

# Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique.

AP. Laurenty, J. Selves, R. Guimbaud.

## Objectifs pédagogiques

*Connaître les biomarqueurs utilisés en clinique dans le diagnostic et la prise en charge des CCR :*

- *Différencier les valeurs diagnostiques, pronostiques et théranostiques des biomarqueurs utilisés en clinique.*
- *Savoir interpréter les résultats en fonction de la situation clinique.*
- *Savoir quand, sur quel matériel et à qui demander le recherche des biomarqueurs du CCR.*

## CONFLITS D'INTÉRÊT

Pas de conflit d'intérêt sur le sujet

# Biomarqueurs des cancers colorectaux

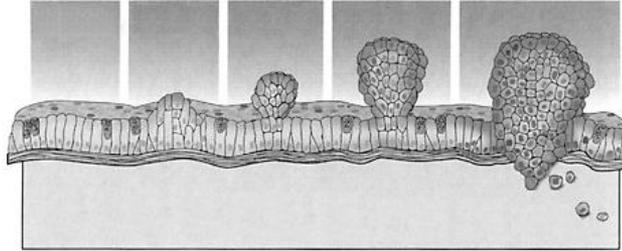
## Définition

**Caractéristique mesurable** (avec précision et reproductibilité) **indicateur** :

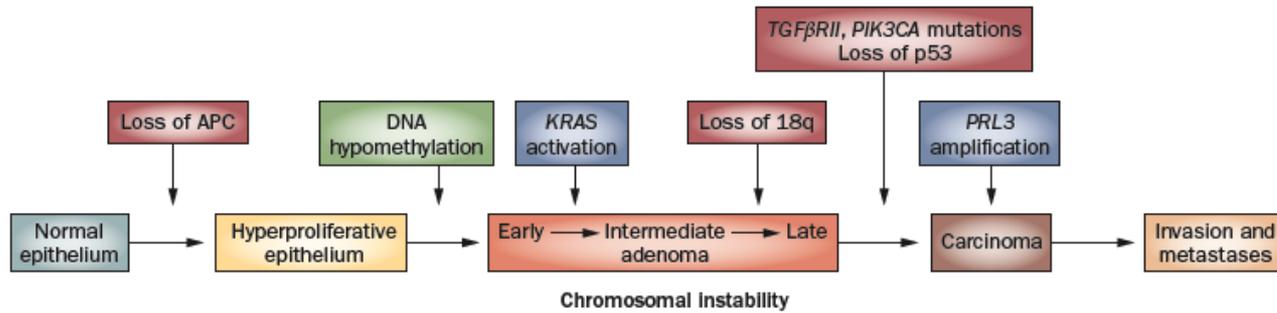
- du processus biologique ou génétique
- et/ou de la réponse lors d'une thérapie.

- **Constitutionnels** : DPD, UGT1A1, FcγRIIA...
- **Sériques** : ACE, cellules circulantes tumorales, ADN circulant...
- **Tumoraux** : **MSI, RAS, BRAF**

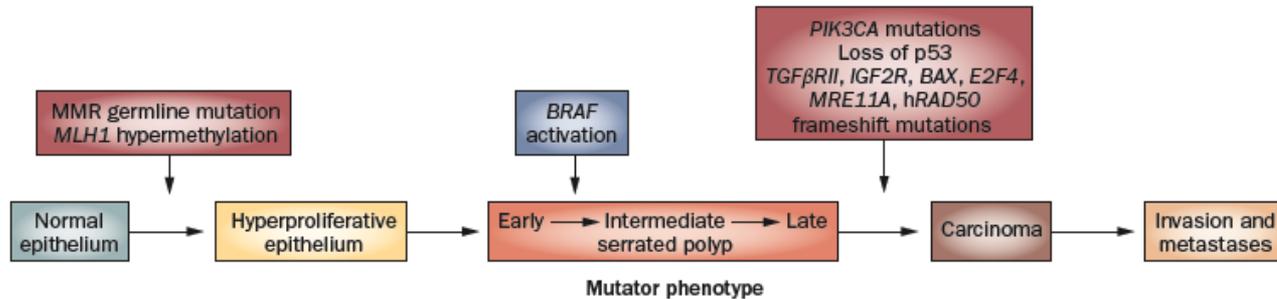
# Carcinogénèse colorectale



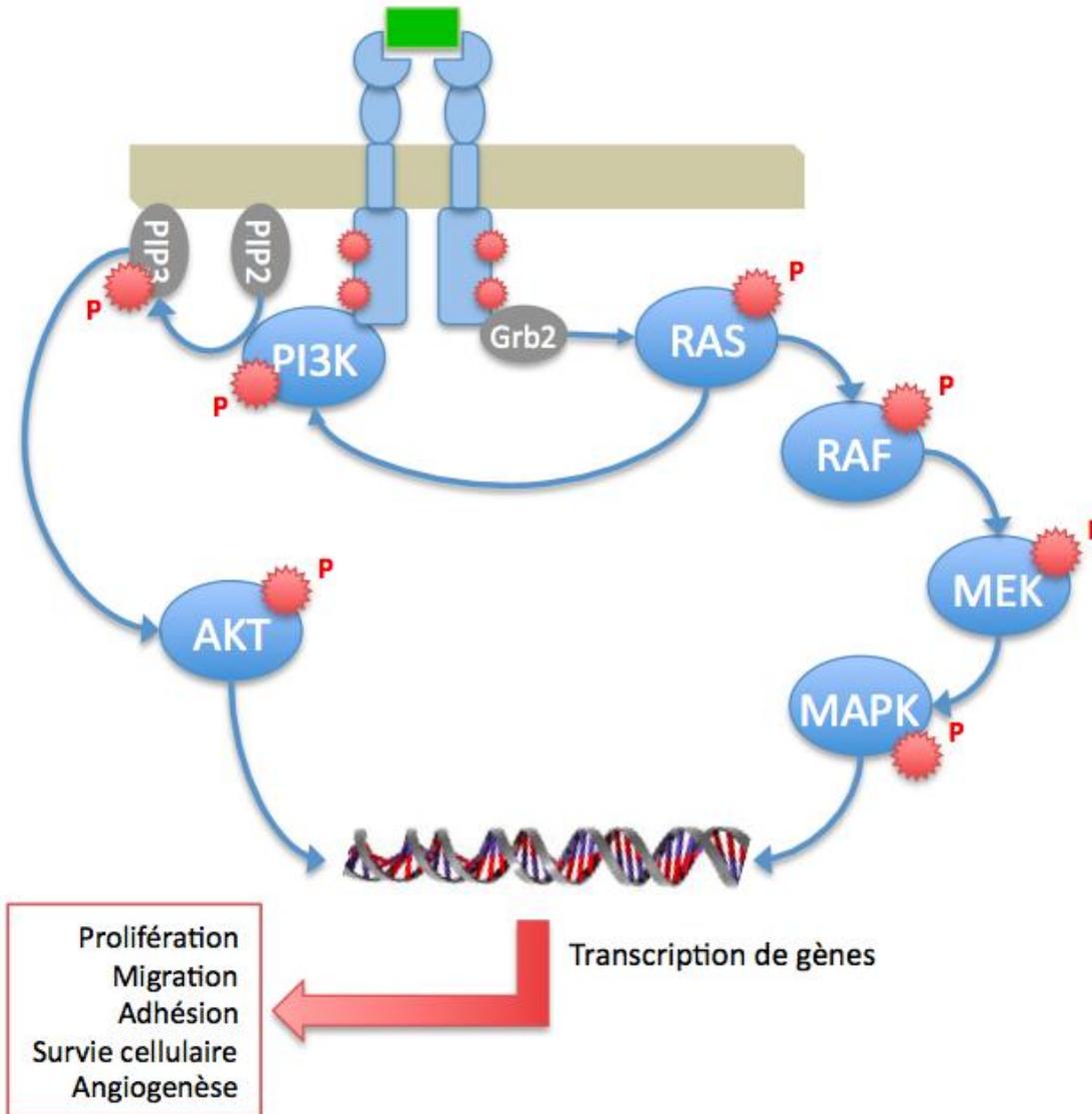
**Voie LOH**  
(85% des CCR)  
100% des PAF



**Voie IMS**  
(15% des CCR)  
100% des S. Lynch



# Carcinogénèse colorectale



# Biomarqueurs des cancers colorectaux utiles en pratique clinique

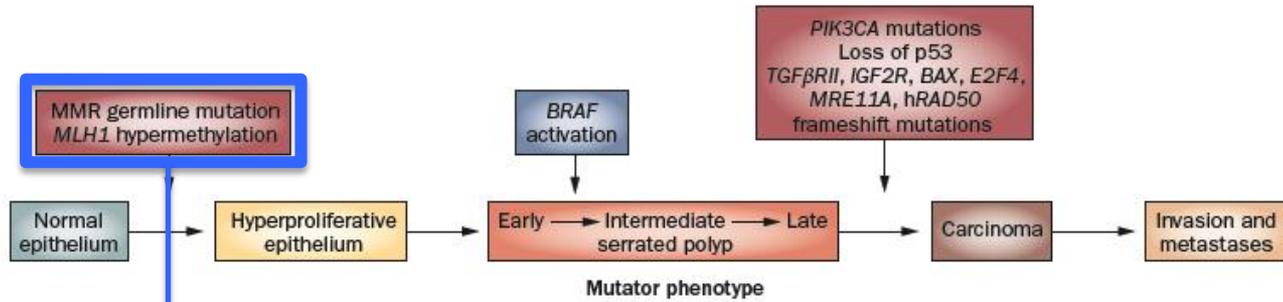
## Plan

- **IMS**
- **RAS**
- **BRAF**

1. **Positionnement / carcinogenèse - signalisation**
2. **Valeur pronostique**
3. **Valeur prédictive**
4. **Conséquences cliniques (diagnostique ou thérapeutique)**

# IMS : Instabilité MicroSatellitaire

**Voie IMS**  
(15% des CCR)  
100% des *S. Lynch*

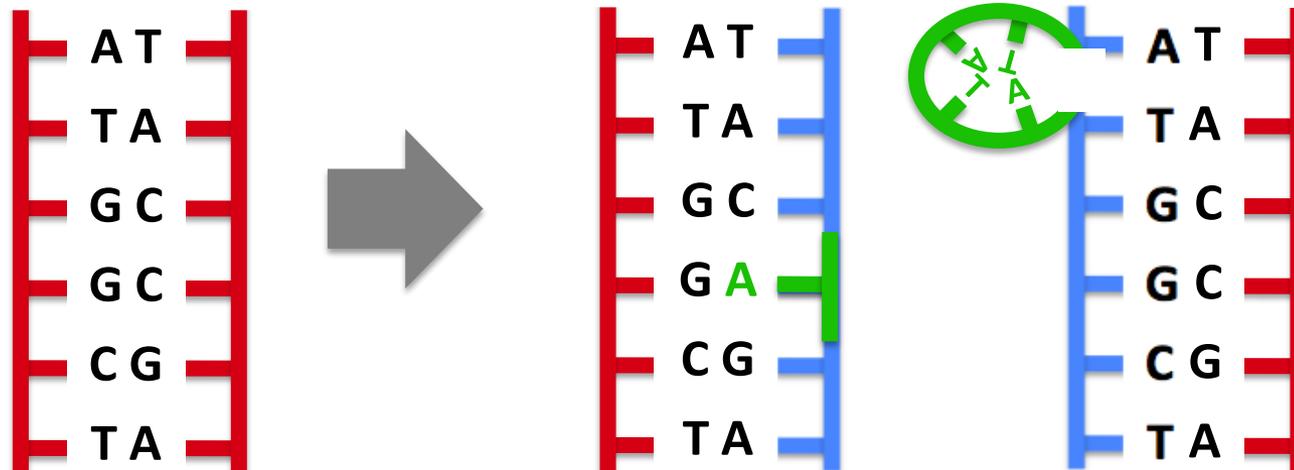
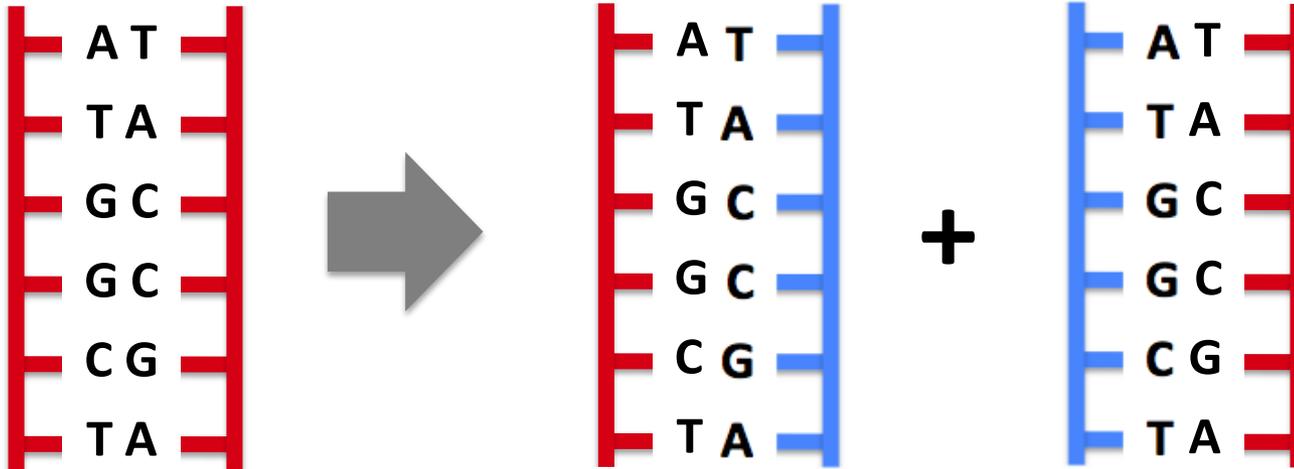


Mécanisme :

**Dysfonctionnement du système MMR**  
(protéines MLH1, PMS2, MSH2, MSH6...)

## Réplication :

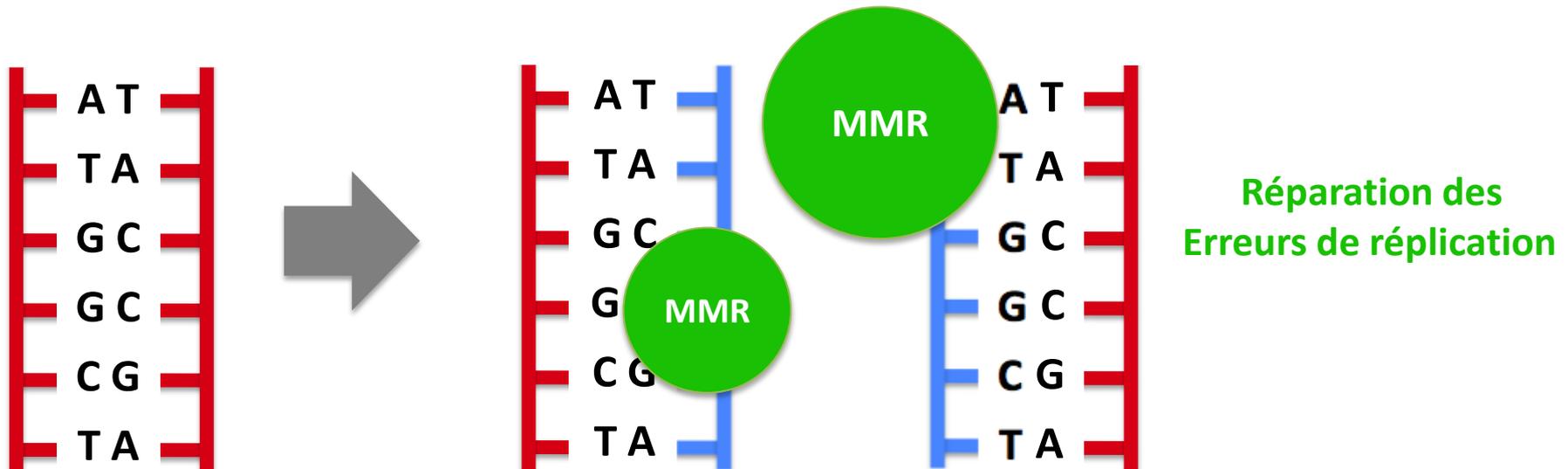
1 ADN = 2 ADN identiques (même séquence)



Erreurs de répliation

## Réplication :

1 ADN = 2 ADN identiques (même séquence)

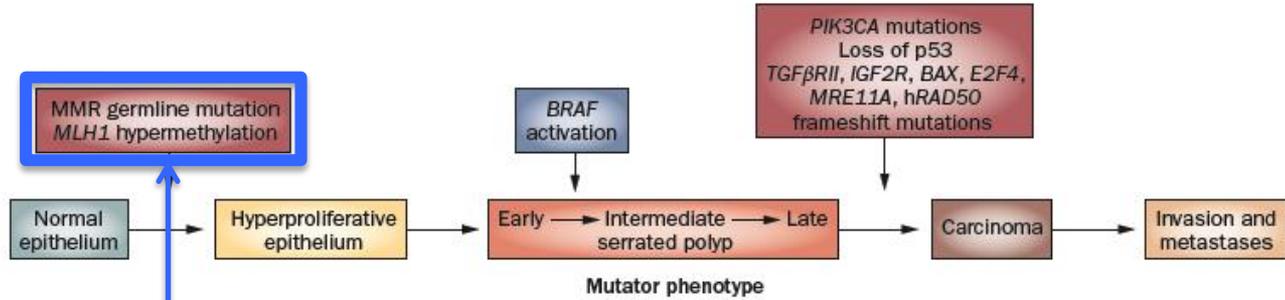


# Réplication :

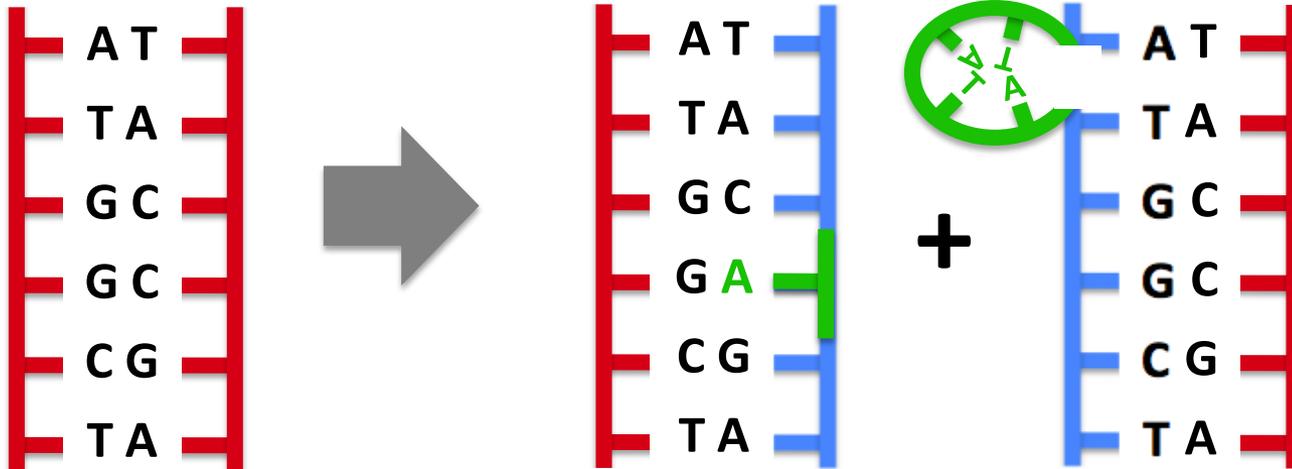
1 ADN = 2 ADN identiques (même séquence)

## Voie IMS

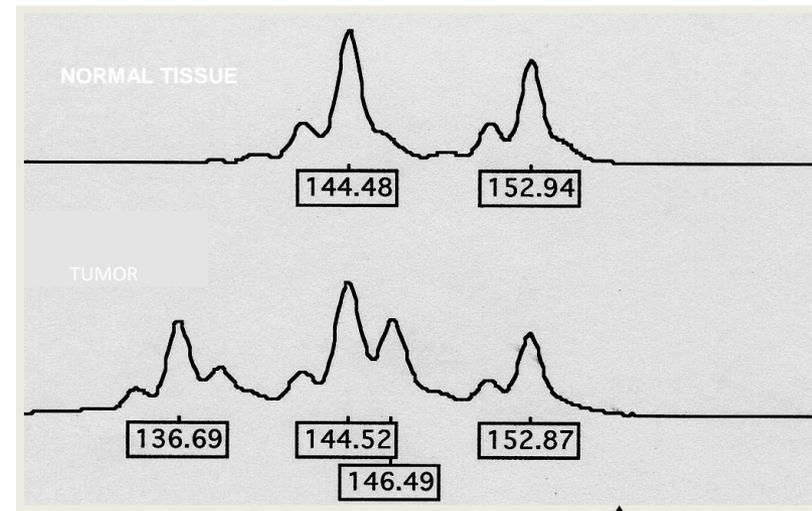
(15% des CCR)  
100% des *S. Lynch*



Dysfonctionnement du  
complexe protéique MMR  
(protéines MLH1, PMS2, MSH2, MSH6)

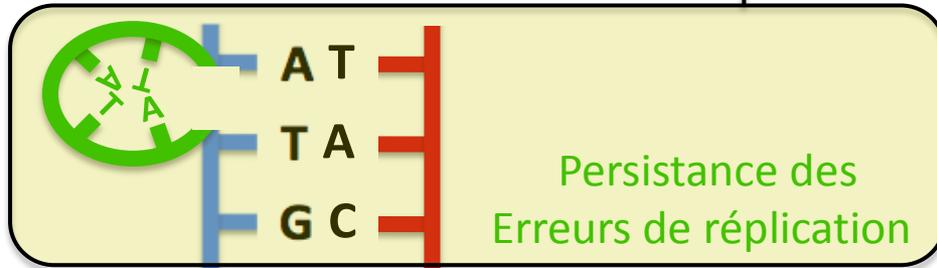
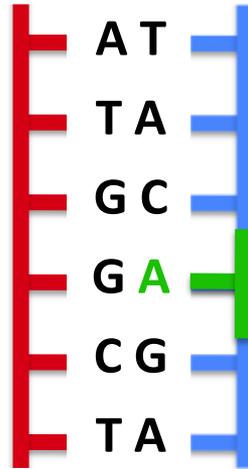
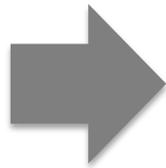
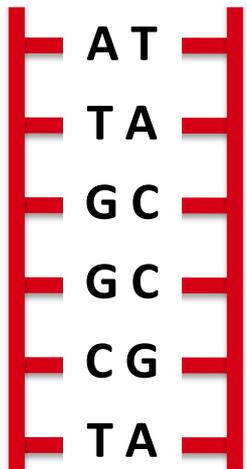


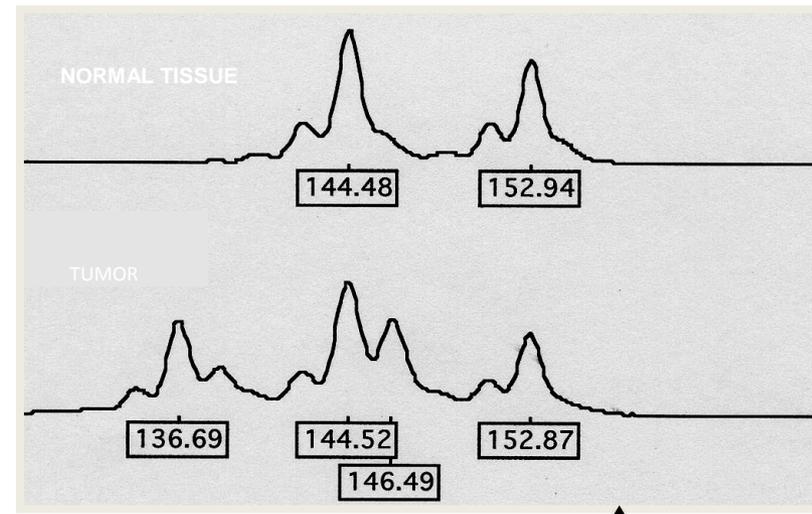
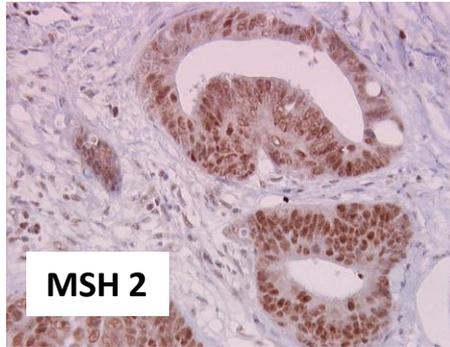
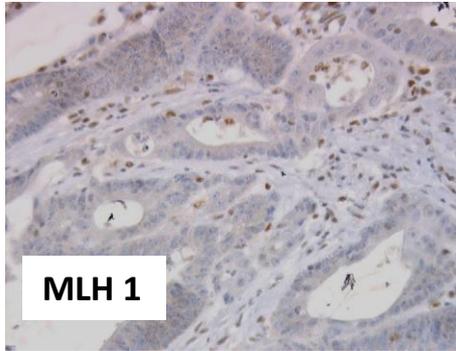
Persistance des  
Erreurs de réplication



Dysfonctionnement du  
complexe protéique MMR  
(protéines MLH1, PMS2, MSH2, MSH6)

Instabilité  
MicroSatellitaire

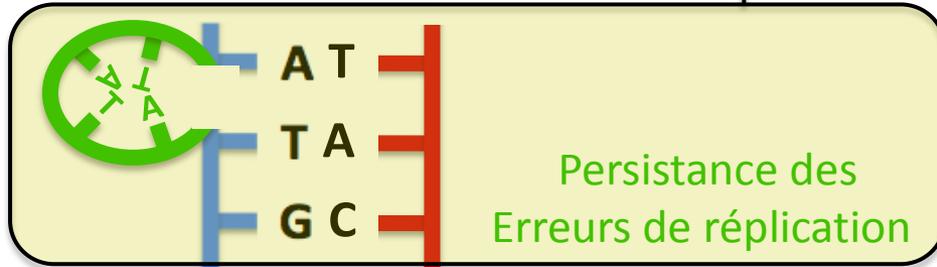
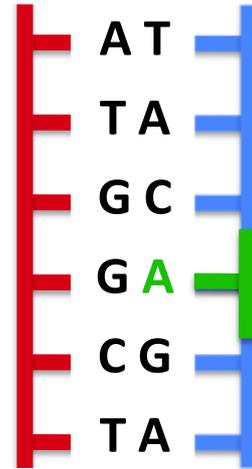
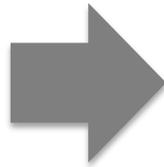
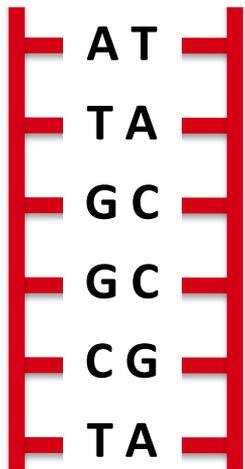




Immunohistochimie

Dysfonctionnement du  
complexe protéique MMR  
(protéines MLH1, PMS2, MSH2, MSH6)

Instabilité  
MicroSatellitaire

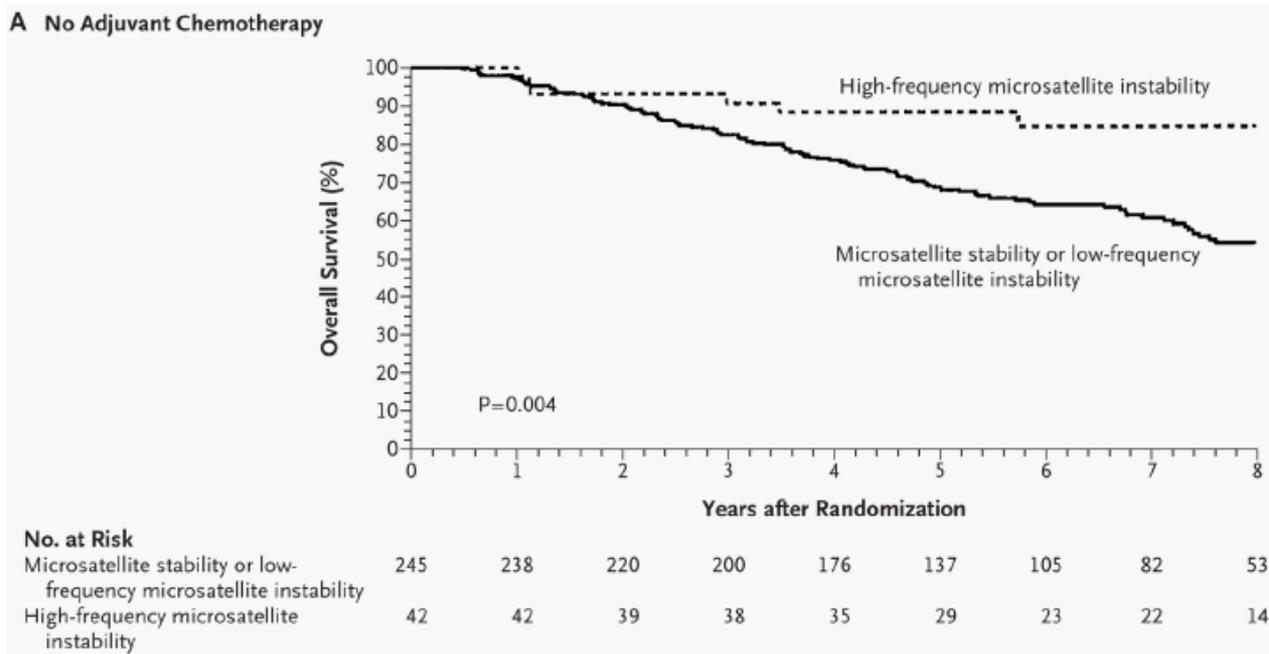


Phénotype RER+  
(Replicative ERror)

# IMS & pronostic

## Facteur de bon pronostic

Tous stades  
+++ pour stades II-III



MSI

MSS

# IMS & prédictif

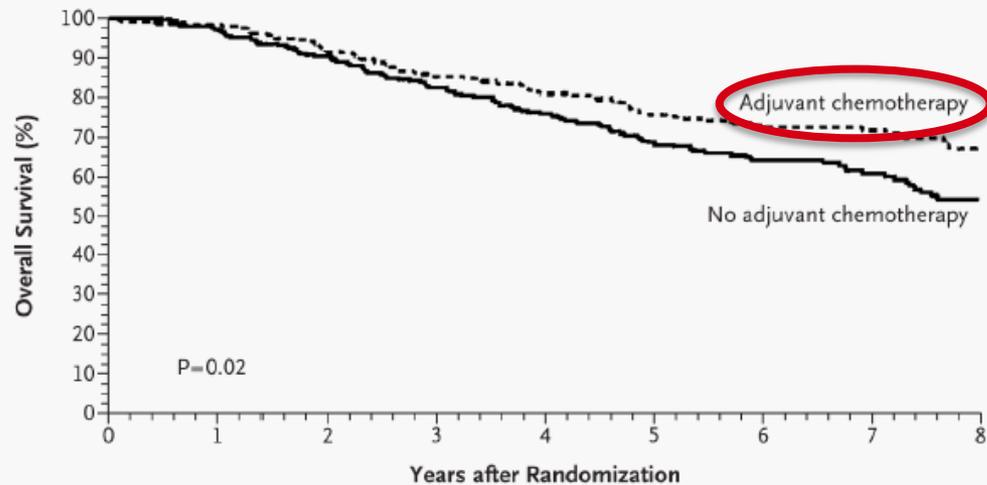
## Chimiothérapie adjuvante

2 situations différentes : 5FU ou FOLFOX

5FU  
mono

**CCR sans IMS (RER nég.) : Bénéfice du 5FU adjuvant**

A Patients with Tumors Exhibiting Microsatellite Stability or Low-Frequency Microsatellite Instability



**No. at Risk**

No adjuvant chemotherapy	245	238	220	200	176	137	105	82	53
Adjuvant chemotherapy	230	226	209	194	181	147	123	92	59

# IMS & prédictif

## Chimiothérapie adjuvante

2 situations différentes : 5FU ou FOLFOX

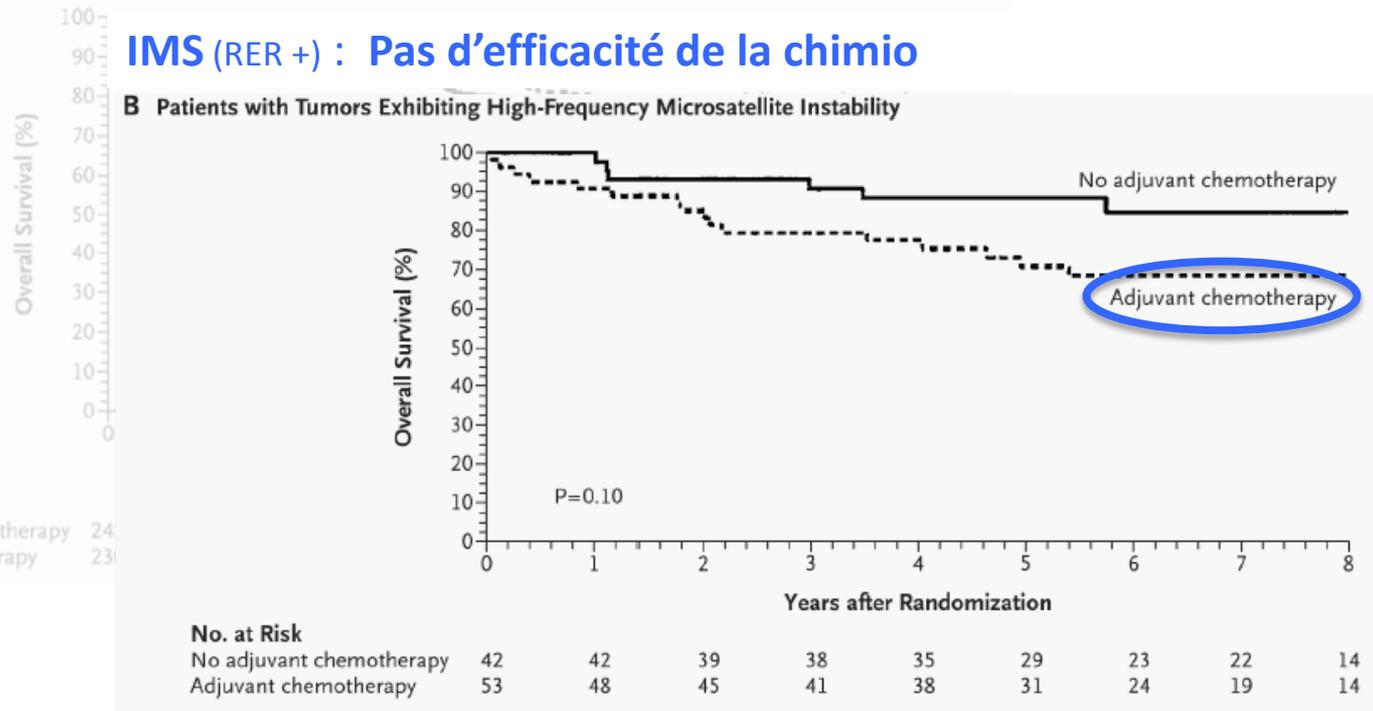
5FU  
mono

CCR sans IMS (RER nég.) : Bénéfice du 5FU adjuvant

A Patients with Tumors Exhibiting Microsatellite Stability or Low-Frequency Microsatellite Instability

IMS (RER +) : Pas d'efficacité de la chimio

B Patients with Tumors Exhibiting High-Frequency Microsatellite Instability



# IMS & prédictif

## Chimiothérapie adjuvante

2 situations différentes : 5FU ou FOLFOX



**5FU**  
mono

**CCR stades II-III avec IMS :  
Pas d'efficacité  
de la chimio adjuvante par 5FU monothérapie**

**Confirmé par autres études et études « poolées »**

# IMS & prédictif

## Chimiothérapie adjuvante

2 situations différentes : 5FU ou FOLFOX

FOLFOX

**CCR stades II-III avec IMS :**  
**Pas d'argument pour un manque d'efficacité**  
**de la chimio adjuvante par FOLFOX**

- **NSABP-07** (FUFOL vs FUFOL + OXA)

*Pas d'interaction entre IMS et bénéfice de l'oxaliplatine (Kuebler JP, JCO 2007).*

- **MOSAIC** (FOLFOX vs LV5FU2)

*Maintien du bénéfice du FOLFOX dans sous-groupe IMS (Flejou JF, ASCO 2013)*

- **AGEO** (série rétrospective, n = 433 CC IMS)

*Bénéfice du FOLFOX adjuvant et inefficacité du 5FU confirmés pour stade III (Tougeron D, JFHOD 2014)*

# IMS & conséquences cliniques thérapeutiques et diagnostiques

- **Indications de chimio adjuvante / CCR II-III :**
    - **Stade II avec IMS :**
      - Bon pronostic
      - 5FU seul inefficace
- Pas de chimio (TNCD)**

- - - reuse(T3) ou e (T4)

### 3.4.4.3.1. reuce

- ☒ En cas de statut MSI ou en l'absence de facteurs de mauvais pronostic reconnus : pas de rapie,
- ☒ En cas de facteurs de mauvais pronostic pour les tumeurs MSS : pas de rences.

### 3.4.4.3.2. Options

- ☒ **En cas de facteurs de mauvais pronostic reconnus** (T4, nombre de ganglions s < 12, tumeur peu e, invasion veineuse lymphatique ou rinerveuse, perforation et pour certains occlusion) : une rapie peut être e aux patients n'ayant pas de , en bon tat ral avec une tumeur MSS. En l'absence de preuve de niveau A d' et de consensus dans cette situation, la prudence est souhaitable ainsi que l'explication aux patients de la balance fice/risque dans leur cas ( cision dicale e). Les mas s doivent avoir peu de risque toxique : fluoropyrimidines orales, LV5FU2 . Le ma FOLFOX4 peut se discuter principalement chez des patients de moins de 70 ans avec tumeur T4 et/ou moins de 12 ganglions s. En cas d'utilisation du protocole FOLFOX4, l'oxaliplatine devra être interrompu s l'apparition d'une de grade 2 (cf. infra) (accord d'experts)
- ☒ **En cas d' microsatellite tumorale, une rapie adjuvante n'est pas e (niveau de la recommandation : grade B).**

# IMS & conséquences cliniques thérapeutiques et diagnostiques

- **Indications de chimio adjuvante / CCR II-III :**

- **Stade II avec IMS :**

- Bon pronostic
- 5FU seul inefficace

} **Pas de chimio (TNCD)**

- **Stade III avec IMS :**

- chimio adjuvante (FOLFOX) : oui
- Pas de 5FU mono...



- *Sujets âgés, stade III, 5FU seul*
- *Arrêt prématuré de l'oxali. et poursuite par 5FU seul*

# IMS & conséquences cliniques thérapeutiques et **diagnostiques**

- Indications de chimio adjuvante / CCR II-III
- **Diagnostic de Sd de Lynch**

# Stratégie diagnostique du Sd de Lynch

CCR < 60 ans  
CCR + ATCD K spectre

CCR / Lynch

Tous les CCR

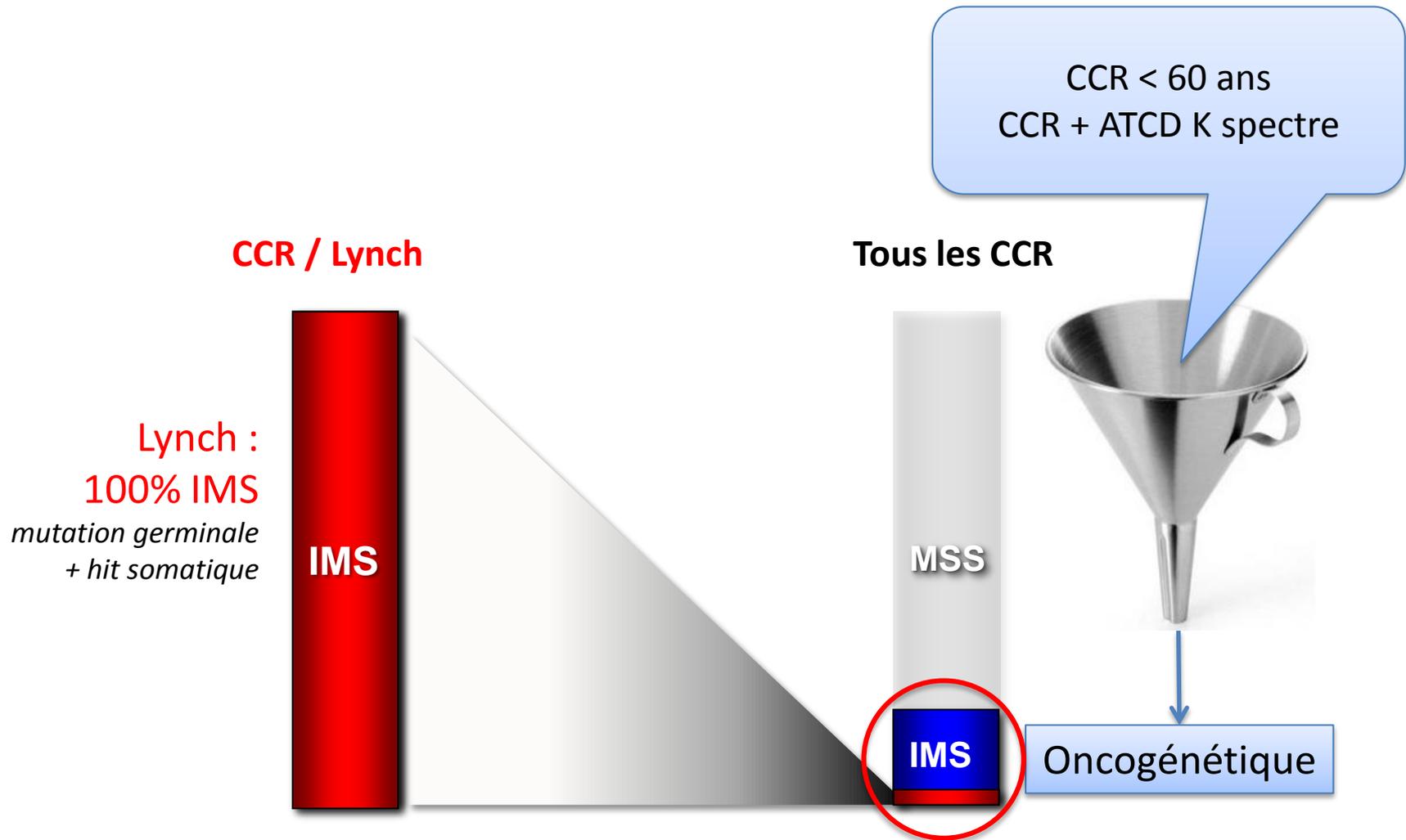
Lynch :  
100% IMS  
*mutation germinale  
+ hit somatique*



CCR sporadiques :  
15% IMS

*hyperméthylation du promoteur de MLH1*

# Stratégie diagnostique du Sd de Lynch



Ligand  
(EGF, TGFa,  
amphiréguline,  
épiréguline...)

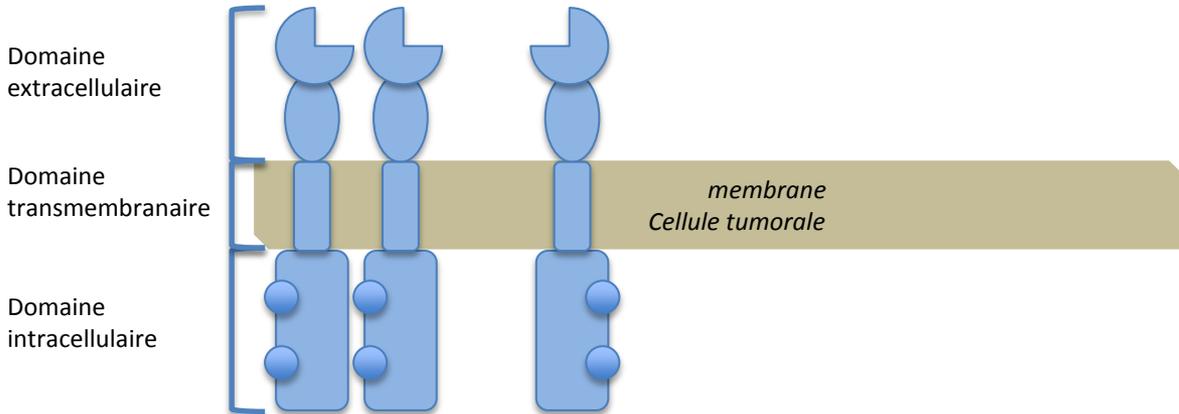


# Voie de l'EGF-R (suractivée / CCR)



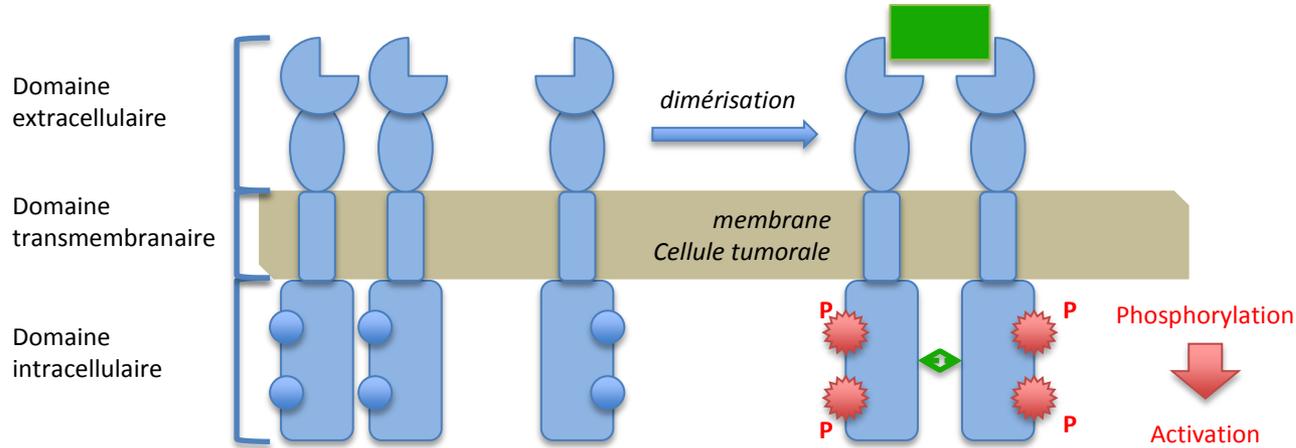
*Biomarqueurs :*

**RAS**  
**BRAF**



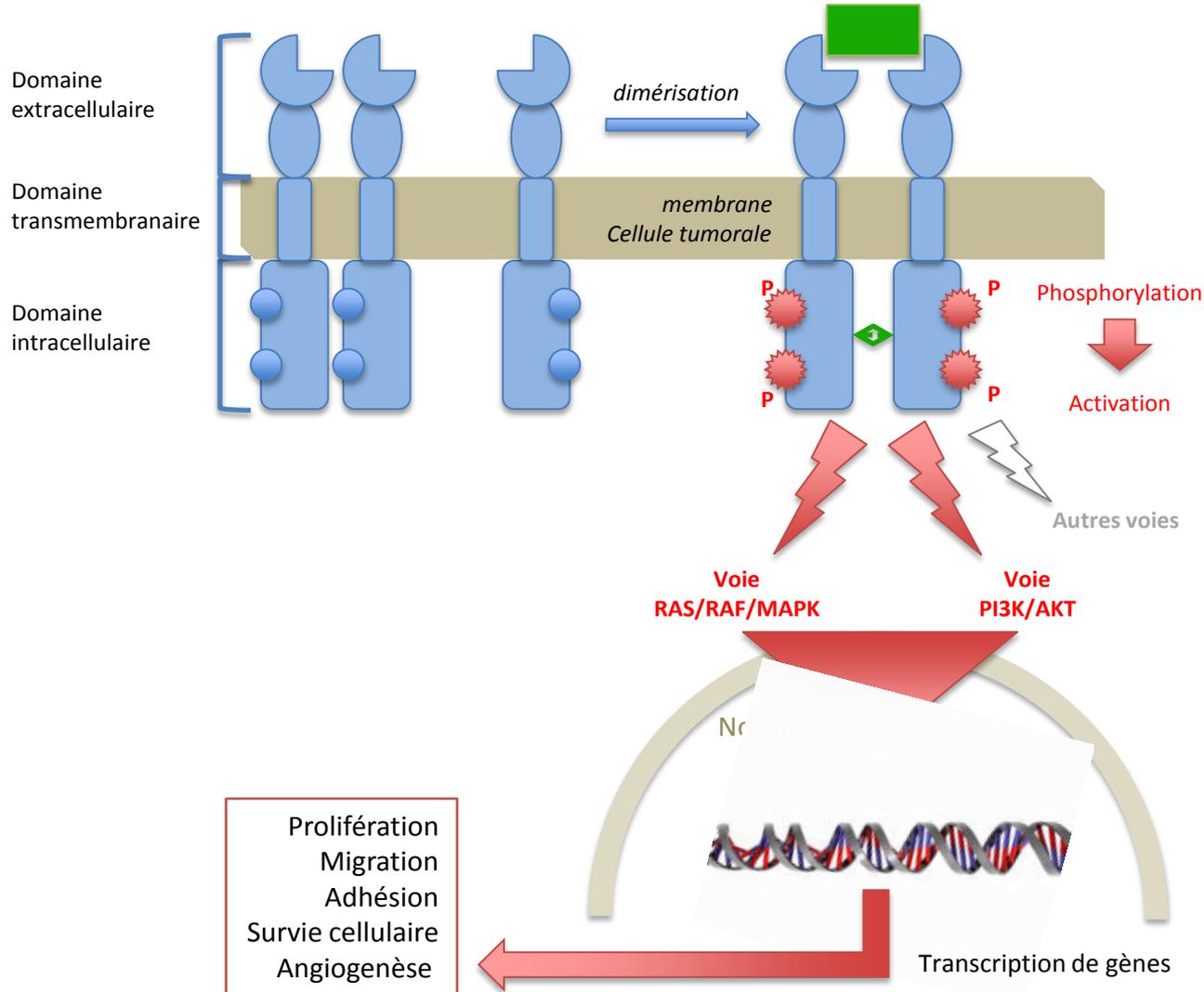
# Voie de l'EGF-R (suractivée / CCR)

Ligand  
(EGF, TGF $\alpha$ ,  
amphiréguline,  
épiréguline...)



# Voie de l'EGF-R (suractivée / CCR)

Ligand  
(EGF, TGFA,  
amphiréguline,  
épiréguline...)

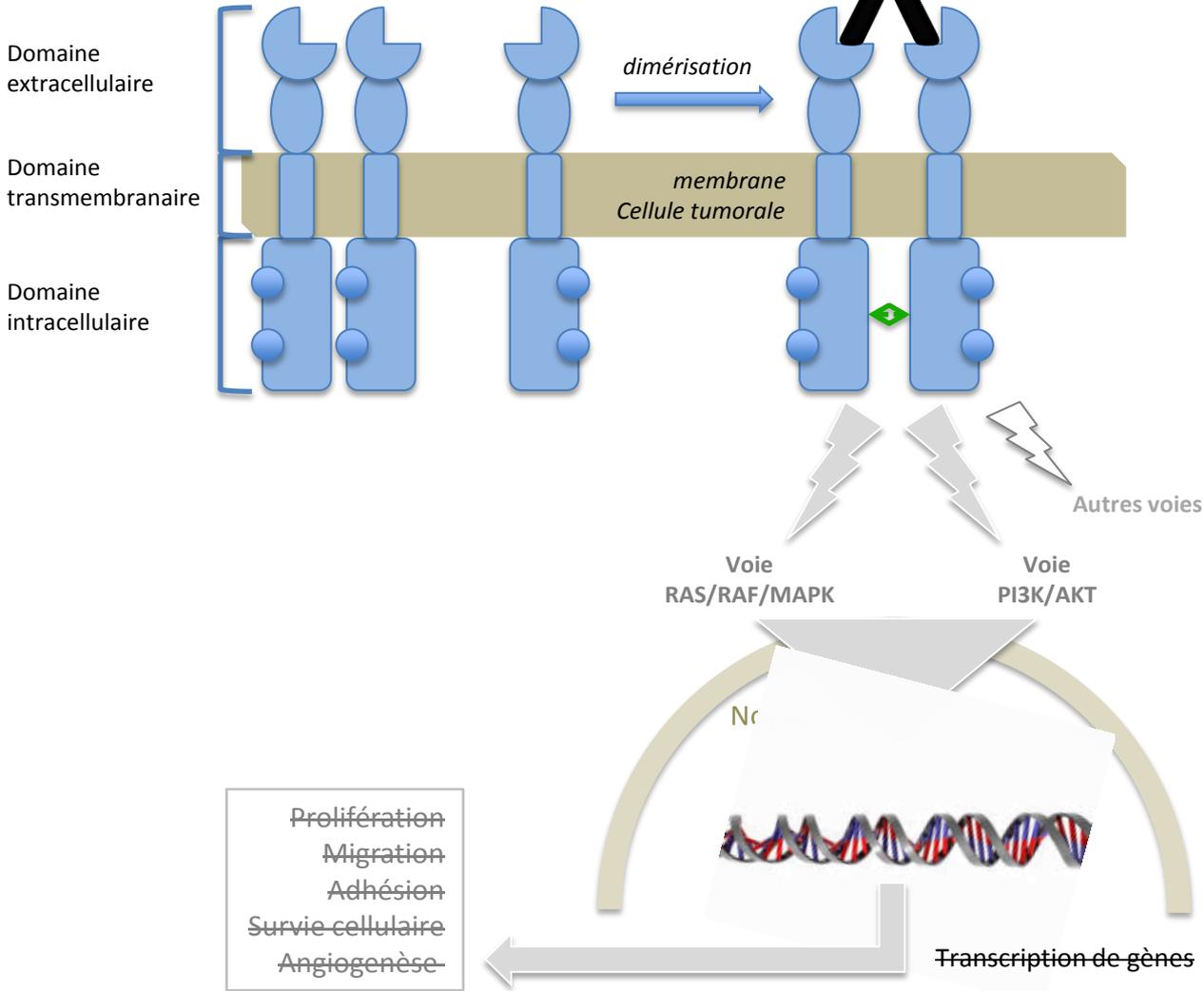


# Thérapies anti-EGFR

Depuis 2004

Ligand  
(EGF, TGFA,  
amphiréguline,  
épiréguline...)

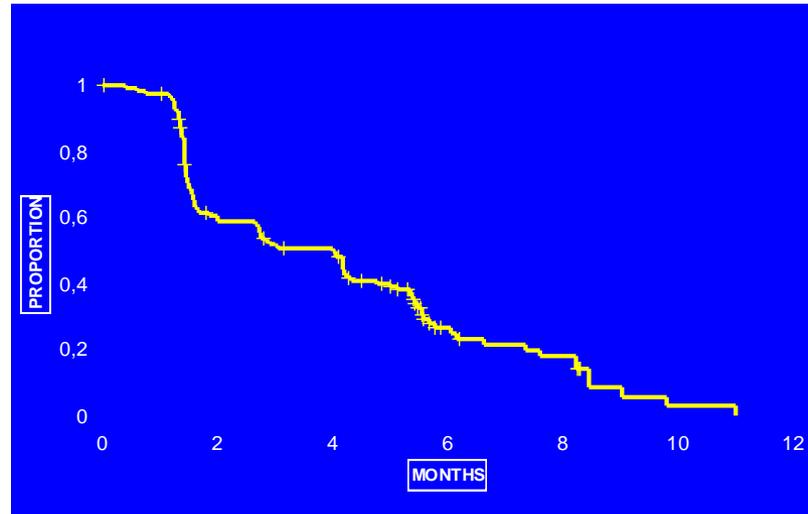
Ac anti-EGFR  
(cetuximab, panitumumab)



# Thérapies anti-EGFR

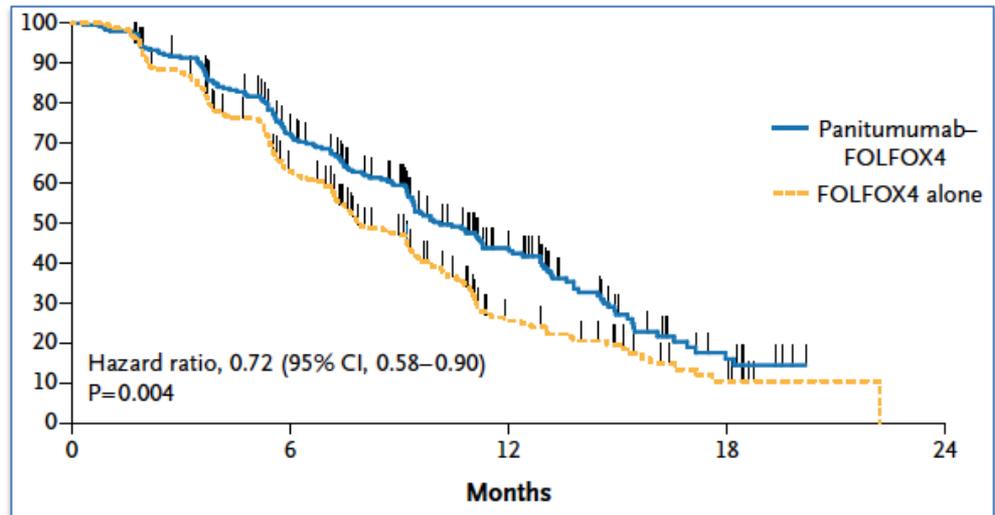
## Progrès thérapeutique / CCR métastatiques

En 3<sup>ème</sup> ligne  
(Cetuximab)  
en monothérapie  
Etude BOND, NEJM 2004

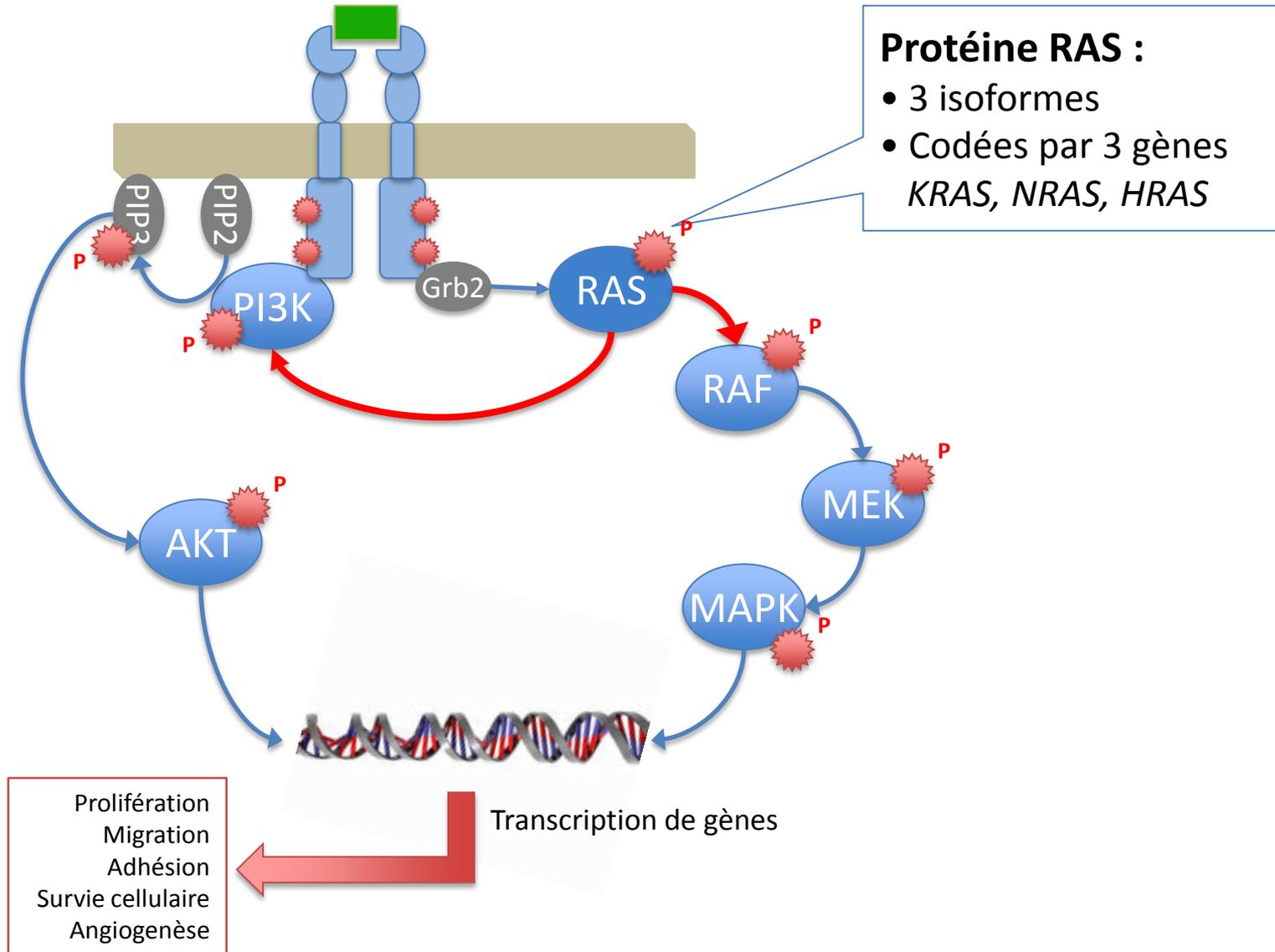


Survie sans progression

En 1<sup>ère</sup> ligne en monothérapie  
(Panitumumab)  
Associé au FOLFOX  
Etude PRIME, NEJM 2013

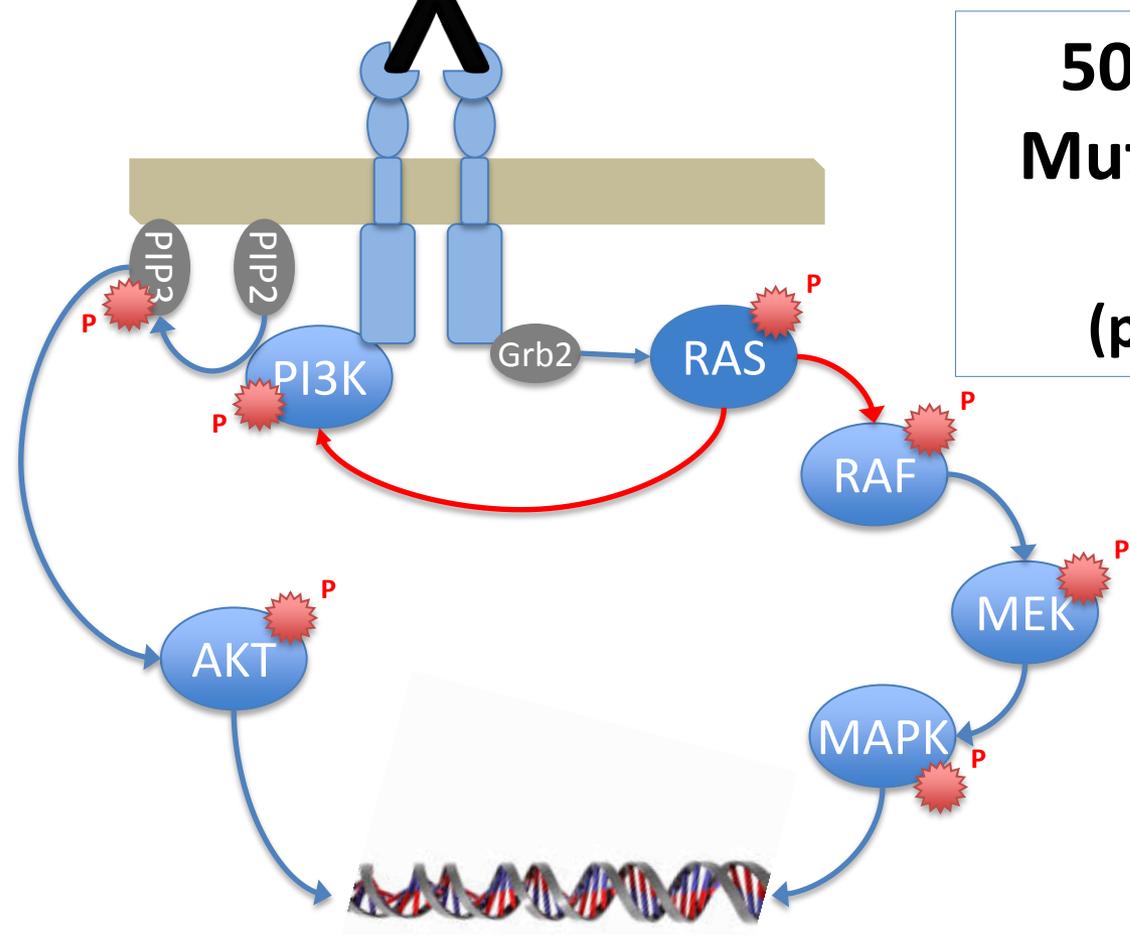


# Biomarqueur : RAS



### Ac anti-EGFR

(cetuximab, panitumumab)



**50% des CCR avec Mutation activatrice du gène RAS (prot. RAS activée)**

- Prolifération
- Migration
- Adhésion
- Survie cellulaire
- Angiogenèse

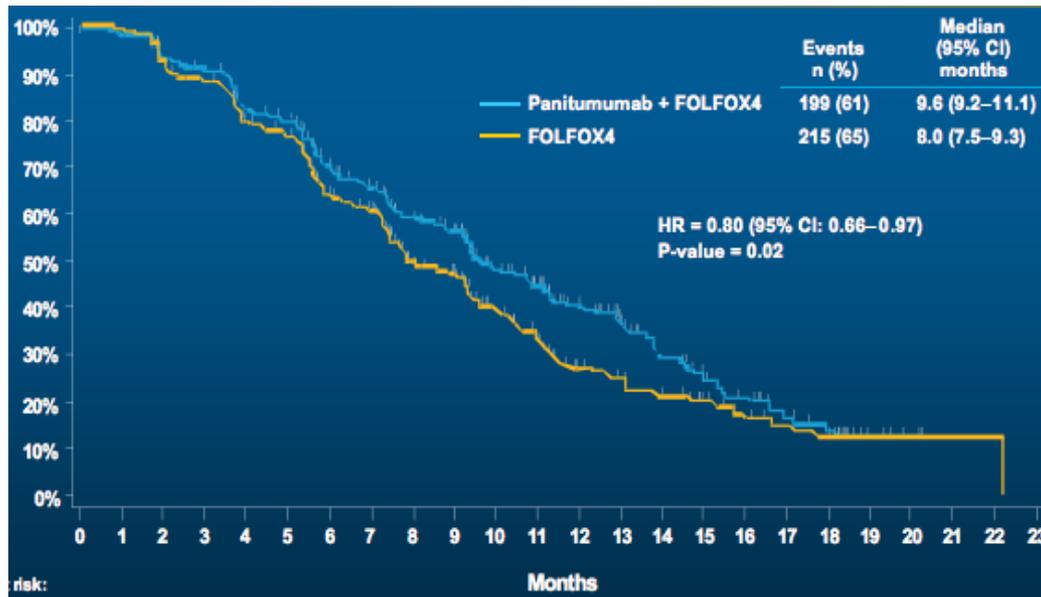
Transcription de gènes



# RAS & prédictif

## Thérapies anti-EGFR

- **Dès 2006 :**
  - mutations KRAS (exon 2) - **40%** des CCR
  - **Facteur de résistance aux anti-EGFR**



KRAS WT

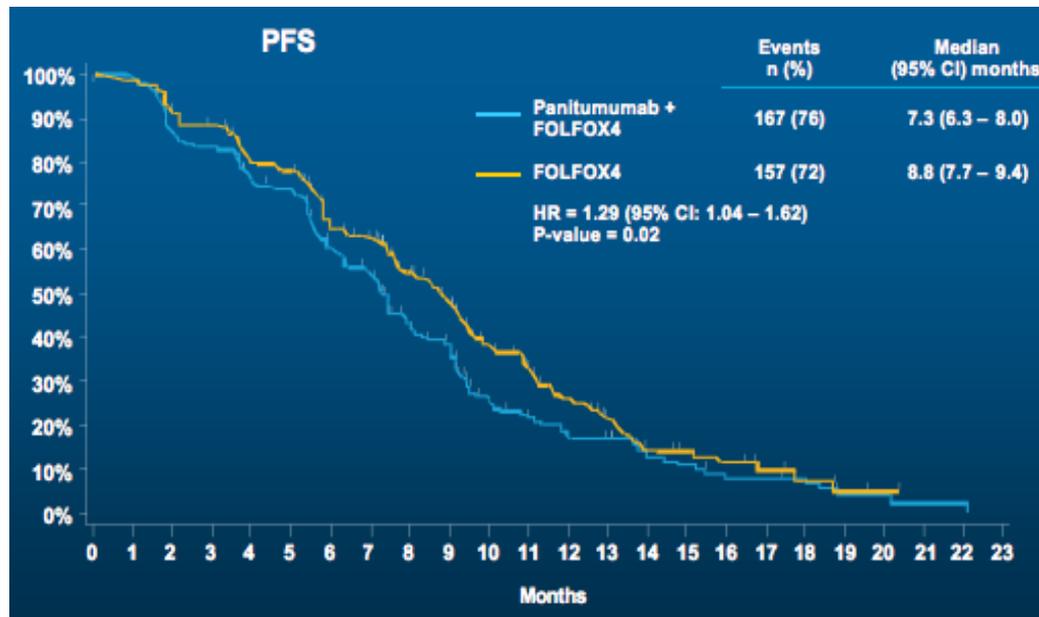


Efficace

# RAS & prédictif

## Thérapies anti-EGFR

- **Dès 2006 :**
  - mutations KRAS (exon 2) - **40%** des CCR
  - **Facteur de résistance aux anti-EGFR**



**KRAS muté**



**Inefficace  
Voire délétère**

# RAS & prédictif

## Thérapies anti-EGFR

- **Dès 2006 :**
  - mutations KRAS (exon 2) - **40%** des CCR
  - **Facteur de résistance aux anti-EGFR (AMM limitée)**
- **2013 :**
  - autres mutations de RAS (KRAS exons 3-4 et NRAS) – **10% des CCR**
  - Même valeur prédictive négative que les mutations KRAS exon 2

# RAS & prédictif

## Thérapies anti-EGFR

- **Dès 2006 :**

- mutations KRAS (90% des mutations RAS)
- Facteur de pronostic (OS, PFS, TMM limitée)

- **2013 :**

- autres mutations RAS (NRAS, HRAS) – **10% des CCR**
- Même valeur pronostic pour les mutations KRAS exon 2

~ 50% des CCR  
Mutation gènes RAS  
(KRAS – NRAS)

**Anti-EGFR inefficace** pour les mutations KRAS

# RAS & Pronostic



**Pas de valeur pronostique démontrée**

# RAS & conséquences cliniques thérapeutiques

AMM

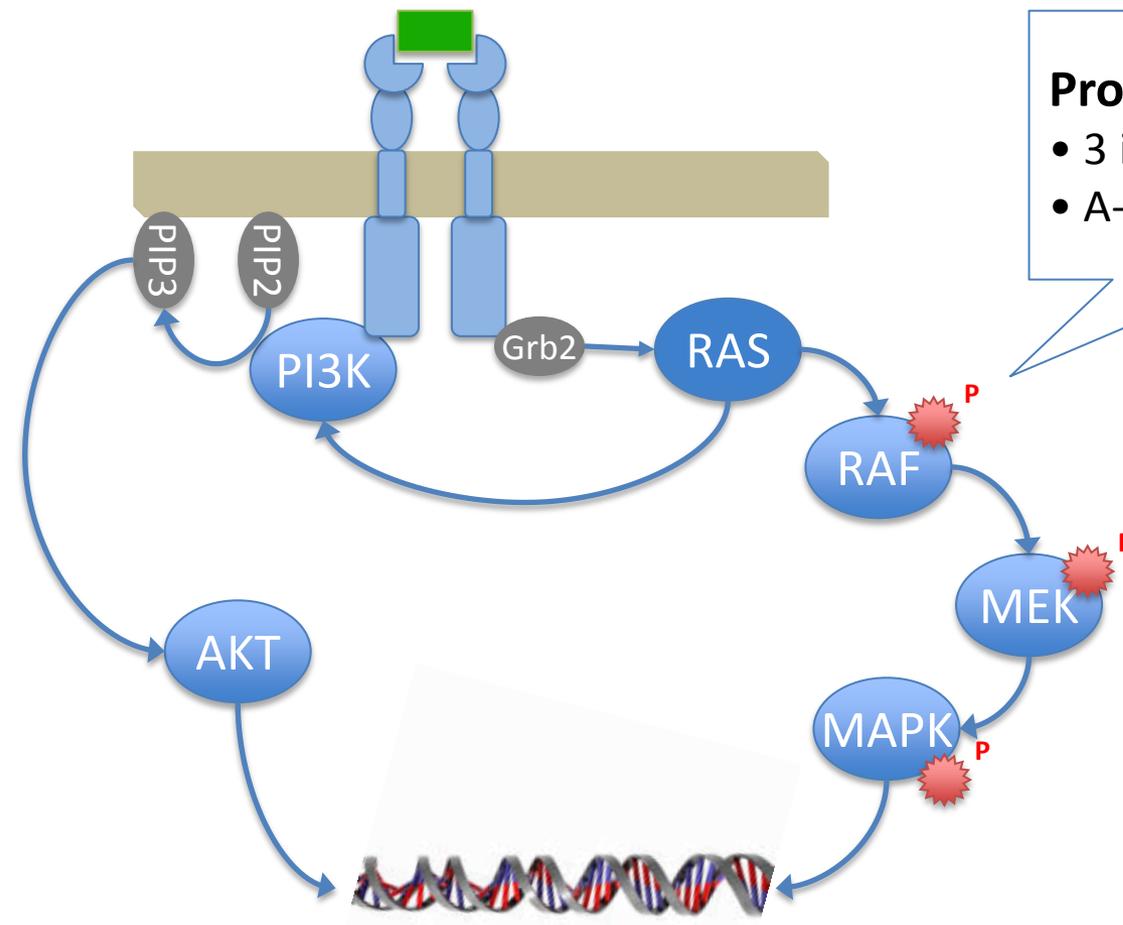


Traitement du CCR M+

**Prescription d'anti-EGFR :**

- Recherche de mutation RAS obligatoire
- Restriction de l'AMM aux RAS « WT »

# Biomarqueur : B-RAF



## Protéine RAF :

- 3 isoformes
- A-RAF, B-RAF, C-RAF

**5% - 10% des CCR avec Mutation**

~ toujours **BRAF V600E**  
**Mutation activatrice**

Mutuellement exclusive de mutation RAS

**Plus souvent dans CCR avec IMS (50%) que MMS**

Prolifération  
Migration  
Adhésion  
Survie cellulaire  
Angiogenèse

Transcription de gènes

# **BRAF pronostique**

## **mauvais pronostic / CCR M+**

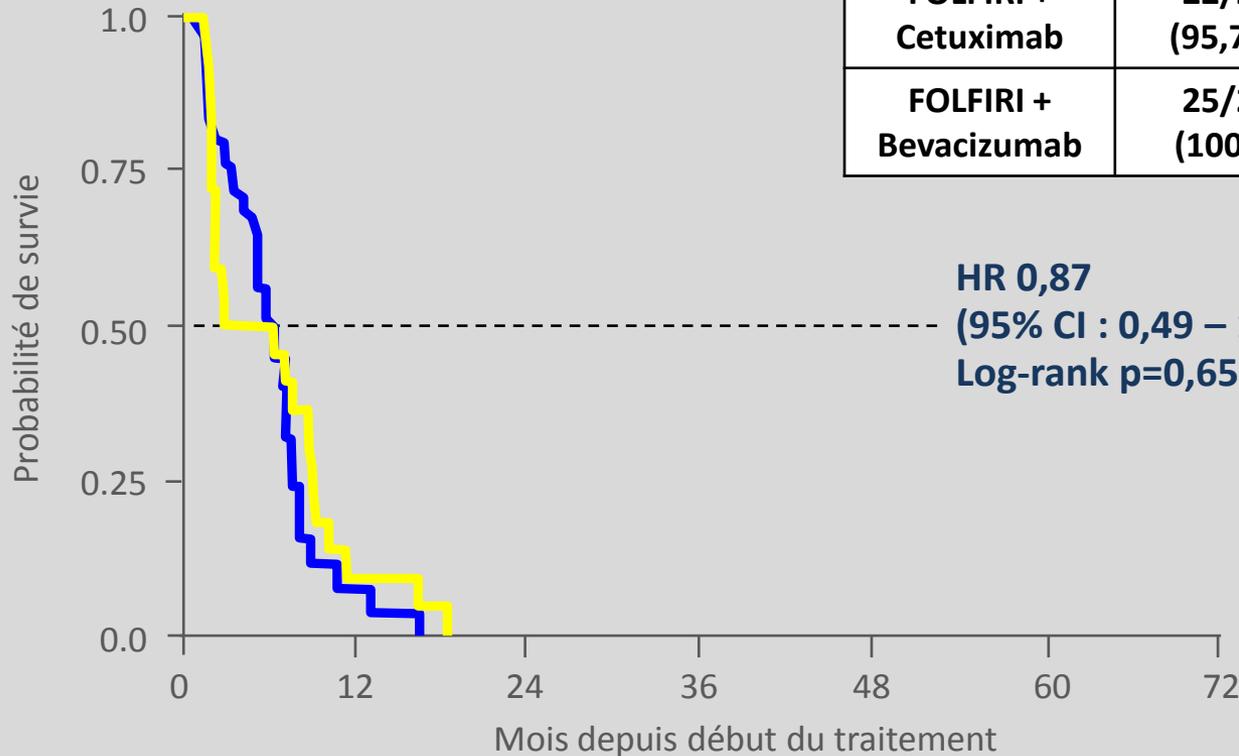
Pas de valeur pronostique démontrée  
pour CCR stades M0

# BRAF pronostique

## mauvais pronostic / CCR M+

- SSP (Fire3)

	Evénements n/N (%)	médiane (mois)	95%-CI
FOLFIRI + Cetuximab	22/23 (95,7%)	4,9 <b>10,2</b>	2,4-8,8
FOLFIRI + Bevacizumab	25/25 (100%)	6,0 <b>10,4</b>	4,3-7,8



N° at risk

23  
25

2  
2

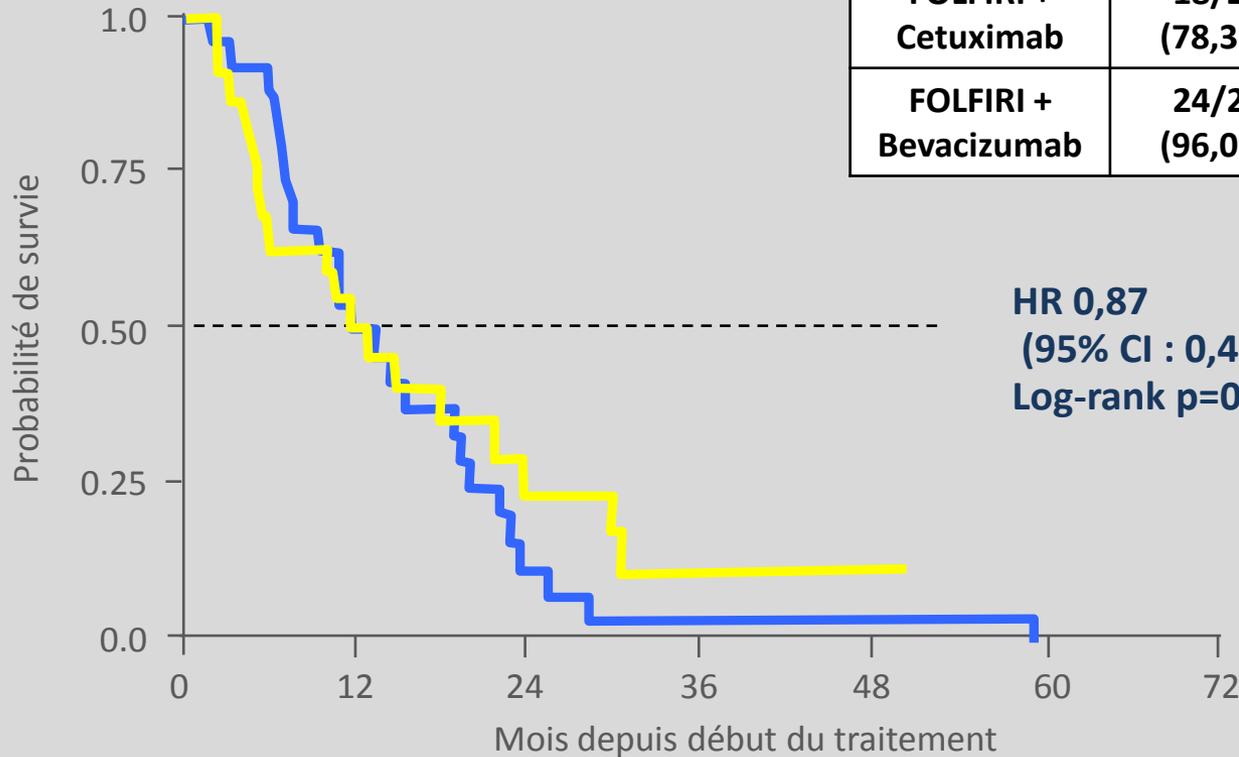
SSP  
sans mutation BRAF  
(Et RAS WT)

# BRAF pronostique

## mauvais pronostic / CCR M+

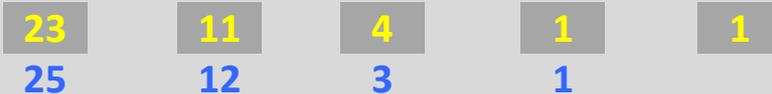
- SG (Fire3)

	Evénements n/N (%)	médiane (mois)	95%-CI
FOLFIRI + Cetuximab	18/23 (78,3%)	12,3	33,5-21,7
FOLFIRI + Bevacizumab	24/25 (96,0%)	13,7	26,8 -19,5



SG  
sans mutation BRAF  
(Et RAS WT)

N° at risk

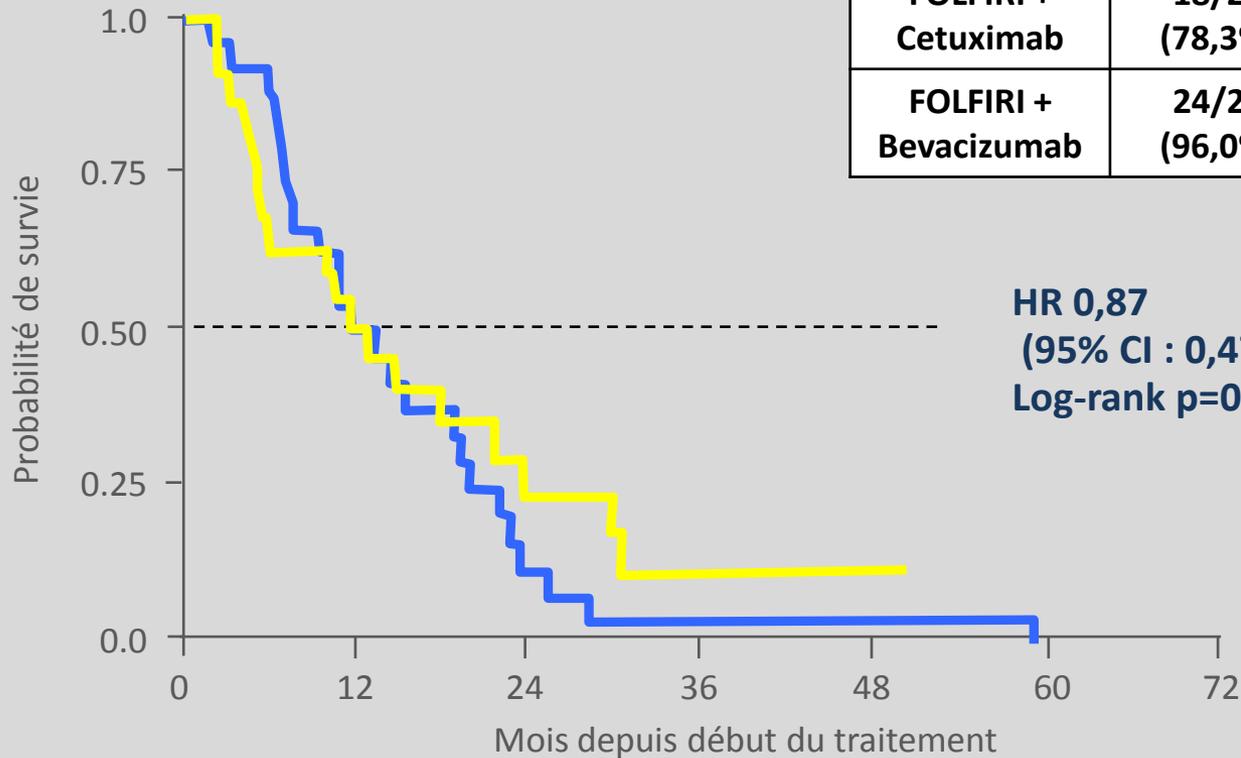


# BRAF prédictif

## Thérapies anti-EGFR ] NON

- SG (Fire3)

	Evénements n/N (%)	médiane (mois)	95%-CI
FOLFIRI + Cetuximab	18/23 (78,3%)	12,3	5,5-21,7
FOLFIRI + Bevacizumab	24/25 (96,0%)	13,7	7,8 -19,5



N° at risk

0	12	24	36	48
23	11	4	1	1
25	12	3	1	

# B-RAF & conséquences cliniques thérapeutiques & diagnostiques

*CCR métastatiques :*

- **Chimiothérapie « intensifiée » d'emblée :**

- Polychimiothérapie

- FOLFIRINOX (+ Beva) selon essai TRIBE ?

**Agir vite  
et fort**

- **Études phases précoces**

- Thérapies ciblées anti-BRAF (vemurafenib, dabrafenib),  
anti MEK, autres...

# B-RAF & conséquences cliniques thérapeutiques & diagnostiques

- **Diagnostic de Sd de Lynch**

**BRAF V600E :**

- Plus souvent dans CCR avec IMS (50%) que MSS
- Mais pas de mutation BRAF dans les tumeurs du Sd de Lynch

*Domingo E et al.  
Oncogene 2005;24.*



# B-RAF & conséquences cliniques thérapeutiques & diagnostiques

## • Diagnostic de Sd de Lynch

### BRAF V600E :

- Plus souvent dans CCR avec IMS (50%) que MSS
- Mais pas de mutation BRAF dans les tumeurs du Sd de Lynch

*Domingo E et al.  
Oncogene 2005;24.*

IMS  
+ BRAF V600E  
= sporadique



Oncogénétique

IMS  
Sans BRAF V600E  
= Lynch ou sporadique

IMS

Oncogénétique

CCR < 60 ans  
CCR + ATCD K spectre







[www.inca.fr](http://www.inca.fr)

Liste des plates-formes hospitalières de génétique moléculaire des cancers soutenues par l'INCA et la DGOS.

#### Alsace

- CHU - CLCC de Strasbourg - CH de Mulhouse - CH de Colmar

Coordonnateurs :

Marie-Pierre Gaub

Jean-Pierre Ghnassia

[MariePierre.GAUB@chu-strasbourg.fr](mailto:MariePierre.GAUB@chu-strasbourg.fr)

[JGhnassia@strasbourg.fnclcc.fr](mailto:JGhnassia@strasbourg.fnclcc.fr)

#### Aquitaine

- CHU - CLCC de Bordeaux

Coordonnateur :

Jean Philippe Merlio

[jp.merlio@histo.u-bordeaux2.fr](mailto:jp.merlio@histo.u-bordeaux2.fr)

#### Auvergne

- CHU - CLCC de Clermont-Ferrand

Coordonnateur :

Andrei Tchirkov

[atchirkov@chu-clermontferrand.fr](mailto:atchirkov@chu-clermontferrand.fr)

#### Basse Normandie

- CHU - CLCC de Caen

Coordonnateur :

Marie-Laure Kottler

[kottler-ml@chu-caen.fr](mailto:kottler-ml@chu-caen.fr)



# Un champ en pleine « mutation »

- **Autres marqueurs à court terme :**
  - **PI3K/AKT** prédictif de sensibilité à l'aspirine en adjuvant ?
  - **CMET** prédictif de résistance secondaire à anti-EGFR ?
  - ... ?
- **Et les biomarqueurs /anti-angiogènes ?**
- **Bientôt les biopsies « liquides » ?**

## POINTS FORTS

Les biomarqueurs tumoraux utilisés en pratique clinique aujourd'hui sont : **l'instabilité microsatellitaire (IMS) et les mutations de RAS et de BRAF**. Leur recherche est réalisée par technique de **biologie moléculaire**, à partir des échantillons tumoraux, nécessitant l'extraction et l'amplification de l'ADN tumoral. La demande d'analyse doit être adressée à l'anatomo-pathologiste détenteur des prélèvements tumoraux ; celui-ci adresse un échantillon à l'une des plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers mise en place par l'INCa. Seule la recherche d'IMS peut être réalisée par immunohistochimie.

**L'IMS** présente dans 15% des CCR sporadiques est une caractéristique constante des CCR développés dans le cadre d'un syndrome de Lynch. L'IMS **est un facteur de bon pronostic des CCR de stade localisé**. Les cancers du côlon de **stade II avec IMS n'ont pas d'indication à une chimiothérapie adjuvante** même s'ils ont des facteurs dits « à haut risque » du fait d'un excellent pronostic lié à l'IMS. **Les stades III avec IMS ne doivent pas être traités par 5FU seul en adjuvant.**

**Une mutation des gènes RAS** est retrouvée dans 50 à 60% des CCR. Les mutations *RAS* peuvent se situer sur les exons 2, 3 ou 4 des gènes *KRAS* et *NRAS*. Ce sont des mutations activatrices induisant **une résistance aux traitements par Ac anti-EGFR** (cetuximab et panitumumab). L'AMM de ces médicaments est restreinte aux patients porteurs de CCR sans mutation *RAS*.

**Une mutation du gène BRAF** est identifiée dans 5 à 10% des CCR. Il s'agit presque toujours de la mutation BRAF V600E. Elle est un facteur de **mauvais pronostic** surtout au stade métastatique. Sa valeur prédictive de résistance au traitement anti-EGFR est discutée ; à ce jour elle ne constitue pas une contre-indication à la prescription de ces traitements. **Des thérapies ciblées anti-BRAF sont à l'essai** dans le cadre du traitement des CCR ; l'inclusion des patients dans ces essais doit être privilégiée compte tenu du très mauvais pronostic de ces tumeurs.