Comment évaluer un statut HER2 en 2017 ?

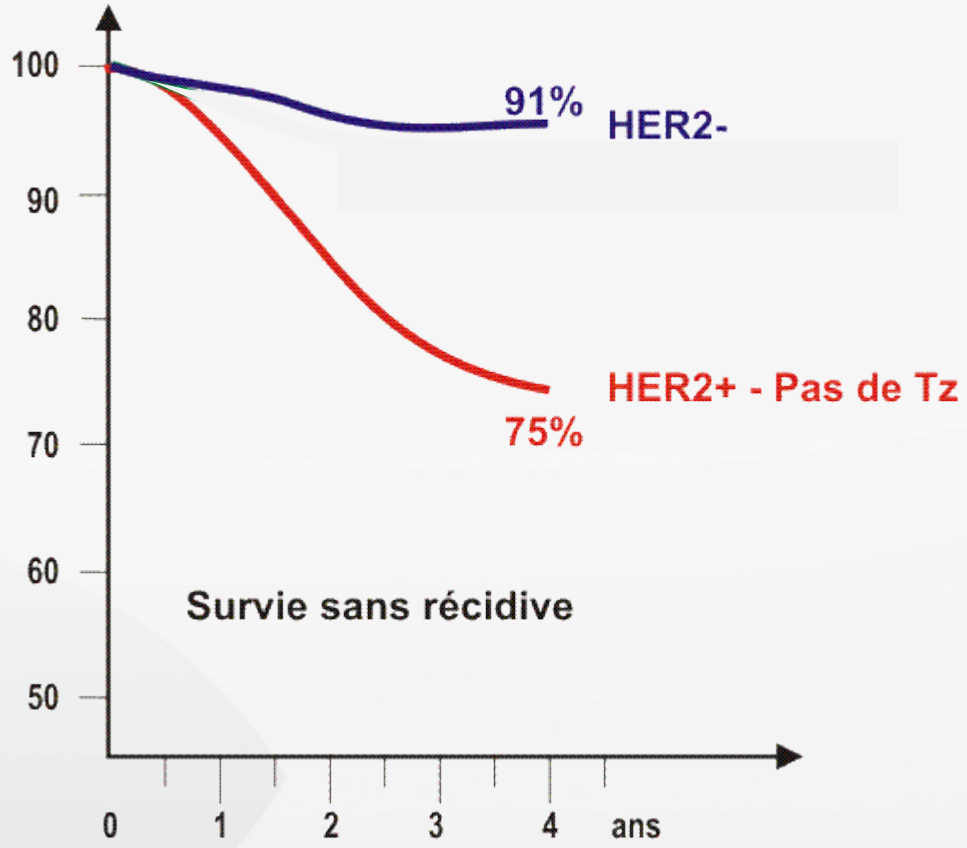
F. Boissière

13/10/2017

ICM
Institut régional du Cancer
Montpellier | Val d'Aurelle

Trastuzumab en adjuvant

HER2 : facteur pronostique péjoratif majeur

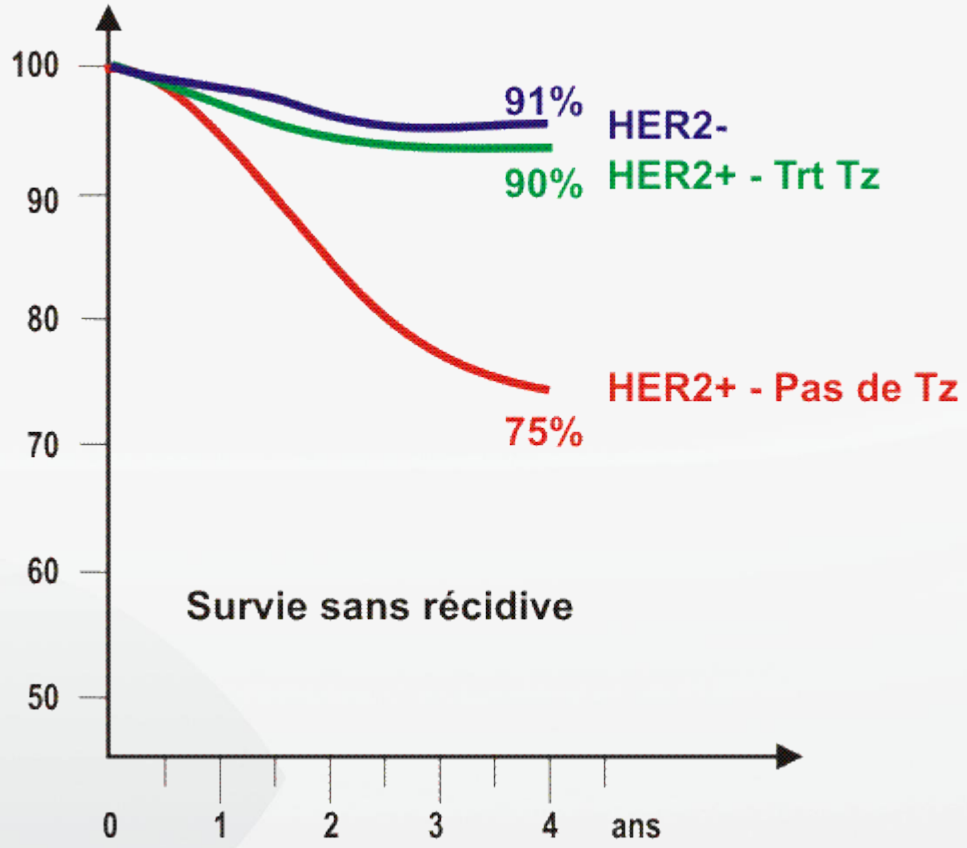


D'après Romond et al. NEJM, 2005
ClinicalTrials. gov numbers, NCT00004067 and NCT00005970

Trastuzumab en adjuvant

HER2 : facteur pronostique péjoratif majeur

Trastuzumab : réverse le mauvais pronostic des tumeurs HER2+



D'après Romond et al. NEJM, 2005
ClinicalTrials. gov numbers, NCT00004067 and NCT00005970

Un peu de vocabulaire…

→ Surexpression :

Augmentation du nombre de récepteurs à la surface de la cellule

→ Amplification :

Augmentation du nombre de copies du gène dans le noyau

Dans >95% des cas : une amplification HER2 = surexpression HER2

<u>Epithélium normal :</u>
~20 000 récepteurs HER2/cellules

<u>Tumeur sein HER2+:</u>
Jusqu'à 1 à 2 millions récepteurs HER2/cellules

Importance de la détermination du statut HER2

→Identifier les patientes susceptibles de répondre au traitement

→ problème des faux négatifs

→Identifier les patientes qui ne vont pas répondre au traitement (effets secondaires, aspects médico-économiques)

→ problème des faux positifs

Recommandations

→ 2007: recommandations ASCO/CAP pour l'évaluation du statut HER2 (IHC et FISH)

- → Réduire le risque de faux positifs

→ 2013: mise à jour des recommandations ASCO/CAP

- → Eviter au maximum le risque de faux négatifs (modification des seuils, hétérogénéité tumorale, corrélations clinico-pathologiques)
- → Ajout de nouvelles méthodes (CISH, SISH)

→ 2014: recommandations GEFPICS (France)

HER2 Testing

→ Phase pré-analytique :

- ✓ Prise en charge de la biopsie/pièce opératoire (délai d'ischémie froide, circuits…)
- ✓ Fixation (type de fixateur, durée, décalcification…)
- ✓ Inclusion
- ✓ Préparation des lames (épaisseur, séchage…)

→ Phase analytique :

- ✓ IHC, HIS
- ✓ AQ (témoins, traçabilité, validation)

→ Interprétation :

- ✓ Scoring

HER2 Testing

→ Phase pré-analytique :

- ✓ Prise en charge de la biopsie/pièce opératoire (délai d'ischémie froide, circuits…)
- ✓ Fixation (type de fixateur, durée, décalcification…)
- ✓ Inclusion
- ✓ Préparation des lames (épaisseur, séchage…)

→ Phase analytique :

- ✓ IHC, HIS
- ✓ AQ (témoins, traçabilité, validation)

→ Interprétation :

- ✓ Scoring

Phase pré-analytique

Prise en charge de l'échantillon:

- ✓ Temps d'ischémie froide (patient ←→ fixateur)
  - → Doit être le plus court possible
    - → Quelques minutes pour les biopsies
    - → ≤ 1 heure pour les PO

    } Traçabilité (heure début/fin)
  - → PO : Nécessite une prise en charge spécifique (/ex mastectomie)

Phase pré-analytique

Prise en charge de l'échantillon:

- ✓ Temps d'ischémie froide (patient ←→ fixateur)
  - → Doit être le plus court possible
    - → Quelques minutes pour les biopsies
    - → ≤ 1 heure pour les PO

    } Traçabilité (heure début/fin)
  - → PO : Nécessite une prise en charge spécifique (/ex mastectomie)

Phase pré-analytique

Prise en charge de l'échantil

- ✓ Temps d'ischémie fr
  - → Doit être le plus cou
    - → Quelques minutes p
    - → ≤ 1 heure pour les PO
- ✓ Fixation
  - → Fixateur : formol neutre tamponné 10%

Formol = solution saturée de formaldéhyde (40% Volume/volume ou 37% masse/volume).
Formol neutre 10% = solution diluée à 10% (4% ou 3,7% formol)

Phase pré-analytique

Prise en charge de l'échantillon:

- ✓ Temps d'ischémie froide (patient ←→ fixateur)
  - → Doit être le plus court possible
    - → Quelques minutes pour les biopsies
    - → ≤ 1 heure pour les PO

    } Traçabilité (heure début/fin)
- ✓ Fixation
  - → Fixateur : formol neutre tamponné 10%
  - → Durée : minimum 6h; maximum 72h
- ✓ Décalcification
  - → Maîtrise des concentrations (EDTA, acide formique) et de la durée
- ✓ Préparation des lames
  - → Epaisseur des coupes (+++ pour HIS) : 3 – 5 µm
  - → Séchage
  - → Conservation (<15 jours, +4°C)

HER2 Testing

→ Phase pré-analytique :

- ✓ Prise en charge de la biopsie/pièce opératoire (délai d'ischémie froide, circuits…)
- ✓ Fixation (type de fixateur, durée, décalcification…)
- ✓ Inclusion
- ✓ Préparation des lames (épaisseur, séchage…)

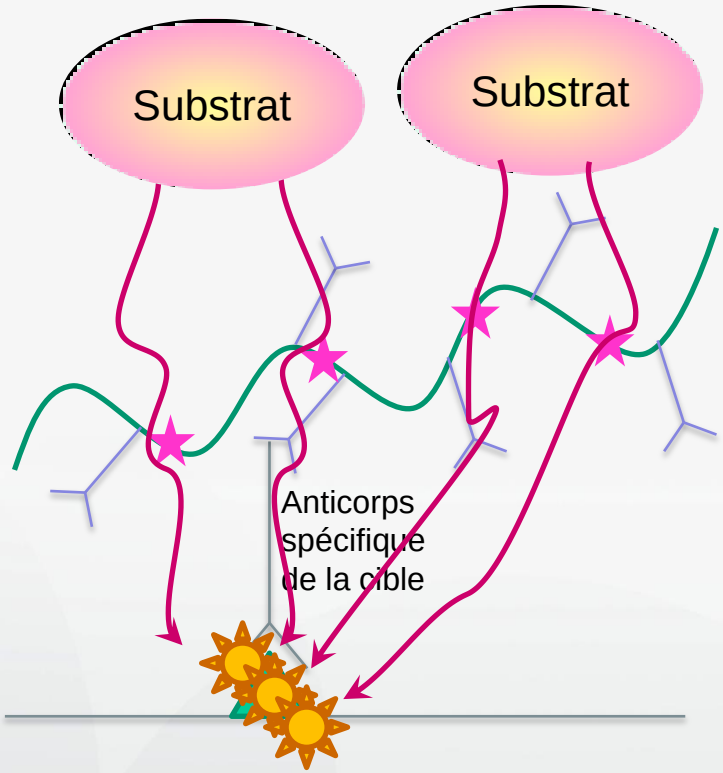
→ Phase analytique :

- ✓ IHC, HIS
- ✓ AQ (témoins, traçabilité, validation)

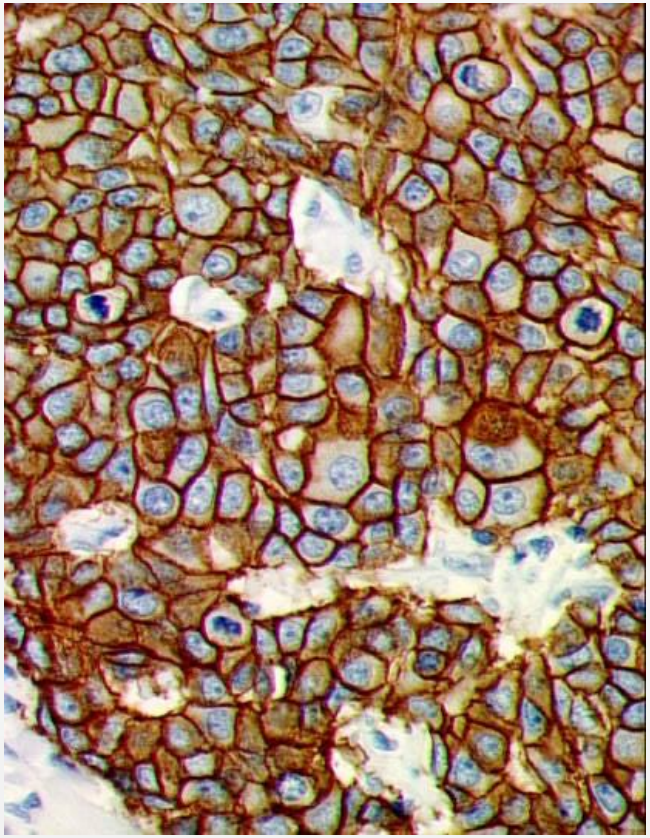
→ Interprétation :

- ✓ Scoring

Immunohistochimie



Polymère couplé à des anticorps secondaires et à une enzyme spécifique



→ Expression d'une protéine

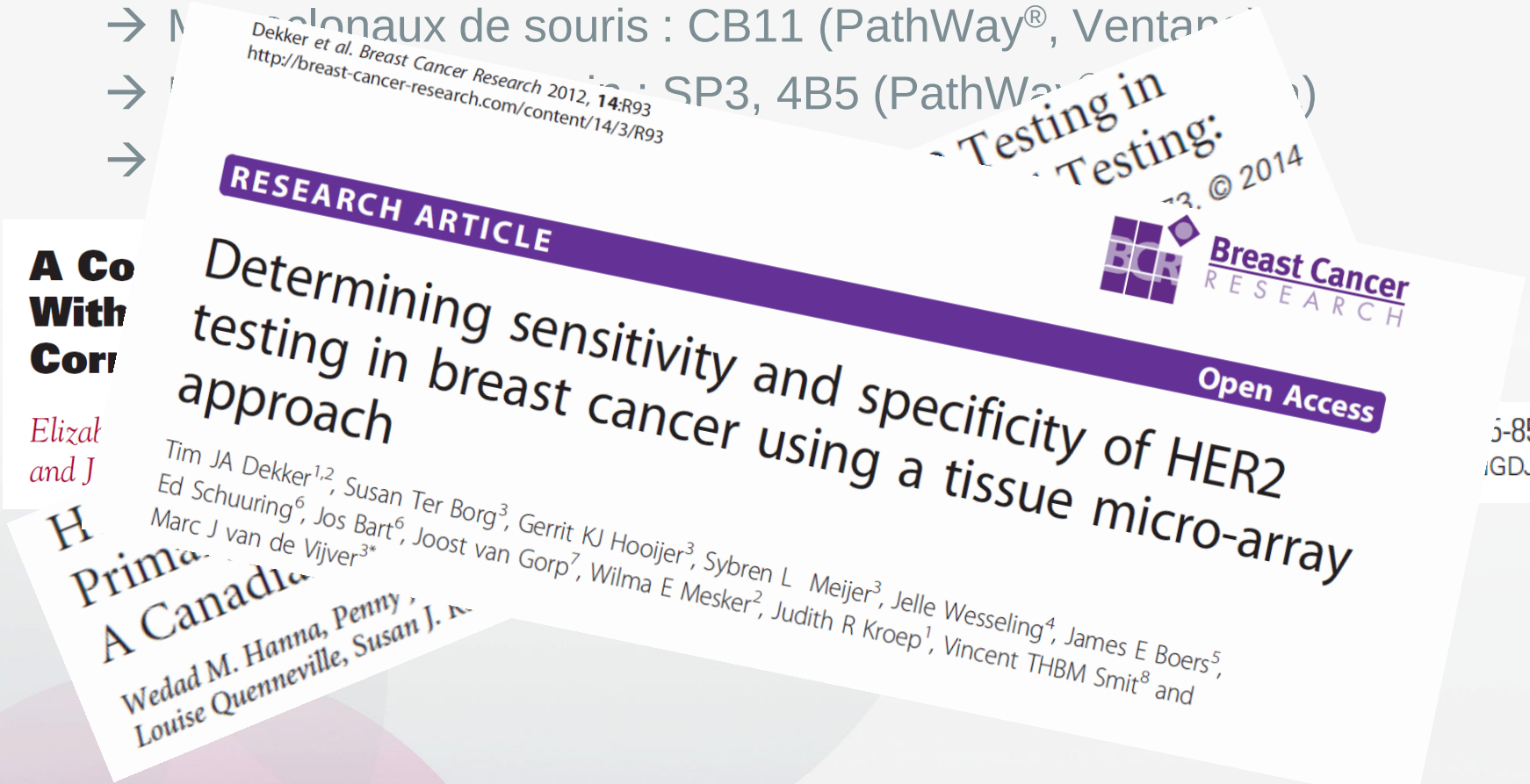
Immunohistochimie

Plusieurs Ac anti-HER2 commercialisés

→ M[illegible]clonaux de souris : CB11 (PathWay®, Ventan[illegible]

→ [illegible] : SP3, 4B5 (PathWa[illegible])

→


Dekker et al. Breast Cancer Research 2012, 14:R93
http://breast-cancer-research.com/content/14/3/R93

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Determining sensitivity and specificity of HER2 testing in breast cancer using a tissue micro-array approach

Tim JA Dekker[1,2], Susan Ter Borg[3], Gerrit KJ Hooijer[3], Sybren L Meijer[3], Jelle Wesseling[4], James E Boers[5], Ed Schuuring[6], Jos Bart[6], Joost van Gorp[7], Wilma E Mesker[2], Judith R Kroep[1], Vincent THBM Smit[8] and Marc J van de Vijver[3*]

Breast Cancer RESEARCH

Testing in

Testing:

© 2014

A Co
With
Corr

Elizal
and J

H

Prima

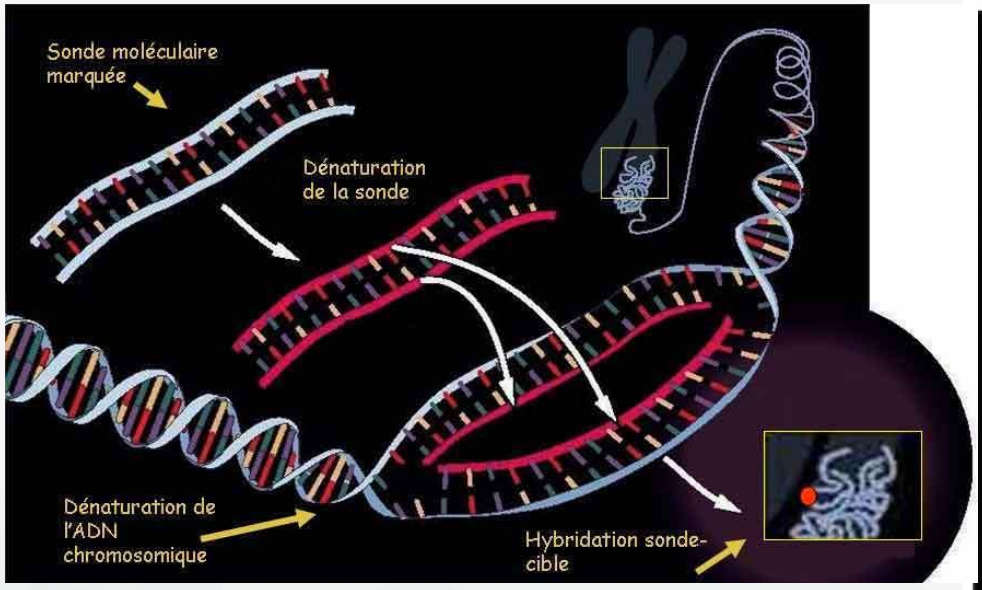
A Canadi

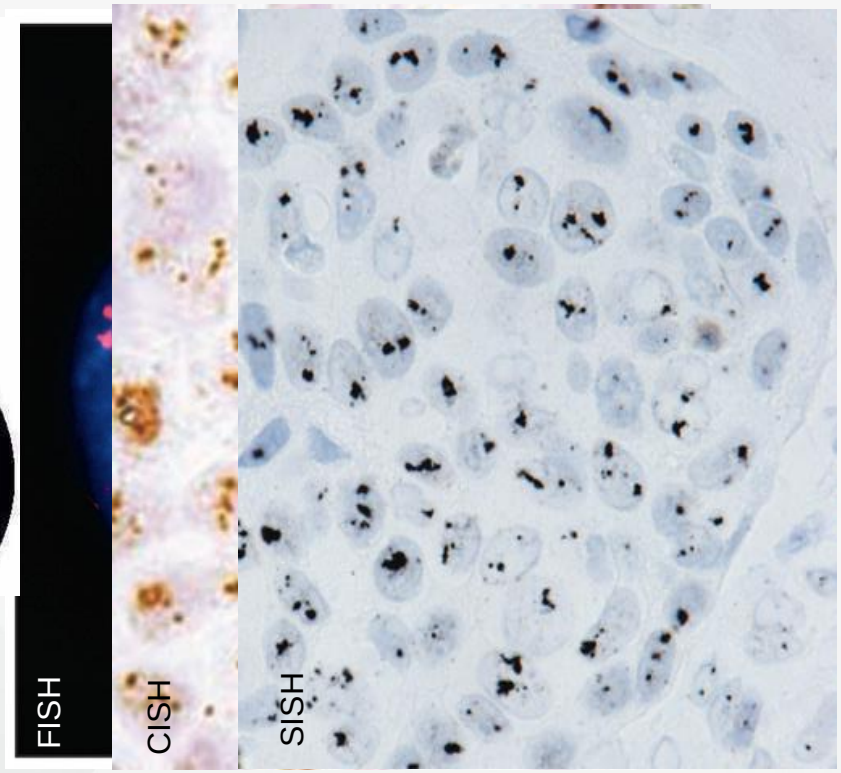
Wedad M. Hanna, Penny
Louise Quenneville, Susan J. K

5-851
GDJG

→ Aucun test recommandé par les sociétés savantes

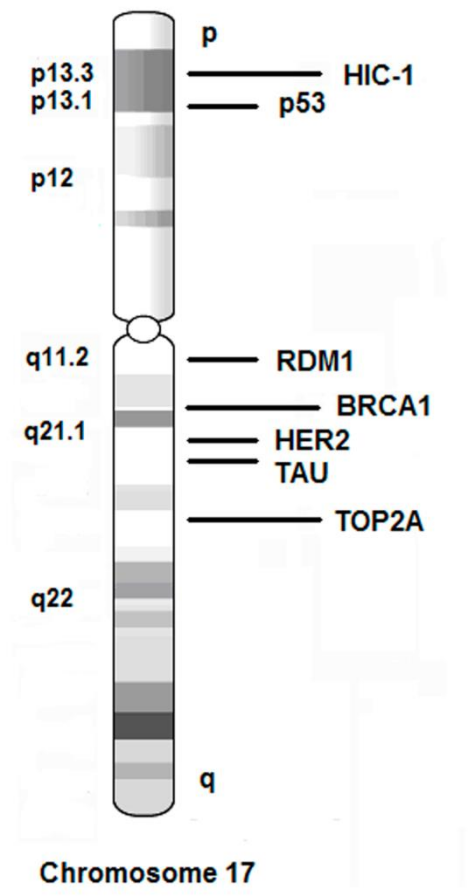
Hybridation *in situ (ADN)*

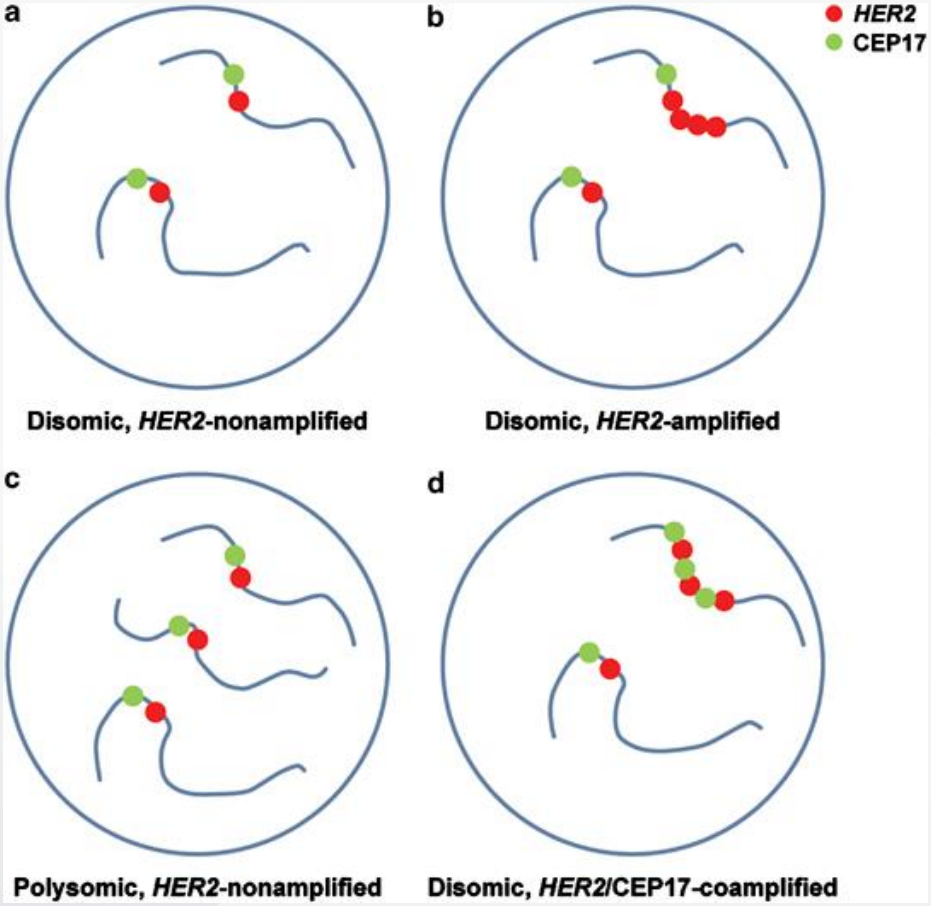




→ Amplification d'un gène

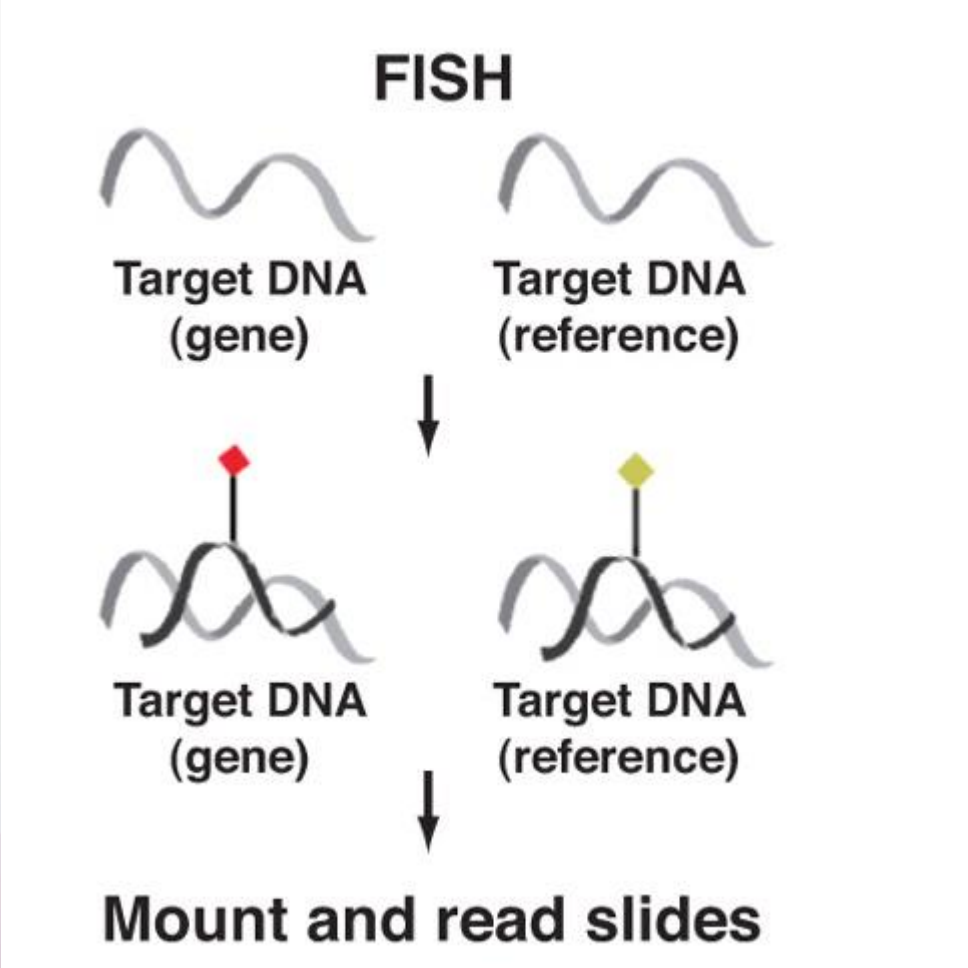
Amplification/polysomie

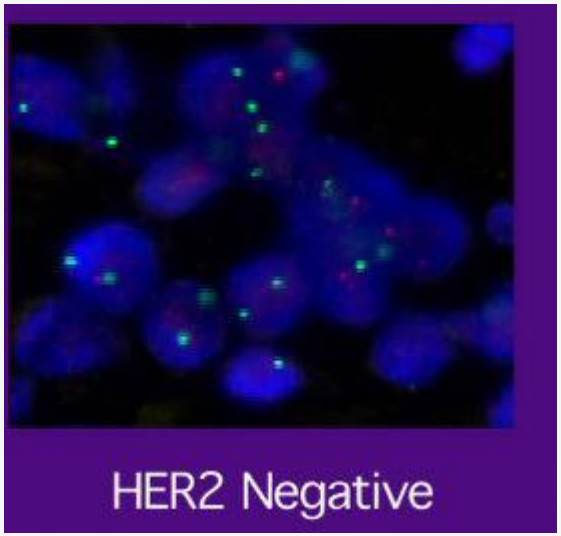


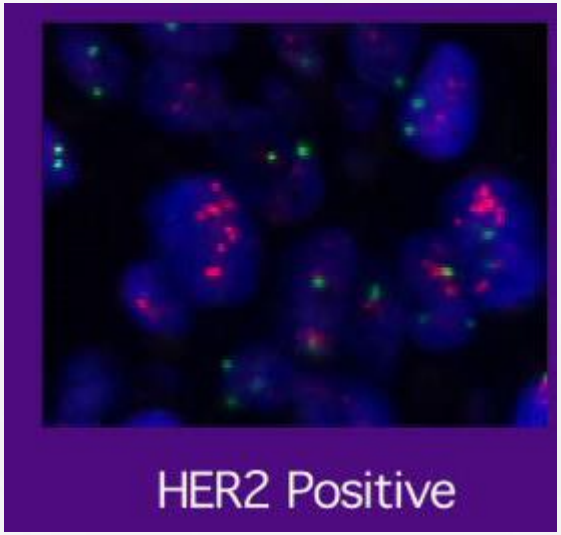


Hanna et al., *Modern Pathology* (2014)

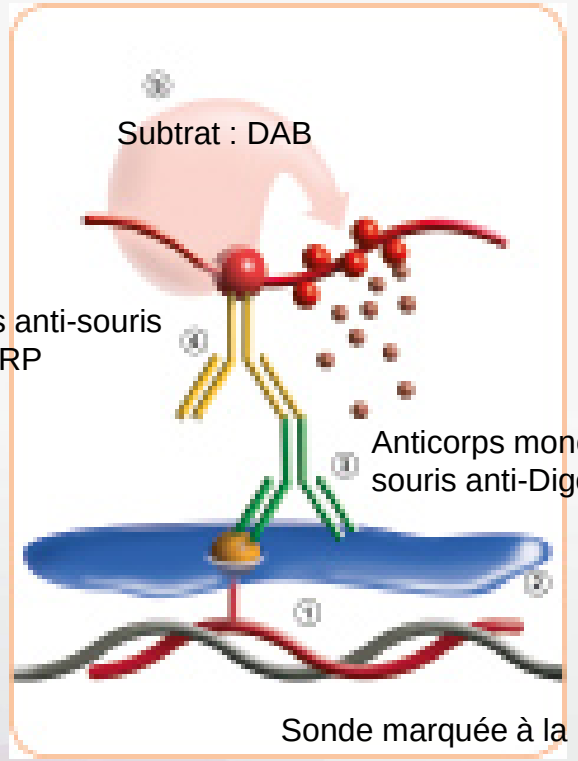
FISH

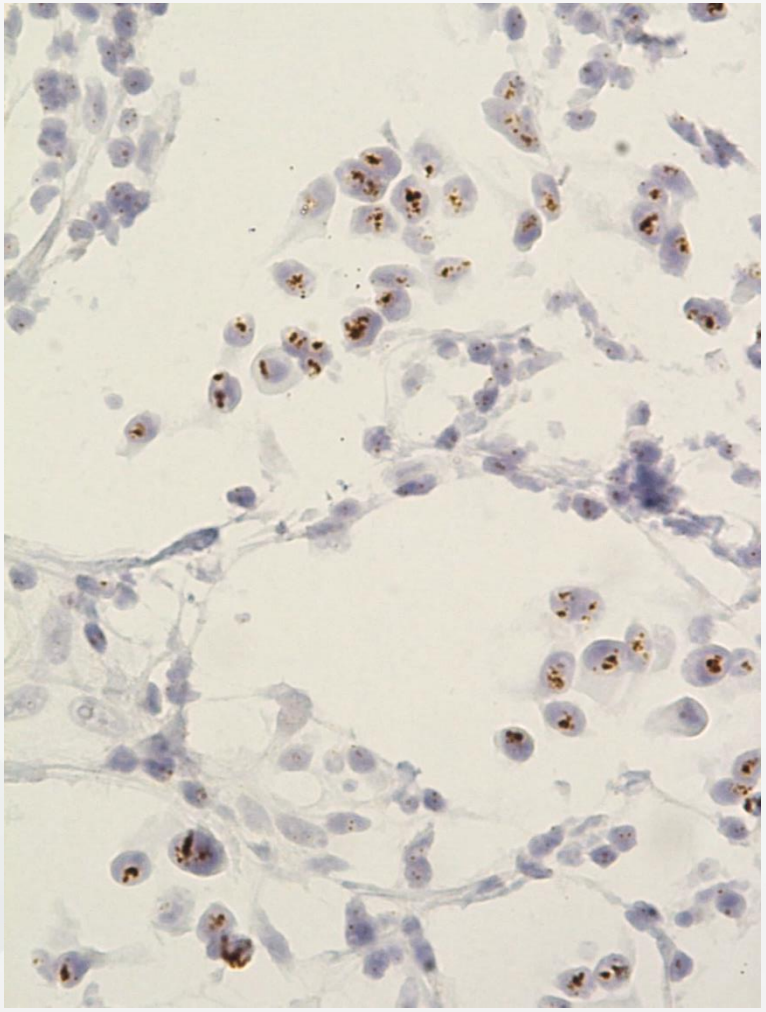

FISH
Target DNA (gene)
Target DNA (reference)
Target DNA (gene)
Target DNA (reference)
Mount and read slides


HER2 Negative


HER2 Positive

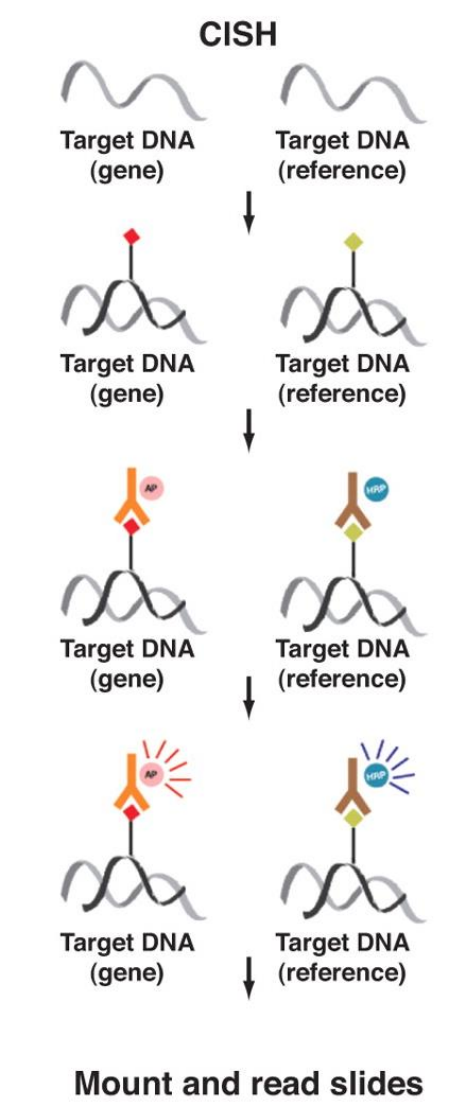
Single - CISH

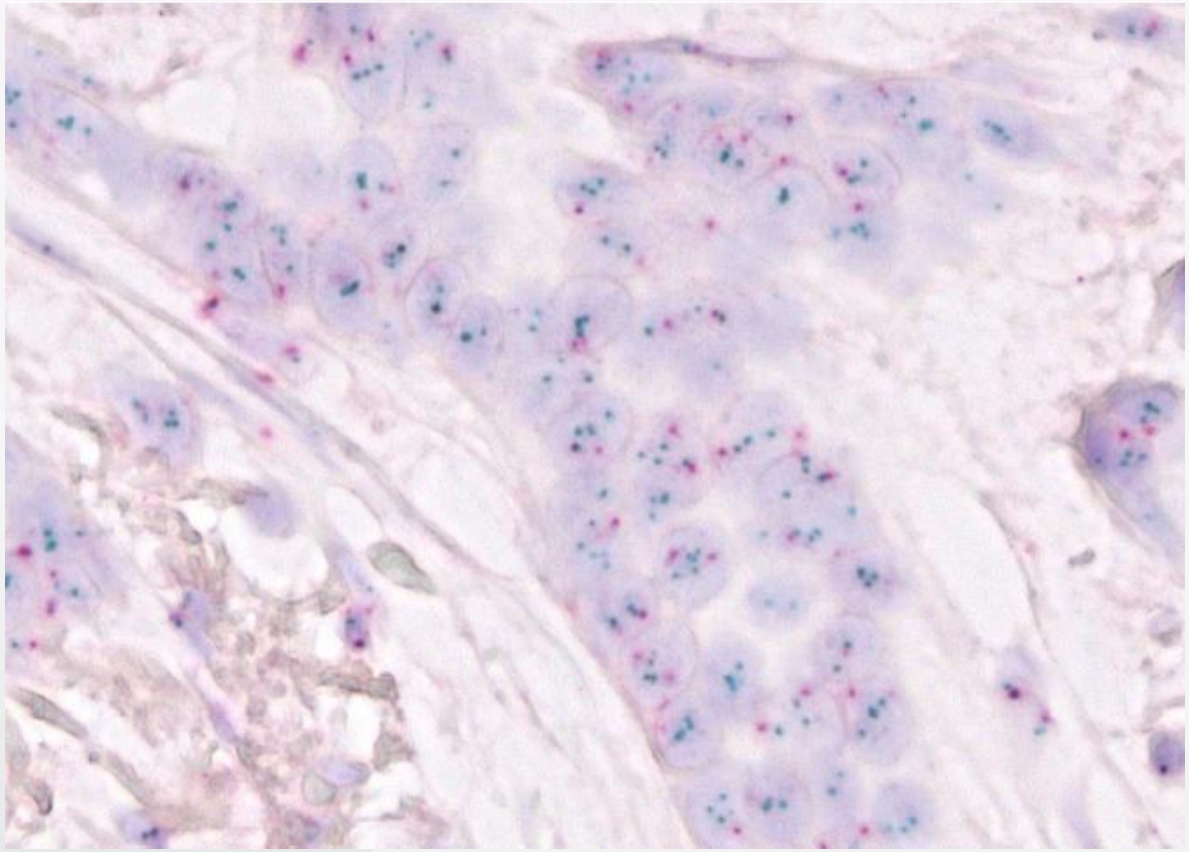




HER2

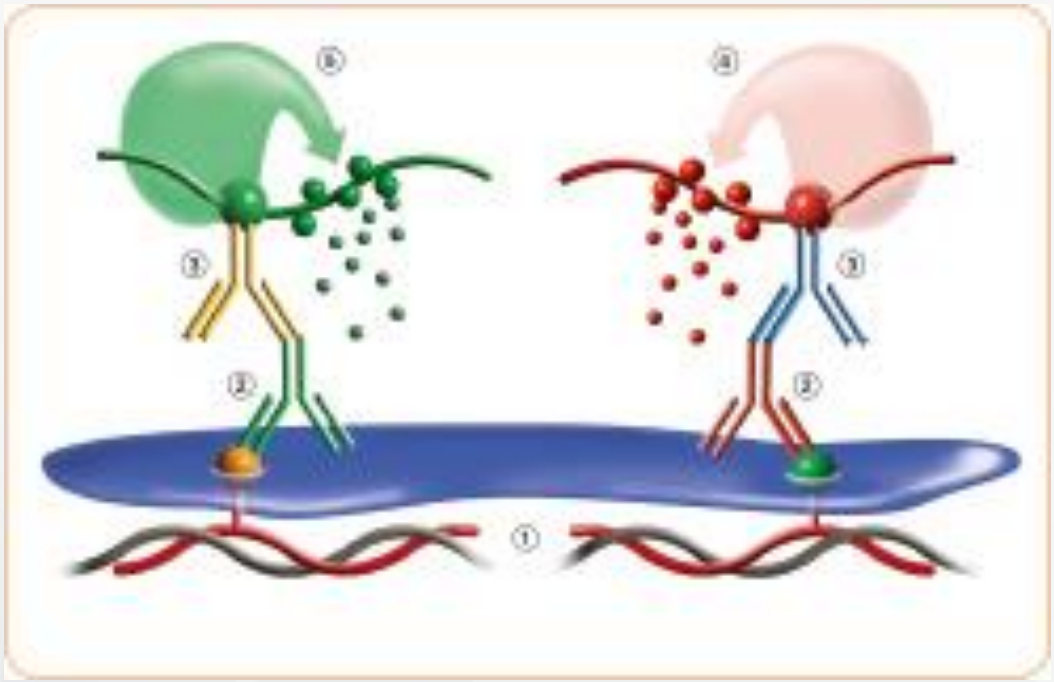
Dual - CISH

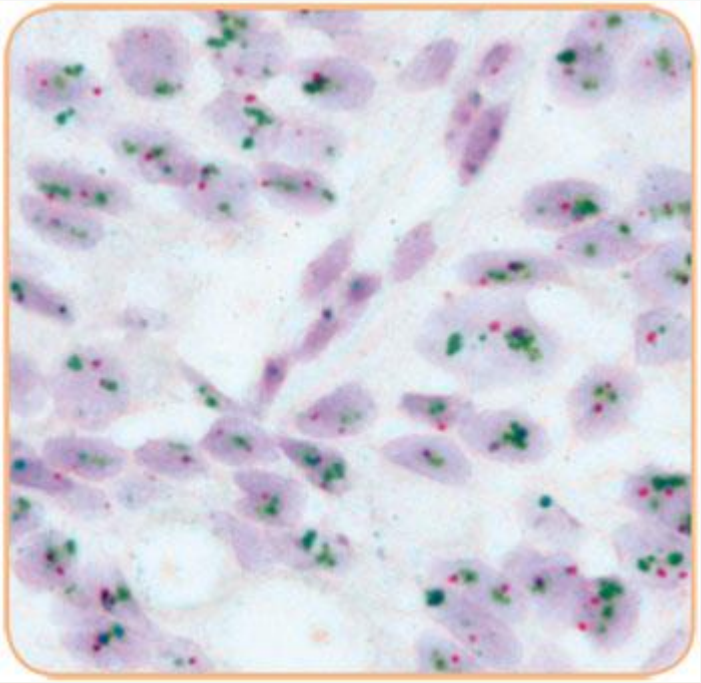




HER2/C17

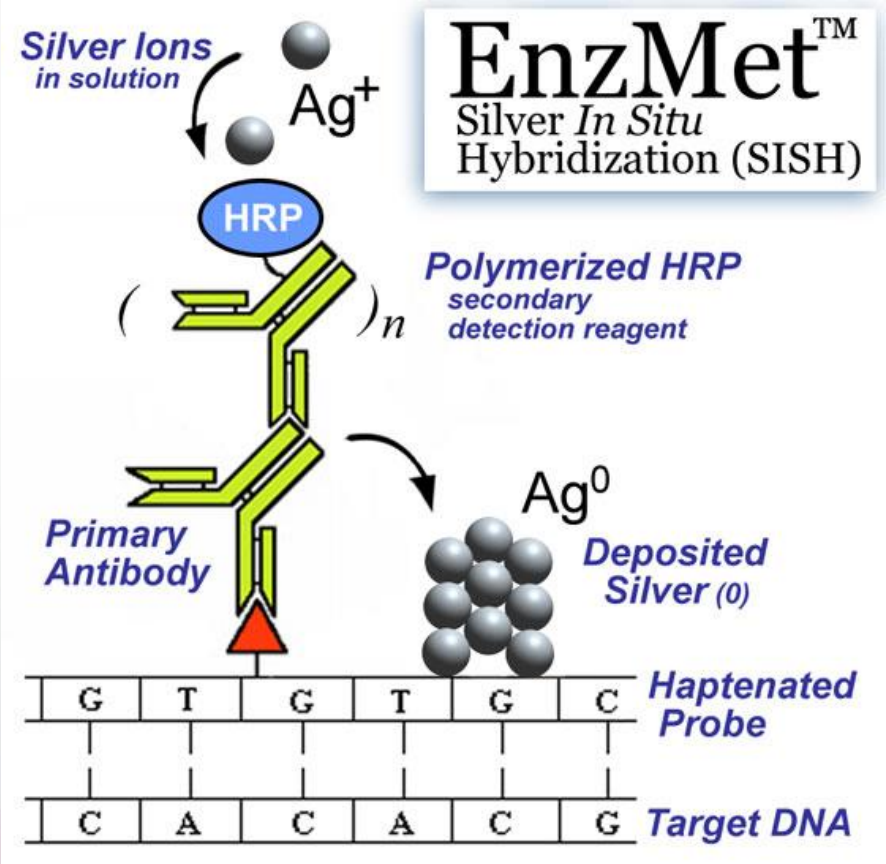
Dual - CISH

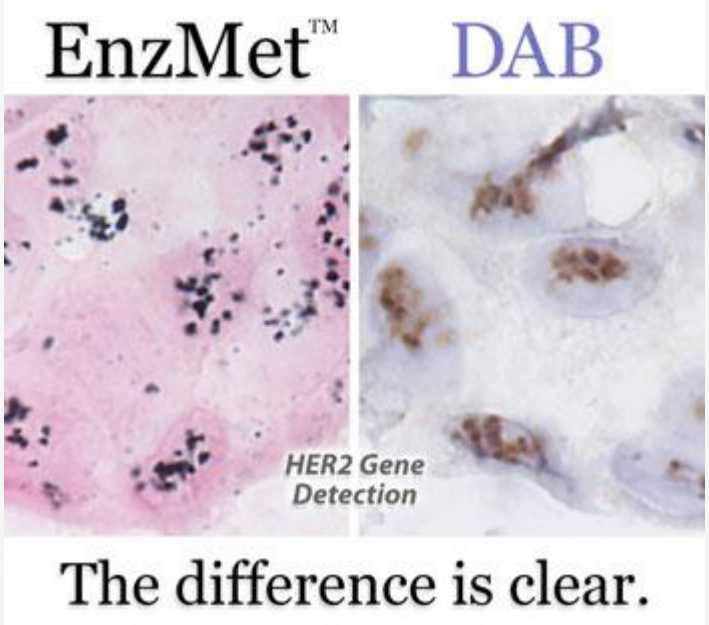




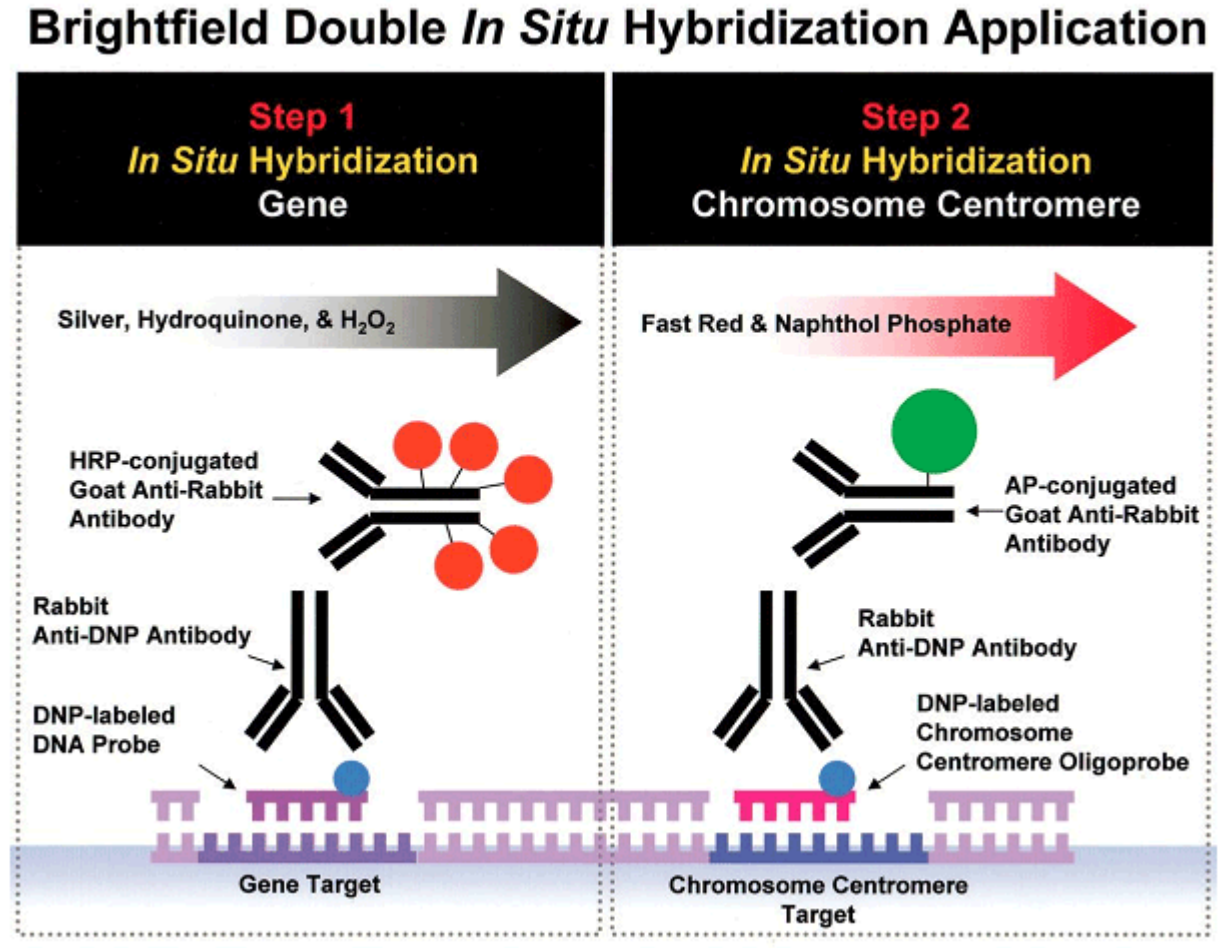
HER2/C17

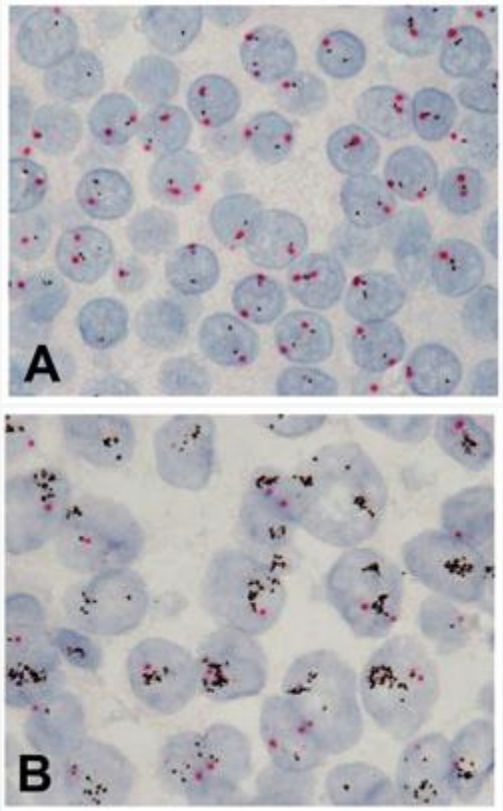
SISH ou BrISH





Dual SISH ou BrISH





HER2/C17

Quelle ISH?

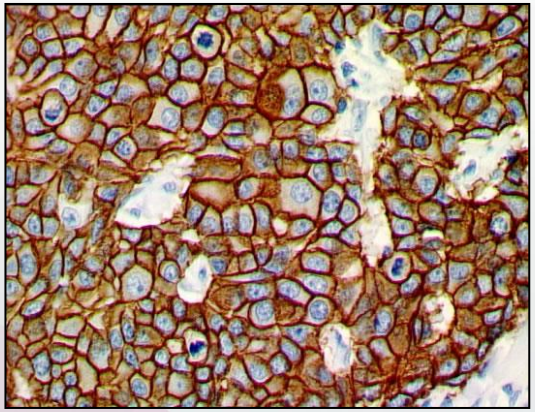
	FISH	CISH	SISH
Observation simultanée morphologie et signaux	✗	✓	✓
Equipement (microscope classique)	✗	✓	✓
Rapidité d'interprétation	✓	✓	✓
Résolution	✓	✗	✓
Stockage des lames (signaux permanents)	✗	✓	✓
Robustesse	✓	✓	✗

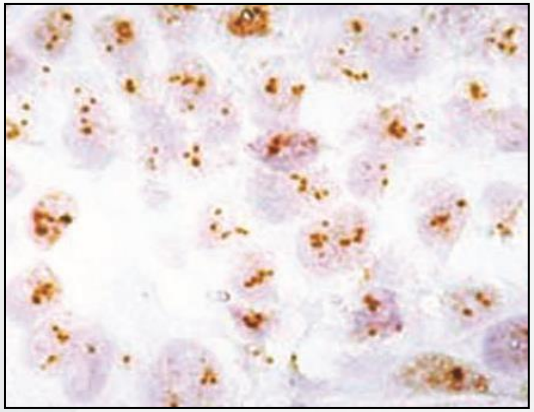
→ Aucun test recommandé par les sociétés savantes

Phase analytique

Assurance qualité:

- ✓ Traçabilité
  - → Type de fixateur (N°lot), temps d'ischémie froide, durée de fixation
- ✓ Validation IHC par ISH
  - → A la mise en place initiale (20-40 cas HER2+ et HER2-)
  - → A toute modification du protocole





Phase analytique

Assurance qualité:

- ✓ Traçabilité
  - → Type de fixateur (N°lot), temps d'ischémie froide, durée de fixation
- ✓ Validation IHC par ISH
  - → A la mise en place initiale (20-40 cas HER2+ et HER2-)
  - → A toute modification du protocole
- ✓ Témoins
  - → Grouper les techniques, travailler par lots
  - → Inclure un témoin externe (bloc multi-tissulaire dont cas 2+ validé en ISH)
  - → Inclure un témoin interne /lame
- ✓ Contrôle qualité
  - → Programme externe (https://www.afaqap.fr)
  - → Seuil minimal coût efficace (250 IHC; 100 HIS)
  - → Surveillance taux de HER2+

Taux HER2+

CANALAIRES

T1a/b (<1 cm) :	9%
< 2cm :	10-15%
>2 cm :	20-25%
Grade I	5%
Grade II	10-17%
Grade III	29%
N-	9-20%
1-3 N+	16-21%
≥ 4N+	28%

AUTRES TYPES

Lobulaire	3-5%
Tubuleux	0%
Médullaire, basal-like	0%
BRCA1 mut	0%
BRCA2 mut	6%
Cancer inflammatoire	30%
Sein Homme	11 à 30%

Bartlett et al., 2007
Penault-Llorca et al., 2008
Rodrigues et al., 2010
Ignatiadis et al., 2012

Surveillance du taux d'HER2

Surveillance du taux d'HER2

Institut régional du Cancer Montpellier | Val d'Aurelle

afAQap — HERFrance

Utilisateur : Structure 003 Dernière connexion : 24/02/2012 Page précédente Sommaire Aide Demande d'information Quitter

HER2 | RO | RP | Ki-67

2 Sélectionner le type de données (HER2, RO, RP, Ki-67)

Exporter — Cette fonction permet d'exporter les données du tableau

4 Sélectionner les critères de tri des cas

Afficher par : Type tumoral / Grade / Taille

- ☑ Bloc interne
- ☑ Bloc externe (sous-traitance régulière)
- ☑ Bloc externe (examen ciblé de recours)
- ☑ Bloc d'origine « Non renseignée »

Naviguer : HER2 > Type tumoral

3 Choisir une période puis « Actualiser »

Période du 24-01-2012 au 24-02-2012 Actualiser

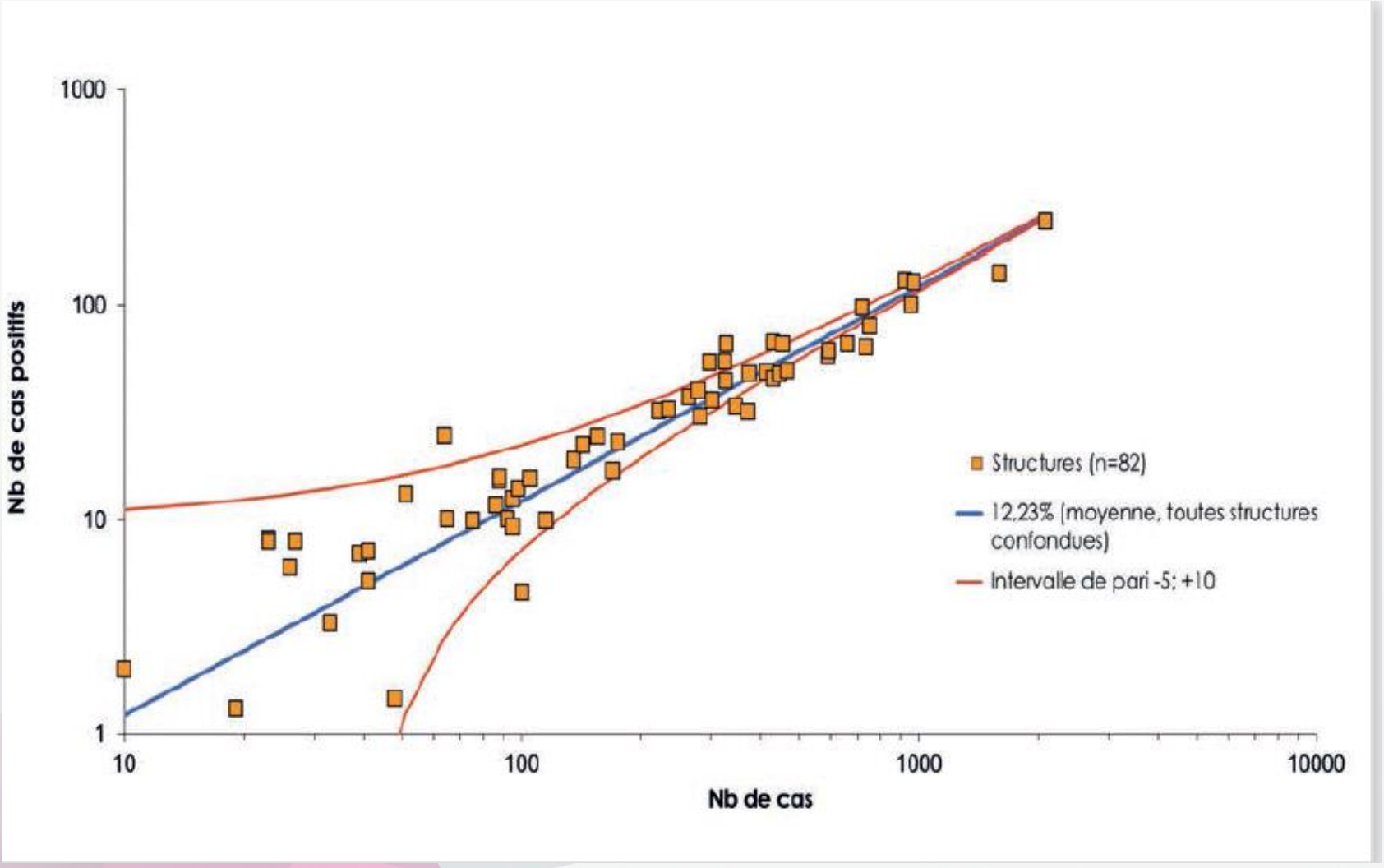
Données de la structure cas 49 total en % : 100

Données nationales cas 74 total en % : 100

5 Cliquer pour afficher le détail

	Données de la structure			Données nationales		
	Cas	% cas	Intervalle de confiance (en %)	Cas	% cas	Intervalle de confiance (en %)
Canalaire NOS	5	21	11.4	16	40	11.16
Lobulaire	5	21	11.4	7	18	8.75
Mucineux	6	25	12.12	6	15	8.14
Tubuleux	4	17	10.52	7	18	8.75
Autre	4	17	10.52	4	10	6.84
Non renseigné	25	51		34	46	
Tous types	49	100		74	100	

Surveillance du taux d'HER2



Autres techniques

- q-PCR
- RT-q-PCR
- CGH
- microArrays
- Cellules tumorales circulantes

Non validées (limitées aux projets de recherche et aux essais cliniques)

Qui tester ?

- Tout cancer du sein invasif (biopsie)
  - ✓ Quelle que soit sa taille,
  - ✓ Quel que soit le type histologique,
  - ✓ Quel que soit l'âge du patient
- Toute récidive métastatique accessible à la biopsie
- Tumeurs grade I RH+ ou types histologiques tubuleux, lobulaires, mucineux pour lesquels la biopsie était initialement HER2+
- Toute pièce opératoire pour lesquelles la biopsie était initialement HER2-.

Quelle stratégie?

- IHC : test de screening (1ère intention)
  - ✓ Négatif : 0, 1+
  - ✓ Positif : 3+
  - ✓ Equivoque : 2+
- HIS : pour classer les cas 2+
  - ✓ 2+ amplifié
  - ✓ 2+ non amplifié
  - ✓ 2+ équivoque
- HIS : pour classer aussi pour les ‘’bizarreries’’…

HER2 Testing

→ Phase pré-analytique :

- ✓ Prise en charge de la biopsie/pièce opératoire (délai d'ischémie froide, circuits…)
- ✓ Fixation (type de fixateur, durée, décalcification…)
- ✓ Inclusion
- ✓ Préparation des lames (épaisseur, séchage…)

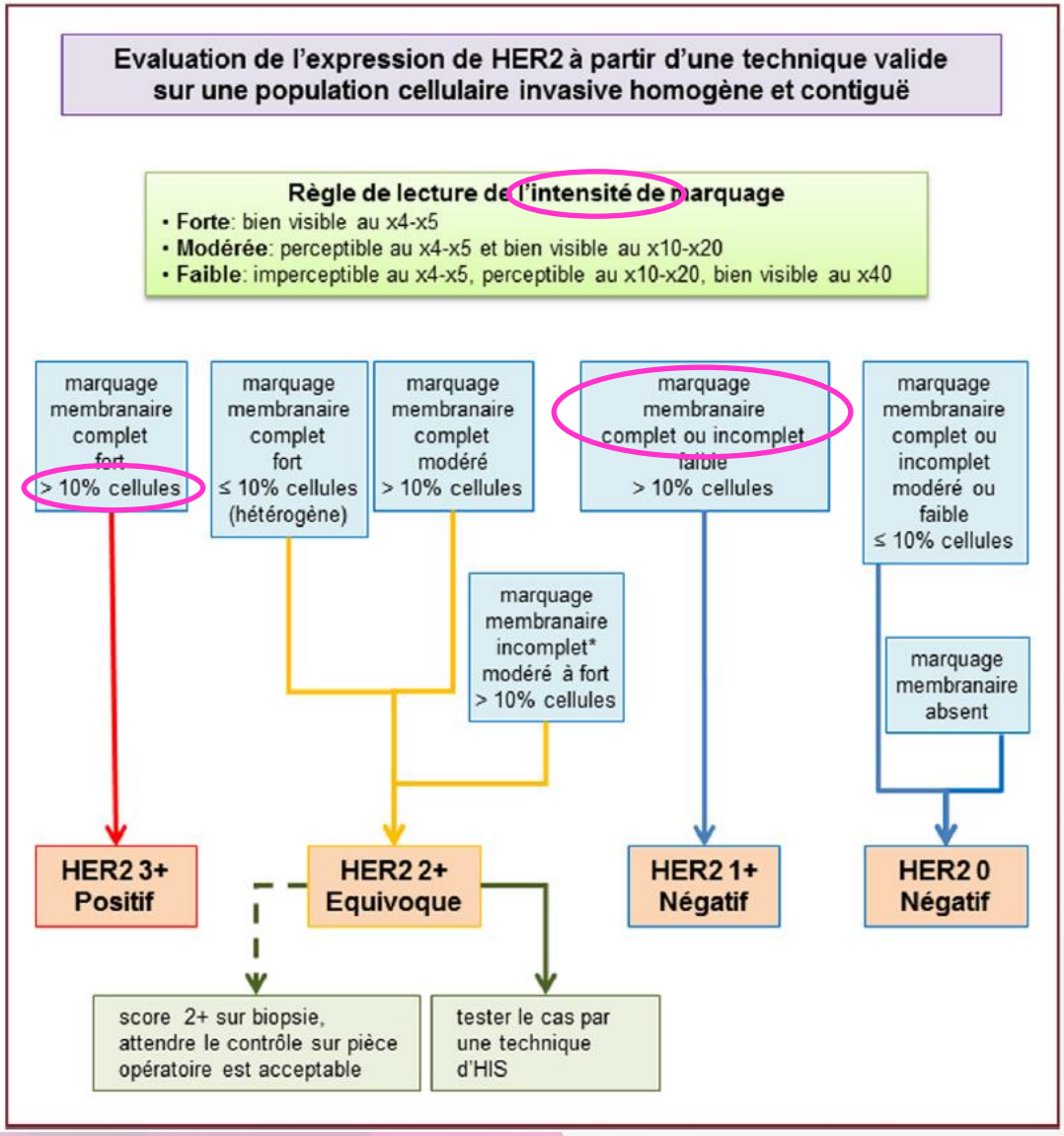
→ Phase analytique :

- ✓ IHC, HIS
- ✓ AQ (témoins, traçabilité, validation)

→ Interprétation :

- ✓ Scoring

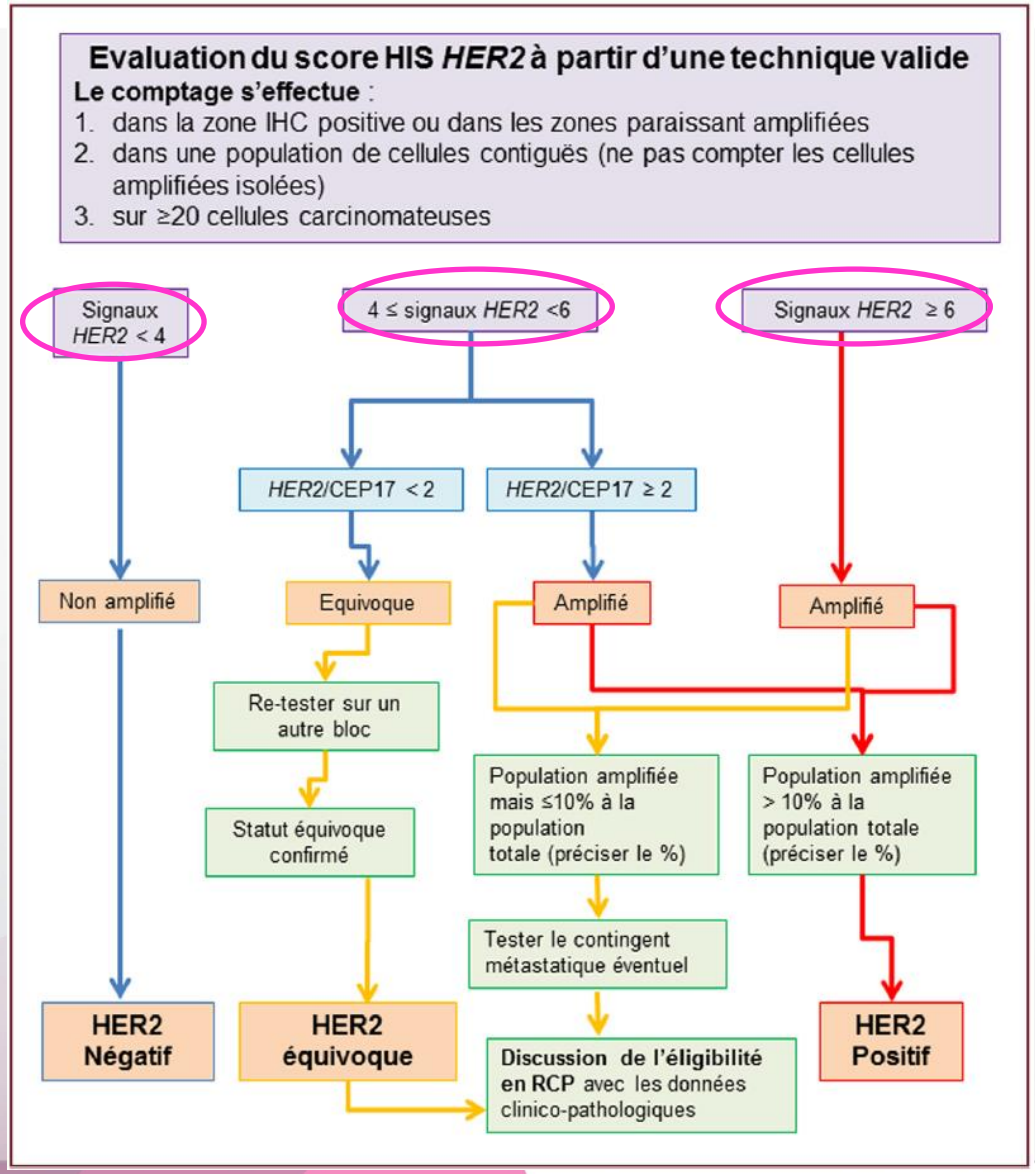
Score HER2 en IHC



- Intensité de marquage
- % de cellules +
- Type de marquage membranaire

Recommandations GEFPICS, 2014

Score HER2 en HIS



Recommandations GEFPICS, 2014

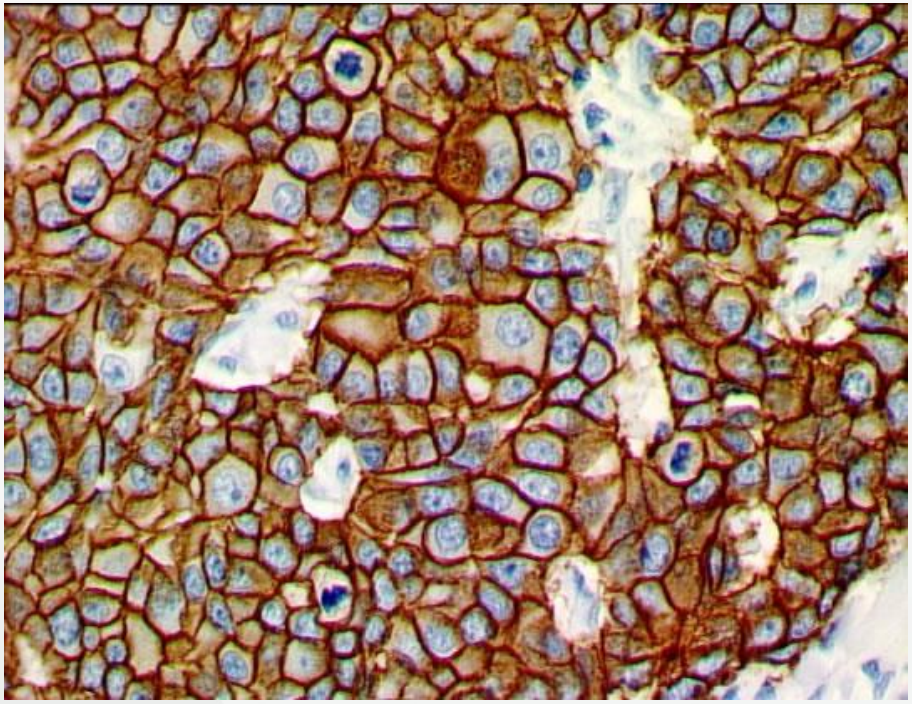
Cas des HER2 2+

5 à 15% des cas testés en IHC

→ 15 à 30% : faible amplification

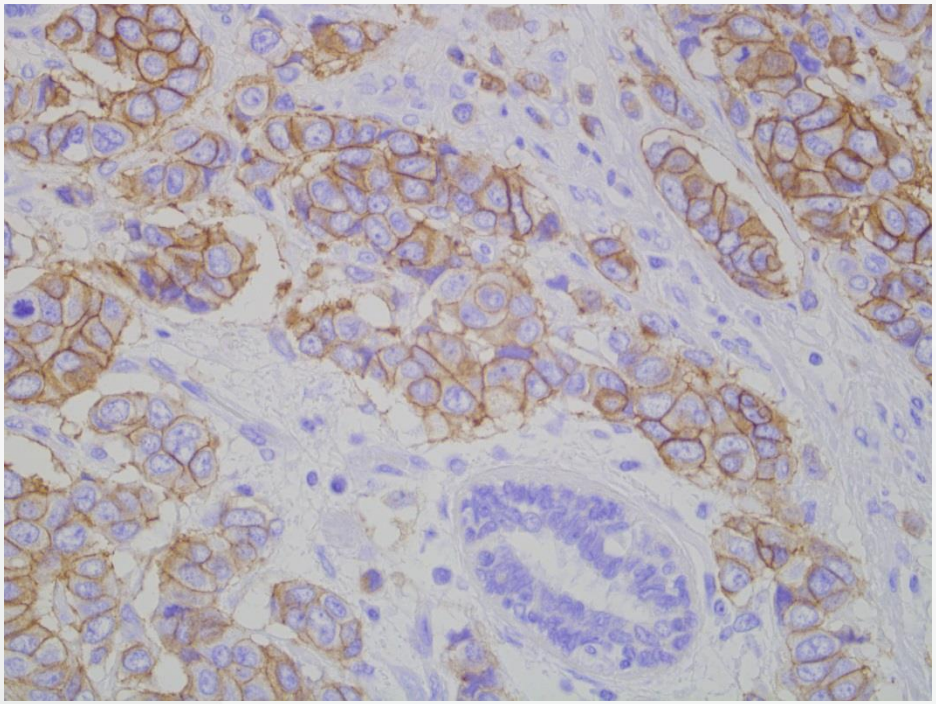
→ 70 à 85% : pas d'amplification

Quizz



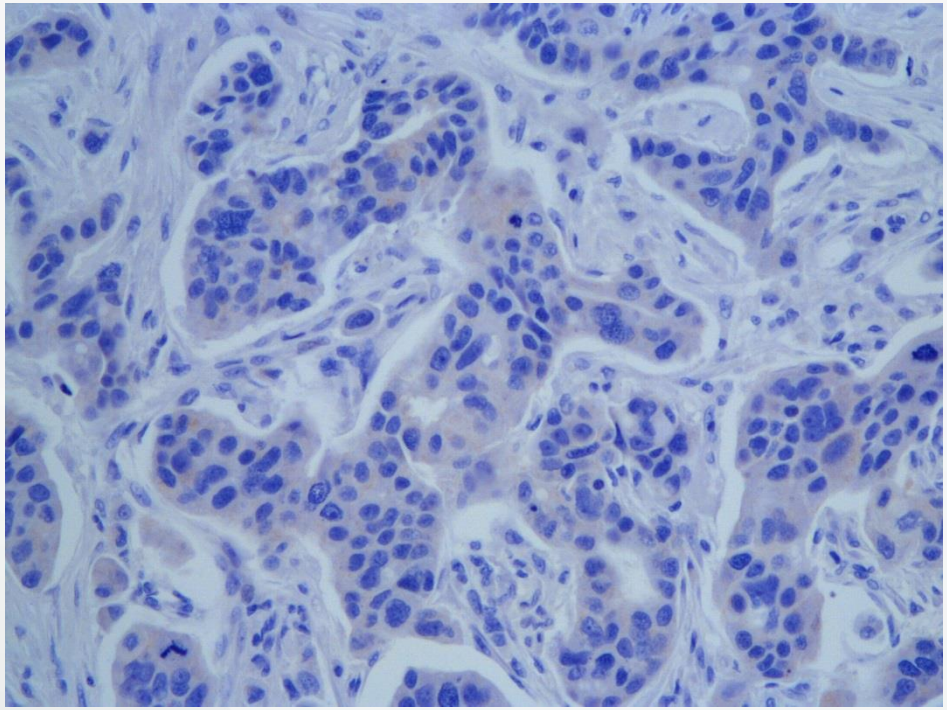
3+

Quizz



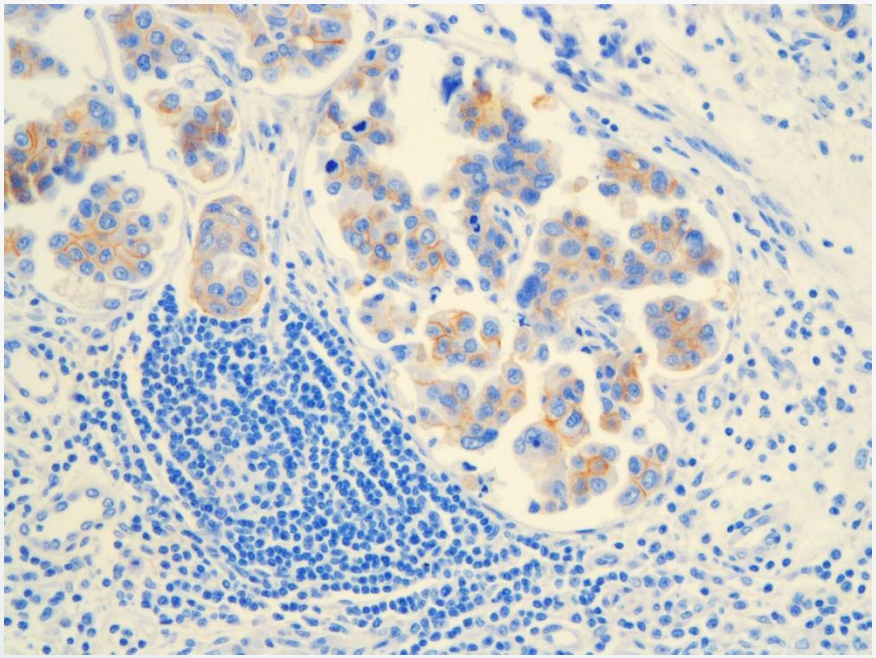
3+

Quizz



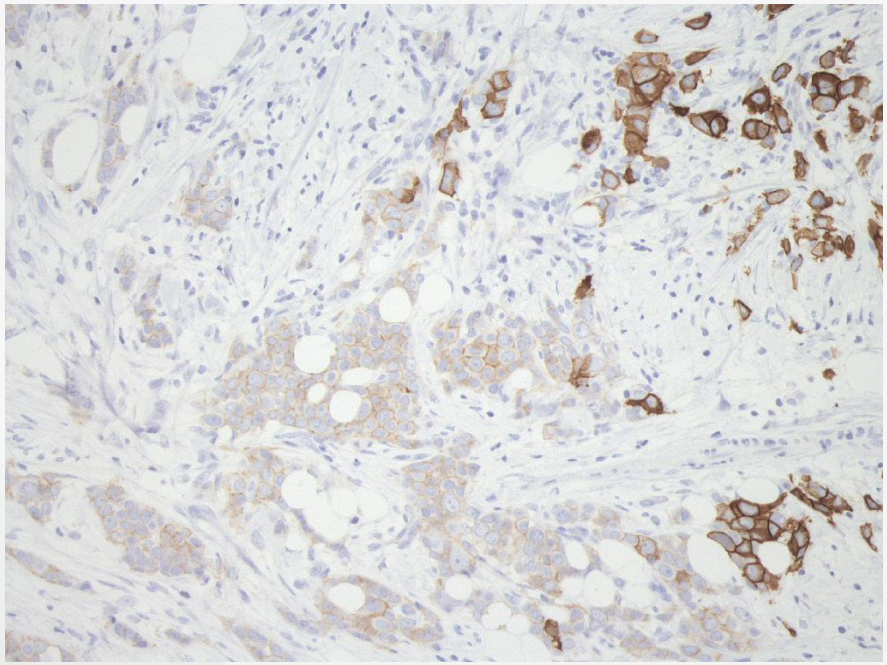
0

Quizz



2+

Quizz

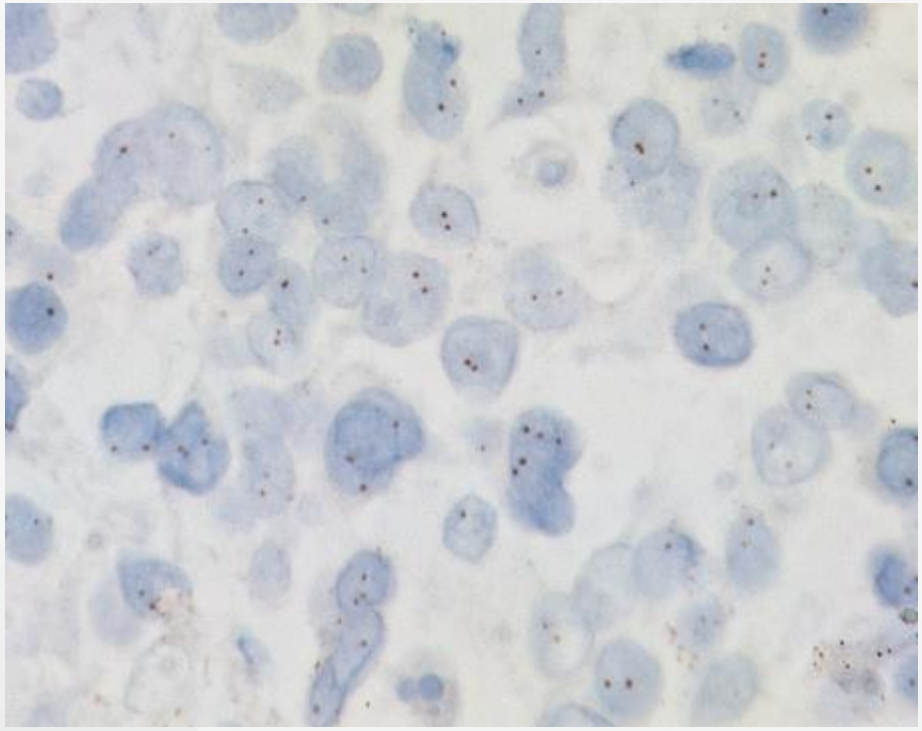


Cas hétérogène

→ Tester autres blocs (ou N+)

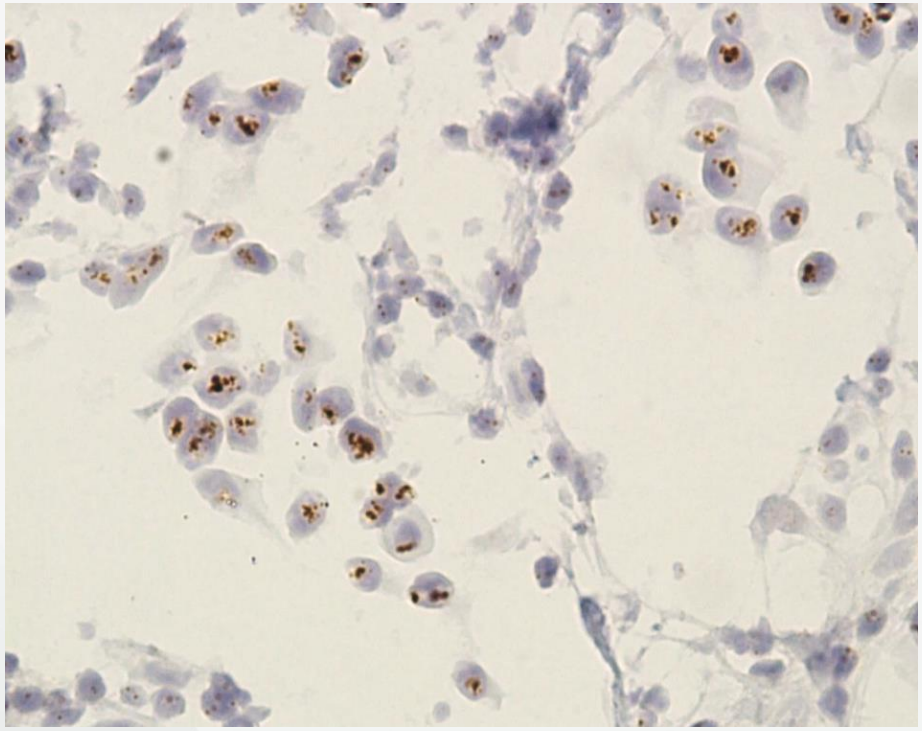
→ HIS

Quizz



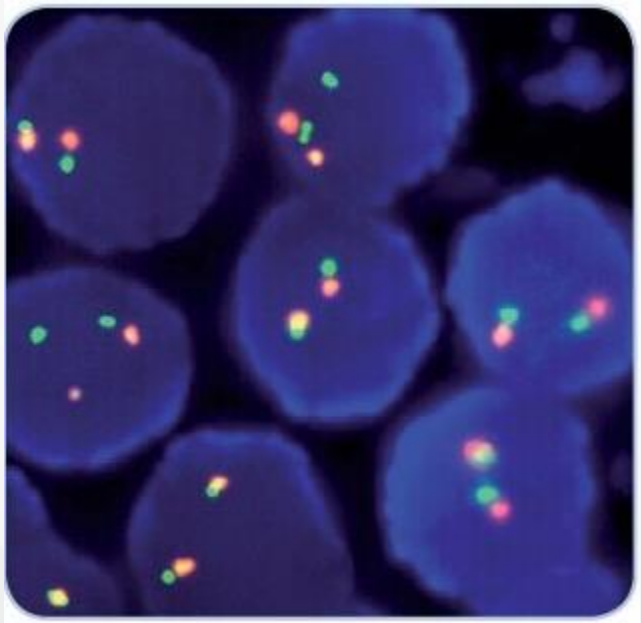
HER2 non amplifié

Quizz



HER2 amplifié

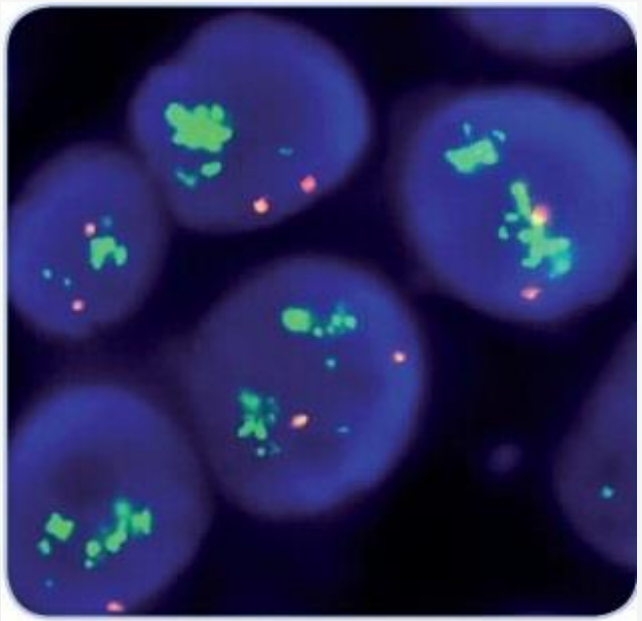
Quizz



Normal interphase cells,
HER2 (green), CEN 17 (orange).

HER2 non amplifié

Quizz

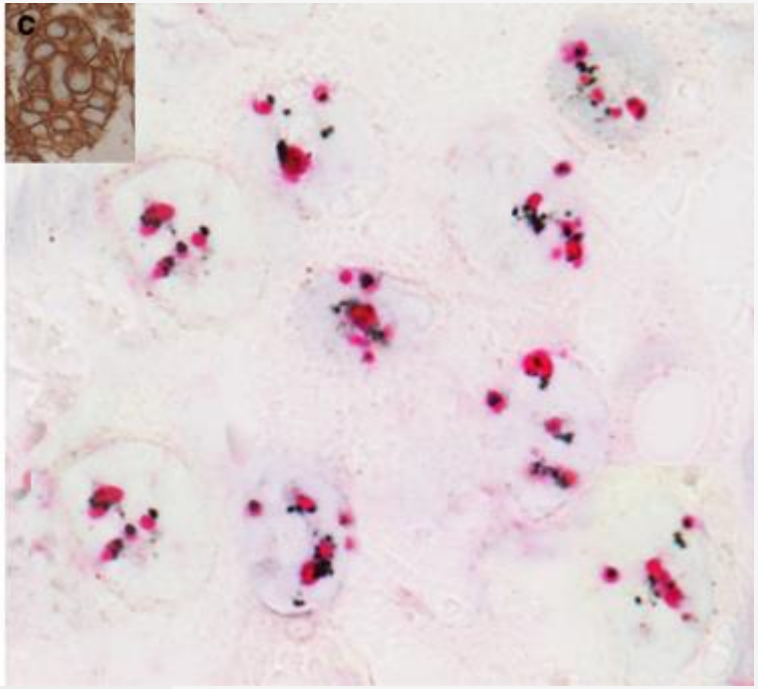


Breast carcinoma tissue section,
HER2 gene cluster (green), CEN 17 (orange).

HER2 amplifié

Quizz

HER2/C17

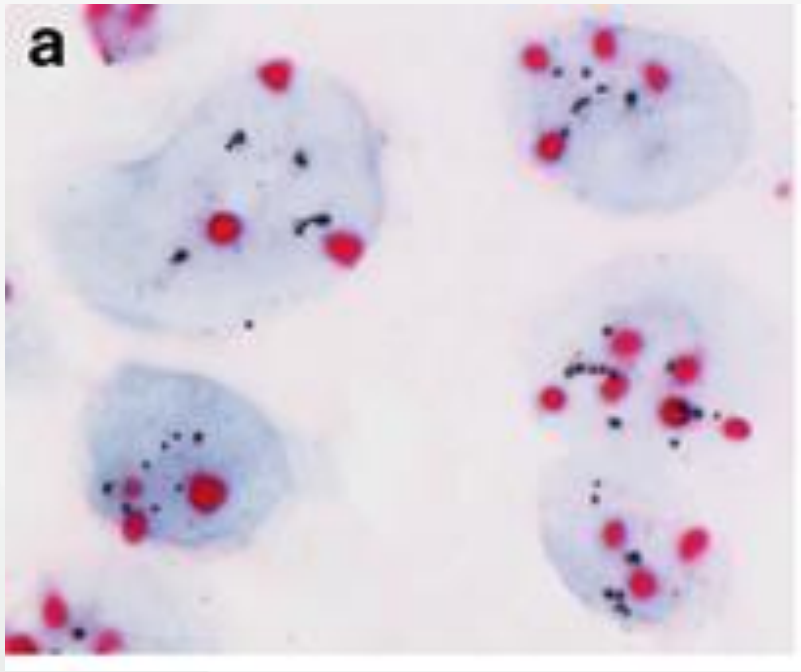


Hanna et al., *Modern Pathology* (2014)

Co-amplification HER2/C17

Quizz

HER2/C17

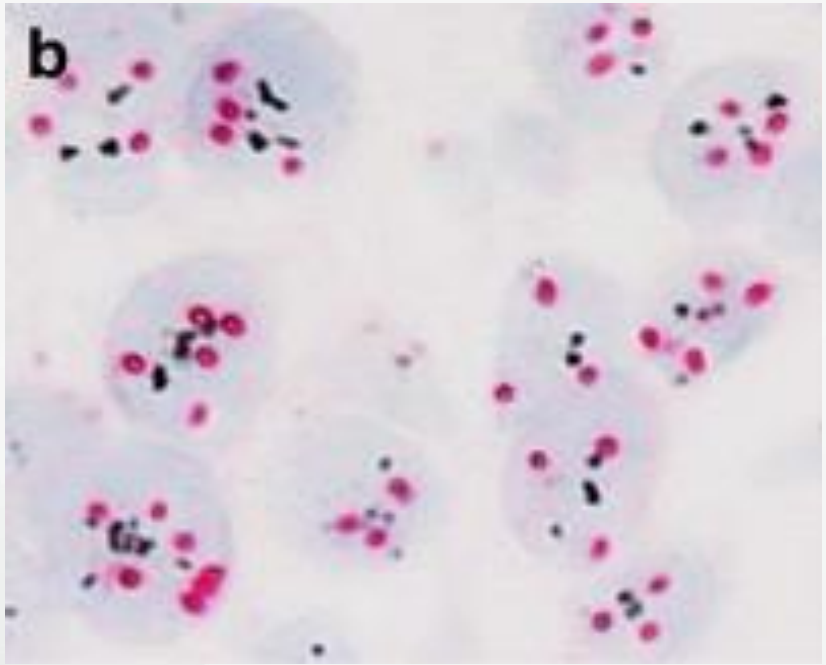


Hanna et al., *Modern Pathology* (2014)

Polysomie C17 avec amplification HER2

Quizz

HER2/C17



Hanna et al., *Modern Pathology* (2014)

Polysomie C17 sans amplification HER2

Take home messages

- Objectif de la détermination du statut HER2 :

  → le bon traitement au bon patient

- Importance de la phase pré-analytique:

  → contrôle qualité

- Validation des méthodes analytiques:

  → contrôles qualité internes (IHC *vs HIS)* et externes

- Scoring

  → guidelines (sein)