

7^e ÉDITION

JOURNÉES DU GFCO 2021

Biomarqueurs et analyses moléculaires en oncologie

Avec la participation
scientifique du



Biomarqueurs en oncologie : actualités et vision projective

Modérateur : Lucie Karayan-Tapon, Poitiers & Emmanuel Khalifa, Bordeaux



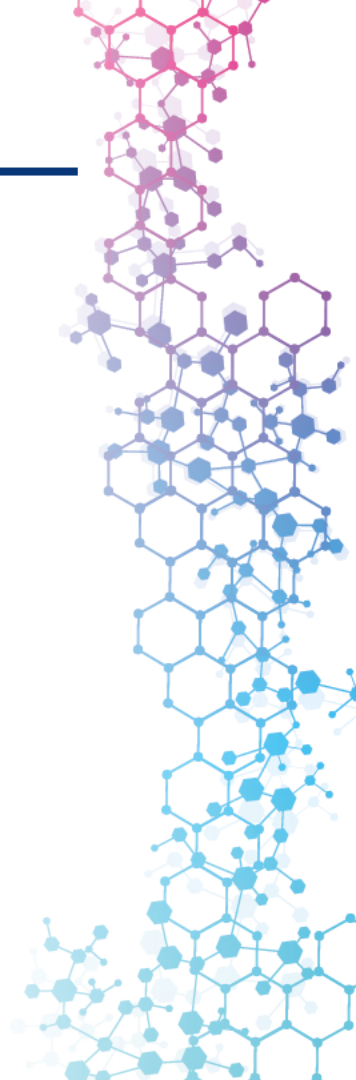
Oncologie digestive - COLON

David Tougeron, Poitiers

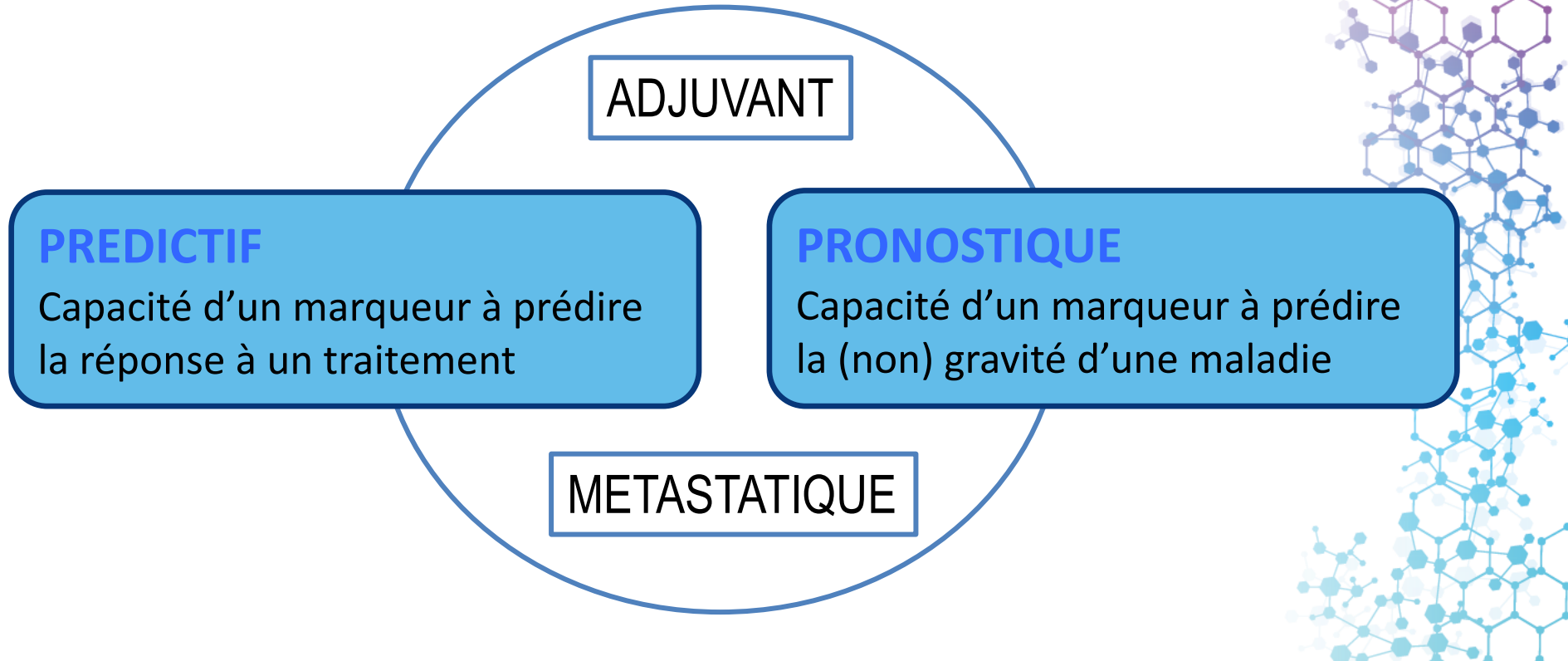


Liens d'intérêt

- **AMGEN, MERCK, NOVARTIS, BMS, MSD, ASTRA ZENECA, SANOFI, ROCHE, BAYER, SERVIER, IPSEN**



Qu'est-ce qu'un biomarqueur en oncologie ?



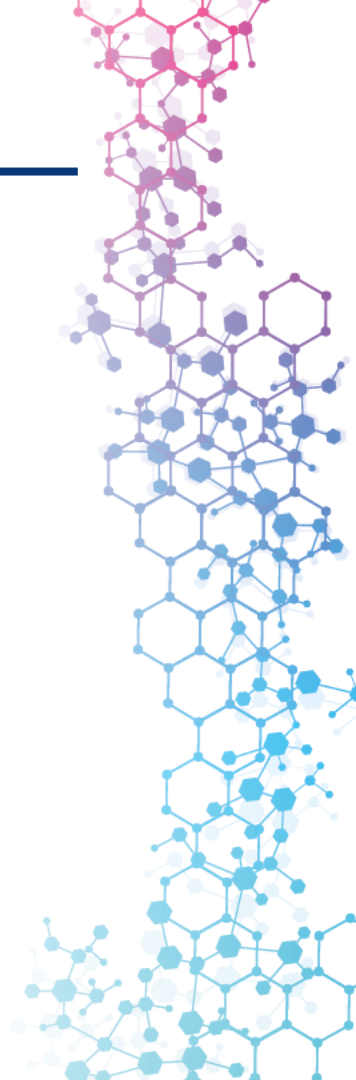
Les biomarqueurs indispensables !

■ En situation adjuvante

- Statut MMR et/ou MSI dans les cancers colorectaux (CCR) stades II

■ En situation métastatique

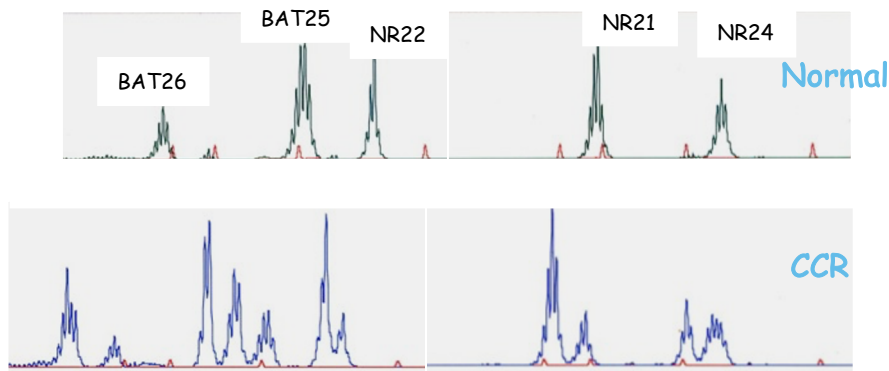
- Statut MMR et/ou MSI
- Statut *RAS* et *BRAF*
- Statut *POLE*



L'instabilité microsatellitaire (MSI)

- Instabilité génétique des microsatellites (séquences répétées de l'ADN) par inactivation du système de réparation de l'ADN.
- Analyse faite sur l'**ADN tumoral** ($\geq 2/5$ marqueurs instables).

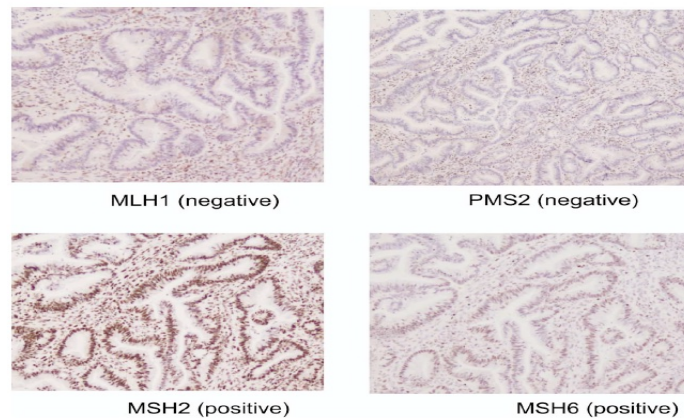
Au laboratoire de génétique moléculaire



Immunohistochimie (IHC MMR)

- Perte d'expression des protéines du système MMR liée à son inactivation.
- Marquage par des anticorps (MLH1/PMS2, MSH2/MSH6) sur la **pièce opératoire** tumorale.
- Oriente vers le gène muté.

Dans le service d'anatomopathologie



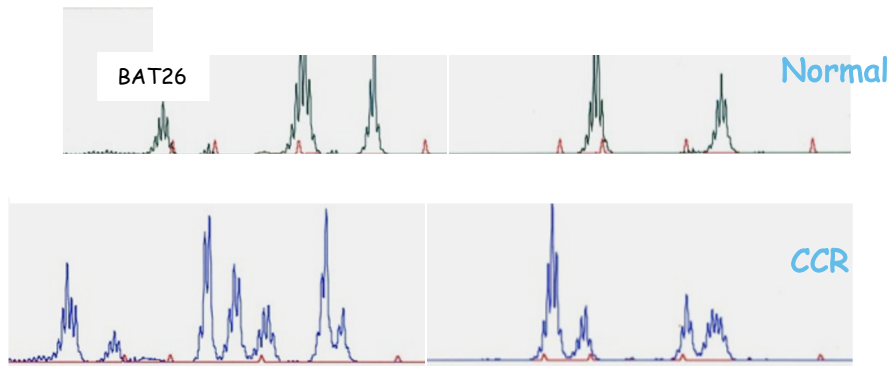
L'instabilité microsatellitaire (MSI)

- Instabilité génétique des microsatellites (séquences répétées de l'ADN) par inactivation du système de réparation de l'ADN.

- Analyse marqueur

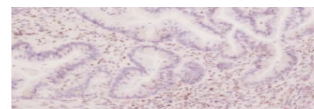
Au labo

Faire les 2 avant traitement par immunothérapie

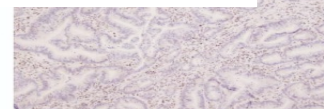


Immunohistochimie (IHC MMR)

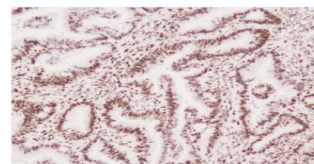
- Perte d'expression des protéines du système MMR liée à son inactivation.
- Marquage par des anticorps



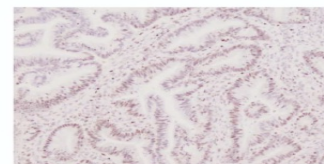
MLH1 (negative)



PMS2 (negative)



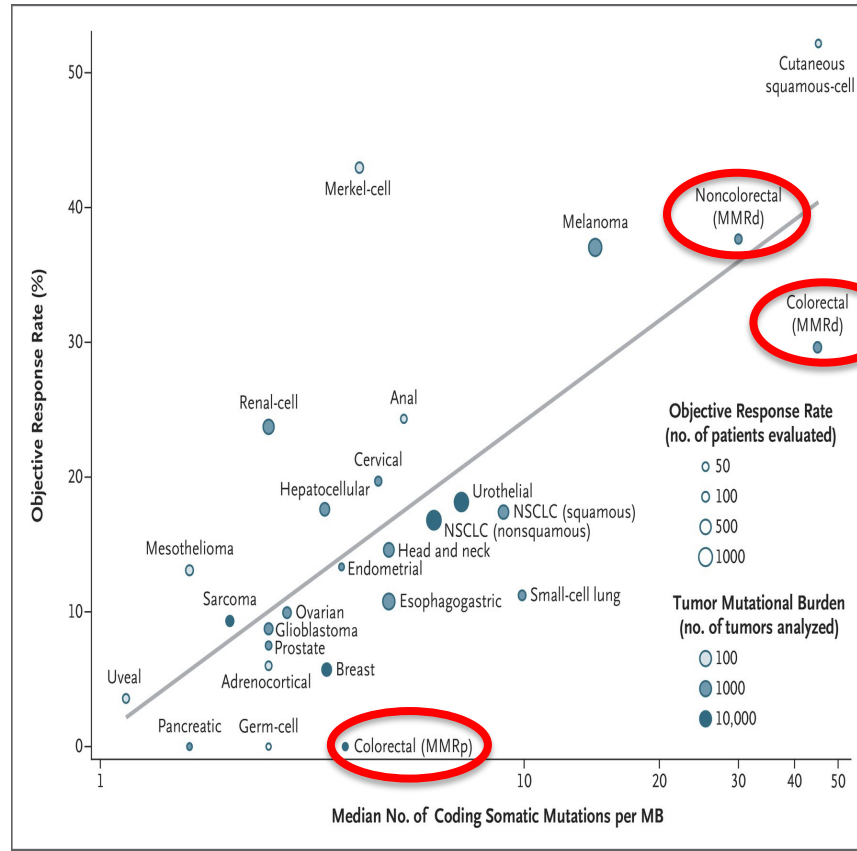
MSH2 (positive)



MSH6 (positive)

biologie

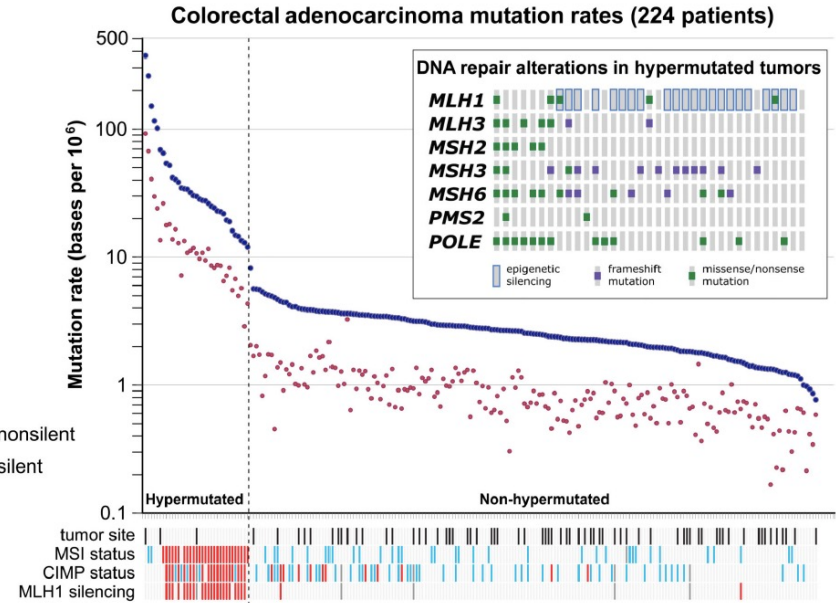
Corrélation taux mutationnel / charge antigénique / infiltration T / efficacité des inhibiteurs « *immunes checkpoints* »



Mutation du gène *POLE* (ADN polymérase ϵ)

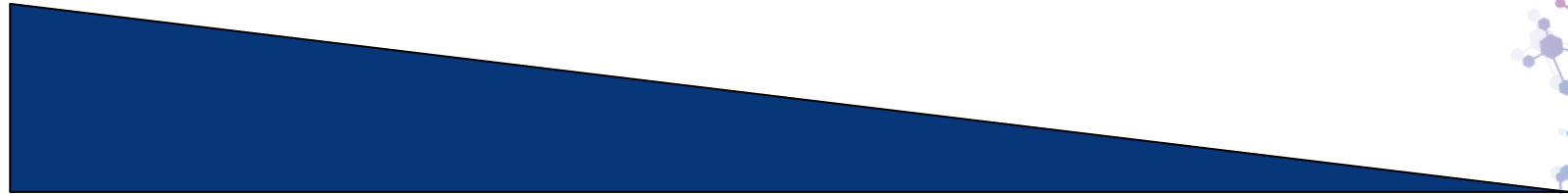
- ADN polymérase ϵ impliquée dans la réplication de l'ADN, mais aussi dans les systèmes de réparation de l'ADN.
- Tumeur parfois dMMR/MMSI mais le plus souvent pMMR/MSS
- Très rarement métastatique
- Mutations constitutionnelles de *POLE* rares (polyposes digestives) mais mutations somatiques plus fréquentes (1%).
- Tumeurs « hypermutées » très sensibles à l'immunothérapie si mutation de *POLE* se trouve dans domaine exonucleasique.

A.



Domingo E et al. *Lancet Gastroenterol Hepatol.* 2016
Gong J, et al. *J Natl Compr Canc Netw.* 2017
Cancer Genome Atlas Network. *Nature* 2012

Fréquence du statut dMMR/MSI



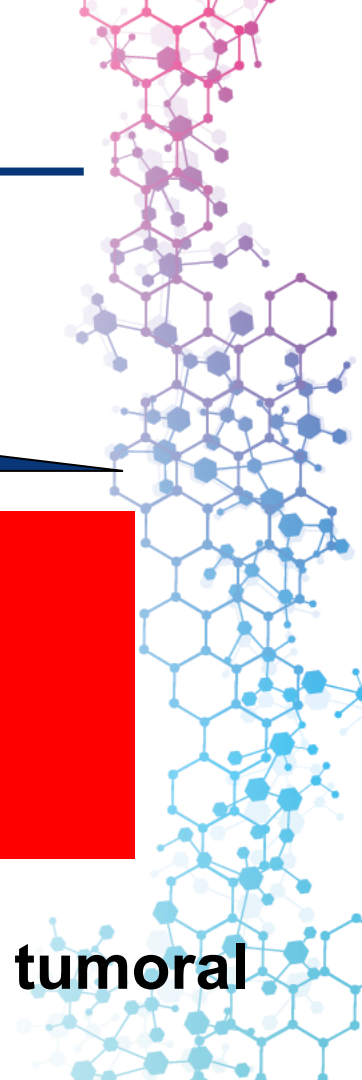
Stades I – II – III

10-15%

Métastatique

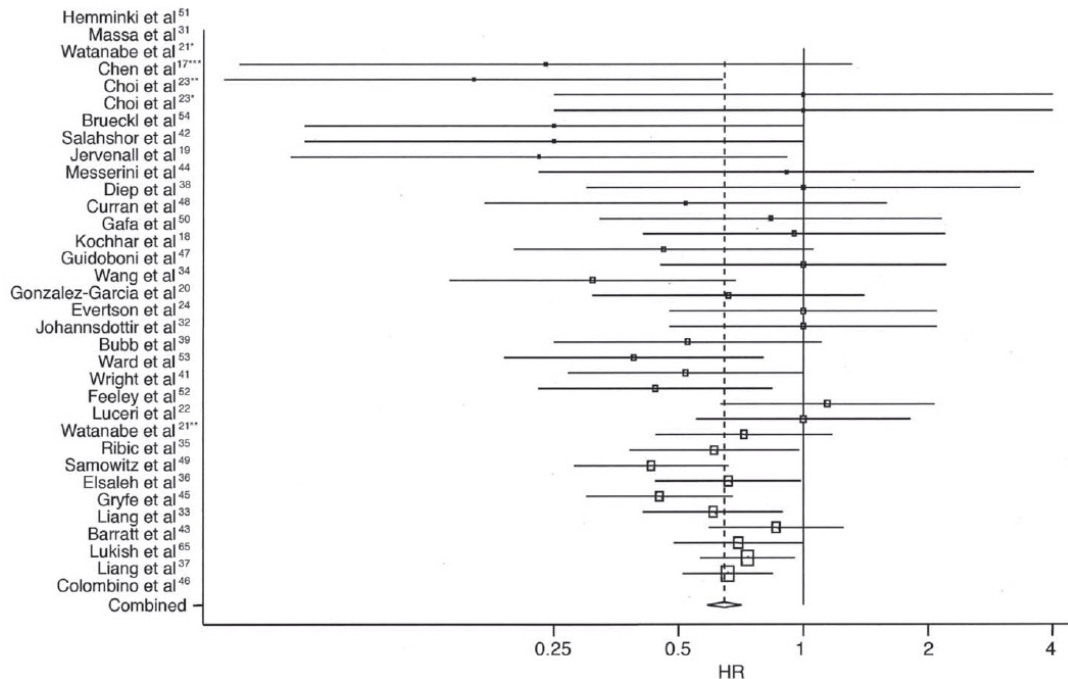
3-5%

Fréquence du statut dMMR/MSI dépend du stade tumoral



Meilleur pronostic des CCR MSI non métastatique

- 31 études
- 1277 CCR MSI (7642 CCR)
- Réduction de 35% du risque de décès si MSI



- Les CCR MSI sont associés à une **meilleure survie globale** que les CCR MSS.

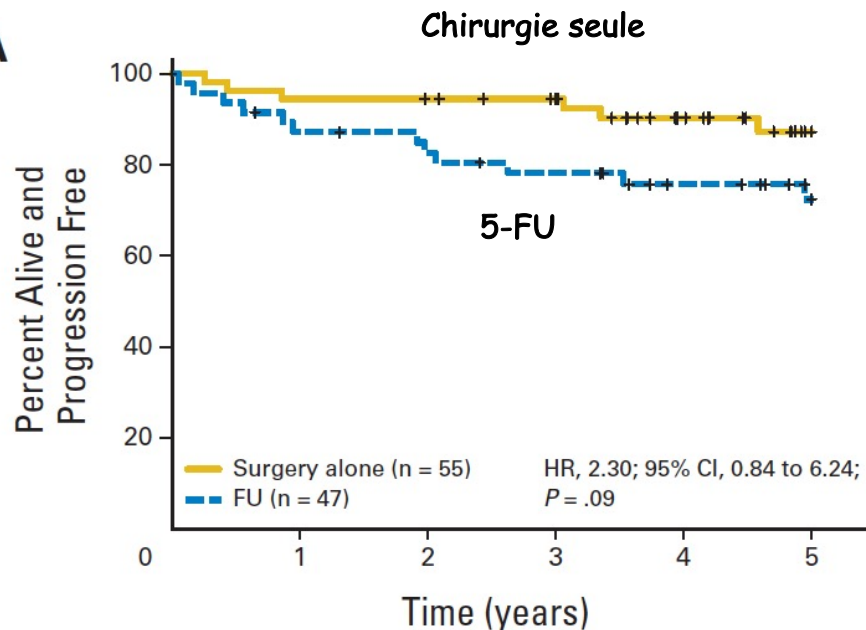
Chimiorésistance au 5FU des CCR MSI stade II



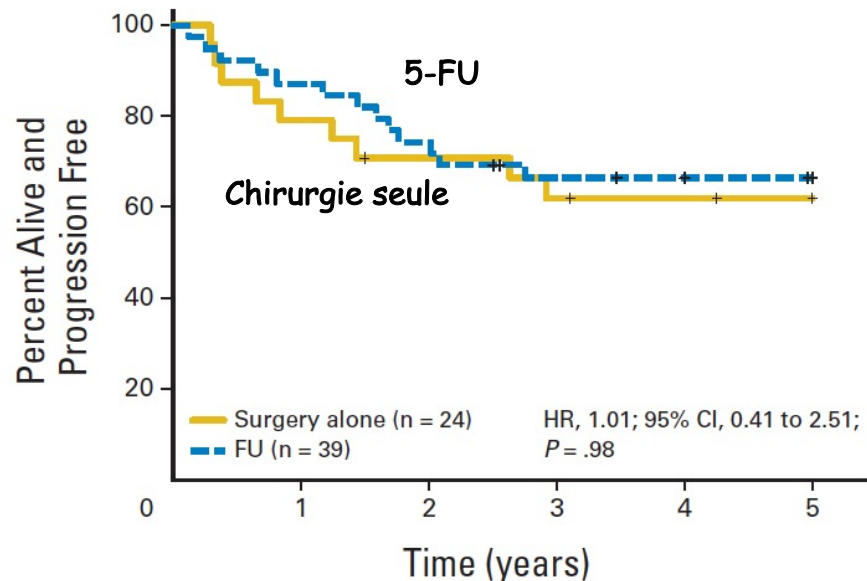
CCR MSI stade II

CCR MSI stade III

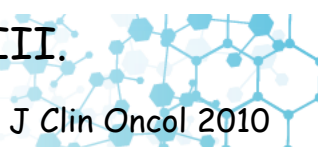
A



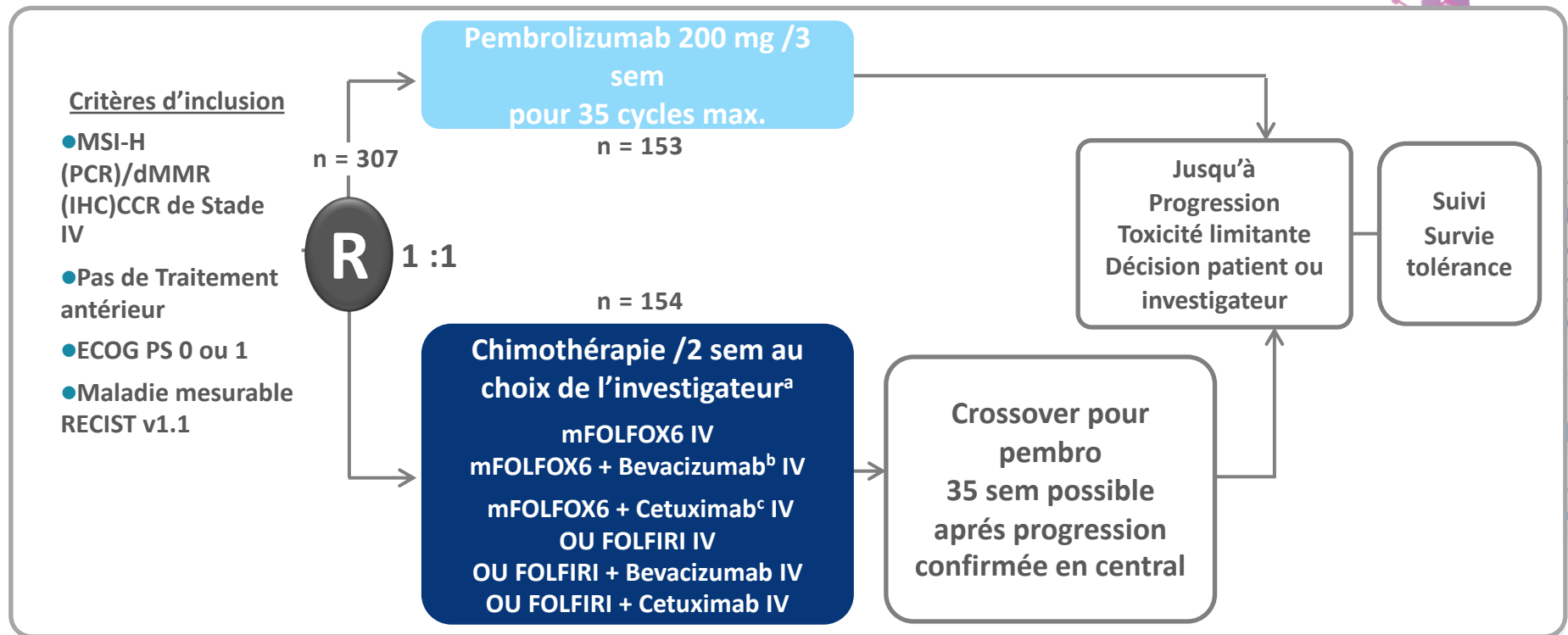
B



- Effet délétère dans les stades II et absence de bénéfice dans les stades III.



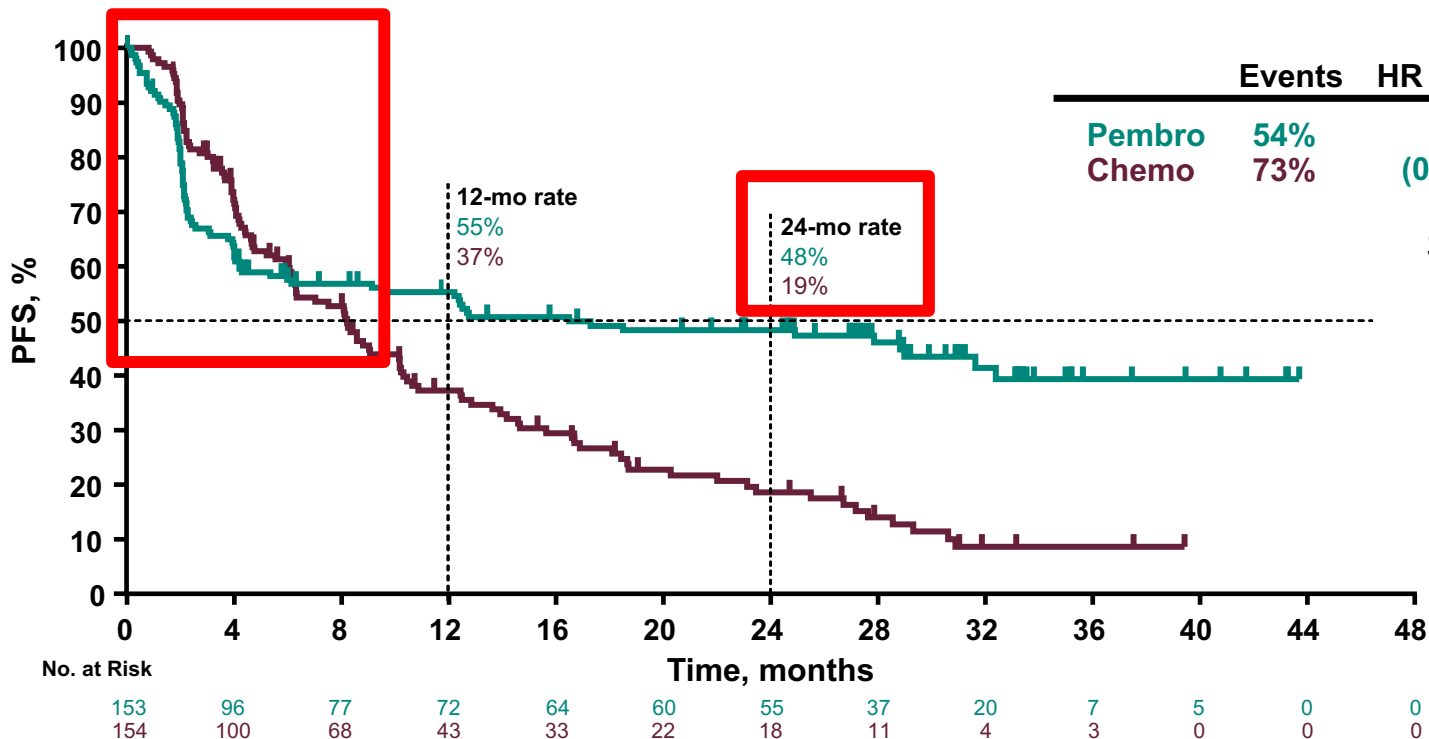
Essai KEYNOTE 177



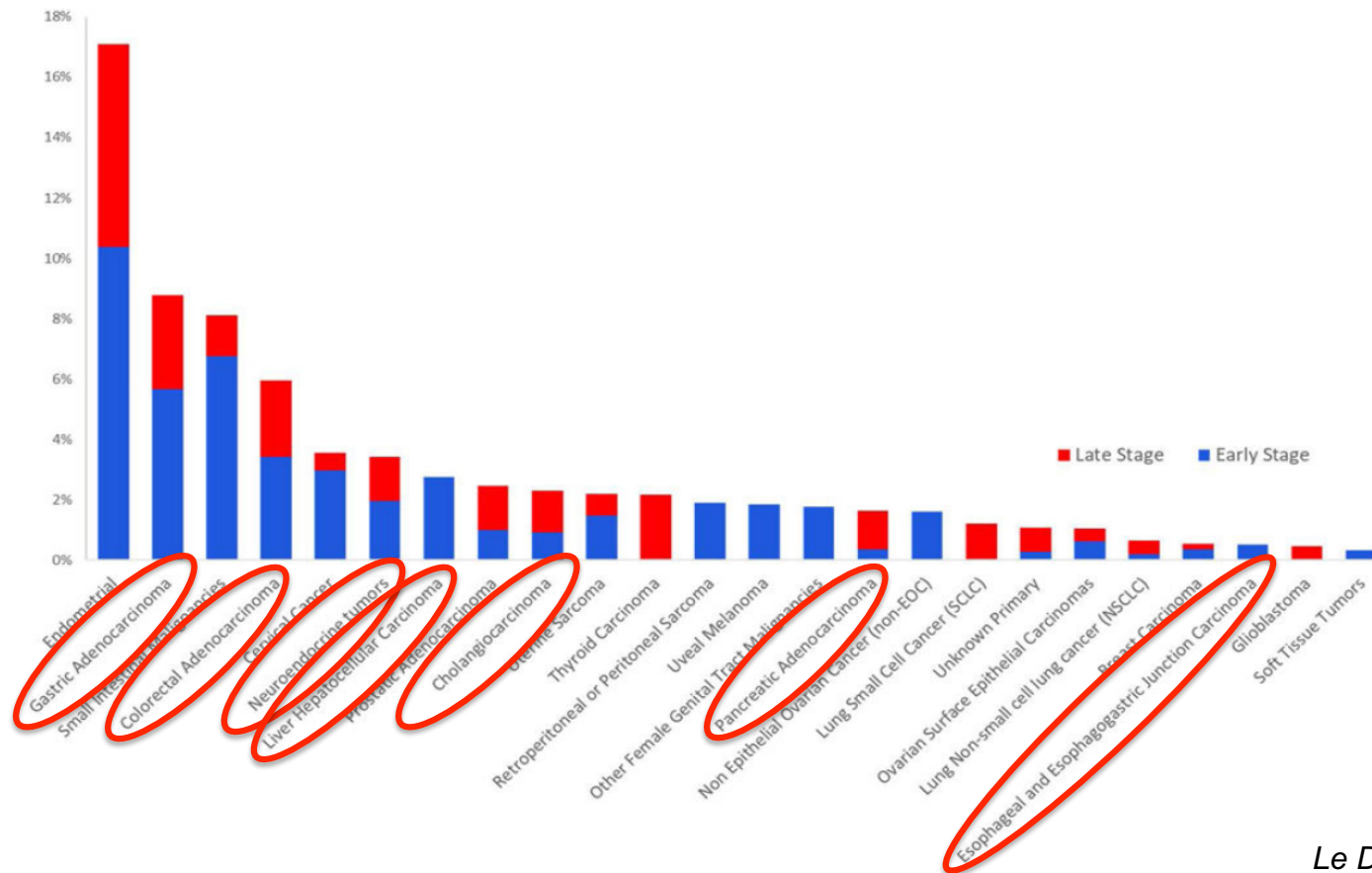
- Double objectif principal: PFS RECIST v1.1 en revue centralisée et OS

Essai KEYNOTE 177

Survie sans progression

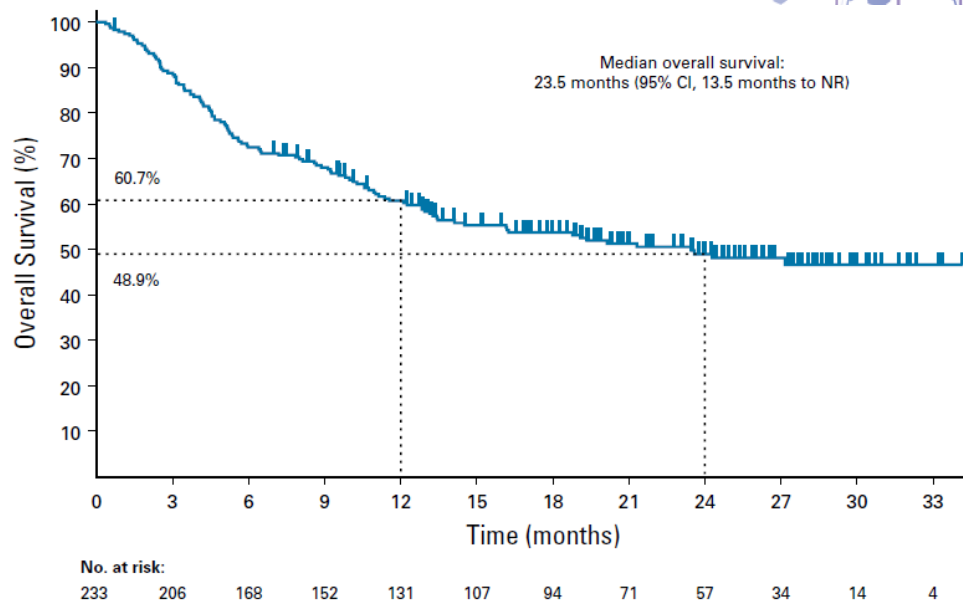
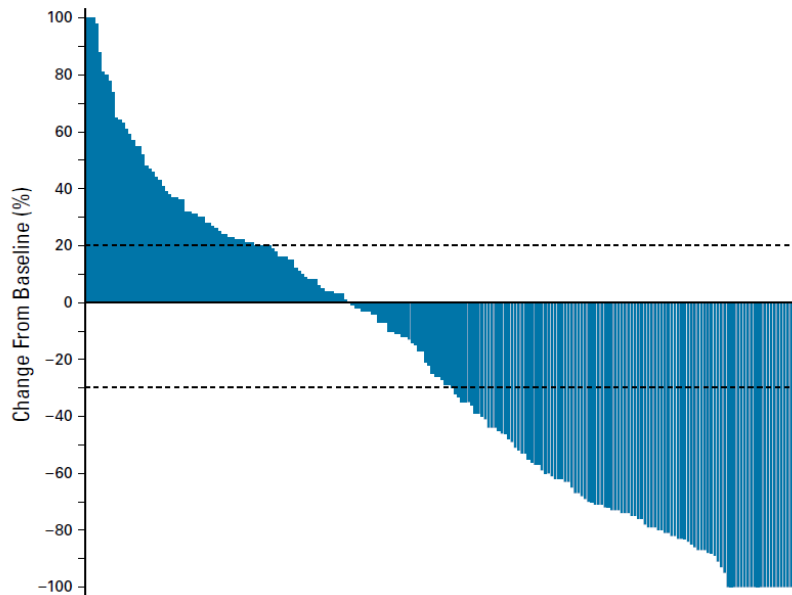


Données dans les autres tumeurs dMMR/MSI



Données dans les autres tumeurs dMMR/MSI

- 233 tumeurs dMMR/MMSI traitées par Pembrolizumab.



- 14,6% EIG de grade ≥ 3

Essai NICHE: immunothérapie néo-adjuvante

ADK côlon

- Stade localisé, M0
- Sans perforation ni occlusion
- dMMR ou pMMR

Nivolumab

3 mg/kg J1 +
J15

Ipililumab

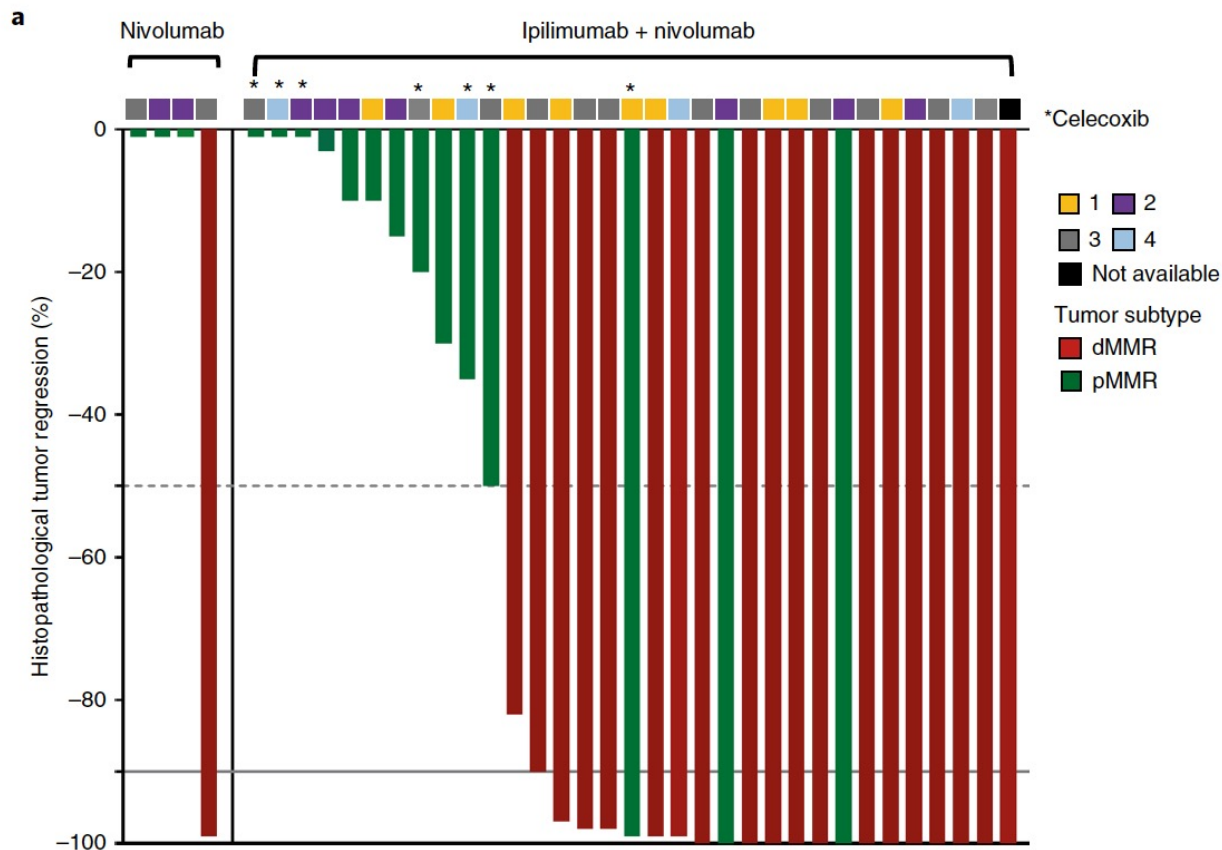
1 mg/kg J1

CHIR

Délai max 6 semaines entre diagnostic et chirurgie

- **Objectif principal : faisabilité et tolérance**
- **Objectifs secondaires :**
 - Efficacité
 - biomarqueurs (TMB, signature IFNg, infiltration LT, clonalité TCR)

Essai NICHE: immunothérapie néo-adjuvante



- 100% de réponses histologiques.
- 12/20 réponses complètes.
- 8 EIG de grade ≥ 3 .

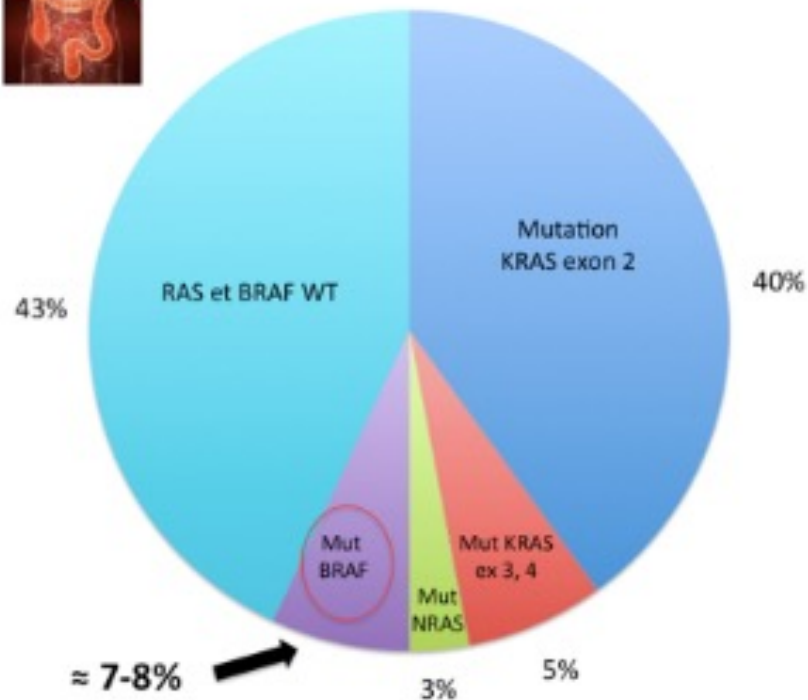
RAS et BRAF

■ En situation adjuvante

- Impact pronostic modeste dans les CCR stade III

■ En situation métastatique

- RAS : impact pronostic incertain, **inefficacité des anti-EGFR**
- BRAF : **mauvais pronostic, chimio-résistance, sensibilité à la combinaison anti-EGFR + anti-BRAF**

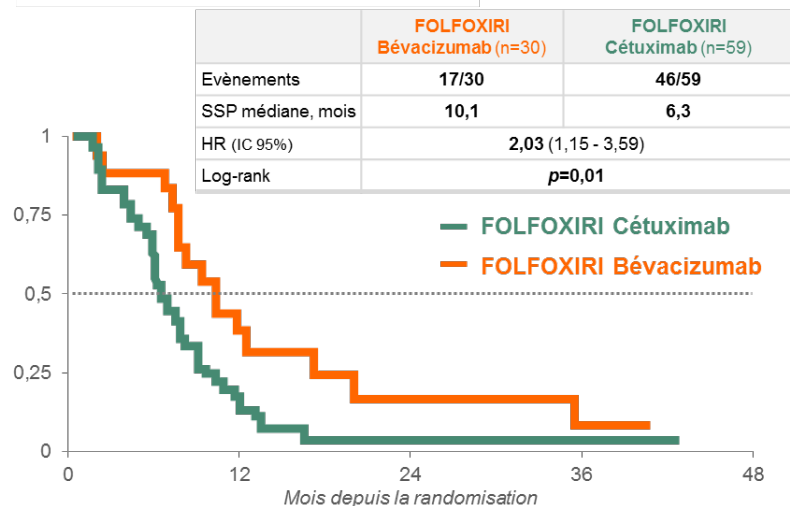


Mutation $BRAF^{V600E}$ au stade métastatique

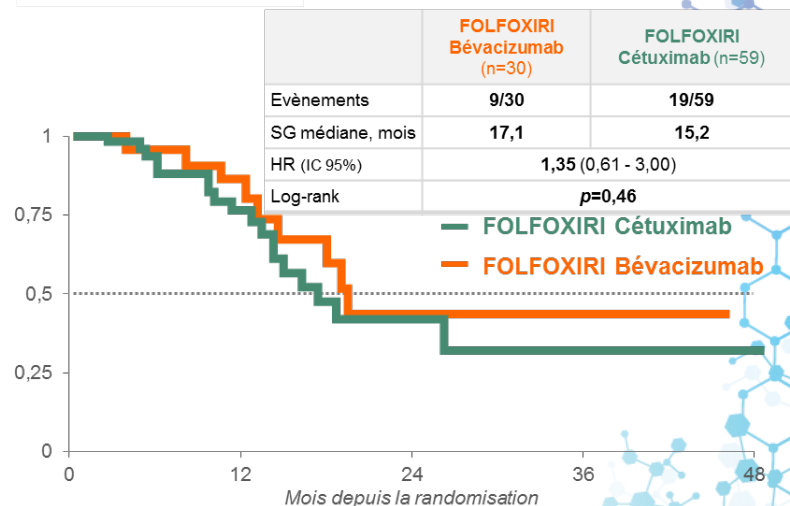
■ Essai FIRE4.5 : supériorité des anti-angiogénique

RECIST, % (n)	FOLFOXIRI Cétuximab (n=59)	FOLFOXIRI Bévacicumab (n=30)
Taux de réponse objective [#]	49,2% (29)	60,0% (18)
	$p=0,33$ OR = 1,55 (IC 80% : 0.87-2.78)	
Taux de contrôle de la maladie	81,4% (48)	90,0% (27)
	$p=0,29$ OR = 2,06 (IC 95% : 0,53 – 8,04)	

Survie sans progression (SSP)



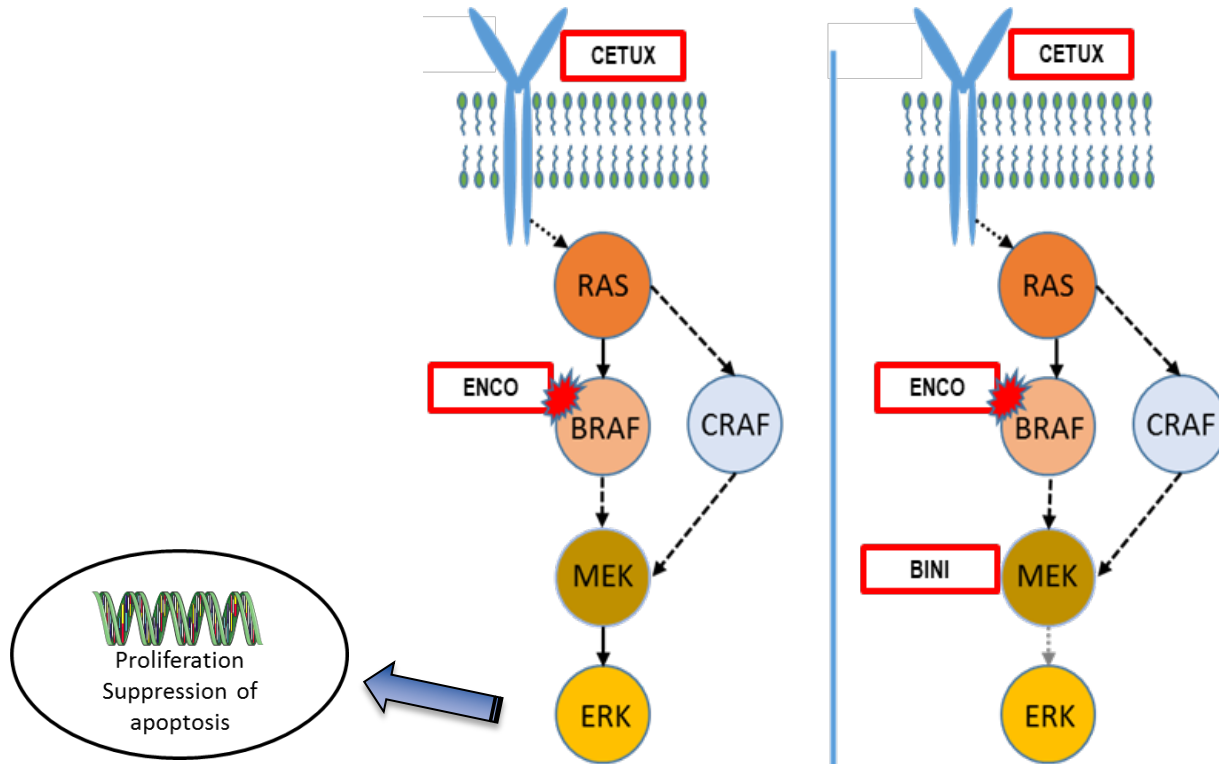
Survie globale (SG)



Données de tolérance non disponible

Mutation $BRAF^{V600E}$ au stade métastatique

- Essai BEACON : double blocage !



L'essai BEACON: Encorafénib + Cétuximab

Phase 3

Safety lead-in

ENCO + BINI + CETUX
N=30

Encorafenib 300mg PO chaque jour
Binimetinib 45mg PO 2 fois par jour
Cetuximab standard avec posologie
hebdomadaire

R
1:1:1

Traitement par triplet
ENCO + BINI + CETUX
(N=224)

Traitement par doublet
ENCO + CETUX
(N=220)

Bras contrôle
FOLFIRI + CETUX
ou Irinotecan + CETUX
(N=221)

SG

Triplet vs Contrôle

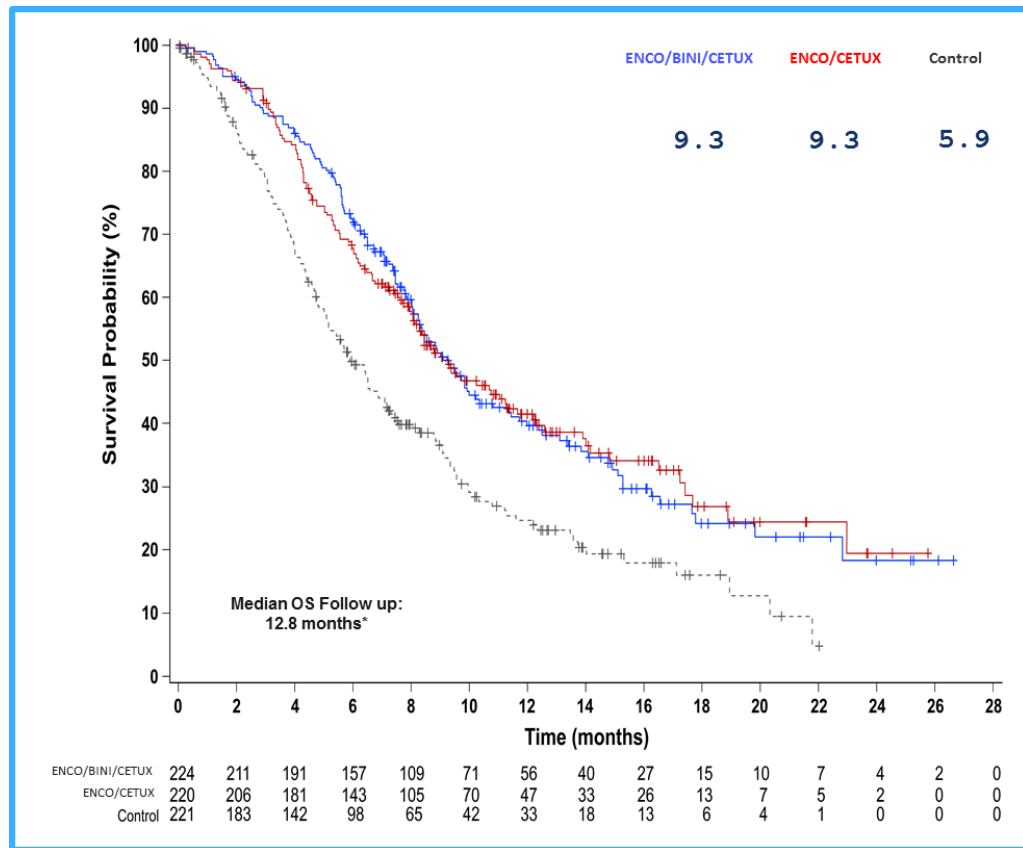
SG

ORR

(blinded central review)

Critère principal

L'essai BEACON: Encorafénib + Cétuximab



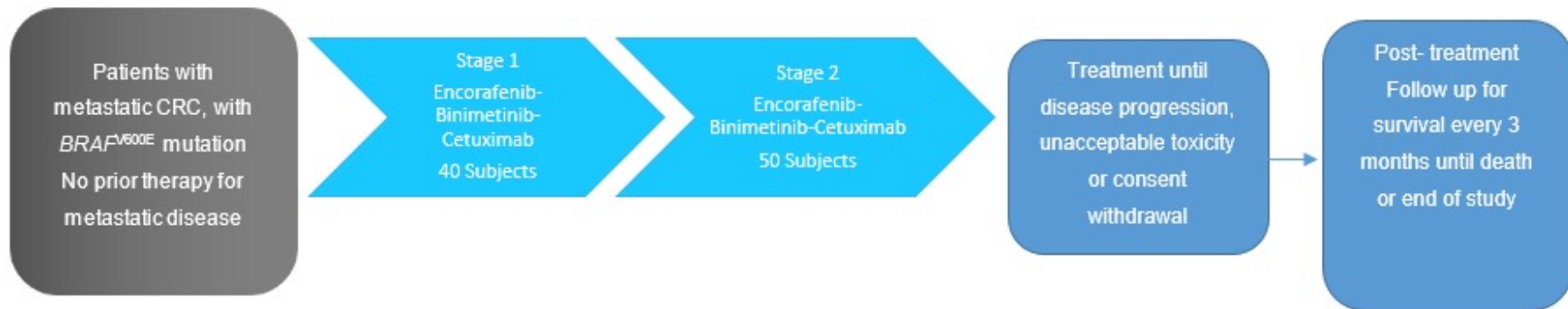
ATU Cétuximab +
Encorafénib

EIG de grade ≥ 3

- triplet: 58%
- doublet: 50%
- control: 61%

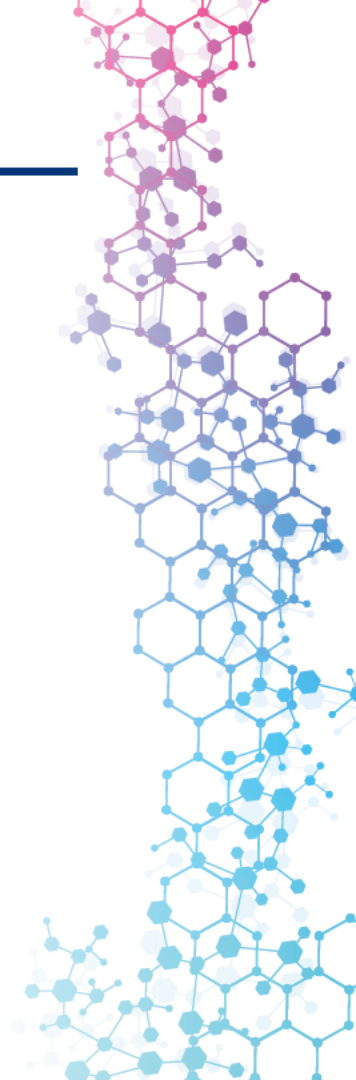
Essai ANCHOR en 1^{ère} ligne

- Etude de Phase II multicentrique monobras
- Design à 2 étapes
- 90 patients prévus
- Patients *BRAF*^{V600E} non pré-traités
- ≈ 45 centres européens



Les futurs biomarqueurs moléculaires

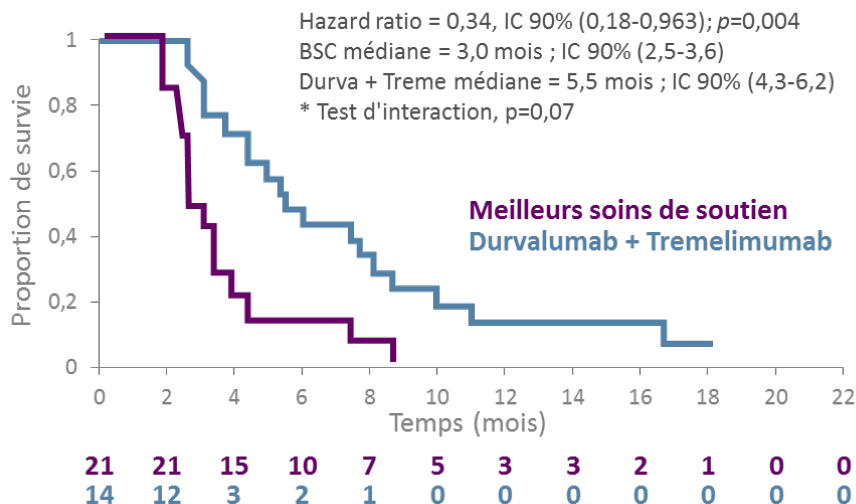
- Classification moléculaire (CMS)
- Charge mutationnelle (TMB)
- Sur-expression de HER2
- Mutation de *KRAS* G12C
- Anomalies moléculaires rares (<1%): fusion de *NRTK*, *ALK*, *ROS*, *BRCA*...
- ADN tumoral circulant
- Score immunitaire / sur-expression de PD-L1



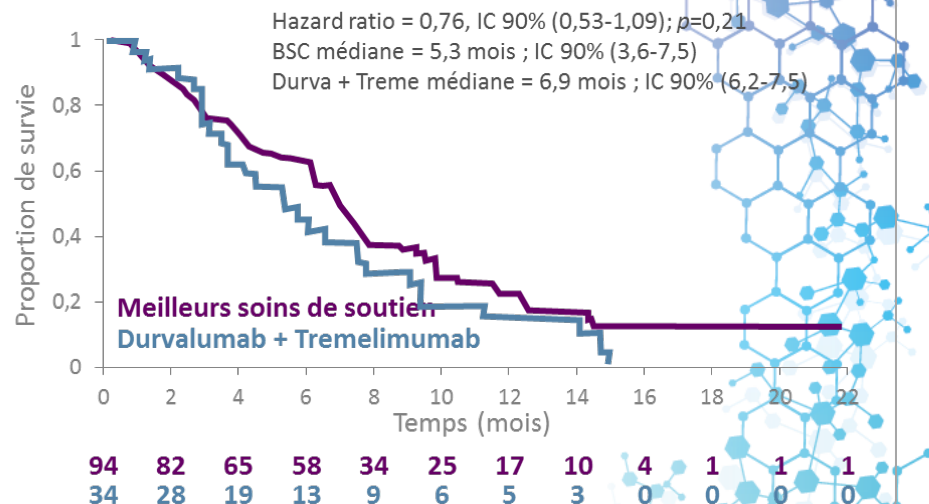
Charge mutationnelle (TMB)

Etude Canadienne C026 : Durvalumab-Trémélimumab en dernière ligne

Survie globale des pts avec TMB>28



Survie globale des pts avec TMB <28



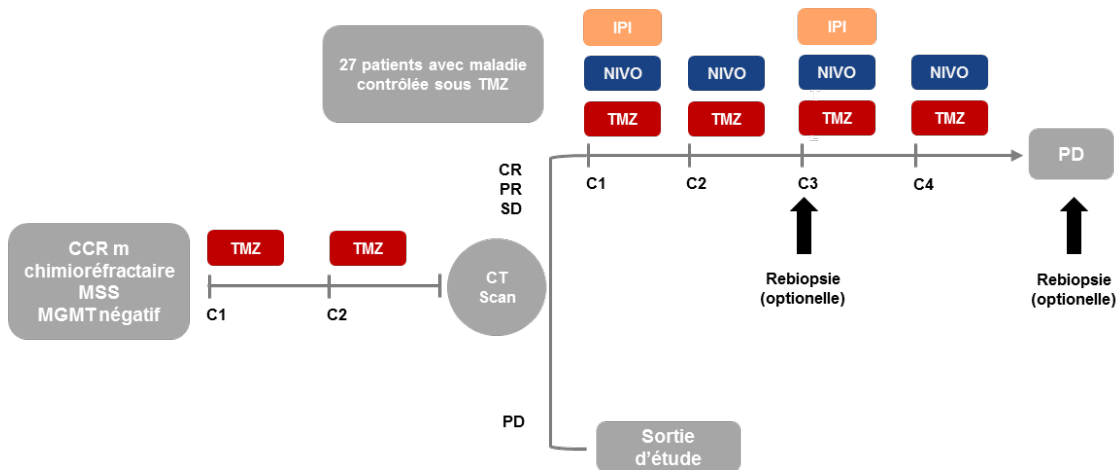
- 64% EIG de grade ≥ 3 .

Induction d'une charge mutationnelle élevée: essai MAYA

- Etude multicentrique de phase II monobras, en ouvert, de preuve de concept.
- CCRm multitraités.

Inclusion

- PS 0-1
- MGMT négatif (IHC) et promoteur méthylé (pyroséquençage)
- Maladie mesurable RECIST v1.1
- Absence de contre-indication à l'immunothérapie



Objectif principal

- SSP à 8 mois ($p_0=5\%$, $p_1=20\%$, $\alpha=5\%$, $\beta=20\%$)

Objectifs secondaires

- SG, taux de RO, durée de réponse, PROs, tolérance

Etudes exploratoires

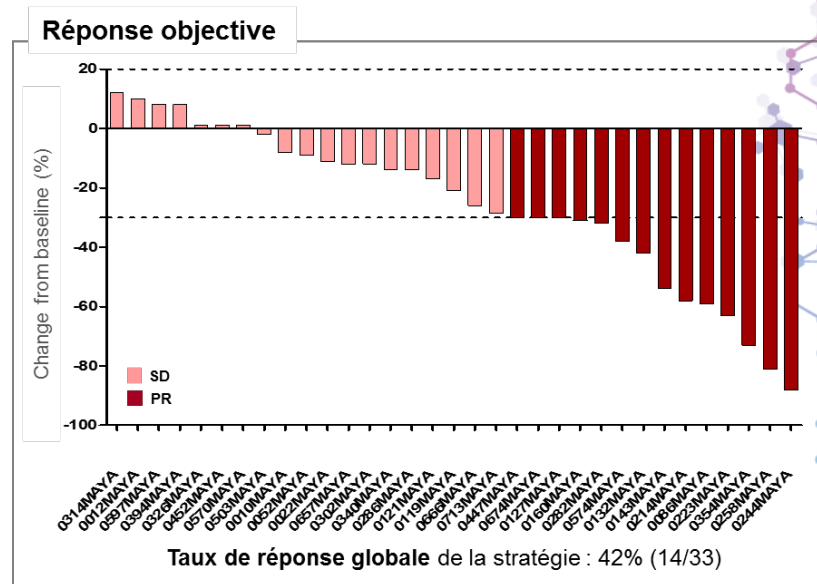
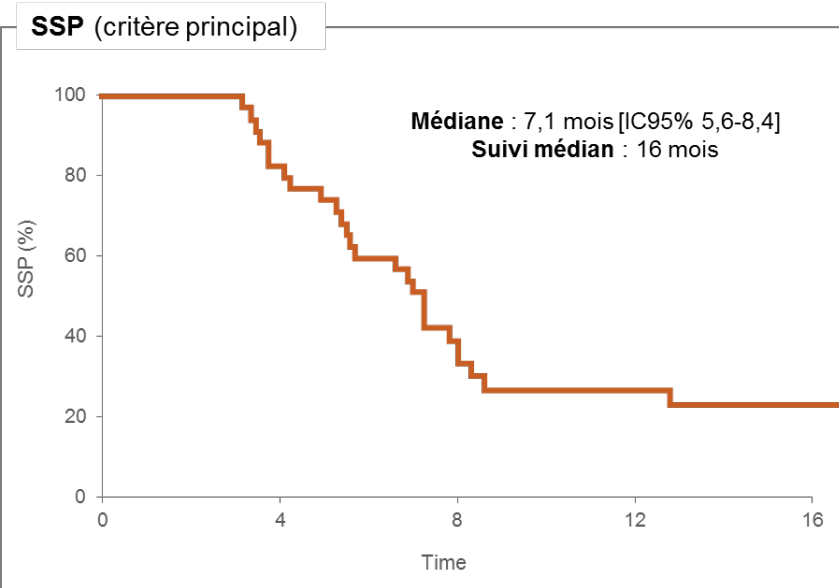
- biomarqueurs sang et tissu

TMZ (temozolomide) 150 mg/sqm j J1-5, ttes 4 sem.

NIVO (nivolumab) 480 mg IV. ttes 4 sem.

IPI (ipilimumab) 1 mg/kg IV. ttes 8 sem.

Induction d'une charge mutationnelle élevée: essai MAYA



- 21% EIG de grade ≥ 3 .

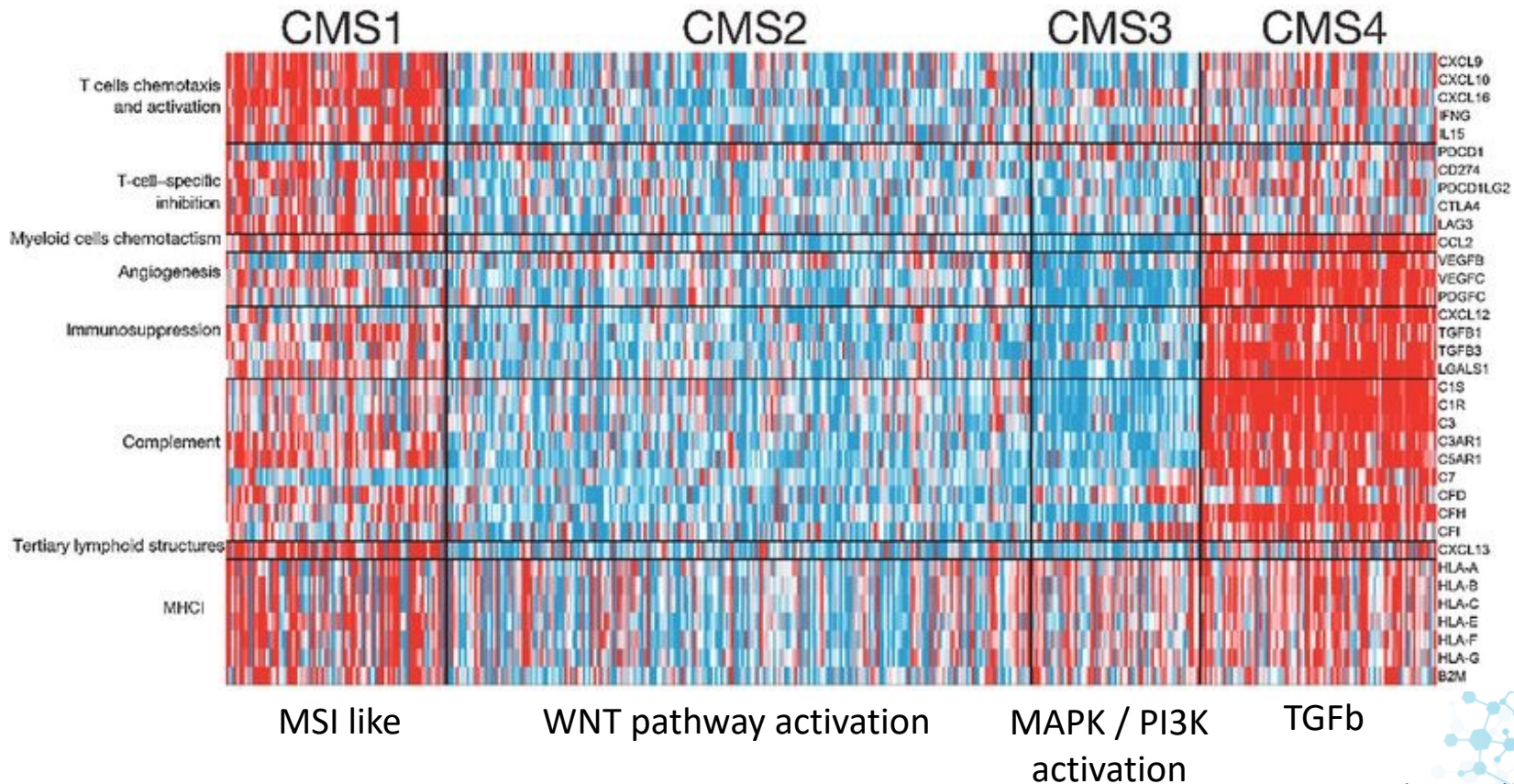
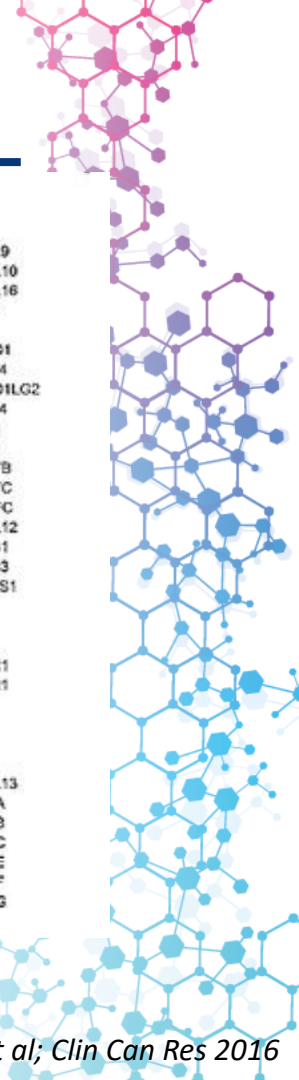
- 5% des CCRm sont éligibles après sélection par le statut moléculaire (MSS, MGMT négative en IHC et promoteur méthylé) et par la séquence thérapeutique (contrôle tumoral sous témozolomide).

Classification moléculaire (CMS)



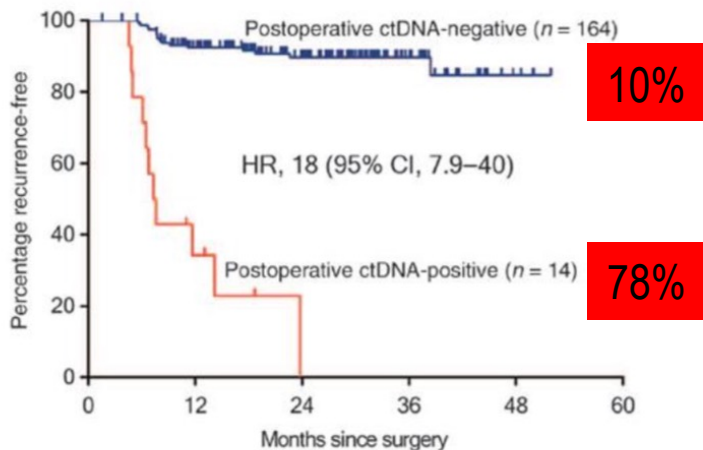
CMS1 MSI Immune	CMS2 Canonical	CMS3 Metabolic	CMS4 Mesenchymal
14%	37%	13%	23%
MSI, CIMP high, hypermutation	SCNA high	Mixed MSI status, SCNA low, CIMP low	SCNA high
<i>BRAF</i> mutations		<i>KRAS</i> mutations	
Immune infiltration and activation	WNT and MYC activation	Metabolic deregulation	Stromal infiltration, TGF β activation, angiogenesis
Worse survival after relapse			Worse relapse-free and overall survival

Classification moléculaire (CMS)

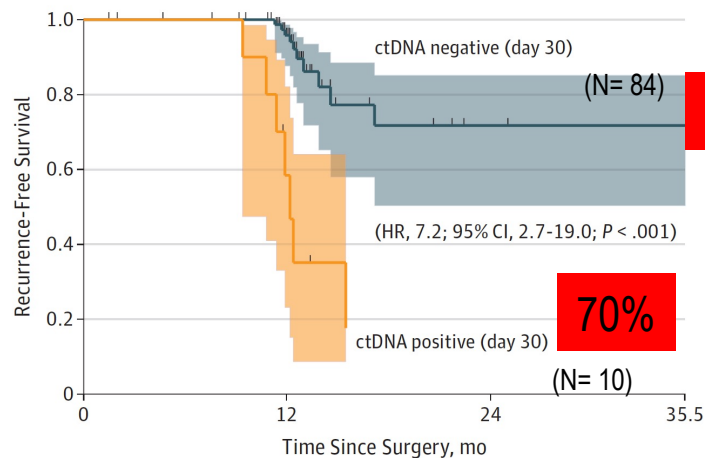


ADN circulant: détection des récidives post-opératoires

Stage II
post-surgery (4-10 weeks)

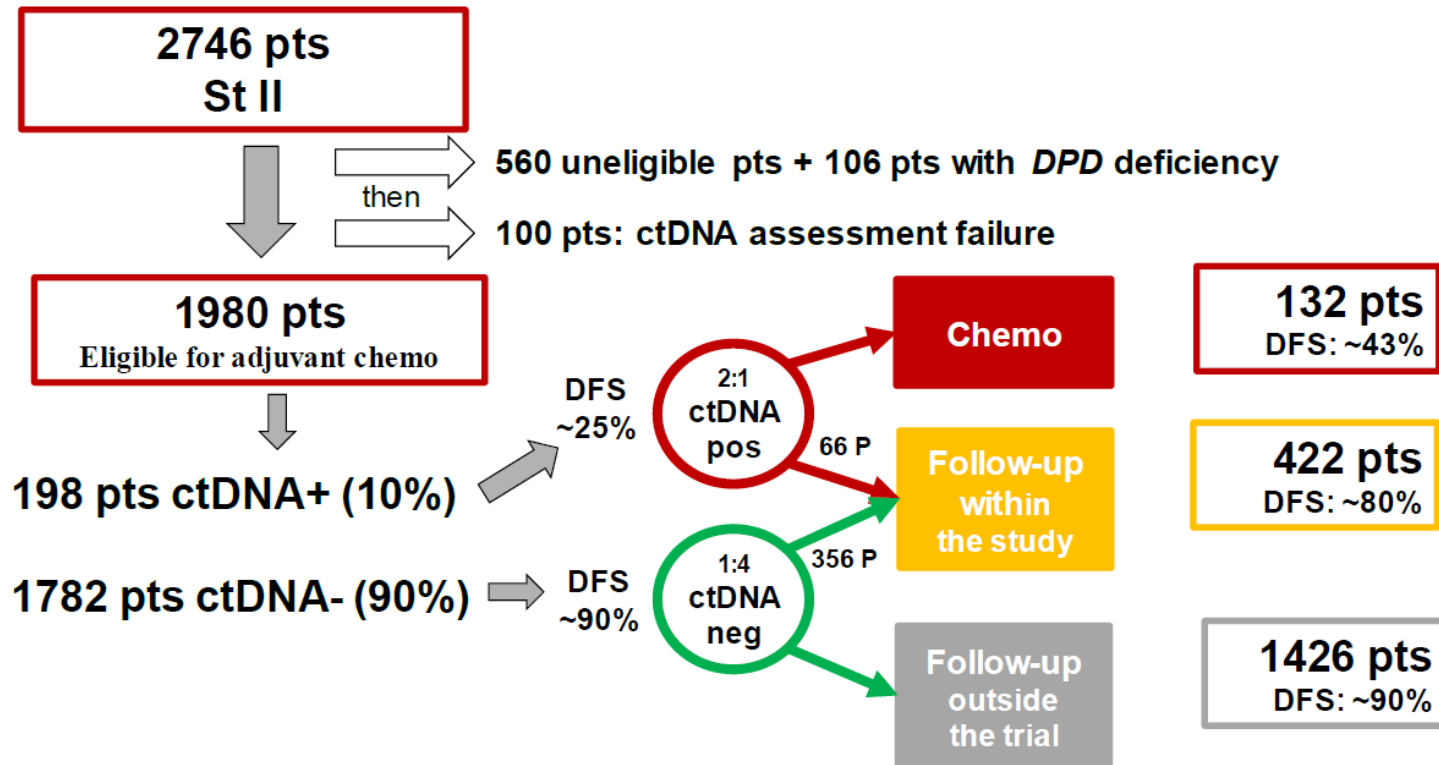


Stage I-III (mostly stage III)
post-surgery (30 days)



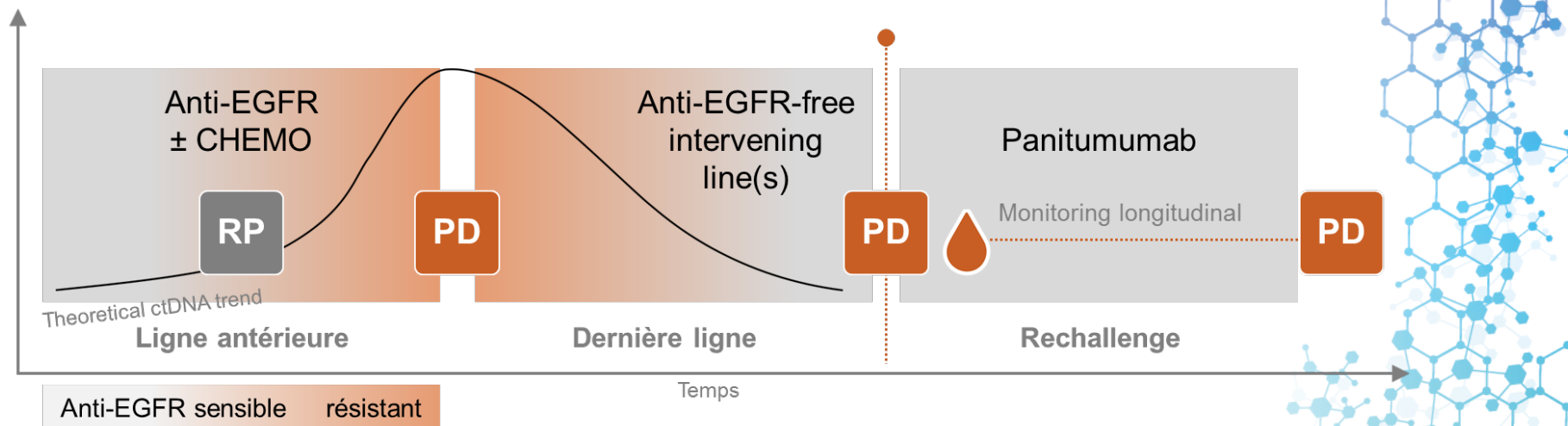
% de récidive

ADN circulant: CIRCULATE



ADN tumoral circulant: étude CHRONOS

- CCRm RAS/BRAF WT sur analyse tissulaire.
- RC/RP lors d'une ligne antérieure de traitement avec anti-EGFR (quelle que soit la ligne).
- RAS/BRAF/EGFR WT par analyse moléculaire sur ADNtc.



ADN tumoral circulant: étude CHRONOS

Meilleure réponse
RECIST 1.1 par revue centralisée

n

%

Réponse (RP + RC)

8

30

Réponse Partielle

8

30

Stabilité de la maladie ≥ 4 mois

9

33

Stabilité de la maladie < 4 mois

2

7

Contrôle de la maladie (RP +
stabilisation ≥ 4 mois)

17

63

Progression

8

30

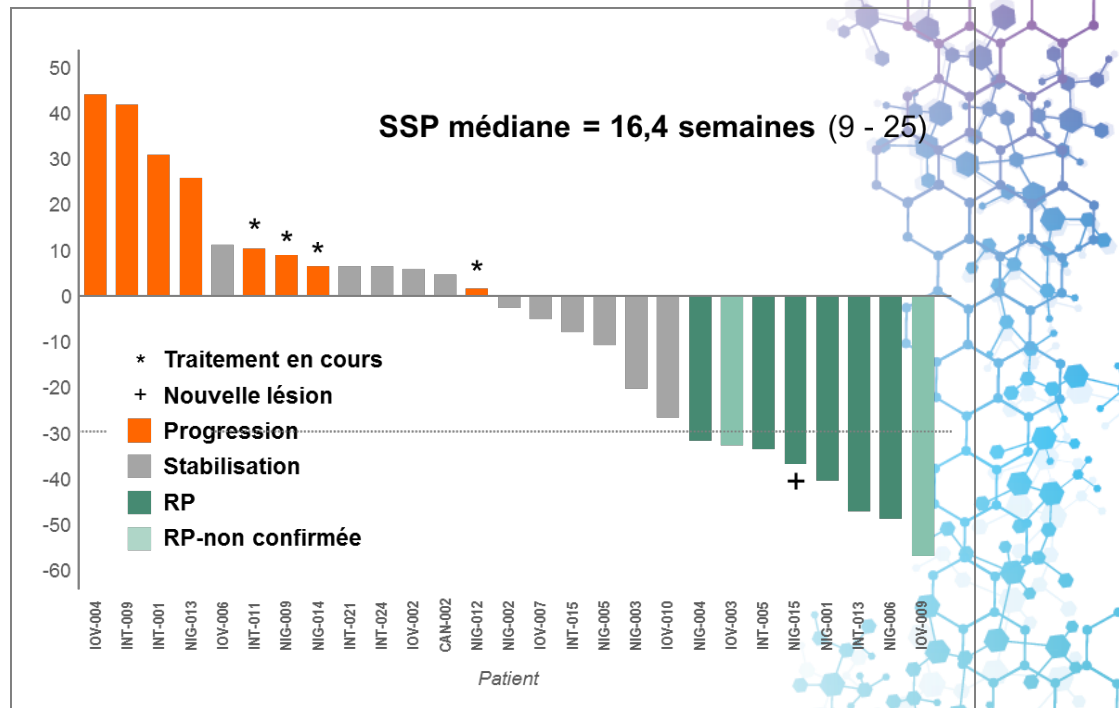
TOTAL

27

100

Données de tolérance non disponible

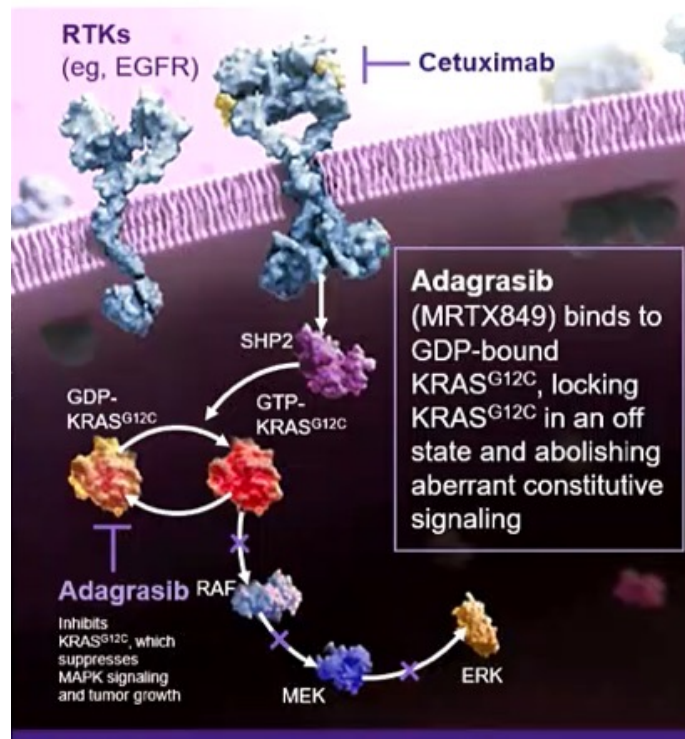
Variation maximale de la taille des lésions cibles
par rapport à la baseline (%)



A. Sartore Bianchi, et al., ASCO 2021, Abs #3506

Mutation *KRAS* G12C: KRYSTAL-1

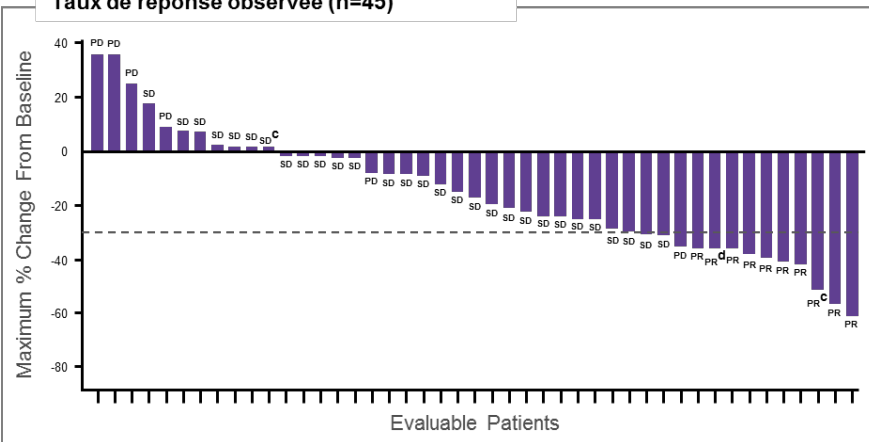
- Adagrasib (MRTX849) en monothérapie ou combiné au Cétuximab.
- 3-4% de mutation *KRAS*^{G12C} (glycine vers cystéine).
- Multiples cohortes (78 mCRC).
- En moyenne 3 lignes antérieures.



Mutation $KRAS^{G12C}$: KRYSTAL-1

Adagrasib monothérapie

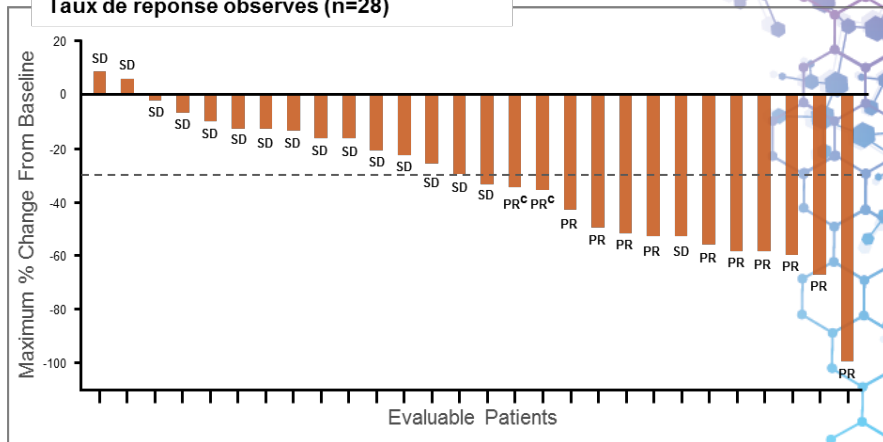
Taux de réponse observée (n=45)



- ▶ **RO : 10/45 (22%) et taux de contrôle : 39/45 (87%)**
- ▶ Durée médiane de réponse : 4,2 mois, SSP 5,6 mois
- ▶ Tox. : 91% tous grade et 30% grade 3/4.
- ▶ Pas d'arrêt de TT ni décès toxique en lien avec le TT

Adagrasib + Cétuximab

Taux de réponse observés (n=28)



- ▶ **RO chez 12/28 (43%) et taux de contrôle : 28/28 (100%)**
- ▶ Tox. : 100% de tous grade et 16% de grade 3/4.
- ▶ Pas de décès toxique.

Quels tests dans un CCR non métastatique ?

- La recherche d'extinction des protéines **MLH1, MSH2, MSH6 et PMS2** en immunohistochimie et/ou la recherche d'une instabilité des microsatellites (dénommé phénotype moléculaire **MSI** pour *MicroSatellite Instability* ou **dMMR** pour *deficient Mismatch Repair*) en biologie moléculaire à partir du tissu de la pièce opératoire ou des biopsies doit être proposée à tous les patients (cf. futures recommandations INCa en cours de publication).

Il est probable que dans un futur proche, une **classification moléculaire** plus précise des cancers du côlon permettra de stratifier la prise en charge thérapeutique des patients atteints d'un cancer du côlon localisé avec peut être des traitements différents pour les tumeurs **BRAF mutées, MSI, HER2** amplifiées... [Bruzzi *et al.* 2019].

Une autre approche est le monitoring de la maladie résiduelle au moyen de **l'ADN circulant** d'origine tumoral (ADNct) sanguin. La détection d'ADNct sanguin en postopératoire chez des patients traités pour un cancer localisé du côlon semble très prometteuse comme biomarqueur associé à la survie sans récurrence et à la survie globale et pour monitorer une chimiothérapie adjuvante [Lecomte *et al.* 2002 ; Fan *et al.* 2017 ; Tarazona *et al.* 2019 ; Tie *et al.* 2019 ; Reinert *et al.* 2019 ; Taïeb *et al.* 2019 ; Fleming *et al.* 2020 ; Tie *et al.* 2021]. Il sera probablement un futur facteur important dans la stratégie du traitement adjuvant du cancer du côlon localisé et des études prospectives sont actuellement en cours pour le valider telle que l'étude CIRCULATE-PRODIGE 70 dans les stade II [Taïeb *et al.* 2020].

Quels tests dans un CCR métastatique ?

Gene	Alteration	Prevalence	ESCAT	References
<i>KRAS</i> <i>NRAS</i>	Mutations (resistance biomarker)	44% 4%	Not applicable	Van Cutsem E, et al. <i>J Clin Oncol.</i> 2015 ⁷⁹ Douillard J-Y, et al. <i>N Engl J Med.</i> 2013 ⁸⁰ Sorich M, et al. <i>Ann Oncol.</i> 2015 ⁸¹
<i>BRAF</i> ^{V600E}	Mutations	8.5%	IA	https://doi.org/10.1093/annonc/mdw235 Kopetz S, et al. <i>N Engl J Med.</i> 2019 ⁸²
	MSI-H	4%–5%	IA	Overman M, et al. <i>Lancet Oncol.</i> 2017 ⁸³ Le DT, et al. <i>J Clin Oncol.</i> 2020 ⁸⁴
<i>NTRK1</i>	Fusions	0.5%	IC	Demetri G, et al. <i>Ann Oncol.</i> 2018 ⁸⁵ Doebele RC, et al. <i>Lancet Oncol.</i> 2020 ⁵⁰
<i>ERBB2</i>	Amplifications	2%	IIB	Meric-Bernstam F, et al. <i>Lancet Oncol.</i> 2019 ⁸⁶ Sartore-Bianchi A, et al. <i>Lancet Oncol.</i> 2016 ⁸⁷

Mutation *POLE*

<i>PIK3CA</i>	Hotspot mutations	17%	IIIA	Juric D, et al. <i>J Clin Oncol.</i> 2018 ⁹⁰
<i>ATM</i>	Mutations	5%	IIIA	Wang C, et al. <i>Transl Oncol.</i> 2017 ⁹² De Bono J, et al. <i>N Engl J Med.</i> 2020 ⁹³
<i>MET</i>	Amplifications	1.7%	IIIA	https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03592641 ⁹⁴
<i>AKT1</i> ^{E17K}	Mutations	1%	IIIA	Hyman D, et al. <i>J Clin Oncol.</i> 2017 ⁷⁶
	TMB-high in MSS	1%	IIIA	Fabrizio D, et al. <i>J Gastrointest Oncol.</i> 2018 ⁸⁹
<i>RET</i>	Fusions	0.3%	IIIA	Drilon A, et al. <i>J Clin Oncol.</i> 2018 ⁹¹
<i>ALK</i>	Fusions	0.2%	IIIA	Yakirevich E, et al. <i>Clin Cancer Res</i> 2016 ⁸⁸

- Sélection des patients ?
- Ressources humaines et financières ?
- Quels panels (local, commercial, AURAGEN/SEQUOIA)?

MERCI DE VOTRE ATTENTION

