



HAL
open science

Titre: Cholangiocarcinomes avancés et gènes de fusion

Léo Mas, Alexandre Perrier, Florence Coulet, Jean-Baptiste Bachet

► **To cite this version:**

Léo Mas, Alexandre Perrier, Florence Coulet, Jean-Baptiste Bachet. Titre: Cholangiocarcinomes avancés et gènes de fusion. Bulletin du Cancer, 2022, 109 (11), pp.11S28-11S34. 10.1016/S0007-4551(22)00466-0 . hal-04211084

HAL Id: hal-04211084

<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-04211084>

Submitted on 19 Sep 2023

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Titre : Cholangiocarcinomes avancés et gènes de fusion

Title: Advanced cholangiocarcinoma and gene fusions

Auteurs : Léo Mas*¹, Alexandre Perrier*², Florence Coulet², Jean-Baptiste Bachet¹

Affiliations

*Co-premiers auteurs

¹ Sorbonne Université, AP-HP, service d'Hépatogastroentérologie et Oncologie digestive, Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France

² Sorbonne Université, AP-HP, Département de Génétique Médicale, Hôpital Universitaire Pitié-Salpêtrière, 75013 Paris, France

Correspondant :

Docteur Léo Mas,

Service d'Hépatogastroentérologie et Oncologie digestive, Hôpital Pitié Salpêtrière, APHP, 47-83, boulevard de l'Hôpital – 75013 Paris.

Secrétariat : Téléphone 01 42 16 10 41 Fax 01 42 16 12 38 ; Email : leo.mas@aphp.fr

Mots clés : Cholangiocarcinome avancé, gènes de fusion, FGFR2, pemigatinib, infigratinib

Key words: Advanced cholangiocarcinoma, gene fusions, FGFR2, pemigatinib, infigratinib

RESUME

Les cholangiocarcinomes (CCA) sont des tumeurs digestives rares divisées en CCA intrahépatiques (iCCA), péri-hilaires (pCCA) et distaux (dCCA). Ces tumeurs sont diagnostiquées le plus souvent au stade avancé non résecable ou métastatique et associées à un pronostic sombre. L'identification ces dernières années de multiples altérations moléculaires d'intérêt, dans les iCCA notamment, a néanmoins permis le développement de nouvelles options thérapeutiques ciblées pour une proportion significative de patients. Les gènes de fusion font partie des altérations les plus fréquentes, impliquant notamment le gène *FGFR2* dans 10-15% des iCCA ainsi que les gènes *NTRK* à une fréquence moindre (<1%). Le diagnostic de ce type d'altération nécessite une analyse dédiée, le plus souvent basée sur l'ARN en pratique courante. Trois inhibiteurs des FGFRs, le pemigatinib, l'infigratinib et le futibatnib, ont récemment été approuvés par la FDA chez les patients prétraités. Ces molécules sont actuellement évaluées en première ligne dans plusieurs essais de phase III. Des résultats prometteurs ont également été rapportés avec certains inhibiteurs de nouvelle génération comme le RLY-4008 qui pourrait constituer prochainement une nouvelle option thérapeutique. En cas de fusion de *NTRK*, le larotrectinib et l'entrectinib ont également démontré leur efficacité. Les objectifs de cette synthèse sont de préciser les modalités diagnostiques spécifiques des gènes de fusion et de résumer les résultats des principaux essais et développements en cours pour la prise en charge des CCA avancés porteurs de gènes fusions.

ABSTRACT

Cholangiocarcinomas (CCAs) are rare digestive tumors classified as intrahepatic (iCCA), perihilar (pCCA), and distal (dCCA) CCAs. These tumors are most often diagnosed at an advanced stage, unresectable or metastatic, and associated with a poor prognosis. The identification in recent years of multiple molecular alterations of interest, particularly in iCCA, has nevertheless allowed the development of new targeted therapeutic options for a significant proportion of patients. Gene fusions are among the most frequent alterations, involving *FGFR2* in 10-15% of iCCAs in particular, and *NTRK* genes at a lower frequency (<1%). A dedicated analysis, most often based on RNA sequencing, is required to identify such alterations. Three FGFR inhibitors, pemigatinib, infigratinib and futinatinib, have recently received FDA approval for use in pre-treated patients. These compounds are currently being evaluated as first-line therapy in several phase III trials. Promising results have also been reported with new-generation inhibitors such as RLY-4008, which may soon constitute new therapeutic options. In the case of *NTRK* fusion, larotrectinib and entrectinib have also demonstrated their efficacy. The objectives of this review are to clarify the specific diagnostic modalities for gene fusions and to summarize the results of the main trials and developments underway for the management of advanced CCA with gene fusions.

1 **Introduction**

2 Les cholangiocarcinomes (CCA) sont des tumeurs rares, représentant 3% des cancers
3 digestifs, et développées à partir des cellules épithéliales de l'arbre biliaire. Ces tumeurs sont
4 classées selon leur localisation anatomique en CCA intra-hépatiques (iCCA), situés en amont
5 de la deuxième division biliaire, CCA péri-hilaires (pCCA ou tumeur de Klatskin), situés au
6 niveau des canaux hépatiques droit ou gauche et jusqu'à la jonction du canal cystique et du
7 canal hépatique commun, et CCA distaux (dCCA) atteignant la voie biliaire principale en aval
8 (1). Cette classification anatomique est associée à des facteurs de risques, caractéristiques
9 cliniques et profils moléculaires distincts (2). Le pronostic de ces patients reste sombre avec
10 une survie à 5 ans inférieure à 20% tous stades confondus (3). Une prise en charge
11 chirurgicale suivie d'une chimiothérapie adjuvante par capecitabine représente le traitement
12 standard des formes localisées et le seul potentiellement curatif, mais n'est envisageable que
13 pour environ 30% des patients et associé à une survie à 5 ans de l'ordre de 40% (2,4-7). En
14 cas de maladie localement avancée non résécable ou métastatique, la chimiothérapie
15 systémique permet une survie médiane de l'ordre de 10-12 mois, l'association gemcitabine-
16 cisplatine étant le standard de première ligne (8,9). En deuxième ligne, le FOLFOX dont le
17 bénéfice a été démontré par l'essai de phase III ABC-06 représente le traitement de référence,
18 le FOLFIRI pouvant être considéré comme une alternative bien qu'avec un niveau de preuve
19 moins élevé (10,11).

20 Cependant, l'identification de différentes cibles moléculaires au cours des dernières
21 années a permis l'émergence de nouvelles options thérapeutiques ciblées pour un nombre
22 significatif de patients, entraînant un changement rapide de l'algorithme de prise en charge du
23 CCA avancé (12). De nombreuses analyses multi-omiques ont permis de mettre en évidence
24 la présence d'anomalies moléculaires potentiellement ciblables chez 30 à 50% des patients
25 (13-18). Des mutations ou amplifications de gènes d'intérêt ont ainsi été identifiées, les

26 mutations de l'isocitrate déshydrogénase 1 (*IDH1*) étant les plus fréquentes (15-20% des
27 iCCA), ainsi que les amplifications du gène *HER2* (*human epidermal growth factor 2*)
28 retrouvées principalement dans les CCA extra-hépatiques (environ 15%) mais également dans
29 les iCCA à une fréquence moindre (15,19–21). Les mutations de *BRAF* et l'instabilité
30 microsatellitaire représentent des altérations plus rares (<5%) retrouvées dans tous les sous-
31 types de CCA (22). Parmi les altérations associées à de nouvelles opportunités thérapeutiques
32 et détaillées dans cette mise au point, figurent également les gènes de fusion impliquant
33 notamment le gène *FGFR2* (*fibroblast growth factor receptor 2*), mis en évidence dans 10-
34 15% des iCCA, ainsi que les plus rares fusions de *NTRK* (<1%) (15,22–24). Ainsi, le
35 profilage moléculaire des CCA avancés est amené à prendre une place incontournable pour la
36 prise en charge de ces patients et doit comporter à la fois une analyse basée sur l'ADN à la
37 recherche des mutations et amplifications sus-citées, mais également une analyse spécifique,
38 le plus souvent basée sur l'ARN en pratique courante, à la recherche de gènes de fusion.

39

40 **Gènes de fusion : modalités diagnostiques**

41 Les gènes de fusion correspondent à des gènes hybrides constitués de la juxtaposition
42 de deux gènes normalement distincts et formés à la suite d'évènements de réarrangements
43 chromosomiques. Historiquement, l'immunohistochimie (IHC) a été utilisée pour la recherche
44 de fusions d'intérêt à l'aide d'anticorps spécifiques, celles-ci pouvant être détectées si le
45 réarrangement conduit à une expression accrue de la protéine dans les cellules tumorales par
46 rapport au tissu sain. L'IHC est cependant limitée par une faible sensibilité pour la majorité
47 des fusions recherchées, et aucune technique robuste par IHC n'a été validée à ce jour pour la
48 détection des fusions *FGFR2*. L'hybridation in situ en fluorescence (FISH) a été longtemps
49 considérée comme la méthode « gold standard » pour la détection des fusions. Cette technique

50 de biologie moléculaire utilise des sondes fluorescentes d'ADN de couleur différente et
51 complémentaires à des loci physiquement proches. En cas de translocation, la distance entre
52 les sondes augmentant, les signaux fluorescents se séparent alors qu'ils sont étroitement
53 rapprochés en temps normal. Utilisable sur tissu FFPE (tissu fixé au formol et inclus en
54 paraffine), cette technique est cependant relativement coûteuse et demande une expertise
55 médicale spécifique. En outre, la résolution peut être faible et les réarrangements complexes
56 peuvent être difficilement détectables. Dans le cas de réarrangements intrachromosomiques,
57 qui représentent environ 50% des cas de fusions *FGFR2* dans les iCCA, ceux-ci peuvent être
58 difficilement observables si la distance entre les sondes après réarrangement reste trop courte,
59 conduisant à des résultats faussement négatifs (25). Aujourd'hui, la FISH est surtout utilisée
60 pour confirmer secondairement une altération détectée par IHC.

61 L'essor du séquençage de nouvelle génération (NGS pour « Next Generation
62 Sequencing ») a permis le développement de nouvelles techniques de détection des fusions,
63 basées sur l'analyse de l'ADN ou de l'ARN, et l'identification de la grande majorité des
64 gènes de fusion décrits à ce jour (26). Le séquençage du génome entier (WGS) permet ainsi
65 d'identifier un grand nombre de réarrangements, y compris au niveau des régions non
66 codantes du génome, et de mettre en évidence de nouvelles fusions inconnues au préalable. Le
67 WGS reste néanmoins coûteux et demande des ressources et un temps d'analyse bio-
68 informatique conséquents. En comparaison, les tests basés sur l'ARN (transcriptomiques) sont
69 plus simples et plus sensibles car ils permettent de limiter l'analyse aux seuls réarrangements
70 conduisant à des transcrits. Le séquençage du transcriptome (totalité des transcrits du
71 génome) est donc la méthode de choix pour caractériser de nouvelles fusions, mais présente
72 les mêmes limitations concernant les coûts associés pour l'application en routine clinique.

73 Pour répondre à ces problématiques de coûts associées aux analyses du
74 génome/transcriptome entier et la nécessité d'une profondeur et d'une couverture optimales,

75 un certain nombre de panels ciblés commerciaux ont été développés et permettent d’explorer
76 un nombre défini de gènes d’intérêt (Table 1). Ces panels ciblés utilisent le séquençage de
77 l’ADN et/ou de l’ARN associé à différentes techniques de préparation des bibliothèques, à savoir
78 les méthodes d’enrichissement basées sur les amplicons, la capture par hybridation ou la PCR
79 multiplex ancrée (Tableau 1).

80 **Tableau 1.** Exemples de tests commerciaux ciblés permettant la détection des
81 fusions/réarrangements dont ceux de *FGFR1/2/3*.

| Type de Technologie | Kit commercial | Type de tissu | Acide nucléique utilisé | Nombre de gènes analysés pour réarrangements * |
|-------------------------------|---|------------------------------|-------------------------|--|
| NGS - amplicons | Oncomine® Comprehensive Assay v3M (ThermoFisher®) | FFPE | ADN/ARN | 51 dont <i>FGFR1/2/3</i> |
| | Oncomine® Focus Assay (ThermoFisher®) | FFPE | ADN/ARN | 23 dont <i>FGFR1/2/3</i> |
| | AmpliSeq® for Illumina® Focus Panel (Illumina®) | FFPE | ADN/ARN | 23 dont <i>FGFR1/2/3</i> |
| NGS - capture par hybridation | FoundationOne® CDx (Roche®) | FFPE | ADN | 36 dont <i>FGFR1/2/3</i> |
| | TruSight® Oncology 500 (Illumina®) / | FFPE | ADN/ARN | 55 dont <i>FGFR1/2/3</i> |
| | TruSight® Tumor 170 (Illumina®) | FFPE | ADN/ARN | 55 dont <i>FGFR1/2/3</i> |
| NGS - PCR multiplex ancrée | Archer® FusionPlex® Oncology Research Kit (ArcherDX®) | Tissu frais, congelé et FFPE | ARN | 74 dont <i>FGFR1/2/3</i> |
| | Archer® FusionPlex® Pan Solid Tumor v2 (ArcherDX®) | Tissu frais, congelé et FFPE | ARN | 130 dont <i>FGFR1/2/3</i> |

82 * : comprend fusions, altérations d’épissage et sauts d’exon

83 L'enrichissement basé sur les amplicons est réalisé grâce à des amorces spécifiques
84 des gènes et partenaires de fusion connus et débute par une PCR multiplex pour chaque
85 échantillon. Cette technique a pour avantages de pouvoir détecter des fusions avec un très
86 faible apport en matériel (≥ 10 ng d'ADN ou ARN), particulièrement intéressant avec des
87 prélèvements tumoraux dégradés en FFPE ainsi qu'une certaine simplicité technique et
88 d'analyse. Cependant, les méthodes basées sur les amplicons limitent la découverte de
89 nouvelles fusions, sans connaissance préalable des partenaires potentiels. L'enrichissement
90 par capture, quant à lui, utilise des sondes complémentaires aux régions cibles plus longues
91 que les amorces PCR (généralement d'une centaine de bases) conçues de façon à se
92 chevaucher afin qu'une même base soit capturée par plusieurs sondes différentes permettant
93 de séquencer les régions d'intérêt et flanquantes. Cette technique est plus exhaustive dans la
94 détection des altérations que les méthodes basées sur les amplicons, même si des difficultés
95 peuvent être rencontrées en cas d'introns de grande longueur. Une technique de séquençage
96 récemment développée pour l'ARN est la PCR multiplex ancrée (AMP) qui utilise des
97 amorces « ancrées » spécifiques d'un gène d'intérêt et des amorces inverses universelles
98 (complémentaires aux adaptateurs) et nécessite seulement la connaissance d'une seule des
99 extrémités (technologie Archer® FusionPlex® par exemple). Ainsi, la technique par AMP
100 permet d'identifier des fusions de gènes quel que soit le partenaire de fusion même s'ils ne
101 sont pas décrits à ce jour. D'autres méthodes sont basées sur le déséquilibre d'expression entre
102 les régions 5' et 3' des transcrits d'intérêt (technologie Nanostring® par exemple) et
103 permettent aussi de détecter des partenaires de fusion connus ou non à ce jour.

104 Concernant le choix du type d'acide nucléique, l'ARN présente plusieurs avantages
105 par rapport à l'ADN malgré la plus grande stabilité de celui-ci notamment en cas
106 d'échantillons FFPE. Les méthodes basées sur l'ARN permettent de distinguer les fusions de
107 gènes qui sont transcrites et dans le cadre de lecture, de celles qui ne le sont pas, et de

108 s'affranchir des difficultés de séquençage de grandes régions introniques qui peut s'avérer un
109 écueil majeur notamment pour les panels ciblés. En outre, le séquençage basé sur l'ARN, où
110 seules les régions exoniques sont séquencées, permet d'obtenir une couverture et une
111 profondeur de séquençage plus importante que l'ADN pour un même nombre d'échantillons.
112 Enfin, en cas d'événements de fusion, l'expression de l'ARN est souvent plus élevée qu'avec
113 un test basé sur l'ADN et donc les tests basés sur l'ARN sont généralement plus sensibles et
114 simples dans leur interprétation même si leur sensibilité dépend du niveau d'expression de la
115 fusion. En pratique de soins courants, la recherche de gènes de fusions est donc
116 majoritairement réalisée à l'aide de panels ciblés et par une analyse basée sur l'ARN.

117 De nouvelles perspectives de détection des fusions s'annoncent dans les années à
118 venir. Tout d'abord, les techniques d'extraction et de séquençage NGS spécifiques à l'analyse
119 de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) et de l'ARN tumoral circulant (ARNtc) issus de
120 prélèvements non invasifs et rapides comme les biopsies liquides sanguines ou d'autres
121 fluides biologiques peuvent être utilisées pour la détection des fusions y compris celles de
122 *FGFR2*, même si la sensibilité est encore moindre par rapport à un échantillon tissulaire
123 (18,27). Cette démarche pourrait s'inscrire de plus en plus dans la prise en charge du patient,
124 au moment du diagnostic notamment en cas d'inaccessibilité d'une biopsie tumorale, dans le
125 cadre du suivi, de la recherche de mutations de résistance et de nouvelles cibles
126 thérapeutiques et même de la détection précoce (28). Enfin, les techniques de séquençage
127 « *long reads* » (technologies Nanopore®, PacBio® par exemple) utilisées sur le transcriptome
128 permettront une caractérisation optimale des fusions avec leur structure isoforme entièrement
129 séquencée même si le caractère onéreux est encore un frein pour leur utilisation en routine
130 clinique à ce jour.

132 Fusions de *FGFR2* et CCA avancé

133 FGFR2 fait partie d'une famille de 4 récepteurs de tyrosine kinase (FGFR1 à 4)
134 impliqués dans divers processus cellulaires physiologiques via plusieurs cascades de
135 signalisation, telles que PI3K-AKT ou RAS-MAPK, activées en présence de leurs ligands
136 (29). Des altérations oncogéniques de cette famille (amplifications, réarrangements, fusions,
137 mutations..) sont mises en évidence dans 7% de l'ensemble des tumeurs solides et associées à
138 une signalisation FGFR anormalement activée favorisant entre autres la prolifération
139 cellulaire, l'angiogénèse et l'échappement immunitaire tumoral (29,30). Les altérations de
140 *FGFR* mises en évidence dans les CCA sont principalement représentées par les fusions
141 impliquant *FGFR2*, associé à divers partenaires dont le plus fréquent est *BICCI* (près de 30%
142 des cas), retrouvées dans 10-15% des iCCA notamment (2,13,15,17,24,25). Les iCCA avec
143 fusion de *FGFR2* ont été rapportés comme associés au sexe féminin, à un âge plus jeune, ainsi
144 qu'à la présence de mutations concomitantes de *BAP1* (12,25). Un pronostic favorable associé
145 aux altérations de *FGFR* a également été rapporté en l'absence de traitement spécifique (31).
146 Dans une large cohorte rétrospective, la survie médiane était de 24,9 mois vs 14,8 mois pour
147 les patients atteints d'iCCA avec et sans altération de *FGFR2/3*, respectivement (32).

148 Plusieurs inhibiteurs compétitifs de tyrosine kinase spécifiques des FGFRs ont été
149 développés ces dernières années dont deux molécules orales ciblant FGFR 1 à 3, le
150 pemigatinib et l'infigratinib, ont récemment obtenu une autorisation d'utilisation par la FDA
151 (*Food and Drug Administration*) (33,34). Le pemigatinib en monothérapie a été évalué dans
152 l'essai multicentrique de phase II FIGHT-102 démontrant un taux de réponse objective (TRO)
153 de 37%, dont 2,8% de réponses complètes (RC), dans une cohorte de 108 patients atteints de
154 CCA pré traités avec fusion ou réarrangement de *FGFR2* (métastatique : 82%, 3^e ligne ou
155 plus : 39%) (35,36). Une stabilité tumorale était obtenue chez 47% des patients, soit un taux
156 de contrôle tumoral de 82%. Les durées médianes de réponse et de survie sans progression

157 (SSP) étaient de 9,1 mois et 7,0 mois, respectivement. Le bénéfice significatif de
158 l'infigratinib, ensuite, a été démontré dans un essai de phase II évaluant cette molécule en
159 monothérapie dans une population comparable (métastatique : 99%, en 3^e ligne ou plus :
160 54%) (37). Le TRO était de 23%, dont une RC (1%), avec une durée médiane de réponse de 5
161 mois. Les SSP et survie globales (SG) médianes étaient de 7,3 mois et 12,2 mois,
162 respectivement. Les principaux résultats des essais évaluant les inhibiteurs de FGFR sont
163 synthétisés dans le tableau 2.

164 Le profil de tolérance était comparable entre ces deux études avec comme effet
165 indésirable (EI) le plus fréquent une hyperphosphatémie observée chez 60-70% des patients,
166 rarement symptomatique et contrôlée avec des mesures diététiques et des chélateurs du
167 phosphate (35–37). Une toxicité oculaire, spécifique de l'inhibition de FGFR, était observée
168 chez 4-17% des patients (dont 1% de grade ≥ 3). Des EI de grade ≥ 3 étaient observés chez 56-
169 64% des patients, principalement représentés par des cas d'hypophosphatémie (environ 10%),
170 stomatite, arthralgies, hyponatrémie et fatigue. Des EI conduisant à l'arrêt du traitement
171 étaient rapportés chez 9-15% des patients (35–37).

172 Ces données ont conduit à l'autorisation d'utilisation du pemigatinib par la FDA en
173 Avril 2020 (suivie d'une AMM européenne conditionnelle en Février 2021) puis de
174 l'infigratinib en Mai 2021 pour le traitement des patients atteints de CCA avancés pré traités
175 avec fusion ou réarrangement de *FGFR2* (33,38). Ces molécules sont par ailleurs en cours
176 d'évaluation en première ligne dans deux essais de phase III en comparaison au standard
177 gemcitabine-cisplatine (Essai FIGHT-302 NCT03656536 pour le pemigatinib, essai PROOF
178 NCT03773302 pour l'infigratinib).

179 Malgré ces résultats positifs, le taux de réponse tumorale avec ces inhibiteurs reste
180 modeste, inférieur à 50%, et la résistance à ces traitements se développe rapidement

181 généralement en lien avec l'apparition de mutations secondaires du domaine kinase de
182 *FGFR2* empêchant la fixation des inhibiteurs à ce niveau (39,40). Ainsi, d'autres inhibiteurs
183 de nouvelle génération ont été développés dont le futibatinib (TAS-120), un inhibiteur de
184 tyrosine kinase irréversible ciblant FGFR1-4, approuvé par la FDA en septembre 2022
185 compte tenu des résultats préliminaires de l'étude FOENIX-CCA2, récemment confirmés
186 après un suivi étendu (41–43). Dans cet essai de phase II ayant inclus 103 patients, le
187 futibatinib était associé à un TRO de 42% et un taux de contrôle tumoral de 82,5%, une SSP
188 médiane de 8,9 mois et une durée de réponse médiane de 9,5 mois. 74% des réponses étaient
189 maintenues plus de 6 mois, et la SG médiane était de 20 mois (41,42). A nouveau,
190 l'hyperphosphatémie était l'EI le plus fréquent, et le traitement était interrompu pour cause
191 d'EI lié au traitement chez seulement 4% des patients. Par ailleurs, l'efficacité du futibatinib
192 était similaire dans les sous-groupes de patients atteints de fusions de *FGFR* vs autres
193 réarrangements, que le partenaire de fusion soit *BICCI* ou autre. Cette molécule constitue
194 donc une nouvelle option thérapeutique chez ces patients, et est également en cours
195 d'évaluation en première ligne dans un essai de phase III (Essai FOENIXCCA3;
196 NCT04093362). Le futibatinib pourrait également se positionner comme traitement après
197 progression sous inhibiteurs de FGFR de première génération, une efficacité antitumorale
198 ayant été rapportée après progression sous pemigatinib (44,45).

199 **Tableau 2.** Résultats des principaux essais thérapeutiques évaluant des inhibiteurs de FGFRs
200 chez les patients atteints de CCA avancé pré traité.

| | N | Phase | Traitement | Cible | TCT | TRO (RC) | DR médiane | SSP médiane | SG médiane |
|-----------------------|-----|-------|--------------|--------------|-----|-------------|---------------|----------------|---------------|
| Vogel 2022 | 107 | II | Pemigatinib | FGFR 1-3 | 82 | 37 (3) | 9,1 | 7 | 17,5 |
| Javle 2021 | 108 | II | Infigratinib | FGFR 1-3 | 84 | 23 (1) | 5 | 7,3 | 12,2 |
| Goyal 2022 | 103 | II | Futibatinib | Pan- FGFR | 83 | 42 | 9,5 | 8,9 | 20 |

| | Hollebecque 2022 | 17 | I/II | RLY-4008 | Pan FGFR | 100 | 88 | 5,5* | NA | NA |
|--|---------------------|----|------|----------|-------------|-----|----|------|----|----|
|--|---------------------|----|------|----------|-------------|-----|----|------|----|----|

201 * données immatures (majorité des réponses en cours), NA : non atteinte, TCT : taux de contrôle tumoral, TRO :
 202 taux de réponse objective, RC : réponse complète, DR : durée de réponse, SSP : survie sans progression, SG :
 203 survie globale.

204

205 D'autres inhibiteurs de nouvelle génération sont en développement comme le RLY-
 206 4008, inhibiteur spécifique de FGFR2 susceptible de conserver une activité anti tumorale
 207 contre les principales mutations de résistance identifiées, pour lequel les résultats prometteurs
 208 de l'essai de phase I/II ReFocus ont été rapportés à l'ESMO 2022 avec un TRO de 88% et
 209 100% de contrôle tumoral parmi 17 patients atteints de CCA avec fusion/réarrangement de
 210 *FGFR2* pré traités (naïfs d'inhibiteurs de FGFR) (46–48). Le profil de tolérance était
 211 favorable avec des EI les plus fréquents représentés par une toxicité unguéale et une stomatite
 212 dans 43 et 42% des cas (de grade ≥ 3 dans 2 et 8% des cas), respectivement, témoignant d'une
 213 inhibition plus sélective limitant les toxicités induites par les autres FGFRs (notamment
 214 l'hyperphosphatémie associée à FGFR1). Des résultats intéressants ont également été
 215 rapportés avec le gunagratinib, un inhibiteur irréversible pan-FGFR (49). Une co-inhibition de
 216 l'EGFR a par ailleurs été proposée comme stratégie potentielle pour surmonter les résistances
 217 aux inhibiteurs de FGFR, et des stratégies de traitements séquentiels, possiblement associées à
 218 un suivi non invasif des mutations de résistance via l'ADN tumoral circulant, pourraient
 219 constituer une autres approche d'intérêt à évaluer dans le futur (40,50). Les thérapeutiques
 220 ciblées visant *FGFR2* sont donc en plein développement, avec de nouvelles molécules
 221 prometteuses en cours d'évaluation et une place dans la stratégie thérapeutique possiblement
 222 amenée à évoluer dans les prochaines années.

223

224 **NTRK et autres gènes de fusion**

225 A l'instar de nombreux types de cancers, les fusions impliquant les gènes *NTRK*
226 (*neutrophic tyrosin kinase receptor*) sont retrouvées à une fréquence faible, probablement
227 inférieure à 1%, parmi les CCA (23,51). Le larotrectinib et l'entrectinib ont démontré leur
228 efficacité dans plusieurs essais de phase I/II, avec des taux de réponse de 57-79% dont 7-16%
229 de réponses complètes et un contrôle tumoral prolongé dans un large panel de tumeurs avec
230 fusion de *NTRK* (52,53). Dans ces différents essais, 3 patients atteints de CCA ont été inclus
231 avec une réponse partielle observée chez deux d'entre eux (53,54). Ces deux traitements
232 spécifiques ont obtenu une autorisation par la FDA et l'EMA (*European Medicines Agency*)
233 de manière « tumeur-agnostique » pour le traitement de toutes tumeurs porteuses de fusion de
234 *NTRK* et donc disponibles, bien que n'ayant pas obtenu de remboursement en France à
235 l'heure actuelle, pour les patients atteints de CCA avancés (23). Malgré leur faible fréquence,
236 la recherche de ces altérations est indiquée chez les patients atteints de CCA avancés, a
237 fortiori alors que la recherche de gènes de fusion impliquant *FGFR2* devrait devenir
238 systématique, car associées à des implications thérapeutiques majeures pour les quelques
239 patients concernés.

240 D'autres gènes de fusion impliquant *ROS1* et *ALK* ont également été rapportées à de
241 faibles fréquences dans les CCA, et ces patients sont également susceptibles de bénéficier
242 d'un traitement par inhibiteurs de TRK (12,17).

243

244

245 **Conclusion**

246 La prise en charge des CCA avancés, et des iCCA notamment, est en pleine
247 transformation du fait de l'identification récente de multiples altérations moléculaires
248 ciblables chez ces patients. Parmi celles-ci, les gènes de fusion font partie des altérations les

249 plus fréquentes, concernant notamment *FGFR2* dans 10-15% des iCCA, et à une moindre
250 fréquence *NTRK*. Ces fusions sont le plus souvent identifiées à partir d'un séquençage ciblé
251 de l'ARN. Trois inhibiteurs de tyrosine kinase, le pemigatinib, l'infigratinib et le futibatinib,
252 ont récemment été approuvés par la FDA pour les patients atteints de CCA avancé avec
253 fusion ou réarrangement de *FGFR2*, et des résultats prometteurs ont été rapportés avec le
254 RLY-4008, un inhibiteur de nouvelle génération qui pourrait prochainement constituer une
255 nouvelle option dans ce sous-groupe de patients. Certaines de ces molécules sont en cours
256 d'évaluation en première ligne, et d'autres inhibiteurs de FGFR de nouvelle génération ainsi
257 que de nouvelles stratégies thérapeutiques sont en développement. Pour les rares patients avec
258 fusion de *NTRK*, le larotrectinib et l'entrectinib ont démontré un bénéfice clinique majeur. Le
259 profilage moléculaire des CCA avancés constitue donc un point essentiel de la prise en charge
260 de ces patients, notamment pour les iCCA, et doit impérativement comporter une analyse
261 dédiée, applicable en pratique courante par un panel ciblé ARN, à la recherche de gènes de
262 fusion afin d'identifier les patients susceptibles de bénéficier de ces nouvelles options
263 thérapeutiques.

264

265 REFERENCES

- 266 1. Valle JW, Borbath I, Khan SA, Huguet F, Gruenberger T, Arnold D, et al. Biliary cancer: ESMO
267 Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol.* 2016 Sep;27(suppl
268 5):v28–37.
- 269 2. Banales JM, Marin JJG, Lamarca A, Rodrigues PM, Khan SA, Roberts LR, et al. Cholangiocarcinoma
270 2020: the next horizon in mechanisms and management. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2020
271 Sep;17(9):557–88.
- 272 3. Lepage C, Cottet V, Chauvenet M, Phelip JM, Bedenne L, Faivre J, et al. Trends in the incidence
273 and management of biliary tract cancer: a French population-based study. *J Hepatol.* 2011
274 Feb;54(2):306–10.
- 275 4. Primrose JN, Fox RP, Palmer DH, Malik HZ, Prasad R, Mirza D, et al. Capecitabine compared with
276 observation in resected biliary tract cancer (BILCAP): a randomised, controlled, multicentre,
277 phase 3 study. *Lancet Oncol.* 2019 May;20(5):663–73.
- 278 5. Bridgewater J, Fletcher P, Palmer DH, Malik HZ, Prasad R, Mirza D, et al. Long-Term Outcomes
279 and Exploratory Analyses of the Randomized Phase III BILCAP Study. *J Clin Oncol.* 2022 Jun
280 20;40(18):2048–57.
- 281 6. Bridgewater J, Fletcher P, Primrose J. Reply to J. Edeline et al. *JCO.* 2022 Jul 5;JCO.22.01283.
- 282 7. Shroff RT, Kennedy EB, Bachini M, Bekaii-Saab T, Crane C, Edeline J, et al. Adjuvant Therapy for
283 Resected Biliary Tract Cancer: ASCO Clinical Practice Guideline. *J Clin Oncol.* 2019 Apr
284 20;37(12):1015–27.
- 285 8. Valle J, Wasan H, Palmer DH, Cunningham D, Anthoney A, Maraveyas A, et al. Cisplatin plus
286 gemcitabine versus gemcitabine for biliary tract cancer. *N Engl J Med.* 2010 Apr 8;362(14):1273–
287 81.
- 288 9. Izquierdo-Sanchez L, Lamarca A, La Casta A, Buettner S, Utpatel K, Klumpen HJ, et al.
289 Cholangiocarcinoma landscape in Europe: Diagnostic, prognostic and therapeutic insights from
290 the ENSCCA Registry. *J Hepatol.* 2022 May;76(5):1109–21.
- 291 10. Lamarca A, Palmer DH, Wasan HS, Ross PJ, Ma YT, Arora A, et al. Second-line FOLFOX
292 chemotherapy versus active symptom control for advanced biliary tract cancer (ABC-06): a phase
293 3, open-label, randomised, controlled trial. *Lancet Oncol.* 2021 May;22(5):690–701.
- 294 11. Choi IS, Kim KH, Lee JH, Suh KJ, Kim JW, Park JH, et al. A randomised phase II study of
295 oxaliplatin/5-FU (mFOLFOX) versus irinotecan/5-FU (mFOLFIRI) chemotherapy in locally
296 advanced or metastatic biliary tract cancer refractory to first-line gemcitabine/cisplatin
297 chemotherapy. *Eur J Cancer.* 2021 Sep;154:288–95.
- 298 12. Lamarca A, Barriuso J, McNamara MG, Valle JW. Molecular targeted therapies: Ready for “prime
299 time” in biliary tract cancer. *J Hepatol.* 2020 Jul;73(1):170–85.
- 300 13. Nakamura H, Arai Y, Totoki Y, Shiota T, Elzawahry A, Kato M, et al. Genomic spectra of biliary
301 tract cancer. *Nat Genet.* 2015 Sep;47(9):1003–10.

- 302 14. Jusakul A, Cutcutache I, Yong CH, Lim JQ, Huang MN, Padmanabhan N, et al. Whole-Genome and
303 Epigenomic Landscapes of Etiologically Distinct Subtypes of Cholangiocarcinoma. *Cancer Discov.*
304 2017 Oct;7(10):1116–35.
- 305 15. Mody K, Jain P, El-Refai SM, Azad NS, Zabransky DJ, Baretta M, et al. Clinical, Genomic, and
306 Transcriptomic Data Profiling of Biliary Tract Cancer Reveals Subtype-Specific Immune
307 Signatures. *JCO Precis Oncol.* 2022 Jun;6:e2100510.
- 308 16. Farshidfar F, Zheng S, Gingras MC, Newton Y, Shih J, Robertson AG, et al. Integrative Genomic
309 Analysis of Cholangiocarcinoma Identifies Distinct IDH-Mutant Molecular Profiles. *Cell Rep.* 2017
310 Mar 14;18(11):2780–94.
- 311 17. Javle MM, Murugesan K, Shroff RT, Borad MJ, Abdel-Wahab R, Schrock AB, et al. Profiling of
312 3,634 cholangiocarcinomas (CCA) to identify genomic alterations (GA), tumor mutational burden
313 (TMB), and genomic loss of heterozygosity (gLOH). *JCO.* 2019 May 20;37(15_suppl):4087–4087.
- 314 18. Berchuck JE, Facchinetti F, DiToro DF, Baiev I, Majeed U, Reyes S, et al. The Clinical Landscape of
315 Cell-Free DNA Alterations in 1,671 Patients with Advanced Biliary Tract Cancer. *Annals of*
316 *Oncology* [Internet]. 2022 Sep 8 [cited 2022 Sep 15];0(0). Available from:
317 [https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534\(22\)04141-2/fulltext](https://www.annalsofoncology.org/article/S0923-7534(22)04141-2/fulltext)
- 318 19. Lamarca A, Edeline J, Goyal L. How I treat biliary tract cancer. *ESMO Open.* 2022
319 Feb;7(1):100378.
- 320 20. Borger DR, Tanabe KK, Fan KC, Lopez HU, Fantin VR, Straley KS, et al. Frequent Mutation of
321 Isocitrate Dehydrogenase (*IDH1* and *IDH2*) in Cholangiocarcinoma Identified Through Broad-
322 Based Tumor Genotyping. *The Oncologist.* 2012 Jan 1;17(1):72–9.
- 323 21. Kipp BR, Voss JS, Kerr SE, Barr Fritcher EG, Graham RP, Zhang L, et al. Isocitrate dehydrogenase 1
324 and 2 mutations in cholangiocarcinoma. *Hum Pathol.* 2012 Oct;43(10):1552–8.
- 325 22. Scott AJ, Sharman R, Shroff RT. Precision Medicine in Biliary Tract Cancer. *JCO.* 2022 Aug
326 20;40(24):2716–34.
- 327 23. Boilève A, Verlingue L, Hollebecque A, Boige V, Ducreux M, Malka D. Rare cancer, rare alteration:
328 the case of NTRK fusions in biliary tract cancers. *Expert Opinion on Investigational Drugs.* 2021
329 Apr 3;30(4):401–9.
- 330 24. Arai Y, Totoki Y, Hosoda F, Shiota T, Hama N, Nakamura H, et al. Fibroblast growth factor
331 receptor 2 tyrosine kinase fusions define a unique molecular subtype of cholangiocarcinoma.
332 *Hepatology.* 2014 Apr;59(4):1427–34.
- 333 25. Silverman IM, Hollebecque A, Friboulet L, Owens S, Newton RC, Zhen H, et al. Clinicogenomic
334 Analysis of FGFR2-Rearranged Cholangiocarcinoma Identifies Correlates of Response and
335 Mechanisms of Resistance to Pemigatinib. *Cancer Discov.* 2021 Feb;11(2):326–39.
- 336 26. Mertens F, Johansson B, Fioretos T, Mitelman F. The emerging complexity of gene fusions in
337 cancer. *Nat Rev Cancer.* 2015 Jun;15(6):371–81.
- 338 27. Nakamura Y, Taniguchi H, Ikeda M, Bando H, Kato K, Morizane C, et al. Clinical utility of
339 circulating tumor DNA sequencing in advanced gastrointestinal cancer: SCRUM-Japan GI-SCREEN
340 and GOZILA studies. *Nat Med.* 2020 Dec;26(12):1859–64.

- 341 28. Perrier A, Hainaut P, Guenoun A, Nguyen DP, Lamy PJ, Guerber F, et al. [Moving towards a
342 personalized oncology: The contribution of genomic techniques and artificial intelligence in the
343 use of circulating tumor biomarkers]. *Bull Cancer*. 2022 Feb;109(2):170–84.
- 344 29. Kato M. Fibroblast growth factor receptors as treatment targets in clinical oncology. *Nat Rev*
345 *Clin Oncol*. 2019 Feb;16(2):105–22.
- 346 30. Helsten T, Elkin S, Arthur E, Tomson BN, Carter J, Kurzrock R. The FGFR Landscape in Cancer:
347 Analysis of 4,853 Tumors by Next-Generation Sequencing. *Clin Cancer Res*. 2016 Jan 1;22(1):259–
348 67.
- 349 31. Jain A, Borad MJ, Kelley RK, Wang Y, Abdel-Wahab R, Meric-Bernstam F, et al.
350 Cholangiocarcinoma With FGFR Genetic Aberrations: A Unique Clinical Phenotype. *JCO Precis*
351 *Oncol*. 2018 Nov;2:1–12.
- 352 32. Rizzato M, Brignola S, Munari G, Gatti M, Dadduzio V, Borga C, et al. Prognostic impact of
353 FGFR2/3 alterations in patients with biliary tract cancers receiving systemic chemotherapy: the
354 BITCOIN study. *European Journal of Cancer*. 2022 May 1;166:165–75.
- 355 33. Research C for DE and. FDA grants accelerated approval to pemigatinib for cholangiocarcinoma
356 with an FGFR2 rearrangement or fusion. FDA [Internet]. 2020 Apr 20 [cited 2022 Sep 12];
357 Available from: [https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-](https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-pemigatinib-cholangiocarcinoma-fgfr2-rearrangement-or-fusion)
358 [accelerated-approval-pemigatinib-cholangiocarcinoma-fgfr2-rearrangement-or-fusion](https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-pemigatinib-cholangiocarcinoma-fgfr2-rearrangement-or-fusion)
- 359 34. Research C for DE and. FDA grants accelerated approval to infigratinib for metastatic
360 cholangiocarcinoma. FDA [Internet]. 2021 Nov 6 [cited 2022 Sep 12]; Available from:
361 [https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-](https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-infigratinib-metastatic-cholangiocarcinoma)
362 [approval-infigratinib-metastatic-cholangiocarcinoma](https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-infigratinib-metastatic-cholangiocarcinoma)
- 363 35. Abou-Alfa GK, Sahai V, Hollebecque A, Vaccaro G, Melisi D, Al-Rajabi R, et al. Pemigatinib for
364 previously treated, locally advanced or metastatic cholangiocarcinoma: a multicentre, open-
365 label, phase 2 study. *Lancet Oncol*. 2020 May;21(5):671–84.
- 366 36. Vogel A, Sahai V, Hollebecque A, et al. Pemigatinib for previously treated locally advanced or
367 metastatic cholangiocarcinoma: Final results from FIGHT-202. Presented at: ESMO World
368 Congress on Gastrointestinal Cancer; June 29-July 2, 2022. Barcelona, Spain. [Abstract LBA O-](#)
369 [2](#).
- 370 37. Javle M, Roychowdhury S, Kelley RK, Sadeghi S, Macarulla T, Weiss KH, et al. Infigratinib (BGJ398)
371 in previously treated patients with advanced or metastatic cholangiocarcinoma with FGFR2
372 fusions or rearrangements: mature results from a multicentre, open-label, single-arm, phase 2
373 study. *The Lancet Gastroenterology & Hepatology*. 2021 Oct 1;6(10):803–15.
- 374 38. EMA. Pemazyre [Internet]. European Medicines Agency. 2021 [cited 2022 Sep 12]. Available
375 from: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/pemazyre>
- 376 39. Goyal L, Saha SK, Liu LY, Siravegna G, Leshchiner I, Ahronian LG, et al. Polyclonal Secondary
377 FGFR2 Mutations Drive Acquired Resistance to FGFR Inhibition in Patients with FGFR2 Fusion-
378 Positive Cholangiocarcinoma. *Cancer Discov*. 2017 Mar;7(3):252–63.
- 379 40. Varghese AM, Patel J, Janjigian YY, Meng F, Selcuklu SD, Iyer G, et al. Noninvasive Detection of
380 Polyclonal Acquired Resistance to FGFR Inhibition in Patients With Cholangiocarcinoma
381 Harboring FGFR2 Alterations. *JCO Precis Oncol*. 2021;5:PO.20.00178.

- 382 41. Goyal L, Meric-Bernstam F, Hollebecque A, Morizane C, Valle JW, Karasic TB, et al. Abstract
383 CT010: Primary results of phase 2 FOENIX-CCA2: The irreversible FGFR1-4 inhibitor futibatinib in
384 intrahepatic cholangiocarcinoma (iCCA) with FGFR2 fusions/rearrangements. *Cancer Research*.
385 2021 Jul 1;81(13_Supplement):CT010.
- 386 42. Goyal L, Meric-Bernstam F, Hollebecque A, Morizane C, Valle JW, Karasic TB, et al. Updated
387 results of the FOENIX-CCA2 trial: Efficacy and safety of futibatinib in intrahepatic
388 cholangiocarcinoma (iCCA) harboring FGFR2 fusions/rearrangements. *JCO*. 2022
389 Jun;40(16_suppl):4009–4009.
- 390 43. Research C for DE and. FDA grants accelerated approval to futibatinib for cholangiocarcinoma.
391 FDA [Internet]. 2022 Sep 30 [cited 2022 Nov 7]; Available from:
392 [https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-](https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-futibatinib-cholangiocarcinoma)
393 [approval-futibatinib-cholangiocarcinoma](https://www.fda.gov/drugs/resources-information-approved-drugs/fda-grants-accelerated-approval-futibatinib-cholangiocarcinoma)
- 394 44. Goyal L, Shi L, Liu LY. TAS-120 overcomes resistance to ATP-competitive FGFR inhibitors in
395 patients with FGFR2 fusion-positive intrahepatic cholangiocarcinoma. 2020;30.
- 396 45. Rengan AK, Denlinger CS. Robust Response to Futibatinib in a Patient With Metastatic FGFR-
397 Addicted Cholangiocarcinoma Previously Treated Using Pemigatinib. *J Natl Compr Canc Netw*.
398 2022 Apr 4;1–6.
- 399 46. Casaletto J, Maglic D, Toure BB, Taylor A, Schoenherr H, Hudson B, et al. Abstract 1455: RLY-
400 4008, a novel precision therapy for FGFR2-driven cancers designed to potently and selectively
401 inhibit FGFR2 and FGFR2 resistance mutations. *Cancer Research*. 2021 Jul
402 1;81(13_Supplement):1455.
- 403 47. Schram AM, Kamath SD, El-Khoueiry AB, Borad MJ, Mody K, Mahipal A, et al. First-in-human
404 study of highly selective FGFR2 inhibitor, RLY-4008, in patients with intrahepatic
405 cholangiocarcinoma and other advanced solid tumors. *JCO*. 2021 May 20;39(15_suppl):TPS4165–
406 TPS4165.
- 407 48. Hollebecque A, Borad, Goyal L, et al. Efficacy of RLY-4008, a highly selective FGFR2 inhibitor in
408 patients (pts) with an FGFR2-fusion or rearrangement (f/r), FGFR inhibitor (FGFRi)-naïve
409 cholangiocarcinoma (CCA): ReFocus trial. *Ann Oncol*. 2022;33(suppl 7):S808-S869.
410 doi:10.1016/annonc/annonc1089
- 411 49. Guo Y, Yuan C, Ying J, Zhu X, Luan G, Zhang B, et al. Phase I result of ICP-192 (gunagratinib), a
412 highly selective irreversible FGFR inhibitor, in patients with advanced solid tumors harboring
413 FGFR pathway alterations. *JCO*. 2021 May 20;39(15_suppl):4092–4092.
- 414 50. Wu Q, Zhen Y, Shi L, Vu P, Greninger P, Adil R, et al. EGFR Inhibition Potentiates FGFR Inhibitor
415 Therapy and Overcomes Resistance in FGFR2 Fusion-Positive Cholangiocarcinoma. *Cancer*
416 *Discov*. 2022 May 2;12(5):1378–95.
- 417 51. Amatu A, Sartore-Bianchi A, Siena S. NTRK gene fusions as novel targets of cancer therapy across
418 multiple tumour types. *ESMO Open*. 2016;1(2):e000023.
- 419 52. Hong DS, DuBois SG, Kummar S, Farago AF, Albert CM, Rohrberg KS, et al. Larotrectinib in
420 patients with TRK fusion-positive solid tumours: a pooled analysis of three phase 1/2 clinical
421 trials. *The Lancet Oncology*. 2020 Apr;21(4):531–40.

422 52. Doebele RC, Drilon A, Paz-Ares L, Siena S, Shaw AT, Farago AF, et al. Entrectinib in patients with
423 advanced or metastatic NTRK fusion-positive solid tumours: integrated analysis of three phase
424 1–2 trials. *The Lancet Oncology*. 2020 Feb 1;21(2):271–82.

425 53. Drilon A, Laetsch TW, Kummar S, DuBois SG, Lassen UN, Demetri GD, et al. Efficacy of
426 Larotrectinib in *TRK* Fusion–Positive Cancers in Adults and Children. *N Engl J Med*. 2018 Feb
427 22;378(8):731–9.

428