

Classification moléculaire des cancers du sein, application à la pathologie clinique

Comprendre la classification moléculaire des cancers du sein

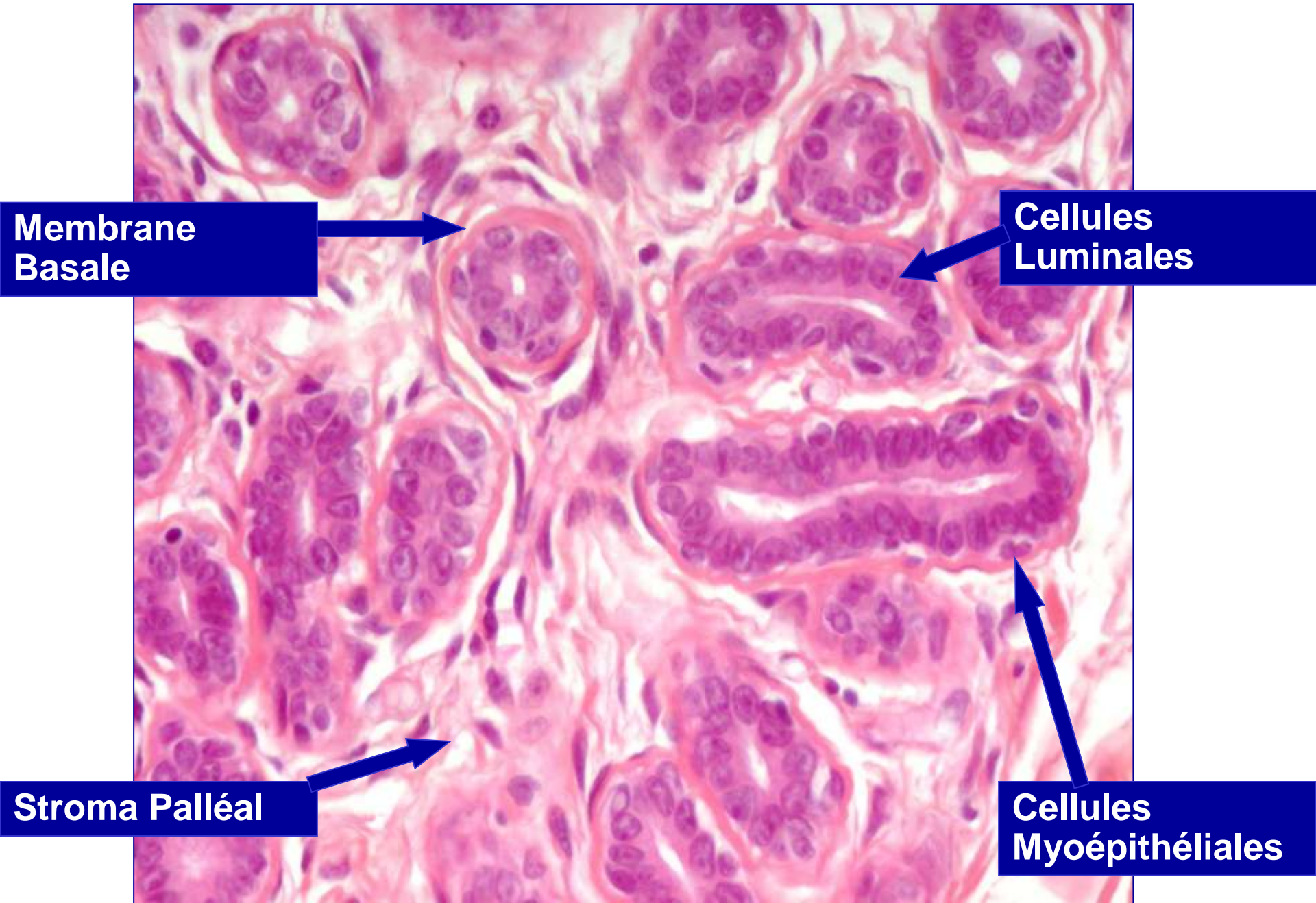
Plan

Overview

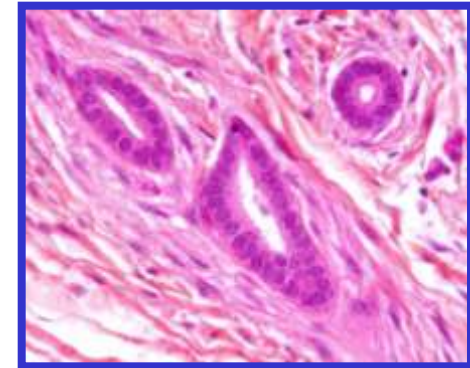
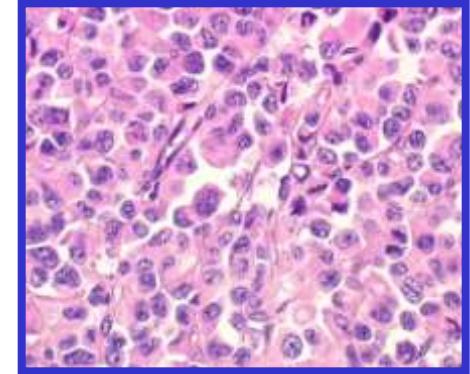
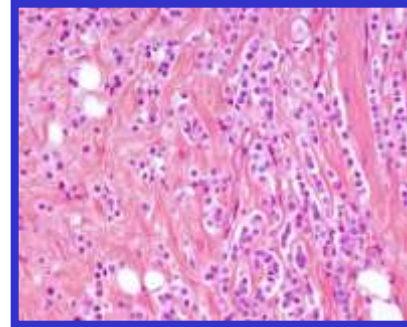
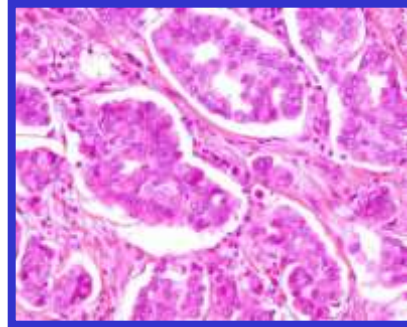
Cancers du sein RE+ (phénotype Luminal)

Cancers du sein RE- (phénotype Basal)

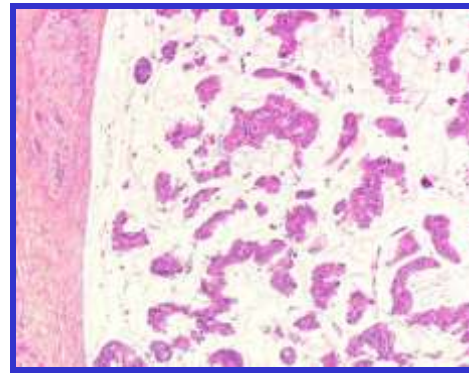
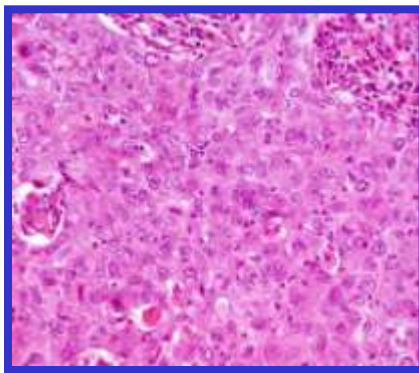
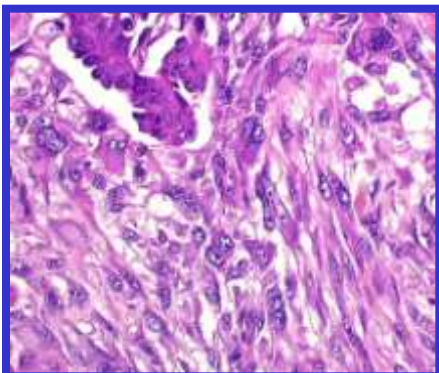
L'Unité Terminale Ductulo-Lobulaire (UTDL)



Classification OMS des cancers du sein 2003



- 21 types différents de carcinomes infiltrants
- Classification Morphologique
- Carcinome canalaire infiltrant SAI : 80%
- Pas de compréhension de la biologie
- Utilité limitée pour le traitement



Towards a novel classification of human malignancies based on gene expression patterns

Ash A. Alizadeh¹, Douglas T. Ross², Charles M. Perou³ and Matt van de Rijn^{4*}

Journal of Pathology
J Pathol 2001; **195**: 41–52.
DOI: 10.1002/path.889

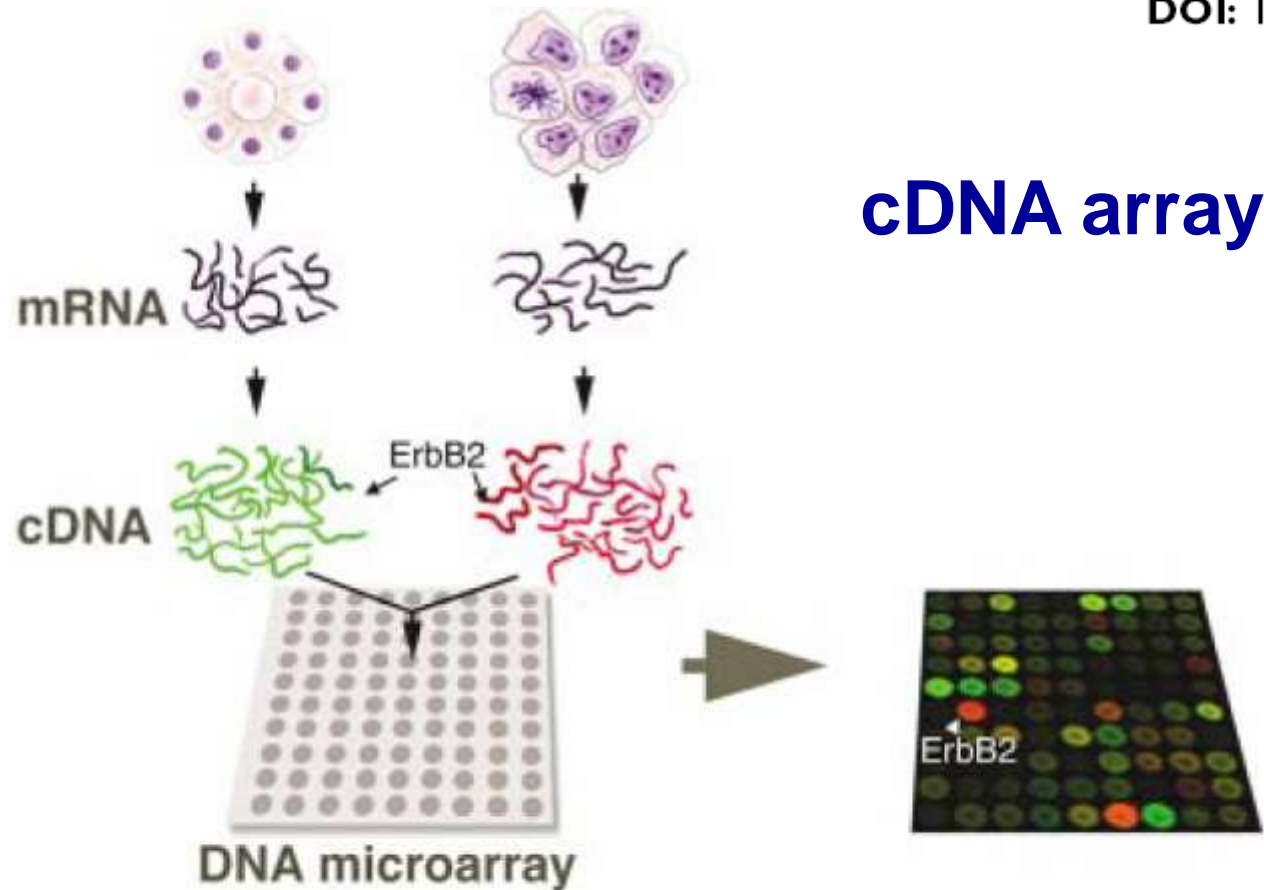
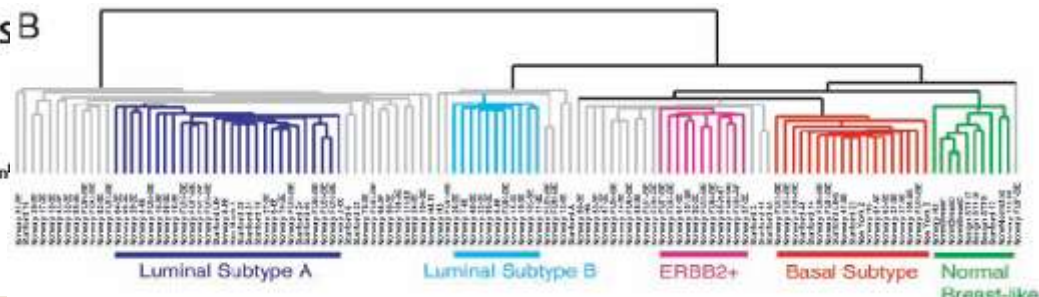


Figure 1. Schematic representation of a DNA microarray hybridization comparing gene expression of a malignant epithelial cancer with its normal tissue counterpart

Gene expression patterns of breast carcinomas^B distinguish tumor subclasses with clinical implications

Therese Sørlie^{a,b,c}, Charles M. Perou^{a,d}, Robert Tibshirani^e, Turid Aas^f, Stephanie Geisler^g, Hilde Johnsen^h, Michael B. Eisen^b, Matt van de Rijnⁱ, Stefanie S. Jeffrey^d, Thor Thorsen^k, Hanne Quist^l, John C. Matese^c, Patrick O. Brown^m, David Botstein^c, Per Eystein Lønning^g, and Anne-Lise Borresen-Dale^{b,n}

PNAS | September 11, 2001 | vol. 98 | no. 19 | 10869–10874



Classification Intrinsèque

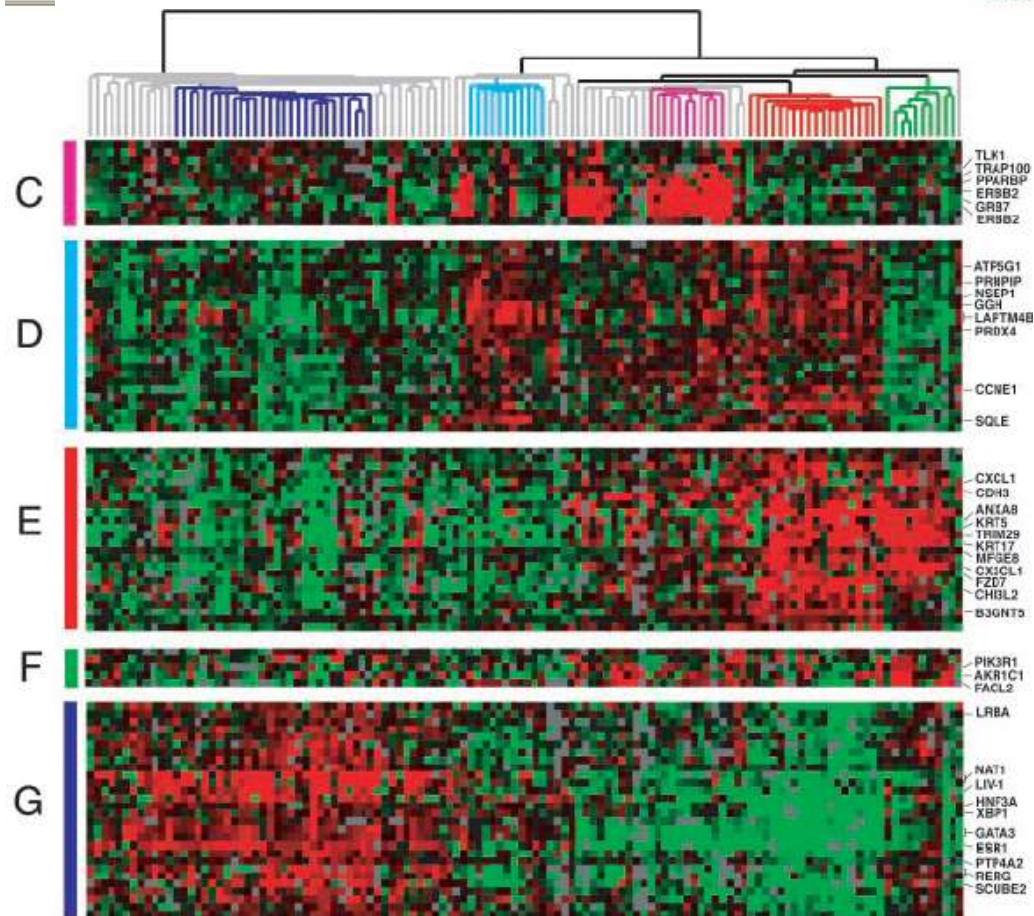
1. Luminal A

2. Luminal B

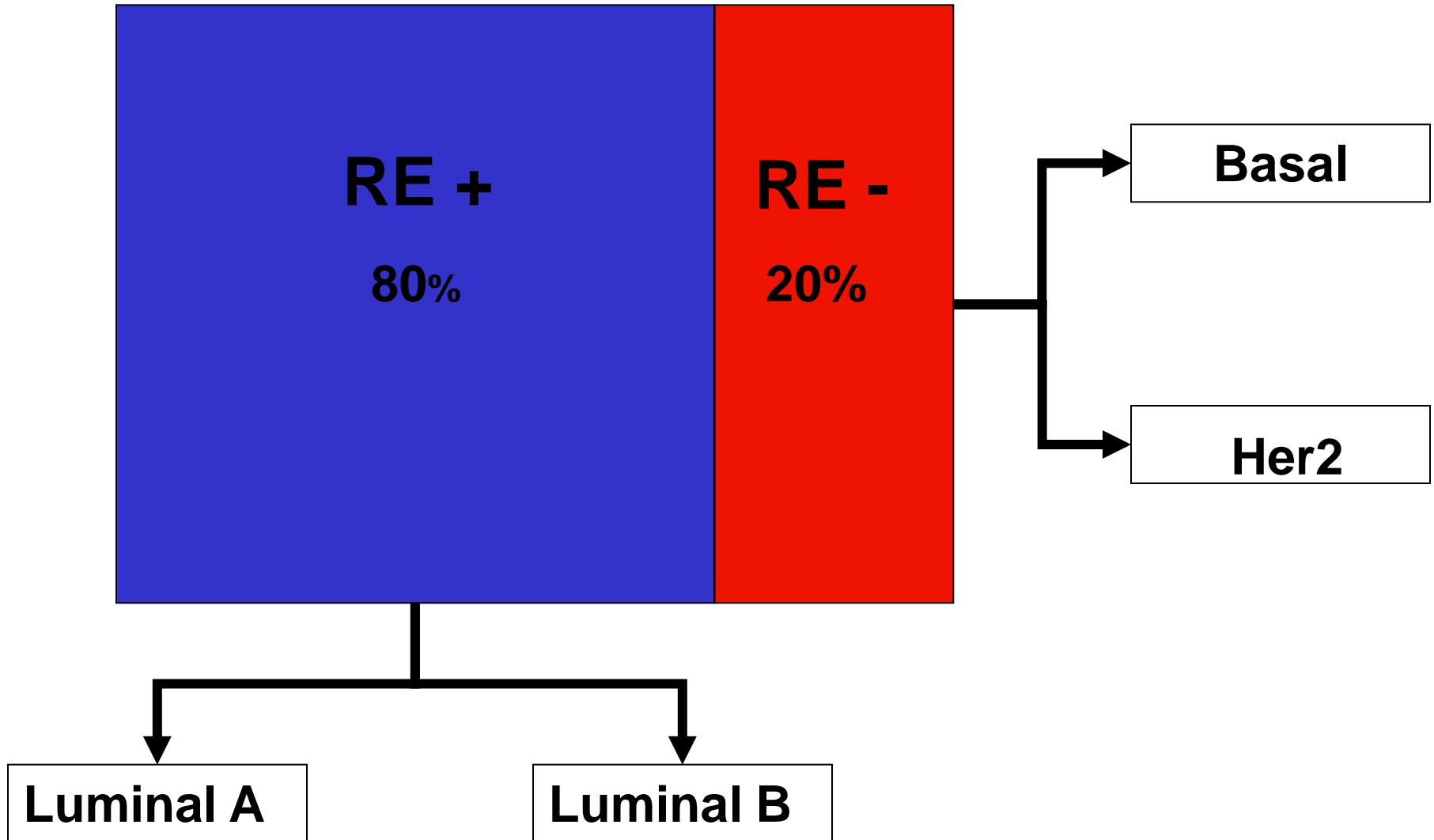
3. Her2

4. Basal

5. Normal breast like



Classification Intrinsèque des cancers du sein en 2000



Classification Intrinsèque des cancers du sein en 2000

Tumeurs RE plus

Luminal A

- ≈ 60% cancers du sein
- Expression élevée de RE
- Expression élevée de gènes régulés par RE (GATA-3, FOX A1, etc..)
- Faible expression des gènes liés à la prolifération
- P53 muté : 13%

Luminal B

- ≈ 20% cancers du sein
- Expression plus faible de RE
- Expression moindre de gènes régulés par RE (GATA-3, FOX A1, etc..)
- Expression élevée des gènes liés à la prolifération
- P53 muté : 66%

Classification Intrinsèque des cancers du sein en 2000

Tumeurs RE moins

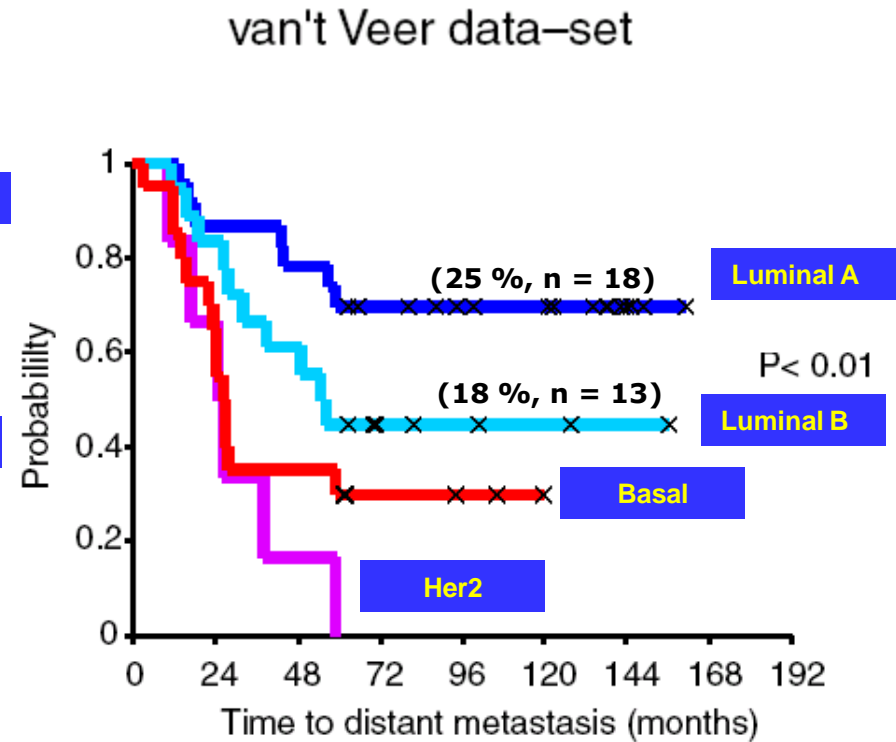
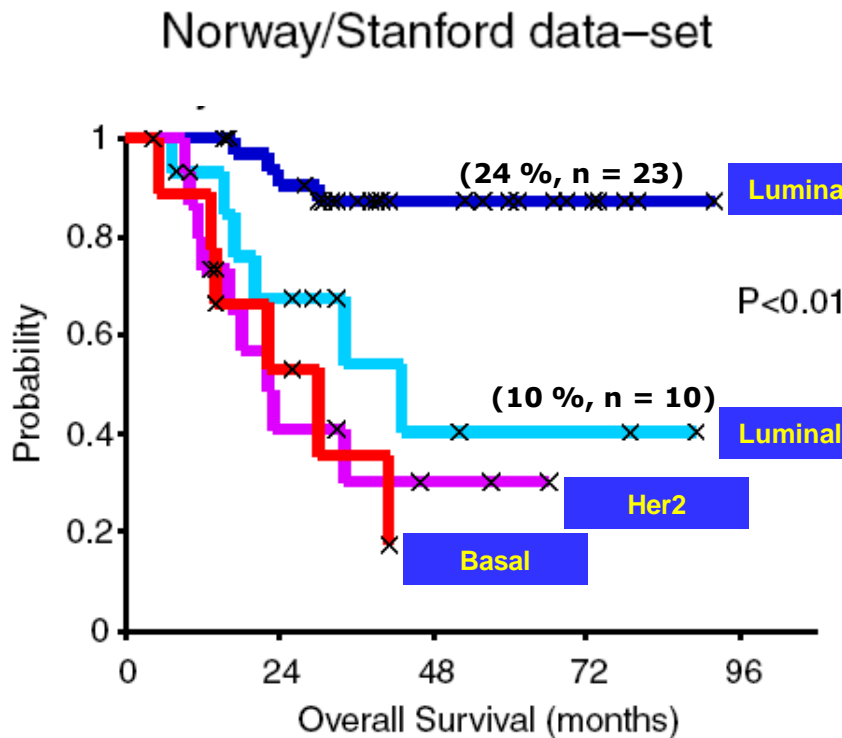
Her2

- ≈ 10% cancers du sein opérés
- Pas d'expression de RE
- Expression élevée des gènes de l'amplicon HER2 (GRB7, etc..)
- Expression élevée des gènes liés à la prolifération
- P53 muté : 71%

Basal

- ≈ 10% cancers du sein opérés
- Pas d'expression de RE
- Expression des gènes de kératines de haut poids moléculaire (CK5, CK14, CK17), laminin, FAB7, etc.
- Expression élevée des gènes liés à la prolifération
- P53 muté : 82%

Classification Intrinsèque des cancers du sein en 2000



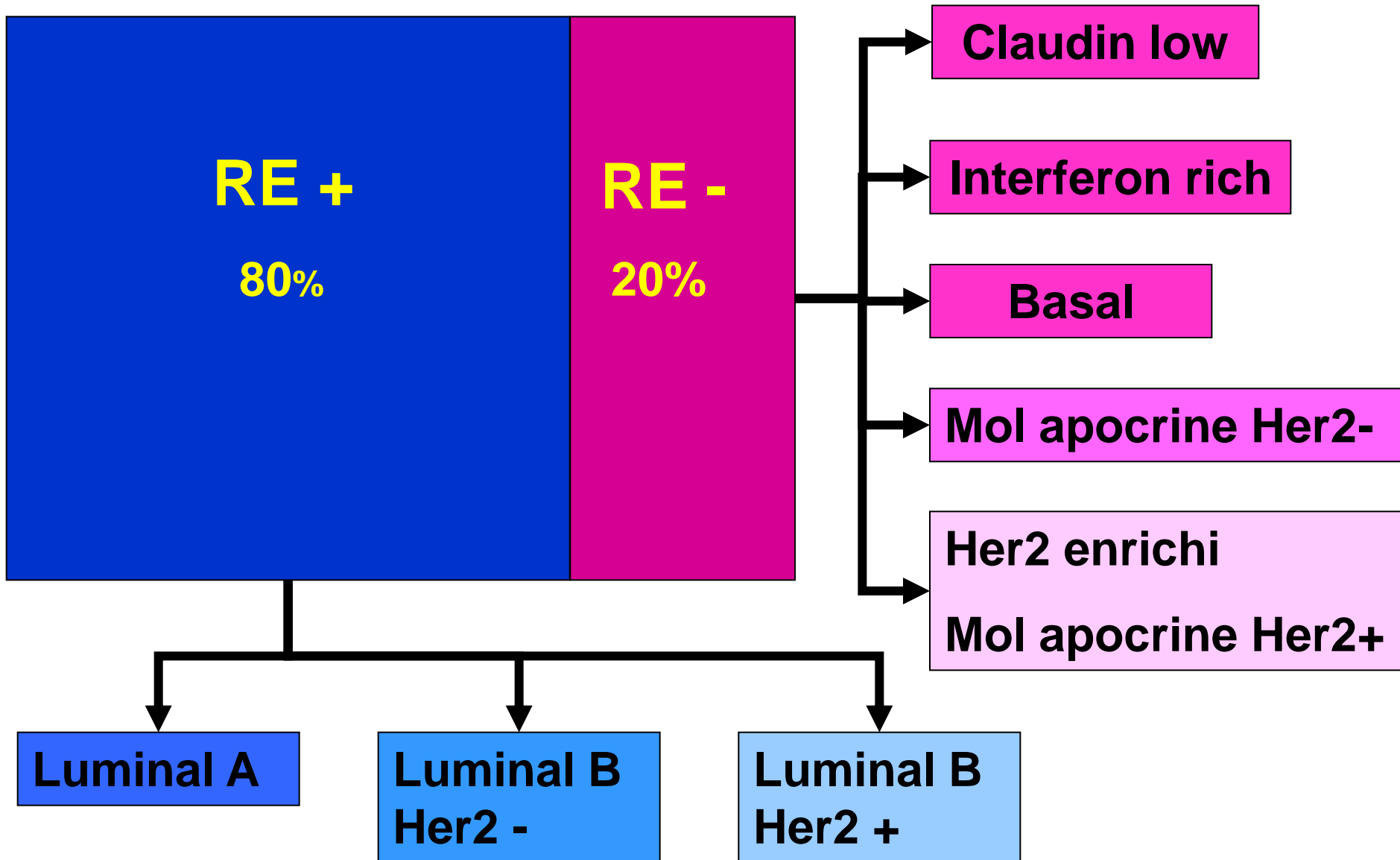
**Significant Prognostic Value of
Intrinsic classification**

Classification Intrinsèque des cancers du sein en 2000

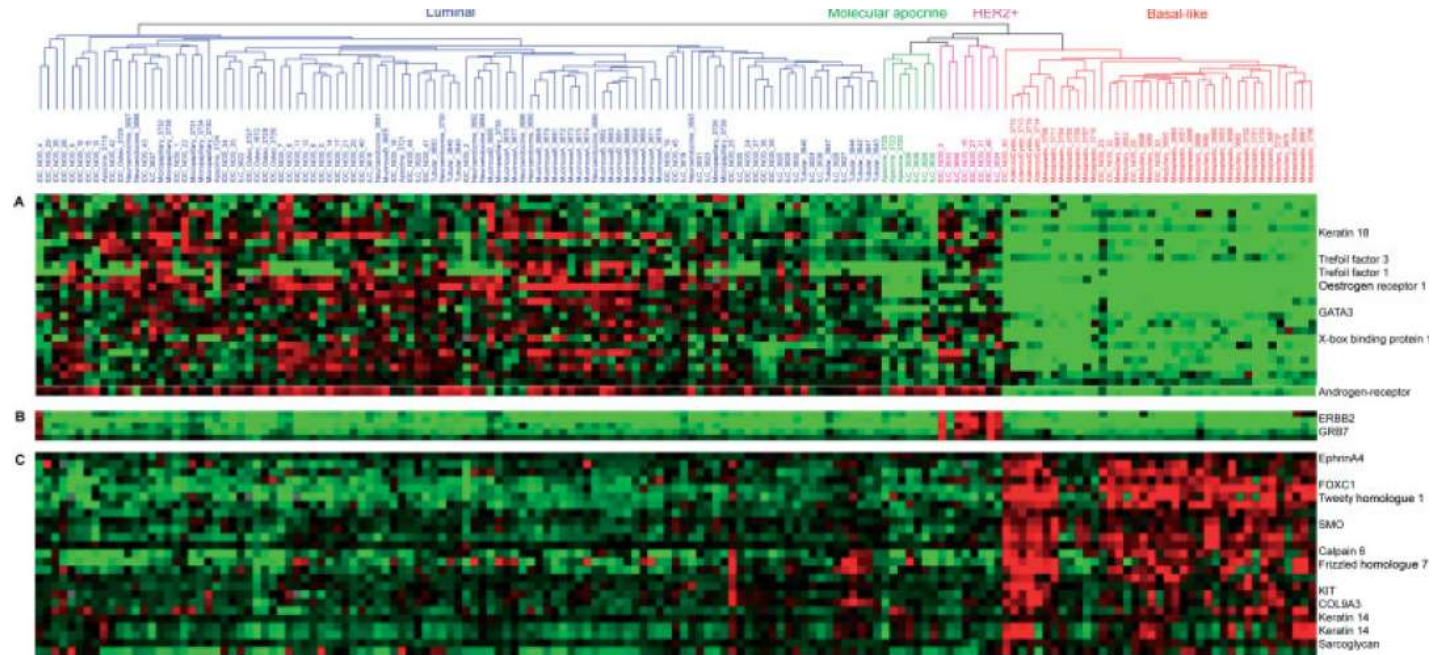
Problèmes :

1. Le type Normal Breast-like est un artefact de dilution de l'ARN tumoral dans l'ARN de tissu mammaire normal
2. Le groupe HER2 dans la classification intrinsèque appartient à la famille des tumeurs du sein RE moins, mais nous savons qu'en réalité 50% des tumeurs HER2 + sont RE moins et que 50% sont RE +.
3. Une autre méthode d'analyse des données du transcriptome (clustering hiérarchique non supervisé) n'individualise pas les catégories the Luminal B et Her2

Classification Intrinsèque des cancers du sein 2010



Profils moléculaires des cancers mammaires spéciaux



Luminal

Carcinome
Lobulaire Infiltrant

Ca. Tubuleux

Ca. Mucineux

Ca. Endocrine

Ca. Micropapillaire

Basal

Ca. Médullaire

Ca. Adénoïde Kyst

Ca. Métaplasique

Apocrine Moléculaire

Ca. Apocrine

Cli pléomorphe

Conclusions préliminaires

Classification encore imparfaite

- **Non robustesse des méthodes bioinformatiques utilisées pour classer ces tumeurs**
- **Manque de reproductibilité des résultats obtenus d'une plateforme de diagnostic moléculaire à l'autre**
- **La nécessité de disposer de matériel tumoral congelé pour la majorité de ces tests**
- **L'impossibilité de garantir des ARN de bonne qualité pour l'ensemble des tumeurs du sein opérées.**

Alternative : Anapath classique ?

- **Morpho et critères diagnostiques ++++**
- **Immunohistochimie fiable standardisée, reproductible**
- **Bon sens clinique**

Bibliographie

- **Alizadeh et al. J Pathol 2001, 195, 41-52**
- **Sorlie et al. PNAS 2001, 98, 10869-10874**
- **Farmer et al. Oncogene 2005, 24, 4660-4671**
- **Weigelt et al. J Pathol 2008, 216, 141-150**

Cancers du sein de phénotype luminal

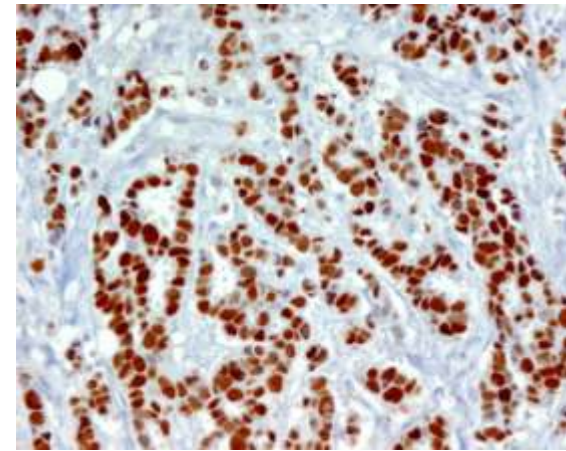
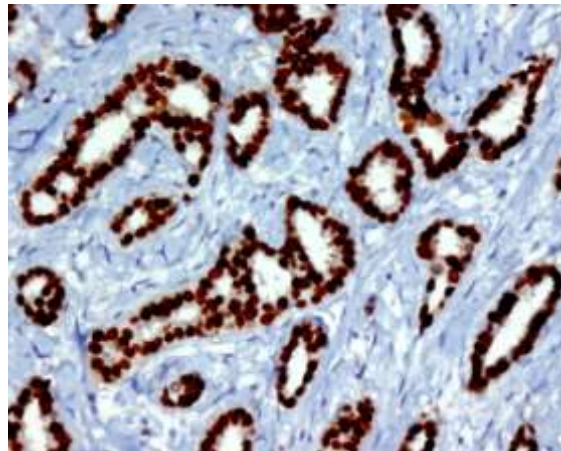
Tout carcinome infiltrant du sein exprimant des récepteurs aux estrogènes (75-85% des cancers du sein)

Méthode de détection : **IHC+++**

Controverse Seuils de positivité en IHC

- $\geq 10\%$ (Europe)
- $\geq 1\%$ (ASCO 2010)

1.4% de tumeurs $1 \leq RE < 10\%$



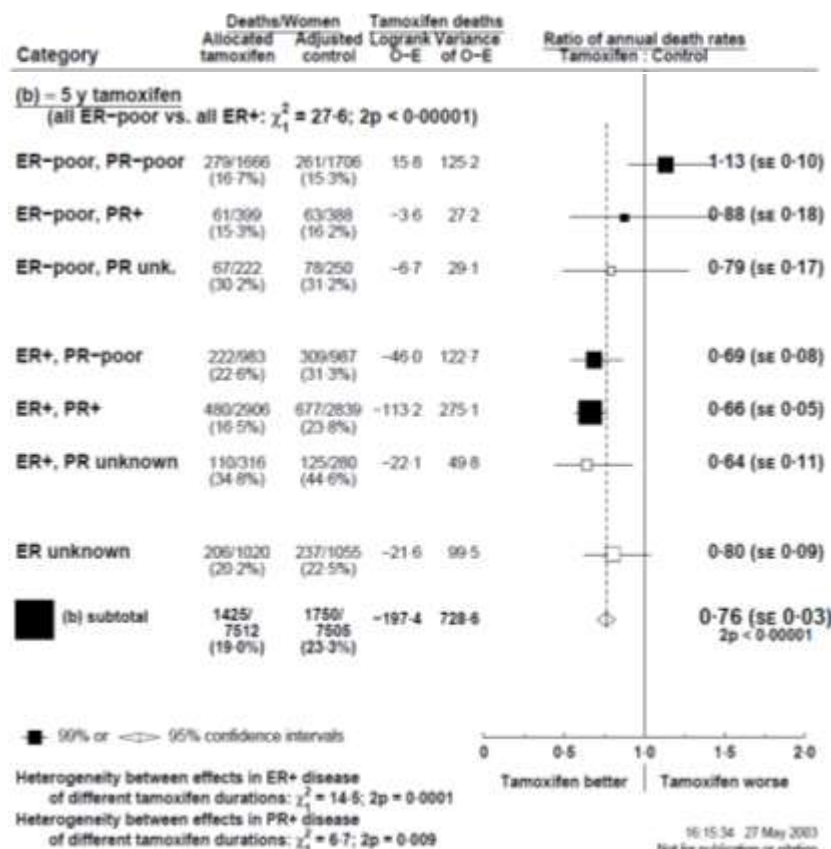
Pourquoi détecter le récepteur à la Progestérone ?

Expression de RP est induit par RE

Expression de RP indicateur d'une voie RE fonctionnelle

RP a une valeur pronostique

Tumeurs RE-/RP+ répondraient au Tamoxifène

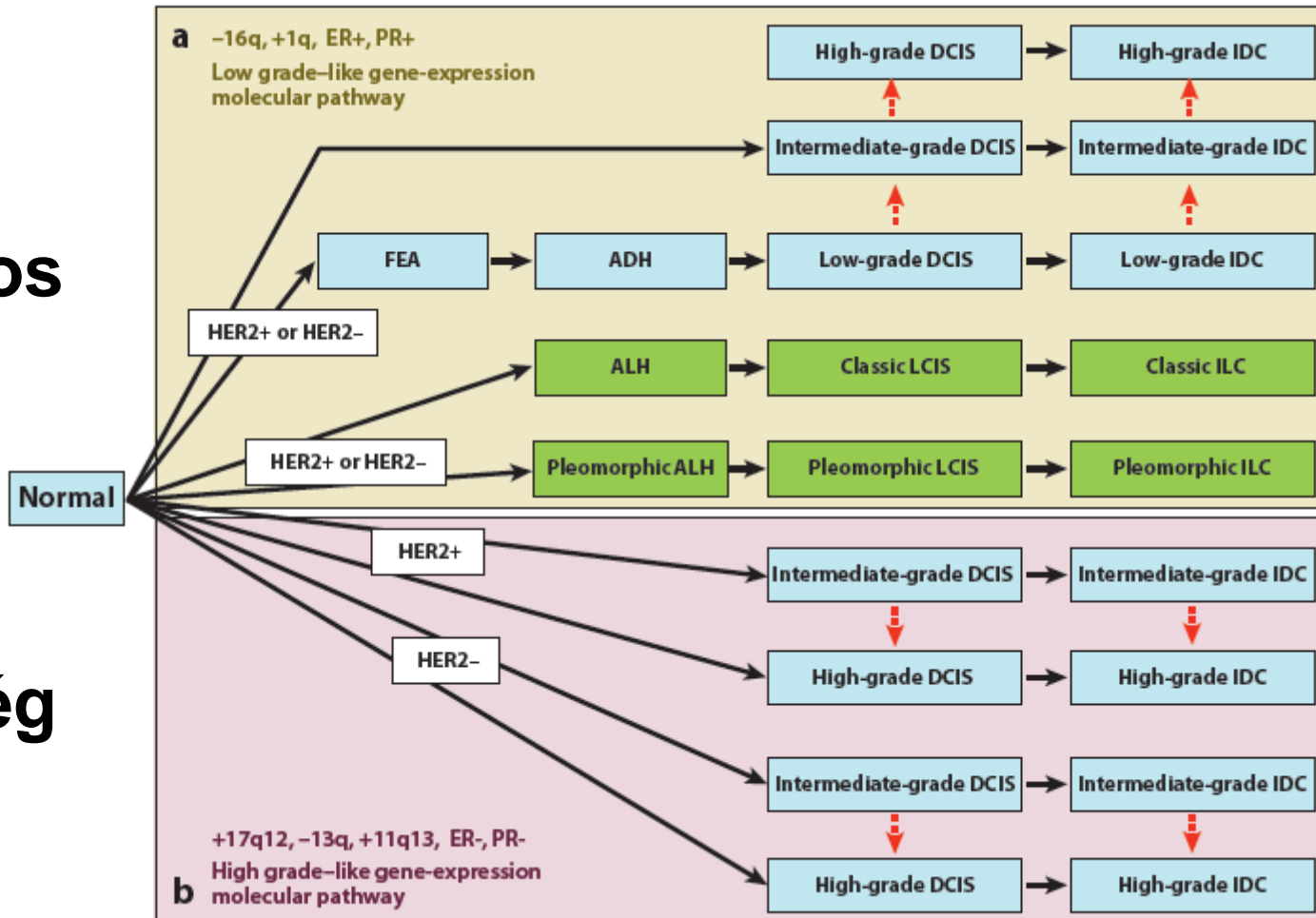


Statut IHC des RH	1034 CCI Inst Bergonié
RE+ RP+	59%
RE+ RP-	18%
RE- RP+	5%
RE- RP-	18%

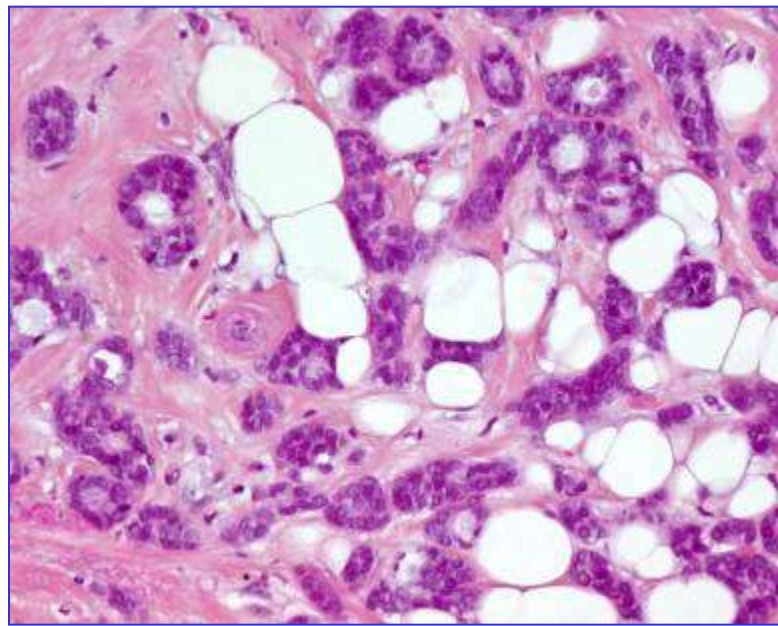
2 voies de cancérogénèse mammaire

RE pos

RE nég

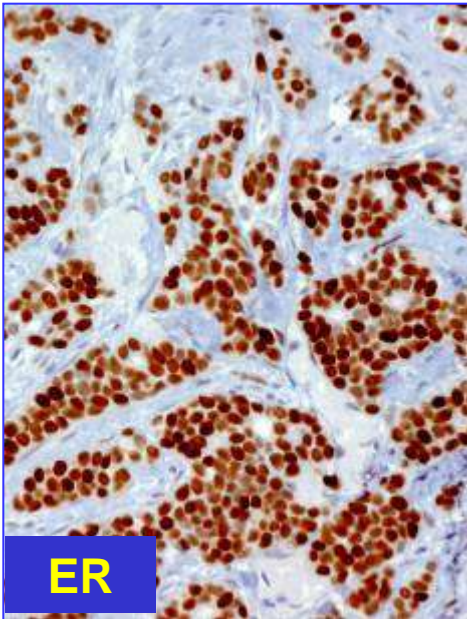


Sgroi DC. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2010

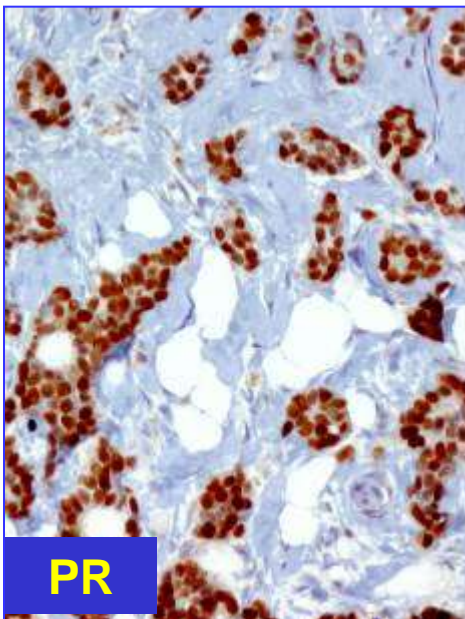


Luminal A

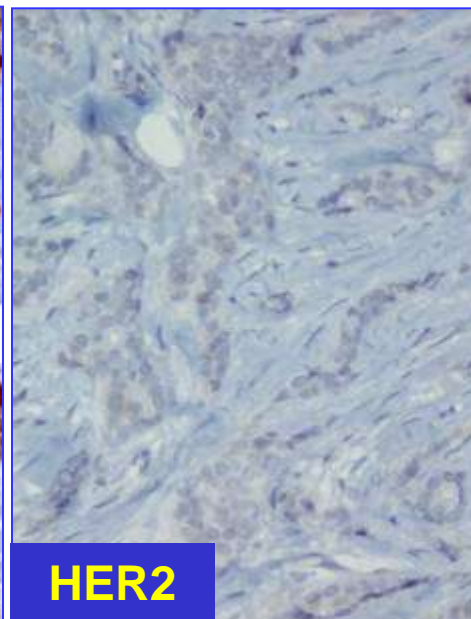
- C. Infiltrant Grade I ou II
- RE $\geq 10\%$
- RP $\geq 10\%$
- Her2 Score 0, 1+, 2+ non amplifié
- Ki-67 $< 15\%$



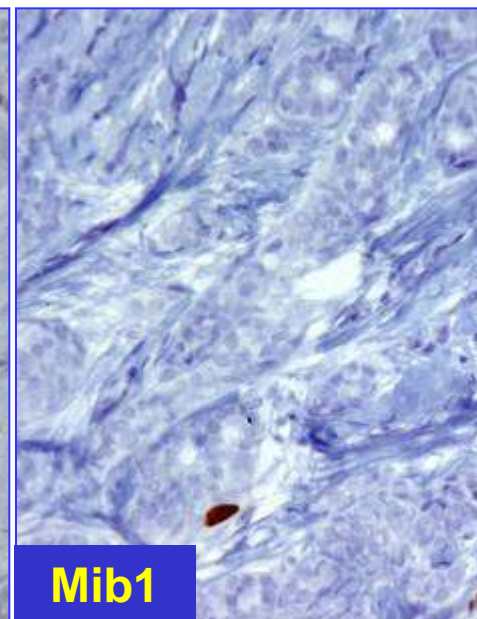
ER



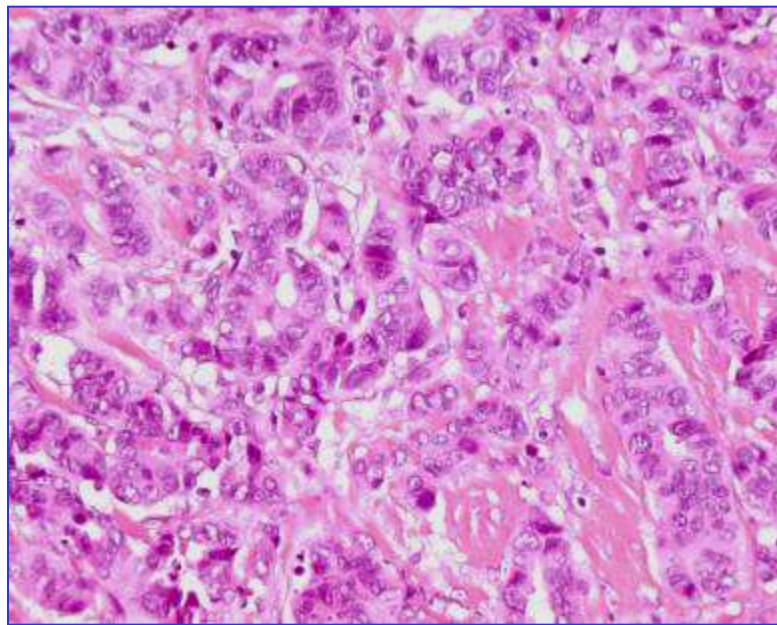
PR



HER2

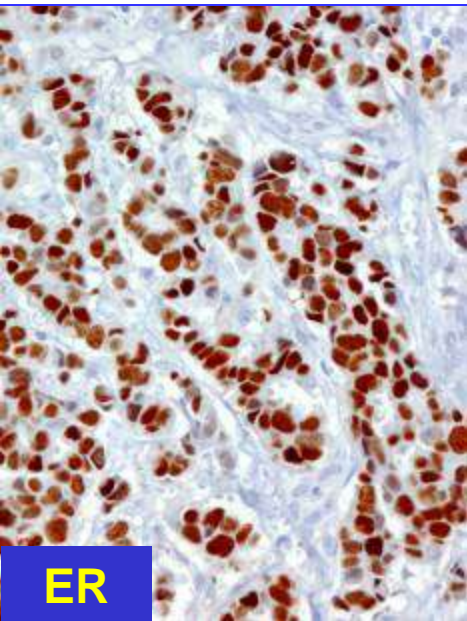


Mib1

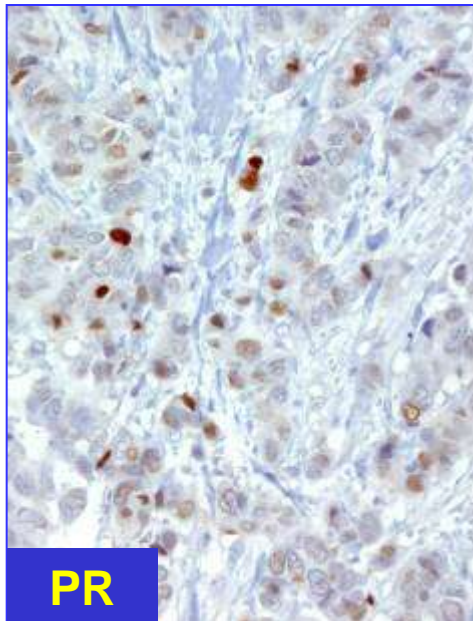


Luminal B

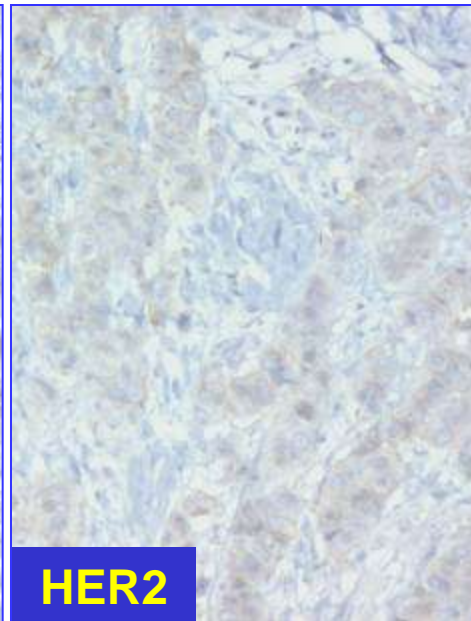
- C. Infiltrant Grade II ou III
- RE $\geq 10\%$
- RP $\geq 10\%$
- Her2 Score 0, 1+, 2+ non amplifié
- Ki-67 $\geq 15\%$



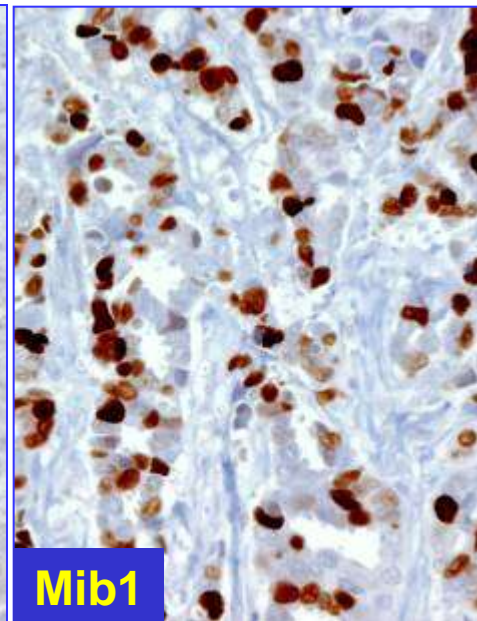
ER



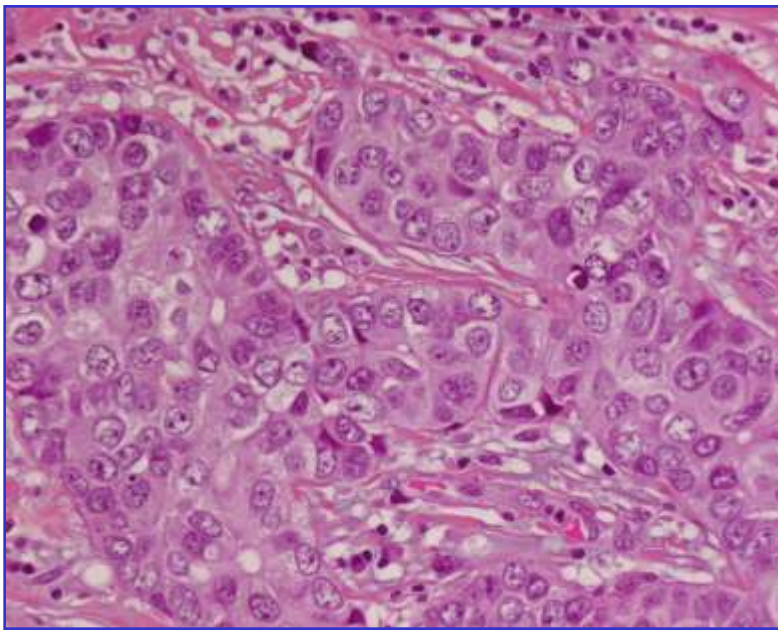
PR



HER2

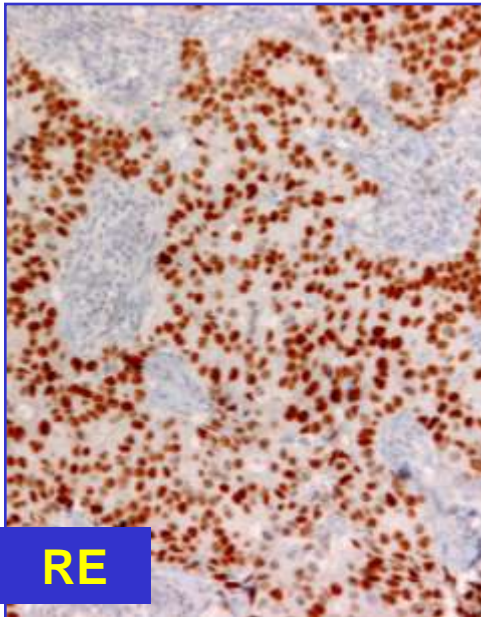


Mib1

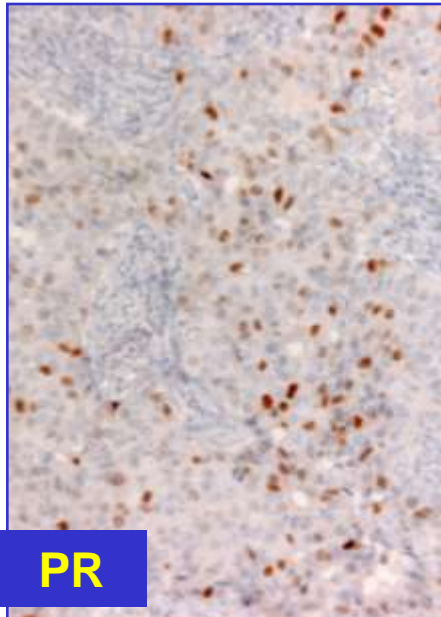


Luminal B
Her2 +

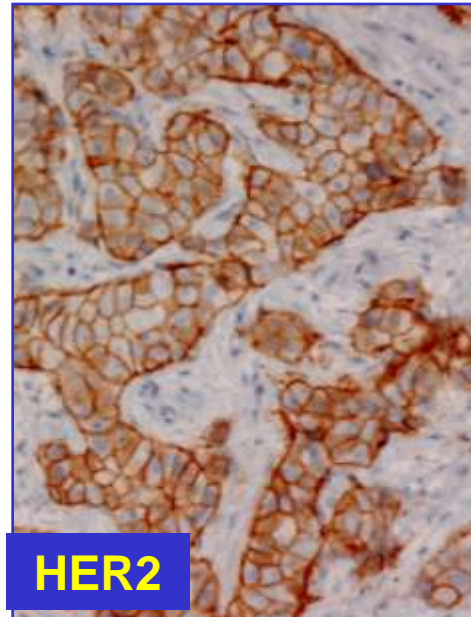
- **C. Infiltrant Grade II ou III**
- **RE $\geq 10\%$**
- **RP $\geq 10\%$**
- **Her2 Score 2+ amplifié ou 3+**
- **Quelque soit Ki-67**



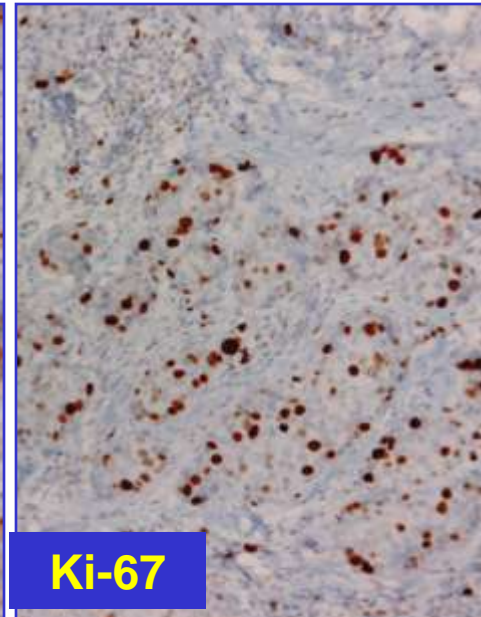
RE



PR



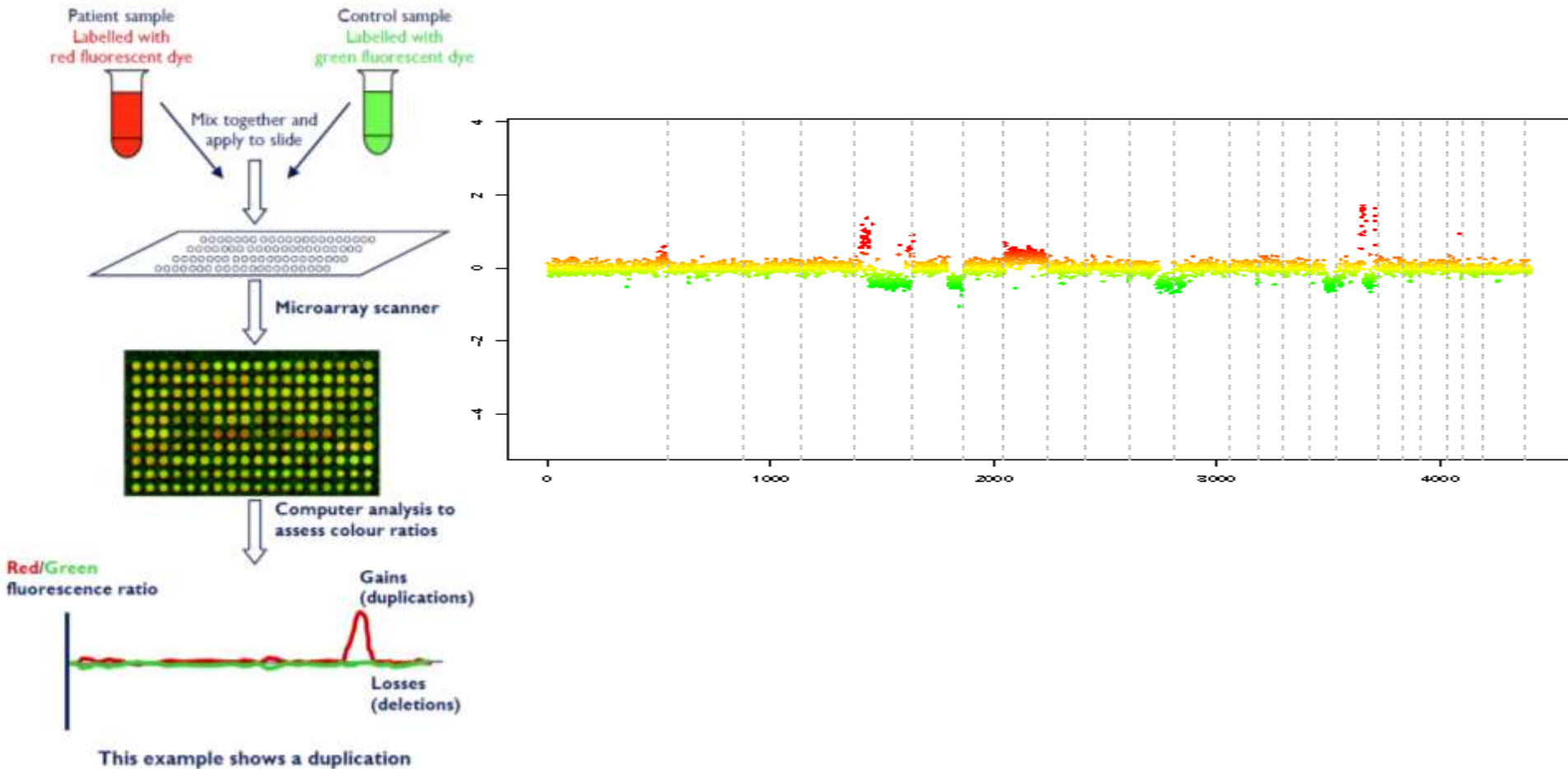
HER2



Ki-67

CGH array

Etude des variations du nombre de copies d'ADN



Profil aCGH des Luminaux A : simplex ou 1q/16q

- Peu de remaniements
- Grands segments d'ADN délétés ou dupliqués : bras chromosomiques, chromosomes entiers

Duplication de 16p, **délétion de 16q**

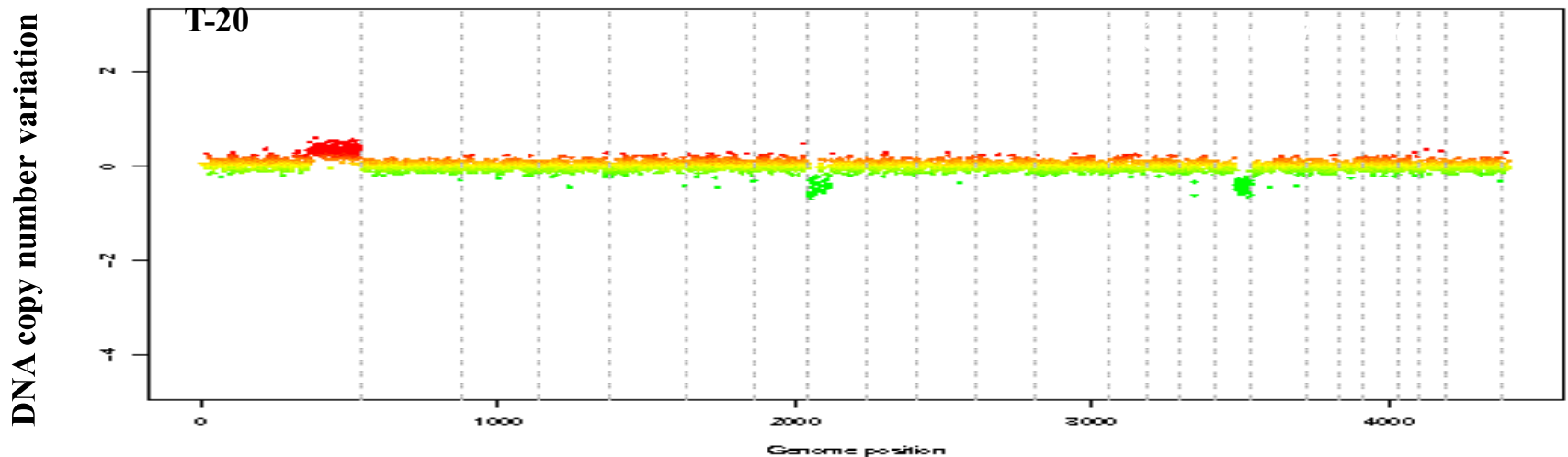
Délétion de 8p, duplication de 8q

Duplication de 1q

60% des CCI

Grade I ou II

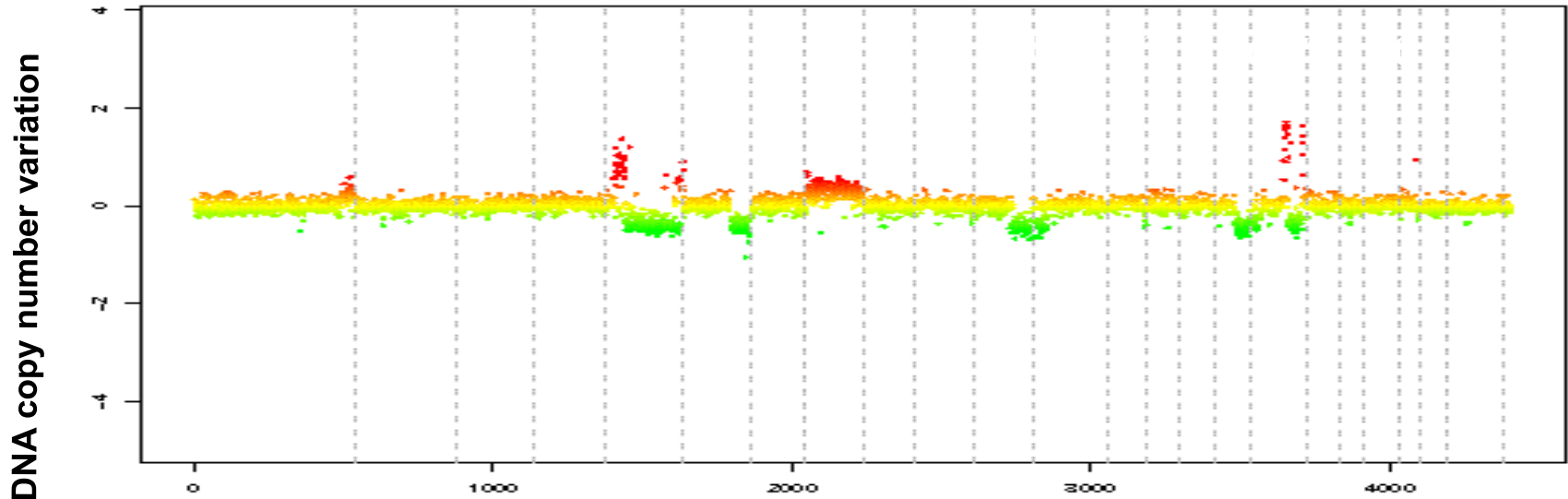
Bon pronostic à court terme



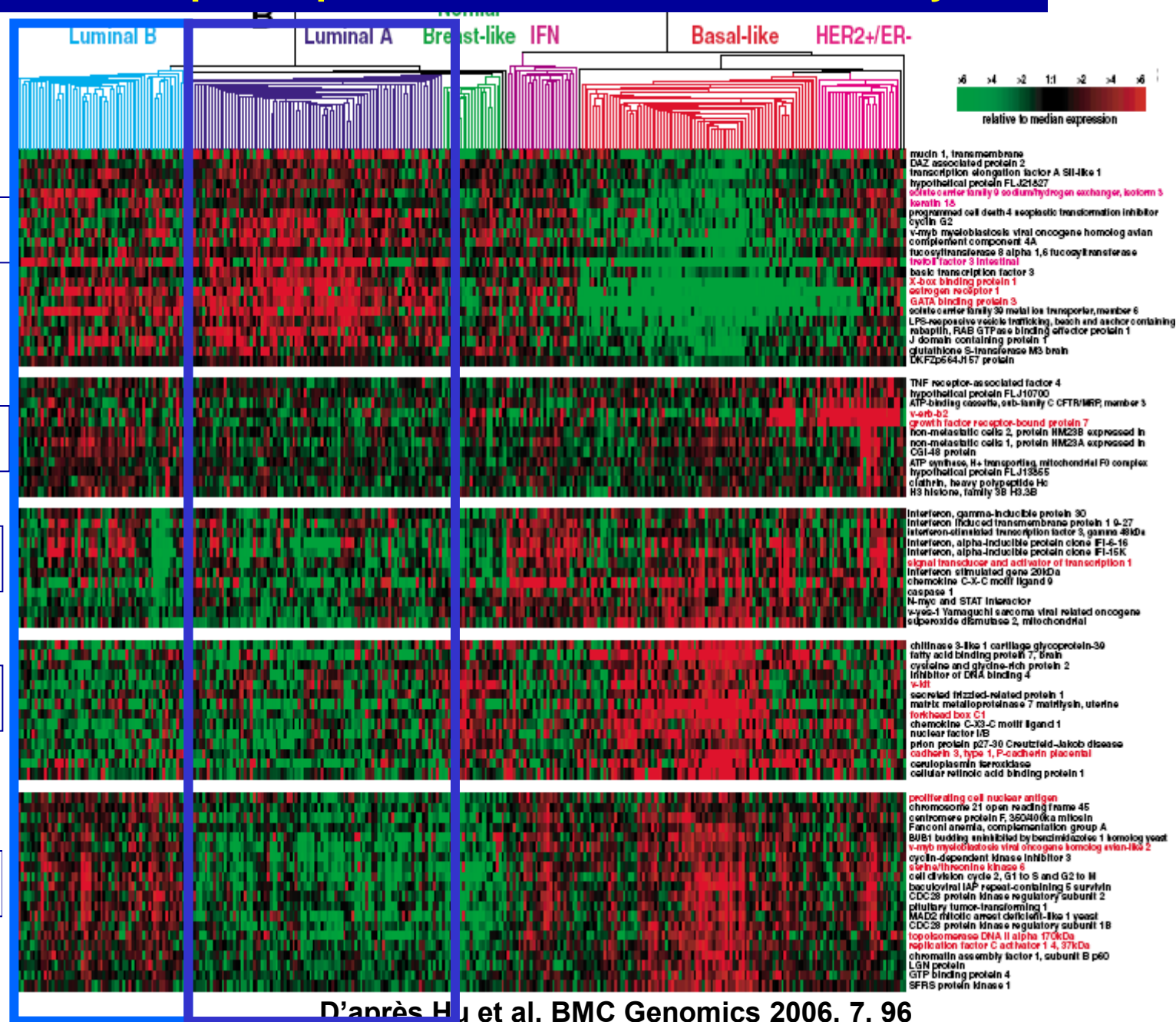
Profil CGHarray des Luminaux B: Amplificateur, Tempête de feu

Amplification de petites régions du génome isolées ou concomitantes

- 8p12, cet amplicon contient le gène **ZNF703** qui présente un gain ou une amplification dans un tiers des cas et une amplification vraie dans 13% des cancers de phénotype luminal B. autres gènes ERLIN2, BRF2, FIP1 et **FGFR1**.
- 8q24, cet amplicon contient le gène **MYC**
- 11q13, cet amplicon contient les gènes **CCND1** (codant la Cycline D1), FGF3
- 17q21, cet amplicon contient les gènes **HER2** amplifié dans 15% des cancers du sein, PPARB, GRB7, TOPO2 α
- 20q13, cet amplicon contient les gènes ZNF217, RAE1, NCOA3(SRC1)



Profil Transcriptomique des Luminaux en cDNA array



D'après Hu et al. BMC Genomics 2006, 7, 96

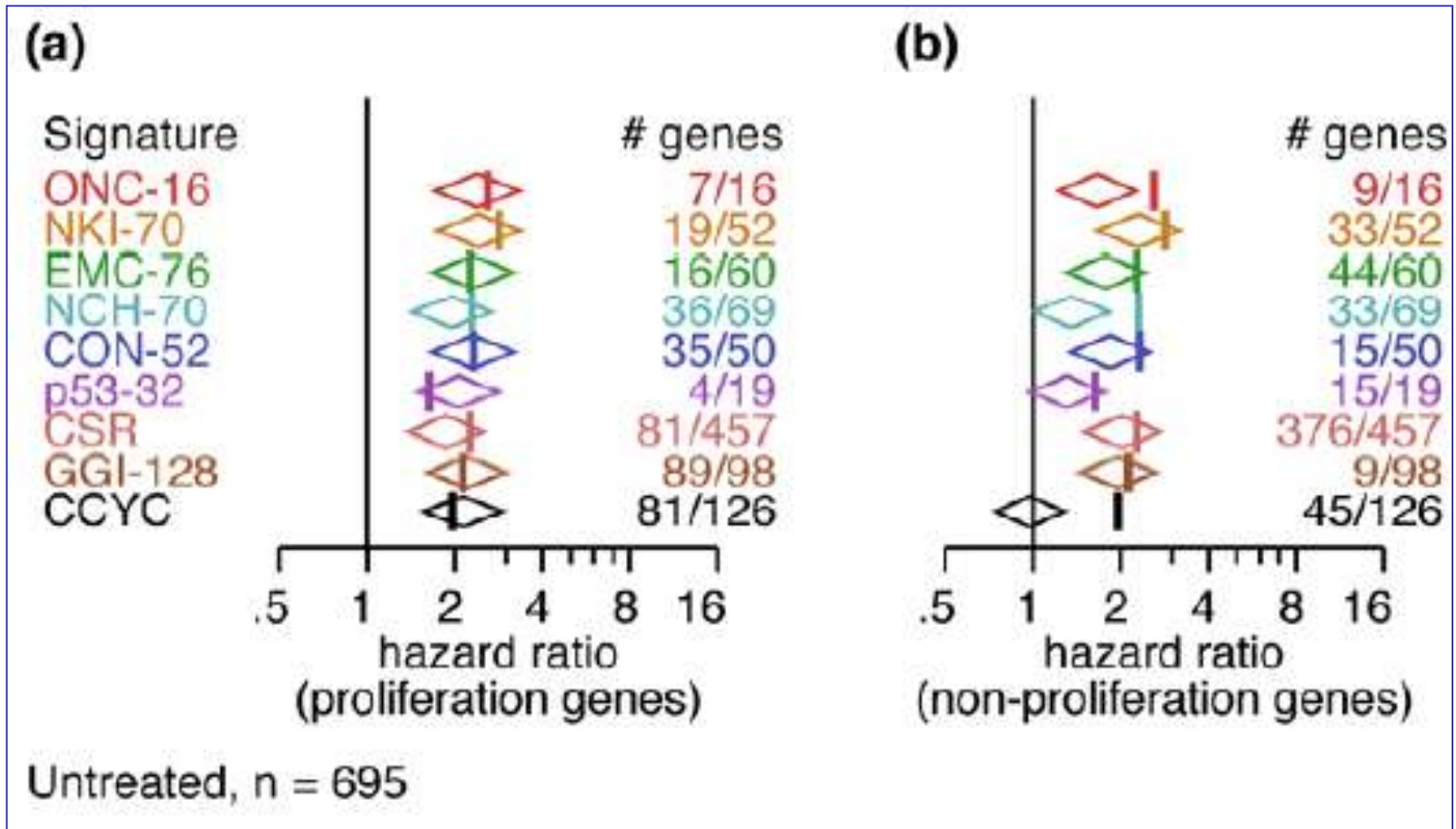
Toutes les signatures moléculaires commercialisées ne sont pertinentes que pour les tumeurs RE+ et Her2-

Table 2. Univariate analysis of different gene classifiers per molecular subgroup of untreated breast cancer patients

	ER-/HER2-			HER2+			ER+/HER2-		
	HR (95% CI)	P	No. patients	HR (95% CI)	P	No. patients	HR (95% CI)	P	No. patients
GENE70	1.12 (0.73-1.72)	0.60	154	1.29 (0.75-2.20)	0.36	120	2.11 (1.67-2.66)	3×10^{-10}	566
GENE76	1.30 (0.78-2.15)	0.32	99	0.81 (0.49-1.34)	0.42	85	1.52 (1.24-1.88)	2×10^{-5}	422
P53	1.01 (0.42-2.42)	0.98	163	1.04 (0.51-2.11)	0.92	126	2.23 (1.64-3.03)	4×10^{-7}	605
WOUND	0.90 (0.65-1.26)	0.54	160	1.24 (0.79-1.93)	0.35	126	1.48 (1.25-1.75)	5×10^{-6}	598
GGI	0.78 (0.44-1.36)	0.38	165	0.79 (0.40-1.53)	0.48	126	3.16 (2.46-4.06)	2×10^{-19}	598
ONCOTYPE	0.86 (0.36-2.08)	0.74	156	1.00 (0.50-2.02)	1.00	126	4.79 (3.43-6.68)	3×10^{-20}	605
IGS	1.08 (0.73-1.61)	0.70	169	0.96 (0.63-1.46)	0.85	126	2.12 (1.73-2.60)	6×10^{-13}	605

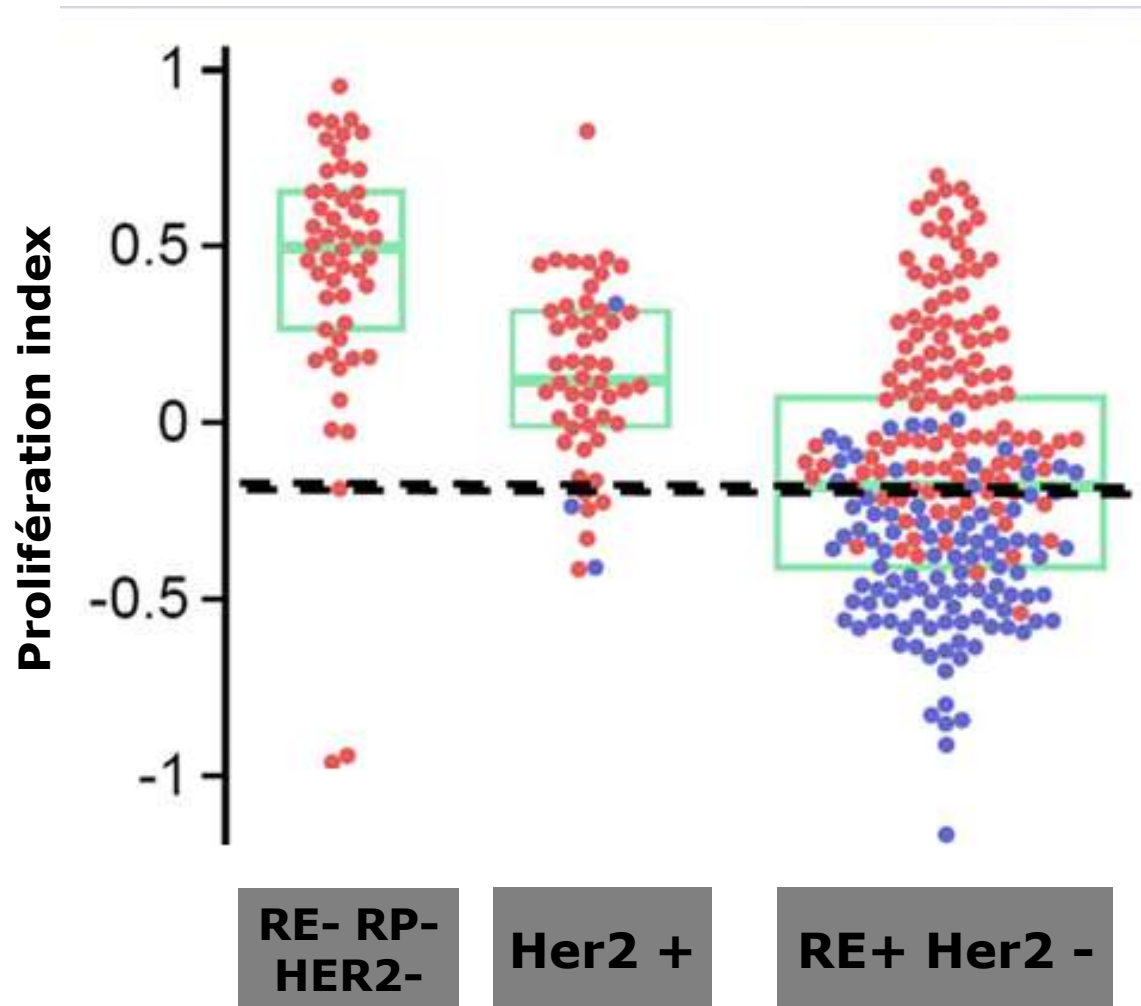
NOTE: All signatures are considered here as continuous variables. GENE70, 70-gene signature (1, 2); GENE76, 76-gene signature (3, 4); P53, p53 signature (9); WOUND, Wound response signature (5, 6); GGI, Genomic Grade Index (7); ONCOTYPE, 21-gene Recurrence Score (8); IGS, 186-gene "invasiveness" gene signature (10).

Toutes les signatures sont associées à la prolifération



Forest plots comparant la performance pronostique de \neq signatures moléculaires (**barres**)
 Et signatures partielles les gènes de prolif (**diamants a**) et les autres genes (**diamants b**)

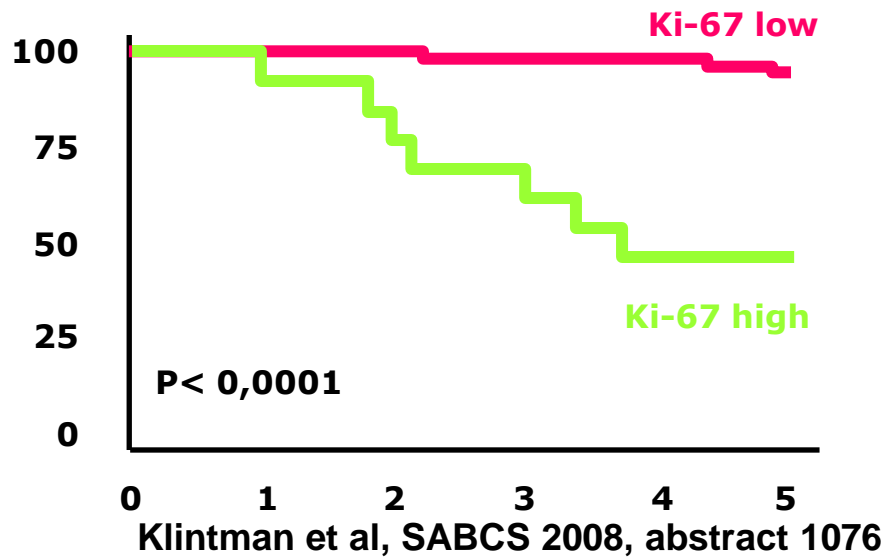
Car la prolifération doit être étudiée dans les tumeurs RE+ Her2-



Importance des marqueurs de prolifération dans les cancers du sein RE+

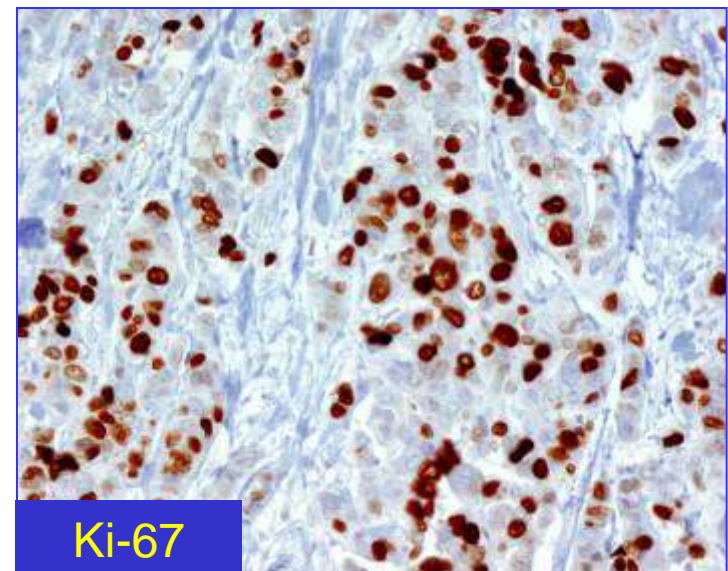
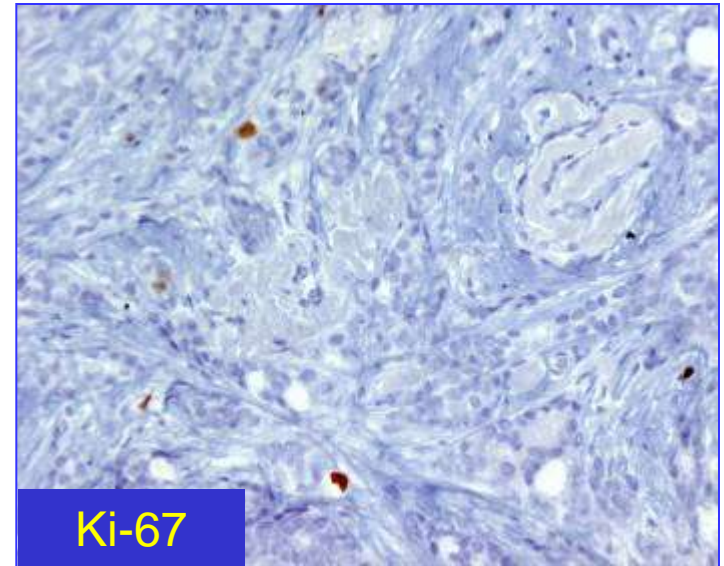
ki-67 a une valeur pronostique dans les cancers du sein RE+ grade II, mais pas dans les cancers du sein RE- ou de grade III

Grade II RE+



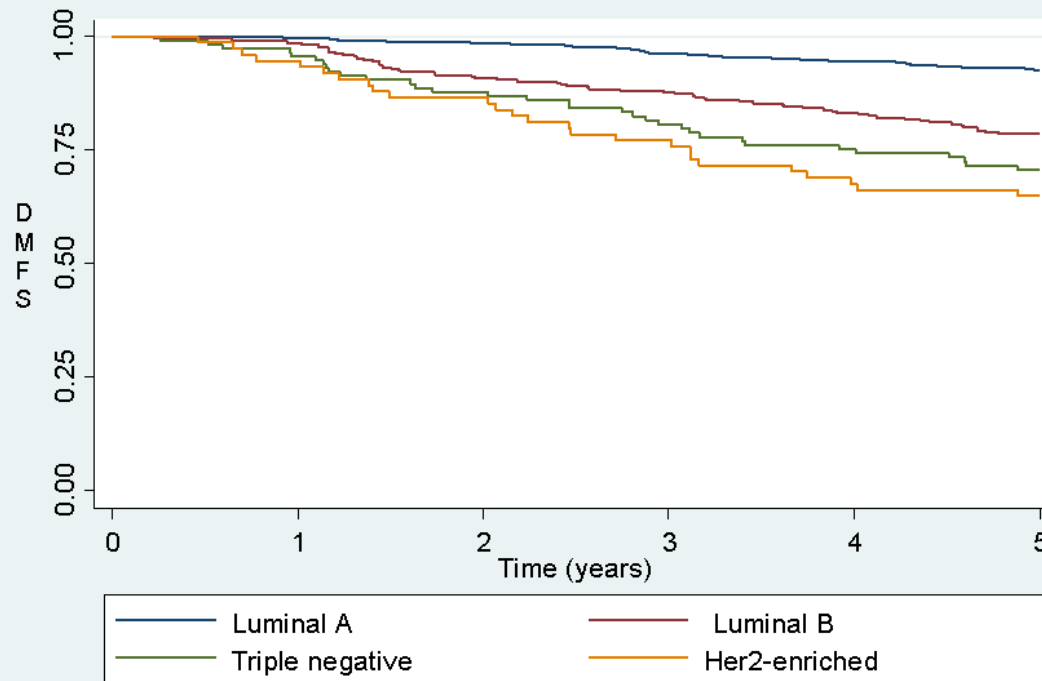
200 patients pN-, préménopausées

Seuil Ki-67 à 20%



Rechutes Métastatiques avant 5 ans

Patientes opérées entre 1989-1992, N=1124 Institut Bergonié



Luminal A : RE+ et/ou RP+, Her2-, Ki67 ≤ 15%, score mitoses 1 ou 2

Luminal B : RE+ et/ou RP+, Her2-, Ki67 > 15% ou score mitoses 3

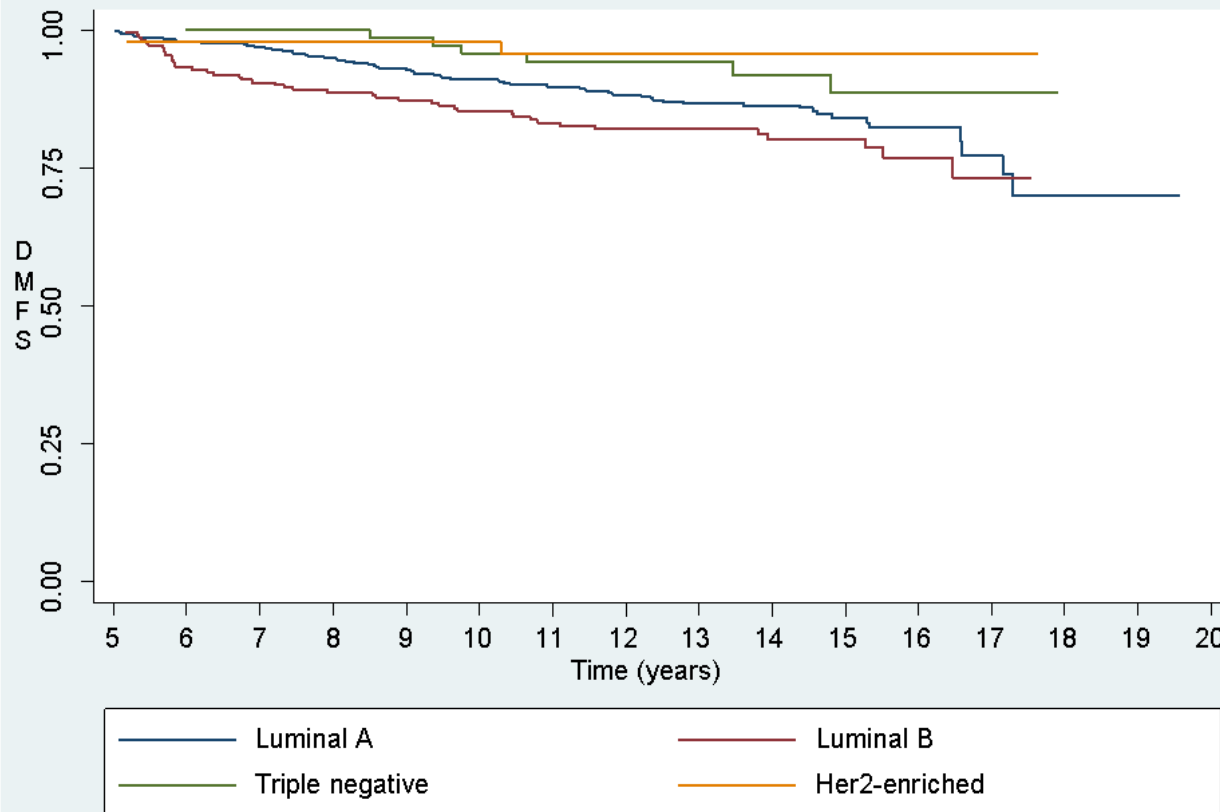
Triple négatif : RE- et RP- et Her2-

Luminal B : RE+ et/ou RP+, Her2+ quel que soit Ki67 et score mitose

Her2 enrichi : RE- et RP- et Her2+

Rechutes Métastatiques après 5 ans

Patientes opérées entre 1989-1992, N=1124 Institut Bergonié



Luminal A : RE+ et/ou RP+, Her2-, Ki67 ≤ 15%, score mitoses 1 ou 2

Luminal B : RE+ et/ou RP+, Her2-, Ki67 > 15% ou score mitoses 3

Triple négatif : RE- et RP- et Her2-

Luminal B : RE+ et/ou RP+, Her2+ quel que soit Ki67 et score mitose

Her2 enrichi : RE- et RP- et Her2+

Facteurs pronostiques indépendants en analyse MV avant 5 ans

Patientes opérées entre 1989-1992, N=1124 Institut Bergonié

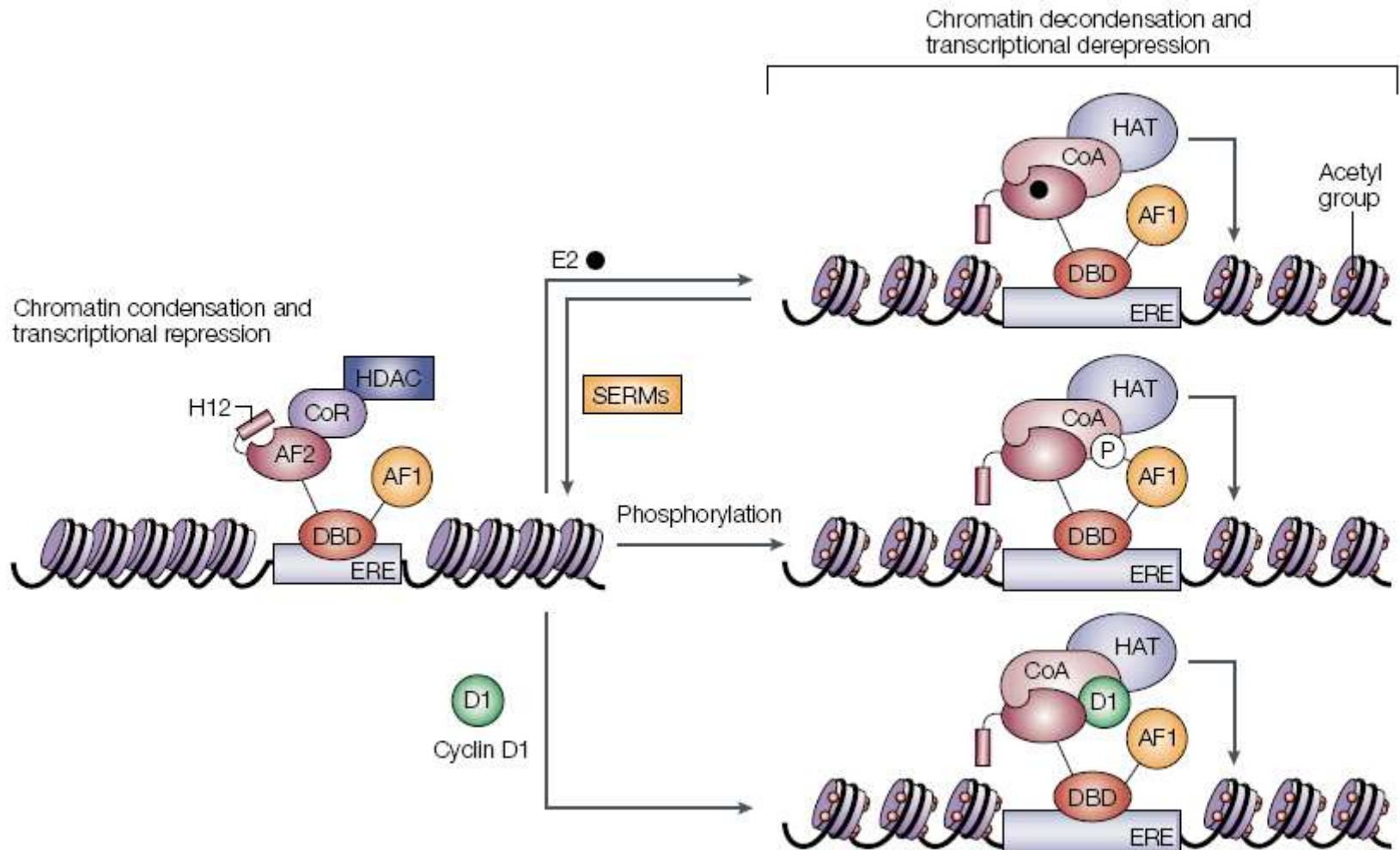
Facteurs pronostiques de rechute métastatique à distance		Luminal A n=639; 47 events		Luminal B n=295, 47 events	
		HR [95%CI]	P-value	HR [95%CI]	P-value
Age	>50 41-50 ≤40	1 1.6[0.8-3.2] 5.3[1.9-14.3]	ns* <0.001	-	ns
Tumor size	≤20 >20	-	ns	1 2.5[1.5 -4.1]	<0.001
Grade	G1 G2-3	1 2.9[1.3-6.4]	<0.001	NS	-
Vascular invasion	No Yes	-	ns	1 2.0[1.2-3.4]	0.006
Nodal involvement	N- N+	1 2.0[1.0-3.7]	0.028	NS	-
Inflammation	Marked Moderate/non s	NS	-	NS	-
Bcl2 phenotype	No Yes	2.3[1.3-4.3] 1	0.006	NS	-

Facteurs pronostiques indépendants en analyse MV après 5 ans

Patientes opérées entre 1989-1992 et n'ayant pas rechuté à 5 ans

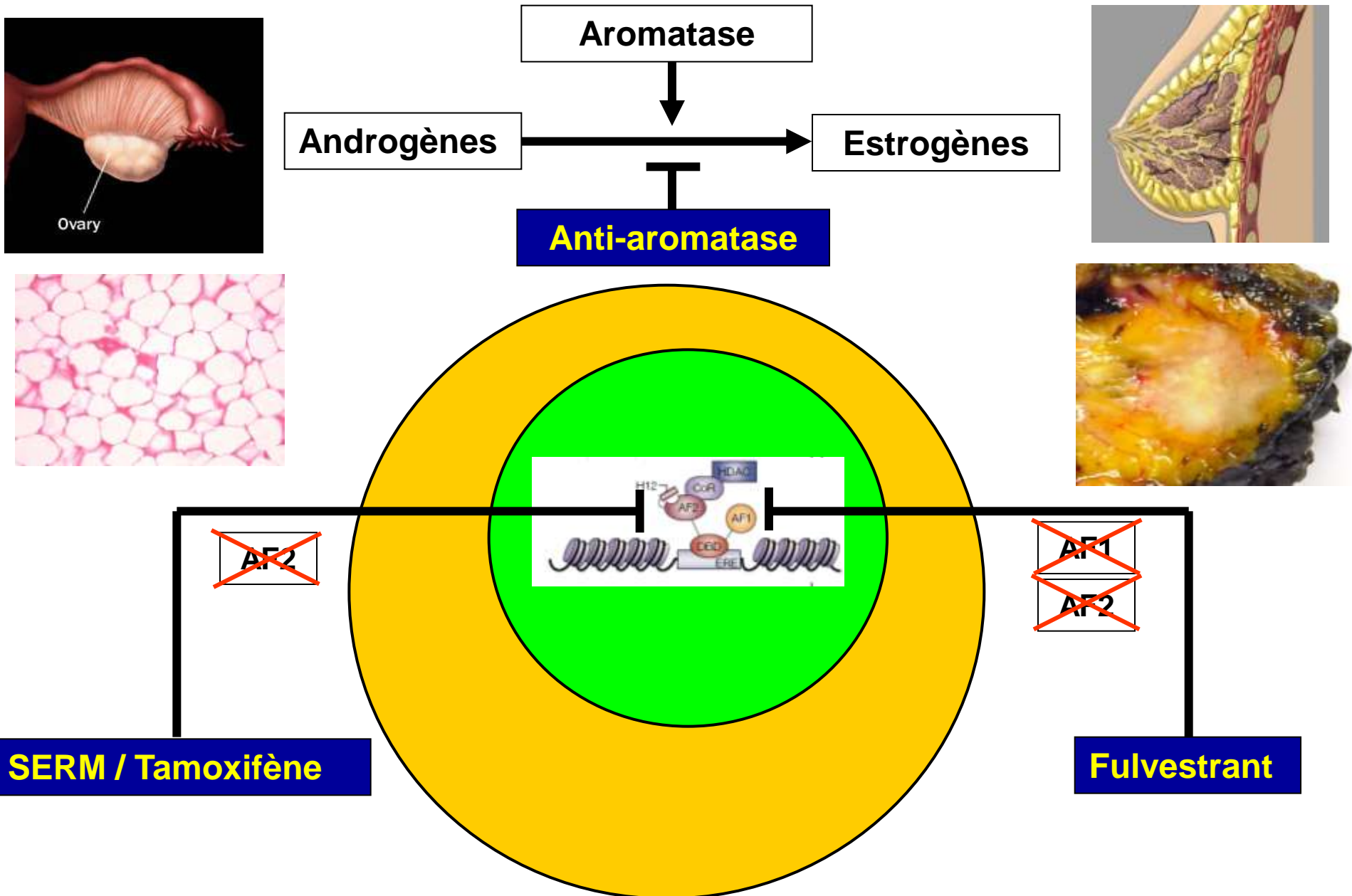
Facteurs pronostiques de rechute métastatique à distance		Luminal A n=639; 47 events		Luminal B n=295, 47 events	
		HR [95%CI]	P-value	HR [95%CI]	P-value
Age	>50 41-50 ≤ 40	1 1.3 [0.8-2.1] 1.6 [0.7-4.1]	ns ns	1 1.1 [0.5-2.4] 4.1 [2.0-8.2]	ns <0.001
Tumor size	≤20 >20	1 2.0 [1.1-3.4]	0.015	1 2.1 [1.1-4.0]	0.022
Grade	G1 G2+3	1 (G1) 1.6 [1.01-2.5]	0.047	1 (G1+2) 1.21 [0.7-2.2]	ns
Nodal involvement	N- N+	1 2.3 [1.5-3.7]	<0.001	1 3.0 [1.5-5.9]	0.001

Le récepteur aux estrogènes α



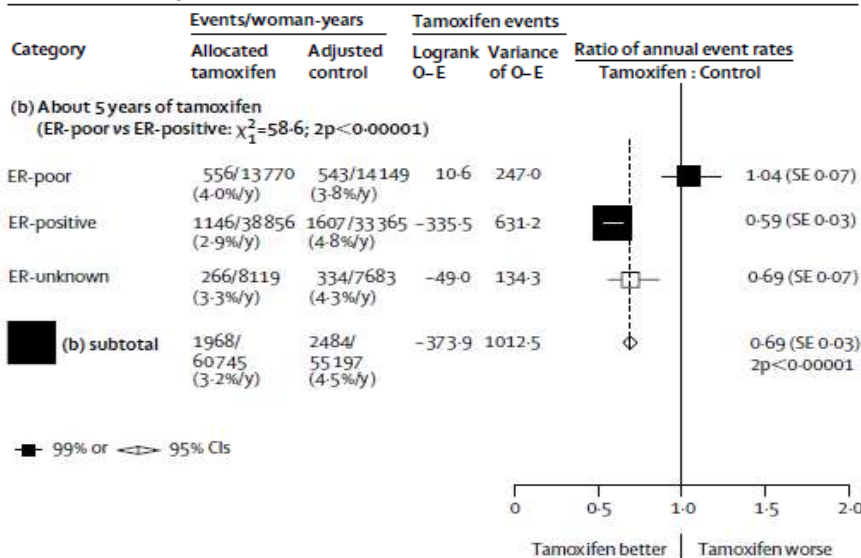
Adapté de Ali and Coombes Nat Rev Cancer 2002, 2, 101-115

Hormonothérapie et cancer du sein



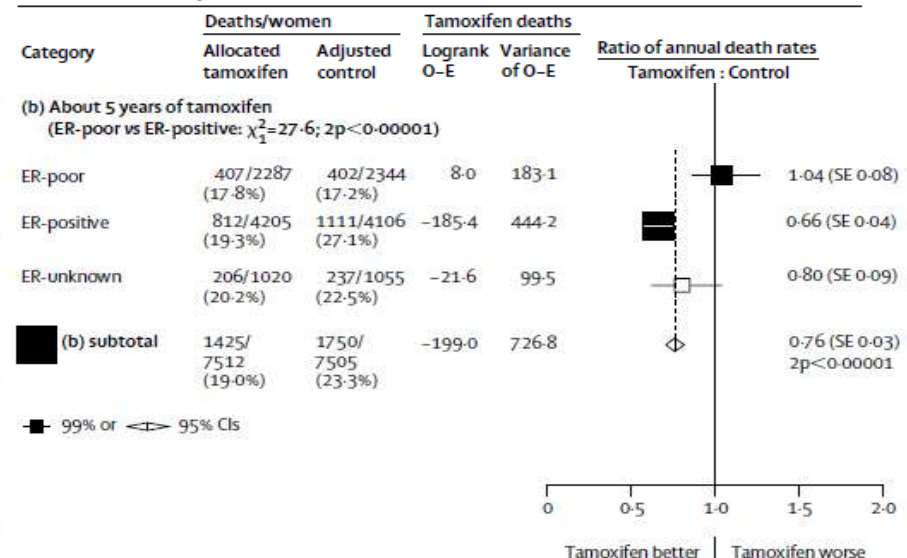
Hormonothérapie et cancer du sein

Recurrence/woman-years



Heterogeneity between effects in ER-positive disease of different tamoxifen durations: $\chi^2_1=23.2$; $2p<0.00001$

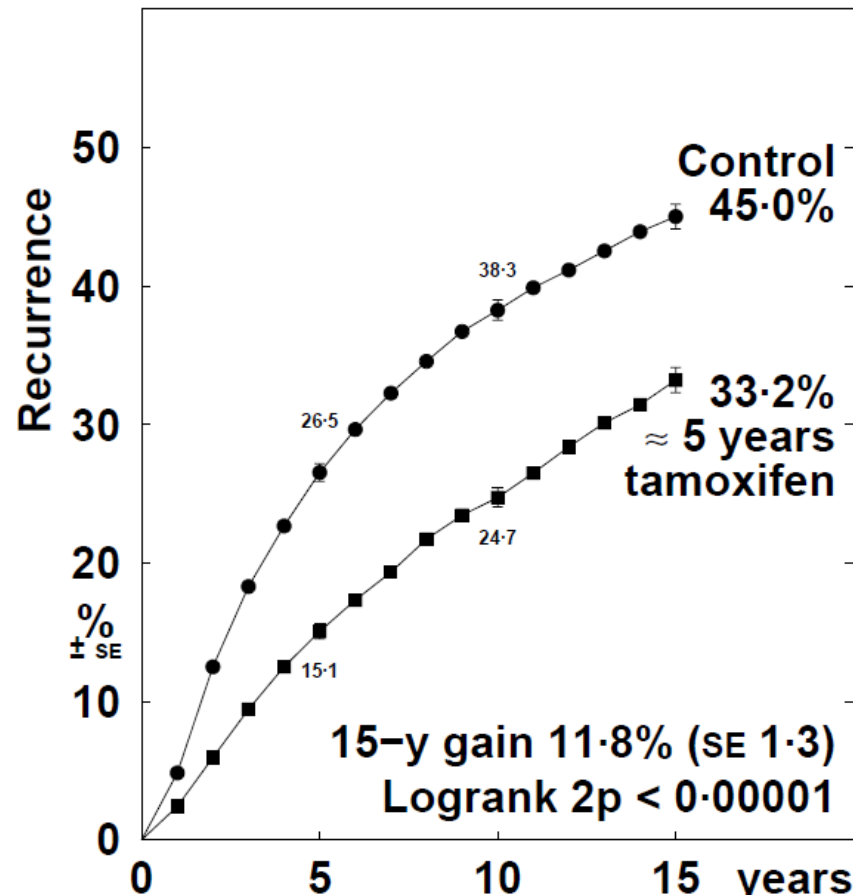
Breast cancer mortality/women



Heterogeneity between effects in ER-positive disease of different tamoxifen durations: $\chi^2_1=14.5$; $2p=0.0001$

- Le traitement adjuvant avec le Tamoxifène réduit presque de moitié le taux de récurrences des cancers du sein RE+
- Le traitement adjuvant par Tamoxifène diminue de 1/3 le taux de mortalité annuelle par cancer du sein

Hormonothérapie et cancer du sein



• 1/3 des patientes traitées par Tamoxifène pendant 5 ans présenteront une récurrence dans les 15 ans

Le pronostic des patientes RE+ sous Tamoxifène est dépendant de la quantité de RE présente dans la tumeur

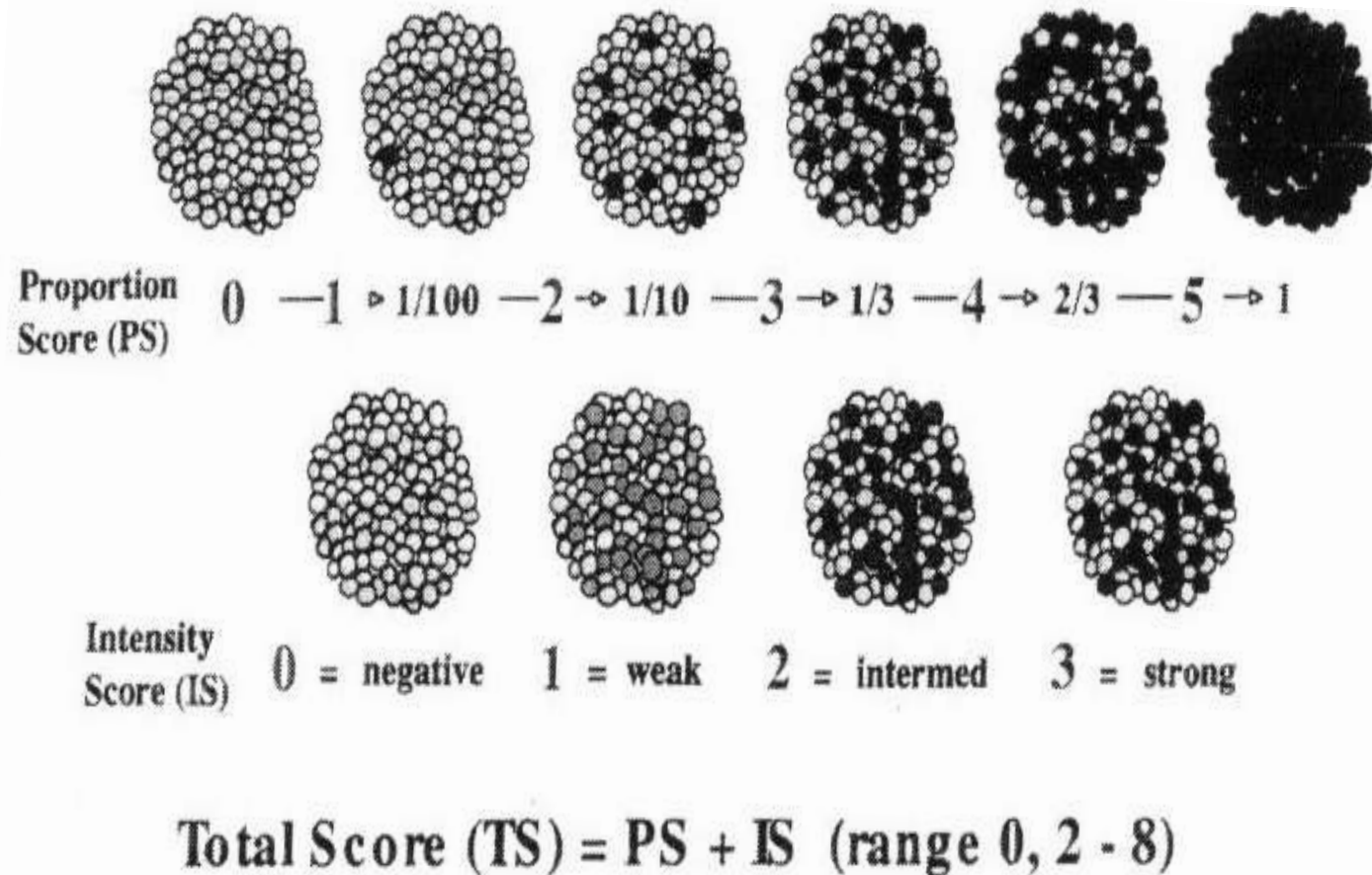


FIGURE 2. Method for scoring the immunostaining signals for ERs and PgRs. A proportion score (PS) is assigned that represents the estimated proportion of positive tumor cells on the entire slide (range, 0-5). An intensity score (IS) is assigned that estimates the average staining intensity of positive tumor cells (range, 0-3). The PS and IS are added to obtain a total score (TS) (range, 0-8).

Score d'Allred

Patients receiving any endocrine therapy (n = 777)

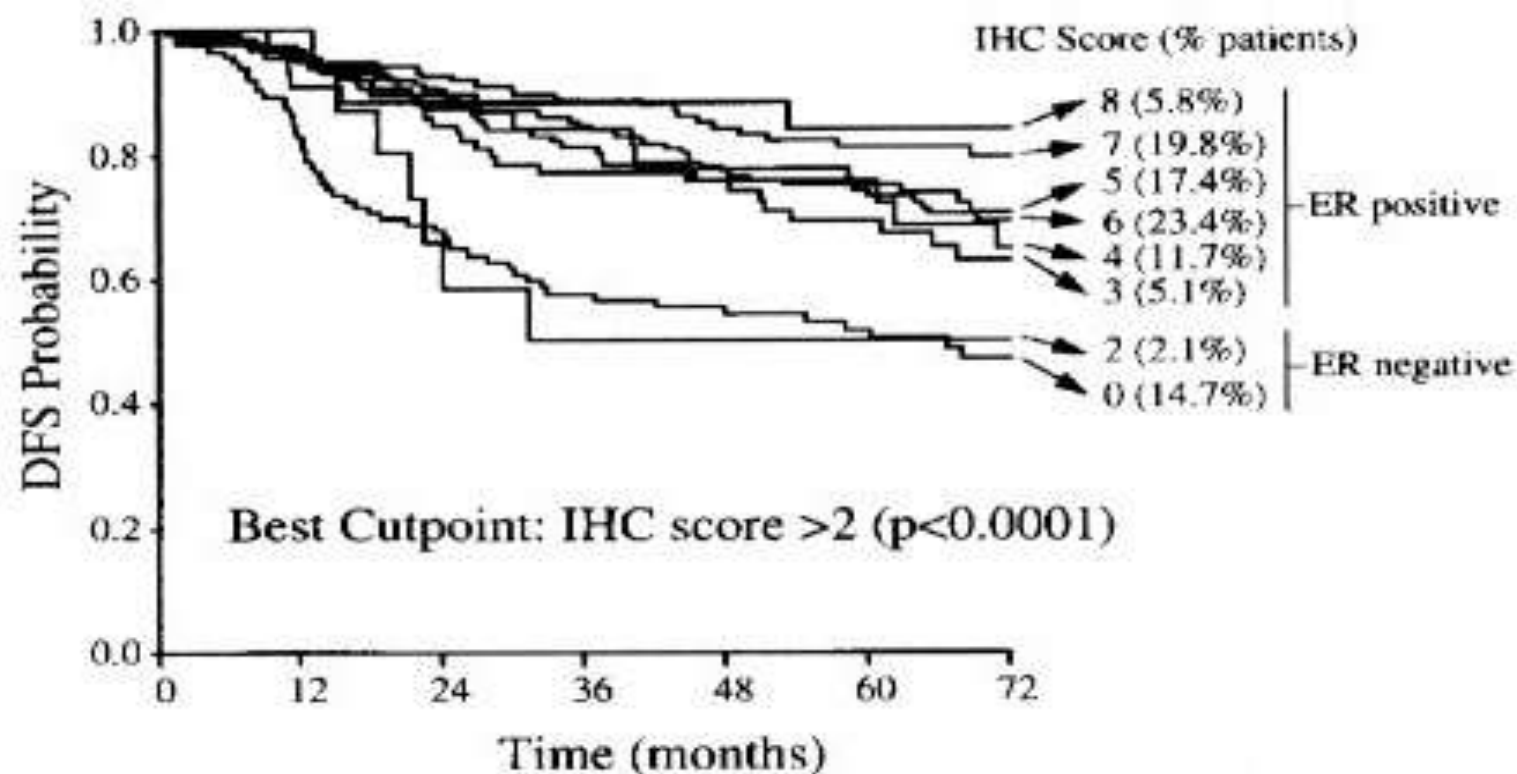
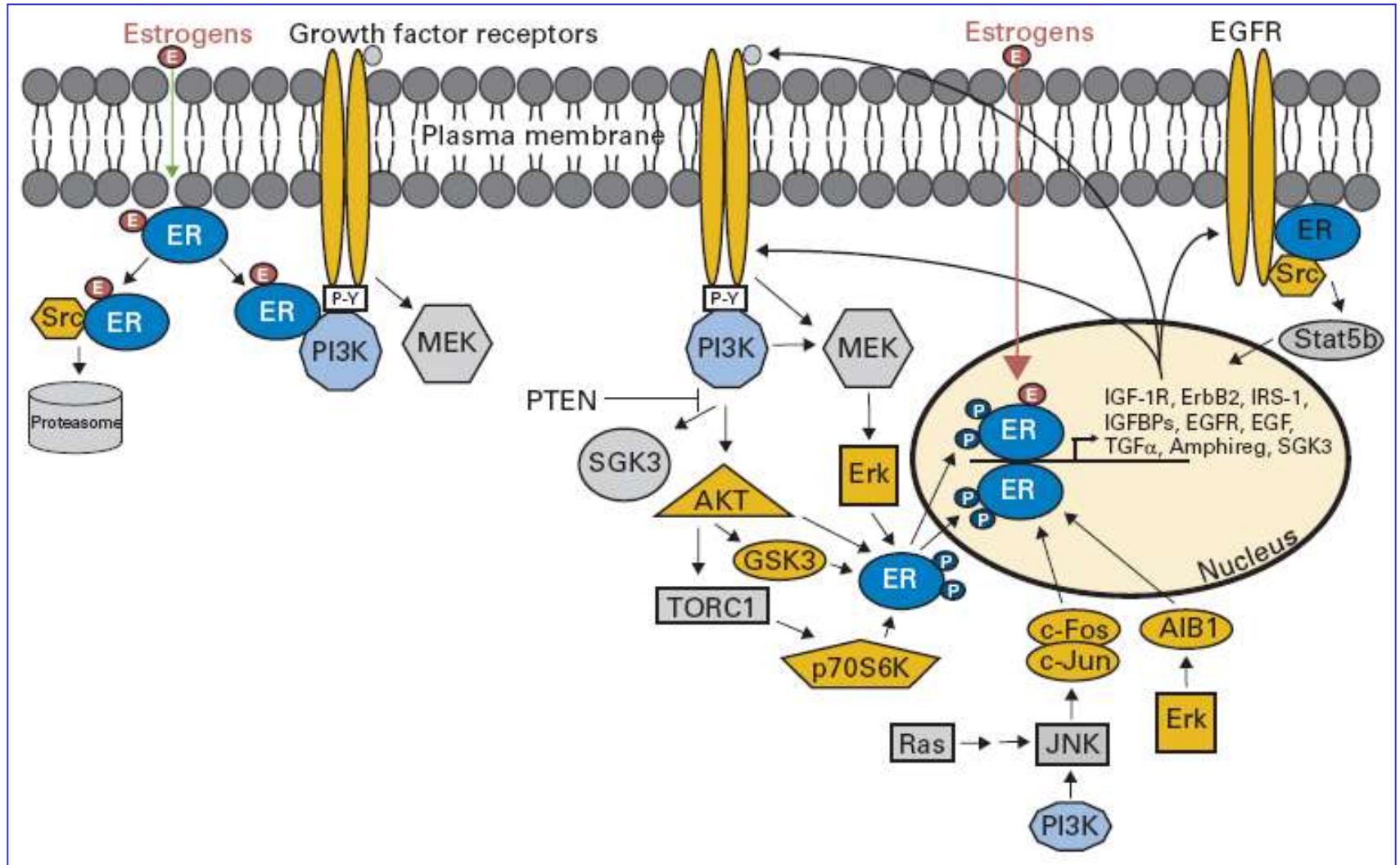


Fig 2. Univariate DFS curves for all possible total IHC scores in patients receiving any adjuvant endocrine therapy (almost always tamoxifen). An IHC score > 2 was the optimal cut point for predicting significantly improved outcome ($P < .0001$), and this value was used to define ER positivity throughout the study.

Importance de la voie PI3K dans l'activation de RE et dans les mécanismes de Résistance à l'hormonothérapie



Importance de la voie PI3K dans l'activation de RE et dans les mécanismes de Résistance à l'hormonothérapie

Gene	Protein	Aberration	Effect on Signaling	Frequency	Patient Prognosis	Reference
<i>ERBB2</i>	HER2	Gene amplification or overexpression	Hyperactivation of ErbB2 signaling (PI3K, MEK)	Approximately 10% of ER-positive tumors	Correlates with worse outcome	Ellis et al, ³ Arpino et al, ⁴ De Laurentiis et al ⁵
<i>PTEN</i>		Loss-of-function mutation or reduced expression	Hyperactivation of PI3K signaling	37% to 44% of ER-positive tumors	No consistent correlation	Pérez-Tenorio et al, ¹² Saal et al, ¹³ Shoman et al ¹⁴
<i>PIK3CA</i>	p110 α , PI3K	Activating mutation	Hyperactivation of PI3K signaling	28% to 47% of ER-positive tumors	No correlation or correlation with better outcome	Pérez-Tenorio et al, ¹² Baselga et al, ¹⁵ Stemke-Hale et al, ¹⁶ Ellis et al, ¹⁷ Campbell et al ¹⁸
<i>PIK3CB</i>	p110 β , PI3K	Amplification	Unknown	5% of all cases	Unknown	Crowder et al ¹⁹
<i>IGF1R, INSR</i>	IGF-1R, InsR	Receptor activation	Activates IGF-1R/InsR signaling (PI3K, MEK)	48% of ER-positive tumors	Unknown	Law et al ²⁰
<i>FGFR1</i>		Amplification	Hyperactivation of FGFR signaling (PI3K, MEK)	11.6% of ER-positive tumors	Correlates with shorter RFS	Turner et al ²¹
<i>RPS6K1</i>	p70S6K	Amplification	Activates mTORC1, protein translation	8.8% to 12.5% of all tumors	Unknown	Monni et al ²²
<i>INPP4B</i>		Reduced expression or genomic loss	Hyperactivation of PI3K signaling	8.4% to 37.7% of ER-positive tumors	Correlates with worse outcome	Gewinner et al, ²³ Fedele et al ²⁴
<i>PIK3R1</i>	p85 α , PI3K	Inactivating mutation	Derepression of catalytic activity of p110 α	2% of all tumors	Unknown	Jaiswal et al ²⁵
<i>AKT1</i>		Activating mutation	Hyperactivation of AKT signaling	2.6% to 3.8% of ER-positive tumors	Unknown	Stemke-Hale et al, ¹⁶ Loi et al, ²⁶ Carpten et al ²⁷
<i>AKT2</i>		Amplification	Hyperactivation of AKT signaling	2.8% of all tumors	Unknown	Bellacosa et al ²⁸
<i>EGFR</i>		Amplification	Hyperactivation of EGFR signaling (PI3K, MEK)	0.5% of ER-positive tumors	Unknown	Al-Kuraya et al ²⁹
<i>PDK1</i>		Amplification or overexpression	Hyperactivation of PDK1 signaling (AKT, mTORC1)	21% of all tumors	Unknown	Maurer et al ³⁰
<i>KRAS</i>		Activating mutation	Hyperactivation of Ras signaling	4% to 6% of all tumors	Unknown	Rochlitz et al, ³¹ Di Nicolantonio et al, ³²

Cancers du sein Luminaux

Synthèse 1

- Tumeurs hétérogènes définis par l'expression d'ESR1 (RE)
- La méthode de détection actuelle est l'IHC (seuil, standardisation)
- Les cancers Luminal A expriment fortement RE, ont un taux de prolifération bas, leur profil CGH est simple
- Les cancers Luminal B expriment à un moindre niveau RE, ont un taux de prolifération élevé, leur profil CGH montre fréquemment des amplicons ou est remanié
- Les tumeurs RE+ et Her2+ sont actuellement classées dans les luminaux B

Cancers du sein Luminaux

Synthèse 2

- La prolifération est un facteur important à étudier dans les cancers du sein de phénotype luminal
- Les facteurs pronostiques classiques sont importants à considérer pour la continuation de l'hormonothérapie après 5 ans
- La résistance à l'hormonothérapie est multifactorielle et fait intervenir ≠ différentes voies de signalisation (PI3K)
- Le futur de l'hormonothérapie = Combinaison TT classique et inhibiteurs voies de signalisation

Bibliographie

- Sgroi DC. Annu. Rev. Pathol. Mech. Dis. 2010
- Hu et al. BMC Genomics 2006, 7, 96
- Klintman et al, SABCS 2008, abstract 1076
- Desmedt Clin Cancer Res 2008, 14, 5158-5165
- Ali and Coombes Nat Rev Cancer 2002, 2, 101-115
- Musgrove and Sutherland Nat Rev Cancer 2009, 9, 631-643
- Lash et al. Lancet Oncol 2009, 10, 825-833
- Hoskins et al. Nat Rev Cancer 2009, 9, 576-586
- Viale J Clin Oncol 2008, 26, 5569-5575
- Kouros-Mehr, Cell 2006, 127, 1041-1055
- Asselin Labat Nat Cell Biol 2007, 9, 201-209
- Mehra Cancer Res 2005, 65, 11259-11264
- Badve Clin Cancer Res 2007, 13, 4415- 4421
- Miller J Clin Oncol 2011, 29, 4452-4461

Classification phénotypique des cancers du sein et traitements systémiques

