



<http://portaildoc.univ-lyon1.fr>

Creative commons : Paternité - Pas d'Utilisation Commerciale -
Pas de Modification 2.0 France (CC BY-NC-ND 2.0)



<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/2.0/fr>

ANNÉE 2017 N°306

**PROFILAGE MOLECULAIRE TUMORAL :
RESULTATS PEDIATRIQUES DE L'ETUDE PROFILER**

THESE D'EXERCICE EN MEDECINE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
Et soutenue publiquement le 16 Octobre 2017
En vue d'obtenir le titre de Docteur en Médecine

Par

Sarah BENEZECH

Née le 13 Novembre 1987 à Besançon

Sous la direction du Docteur Didier FRAPPAZ

ANNÉE 2017 N°306

**PROFILAGE MOLECULAIRE TUMORAL :
RESULTATS PEDIATRIQUES DE L'ETUDE PROFILER**

THESE D'EXERCICE EN MEDECINE

Présentée à l'Université Claude Bernard Lyon 1
Et soutenue publiquement le 16 Octobre 2017
En vue d'obtenir le titre de Docteur en Médecine

Par

Sarah BENEZECH

Née le 13 Novembre 1987 à Besançon

Sous la direction du Docteur Didier FRAPPAZ

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD – LYON 1

Président	Frédéric FLEURY
Président du Comité de	Pierre COCHAT
Coordination des Etudes Médicales	
Directrice Générale des Services	Dominique MARCHAND
<u>Secteur Santé</u>	
UFR de Médecine Lyon Est	Doyen : Gilles RODE
UFR de Médecine Lyon Sud- Charles Mérieux	Doyen : Carole BURILLON
Institut des Sciences Pharmaceutiques Et Biologiques (ISPB)	Directrice : Christine VINCIGUERRA
UFR d'Odontologie	Directeur : Denis BOURGEOIS
Institut des Sciences et Techniques De Réadaptation (ISTR)	Directeur : Xavier PERROT
Département de Biologie Humaine	Directrice : Anne-Marie SCHOTT
<u>Secteur Sciences et Technologie</u>	
UFR de Sciences et Technologies	Directeur : Fabien de MARCHI
UFR de Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives (STAPS)	Directeur : Yannick VANPOULLE
Polytech Lyon	Directeur : Emmanuel PERRIN
I.U.T.	Directeur : Christophe VITON
Institut des Sciences Financières Et Assurances (ISFA)	Directeur : Nicolas LEBOISNE
Observatoire de Lyon	Directrice : Isabelle DANIEL
Ecole Supérieure du Professorat Et de l'Education (ESPE)	Directeur : Alain MOUGNIOTTE

Faculté de Médecine Lyon Est Liste des enseignants 2016/2017

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers Classe exceptionnelle Echelon 2

Blay	Jean-Yves	Cancérologie ; radiothérapie
Cochat	Pierre	Pédiatrie
Cordier	Jean-François	Pneumologie ; addictologie
Etienne	Jérôme	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Gouillat	Christian	Chirurgie digestive
Guérin	Jean-François	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
Mornex	Jean-François	Pneumologie ; addictologie
Ninet	Jacques	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillessement ; médecine générale ; addictologie
Philip	Thierry	Cancérologie ; radiothérapie
Ponchon	Thierry	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Revel	Didier	Radiologie et imagerie médicale
Rivoire	Michel	Cancérologie ; radiothérapie
Rudigoz	René-Charles	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Thivolet-Bejui	Françoise	Anatomie et cytologie pathologiques
Vandenesch	François	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers Classe exceptionnelle Echelon 1

Borson-Chazot	Françoise	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
Chassard	Dominique	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Claris	Olivier	Pédiatrie
D'Amato	Thierry	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
Delahaye	François	Cardiologie
Denis	Philippe	Ophtalmologie
Disant	François	Oto-rhino-laryngologie
Douek	Philippe	Radiologie et imagerie médicale
Ducerf	Christian	Chirurgie digestive
Finet	Gérard	Cardiologie
Gaucherand	Pascal	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Guérin	Claude	Réanimation ; médecine d'urgence
Herzberg	Guillaume	Chirurgie orthopédique et traumatologique
Honorat	Jérôme	Neurologie
Lachaux	Alain	Pédiatrie
Lehot	Jean-Jacques	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Lermusiaux	Patrick	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Lina	Bruno	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Martin	Xavier	Urologie
Mellier	Georges	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Mertens	Patrick	Anatomie
Michallet	Mauricette	Hématologie ; transfusion
Miossec	Pierre	Immunologie
Morel	Yves	Biochimie et biologie moléculaire

Moulin	Philippe	Nutrition
Négrier	Sylvie	Cancérologie ; radiothérapie
Neyret	Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologique
Nighoghossian	Norbert	Neurologie
Ninet	Jean	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Obadia	Jean-François	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Ovize	Michel	Physiologie
Rode	Gilles	Médecine physique et de réadaptation
Terra	Jean-Louis	Psychiatrie d'adultes ; addictologie
Zoulim	Fabien	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers

Première classe

André-Fouet	Xavier	Cardiologie
Argaud	Laurent	Réanimation ; médecine d'urgence
Badet	Lionel	Urologie
Barth	Xavier	Chirurgie générale
Bessereau	Jean-Louis	Biologie cellulaire
Berthezene	Yves	Radiologie et imagerie médicale
Bertrand	Yves	Pédiatrie
Boillot	Olivier	Chirurgie digestive
Braye	Fabienne	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
Breton	Pierre	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
Chevalier	Philippe	Cardiologie
Colin	Cyrille	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Colombel	Marc	Urologie
Cottin	Vincent	Pneumologie ; addictologie
Devouassoux	Mojgan	Anatomie et cytologie pathologiques
Di Filippo	Sylvie	Cardiologie
Dumontet	Charles	Hématologie ; transfusion
Durieu	Isabelle	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie
Edery	Charles Patrick	Génétique
Fauvel	Jean-Pierre	Thérapeutique ; médecine d'urgence ; addictologie
Guenot	Marc	Neurochirurgie
Gueyffier	François	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
Guibaud	Laurent	Radiologie et imagerie médicale
Javouhey	Etienne	Pédiatrie
Juillard	Laurent	Néphrologie
Jullien	Denis	Dermato-vénéréologie
Kodjikian	Laurent	Ophtalmologie
Krolak Salmon	Pierre	Médecine interne ; gériatrie et biologie du vieillissement ; médecine générale ; addictologie
Lejeune	Hervé	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
Mabrut	Jean-Yves	Chirurgie générale
Merle	Philippe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Mion	François	Physiologie
Morelon	Emmanuel	Néphrologie
Mure	Pierre-Yves	Chirurgie infantile
Négrier	Claude	Hématologie ; transfusion
Nicolino	Marc	Pédiatrie
Picot	Stéphane	Parasitologie et mycologie

Rouvière	Olivier	Radiologie et imagerie médicale
Roy	Pascal	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
Ryvlin	Philippe	Neurologie
Saoud	Mohamed	Psychiatrie d'adultes
Schaeffer	Laurent	Biologie cellulaire
Scheiber	Christian	Biophysique et médecine nucléaire
Schott-Pethelaz	Anne-Marie	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Tilikete	Caroline	Physiologie
Truy	Eric	Oto-rhino-laryngologie
Turjman	Françis	Radiologie et imagerie médicale
Vallée	Bernard	Anatomie
Vanhems	Philippe	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Vukusic	Sandra	Neurologie

Professeurs des Universités – Praticiens Hospitaliers Seconde Classe

Ader	Florence	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
Aubrun	Frédéric	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Boussel	Loïc	Radiologie et imagerie médicale
Calender	Alain	Génétique
Chapurlat	Roland	Rhumatologie
Charbotel	Barbara	Médecine et santé au travail
Chêne	Gautier	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Cotton	François	Radiologie et imagerie médicale
Crouzet	Sébastien	Urologie
Dargaud	Yesim	Hématologie ; transfusion
David	Jean-Stéphane	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Di Rocco	Federico	Neurochirurgie
Dubernard	Gil	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Ducray	François	Neurologie
Dumortier	Jérome	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Fanton	Laurent	Médecine légale
Fellahi	Jean-Luc	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Ferry	Tristan	Maladies infectieuses ; maladies tropicales
Fourneret	Pierre	Pédopsychiatrie ; addictologie
Gillet	Yves	Pédiatrie
Girard	Nicolas	Pneumologie
Gleizal	Arnaud	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
Henaine	Roland	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire
Hot	Arnaud	Médecine interne
Huissoud	Cyril	Gynécologie-obstétrique ; gynécologie médicale
Jacquin-Courtois	Sophie	Médecine physique et de réadaptation
Janier	Marc	Biophysique et médecine nucléaire
Lesurtel	Mickaël	Chirurgie générale
Michel	Philippe	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Million	Antoine	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire
Monneuse	Olivier	Chirurgie générale
Nataf	Serge	Cytologie et histologie
Peretti	Noël	Nutrition
Pignat	Jean-Christian	Oto-rhino-laryngologie
Poncet	Gilles	Chirurgie générale
Raverot	Gérald	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques ; gynécologie médicale
Ray-Coquard	Isabelle	Cancérologie ; radiothérapie

Rheims	Sylvain	Neurologie
Richard	Jean-Christophe	Réanimation ; médecine d'urgence
Robert	Maud	Chirurgie digestive
Rossetti	Yves	Physiologie
Souquet	Jean-Christophe	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Thaumat	Olivier	Néphrologie
Thibault	Hélène	Physiologie
Wattel	Eric	Hématologie ; transfusion

Professeur des Universités - Médecine Générale

Flori	Marie
Letrilliart	Laurent
Moreau	Alain
Zerbib	Yves

Professeurs associés de Médecine Générale

Lainé	Xavier
-------	--------

Professeurs émérites

Baulieux	Jacques	Cardiologie
Beziat	Jean-Luc	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie
Chayvialle	Jean-Alain	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Daligand	Liliane	Médecine légale et droit de la santé
Droz	Jean-Pierre	Cancérologie ; radiothérapie
Floret	Daniel	Pédiatrie
Gharib	Claude	Physiologie
Mauguière	François	Neurologie
Neidhardt	Jean-Pierre	Anatomie
Petit	Paul	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Sindou	Marc	Neurochirurgie
Touraine	Jean-Louis	Néphrologie
Trepo	Christian	Gastroentérologie ; hépatologie ; addictologie
Trouillas	Jacqueline	Cytologie et histologie
Viale	Jean-Paul	Réanimation ; médecine d'urgence

Maîtres de Conférence – Praticiens Hospitaliers Hors classe

Benchaib	Mehdi	Biologie et médecine du développement et de la reproduction ; gynécologie médicale
Bringuier	Pierre-Paul	Cytologie et histologie
Dubourg	Laurence	Physiologie
Germain	Michèle	Physiologie
Jarraud	Sophie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Le Bars	Didier	Biophysique et médecine nucléaire
Normand	Jean-Claude	Médecine et santé au travail
Persat	Florence	Parasitologie et mycologie
Piaton	Eric	Cytologie et histologie

Sappey-Marinier	Dominique	Biophysique et médecine nucléaire
Streichenberger	Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
Timour-Chah	Quadiri	Pharmacologie fondamentale ; pharmacologie clinique ; addictologie
Voiglio	Eric	Anatomie

Maîtres de Conférence – Praticiens Hospitaliers Première classe

Barnoud	Raphaëlle	Anatomie et cytologie pathologiques
Bontemps	Laurence	Biophysique et médecine nucléaire
Chalabreysse	Lara	Anatomie et cytologie pathologiques
Charrière	Sybil	Nutrition
Collardeau Frachon	Sophie	Anatomie et cytologie pathologiques
Confavreux	Cyrille	Rhumatologie
Cozon	Grégoire	Immunologie
Escuret	Vanessa	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Hervieu	Valérie	Anatomie et cytologie pathologiques
Kolopp-Sarda	Marie Nathalie	Immunologie
Lesca	Gaëtan	Génétique
Lukaszewicz	Anne-Claire	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Maucort Boulch	Delphine	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
Meyronet	David	Anatomie et cytologie pathologiques
Pina-Jomir	Géraldine	Biophysique et médecine nucléaire
Plotton	Ingrid	Biochimie et biologie moléculaire
Rabilloud	Muriel	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
Rimmele	Thomas	Anesthésiologie-réanimation ; médecine d'urgence
Ritter	Jacques	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Roman	Sabine	Physiologie
Tardy Guidollet	Véronique	Biochimie et biologie moléculaire
Tristan	Anne	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Venet	Fabienne	Immunologie
Vlaeminck-Guillem	Virginie	Biochimie et biologie moléculaire

Maîtres de Conférences – Praticiens Hospitaliers Seconde classe

Casalegno	Jean-Sébastien	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière
Curie	Aurore	Pédiatrie
Duclos	Antoine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
Lemoine	Sandrine	Physiologie
Marignier	Romain	Neurologie
Phan	Alice	Dermato-vénéréologie
Schluth-Bolard	Caroline	Génétique
Simonet	Thomas	Biologie cellulaire
Vasiljevic	Alexandre	Anatomie et cytologie pathologiques

Maîtres de Conférences associés de Médecine Générale

Farge	Thierry
Pigache	Christophe

Le Serment d'Hippocrate

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans discrimination.

J'interviendrai pour les protéger si elles sont vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité.

J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance.

Je donnerai mes soins à l'indigent et je n'exigerai pas un salaire au dessus de mon travail.

Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs.

Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement la vie ni ne provoquerai délibérément la mort.

Je préserverai l'indépendance nécessaire et je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je perfectionnerai mes connaissances pour assurer au mieux ma mission.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé si j'y manque.

Remerciements

Monsieur le Professeur Jean-Yves Blay,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse et pour l'enthousiasme dont vous avez fait preuve lors de nos échanges. J'ai conscience que ce sujet vous est cher et j'espère l'avoir traité dignement.

Monsieur le Professeur Yves Bertrand,

Je vous remercie pour tout ce que vous avez su me transmettre de l'hématologie pédiatrique durant mes stages d'interne, du sens clinique durant les visites du R3 à l'intérêt pour ce qui reste à comprendre et découvrir durant les RCP d'Immuno... Enfin, je vous remercie de votre bienveillance et de la confiance que vous m'accordez en m'accueillant au sein de l'IHOP dans quelques semaines.

Monsieur le Professeur Pierre Cochat,

Je vous remercie pour votre enthousiasme à juger cette thèse bien qu'elle ne soit pas directement en lien avec votre activité clinique de prédilection. Je vous remercie également pour votre pédagogie ; le semestre que j'ai effectué dans votre service de néphrologie pédiatrique m'a permis de dédramatiser cette discipline qui m'était jusque là obscure et complexe.

Monsieur le Docteur Didier Frappaz,

Je vous suis infiniment reconnaissante pour m'avoir encadrée/soutenue/stimulée dans l'élaboration de ce travail et de la confiance dont vous avez fait preuve lors de nos entretiens successifs malgré mes temps de latence parfois prolongés ... Je vous remercie pour vos enseignements tant cliniques que scientifiques lors de mes passages en tant qu'interne dans le service, dont j'ai hâte de pouvoir à nouveau profiter dans les prochains mois.

Madame le Docteur Perrine Marec-Bérard,

Je ne te remercierai jamais assez d'avoir été le maître Jedi de mon initiation à la recherche clinique. Ce premier travail, effectué grâce à tes encouragements, conseils avisés et mails de motivation, m'a été d'une grande aide par la suite, notamment pour la rédaction de cette thèse. Je te suis également reconnaissante pour ce que tu transmets dans ta pratique clinique quotidienne, de ta bienveillance dans le soin et ta volonté de se battre pour tes patients.

Véronique Corset, Leïla Ben Abdesselem, Sylvie Chabaud, Monia Ezzalfani, Mérédith Mercier, Cécile Giraud,

Merci infiniment pour votre disponibilité et votre aide précieuse qui m'ont permis d'y voir un peu plus clair dans cette base de données de l'étude ProfilER ... ce qui n'était pas une mince affaire !

Hélène Martinez,

Merci pour ton éclairage particulier sur certains aspects de ce sujet, que je tâcherai de garder à l'esprit autant que possible durant les deux prochaines années.

Daniel Pissaloux et Valery Attignon,

Merci pour la pédagogie dont vous avez fait preuve afin de m'initier à l'aspect scientifique pur de cette étude. Des paillasses aux chambres des patients il n'y a guère de distance qu'il est toujours enrichissant de franchir.

Dr Olivier Tredan,

Merci pour votre regard éclairé sur l'actionnabilité, entre mythe, compte-rendu de RCP et réalité...

Tous les médecins de l'IHOP,

Les Docteurs Christophe Bergeron, Cécile Renard, Cécile Faure-Conter, Carine Halfon-Domenech, Nadège Corradini, Nathalie Garnier, Alexandra Gauthier, Kamila Kebaili, Amandine Bertrand, Anna Marcault, Matthias Schell, Laure Tenenbaum, Daniela Cuzzubo, Arthur Dony, Nathalie Cheik, Charline Normand, Clara Libbrecht, Katell Michaux. Merci pour votre contribution dans ma formation d'interne, et de m'accueillir parmi vous prochainement.

Et tous les autres professionnels de l'IHOP, infirmières, cadres, auxiliaires, kiné, psychomotriciennes, diététiciennes, psychologues, animatrices et instit' ... Merci d'avoir, au cours des 2 semestres passés à vos côtés, conforté mon envie de venir travailler avec vous.

Les équipes d'Hématologie et Oncologie Pédiatriques des CHU de Besançon et de Sainte-Justine. Vous avez été mon école maternelle de l'hémato-onco-ped, merci tout particulièrement aux Dr Veronique Laithier, Sandra Frache, et Michèle David pour votre bienveillance et m'avoir transmis votre enthousiasme pour votre spécialité.

La team Henry de la CIRI tower,

Merci de m'avoir si chaleureusement accueillie et m'avoir laissée m'installer sur un coin de paillasse, emprunter vos pipettes multicanaux et contaminer vos centri de viro... Surtout, merci de m'avoir ~~transmis le virus~~ électroporé le plasmide de la recherche fondamentale.

Merci tout particulier à **Flora**, mon binôme, maman-de-labo et partenaire de lutte acharnée contre Pysin l'inclonable.

Tous les enfants et leurs parents,

Merci pour ce que vous savez nous renvoyer, et qui nous permet de continuer.

Pierre-Emmanuel

Merci de me supporter car plus qu'une formule, j'ai conscience que c'est un vrai challenge parfois. Merci pour ta constance malgré mon inconstance et pour continuer à voir en moi ce que j'ai parfois du mal à retrouver. Je t'en suis infiniment reconnaissante et ça vaut bien un McDo.

Marius, mon petit chat qui a beaucoup miaulé quand j'ai débuté cette thèse, mais désormais ronronne pour mon plus grand bonheur.

Mes parents,

Merci de ne vous être pas (trop) moqués de moi quand, après avoir clamé pendant dix ans que JAMAIS je ne ferais comme vous, je vous ai appelés en pleurs un soir pour vous dire que je voulais m'inscrire en P1... Merci pour votre soutien dans ce moment pas forcément facile, et ceux qui ont suivi.

Matthieu, Juliette, et Raphaël,

Merci de supporter, par conséquent, les discussions monomaniaques du dimanche midi... Et je serai ravie qu'on puisse détourner ces discussions sur les hyménoptères, Matthieu, Juju sur autre chose que les blouses roses, et Raphaël sur ce que tu voudras.

Mes grands-parents,

Même un peu loin - pour certain plus du tout là - toujours très présents, merci pour votre soutien et votre fierté tout au long de mes études.

Merci au reste de ma famille, **Claudine et Sylvie, Cyril, Marie, Léo, Chloé, Anna et Sacha,**

et à ceux qui sont tout comme, **Marie-Pierre, Dominique, Claire-Line, Pierre-Edouard et Lucile, Antoine, Joëlle, Nounou et René, Bibi et Fred.**

Florence et Grégoire, Pierre-Marie et Enrique, Valentine et François, Thomas et Maria, Marion et Laurent, Thibault et Gaëlle, Laurianne, Marion.

Merci pour cette amitié de la première heure qui persiste malgré les millions écoulées (d'heures). On est ce que les rencontres font de nous. A cet égard, une bonne partie de moi vient de vous (je ne vous précise pas laquelle !).

Julie et Mathilde, Mathilde et Julie,

Le trio de bichettes est né à l'IHOP, c'est en partie pour ça que je me fais une joie d'y retourner, même s'il est amputé de 33%.

Mathilde, merci pour tous ces moments, dans et hors l'hôpital, passés ensemble. Je compte bien en passer d'autres, même si j'ai bien conscience que pour les vacances à 3 au CapVert ça risque d'être un peu plus complexe maintenant...

Julie, merci de m'avoir acceptée comme « cool », mon internat aurait été bien moins fun si je n'avais pas passé l'accréditation. Merci pour ton amitié, ton soutien, toujours constant, ta bonne humeur.

Au plaisir de continuer à faire des tas de chouettes choses les 3 ensemble.

Et à vous dont l'entraide et l'amitié m'ont soutenue tout au long de ces études, virées bisontines, colles de D4, gardes au CNP et planning de réa...

Elsa, Amina, Christine, Fanny et PEG, Maxime, Claire et Fabien et Ninon, Linda, Emilie, Mathias, Solenn, Marie M, Sophie, Charlotte, Mélanie, Chloé, Estelle, Julie C, Anguella, Antony, Marine, et tous ceux qui se reconnaîtront dans l'appellation désormais déposée de « Bichette ».

A Benoit (eve vime adam)

TABLE DES MATIERES

ABREVIATIONS	2
INTRODUCTION GENERALE	5
GENOME, CANCER ET MEDECINE DE PRECISION	7
1. A l'origine de la médecine de précision : le décryptage du génome humain	7
2. Altérations génomiques des cancers pédiatriques	8
3. Exemples d'applications cliniques de l'analyse génomique en oncologie pédiatrique	10
Identifications de nouvelles entités histo-pronostiques	10
Pharmacogénétique	11
Thérapeutiques ciblées	11
ARTICLE	13
1. Introduction	13
2. Materials and Methods	14
Patients	14
Tumor samples	14
Genomic analyses	14
Discussion and treatment recommendations	16
Ethics	16
2. Results	17
Patients	17
Tumors	17
Samples and analyses	18
Genomic results	19
Physicians' attitude and expectations	22
4. Discussion	24
5. Bibliography	29
DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION	32
BIBLIOGRAPHIE GENERALE	36

ABREVIATIONS

ABL1 : Abelson murine leukemia viral oncogene homolog 1

aCGH : Array Comparative Genomic Hybridization

AcSé-ESMART : Accès Sécurisé aux thérapies ciblées innovantes – European Proof-of-concept Therapeutic Stratification Trial of Molecular Anomalies in Relapsed or Refractory Tumors

AKT1 : AKT Serine/Threonine Kinase 1

AKT2 : AKT Serine/Threonine Kinase 1

ALK : Anaplastic Lymphoma Kinase

APC : Adenomatous Polyposis Coli

ARN : acide ribonucléique

AXL : AXL receptor tyrosine kinase

BRAF : B-Raf proto-oncogene, serine/threonine kinase

BRCA1 : Breast Cancer 1

BRCA2 : Breast Cancer 2

CDK4 : Cyclin Dependent Kinase 4

CDKN2A : Cyclin Dependant Kinase Inhibitor 2A

CIC : Capicua Transcriptional Repressor

CNS : Central Nervous System

COSMIC : Catalogue Of Somatic Mutations In Cancer

CSF1 : Colony Stimulating Factor 1

CSF1R : Colony Stimulating Factor 1 Receptor

DDB2 : Damage Specific DNA Binding Protein 2

DDR1 : Discoidin domain receptor family 1

DDR2 : Discoidin domain receptor family 2

DNA : deoxyribonucleic acid

DNMT3 : DNA Methyltransferase 3

DUX4 : Double Homeobox 4

EGFR : Epithelial Growth Factor Receptor

ERBB2 : Avian Erythroblastic Leukemia Viral Oncogene Homolog 2

EWSR1 : EWS RNA Binding Protein 1

FGFR1 : Fibroblast Growth Factor Receptor 1

FGFR2 : Fibroblast Growth Factor Receptor 2

FGFR3 : Fibroblast Growth Factor Receptor 3

FGFR4 : Fibroblast Growth Factor Receptor 4

FLT1 : Fms Related Tyrosine Kinase 1

FLT3 : Fms Related Tyrosine Kinase 3

FLT4 : Fms Related Tyrosine Kinase 4

gDNA : Genomic DNA

GNAQ : Guanine Nucleotide Binding Q

HRAS : Harvey Rat Sarcoma Viral Oncogene Homolog
HRNBL : High Risk Neuroblastoma
IDH1 : Isocitrate Dehydrogenase (NADP(+)) 1
IGF1R : Insulin Like Growth Factor 1 Receptor
IHOpe : Institut d'Hématologie et Oncologie Pédiatrique
InVS : Institut National de Veille Sanitaire
ITCC : Innovative Therapies for Children with Cancer
JAK2 : Janus Tyrosine Kinase 2
JAK3 : Janus Tyrosine Kinase 3
KDR : Kinase Insert Domain Receptor
KIA : Marker Of Proliferation Ki-67
KIT : KIT Proto-Oncogene Receptor Tyrosine Kinase
KRAS : Kirsten rat sarcoma viral oncogene homolog
LAL : Leucémie Aigue Lymphoblastique
LAM : Leucémie Aigue Myéloblastique
LYric : Lyon Recherche Intégrée en Cancérologie
MAPK : Mitogen-Activated Protein Kinase
MAPPYACTS : A Prospective, Multicentric Clinical Proof-of-concept Study to Stratify Targeted Therapies Adapted to Molecular Profiling of Relapsed or Refractory Pediatric Tumors
MEK : Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 1
MERTK : myeloid-epithelial-reproductive tyrosine kinase
MET : MET Proto-Oncogene, Receptor Tyrosine Kinase
MPL : Myeloproliferative Leukemia Virus Oncogene
MST1R : Macrophage Stimulating 1 Receptor
MTOR : mammalian target of rapamycin
MUSK : Muscle Associated Receptor Tyrosine Kinase
NCI-COG Pediatric MATCH : National cancer Institute – Children's Oncology Group - Pediatric Molecular Analysis for Therapy Choice
NGS : Next Generation Sequencing
NRAS : Neuroblastoma RAS Viral Oncogene Homolog
OS : Osteosarcome
PCR : Polymerase Chain Reaction
PDGFA : Platelet Derived Growth Factor Subunit A
PDGFB : Platelet Derived Growth Factor Subunit B
PDGFRA : Platelet Derived Growth Factor Receptor A
PDGFRB : Platelet Derived Growth Factor Receptor B
PIK3CA : Phosphatidylinositol-4,5-Bisphosphate 3-Kinase Catalytic Subunit Alpha
PIK3R1 : Phosphoinositide-3-Kinase Regulatory Subunit 1
ProfiLER : Profilage LYric et Region
PTCH1 : Patched 1

PTEN : Phosphatase And Tensin Homolog
RAF1 : Raf-1 Proto-Oncogene, Serine/Threonine Kinase
RB1 : RB Transcriptional Corepressor 1
RET : Rearranged During Transfection
RMS : Rhabdomyosarcome
RNA : ribonucleic acid
ROR1 : Receptor Tyrosine Kinase Like Orphan Receptor 1
ROR2 : Receptor Tyrosine Kinase Like Orphan Receptor 2
ROS1 : ROS Proto-Oncogene 1, Receptor Tyrosine Kinase
RYK : Receptor-Like Tyrosine Kinase
SDHAF2 : Succinate Dehydrogenase Complex Assembly Factor 2
SDHB : Succinate Dehydrogenase Complex Iron Sulfur Subunit B
SDHC : Succinate Dehydrogenase Complex Iron Sulfur Subunit C
SDHD : Succinate Dehydrogenase Complex Iron Sulfur Subunit D
SHH : Sonic Hedgehog
SMARCB1 : SWI/SNF Related, Matrix Associated, Actin Dependent Regulator Of Chromatin, Subfamily B, Member 1
SMO : Smoothed, Frizzled Class Receptor
SNC : System Nerveux Central
SNP : Single Nucleotide Polymorphism
SRC : SRC Proto-Oncogene, Non-Receptor Tyrosine Kinase
STK11 : Serine/Threonine Kinase 11
TEK : Tunica Interna Endothelial Cell Kinase
TIE1 : Tyrosine Kinase With Immunoglobulin Like And EGF Like Domains 1
TP53 : Tumor Protein P53
TPMT : Thiopurine Methyltransferase
TSC1 : Tuberous Sclerosis 1
TSC2 : Tuberous Sclerosis 2
TYRO3 : TYRO3 Protein Tyrosine Kinase
VHL : Von Hippel-Lindau Tumor Suppressor
VIT : Vincristine Irinotecan Temozolomide

INTRODUCTION GENERALE

Chaque année en France, quelques 2500 nouveaux cas de cancers sont diagnostiqués chez des enfants et adolescents. Ils représentent une infime partie de l'ensemble des cas de cancers, et sont la 4^{ème} cause de mortalité chez l'enfant de moins de 15 ans, après les causes accidentelles, les malformations congénitales et les anomalies cardiovasculaires (données InVS). Cependant, la survie de ces enfants s'est considérablement améliorée ces dernières décennies. Il y a cinquante ans, seul un enfant sur cinq avait un espoir de guérir d'un cancer, avec parfois de lourdes séquelles dues aux traitements et une morbi-mortalité retardée importante. Aujourd'hui, les chiffres sont inversés et la survie à cinq ans, tous cancers confondus, dépasse les 80% (1). Cette amélioration de la survie a été portée par 2 révolutions majeures : le développement et l'innovation dans les soins de support d'une part (antibiothérapie et prévention anti-infectieuse, support nutritionnel, facteurs de croissance, amélioration de la sécurité transfusionnelle, etc) et l'avènement des protocoles standardisés poly-chimiothérapiques d'autre part. Ces protocoles basés sur les drogues cytotoxiques et la radiothérapie ont été soumis à une optimisation permanente, non seulement pour en limiter les séquelles à long terme, mais aussi pour intensifier le traitement des tumeurs de mauvais pronostic et ainsi gagner encore sur la survie. Cependant, à l'aube des années 2000, un plateau a été atteint dans l'augmentation jusque là soutenue des taux de survie et il est apparu que certaines entités étaient associées à un mauvais pronostic (2), quelles que fussent les optimisations et intensifications apportées aux protocoles de traitement. Parmi elles, citons les formes métastatiques ou réfractaires au traitement de première ligne des ostéosarcomes, neuroblastomes, rhabdomyosarcomes, ainsi que les gliomes du tronc et médulloblastomes (3). Pour ces formes à haut risque, les armes classiques de l'oncologie que sont la chimiothérapie cytotoxique, la radiothérapie et la chirurgie sont peu à peu apparues insuffisantes pour espérer une guérison. Parallèlement, les innovations techniques dans le domaine de l'analyse génomique ont permis de mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendaient le développement des tumeurs. En effet, si le concept d'instabilité du matériel génétique des cellules cancéreuses avait été mis en évidence au tout début du 20^{ème} siècle (4), ce n'est qu'avec le développement des techniques de séquençage que le génome tumoral a pu être décrypté en profondeur. Dès lors, la mise en évidence

d'altérations génomiques impliquées dans la carcinogenèse a ouvert la voie à des possibilités thérapeutiques nouvelles : le ciblage moléculaire de ces anomalies afin de bloquer les voies de signalisation spécifiquement activées par une tumeur. Il s'agissait désormais de déterminer quelles étaient les anomalies spécifiques du développement tumoral chez un patient donné afin de les cibler chimiquement. Ainsi est né le concept prometteur de médecine personnalisée - secondairement rebaptisée médecine de précision - appliqué à la cancérologie.

Le travail présenté dans cette thèse relate une expérience clinique de médecine de précision en oncologie pédiatrique. Il s'agit d'une analyse descriptive des patients pédiatriques ayant participé au programme ProfilER. Cette étude s'est déroulée au Centre Léon Bérard de 2013 à 2017 et a permis à plus de 2500 patients de bénéficier d'une analyse génomique de leur tumeur afin d'éventuellement bénéficier d'une thérapie ciblée. Nous rapportons ici les résultats de cette étude concernant le sous-groupe des 50 patients âgés de moins de 19 ans.

GENOME, CANCER, et MEDECINE DE PRECISION

1. A l'origine de la médecine de précision : le décryptage du génome humain

Les principes de la médecine génomique ont été conceptualisés à la fin des années 80 lors de la parution du premier numéro du journal *Genomics*, en 1987. Ses auteurs y définissaient la discipline éponyme comme étant une science en voie de développement qui s'attachait à cartographier et séquencer le génome, et à analyser l'information en découlant. Dès lors, la course à la connaissance exhaustive du génome humain était lancée. Entre 1990 et 2003, le programme international « Human Genome Project » s'est attaché à décrypter la séquence ADN complète du génome humain euchromatique (c'est à dire à l'exception des centromères et télomères) (5). S'il a fallu presque 15 ans pour que ce projet titanesque aboutisse, la décennie qui a suivi a participé à l'explosion de l'innovation technique en matière d'analyse génomique, avec notamment l'avènement du séquençage nouvelle génération, ou séquençage haut débit (6). Les coûts de séquençage ont été réduits de presque 1 million de fois. Le temps nécessaire à l'analyse d'un génome humain complet a suivi la même pente vertigineuse et est désormais accessible en quelques jours seulement (7). Plusieurs milliers de génomes ont été ainsi séquencés permettant d'esquisser la carte du génome humain et de ses variations allant de variants a priori non pathologiques (SNPs, Single Nucleotide Polymorphisms) à la mise en évidence de mutations associées à des pathologies dont l'étiologie était jusque-là inconnue (syndromes auto-inflammatoires, diabètes non auto-immuns, etc) (8,9). Mais si le séquençage complet du génome humain a permis de répondre à un certain nombre d'interrogations, la liste des questions qu'il a générées est sans fin. Parmi elles, la question de la traduction fonctionnelle de certaines mutations : de l'acide nucléique à la protéine, des nouvelles techniques cytogénétiques et de biologie moléculaire ont émergé afin d'analyser plus finement les altérations génomiques. On ne s'intéresse désormais plus uniquement au génome mais également au transcriptome (résultat effectif de la transcription en ARN de la séquence ADN), protéome (ensemble des protéines traduites et leur fonctionnalité) et épigénome (modifications chimiques que peut subir l'ADN, qui n'en affectent pas la séquence mais régulent l'activité d'un gène) (10).

2. Altérations génomiques des cancers pédiatriques

La connaissance précise du génome humain et l'accessibilité des techniques de séquençage à grande échelle ont permis de lancer, dans les années 2000, de multiples projets de recherche s'intéressant aux anomalies génomiques présentes dans les tissus tumoraux. En 1988, Vogelstein et coll. avaient démontré que les différentes étapes du cancer du colon chez l'homme, de l'épithélium normal à la cellule métastatique, en passant par les phases d'adénome et carcinome localisé, étaient sous-tendues par des modifications génétiques successives des cellules épithéliales (11). Ces modifications consistaient en des mutations activatrices d'oncogènes, et la perte de régions chromosomiques comprenant des gènes suppresseurs de tumeurs. Depuis cette publication qui a désormais fait date, les connaissances relatives aux mécanismes moléculaires de la carcinogenèse se sont considérablement étoffées. En 2013, ce même Vogelstein faisait état d'environ 140 gènes qui, une fois altérés par des mutations activatrices ou inhibitrices, pouvaient promouvoir le développement tumoral (12). Parallèlement à ces découvertes successives, la recherche pharmaceutique a mis au point un panel de molécules ciblant spécifiquement ces aberrations génomiques afin de bloquer leur action sur le développement tumoral. Plusieurs centaines de molécules ont ainsi été développées, testées, adoptées ou abandonnées.

Il y a une dizaine d'années, à la lumière de ces découvertes et possibilités thérapeutiques nouvelles entrevues pour les cancers classiques de l'adulte, la recherche pédiatrique s'est prise à espérer que de multiples oncogènes puissent être également mis en évidence dans les cancers de l'enfant, et ainsi être l'objet de thérapies ciblées. Cependant, il est désormais admis que le génome tumoral des cancers pédiatriques est non seulement très divers d'un type histologique à l'autre mais également relativement différent de celui des cancers de l'adulte.

Une des caractéristiques des cancers de l'enfant, maintenant bien démontrée, est d'être sous-tendus par des altérations génomiques bien moins fréquentes que les cancers classiques de l'adulte. En effet, les carcinomes pulmonaires ou mélanomes présentent 10 à 100 fois plus de gènes mutés que la moyenne des tumeurs pédiatriques (12). Certains cancers advenant principalement dans l'enfance

présentent un spectre de mutations très faible : les sarcomes d'Ewing en sont un exemple frappant (13,14). Les ostéosarcomes, dont le premier pic d'incidence concerne les adolescents et adultes jeunes, présentent un nombre de mutations par génome plus important que les autres types de cancers pédiatriques, mais celui-ci, autour de 25 mutations, reste considérablement inférieur à la moyenne des mutations des cancers de l'adulte (15). Si les mutations dans des gènes d'intérêt sont rares dans les sarcomes, il est apparu que ces tumeurs étaient caractérisées par un grand nombre de variants structurels, impliquant des translocations intra- et inter-chromosomiques. Il s'agit notamment des translocations impliquant le gène *EWSR1* qui est caractéristique des tumeurs de la famille des sarcomes d'Ewing (13). Ce type d'altérations est bien moins fréquemment rencontré dans les carcinomes de l'adulte, soulignant à nouveau les différences de mécanismes de carcinogénèse dans ces 2 populations. En outre, certains types tumoraux qui se retrouvent à la fois chez l'adulte et l'enfant peuvent présenter des altérations génomiques distinctes selon le groupe d'âge. Par exemple, dans les leucémies aiguës myéloblastiques, des mutations dans des gènes tels que *IDH1* ou *DNMT3A* se retrouvent quasi exclusivement dans les formes adultes de la maladie (16). Il en est de même pour les gliomes de haut grade : les mutations des gènes des histones H3.3 et H3.1 sont présentes quasi exclusivement dans les formes pédiatriques, tandis que les altérations de *PTEN* et *EGFR* seront plus volontiers retrouvées chez les adultes (17).

En définitive, les cancers survenant plus spécifiquement dans l'enfance (sarcomes, neuroblastomes, tumeurs du SNC (système nerveux central)) présentent un faisceau d'altérations génomiques plus restreint que celui des cancers classiques de l'adulte (carcinomes, mélanomes). Lorsqu'un type tumoral survient dans les 2 populations, les caractéristiques moléculaires qui sous-tendent la carcinogénèse peuvent différer. Enfin, certaines altérations génomiques impliquées dans le développement des tumeurs de l'enfant (anomalies chromosomiques structurales avec fusions de gènes) sont bien souvent moins aisément actionnables par des thérapies ciblées que les classiques mutations activatrices d'oncogènes, plus souvent rencontrées dans les carcinomes de l'adulte. Pour toutes ces raisons, les avancées de la médecine de précision effectuées chez l'adulte ne peuvent bénéficier pleinement à l'oncologie pédiatrique. Au cours des dernières années, il est donc apparu nécessaire de poursuivre l'exploration des voies de carcinogénèse

spécifiques de ces tumeurs pédiatriques afin d'identifier des possibilités thérapeutiques potentielles.

3. Exemples d'applications cliniques de l'analyse génomique en oncologie pédiatrique

Si les possibilités thérapeutiques offertes par les altérations du génome tumoral imposent aux oncologues pédiatriques d'être un peu plus réservés que leurs confrères adultes en matière de thérapeutiques ciblées, il n'en est pas moins vrai que l'exploration du génome au sens large a apporté un bénéfice substantiel à la prise en charge des cancers de l'enfant.

Identifications de nouvelles entités histo-pronostiques

L'analyse approfondie et sur des larges cohortes de patients des aberrations génomiques présentes dans les tissus tumoraux ont permis l'émergence de nouvelles classifications histo-pronostiques. A cet égard, l'hématologie pédiatrique dispose d'une longueur d'avance. En effet, grâce aux techniques de cytogénétique, les leucémies aiguës lympho- et myéloblastiques ont été parmi les premiers cancers de l'enfant à être classifiés selon leurs aberrations génomiques (18). Ainsi des entités cliniques et pronostiques bien distinctes ont pu être établies en fonction des anomalies chromosomiques ou génomiques présentées par les clones leucémiques. De façon similaire, depuis 2012, les medulloblastomes sont désormais classés en 4 différentes sous-entités au pronostic variable, en fonction des altérations moléculaires présentées, notamment l'activation des voies de signalisation Wnt et SHH (19). Au sein du grand groupe histologique des sarcomes, de nouvelles entités ont également pu être récemment définies en fonction de caractéristiques moléculaires, citons par exemple le groupe histo-pronostiques des sarcomes avec transcrite de fusion *CIC-DUX4*, qui jusqu'alors étaient classés comme des « Ewing-like » (20). L'apport de la biologie moléculaire dans la définition de nouvelles classifications dépasse le simple intérêt nosologique : identifier ces nouvelles entités permet d'en étudier plus finement les facteurs de mauvais pronostic et ainsi adapter les schémas thérapeutiques.

Pharmacogénétique

C'est ici un champ à part de la médecine de précision. Il s'agit de déterminer la propension d'un individu donné à bénéficier des effets thérapeutiques d'une molécule sans les potentiels effets indésirables associés. Par exemple, en pratique clinique courante, on peut être amené à analyser chez un patient traité pour une LAL (Leucémie Aigue Lymphoblastique) le polymorphisme du gène *TPMT*, impliqué dans le métabolisme du 6-mercaptopurine. En effet, il a été démontré que certains variants de ce gène étaient non seulement associés à une toxicité médullaire accrue, impliquant une réduction notable des doses administrées (21) mais aussi à une meilleure réponse au traitement et par conséquent un meilleur pronostic (22). A l'avenir, il est probable que la recherche en oncologie s'attache à identifier de nouveaux gènes ayant des implications comparables. Au delà des caractéristiques pronostiques intrinsèques de la tumeur, la pharmacogénétique, s'intéressant au patient, ouvre une nouvelle fenêtre sur la compréhension des situations où une tumeur d'a priori bon pronostic échappe au traitement de première ligne.

Thérapeutiques ciblées

Les expériences de thérapeutiques ciblées en oncologie pédiatrique sont nettement plus restreintes que chez l'adulte. Néanmoins, le développement d'un certain nombre de molécules destinées au traitement de cancers survenant dans l'enfance a permis à la médecine de précision d'entrer durablement dans la prise en charge des cancers de l'enfant. A l'aube des années 2000, les inhibiteurs de tyrosine kinase - l'imatinib en chef de file historique - ont considérablement amélioré le pronostic des enfants présentant une LAL ou LAM (Leucémie Aigue Myéloblastique) à chromosome de Philadelphie (23). Quelques années après, l'everolimus a amélioré le pronostic des patients présentant un astrocytome à cellules géantes dans le cadre d'une sclérose tubéreuse de Bourneville (24). Dans cette pathologie, les gènes *TSC1* ou *TSC2* sont mutés de façon constitutionnelle, aboutissant ainsi à une levée de l'inhibition de la voie mTOR.

Si ces découvertes ont été couronnées par un succès indubitable en matière de gain de survie des patients, peu d'expériences de thérapeutiques ciblées en

pédiatrie ont eu le même impact. Pour la plupart, ces thérapeutiques ciblées ont été administrées – off-label ou dans le cadre d’essais – à de petites cohortes de patients en échec de plusieurs lignes de traitement standards. A cette heure où diverses études ont validé la faisabilité du profilage moléculaire des tumeurs de l’enfant – dont l’étude ProfiLER qui fait l’objet de l’article présenté dans cette thèse, les projets de recherche internationaux qui ont débuté depuis peu vont permettre de répondre à la question délicate : l’analyse génomique approfondie d’une tumeur dans l’espoir d’identifier une cible thérapeutique potentielle permet-elle un bénéfice direct pour la survie du patient ?

1. Introduction

In the list of hits of 20th century greatest medical revolutions, childhood cancer care got a decent place. Over the past 4 decades, survival of children diagnosed with a neoplastic disease dramatically increased (1–3). Owing to supportive care improvement and development of aggressive multi-chemotherapeutic protocols, more than 80% of these children are now able to be definitely cured. However, after reaching a plateau in survival improvement, grabbing the 20 remaining percent is being more and more difficult. Some specific entities such as diffuse intrinsic pontine glioma, metastatic rhabdomyosarcoma, or neuroblastoma and osteosarcoma refractory to first line treatment keep displaying poor prognosis outcomes, despite successive attempts to improve current first and second-line protocols. These pitfalls forced the emergence of a new paradigm: if the one-size-fits-all protocols fail for some patients/tumors, shouldn't we try hard to understand what makes each patient/tumor unique? Here was born the precision medicine paradigm. Launched by the first successes of targeted therapies in the early 2000s (Imatinib in Phi-positive leukemia, Everolimus in giant cells astrocytoma), and thanks to biological techniques development, the understanding of cancer genome and driver alterations that could potentially be chemically targeted never ended. Thousands of mutations associated with carcinogenesis have been described to date (4). Most of these mutations come from adult tumors analyses. The first pediatric specific studies tend to show that adults and children cancers are not exactly driven by the same molecular mechanisms. For instance, pediatric high-grade gliomas display unique oncogenic alterations such as H3 histone family mutations (5). For this reason, pediatric subgroup tumor genome analyses are of great interest.

The ProfILER study was a French clinical trial set up to prove the feasibility and efficiency of routine genomic screening of advanced cancers. Initially dedicated to adult patients only, it quickly enlarged the enrollment to children. Here are described the characteristics, results and specificities of the pediatric patients enrolled in the ProfILER study.

2. Materials and Methods

Patients

Patients were proposed to participate in the study at the discretion of their treating physician. They had to fulfill the following criteria to be included:

- The patient presented a histologically or cytologically confirmed metastatic or locally advanced solid or hematological tumor,
- Tumor sample was available from a previous biopsy/surgery or a new biopsy is feasible,
- The patient benefited from a social security system,
- And gave informed consent to participating in the study.

Tumor samples

Tumor material stemmed from tumor resection, surgical biopsy or needle radio-guided micro-biopsy depending on the samples available for each patient. If several tumor samples were available, the latest one was chosen to perform genomic analysis. It could be either from primary tumor or metastases. Tumor tissues were paraffin-embedded or stored in liquid nitrogen. Once a patient was included, the sample was chosen to perform the analyses and submitted to a pathologist for histological examination in order to identify areas with the highest tumor cellularity. If the total cellularity of the sample didn't reach 10%, analyses were not performed.

Genomic analysis

After extraction, tumor genomic DNA (gDNA) was sent to the Centre Leon Berard Cytogenetic and molecular biology laboratories where 2 different analyses were performed: Next Generation Sequencing and Array Comparative Genomic Hybridization.

- Next Generation Sequencing (NGS)

If the tumor gDNA quantity was not sufficient for both analyses, NGS was performed as a priority. Tumor gDNA was first amplified by multiplex PCR and then processed into a DNA library to be sequenced by Ion PGM system (Thermo Fisher Scientific™). A panel of 69 genes of interest was sequenced. Sixty-one were sequenced on their

entire coding regions likewise the remaining 8 were only analyzed for targeted hot-spot exons (Table 1). The results were analyzed with the NextGENe software (Softgenetics®). Mutations were classified in 3 categories:

1-Pathogenic variant: mutation

a) is an activating alteration in an oncogene,

b) is a truncating alteration in a tumor suppressor gene or

c) fulfills 2 above the 3 following criteria: described in the COSMIC database, situated in a functional domain of the protein and predicted as deleterious by prediction software SIFT et PolyPhen-2.

2-Likely pathogenic variant: fulfill only 1 above the 3 criteria of the c) group.

3-Variant of unknown signification: other variants, except from the previously described polymorphisms.

<i>ABL1</i>	<i>CSF1</i>	<i>FGFR4</i>	<i>KIT</i>	<i>PDGFB</i>	<i>ROR1</i>	<i>SRC</i>
<i>AKT1*</i>	<i>CSF1R</i>	<i>FLT1</i>	<i>KRAS*</i>	<i>PDGFRA</i>	<i>ROR2</i>	<i>STK11</i>
<i>AKT2</i>	<i>DDB2</i>	<i>FLT3</i>	<i>MERTK</i>	<i>PDGFRB</i>	<i>ROS1</i>	<i>TEK</i>
<i>ALK</i>	<i>DDR1</i>	<i>FLT4</i>	<i>MET</i>	<i>PIK3CA*</i>	<i>RYK</i>	<i>TIE1</i>
<i>APC</i>	<i>DDR2</i>	<i>GNAQ*</i>	<i>MPL</i>	<i>PIK3R1</i>	<i>SDHAF2</i>	<i>TP53</i>
<i>AXL</i>	<i>EGFR*</i>	<i>HRAS*</i>	<i>MST1R</i>	<i>PTCH1</i>	<i>SDHB</i>	<i>TSC1</i>
<i>BRAF*</i>	<i>ERBB2</i>	<i>IGF1R</i>	<i>MTOR</i>	<i>PTEN</i>	<i>SDHC</i>	<i>TSC2</i>
<i>BRCA1</i>	<i>FGFR1</i>	<i>JAK2</i>	<i>MUSK</i>	<i>RAF1</i>	<i>SDHD</i>	<i>TYRO3</i>
<i>BRCA2</i>	<i>FGFR2</i>	<i>JAK3</i>	<i>NRAS*</i>	<i>RB1</i>	<i>SMARCB1</i>	<i>VHL</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>FGFR3</i>	<i>KDR</i>	<i>PDGFA</i>	<i>RET</i>	<i>SMO</i>	

Table 1. NGS panel.

* = only hot-spot exons sequenced.

- Array Comparative Genomic Hybridization (aCGH)

If remaining gDNA was available, an aCGH was performed. Hybridization was made on human genome microarray kit (SurePrint G3 Human CGH Microarray Kit, 4x180K,

Agilent Technologies®) comparatively with a commercial human gDNA. Aberrations on aCGH were described in terms of gene deletions, gain, amplifications, and breakpoints. Some aCGH reports referred to the SUMSCAN score, an algorithm based on the presence of specific genes gains and losses that predict the response to multi-tyrosine kinase inhibitors treatment (6).

Discussion and treatment recommendations

For each patient, results were discussed within a weekly multidisciplinary medical and biological tumor board. If an actionable alteration was found out, a treatment recommendation could be proposed, taking into account clinical data and the ongoing available trials at that time.

Ethics

Ethics committee approved the study design and conduction. Concerning some pediatric patients, proposition of enrollment was discussed within a multi-disciplinary board that was composed of the patient's treating physician, the referent for clinical trials physician, the patient's referent nurse, a representative of the palliative care unit and a psychologist.

3. Results

Patients

From November 2013 to June 2017, 50 patients under 19 years of age were included into the ProfILER study. There were 39 boys and 11 girls, aged from 8 months to 18 years old, with a median age of 10.5 years. They were all referred by a pediatric oncology department for a refractory, relapsing, or high-risk solid tumor. Forty-one of them were currently treated in the study center pediatric department (IHOPe, Lyon). Nine were referred to this department by their own treating oncology physicians in order to be included in the ProfILER study. One patient was included twice during his treatment (patient no. 4 and 39). Forty-five patients were experiencing a relapse at the moment of enrollment. For the five last patients, enrollment was proposed right after diagnosis.

Tumors

Only patients with solid tumors were included in the study. The most frequently involved tumor types were sarcomas, central nervous system tumors, and neuroblastomas (Figure 1).

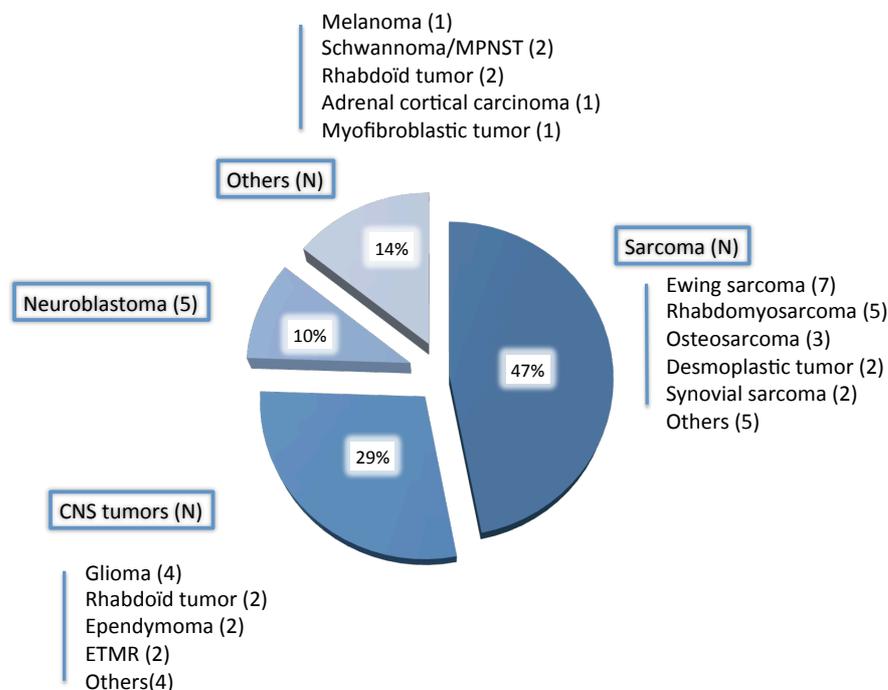


Figure 1. Tumor types distribution

Samples and analyses

Tumor samples came from either the initial diagnostic biopsies, the primary site surgery or from removed metastases. Two patients were analyzed twice on different samples because of the technical failure on the first one and the availability of alternative tumor sample. Among these 52 samples, 45 (86.5 %) were successfully analyzed, at least for one technique among NGS and aCGH. For the remaining 7, the reason of failure was the quantitative or qualitative insufficiency of the tumor sample. Technical successes and failures are described more in details in figure 3. It was noteworthy to notice that the failure rate with radio-guided micro-biopsy was not statistically different from the rate with gold-standard methods ($p=1.96$).

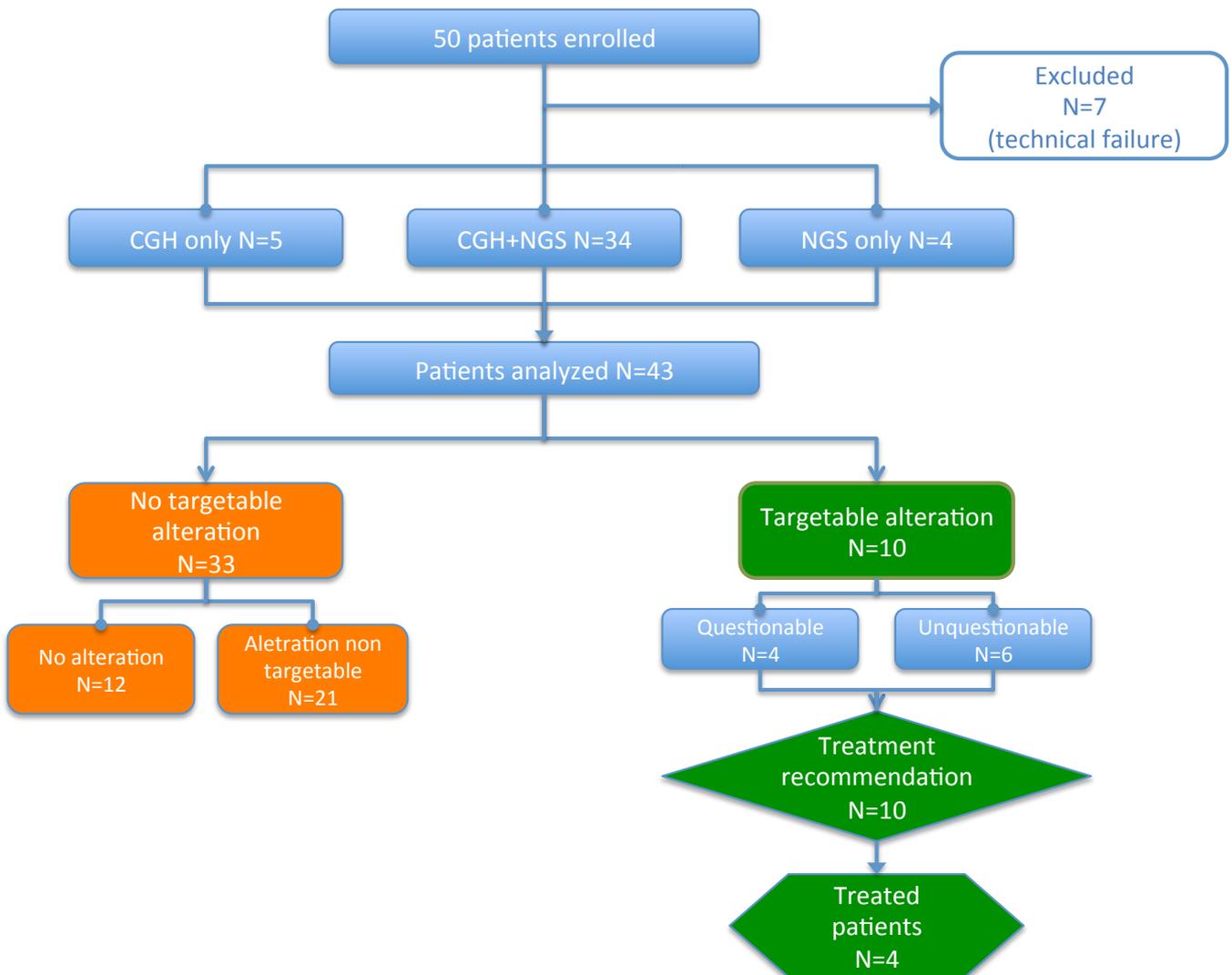
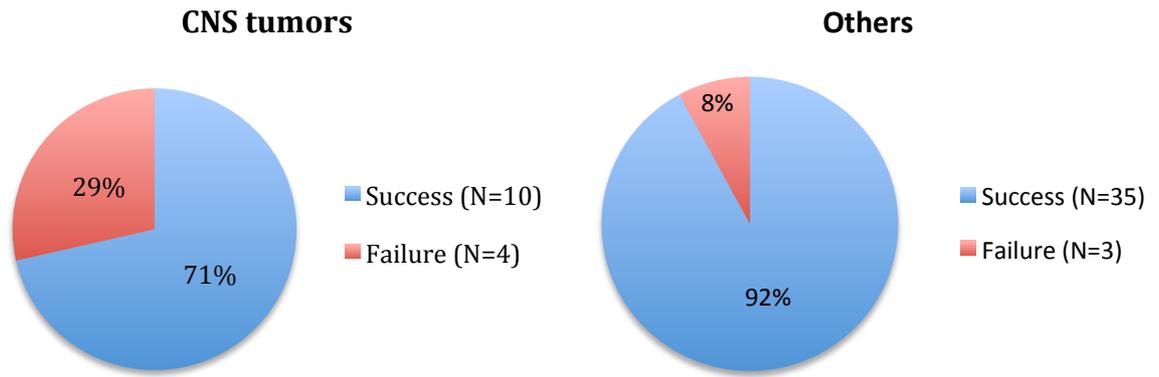
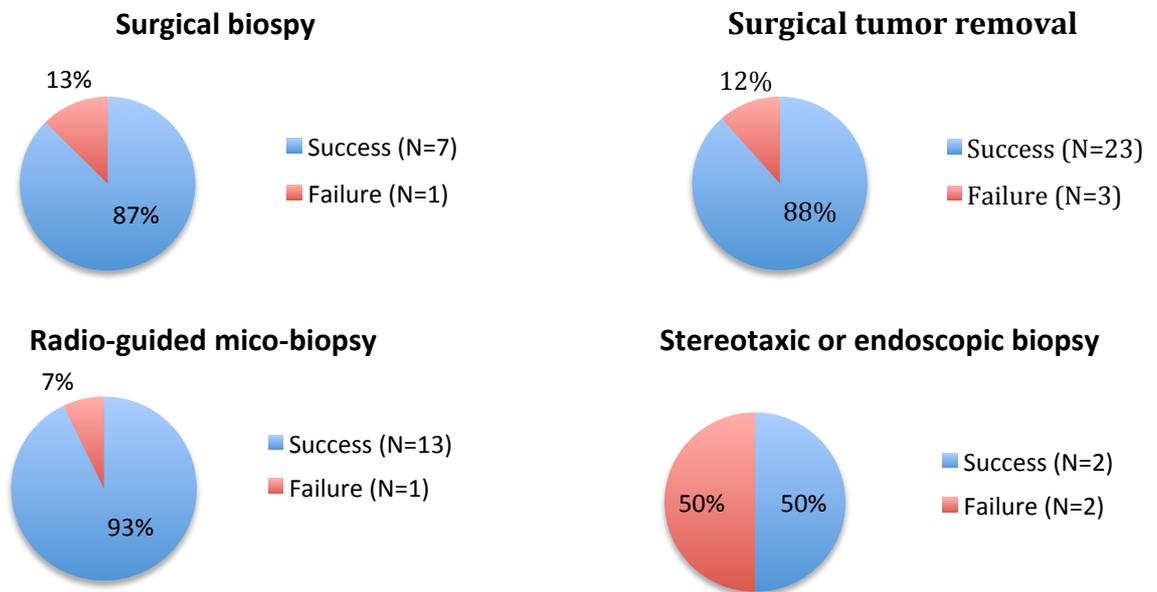


Figure 2. Flow chart



3a.



3b.

Figure 3. Technical failures depending on the tumor type (a.) and the sample origin (b.).

For 50 patients, 52 samples were analyzed. 2 patients were successively analyzed on 2 different tumor samples because of a technical failure on the first one (NGS or aCGH). CNS= Central nervous system.

Genomic results

When the molecular analysis was available, one or several actionable molecular alterations were found in 10 patients (figure 2). All of these alterations came from the aCGH analysis. No targetable mutation was revealed through the NGS analysis. Some of these alterations displayed a strong proof-of-concept concerning their “actionability” by specific drugs. Some were more questionable and led to the recommendation of a non-specific tyrosine-kinase inhibitor such as regorafenib. These alterations are summarized in table 2. All the cases successfully analyzed were discussed within a multidisciplinary medical and biological board. The median

delay between study inclusion and this board was 50 days (range 20-147 days). After medical board discussion, the 10 patients with at least one actionable alteration identified received a therapeutic recommendation with at least one targeted therapy. Only one patient received 2 treatment recommendations. At the end, 4 patients actually benefited such a treatment. These patients' clinical histories are detailed in figure 4. The reasons for non-initiating a treatment despite the presence of an actionable alteration and medical board treatment recommendation are detailed in table 3.

Pathway	Alteration	N
Tyrosine Kinase	Gain <i>PDGFRA</i>	1
	Amp <i>VEGFA</i>	1
	SUMSCAN score +	2
	Gain <i>KIT</i>	1
	Gain <i>KDR</i>	1
PI3K/AKT/MTOR	Del <i>TSC2</i>	1
	Del <i>PTEN (non homozygote)</i>	1
	Gain <i>RPTOR</i>	1
Cell cycle control	Amp <i>CDK4</i>	3
MAPK	<i>KIA-BRAF</i> fusion	1

Table 2. Targetable alterations and pathways involved.

10 patients presented at least one targetable alteration (TA), 1 patient presented 2 targetable alterations, 1 patient presented 2 targetable alterations. Unquestionable targetable alterations are in bold and questionable targetable alterations are in roman. Amp= amplification, Del= deletion.

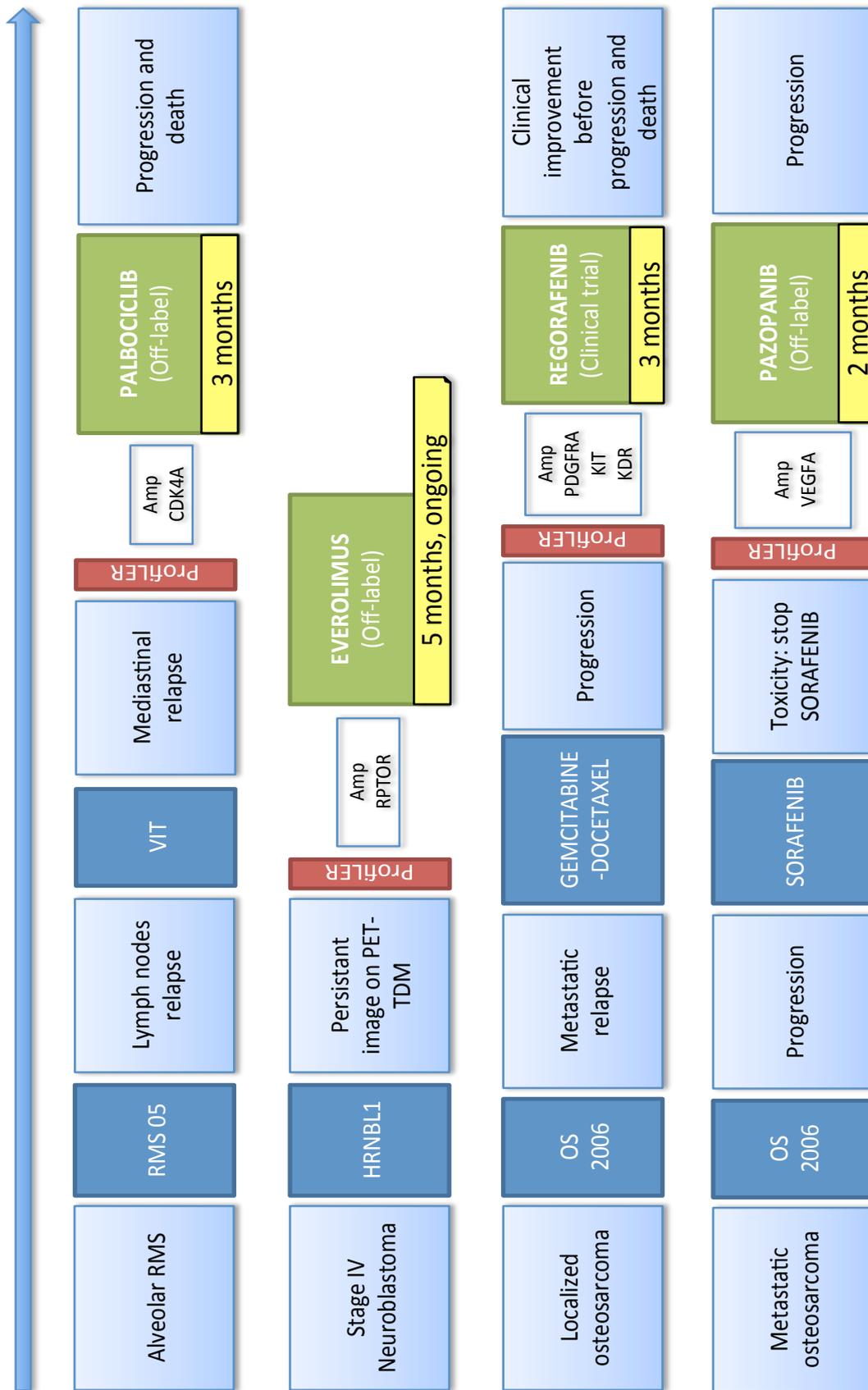


Figure 4. Clinical history of the 4 patients who received a targeted therapy after medical board recommendation.

RMS= rhabdomyosarcoma, VIT= Vincristine, Irinotecan, Temozolomide, HRNBL1= protocol for High Risk NeuroBLastoma, OS2006= protocol for osteosarcoma, Amp = amplification of the gene on the aCGH.

N	Reason
1	New course of treatment considered non-ethical because of life-expectancy and quality of living
1	Patient already enrolled in another clinical trial
1	Patient in remission
1	Patient is waiting for being enrolled in the appropriate clinical trial
1	Patient refused clinical trial enrollment
1	Clinical trial closed

Table 3. Reasons for non-initiating a targeted therapy despite medical board recommendation.

Physicians' attitude and expectations

The over time evolution of physicians' behavior concerning the moment in clinical history when they proposed genomic screening to their patients is illustrated in figures 5 and 6.

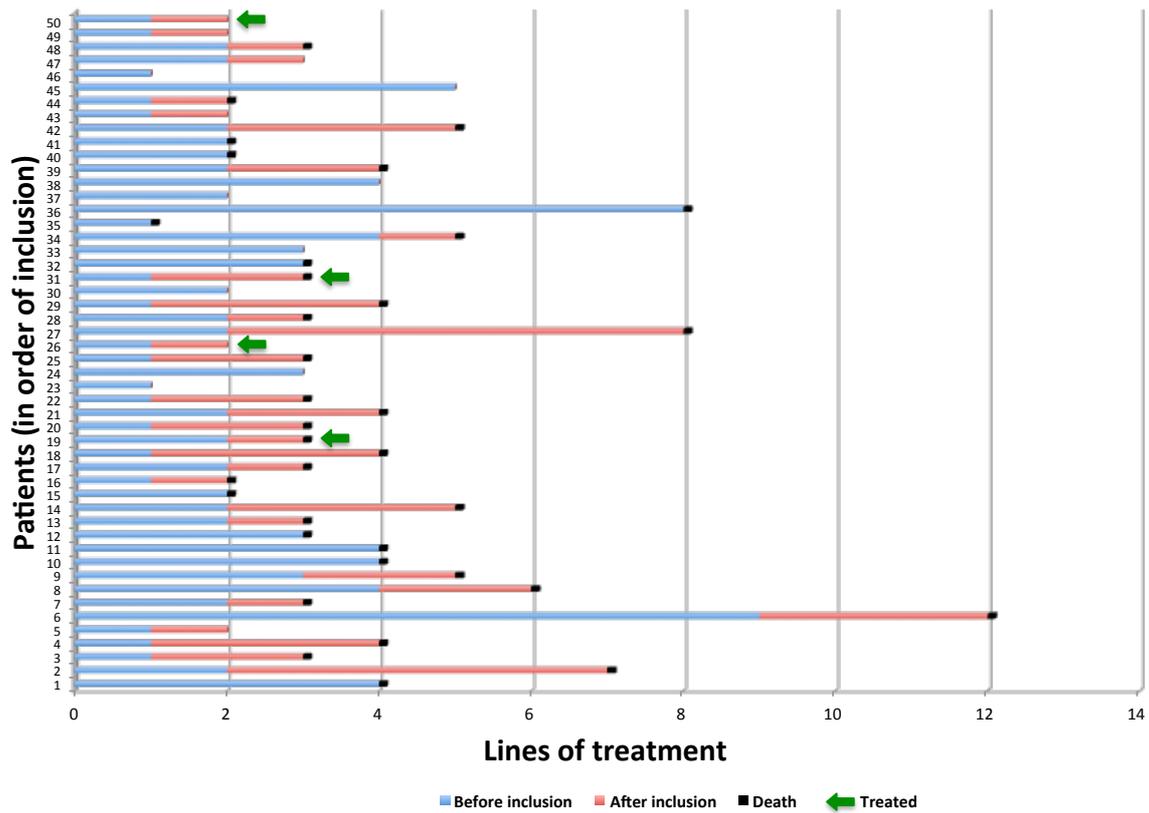


Figure 5. For each patient, number of lines of treatment before and after enrollment.

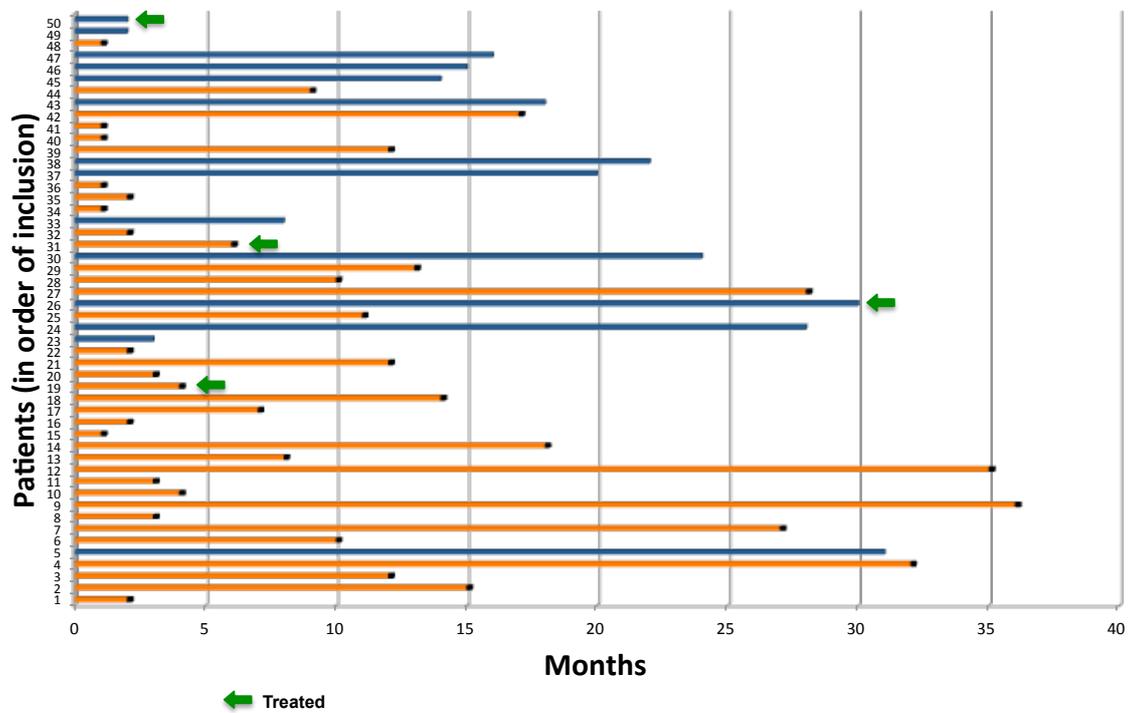


Figure 6. Delay between enrollment and death (patients in orange) or last news (patients in blue).

Discussion

Over the past decade, precision medicine paradigm has dramatically transformed the cancer research field. When standard histology-based treating protocols -efficient for the majority- fail, we are now able to propose an approach that take into account the patient specific tumor aberrations that drive the oncogenesis of his own tumor.

In this study, we confirmed the feasibility of molecular tumor profiling in a pediatric population with high-risk or relapsed neoplastic diseases. As previously described in several studies, genomic tumor profiling is able to molecular molecular alterations in pediatric cancers (7–13). As expected considering the aims of the study, this population was representative of the poorest prognosis pediatric cancers spectrum (2,3) i.e. osteosarcomas, Ewing sarcoma, rhabdomyosarcoma, CNS tumors and high-grade neuroblastomas formed the main part of the cohort (figure 7). Despite the wide criteria of inclusion, no patient with a hematological disease was enrolled. It could be explained by the fact that according to routine treatment protocols for leukemia, patients already undergo a deep molecular screening. Moreover, treatment of relapsing leukemia are well standardized following European groups protocols, and are associated with quite acceptable success rates. Thus, enrollment in the ProfilER study would have been less attractive for these patients.

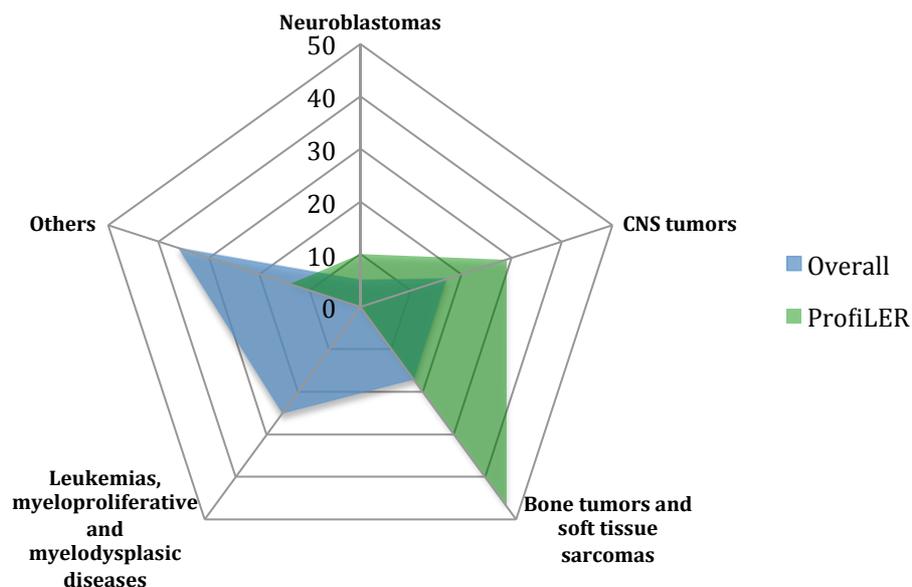


Table 7. Comparison between ProfilER study and overall tumor types distribution (in percent). The overall rates issue from *The epidemiology of childhood cancer – Childhood cancer survivorship : Improving care and quality of life* (14)

The proportion of technical failure of the molecular analysis in our study (13.5%) was acceptable and more or less comparable to those of similar studies conducted at the same period (15–18). Considering that these failures were all due to a lack of tumor material (quantitatively or qualitatively), it was noteworthy to notice that radio-guided micro-biopsies provided as good tumor material as gold-standard methods. This result enhanced the relevance of these less-invasive diagnostic techniques that represent a more acceptable compromise for patients who usually underwent several surgical interventions. In the perspective of upcoming tumor genomic studies where new biopsies of the primary, relapsed or metastatic tumor could be requested at enrollment, we would argue for this option whenever it is achievable. Despite this promising result, there are still some challenges concerning the feasibility of molecular profiling in the subset of patients with CNS tumors. Even if there were few patients concerned in the pediatric ProfILER study, the presented results seem to indicate that brain tumor samples are less adequate to molecular analysis.

The median turnaround time of 50 days between enrollment and molecular board discussion in our study was comparable with other similar studies (17). This delay appears to be compatible with the routine care of children with cancer. However, it has to be taken into account by physicians while proposing enrollment in such a study. Indeed, a sufficient life expectancy, usually beyond 3 months, is often a criterion for participation in an innovative drug trial. In this study, some patients died shortly after and even sometimes before the medical board could discuss the tumor genomic results. As physicians, we have to carefully select the patients that could truly benefit from participating in these studies, taking into account that patients and their family usually carry significant expectations regarding genomic tumor screening and personalized treatment. It has been shown by several studies that patients and parents are prone to overestimate the potential direct benefit of genomic testing (19–22). Moreover, it is also necessary to think in terms of quality of life: like any drug, targeted therapies also display specific adverse events (23). To make a long story short, tumor molecular screening should be proposed to a patient only if he is likely to undergo a targeted therapy within a clinical trial.

Pediatric patients enrolled in the ProfILER study display less molecular alterations than their adult counterparts. Among the almost 2000 patients included and for whom genomic analysis was available, 52 % displayed at least one molecular targetable alteration (unpublished data) whereas only 20% of the pediatric population did. Furthermore, 24% of them displayed no alteration at all. This is unique to childhood cancers to be driven by few molecular aberrations and it has now been widely described through literature (4,24–27). There may have numerous grounds to this phenomenon. First, adult onset neoplastic diseases are much more environment-related (melanoma, lung cancer) and the number of aberrant genes is directly linked to carcinogens exposure. They occur mainly in self-renewing tissues where passenger mutations are age-proportional (4). Moreover, the panel of genes analyzed in our study has been mainly chosen after the knowledge on adult cancers at the time of the study designing. Nowadays, it is becoming clear that pediatric cancers not only display few molecular aberrations but also that some of these alterations are unique to childhood tumor types (5,28). For instance, some studies pointed out the specific role of gene-fusions in sarcomas (24,12), yet the molecular techniques used in ProfILER study, without RNA assessment, were not the most accurate way to explore these aberrations. The issue of sample timing is also crucial to enhance chances to find targetable alterations. Studies clearly showed that mutational burden was heavier in relapse compared to primary tumor (29,30).

Probably biggest challenge concerning precision medicine in children cancer care comes after the genomic results itself. Among the 4 patients of our cohort who actually were treated by an innovative drug after medical board recommendation, only one benefited from a dedicated clinical trial. The 3 remaining patients were treated thanks to compassionate or off-label uses. The figure 8 illustrates time-related mismatch between the medical board treatment recommendation and the availability of the targeted therapy within a clinical trial potentially open for children in the study center. The availability of a targeted therapy that could benefit to the patient is the major issue. Cancer of children represents hardly 2% of all cancers and the vast majority of innovative drugs are developed within trials exclusively open to patients over 18. As a consequence, many of the orphans drugs approved for cancer do not display pediatric information (31).

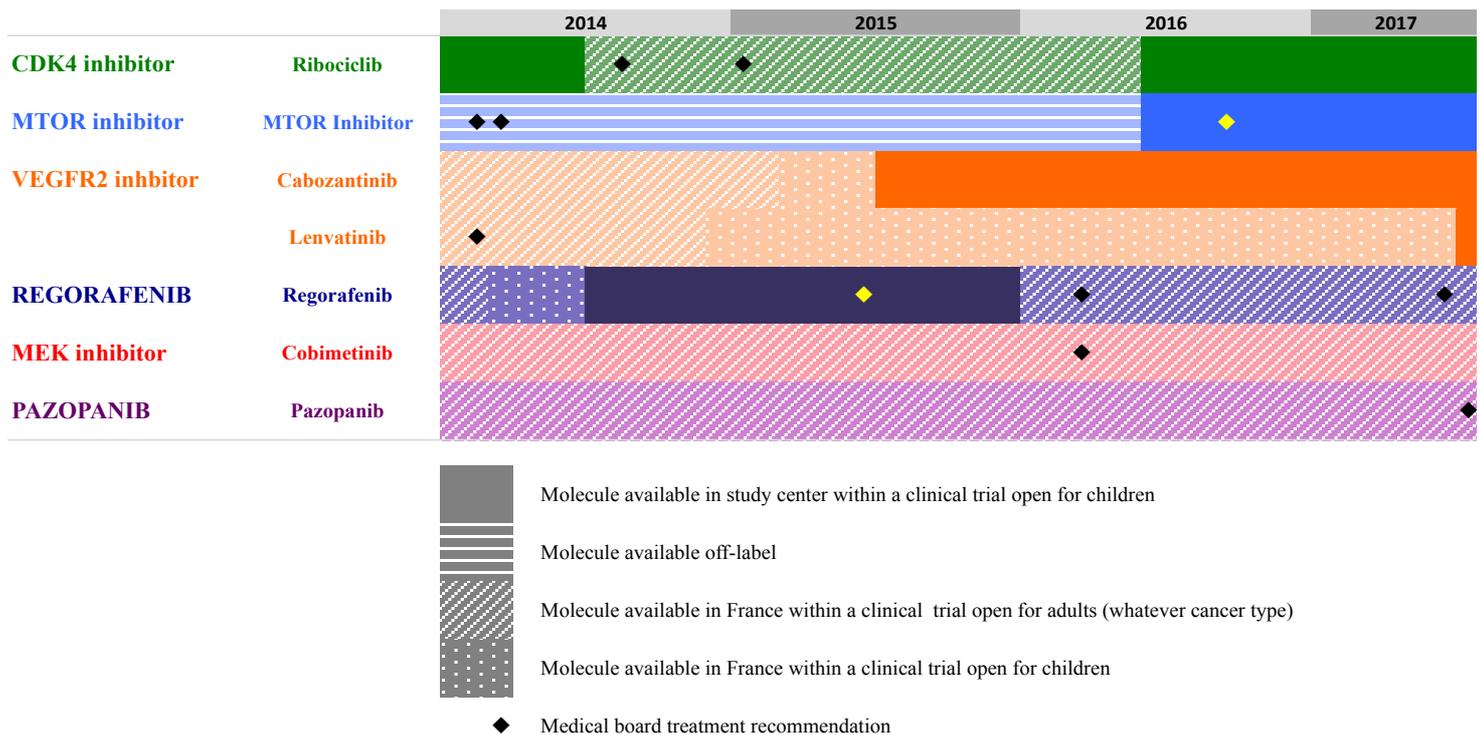


Figure 8. Time-related match between treatment recommendation and clinical trials.

There are several limits to this study. Tumor samples originated from diverse tumor type from primary tumor to metastasis and relapse tissue. This lack of homogeneity prevents us to assess the question: what children cancer genome looks like? Biggest cohorts focusing on one tumor type should be conducted to improve our knowledge on these diseases. Then, owing to its monocentric enrollment, a small cohort of pediatric patients were included and only few were treated by a targeted therapy, getting more complex to visualize efficacy of these treatments.

How to improve our experience of precision medicine in pediatric cancer field? The early steps in analyzing the impact of precision medicine in childhood cancer were taken with the existence of national registries for innovative drugs, such as the French observatory of off-label use of targeted therapies in sarcomas (32). At that time, patients were treated with targeted therapies based on the general knowledge about their tumor type genome and not the specific analysis of their own tumor. Nowadays, the development of molecular techniques has enabled patient-personalized analysis and treatment recommendation. Large-scale tumor genomic screening studies have to be developed and specifically designed for childhood cancers and their specific molecular aberrations. Relapse or metastatic tumor sample

should be preferred for analysis, as much as possible, since radio-guided micro-biopsy seems to give as good results as invasive techniques. Lastly, these studies should interconnect with clinical trials to enable the possibility of treating patients with a targeted therapy each time a corresponding molecular alteration is revealed. These partnerships between cancer research center and pharmaceutical industries already took place (33). The European MAPPYACTS-AcSé-eSMART project currently going on since 2016 should bring us a new insight on what precision medicine is able to perform for children cancer care improvement.

The future of genomic tumor screening is still to be defined in pediatric oncology. As revolutionary as the targeted therapies could be, they certainly would never replace classical cytotoxic chemotherapies. They will find a place in children cancer care, especially for high-risk and relapsing tumors and timely interconnecting with classical protocols and others innovative approaches such as immunotherapy.

4. Bibliography

1. Smith MA, Altekruise SF, Adamson PC, Reaman GH, Seibel NL. Declining childhood and adolescent cancer mortality. *Cancer*. 2014 Aug 15;120(16):2497–506.
2. Smith MA, Seibel NL, Altekruise SF, Ries LAG, Melbert DL, O’Leary M, et al. Outcomes for Children and Adolescents With Cancer: Challenges for the Twenty-First Century. *J Clin Oncol*. 2010 May 20;28(15):2625–34.
3. Hudson MM, Link MP, Simone J V. Milestones in the curability of pediatric cancers. *J Clin Oncol*. 2014 Aug 10;32(23):2391–7.
4. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer Genome Landscapes. *Science (80-)*. 2013 Mar 29;339(6127):1546–58.
5. Jones C, Baker SJ. Unique genetic and epigenetic mechanisms driving paediatric diffuse high-grade glioma. *Nat Rev Cancer*. 2014 Oct 18;14(10).
6. Jiang X, Pissaloux D, De La Fouchardiere C, Desseigne F, Wang Q, Attignon V, et al. The sum of gains and losses of genes encoding the protein tyrosine kinase targets predicts response to multi-kinase inhibitor treatment: Characterization, validation, and prognostic value. *Oncotarget*. 2015 Sep 22;6(28):26388–99.
7. Chmielecki J, Bailey M, He J, Elvin J, Vergilio J-A, Ramkissoon S, et al. Genomic Profiling of a Large Set of Diverse Pediatric Cancers Identifies Known and Novel Mutations across Tumor Spectra. *Cancer Res*. 2017 Jan 15;77(2):509–19.
8. Groisberg R, Hong DS, Holla V, Janku F, Piha-Paul S, Ravi V, et al. Clinical genomic profiling to identify actionable alterations for investigational therapies in patients with diverse sarcomas. *Oncotarget*. 2017 Jun 13;8(24):39254–67.
9. Moreno L, Caron H, Georger B, Eggert A, Schleiermacher G, Brock P, et al. Accelerating drug development for neuroblastoma - New Drug Development Strategy: an Innovative Therapies for Children with Cancer, European Network for Cancer Research in Children and Adolescents and International Society of Paediatric Oncology Europe Neuroblastoma project. *Expert Opin Drug Discov*. 2017 Jun 26;1–11.
10. Grohar PJ, Janeway KA, Mase LD, Schiffman JD. Advances in the Treatment of Pediatric Bone Sarcomas. *Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Meet*. 2017;37:725–35.
11. Staedtke V, Dzaye OD a, Holdhoff M. Actionable Molecular Biomarkers in Primary Brain Tumors. *Trends in Cancer*. 2016 Jul;2(7):338–49.
12. Behjati S, Tarpey PS, Haase K, Ye H, Young MD, Alexandrov LB, et al. Recurrent mutation of IGF signalling genes and distinct patterns of genomic rearrangement in osteosarcoma. *Nat Commun*. 2017 Jun 23;8:15936.
13. Janeway KA, Place AE, Kieran MW, Harris MH. Future of clinical genomics in pediatric oncology. *J Clin Oncol*. 2013 May 20;31(15):1893–903.
14. *Childhood Cancer Survivorship*. Washington, D.C.: National Academies Press; 2003.
15. Parsons DW, Roy A, Yang Y, Wang T, Scollon S, Bergstrom K, et al. Diagnostic Yield of Clinical Tumor and Germline Whole-Exome Sequencing for Children With Solid Tumors. *JAMA*

- Oncol. 2016 May 1;2(5):616.
16. Harris MH, DuBois SG, Glade Bender JL, Kim A, Crompton BD, Parker E, et al. Multicenter Feasibility Study of Tumor Molecular Profiling to Inform Therapeutic Decisions in Advanced Pediatric Solid Tumors: The Individualized Cancer Therapy (iCat) Study. *JAMA Oncol.* 2016 Jan 28;2(5):608.
 17. Mody RJ, Wu Y-M, Lonigro RJ, Cao X, Roychowdhury S, Vats P, et al. Integrative Clinical Sequencing in the Management of Refractory or Relapsed Cancer in Youth. *JAMA.* 2015 Sep 1;314(9):913.
 18. Worst BC, van Tilburg CM, Balasubramanian GP, Fiesel P, Witt R, Freitag A, et al. Next-generation personalised medicine for high-risk paediatric cancer patients – The INFORM pilot study. *Eur J Cancer.* 2016 Sep;65:91–101.
 19. Blanchette PS, Spreafico A, Miller FA, Chan K, Bytautas J, Kang S, et al. Genomic testing in cancer: patient knowledge, attitudes, and expectations. *Cancer.* 2014 Oct 1;120(19):3066–73.
 20. Marron JM, DuBois SG, Bender JG, Kim A, Crompton BD, Meyer SC, et al. Patient/parent perspectives on genomic tumor profiling of pediatric solid tumors: The Individualized Cancer Therapy (iCat) experience. *Pediatr Blood Cancer.* 2016 Nov;63(11):1974–82.
 21. Miller FA, Hayeems RZ, Bytautas JP, Bedard PL, Ernst S, Hirte H, et al. Testing personalized medicine: patient and physician expectations of next-generation genomic sequencing in late-stage cancer care. *Eur J Hum Genet.* 2014 Mar 17;22(3):391–5.
 22. Gray SW, Hicks-Courant K, Cronin A, Rollins BJ, Weeks JC. Physicians' attitudes about multiplex tumor genomic testing. *J Clin Oncol.* 2014 May 1;32(13):1317–23.
 23. Belum VR, Washington C, Pratilas CA, Sibaud V, Boralevi F, Lacouture ME. Dermatologic adverse events in pediatric patients receiving targeted anticancer therapies: a pooled analysis. *Pediatr Blood Cancer.* 2015 May;62(5):798–806.
 24. Mody RJ, Prensner JR, Everett J, Parsons DW, Chinnaiyan AM. Precision medicine in pediatric oncology: Lessons learned and next steps. *Pediatr Blood Cancer.* 2017 Mar;64(3):e26288.
 25. Zhang J, Wu G, Miller CP, Tatevossian RG, Dalton JD, Tang B, et al. Whole-genome sequencing identifies genetic alterations in pediatric low-grade gliomas. *Nat Genet.* 2013 Apr 14;45(6):602–12.
 26. Carroll WL, Raetz E, Meyer J. State of the art discovery with tumor profiling in pediatric oncology. *Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Meet.* 2015;35:e601-7.
 27. Brohl AS, Solomon DA, Chang W, Wang J, Song Y, Sindiri S, et al. The genomic landscape of the Ewing Sarcoma family of tumors reveals recurrent STAG2 mutation. Horwitz MS, editor. *PLoS Genet.* 2014 Jul 10;10(7):e1004475.
 28. Khuong-Quang D-A, Buczkowicz P, Rakopoulos P, Liu X-Y, Fontebasso AM, Bouffet E, et al. K27M mutation in histone H3.3 defines clinically and biologically distinct subgroups of pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas. *Acta Neuropathol.* 2012 Sep 3;124(3):439–47.
 29. Schramm A, Köster J, Assenov Y, Althoff K, Peifer M, Mahlow E, et al. Mutational dynamics between primary and relapse neuroblastomas. *Nat Genet.* 2015 Jun 29;47(8):872–7.

30. Eleveld TF, Oldridge DA, Bernard V, Koster J, Daage LC, Diskin SJ, et al. Relapsed neuroblastomas show frequent RAS-MAPK pathway mutations. *Nat Genet.* 2015 Aug 29;47(8):864–71.
31. Vassal G, Kearns P, Blanc P, Scobie N, Heenen D, Pearson A. Orphan Drug Regulation: A missed opportunity for children and adolescents with cancer. *Eur J Cancer.* 2017 Oct;84:149–58.
32. Penel-Page M, Ray-Coquard I, Larcade J, Girodet M, Bouclier L, Rogasik M, et al. Off-label use of targeted therapies in osteosarcomas: data from the French registry OUTC'S (Observatoire de l'Utilisation des Thérapies Ciblées dans les Sarcomes). *BMC Cancer.* 2015 Dec 5;15(1):854.
33. Seibel NL, Janeway K, Allen CE, Chi SN, Cho Y-J, Glade Bender JL, et al. Pediatric oncology enters an era of precision medicine. *Curr Probl Cancer.* 2017 May;41(3):194–200.

DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSION

A l'issue de cette analyse des patients pédiatriques de l'étude ProfilER, nous avons pu tirer divers enseignements d'intérêt pour la pratique clinique quotidienne d'une part, et pour alimenter une réflexion plus générale sur la médecine de précision en oncologie pédiatrique d'autre part.

Le premier point ressortant de cette étude vient corroborer les résultats de différentes études similaires : les cancers survenant dans l'enfance sont intrinsèquement susceptibles d'offrir moins de cibles moléculaires aux thérapies innovantes que les cancers de l'adultes (14,25–28). Le nombre absolu d'altérations génomiques est moindre que chez l'adulte et ces altérations sont moins aisément actionnables. Ceci est à pondérer par le constat suivant : les études du génome tumoral chez l'enfant sont bien souvent issues ou calquées sur les études effectuées chez l'adulte. Or il est désormais clair que les voies de signalisation des cancers de l'enfant diffèrent en partie de celles des cancers classiques de l'adulte (29–33). Ainsi, les techniques d'analyse et les panels de gènes mériteraient probablement d'être adaptés pour espérer augmenter le nombre d'altérations actionnables identifiées.

Cette étude alimente également le combat mené par les oncologues et chercheurs en pédiatrie depuis plusieurs années : trop peu d'essais thérapeutiques concernant des molécules innovantes sont ouverts aux mineurs. En 2016, Gilles Vassal et Birgit Georger cosignaient un éditorial intitulé « Accélérons l'innovation » pour la revue d'Oncologie Hématologie pédiatrique. Ils y défendaient l'importance de réseaux internationaux tels que le réseau européen ITCC (Innovative Therapies for Children with Cancer), dans le développement d'études cliniques de large échelle permettant à la fois le profilage génomique complet des tumeurs pédiatriques et la mise à disposition de thérapies innovantes, au sein d'essais précoces en lien avec l'industrie pharmaceutique. Dans cette optique, le programme AcSé-ESMART a été lancé pendant l'année 2016. Dans la continuité du projet de profilage moléculaire MAPPYACTS (Institut Gustave Roussy), ce programme pionnier vise à faciliter l'accès aux thérapies innovantes aux enfants atteints de cancers en échec thérapeutique. Ce programme ainsi que des expériences similaires menées

notamment aux Etats-Unis (NCI-COG Pediatric MATCH (34)) font abstraction de l'histologie des cancers pour proposer des traitements innovants à la lumière seule des altérations moléculaires présentées par la tumeur. Dans la mise en œuvre de tels programmes, si les politiques publiques jouent indéniablement un rôle important, il est essentiel de souligner ici le rôle moteur incomparable des associations de patients. L'association Imagine for Margo, qui cofinance avec l'Institut National du Cancer le programme AcSé-ESMART en est une brillante illustration.

Ces programmes cliniques sont d'évidents messages d'espoir pour les enfants actuellement traités pour un cancer et pour leurs parents. Plusieurs études ont montré que les uns comme les autres nourrissaient beaucoup d'attentes à l'égard de la médecine de précision (35–38). Cependant, il appartient aux cliniciens d'adopter une attitude pondérée quant à la proposition de participer à de telles études. En effet, il apparaît des résultats de l'étude ProfilER que les patients étaient bien souvent inclus « tardivement » dans ce programme de profilage moléculaire. Certains avaient une espérance de vie très limitée au moment de l'inclusion, rendant ainsi caduque une éventuelle participation à un essai clinique précoce si toutefois une altération actionnable était identifiée. Dans cette discussion sur l'opportunité pour un enfant de participer à un essai clinique, les dimensions éthiques et de bénéfice en termes de qualité de vie sont désormais prises en compte à l'IHOPE, au sein de réunions pluridisciplinaires où chaque aspect – clinique, familial, social, économique, risque d'effets indésirables en regard de l'espérance de vie, volonté des parents *et* de l'enfant - est abordé.

Cette analyse des patients pédiatriques de l'étude ProfilER apporte sa pierre à l'édifice de la médecine de précision appliquée à l'oncologie pédiatrique. L'enjeu est de taille : peut-on espérer des thérapeutiques ciblées qu'elles améliorent, dans un futur proche la survie des enfants atteints de cancer ? Cette question est encore en suspens en oncologie adulte. Les projets internationaux actuellement en cours permettront d'y répondre d'ici quelques années. D'ici là, les thérapies ciblées sont amenées à prendre une place incontournable dans le traitement de ces enfants, en constante association avec les thérapeutiques traditionnelles d'une part, et les autres approches innovantes d'autre part, telles que l'immunothérapie.

Nom, prénom du candidat : BENEZECH, Sarah

CONCLUSIONS

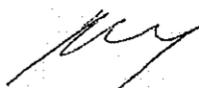
Malgré une amélioration considérable de la survie au cours des dernières décennies, la prise en charge des cancers de l'enfant reste un challenge, notamment pour certaines formes de tumeurs à haut risque, réfractaires aux thérapeutiques conventionnelles ou en rechute. A l'instar des innovations diagnostiques et thérapeutiques de l'oncologie adulte, la recherche pédiatrique s'est intéressée au concept de médecine personnalisée. Initiée en 2013 au Centre Léon Bérard, l'étude ProfilER visait à établir le profil génétique des tumeurs malignes solides et hématologiques afin d'orienter la prise en charge thérapeutique du patient en fonction des altérations génétiques identifiées. Soixante-neuf gènes étaient analysés par 2 méthodes distinctes que sont le NGS (Next Generation Sequencing, ou séquençage nouvelle génération) et l'aCGH (array Comparative Genomic Hybridization, ou puce d'hybridation génomique comparative). Les résultats étaient discutés au sein d'une Réunion de Concertation Pluridisciplinaire dédiée afin de proposer un éventuel traitement par une thérapeutique ciblée. Ce travail s'attache à rendre compte des résultats de cette étude pour les patients pédiatriques.

Entre novembre 2013 et juin 2017, 50 patients âgés de mois de 19 ans et pris en charge pour une tumeur maligne ont été inclus dans l'étude ProfilER. Les types tumoraux les plus fréquemment inclus étaient les sarcomes, les tumeurs du système nerveux central et les neuroblastomes. Sur ces 50 patients, 7 ont été exclus de l'étude suite à un échec technique des analyses génomiques, du à un matériel tumoral insuffisant. La technique de prélèvement n'avait pas d'incidence sur la survenue de ces échecs ; les micro-biopsies notamment avaient un rendement au moins égal à celui des biopsies ou exérèses chirurgicales. Sur les 43 patients analysés, 9 présentaient une altération actionnable d'un ou plusieurs gènes, conduisant à la recommandation de traitement par une thérapeutique ciblée. Parmi eux, seuls 4 patients ont pu effectivement bénéficier de ce traitement personnalisé. Ils ont été

respectivement traités par PALBOCICLIB, EVEROLIMUS, REGORAFENIB et PAZOPANIB. Un seul de ces patients a pu recevoir cette thérapeutique ciblée au sein d'un essai thérapeutique. Deux sont décédés de l'évolution tumorale, et 2 sont toujours en cours de traitement et en attente d'évaluation.

Avec cette analyse des patients pédiatriques de l'étude ProfilER, nous confirmons la faisabilité du profilage moléculaire des tumeurs de l'enfant. Cependant, la possibilité de traitement par une thérapeutique ciblée reste relativement limitée, du fait de la faible prévalence des altérations actionnables dans les tumeurs pédiatriques et de la difficulté d'inclusion dans des essais thérapeutiques souvent non accessibles aux enfants de moins de 18 ans.

Le Président de la thèse,
Nom et Prénom du Président
Signature Pr Jean-Yves BLAY



Vu et permis d'imprimer
Pour Le Président de l'Université
Le Doyen de l'UFR de Médecine Lyon Est
UNIVERSITE CLAUDE BERNARD
LYON I
FACULTE DE MEDECINE
LYON EST
Professeur Gilles RODE

Vu et permis d'imprimer
Lyon, le 15 Septembre 2017

21 SEP. 2017

BIBLIOGRAPHIE GENERALE

1. Hudson MM, Link MP, Simone J V. Milestones in the curability of pediatric cancers. *J Clin Oncol*. 2014 Aug 10;32(23):2391–7.
2. Smith MA, Altekruse SF, Adamson PC, Reaman GH, Seibel NL. Declining childhood and adolescent cancer mortality. *Cancer*. 2014 Aug 15;120(16):2497–506.
3. Smith MA, Seibel NL, Altekruse SF, Ries LAG, Melbert DL, O’Leary M, et al. Outcomes for Children and Adolescents With Cancer: Challenges for the Twenty-First Century. *J Clin Oncol*. 2010 May 20;28(15):2625–34.
4. Boveri T. Zur Frage der Entstehung maligner Tumoren Gustav Fischer, 1914. English translation: The origin of malignant tumors by Boveri, M. Williams and Wilkins. 1914;
5. Collins FS, Morgan M, Patrinos A. The Human Genome Project: lessons from large-scale biology. *Science*. 2003 Apr 11;300(5617):286–90.
6. Metzker ML. Sequencing technologies — the next generation. *Nat Rev Genet*. 2010 Jan 8;11(1):31–46.
7. Feero WG, Guttmacher AE. Genomics, personalized medicine, and pediatrics. *Acad Pediatr*. 2014 Jan;14(1):14–22.
8. König N, Fiehn C, Wolf C, Schuster M, Cura Costa E, Tüngler V, et al. Familial chilblain lupus due to a gain-of-function mutation in STING. *Ann Rheum Dis*. 2017 Feb;76(2):468–72.
9. Carmody D, Naylor RN, Bell CD, Berry S, Montgomery JT, Tadie EC, et al. GCK-MODY in the US National Monogenic Diabetes Registry: frequently misdiagnosed and unnecessarily treated. *Acta Diabetol*. 2016 Oct 22;53(5):703–8.
10. Gasperskaja E, Kučinskis V. The most common technologies and tools for functional genome analysis. *Acta medica Litu*. 2017 Apr 25;24(1):1–11.
11. Vogelstein B, Fearon ER, Hamilton SR, Kern SE, Preisinger AC, Leppert M, et al. Genetic Alterations during Colorectal-Tumor Development. *N Engl J Med*. 1988 Sep 1;319(9):525–32.
12. Vogelstein B, Papadopoulos N, Velculescu VE, Zhou S, Diaz LA, Kinzler KW. Cancer Genome Landscapes. *Science (80-)*. 2013 Mar 29;339(6127):1546–58.
13. Delattre O, Zucman J, Melot T, Garau XS, Zucker JM, Lenoir GM, et al. The Ewing family of tumors—a subgroup of small-round-cell tumors defined by specific chimeric transcripts. *N Engl J Med*. 1994 Aug 4;331(5):294–9.
14. Brohl AS, Solomon DA, Chang W, Wang J, Song Y, Sindiri S, et al. The genomic landscape of the Ewing Sarcoma family of tumors reveals recurrent STAG2 mutation. Horwitz MS, editor. *PLoS Genet*. 2014 Jul 10;10(7):e1004475.
15. Chen X, Bahrami A, Pappo A, Easton J, Dalton J, Hedlund E, et al. Recurrent somatic structural variations contribute to tumorigenesis in pediatric osteosarcoma. *Cell Rep*. 2014 Apr 10;7(1):104–12.
16. Tarlock K, Meshinchi S. Pediatric Acute Myeloid Leukemia. *Pediatr Clin North Am*. 2015 Feb;62(1):75–93.
17. Schwartzenruber J, Korshunov A, Liu X-Y, Jones DTW, Pfaff E, Jacob K, et al. Driver

- mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature*. 2012 Jan 29;482(7384):226–31.
18. Mullighan CG. Genomic Characterization of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *Semin Hematol*. 2013 Oct;50(4):314–24.
 19. Northcott PA, Korshunov A, Witt H, Hielscher T, Eberhart CG, Mack S, et al. Medulloblastoma Comprises Four Distinct Molecular Variants. *J Clin Oncol*. 2011 Apr 10;29(11):1408–14.
 20. Specht K, Sung Y-S, Zhang L, Richter GHS, Fletcher CD, Antonescu CR. Distinct transcriptional signature and immunoprofile of *CIC-DUX4* fusion-positive round cell tumors compared to *EWSR1*-rearranged ewing sarcomas: Further evidence toward distinct pathologic entities. *Genes, Chromosom Cancer*. 2014 Jul;53(7):622–33.
 21. Evans WE, Horner M, Chu YQ, Kalwinsky D, Roberts WM. Altered mercaptopurine metabolism, toxic effects, and dosage requirement in a thiopurine methyltransferase-deficient child with acute lymphocytic leukemia. *J Pediatr*. 1991 Dec;119(6):985–9.
 22. Stanulla M, Schaeffeler E, Flohr T, Cario G, Schrauder A, Zimmermann M, et al. Thiopurine Methyltransferase (<EMPH TYPE="ITAL">TPMT</EMPH>) Genotype and Early Treatment Response to Mercaptopurine in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *JAMA*. 2005 Mar 23;293(12):1485.
 23. Schultz KR, Bowman WP, Aledo A, Slayton WB, Sather H, Devidas M, et al. Improved Early Event-Free Survival With Imatinib in Philadelphia Chromosome–Positive Acute Lymphoblastic Leukemia: A Children’s Oncology Group Study. *J Clin Oncol*. 2009 Nov;27(31):5175–81.
 24. Franz DN, Belousova E, Sparagana S, Bebin EM, Frost M, Kuperman R, et al. Efficacy and safety of everolimus for subependymal giant cell astrocytomas associated with tuberous sclerosis complex (EXIST-1): a multicentre, randomised, placebo-controlled phase 3 trial. *Lancet (London, England)*. 2013 Jan 12;381(9861):125–32.
 25. Parsons DW, Roy A, Yang Y, Wang T, Scollon S, Bergstrom K, et al. Diagnostic Yield of Clinical Tumor and Germline Whole-Exome Sequencing for Children With Solid Tumors. *JAMA Oncol*. 2016 May 1;2(5):616.
 26. Carroll WL, Raetz E, Meyer J. State of the art discovery with tumor profiling in pediatric oncology. *Am Soc Clin Oncol Educ book Am Soc Clin Oncol Meet*. 2015;35:e601-7.
 27. Zhang J, Wu G, Miller CP, Tatevossian RG, Dalton JD, Tang B, et al. Whole-genome sequencing identifies genetic alterations in pediatric low-grade gliomas. *Nat Genet*. 2013 Apr 14;45(6):602–12.
 28. Mody RJ, Prensner JR, Everett J, Parsons DW, Chinnaiyan AM. Precision medicine in pediatric oncology: Lessons learned and next steps. *Pediatr Blood Cancer*. 2017 Mar;64(3):e26288.
 29. Behjati S, Tarpey PS, Haase K, Ye H, Young MD, Alexandrov LB, et al. Recurrent mutation of IGF signalling genes and distinct patterns of genomic rearrangement in osteosarcoma. *Nat Commun*. 2017 Jun 23;8:15936.
 30. Chmielecki J, Bailey M, He J, Elvin J, Vergilio J-A, Ramkissoon S, et al. Genomic Profiling of a Large Set of Diverse Pediatric Cancers Identifies Known and Novel Mutations across Tumor

- Spectra. *Cancer Res.* 2017 Jan 15;77(2):509–19.
31. Groisberg R, Hong DS, Holla V, Janku F, Piha-Paul S, Ravi V, et al. Clinical genomic profiling to identify actionable alterations for investigational therapies in patients with diverse sarcomas. *Oncotarget.* 2017 Jun 13;8(24):39254–67.
 32. Moreno L, Caron H, Georger B, Eggert A, Schleiermacher G, Brock P, et al. Accelerating drug development for neuroblastoma - New Drug Development Strategy: an Innovative Therapies for Children with Cancer, European Network for Cancer Research in Children and Adolescents and International Society of Paediatric Oncology Europe Neuroblastoma project. *Expert Opin Drug Discov.* 2017 Jun 26;1–11.
 33. Janeway KA, Place AE, Kieran MW, Harris MH. Future of clinical genomics in pediatric oncology. *J Clin Oncol.* 2013 May 20;31(15):1893–903.
 34. Seibel NL, Janeway K, Allen CE, Chi SN, Cho Y-J, Glade Bender JL, et al. Pediatric oncology enters an era of precision medicine. *Curr Probl Cancer.* 2017 May;41(3):194–200.
 35. Marron JM, DuBois SG, Bender JG, Kim A, Crompton BD, Meyer SC, et al. Patient/parent perspectives on genomic tumor profiling of pediatric solid tumors: The Individualized Cancer Therapy (iCat) experience. *Pediatr Blood Cancer.* 2016 Nov;63(11):1974–82.
 36. Miller FA, Hayeems RZ, Bytautas JP, Bedard PL, Ernst S, Hirte H, et al. Testing personalized medicine: patient and physician expectations of next-generation genomic sequencing in late-stage cancer care. *Eur J Hum Genet.* 2014 Mar 17;22(3):391–5.
 37. Gray SW, Hicks-Courant K, Cronin A, Rollins BJ, Weeks JC. Physicians' attitudes about multiplex tumor genomic testing. *J Clin Oncol.* 2014 May 1;32(13):1317–23.
 38. Blanchette PS, Spreafico A, Miller FA, Chan K, Bytautas J, Kang S, et al. Genomic testing in cancer: patient knowledge, attitudes, and expectations. *Cancer.* 2014 Oct 1;120(19):3066–73.

BENEZECH Sarah : Profilage moléculaire tumoral : Résultats pédiatriques de l'étude ProfilER

RESUME :

OBJECTIF: Malgré une amélioration considérable de la survie au cours des dernières décennies, la prise en charge des cancers à haut risque chez l'enfant reste un challenge. La médecine de précision est l'une des alternatives proposées pour la prise en charge des tumeurs de mauvais pronostic. L'étude ProfilER, menée au Centre Léon Bérard visait à établir le profil génétique des tumeurs malignes solides et hématologiques afin d'orienter la prise en charge thérapeutique du patient en fonction des altérations génétiques identifiées.

MATERIEL ET METHODES : Le génome tumoral était analysé par 2 méthodes distinctes que sont le NGS (Next Generation Sequencing, ou séquençage nouvelle génération) sur un panel de 69 gènes et l'aCGH (array Comparative Genomic Hybridization, ou puce d'hybridation génomique comparative). Les résultats étaient discutés au sein d'une Réunion de Concertation Pluridisciplinaire dédiée afin de proposer un éventuel traitement par une thérapeutique ciblée.

RESULTATS : Entre novembre 2013 et juin 2017, 50 patients âgés de moins de 19 ans et pris en charge pour une tumeur maligne ont été inclus. Les types tumoraux les plus fréquents étaient les sarcomes, les tumeurs du système nerveux central et les neuroblastomes. Sur ces 50 patients, 7 ont été exclus suite à un échec technique des analyses génomiques. Sur les 43 patients analysés, 10 présentaient une altération actionnable d'un ou plusieurs gènes, conduisant à une recommandation de traitement par une thérapeutique ciblée. Parmi eux, seuls 4 patients ont pu effectivement bénéficier de ce traitement personnalisé.

CONCLUSION: Cette étude confirme la faisabilité du profilage moléculaire des tumeurs de l'enfant. Cependant, la possibilité de traitement par une thérapeutique ciblée reste relativement limitée, du fait de la faible prévalence des altérations actionnables dans les tumeurs pédiatriques et de la difficulté d'inclusion dans des essais thérapeutiques souvent non accessibles aux enfants de moins de 18 ans.

ABSTRACT :

OBJECTIVES: Over the past decades, survival of children with cancer has dramatically increased. However, for some high risk and refractory tumors, the curability is still a challenge. Precision medicine would a way to face this issue. ProfilER study was meant to analyze the genome of refractory tumors in order to propose a targeted therapy, based on the molecular alterations found out.

METHODS: Tumor genome was analyzed with a 69 genes NGS (Next Generation Sequencing) panel and an aCGH (Array Comparative Genomic Hybridization) profile. Results were discussed during a multidisciplinary molecular board, and a targeted therapy might be proposed.

RESULTS: Between November 2013 and June 2017, 50 patients below 19 years of age and treated for a high-risk or relapsing tumor were included. Sarcomas, central nervous system tumors and neuroblastomas were the most frequent tumor types. 7 patients were sorted out because of a technical failure. Among the 43 remaining patients, 10 presented at least one targetable alteration but only 4 patients were actually treated with the recommended targeted therapy.

CONCLUSION: This study confirms the feasibility of molecular tumor profiling within a pediatric population. However, the actual possibility of treatment with a targeted therapy stay limited, because of the paucity of actionable molecular findings in pediatric tumors and the difficulties for children under 18 years old to access innovating drugs.

MOTS CLES : Médecine de précision, profilage moléculaire, pédiatrie, cancer, thérapies ciblées.

JURY :

Président : Monsieur le Professeur Jean-Yves BLAY

Membres : Monsieur le Professeur Pierre COCHAT
Monsieur le Professeur Yves BERTRAND
Monsieur le Docteur Didier FRAPPAZ
Madame le Docteur Perrine MAREC-BERARD

DATE DE SOUTENANCE : Lundi 16 Octobre 2017

ADRESSE DE L'AUTEUR : 12 rue d'Anvers, 69007 LYON – benezech.sarah@gmail.com
