

Récepteurs hormonaux et HER2 dans le cancer du sein

Anne Choquette

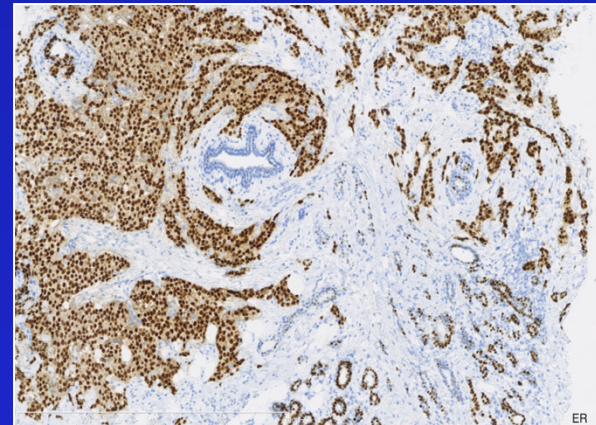
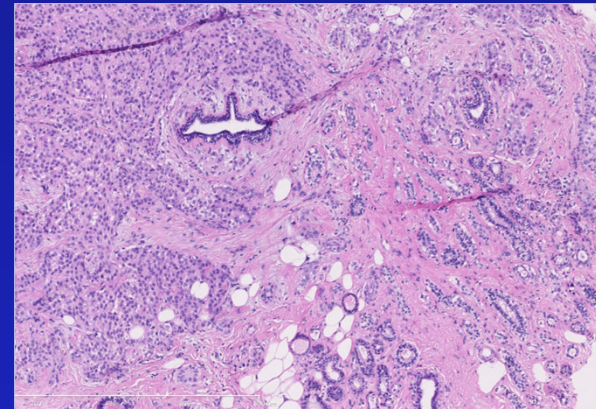
Pathologiste, Hôpital du Saint-Sacrement, CHA

Cancer du sein

- Facteur pronostique: Caractère clinique, pathologique ou biologique témoignant de l'agressivité innée d'un cancer non traité
- Facteur prédictif: Caractère clinique, pathologique ou biologique permettant de prédire la réponse à des types spécifiques de thérapie adjuvante

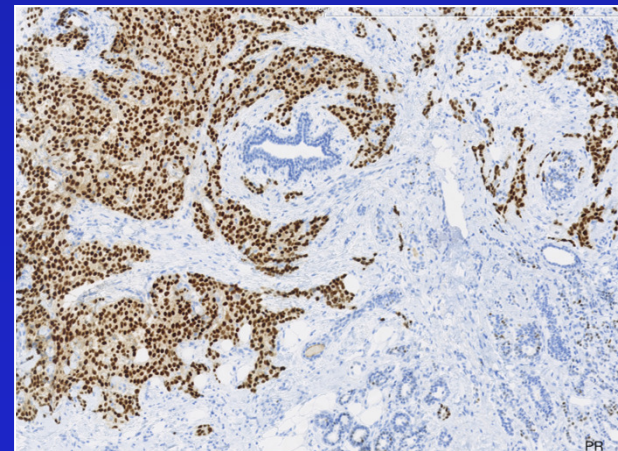
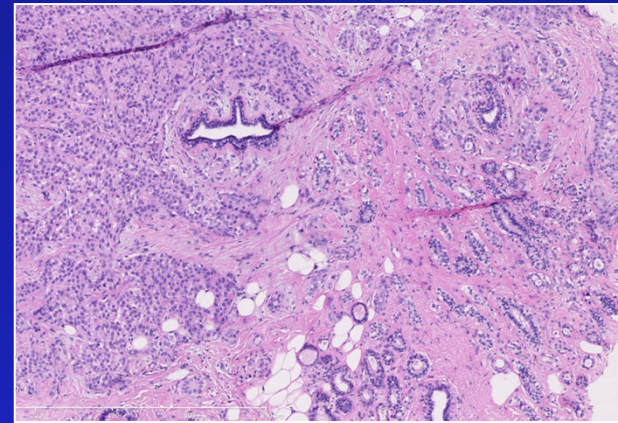
Récepteurs d'oestrogène

- ER α facteur de transcription nucléaire activé par oestrogène et qui module croissance et différenciation des cellules épithéliales normales du sein
- 75% à 85% des carcinomes envahissants ER+
- Corrélation directe entre le niveau ER et réponse clinique à thérapie hormonale



Récepteurs de la progestérone

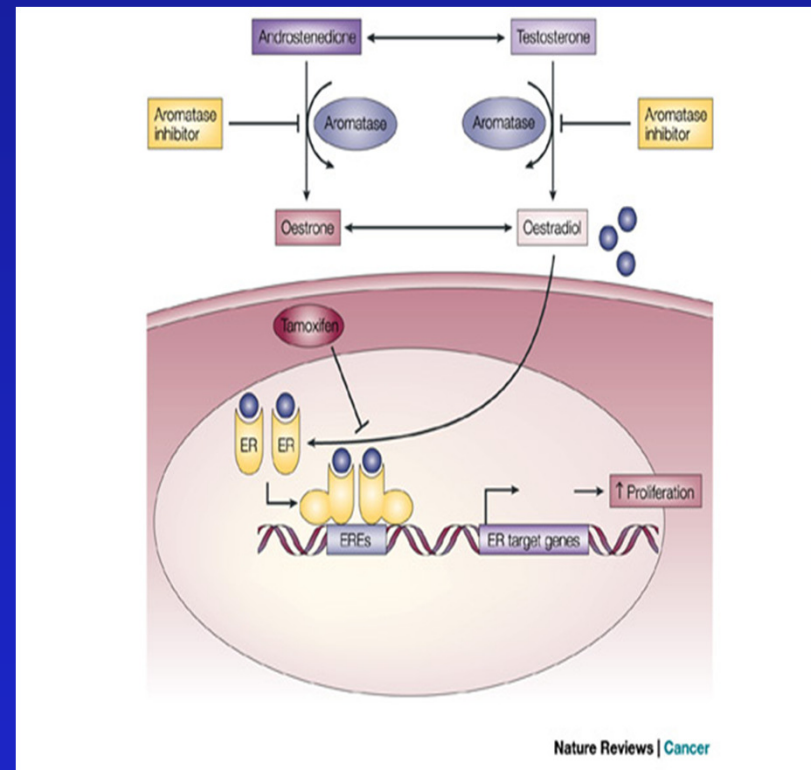
- ER α module l'expression du gène PR; la présence de PR indique généralement que la voie estrogène/ER est intacte et fonctionnelle
- PR exprimé dans 60-70% des carcinomes envahissants
- Corrélation directe entre le niveau PR et réponse à thérapie hormonale
- Corrélation parfois imparfaite entre ER α et PR:
 - Tumeur ER+/PR- évolution clinique plus agressive et résistance accrue au tamoxifène
 - Tumeur ER-/PR+ (< 5% des cas)



Implications thérapeutiques

Bénéfice clinique seulement chez les patientes ER+ et/ou PR+;

- ablation ovarienne
- antagonistes ER: tamoxifène
- blocage de la production des oestrogènes: inhibiteur aromatase



Indications pour évaluation des récepteurs hormonaux

- Tous les nouveaux cas de carcinomes envahissants (trocart *versus* spécimen d'exérèse chirurgicale)
- Si multiples tumeurs synchrones : au moins une des tumeurs, la plus volumineuse de façon préférable
- Carcinome canalaire in situ
- Carcinome envahissant avec composante de carcinome canalaire in situ
- Récidive tumorale
- Carcinome résiduel après thérapie néoadjuvante

Méthode d'évaluation des récepteurs hormonaux

- Biochimie (LBA):
 - Seuil 10 fmol/mg
- Immunohistochimie:
 - Corrélation avec morphologie
 - Plus rapide et moins dispendieux
 - Permet l'évaluation de petites tumeurs
 - Bonne corrélation avec biochimie
- RT-PCR: mesure quantitative RNAm

Standardisation

- Facteurs pré-analytiques
- Facteurs analytiques
- Facteurs post-analytiques

Hammond ME, Hayes DF, Dowsett M, et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Immunohistochemical Testing of Estrogen and Progesterone Receptors in Breast Cancer. Arch Pathol Lab Med 134:E1-E16, 2010

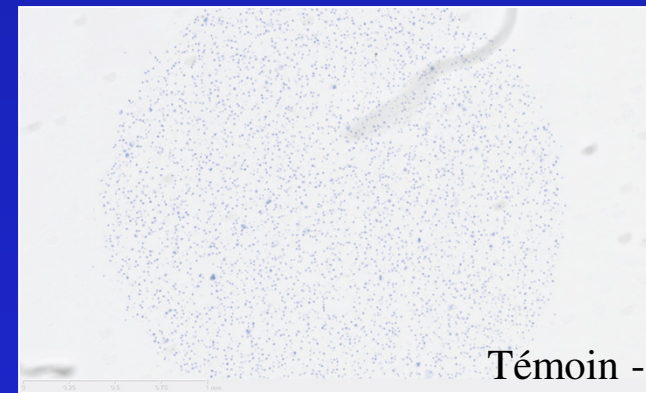
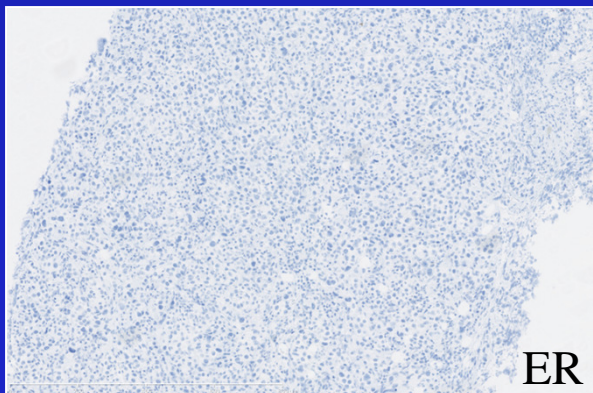
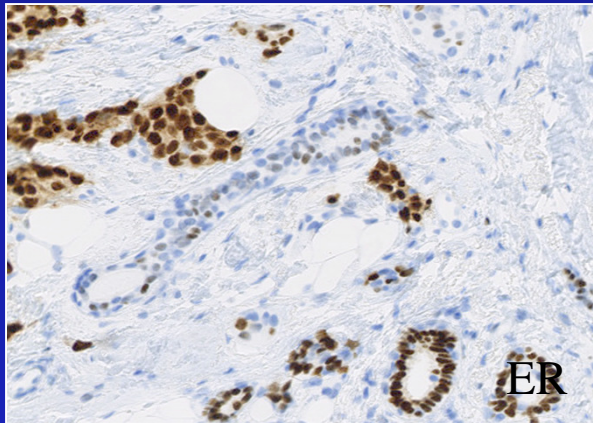
Facteurs pré-analytiques

- Délai de fixation: $\leq$ une heure
- Durée de fixation:
 - Minimum 6 à 8hres
 - Maximum 48 à 72hres
- Fixateur: formol tamponné 10%

Facteurs analytiques

- Choix de l'anticorps:
 - ER: 1D5 6F11 SP1 1D5+ER.2.123
 - PR: 1294 312
- Validation de la technique:
 - 90% concordance pour ER/PR+
 - 95% concordance pour ER/PR-
- Contrôles positifs et négatifs internes et externes appropriés

Contrôles positifs et négatifs internes et externes



Facteurs post-analytiques

- Résultats
 - Pourcentage de cellules positives: relation positive entre le pourcentage de cellules positives et la probabilité d'une évolution favorable
 - Intensité moyenne du marquage: faible, modérée, marquée
- Seuil de positivité: $\geq 1\%$ de n'importe quelle intensité
 - Considérer thérapie endocrinienne si au moins 1% de cellules positives
 - Raisonnable de discuter le pour et le contre de la thérapie endocrinienne lorsque faible pourcentage de cellules positives (1 à 10% des cellules faiblement positives)
- Standardisation du rapport:
 - trois catégories: récepteur positif
récepteur négatif
récepteur ininterprétable

Recommandations pour l'évaluation périodique de la technique

- Décompte des cas positifs et négatifs (au moins deux fois/an)
- ER négatifs doit représenter $< 30\%$ des cas
- Si $>20\%$ carcinomes infiltrants chez femmes > 65 ans sont ER négatifs; reprise validation
- Si $\geq 5\%$ grade 1 sont ER négatifs; reprise validation
- Vérifier concordance résultats avec RT-PCR
- Concordance $\geq 95\%$
- Démontrer performance adéquate programme de qualité externe
- Concordance 90%
- Vérifier résultats de chacun des pathologistes (au moins deux fois/an)
- Variation acceptable établit par le chef du laboratoire

Évaluation du HER2 dans le cancer du sein

- Proto-oncogène *HER2* situé sur le bras long du chromosome 17 (17q21)
- Gène code pour une protéine transmembranaire récepteur facteur de croissance
- HER2 membre d'une famille de récepteurs transmembranaires impliqués dans la modulation de la prolifération et survie cellulaire normale

HER2

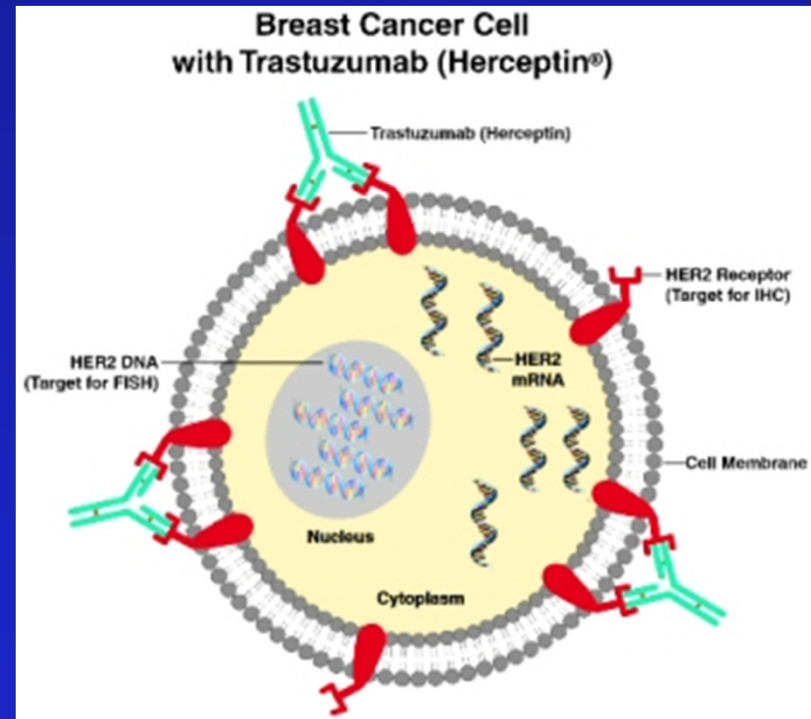
- 15 à 20% cancers du sein sont HER2 positif.
- HER2+ associé à un mauvais pronostic; corrélation significative avec d'autres facteurs de mauvais pronostic (tumeur plus volumineuse, grade nucléaire élevé, index prolifératif élevé, ganglions positifs)

HER2

- Tumeur HER2+:
 - Protéine HER2 cible thérapeutique du Herceptin (trastuzumab), un anticorps monoclonal humanisé dirigé contre une portion extracellulaire du récepteur.
 - Sensibilité aux anthracyclines et aux taxanes.
 - Résistance relative mais non absolue au thérapie hormonale (tamoxifène).

Méthode pour évaluation du HER2

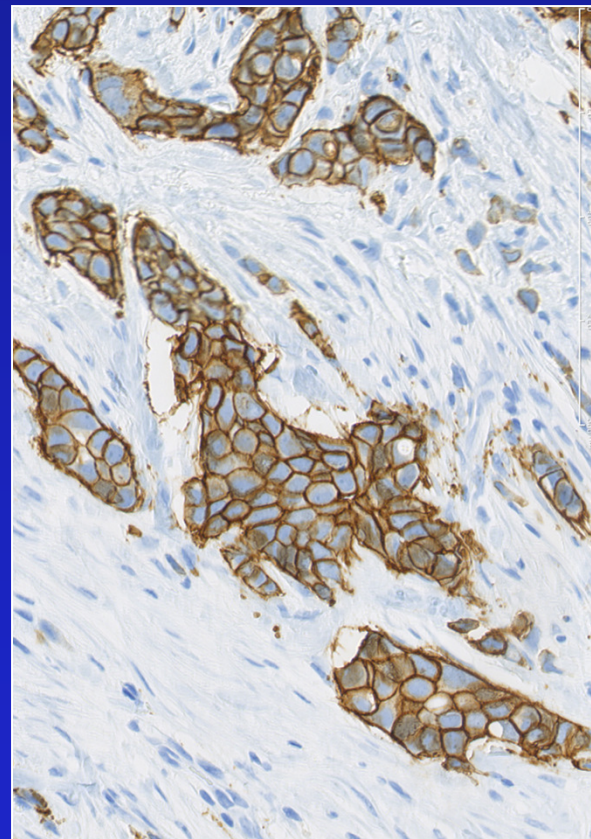
- Immunohistochimie:
Dépecte surexpression de la protéine
- FISH:
Dépecte l'amplification du gène



Wolff AC, Hammond ME, Schwartz JN et al. American Society of Clinical Oncology/College of American Pathologists Guideline Recommendations for Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 testing in Breast Cancer. Arch Pathol Lab Med 131:18-43, 2007

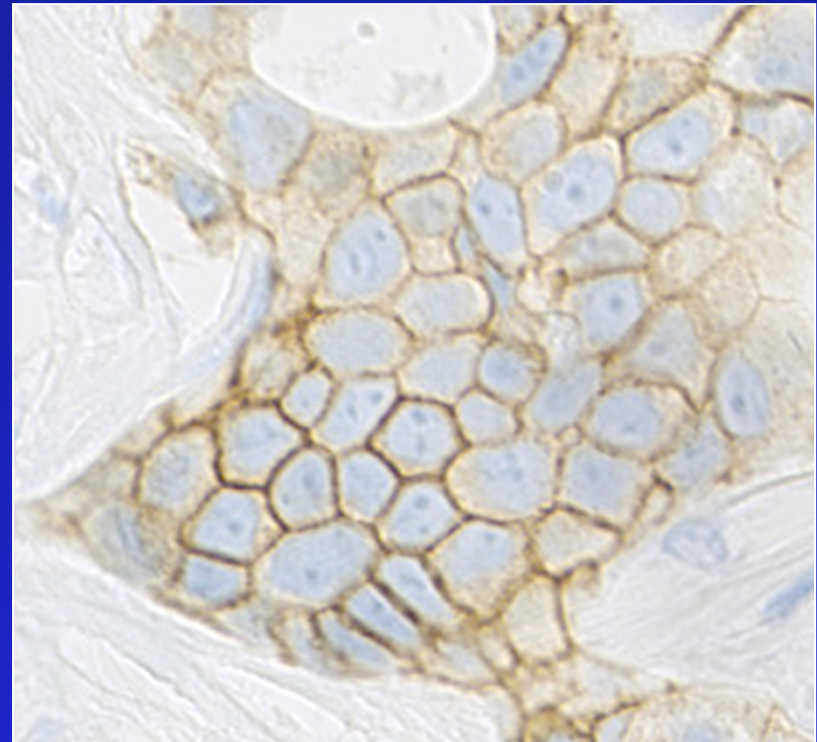
Évaluation du Her2 par immunohistochimie

- Résultat positif (score 3+) :
 - Marquage membranaire complet de forte intensité de >30% des cellules tumorales
 - Représente environ 15 à 20% des cas
 - Bonne concordance avec amplification du gène



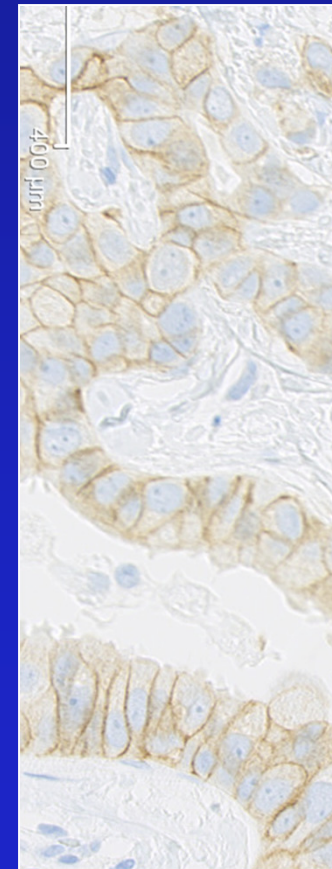
Évaluation du Her2 par immunohistochimie

- Résultat équivoque (score 2+):
 - Marquage membranaire complet, non uniforme ou faible en intensité, d'au moins 10% des cellules tumorales
 - Représente environ 15% des cas
 - Résultat équivoque à l'étude immunochimique requiert un complément d'investigation par FISH



Évaluation du Her2 par immunohistochimie

- Résultat négatif (score 0 ou 1+):
 - Absence de marquage ou marquage membranaire faible, incomplet de n'importe quelle proportion de cellules tumorales
 - Représente environ 70% des cas
 - Bonne concordance avec absence d'amplification du gène



Carcinome infiltrant

↓
Évaluation surexpression protéine HER2
par immunohistochimie

←
Positif pour la surexpression
de la protéine HER2
(score 3+)

15 à 20% des cas

↓
Équivoque pour la
surexpression de la
protéine HER2; (score
2+)

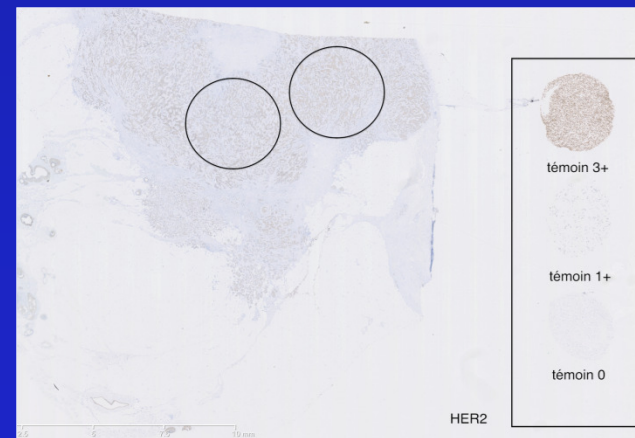
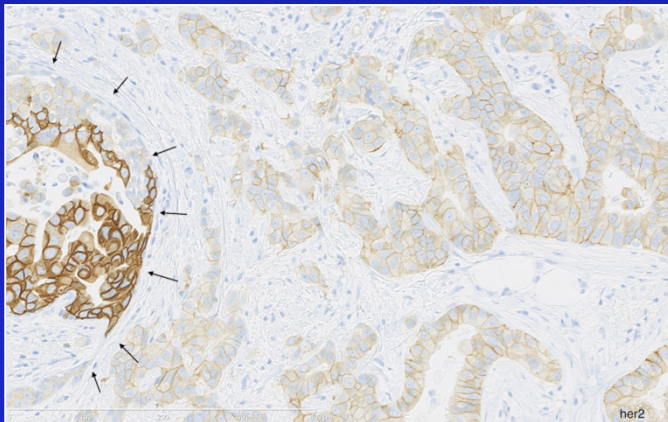
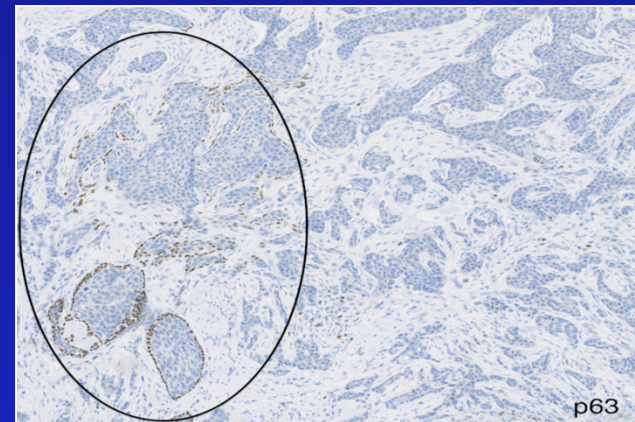
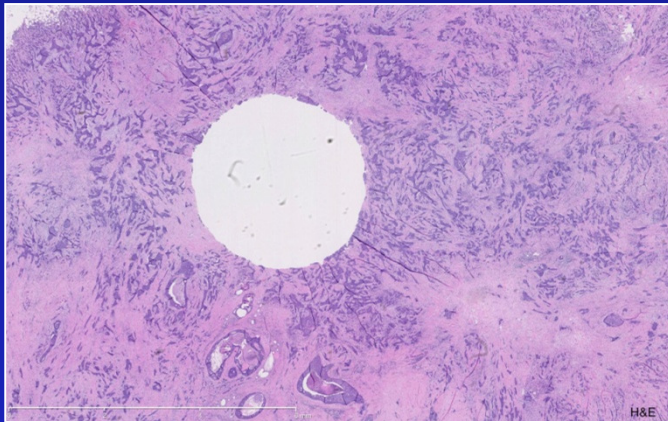
15% des cas

→
Négatif pour la
surexpression de la
protéine HER2; (score 0
ou 1+)

70% des cas

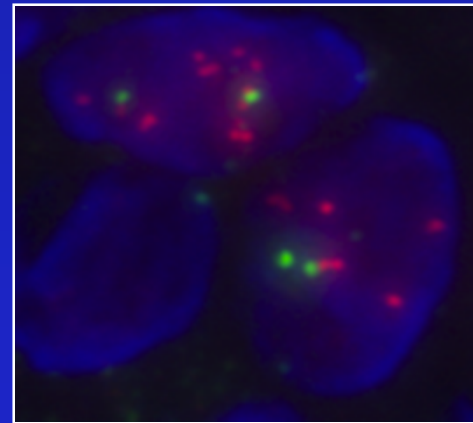
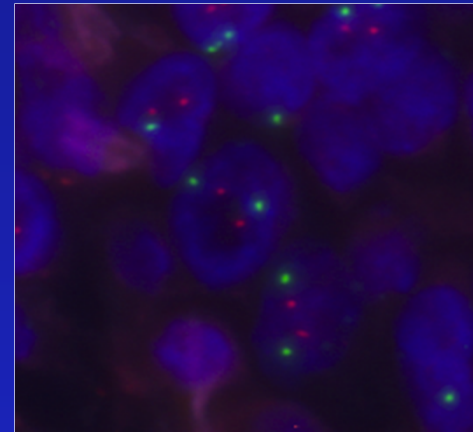
↓
Évaluation par
Fish

Résultat équivoque pour la surexpression de la protéine HER2 (2+)



Évaluation du *HER2* par FISH

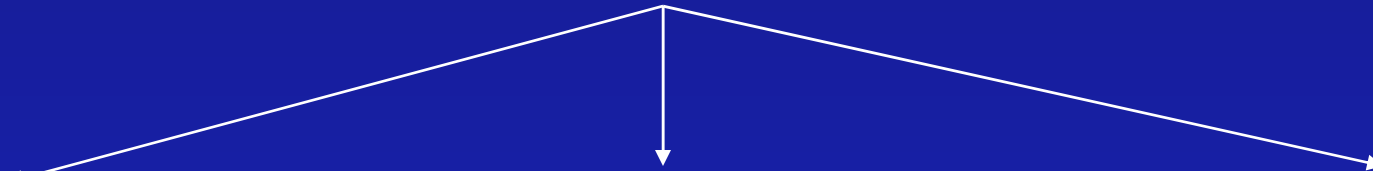
- Utilise une sonde fluorescente et un microscope à fluorescence pour visualiser et compter le nombre de copie du gène *HER2* dans le noyau des cellules tumorales
- Interprétation quantitative moins subjective que l'étude immunohistochimique
- Pathvision: Utilisation de deux sondes, CEP17 et *HER2* avec évaluation du ratio *HER2*/CEP17



Immuno 2+ (équivoque)



Fish



Positif pour
amplification du gène
(ratio > 2.2 ou nb copie
HER2 > 6)

Équivoque pour
amplification du gène
(ratio 1.8- 2.2 ou nb
copie *HER2* 4 à 6)

Négatif pour
amplification du gène
(ratio < 1.8 ou nb copie
HER2 < 4)

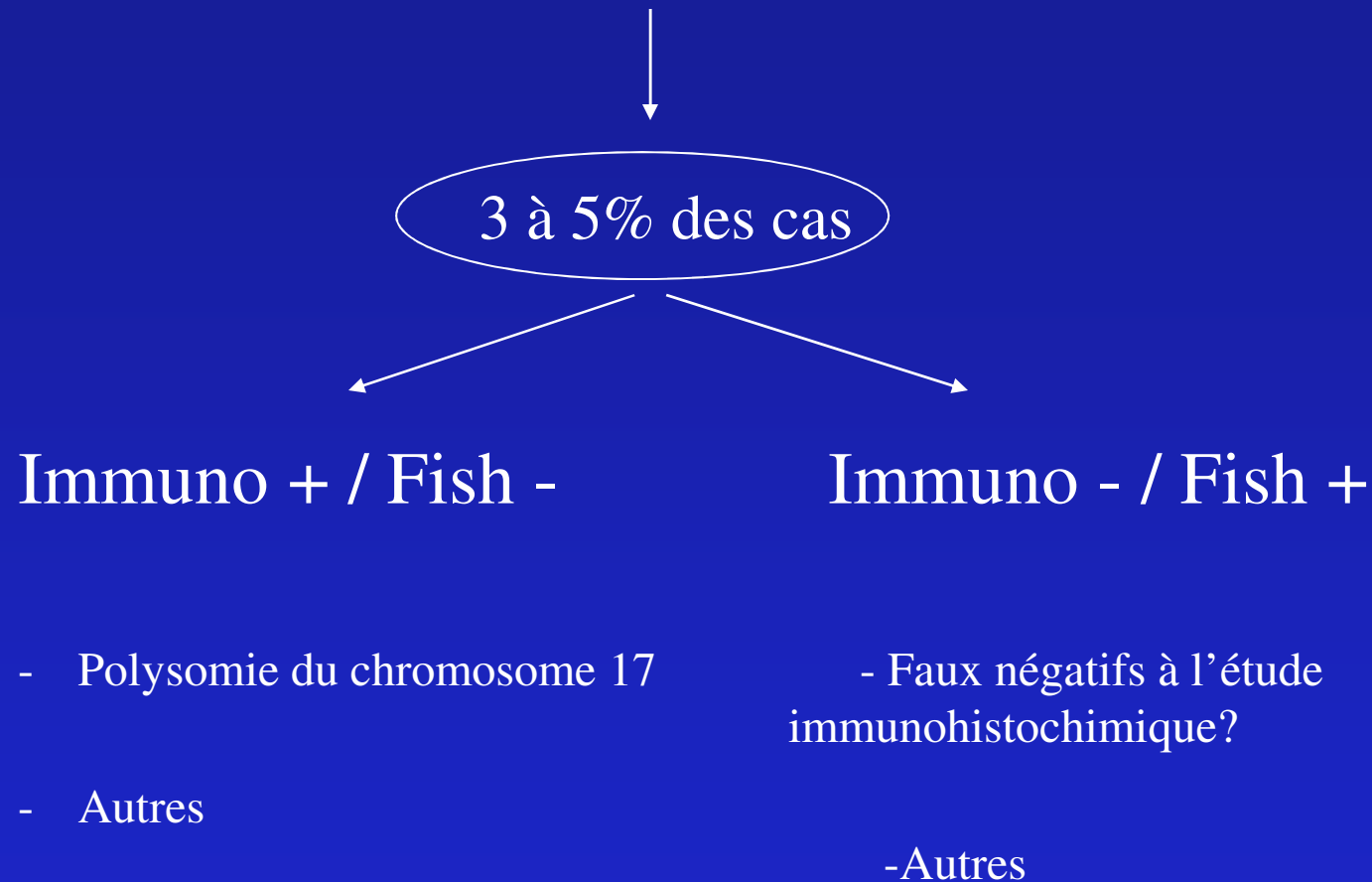


Compte un plus grand nb de cellules; reprise
Fish; immuno *HER2*



Équivoque pour amplification du gène
HER2 (patiente éligible au traitement si
ratio ≥ 2)

Discordance Immunohistochimie/Fish



Critères d'exclusion pour évaluation du HER2 par immunohistochimie

- Biopsie au trocart avec artéfacts traumatiques
- Marquage membranaire intense au niveau des canaux mammaires bénins
- Résultat inattendu au niveau des contrôles
- Temps de fixation (moins de 6 heures et plus de 48 heures); non absolu
- Fixateur autre que formol tamponné 10% (sauf si validation)

Critères d'exclusion pour évaluation du *HER2* au FISH

- Résultat inattendu au niveau des contrôles
- Quantité limitée de cancer infiltrant identifiable
- Signaux non uniformes (<75% identifiables)
- Bruit de fond élevé (>10% des signaux en regard du cytoplasme)
- Digestion enzymatique non optimale (autofluorescence)
- Temps de fixation (moins de 6 heures et plus de 48 heures); non absolu
- Fixateur autre que formol tamponné 10% (sauf si validation)

Contrôles de qualité

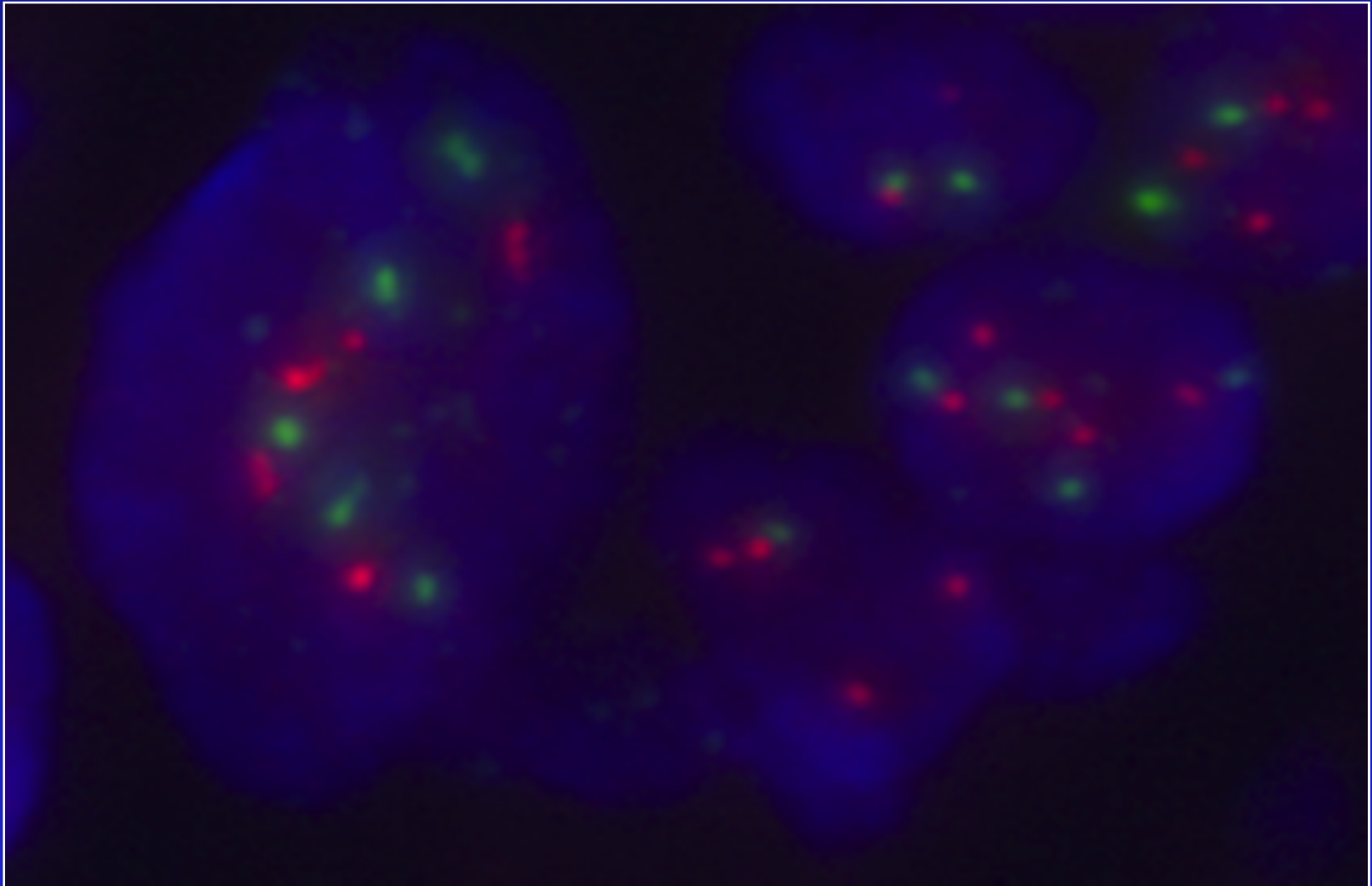
ASCO/CAP exige:

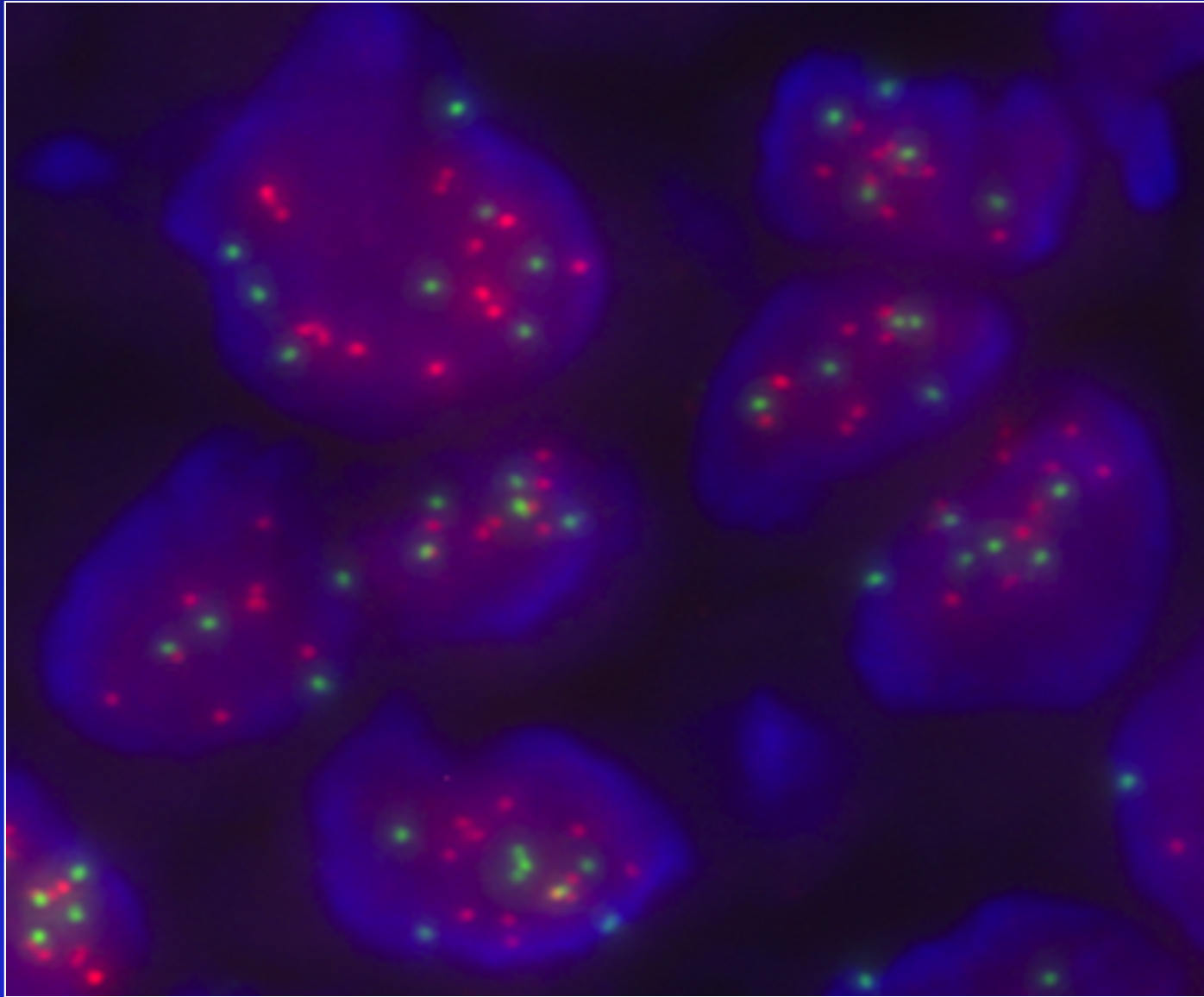
- Validation préalable de la technique sur 25 à 100 cas
 - Cas évalués parallèlement par une technique préalablement validé (FISH) dans le même laboratoire ou un autre laboratoire
 - La concordance entre les deux méthodes doit être d'au moins 95% pour les cas positifs et négatifs
- Utilisation de contrôles positifs et négatifs pour chaque essai (cas cliniques ou cultures cellulaires)
- Participation à des tests de compétence; au moins deux fois/an; concordance 90% des cas



Polysomie du chromosome 17

- Définition: nombre moyen de copies du chromosome 17 ≥ 3
- 5 à 10 % des carcinomes mammaires (environ 20% selon certaines études)
- Effet de la polysomie du chromosome 17 sur l'expression du gène HER2 et réponse potentielle au trastuzumab est incertaine
- Polysomie importante du chromosome 17 pourrait contribuer à une surexpression de la protéine HER2 et expliquer résultats discordants entre immunohistochimie et FISH





POLYSOMIE du chromosome 17 versus AMPLIFICATION du gène *HER2*

Polysomie

- Pas de surexpression de la protéine, ni ↑ARNm
- Pas d'association avec paramètres cliniques de mauvais pronostics

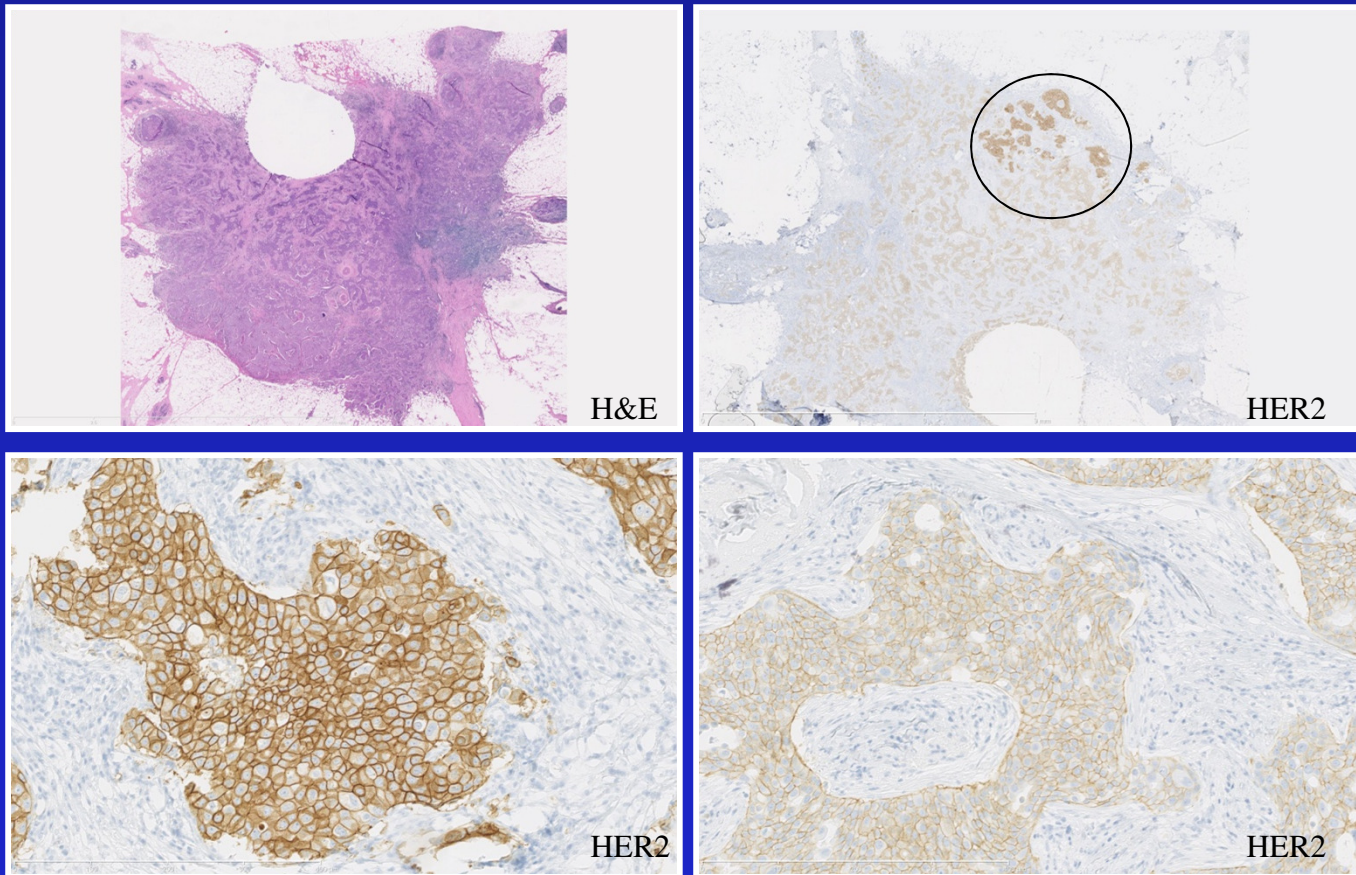
Amplification

- Entraîne une surexpression de la protéine et ↑ARNm
- Clairement associée à des paramètres cliniques de mauvais pronostics: grade ↑, négativité des récepteurs

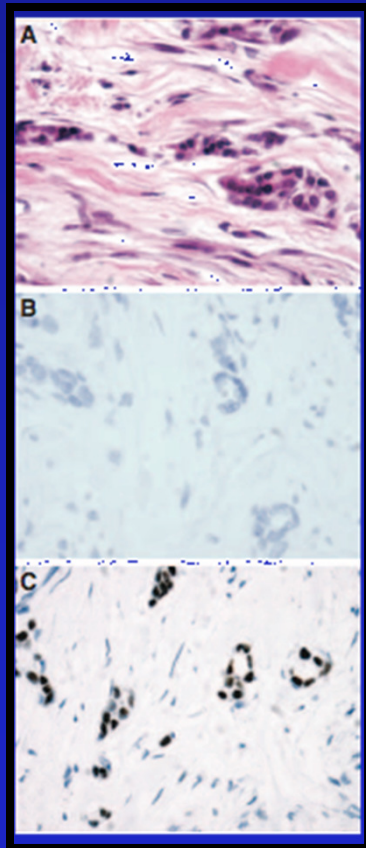
Hétérogénéité du gène *HER2* au FISH

- < 5% des carcinomes mammaires
- Cellules tumorales isolées ou groupées en amas montrant une amplification du gène *HER2* enmêlées à des cellules tumorales sans amplification
- Définition consensuelle du CAP: hétérogénéité présente si > 5% et < 50% de cellules tumorales avec ratio *HER2*/CEP17 > 2 sont présentes dans la tumeur.
- Signification clinique en terme de bénéfice potentiel de la thérapie au trastuzumab est incertaine.

Hétérogénéité du gène *HER2* au FISH



SP1 *versus* 1D5 pour ER

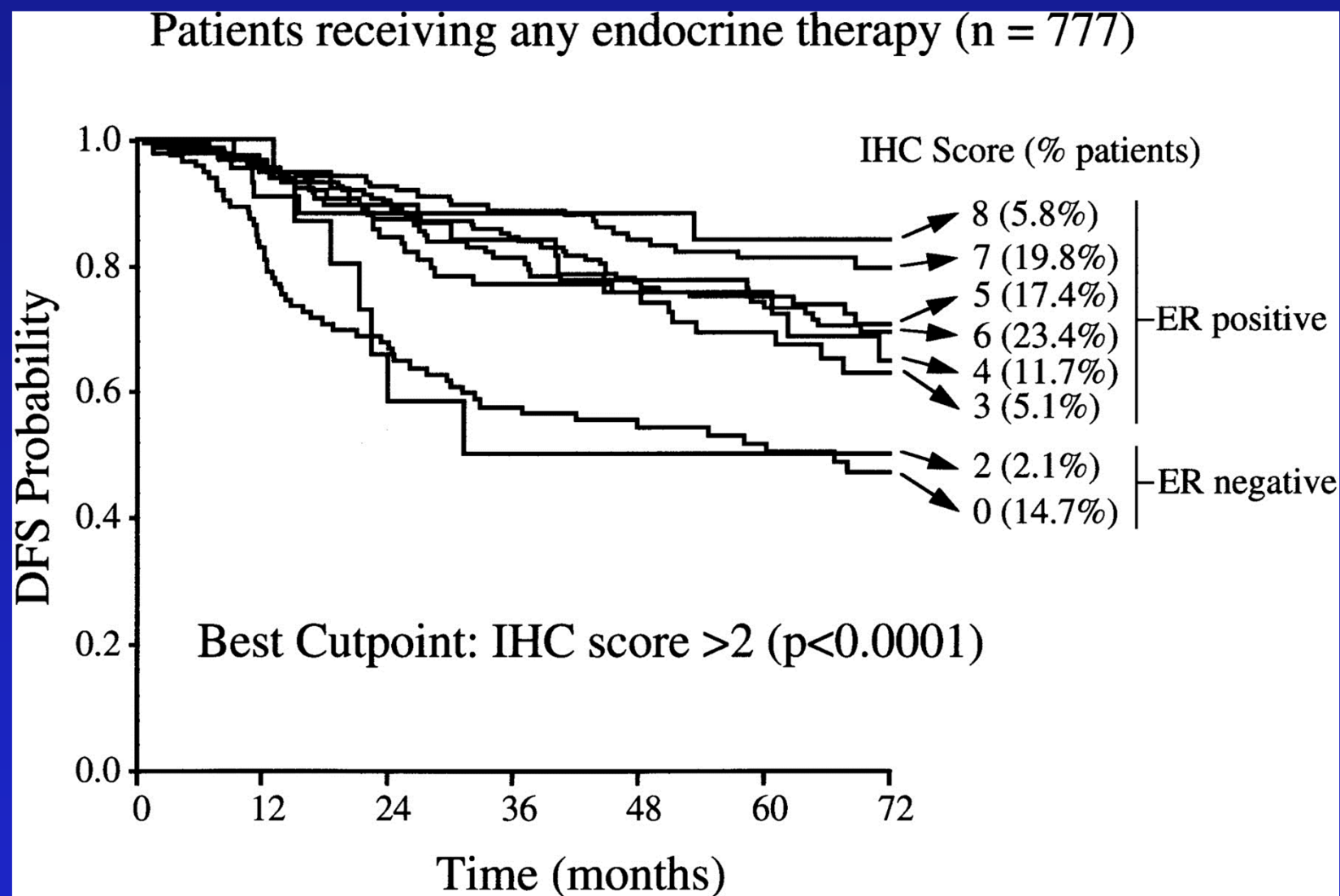


4105 cas ; étude
rétrospective; tissu
congelé; TMA

- 8% SP1+/1D5-
- 2% SP1-/1D5+

508 cas; étude prospective

- Discordance moins de 0.5% des cas
- 2 cas SP1+/1D5-
- Aucun cas SP1-/1D5+



Harvey JM, Clark GM, Osborne CK et al. J Clin Oncol 17:1474-1481, 1999

Évaluation du *HER2* par FISH

- < 4 signaux
- 4 à 6 signaux
- > 6 signaux
- Gène *HER2* non amplifié
- Équivoque pour l'amplification du gène
- Amplification du gène *HER2*

Évaluation du *HER2* par FISH

- $HER2/CEP17 < 1.8$
- $HER2/CEP17 > 2.2$
- $HER2/CEP17$ 1.8-2.2
- Gène *HER2* non amplifié
- Amplification du gène *HER2*
- Équivoque pour l'amplification du gène