



FÉVRIER 2019

ÉTAT DES LIEUX ET DES CONNAISSANCES

# CELLULES TUMORALES CIRCULANTES

/Projets financés par l'Institut  
et méthodes utilisées

[e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)

## **L'INSTITUT NATIONAL DU CANCER**

Créé par la loi de santé publique du 9 août 2004, l'Institut national du cancer est l'agence d'expertise sanitaire et scientifique chargé de coordonner la lutte contre les cancers en France.

Groupement d'intérêt public, il rassemble en son sein l'État, les grandes associations de lutte contre le cancer, les caisses d'assurance maladie, les fédérations hospitalières et les organismes de recherche.

Ses missions

- Assurer une approche globale des pathologies cancéreuses
- Stimuler l'innovation
- Produire des expertises et recommandations pour les décideurs et professionnels de santé
- Animer les organisations territoriales en cancérologie
- Analyser les données pour mieux orienter l'action
- Informer et diffuser les connaissances liées aux cancers

Ce document doit être cité comme suit: Cellules tumorales circulantes /Projets financés par l'Institut et méthodes utilisées, Février 2019, Collection états des lieux et des connaissances, INCa.

Les informations figurant dans ce document peuvent être réutilisées dès lors que: (1) leur réutilisation entre dans le champ d'application de la loi N°78-753 du 17 juillet 1978; (2) ces informations ne sont pas altérées et leur sens dénaturé; (3) leur source et la date de leur dernière mise à jour sont mentionnées.

Ce document est téléchargeable sur [e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)

## RÉDACTION/COORDINATION DU RAPPORT

**Frédérique NOWAK**, responsable du département Biologie, transfert et innovations, Institut national du cancer  
**Charlotte GUDEWICZ**, chargée de projets, département Biologie, transfert et innovations, Institut national du cancer

## CONTRIBUTION AU RAPPORT

**Catherine ALIX-PANABIERES** - Centre hospitalier universitaire de Montpellier, Montpellier

**Hélène BEAUSSIER** - Groupe hospitalier Paris Saint-Joseph, Paris

**Kerstin BYSTRICKY** - Laboratoire de biologie moléculaire Eucaryote, Toulouse

**Laure CAYREFOURCQ** - Centre hospitalier universitaire de Montpellier, Montpellier

**Gilles CHATELLIER** – AHP, Groupe hospitalier Paris Saint-Joseph, Paris

**Diane DAMOTTE** - HUPC (Hôpitaux universitaires Paris Centre) Cochin, Paris

**Françoise FARACE** - Institut Gustave Roussy, Villejuif

**Anne-Claire LAVIGNE** - Laboratoire de biologie moléculaire Eucaryote, Toulouse

**Léa PAYEN** - Université de Lyon, Lyon

**Jean-Yves PIERGA** - Institut Curie, Paris

**David SEFRIOUI** - Centre hospitalier de Rouen, Rouen

**Jean-Louis VIOVY** - Institut Curie, Paris

# SOMMAIRE

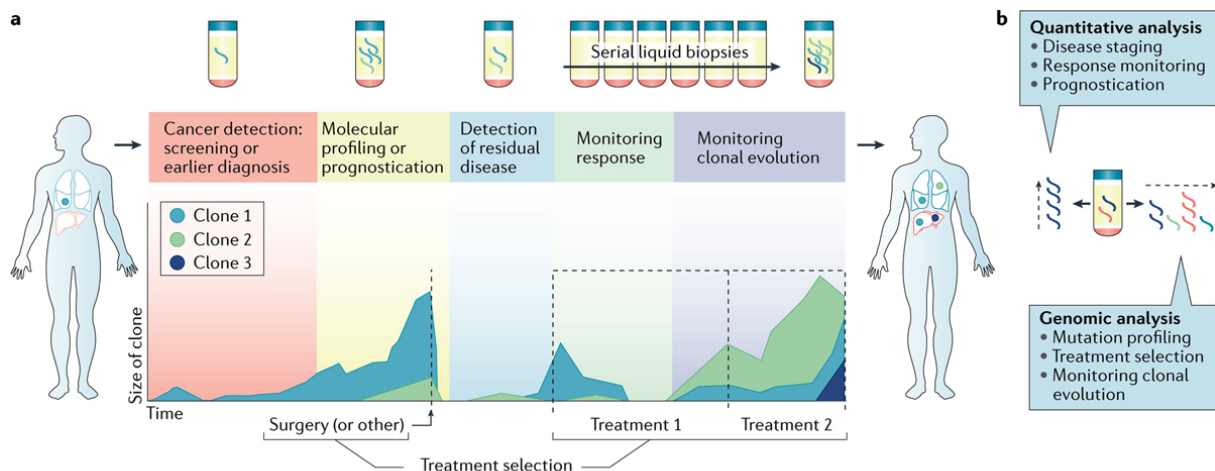
|  |           |
|--|-----------|
| <b>1. CONTEXTE</b> .....   | <b>4</b>  |
| <b>2. MÉTHODES DE DÉTECTION ET DE CARACTÉRISATION DES CTC UTILISÉES DANS LES PROJETS PRÉSENTÉS</b> ..... | <b>6</b>  |
| 2.1 Méthodes basées sur l'immunosélection .....  | 6         |
| 2.1.1 Méthode CellSearch® .....  | 6         |
| 2.1.2 CellCollector™ .....   | 7         |
| 2.1.3 Technologie EPISPOT et EDIPROP .....   | 8         |
| 2.1.4 Système microfluidique EPHESIA .....   | 9         |
| 2.1.5 RosetteSep™ .....  | 9         |
| 2.2 Méthodes basées sur l'isolement par la taille .....  | 10        |
| 2.2.1 Technique de filtration ISET® (Isolation by Size of Epithelial Tumor cells).....                   | 10        |
| 2.2.2 Système ScreenCell® .....  | 10        |
| 2.2.3 ClearCell® .....   | 11        |
| <b>3. PROJETS FINANCÉS PAR L'INSTITUT NATIONAL DU CANCER</b> .....                                       | <b>13</b> |
| 3.1 Projets de validation clinique basés sur le comptage des CTC.....                                    | 13        |
| 3.1.1 Cancers métastatiques.....   | 13        |
| 3.1.2 Cancers localisés .....  | 15        |
| 3.1.3 Détection précoce des cancers .....  | 17        |
| 3.2 Projets de caractérisation moléculaire des CTC.....  | 17        |
| 3.3 Projet de développement technologique .....  | 19        |
| <b>4. DISCUSSION</b> .....   | <b>21</b> |

# 1. CONTEXTE

Au cours du développement tumoral, certaines cellules cancéreuses peuvent se détacher des tumeurs solides et infiltrer la circulation sanguine. On parle alors de cellules tumorales circulantes (CTC). Des cellules tumorales vont également mourir, se désagréger et libérer dans le sang des fragments de leur matériel génétique, de l'ADN tumoral circulant (ADNtc). Les cellules cancéreuses peuvent aussi libérer des exosomes, contenant du matériel génétique et des protéines. ADNtc, CTC et exosomes sont des marqueurs de la présence de cellules cancéreuses, détectables par une simple prise de sang ou « biopsie liquide ».

Identifier, isoler et caractériser les CTC est aujourd'hui au cœur de nombreuses recherches, car elles représentent une source de matériel tumoral obtenu de manière non invasive. Les CTC offrent de ce fait des perspectives intéressantes pour plusieurs applications cliniques, par exemple le diagnostic précoce de cancer, le suivi de la maladie résiduelle pour détecter précocement les rechutes ou encore le suivi de la réponse au traitement pour détecter des résistances et adapter le traitement en conséquence. En hématologie, les CTC sont utilisées depuis longtemps, notamment dans les syndromes myéloprolifératifs, pour suivre la maladie résiduelle et définir les réponses hématologiques et moléculaires.

**Les différentes applications possibles de l'analyse de l'ADN de la tumeur, notamment par les cellules tumorales circulantes, au cours de la prise en charge de la maladie <sup>1</sup>**



Nature Reviews | Cancer

Ces cellules constituent un objet de recherche pour mieux comprendre l'évolution des cancers, et plus particulièrement le processus métastatique.

Les CTC étant très rares dans le sang, leur détection nécessite des techniques extrêmement sensibles et spécifiques. Il existe actuellement un grand nombre de technologies basées sur les différentes propriétés discriminant les CTC des cellules sanguines normales, telles que leurs propriétés physiques (taille, densité) ou leurs propriétés biologiques (expression de protéines de surface). La validation des différentes techniques de détection disponibles constitue un enjeu majeur en vue d'une utilisation en routine clinique.

<sup>1</sup> Wan JCM, Massie C, Garcia-Corbacho J, Mouliere F, Brenton JD, Caldas C, Pacey S, Baird R, Rosenfeld N. Liquid biopsies come of age: towards implementation of circulating tumour DNA. Nat Rev Cancer. 2017 Apr;17(4):223-238.

Les résultats des recherches concernant les applications cliniques de la détection des CTC sont de plus en plus souvent rapportés dans des médias destinés au grand public. Toutefois, les informations relayées par ces derniers ne sont pas toujours complètes et génèrent de grandes attentes chez les patients. Aussi, ce sujet est au centre d'une réflexion de la part des institutions pour guider les actions à mener et permettre d'assurer un accès sécurisé à ces innovations.

Dans ce cadre, l'Institut national du cancer a organisé une réunion le 5 juillet 2018 sur les cellules tumorales circulantes. Elle a rassemblé des chercheurs dont les travaux sur les CTC ont été financés dans le cadre de différents appels à projets (AAP) de recherche fondamentale, translationnelle ou clinique organisés par l'Institut national du cancer entre 2006 et 2016. L'objectif était de faire le point sur les techniques utilisées, les résultats obtenus, les difficultés rencontrées et les perspectives de recherche. Douze projets financés ont ainsi servi de supports à cette réunion, et couvrent les différents champs de la recherche sur les CTC :

- 8 projets de validation clinique en vue d'une application en routine sont basés sur le comptage des CTC :
  - 5 concernent des patients au stade métastatique ;
  - 2 concernent des patients au stade avancé ;
  - 1 concerne des personnes à haut risque de cancer en vue d'un dépistage précoce.
- 3 projets s'intéressent à la caractérisation moléculaire des CTC dans une perspective de recherche translationnelle et fondamentale ;
- 1 projet concerne le développement technologique d'une nouvelle méthode de détection des CTC.

**Ce rapport expose les méthodes utilisées dans les projets financés par l'Institut national du cancer, et présentés lors de la réunion du 5 juillet 2018, ainsi que les principaux résultats obtenus et les difficultés rencontrées. Il n'a pas vocation à faire une revue exhaustive de la littérature. Par ailleurs, ce document n'évoque pas tous les projets financés dans le cadre de ces AAP, certains projets étant trop préliminaires et certains chercheurs n'ayant pu être présents.**

**Ce document ne contient pas de prise de position de l'Institut national du cancer sur les méthodes employées et ne constitue pas une expertise. Il s'agit d'une information à caractère institutionnel qui n'entre pas dans le périmètre du dispositif de déclaration d'intérêts prévu par le code de la santé publique.**

## 2. MÉTHODES DE DÉTECTION ET DE CARACTÉRISATION DES CTC UTILISÉES DANS LES PROJETS PRÉSENTÉS

Les CTC étant très rares, une première étape d'enrichissement est nécessaire avant les étapes de détection et de caractérisation. Deux principales stratégies d'isolement de ces cellules existent actuellement : l'isolement par immunosélection positive ou négative (déplétion) et l'isolement de ces cellules en fonction de leur taille.

Les méthodes d'enrichissement par sélection positive reposent sur une immunoséparation à l'aide de billes magnétiques conjuguées à un anticorps dirigé contre des antigènes spécifiques des cellules tumorales.

Les méthodes d'immunosélection négative reposent pour la plupart sur un système de déplétion des cellules non tumorales, porteuses d'antigènes spécifiques (tels que des marqueurs spécifiques des leucocytes).

Les méthodes reposant sur les caractéristiques physiques des cellules tumorales circulantes utilisent notamment un système de filtration séparant les cellules selon leur taille. En effet, la plupart des CTC sont plus volumineuses que les cellules hématopoïétiques normales<sup>2</sup>.

Après les étapes d'enrichissement et d'isolement, les CTC peuvent être comptées. Les études cherchent alors à établir une corrélation entre leur concentration à un temps bien défini du parcours du patient et son devenir clinique.

D'autres cherchent, au-delà du comptage, à caractériser les CTC détectées au niveau moléculaire.

### 2.1 Méthodes basées sur l'immunosélection

#### 2.1.1 Méthode CellSearch®

Ce test est commercialisé par Menarini-Silicon Biosystems (acquis en 2017, mais développé par Janssen). Il est autorisé par la Food and Drug Administration (FDA) en tant que marqueur pronostique pour les patients atteints d'un cancer métastatique du sein (depuis 2004), colorectal (2007) ou de la prostate (2008).

##### ❖ Description de la technique

Il s'agit d'une méthode d'énumération des CTC d'origine épithéliale.

Le prélèvement de sang périphérique est suivi d'une étape de capture immunomagnétique et d'un enrichissement par sélection positive des cellules exprimant EpCAM (*epithelial cell adhesion molecule*), un marqueur spécifique des cellules épithéliales. Des réactifs fluorescents sont ensuite ajoutés pour la détection des CTC: le DAPI pour la coloration du noyau cellulaire, des anticorps dirigés contre les cytokératines 8, 18 et 19 (marqueurs spécifiques des cellules épithéliales) et contre CD45 (un marqueur spécifique des leucocytes).

---

<sup>2</sup>Harouaka RA, Nisic M, Zheng SY. Circulating tumor cell enrichment based on physical properties J Lab Autom. 2013 Dec;18(6):455-68

Le mélange réactifs/échantillon est déposé à l'intérieur d'une cartouche qui est insérée dans un dispositif comprenant un champ magnétique attirant les cellules épithéliales marquées magnétiquement à la surface de la cartouche. Un microscope fluorescent couplé à un logiciel permet ensuite la lecture automatique et le décompte des cellules tumorales circulantes, c'est-à-dire les cellules positives pour le marquage au DAPI et aux cytokératines et négatives pour le marquage CD45.

Des kits de réactifs de phénotypage HER2 et EGFR sont également commercialisés et permettent de mettre en évidence les CTC surexprimant ces récepteurs. Un kit ciblant l'expression de PD-L1 par les CTC est en cours de développement par la société Menarini-Silicon Biosystems.

#### ❖ Avantages

- De par l'autorisation de la FDA, cette technique, robuste et reproductible, est considérée comme le *Gold Standard* pour la détection des CTC.
- Il s'agit d'une technique cytologique automatisée ne nécessitant pas l'intervention d'experts en cytologie. Elle comporte toutefois une étape de sélection visuelle à partir d'images, qui présente une variabilité significative en fonction de l'opérateur.

#### ❖ Limites

- Cette méthode ne permet pas d'effectuer une caractérisation moléculaire directe des CTC.
- Ses performances varient en fonction des localisations tumorales. La valeur seuil du taux de CTC présentes dans le sang permettant d'établir un éventuel caractère pronostique, varie en fonction des localisations tumorales et doit être établie pour chacune d'entre elles.
- Les CTC ayant subi la transition épithélio-mésenchymateuse (TEM) ne sont pas détectées par des approches reposant seulement sur l'expression d'EpCAM (il est à noter cependant que beaucoup de CTC présenteraient un « mix » phénotypique de leur statut EMT).

### 2.1.2 CellCollector™

Ce test est commercialisé par la société Gilupi.

#### ❖ Description de la technique

Ce système permet de collecter les CTC *in vivo* directement à partir de la circulation sanguine. Ce système est composé d'un nanodétecteur (un fil d'acier inoxydable) présentant l'anticorps anti-EpCAM déposé sur une aiguille placée dans la veine du patient pendant 30 minutes. Environ 1,5 litre de sang passe par ce système durant la pose du dispositif, ce qui devrait permettre de collecter un nombre élevé de CTC EpCAM positives. Le fil d'acier ayant retenu les CTC subit différents lavages et est fixé à l'acétone. Les cellules peuvent ensuite être observées et comptées au microscope (directement sur le fil) ou être utilisées pour d'autres analyses.

#### ❖ Avantages

Contrairement aux autres méthodes *in vitro* sur un échantillon sanguin, cette méthode capture les cellules *in vivo* et est ainsi supposée augmenter les chances d'isoler les CTC, même à faible concentration.



### ❖ Limites

- Ce système est compliqué à mettre en place et difficilement accepté par les patients et les infirmiers et infirmières.
- Un problème majeur porte sur l'analyse des CTCs sur le CellCollector<sup>TM</sup>; en effet, les CTC ne peuvent pas être libérées du fil d'acier et leur détection, très lourde et longue, se fait manuellement avec un microscope à fluorescence et demeure subjective. Comme toute technique basée sur des anticorps, elle peut « manquer » des cellules tumorales ayant perdu le caractère épithélial.

### 2.1.3 Technologie EPISPOT et EDIPROP

La technologie EPISPOT a été développée par l'équipe de Catherine Alix-Panabières (directrice du laboratoire Cellules circulantes rares humaines du CHU de Montpellier). Un premier brevet a été déposé en 2002 par BioMérieux et le CHRU de Montpellier (Brevet « Cancerispot » - FR02/03136). En 2006, un autre brevet a été déposé au nom des CHU de Montpellier et de Hambourg (REF WIPO Patent Application WO/2008/029251). Plus récemment, une optimisation de la technique EPISPOT a été brevetée (2016) : l'EPIDROP (*EPISPOT in a DROP*) pour une détection de CTC vivantes à la cellule unique. La validation clinique de cette innovante technique est soutenue par la SATT-AxLR dans le cancer de la prostate métastatique.

### ❖ Description de la technique

Il s'agit d'une méthode fonctionnelle permettant la détection et la caractérisation phénotypique des CTC vivantes dans le sang périphérique ou d'autres fluides biologiques (liquide céphalorachidien, moelle osseuse).

Après une étape d'enrichissement négatif pour l'expression de CD45 (déplétion des cellules hématopoïétiques) par la méthode RosetteSep, les cellules sont cultivées pendant 24-48 heures sur une membrane sensibilisée par des anticorps dirigés contre des protéines sécrétées spécifiquement par les cellules tumorales recherchées. La révélation de la présence de ces empreintes protéiques est effectuée par l'addition d'un anticorps secondaire marqué par un fluorochrome (souvent la cytokératine 19, spécifique des cellules épithéliales).

La détection et l'énumération des immunospots fluorescents sont automatisées (un spot fluorescent correspond à l'empreinte protéique laissée par une cellule ayant sécrété la protéine d'intérêt spécifique des cellules tumorales). Cette lecture des EPISPOT en fluorescence se fait par microscope à fluorescence.

### ❖ Avantages

- Cette technique ne détecte que les CTC vivantes.
- Il est possible de faire un marquage simple ou double pour améliorer l'immunosélection de différents types de CTC.

### ❖ Inconvénients

Il n'est pour le moment pas possible de caractériser les CTC isolées au niveau moléculaire, mais, grâce à la nouvelle technologie EPIDROP, cette analyse sera possible très prochainement.

La technologie EPIDROP, une évolution de la méthode EPISPOT, est un système microfluidique de culture en microgouttes de CTC fonctionnelles, à l'échelle de la cellule unique, permettant de les détecter et de les caractériser.

#### **2.1.4 Système microfluidique EPHESIA**

Cette technologie a été développée par l'équipe de Jean-Louis Viovy (Institut Curie/CNRS/UPMC).

##### **❖ Description de la technique**

Le système EPHESIA est un « laboratoire sur puce » permettant de détecter et d'analyser les CTC. Ce système consiste en une microplaque -un tamis à cellules-, constituée d'un réseau de colonnes de microbilles magnétiques portant des anticorps dirigés contre une protéine de surface spécifique aux cellules tumorales. Ce système permet la capture des cellules en circulation dans le système microfluidique et portant le marqueur spécifique entrant en contact avec les colonnes magnétiques.

##### **❖ Avantages**

- Les cellules capturées peuvent être caractérisées au niveau moléculaire, notamment par des analyses FISH ou PLA (Interactions protéine/ protéine).
- Les cellules capturées peuvent être collectées en sortie de puce, pour des analyses de type RT-PCR, NGS (exome, génome, transcriptome), ce qui est facilité par une élimination particulièrement efficace de la contamination par des cellules non tumorales.
- Ce système est compatible avec une haute résolution d'imagerie.
- Les cellules capturées restent vivantes pendant 1 ou 2 jours et vont jusqu'à se diviser.

##### **❖ Limites**

- Cette méthode est lourde et son débit est trop faible pour le diagnostic, il s'agit d'un outil de recherche fondamentale.
- Son efficacité de capture est supérieure à celle du CellSearch, mais comme toute technique basée sur des anticorps, son efficacité pour des cellules ayant perdu le caractère épithélial est problématique.

#### **2.1.5 RosetteSep™**

Cette technologie est développée par StemCell Technologies.

##### **❖ Description de la technique**

C'est une méthode d'enrichissement par sélection négative pouvant isoler les cellules tumorales circulantes à partir d'un échantillon sanguin.

Les cocktails d'anticorps RosetteSep™ déclenchent la liaison des cellules indésirables du sang aux globules rouges. Celles-ci forment alors un culot avec les globules rouges lorsqu'elles sont centrifugées par milieu de gradient de densité. Les cellules d'intérêt, les CTC ici, sont fortement enrichies par cette méthode et sont collectées à l'interface entre le plasma et le gradient de densité.

Cette méthode d'enrichissement permet seulement d'isoler les CTC. Elle constitue donc une première étape pour réaliser l'énumération ou la caractérisation des CTC par d'autres techniques (culture cellulaire, analyses génétiques, etc.).

Elle est notamment utilisée en amont de la technique EPISPOT ou de l'isolement en cellules uniques par FACS. Elle a le grand avantage de n'induire aucun biais de sélection durant cette étape de préparation de l'échantillon avant la détection des CTC. Quelles que soient leur taille ou les protéines qu'elles expriment, les CTC seront enrichies.

## 2.2 Méthodes basées sur l'isolement par la taille

### 2.2.1 Technique de filtration ISET® (Isolation by Size of Epithelial Tumor cells)

Ce test, développé par l'équipe de Patrizia Paterlini-Bréchet, est commercialisé par Rarecells® Diagnostics et dispose d'un marquage CE-IVD

#### ❖ Description de la technique

Le sang prélevé passe sur un filtre en polycarbonate à pression négative avec des pores de 8 microns qui laisse passer la grande majorité des cellules hématopoïétiques et retient les cellules cancéreuses dont la taille est plus élevée.

Les membranes peuvent ensuite être traitées avec différentes méthodes : par simple coloration et éventuellement immunohistochimie pour compter des CTC en microscopie optique ; par FISH (hybridation *in situ* fluorescente) pour identifier des CTC porteuses de certaines aberrations génétiques (réarrangement ou amplification de gènes) ; ou encore par microdissection laser pour isoler des CTC en cellules uniques en amont d'un processus d'analyse moléculaire (par exemple séquençage ciblé ou d'exome).

#### ❖ Avantages

Cette technique ne dépend pas de la présence de marqueurs spécifiques des cellules tumorales.

#### ❖ Inconvénients

Certaines cellules tumorales sont de petite taille et passent au travers des filtres.

### 2.2.2 Système ScreenCell®

Ce système est commercialisé par la société ScreenCell.

#### ❖ Description de la technique

Il s'agit d'une méthode reposant sur une filtration des cellules par leur taille. Le sang est filtré au travers d'une membrane poreuse retenant les cellules tumorales et laissant passer les cellules sanguines.

Différents kits d'analyses sont commercialisés sous forme de kits prêts à l'emploi. Il existe différents kits selon les analyses souhaitées : biologie moléculaire, culture cellulaire ou cytologie.

#### ❖ Avantages

- Il s'agit d'une technique « au chevet » du patient - ce système ne dépend pas d'une machine pour effectuer la filtration.
- Cette méthode permet d'isoler et de préserver les cellules tumorales circulantes pour réaliser les analyses de caractérisation directement sur les supports d'isolement.

#### ❖ Inconvénients

- Ce système ne permet pas de contrôle de la pression lors de l'étape de filtration et les cellules peuvent être altérées par cette technique.
- Certaines cellules tumorales sont de petite taille et passent au travers des filtres.

### 2.2.3 ClearCell®

Cette méthode est développée par la société Clearbridge Biomedics.

#### ❖ Description de la technique

Ce système de biopuce microfluidique isole les CTC selon leur taille et leur inertie.

Après prélèvement, le sang est mélangé avec un tampon de lyse qui élimine les globules rouges. Le système ClearCell® permet ensuite de séparer les CTC des globules blancs en formant une suspension enrichie de CTC. Les cellules obtenues peuvent être déposées sur lames et colorées. La lecture est effectuée par des pathologistes.

Cette méthode permet seulement d'isoler les CTC, mais de nombreuses analyses peuvent ensuite être réalisées sur ces cellules (FISH, analyses moléculaires, immunohistochimie...).

Les CTC obtenues sont viables et peuvent être mises en culture 2D. La culture en 3D de ces cellules est en cours de développement.

## Récapitulatif des différentes techniques présentées dans ce rapport

|  | Technique                                   | Sélection  | Principales caractéristiques   |
|--|---|--|--|
| <b>Immunoaffinité</b>                            | EPISPOT assay                               | Protéines sécrétées, clivées ou relarguées                   | Permet le comptage uniquement des CTC vivantes   |
| <b>Immunoaffinité<br/>Enrichissement positif</b> | CellSearch®                                 | Anticorps anti-EpCAM/ billes magnétiques                     | Permet l'enrichissement et le comptage des CTC<br>Autorisé par la FDA (Sein, colorectal, prostate métastatiques)<br>Méthode semi-automatisée   |
|  | CellCollector™                              | Anticorps anti-EpCAM sur un stylet en or                     | Permet la capture et le comptage des CTC<br>Capture <i>in vivo</i> (plus grand volume de sang que les autres méthodes)   |
|  | Ephesia                                     | Anticorps anti-EpCAM ou autre/ système microfluidique        | Permet le comptage et la caractérisation ultérieure des CTC<br>CTC obtenues viables  |
| <b>Immunoaffinité<br/>Enrichissement négatif</b> | RosetteSep™ (cocktail d'enrichissement CTC) | Cocktail d'anticorps/ centrifugation par gradient de densité | Permet d'enrichir les CTC pour les isoler<br>De nombreuses analyses sont ensuite réalisables sur les CTC isolées   |
| <b>Propriétés biophysiques</b>                   | ISET®                                       | Taille, filtre   | Permet le comptage et la caractérisation moléculaire des CTC   |
|  | ScreenCell®                                 | Taille, filtre   | Permet le comptage et la caractérisation ultérieure des CTC<br>Isolement et préservation des CTC permettant de réaliser des analyses de caractérisation directement sur les supports |
|  | ClearCell® FX                               | Taille, système microfluidique                               | Permet d'isoler les CTC<br>CTC obtenues viables<br>De nombreuses analyses sont ensuite réalisables sur les CTC isolées   |

## 3. PROJETS FINANCÉS PAR L'INSTITUT NATIONAL DU CANCER

### 3.1 Projets de validation clinique basés sur le comptage des CTC

#### 3.1.1 Cancers métastatiques

Ces projets cherchent, dans différentes localisations tumorales et par différentes techniques de détection des CTC, à :

- établir la valeur pronostique du taux de CTC, mesurée avant le début du traitement, sur la survie globale des patients ;
- établir la valeur prédictive de l'évolution précoce du nombre de CTC (avant et après le début du traitement) sur la réponse à la chimiothérapie ;
- évaluer si la mise en place d'une stratégie thérapeutique guidée par le taux de CTC a un impact sur la survie globale des patients ;
- évaluer l'impact économique de l'utilisation des CTC en pratique clinique.

#### ❖ Dans le cancer du sein métastatique

Dans le cancer du sein métastatique, trois études ont été financées dans le cadre des Plans cancer : deux PHRC et un STIC.

#### Projets PHRC 2006 et 2009 (étude Circé) – Jean-Yves PIERGA – Méthode CellSearch®

Ces deux projets consécutifs ont été menés sur le cancer du sein métastatique pour étudier l'intérêt de la détection des CTC en réponse aux traitements de chimiothérapie.

Le premier projet, chez des patientes avec un cancer du sein métastatique en première ligne de traitement, avait pour objectif de démontrer que l'on peut prédire avant le 2<sup>e</sup> cycle de chimiothérapie un échec du traitement en fonction de l'évolution du taux de CTC dans le sang.

Les CTC ont été isolées et dénombrées par la méthode CellSearch®.

Les résultats de cette étude ont montré que le taux de CTC avant traitement était un marqueur pronostique (survie sans progression et survie globale).

Par ailleurs, ils ont également montré que la variation du taux de CTC (avant le début du traitement et avant le 2<sup>e</sup> cycle de chimiothérapie) était corrélée à la survie sans progression et à la survie globale et représentait ainsi un indicateur précoce du bénéfice du traitement.

Ces résultats ont été publiés et confirmés par une méta-analyse d'études européennes sur environ 2 000 patientes<sup>3,4</sup>.

<sup>3</sup> Reyat F, Valet F, de Cremoux P, Mathiot C, Decraene C, Asselain B, Brain E, Delaloge S, Giacchetti S, Marty M, Pierga JY, Bidard FC. Circulating tumor cell detection and transcriptomic profiles in early breast cancer patients. *Ann Oncol.* 2011 Jun;22(6):1458-9.

<sup>4</sup> Bidard FC, Peeters DJ, Fehm T, Nolé F, Gisbert-Criado R, Mavroudis D, Grisanti S, Generali D, Garcia-Saenz JA, Stebbing J, Caldas C, Gazzaniga P, Manso L, Zamarchi R, de Lascoiti AF, De Mattos-Arruda L, Ignatiadis M, Lebofsky R, van Laere SJ, Meier-Stiegen F, Sandri MT, Vidal-Martinez J, Politaki E, Consoli F, Bottini A, Diaz-Rubio E, Krell J, Dawson SJ, Raimondi C, Rutten A, Janni W, Munzone E, Carafana V, Agelaki S, Almici C, Dirix L, Solomayer EF, Zorzino L, Johannes H, Reis-Filho JS, Pantel K, Pierga JY, Michiels S. Clinical validity of circulating tumour cells in patients with metastatic breast cancer: a pooled analysis of individual patient data. *Lancet Oncol.* 2014 Apr;15(4):406-14.

L'étude CirCé a été mise en place à la suite de ce projet, pour démontrer l'utilité clinique de ces résultats. Elle avait pour but d'étudier, chez des patientes avec un cancer du sein métastatique en 3<sup>e</sup> ligne de traitement, l'efficacité sur la survie globale de l'adaptation du traitement par chimiothérapie en fonction de la quantification des CTC : le traitement par chimiothérapie était changé si le taux de CTC ne diminuait pas après le premier cycle.

Environ 270 patientes ont été incluses dans cette étude, mais seulement 100 ont été randomisées. L'étude CirCé a été arrêtée faute de faisabilité, à la suite de la publication des résultats négatifs d'une étude américaine menée en parallèle<sup>5</sup> : un changement de traitement précoce en fonction de l'évolution du taux de CTC n'a conduit à aucun bénéfice clinique.

Ainsi, avec les chimiothérapies disponibles au moment de cette étude, il n'y a pas d'utilité clinique à détecter l'évolution du taux de CTC des patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique pour changer précocement le traitement par chimiothérapie.

**Le taux de CTC est un marqueur validé cliniquement : il constitue à la fois un marqueur pronostique et un marqueur prédictif de la réponse au traitement chez les patientes atteintes de cancer du sein métastatique. Néanmoins, l'absence de traitement alternatif efficace conduit à l'absence d'utilité clinique pour guider la stratégie thérapeutique après la première ligne.**

#### **CTC MEABREAST (STIC 2011) – Jean-Yves PIERGA – Cancer du sein en 1<sup>re</sup> ligne métastatique - Méthode CellSearch®**

L'objectif de ce projet était d'évaluer l'intérêt médical et médico-économique de la prise en compte des CTC pour le choix du type de traitement de première ligne (hormonothérapie ou chimiothérapie) pour les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique.

Dans le bras standard, le choix du traitement était basé sur les critères habituels et laissé à l'appréciation du médecin. Dans le bras expérimental, le taux de CTC était mesuré et transmis au médecin. Le choix du traitement (hormonothérapie *versus* chimiothérapie) était laissé à son appréciation.

Les résultats sont soumis pour publication. Ils montrent que le taux de CTC a représenté une aide à la décision thérapeutique dans le bras expérimental. La survie sans progression a été significativement plus élevée pour les cas où le taux de CTC élevé a conduit le clinicien à prescrire une chimiothérapie à la place d'une hormonothérapie.

**Cette étude permet de mettre en évidence l'utilité clinique de l'utilisation des CTC pour guider le traitement de première ligne chez les patientes atteintes d'un cancer du sein métastatique. Ces résultats sont néanmoins à pondérer, car les stratégies thérapeutiques ont évolué et l'hormonothérapie est désormais associée à d'autres molécules, comme les anti-CDK4.**

---

<sup>5</sup> Smerage JB, Barlow WE, Hortobagyi GN et al. Circulating Tumor Cells and Response to Chemotherapy in Metastatic Breast Cancer: SWOG S0500. J Clin Oncol. 2014 Nov 1;32(31):3483-9.

### ❖ Dans le cancer du côlon métastatique

#### Étude COLOSPOT (AAP Transla 2011) – Catherine ALIX-PANABIERES – Cancer du côlon métastatique – Méthode EPISPOT

L'objectif principal de ce projet était d'évaluer la valeur prédictive de l'évolution précoce du nombre de CTC pour la survie sans progression, chez des patients atteints de cancer colorectal métastatique en 1<sup>re</sup> ligne de traitement par chimiothérapie.

Un des objectifs secondaires était de comparer les résultats obtenus avec ceux de la technique CellSearch® considérée comme le *Gold Standard*.

Les CTC ont été isolées par la méthode RosetteSep et dénombrées par la technologie EPISPOT utilisée avec un marquage CK19.

Dans cette étude, une tendance est observée en faveur du caractère pronostique du dénombrement des CTC à J<sub>28</sub> par la méthode EPISPOT. L'évolution du nombre de CTC entre J<sub>0</sub> et J<sub>28</sub> détectée par la méthode CellSearch® est associée de manière significative à une meilleure survie sans progression et une meilleure survie globale.

### ❖ Dans le cancer des voies aérodigestives supérieures (VADS)

#### Étude CIRCUTEC (PAIR VADS 2011) – Catherine ALIX-PANABIERES – Cancer des VADS métastatiques – Méthode EPISPOT

L'objectif de cette étude était d'évaluer la valeur prédictive de l'évolution précoce des CTC mesurée par EPISPOT, pour la survie sans progression dans le cancer épidermoïde métastatique des VADS.

Pour ce projet, la technologie EPISPOT a été utilisée avec un double marquage (CK19/EGFR).

Les premiers résultats semblent indiquer une valeur pronostique du dénombrement des CTC par EPISPOT double marquage (CK19/EGFR). Par EPISPOT simple (EGFR), l'évolution précoce du nombre des CTC (entre J<sub>0</sub> et J<sub>7</sub>) semble être une valeur prédictive de la réponse au traitement.

Avec la méthode CellSearch®, l'évolution précoce du taux de CTC n'apparaît pas comme un caractère prédictif de la réponse à la chimiothérapie.

### 3.1.2 Cancers localisés

L'objectif principal des projets menés dans les cancers localisés est d'identifier les patients à haut risque de rechute. Cela pourrait alors permettre de mieux stratifier les patients pour la prescription ou non d'un traitement adjuvant. Ces études portant sur des cancers dont l'évolution est moins avancée, le nombre de CTC est plus faible chez ces patients. Les techniques de détection des CTC doivent donc être particulièrement sensibles et il faut travailler sur un volume sanguin plus important.



## ❖ Dans le cancer du côlon

### Projet PHRC 2009 – Jean-Jacques TUECH – Cancer du côlon stade II&III – Méthode ScreenCell®

Dans les cancers du côlon, la valeur pronostique du taux de CTC au stade métastatique a été rapportée dans plusieurs études. Quelques études récentes mettent également en évidence un caractère pronostique des CTC pour le risque de rechute dans les stades localisés.

Une méta-analyse publiée en 2018 met en évidence que la présence de CTC est un marqueur pronostique péjoratif dans le cancer colorectal<sup>6</sup>.

L'objectif du projet était de comparer la sensibilité de l'ADN tumoral circulant et des CTC sur le taux de récurrence à 2 ans chez des patients opérés d'un cancer colique de stade II ou III.

Il s'agit d'une étude multicentrique pour laquelle les analyses des CTC sont centralisées à Rouen. Deux cent vingt-cinq patients ont été inclus et le gel de la base est prévu en avril 2019.

La méthode ScreenCell est utilisée pour la détection des CTC. Elle a déjà été utilisée par la même équipe pour l'étude COCA-COLON qui évaluait la valeur pronostique de la détection des CTC chez 177 patients atteints d'un cancer colorectal métastatique<sup>7</sup>. Un autre objectif était d'évaluer si l'évolution du nombre de CTC entre le début de la chimiothérapie et après 6 ou 12 semaines de traitement, permettait d'effectuer une évaluation précoce de l'efficacité d'une chimiothérapie.

Cette étude n'a pas permis de mettre en évidence d'effet significatif avec cette technologie.

## ❖ Dans le cancer de la prostate

### Étude européenne CTC-SCAN (TRANSCAN 2011) – Catherine ALIX-PANABIERES – Cancer de la prostate localisé – Combinaison de techniques

L'objectif de cette étude était de valider la détection des CTC comme biomarqueur pronostique pour prédire le risque de rechute des patients ayant un cancer de la prostate localisé.

Trois méthodes de détection des CTC ont été comparées et utilisées en combinaison : EPISPOT (avec marqueur PSA), CellSearch® et CellCollector™ (GILUPI).

**Cette étude a montré que la concordance des trois techniques était de 37 % et que leur utilisation combinée augmentait la détection des CTC (81 % de patients chez qui des CTC sont détectées par au moins une des trois méthodes).**

Les données de suivi des patients sont encore en cours de collecte. Cependant, un article scientifique a été publié (Kuske *et al*, Sci Rep 2016) et un autre a été soumis pour publication.

---

<sup>6</sup> Tan Y, Wu H. The significant prognostic value of circulating tumor cells in colorectal cancer: A systematic review and meta-analysis. *Curr Probl Cancer*. 2018 Jan - Feb;42(1):95-106.

<sup>7</sup> D. Sefrioui, N. Vasseur, E. Toure, F. Blanchard, J. Delacour, C. Thill, L. Beaussire, A. Gillibert, F. Ziegler, A. Gangloff, K. Bouhier-Leporrier, A-C. Lefebvre, A. Parzy, M-P. Gallais, F. Clatot, A. Perdrix, J-C. Sabourin, T. Frebourg, P. Michel, F. Di Fiore. Prospective analysis of CEA, CA19.9, circulating DNA (cDNA) and circulating tumor cells (CTC) in patients (pts) treated for a metastatic colorectal cancer (mCRC)\_Results of COCA-COLON study. *Ann Oncol*. 2016 Oct;27(suppl 6).

### 3.1.3 Détection précoce des cancers

Ces études concernent des personnes à haut risque de cancer chez qui la mise en évidence des CTC pourrait être un marqueur diagnostique de cancer. L'objectif étant de détecter les cancers à un stade précoce, les techniques doivent être très sensibles pour déceler un très faible taux de CTC.

Elles doivent également être très spécifiques, car le taux de faux positifs doit être le plus réduit possible pour ne pas établir de diagnostic erroné, entraînant des investigations complémentaires approfondies, à la fois inutiles et anxiogènes.

#### **Projet DETECTOR (AAP TABAC 2016) – Jean TREDANIEL – Cancers liés au tabac – Méthode ISET®**

L'objectif de ce projet est d'évaluer l'effet combiné du scanner (*LDCT-low-dose computed tomography*) et de la recherche de CTC sur le dépistage des cancers liés au tabac, dans une population à très haut risque de cancer induit par le tabagisme.

Trois séries d'exams combinant imagerie et énumération des CTC sont prévues pour chaque personne participant à l'étude : une à l'inclusion, à un an et une dernière à deux ans. La recherche de CTC est réalisée par la méthode ISET®.

Environ 70 patients ont été inclus à ce jour dans deux centres.

Des CTC ont été détectées pour un pourcentage anormalement élevé de patients, ce qui a nécessité l'arrêt temporaire du protocole. Une analyse approfondie des filtres ISET de ces patients a mis en évidence la présence de cellules d'interprétation difficile qui ne sont pas retrouvées chez les patients atteints de cancers métastatiques. L'origine de ces cellules reste à déterminer.

**Ces résultats soulignent l'importance des groupes contrôles et des populations de patients et de sujets sains pour valider les techniques.**

**Ils ouvrent la voie à de nouvelles pistes de recherche concernant la caractérisation de ces CTC et de leur lien avec les autres pathologies liées au tabac dont sont atteints ces très gros fumeurs.**

**Ils mettent aussi en évidence la complexité de cette approche pour une stratégie de diagnostic précoce dans une population à haut risque de cancer.**

## 3.2 Projets de caractérisation moléculaire des CTC

#### **Étude CELLTRACE (AAP PRTK 2014) – Françoise FARACE – CBNPC ALK+ – Méthode ISET® associée à la FISH et microdissection laser**

Cette étude visait principalement à identifier des mutations de résistance aux inhibiteurs d'ALK, connues ou nouvelles, dans les CTC de patients atteints de cancers du poumon ALK positifs traités par ces molécules.

Les CTC des patients ont été recueillies à différents temps du traitement jusqu'à progression de la maladie et analysées à l'échelle de la cellule unique. Plusieurs techniques d'isolement de CTC en cellules uniques ont été comparées, combinées et adaptées.

Au cours de travaux préalables, cette équipe a comparé les méthodes CellSearch® et ISET®. Un nombre plus important de CTC a été détecté par ISET®, la méthode CellSearch® ne détectant pas un certain nombre de CTC en transition épithélio-mésenchymateuse n'exprimant pas EpCAM.

La technologie ISET a donc été utilisée par la suite. La technique ISET a été couplée à une technique combinant FISH et marquage immuofluorescent (IF DAPI/CD45).

Une analyse automatisée d'images par scanner est utilisée. Elle permet d'analyser les CTC porteuses d'un réarrangement ou d'un gain de *ALK* et de corréliser leur nombre à l'évolution clinique des patients<sup>8</sup>.

Pour ce projet, l'approche RosetteSep a finalement été préférée, car elle permet de collecter les CTC sans tenir compte de leur niveau d'expression d'EpCAM ou de leur taille. Une analyse par NGS d'un panel de gènes sur CTC uniques a été ensuite effectuée.

**Les résultats en cours mettent en évidence une grande hétérogénéité des anomalies moléculaires retrouvées dans les différentes CTC d'un même patient résistant au traitement par inhibiteur d'ALK. Certaines d'entre elles ne sont pas retrouvées dans les biopsies analysées. Ces travaux ouvrent la voie à de nouvelles perspectives de recherche pour évaluer l'hétérogénéité tumorale et l'évolution de la maladie lors de la résistance aux traitements.**

#### Projet PLBIO2009 – Alain PUISIEUX – Cancers du sein et du poumon

L'objectif de ce projet était de démontrer que la coopération entre les facteurs de transcription TWIST et certaines oncoprotéines mitogéniques accorde aux cellules épithéliales humaines des propriétés transformantes, tumorigènes et métastatiques.

Une partie de ce projet visait notamment à valider *in vivo* l'hypothèse selon laquelle la transition épithélio-mésenchymateuse est un processus réversible capable d'initier la dissémination métastatique, d'isoler les CTC et de les caractériser afin d'identifier des marqueurs utilisables chez les patients atteints de cancers. Pour cela, de nouveaux modèles de souris transgéniques dans lesquels les CTC sont marquées avec une protéine fluorescente devaient être générés.

Cependant, cette expérience n'a pas été concluante, le niveau d'expression de la protéine fluorescente étant trop faible pour être détectée. Aussi cette partie du projet n'a pas pu être réalisée et les CTC n'ont pas pu être isolées et caractérisées.

Dans la suite du projet, une étude génomique des CTC dans les cancers du poumon, de la prostate et du sein a été menée en utilisant une méthode microfluidique pour isoler les CTC (méthode ClearCell®). Les CTC isolées peuvent être caractérisées (contenu génomique et transcriptomique, caractéristiques phénotypiques). Elles peuvent ensuite être mises en culture 2D. Une méthode de culture 3D est en développement (microfluidique), ainsi qu'une méthode permettant l'isolement en *single cell* des CTC.

Par ailleurs, des modèles de xénogreffes *in ovo* à partir de CTC préalablement isolées et mises en culture ont été développés. **Ces techniques combinées à l'isolement des CTC permettent d'ouvrir de nouvelles perspectives de recherche sur la plasticité tumorale et sur l'hétérogénéité tumorale.** Ces travaux se poursuivent désormais dans le cadre du projet LUTON financé par le cancéropôle CLARA.

---

<sup>8</sup> Pailler E, Oulhen M, Borget I, Remon J, Ross K, Auger N, Billiot F, Ngo Camus M, Commo F, Lindsay CR, Planchard D, Soria JC, Besse B, Farace F. Circulating Tumor Cells with Aberrant ALK Copy Number Predict Progression-Free Survival during Crizotinib Treatment in ALK-Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer Patients. *Cancer Res.* 2017 May 1;77(9):2222-2230.

#### **Projet PLBIO2016 – Kerstin BYSTRICKY – Cancers du sein et de la prostate**

L'un des objectifs du projet est de définir une nouvelle classification des CTC basée sur leur architecture chromatinienne. Les signatures chromatinienne identifiées au niveau des CTC pourraient être corrélées à leur potentiel métastatique. Certaines d'entre elles constitueraient alors un marqueur d'agressivité. Cela pourrait permettre de développer à terme un nouvel outil diagnostique permettant la détection précoce des « mauvaises » CTC.

Actuellement, les différentes signatures chromatinienne potentiellement observables au niveau des CTC sont en cours de validation dans des modèles cellulaires d'EMT par des approches d'immunofluorescence et de FISH.

En parallèle, des modèles murins de xénogreffe orthotopique de cancer de la prostate/sein avec suivi/analyse en imagerie par bioluminescence et fluorescence du développement tumoral et métastatique sont mis en place. Les premiers résultats de quantification des CTC par Droplet Digital PCR ont montré une bonne corrélation entre le nombre de CTC et l'invasion tumorale. Concernant la purification des CTC, la méthode ScreenCell a été utilisée pour le moment.

### **3.3 Projet de développement technologique**

#### **Projet TRANSLA 2009 – Jean-Louis VIOVY – Cancer du sein – Technique EPHESIA**

L'objectif de ce projet était de valider le potentiel de la technique EPHESIA pour le comptage, le typage (immunophénotypage et FISH), la visualisation et l'analyse moléculaire des CTC dans les cancers du sein.

Cette technique est opérationnelle. Une comparaison avec la technologie CellSearch® a été effectuée. Le système EPHESIA est plus spécifique que la méthode CellSearch® et capture un nombre un peu plus élevé de CTC.

Les prochaines étapes du projet étaient de mettre en place différentes méthodes de caractérisation moléculaire des CTC isolées : FISH, RT-PCR, NGS (exome, génome, transcriptome) ou PLA (Interactions protéine/protéine). La preuve de concept pour une caractérisation par RT-PCR a été effectuée. Une validation clinique relative à la caractérisation par PLA est en cours.

## Récapitulatif des projets présentés dans ce rapport

| Objectif  | Projet                               | Pathologie                        | Technique  |
|---|--------------------------------------|-----------------------------------|--|
| <b>Validation clinique de l'intérêt pronostique et/ou prédictif du comptage des CTC</b> | PHRC 2006 et 2009 - JY Pierga        | Cancer du sein métastatique       | CellSearch®  |
|   | STIC 2011 JY Pierga - CTC Metabreast | Cancer du sein métastatique       | CellSearch®  |
|   | Etude COLOSPOT – C Alix-Panabières   | Cancer du côlon métastatique      | EPISPOT, CellSearch®                               |
|   | Etude CIRCUTEC – C Alix-Panabières   | Cancer VADS métastatique          | Combinaison : EPISPOT, CellSearch®, Flow cytometry |
|   | PHRC 2009 – JJ Tuech                 | Cancer du côlon localisé          | ScreenCell   |
|   | CTC-SCAN – C Alix-Panabières         | Cancer de la prostate localisé    | Combinaison : EPISPOT CellSearch® CellCollector™   |
| <b>Détection précoce</b>  | DETECTOR – J Tredaniel               | Cancers liés au tabac             | ISET   |
| <b>Caractérisation moléculaire des CTC</b>  | CELLTRACE – F Farace                 | Cancer du poumon                  | ISET/FISH/microdissection laser<br>RosetteSep/FACS |
|   | PLBIO 2009 – A Puisieux              | Cancer du sein ou du poumon       | ClearCell®   |
|   | PLBIO 2016 – K Bystricky             | Cancers du sein et de la prostate | ScreenCell   |
| <b>Développement technologique</b>  | Transla 2009 – JL Viovy              | Cancer du sein                    | EPHESIA, validation versus CellSearch              |

## 4. DISCUSSION

La présentation des résultats, intermédiaires ou finaux, des 12 projets de recherche soutenus dans le cadre des appels à projets organisés par l'Institut national du cancer entre 2006 et 2016, a mis en évidence la diversité des techniques disponibles pour détecter les CTC. Elle a également permis de faire un état d'avancement de l'implémentation de ces techniques en pratique clinique, en soulignant leurs avantages et limites. Enfin, elle a montré le potentiel de recherche que représentent les CTC.

Les approches méthodologiques utilisées pour détecter les CTC sont variées, tant au niveau des étapes d'enrichissement que de détection. Les deux enjeux principaux sont d'une part la rareté des CTC et le fait qu'elles circulent au milieu d'un très grand nombre de cellules sanguines, et d'autre part leur hétérogénéité et l'absence de marqueur universel. Il est donc nécessaire de passer par une étape d'enrichissement qui doit être fondée sur des caractéristiques distinguant les cellules tumorales des cellules normales. Les technologies utilisées sont basées soit sur la présence de marqueurs spécifiques des cellules tumorales ou des cellules sanguines, soit sur les caractéristiques physiques des cellules tumorales. Or, aucun de ces marqueurs n'est réellement universel ou spécifique, et par conséquent toutes les technologies présentent des limites dans la sensibilité ou la spécificité de détection. De ce fait, aucune technique ne s'impose réellement et pour chaque application donnée, la question de la technique la plus adaptée doit être posée. Certaines études valident leur complémentarité et pousseraient d'ailleurs à les combiner.

Les applications cliniques potentielles des CTC sont larges et concernent toutes les étapes de l'évolution des cancers : du stade très précoce dans le cadre du dépistage de la population générale ou de personnes à haut risque de cancer, au stade métastatique.

Certaines techniques ont été développées en vue de leur utilisation en pratique clinique et permettent d'effectuer un dénombrement des CTC. Dans ce contexte, leur technologie évolue peu, ce sont des techniques manuelles, lourdes et difficiles.

À ce jour, la détection des CTC n'est pas encore utilisée en routine clinique, mais les résultats de différentes études, dont l'étude nationale STIC METABREAST, devraient répondre à cette question de l'utilité clinique et favoriser une utilisation des CTC en routine.

Les travaux les plus avancés concernent les stades métastatiques, car le nombre de CTC est plus élevé chez ces patients et elles sont donc moins difficiles à détecter. Ainsi, le taux de CTC est un marqueur pronostique validé dans plusieurs localisations tumorales telles que le cancer du sein, le cancer colorectal ou encore le cancer de la prostate. Il a aussi été établi que l'évolution précoce du taux de CTC (avant et après le début du traitement) était un marqueur prédictif de réponse à la chimiothérapie. Néanmoins, en l'absence actuelle de traitement alternatif efficace, ces marqueurs n'ont malheureusement pas encore d'utilité clinique. Pour parvenir à implémenter la détection de CTC en pratique clinique, il est important de mener des études dans des situations où il existe des options thérapeutiques alternatives (traitements possible par immunothérapie ou thérapies ciblées par exemple). Ce contexte se rapproche de celui de la détection de la maladie résiduelle au niveau sanguin des maladies hémato-oncologiques.

Les travaux de validation sont moins avancés pour les stades plus précoces de cancers, car les exigences sont plus fortes en termes de sensibilité et de spécificité nécessaires. Les enjeux sont particulièrement élevés pour la détection précoce des cancers, car les techniques doivent atteindre des critères de sensibilité et de spécificité très élevés. L'étude DETECTOR a souligné l'importance de la validation des CTC isolées dans un contexte non cancéreux.

De nombreux travaux restent donc à mener pour permettre l'utilisation en pratique clinique des CTC.

D'autres technologies sont développées au contraire pour mener des travaux de recherche sur les CTC. Elles permettent en particulier de les caractériser très finement au niveau moléculaire ou d'isoler des CTC viables. Contrairement aux techniques précédentes, celles-ci sont beaucoup plus évolutives.

Par ailleurs, le développement continu de techniques permettant d'effectuer des caractérisations moléculaires approfondies des CTC, de travailler sur des CTC uniques et d'isoler des CTC vivantes pouvant être mises en culture ou xenogreffées, ouvre de larges perspectives de recherche fondamentale et translationnelle, en particulier pour mieux appréhender l'initiation des cancers, le processus métastatique et l'hétérogénéité tumorale. Cependant, il est important de valider ces nouvelles technologies dans des essais cliniques, ce qui n'est pas le cas pour de nombreuses nouvelles technologies de détection de CTC.

Les CTC, en tant que *biopsie liquide* en temps réel du cancer, sont accessibles par un simple prélèvement sanguin non invasif qui peut être réalisé de manière répétée. Grâce à ces informations, nous devrions arriver à proposer une médecine de précision dans un futur proche.





---

**CELLULES TUMORALES CIRCULANTES**  
**/Projets financés par l'Institut et méthodes utilisées**



52, avenue André Morizet  
92100 Boulogne-Billancourt  
France

Tel. +33 (1) 41 10 50 00  
diffusion@institutcancer.fr

Édité par l'Institut national du cancer  
Tous droits réservés - Siren 185 512 777

Conception : INCa

Réalisation : INCa

ISBN 978-2-37219-426-6

ISBN net 978-2-37219-427-3

DEPÔT LÉGAL FÉVRIER 2019



Pour plus d'informations  
**e-cancer.fr**

Institut national du cancer  
52, avenue André Morizet  
92100 Boulogne-Billancourt  
France

Tel. +33 (1) 41 10 50 00  
diffusion@institutcancer.fr

ETCELTUMCIR2019

[e-cancer.fr](http://e-cancer.fr)

