

Recommandations 2013 de la conférence de consensus de Saint-Paul-de-Vence

Os : cible thérapeutique dans le cancer du sein - Préventions primaire et secondaire de la maladie métastatique

P. CLÉZARDIN
(Lyon)

Résumé

Les études fondamentales et cliniques révèlent que le ciblage pharmacologique des ostéoclastes, avec un bisphosphonate ou un anticorps anti-RANKL, est une excellente stratégie thérapeutique pour prévenir et traiter les complications osseuses chez les patientes souffrant d'un cancer du sein avec métastases osseuses. Les résultats cliniques montrent en particulier que le ciblage avec l'anticorps anti-RANKL dénosumab a une place privilégiée par rapport au bisphosphonate zolédronate pour la prévention et le traitement de ces complications osseuses. La question de l'utilisation des bisphosphonates (et du zolédronate) en situation adjuvante chez des femmes post-ménopausées ayant un cancer du sein non métastatique reste posée. Des études cliniques sont en cours pour évaluer si le traitement adjuvant avec le dénosumab pourrait prévenir l'apparition des métastases osseuses chez les patientes ayant un cancer du sein à un stade précoce.

Mots clés : cancer du sein, métastase osseuse, bisphosphonate, zolédronate, RANKL, dénosumab

Inserm - UMR1033 - UFR de médecine Lyon-Est (domaine Laennec) - Rue Guillaume Paradin - F-69372 Lyon cedex 08
Université de Lyon - 6 cours Albert Thomas - 69008 Lyon

Correspondance : philippe.clezardin@inserm.fr

Déclaration publique d'intérêt

Ph. Clézardin est intervenu en tant que conférencier dans des symposiums organisés par Amgen ou Novartis. L'auteur a aussi perçu des fonds de recherche (Novartis).

INTRODUCTION

Les métastases osseuses sont des complications fréquentes de nombreux cancers. Elles sont responsables, sur le plan clinique, de complications particulières telles que fractures, hypercalcémie et douleurs qui peuvent engager le pronostic vital ou aggraver rapidement la qualité de vie des patients [1]. Ces métastases osseuses sont très souvent ostéolytiques, c'est-à-dire qu'elles provoquent une destruction osseuse. Toutefois, les cellules tumorales ne détruisent pas directement l'os. L'ostéolyse est la conséquence d'une stimulation de l'activité des ostéoclastes (cellules responsables de la résorption osseuse) et d'une inhibition de l'activité des ostéoblastes (cellules responsables de la formation osseuse) par les cellules métastatiques [1]. Plus spécifiquement, les cellules tumorales sécrètent différents facteurs tels que la protéine apparentée à la parathormone (PTH-rP) et différentes interleukines (IL-6, IL-8, IL-11) qui agissent sur les ostéoblastes en stimulant l'expression de RANKL (*receptor activator of NF- κ B ligand*) [1, 2]. RANKL est une cytokine de la superfamille du TNF (*tumor necrosis factor*) [2]. Elle interagit avec son récepteur membranaire RANK qui est exprimé à la surface des ostéoclastes et de leurs précurseurs, conduisant ainsi à une stimulation de l'ostéoclastogénèse et de la résorption osseuse [2]. D'autre part, les cellules tumorales sécrètent différents facteurs comme la protéine dickkopf-1 (DKK-1) et la sclérostine qui bloquent la différenciation des ostéoblastes en inhibant la voie de signalisation Wnt [3]. Certains de ces facteurs, comme l'activine A [facteur de croissance de la superfamille du TGF β (*transforming growth factor- β*)], non seulement inhibent la différenciation ostéoblastique mais stimulent également la différenciation ostéoclastique [4]. Il en résulte donc un déséquilibre accru entre résorption et formation osseuse, conduisant ainsi à une ostéolyse majeure. De

plus, le tissu osseux minéralisé contribue à la formation de ces lésions osseuses. Le calcium, qui est libéré au cours de la dégradation de la matrice osseuse, stimule la prolifération des cellules tumorales [1]. Il en est de même des facteurs de croissance piégés dans la matrice osseuse tels que le TGF- β et les IGFs (*insulin growth factors*) qui, une fois libérés, exercent une action mitogène sur les cellules tumorales [1]. Il existe donc au site de la métastase osseuse un cercle vicieux où les phénomènes de destruction osseuse et de prolifération tumorale s'entretiennent mutuellement. C'est pour cette raison que les traitements pharmacologiques actuels ciblant les métastases osseuses visent à inhiber la résorption osseuse afin d'interférer avec ce cercle vicieux [5]. Dans cet article, nous traiterons de l'utilisation des bisphosphonates et du dénosumab dans le traitement et la prévention des métastases osseuses du cancer du sein.

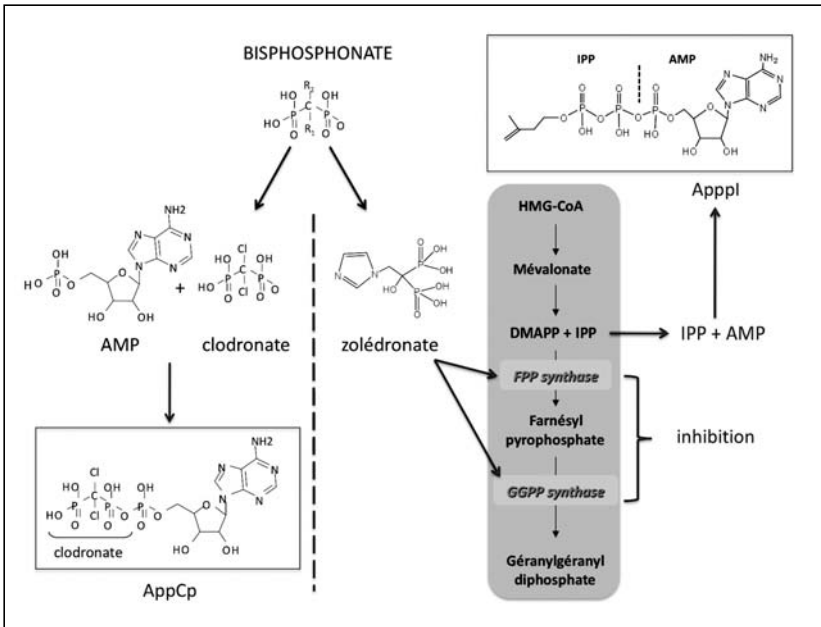
I. UTILISATION DES BISPHOSPHONATES DANS LE TRAITEMENT ET LA PRÉVENTION DES MÉTASTASES OSSEUSES DU CANCER DU SEIN

I.1. Mécanismes d'action des bisphosphonates

Les bisphosphonates sont des agents pharmacologiques qui inhibent l'activité des ostéoclastes [5, 6]. Sur le plan de leur structure chimique, les bisphosphonates se caractérisent tous par l'existence de 2 groupes phosphates liés à un atome central de carbone, formant ainsi un complexe P-C-P (Figure 1). Deux chaînes latérales (R_1 et R_2) sont liées au carbone de la structure P-C-P par des liaisons covalentes. Tous les bisphosphonates forment un complexe avec les cristaux d'hydroxyapatite par le biais de la structure P-C-P et la chaîne R_1 (généralement un groupement hydroxyl), conférant ainsi aux bisphosphonates une très forte affinité pour le minéral osseux [6]. Ces bisphosphonates fixés au minéral osseux sont alors internalisés par les ostéoclastes lorsqu'ils résorbent l'os. Les bisphosphonates qui n'ont pas d'atome d'azote au niveau de la chaîne R_2 (étidronate, clodronate) se complexent à l'AMP pour former un analogue de l'ATP (AppCp) (Figure 1), qui est cytotoxique pour les cellules [6]. Les amino-bisphosphonates (N-BPs) qui possèdent un groupement amine ou imine dans la chaîne latérale R_2 (ex. pamidronate, risédronate, ibandronate, alendronate, minodronate, zolédrone) interfèrent avec la voie du mévalonate en inhibant la

farnésyl pyrophosphate synthase (FPPS) et la géranylgéranyl pyrophosphate synthase (GGPPS) (Figure 1) [6]. Il en résulte un blocage de la prénylation des petites GTPases (telles que Ras, Rho) dont l'activité est essentielle au fonctionnement des ostéoclastes [1]. De plus, l'inhibition de la FPPS par les N-BPs provoque une accumulation intracellulaire d'IPP (isopentényl pyrophosphate) qui est ensuite converti en un analogue cytotoxique de l'ATP [Apppl, acide triphosphorique 1-adénosine-50-yl ester 3-(3-méthylbut-3-enyl ester)] (Figure 1) [6].

Figure 1 - Mécanismes d'action des bisphosphonates



1.2. Efficacité des bisphosphonates dans le traitement des complications osseuses

Les bisphosphonates ont démontré leur efficacité dans la prévention et le traitement des complications osseuses chez les patientes souffrant d'un cancer du sein avec métastases osseuses [5]. Comparé au placebo, le traitement avec le bisphosphonate zoledronate (4 mg en intraveineux toutes les 3-4 semaines) réduit de 40 % le risque de survenue de complications osseuses ($p = 0,019$) chez les patientes ayant

un cancer du sein avec métastases osseuses et il améliore leur qualité de vie ($p < 0,05$) [7]. Le zolédronate est le plus puissant des bisphosphonates utilisés en clinique. Par exemple, la diminution du risque de complications osseuses avec le zolédronate est de 20 % supérieure à celle obtenue avec le pamidronate (90 mg en intraveineux toutes les 3-4 semaines) chez des femmes souffrant de métastases osseuses du cancer du sein ($p = 0,037$) [7]. De plus, ces bisphosphonates (zolédronate, pamidronate) diminuent la douleur associée aux métastases osseuses [7]. Le clodronate (1 600 mg per os/jour), bien qu'il réduise le risque de complications osseuses ($p < 0,05$), n'a pas d'effet sur la douleur osseuse [7]. Il est intéressant de constater que la puissance relative des bisphosphonates à diminuer le risque des complications osseuses chez les patientes ayant des métastases osseuses est proportionnelle à celle nécessaire pour inhiber l'activité de résorption des ostéoclastes, l'ordre de puissance étant zolédronate > pamidronate > clodronate. Ces résultats indiquent donc que l'efficacité des bisphosphonates dans le traitement des métastases osseuses est liée à leur capacité à inhiber la résorption osseuse.

1.3. Efficacité des bisphosphonates dans la prévention des métastases osseuses

Plusieurs travaux expérimentaux précliniques montrent que les N-BPs n'ont pas seulement la propriété d'inhiber l'activité de résorption des ostéoclastes, mais qu'ils ont également des propriétés anti-tumorales directes (inhibition de l'invasion et de la prolifération tumorale) ou indirectes (inhibition de la vascularisation tumorale, stimulation de l'activité cytotoxique des lymphocytes T $\gamma\delta$) [5, 6]. Nous pensons que la sensibilité des cellules tumorales en réponse à un traitement par un N-BP pourrait être liée au degré d'activité de la FPPS dans les cellules tumorales. Nous avons montré que l'accumulation d'IPP et d'ApppI dans les cellules humaines de cancer du sein traitées avec du zolédronate variait de façon importante selon qu'elles exprimaient ou non les récepteurs nucléaires aux œstrogènes et à la progestérone, les cellules cancéreuses hormono-dépendantes (ex. MCF-7, T47D) étant plus sensibles que les cellules hormono-indépendantes (ex. MDA-MB-231) à l'action anti-tumorale du zolédronate [6, 8]. Ces résultats sont importants sur le plan conceptuel car ils suggèrent qu'en clinique la réponse à un traitement avec du zolédronate (ou un autre N-BP) pourrait aussi dépendre du degré d'activité basal de la FPPS dans les tumeurs.

Plusieurs études cliniques réalisées sur des patientes atteintes d'un cancer du sein avec, à l'entrée dans l'étude, la présence de cellules cancéreuses dans la moelle osseuse (DTCs ou *disseminated tumor cells*) montrent que le zolédronate (4 mg par mois) diminue significativement le nombre de ces DTCs après 12 à 24 mois de traitement, ce qui influe sur la survie des patients [5, 9]. La présence de DTCs dans la moelle osseuse de patientes atteintes d'un cancer du sein est un facteur de mauvais pronostic qui est associé à la rechute métastatique [1]. Ces DTCs peuvent rester quiescentes dans la moelle osseuse pendant de nombreuses années puis soudainement se mettre à proliférer pour former des lésions dans l'os ou dans d'autres sites à distance [1]. Les effets du zolédronate sur les DTCs sont certainement à rapprocher des résultats obtenus avec le zolédronate en traitement adjuvant dans les essais cliniques randomisés ABCSG-12 (*Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group-12*) et ZO-FAST (*Zometa-Femara Adjuvant Synergy Trial*). L'essai clinique ABCSG-12 porte sur un effectif global de plus de 1 800 femmes non ménopausées atteintes d'un cancer du sein qui ont été traitées à un stade précoce de leur maladie (stades I/II) [5]. Ces femmes reçurent une hormonothérapie (tamoxifène ou anastrozole) seule ou en association avec du zolédronate (4 mg tous les 6 mois pour une durée de traitement de 3 ans) [5]. Il a été observé que l'ajout du zolédronate à l'hormonothérapie réduisait de 36 % le risque relatif de progression de la maladie, par comparaison à l'hormonothérapie seule ($p = 0,01$) [5]. Il est important de souligner que cette réduction du risque de rechute en présence de zolédronate incluait non seulement une diminution de l'apparition des métastases osseuses, mais aussi une diminution des métastases viscérales et des récives sur le sein contralatéral [5]. De plus, le suivi de ces patientes à 84 mois continue à montrer un bénéfice de l'ajout du zolédronate à l'hormonothérapie sur la rechute (et la survie) des patientes ($p < 0,01$) [10]. Des résultats similaires furent observés avec ZO-FAST dans lequel plus de 1 000 patientes ménopausées atteintes d'un cancer du sein (stades I à IIIa) ont été incluses [5]. Toutes les patientes avaient au début de l'étude une densitométrie osseuse avec un T score ≥ 2 et toutes reçurent une hormonothérapie adjuvante avec un inhibiteur de l'aromatase (létrazole). Ces patientes sous hormonothérapie ont été randomisées en 2 groupes : le premier groupe recevant un traitement d'emblée avec du zolédronate (4 mg tous les 6 mois) alors que le second groupe ne recevait un traitement avec le zolédronate que lorsque les patientes avaient une densité minérale osseuse basse (T score < 2) ou lorsqu'elles présentaient une fracture clinique ou asymptomatique à 36 mois. Il est apparu que le traitement d'emblée avec le zolédronate diminuait de

40 % ($p = 0,03$) le risque relatif de progression de la maladie à 36 mois [5]. Il a donc été proposé au travers de ces deux études que les bisphosphonates intraveineux en traitement adjuvant pouvaient avoir une action anti-tumorale en bloquant la colonisation par les DTCs de la moelle osseuse. Toutefois, l'impact de ces études a été minoré par les résultats d'un troisième essai clinique (AZURE; *Adjuvant Zoledronic Acid to Reduce Recurrence*) comportant 3 360 patientes (pré- ou post-ménopausées) avec cancer du sein de stades II/III et qui a montré que l'addition du zolédronate n'apportait aucun bénéfice par rapport au traitement standard seul [5]. De plus, une étude clinique de phase III (GAIN; *German Adjuvant Intergroup Node-Positive Study*) réalisée chez 2 640 femmes ayant un cancer du sein avec envahissement ganglionnaire n'a pas montré d'efficacité dans l'utilisation adjuvante de l'ibandronate (50 mg/jour per os pendant deux ans) [11]. Différentes méta-analyses suggèrent néanmoins que les N-BPs (notamment le zolédronate) pourraient avoir une plus grande efficacité en adjuvant chez les femmes post-ménopausées souffrant d'un cancer du sein [10]. Les mécanismes d'action sous-jacents sont inconnus.

II. UTILISATION DU DÉNOSUMAB DANS LE TRAITEMENT ET LA PRÉVENTION DES MÉTASTASES OSSEUSES DU CANCER DU SEIN

L'expression de RANKL est augmentée dans les métastases osseuses associées à différents types de tumeurs solides dont le cancer du sein car les cellules tumorales présentes dans la moelle osseuse sécrètent différents facteurs qui stimulent l'expression de RANKL par les ostéoblastes [1, 2]. D'ailleurs le traitement d'animaux métastatiques avec une molécule recombinante (Fc-OPG ou Fc-RANK) qui inhibe l'interaction RANK/RANKL permet de bloquer la formation des lésions osseuses induite par des cellules humaines de cancer du sein (MCF-7, MDA-MB-231) [2].

II.1. Efficacité du dénosumab dans le traitement des complications osseuses

Une étude de phase III a été menée chez 2 046 patientes présentant des métastases osseuses d'un cancer du sein et n'ayant pas été

préalablement traitées par un biphosphonate injectable [2]. Les patientes recevaient soit du dénosumab (120 mg en sous-cutané + placebo en intraveineux) soit du zolédronate (4 mg en intraveineux + placebo en sous-cutané), toutes les 4 semaines. Cette étude a montré que le dénosumab, après 34 mois de traitement, réduisait de 18 % le risque de survenue d'un nouvel événement osseux par comparaison à ce qui était observé avec le zolédronate ($p < 0,01$). Le dénosumab inhibait aussi de 23 % le risque de développer de multiples complications osseuses ($p = 0,001$) par rapport au zolédronate [2]. Le dénosumab est donc plus puissant que le zolédronate dans le traitement pour la prévention des complications osseuses chez les patientes souffrant d'un cancer du sein et présentant des métastases osseuses. Aucune différence n'a été observée entre les deux groupes en ce qui concerne le taux global des événements indésirables (97,2 % zolédronate *versus* 95,8 % dénosumab) et l'incidence d'apparition d'ostéonécrose de la mâchoire (2 % dénosumab *versus* 1,4 % zolédronate).

II.2. Efficacité du dénosumab dans la prévention des métastases osseuses

RANK et RANKL ne sont pas uniquement exprimés dans le tissu osseux. Chez des souris, RANK ou RANKL interviennent dans la maturation de la glande mammaire [2]. Par ailleurs, les cellules néoplasiques du cancer du sein expriment RANK [2]. Or RANKL stimule la migration et l'invasion de ces cellules cancéreuses exprimant RANK [2]. Dans la mesure où RANKL peut être libéré dans la circulation sanguine sous une forme soluble (sRANKL) *in vivo* [2], il est très probable que RANKL n'intervienne pas uniquement en stimulant l'ostéolyse maligne mais également en favorisant l'invasion et la prolifération des cellules tumorales. D'ailleurs, nous avons étudié par immunohistochimie l'expression de RANK dans les tumeurs primitives de 93 patientes souffrant d'un cancer du sein et nous avons observé une corrélation positive entre RANK et la survenue de métastases osseuses ($p = 0,023$) [12]. L'ensemble de ces résultats expérimentaux et cliniques suggèrent donc que le blocage de l'interaction RANK/RANKL pourrait présenter un intérêt thérapeutique dans le traitement du cancer du sein à un stade précoce.

Deux études cliniques avec le dénosumab en adjuvant sont actuellement en cours : ABCSG-18 et D-CARE. L'essai ABCSG-18 (*Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group Study-18; ClinicalTrials.gov identifier: NCT00556374*) est une étude multicentrique de phase III qui

visé à étudier l'effet du dénosumab (60 mg en sous cutané tous les 6 mois) *versus* placebo chez des patientes post-ménopausées ayant un cancer du sein non métastatique et recevant un inhibiteur de l'aromatase [5]. Il est prévu d'inclure 3 400 patientes. La date de fin d'étude est prévue en 2022. L'essai D-CARE (*ClinicalTrials.gov Identifier: NCT01077154*) est une étude multicentrique de phase III qui est réalisée chez des patientes ayant un cancer du sein (stade II-III) avec un haut risque de rechute. Il est prévu d'inclure 4 500 patientes. Le traitement avec le dénosumab est de 120 mg en sous cutané, administré mensuellement pendant 6 mois puis trimestriellement pendant 4 ans et demi. La fin de l'étude est escomptée en 2021.

Les bisphosphonates qui n'ont pas d'atome d'azote dans la chaîne R2 (étidronate, clodronate) se combinent à l'AMP pour former un analogue cytotoxique de l'ATP : l'AppCp. Les bisphosphonates qui ont un ou deux atomes d'azote comme le zolédronate interfèrent avec la voie du mévalonate en bloquant les activités enzymatiques de la farnésyl pyrophosphate synthase (FPPS) et de la géranylgeranyl pyrophosphate synthase (GGPPS). Il en résulte une accumulation intracellulaire d'isopentényl pyrophosphate (IPP) qui, en se combinant avec l'AMP, forme un analogue cytotoxique de l'ATP : l'AppI.

CONCLUSION

Les études fondamentales et cliniques révèlent que le ciblage pharmacologique des ostéoclastes est une excellente stratégie thérapeutique pour prévenir et traiter les complications osseuses chez les patientes souffrant d'un cancer du sein avec métastases osseuses. Les résultats cliniques montrent en particulier que le dénosumab a une place privilégiée par rapport au zolédronate pour le traitement de ces métastases osseuses. La question de l'utilisation des bisphosphonates (et du zolédronate) en situation adjuvante pour prévenir l'apparition des métastases osseuses chez des femmes post-ménopausées ayant un cancer du sein non métastatique reste posée. Des études cliniques sont en cours pour évaluer si le traitement adjuvant avec le dénosumab pourrait prévenir l'apparition de ces métastases osseuses chez les patientes ayant un cancer du sein à un stade précoce.

Bibliographie

- [1] Weilbaeher KN, Guise TA, McCauley LK. Cancer to bone: a fatal attraction. *Nat Rev Cancer* 2011;11:411-425.
- [2] Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS, Kostenuik PJ, Dougall WC, Sullivan JK, San Martin J, Dansey R. Bench to bedside: elucidation of the OPG-RANK-RANKL pathway and the development of denosumab. *Nat Rev Drug Discov* 2012;11:401-419.
- [3] Clézardin P. Therapeutic targets for bone metastases in breast cancer. *Breast Cancer Res* 2011;13:207.
- [4] Leto G. Activin A and bone metastasis. *J Cell Physiol* 2010;225:302-309.
- [5] Coleman R, Gnant M, Morgan G, Clézardin P. Effects of bone-targeted agents on cancer progression and mortality. *J Natl Cancer Inst* 2012;104:1059-1067.
- [6] Clézardin P. Bisphosphonates' antitumor activity: an unravelled side of a multifaceted drug class. *Bone* 2011;48:71-79.
- [7] Costa L, Major PP. Effect of bisphosphonates on pain and quality of life in patients with bone metastases. *Nat Clin Pract Oncol* 2009;6:163-174.
- [8] Benzaid I, Mönkkönen H, Bonnelye E, Mönkkönen J, Clézardin P. *In vivo* phospho-antigen levels in bisphosphonate-treated human breast tumors trigger V_{9V}₂ T-cell antitumor cytotoxicity through ICAM-1 engagement. *Clin Cancer Res* 2012;18:6249-6259.
- [9] Banys M, Solomayer EF, Gebauer G, Janni W, Krawczyk N, Lueck HJ, Becker S, Huober J, Kraemer B, Wackwitz B, Hirle P, Wallwiener D, Fehm T. Influence of zoledronic acid on disseminated tumor cells in bone marrow and survival: results of a prospective clinical trial. *BMC Cancer* 2013;13:480 (sous presse).
- [10] Gnant M. Adjuvant bisphosphonates: a new standard of care? *Curr Opin Oncol* 2012;24:635-642.
- [11] Von Minckwitz G, Möbus V, Schneeweiss A, Huober J, Thomssen C, Untch M, Jackisch C, Diel IJ, Elling D, Conrad B, Kreienberg R, Müller V, Lück HJ, Bauerfeind I, Clemens M, Schmidt M, Noeding S, Forstbauer H, Barinoff J, Belau A, Nekljudova V, Harbeck N, Loibl S. German Adjuvant Intergroup Node-Positive Study: a phase III trial to compare oral ibandronate *versus* observation in patients with high-risk early breast cancer. *J Clin Oncol* 2013;31:3531-3539.
- [12] Santini D, Schiavon G, Vincenzi B, Gaeta L, Pantano F, Russo A, Ortega C, Porta C, Galluzzo S, Armento G, La Verde N, Caroti C, Treilleux I, Ruggiero A, Perrone G, Addeo R, Clézardin P, Muda AO, Tonini G. Receptor activator of NF- κ B (RANK) expression in primary tumors associates with bone metastasis occurrence in breast cancer patients. *PLoS One* 2011;6(4):e19234.