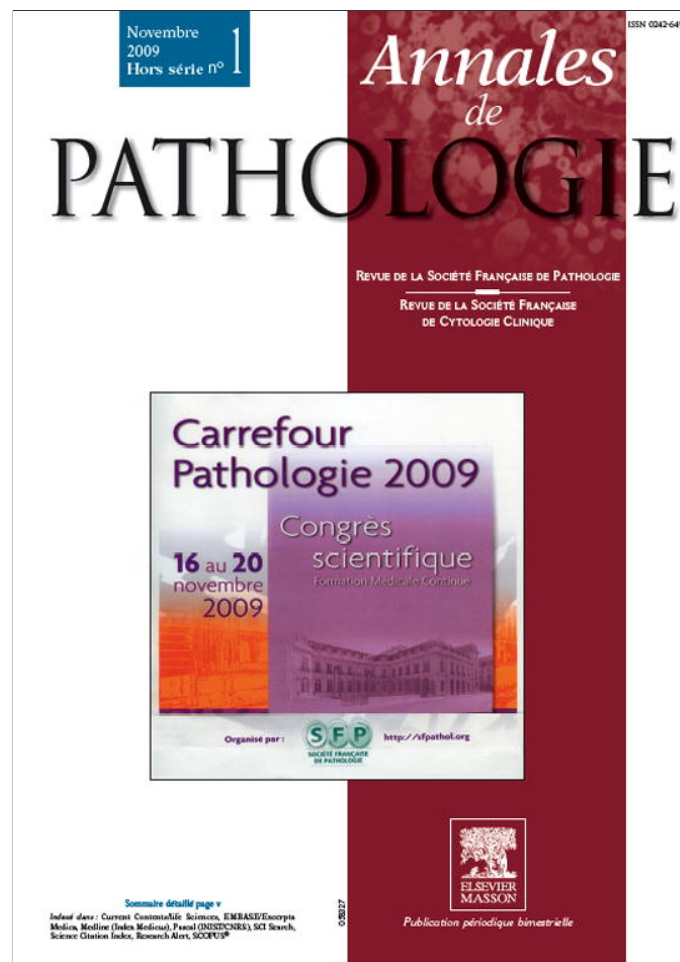


Provided for non-commercial research and education use.
Not for reproduction, distribution or commercial use.




This article appeared in a journal published by Elsevier. The attached copy is furnished to the author for internal non-commercial research and education use, including for instruction at the authors institution and sharing with colleagues.

Other uses, including reproduction and distribution, or selling or licensing copies, or posting to personal, institutional or third party websites are prohibited.

In most cases authors are permitted to post their version of the article (e.g. in Word or Tex form) to their personal website or institutional repository. Authors requiring further information regarding Elsevier's archiving and manuscript policies are encouraged to visit:

<http://www.elsevier.com/copyright>



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



CONFÉRENCE

Les cellules tumorales circulantes : intérêt, limites et nouvelles perspectives en oncologie clinique[☆]

Circulating tumor cells: Pitfalls and new promises in clinical oncology

Paul Hofman

Inserm ERI-21/EA 4319, laboratoire de pathologie clinique et expérimentale, hôpital Pasteur, biobanque CHUN, faculté de médecine de Nice, université de Nice–Sophia-Antipolis, 30, avenue de la voie-romaine-hôpital-Pasteur, BP 69, 06002 Nice, France

Accepté pour publication le 26 juillet 2009
Disponible sur Internet le 2 octobre 2009

L'existence de cellules tumorales sanguines circulantes est un concept très ancien remontant à plus d'une centaine d'années. Cependant, ce concept a évolué, permettant progressivement de mieux comprendre l'histoire naturelle des cancers [1,2]. La possibilité de détecter les cellules tumorales sanguines circulantes a été à l'origine de nombreux développements méthodologiques, dont certains sont très récents [2–4]. En fait, plusieurs terminologies sont employées ou devraient être utilisées lorsque l'on parle de cellules tumorales sanguines circulantes, témoignant de la difficulté de parfaitement caractériser ces cellules isolées dans le sang, et notamment d'affirmer leur potentiel invasif. D'une façon générale, on peut parler de cellules circulantes non hématologiques, pour définir toutes les cellules étrangères à celles normalement présentes dans le sang périphérique. Les cellules circulantes non hématologiques peuvent ainsi correspondre à des cellules épithéliales circulantes, dont la majorité seraient des cellules tumorales sanguines circulantes, mais d'autres des cellules bénignes, et à des cellules endothéliales circulantes, correspondant soit à des cellules endothéliales matures, soit à des précurseurs angioblastiques [5–7]. D'autres termes sont parfois aussi employés : micrométastases, macrométastases, micro-embolus tumoraux. Il est toujours délicat d'utiliser ces termes car le potentiel de développement métastatique de ces éléments isolés dans le sang n'est pas certain. Enfin, l'ensemble de ces cellules ainsi détectées dans le sang est aussi à différencier des cellules souches circulantes qui entrent dans un autre concept physiopathologique de l'histoire naturelle des cancers.

[☆] Conférence présentée le jeudi 19 novembre 2009, de 12 h 30 à 13 h 00 dans le Grand Amphithéâtre.
Adresse e-mail : hofman.p@chu-nice.fr.

Les méthodes de détection des cellules circulantes non hématologiques font appel à des techniques indirectes le plus souvent, plus rarement à des techniques directes [2,3,8,9]. Chacune de ces méthodes présente des avantages et des inconvénients ou bien des limites [2,3]. Ces limites viennent le plus souvent du fait que les cellules tumorales sanguines circulantes ont un phénotype particulier, incomplètement connu, et du fait qu'elles subissent un phénomène de transition épithéliomésenchymateuse. Ainsi, au cours de la transition épithéliomésenchymateuse, les cellules néoplasiques se détachent de la tumeur primitive, perdent une partie ou la totalité de leurs antigènes épithéliaux et acquièrent plusieurs antigènes mésenchymateux [3,10]. Les techniques de détection basées sur la reconnaissance des antigènes épithéliaux ont donc des limites pour la mise en évidence d'un certain nombre de cellules tumorales circulantes/cellules épithéliales circulantes [3,10].

Le potentiel agressif des cellules épithéliales circulantes est très difficile à évaluer. En effet, un grand nombre de ces cellules présente des images d'apoptose et seulement un très faible pourcentage de ces cellules pourrait franchir à nouveau la barrière endothéliale et s'implanter dans les tissus. De la même façon, il est quasiment impossible pour la grande majorité des méthodes de détection, de pouvoir affirmer que les cellules épithéliales circulantes ainsi isolées sont bien des cellules tumorales sanguines circulantes. Toutefois, plusieurs approches vont permettre assez rapidement de mieux caractériser le phénotype malin de ces cellules. Ainsi, une approche moléculaire et oncogénétique peut mettre en évidence différentes mutations, des gains ou des pertes chromosomiques dans ces cellules circulantes. Ainsi, si une cellule épithéliale circulante présente une ou plusieurs mutations caractéristiques de certaines tumeurs (par exemple, des mutations activatrices ou de résistance du gène de l'EGFR chez un patient développant un carcinome pulmonaire non à petites cellules), ces cellules épithéliales circulantes doivent correspondre à des cellules tumorales sanguines circulantes. De la même façon, une approche par hybridation in situ en fluorescence (FISH) peut mettre en évidence une amplification du gène de l'EGFR ou bien une polysomie [3]. Les techniques de CGH *arrays* doivent aussi affirmer la malignité des cellules épithéliales circulantes, en mettant en évidence des pertes ou des gains de segments chromosomiques. Toutefois, cette approche est difficile. En effet, il faut une quantité suffisante d'ADN extrait des cellules pour pouvoir réaliser une hybridation sur puce. Il faut donc pour cela amplifier l'ADN des cellules épithéliales circulantes. Cette étape d'amplification peut générer des biais, en créant des artéfacts, des cassures chromosomiques et des pertes génétiques.

La mise en évidence de cellules circulantes non hématologiques chez un patient peut être réalisée avant une intervention chirurgicale pour une résection tumorale complète, en cours d'intervention ou dans la période post-opératoire [11–15]. Cette détection peut être aussi réalisée chez des patients en phase métastatique, dans le suivi post-chimiothérapie [14]. Plusieurs études ont aussi montré la présence de cellules circulantes non hématologiques en phase préopératoire chez des patients allant bénéficier d'une résection chirurgicale considérée comme complète, témoignant ainsi de la présence de cellules déjà potentiellement métastatiques [11]. Cela pourrait permettre d'expliquer certaines récurrences très précoces après chirurgie, notamment pour des tumeurs de petite taille. La détection peropératoire des cellules tumorales sanguines circulantes montre de façon spectaculaire qu'un grand

nombre de ces cellules est relargué dans le sang pendant l'intervention, mais le risque de développer une métastase en fonction du nombre de cellules libérées dans le sang périphérique ou dans les veines pulmonaires est difficile à évaluer [12,13]. C'est certainement dans le suivi post-opératoire ou bien chez les patients ayant bénéficié d'une chimiothérapie que les applications en oncologie clinique pour la détection de cellules tumorales sanguines circulantes sont les mieux étudiées et codifiées actuellement [14,15]. Ainsi, cette détection, en utilisant la méthode Cell-Search, est largement utilisée aux États-Unis, dans le suivi des patients métastatiques ayant un carcinome mammaire, prostatique ou colique. Cette méthodologie a ainsi reçu l'autorisation de la Food and Drug Administration aux États-Unis pour le suivi de ces patients.

Hormis une application possible dans le diagnostic et surtout dans le pronostic des tumeurs, la détection des cellules tumorales sanguines circulantes entre maintenant dans le champ des investigations théranostiques. En effet, un des axes de recherche est maintenant la détection dans les cellules tumorales sanguines circulantes, de marqueurs biologiques prédictifs d'une réponse à une thérapie ciblée. Ainsi, la possibilité de mettre en évidence une mutation (activatrice ou bien de résistance) du gène de l'EGFR doit permettre à moyen terme de développer une thérapie personnalisée [4]. De même, il sera envisageable de détecter une mutation de KRAS dans ces cellules tumorales sanguines circulantes. Un monitoring des patients pour la détection des cellules tumorales sanguines circulantes et des différentes mutations, au décours des traitements, doit permettre en théorie d'adapter les différentes stratégies thérapeutiques en fonction de l'évolution de la maladie.

Un intérêt croissant est porté sur la détection d'une autre population de cellules circulantes non hématologiques, les cellules endothéliales circulantes [5–7]. Là encore, différentes méthodologies sont possibles pour analyser dans le sang la présence de cellules endothéliales matures ou immatures [5–7]. Le développement des stratégies thérapeutiques anti-angiogéniques rend particulièrement intéressante la possibilité de mettre en évidence dans le sang périphérique les différentes populations de cellules endothéliales. Il est certainement aussi envisageable d'apprécier chez un même patient, la présence combinée de cellules épithéliales circulantes et de cellules endothéliales circulantes et de voir l'impact de ces cellules sur le pronostic et l'évolution selon le traitement.

Finalement, à côté de la détection des cellules circulantes non hématologiques, différentes approches se sont orientées vers la mise en évidence d'autres biomarqueurs circulants, à partir de dérivés cellulaires. Il s'agit en particulier de la détection d'ADN tumoral circulant [16], d'ARN circulant [17] et plus récemment de microARN tumoraux plasmatiques [18]. L'ensemble de ces nouveaux biomarqueurs ouvre des perspectives diagnostiques, pronostiques et théranostiques majeures en oncologie clinique.

Conflits d'intérêts

L'auteur déclare n'avoir aucun conflit d'intérêts.

Références

- [1] Alix-Panabières C, Riethdorf S, Pantel K. Circulating tumor cells and bone marrow micrometastasis. *Clin Cancer Res* 2008;14:5013–21.

- [2] Pantel K, Brakenhoff RH, Brandt B. Detection, clinical relevance and specific biological properties of disseminating tumour cells. *Nat Rev Cancer* 2008;8:329–40.
- [3] Paterlini-Bréchet P, Benali NL. Circulating tumor cells (CTC) detection: clinical impact and future directions. *Cancer Lett* 2007;18:180–204.
- [4] Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, Ulkus L, Brannigan B, Coltura CV, et al. Detection of mutations in EGFR in circulating lung-cancer cells. *N Engl J Med* 2008;359:366–77.
- [5] Garmy-Susini B, Varner JA. Circulating endothelial progenitor cells. *Br J Cancer* 2005;17(93):855–8.
- [6] Strijbos MH, Gratama JW, Kraan J, Lamers CH, den Bakker MA, Sleijfer S. Circulating endothelial cells in oncology: pitfalls and promises. *Br J Cancer* 2008;98:1731–5.
- [7] Mancuso P, Burlini A, Pruneri G, Goldhirsch A, Martinelli G, Bertolini F. Resting and activated endothelial cells are increased in the peripheral blood of cancer patients. *Blood* 2001;97:3658–61.
- [8] Pinzani P, Salvadori B, Simi L. Isolation by size of epithelial tumor cells in peripheral blood of patients with breast cancer: correlation with real-time reverse transcriptase-polymerase chain reaction results and feasibility of molecular analysis by laser microdissection. *Hum Pathol* 2006;37:711–8.
- [9] Vona G, Sabile A, Louha M, Sitruk V, Romana S, Schutze K, et al. Isolation by size of epithelial tumor cells: a new method for the immunomorphological and molecular characterization of circulating tumor cells. *Am J Pathol* 2000;156:57–63.
- [10] Sieuwerts AM, Kraan J, Bolt J, van der Spoel P, Elstrodt F, Schutte M, et al. Anti-epithelial cell adhesion molecule antibodies and the detection of circulating normal-like breast tumor cells. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:61–6.
- [11] Biggers B, Knox S, Grant M, Kuhn J, Nemunaitis J, Fisher T, et al. Circulating tumor cells in patients undergoing surgery for primary breast cancer: preliminary results of a pilot study. *Ann Surg Oncol* 2009;16:969–71.
- [12] Sawabata N, Okumura M, Utsumi T, Inoue M, Shiono H, Minami M, et al. Circulating tumor cells in peripheral blood causes by surgical manipulation of non-small-cell lung cancer: pilot study using an immunocytology method. *Gen Thorac Cardiovasc Surg* 2007;55:189–92.
- [13] Okumura Y, Tanaka F, Yoneda K, Hashimoto M, Takuwa T, Kondo N, et al. Circulating tumor cells in pulmonary venous blood of primary lung cancer patients. *Ann Thorac Surg* 2009;87:1669–75.
- [14] Cristofanilli M, Hayes DF, Budd GT, Ellis MJ, Stopeck A, Reuben JM, et al. Circulating tumor cells: a novel prognostic factor for newly diagnosed metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2004;23:1420–30.
- [15] Allard WJ, Matera J, Miller MC, Repollet M, Connelly MC, Rao C, et al. Tumor cells circulate in the peripheral blood of all major carcinomas but not in healthy subjects or patients with nonmalignant diseases. *Clin Cancer Res* 2004;10:6897–904.
- [16] Sozzi G, Conte D, Leon M, Ciricione R, Roz L, Ratcliffe C, et al. Quantification of free circulating DNA as a diagnostic marker in lung cancer. *J Clin Oncol* 2003;21:3891–3.
- [17] Clarke LE, Leitzel K, Smith J. Epidermal growth factor receptor mRNA in peripheral blood of patients with pancreatic, lung, and colon carcinomas detected by RT-PCR. *Int J Oncol* 2003;22:425–30.
- [18] Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:10513–8.