Hospitalier Universitaire
SAINT-LOUIS
LARIBOISIÈRE
FERNAND-WIDAL

université PARIS DIDEROT PARIS 7

Caractéristiques génotypiques et phénotypiques du tissu tumoral

Des tu orot ques au tests
pronos ques pr dic s t ranos ques

e hea e e
a an s n e s a s e

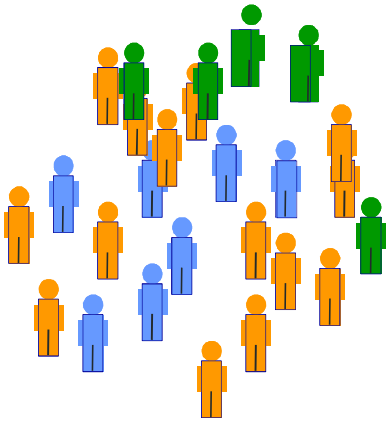
L anato opat ologie est au centre du diagnos c de tu eur aligne

Colla ora on troite avec les iologistes

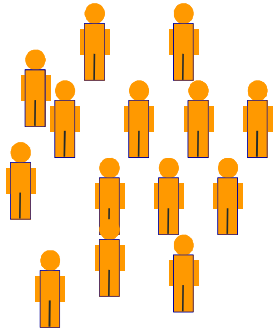
Diagnos c
Sous t pe
Pronos c
Pr dic on

ues ons

a ents sentant la e aladie

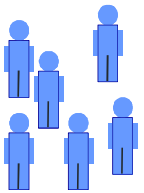


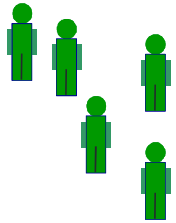
a e en e ence



n e s

n n n e s





n e s

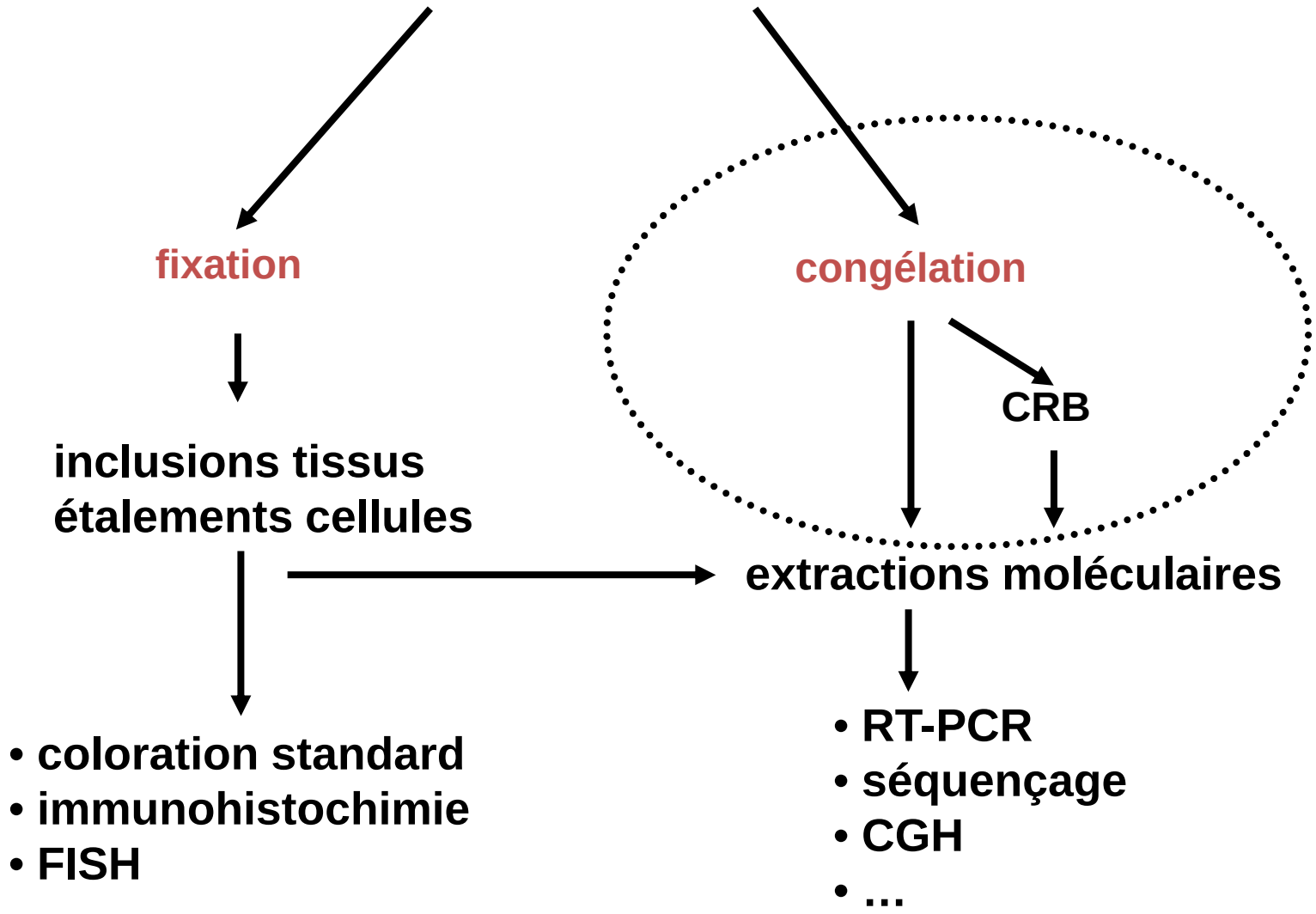
a s ac n e

Génotype / Phénotype

2 e gne e a e en e ence

an a a e a n nc

Pr l ve ents ssulaires cellulaires

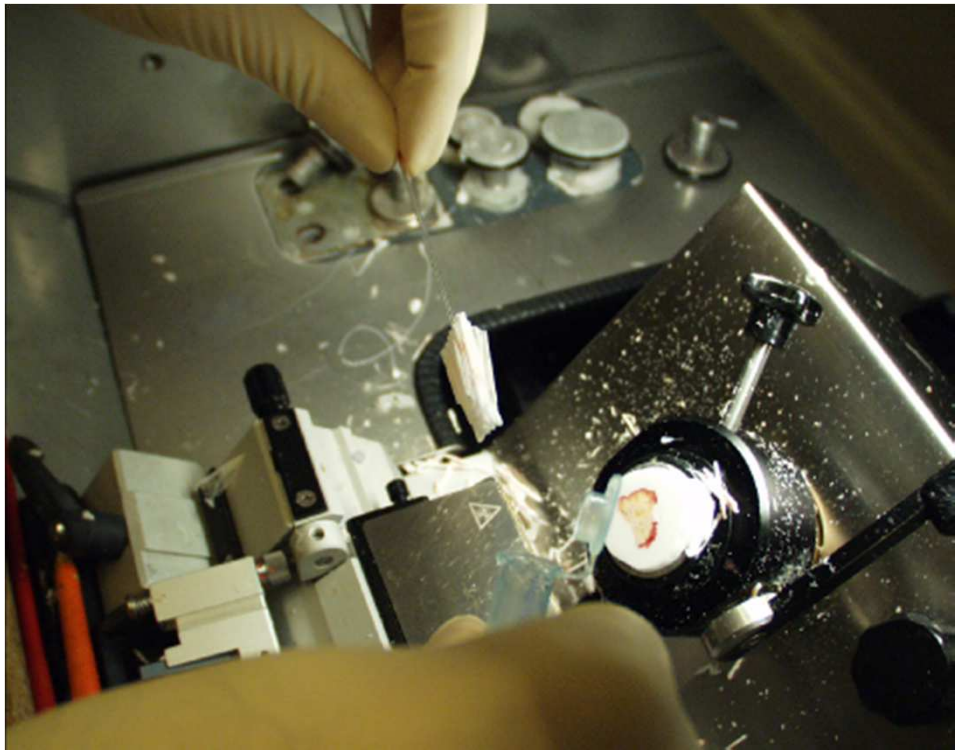


Anal ses ol culaires i diates

Annotations des prélèvements tumoraux: coupes congelées (au cryostat) pour :

1/ contrôle histologique de la qualité de l'échantillon congelé

2/ analyses moléculaires ADN, ARN, ou protéines



Conserva on pour u lisa on di r e

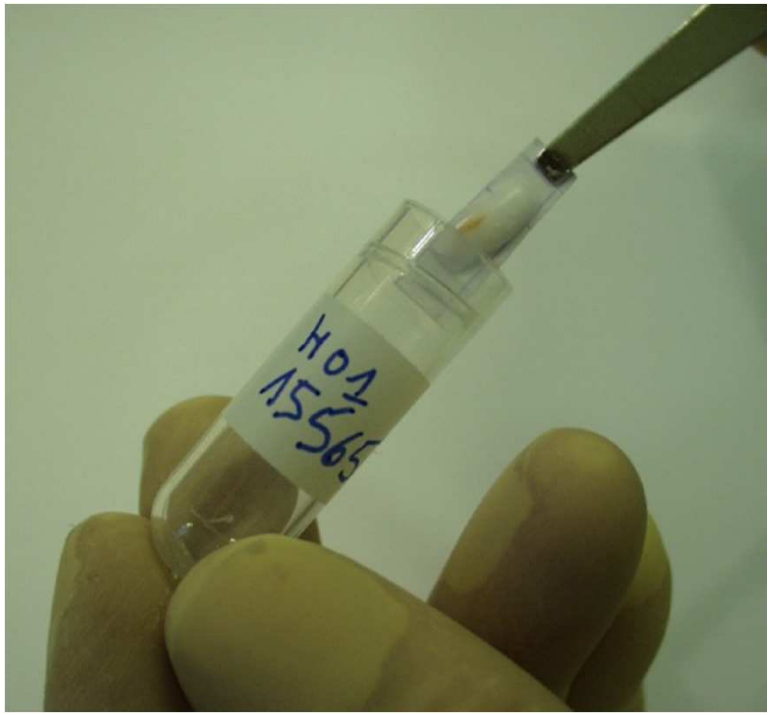
Où ?

- **Tumorothèque, tissuthèque**
- **Centre de Ressources Biologiques (CRB)**
- **Plateforme de Ressources Biologiques (PRB)**

Les cr otu es

- fragment tissulaire déposé sur une languette plastique stérile
- insertion dans le cryotube
- immersion dans l ’azote

- Conditions RNAses free
- Le plus vite possible (qq min)



Conserva on

- pour le transport des échantillons
- pour la conservation à court terme
- pour la conservation à long terme

Container d'azote liquide

Congélateurs -80 C

Pourquoi une tu orot que

Conserver des tissus humains avant tout traitement reste indispensable:

- **Complément au diagnostic**
- **Recherche clinique et pré-clinique (culture cellulaire & modèles animaux)**
- **Avancées scientifiques et technologiques**

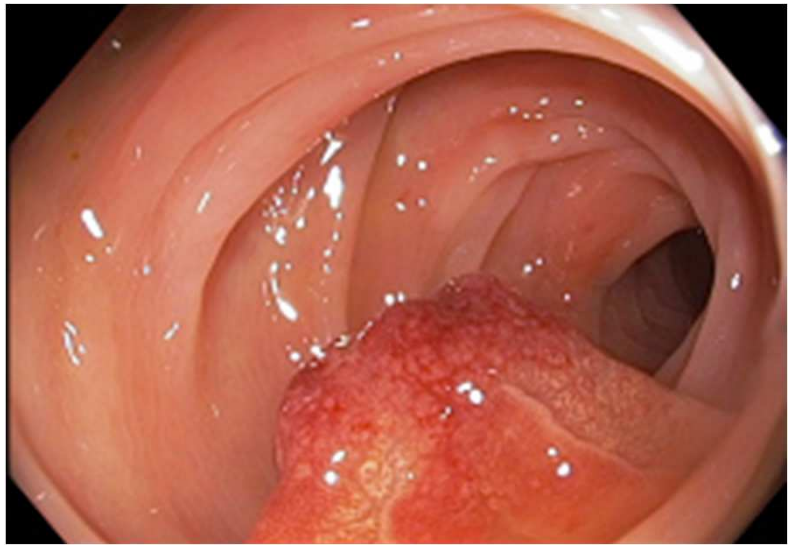
u orot ques et aspects uridiques

- onsid a ons dico l ales
  - le enta on st icte
  - cla a on des collec ons
- onsid a ons t i ues
  - es ect du a ent et des l ve ents
  - n o a on clai e
  - onsente ent ou non o osi on

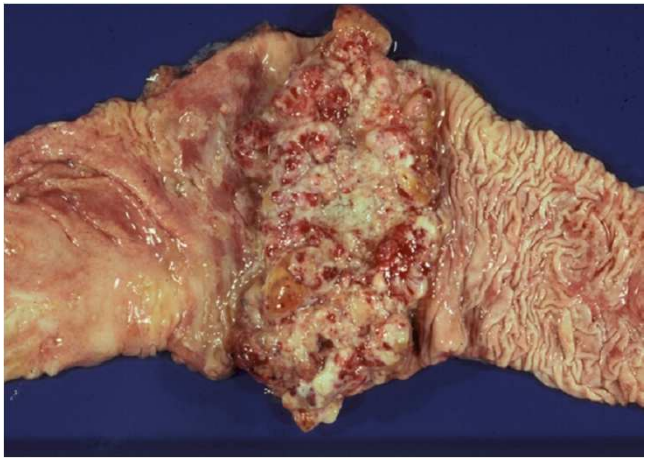
Des e ples

- *ance s se n*
- *ance s nch es*
- ance s colo ectau
- s
- o es
- *an es*
- *es*

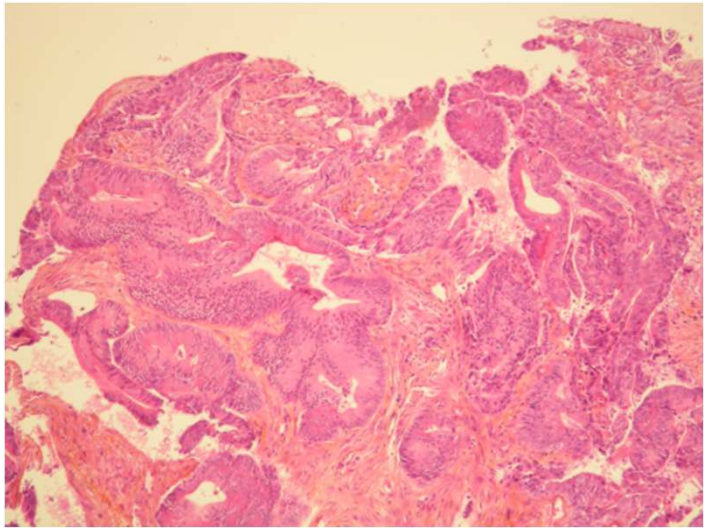
Cancers colo-rectau



endoscopie



macroscopie



microscopie

ise en vidence du rôle des uta ons de RAS dans la r ponse au traite ent

***KRAS* Mutation Status Is Predictive of Response to Cetuximab Therapy in Colorectal Cancer**

Astrid Lièvre,[1,3] Jean-Baptiste Bachet,[3] Delphine Le Corre,[1] Valérie Boige,[4] Bruno Landi,[2] Jean-François Emile,[3] Jean-François Côté,[1,2] Gorana Tomasic,[4] Christophe Penna,[3] Michel Ducreux,[4] Philippe Rougier,[3] Frédérique Penault-Llorca,[5] and Pierre Laurent-Puig[1,2]

[1]Université Paris-Descartes, Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale UMR-775; [2]Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France; [3]Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne Billancourt, France, Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines, Versailles, France; [4]Institut Gustave Roussy, Villejuif, France; and [5]Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand, France, Université Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Cancer Res 2006; 66: (8). April 15, 2006

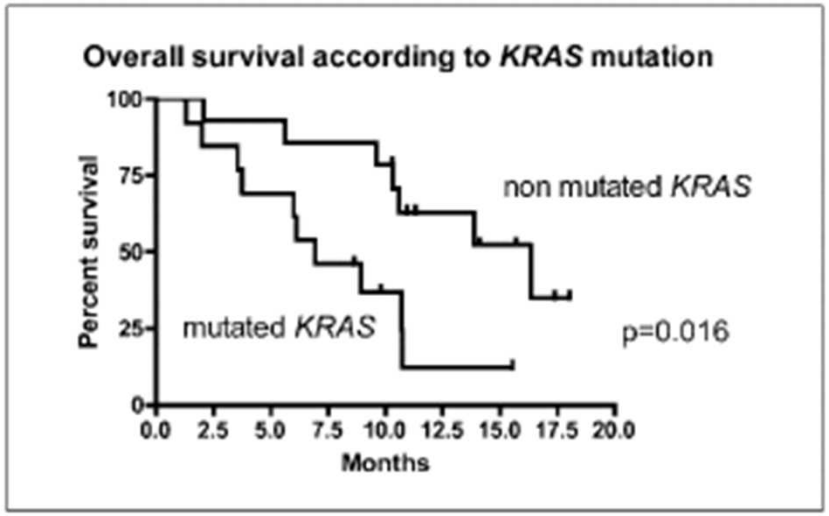


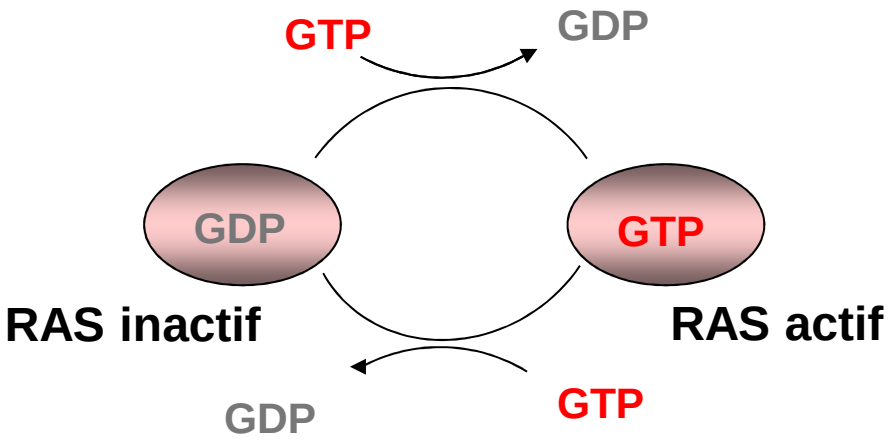
Figure 2. Overall survival curves of patients with a *KRAS*-mutated and nonmutated tumor.

- 30 patients (MCC) traités par cetuximab
- 43% mutations de KRAS (exon 2, codons 12/13)
- Aucune réponse au cétuximab dans le groupe KRAS muté

Ci lage de la voie de l

Bos, Cancer Res 1989

GEF = facteurs d'échange du GTP



GAP = protéines activatrices des GTPases

KRAS:

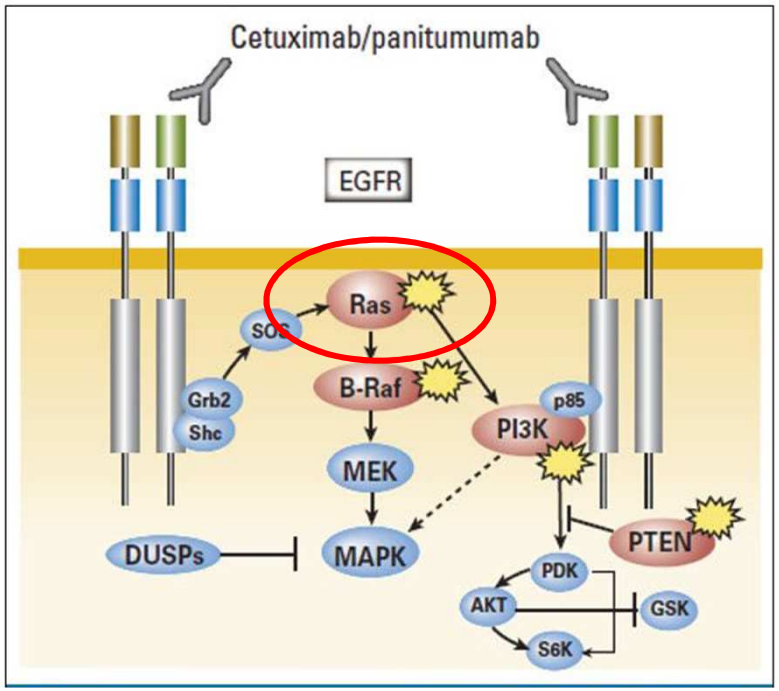
- 6 exons, 21 kDa, chr
- petite protéine G (GTPase), second messager dans la voie de l'EGF

-KRAS muté

= oncogène / KRAS ACTIF

= altération fréquente (40%) et précoce dans la carcinogenèse colique

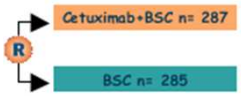
= marqueur de résistance au traitement / ATC bloquant EGFR



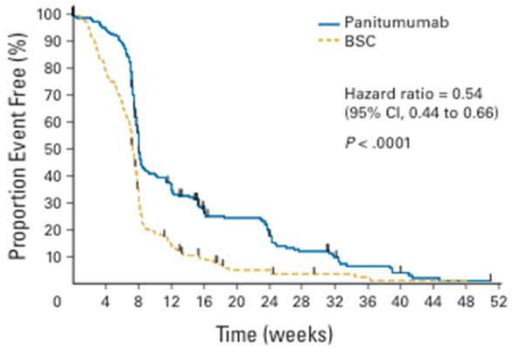
et des an corps an -R cetu i a panitu u a

Amado J Clin Oncol 2008

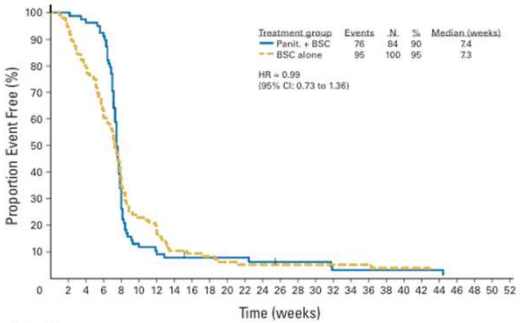
Bénéfice En survie Globale



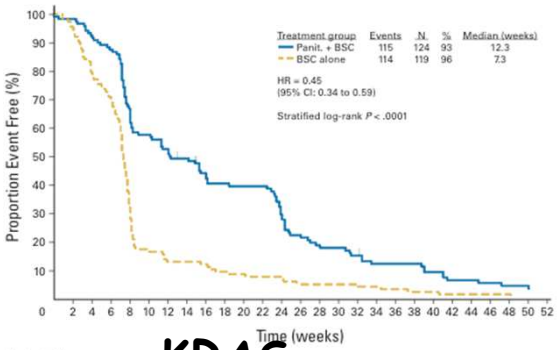
Karapetis N Eng J Med 2008



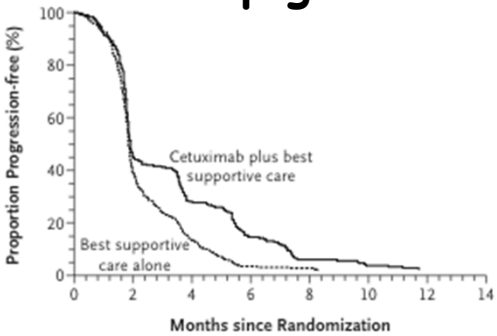
Pop globale

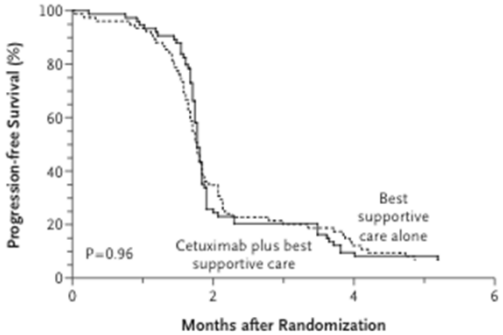


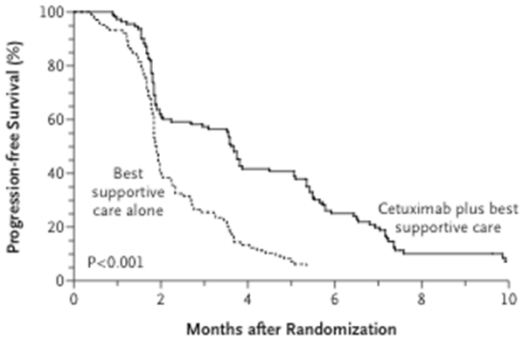
KRAS muté



KRAS sauvage







Prescription possible en combinaison en 1ère et 2 ème ligne de chimiothérapie ou en monothérapie en 3 ème ligne de chimiothérapie

rganisa on

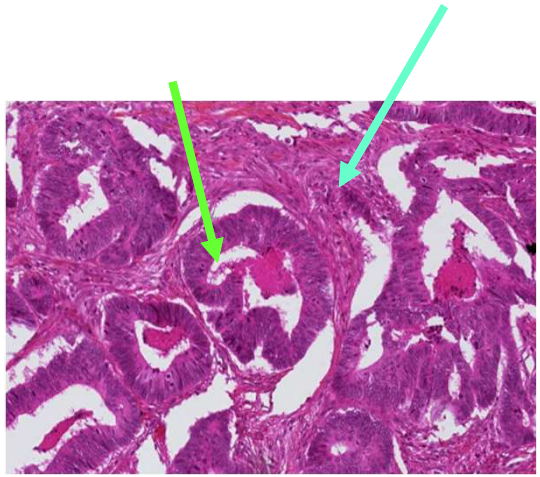
1. Coupes matériel fixé (4 à 6 coupes 10-15µm)
   Expertise pathologique (sélection du bloc,
   % cell tumorales)

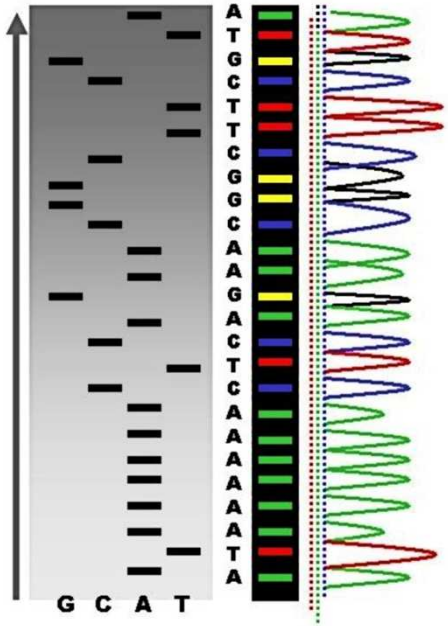
2. Extraction ADN, quantification

3. Amplification spécifique / Purification

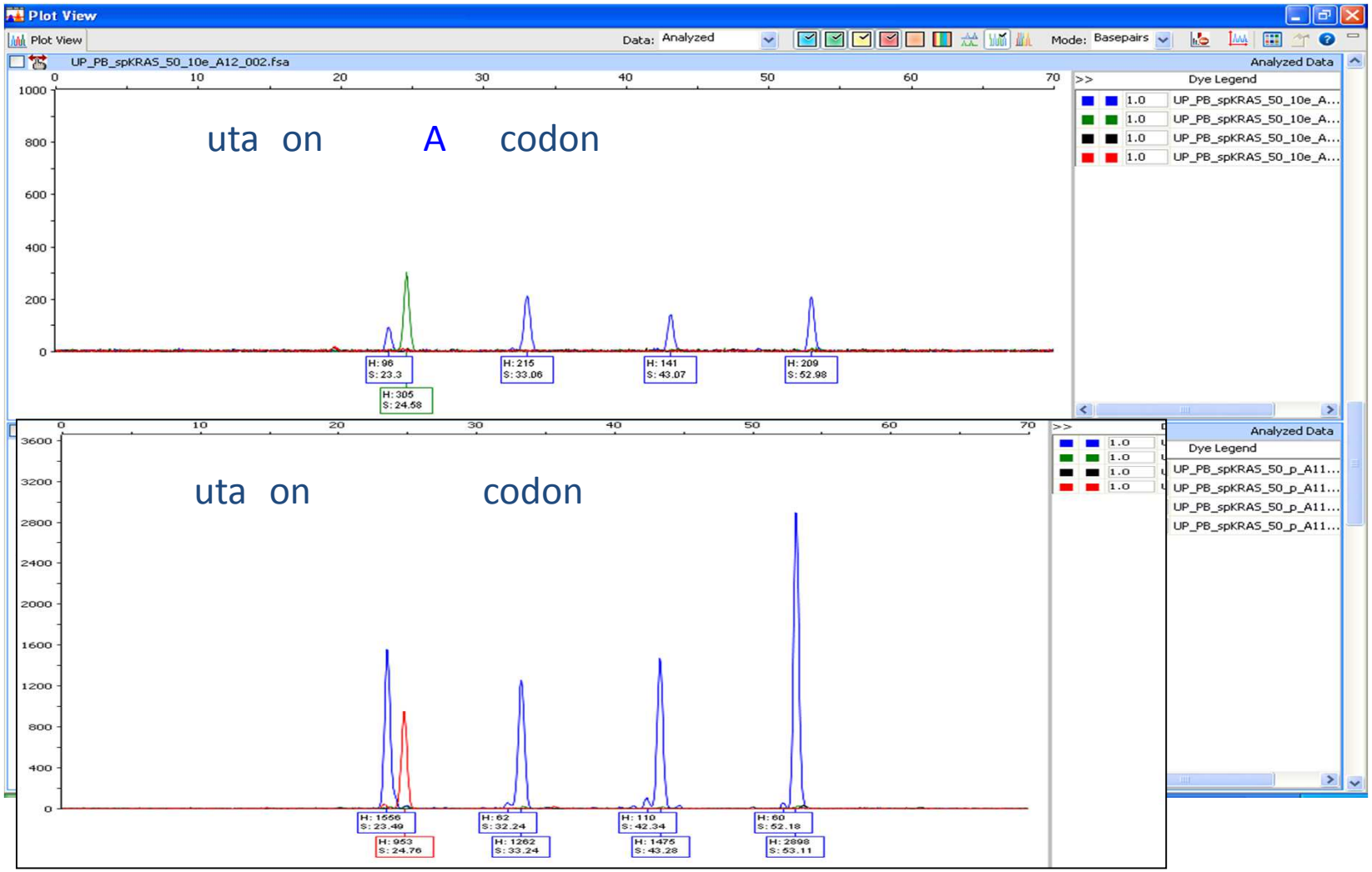
4. Identification de l'altération génique
   (*Réaction de séquençage ou discrimination allélique ou analyse de fragments…..)*

5. Séquençage capillaire (détection des pics de fluorescence des ddNTP)



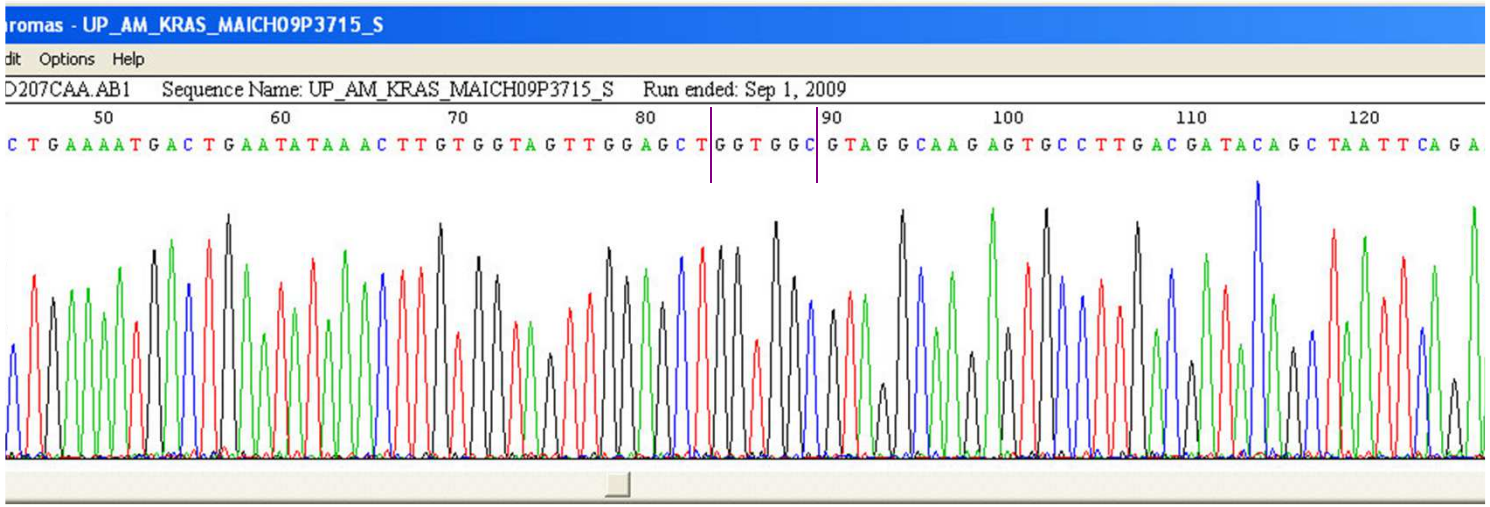


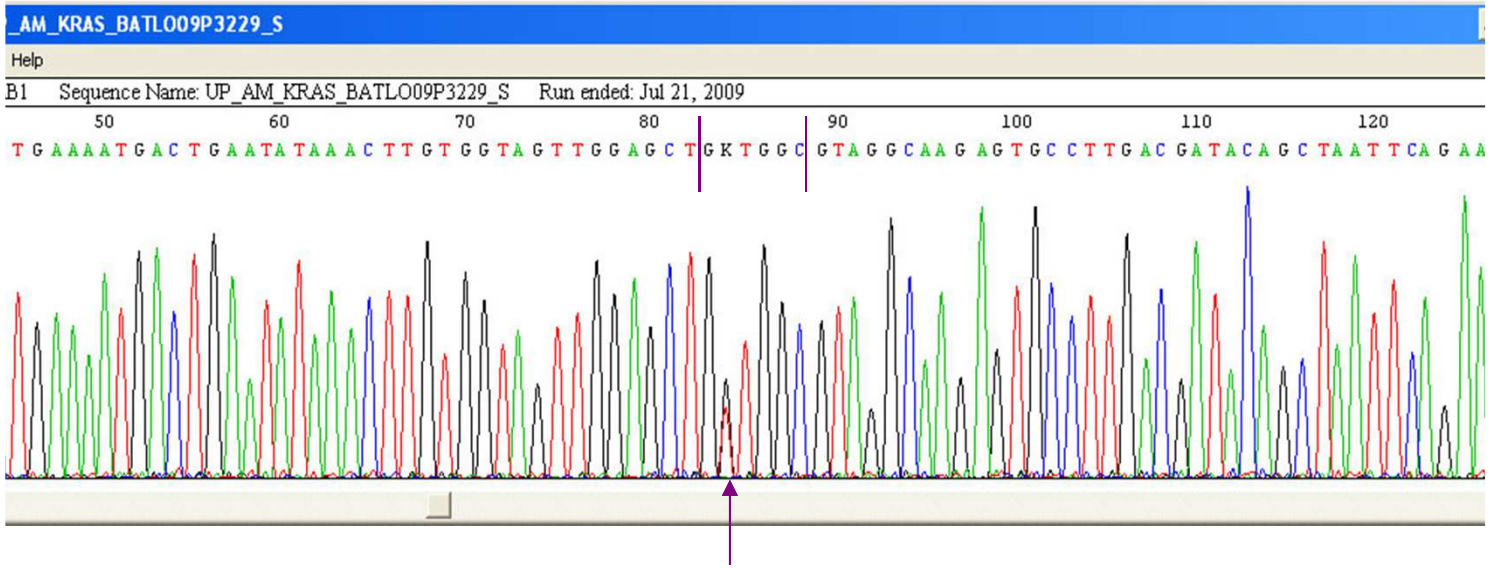
RAS e e ple anal se S aPS ot



uta ons de RAS

Codons 12 & 13





Principales uta ons cancers colo-rectau

codon	12	13
1/ wt	GGT	GGC
	34 35	*37 38*
	Gly G	Gly G
2/ Muté	G12S c.34G>A, p.Gly12Ser **[AGT]** G12R c.34G>C, p.Gly12Arg **[CGT]** G12C c.34G>T, p.Gly12Cys **[TGT]** G12A c.35G>C, p.Gly12Ala **[GCT]** G12D c.35G>A, p.Gly12Asp **[GAT]** G12V c.35G>T, p.Gly12Val **[GTT]**	G13C c.37G>T, p.Gly13Cys **[TGC]** G13R c.37G>C, p.Gly13Asg **CGC]** G13D c.38G>A, p.Gly13Asp **GAC]**

ais aussi codon et codon dic ves

rincipa es uta ons du ne trou es en c inique et a id es a

Mutations conférant une résistance au panitinumab et au cétuximab *(doivent être recherchées)*

- Codon 12: **p.G12D**, p.G12A, **p.G12V**, p.G12S, **p.G12C**, G12R
- Codon 13 : **p.G13D**, G13C, G13R

Indications actuelle pour les recherches de mutations des codons 61 *(exon 3)* & 117, 146 *(exon 4)*

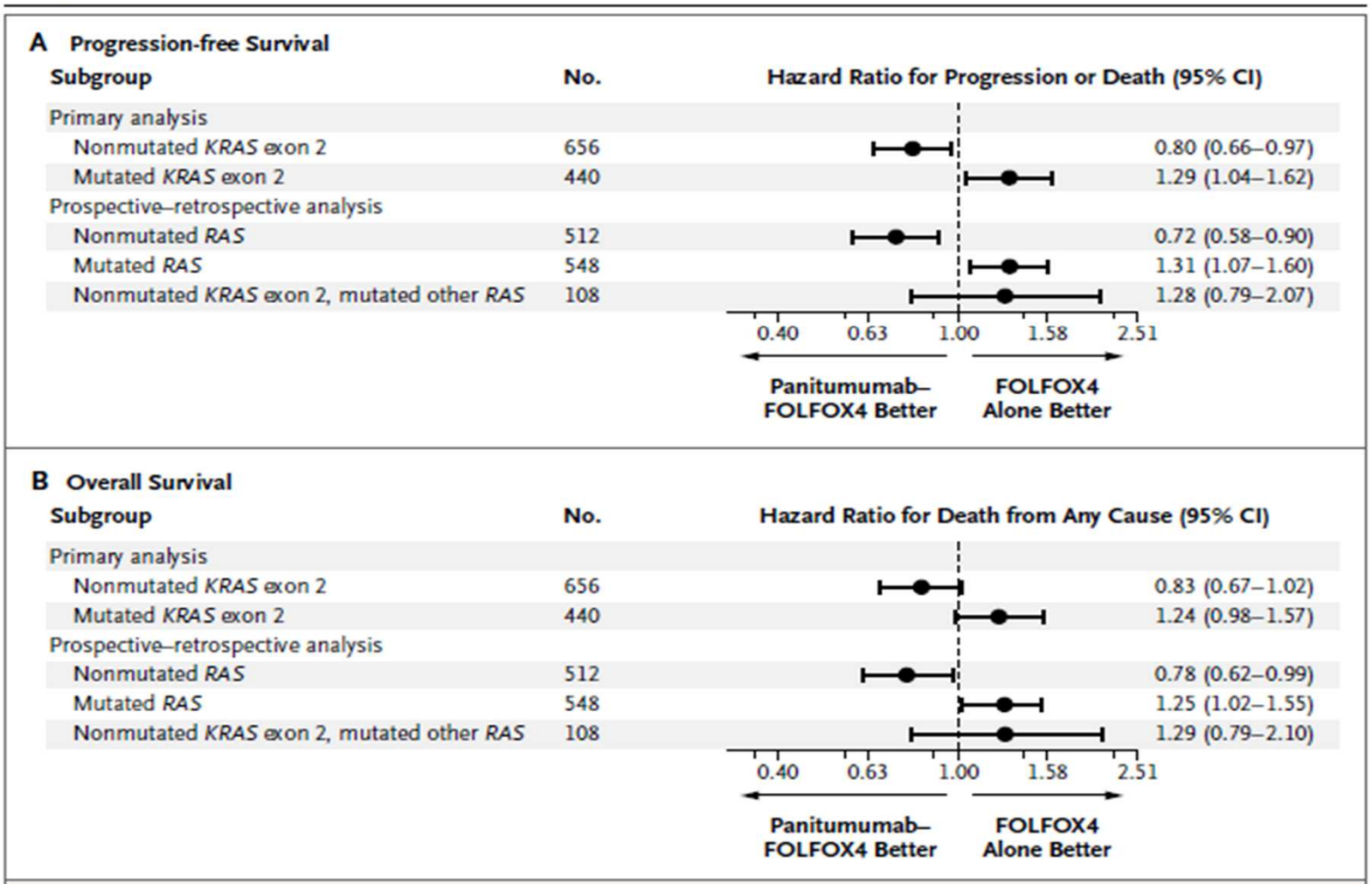
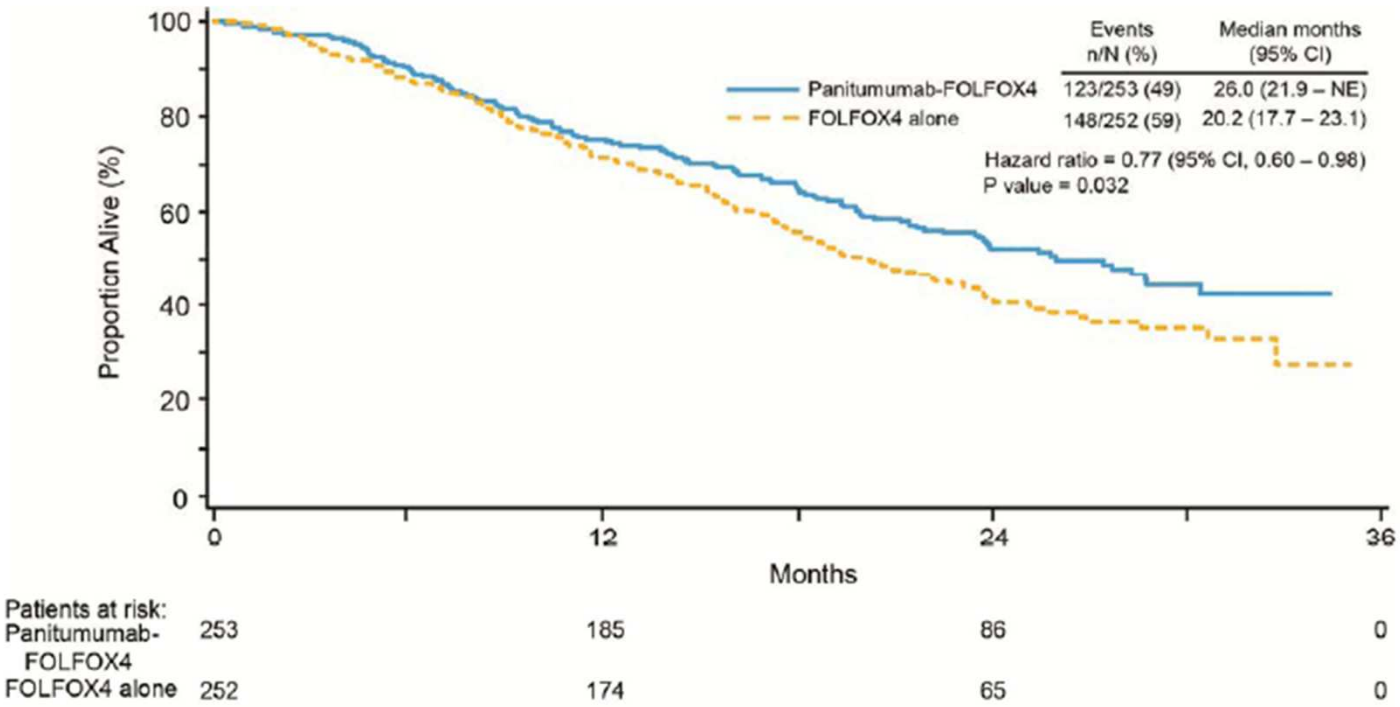


Figure 1. Hazard Ratio for Disease Progression or Death and Hazard Ratio for Death from Any Cause, According to *KRAS* and *RAS* Mutation Status.

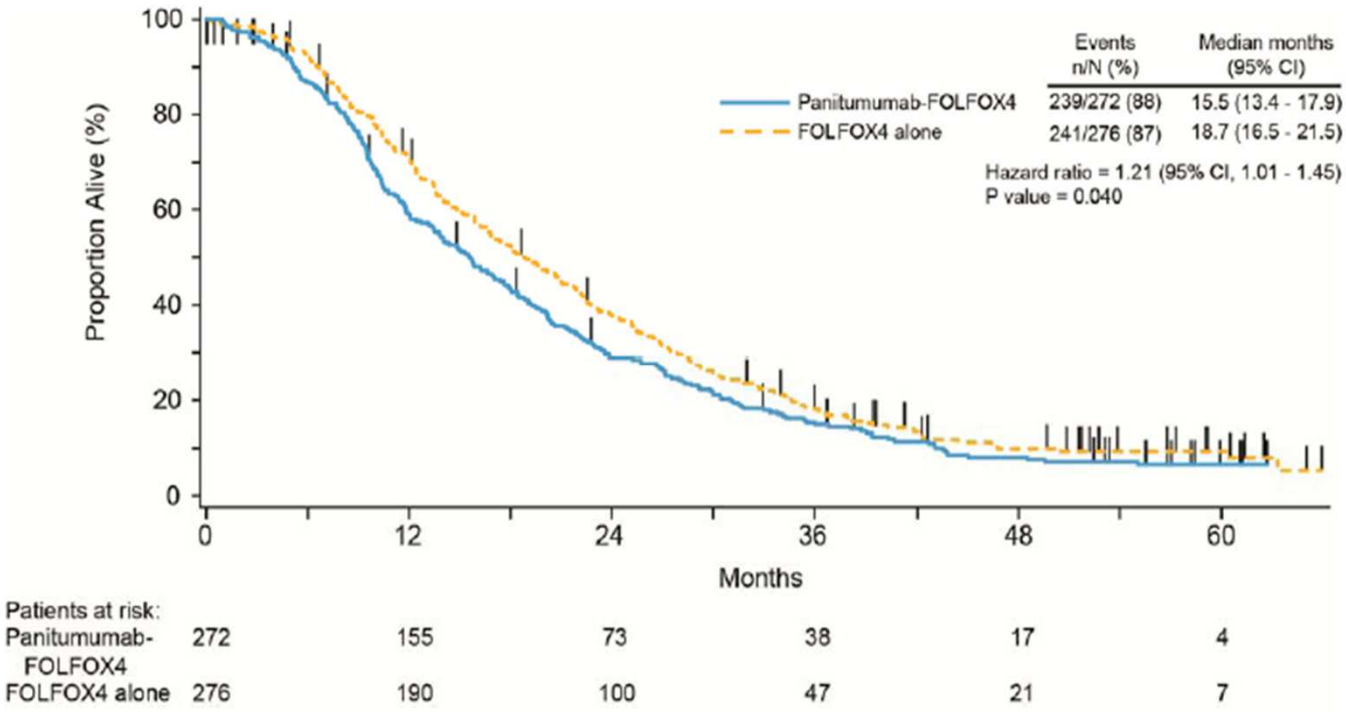
Douillard et al, 2013

ur ie o a e pa ents a ant un cancer co ique sans uta on de



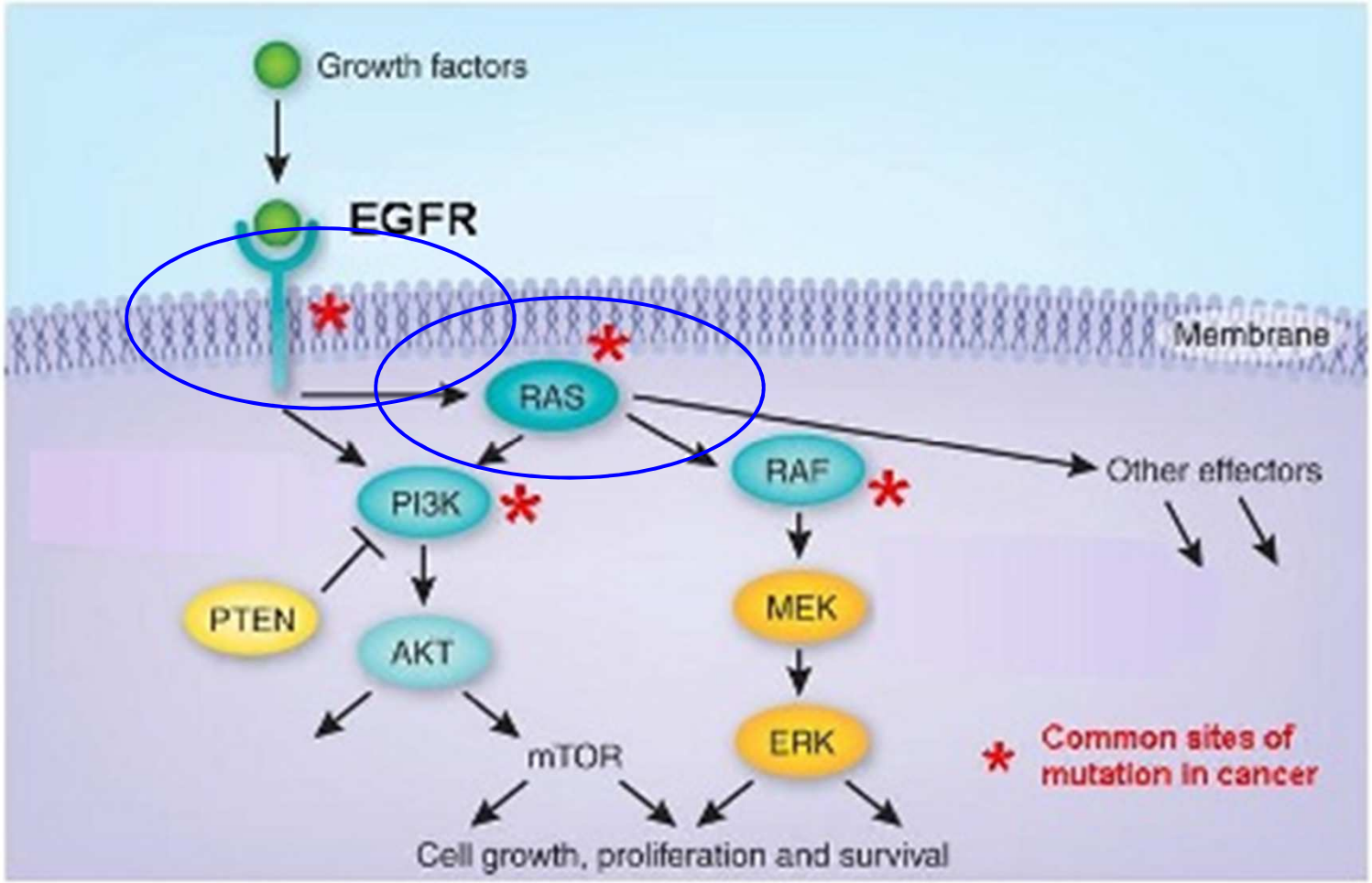
Douillard et al, 2013

ur ie o a e pa ents a ant un cancer co ique a ec uta on de

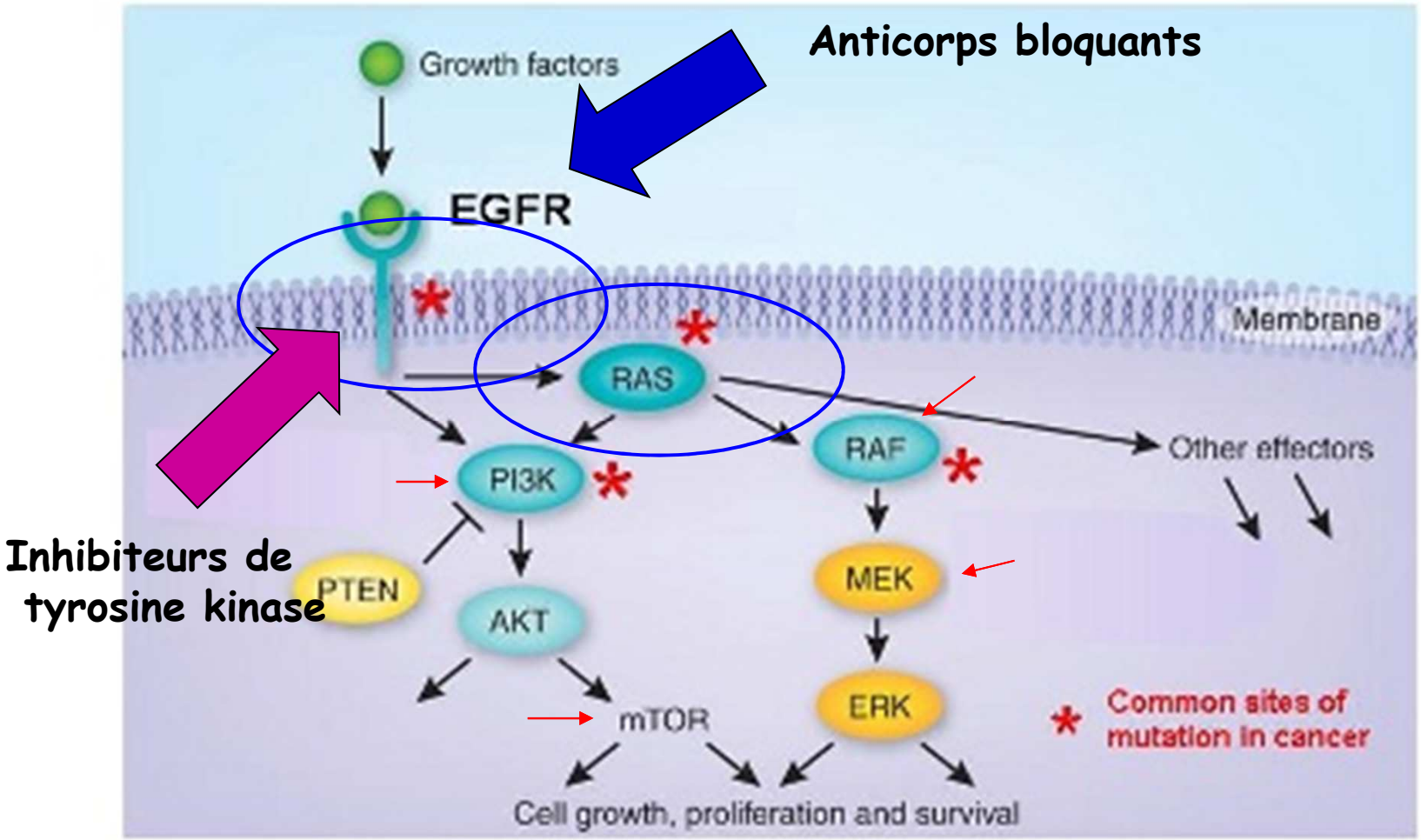


Douillard et al, 2013

oies de si nalisa ons de l



oies de si nalisa ons de l

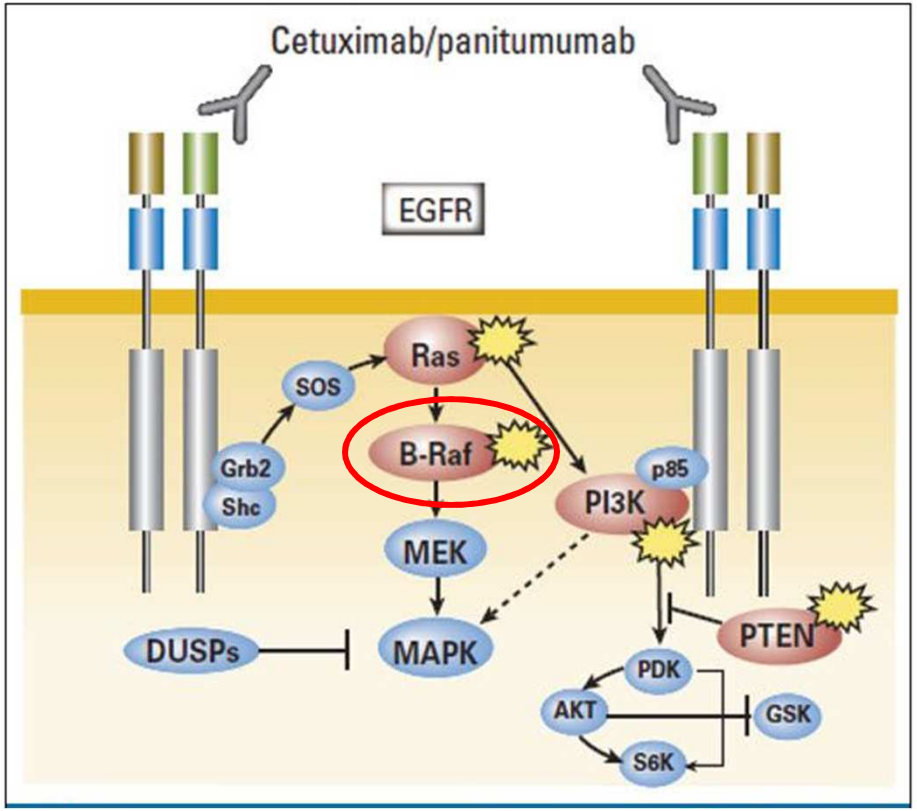


BRAF:

-sérine/thréonine kinase, activée par KRAS, activant la voie MAPK

- mutation activatrice **V600E** (Bamford, BrJ Cancer 2004)

- 5-10% des patients atteints de cancer colorectal , mutuellement exclusif avec les mutation de KRAS (Rajagopalan, Nature 2002)



marqueur pronostique:

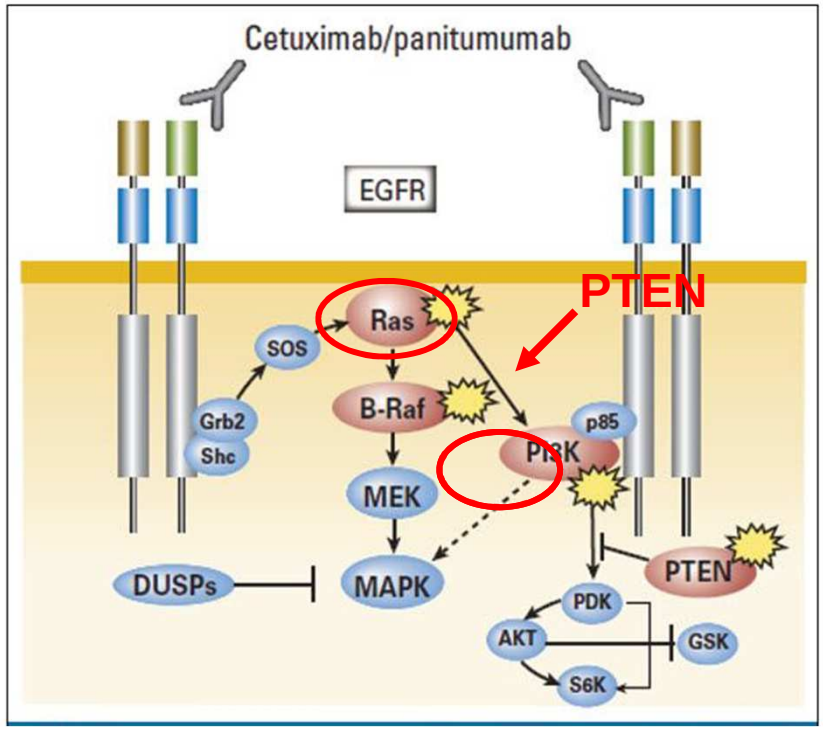
tumeurs V600E sont de plus mauvais pronostic (Tol, 2010, Douillard 2013)

PI3K, PTEN

PIK3CA, classe IA

- Kinase: mutations de la sous unité catalytique p110α: 10-20%

-3 positions préférentiellement mutées : *542 et 545* dans domaine d'interaction avec p85 (exon 9), *1047* dans le domaine kinase (exon, 20)



PTEN

- Phosphatase

- 30% : altérations multiples conduisant à la perte ou l'inactivation de la protéine (mutation, perte du gène, hyperméthylation)

Intérêt dans la prédiction de la réponse aux anticorps anti-EGFR ? en évaluation

onclusions e s ec ves

e s les e s l e

e se e e s

l

s

- se e e s e e s l se
- es e s e se e se
  - s e s s
  - l l
  - s es es l e s l se

S

(Gastro-intestinal stromal tumors)

S

e s ne senc a e se ac s es

Tumeurs rares (<1 % de l'ensemble des tumeurs digestives

50-70% estomac,20-30% intestin grêle)

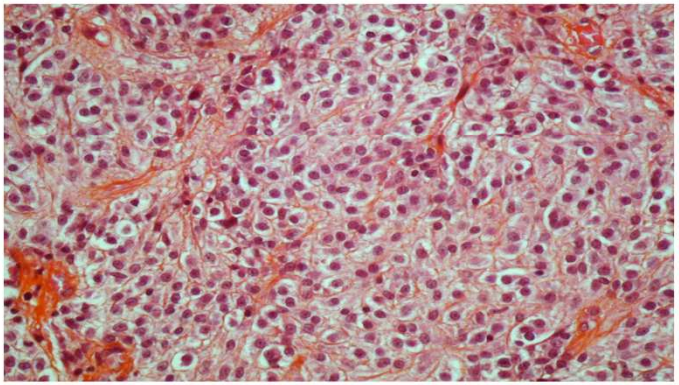
Altérations somatiques : mutations de cKit et PDGFRA

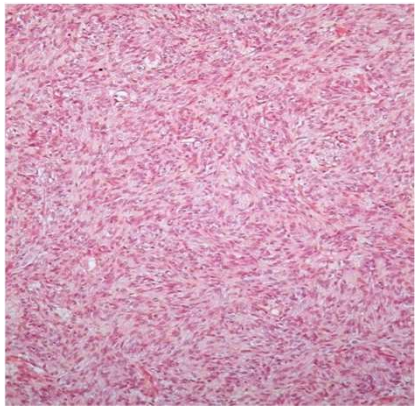
i no i to o ique e

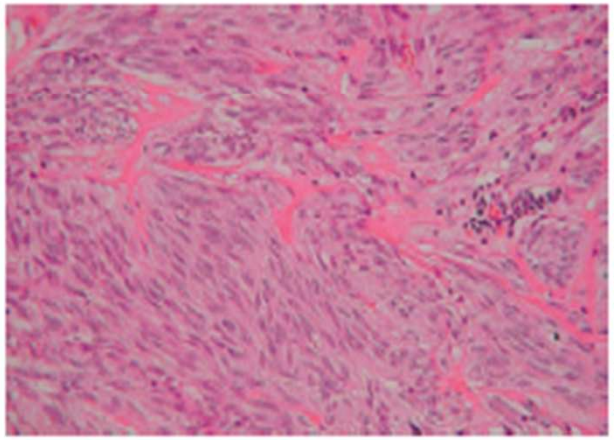
- Aspect histologique variable

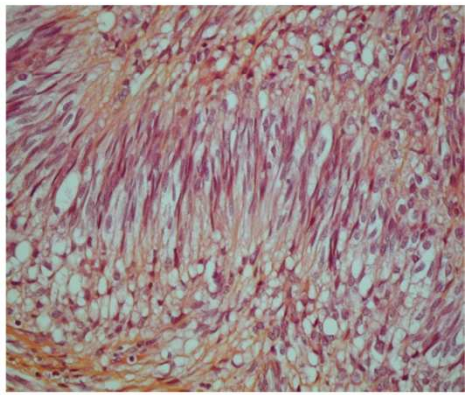
Forme épithélioïde (20%)

Pr J. F. Emile







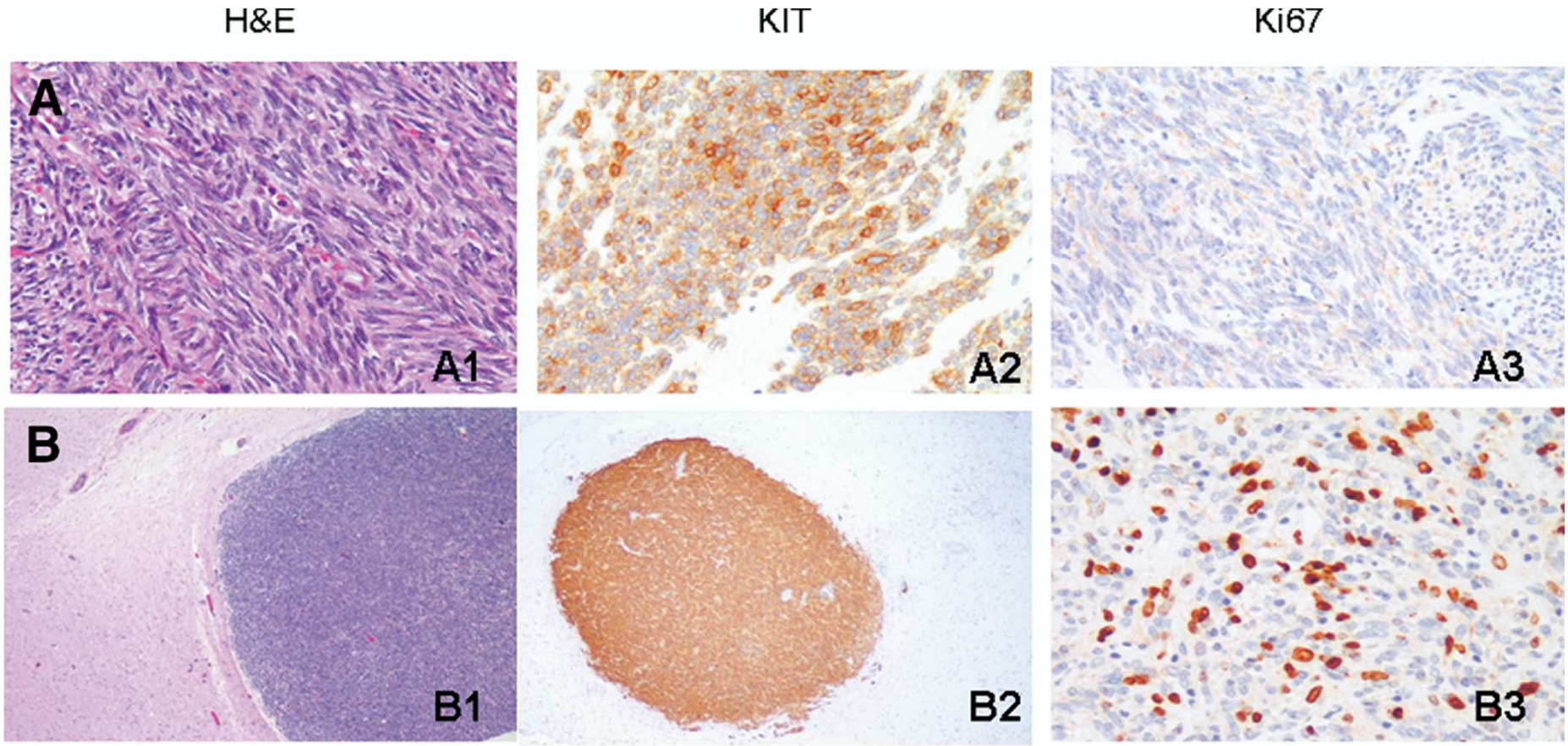


Forme fusiforme (70%)

Photos du Pr JF Emile

i no i to o ique e

Immuno-histochimie nécessaire au diagnostic
Positivité de KIT (CD117) dans 95% des GIST



Antonescu et al, 2008

Les GIST dérivent des cellules interstitielles de Cajal qui jouent un rôle dans le péristaltisme intestinal et exprime KIT à l'état normal

a n c
e s s a es gas es

- Tumeurs rares : 150 à 300 cas par an (55 ans)
- Formes malignes : 30%
- Survie moyenne 18 mois (Chimiorésistance 90%)
- Mutation du gène c Kit : 80% * (4q12) activation du récepteur
- La protéine c Kit (CD117): RTK : rôle crucial dans la prolifération et survie cellulaire (Ras/raf/MAP kinases; PI3K/Akt/mTor; src; Janus/stat)
- Glivec® (Imatinib) est un inhibiteur sélectif de la TK récepteur

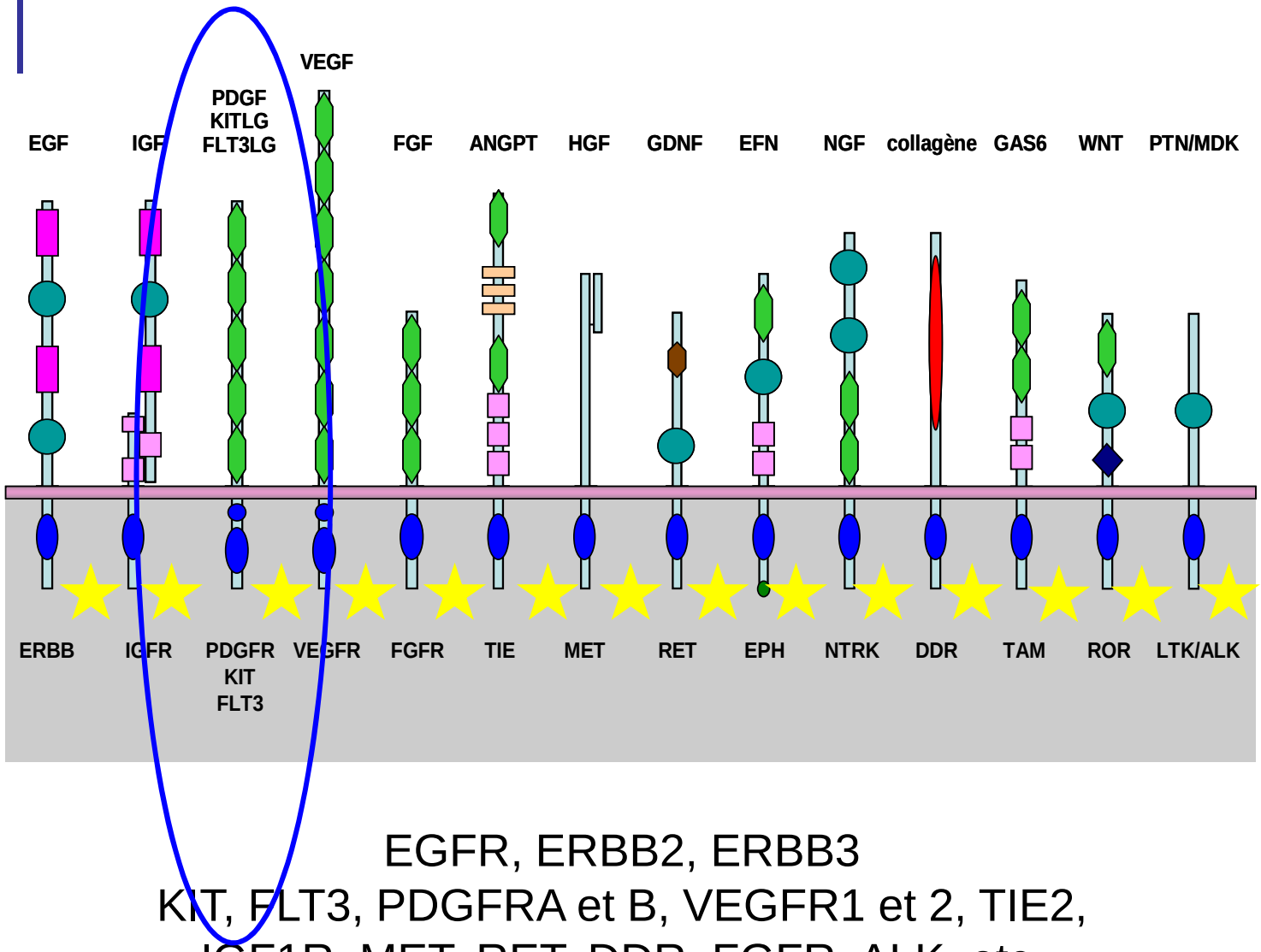
*Hirota et al, 1998

a ns e e ans es

i son s s anai s a a i
s osin s inas s i

on s a ons ossi s ss o a i
in s n a a in

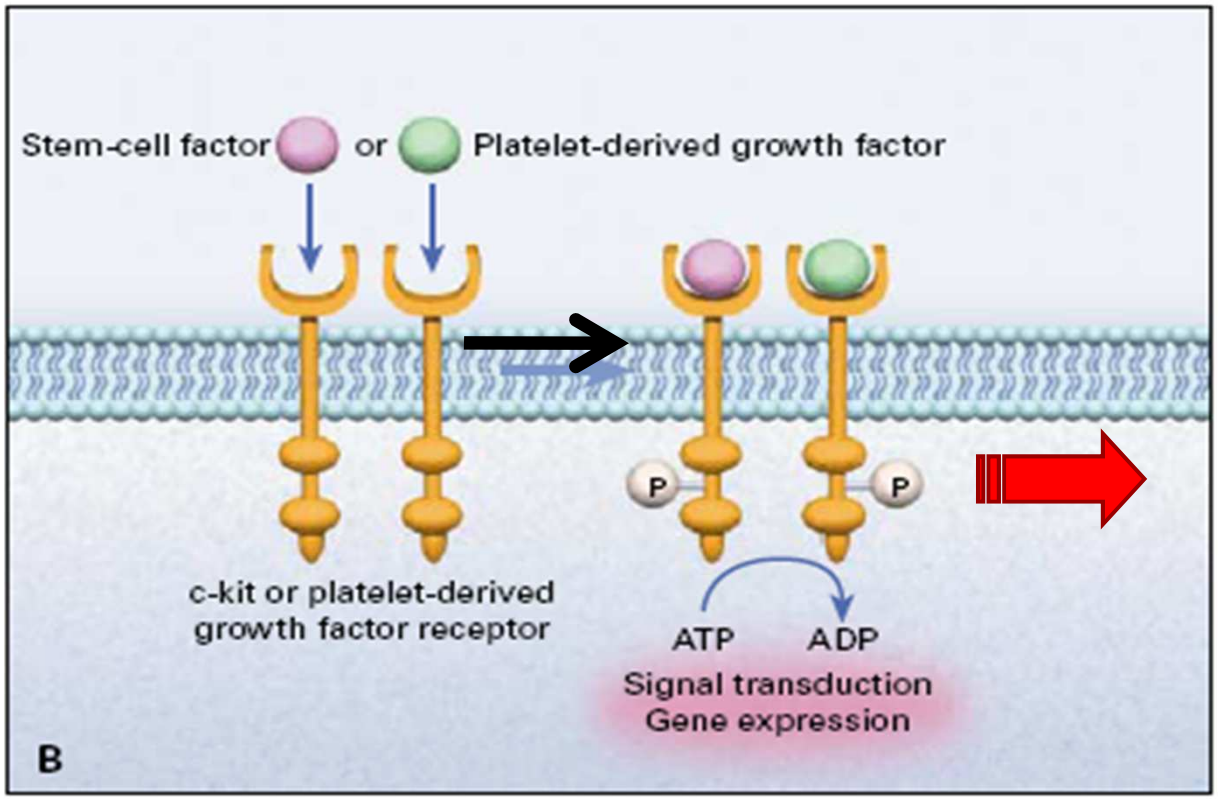
c t u ac t t o n na



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

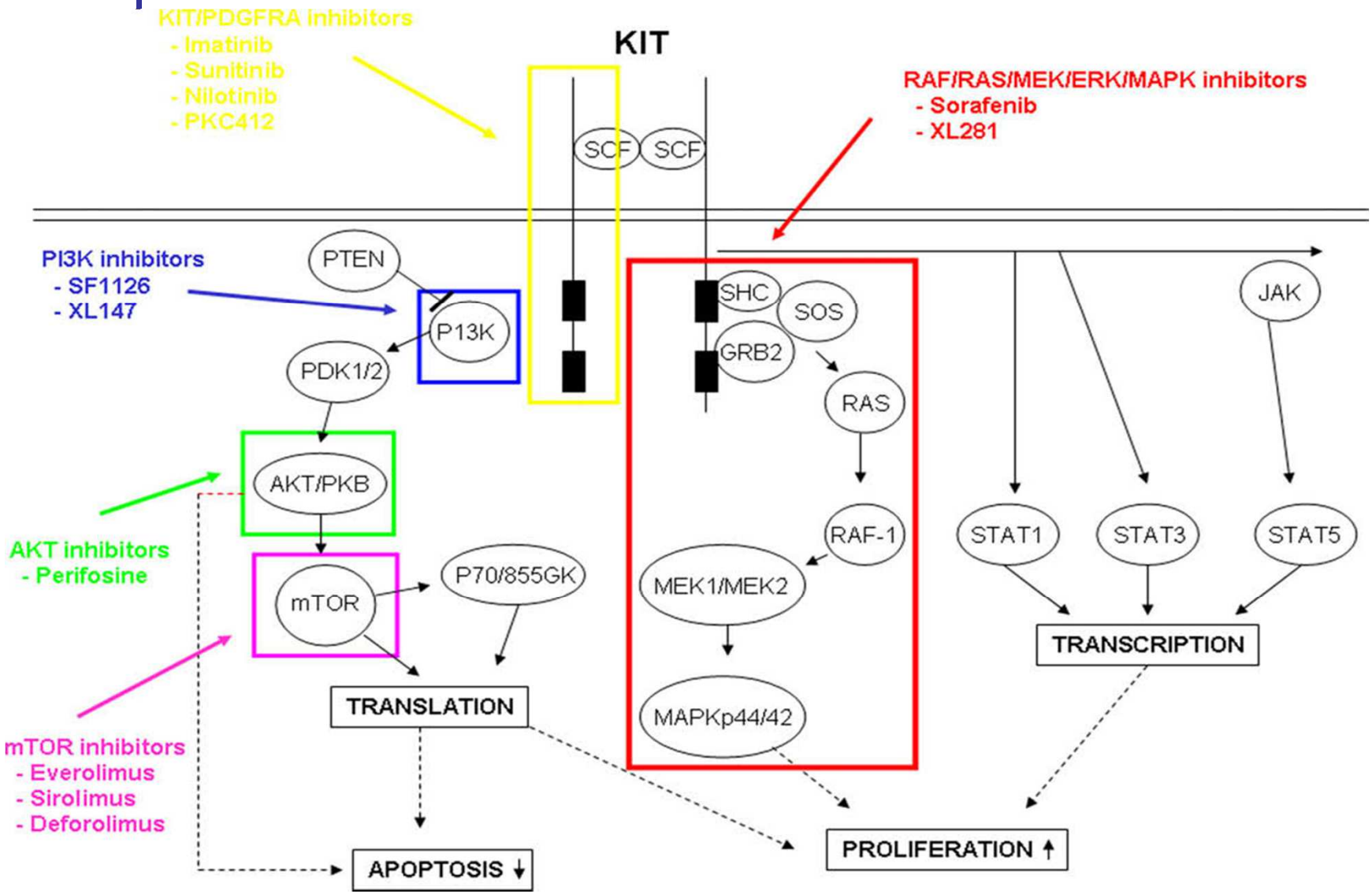
C

Son ligand naturel est le SCF (stem cell factor)



Savage, NEJM 2002

o d na a onc t

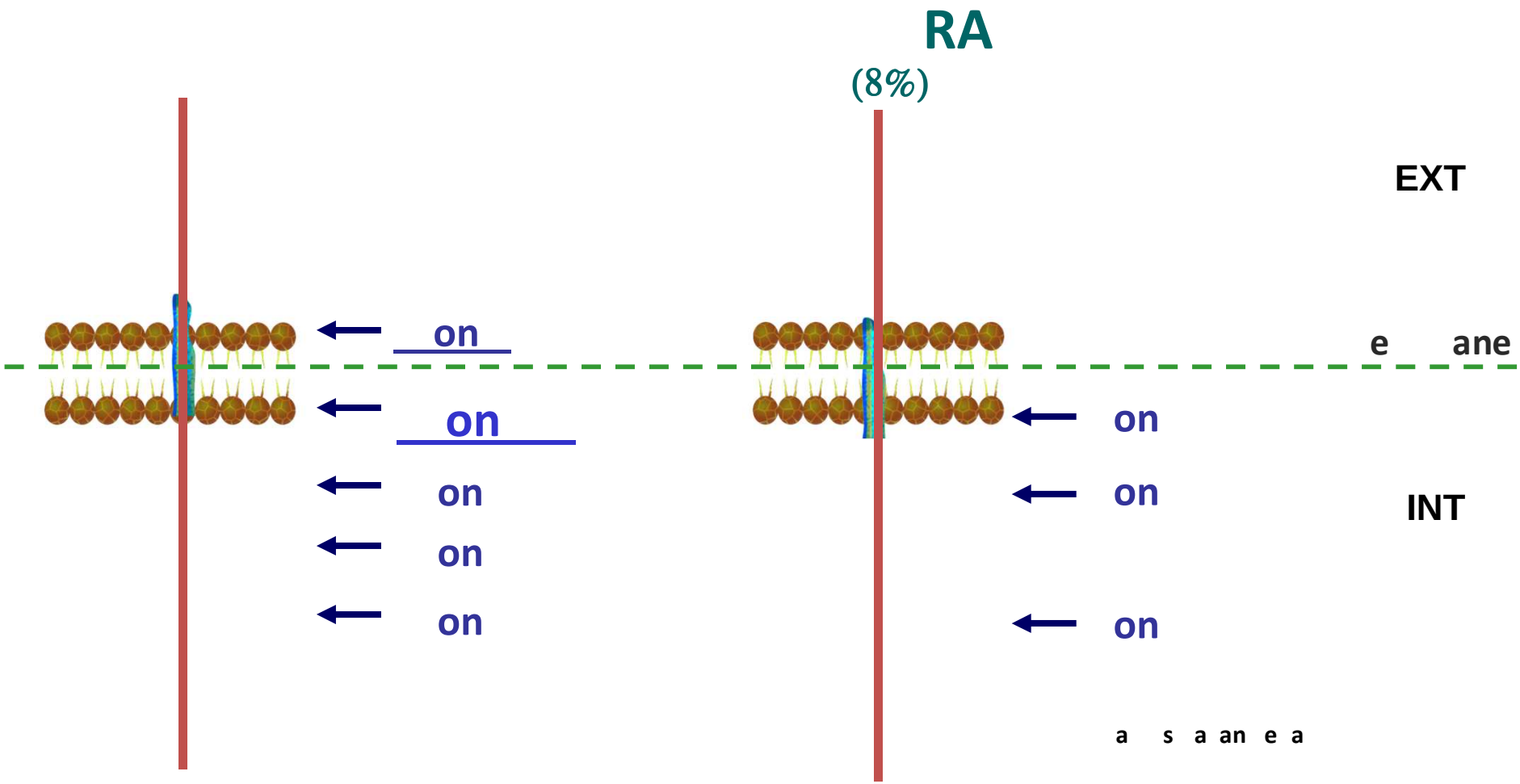


Abbondanza Pantaleo et al, 2010

uta ons de et RA dans es

Italiano et al, 2008

Fréquence mutations 85%



assi ica on o cu aire des s

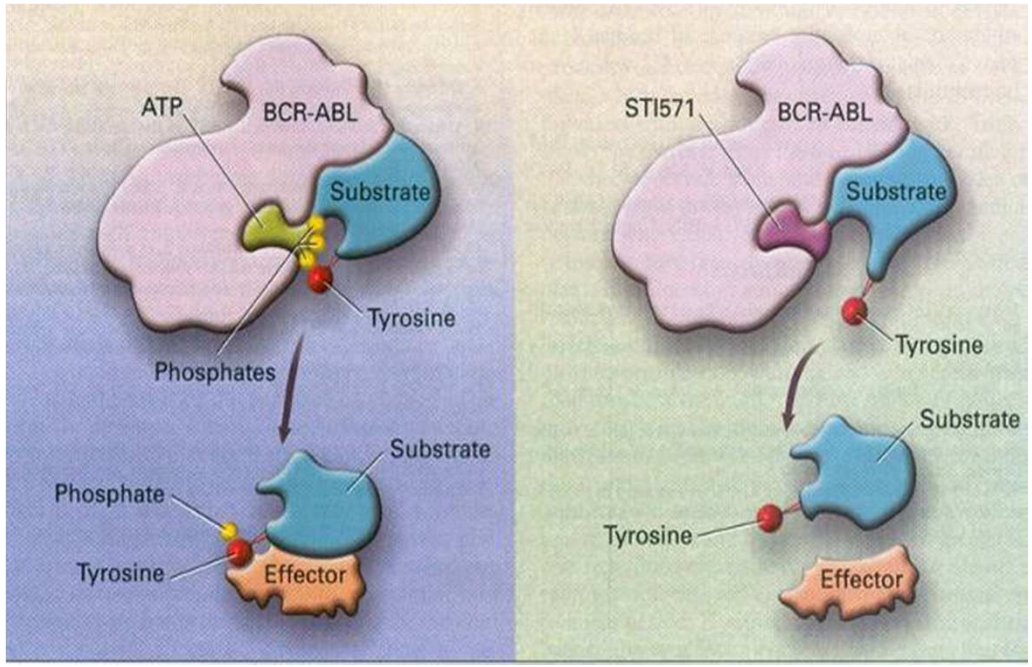
Exon	*Fréquence*	*Exemple mutations*	*Conséquences*
Mutations de KIT (80%)*			
9	10	Dupl/ins	Dimérisation / int Grêle (T agressives)
11	65	Del ou ins ou NS	Dimérisation (T agressives)
13	1	V654A	Domaine kinase
14	1	T670I	Domaine kinase
17	1	D816V	Boucle activatrice
Mutations de PDGFa (8%)*			
12	1	V561D	Domaine juxta mb
14	1	N659K	Domaine kinase
18	5	D842V	Boucle activatrice
Pas de mutations (5-10%)			

a ns e c s es

Italiano et al, 2008

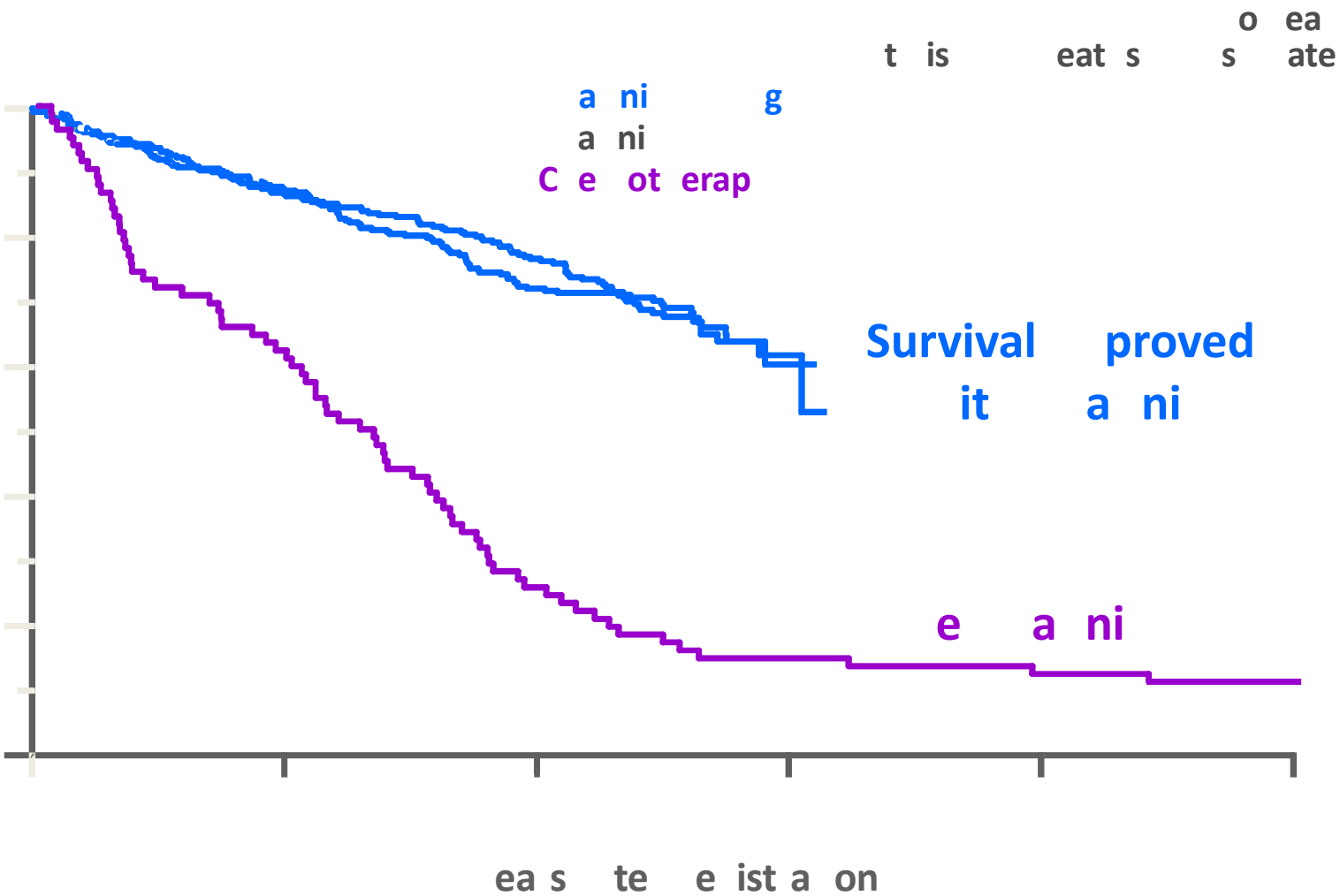
livec i a ni

p en la ino p ri idine
A indin site in i i on co p ve



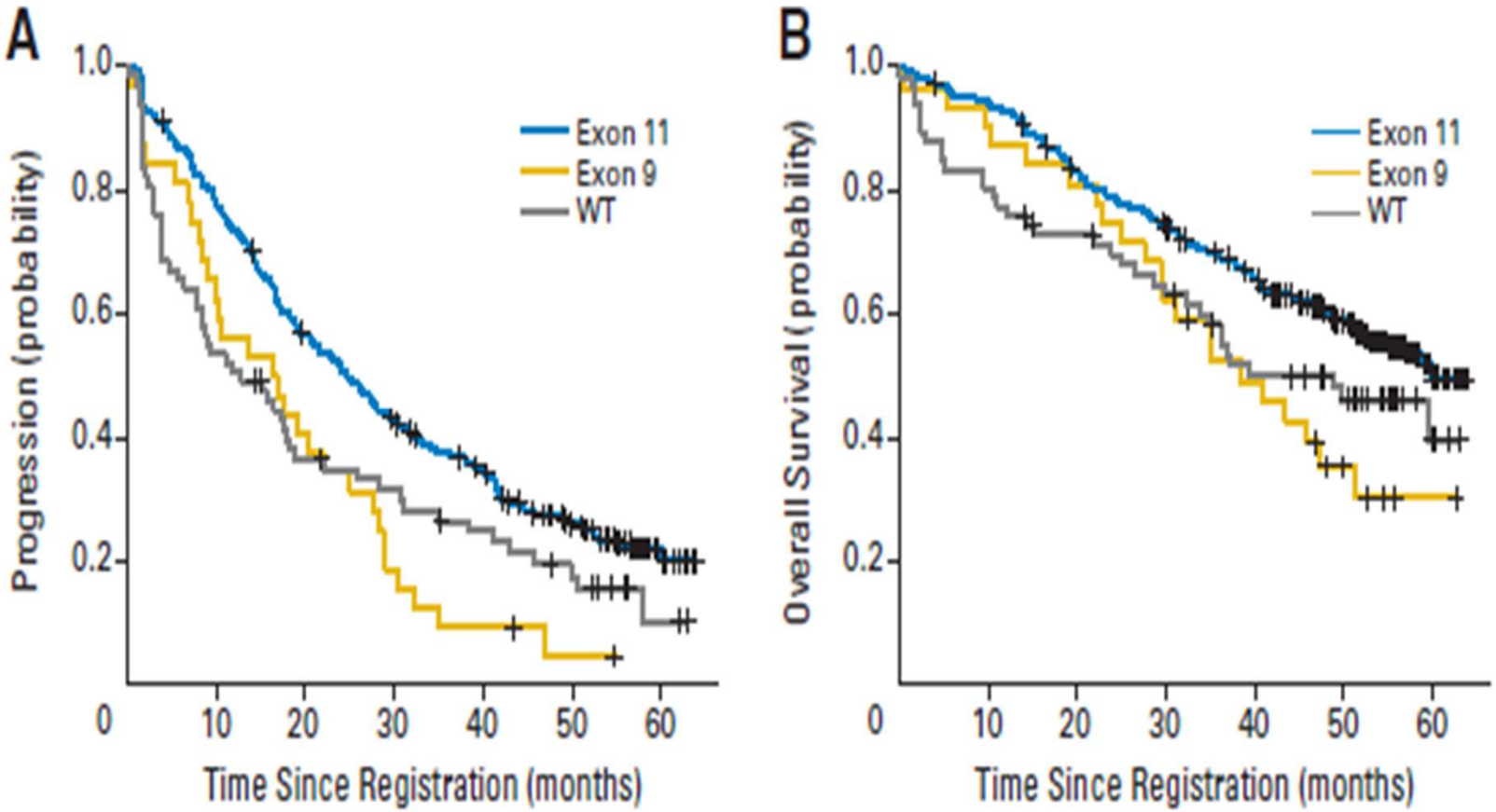
Cibles
abl, bcr-abl
c-kit
PDGF-R
c-Arg/Abl2
M-CSFR

a ni verall Survival in etasta c S



Blay et al, 2006

La r ponse l i a ni d pend du t pe de uta on



La mutation de l'exon 9 ou l'absence de mutation de KIT sont des facteurs prédictifs de mauvaise réponse à l'imatinib

Heinrich JCO 2008

n ice clini ue de l i a ni

Lié au type de mutation : exon 11>sans mutation = PDGFRA > exon 9

Résistance :

Primaire :

10-15% des patients *(mutation exon 9 kit ou mutation exon 18 PDGFRA ou absence de mutation*) *diminution affinité de l'imatinib?*

Secondaire :

après 6 mois de réponse au traitement : mutations secondaires KIT ou PDGFRA, amplification (rare), activation des voies de transduction (Akt), autres?

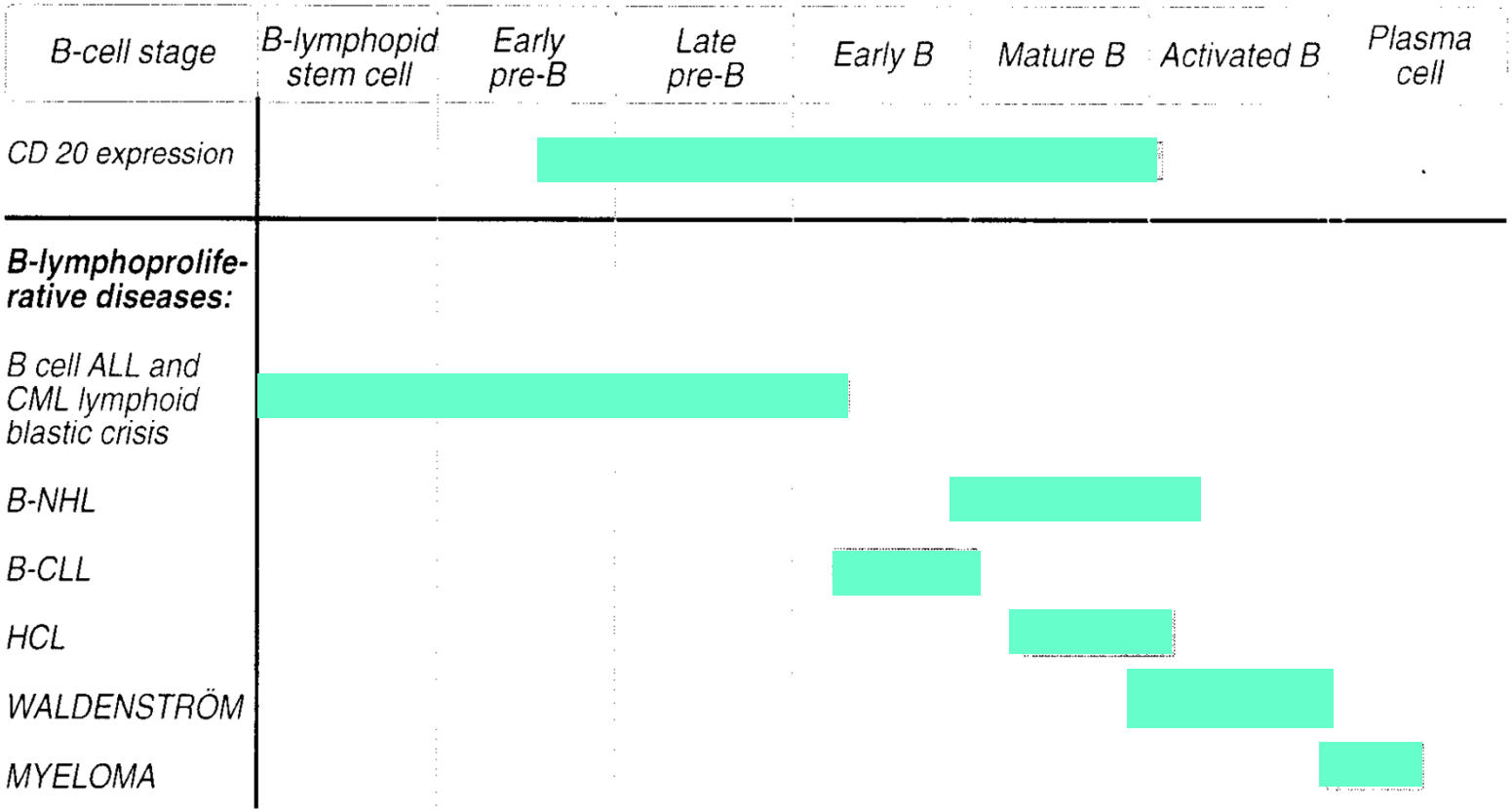
Autres thérapeutiques ?

Place du sunitinib (AMM après échec imatinib en situation métastatique)

Verweij et al, 2004; Benjamin et al, 2007, Gounder et al, 2011)

L p o es

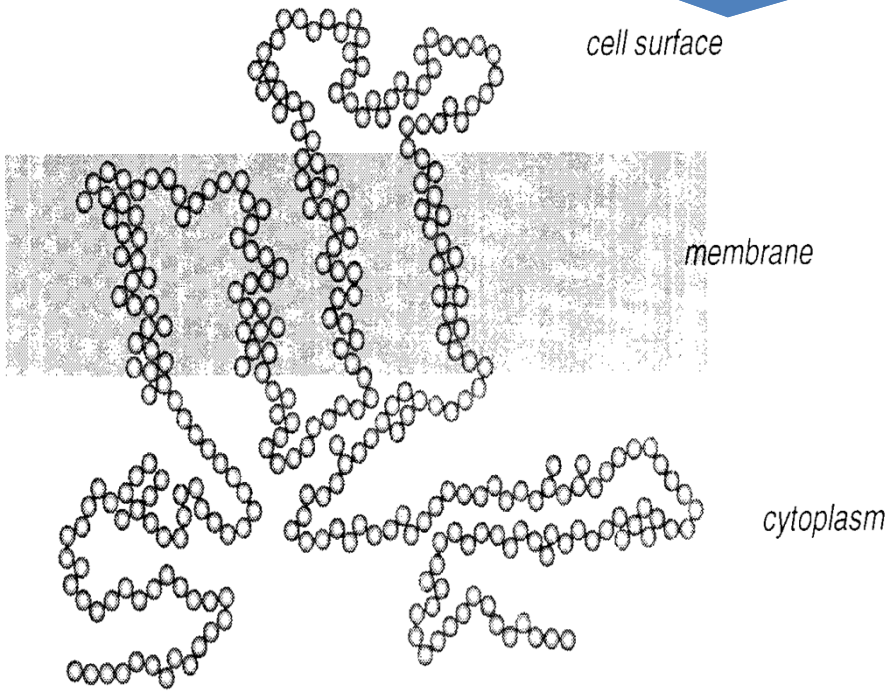
pression de CD dans les l p o es

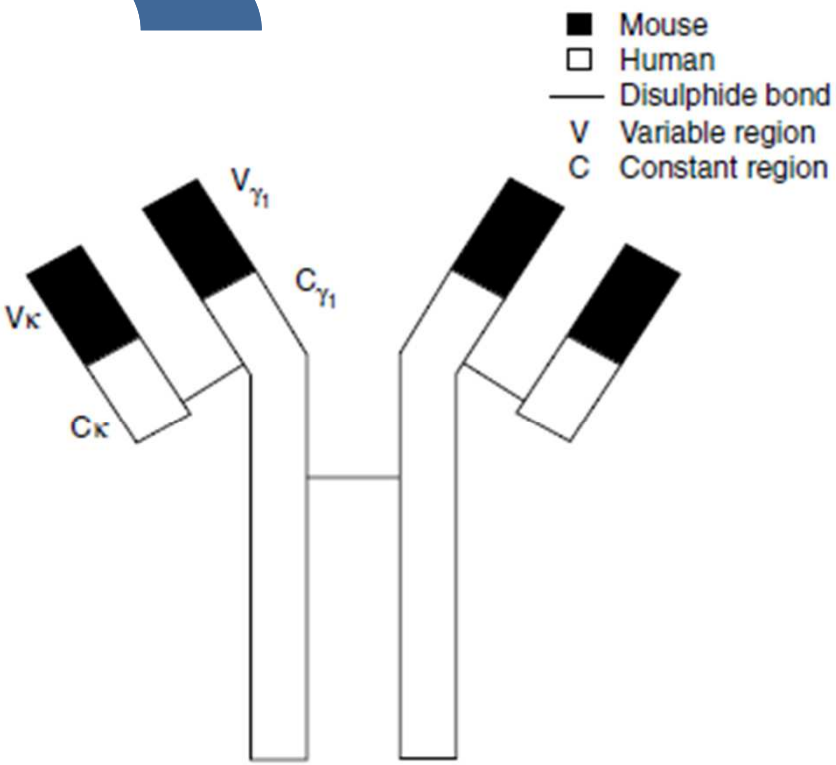


CD20 antigen expression on human normal and neoplastic B-cells.

Sacchi et al, 2001

CD et an corps t rapeu ues an CD





CD 20 protein : a hydrophobic transmembrane protein

Sacchi et al, 2001

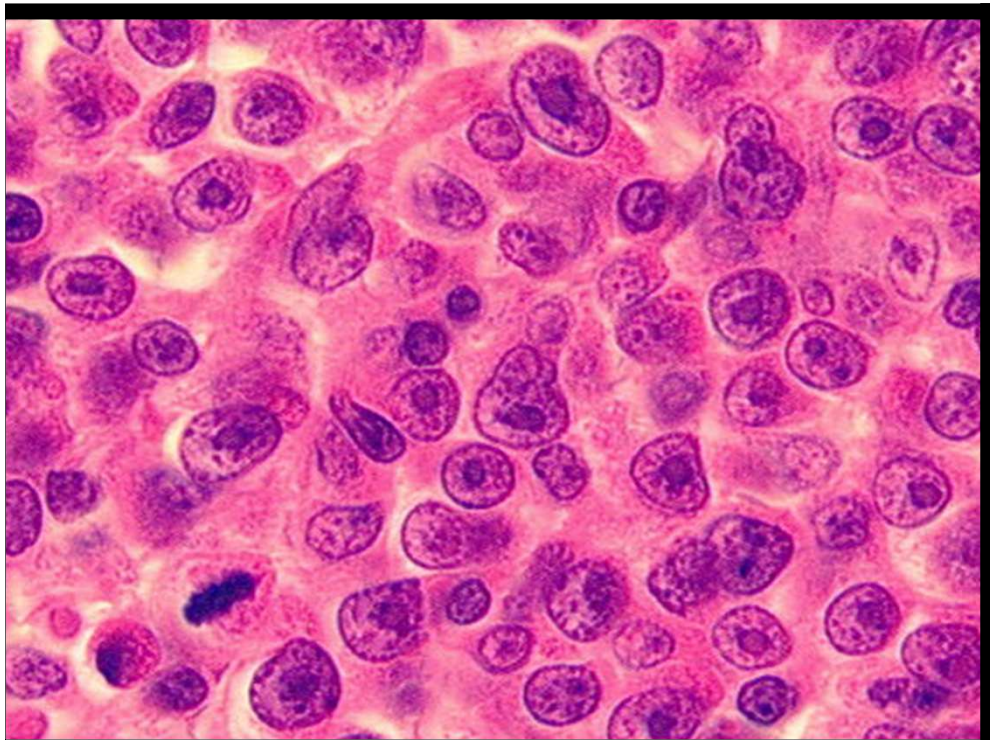
Représentation schématique de l'un des anticorps antiCD20 thérapeutique

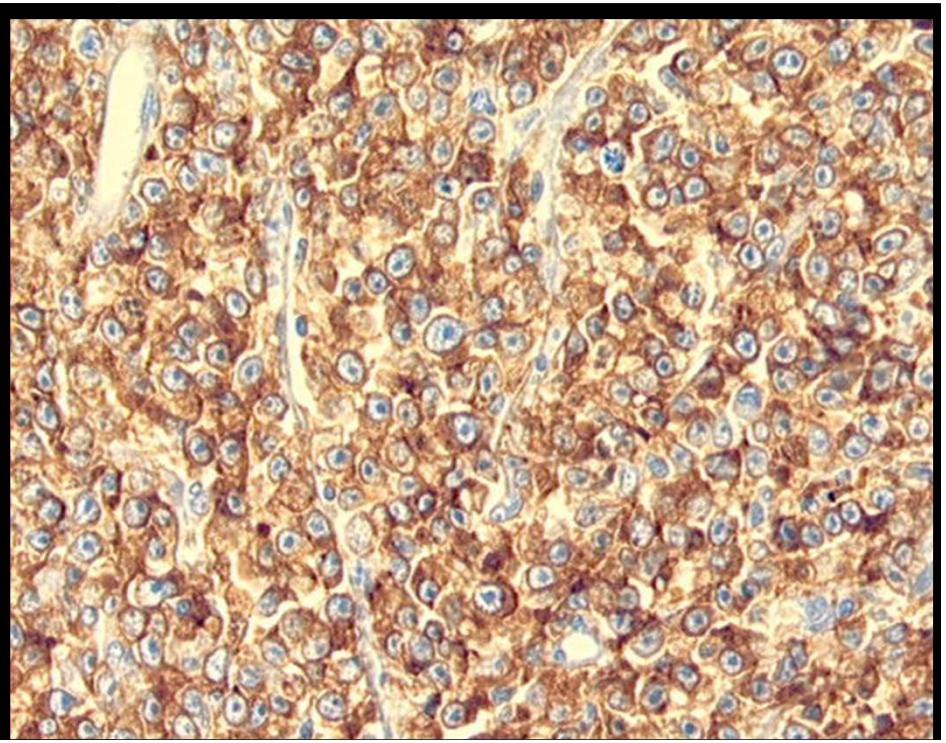
Plasker & Figgit, 2003

e ple des l p o es

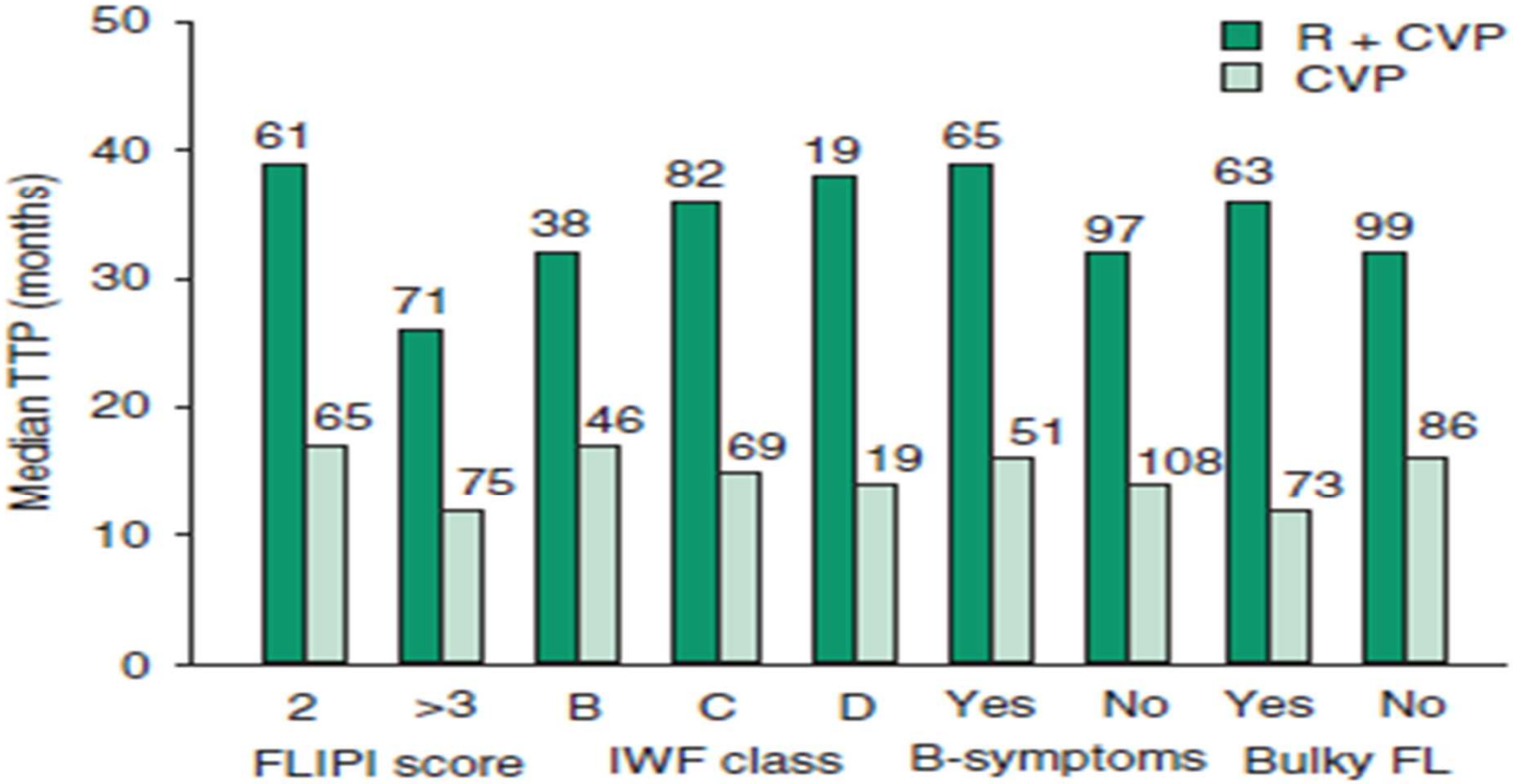
Lymphome à grandes cellules B,
expression de CD 20, cible du traitement par rituximab (antiCD20)…

détection du CD20





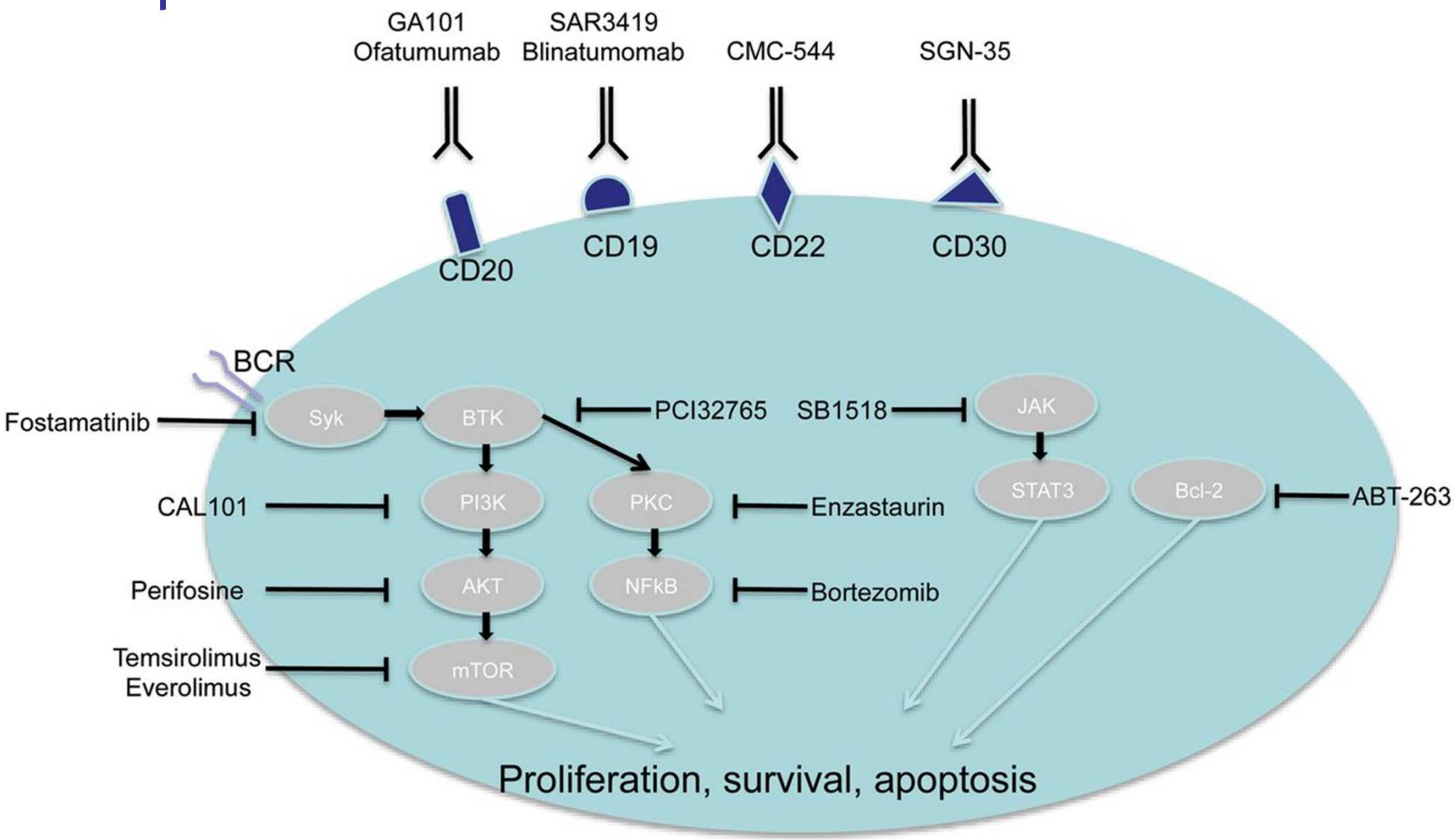
icacit des an CD



Cvetković, Risto S; Perry, Caroline M, 2006

R = rituximab

e e n utre
o u e et i e en e o e ent



Stathis A , Ghielmini M Ann Oncol 2012;23:x92-x98

on u ion

Les thérapeutiques ciblées ➡ médecine personnalisée

- Avancées majeures dans les traitements de certaines tumeurs rares avec pauci-altérations géniques, fréquentes (GIST et tumeurs hématologiques)
- Avancées importantes parmi les tumeurs solides les plus fréquentes (sein, poumon, colon), fréquence variable
- Pas de transposition directe d'un modèle tissulaire à l'autre
- Mais résistance secondaires possibles

http://oncomolpath.aphp.fr/

Favoris/Partage | Rechercher

ASSISTANCE PUBLIQUE HÔPITAUX DE PARIS

Mieux nous connaître | BASE ONCOMOLPATH | Les équipes | Les activités | Aide

Pathologie et Génétique moléculaire des tumeurs : ONCOMOLPATH

Information sur le site ONCOMOLPATH

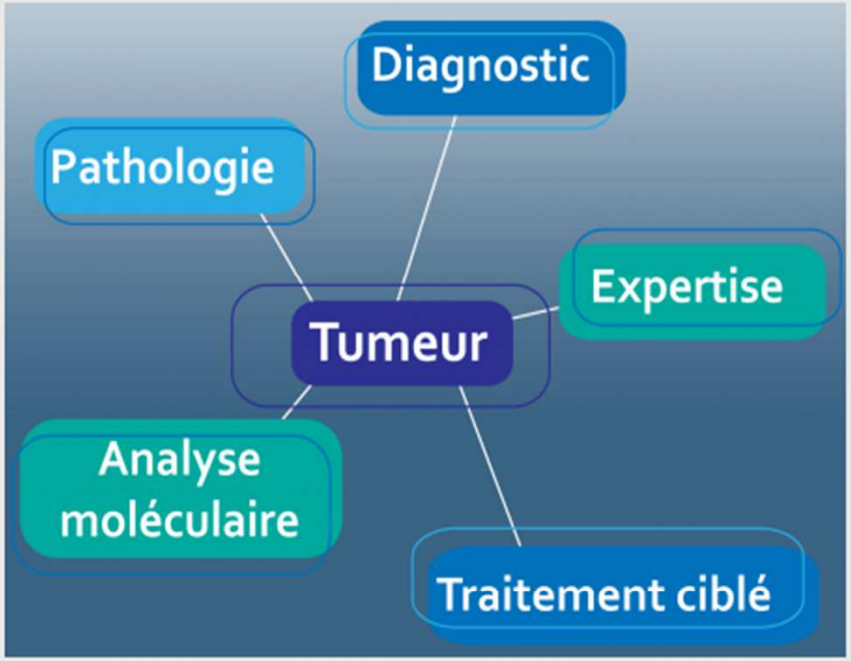
Publié le 18 octobre 2011

Ce site est dédié aux analyses moléculaires qui peuvent être effectuées sur les tumeurs par la plateforme AP-HP d'oncologie et de pathologie moléculaire des cancers. Il est construit autour de la base de données ONCOMOLPATH qui permet d'accéder à des informations médicales et pratiques ainsi qu'à des bons de demande d'analyses téléchargeables concernant l'ensemble des tests effectués par la plateforme. Cette plateforme regroupe les équipes de cancérologie, d'hématologie, de pathologie et de biologie des groupes hospitaliers de l'AP-HP.

Cette base de données est coordonnée par un Comité Editorial et actualisée en temps réel.

ACCES BASE ONCOMOLPATH

Liste des tests moléculaires effectués par la plateforme selon les recommandations de l'INCa



Liens utiles

Institut National du Cancer

Cancéropôle IDF

http://oncomolpath.aphp.fr/

- Les analyses moléculaires
  - Recherche rapide
  - Recherche par pathologie
  - Recherche par analyse
  - Recherche par site d'analyse
  - Les fiches médicales
- Aide

La base de données ONCOMOLPATH permet une recherche rapide des analyses moléculaires réalisées à partir de tissus tumoraux ou non tumoraux par la plateforme de l'AP-HP.

Elle permet d'améliorer le circuit des prescriptions en précisant, pour chaque test, le niveau d'indication (nécessaire, recommandé, exploratoire) grâce à des fiches médicales communes à toute l'AP-HP et téléchargeables. Sont d'ores et déjà disponibles : KRAS dans le cancer du colon, EGFR dans le cancer du poumon, HER2 dans le cancer du sein, MSI dans le cancer du colon, clonalité IgH/TCR dans le lymphome, HER2 dans le cancer de estomac, KIT et PDGFRA dans les GIST (Tumeurs Stromales Gastro-Intestinales), IDH1/IDH2 dans les gliomes, BRAF et c-KIT dans le mélanome.

Un bon de demande d'analyse moléculaire téléchargeable précise, pour chaque site d'analyse, les informations pratiques demandées par les laboratoires.

Enfin, cette base intègre les informations scientifiques mises à jour régulièrement par le comité éditorial de la plateforme.

Recherche des analyses

Pathologie

Sélectionnez un organe | Sélectionnez une lésion

Analyse moléculaire

Sélectionnez une molécule | Sélectionnez une anomalie | Sélectionnez une technique

- Sélectionnez une molécule
- KRAS
- HER2
- MICROSATELLITES
- IMMUNOGLOBULINES (GENES DES...)
- TCR
- BRAF
- CKIT
- PDGFRA
- EGFR
- IDH1-IDH2
- BCR-ABL
- JAK2 V617F

ectionnez aucun critère

Lancer la recherche

Copyright | Mentions légales | Plan du site