Crizotinib chez les patients atteints de cancer bronchopulmonaire ROS1 positifs

Crizotinib for ROS1-rearranged non-small cell lung cancer patients

Charlotte Domblides¹, Martine Antoine^{2,3}, Armelle Lavole¹, Jacques Cadranel^{1,2}, Marie Wislez^{1,2}

¹ GH HUEP, AP-HP, hôpital Tenon, service de pneumologie, 4, rue de la Chine, 75970 Paris, France

² Hôpital Tenon, Sorbonne universités, UPMC université Paris 06, Theranoscan, GRC n° 04, 4, rue de la Chine, 75252 Paris, France

³ Hôpital Tenon, AP-HP, GH HUEP, service d'anatomie pathologique, 75970 Paris, France

Mots-clés : Cancer bronchique non à petites cellules, Crizotinib, Réarrangement de ROS1

Keywords : Non small-cell lung cancer, crizotinib, ROS1-positive

Résumé

Les réarrangements de *ROS1* sont des anomalies rares qui concernent plutôt des femmes jeunes, non ou peu fumeuses. La protéine ROS1 issue de ces réarrangements conserve un domaine tyrosine kinase intact, ce qui entraîne l'activation constitutive de la kinase et des voies de signalisation d'aval, connues comme impliquées dans la tumorigénèse. Ces anomalies ont montré leur potentiel oncogénique dans les modèles animaux mais également chez l'Homme, intervenant de manière précoce dans la carcinogénèse. Plusieurs partenaires différents ont été identifiés, et les tumeurs portant cette altération moléculaire peuvent faire l'objet de thérapies spécifiques dans le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC). Ainsi, le crizotinib a récemment obtenu une AMM chez les patients atteints d'un CBNPC *ROS1*-positif à un stade avancé en échec après au moins 2 lignes de traitement dont une chimiothérapie à base de sels de platine. Cet article effectue une revue des données concernant le rôle oncogénique de ROS1, les différentes modalités diagnostiques de l'altération, et les traitements actuellement disponibles pour cibler ces tumeurs.

ROS1 fusions are rare mutations that concern young and never-smoker women. The ROS1-rearranged protein conserves an intact tyrosine kinase domain, leading to the constitutive activation of the ROS1 tyrosine kinase function and of its downstream pathways, that are known to be involved in tumorigenesis. These molecular abnormalities have shown their oncogenic potential in animals' models and in Human, with an early effect on carcinogenesis. Several partners have been identified. Patients with non-small cell lung cancers (NSCLC) harbouring *ROS1* alterations can received specific targeted therapies. Indeed, crizotinib has recently been approved in France in advanced *ROS1*-rearranged NSCLC after at least 2 previous lines of treatment. We propose a review of the oncogenic role of *ROS1* rearrangements, the different methods for its diagnosis, and the available treatments.

Introduction

Les récentes avancées technologiques ont permis de séparer le cancer bronchique non à petites cellules (CBNPC) en plusieurs entités moléculaires distinctes. Ces sous-groupes moléculaires ont des caractéristiques cliniques différentes, et leur identification a radicalement changé le traitement du CBNPC ces dernières années. Ainsi, en plus des chimiothérapies classiques, qui permettent d'obtenir des taux de réponse d'environ 20% en condition métastatique, ont été développées des thérapies ciblant spécifiquement les altérations moléculaires de ces tumeurs. Ces traitements se sont rapidement imposés comme un outil efficace, avec des taux de contrôle avoisinant les 90%, et des survies sans progression en 1^{ère} ligne d'environ 9 à 10 mois en médiane.

Les altérations qui bénéficient actuellement de traitements utilisables en pratique clinique sont, dans le CBNPC, les mutations du gène de l'*EGFR* (*Epidermal Growth Factor Receptor*) et les réarrangements de *ALK* (*Anaplastic Lymphoma Kinase*). D'autres anomalies ont été plus récemment identifiées, telles que celles de *c-ros oncogene 1* (*ROS1*), et se sont révélées potentiellement intéressantes à cibler en routine. Les anomalies de *ROS1* sont rares car elles ne concernent que 200 patients environ par an en France. A l'occasion de l'AMM (Autorisation de Mise sur le Marché) du crizotinib pour les CBNPC ayant un réarrangement de *ROS1*, cet article effectue une revue des données concernant le rôle oncogénique de *ROS1* et les traitements actuellement disponibles pour cibler ces tumeurs.

I. La protéine ROS1

1. Biologie de la protéine sauvage

ROS1 est un récepteur tyrosine kinase de 2 347 acides aminés appartenant à la superfamille des récepteurs à l'insuline, comme *ALK*. Ainsi, la protéine *ROS1* présente une homologie de séquence de 77% avec *ALK* au niveau de la poche à ATP, et de 49% au niveau du domaine kinase [1, 2]. Le gène *ROS1* est situé en position 22 du bras long du chromosome 6 (6q22). Le récepteur est composé d'un domaine extracellulaire de liaison à son ligand comprenant 9 motifs fibronectine-like, d'un court domaine transmembranaire et d'un domaine intracellulaire portant l'activité tyrosine kinase. Son ligand n'a pas été identifié. De plus, le rôle de la forme sauvage de *ROS1* n'est pas connu : les souris mâles ayant perdu l'expression de la protéine *ROS1* présentent des anomalies de l'épididyme qui les rendent stériles mais ont un phénotype sain [3, 4].

2. *ROS1* dans les tumeurs humaines

La surexpression de *ROS1* est décrite dans des tumeurs leptoméningées et des glioblastomes (33% à 56%) [2]. Dans certains cas, elle peut être liée à une augmentation du nombre de copies du gène *ROS1*, par amplification ou polysomie [5]. Une étude récente rétrospective a étudié le nombre de copies du gène *ROS1* et l'expression de la protéine dans 375 CBNPC. Environ 5% des tumeurs surexprimaient *ROS1*, et le nombre de copies moyen était de 2,30 (1,38-4,56). Cette anomalie semblait corrélée à un mauvais pronostic, avec une survie globale de 40 mois en cas de surexpression contre 67 mois en son absence ($p < 0.001$) [6].

Ce sont les réarrangements intra- ou interchromosomiques qui ont le plus d'impact thérapeutique. Ces réarrangements peuvent être retrouvés dans les CBNPC, les cholangiocarcinomes, les glioblastomes et les cancers gastriques. Ce sont dans des lignées cellulaires de glioblastome U118MG que la première identification de la protéine de fusion de ROS1 a été identifiée [7, 8]. Cette fusion est formée par la délétion d'une partie du chromosome 6, ce qui met en contact la région 3' du gène *ROS1*, contenant le domaine tyrosine kinase, et la région 5' du gène *FIG* (Fused In Glioblastoma). La protéine ROS1 conserve un domaine tyrosine kinase intact et cette fusion entraîne l'activation constitutive de la kinase et des voies de signalisation d'aval telles que STAT3, Pi3K/AKT, et RAS/RAF/MAPK (Figure 1) [9]. Ces voies sont impliquées dans la prolifération et la survie cellulaire. Ainsi, l'expression de cette protéine de fusion dans les cellules de glioblastome conduit *in vitro* à l'acquisition du phénotype tumoral [7].

3. Anomalies de ROS1 dans le CBNPC

Le réarrangement de *ROS1* a été décrit dans les CBNPC pour la première fois en 2007, dans la lignée cellulaire HCC78 (fusion avec SLC34A2 (Solute Carrier Family 34 member 2) et dans des cellules primaires issues d'un patient (fusion avec CD74 (Cluster of Differentiation 74) [10].

Les réarrangements de *ROS1* représentent environ 1% des anomalies oncogéniques identifiables dans les CBNPC [11], et entre 7,4% et 10% des cas d'une population de CBNPC enrichie dite « triple négative » (*EGFR/KRAS/ALK* négatifs) [12, 13]. Dans les CBNPC, la cassure donnant lieu à la formation de la protéine de fusion survient au niveau des exons 32, 34 ou 35. De nombreux partenaires ont été décrits, comme *CD74* (le plus fréquent), *SLC34A2*, *TPM3* (*TropoMyosin 3*), *EZR* (*Ezrin*), *CCDC6* (*Coiled-Coil Domain-Containing protein 6*) ; l'expression de la protéine de fusion peut être transmembranaire ou cytoplasmique en fonction du partenaire [14]. Ces variants ont été identifiés comme étant des drivers oncogéniques, et sont également associés à une sensibilité à l'inhibition de ROS1 [15, 16].

Les réarrangements de *ROS1* ont montré leur potentiel oncogénique dans les modèles animaux mais également chez l'Homme. En effet, plusieurs formes de réarrangements de *ROS1* peuvent induire un phénomène de transformation et d'addiction oncogénique, en favorisant la formation de colonies *in vitro* et de tumeurs dans des modèles murins [14, 16]. Ceci confirme le rôle oncogénique de la néo-protéine, intervenant précocement dans le tumorigénèse.

4. Caractéristiques clinicopathologiques des CBNPC présentant un réarrangement de ROS1

Comme ce qui est observé pour ALK, ce réarrangement touche plutôt des patients jeunes, non ou peu fumeurs [17] sans origine ethnique particulière contrairement aux mutations de l'*EGFR*, qui sont plus fréquentes chez les patients asiatiques.

Sur le plan histologique, ces tumeurs sont représentées par une proportion plus importante d'adénocarcinomes, de type solide, cribriforme ou en bague à chaton et surexprimant la protéine TTF-1. La protéine de fusion a une localisation très variable dans la cellule, pouvant être diffuse dans le cytoplasme, membranaire, vésiculaire ou en agrégats périnucléaires. Le réarrangement a également été identifié de manière plus anecdotique dans les carcinomes épidermoïdes [18].

Les altérations de *ROS1* sont mutuellement exclusives des autres anomalies moléculaires telles que *EGFR*, *KRAS*, *HER2*, *ALK* et *RET*. Néanmoins, après évaluation par *Next Generation Sequencing* (NGS), une publication récente a retrouvé chez 66,7% des patients d'autres altérations additionnelles notamment des anomalies de *TP53* (46,7%), de *BRAF* (11,8%) et de *MET* (6,7%) [19].

II. Détection des réarrangements de *ROS1*

Actuellement, aucun test compagnon n'est recommandé en France pour la détection de *ROS1*. Par analogie avec les réarrangements de *ALK*, plusieurs méthodes peuvent être utilisées : l'immunohistochimie (IHC), l'hybridation *in situ* en fluorescence (FISH), et l'amplification par RT-PCR.

1. La FISH, technique de référence

La détection des réarrangements de *ROS1* se fait classiquement par technique FISH avec sondes dites de « break-apart » (Figure 2A), tout comme pour la détection des réarrangements de *ALK*. Il s'agit de 2 sondes marquées par un fluorochrome, flanquées de part et d'autre du point de cassure de *ROS1*. Le seuil de positivité admis est de 10% de cellules réarrangées à partir de l'analyse de 100 noyaux de cellules tumorales. La technique de FISH permet ainsi d'affirmer l'existence d'un réarrangement mais elle ne permet pas d'en préciser le partenaire. Cette technique a une très bonne sensibilité, une bonne spécificité, mais elle est coûteuse, longue et nécessite un anatomopathologiste expérimenté. Elle est en effet d'interprétation plus difficile qu'une analyse en IHC.

2. Place de l'immunohistochimie (IHC)

Une évaluation première de l'expression de *ROS1* par étude en IHC (Figure 2B) est souvent réalisée pour dépister les cas qui seront alors confirmés par FISH. L'IHC possède une bonne sensibilité, pouvant atteindre jusqu'à 100% [20].

La comparaison de l'IHC et de la FISH reste difficile en raison du faible nombre de patients réarrangés *ROS1*. Dans une étude récente sur 304 tumeurs [21], le taux de concordance était de 99% entre IHC et FISH, avec 98,4% des tumeurs négatives en FISH et en IHC, et 0,7% positives pour les 2. Ces données ont également été retrouvées dans d'autres études [22]. Pourtant, plusieurs équipes ont rapporté des cas de faux positifs en IHC, non confirmés en FISH. Les hypothèses seraient la fixation de l'anticorps par les cellules immunitaires et la réactivité croisée de l'anticorps D4D6 entre la protéine *ROS* et les protéines *ALK* ou *HER2* [13].

L'IHC est classiquement réalisée avec l'anticorps primaire de Cell Signaling (clone D4D6), qui se fixe sur la partie carboxy-terminale de la protéine humaine. Cet anticorps ne marque que les cellules qui expriment la protéine de fusion et pas le tissu pulmonaire sain adjacent. L'IHC est rapide, moins coûteuse et nécessite une cellularité inférieure à celle requise pour la FISH. Ces avantages en font la technique de choix utilisée en première intention pour les adénocarcinomes ne présentant pas d'anomalies sur les biomarqueurs qui devraient être idéalement recherchés en routine tels que *EGFR*, *KRAS*, *BRAF*, *HER2* et *c-MET*. Néanmoins, il est actuellement recommandé, compte tenu de la

spécificité variable du test et du faible nombre de patients dans les études, de confirmer la présence de cette altération par FISH [22].

En pratique, il est recommandé de réaliser une évaluation préalable du statut *ROS1* chez les patients pour lesquels la tumeur présente un statut *EGFR*, *KRAS* et ALK négatif (Figure 3). L'évaluation se fait par IHC et la FISH ne sera réservée qu'aux tumeurs ayant une expression entre 1+ et 3+ [23]. L'amélioration rapide des techniques de détection va faire émerger de nouvelles méthodes d'évaluation du statut *ROS1*. Parmi elles, le NGS semble être la technique de détection la plus prometteuse, qui risque de remplacer la FISH à l'avenir ou de venir en complément de celle-ci.

III. Ciblage de *ROS1* en thérapeutique

1. Impact pronostic du réarrangement de *ROS1*

Le réarrangement de *ROS1* semble être un biomarqueur de bon pronostic. Ainsi, les patients présentant cette anomalie semblent avoir un meilleur pronostic que les patients présentant des altérations de ALK ou EGFR. Dans une large cohorte de 1 137 patients, les survies globales étaient de 36,7 mois pour les malades réarrangés pour *ROS1* en l'absence de traitement par crizotinib (n=14), 25,3 mois pour ceux mutés pour EGFR mais traités par un inhibiteur de tyrosine kinase (ITK) EGFR (n=38), 23,9 mois pour les malades ALK traités par ITK ALK (n=13) et 6,6 mois pour ceux mutés pour *KRAS* (n=32) [19].

2. Biomarqueur prédictif de réponse aux chimiothérapies

Les tumeurs réarrangées *ROS1* semblent également avoir une meilleure réponse aux chimiothérapies, notamment au doublet à base de platine et pemetrexed [24]. Ainsi, dans l'étude EUCROSS (NCT02183870), les taux de réponse observés étaient de 64,3% quel que soit le protocole de chimiothérapie, et les taux de contrôle de la maladie de 85,7% [19].

L'étude EUROS1 a également évalué la sensibilité au pemetrexed, compte tenu des analogies avec les tumeurs réarrangées ALK [25]). Les taux de réponse partielle étaient de 57,7%, et la survie sans progression (SSP) médiane de 7,2 mois (IC95 : 4,8-9,6 mois) chez 32 patients ce qui semble indiquer également une bonne activité du pemetrexed dans les tumeurs réarrangées *ROS1*. Compte-tenu du faible nombre de patients dans chacune de ces études, aucune recommandation ne peut être émise sur le protocole optimal de chimiothérapie dans ce type de tumeurs.

3. Biomarqueur prédictif de réponse au crizotinib

Les réarrangements de *ROS1* sont prédictifs de l'efficacité de certains ITK [19]. Le crizotinib cible ALK mais aussi plus de 10 kinases dont *ROS1*, *RON* et *MET* [17, 26]. Ce traitement, approuvé dans le traitement des tumeurs réarrangées ALK, est efficace dans les tumeurs réarrangées *ROS1*.

Dans la cohorte *ROS1* de l'essai PROFILE 1001 (n=50), les taux de réponse objective observés étaient de 72% (Figures 4A et 4B) [27, 28]. La durée médiane de réponse était de 17,6 mois et la SSP de 19,2 mois. La tolérance était correcte, avec majoritairement des toxicités de grades 1 et 2 (94%), à type d'altérations visuelles (82%), de diarrhées (44%), de nausées (40%), et d'œdèmes périphériques (40%).

Il n'y a pas eu d'effets indésirables de grades 4 ou 5, et un seul patient a dû arrêter le traitement du fait de nausées importantes.

Dans une cohorte caucasienne Européenne (étude EUROS1) ayant inclus 31 patients réarrangés *ROS1*, dont 68% en deuxième ligne et au-delà, le taux de réponse objective était de 80% et le taux de contrôle de la maladie de 86,7% (Figures 4C et 4D) [25]. La SSP médiane de 9,2 mois était plus courte que celle de l'étude PROFILE 1001, peut-être du fait d'une population de malades plus lourdement traités, et ayant plus de métastases cérébrales. En revanche, les différents variants de *ROS1* semblaient être associés à une sensibilité équivalente au crizotinib.

Dans l'étude française AcSé, rapportée en 2015 lors de la World Conference on Lung Cancer (WCLC), les 39 patients étaient également lourdement pré-traités, avec un nombre médian de lignes de traitement de 2, mais pouvant aller jusqu'à 12. Les taux de réponse observés étaient de 59%, et les taux de contrôle de la maladie était de 85% [29]. La SSP était de 9,1 mois, du même ordre que celle d'EUROS1. La médiane de survie globale n'est pas encore atteinte, mais dépassait les 12 mois [30].

A l'American Society of Clinical Oncology (ASCO) en 2016, dans une population asiatique de 127 patients traités par crizotinib, les taux de réponse étaient de 69%, dont 11% de réponses complètes, et la durée médiane de réponse de 7,8 mois [31]. La tolérance était bonne, et aucun décès toxique n'a été rapporté.

Le crizotinib semble donc être le traitement de choix des tumeurs réarrangées *ROS1*. L'essai PROFILE 1001 a permis à la molécule d'obtenir une autorisation de la part de la Food and Drug Administration (FDA) pour son utilisation dans cette indication en 2016 [27]. En France, les autorités ont anticipé la décision européenne en proposant une recommandation temporaire d'utilisation dès mars 2016. Depuis, la molécule a obtenu le 31 août 2016 une extension d'indication dans le traitement du CBPNC avancé *ROS1* positif.

4. Prise en charge des résistances au crizotinib

De manière comparable à ce qui a pu être observé dans les tumeurs mutées EGFR ou réarrangées ALK, des résistances au crizotinib ont déjà été identifiées, sous forme de mutations acquises du domaine kinase du récepteur *ROS1*, telles que les mutations G2032R (c.6095G->A) ou L2155S (c.6464T->C) [32, 33]. La mutation G2032R est une altération analogue à la mutation G1202R, présente chez les patients réarrangés ALK et résistants au crizotinib. De nouvelles molécules sont disponibles. Ainsi, le ceritinib a montré des taux de réponse de 63% avec des durées médianes de réponse de 10 mois dans une étude coréenne présentée à l'European Society for Medical Oncology (ESMO) 2016 et portant sur 32 patients [34]. D'autres molécules sont encore en développement pour cibler ces résistances, telles que le lorlatinib, le brigatinib, le cabozantinib et l'entrectinib.

D'autres mécanismes de résistance ont pu être observés, essentiellement décrits *in vitro*. Tout d'abord, les activations des kinases d'aval telles que celles induites par les mutations des gènes de la famille *RAS* qui ont été confirmées *in vivo* sur des échantillons tumoraux [35]. De plus, les activations de voies

parallèles, dont la voie EGFR, ont également été rapportées *in vitro* [36]. Dans un modèle cellulaire, l'activation de la voie EGFR s'associe à une perte de l'expression de la protéine ROS1 réarrangée, et induit une sensibilisation aux thérapies ciblant EGFR, telles que le gefitinib. Enfin, comme c'est le cas dans les tumeurs mutées EGFR, un phénomène de transition épithélio-mésenchymateuse peut survenir, associé à une diminution de l'expression de la E-cadhérine, et une augmentation de la vimentine *in vitro* [33].

CONCLUSION

Les anomalies de ROS1 ne concernent qu'un faible pourcentage de patients atteints d'un CBNPC, mais constituent une anomalie driver, ce qui en fait une cible thérapeutique majeure. A partir d'études de phase II et malgré les petits effectifs, le crizotinib a obtenu son AMM chez les patients atteints d'un CBNPC ROS1-positif à un stade avancé, selon les modalités de prescription résumées dans le Tableau 1. Des études complémentaires sont maintenant nécessaires en raison de l'émergence de clones résistants, concernant les molécules et les stratégies thérapeutiques optimales.

BIBLIOGRAPHIE

- [1]. Cui JJ, Tran-Dubé M, Shen H, Nambu M, Kung P-P, Pairish M, et al. Structure based drug design of crizotinib (PF-02341066), a potent and selective dual inhibitor of mesenchymal-epithelial transition factor (c-MET) kinase and anaplastic lymphoma kinase (ALK). *J Med Chem.* 2011;54(18):6342- 63.
- [2]. Chin LP, Soo RA, Soong R, Ou S-HI. Targeting ROS1 with anaplastic lymphoma kinase inhibitors: a promising therapeutic strategy for a newly defined molecular subset of non-small-cell lung cancer. *J Thorac Oncol.* 2012;7(11):1625- 30.
- [3]. Acquaviva J, Wong R, Charest A. The multifaceted roles of the receptor tyrosine kinase ROS in development and cancer. *Biochim Biophys Acta.* 2009;1795(1):37- 52.
- [4]. Sonnenberg-Riethmacher E, Walter B, Riethmacher D, Gödecke S, Birchmeier C. The c-ros tyrosine kinase receptor controls regionalization and differentiation of epithelial cells in the epididymis. *Genes Dev.* 1996;10(10):1184- 93.
- [5]. Jurmeister P, Lenze D, Berg E, Mende S, Schäper F, Kellner U, et al. Parallel screening for ALK, MET and ROS1 alterations in non-small cell lung cancer with implications for daily routine testing. *Lung Cancer.* 2015;87(2):122- 9.
- [6]. Jin Y, Sun P-L, Kim H, Park E, Shim HS, Jheon S, et al. ROS1 gene rearrangement and copy number gain in non-small cell lung cancer. *Virchows Arch.* 2015;466(1):45- 52.
- [7]. Birchmeier C, Sharma S, Wigler M. Expression and rearrangement of the ROS1 gene in human glioblastoma cells. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1987;84(24):9270- 4.
- [8]. Charest A, Wilker EW, McLaughlin ME, Lane K, Gowda R, Coven S, et al. ROS fusion tyrosine kinase activates a SH2 domain-containing phosphatase-2/phosphatidylinositol 3-kinase/mammalian target of rapamycin signaling axis to form glioblastoma in mice. *Cancer Res.* 2006;66(15):7473- 81.

- [9]. Davies KD, Doebele RC. Molecular Pathways: ROS1 Fusion Proteins in Cancer. *Clin Cancer Res.* 2013;19(15):4040- 5.
- [10]. Rikova K, Guo A, Zeng Q, Possemato A, Yu J, Haack H, et al. Global Survey of Phosphotyrosine Signaling Identifies Oncogenic Kinases in Lung Cancer. *Cell.* 2007;131(6):1190- 203.
- [11]. Pan Y, Zhang Y, Li Y, Hu H, Wang L, Li H, et al. ALK, ROS1 and RET fusions in 1139 lung adenocarcinomas: a comprehensive study of common and fusion pattern-specific clinicopathologic, histologic and cytologic features. *Lung Cancer.* 2014;84(2):121- 6.
- [12]. Lee SE, Lee B, Hong M, Song J-Y, Jung K, Lira ME, et al. Comprehensive analysis of RET and ROS1 rearrangement in lung adenocarcinoma. *Mod Pathol.* 2015;28(4):468- 79.
- [13]. Mescam-Mancini L, Lantuéjoul S, Moro-Sibilot D, Rouquette I, Souquet P-J, Audigier-Valette C, et al. On the relevance of a testing algorithm for the detection of ROS1-rearranged lung adenocarcinomas. *Lung Cancer.* 2014;83(2):168- 73.
- [14]. Takeuchi K, Soda M, Togashi Y, Suzuki R, Sakata S, Hatano S, et al. RET, ROS1 and ALK fusions in lung cancer. *Nat Med.* 2012;18(3):378- 81.
- [15]. El-Deeb IM, Yoo KH, Lee SH. ROS receptor tyrosine kinase: a new potential target for anticancer drugs. *Med Res Rev.* 2011;31(5):794- 818.
- [16]. Gu T-L, Deng X, Huang F, Tucker M, Crosby K, Rimkunas V, et al. Survey of tyrosine kinase signaling reveals ROS kinase fusions in human cholangiocarcinoma. *PloS One.* 2011;6(1):e15640.
- [17]. Bergethson K, Shaw AT, Ignatius Ou S-H, Katayama R, Lovly CM, McDonald NT, et al. ROS1 Rearrangements Define a Unique Molecular Class of Lung Cancers. *J Clin Oncol.* 2012;30(8):863- 70.
- [18]. Davies KD, Le AT, Theodoro MF, Skokan MC, Aisner DL, Berge EM, et al. Identifying and Targeting ROS1 Gene Fusions in Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res.* 2012;18(17):4570- 9.
- [19]. Scheffler M, Schultheis A, Teixido C, Michels S, Morales-Espinosa D, Viteri S, et al. ROS1 rearrangements in lung adenocarcinoma: prognostic impact, therapeutic options and genetic variability. *Oncotarget.* 2015;6(12):10577- 85.
- [20]. Cao B, Wei P, Liu Z, Bi R, Lu Y, Zhang L, et al. Detection of lung adenocarcinoma with ROS1 rearrangement by IHC, FISH, and RT-PCR and analysis of its clinicopathologic features. *OncoTargets Ther.* 2015;9:131- 8.
- [21]. Rogers T-M, Russell PA, Wright G, Wainer Z, Pang J-M, Henricksen LA, et al. Comparison of Methods in the Detection of ALK and ROS1 Rearrangements in Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2015;10(4):611- 8.
- [22]. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, Dietel M, Elmberger G, Kerr K, et al. Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch.* 2016;469(5):489- 503.
- [23]. Bubendorf L, Büttner R, Al-Dayel F, Dietel M, Elmberger G, Kerr K, et al. Testing for ROS1 in non-small cell lung cancer: a review with recommendations. *Virchows Arch.* 2016;1- 15.
- [24]. Riess JW, Padda SK, Bangs CD, Das M, Neal JW, Adrouny AR, et al. A case series of lengthy progression-free survival with pemetrexed-containing therapy in metastatic non--small-cell lung cancer patients harboring ROS1 gene rearrangements. *Clin Lung Cancer.* 2013;14(5):592- 5.

- [25]. Mazières J, Zalcman G, Crinò L, Biondani P, Barlesi F, Filleron T, et al. Crizotinib therapy for advanced lung adenocarcinoma and a ROS1 rearrangement: results from the EUROS1 cohort. *J Clin Oncol*. 2015;33(9):992- 9.
- [26]. Zou HY, Li Q, Lee JH, Arango ME, McDonnell SR, Yamazaki S, et al. An orally available small-molecule inhibitor of c-Met, PF-2341066, exhibits cytoreductive antitumor efficacy through antiproliferative and antiangiogenic mechanisms. *Cancer Res*. 2007;67(9):4408- 17.
- [27]. Shaw AT, Ou S-HI, Bang Y-J, Camidge DR, Solomon BJ, Salgia R, et al. Crizotinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2014;371(21):1963- 71.
- [28]. Kazandjian D, Blumenthal GM, Luo L, He K, Fran I, Lemery S, et al. Benefit-Risk Summary of Crizotinib for the Treatment of Patients With ROS1 Alteration-Positive, Metastatic Non-Small Cell Lung Cancer. *The Oncologist*. 2016;21(8):974-980.
- [29]. Moro-Sibilot D, Faivre L, Zalcman G, Perol M, Barlesi F, Otto J, et al. Crizotinib in patients with advanced ROS1-rearranged non-small cell lung cancer (NSCLC). Preliminary results of the ACSe phase II trial. *ASCO Meet Abstr*. 2015;33(15_suppl):8065.
- [30]. Moro-Sibilot D, Faivre L, Zalcman G, Pérol M, Barlesi F, Otto J, et al. Crizotinib in patients with ROS1 NSCLC. Preliminary results of the AcSé trial. *WCLC Abstr*. 2015;10(2_suppl):S65.
- [31]. Goto K, Yang JC-H, Kim D-W, Lu S, Seto T, Yang J-J, et al. Phase II study of crizotinib in east Asian patients (pts) with ROS1-positive advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). *ASCO Meet Abstr*. 2016;34(15_suppl):9022.
- [32]. Awad MM, Katayama R, McTigue M, Liu W, Deng Y-L, Brooun A, et al. Acquired resistance to crizotinib from a mutation in CD74-ROS1. *N Engl J Med*. 2013;368(25):2395- 401.
- [33]. Song A, Kim TM, Kim D-W, Kim S, Keam B, Lee S-H, et al. Molecular Changes Associated with Acquired Resistance to Crizotinib in ROS1-Rearranged Non-Small Cell Lung Cancer. *Clin Cancer Res*. 2015;21(10):2379- 87.
- [34]. Lim SM, Cho BC, Kim HR, Lee JS. Ceritinib in ROS1-rearranged non-small-cell lung cancer: a Korean nationwide phase II study. *ESMO Abstr*. 2016;(Abstr 1205PD).
- [35]. Cargnelutti M, Corso S, Pergolizzi M, Mévellec L, Aisner DL, Dziadziuszko R, et al. Activation of RAS family members confers resistance to ROS1 targeting drugs. *Oncotarget*. 2015;6(7):5182- 94.
- [36]. Davies KD, Mahale S, Astling DP, Aisner DL, Le AT, Hinz TK, et al. Resistance to ROS1 inhibition mediated by EGFR pathway activation in non-small cell lung cancer. *PloS One*. 2013;8(12):e82236.

Figures

Figure 1 : Voies de signalisation de la protéine de fusion ROS1

Figure 2 :

A : Réarrangement ROS1 en FISH par technique de « break apart »

En présence de la translocation, les 2 signaux (vert et rouge) sont séparés et bien distincts. En l'absence d'anomalie, le signal apparaît blanc du fait de la superposition des 2 signaux (vert et rouge).

B : Evaluation de l'expression de la protéine ROS1 en immunohistochimie (clone D4D6 Cell Signaling)

Figure 3 : Algorithme diagnostique du réarrangement de ROS1

Figure 4 :

Réponses et survies sans progression (SSP) observées dans la cohorte EUROS1 [25] (A et B respectivement).

**Figure 1 : Voies de signalisation de la protéine de fusion ROS1
(d'après ⁹)**

F : partenaire de fusion (*SLC34A2*,
CD74, *SDC4*, *TPM3*, *EZR*, *LRIG3*...)
TM : domaine transmembranaire
TK : domaine tyrosine kinase

Figure 2 :
A : Réarrangement *ROS1* en FISH par technique de « break apart »
En présence de la translocation, les 2 signaux (vert et rouge) sont séparés et bien distincts. En l'absence d'anomalie, le signal apparaît blanc du fait de la superposition des 2 signaux (vert et rouge).

B : Evaluation de l'expression de la protéine ROS1 en immunohistochimie (clone D4D6 Cell Signaling)

Figure 3 : Algorithme diagnostic du réarrangement de ROS1

B : Survie sans progression (SSP) dans la cohorte EUROS1 [25]