

Colloque ATC-ACLF
Montpellier
20 septembre 2016



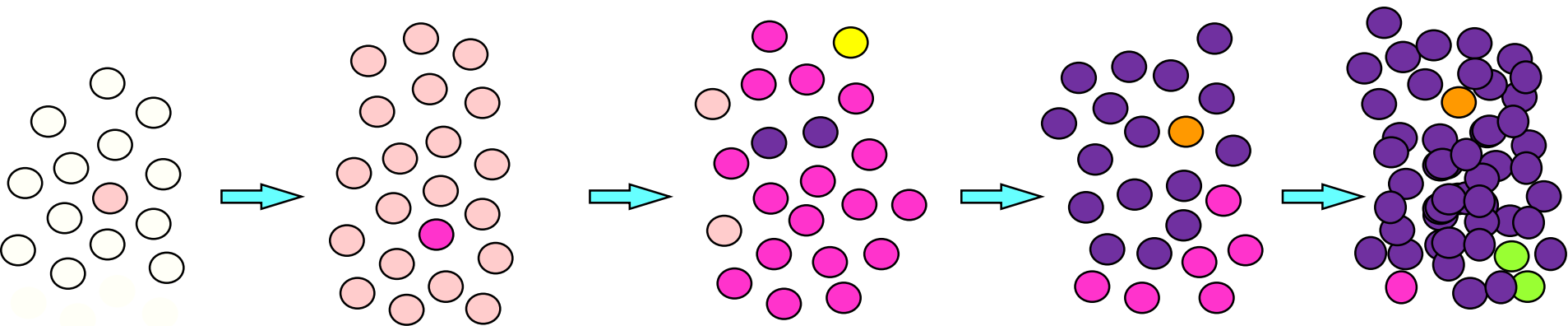
Traque des cibles thérapeutiques dans les tumeurs solides

Ivan Bièche

Unité de Pharmacogénomique, Service de Génétique, Institut Curie
(ivan.bieche@curie.fr)

Laboratoire de Génétique Moléculaire, Faculté de Pharmacie,
Université Paris Descartes (ivan.bieche@parisdescartes.fr)

La carcinogenèse est un processus multi-étapes



Cellules normales

Cellules pré-cancéreuses

Cellules cancéreuses

- ● ● Cells with drivers genomic alterations
- ● ● Cells with passenger / private genomic alterations

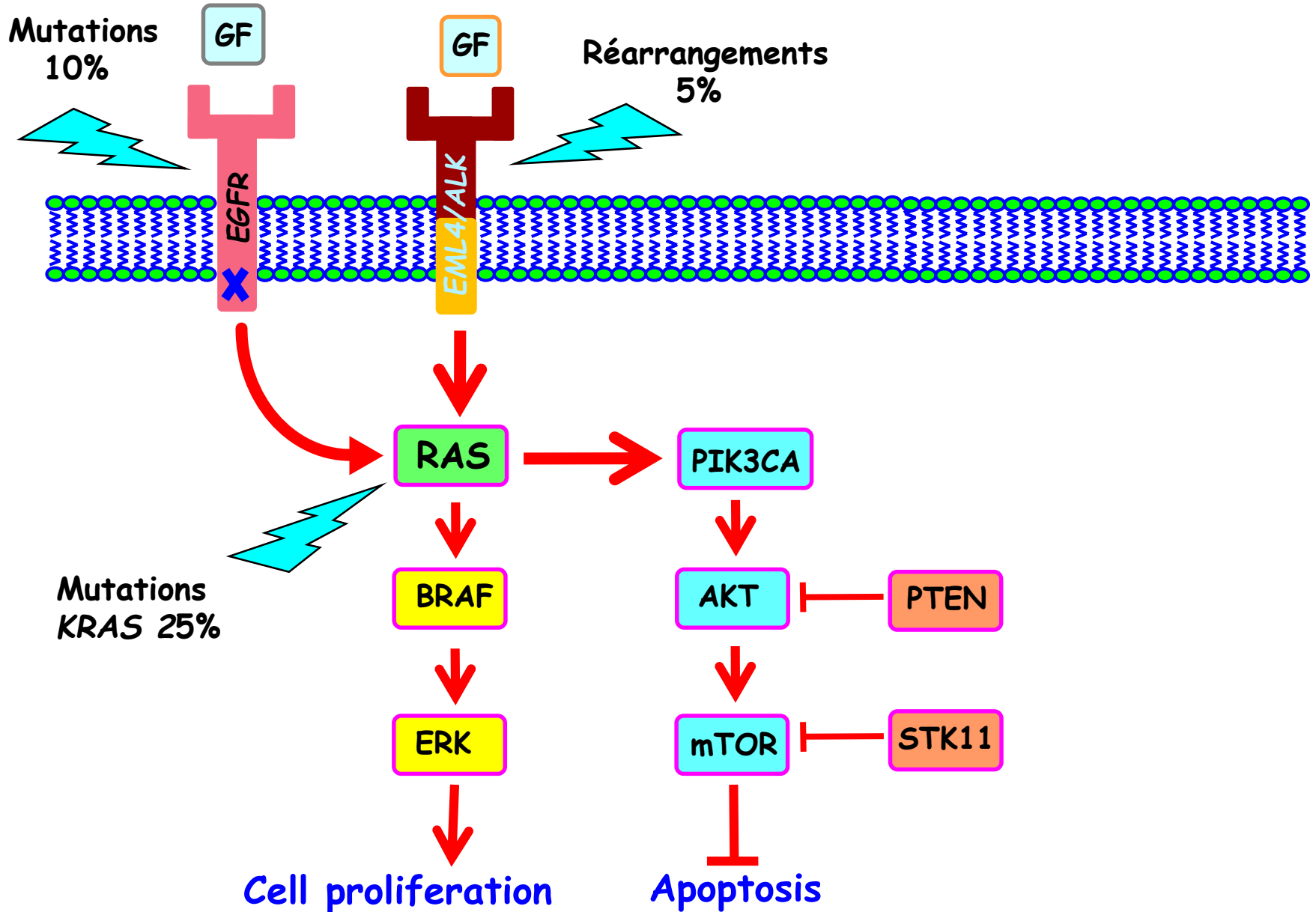
Les altérations génétiques

- Compréhension des mécanismes moléculaires de l'oncogenèse
- Biomarqueurs en cancérologie clinique
 - Aide au diagnostic
 - Pronostic de la maladie
 - Prédiction de la réponse à une chimiothérapie
 - Prédiction de la réponse à une thérapie ciblée
 - mutations somatiques : *EGFR*...
 - biomarqueurs théranostiques « compagnons »
- Identification de nouvelles cibles thérapeutiques

Altérations génétiques dans les cancers humains

- Nombreuses altérations génétiques identifiées.
- Un nombre plus restreint de voies de signalisations altérées
 - voies des RTK: voies RAS/RAF/MAPK et PI3K/AKT/mTOR
 - voies Cycle cellulaire-Apoptose
 - voies Hedgehog, Wnt...
 - voies de réparation de l'ADN...
- Un même voie métabolique peut être altérée par mutations d'une grande diversité de gènes (mutuelle exclusion)
- Thérapies ciblées actuelles :
 - oncogènes +++
 - voies des RTK +++

Mutuelle exclusion (voie RTK dans le cancer du poumon)



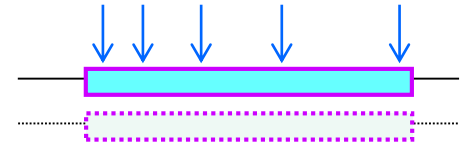
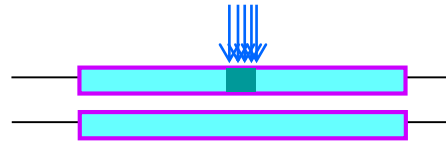
Tests Génétiques

Gène non altéré

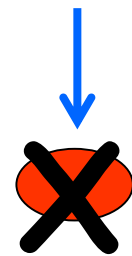
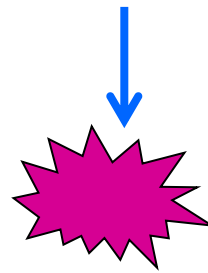
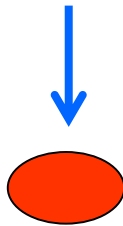
Oncogene activé

Gène supresseur inactivé

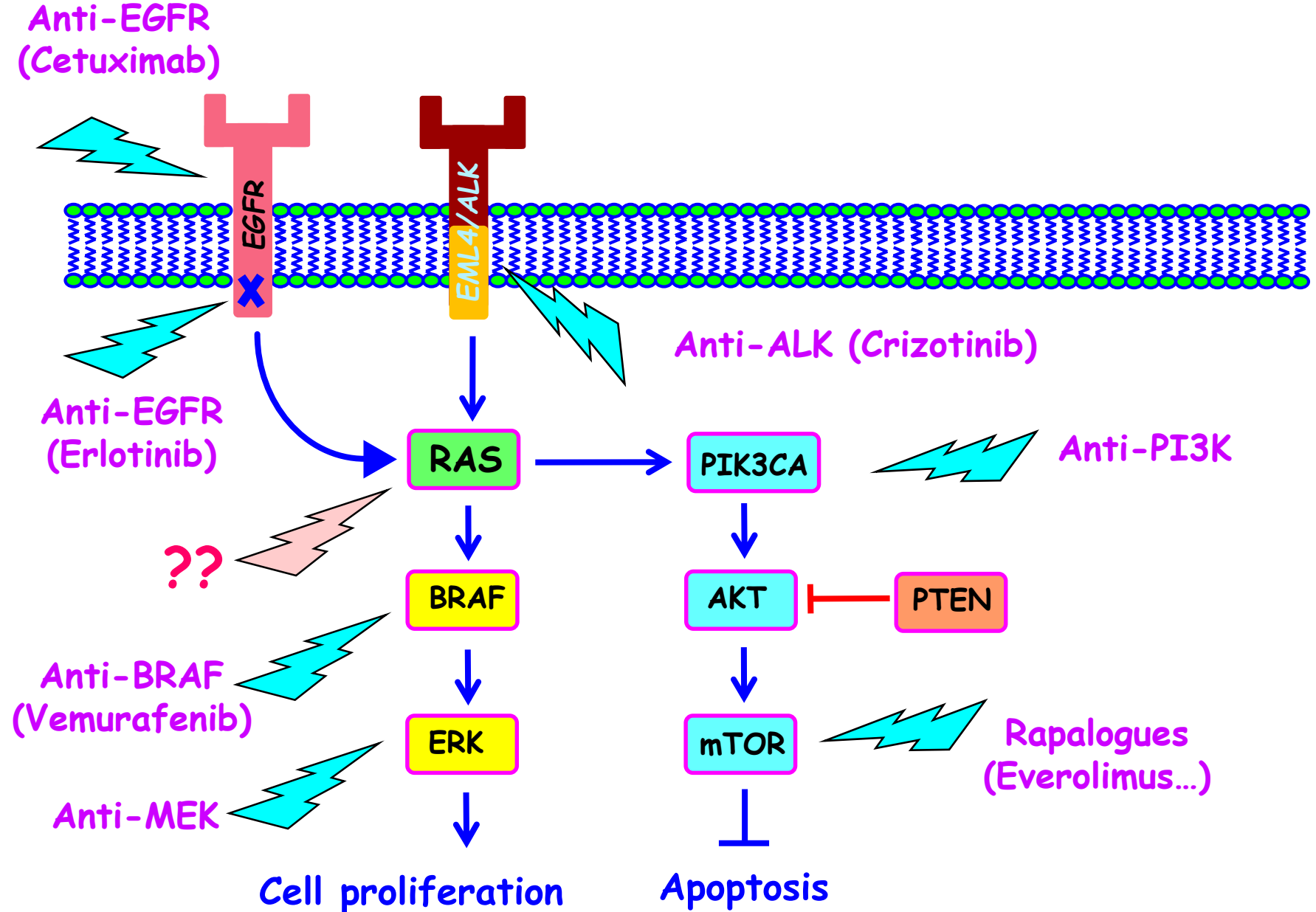
ADN



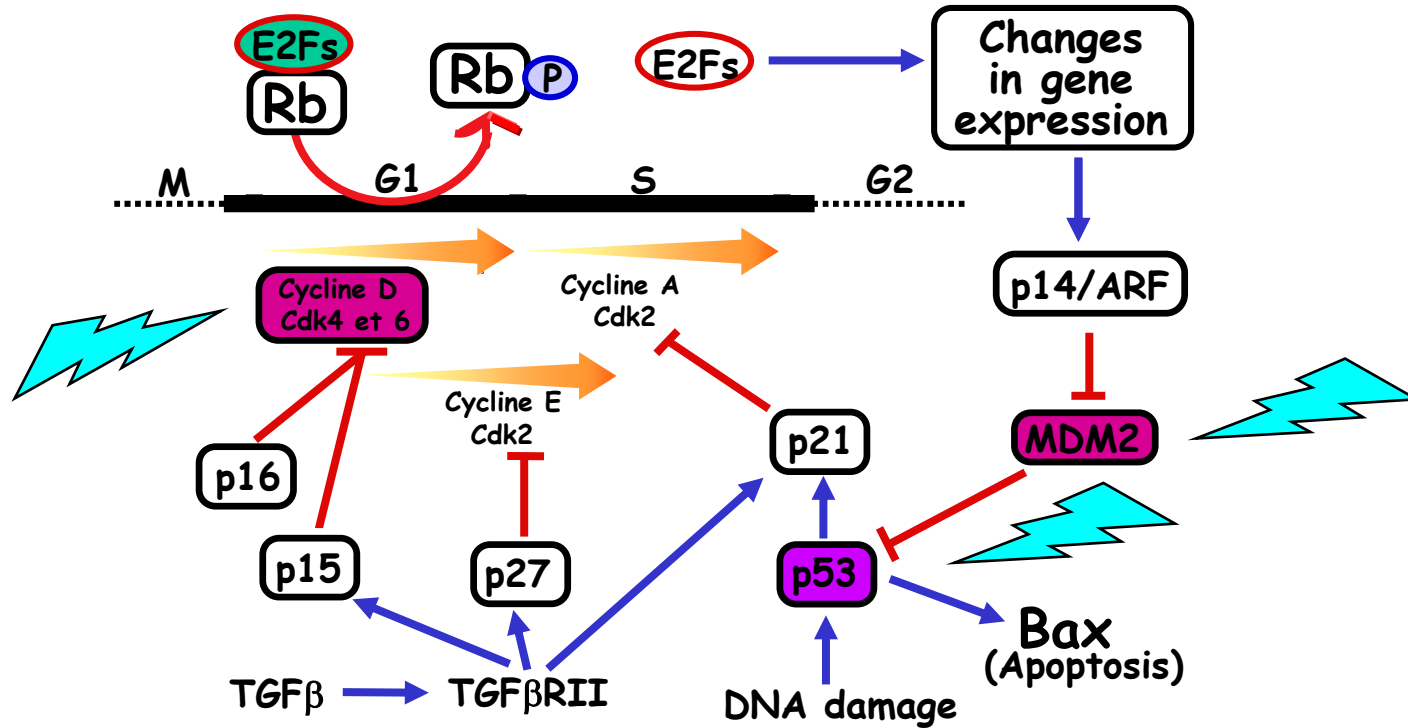
Protéines



Voie RTK et Thérapie ciblée



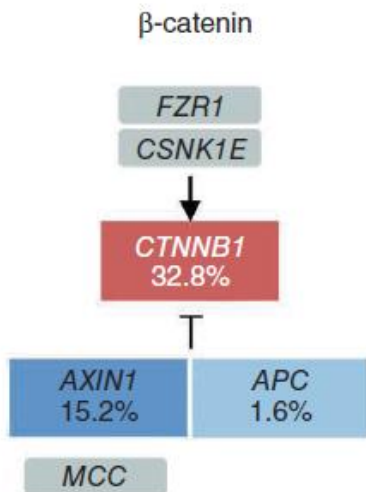
Cycle cellulaire



→ inhibiteurs de Cdk4/6 (Palbociclib...)

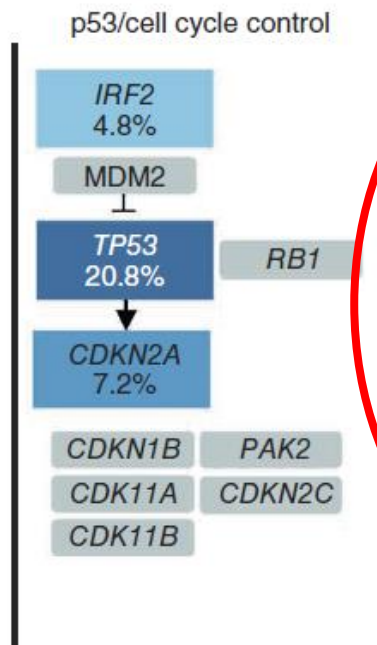
→ inhibiteurs de l'interaction MDM2-p53 dans les tumeurs MDM2 Amp - TP53 wt

Plus de cibles thérapeutiques

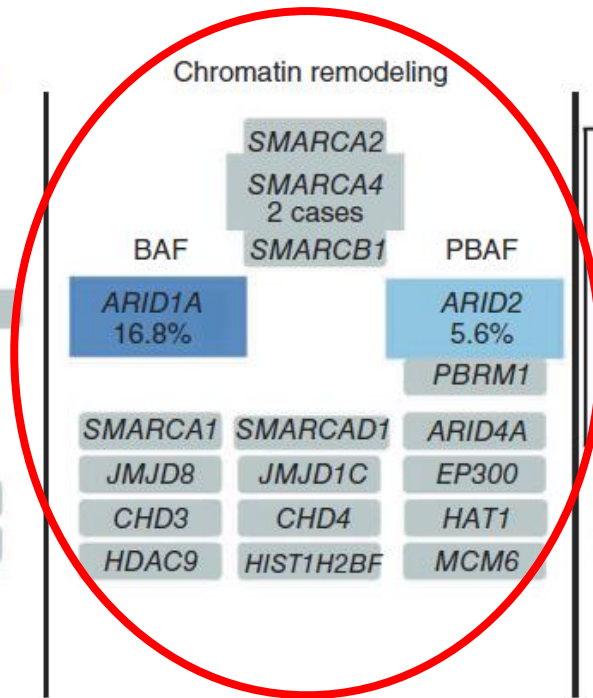


Voies Notch,
Hedgehog et Wnt

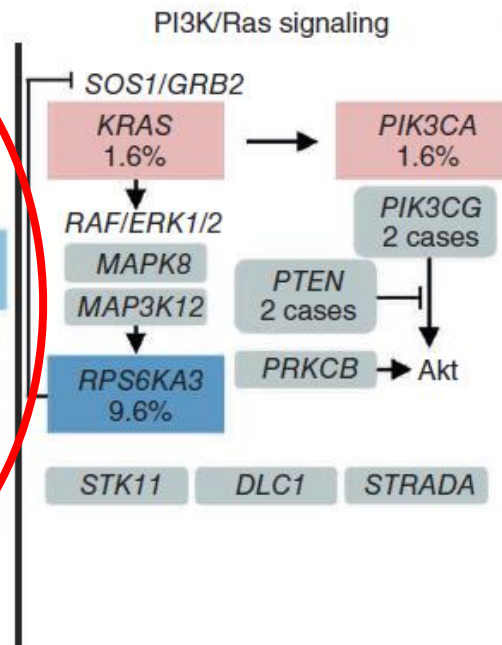
Ex : Vismodegib



Ex : MDM2 inhibiteurs
CDK4/6 inhibiteurs



Ex : ?



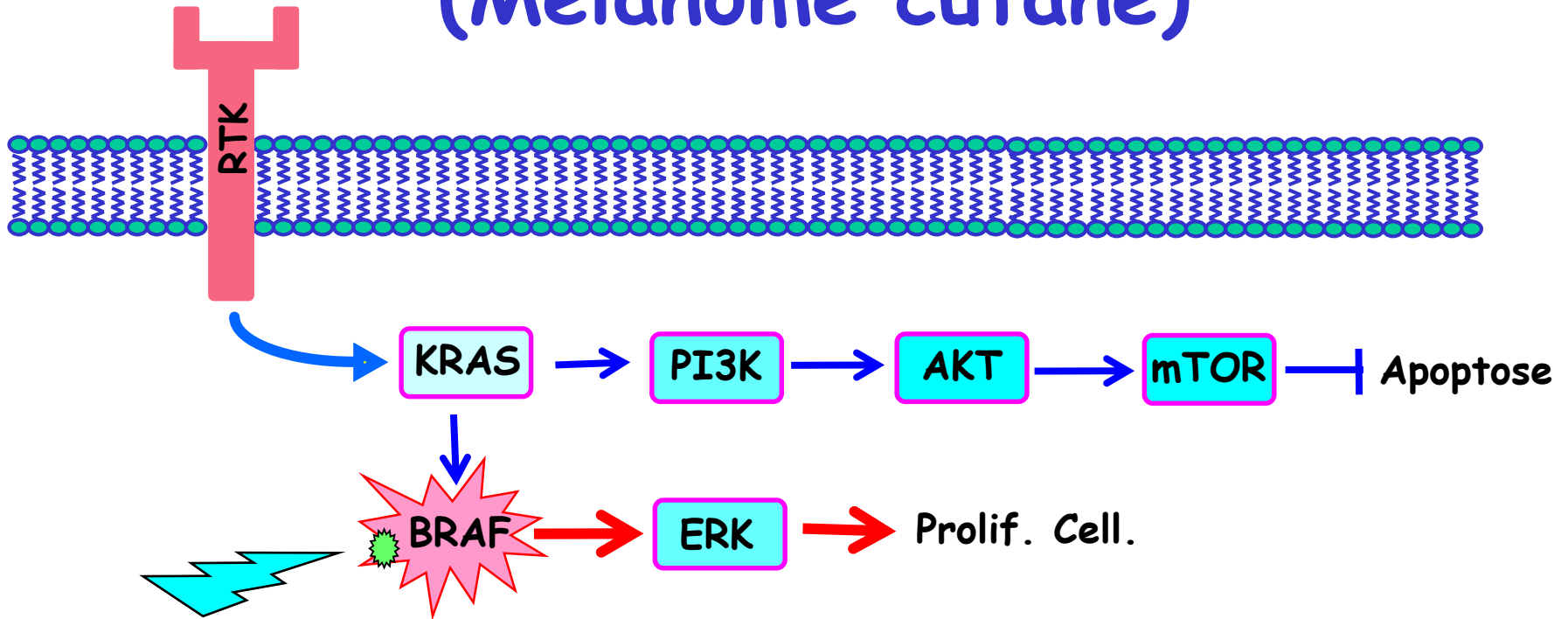
Ex : nombreux

Les biomarqueurs théranostiques

« compagnons »

- Adaptation « fine » du traitement
 - médecine ~~personnalisée~~ stratifiée ou de précision
 - fonction du profil moléculaire de la tumeur du patient
- Biomarqueurs
 - de sensibilité
 - de résistance primaire
 - de résistance secondaire

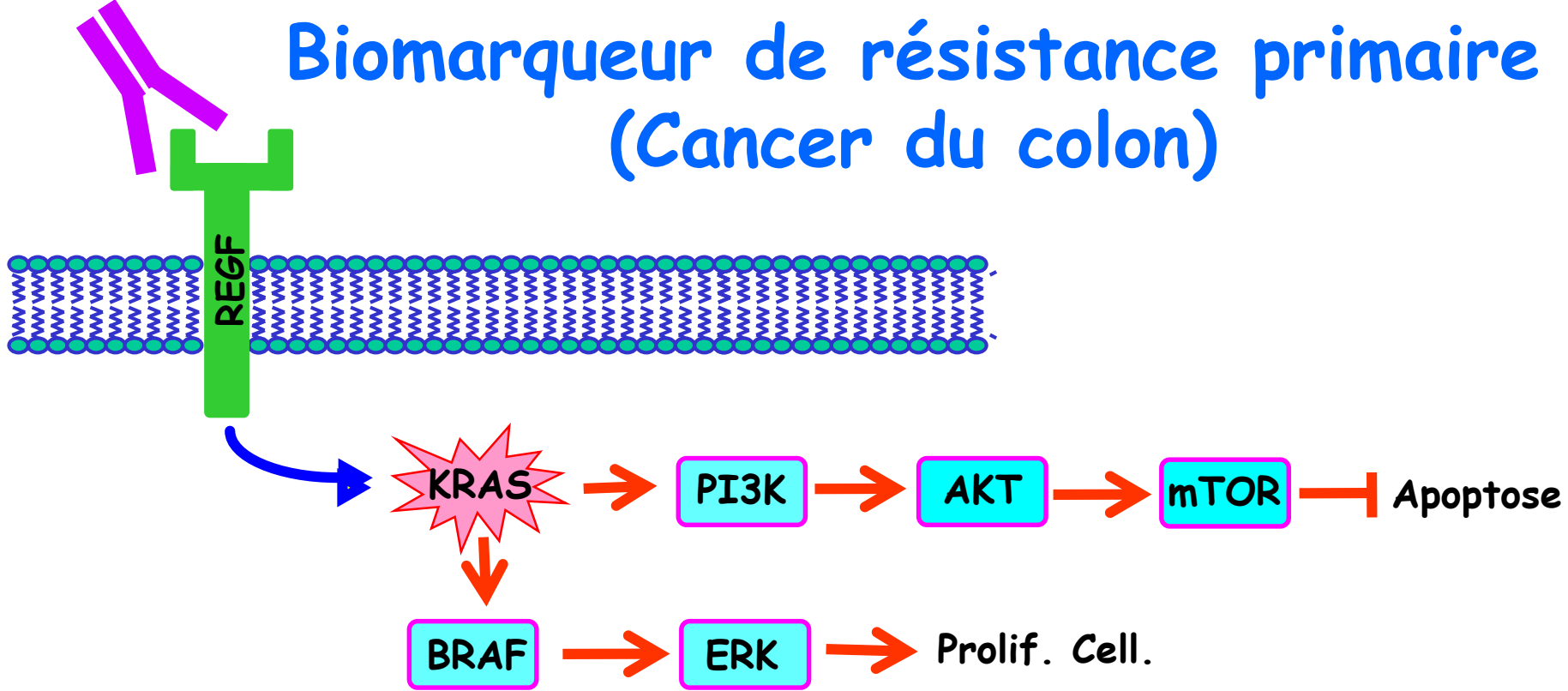
Biomarqueur de sensibilité (Mélanome cutané)



Nom	Nom Commercial	Molécule	Cible	Société
Vemurafenib	Zelboraf®	PMI	BRAF	Roche

Biomarqueur de sensibilité : mutations **BRAF V600E (38%)**
séquençage - ADN

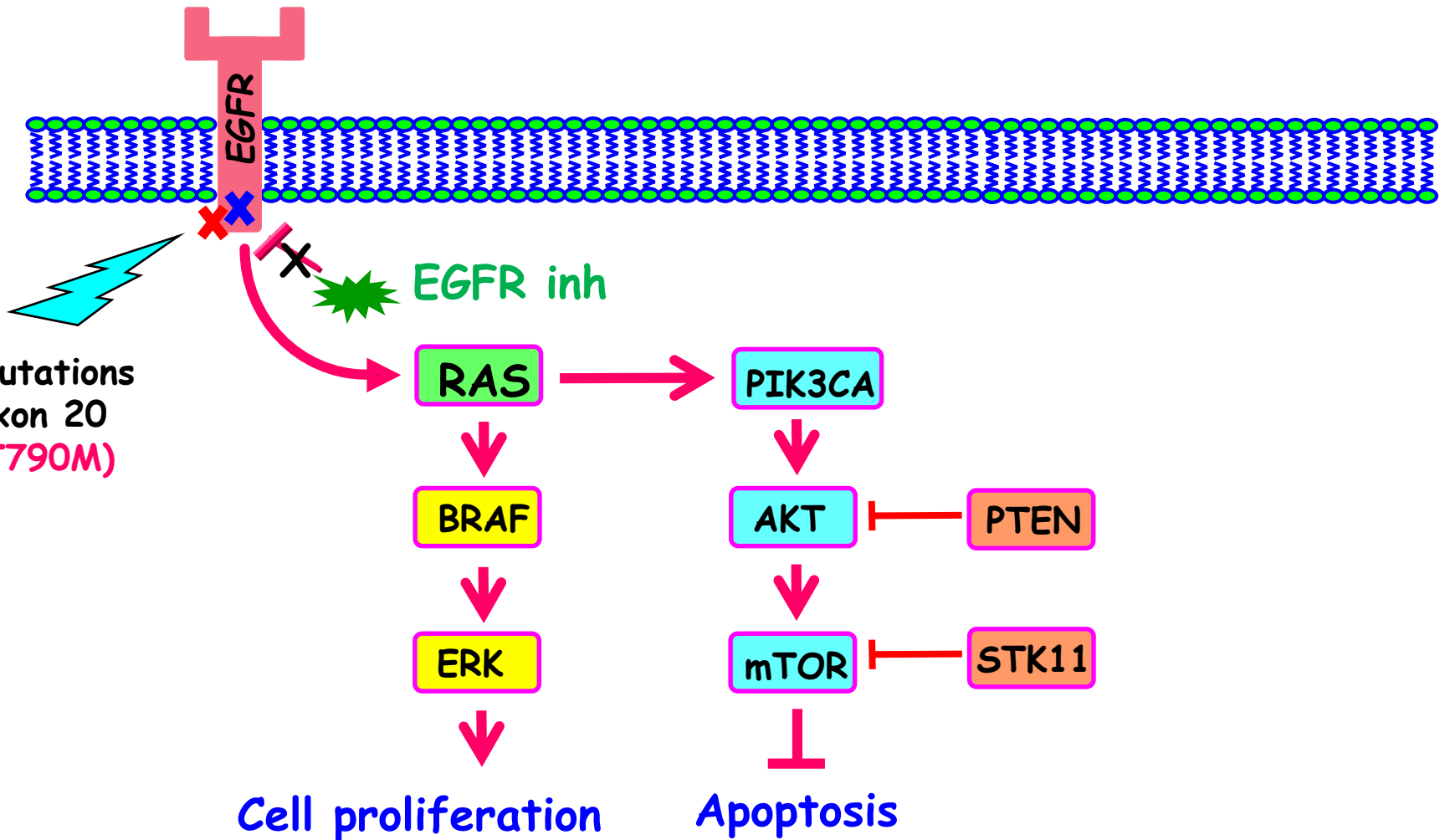
Biomarqueur de résistance primaire (Cancer du colon)



Nom	Nom Commercial	Molécule	Cible	Société
Cetuximab	Erbix®	Ac	REGF	Merck Serono
Panitumumab	Vectibix®	Ac	REGF	Amgen

Biomarqueur de résistance primaire : mutation **KRAS (40%)**
séquençage - ADN

Biomarqueurs de résistance secondaire (cancer du poumon)

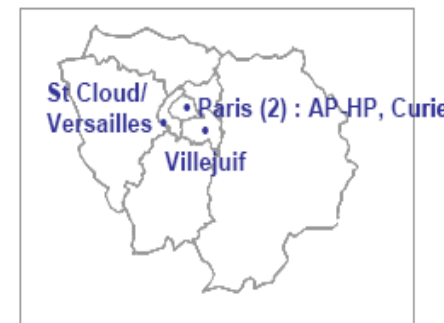
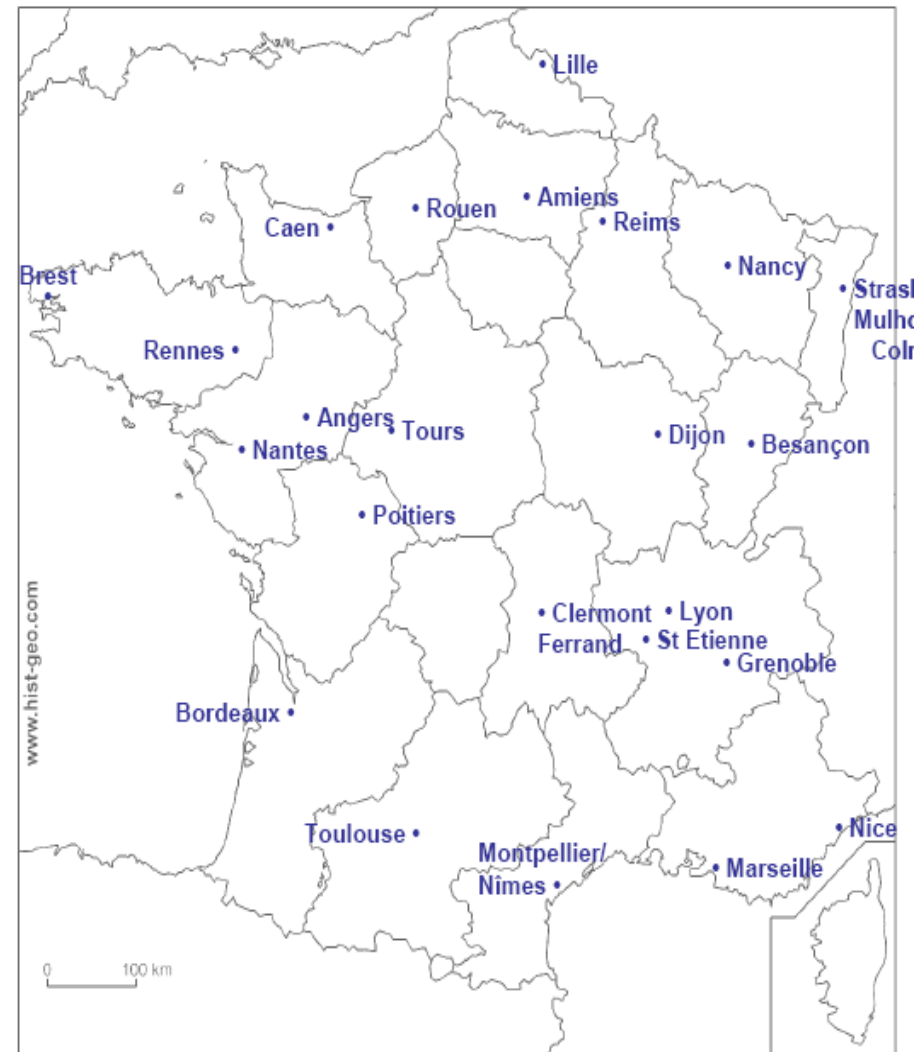


Résistances secondaires aux anti-EGFR dans le cancer du poumon

- Mutation *EGFR* T790M +++ (→ AZD9291)
- Mutation ou amplification de *MET*
- Surexpression de *HGF* (origine tumorale ou *stromale*)
- Amplification de *ERBB2*
- Transformation en cancer du poumon à petites cellules



- La caractérisation des altérations génétiques est aujourd'hui indispensable pour le diagnostic, la classification, le choix et la surveillance du traitement des cancers
- Labellisation de 28 plates-formes hospitalières de génétique moléculaire des cancers par l'INCA (2006 et 2007)



Plates-formes retenues en 2006 et en 2007

Altérations génétiques

Cancer

Drogue

Amplification de *HER2/ERBB2*
FISH - ADN

Cancers du sein

Herceptin® (Trastuzumab)
Anti-ERBB2

Mutations de *KRAS*
Séquençage - ADN

Cancer colon

Erbix® (Cetuximab)
Vectibix® (Panitumumab)
Anti-EGFR

Mutations de *EGFR (+KRAS)*
Séquençage - ADN

Cancer du poumon

Tarceva® (Erlotinib)
Iressa® (Gefitinib)
Anti-EGFR

Translocation *EML4-ALK*
FISH - ADN

Cancer du poumon

Xalkori® (Crizotinib)
Anti-ALK

Mutations de *BRAF*
Séquençage - ADN

Mélanome cutané

Zelboraf® (Vemurafenib)
Anti-BRAF

Translocation *BCR-ABL*
RT-PCR - ARN

LMC

Glivec® (Imatinib)
Inh. de l'activité TK

Mutations de *KIT* et de *PDGFRA*
Séquençage - ADN

GIST (tumeurs stromales
gastro-intestinales)

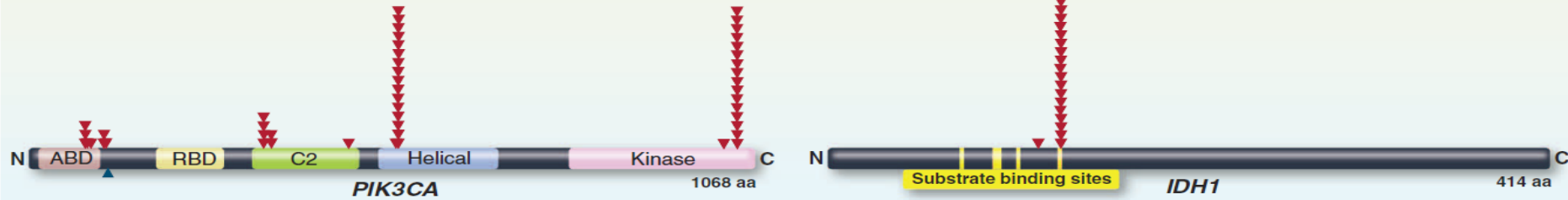
Glivec® (Imatinib)
Inh. de l'activité TK

Perspectives

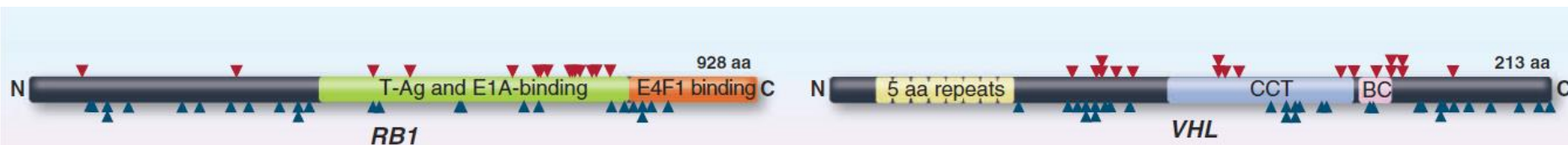
- Plus de biomarqueurs théranostiques
- Plus de cibles thérapeutiques
- Plus de cancers
- Plus de séquences (plus de bioinformatique)
- FFPE et Biopsie « liquide »

Plus de biomarqueurs théranostiques

▼ = Missense mutation
▲ = Truncating mutation



Oncogène



Gène suppresseur de cancer

Technologies - Mutations

Sanger

- 10 exons
 - 5 oncogènes
 - FFPE
 - 100 ng d'ADN
-

NGS dédié

- 1000 exons
 - 30 oncogènes + 20 GSC
 - FFPE
 - 10 ng d'ADN
-

NGS : *Next Generation Sequencing*

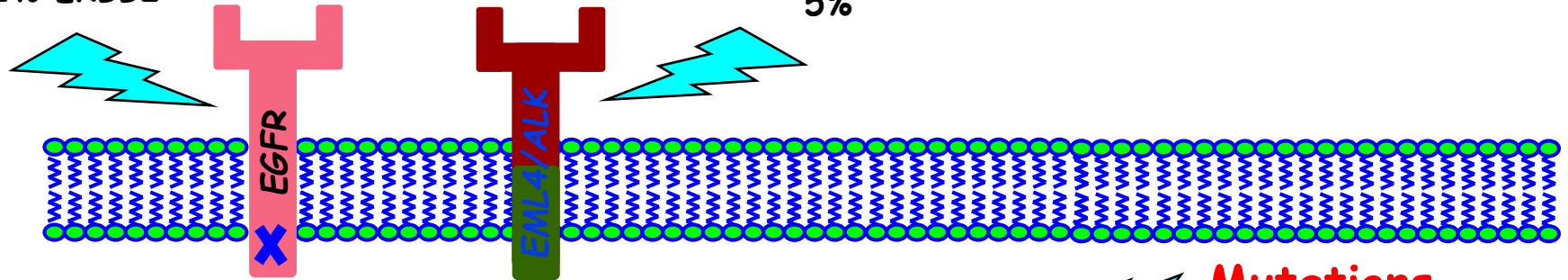
Voie RTK et Gènes suppresseurs de cancer dans le cancer du poumon

Mutations
10% EGFR
1% ERBB2

GF

GF

Réarrangements
5%



Mutations
7%

NF1

RAS

PIK3CA

Mutations
2%

Mutations
25%

BRAF

AKT

PTEN

Mutations
3%

Mutations
2%

ERK

mTOR

STK11

Mutations
9%

TSC1/2

Mutations
1%

Cell proliferation

Apoptosis

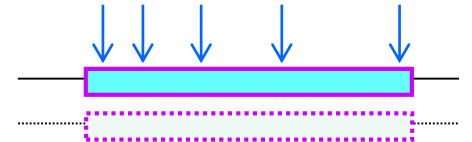
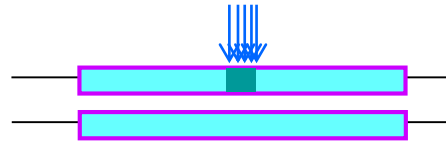
Tests Génétiques

Gène non altéré

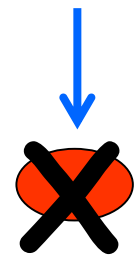
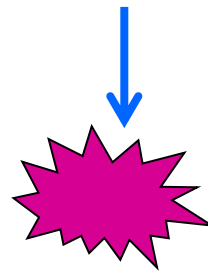
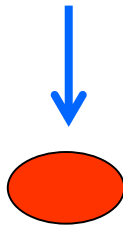
Oncogene activé

Gène supresseur inactivé

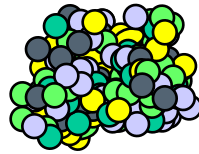
ADN



Protéines



RCP moléculaire



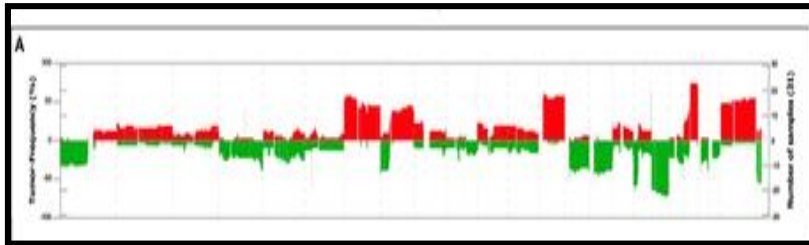
Tumeur



(tous types de cancers)

Amplifications/Délétions

Mutations (60 gènes)



CGH-array



Technique NGS

TC 1

TC 2

TC 3

TC 4

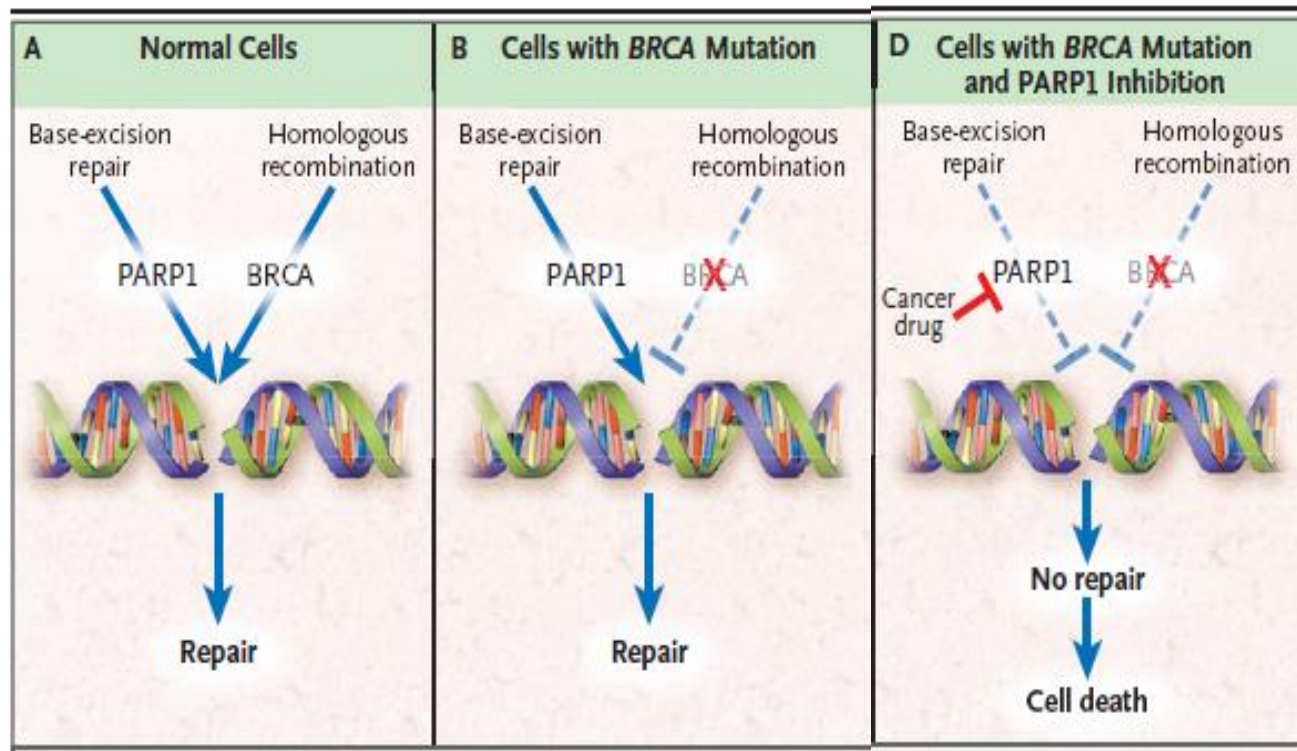
TC 5

Tumeur congelée → Tumeur FFPE → ctDNA

Plus de cibles thérapeutiques

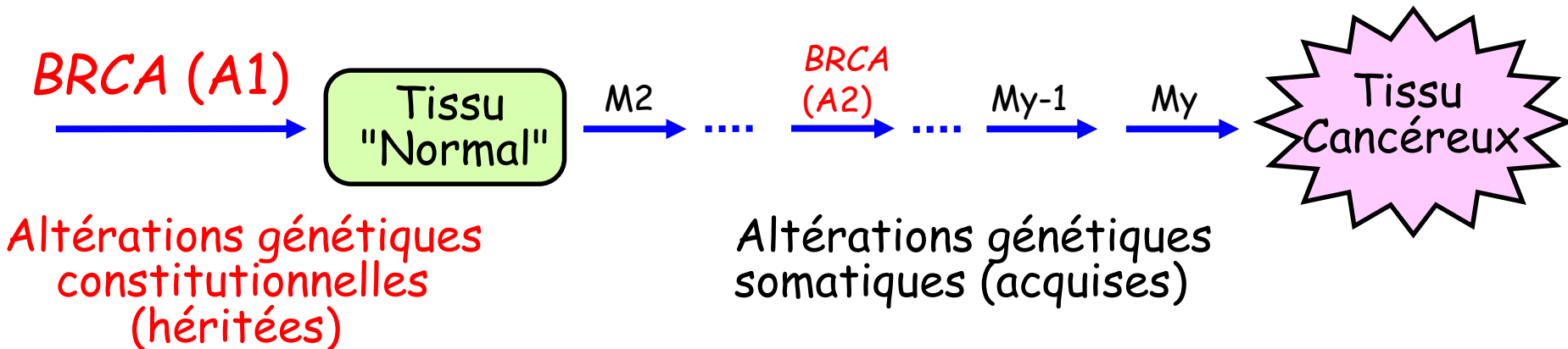
Inhibition of Poly(ADP-Ribose) Polymerase in Tumors from *BRCA* Mutation Carriers

Fong et al., *N Engl J Med*, 361: 123-34, 2009

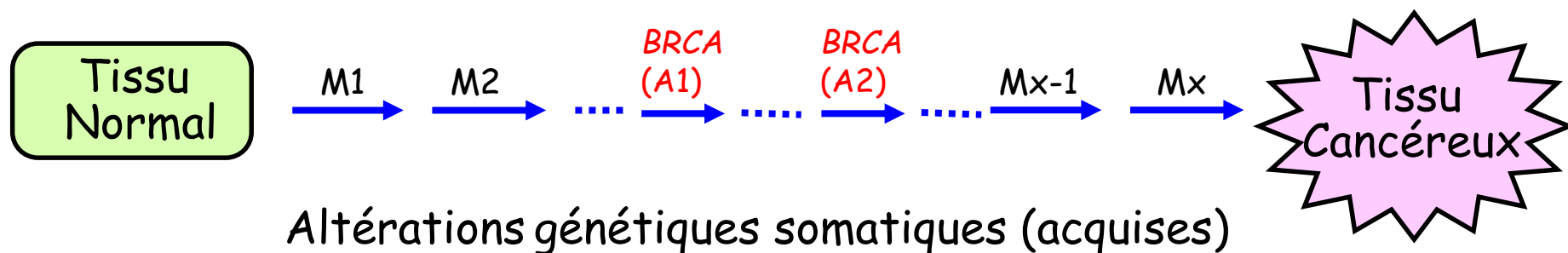


Concept de « létalité synthétique » (*Synthetic Lethality*)

TUMEURS DE L'OVAIRE HEREDITAIRES (20%)



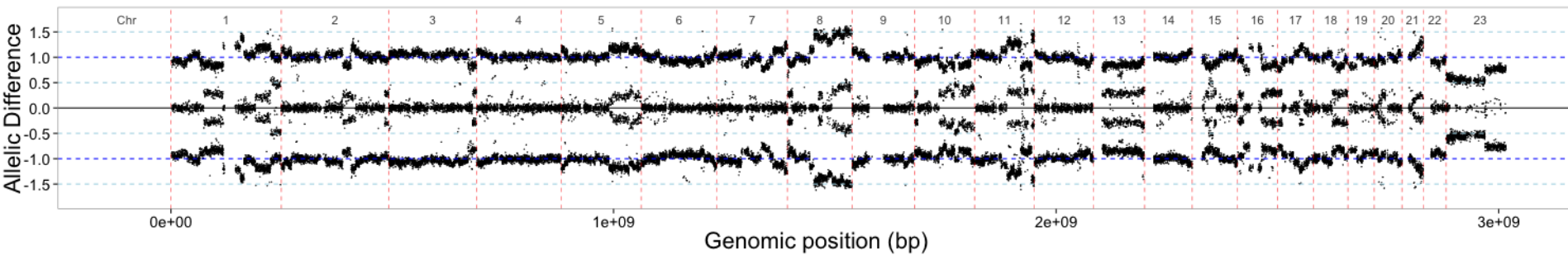
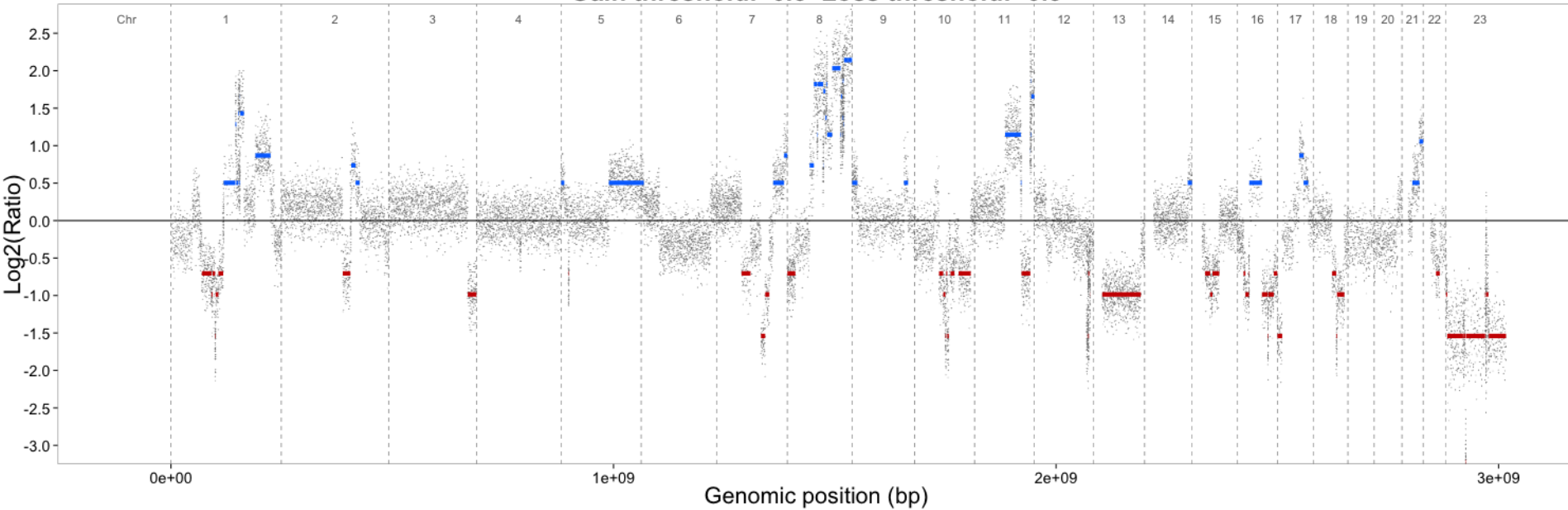
TUMEURS DE L'OVAIRE SPORADIQUES (10%)



Olaparib (Anti-PARP) : AMM dans les cancers épithéliaux séreux de haut grade de l'ovaire : récidivant et sensible au platine avec une mutation des gènes BRCA (germinale et/ou somatique)

signature BRCAness (CGH-array)

L36055_C1H1_CytoScanHD_Array - 2015-09-07
Gain threshold: 0.5 Loss threshold: -0.5

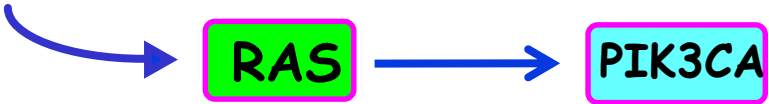


→ Inactivation *BRCA1*, *BRCA2*, *ATM*, *PALB2*...

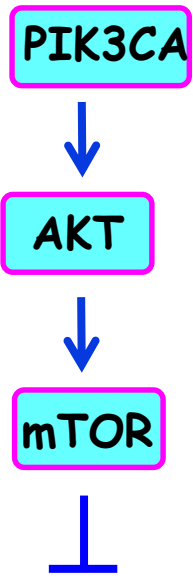
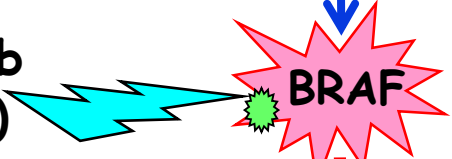
Plus de cancers

- Un cancer présentant une altération moléculaire avec indication d'une thérapie ciblée autorisée (AMM)
- Des cancers autres que celui de l'indication d'une thérapie ciblée autorisée et présentant la même altération moléculaire
- Prescription d'un traitement hors AMM?

Tumeur BRAF V600E mutée et réponse à un anti-BRAF ?



Vémurafenib (Zelboraf®)



Apoptose

- Melanoma AMM
- Thyroid papillary
- Thyroid anaplastic
- Cholangiocarcinoma
- Colorectal
- Ovary
- Multiple Myeloma
- NSCLC (2%)

40%



2%

Le programme AcSé

Accès Sécurisé aux Innovations Thérapeutiques

AcSé Crizotinib

- AMM Europe
 - NSCLC ALK
- Partenariat Pfizer
- PI : G Vassal, IGR

AcSé Vémurafenib

- AMM Europe
- Mélanome V600 BRAF
 - Partenariat Roche
 - PI : JY Blay, CLB

Programme AcSé Crizotinib Vemurafenib

Type de cancer	Transloc. <i>ALK</i>	Amp. <i>ALK</i>	Amp. <i>MET</i>	Transloc. <i>ROS</i>	Mut. <i>ALK</i>	Mut. <i>MET</i>	Mut. <i>BRAF</i>
CBNPC	AMM	X	X	X			X
Cancer colorectal	X		X			X	
Cancer gastrique			X				
Cholangiocarcinome				X			X
Cancer du foie			X			X*	
Cancer du rein	X	X				X	
Cancer de la vessie							X
Cancer du sein	X	X					
Cancer de l'ovaire			X				X
Cancer de la prostate							X
Cancer de la thyroïde	X				X	X	X
Glioblastome			X				
Neuroblastome		X			X		
Tumeur myofibroblastique inflammatoire	X						
Rhabdomyosarcome		X					X
Sarcomes		X					X
GIST							X
Mélanome - tumeur spitzoïde	X			X			AMM
Myélome multiple							X
Lymphome anaplasique à grande cellules (ALCL)	X						
Leucémie lymphoïde chronique							X
Leucémie à tricholeucocytes							X

* seulement pour les cancers du foie pédiatriques

Plus de séquences (plus de bioinformatique)

Gène individuel

Génome global

ADN

- FISH*
- Southern blot
- PCR quantitative
- Séquençage

- CGH
- CGH-array
- Whole Exome (<100 Mb)
- Whole Genome (3 Gb)

ARN

- ISH*
- Northern blot
- RT-PCR quantitative
- Séquençage

- OligoN microarray
- MicroRNAome-array
- Séquençage complet ARN

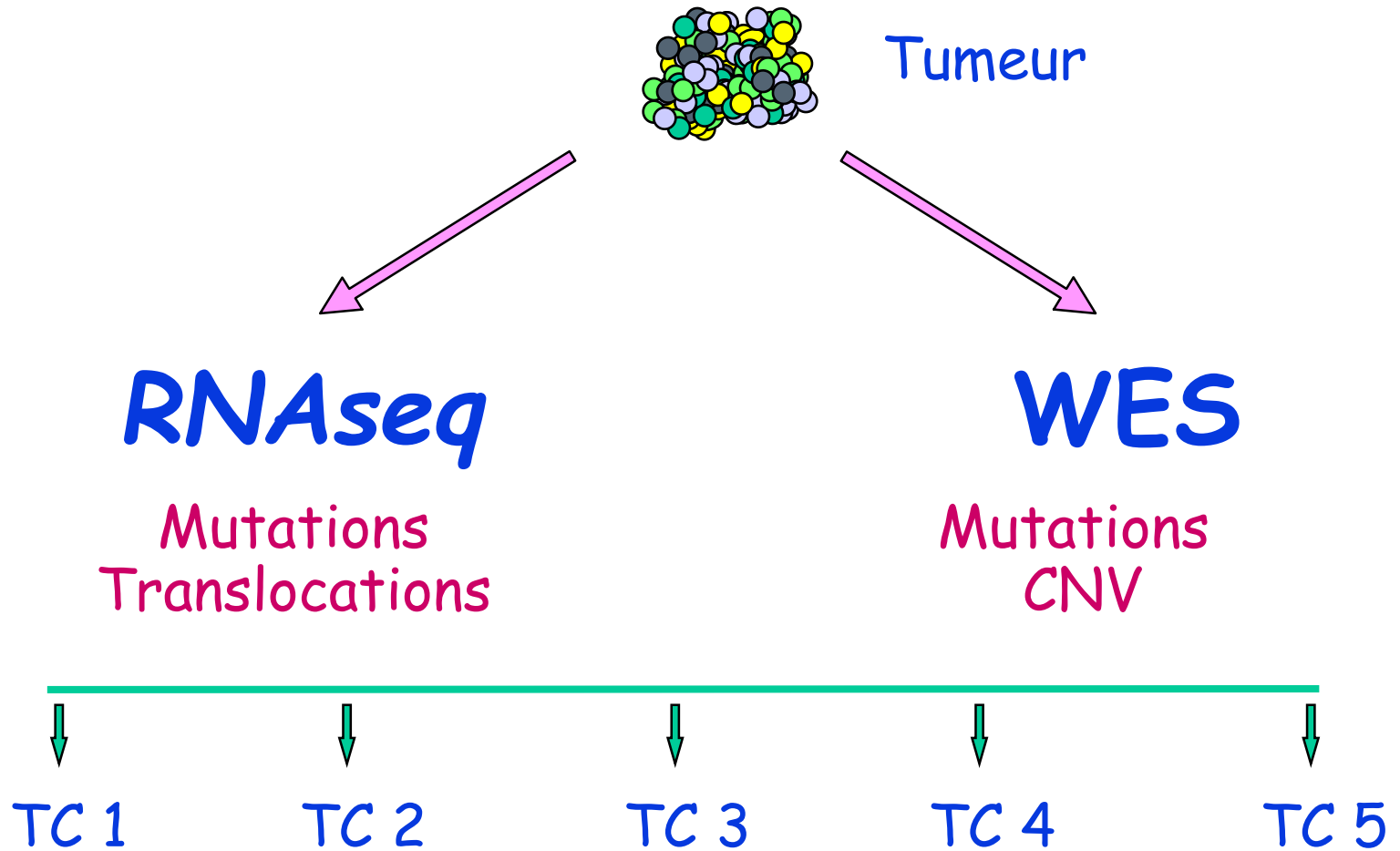
Protéine

- IHC*
- Western blot
- RIA, EIA

- Antibody-Array?

*: Mise en évidence de l'hétérogénéité cellulaire

Essai MAPPYACTS (pédiatrie)



« Exome » versus « Séquence complète »

WES

WGS

ADN

100 Mb (3%)

3 Gb (100%)

Altérations

Mutations exons
Amplifications
Délétions

Mutations exons
Amplifications
Délétions
Mutations introns
Mutations promoteurs
Translocations

Cout

500 €

10 000 €

Séquence complète → FISH, CGH-array ?

Bloc FFPE (*Formaldehyde fixed and paraffin embedded*)

Bloc : tissus fixés au formaldéhyde
et inclus en paraffine

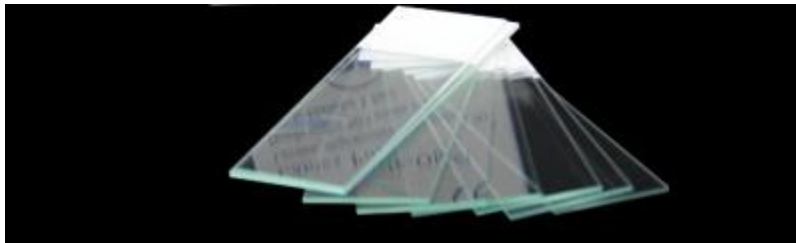


Coupes

Coloration d'une lame HES
avec cerclage

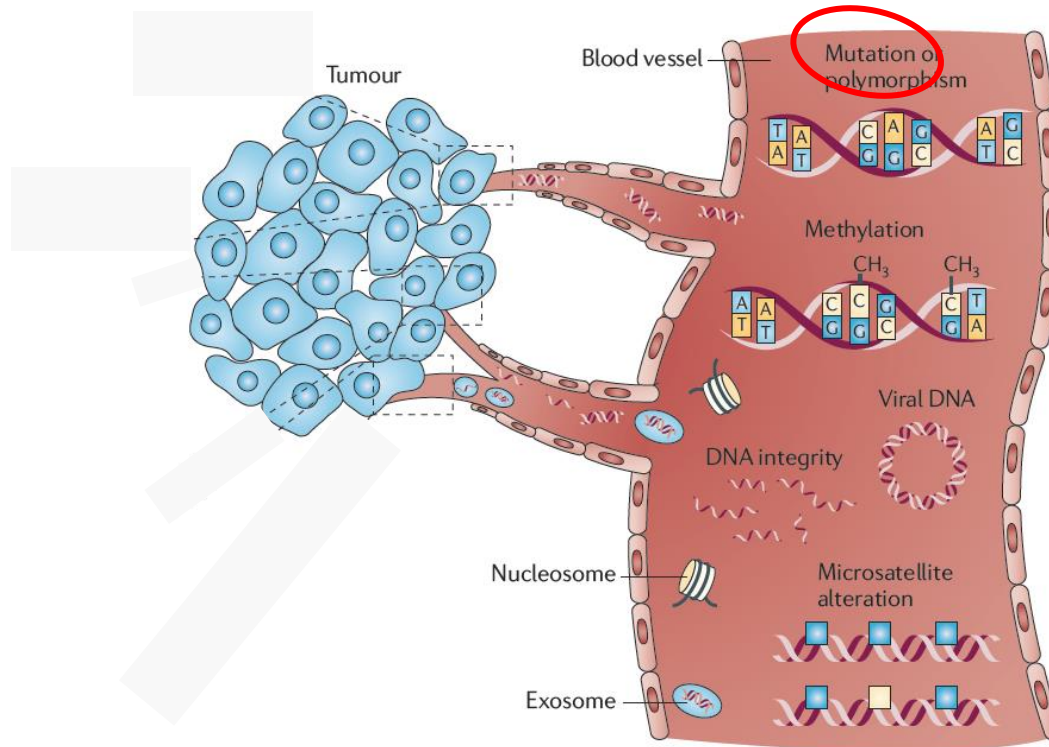


Lames blanches (6 micromètres)
→ Macrodissection)



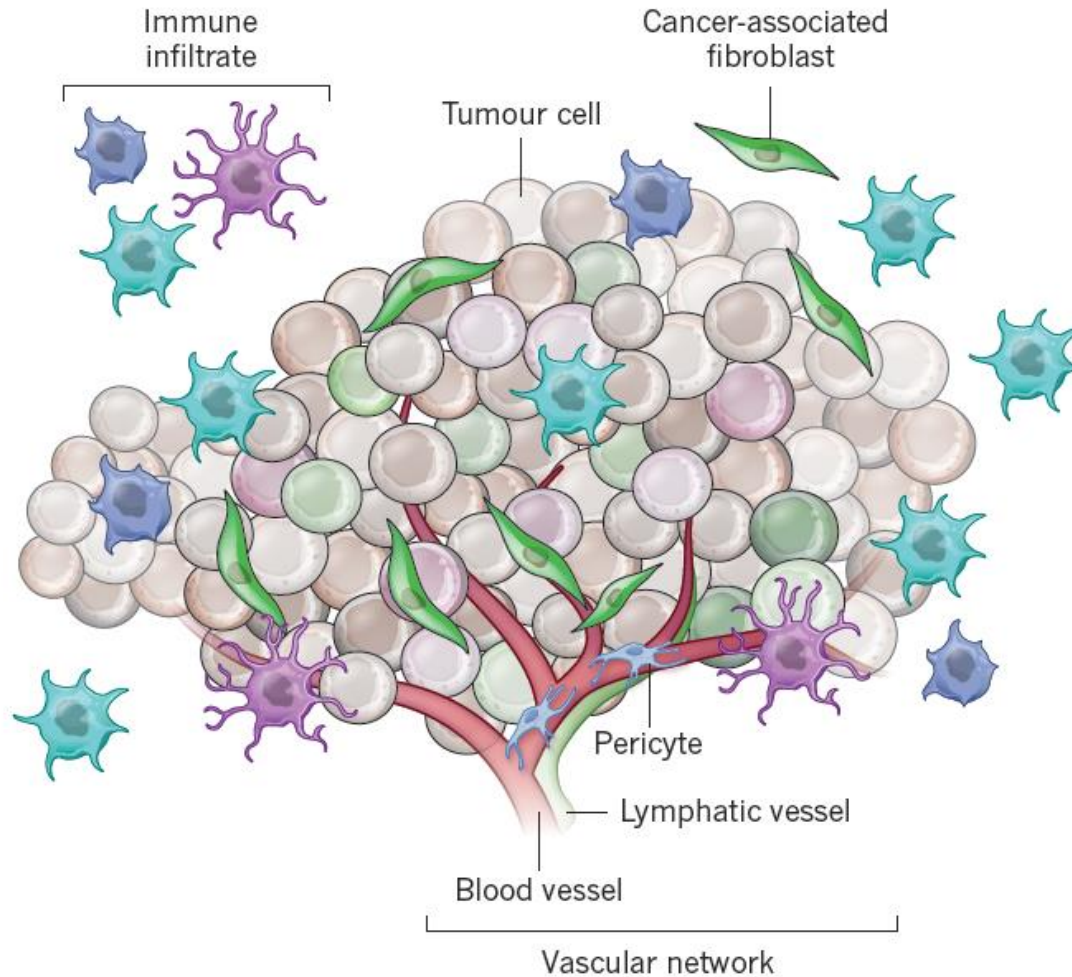
**Extraction
ADN et ARN**

Biopsie « liquide » et ADN circulant



- Tests non-invasifs pouvant être répétés régulièrement
- Indications identiques aux marqueurs tumoraux sériques (CA125, CA15-3...) :
 - le **pronostic** (un taux élevé est en faveur d'une atteinte à distance)
 - l'évaluation de l'**efficacité thérapeutique**
 - **surveillance post-thérapeutique**

Cibler le micro-environnement



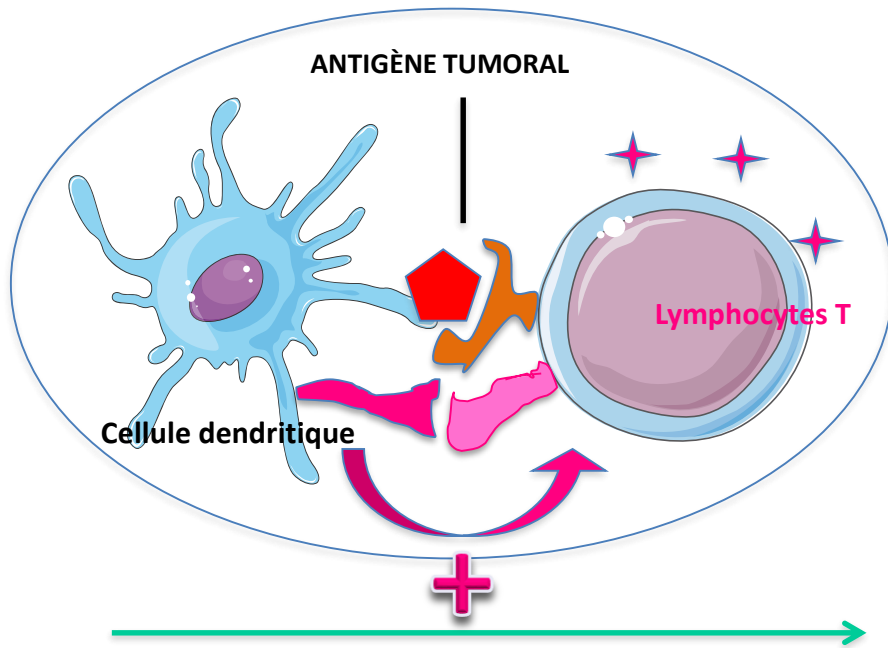
Juntilla et de Sauvage, *Nature*, 2013;501:3987-3991.

Exemples de thérapies ciblant le micro-environnement

Cellules	Drogues	Cibles	Molécules	Statut
Immunes	Ipilimumab	CTLA-4	Ac	Approuvé FDA
Immunes	Nivolumab	PD1	Ac	Phase 3
Endothéliales	Bevacizumab	VEGFA	Ac	Approuvé FDA
Endothéliales	Enoticumab	DLL4	Ac	Phase 1
CAFs	Marimastat	MMP	PMI	Phase 3
...

Immune checkpoints

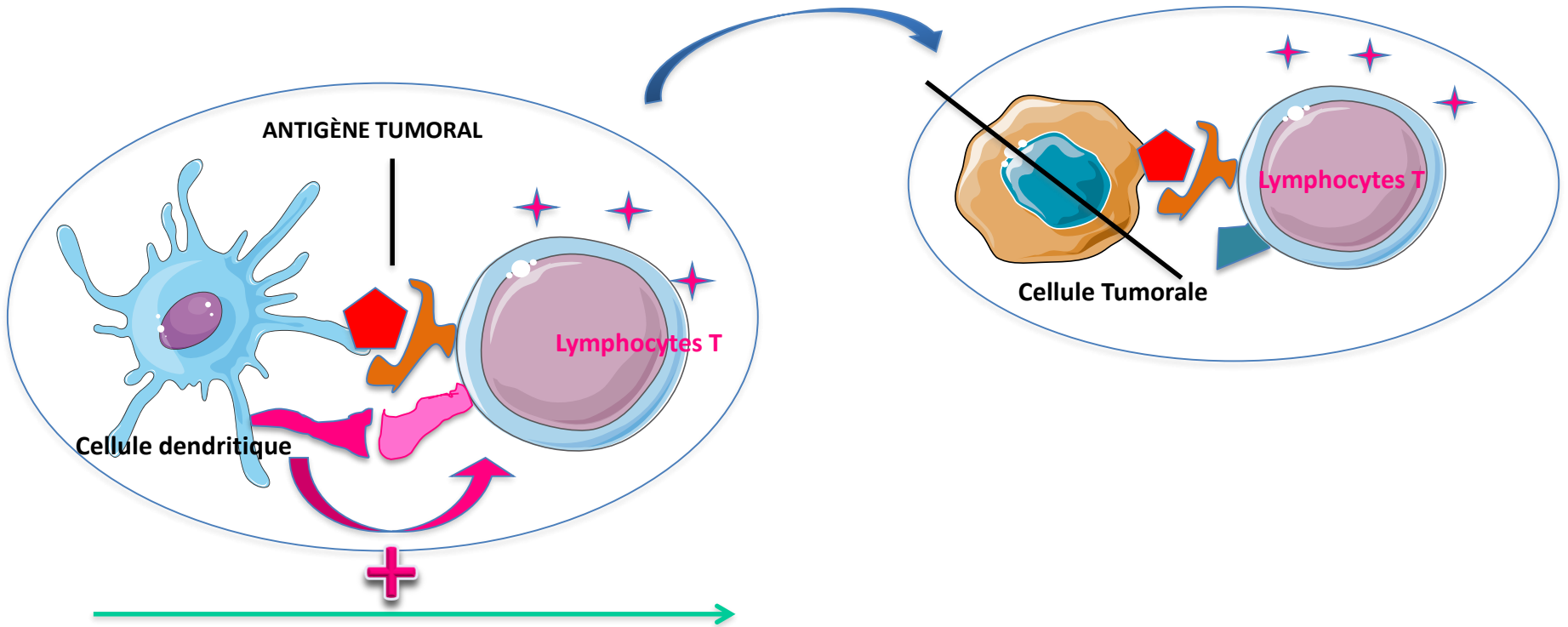
Les modulateurs de l'immunité: la révolution ?



SIGNAL 1:
Activation des lymphocytes

Immune checkpoints

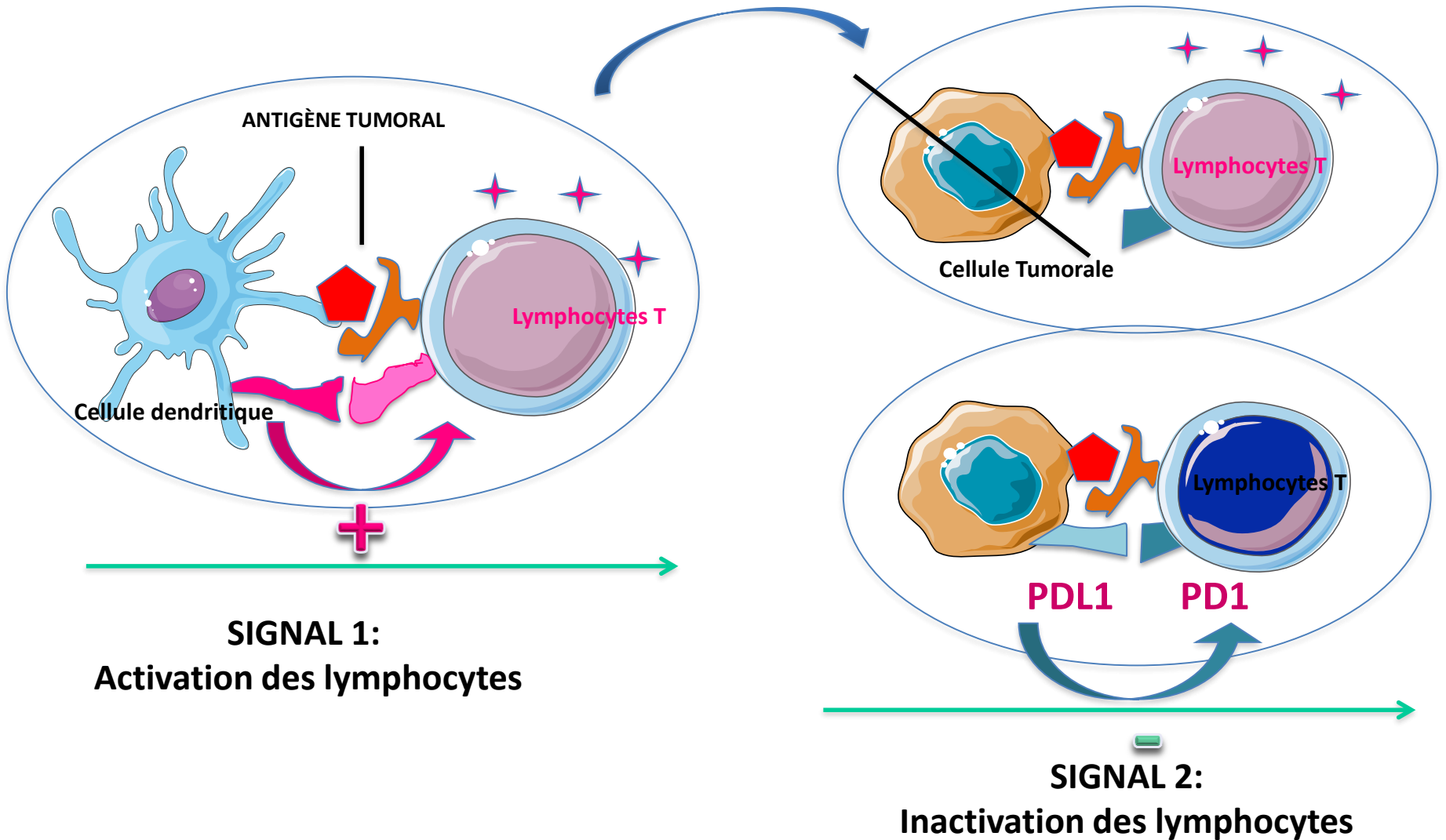
Les modulateurs de l'immunité: la révolution ?



SIGNAL 1:
Activation des lymphocytes

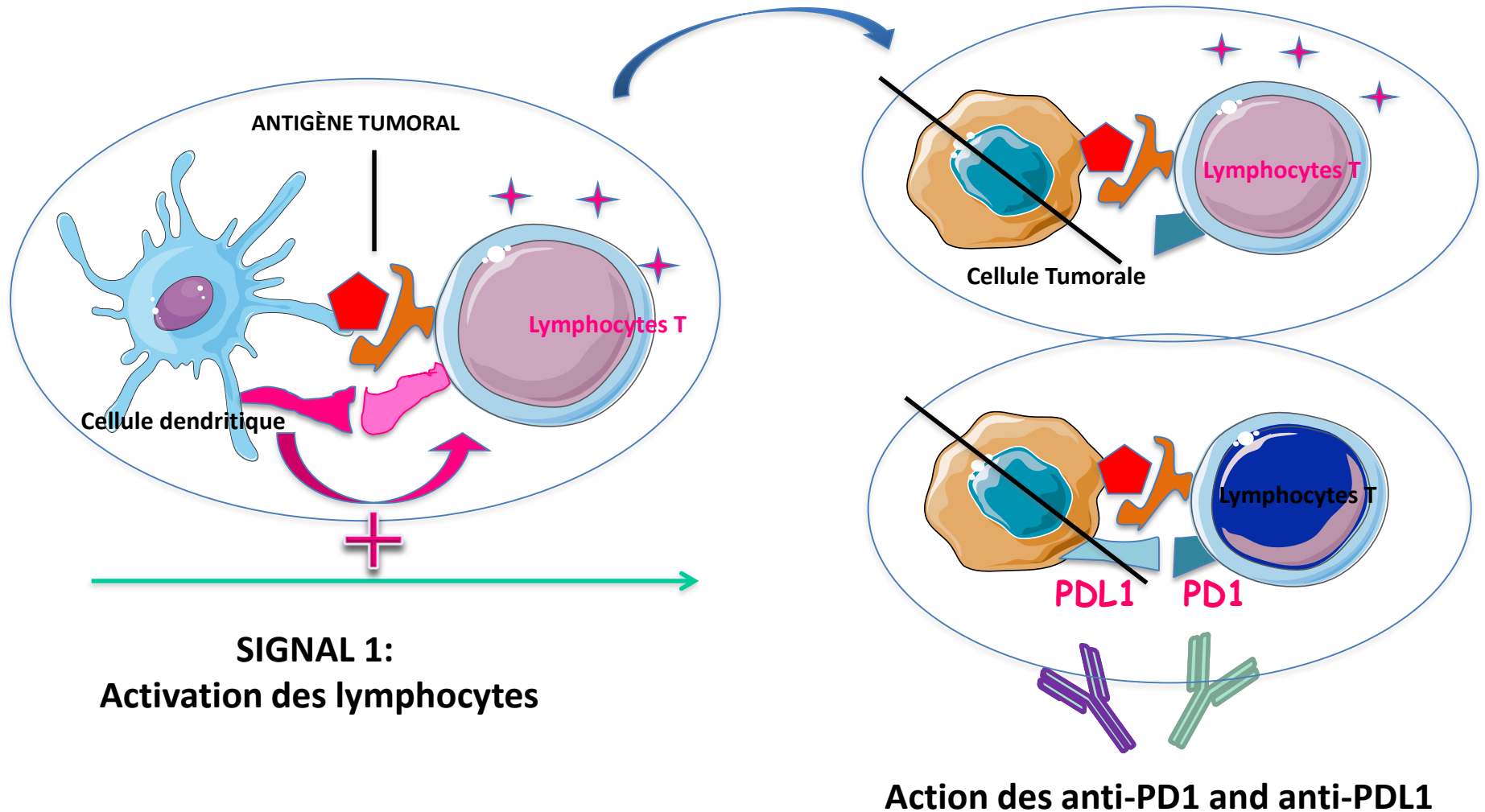
Immune checkpoints

Les modulateurs de l'immunité: la révolution ?



Immune checkpoints

Les modulateurs de l'immunité: la révolution ?



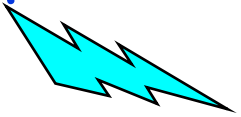
Les biomarqueurs compagnons des immunomodulateurs

- IHC de la cible elle-même. Ex : la protéine PDL1
- Le statut MSI
- Les mutations du gène *POLE*
- La charge mutationnelle (en NéoAgs)

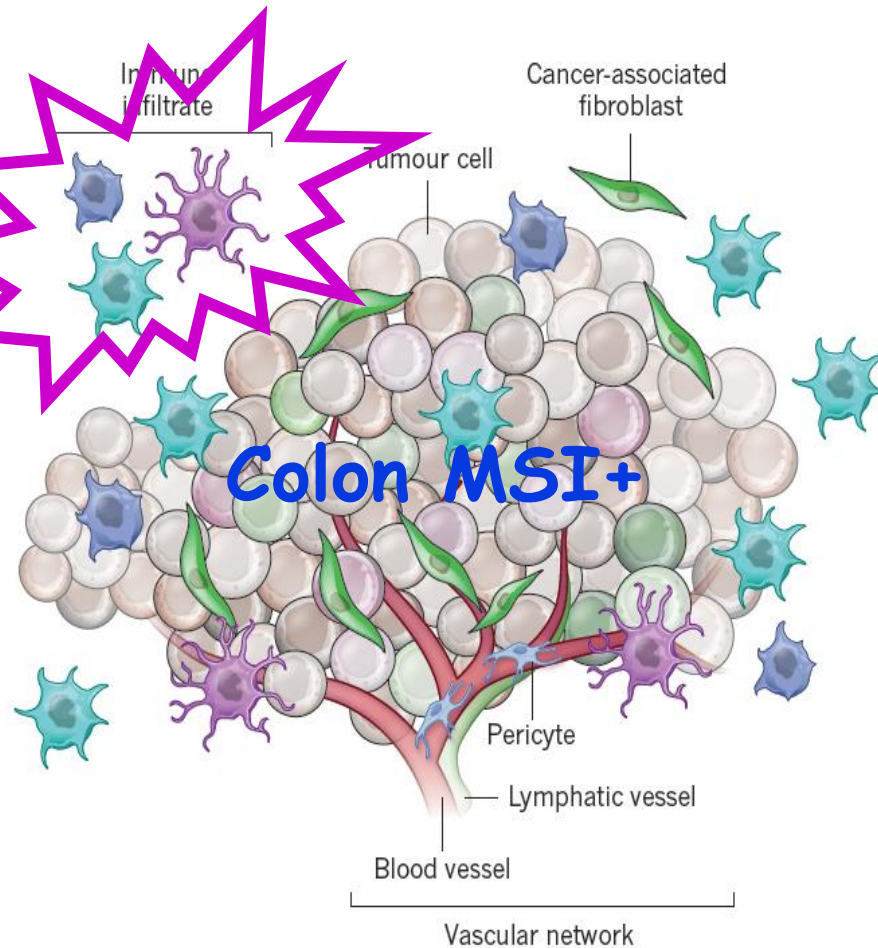
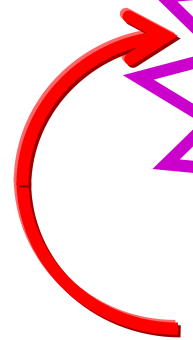


A Phase 2 Clinical Trial of Nivolumab and Nivolumab Plus Ipilimumab in Recurrent and Metastatic Microsatellite Instability High (MSI-H) Colon Cancer

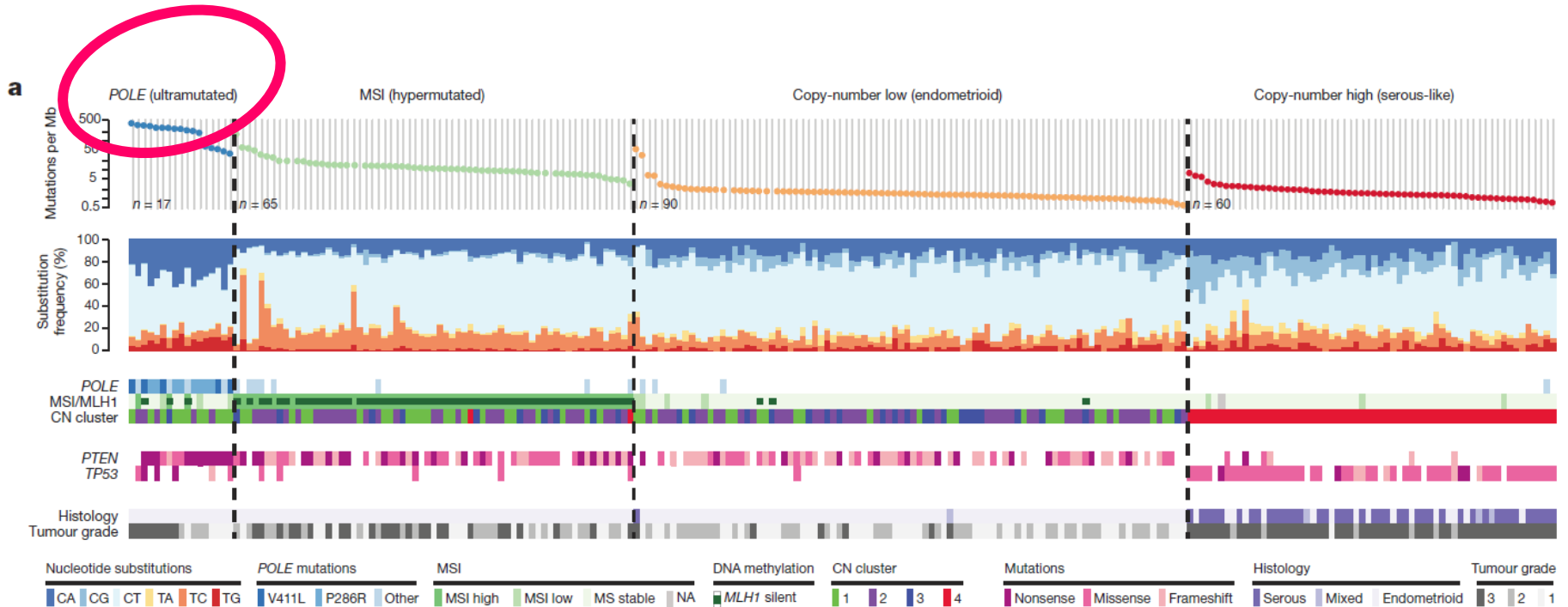
CTLA-4 inh
PD1 inh



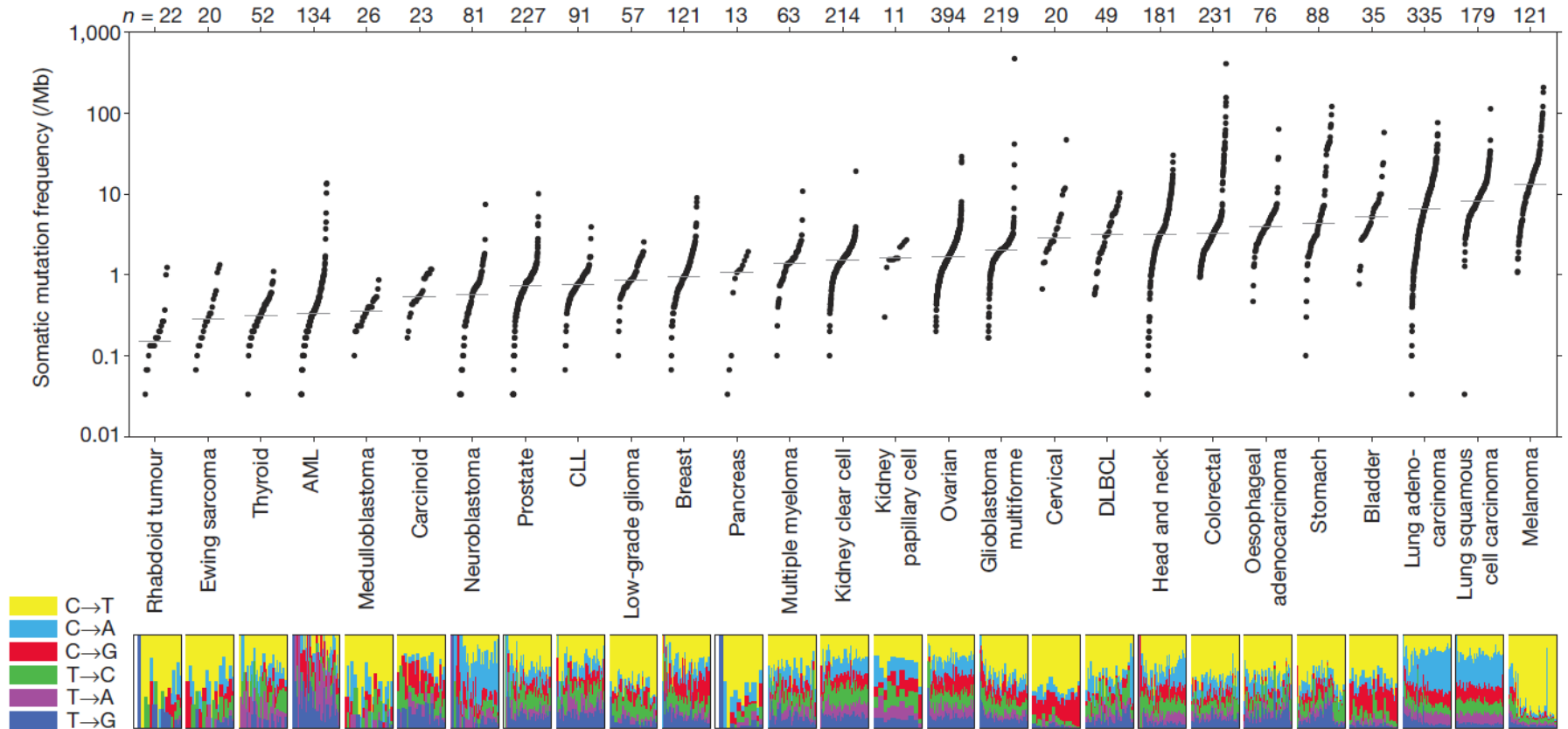
Néoantigènes



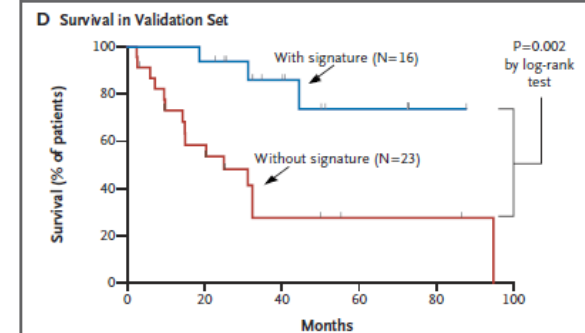
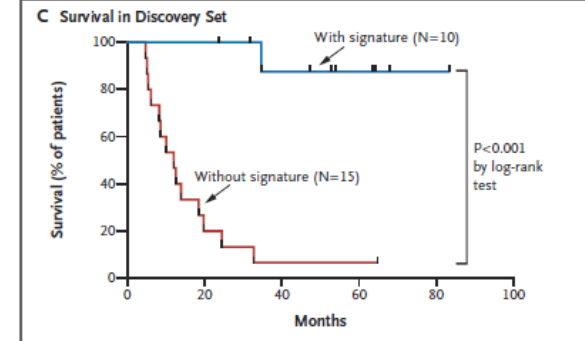
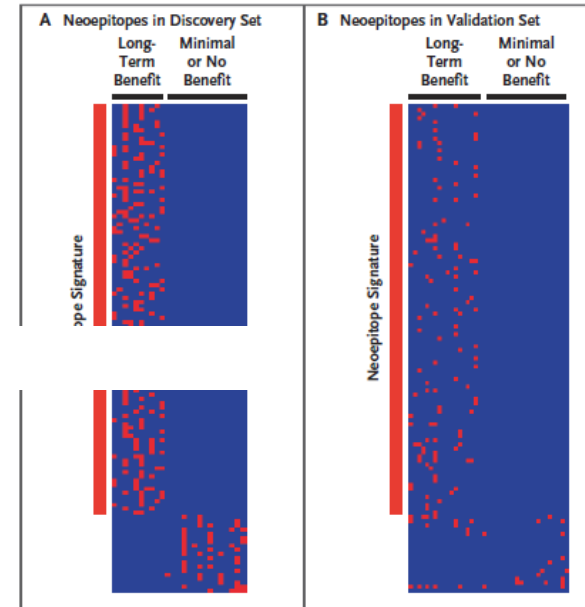
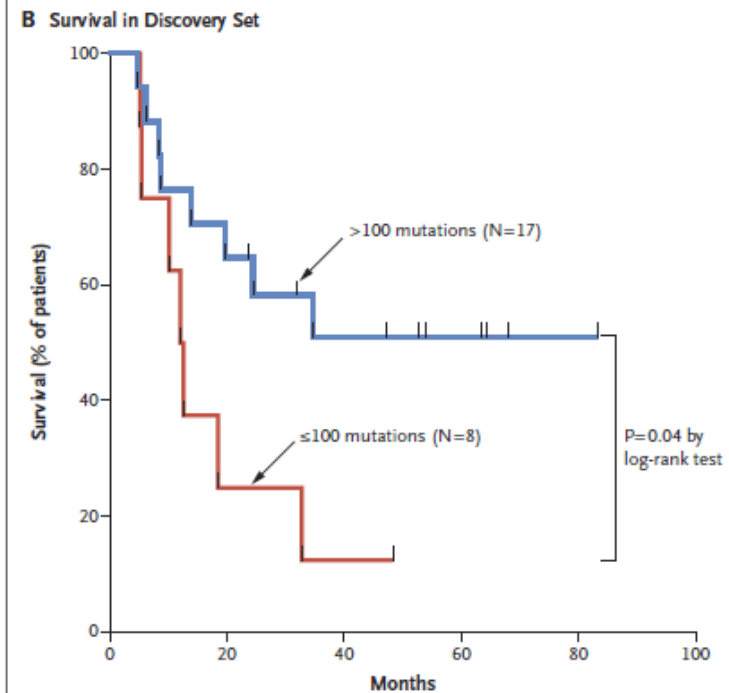
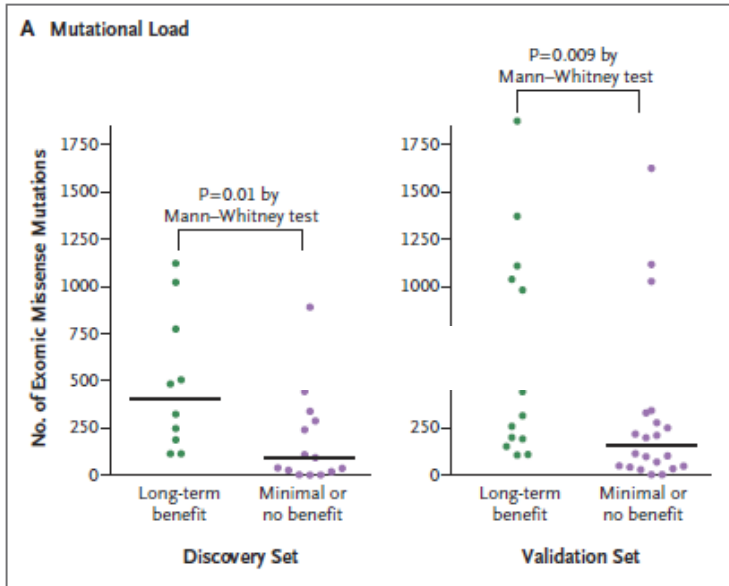
Mutations du gène *POLE* (TCGA : cancer de l'endomètre)

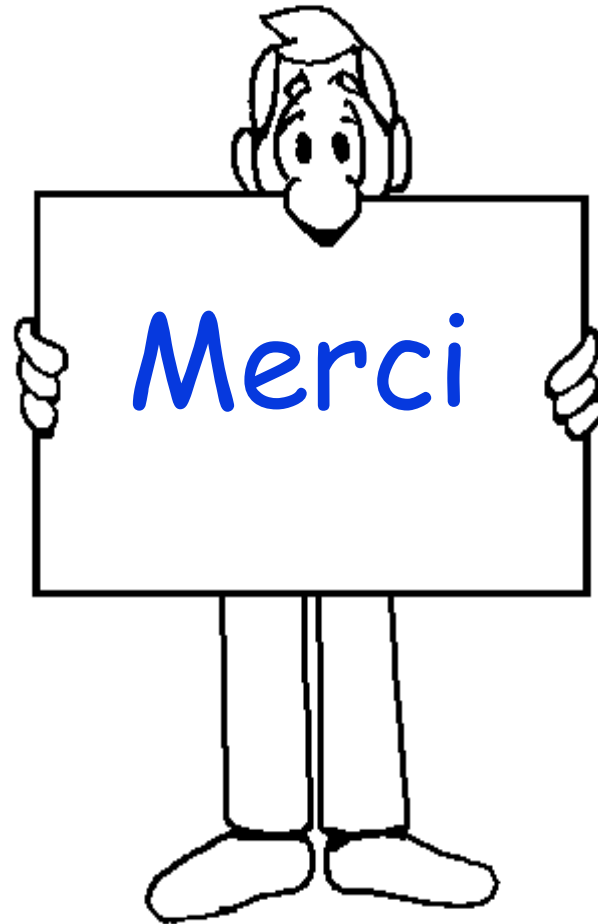


Fréquence de mutations somatiques par analyse d'exome de 3083 tumeurs



Charge en NéoAgs et traitement par l'Ipilimumab





Merci