# ED de séméiologie

## UE Cancérologie L3

- https://sites.google.com/site/uecancerologiel3/ed-semeiologie
- Enseignements Dirigés de 2h
- 4 thèmes autour de cas-cliniques
- Cas-cliniques à préparer, en ligne sur le site
- Cancers du sein, poumon, prostate, colon
- Discussion des cas pendant l'ED

# Biologie de la cellule cancéreuse

## Implications pronostiques et prédictives

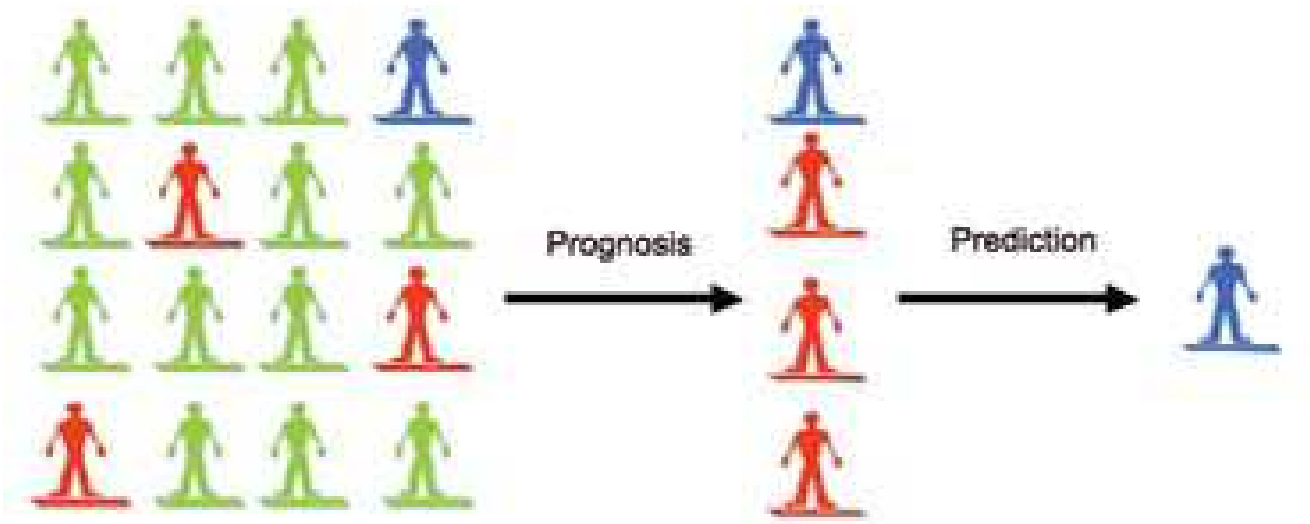
*Dr P de Cremoux, Dr L Teixeira*
*Hôpital Saint Louis, Université Paris-Diderot*

Groupe Hospitalier Universitaire
SAINT-LOUIS
LARIBOISIÈRE
FERNAND-WIDAL

université PARIS DIDEROT PARIS 7

# Marqueurs pronostiques et prédictifs

- Pronostique : prédit l'évolution de la tumeur en l'absence de traitement
- Prédictif :identifie le patient qui répondra à une thérapeutique spécifique



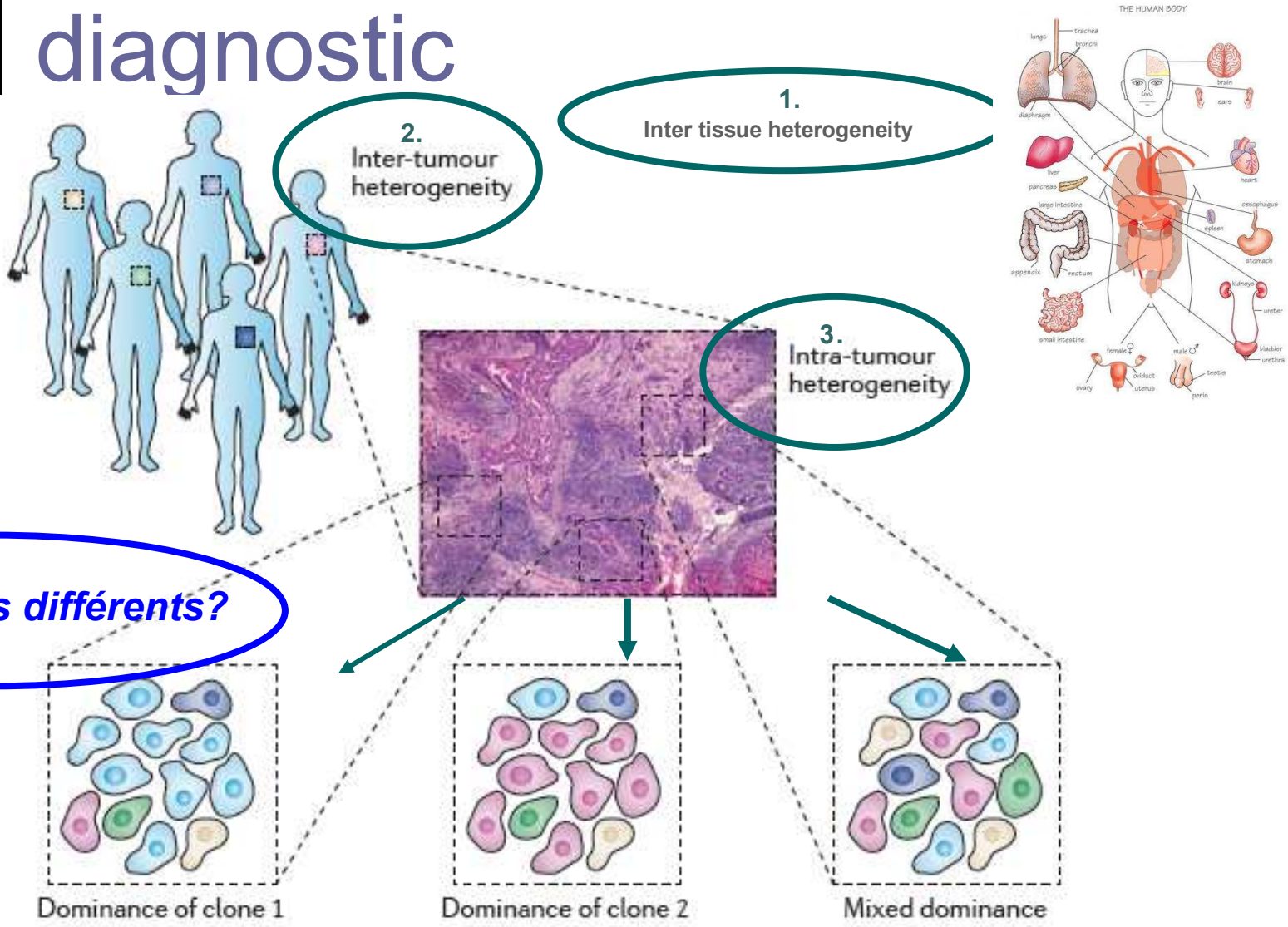
# Généralités

| Stratégies | Moyens |
| --- | --- |
| Détection précoce → | Biologie, Imagerie, Med nucléa |
| Meilleure stratification des tumeurs | Biologie, Imagerie, Med nucléaire…. |
| Pronostique → | Marqueurs pronostiques |
| Théranostique → | Marqueurs prédictifs |
| Développement de traitements préventifs → | Biologie, physiopathologie |



P de Cremoux, L Teixeira

# Hétérogénéité tumorale au diagnostic




P de Cremoux, L Teixeira

P

*Polyak et al, 2011*

*Goss et al 2010*

# Cancers et Pronostic

| Tumour site | 5 years‡ | 10 years§ | 15 years‖ |
|---|---|---|---|
| Breast (female) | 90% | 82% | 75% |
| Melanoma of the skin | 93% | 90% | 89% |
| Kidney and renal pelvis | 69% | 61% | 54% |
| Colon and rectum | 68% | 58% | 54% |
| Lung and bronchus | 16% | 11% | 9% |
| Oesophagus | 19% | 12% | 9% |
| Liver and intrahepatic bile duct | 14% | 9% | 8% |
| Pancreas | 6% | 4% | 3% |
| Stomach | 27% | 21% | 18% |
| Brain and other nervous system | 36% | 32% | 30% |
| Oral cavity and pharynx | 63% | 51% | 43% |
| Larynx | 63% | 49% | 41% |
| Urinary bladder | 82% | 75% | 71% |
| Thyroid | 97% | 97% | 96% |
| Ovary | 46% | 38% | 38% |
| Prostate | 100% | 95% | 82% |
| Testis | 96% | 95% | 94% |
| Corpus and uterus, NOS | 84% | 80% | 77% |
| Cervix uteri | 72% | 67% | 65% |

P

Dpnnées SEER de survie à 5. 13 et 15 ans selon l'origine du cancer

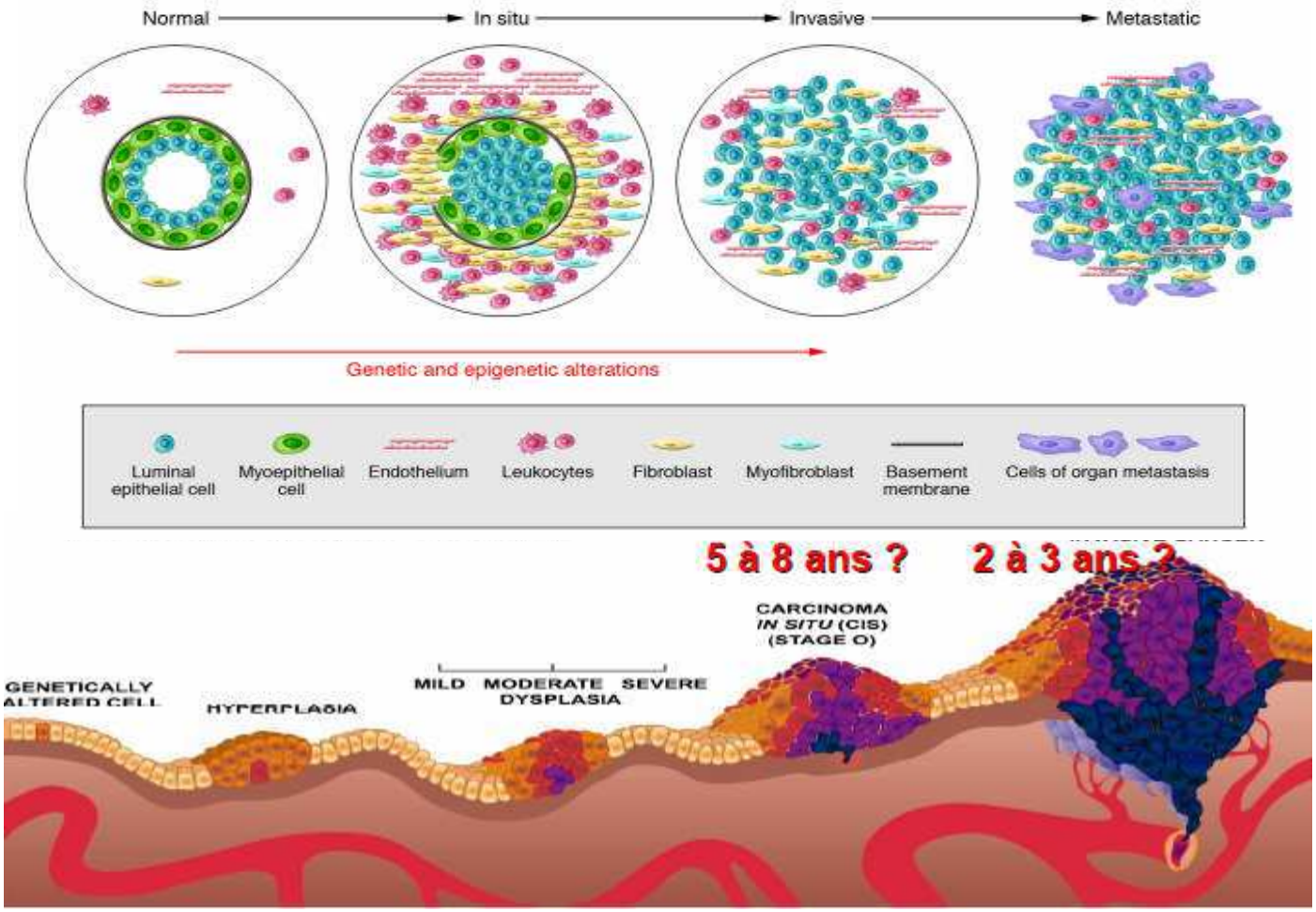
# Généralités (2)

- « Le cancer » → « les cancers »
- Les cellules tumorales présentent une ***<u>hétérogénéité</u>***
  - Tissulaire
  - Histologique
  - Moléculaire
  - Fonctionnelle
  - Réponse au traitement
- « *cells of origin* » → initiation du cancer

# Tissu normal vs tumoral

- Differences cellule ***normale*** vs cellule ***tumorale***:
  - Replication autonome
  - Altérations de gènes qui normalement régulent
    - les voies de la prolifération ,
    - le contrôle du cycle cellulaire
    - les voies du métabolisme cellulaire,
    - l'apoptose.
  - Plusieurs altérations géniques sont nécessaires pour que la cellule ait la capacité de se reproduire de façon non contrôlée.
  - Progression vers le phénotype tumoral
    - augmentation précoce du taux de mutation spontanées ( hypothèse du "mutator phenotype)
    - mutations de gènes impliqués dans la stabilité du génome entrainant une cascade de mutations lors de l'évulution et la progression de la tumeur

# Progression du cancer (*théorique*)



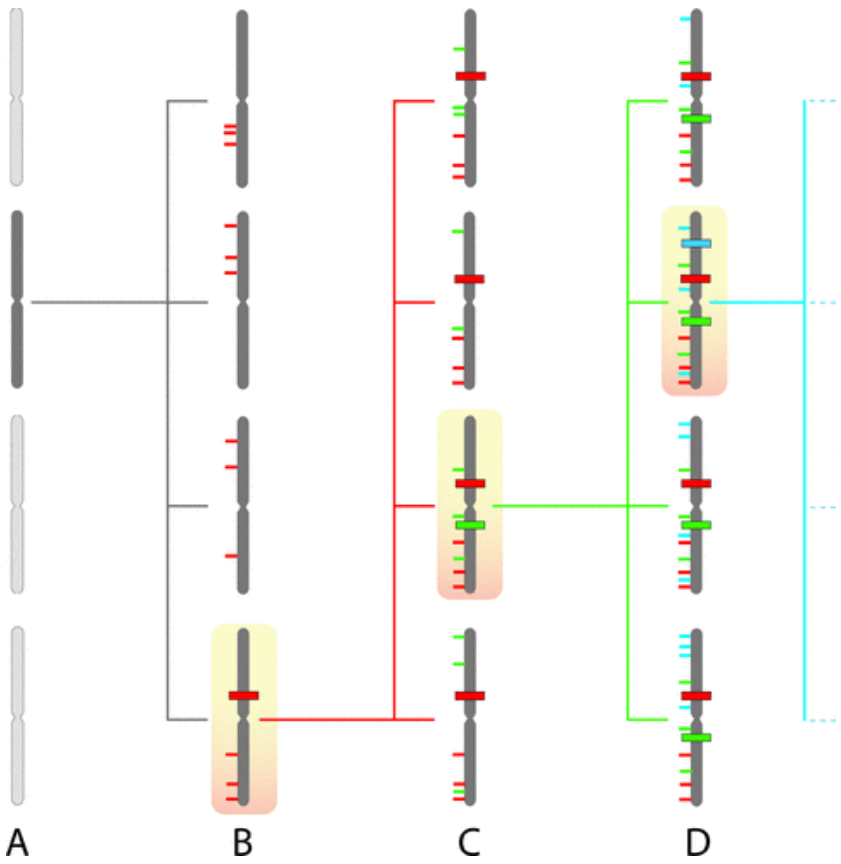

Polyak K et al, 2007

P de Cremoux, L Teixeira

**Cliniquement décelable à $10^8$-$10^9$ cellules**

P

# Evolution tumorale




P de Cremoux, L Teixeira

**Evolution clonale**

(A) Une cellule unique acquiert un phénotype muté (“mutator phenotype”)

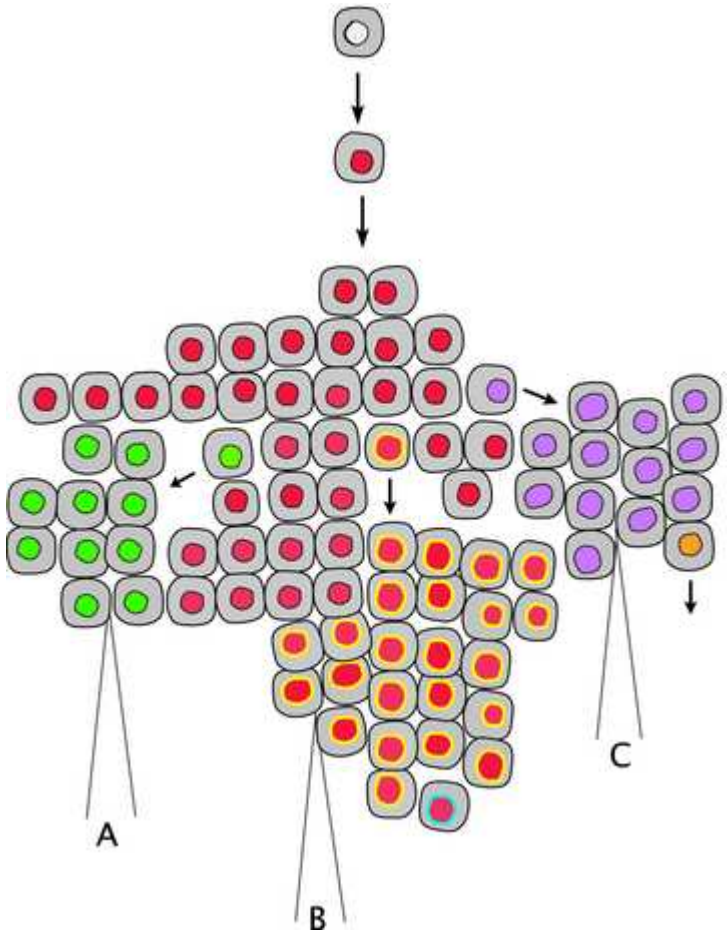
(B) La cellule mutée génère lune série de cellules, chacune présentant une altération génique distinctes random ( ). L’une d’entre elle survient sur un gène clé dans la prolifération cellulaire ( ). Cela résulte en l’expansion d’un clone cellulaire.

(C) Mutations additionnelles dont une nouvelle “driver” ( ). Induisant l’expansion d’un nouveau clone.

(D) Nouvelles mutations responsables de nouveaux clones conduisant à une prolifération non contrôlée.

P *Schmitt et al, 2012*

# Expansion des clones de cellules tumorales

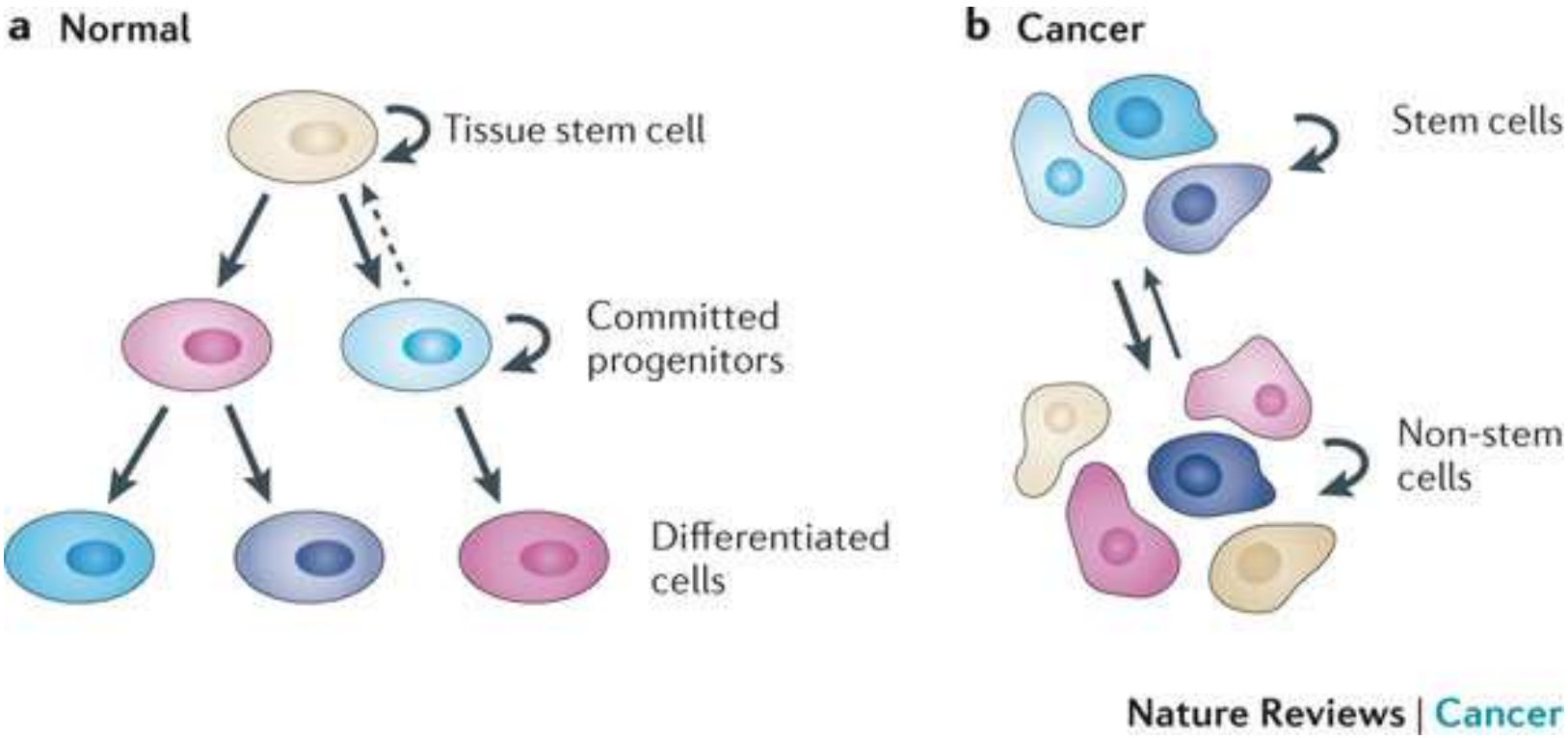



*Schmitt et al, 2012*

**Hétérogénéité intratumorale**

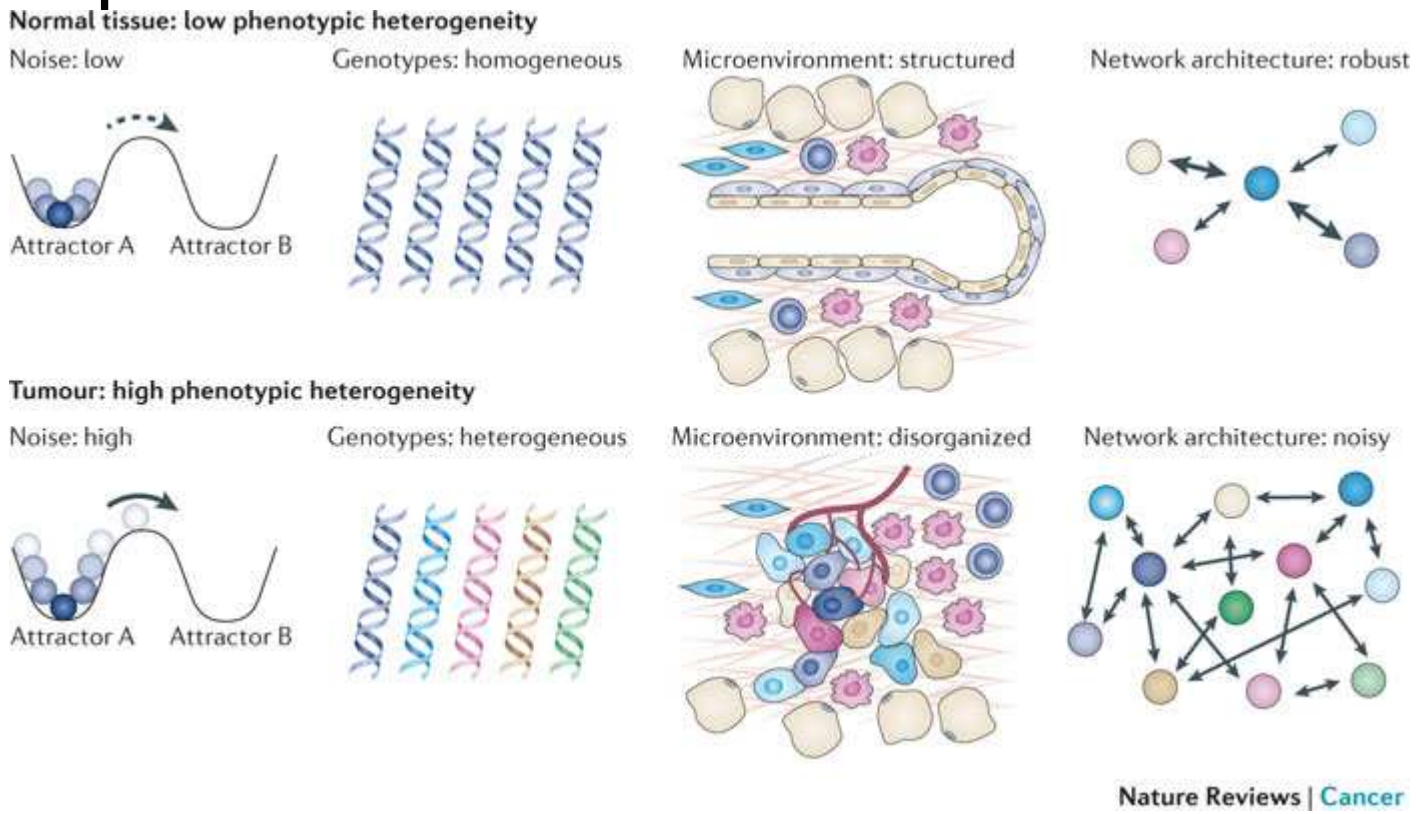
- A la suite de l'expansion clonale des cellules qui ont acquis de multiples mutations "driver" (noyau rouge) ont des mutations additionnelles lors de l'expansion conduisant à de nouveaux clones

# Cellules normales *vs* tumorales



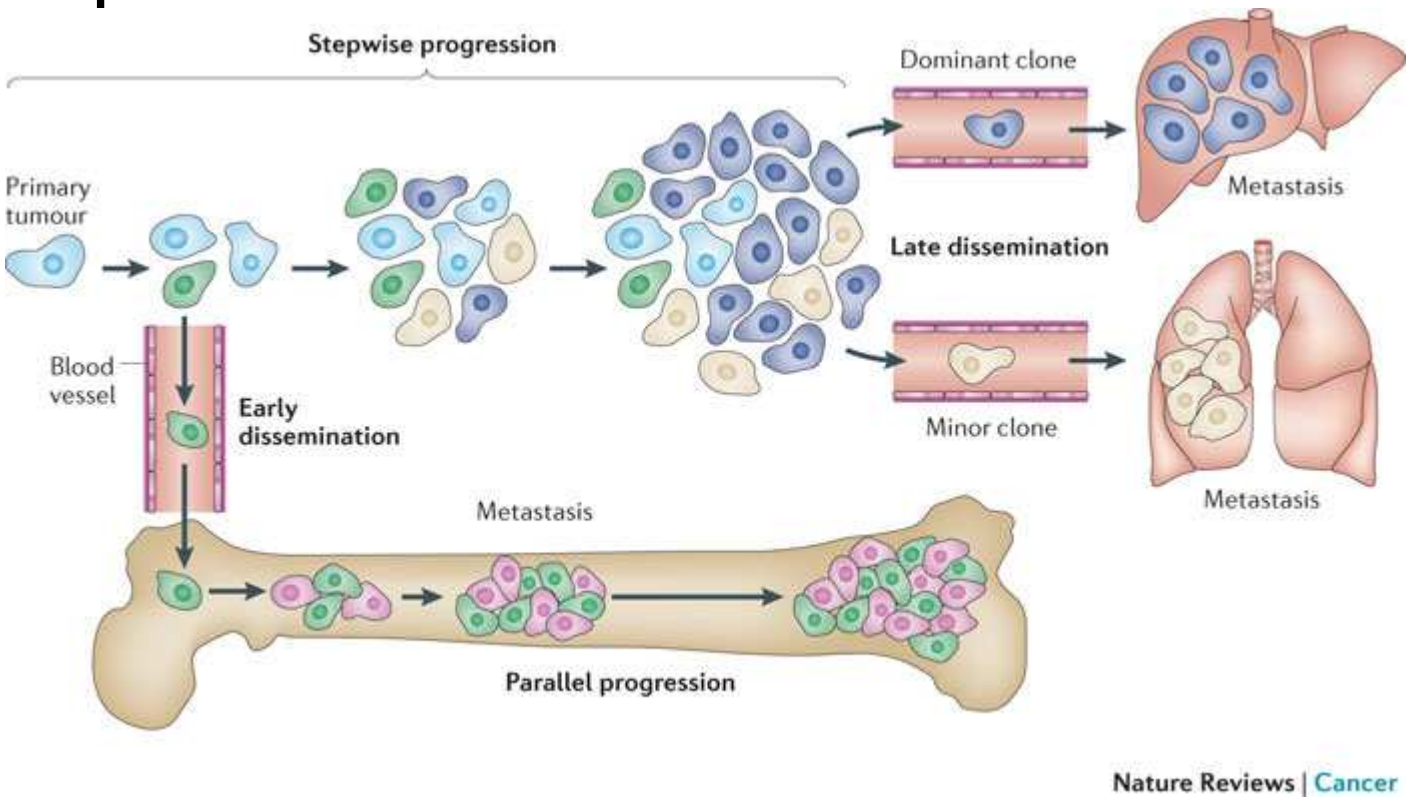

*K Polyak 2012*

# Tissus normaux *vs* tumoraux



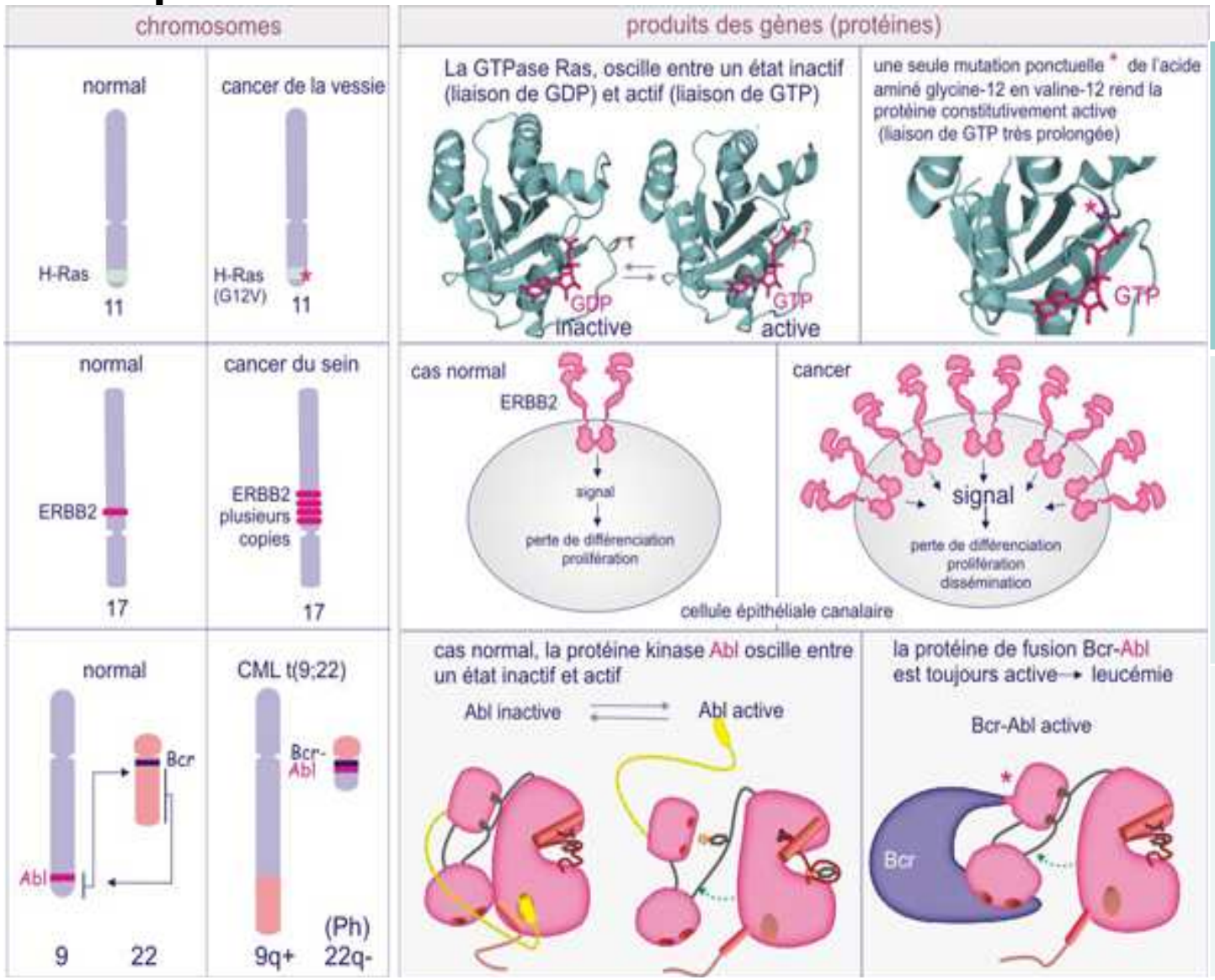

***Polyak 2012***

# Dissémination métastatique




***Polyak 2012***

# Exemples




**Marqueur prédictif**

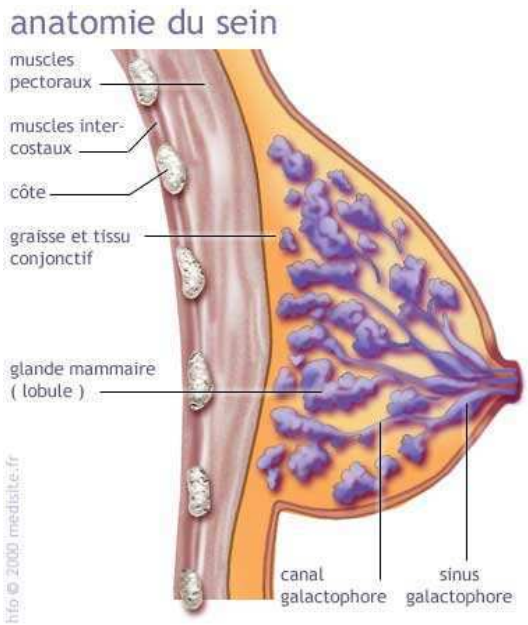
Marqueur pronostic & prédictif

Marqueur prédictif

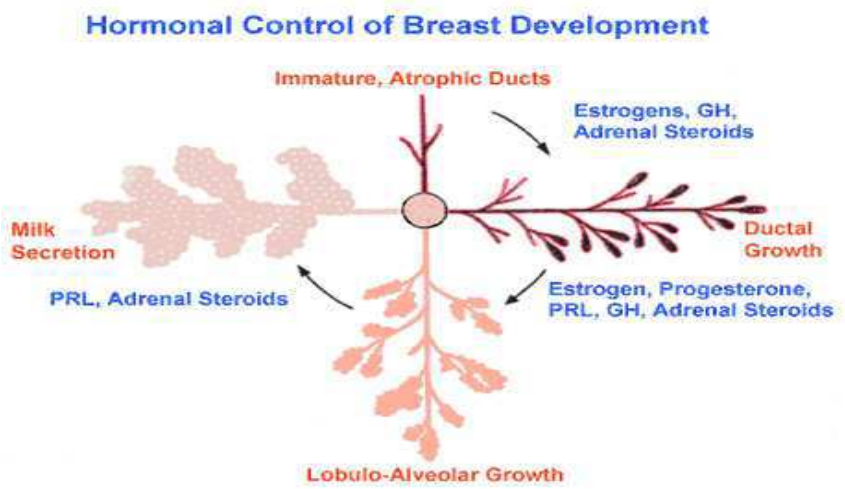
P

# Exemple du cancer du sein

# Sein normal




Les tissus mammaires sont influencés par les hormones : **oestrogène et progestérone produites en quantité variable tout au long de la vie (puberté,** grossesse, allaitement...).




Signalisation oestrogénique indispensable au développement mammaire normal

# Le cancer du sein est un cancer hormono-dépendant

- Les œstrogènes induisent la prolifération de 70% des cancers du sein

- Cancers du sein hormono-dépendants = tumeurs présentant des récepteurs hormonaux (Récepteurs d'estrogènes RE +/- récepteurs de la progestérone RP)

- Les RE sont des cibles de traitement

L

# Historique

## Key findings from Beatson's 1896 paper

- Lactation is not controlled by the CNS
- Lactation is maintained indefinitely by removal of ovaries in domestic sheep
- One organ (ie, ovary) can control another (ie, breast) independent of the CNS
- Proliferation of epithelium is associated with both lactational and cancerous changes in breast tissue
- The process of lactation and milk formation usually limits the extent of epithelial proliferation within ducts and acini of breast parenchyma
- Breast cancer regression can occur in response to oophorectomy in premenopausal women

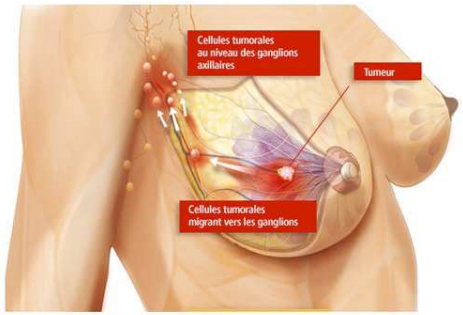
Sir G Beatson, ***Lancet* 1896; 2: 104–07**

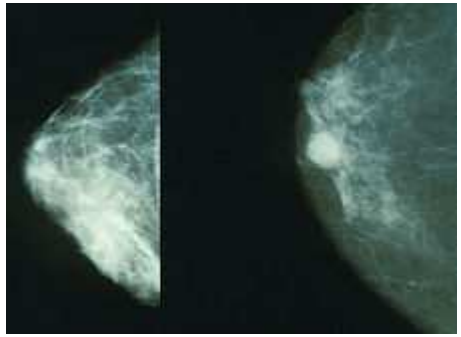
**Sir George Beatson**
1848 - 1933

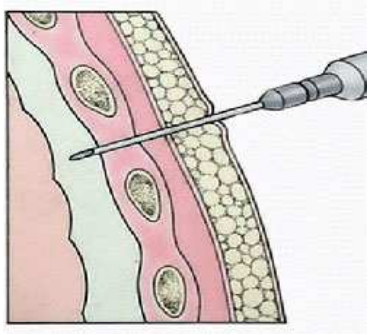


L

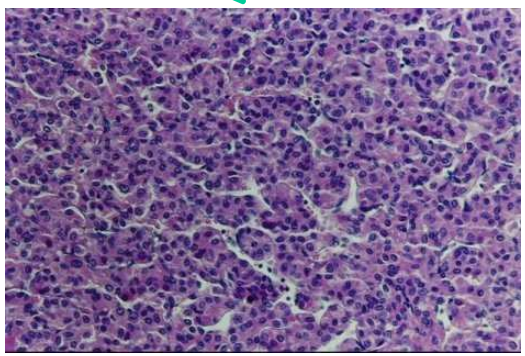
# Diagnostic

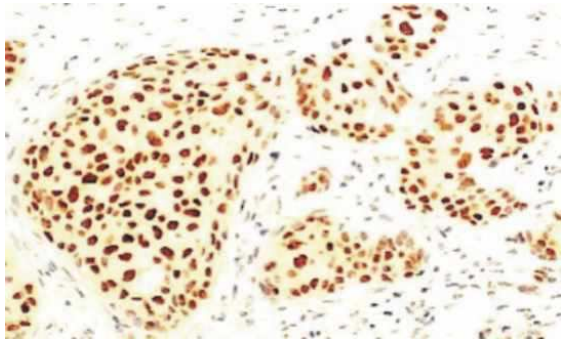




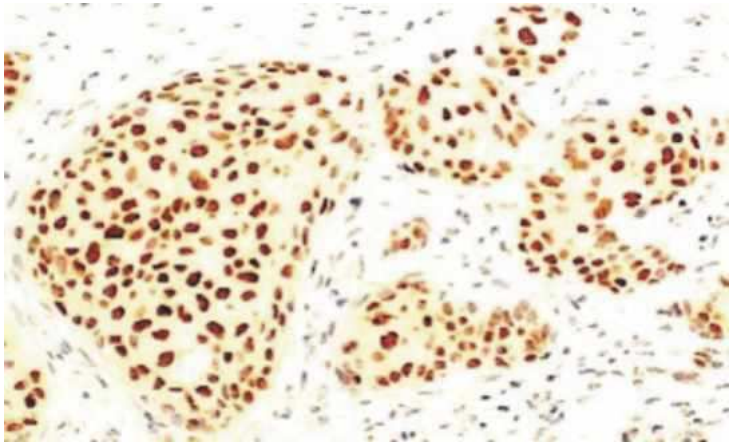
Examen clinique, imagerie, biopsie, pathologie, biologie puis traitement



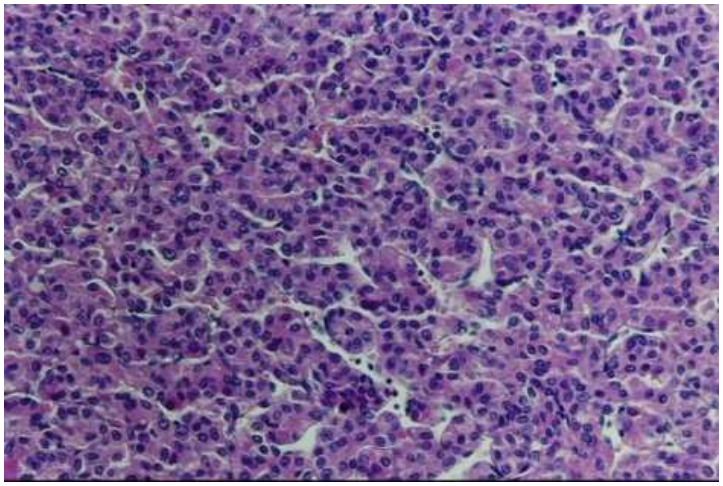


# Diagnostic

Biologie : IHC ER, PR, HER2, ,Ki67



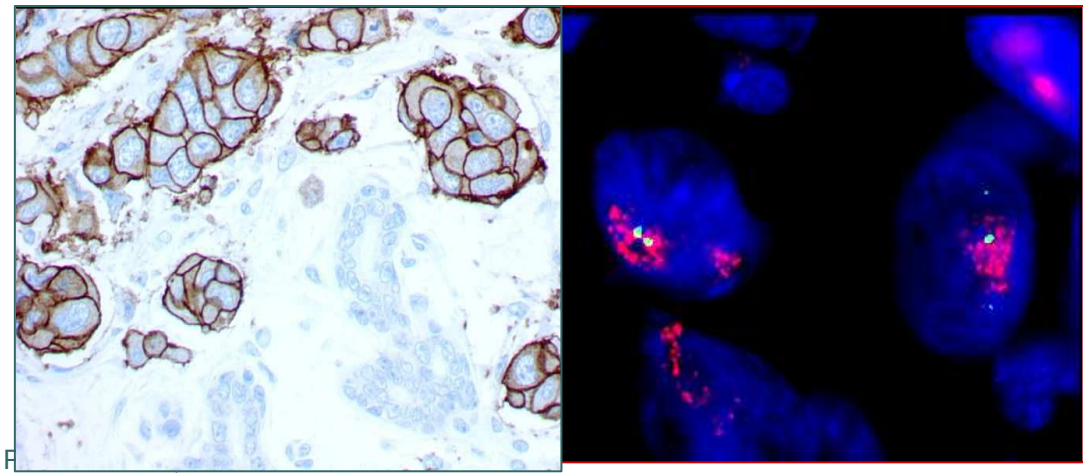
Diagnostic, type histologique, invasif, in situ, grade, embols…….



Marqueurs pronostiques / prédictifs
Non spécifiques

Marqueurs pronostiques / prédictifs spécifiques

HER2

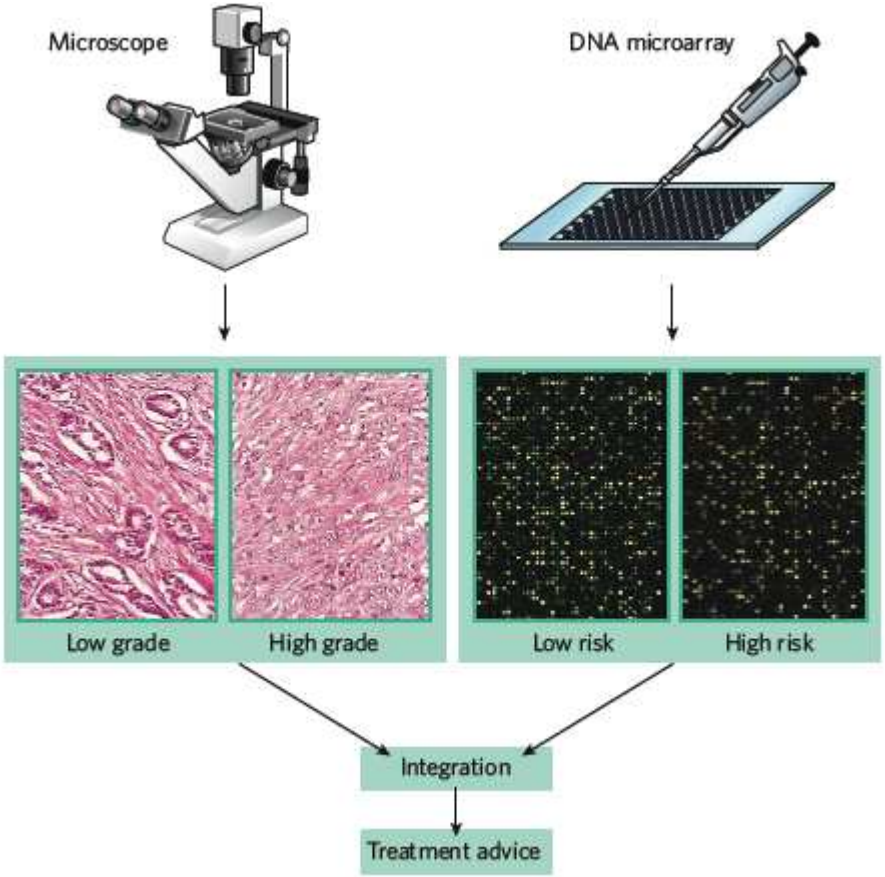


IHC FISH

# Marqueurs pronostics et prédictifs

Evolution des technologies

2012
Référentiels de traitement
-âge
-taille
-N
-Grade
-Embols…

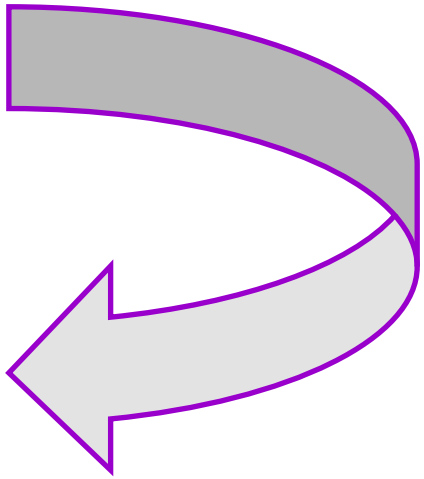



Le futur
Oncologie Moléculaire?

L

# Cancers du sein

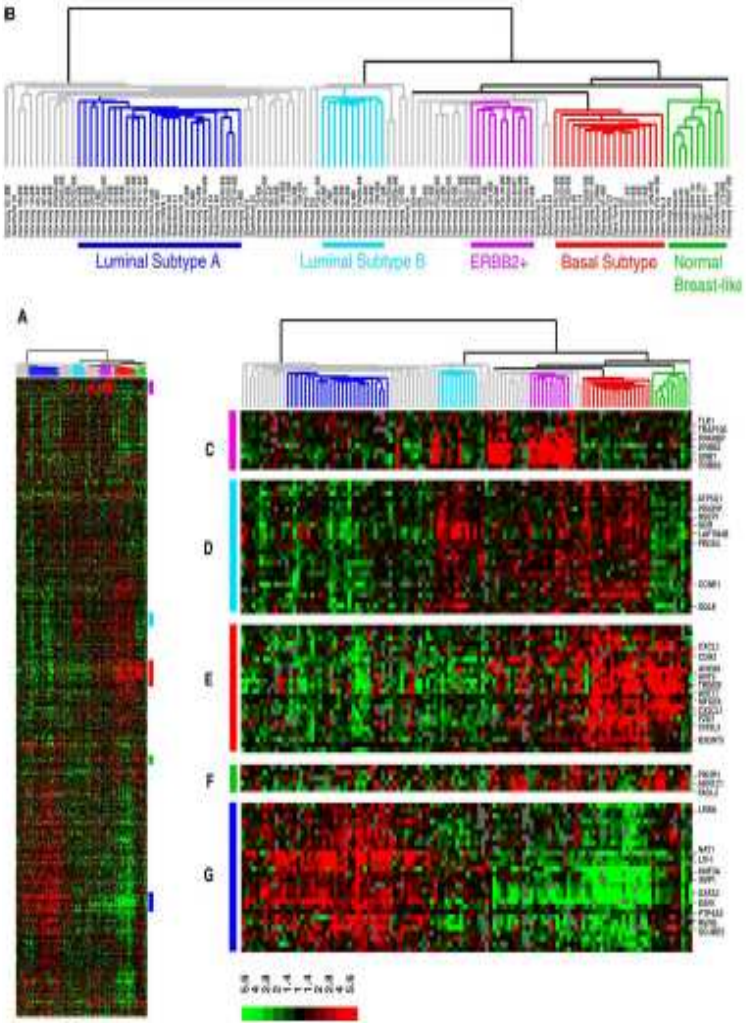
Le cancer du sein



Maladie hétérogène = des cancers du sein

L

# Nouvelle classification moléculaire des cancers du sein

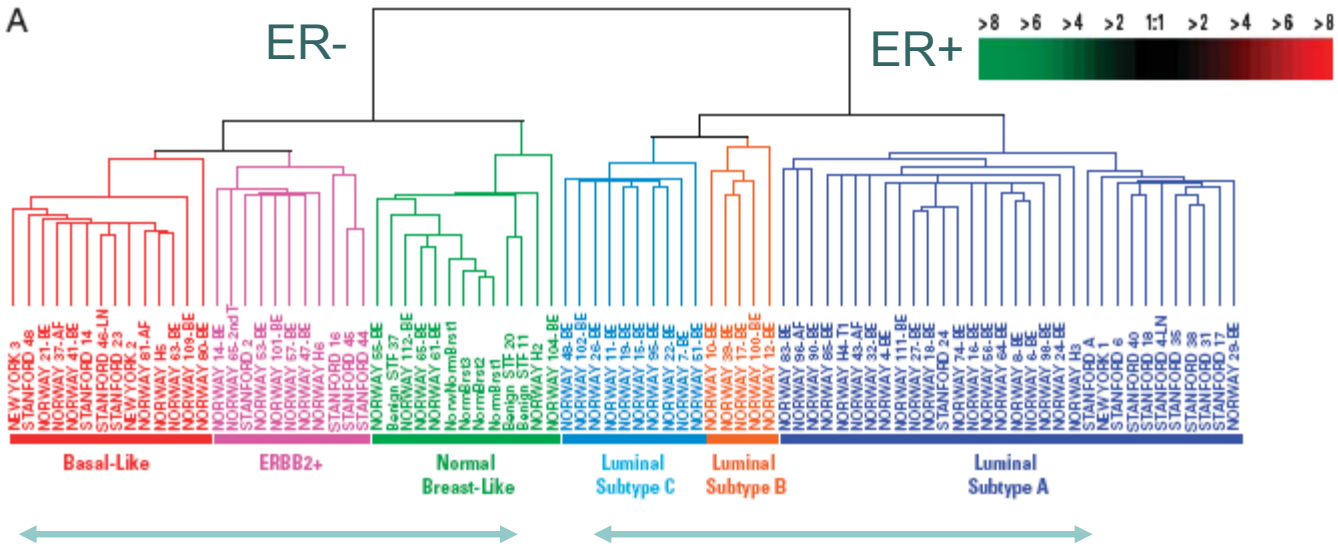



- Analyse <u>non supervisée</u> *(8192 genes)*
- Les cancers du sein sont un groupe très *hétérogène* de tumeurs
- Sous classification des cancers du sein en *5 sous types:*
  - *Luminal A*
  - *Luminal B*
  - *Basal-like*
  - *HER2-like*
  - *Normal like*
- Implications pronostiques et thérapeutiques

*(Perou, 1999, 2000;Sorlié, 2001, 2003; Van't Veer, 2003; van de Vijer, 2002)*

L

# Rôle majeur des RE



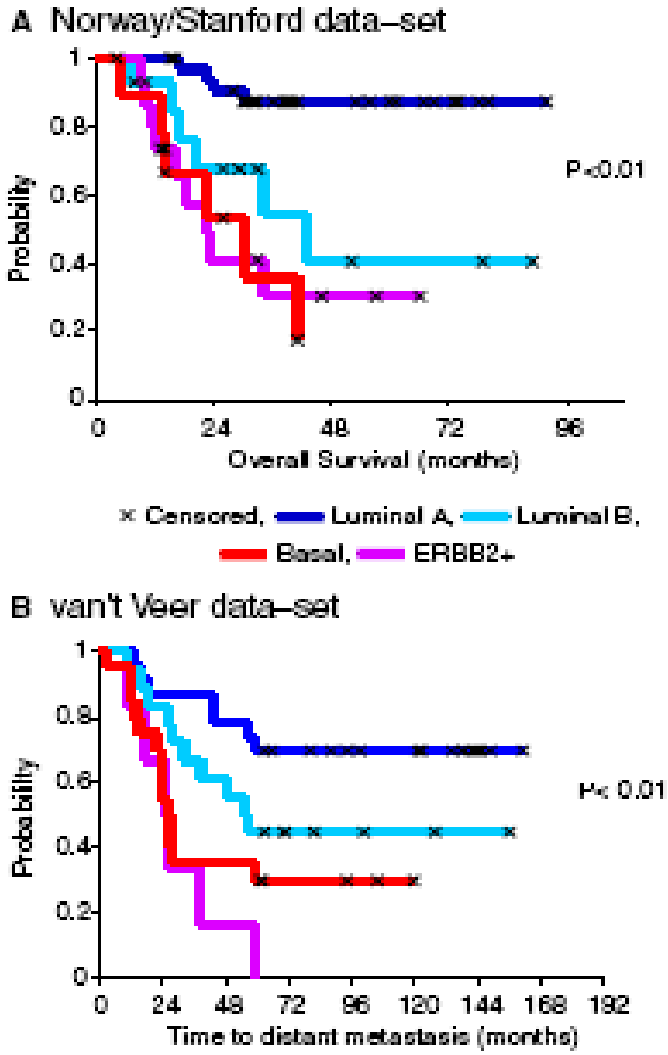

agressives
mauvais pronostic
mais chimiosensibles

évolution lente,
bon pronostic
hormonosensibles mais peu chimiosensibles

L

P de Cremoux, L Teixeira

# Génotype/ phénotype - pronostic




L

# Cancer du sein = cancer hormono-dépendant

Définition: tumeur présentant des récepteurs hormonaux (Récepteurs d'estrogènes RE +/- récepteurs de la progestérone RP) ayant une probabilité élevée de répondre à:

- Un traitement hormonal
- Ou des antihormones
- Ou des inhibiteurs de la synthèse d'hormones

Environ 80% des cancers du sein sont hormono-dépendants

# Principales cibles des cancer du sein : RE

Cible : Le récepteur des estrogènes (RE) dans les cellules épithéliales tumorales

Fonction de la cible : Surexpression du RE, facteur de transcription / gènes dépendants des estrogènes

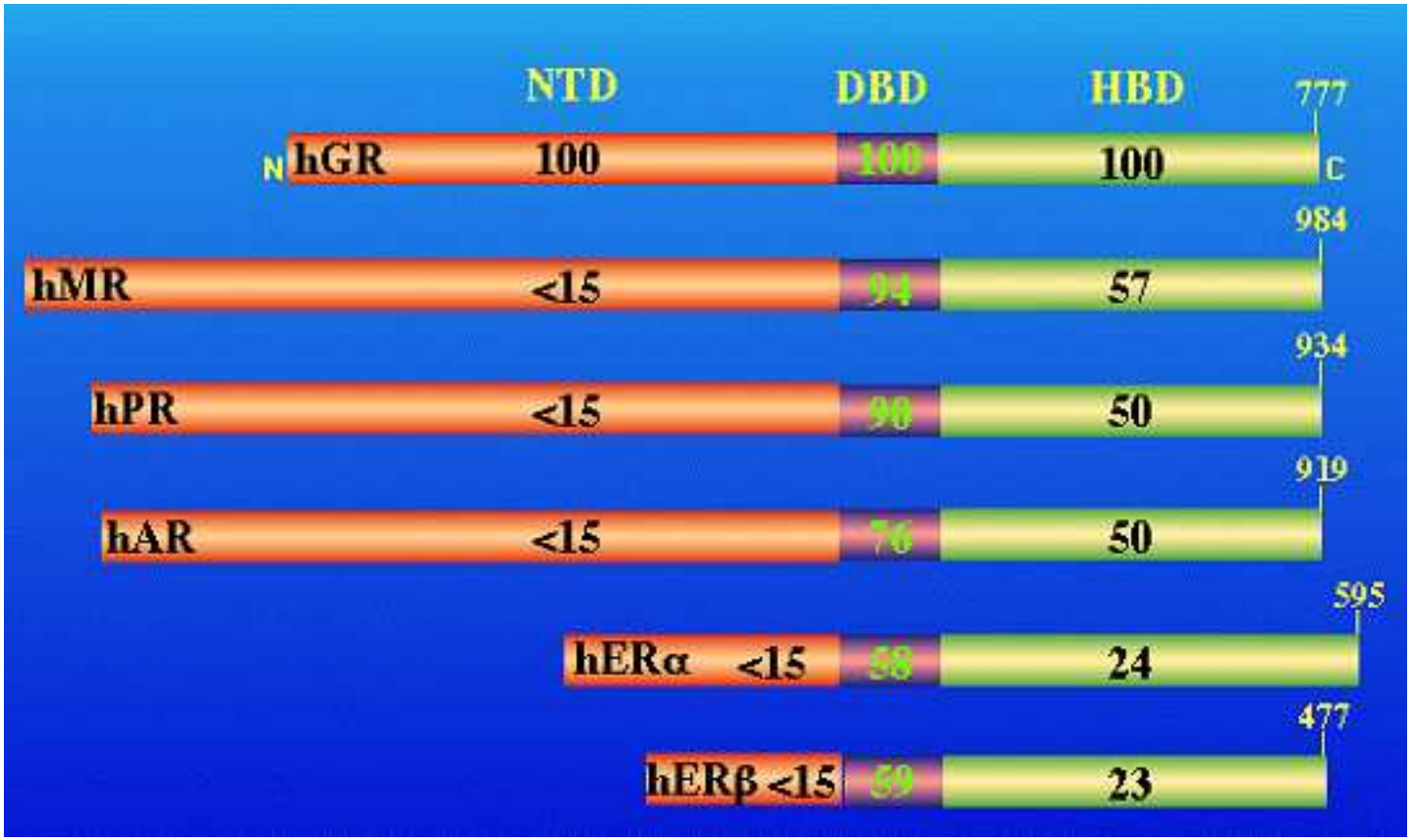
Conséquences : Prolifération des cellules tumorales

Quelles tumeurs : Les tumeurs du sein hormono-dépendantes = qui expriment RE ± RP (sein…)

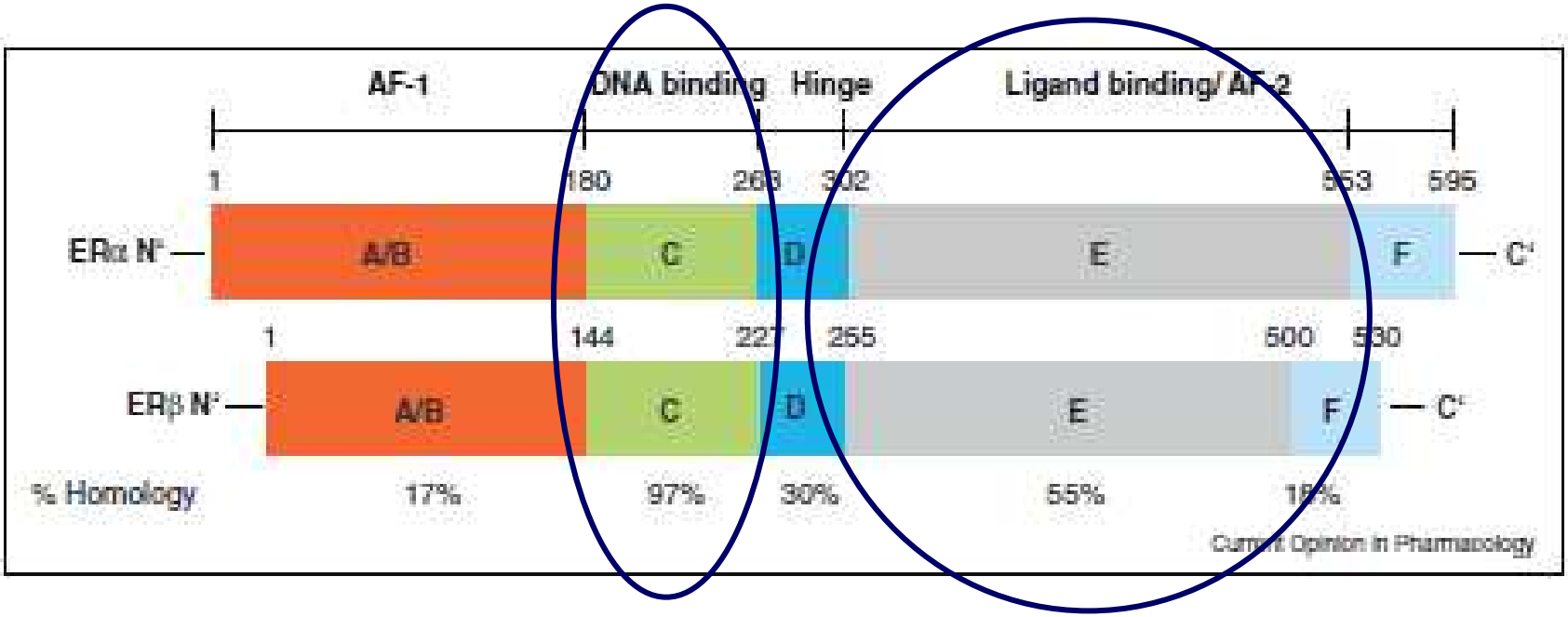
Médicaments : Bloquent l'activation du RE
[*antiestrogènes / inhibiteurs d'aromatase]*

P

# La famille des récepteurs d'hormones stéroïdes



# Structure, fonction du RE




Activation de la transcription

**Liaison à l'ADN**

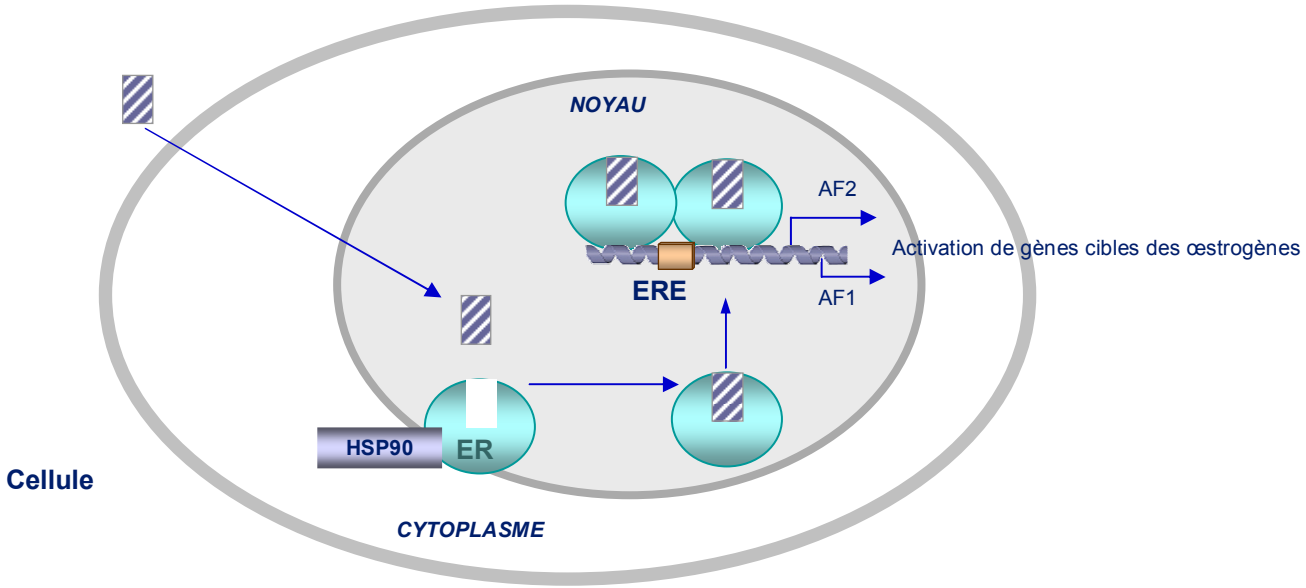
**Liaison de l'hormone**, dimérisation, Activation de la transcription

P

# Mécanisme d'action des estrogènes

au niveau des cellules mammaires tumorales hormono-dépendantes (RE+)

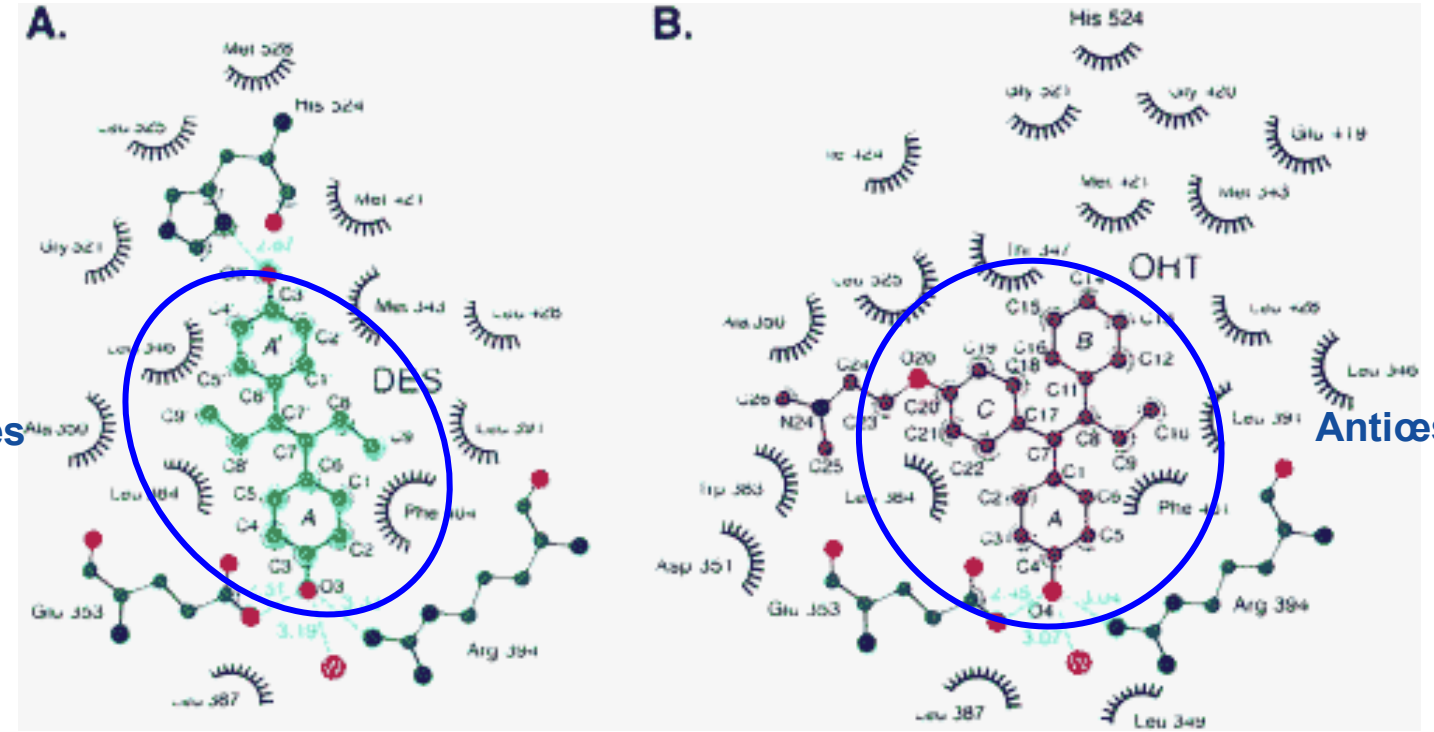
**a) Œstrogènes**




P

# Interaction du ligand avec le LBD

Œstrogènes

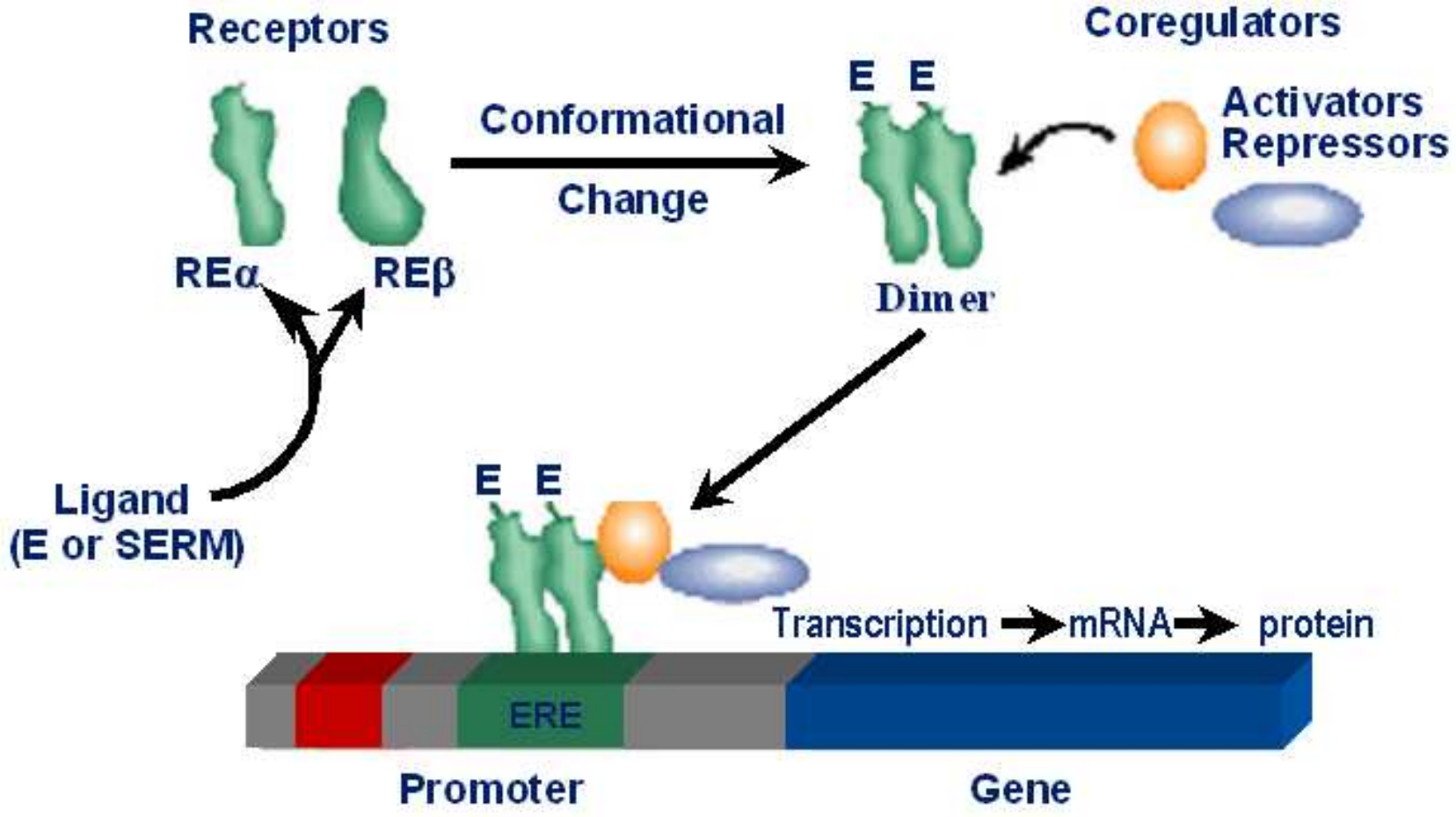



Antiœstrogènes

**Le ligand modifie la conformation du LBD**

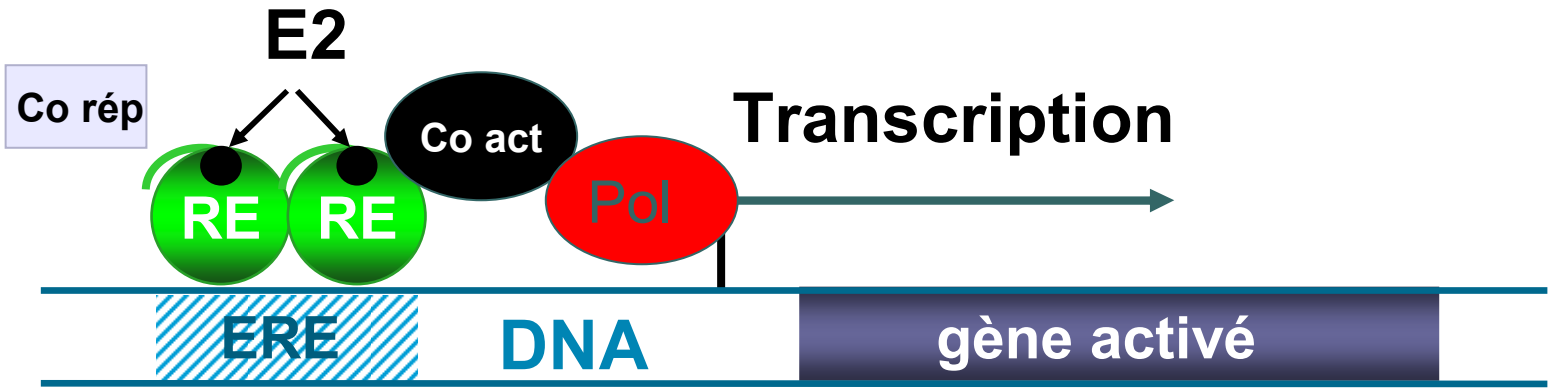
P

# Transactivation des REs




P

# Co-régulateurs: co-activateurs et co-répresseurs

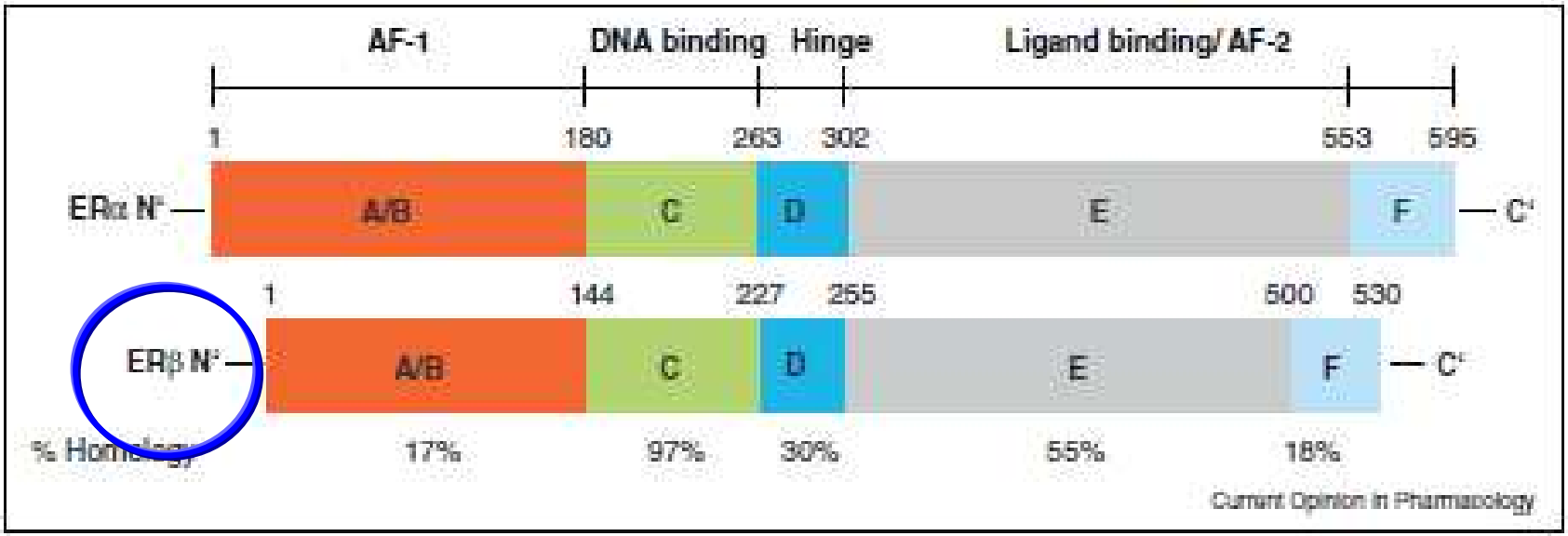



La balance co-activateur/co-répresseur peut expliquer les effets agonistes ou antagonistes du même ligand dans différents tissus

L'équilibre co-activateur/co-répresseur peut expliquer la résistance au traitement hormonal

P

# Structure, fonction du RE (représentation shématique)




Activation de la transcription

**Liaison à l'ADN**

**Liaison de l'hormone**, dimérisation, Activation de la transcription

P

# RE$\alpha$ et RE$\beta$

1. ***Généralités***

- Gènes codant pour RE$\alpha$ [6q -ESR1] et RE$\beta$ [14q (ESR2)] distincts
- RE$\alpha$ et RE$\beta$ exprimés dans des tissus communs et différents
- Régulent différents gènes et peuvent avoir des effets différents
- Ont des ligands communs et spécifiques
- Homo- et hétérodimères RE$\alpha$/RE$\beta$

2. ***Cancers du sein***

- Généralement, RE$\beta$ est plus faiblement exprimé que RE$\alpha$ dans les tumeurs du sein
- RE$\beta$ est plus faiblement exprimé que RE$\alpha$ dans les tumeurs du sein / sein normal. RE$\beta$ est souvent co-exprimé avec le RE$\alpha$

P

# Distribution REβ et REα

- REα expression nucléaire dans les tumeurs hormono-dépendantes
- REβ distribution différente de REα
  - ✓ **Tissus sains**: REβ est detecté dans CNS, système cardiovasculaire, respiratoire, gastrointestinal, endocrine, urogénital, musculo-squelettique et appareil reproducteur
  - ✓ **Sein**: REβ (protéine)
    - ✓ présent dans les cellules myoépithéliales et épithéliales
    - ✓ non restreint à l'epithelium: nucleus des fibroblastes, cellule endothéliale, infiltrats immuns et adipocytes

P

# REβ et Pathologie

- REβ : lié à un bas **grade tumoral** : [Speirs *et al.* 2000; Jarvinen *et al.* 2000; Skliris *et al.* 2001]
- REβ : expression diminuée dans les lésions pré-invasives (**in situ carcinomas)** [Roger *et al.* 2000]
- **Perte** d'expression de **ER**β dans de nombreuses tumeurs du sein [Iwase *et al.* 2003] par methylation [Skliris et al. 2003; Sasaki *et al.* 2002; Zhao *et al.* 2003]
  - ✓ *Suggère un rôle du REβ dans le maintien du phénotype bénin?*

P

# Spécificité de la réponse biologique

- Type de récepteur (RE$\alpha$, RE$\beta$,…)
- Type de cellule, tumeur, organe
- Ligand (E2, SERMs, SERDs),…
- Co-régulateurs (activateurs, répresseurs)
- Type d'action

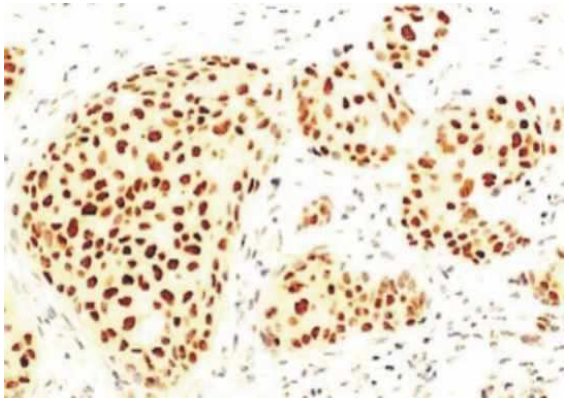
P

# Comment déterminer l'hormono dépendance ?

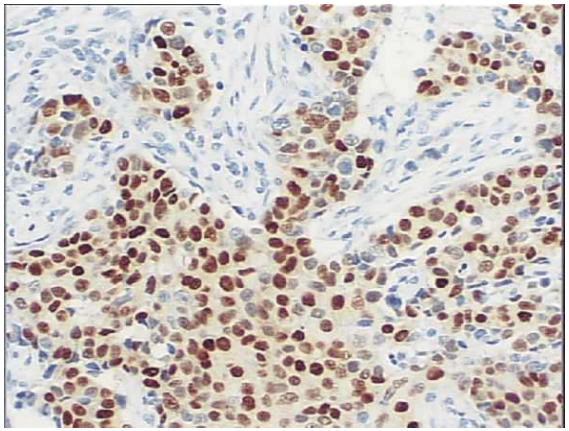
*Déterminer le contenu en récepteurs hormonaux de la tumeur: gold standard en 2012: la détermination semi-quantitative des RH par* ***immunohistochimie*** *sur tissu fixé*

*En France seuil de positivité : ≥ 10% de cellules tumorales marquées (+intensité de marquage= score d'Alred)*

**Immunohistochimie** ➔ visualisation de la protéine (Ac en Nter)



ERα +: Marquage nucléaire (plus ou moins intense,1-3+) intéressant plus de 10% des cellules tumorales



PR+: Marquage nucléaire (plus ou moins intense,1-3+) intéressant plus de 10% des cellules tumorales

L

*Evaluation REα spécifique; REβ non en routine*

# Intérêt clinique

Les RE sont ils des marqueurs pronostiques et / ou prédictifs?

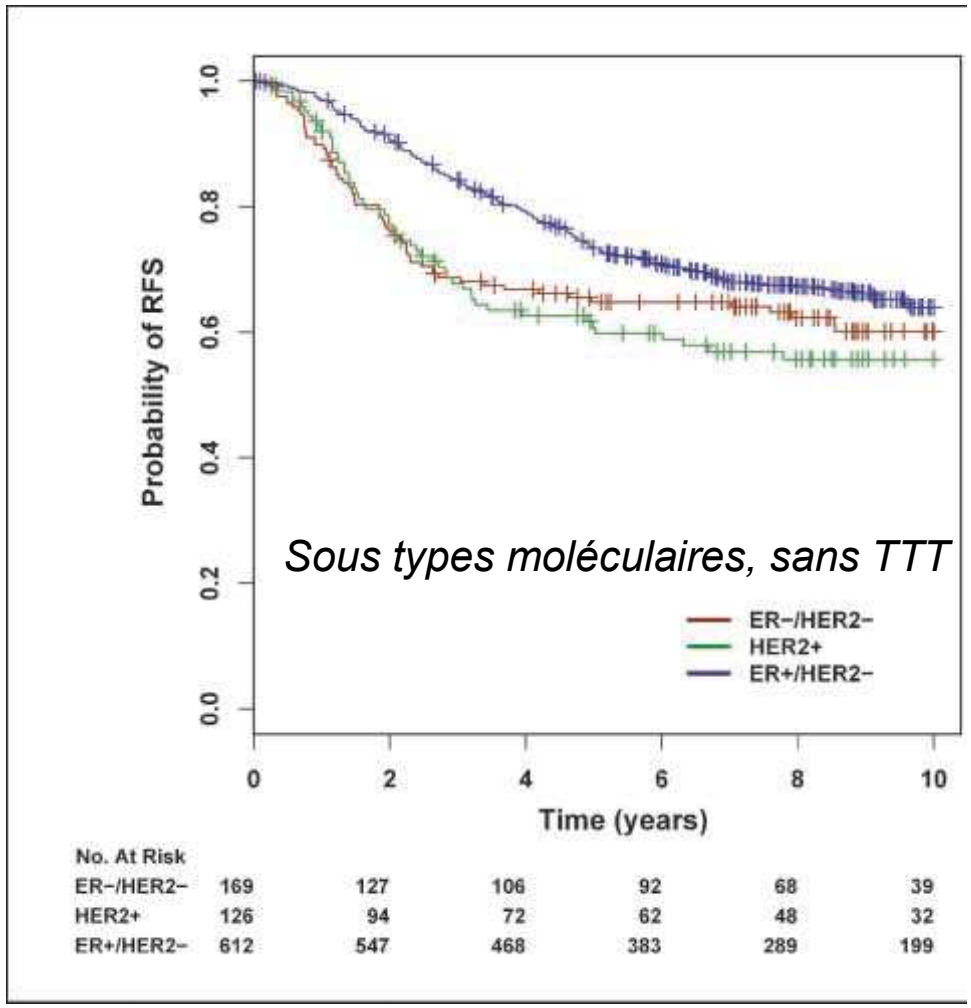
- Marqueurs pronostiques: oui
- Marqueurs prédictifs: oui

L

# RE marqueurs pronostiques

Marqueurs pronostiques

- REα oui , Reβ non démontré
- Valeur pronostique des RE non démontrée au delà de 5-7 ans. *Hilsenbech. Breast Cancer Treatment, 37 :35, 1995).* Rechutes tumeurs RE+ plus tardives




Desmedt et al, 2008

L

# RE marqueurs prédictifs

- Marqueurs prédictifs de réponse à l'hormonothérapie
- RE$\alpha$ oui , RE$\beta$ non démontré
- Probabilité de réponse liée au niveau d'expression des RE$\alpha$ et RP et à leur présence respective

| | | |
|---|---|---|
| RE $\alpha$+ PR+ | 70 % | ( 188/263) |
| RE$\alpha$ + PR - | 30 % | (61/189) |
| RE$\alpha$- PR + | 50 % | (8/15) |
| RE$\alpha$- PR- | 9 % | (16/171) |

***Limites*** : La présence de RE et /ou RP

- est <u>nécessaire</u> à la réponse à l'hormonothérapie
- mais <u>n'est pas suffisante</u> pour prédire la réponse d'une patiente (et d'une tumeur) à l'échelon individuel

L

# Conclusions

- Les cancers du sein RE+ sont hormono-dépendants
- Les récepteurs hormonaux (RE, RP) ne sont pas des facteurs pronostiques puissants.
- La réponse à l'hormonothérapie n'est pas constante et varie au fil du temps.
  - Adaptation des cellules (prolifération) / **résistance** au traitement
  - Il n'existe pas de mécanisme univoque de résistance à l'hormonothérapie,
- Le RE est un marqueur prédictif important dans les cancers du sein, mais non suffisant: marqueurs prédictifs complémentaires?

L

# Principales cibles

*Exemple des récepteurs de la famille de l'EGFR* ***HER2***

Cible : Le récepteur de facteurs de croissance HER2

Fonction de la cible : Amplification du gène HER2 entraînant une surexpression de HER2, activation constitutionnelle

Conséquences : Prolifération des cellules tumorales

Quelles tumeurs :Les tumeurs du sein avec amplification (ou surexpression +++) du gène HER2

Médicaments : Anticorps bloquant HER2 (trastuzumab, pertuzumab, omnitag…); inhibiteurs de TK (lapatinib…)

P

# HER2

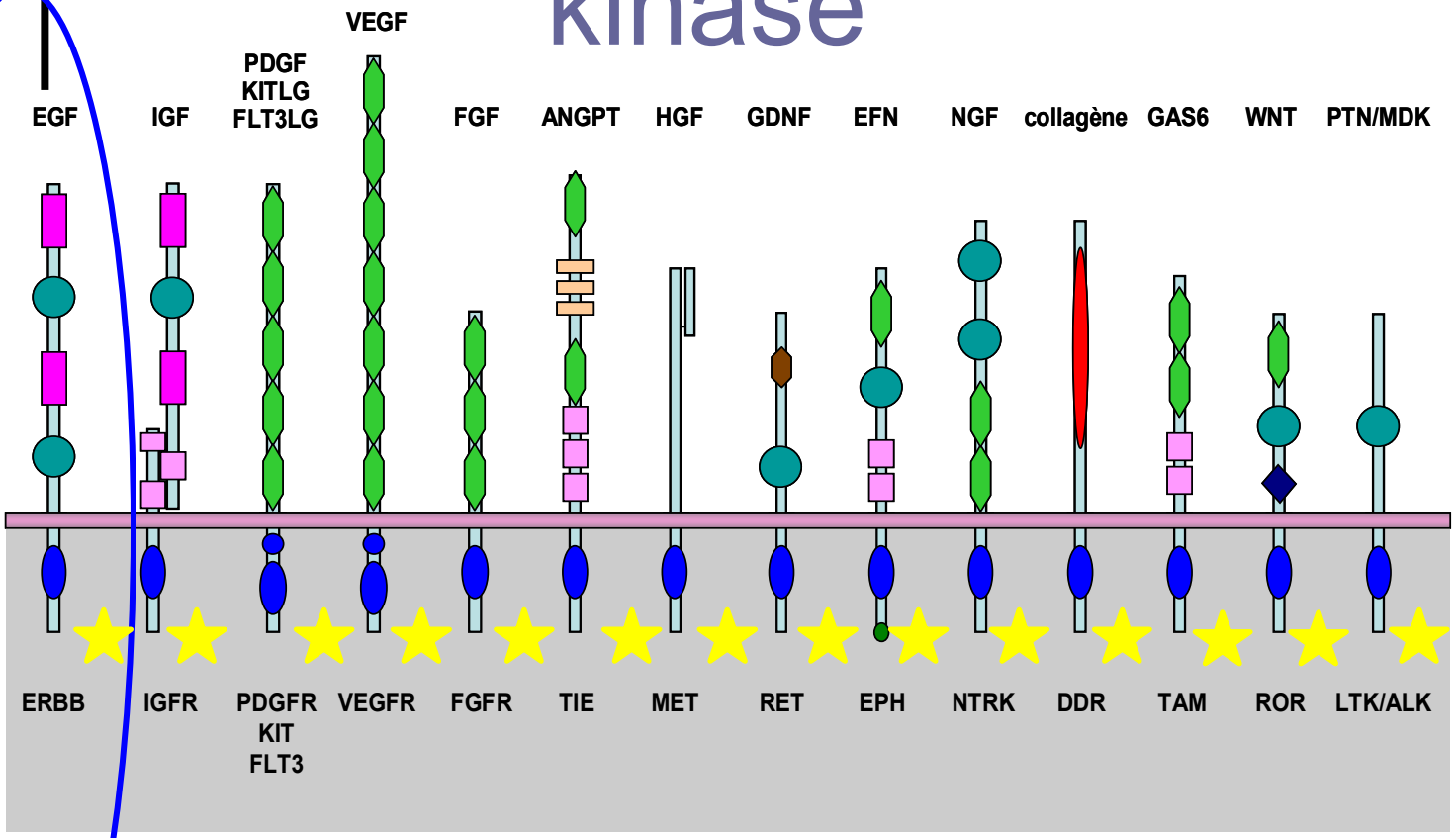
- *Récepteur de facteur de croissance*
- *Récepteur membranaire à activité tyrosine kinase*

P

# Tyrosine Kinases et Cancer

- La phosphorylation des tyrosines ≡ activation
- Elle module l'activation des protéines cibles ≡ transduction
- Les *protéines* régulées par la phosphorylation des tyrosines kinases sont impliquées dans la régulation du cycle cellulaire et/ ou la survie cellulaire.
  - De nombreux protooncogènes codent pour des protéines à activité tyrosine kinase
  - Protéines à activité tyrosine kinase peuvent être constitutionnellement activées (*mutation , réarrangement du gène, surexpression de la protéine, et/ou perte de la régulation normale).*

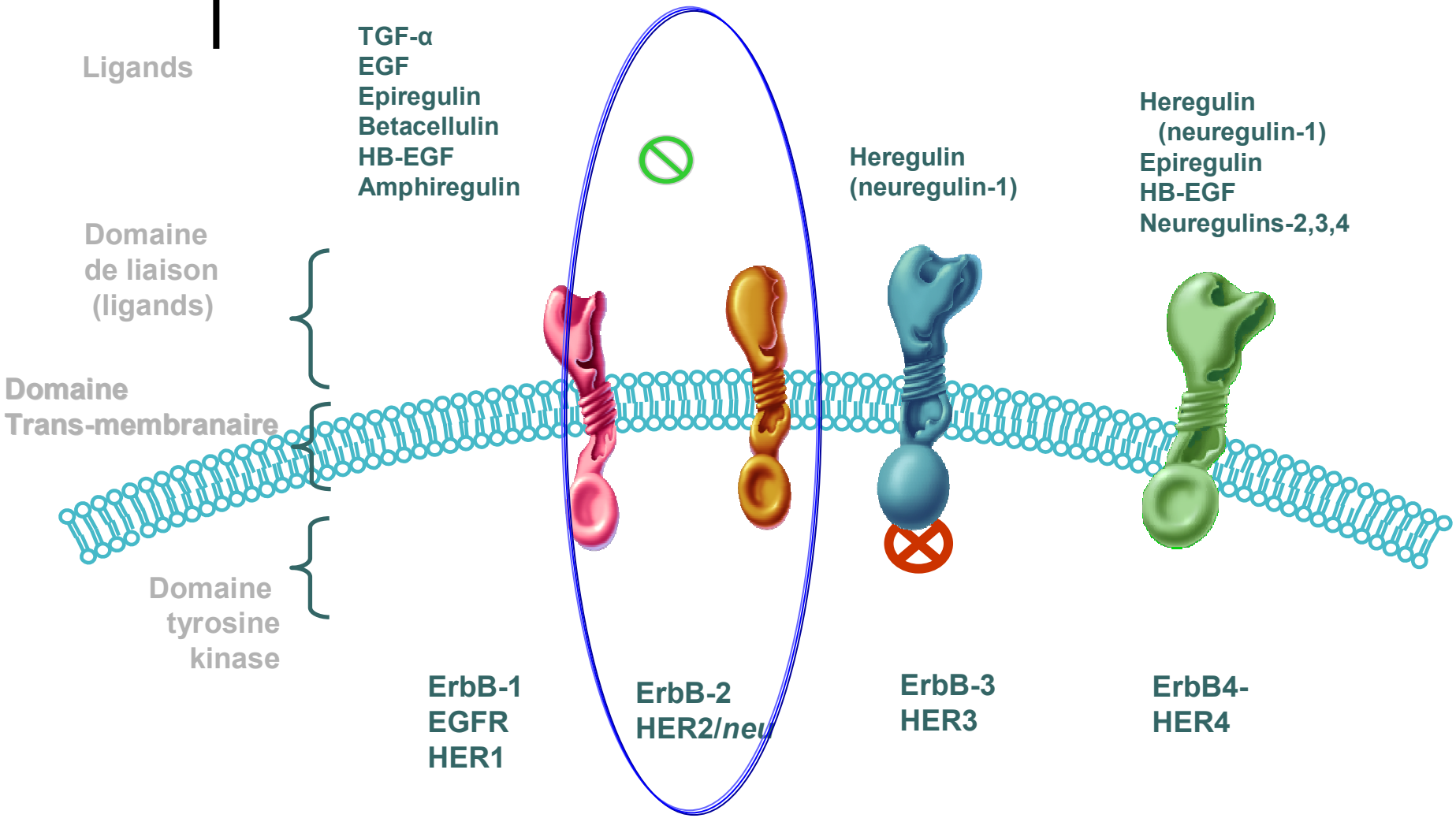
# ~ 60 récepteurs à activité tyrosine kinase




EGFR, ERBB2, ERBB3
KIT, FLT3, PDGFRA et B, VEGFR1 et 2, TIE2,
IGF1R, MET, RET, DDR, FGFR, ALK, etc.

P

# La famille des récepteurs HER




P Herbst. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 2004;59(suppl):21
Roskoski. *Biochem Biophys Res Commun.* 2004;319:1; Rowinsky. *Annu Rev Med.* 2004;55:433

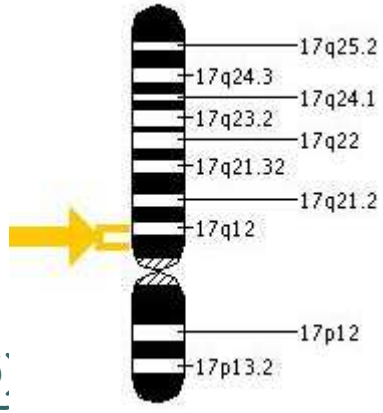
# HER-2

Human epidermal growth factor receptor 2 ERBB2 (HER-2, HER2/neu, c-erb B2)

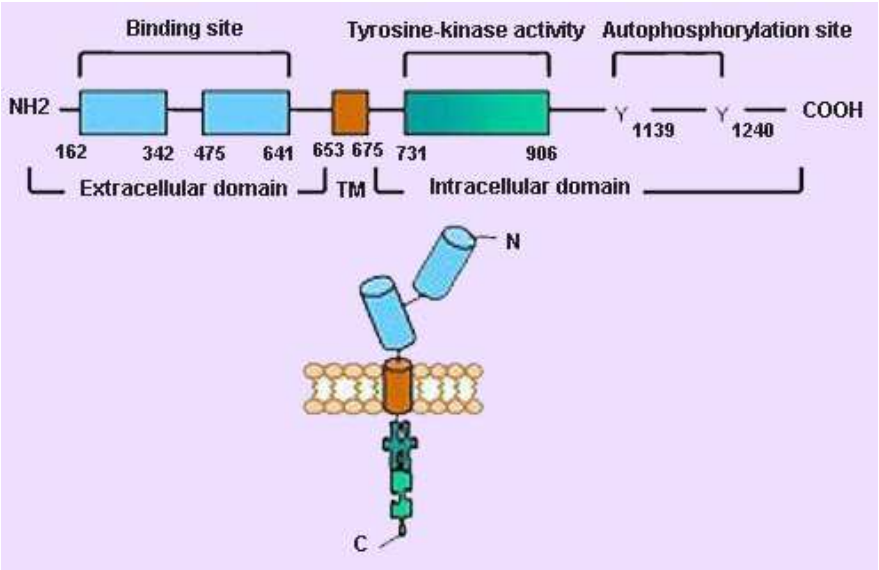
**Gène:**

Localisation chromosomique : 17q11.2-q12
Taille de la séquence génomique: 30528 bp
Structure du gène: 27 exons, 4477 bp
Existence de plusieurs variants:
- isoforme a
- isoforme b , plus courte en Nter

Existence de polymorphismes :
- allele B1 (Ile-654/Ile-655)
- allele B2 (Ile-654/Val-655)
- allele B3 (Val-654/Val-655).




**Protéine**
185-kDa,
1255 aa

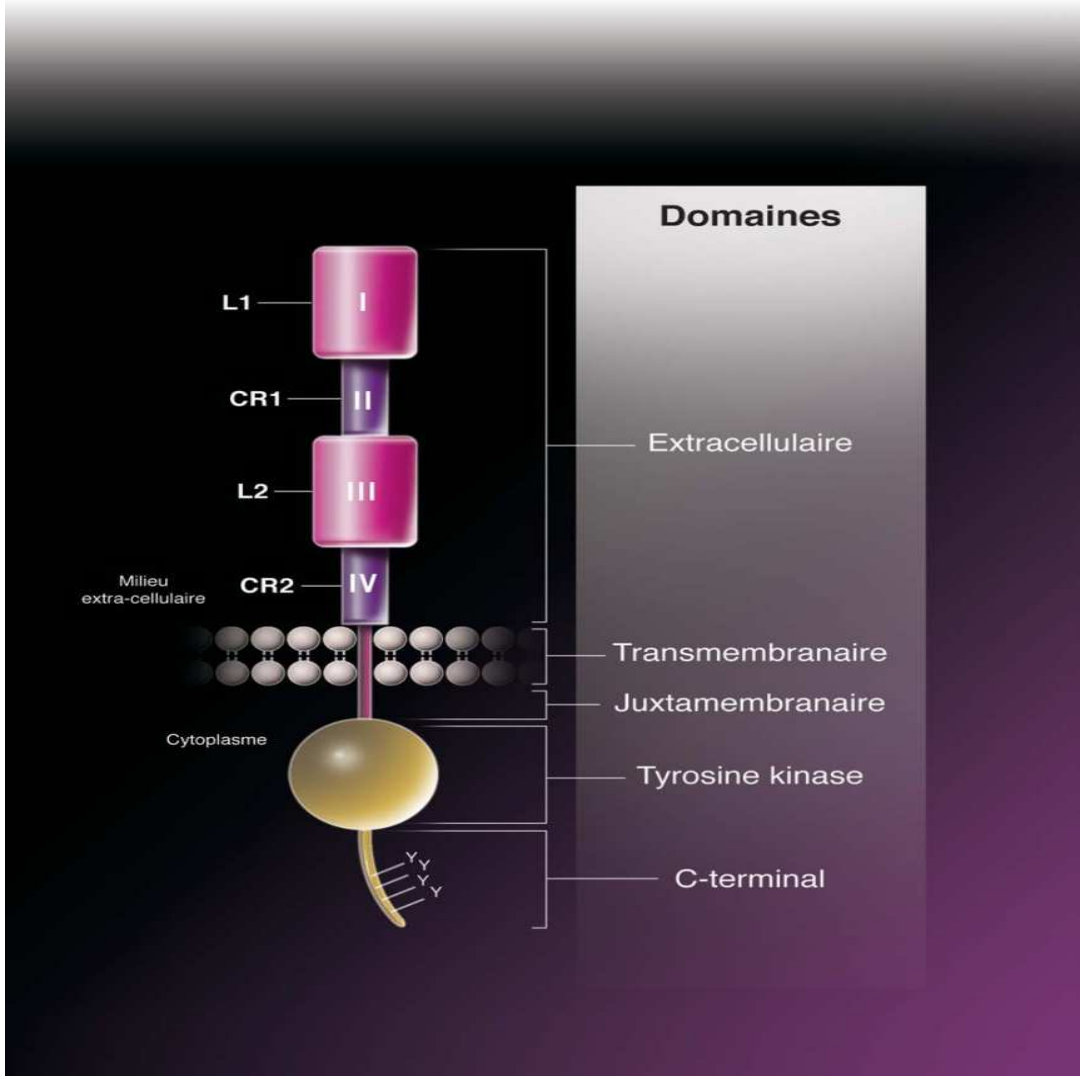


# La famille des récepteurs HER

❖ En absence de ligand, les récepteurs se trouvent essentiellement sous formes de monomères inactifs.

❖Domaine extracellulaire des récepteurs HER:

- I & III -liaison du ligand
- II & IV -dimérisation




P

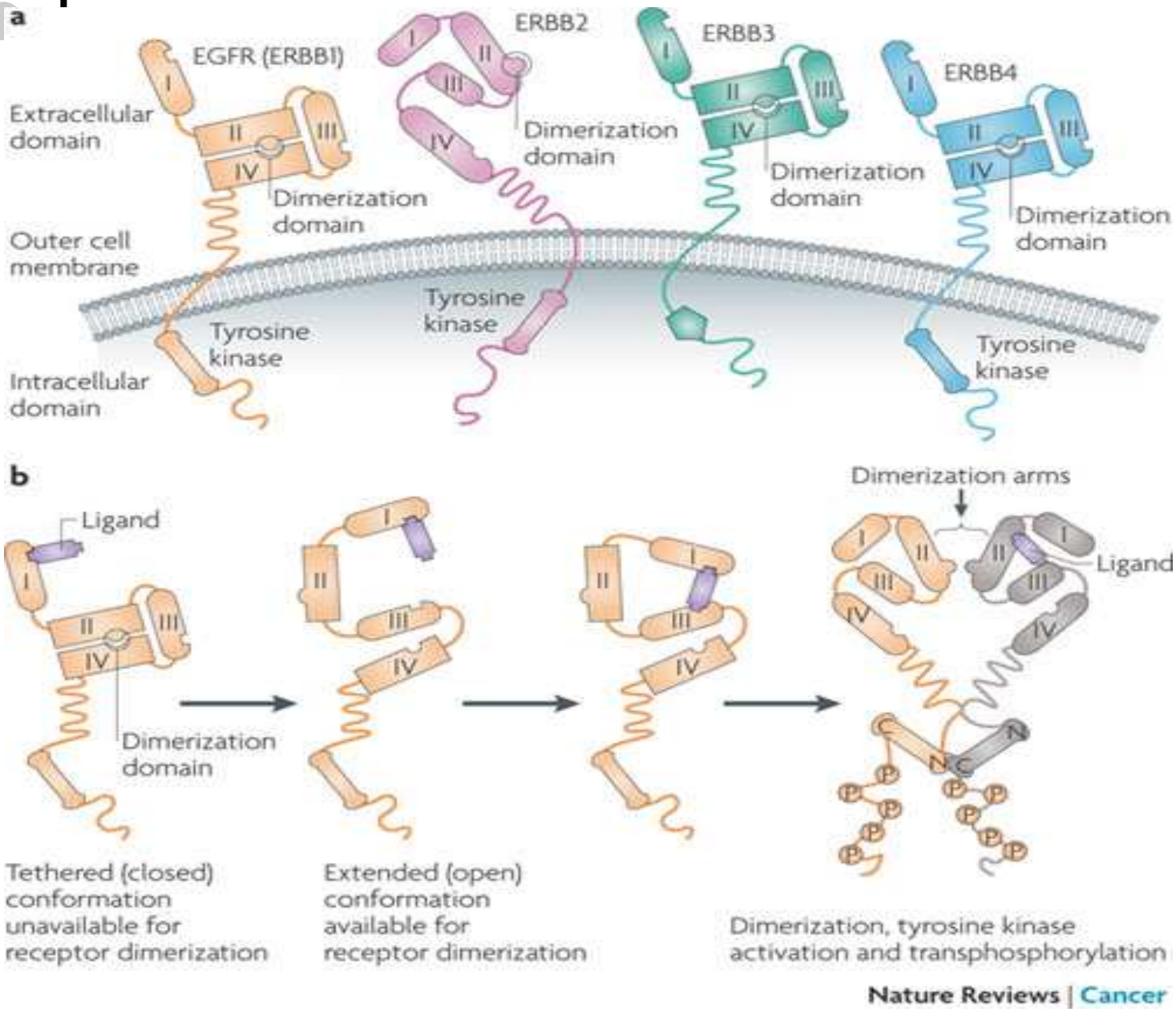
# HER2

- Monomères EGFR, HER3 et HER4 « configuration fermée » (boucle II-IV)
- La structure monomérique du récepteur HER2 est figée en « configuration ouverte »
- la fixation d'un ligand permet:
  - « L'ouverture » du domaine extracellulaire
  - L' association de 2 monomères pour former un dimère actif
- Le domaine de dimérisation de HER2, en « configuration ouverte » est similaire à une configuration activée par un ligand

P

(1) Hubert P. *Bull Cancer* 2006; hors série: 17-24.
(2) Britten CD. *Mol Cancer Ther.* 2004;3(10):1335-42.

# HER2


a
EGFR (ERBB1)
ERBB2
ERBB3
ERBB4
Extracellular domain
Dimerization domain
Outer cell membrane
Tyrosine kinase
Intracellular domain
b
Ligand
Dimerization arms
Tethered (closed) conformation unavailable for receptor dimerization
Extended (open) conformation available for receptor dimerization
Dimerization, tyrosine kinase activation and transphosphorylation
Nature Reviews | Cancer

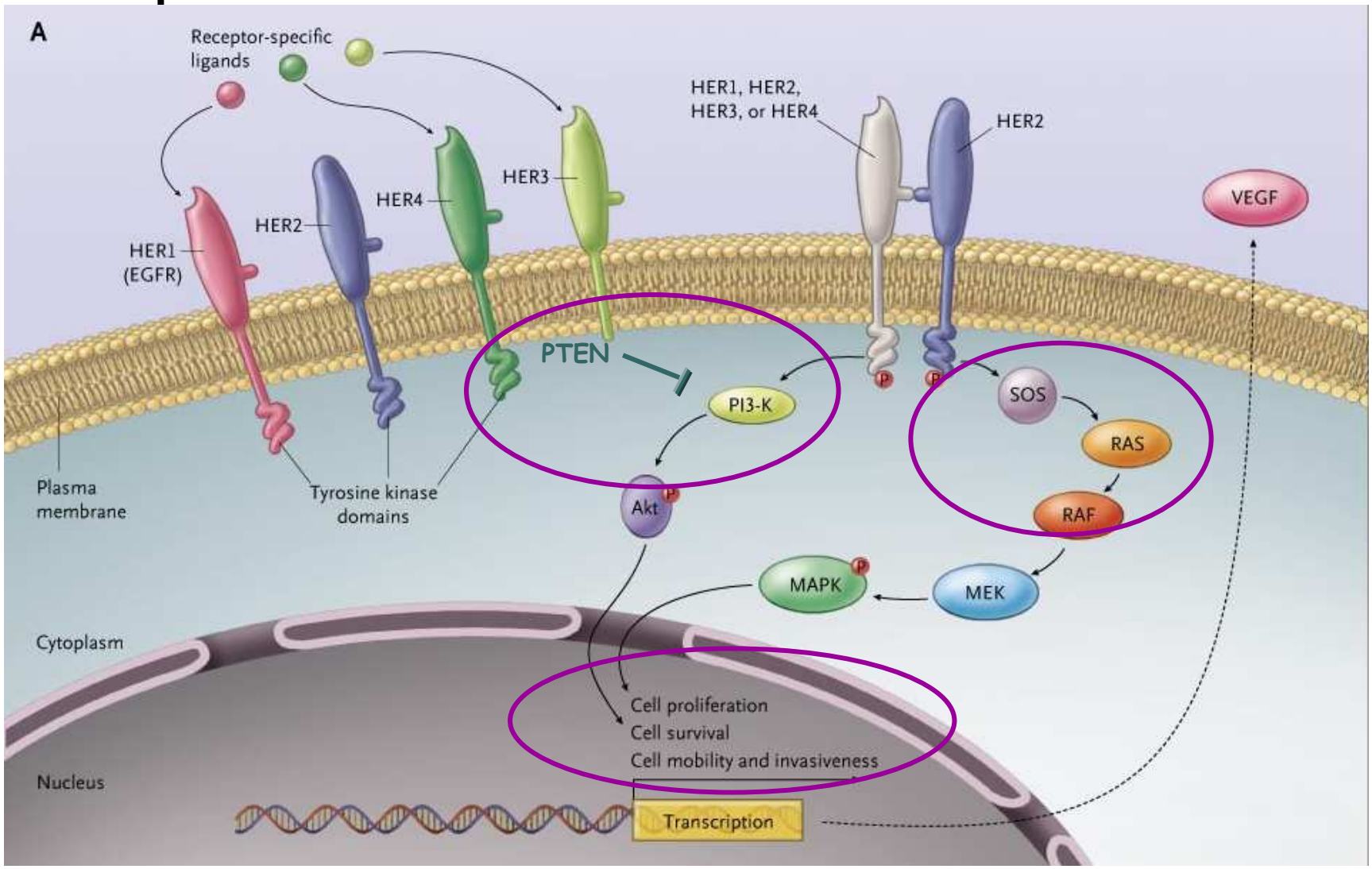
P

# HER-2

- Après liaison du ligand au récepteur à activité TK : homo ou hétérodimérisation
- Activation du domaine TK des récepteurs
- Activation des voies de signalisation HER-2
  - Activation des voies RAS/MAPK
    - ✓ Prolifération cellulaire
  - Activation des voies P13K/Akt/mTor
    - ✓ Inhibition de l'apoptose

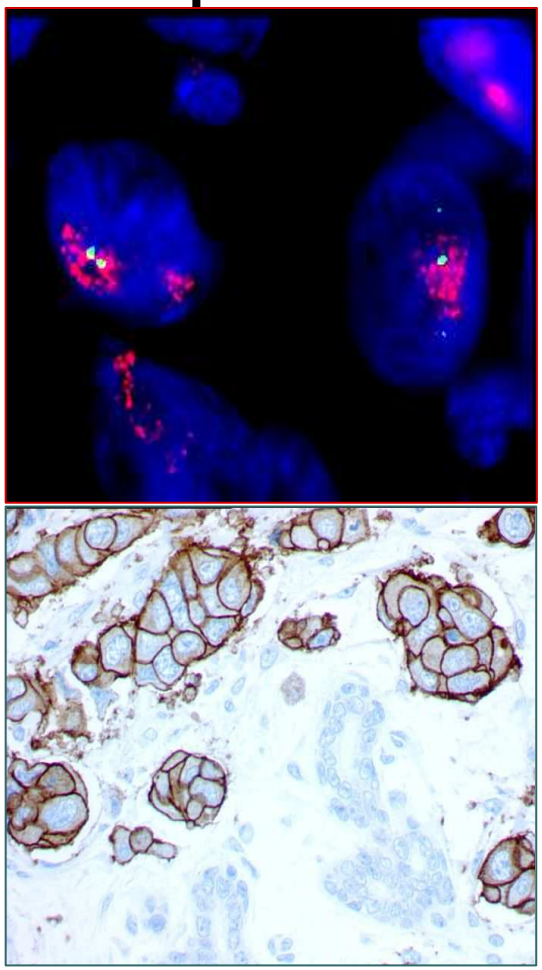
P

# HER-2 et famille des récepteurs de facteurs de croissance et voies de signalisation




*Clifford A Hudis et al., 2007*

# Amplification et surexpression du récepteur HER2 dans le cancer du sein



Slamon et al, 1987

Amplification de l'oncogène HER2

↓

Surexpression des proteines HER2 en IHC

↓

Impact sur la survie

*Méthodes d'analyse*

***ADN***
FISH, CISH, qPCR

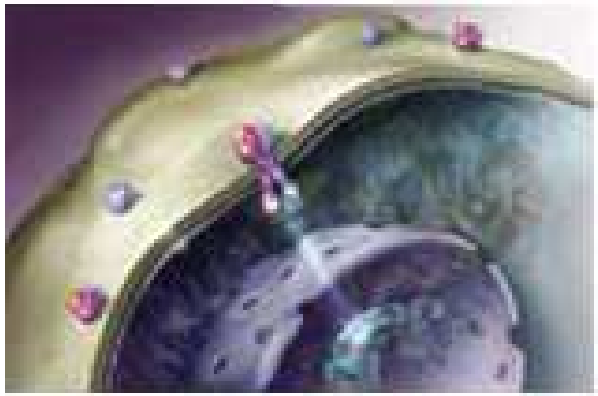
***ARN***
RT-qPCR

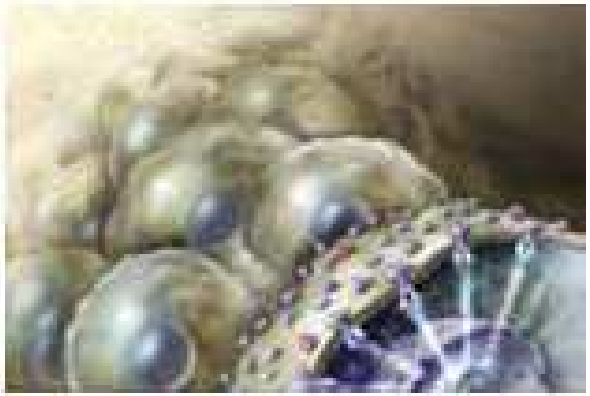
***Protéines***
IHC

*STIC en cours (INCa)*

# HER2 et cancer du sein

surexprimé par amplification génique dans **10-20% des cancers du sein**:



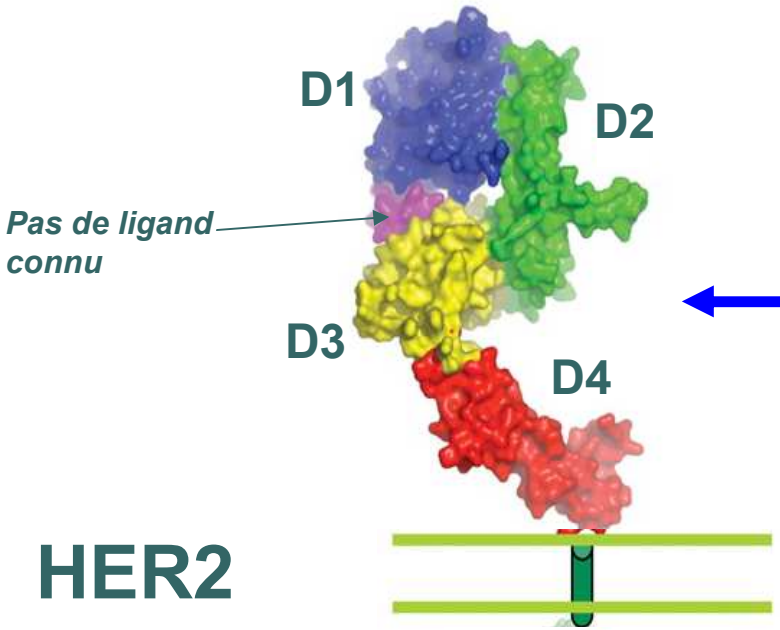


**<u>En l'absence de traitement ciblé,</u>** c'est un facteur de mauvais pronostic:

-tumeurs plus agressives
-métastases cérébrales
-survie sans évènement et survie globale plus courte

L

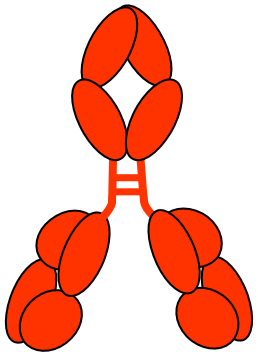
# Il existe deux cibles potentielles au niveau des récepteurs à activité tyrosine kinase



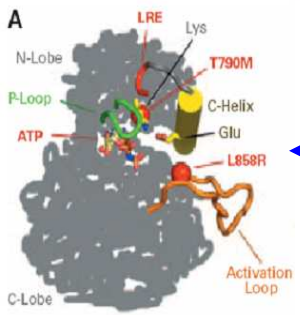

**HER2**

**Le domaine extracellulaire :**

**Anticorps**

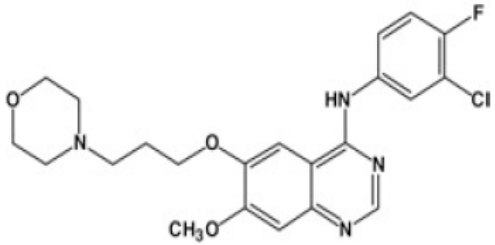


**TK**



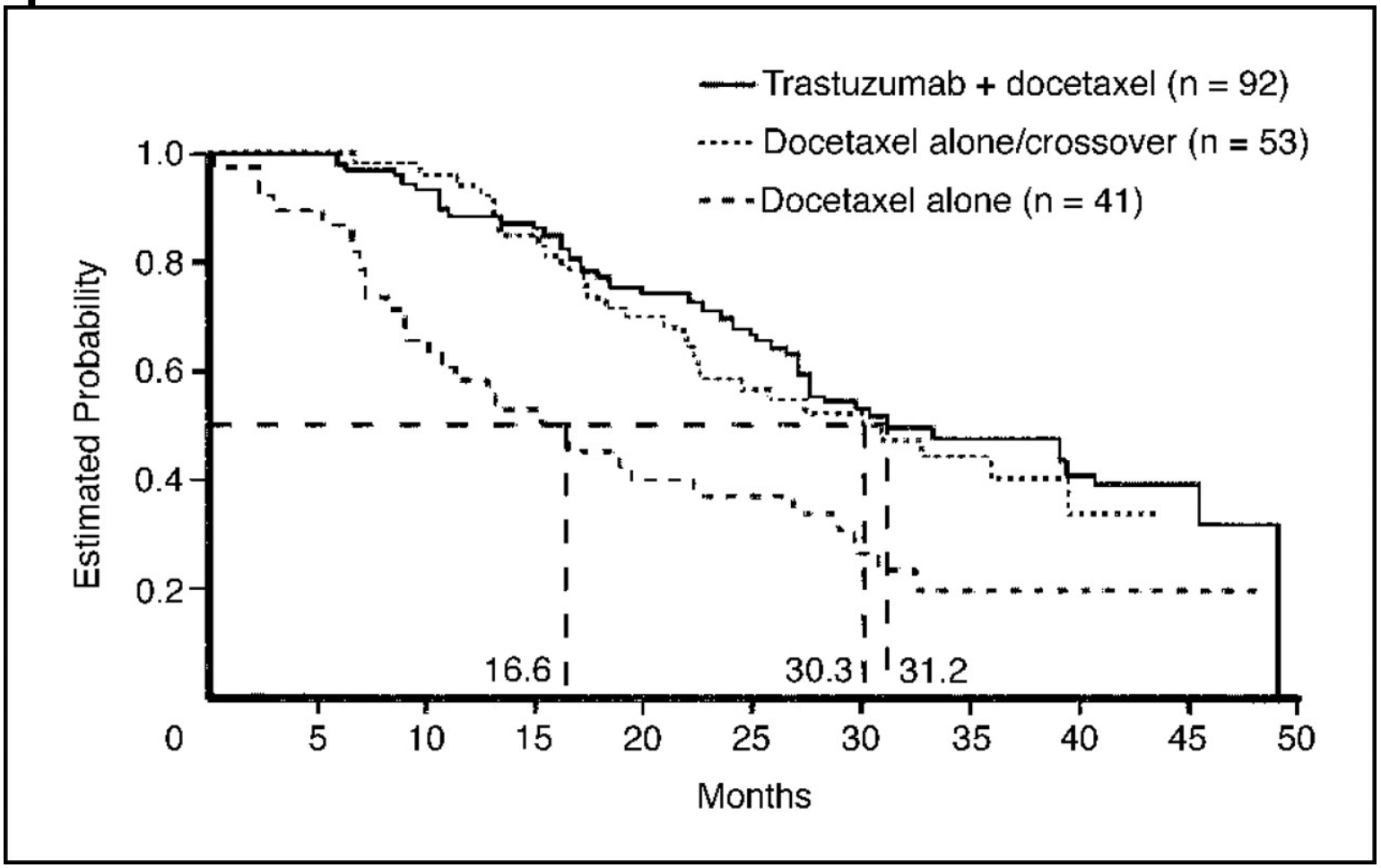

**L'activité catalytique :**

**ITK**



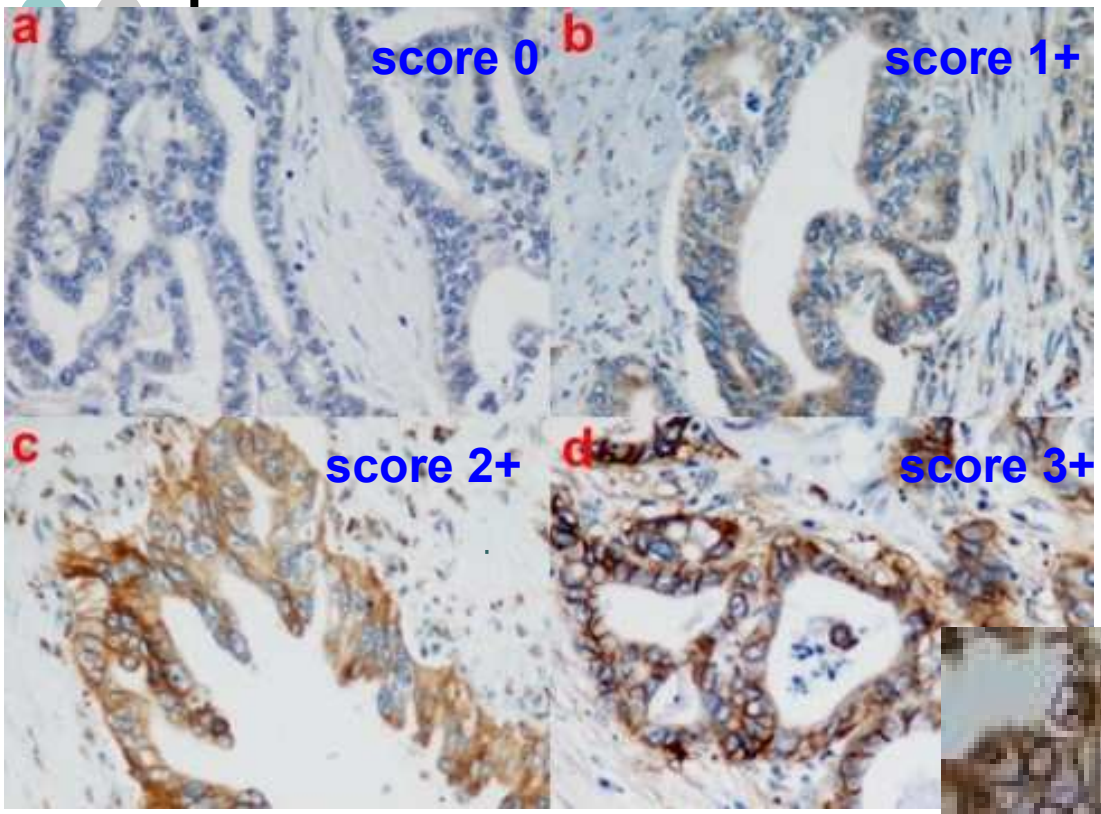

L

# Résultats : Docetaxel et Trastuzumab
# Cancer du sein métastatique



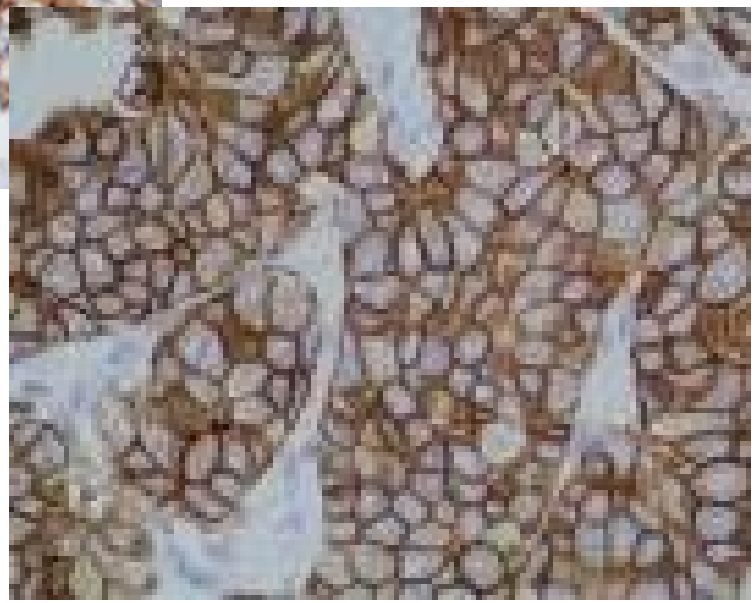

*Marty, M. et al. J Clin Oncol; 23:4265-4274 2005*

# Evaluation de HER2 par immunohistochimie




Méthode semi-quantitative

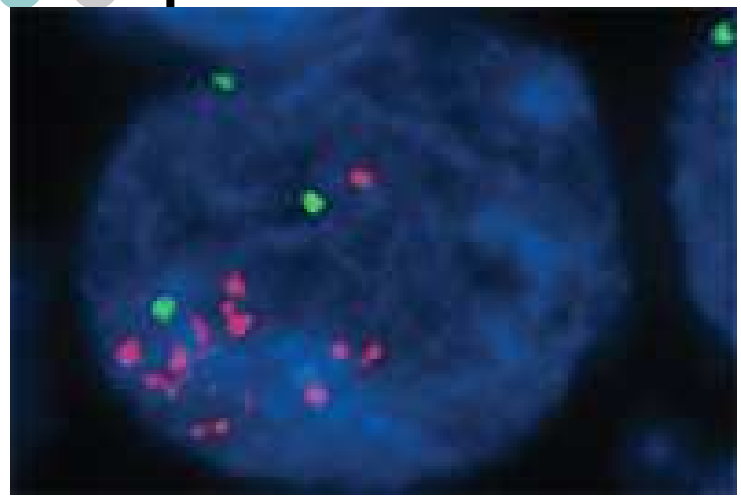
Différents AC mono ou polyclonaux disponibles



Marquage en cadre pour > 30% des cellules cancéreuses

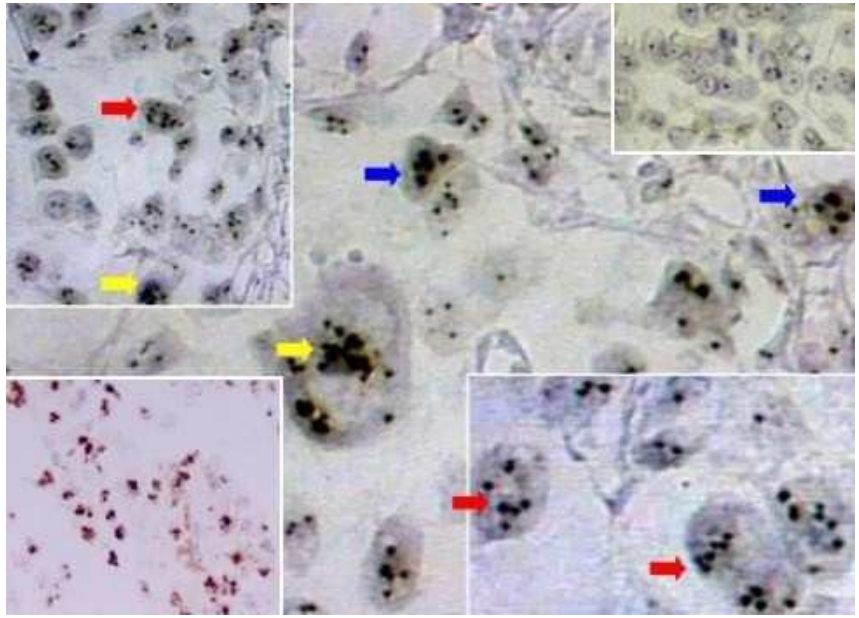
L

# Evaluation de HER2 par FISH ou BRISH



FISH : Détection à l'aide de sondes marquées:
HER2 rouge
CEP17 vert
DAPI bleu

Positif si
HER2>4 ou
HER2/CEP17 > 2.2



Détection de la sonde par un chromophore (CIHS)

L

# Intérêt clinique

HER2 est il un marqueur pronostique et / ou prédictifs?

- Marqueur pronostique: oui
- Marqueur prédictif: oui

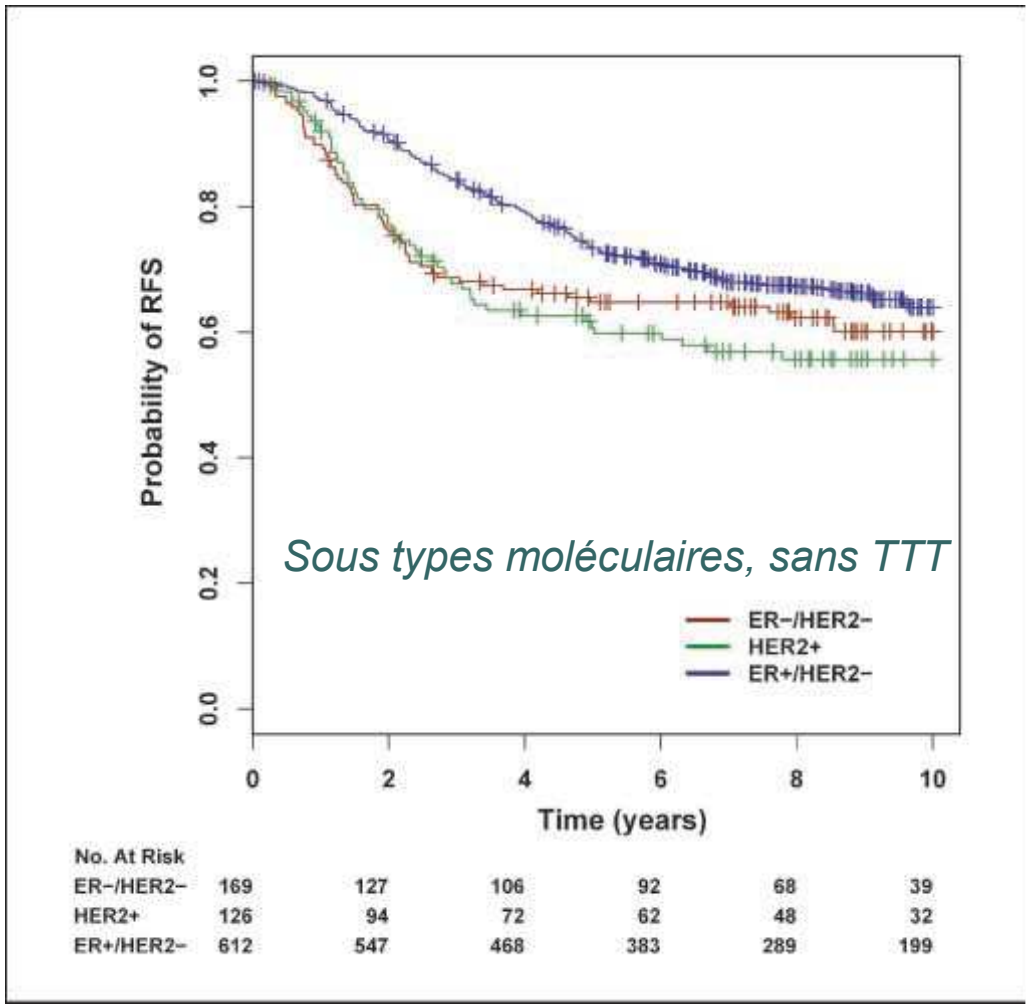
L

# HER2 marqueur pronostique

- Sans traitement ciblé, HER2 est un marqueur de mauvais pronostic

- Evolution des cancers du sein HER2+ complètement changée / traitement ciblé

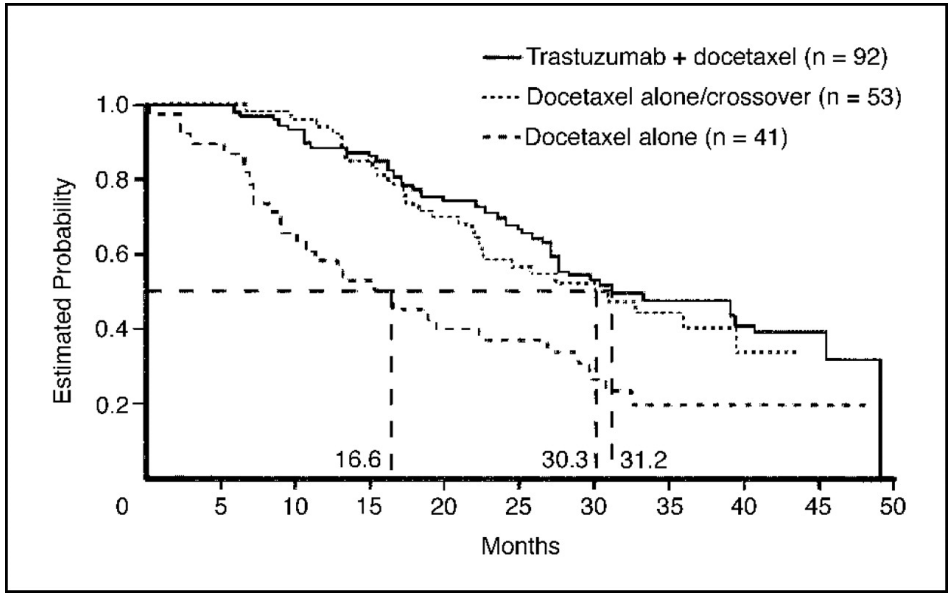
L




Desmedt et al, 2008

# HER2 marqueur prédictif

- Marqueurs prédictifs de réponse aux traitements ciblant HER2 (Trastuzumab, lapatinib)
- Niveau de réponse liée au niveau d'amplification de HER2 (Arnould et al)?




Marty et al, JCO, 2005

***Limites*** :

- Environ 60% des tumeurs surexprimant HER-2 ne répondent pas au trastuzumab (résistance primaire ou *de novo*
- Résistance secondaire ou acquise après réponse au trastuzumab
  - ***La présence d'une amplification d'HER2 est nécessaire mais non suffisante***

# Conclusions

- La surexpression (+++) ou l'amplification d'HER-2 est un marqueur prédictif de réponse à un traitement / trastuzumab »
  - MAIS
    - Environ 60% des tumeurs surexprimant HER-2 ne répondent pas au trastuzumab (résistance primaire ou *de novo*)
    - Résistance secondaire ou acquise après réponse au trastuzumab

➢ ***L'amplification d'HER-2 est nécessaire mais non suffisante pour la réponse au trastuzumab***

L

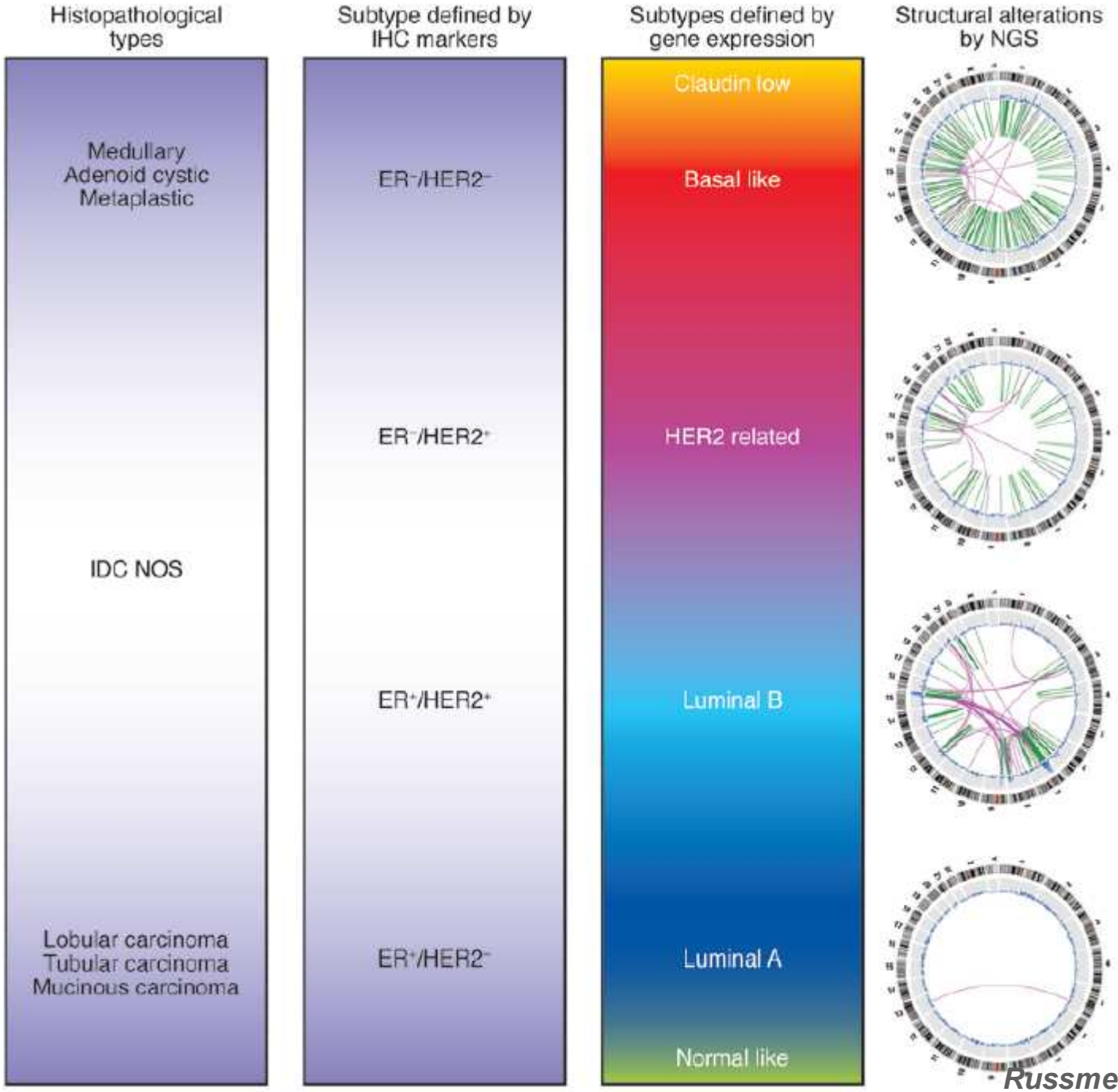
# Développement d'un nouveau marqueur biologique

1. Découverte; mise en place d'une méthode d'analyse; analyses cliniques préliminaires (rétrospectives)
2. Mise en place d'une étude prospective clinico-biologique avec une méthode validée
3. Validation clinique, mise en place des CQ et respect des contraintes règlementaires

# Paramètres majeurs

- Dynamique du dosage
- Limites de détection
- Linéarité dans des conditions diagnostiques
- Stabilité
- Reproductibilité et fiabilité
- Sensibilité et spécificité
- Reproductibilité intralaboratoire et interlaboratoire

# Le futur?




*Russmes et al 2012*