MARQUEURS & TESTS COMPAGNONS

Biomarqueurs moléculaires prédictifs

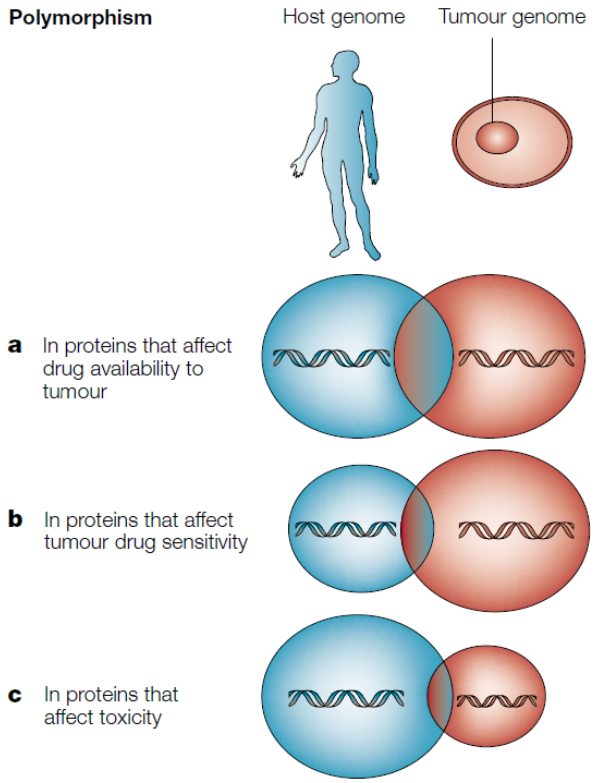
Jean-Paul Brouillet, La Grande Motte 2 octobre 2015

Définitions

(Guide Méthodologique : Test compagnon associé à une thérapie ciblée, HAS février 2014)

Marqueur : caractéristique des patients pouvant représenter un indicateur de risque (facteur de risque), d'effet du traitement (modificateur de l'effet du traitement) ou d'utilité de traiter (marqueur prédictif). Remarque : les termes biomarqueur et marqueur sont utilisés indifféremment dans le langage courant.

Biomarqueur : « caractéristique qui est objectivement mesurée et évaluée comme un indicateur de processus biologiques normaux ou pathologiques, ou de réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique » (définition du *National Institute of Health*, US),



Types of polymorphisms that affect drug response.

Relling et Drevieux, Nature Review Cancer, 2001

Définitions

Marqueur prédictif : réunit deux conditions

- doit prédire en fonction de sa valeur l'effet d'un traitement donné pour un critère de jugement donné
- doit avoir montré son utilité clinique : optimisation de l'efficacité chez les patients portant le marqueur et absence d'intérêt du traitement chez les autres patients

➡ ***Le plus souvent, les marqueurs prédictifs sont binaires***

Test compagnon : test diagnostique permettant de sélectionner, en fonction de leur statut pour un marqueur prédictif identifié par ce test, uniquement les patients chez lesquels le traitement est susceptible d'apporter un bénéfice parmi ceux diagnostiqués pour une maladie donnée. Le test est considéré comme « compagnon » d'utilisation du traitement.

➡ ***Optimisation de la rentabilité clinique***

Thérapie ciblée : traitement qui n'a démontré de bénéfices que chez certains patients identifiés par un marqueur prédictif déterminé par un test compagnon.

Théranostic (ou théragnostic) : néologisme qui dérive de la contraction des termes « thérapeutique » et « diagnostic» ; c'est l'utilisation d'un test diagnostique, identifiant un marqueur, pour orienter la thérapeutique du patient en fonction de son statut pour le marqueur (statut positif ou négatif pour un marqueur binaire).

Les thérapies ciblées en cancérologie ?

<u>INCA</u> : Traitement à l'aide de médicaments qui, selon leur cible, visent à freiner ou à bloquer la croissance de la cellule cancéreuse, en l'affamant, en provoquant sa destruction, en dirigeant le système immunitaire contre elle ou en l'incitant à redevenir normale. On parle aussi de thérapeutique ou de traitement ciblé.

Hormonothérapie : première thérapie ciblée en cancérologie

(cible : ensemble d'organes-cibles pourvus des récepteurs correspondants à une hormone donnée)

Les thérapies ciblées : l'histoire…

104 THE LANCET,] DR. BEATSON: INOPERABLE CASES OF CARCINOMA OF THE MAMMA. [JULY 11, 1896.

ON THE TREATMENT OF INOPERABLE CASES OF CARCINOMA OF THE MAMMA: SUGGESTIONS FOR A NEW METHOD OF TREATMENT, WITH ILLUSTRATIVE CASES.[1]

BY GEORGE THOMAS BEATSON, M.D. EDIN.,
SURGEON TO THE GLASGOW CANCER HOSPITAL; ASSISTANT SURGEON, GLASGOW WESTERN INFIRMARY; AND EXAMINER IN SURGERY TO THE UNIVERSITY OF EDINBURGH.

Sir George Beatson
1848 - 1933

1896 : castration chirurgicale
1922 : castration radique

1923 : découverte des premiers estrogènes
1932 : hormono-dépendance du cancer du sein
1958 : découverte du récepteur des estrogènes
1970-1972 : premiers dosages du RE

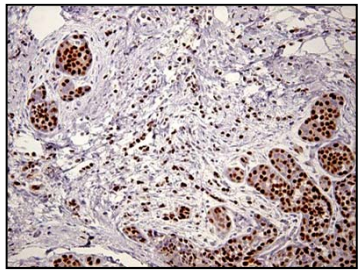
1975 : le tamoxifène
1980 : 1ères antiaromatases
1982 : agonistes de la LH-RH

1985 : clonage du récepteur α des estrogènes
1989 : amplification de HER2/neu

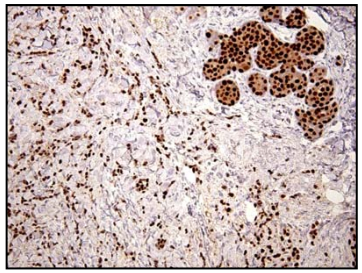
2000 : AMM du Trastuzumab (Herceptin®) en Europe

Tests compagnons dans les cancers du sein

RE



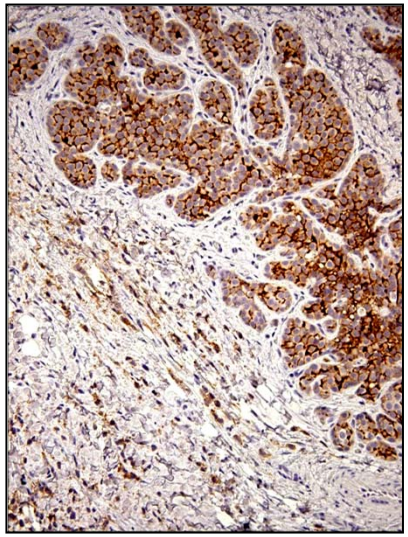
RP

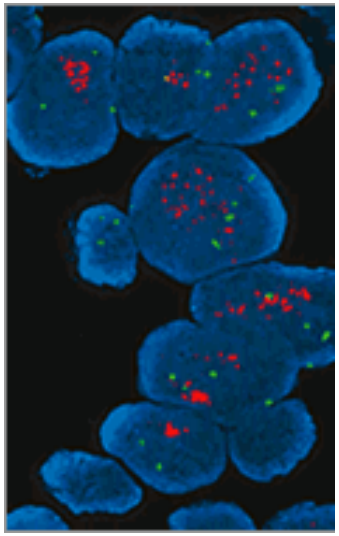


Statut des récepteurs	Incidence	Réponse à l'hormonothérapie
RE+ RP+	60%	75%
RE- RP-	15%	10%

D'après Allred et al, Cancer, 1991

HER2





2015 : Quelles molécules pour quelles cibles ?

- antihormones
- anticorps monoclonaux
  - *humanisé : *zumab*
  - *chimériques : *ximab*
  - *humain : *mumab*

  ➢ facteurs de croissance
  ➢ récepteurs de facteurs de croissance
  ➢ réponse immunitaire
- inhibiteurs de kinases
  - *tyrosines kinases*
  - *sérine-thréonines kinases*

  ➢ voies de signalisation des facteurs de croissance

Les molécules et leurs cibles

	Drug	HUGO Symbol	Referenced Subgroup
AcM+	Ado-Trastuzumab Emtansine	ERBB2	HER2 protein overexpression or gene amplification positive
ITK	Afatinib	EGFR	EGFR exon 19 deletion or exon 21 substitution (L858R) mutation positive
I Ar	Anastrozole	ESR1, PGR	Hormone receptor positive
ITK	Bosutinib	BCR/ABL1	Philadelphia chromosome (t(9;22)) positive
AcM+	Brentuximab Vedotin	TNFRSF8	CD30 positive
AcM	Cetuximab (1)	EGFR	EGFR protein expression positive
	Cetuximab (2)	RAS	RAS Sauvage
ITK	Crizotinib	ALK	ALK gene rearrangement positive
ISThK	Dabrafenib	BRAF	BRAF V600E mutation positive
ITK	Dasatinib	BCR/ABL1	Philadelphia chromosome (t(9;22)) positive; T315I mutation-positive
	Erlotinib (1)	EGFR	EGFR protein expression positive
	Erlotinib (2)	EGFR	EGFR exon 19 deletion or exon 21 substitution (L858R) positive
I Ar	Everolimus (1)	ERBB2	HER2 protein overexpression negative
	Everolimus (2)	ESR1	Estrogen receptor positive
	Exemestane	ESR1	Estrogen receptor positive
Anti E_2	Fulvestrant	ESR1	Estrogen receptor positive
AcM+	Ibritumomab Tiuxetan	MS4A1	CD20 positive

	Drug	HUGO Symbol	Referenced Subgroup
ITK	Imatinib (1)	KIT	c-KIT D816V mutation negative
	Imatinib (2)	BCR/ABL1	Philadelphia chromosome (t(9;22)) positive
	Imatinib (3)	PDGFRB	PDGFR gene rearrangement positive
	Imatinib (4)	FIP1L1/PDGFRA	FIP1L1/PDGFRα fusion kinase (or CHIC2 deletion) positive
	Lapatinib	ERBB2	HER2 protein overexpression positive
I Ar	Letrozole	ESR1, PGR	Hormone receptor positive
ITK	Nilotinib	BCR/ABL1	Philadelphia chromosome (t(9 :22)) positive
AcM	Panitumumab (1)	EGFR	EGFR protein expression positive
	Panitumumab (2)	RAS	RAS Sauvage
	Pertuzumab	ERBB2	HER2 protein overexpression positive
ITK	Ponatinib	BCR –ABL T315I	BCR –ABL T315I mutation
AcM	Rituximab	MS4A1	CD20 positive
Anti E_2	Tamoxifen	ESR1, PGR	Hormone receptor positive
ITThK	Trametinib	BRAF	BRAF V600E/K mutation positive
AcM	Trastuzumab	ERBB2	HER2 protein overexpression positive
ISThK	Vemurafenib	BRAF	BRAF V600E mutation positive

U.S. Food and Drug Administration
Protecting and Promoting *Your* Health

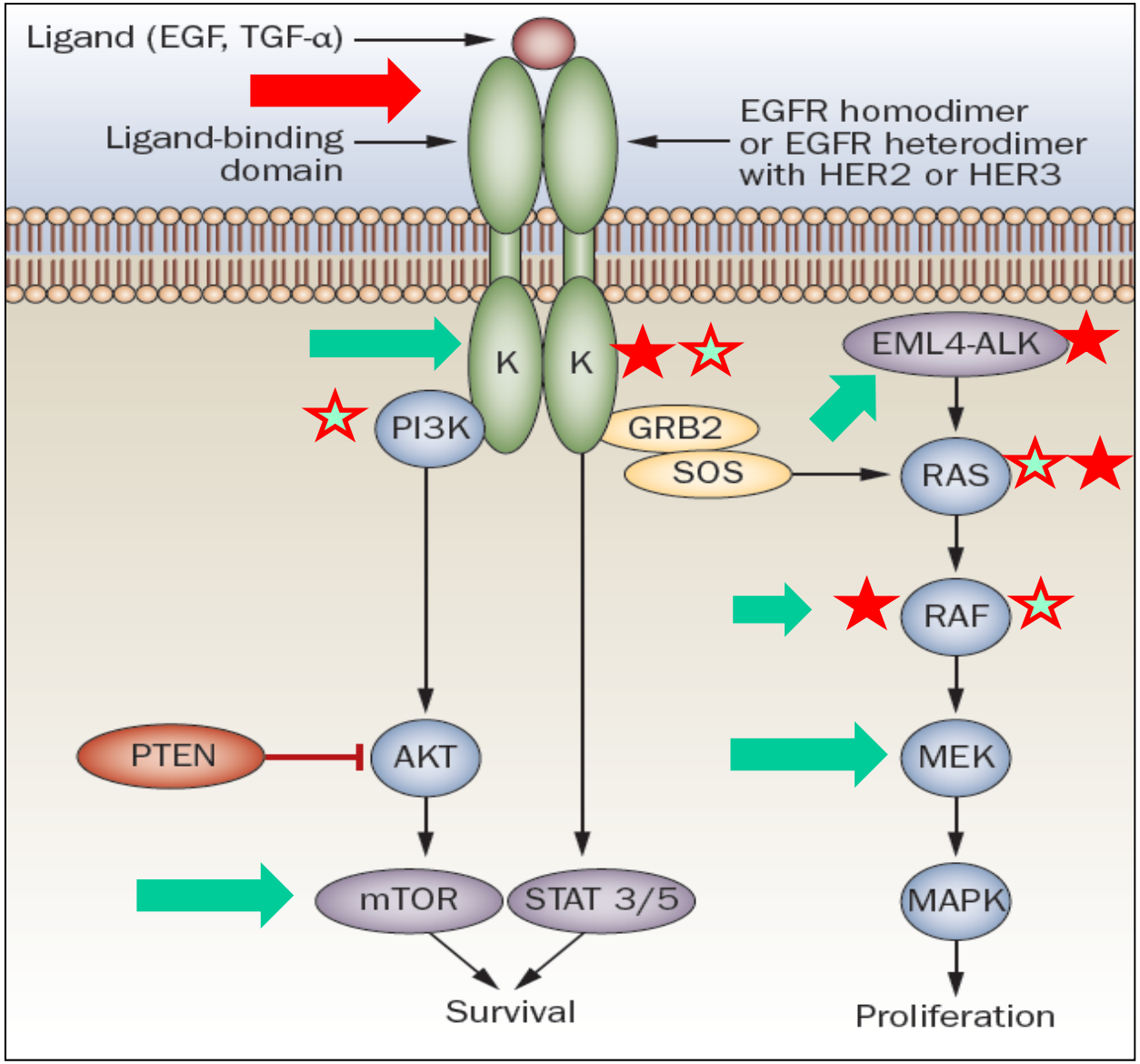
Signalisation cellulaire et thérapies ciblées

AcM

IK

Marqueur de sensibilité ou résistance

Marqueur émergent ou pronostique



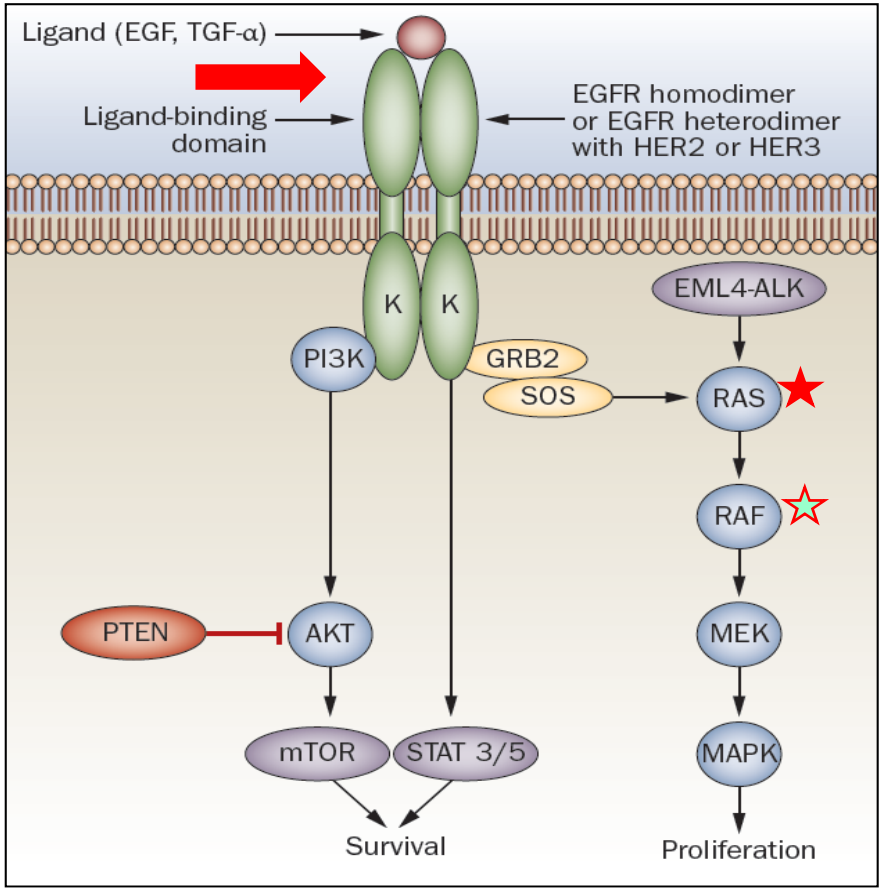
(d'après Janku et al. Nat. Rev. Clin. Oncol. 2010)

Biomarqueurs moléculaires prédictifs des thérapies ciblées dans les cancers colorectaux

Les molécules et leur cible

Erbitux® (Cetuximab) : indiqué dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal métastatique avec **gène RAS de type sauvage** exprimant le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR).

Vectibix ® **(**panitumumab) : est indiqué pour le traitement des patients adultes atteints d'un cancer colorectal métastatique (CCRm) avec un **statut RAS non muté (type sauvage)**



(d'après Janku et al. Nat. Rev. Clin. Oncol. 2010)

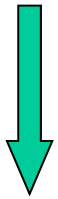
Avant et après 2008

2005

Cetuximab en association avec l'irinotécan, est indiqué dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal métastatique exprimant le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR) après échec d'une chimiothérapie à base d'irinotécan

2008

Erbitux, KRAS gene star at ASCO



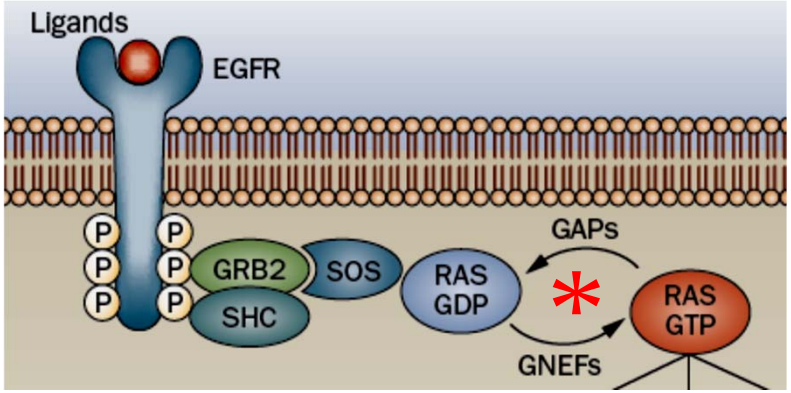
INDICATIONS : Cetuximab est indiqué dans le traitement des patients présentant un cancer colorectal métastatique avec gène **KRAS** de type sauvage *exprimant le récepteur du facteur de croissance épidermique (EGFR).*

→ *idem pour panitumumab (Vectibix)*

Outcome	Therapy		*P* value
	Best supportive care	Cetuximab	
Mutant KRAS			
Number of patients	76	75	NA
mOS	4.6 months	4.5 months	0.89
Wild-type KRAS			
Number of patients	105	110	NA
mOS	4.8 months	9.5 months	<0.001

d'après Normanno et al, Nat Rev Clin Oncol, 2009

KRAS ?



Les gènes de la famille RAS (RAt Sarcoma)

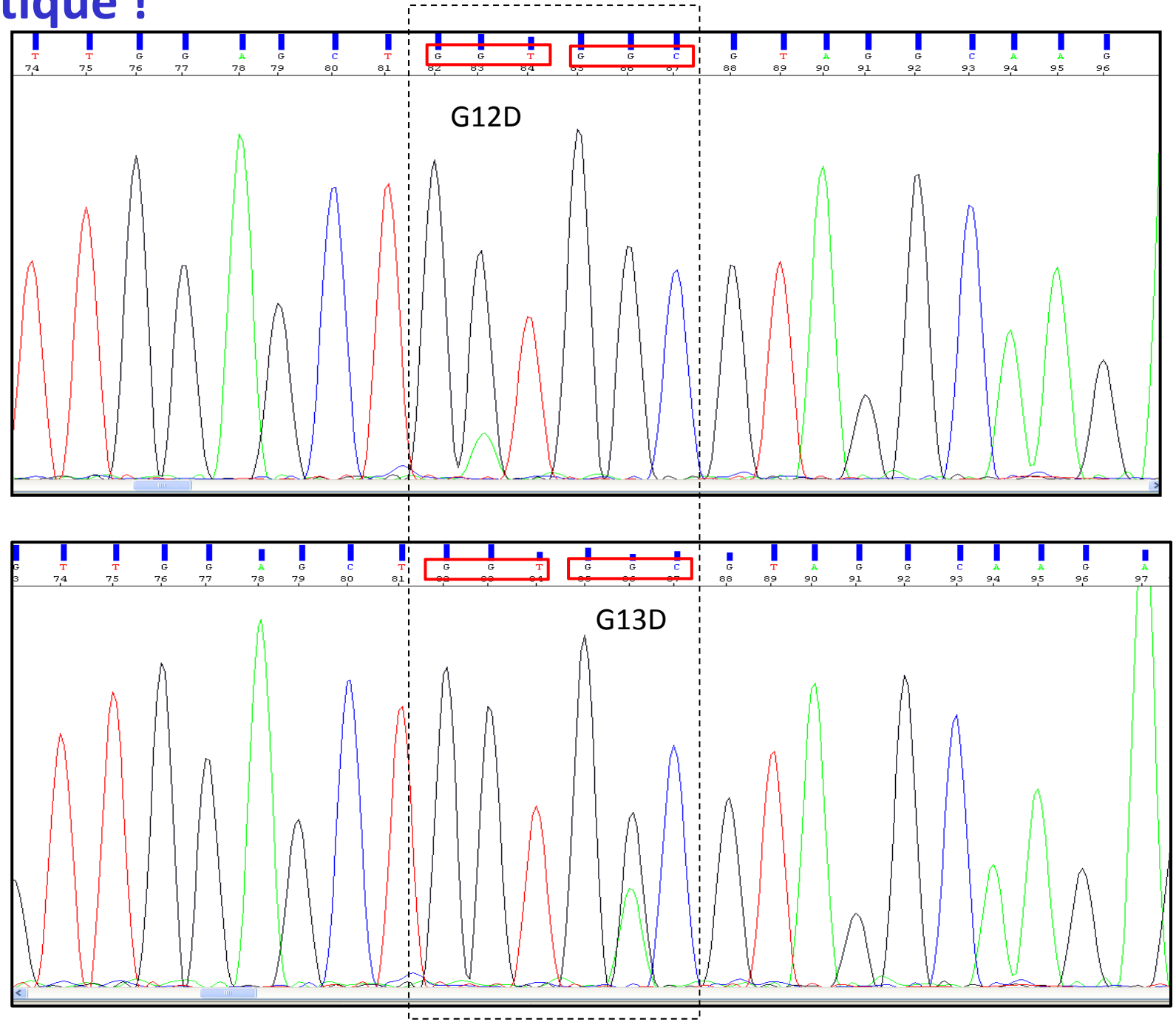
- GTPASEs membranaires
- 3 gènes : HRAS (Harvey)
  KRAS (Kirsten)
  NRAS (neuroblastoma)
- les plus fréquemment mutés dans de nombreux cancers
- mutations → activation permanente en aval de l'EGFR

KRAS mutation		Incidence (%)*
Amino acid substitution	Nucleotide substitution	
Codon 12 mutations		
Aspartate (G12D)	G35A	32.5
Valine (G12V)	G35T	22.5
Cysteine (G12C)	G34T	8.8
Serine (G12S)	G34A	7.6
Alanine (G12A)	G35C	6.4
Arginine (G12R)	G34C	0.9
Codon 13 mutation		
Aspartate (G13D)	G38A	19.5
Other mutations‡		1.8

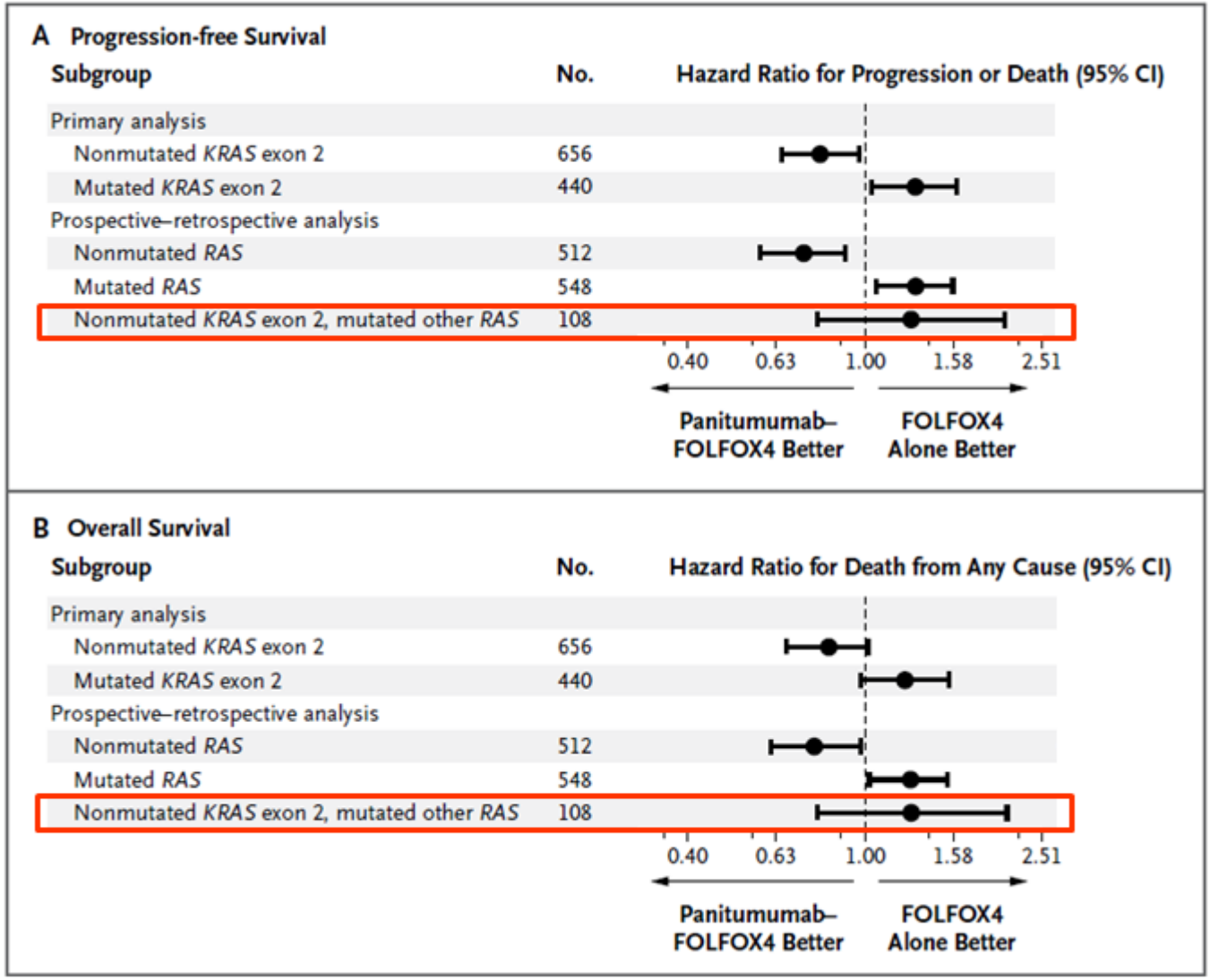
d'après Normanno et al, Nat Rev Clin Oncol, 2009

Séquençage de l'exon 2 de KRAS au niveau des codons 12 et 13

En pratique !



Mais à l'ASCO 2013…



Douillard et al, N. Engl J. Med, 2013

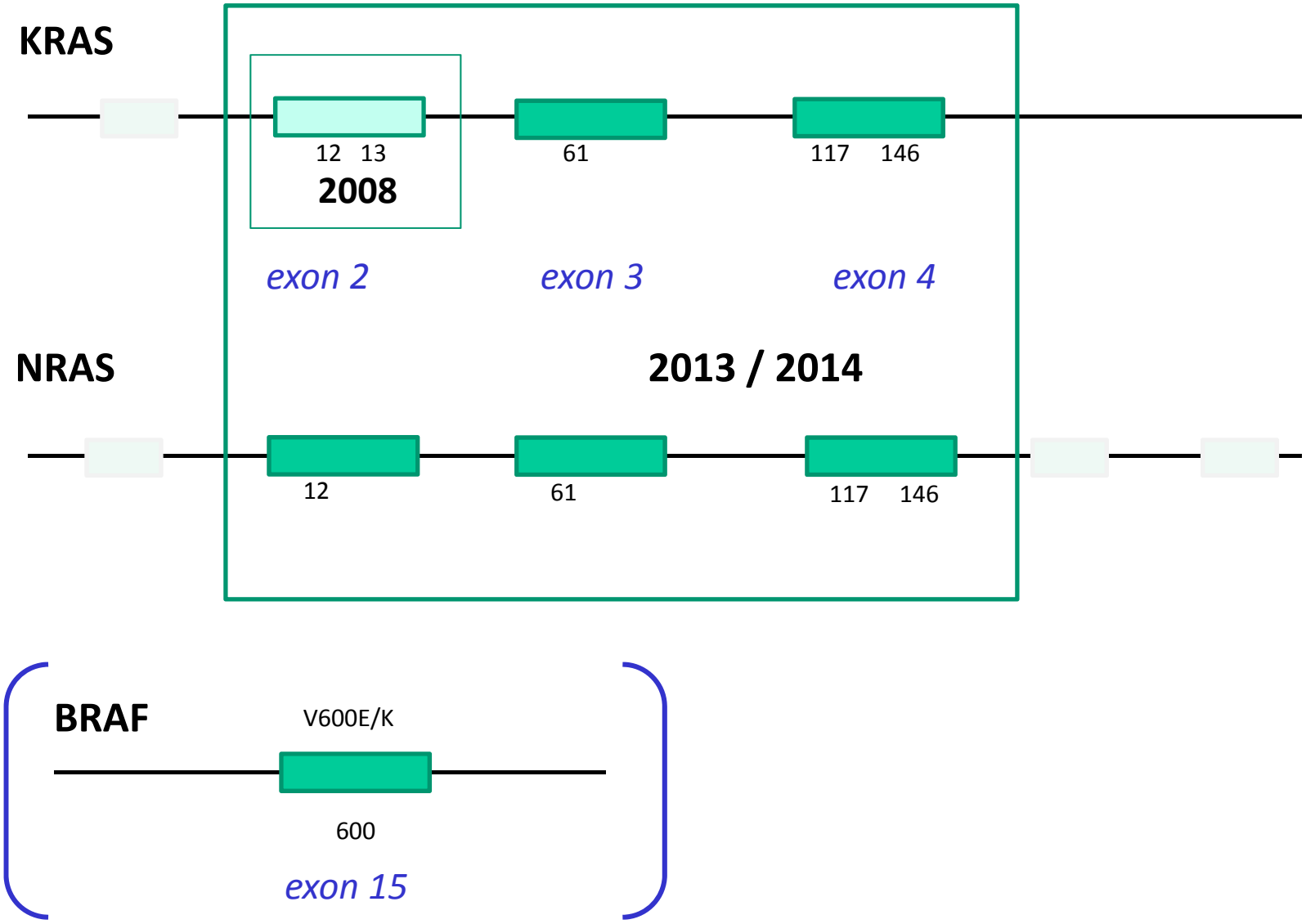
Nouvel AMM

⇩

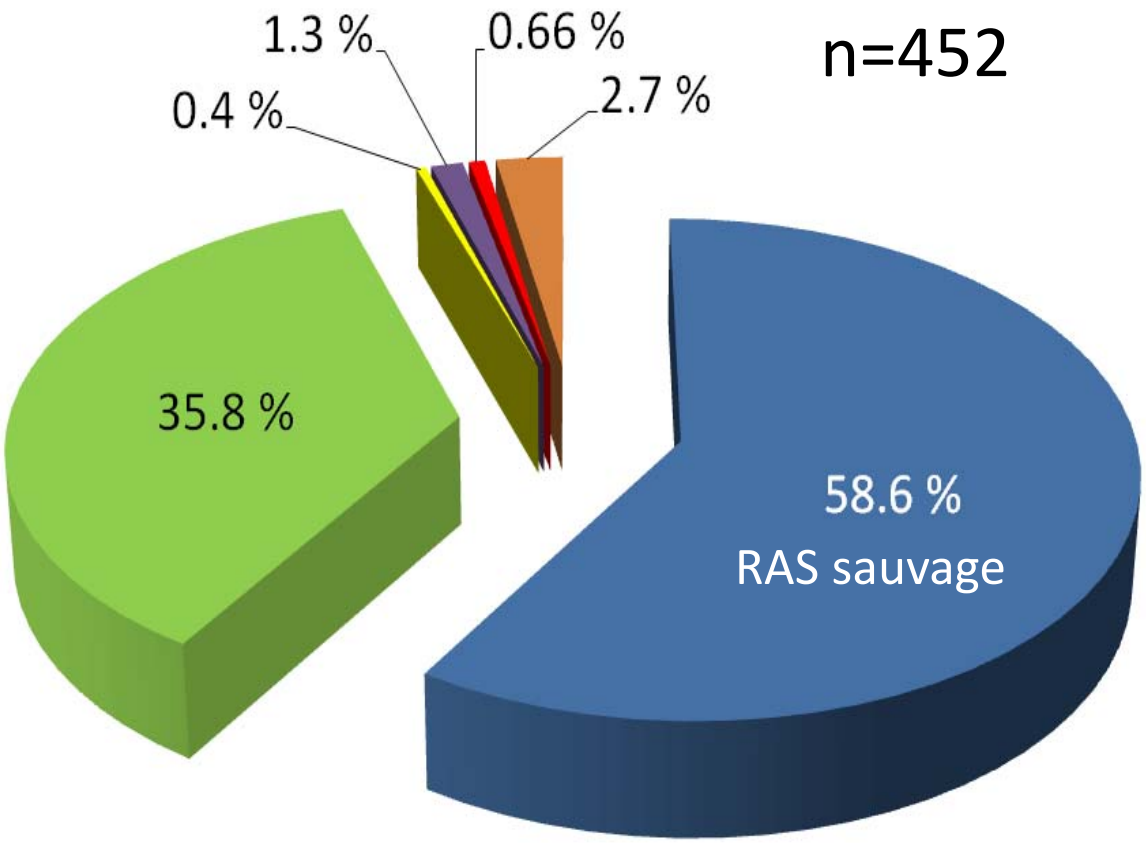
Erbitux® + Vectibix ®

cancer colorectal métastatique avec un statut **RAS** non muté

Prise en charge depuis octobre 2013



Résultats mutations RAS



KRAS

Exon 2	Exon 3	Exon 4
G12D (62) G12V (33) G12C (14) G12S (9) G12A (8) G12R (3) G13D (30) G13R (1) G13V (1)	Q61H (1) Q61R (1)	A146P (3) A146T (2) A146V (1)

NRAS

Exon 2	Exon 3	Exon 4
G12D (2) G12A (1)	Q61K (4) Q61L (3) Q61R (3) Q61H (2)	Non muté

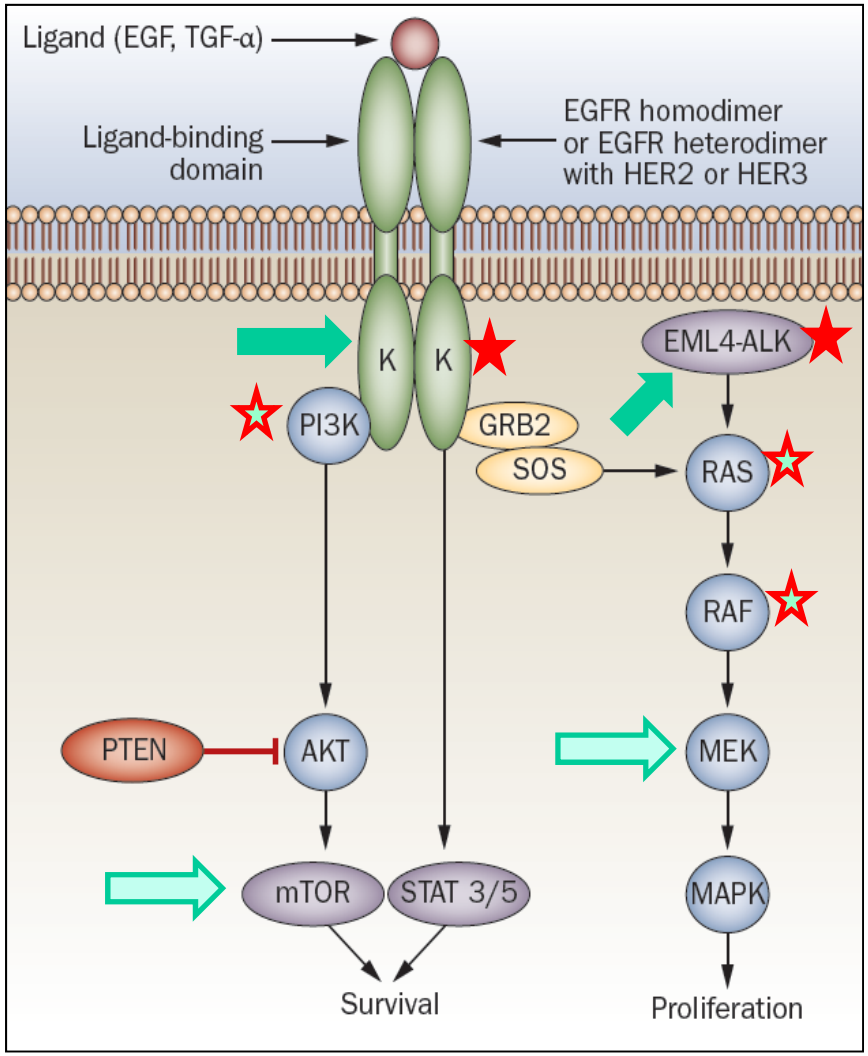
Biomarqueurs moléculaires prédictifs des thérapies ciblées dans les cancers du poumon non à petite cellules

Les molécules et leurs cibles

Erlotinib (Tarceva®), Géfitinib (Iressa®) : en première ligne de traitement des formes localement avancées ou métastatiques du cancer bronchique non à petites cellules chez les patients présentant des mutations activatrices de l'EGFR.

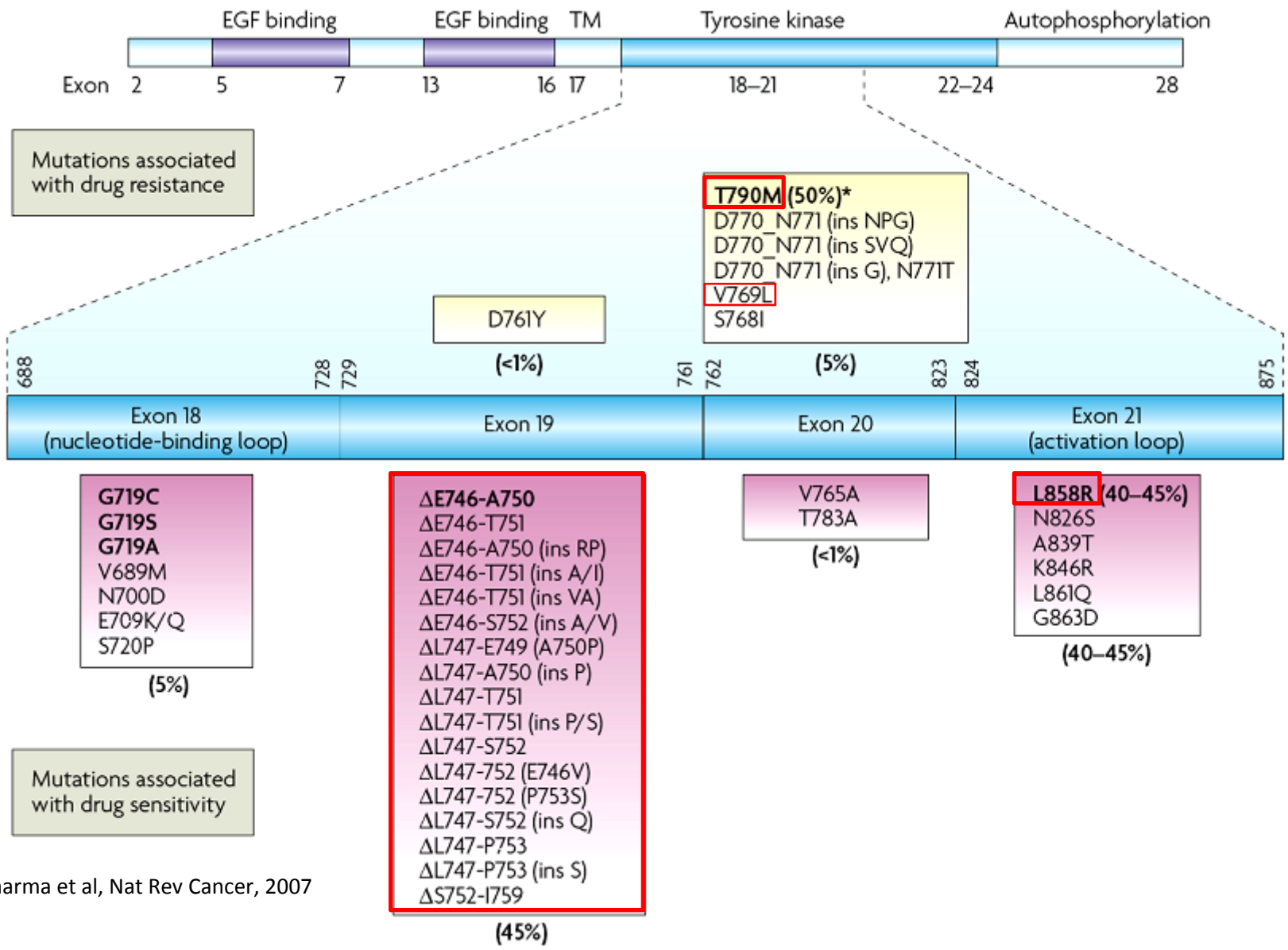
Afatinib (Giotrif®) : en monothérapie dans le traitement des patients adultes naïfs de TKI atteints d'un cancer bronchique non à petites cellules localement avancé ou métastatique qui présente une mutation activatrice de l'EGFR *(+HER2 !)*.

Crizotinib (Xalkori®) : traitement du cancer du poumon non à petites cellules de type adénocarcinome avancé (localement ou métastatique) chez des patients pré-traités présentant un réarrangement du gène ALK (ALK positif), ne pouvant être inclus dans un essai clinique en cours et pour lesquels il n'existe pas d'alternative thérapeutique appropriée



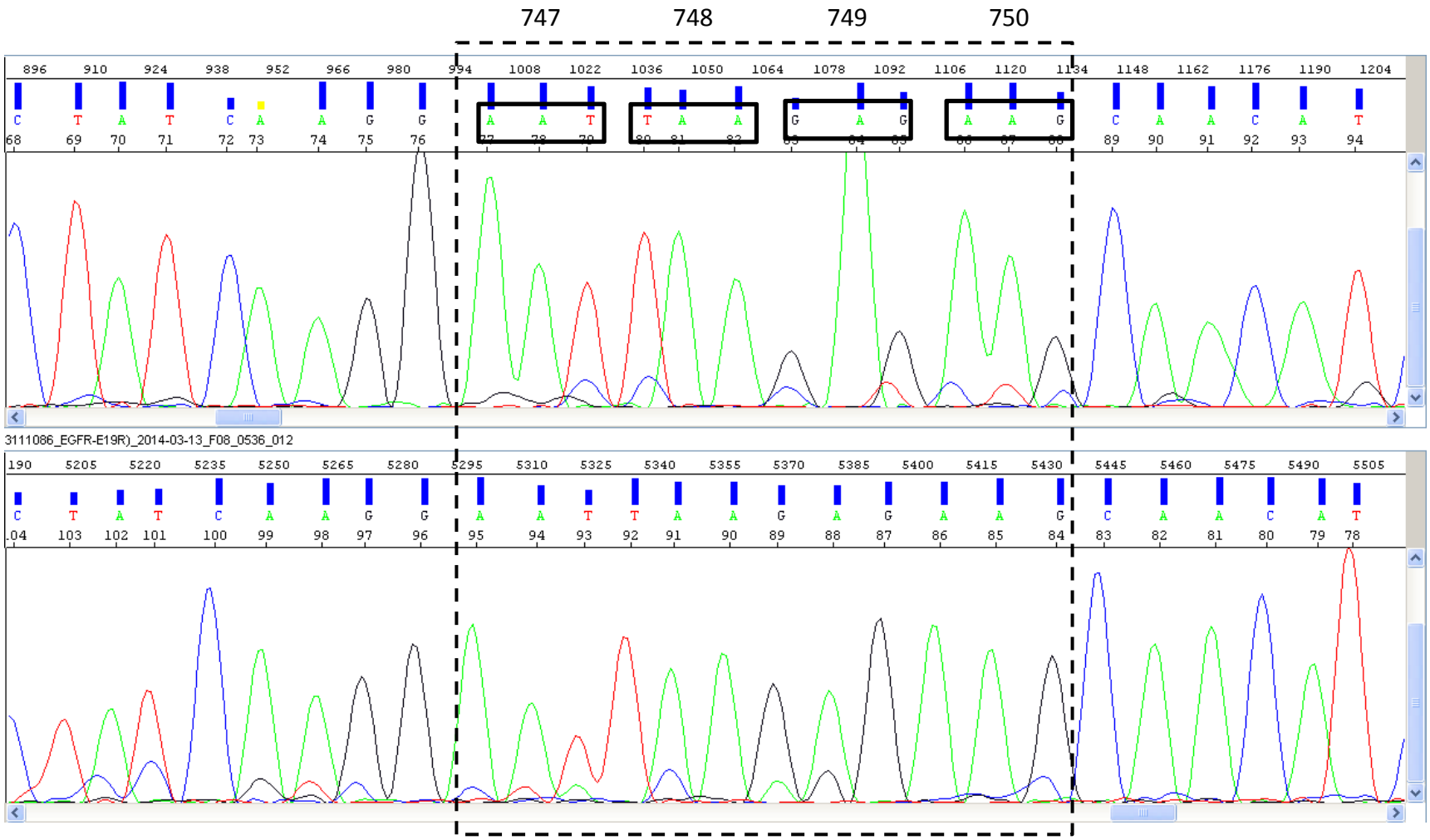
(d'après Janku et al. Nat. Rev. Clin. Oncol. 2010)

Mutations activatrices/résistances de EGFR



Sharma et al, Nat Rev Cancer, 2007

En pratique !



EGFR exon 19 : p.leu747_ala750delinsPro

Mutations activatrices de EGFR et thérapie ciblée

ÉTUDE	JACKMAN 2009	CADRANEL 2009
Nombre de patients	317	304
Traitement	erlotinib gefitinib	erlotinib
PATIENTS EGFR+		
Nombre de patients EGFR + (%)	84 sur 223 (38 %)	43 sur 304 (14 %)
Taux de réponse	67 %	nd
Durée médiane de survie sans progression	11,8 mois	8,4 mois
Durée médiane de survie	23,9 mois	14,4 mois
PATIENTS EGFR-		
Nombre de patients EGFR -	139	261
Taux de réponse	0-5 %	nd
Durée médiane de survie sans progression	< 4 mois	2,3 mois
Durée médiane de survie	~ 12 mois	5,5 mois

(In : Mutations de l'EGFR dans le cancer du poumon : mise en évidence d'une cible moléculaire permettant un accès spécifique aux thérapies ciblées, INCA, Boulogne Billancourt, février 2010).

Mutations activatrices de EGFR

Facteurs prédisant la présence d'une mutation de l'EGFR chez les patients européens

FACTEURS CLINIQUES	P *VALUE*	PROBABILITÉ D'ÊTRE EGFR+	
Fumeurs/non-fumeurs	< 0,0001	6,5 fois plus élevée chez les patients n'ayant jamais fumé que chez les fumeurs	28/70 (40 %) des non-fumeurs sont EGFR+ 47/716 (7 %) des fumeurs sont EGFR+
Histologie	< 0,0001	4,4 fois plus élevée pour les adénocarcinomes que pour les non-adénocarcinomes	63/396 (16 %) des patients avec un adénocarcinome sont EGFR+ 12/390 (3 %) des patients avec un non-adénocarcinome sont EGFR+
Sexe	0,0397	1,7 fois plus élevée chez les femmes que chez les hommes	40/235 (17 %) des femmes sont EGFR+ 35/551 (6 %) des hommes sont EGFR+

(In : Mutations de l'EGFR dans le cancer du poumon : mise en évidence d'une cible moléculaire permettant un accès spécifique aux thérapies ciblées, INCA, Boulogne Billancourt, février 2010).

Autres mutations recherchées

Translocation ALK/EML4 : ***Crizotinib (Xalkori®) :*** traitement du cancer du poumon non à petites cellules de type adénocarcinome avancé (localement ou métastatique) chez des patients pré-traités présentant un réarrangement du gène ALK (ALK positif), ne pouvant être inclus dans un essai clinique en cours et pour lesquels il n'existe pas d'alternative thérapeutique appropriée

Réarrangements ROS1 : (2014) *Potentiellement sensibles au Crizotinib*

Biomarqueurs émergents

Mutations exon 20 HER2 : *Thérapie anti HER2 /* Afatinib *(Giotrif®) ?*

Mutations PIK3CA :
exons 9 et 20 (jusqu'en 2013)

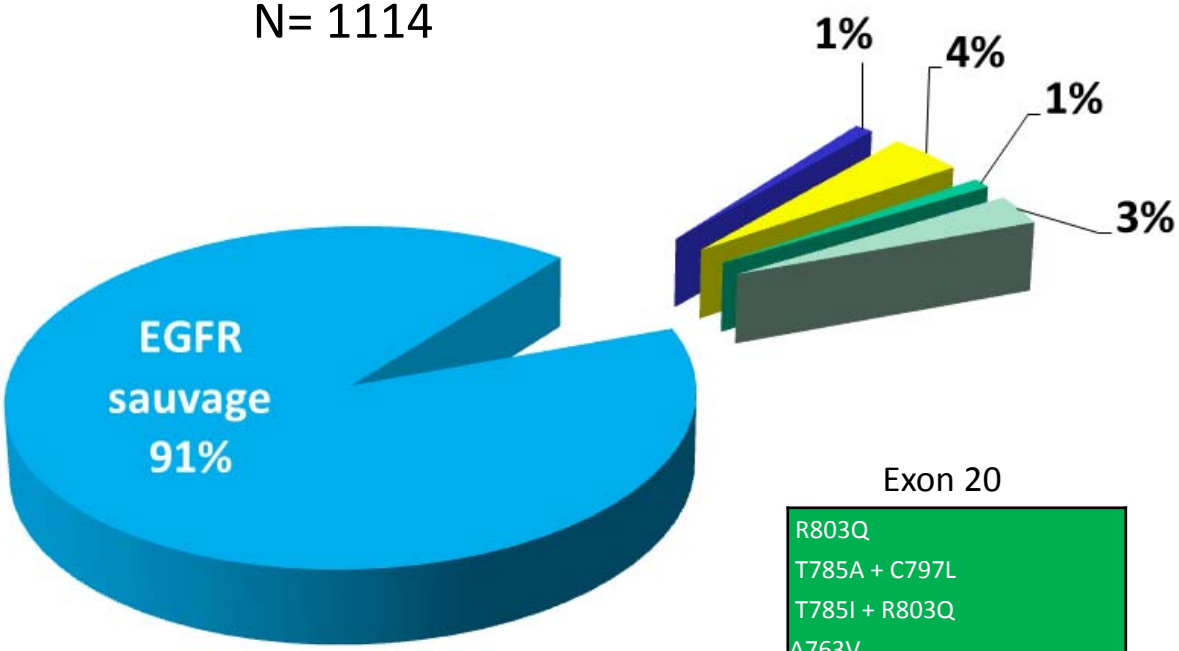
Mutations BRAF :
V600E/K

Inclusion dans des protocoles de phase I/II ?

Mutations exon 2 KRAS : *Marqueur de résistance à un traitement par ITK ?*

Résultats mutations EGFR

N= 1114



Exon 18

A698A + L707S
A722T
E709K + G719S (3)
G719A
G719A + L833F + V834L
G719A + L861Q
G719C + S768I
G719S (2)
G719S + S768I
G721D
I706T + L858R
L703F

Exon 19

E746G (1)
A755V (1)
c.2235_2249del (14)
c.2235_2250del (2)
c.2235_2250del + T790M (1)
c.2235-2249del + T790M (1)
c.2236_2250del (3)
c.2236_2257delinsCTCT (1)
c.2237_2255delinsT (3)
c.2238_2252del (1)
c.2238_2255del (1)
c.2239_2248delinsC (4)
c.2239_2248delinsC (1)
c.2239_2250delinsCCA (1)
c.2239_2256del (1)
c.2239_2256del (1)
c.2239_2256del + T790M (1)
c.2239_2257del (1)
c.2239_2263delinsGCAA (1)
c.2240_2257del (2)
c.2240_2264delinsCGAGAGA (1)
c.2308_2309insCCAGCGTGG (1)

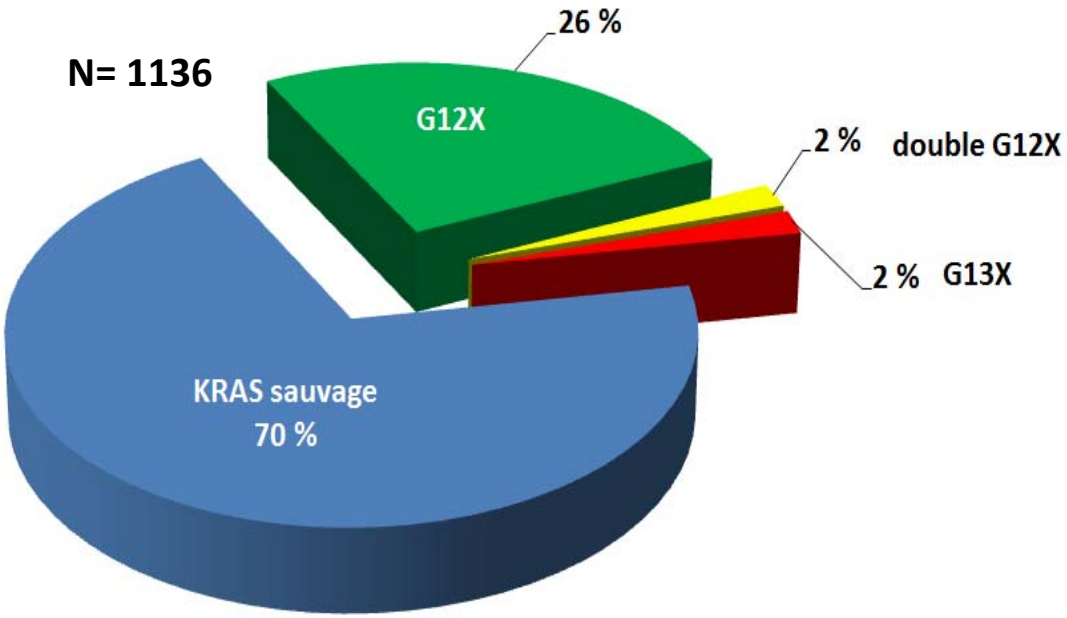
Exon 20

R803Q
T785A + C797L
T785I + R803Q
A763V
A767T
D807N + S811S
G779F
L788F + G857E
L792P
Q791Stop
R803Q
S768I + V769L (2)
T790A
T790M + L858R
Y764Y + V774A + N816S

Exon 21

G824D
G857V
H850Y
L833V + L858R
L858R (20)
L858R + L747S
L861Q
P848L
Q849L
T847I
T854I + A854V

Autres mutations recherchées



gène	patients	mutations
HER2	559	2
PIK3CA	383	5
BRAF	727	14
ALK/EML4	942	24

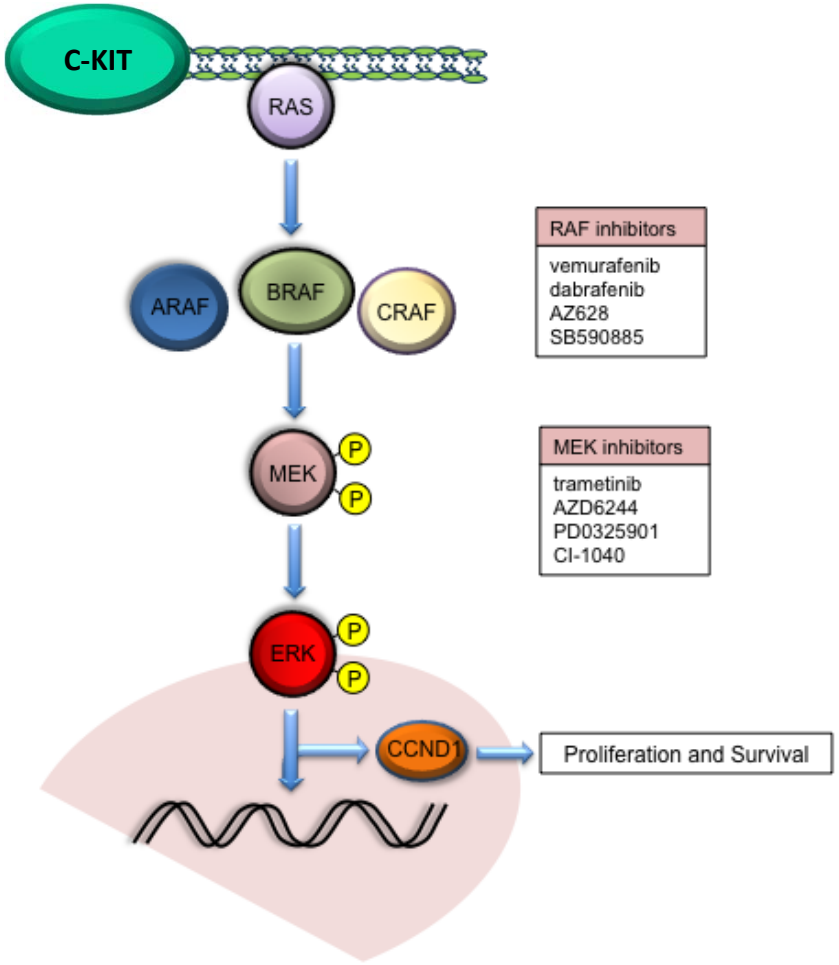
Biomarqueurs moléculaires prédictifs des thérapies ciblées dans les mélanomes

Les molécules et leurs cibles

Imatinib, nilotinib, dasatinib, sunitinib : inhibiteurs de tyrosine kinase, anti c-kit avec mutation activatrice

Zelboraf® (vémurafenib) et Tafinlar® (dabrafénib) : indiqués en monothérapie dans le traitement des patients adultes atteints d'un mélanome non résécable ou métastatique porteur d'une mutation BRAF V600.

Mekinist® (tramétinib) : indiqué en monothérapie pour le traitement du mélanome métastatique ou inopérable exprimant une mutation V600 du gène BRAF.



D'après Gowrishankar et al, in : Melanoma - From Early Detection to Treatment", 2013

Anomalies moléculaires dans les mélanomes

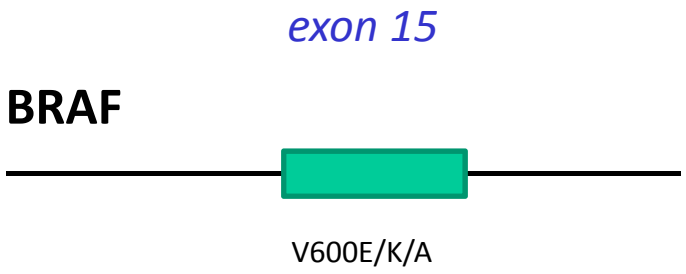
- 40% des patients atteints de mélanome ont des cellules tumorales porteuses de la mutation BRAF V600E.

- des mutations de KIT sont présentes avec des fréquences variables selon le sous-type tumoral :
  - 36 à 39 % respectivement pour les types acral et mucosal
  - 28 % pour les mélanomes dus à une exposition solaire chronique
  - 0 % chez ceux sans exposition solaire

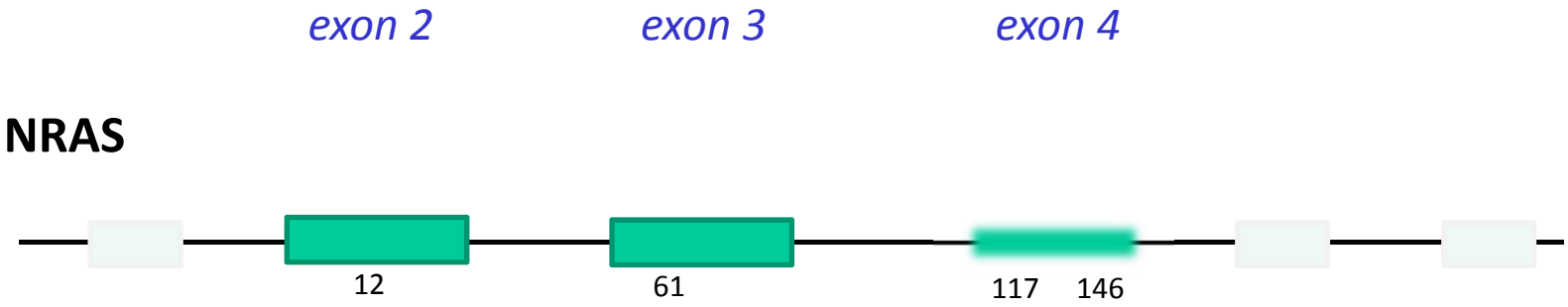
  → anti c-KIT (imatinib, nilotinib, sunitinib, dasatinib) en phase II/III

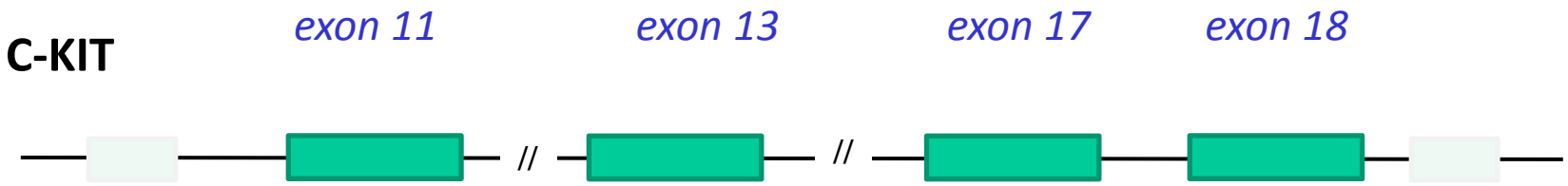
- mutations dans les exons 2 et 3 de NRAS (25%) : Protocoles de phase I/II

En pratique



Biomarqueurs émergents





Et demain ?

Les perspectives …

- **NGS (next generation sequencing)**
  - séquençage exhaustif des tumeurs…
  - l'analyse moléculaire de ~~demain~~ d'aujourd'hui

- **ADN tumoral circulant (biopsie liquide)**
  - répétabilité, simplicité
  - recherche de mutations
  - intérêt pronostique ?
  - dépistage ?

- **Cellules tumorales circulantes**
  - répétabilité
  - approche moléculaire ?
  - intérêt pronostique ?
  - dépistage ?

Demain ou bien aujourd'hui ?

Listes de gènes minimales à analyser dans le cadre d'un usage à visée diagnostique du NGS

Panel tumeurs solides			
gène	**Exons / hotspots**	**Molécule associée**	**utilité clinique**
AKT1	3	AKT inhibitors	essais cliniques
ALK	23+24+25	crizotinib, ALK inhibitors	AcSé, essais cliniques
BRAF	11+15	vemurafenib, dabrafenib	AMM
EGFR	18+19+20+21	anti EGFR	AMM
ERBB2 (HER2)	20	trastuzumab, neratinib	essais cliniques
ERBB4	E452K et R393W	Afatinib	essais cliniques
FGFR2	S252, N549, K659	FGFR inhibitors	essais cliniques
FGFR3	7+9+14 (R248 àS249 et G370 à Y	FGFR inhibitors	essais cliniques
HRAS	2+3+4	inhibiteurs de MEK	essais cliniques
KIT	8+9+11+13+17+18	imatinib	AMM
KRAS	2+3+4	panitumumab et cetuximab	AMM
MAP2K1 (MEK1)	2	inhibiteurs de MEK	essais cliniques
MET	2 + 14 à 20	crizotinib	AcSé
NRAS	2+3+4	panitumumab, MEK inhibitors, BRAF inhibitors	pré-AMM, essais cliniques
PDGFRA	12+14+18	imatinib	AMM
PIK3CA	9 + 20	PI3K inhibitors	essais cliniques

Genes in the TruSeq Amplicon - Cancer Panel illumina

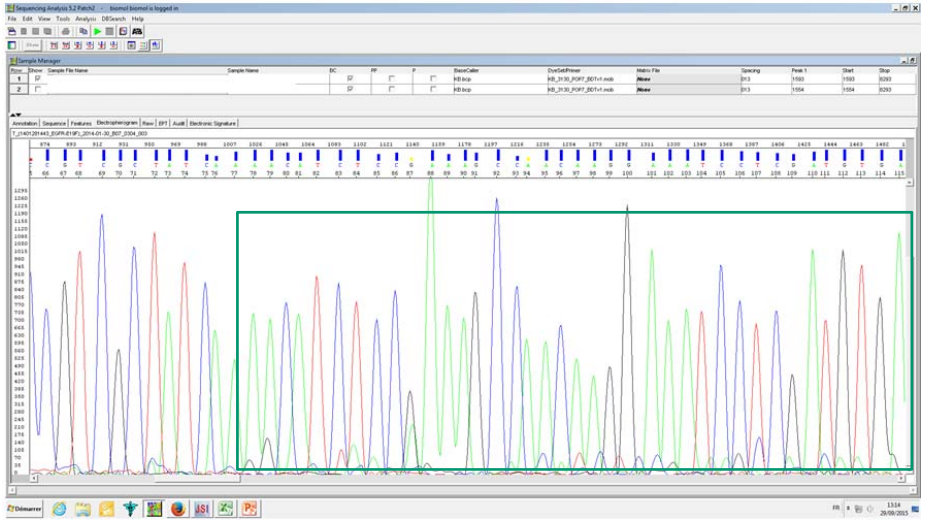
ABL1	EGFR	GNAS	MLH1	RET
AKT1	ERBB2	HNF1A	MPL	SMAD4
ALK	ERBB4	HRAS	NOTCH1	SMARCB1
APC	FBXW7	IDH1	NPM1	SMO
ATM	FGFR1	JAK2	NRAS	SRC
BRAF	FGFR2	JAK3	PDGFRA	STK11
CDH1	FGFR3	KDR	PIK3CA	TP53
CDKN2A	FLT3	KIT	PTEN	VHL
CSF1R	GNA11	KRAS	PTPN11	
CTNNB1	GNAQ	MET	RB1	

The Ion AmpliSeq™ Cancer Panel targets 50 genes

ABL1	EZH2	JAK3	PTEN
AKT1	FBXW7	IDH2	PTPN11
ALK	FGFR1	KDR	RB1
APC	FGFR2	KIT	RET
ATM	FGFR3	KRAS	SMAD4
BRAF	FLT3	MET	SMARCB1
CDH1	GNA11	MLH1	SMO
CDKN2A	GNAS	MPL	SRC
CSF1R	GNAQ	NOTCH1	STK11
CTNNB1	HNF1A	NPM1	TP53
EGFR	HRAS	NRAS	VHL
ERBB2	IDH1	PDGFRA	
ERBB4	JAK2	PIK3CA	

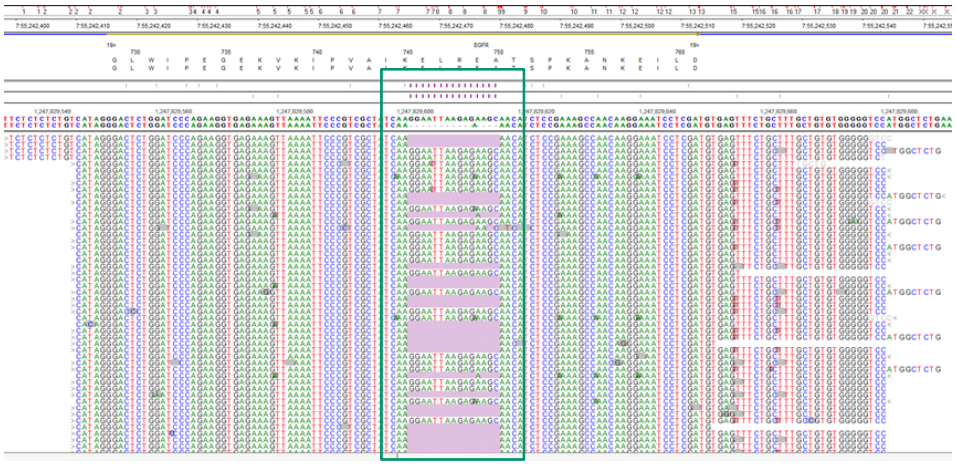
NGS et ADNc

Exon 19 Tumeur janvier 2014

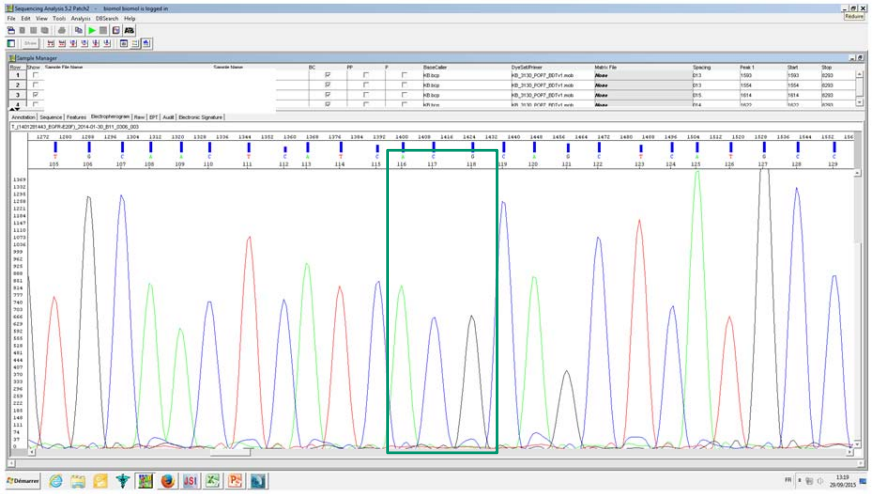


ADNc exon 20 juin 2015

ADNc juin 2015



Tumeur exon 20 janvier 2014



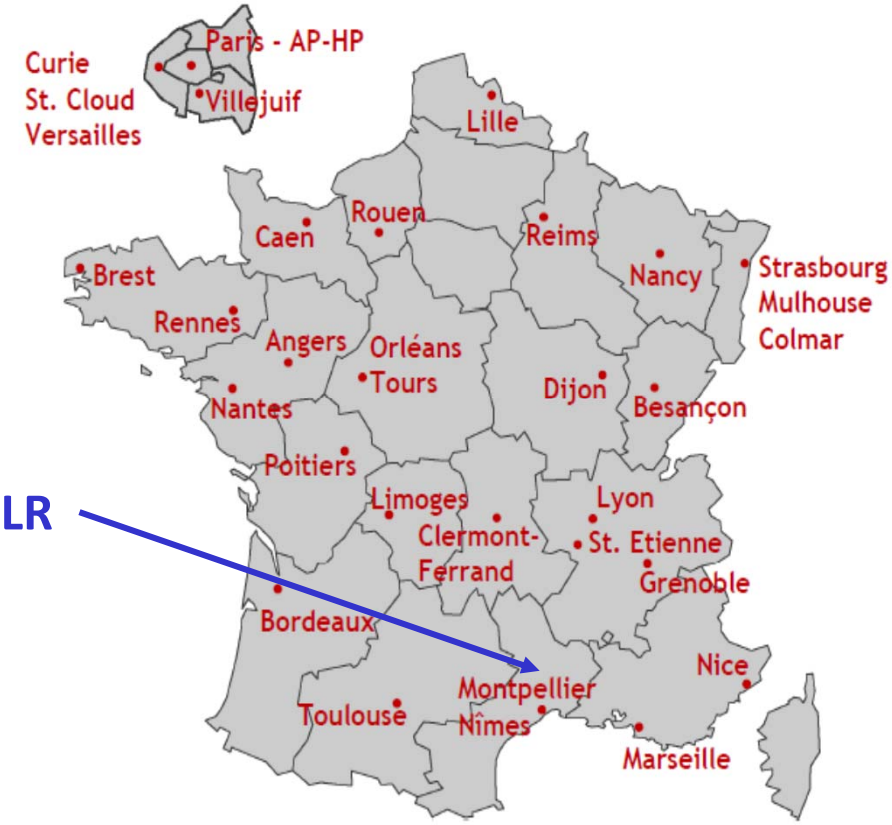
Modalités d'accès aux tests de génétique moléculaire pour les thérapies ciblées en France

Garantir un égal accès aux traitements et aux innovations !

Création de 28 plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers

- ICM Val d'Aurelle
- CHU Montpellier
- CHU Nîmes

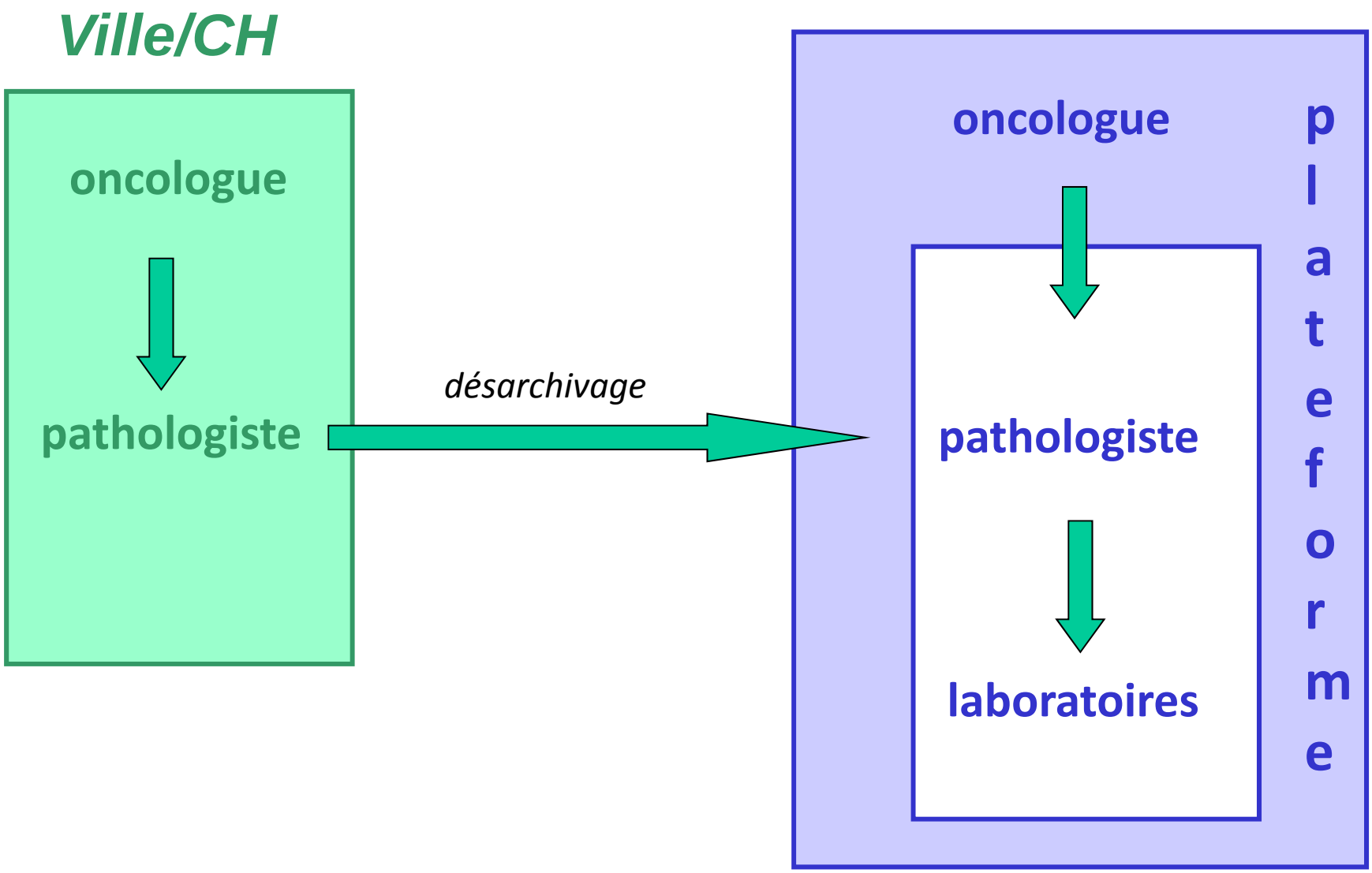
OncoBioLR



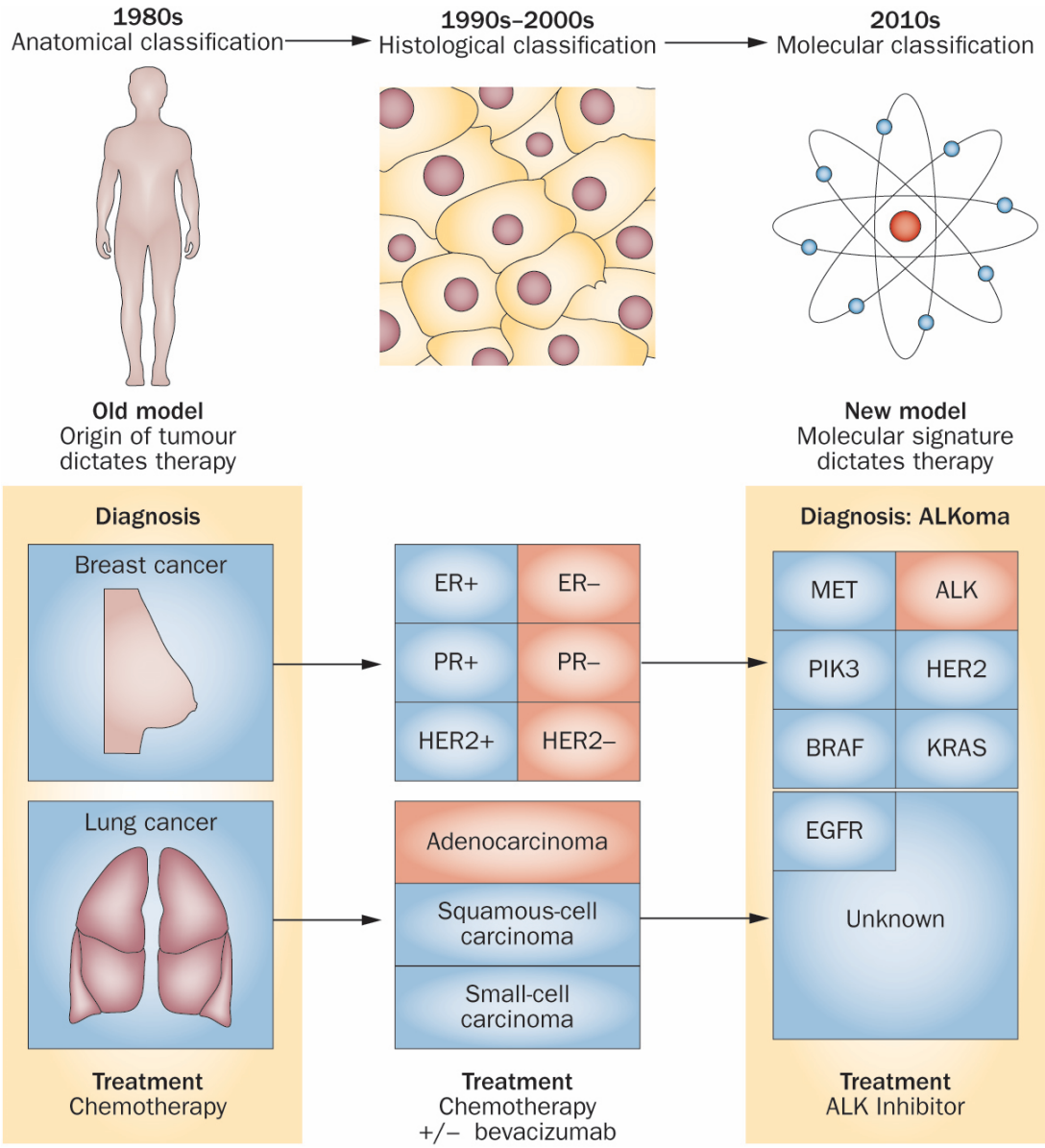
Activité globale 2013 en nombre de patients :

- Poumons : 1174
- Colorectal : 867
- Mélanomes : 224
- MSI : 209
- Ainsi que l'oncohématologie…

Plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers



Pour conclure …



(Munoz et al, *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2012)

CHU NIMES

Jean-Christophe Boyer
Alexandre Evrard
Sophie Bravo
Emilie Gamard
Ghislaine Tuech
Michel Canipel
Evelyne Douard
Nadège Fedou
Mireille Floutier
Sandrine Felines
Ana Pulla

INSTITUT NATIONAL DU CANCER