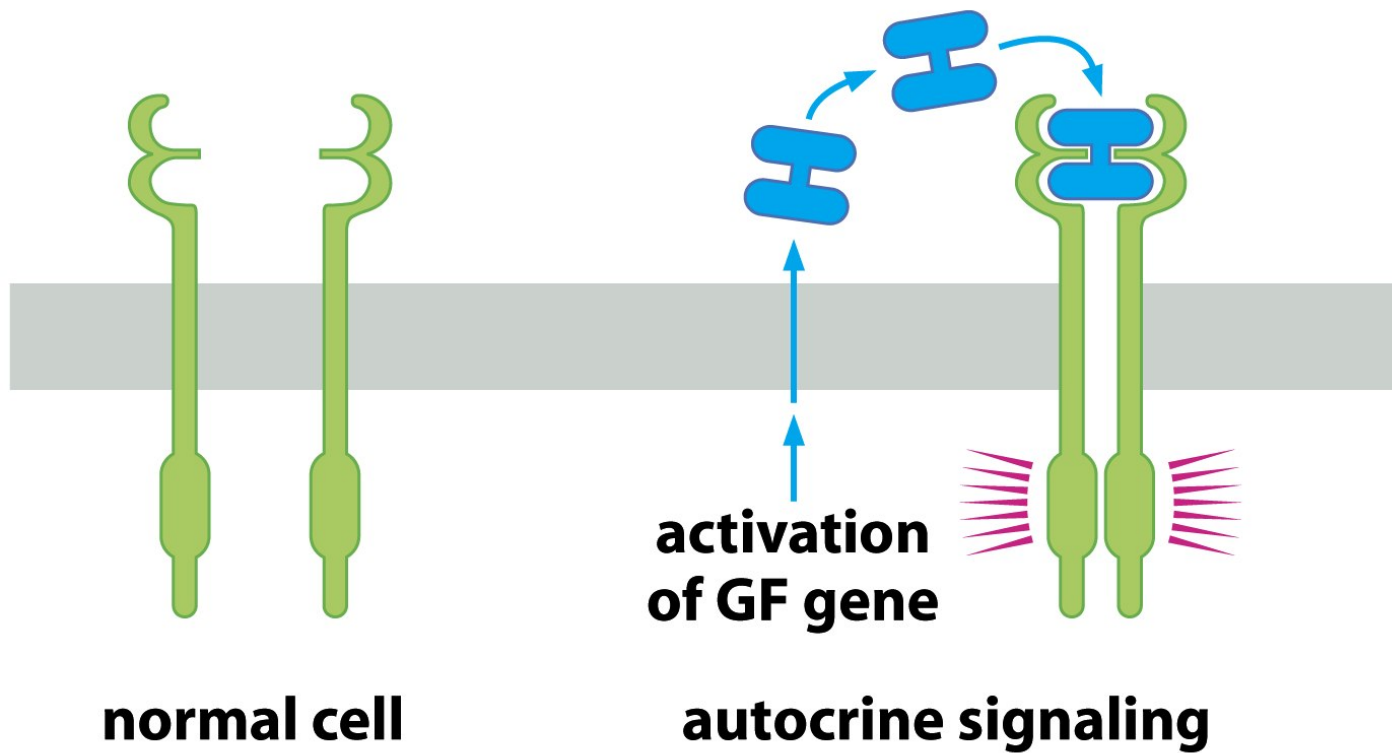
Figure 5.10 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)



Normalement le récepteur a besoin d'être stimulé par le ligand pour envoyer son message de croissance.

Dans certains cas, suite à une mutation ou une partie extracellulaire tronquée, le récepteur peut envoyer le message de croissance de manière constitutionnelle et indépendante du ligand.

C'est ce qui explique que les cellules cancéreuses soient autosuffisantes pour leur croissance.



Normalement, une cellule ne sécrète pas elle-même le ligand/facteur de croissance qui peut stimuler son propre récepteur de croissance.
Dans le cas des tumeurs, elles deviennent capable de sécréter elles-même leurs facteurs de croissance, créant une boucle autocrine.

Un autre type d'anomalie de ces récepteurs dans le cancer est la surexpression

- Cela peut être dû à différents mécanismes:
 - Le gène qui l'encode est anormalement fort transcrit
 - Le gène est amplifié
 - Augmentation de leur temps de vie à la surface de la cellule avant leur endocytose dans des vésicules intracytoplasmiques dont le contenu est ensuite soit envoyé dans les lysosomes pour y être dégradé ou bien recyclé à la surface des cellules

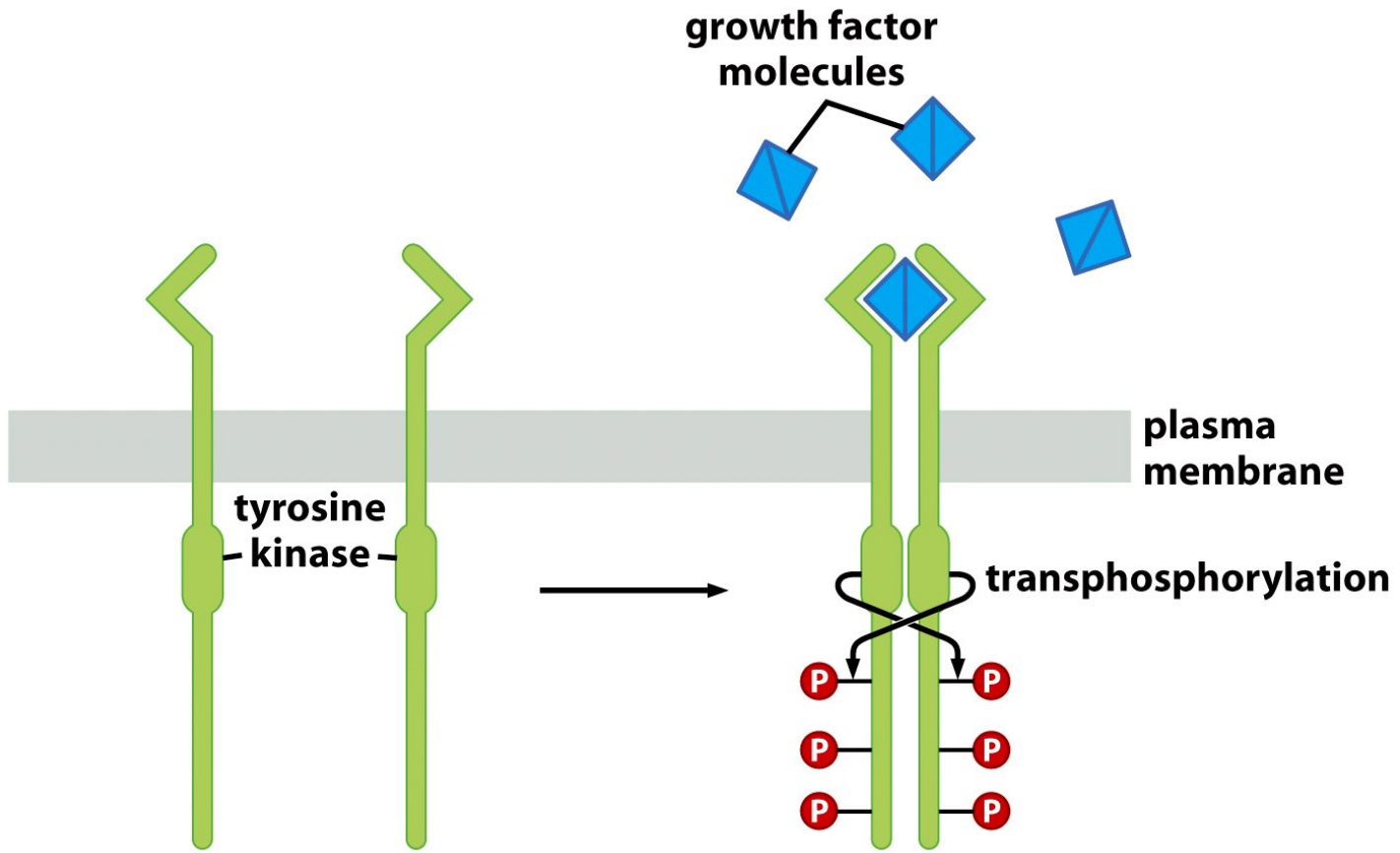
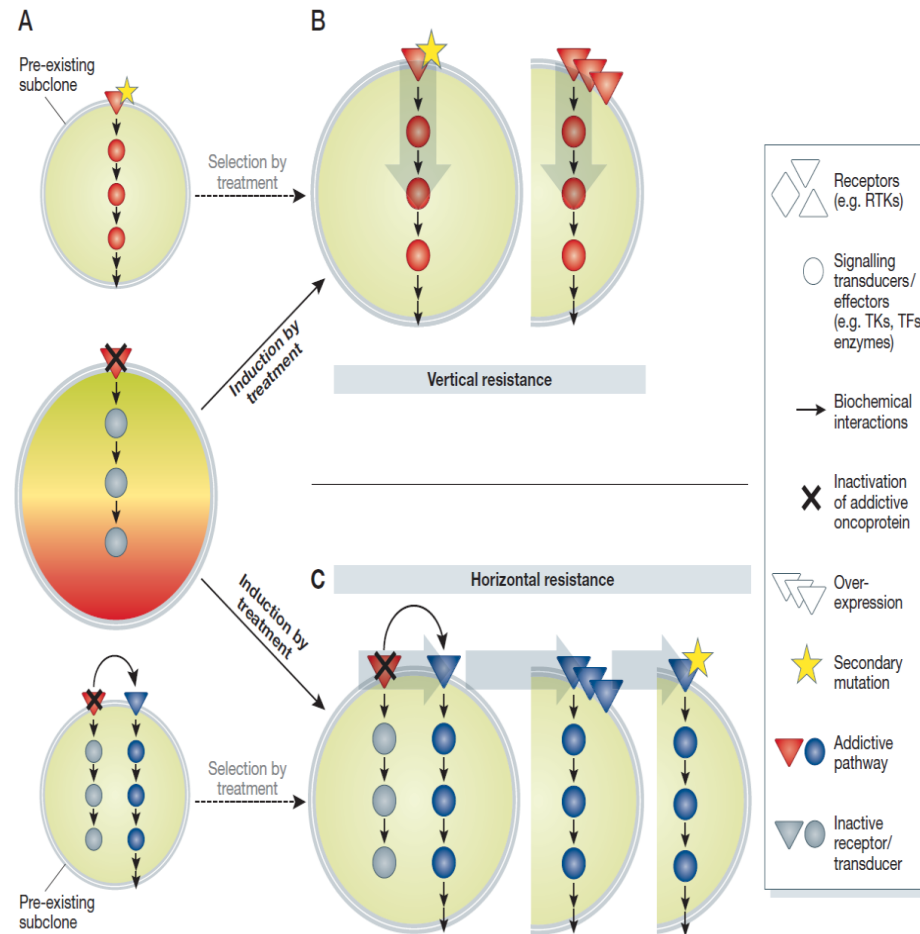


Figure 5.15 *The Biology of Cancer* (© Garland Science 2007)

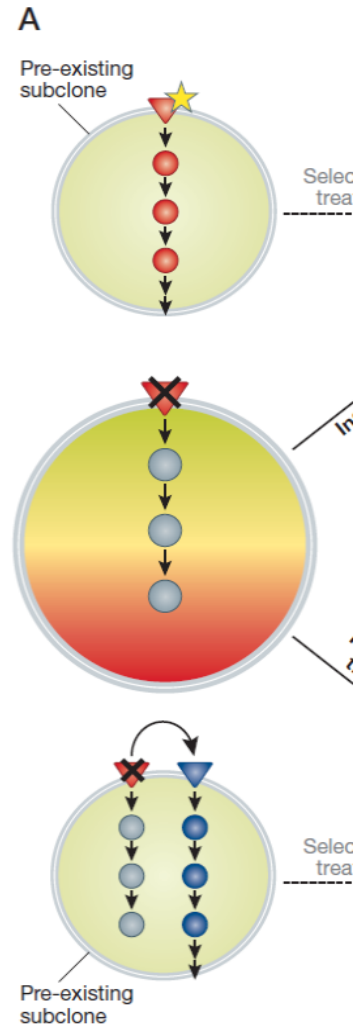
Un thème commun: l'émergence de résistance secondaire

- Après une rémission très significative mais transitoire, les patients deviennent insensibles au médicament
- Les mécanismes principaux sont:
 - Nouvelle mutation dans l'oncogène avec substitution d'acide aminé et encombrement de la poche liant l'ATP, interférant avec l'insertion de la drogue dans la poche
« gatekeeper mutation »
 - D'autres oncogènes peuvent subir une altération génétique et produire un signal aberrant parallèle en bypass de la cible inhibée

Resistance models

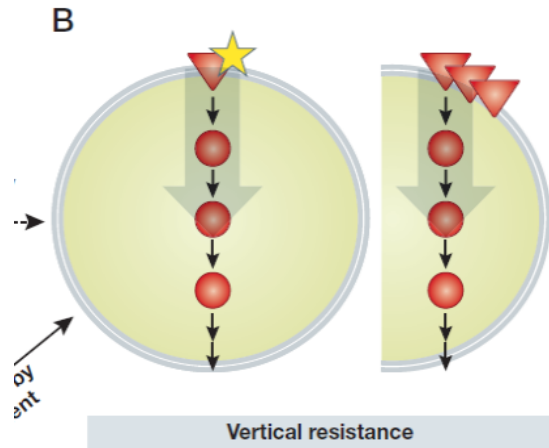


Primary resistance

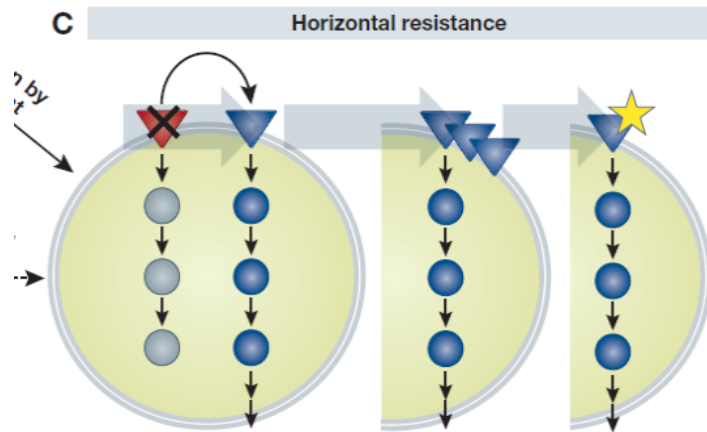


- Hétérogénéité de la tumeur
- Addiction à l'oncogène n'est pas homogène dans la tumeur
- Des sous-clones insensibles au médicament peuvent coexister avec les cellules sensibles

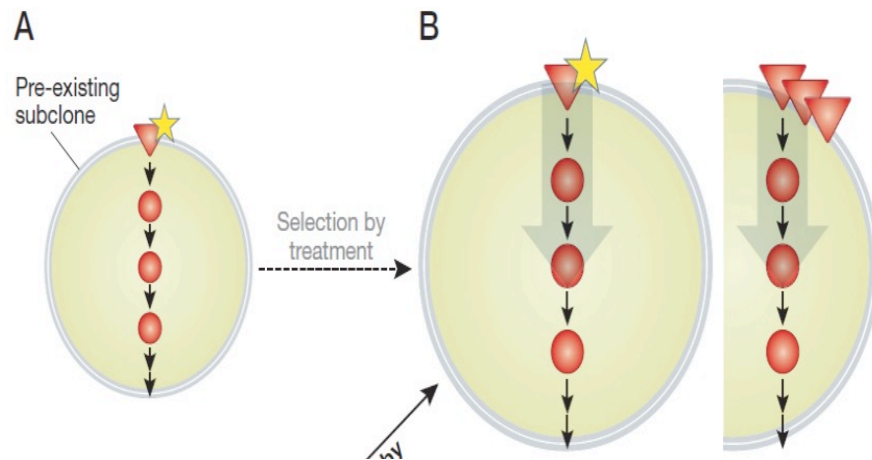
Secondary resistance



- Dans le contexte de l'instabilité génétique, le traitement ciblé des cellules peut résulter en une résistance secondaire par acquisition d'une nouvelle mutation ou d'une amplification



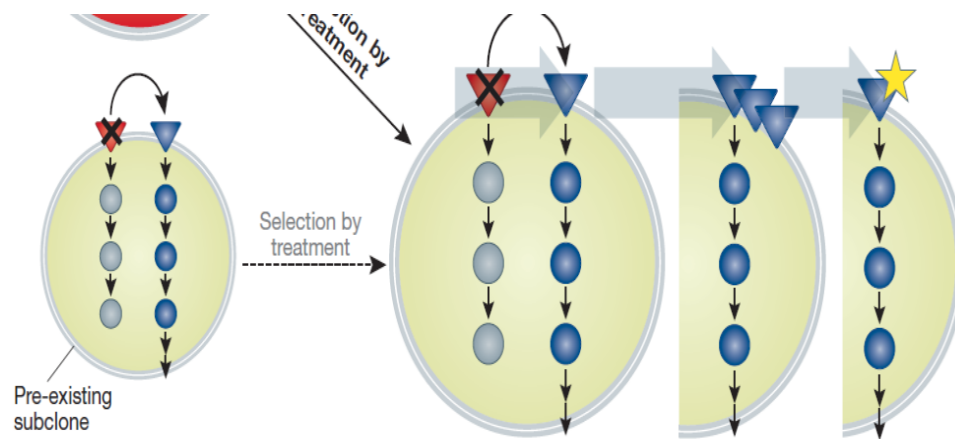
Vertical resistance



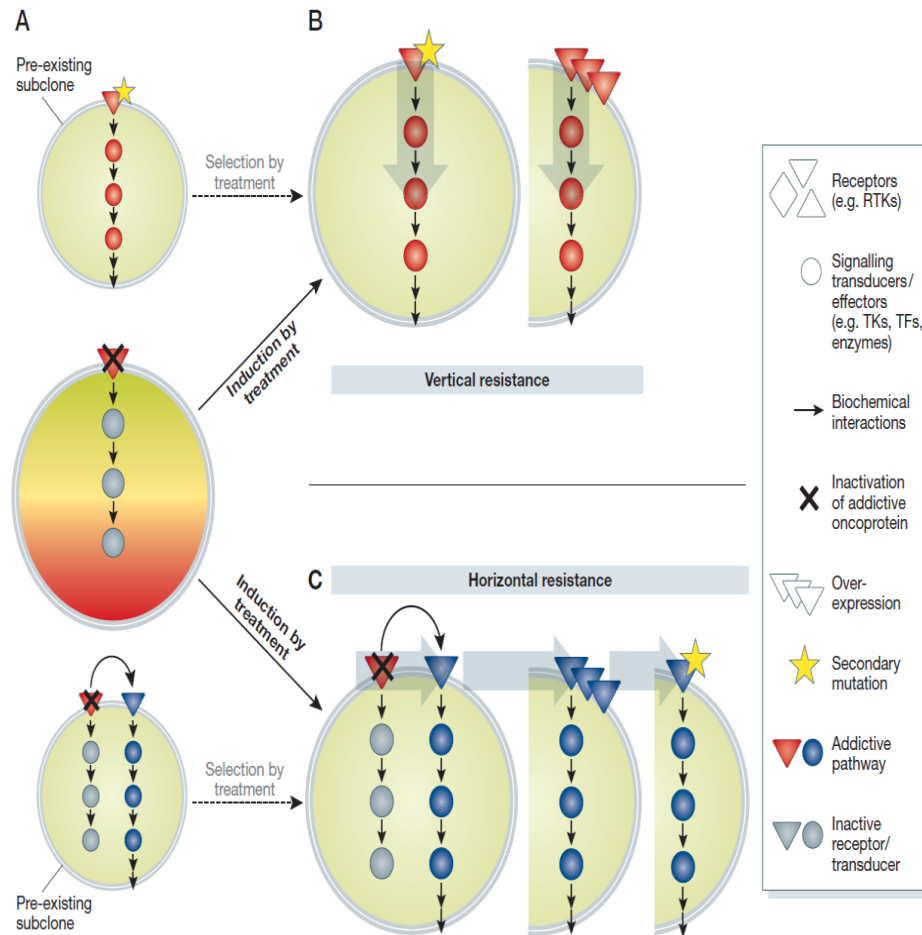
- Ceci peut se produire de manière verticale:
 - Altération impliquant des effecteurs en aval de l'addiction oncogénique mais dans la même voie oncogénique

Horizontal resistance

- Ou de manière horizontale,
- Un axe parallèle contourne la voie bloquée par la cible

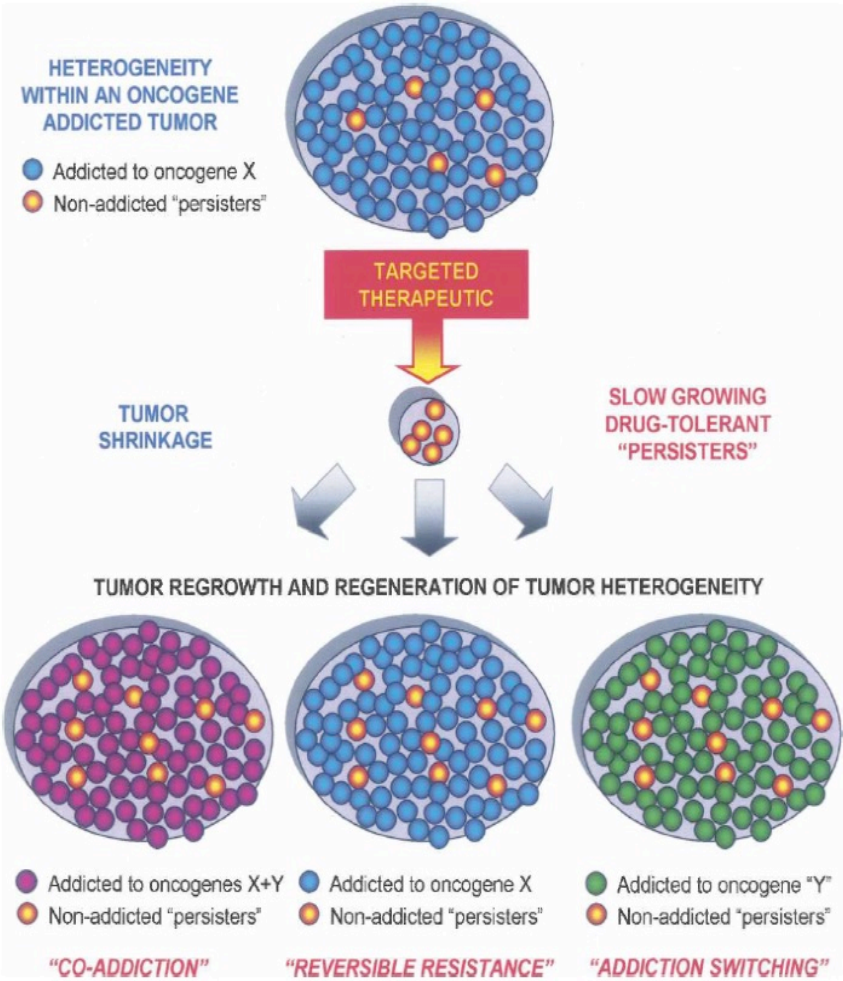


Resistance models



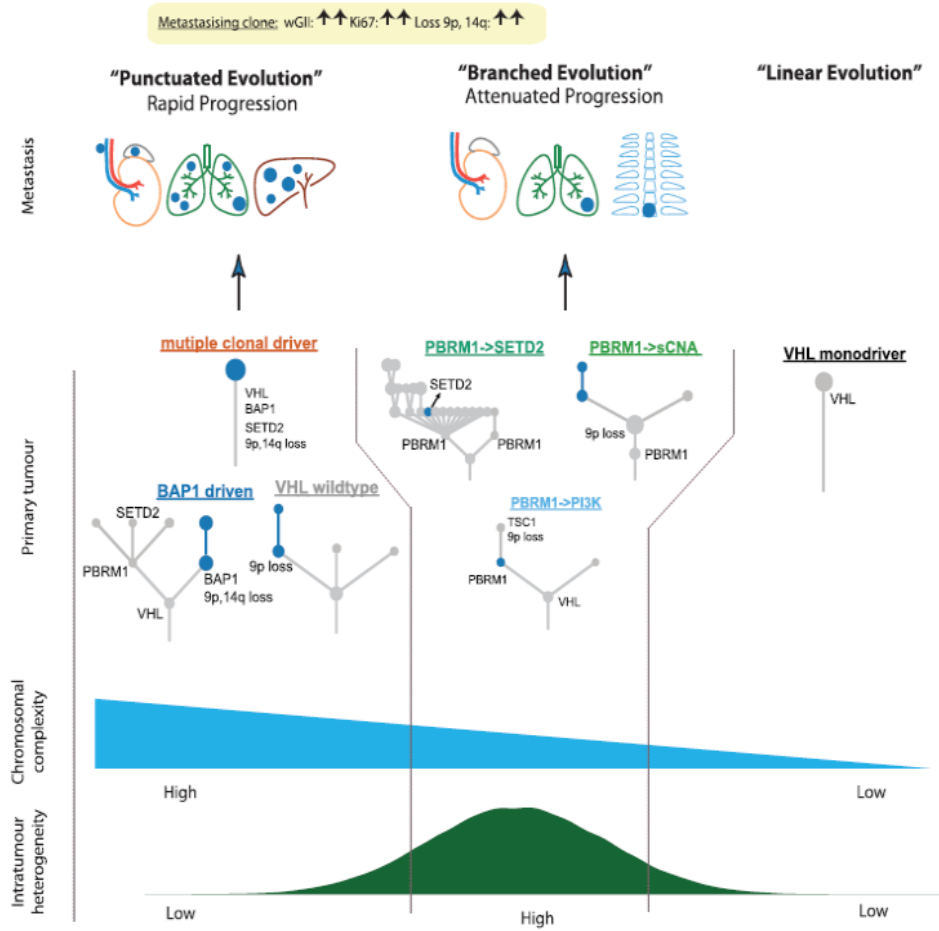
- Si des clones résistants sont déjà présents au début du traitement, ceux-ci pourraient être sélectionnés par l'exposition au traitement jusqu'à ce que ces cellules résistantes deviennent majoritaires et créent une résistance « acquise »

Tumour heterogeneity and resistance



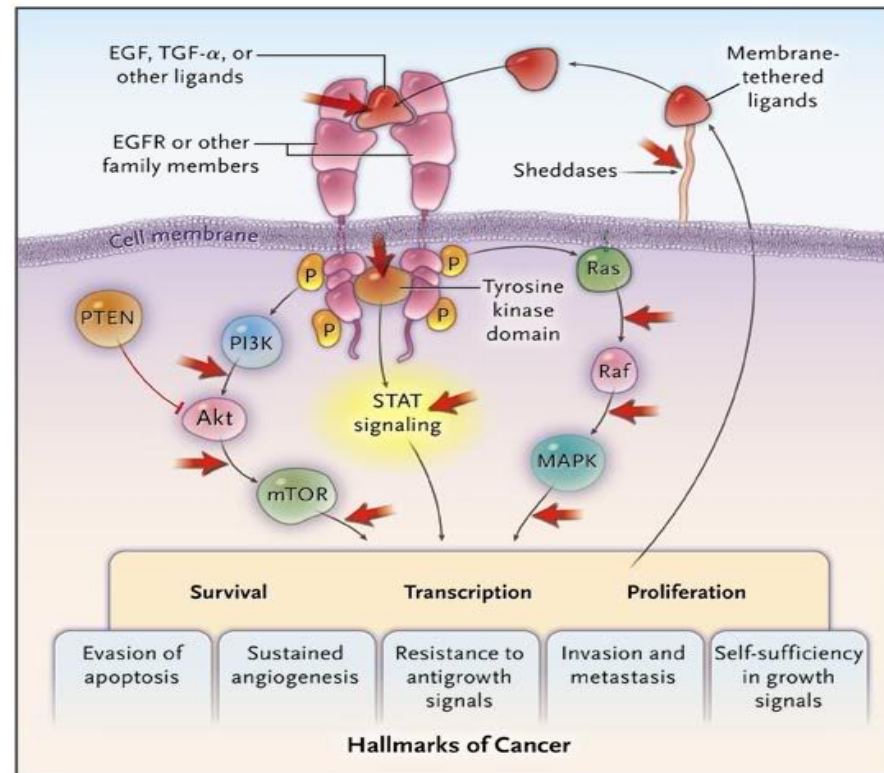
Sharma SV et al, Genes and dev 2007

Evolution to metastasis



Turajlic S et al, Cell 2018

EGFR : voies métaboliques



Gazdar A, NEJM, 2009

Mutations associated with sensitivity

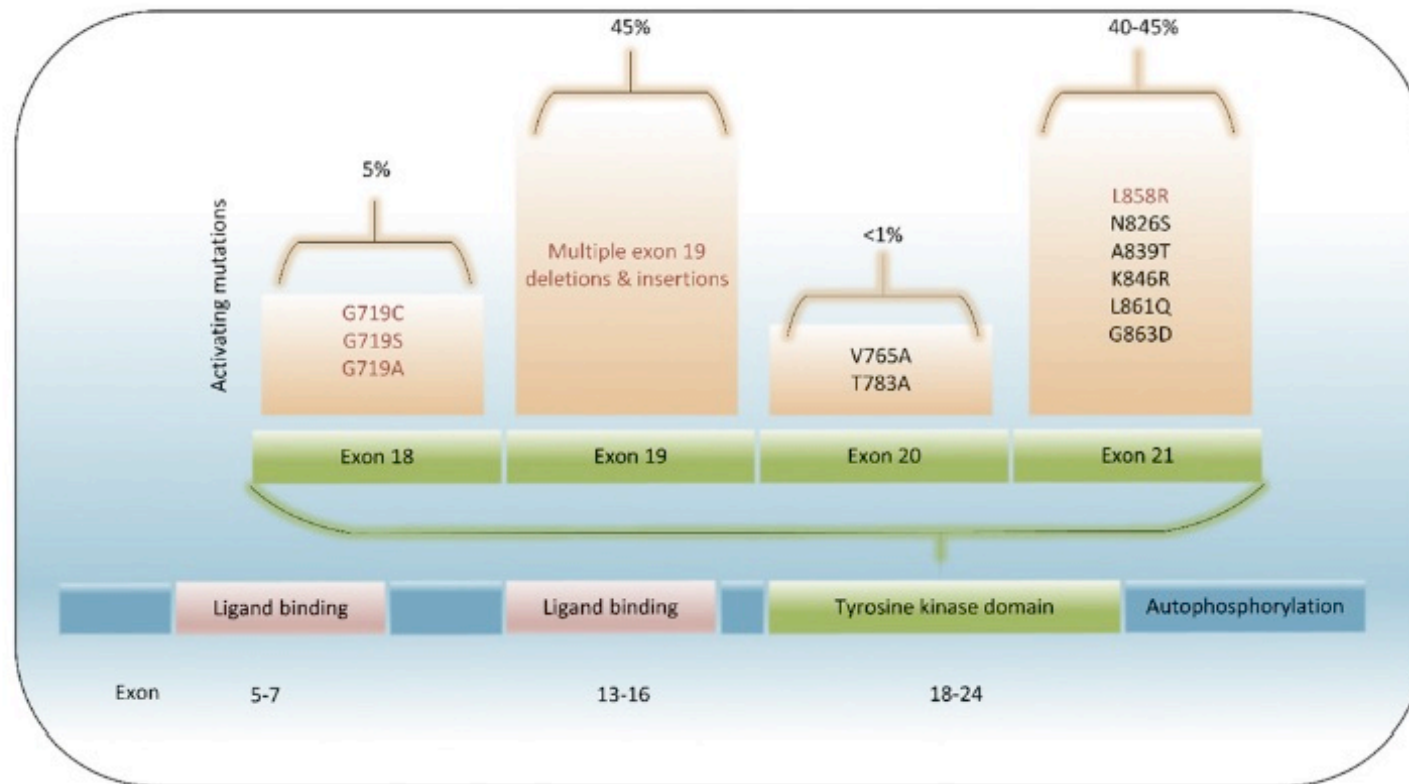


Fig. 4. Mutations associated with increased drug sensitivity modified from (Sharma et al., 2007).

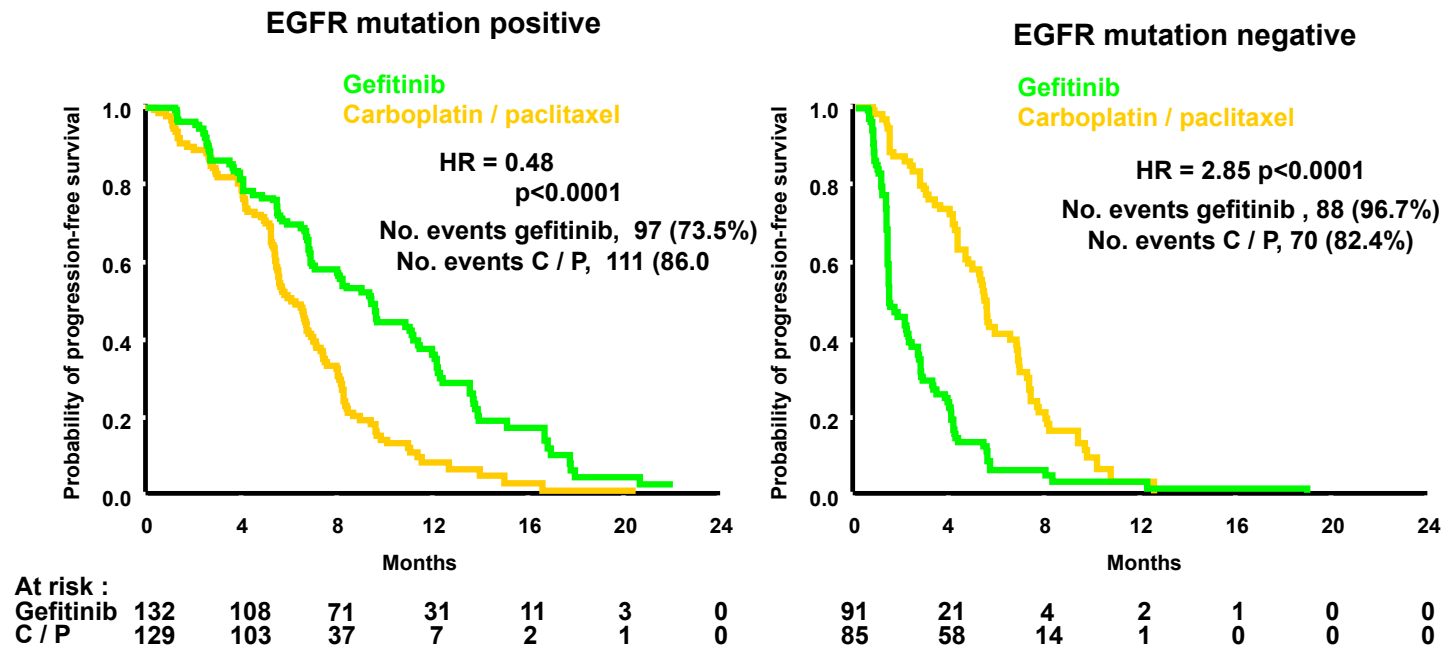
Characteristics of Patients with *EGFR* Gene Mutations

- **Females**
- **Adenocarcinoma**
- **Asian**
- **Non-smokers**



Only 60% of patients with these characteristics will have an *EGFR* mutation

IPASS: Progression-Free Survival in *EGFR* Mutation Positive and Negative Patients



Treatment by subgroup interaction test, p < 0.0001

Fukuoka et al. Proc ASCO, 2009

Mutations associated with resistance

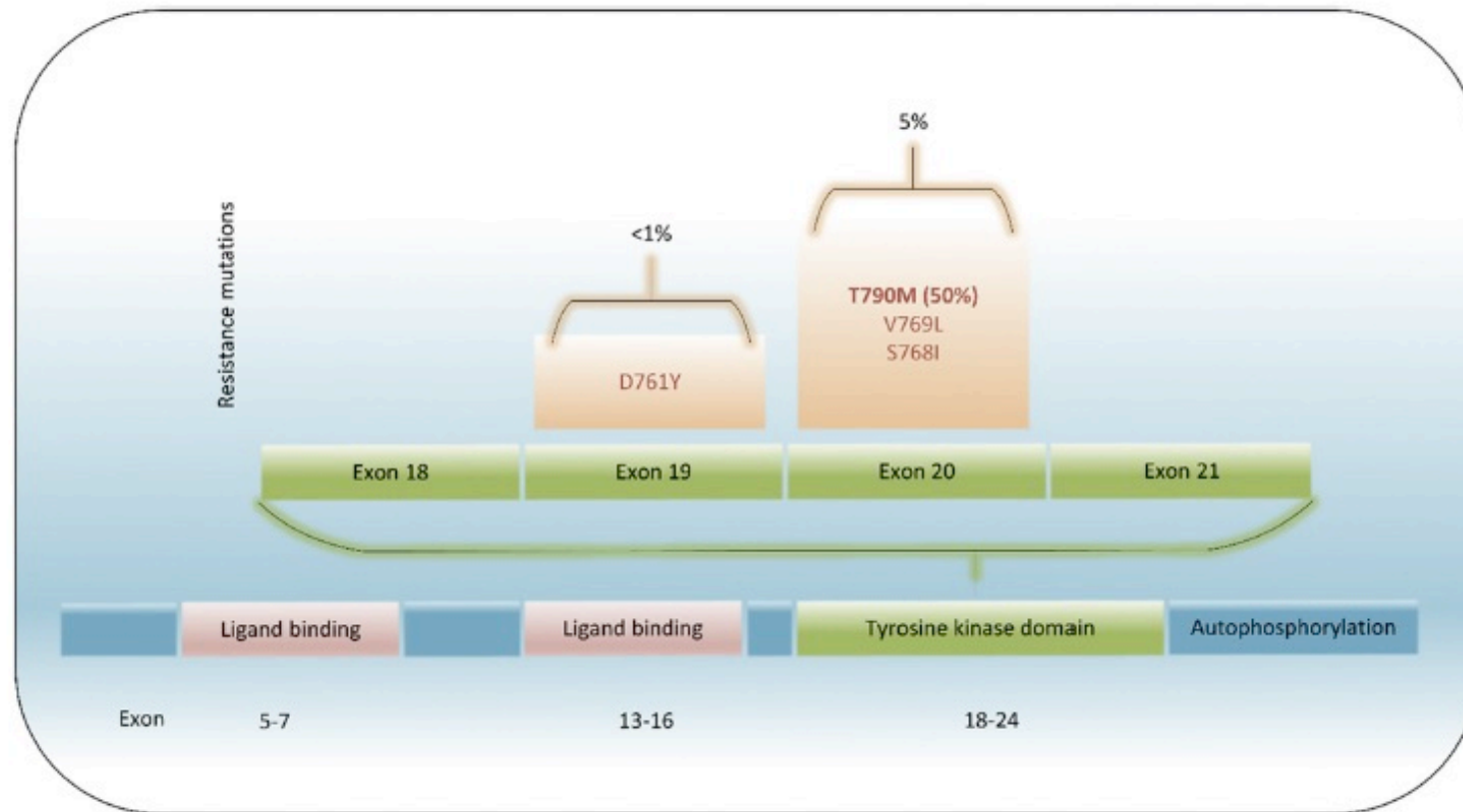
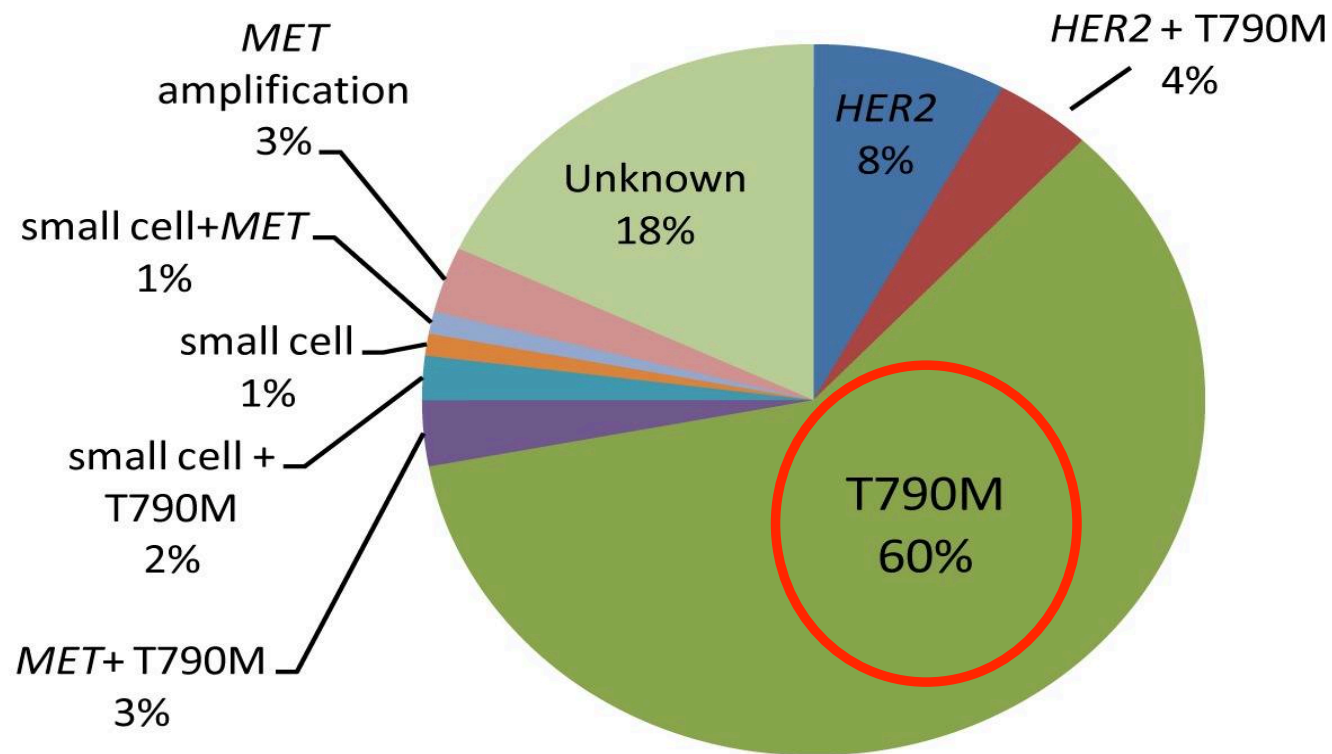
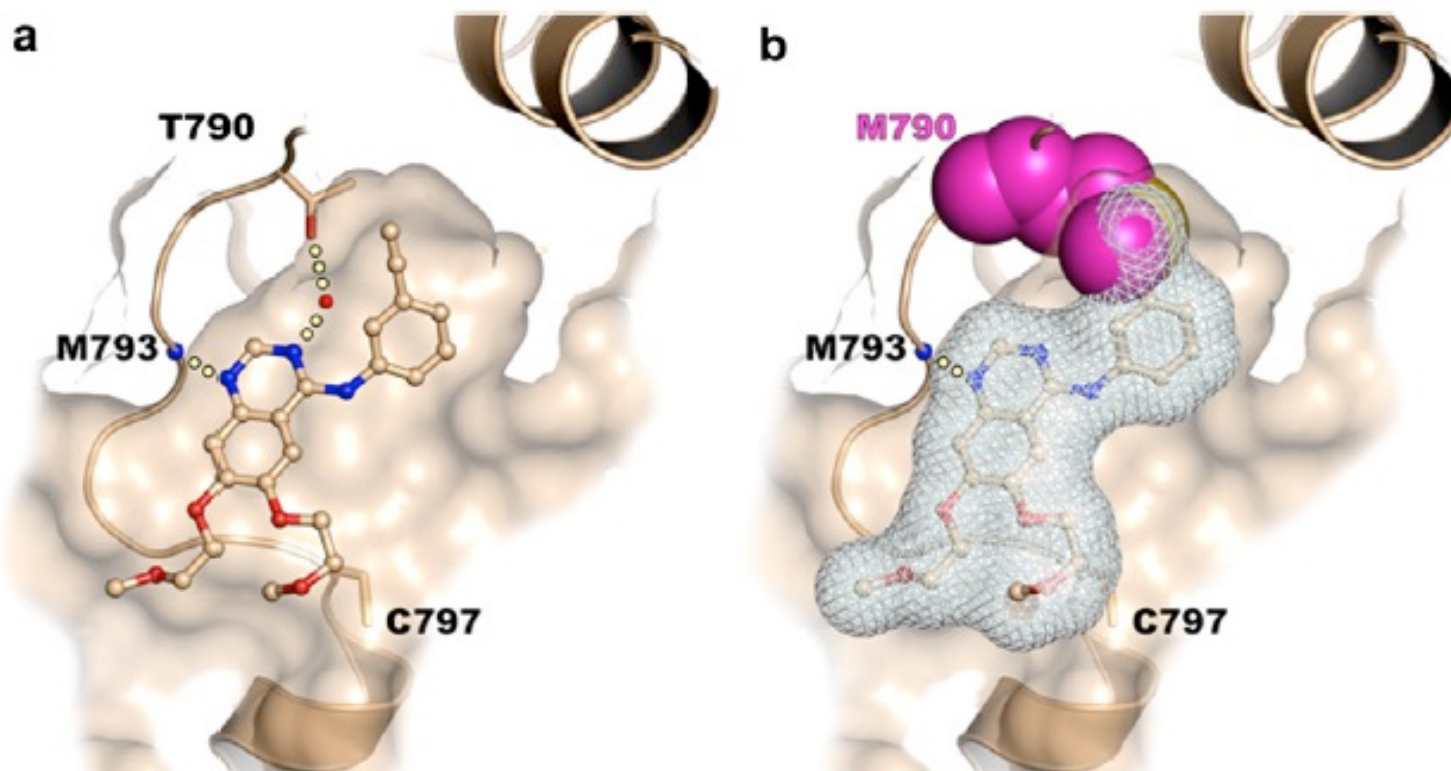


Fig. 6. Drug resistance mutations modified from (Blackhall et al., 2005; Sharma et al., 2007).

Mechanisms of Resistance to EGFR TKI Therapy



T790M induced resistance to EGFR TKI 1G



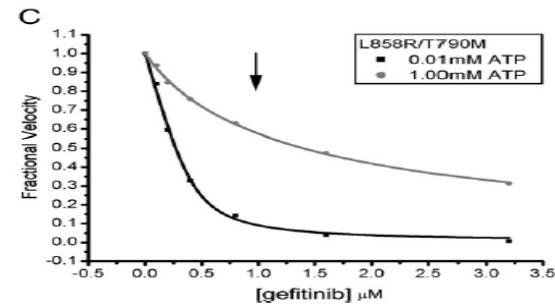
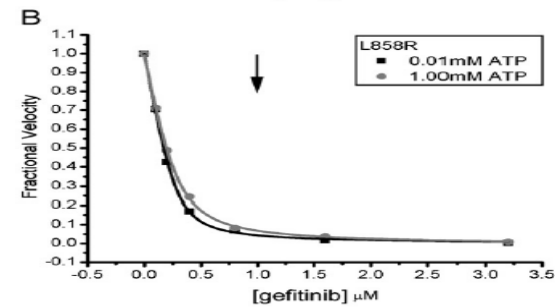
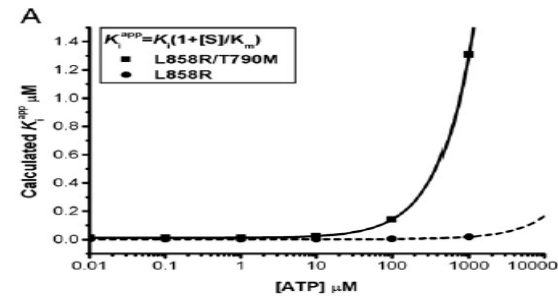
The threonine, the gatekeeper residue that lies in the back of the ATP-kinase-binding pocket, is replaced by a bulkier methionine, that sterically blocks drug binding

Resistance to EGFR TKIs 1G in T790M

Table 1
IC₅₀-values of Gefitinib and Erlotinib (from EMA).

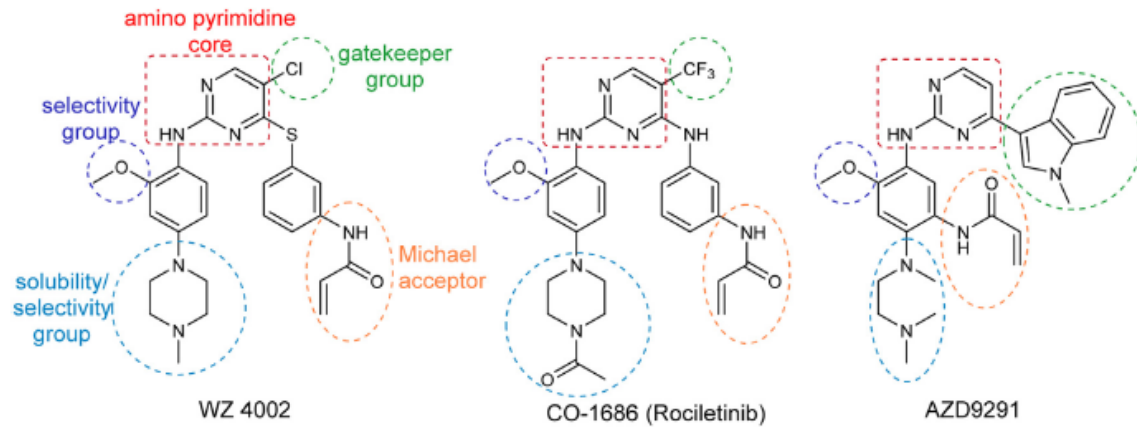
Mutation	Exon	IC ₅₀ -value (nM)	
		Gefitinib	Erlotinib
L858R	21	12	6
G719S	18	68	16
WT	-	270	490
T790M	20	>2000	>2000

Juchum et al, Drug Resistance Update, 2015



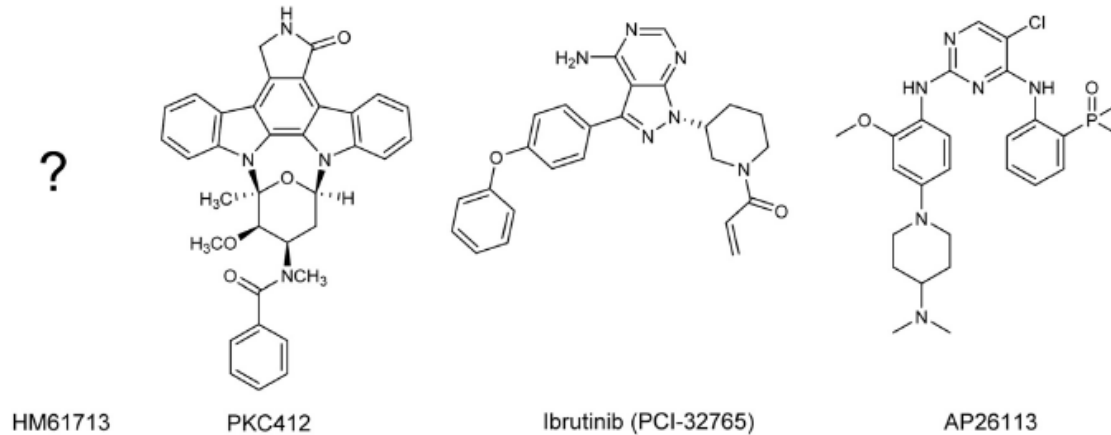
Eck et al, Biochimica and Biophysica Acta, 2010

EGFR TKI 3G : anulino-pyrimidine

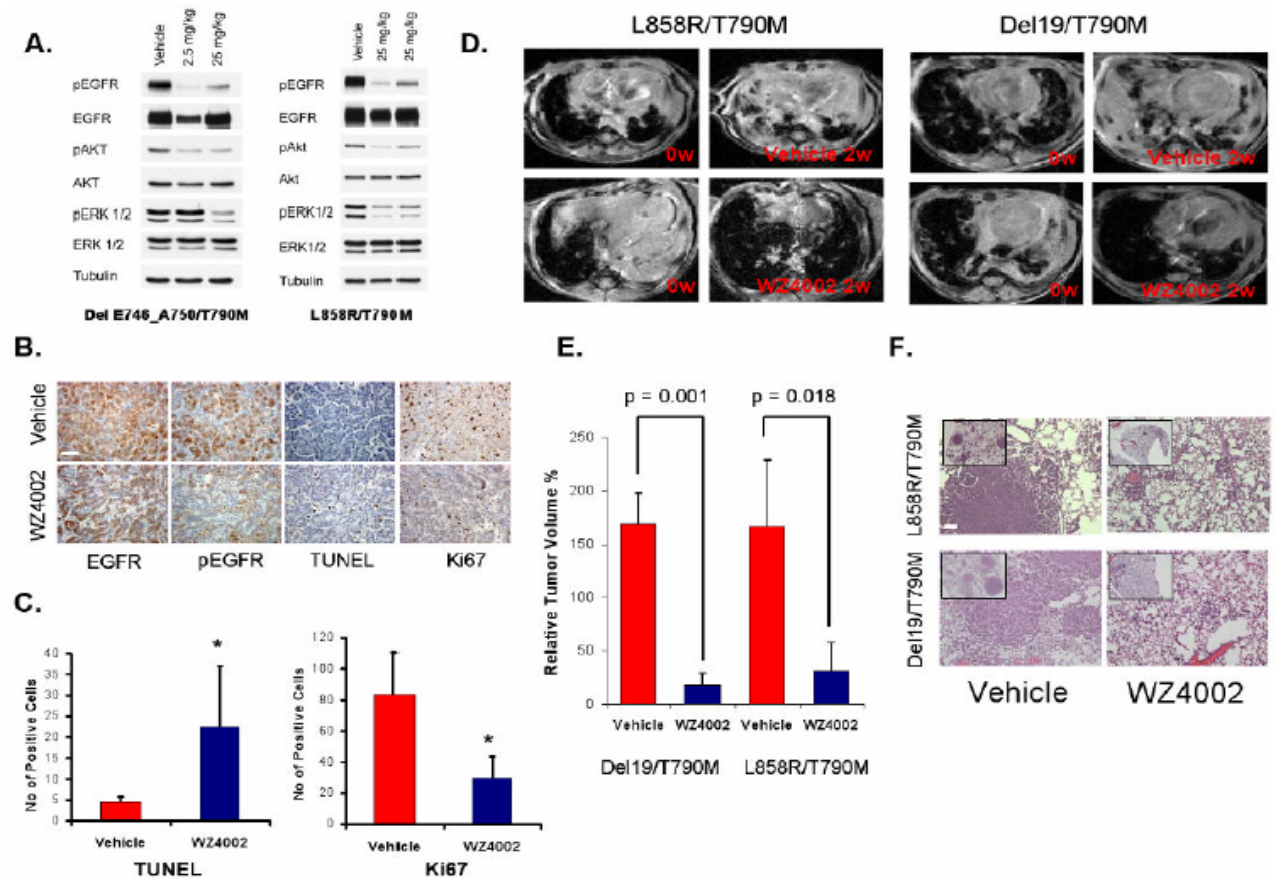


The Michael acceptor of EGFR TKI 3G can covalently alkylate the ATP binding site of the EGFR.

The covalent bond facilitates the occupation of the ATP site by these irreversible inhibitors

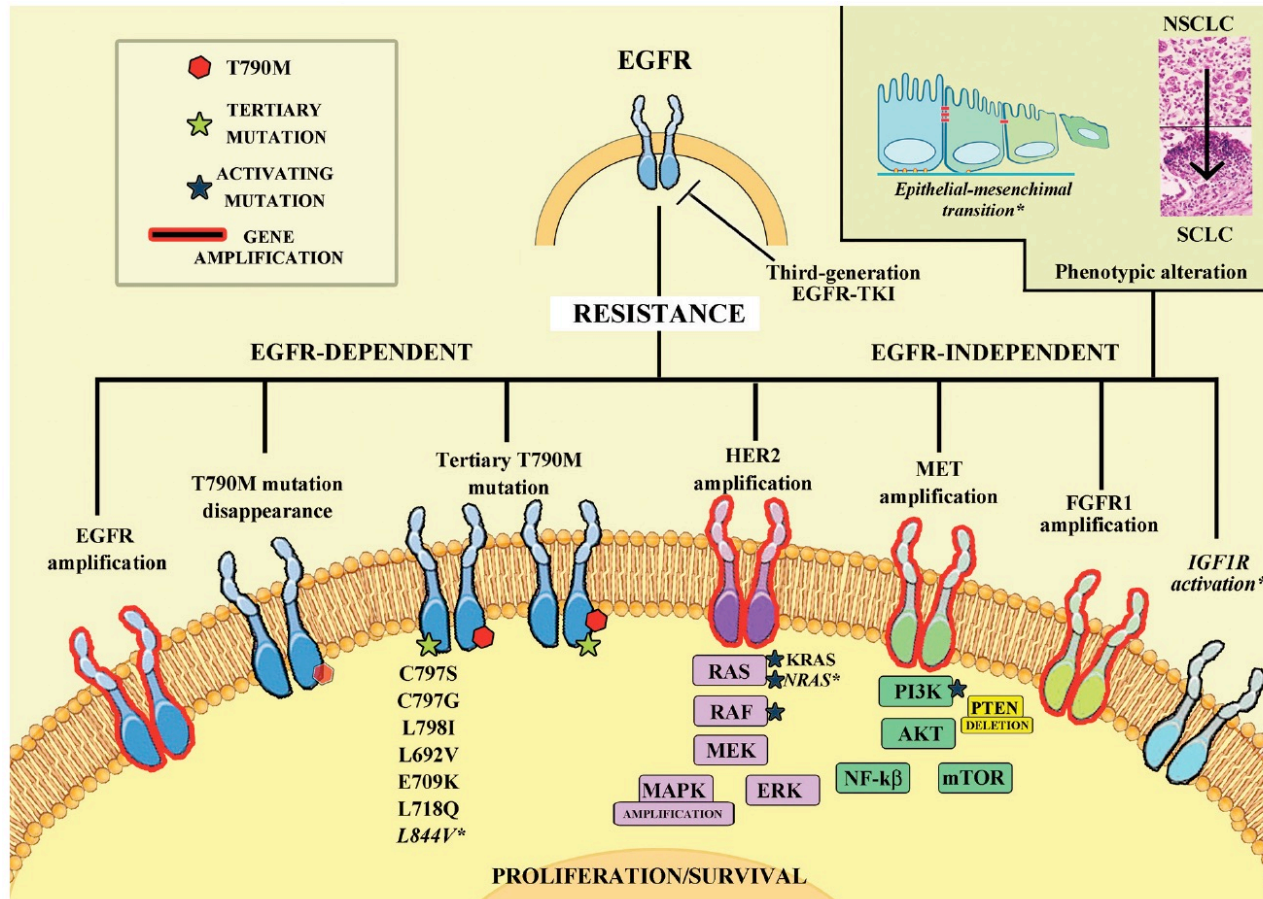


Discovery of EGFR mutant selective inhibitor against EGFR T790M



New agents are 30–100 x more potent against T790 M and up to 100 fold less potent against WT EGFR

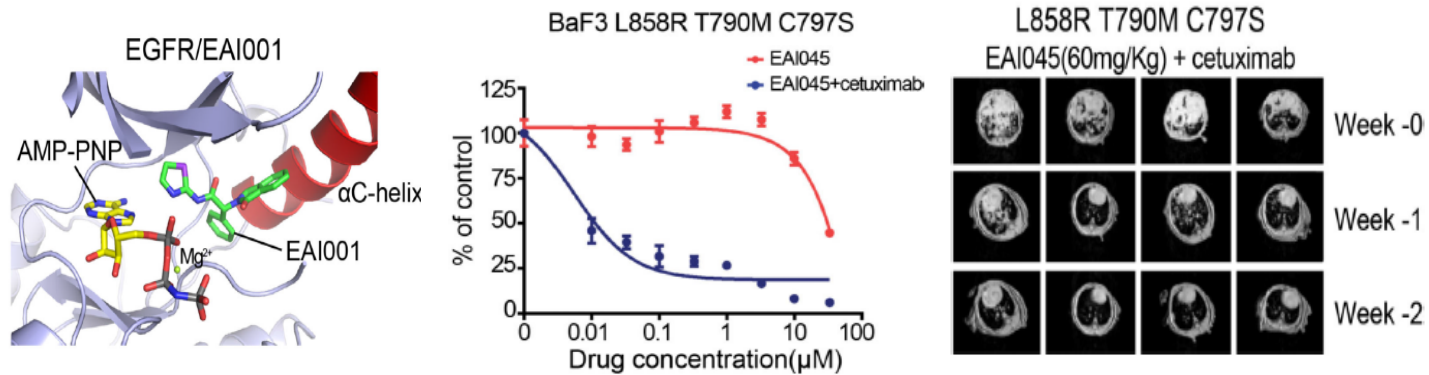
Resistance to osimertinib



Minari, *Transl Lung Cancer* 2016

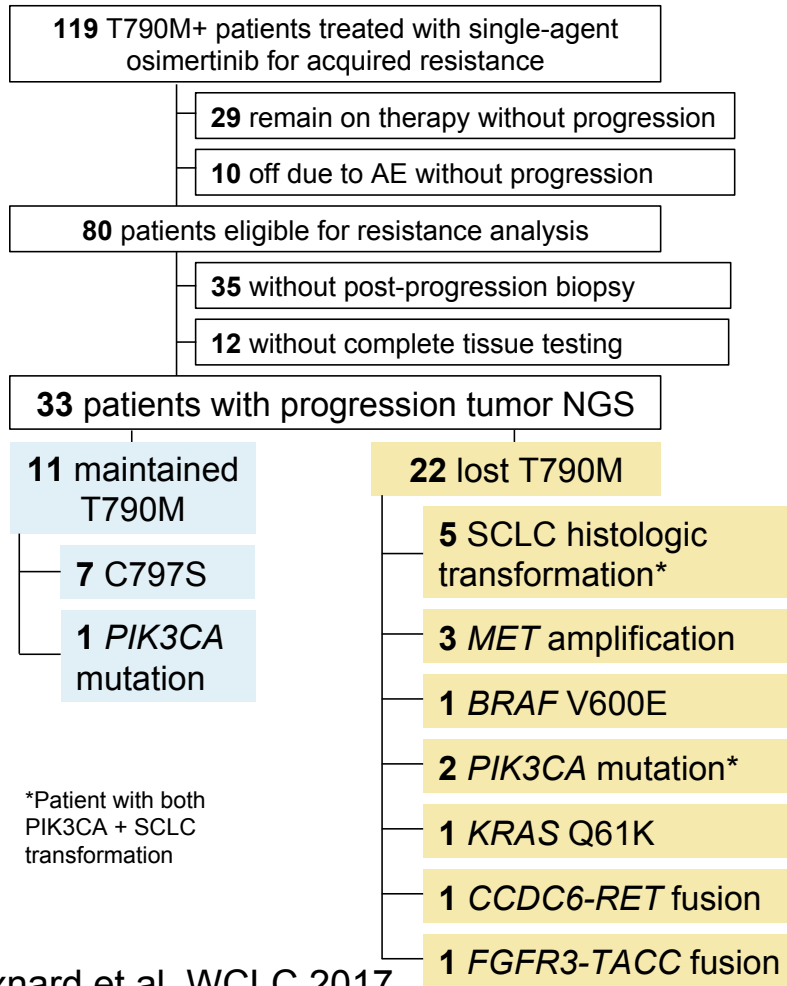
EGFR TKI 4G

EAI045 targets T790M and C797S EGFR mutants



EAI045 + cetuximab is effective in mouse models of lung cancer driven by L858R/T790M/C797S EGFR

Resistance mechanisms found on tumor NGS



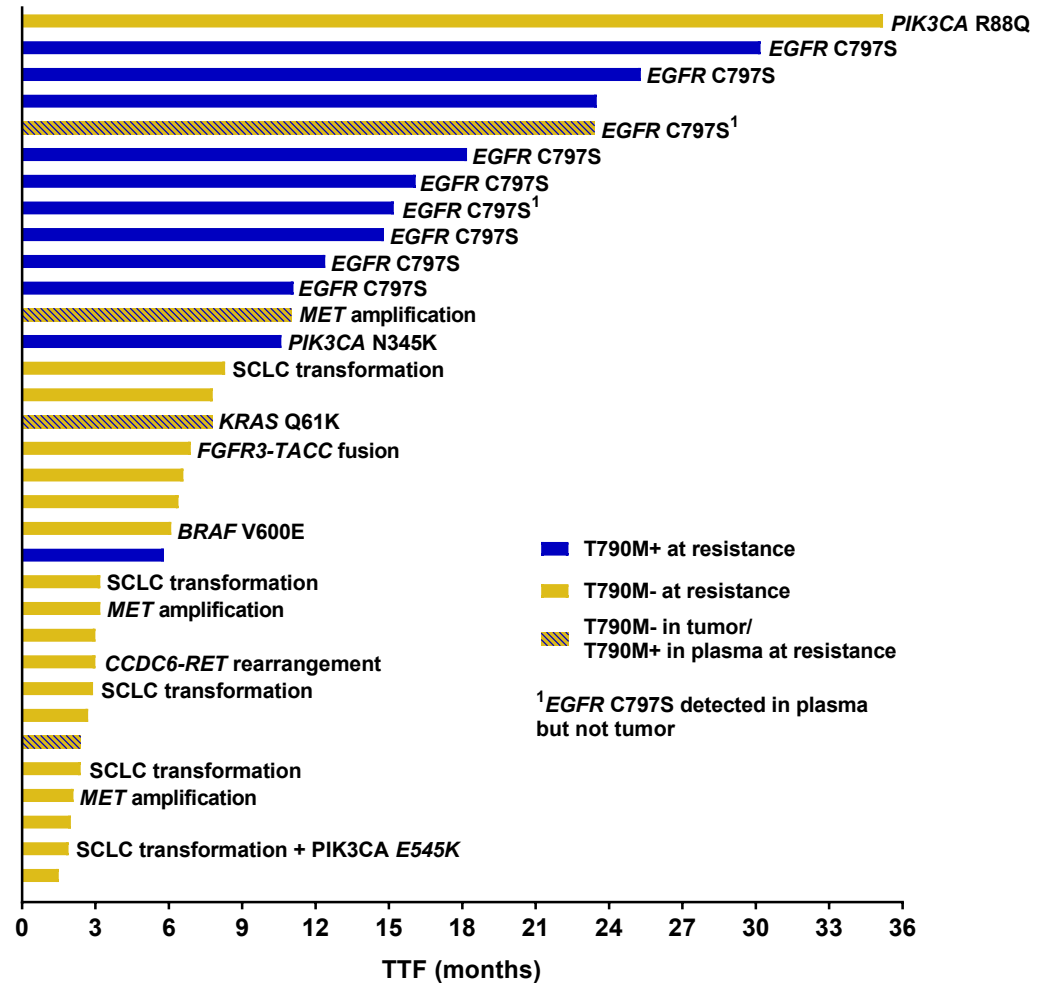
G. Oxnard et al, WCLC 2017

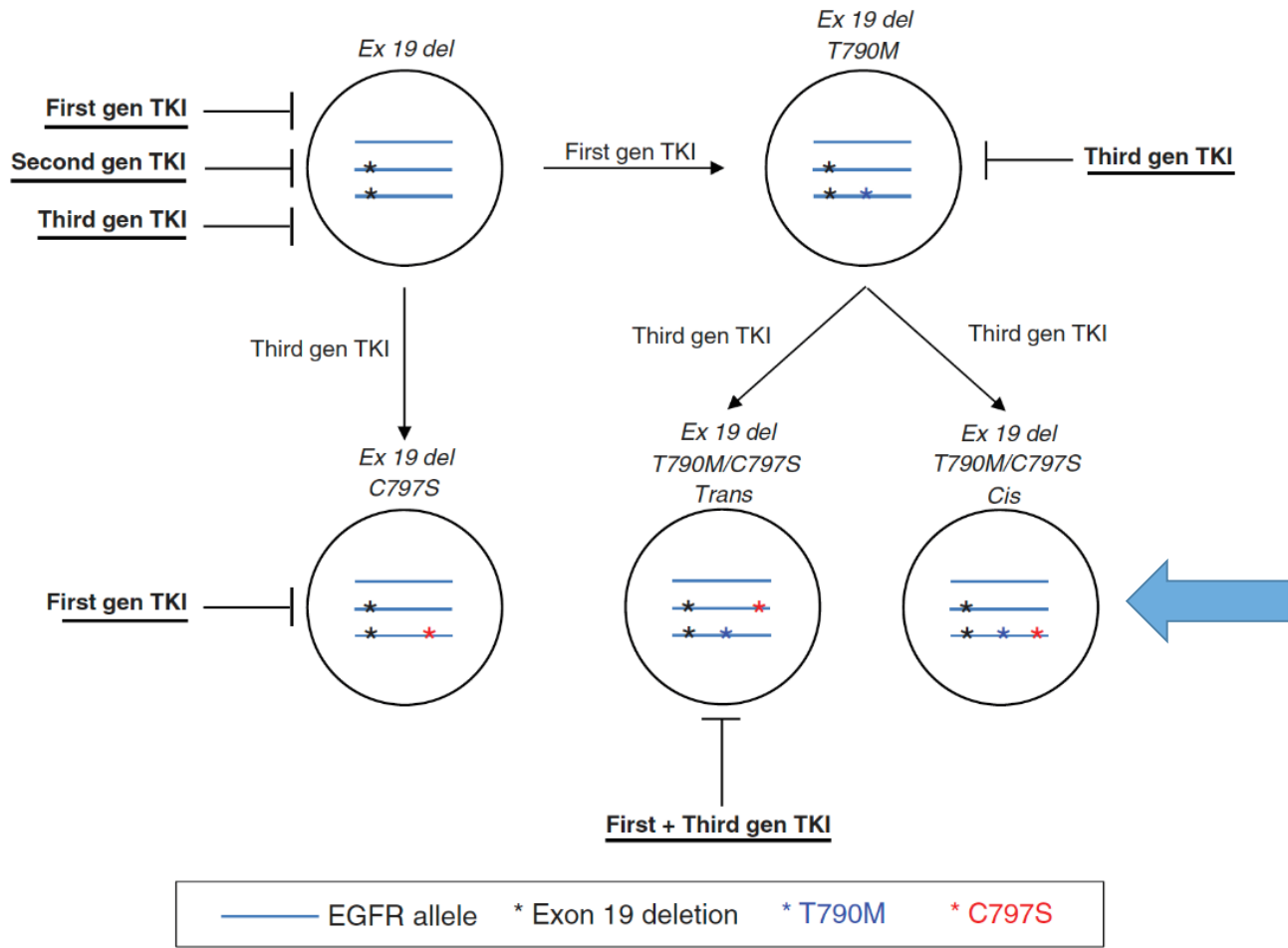
- *EGFR C797S* was detected only in patients with maintained T790M
- Competing resistance mechanisms were detected in patients with loss of T790M

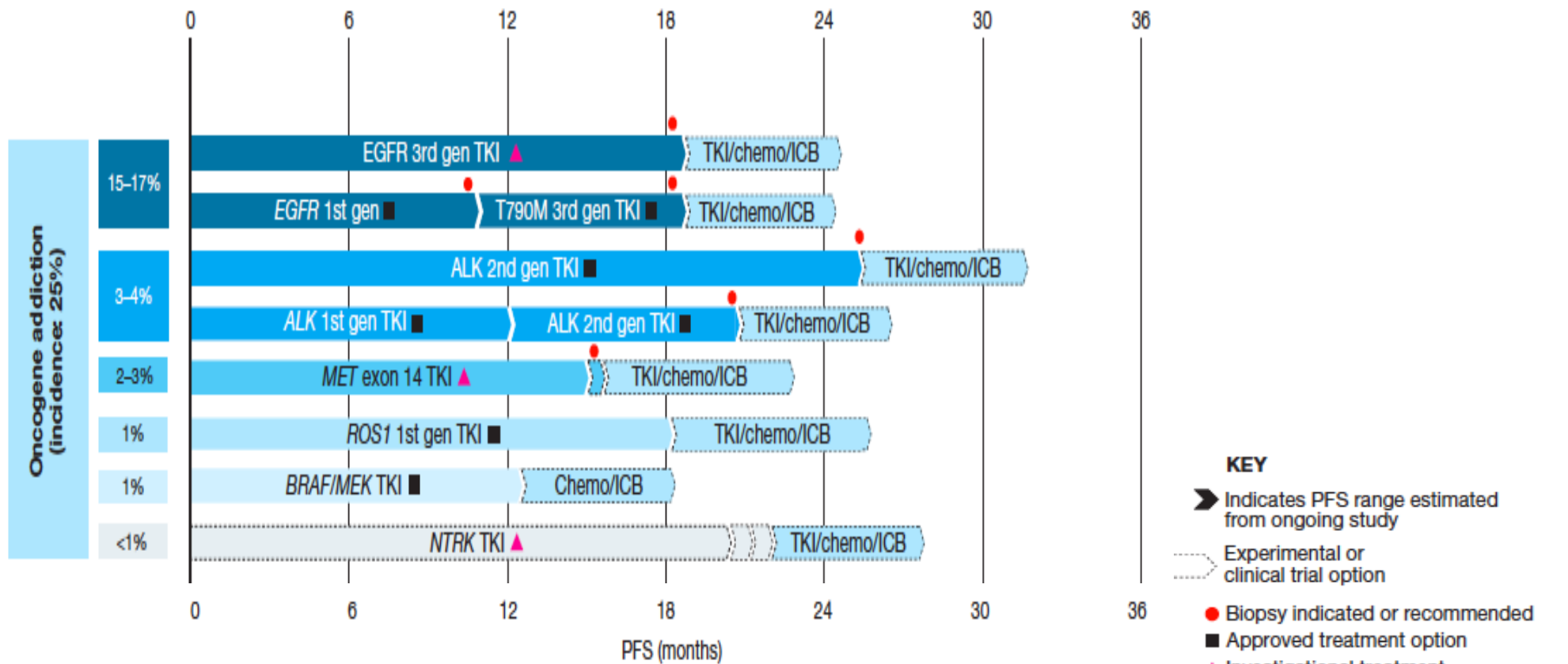
	T790M Maintained (n = 11)	T790M loss (n = 22)	p-value
Sex, number (%)			
Female	10 (91)	12 (55)	0.05
Male	1 (9)	10 (45)	
Race/ethnicity, number (%)			
White	8 (73)	15 (68)	0.71
Asian	2 (18)	3 (14)	
Black	0 (0)	3 (14)	
Hispanic	1 (9)	1 (5)	
EGFR driver mutation, number (%)			
Exon 19 del	7 (64)	16 (73)	0.7
L858R	4 (36)	6 (27)	
Number of prior TKIs, number (%)			
1	9 (82)	16 (73)	0.69
2	2 (18)	6 (27)	
Pretreatment T790M detection method, number (%)			
Plasma	2 (18)	5 (23)	1
Tumor	9 (82)	17 (77)	
Time-to-treatment failure, months, median (range)	15.2 (5.8-30.2)	3.2 (1.5-35.2)	<0.001
Pathogenic TP53 mutation, number (%)			
No	6 (55)	5 (23)	0.12
Yes	5 (45)	17 (77)	

Loss of T790M and early resistance to osimertinib

- Median TTF for 33 patients = 6.9 months
- Resistance due to loss of T790M is often seen early on osimertinib
- Resistance due to *EGFR* C797S is often seen later on osimertinib







R Herbst et al, Nature 2018