



Fiche Oncologie

Digestif

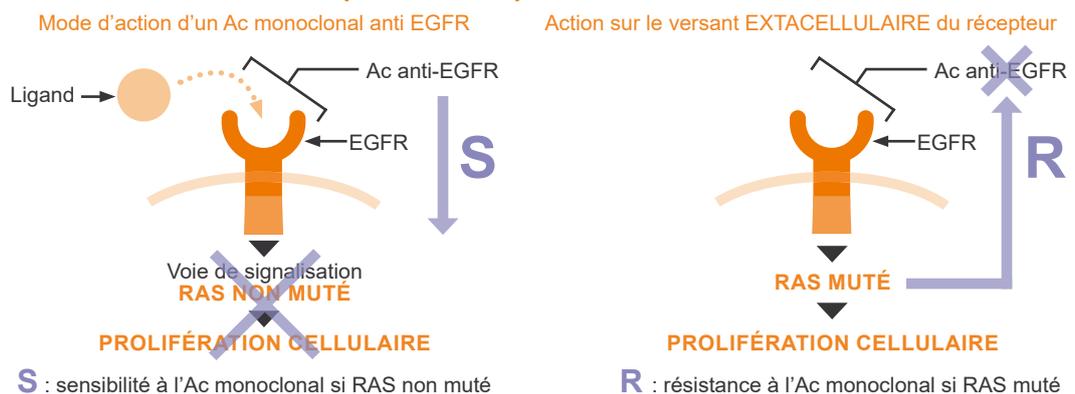
- ▶ Cancer colo-rectal (CCR)
- ▶ Cancer de l'estomac et de la jonction œsogastrique (JOG)
- ▶ Tumeurs stromales gastro-intestinales (GIST)
- ▶ Cancer du pancréas

Cancer colo-rectal

Le cancer colo-rectal (CCR) représente le troisième cancer le plus fréquent chez l'homme et le second chez la femme. Il se positionne au deuxième rang en terme de mortalité. Son diagnostic est le plus souvent réalisé au stade avancé (métastatique). Une survie moins bonne, comparée à un diagnostic précoce, lui est donc associée (survie globale à 90 % au stade I et 13 % au stade métastatique). Le traitement des cancers colo-rectaux repose sur une chirurgie associée ou non à une chimiothérapie et/ou une thérapie ciblée et/ou, plus récemment, une immunothérapie.

Dans les années 2000, les CCR métastatiques ont bénéficié d'une première révolution thérapeutique (thérapie ciblée) basée sur l'action d'un anticorps (Ac) monoclonal bloquant le récepteur EGFR. Ces Ac agissent sur le versant extracellulaire du récepteur et peuvent être utilisés en fonction du statut RAS. Aucun ITK ciblant le domaine intracellulaire de l'EGFR n'a d'AMM dans le CCR métastatique. D'autres marqueurs moléculaires (BRAF, MSI) impactent le pronostic et la décision thérapeutique des CCR (combinaison anti-EGFR/anti-BRAF et immunothérapie). L'enjeu de définir une stratégie thérapeutique basée sur une médecine personnalisée est donc primordial.

Exemple d'une thérapie ciblée anti EGFR



Le laboratoire Eurofins Biomnis propose des tests moléculaires à visée théranostique et pronostique dans les CCR : 2 panels NGS (COLO 1 et COLO 2), un test MSI et des techniques FISH ciblées pour répondre aux attentes des cliniciens en RCP. La liste proposée de ces analyses a été élaborée à partir de recommandations nationales et internationales (ASCO-CAP, ESMO).

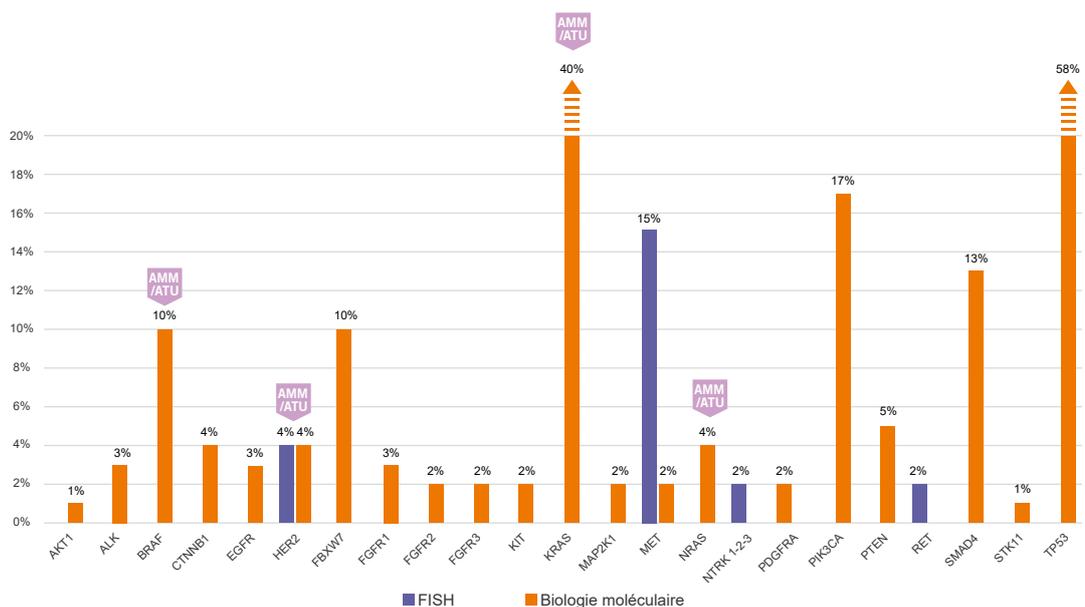
« Thérapie ciblée : sensibilité et résistance » et « impact pronostique » dans le cancer colo-rectal :
 Quelles analyses disponibles ? Quelles techniques utilisées ?
 Quelles nouvelles cibles dans le futur ?

Panel NGS « COLO 1 »	KRAS - NRAS - BRAF
Test MSI et Hyperméthylation MLH1	
Cibles FISH unitaires - COLON	HER2 - MET - RET - NTRK 1-2-3
Panel NGS « COLO 2 »	AKT1 - ALK - BRAF - CTNNB1 - EGFR - HER2 - FBXW7 - FGFR1 - FGFR2 - FGFR3 - KIT - KRAS - MAP2K1- MET - NRAS - PDGFRA - PIK3CA - PTEN - SMAD4 - STK11 - TP53 (21 gènes)

L'approche panel NGS « COLO 1 » répond aux attentes, en routine, du clinicien pour la prescription de thérapies ciblées dans le cadre du cancer colo-rectal métastatique. Les statuts KRAS, NRAS et récemment BRAF permettent de guider le choix d'une thérapie ciblée (Ac monoclonal anti-EGFR et Ac anti-BRAF). Le test MSI, la recherche de méthylation MLH1 et les FISH unitaires COLON complètent cette offre.

L'approche panel NGS « COLO 2 » permet d'élargir le spectre des mutations recherchées aux gènes impliqués dans des mécanismes de résistance aux thérapies ciblées, à des marqueurs émergents pour une thérapie ciblée ou encore à des cibles moléculaires associées à une valeur pronostique. Il peut être aussi complété par une approche FISH ciblée et le test MSI.

Fréquence des anomalies FISH ou moléculaires dans le cancer colo-rectal et thérapies ciblées disponibles (AMM/ATU)



Panel NGS « COLO 1 »

RAS (KRAS et NRAS) 40 à 50 % des CCR présentent une mutation RAS. La prescription d'anti-EGFR (Cetuximab ou Panitumumab) dans le traitement des CCR métastatiques est conditionnée par le statut des gènes KRAS et NRAS. L'analyse moléculaire doit cibler les exons 2 (codons 12 et 13), 3 (codon 59 et 61) et 4 (codons 117 et 146) des 2 gènes KRAS et NRAS. Les AMM de ces deux thérapies ciblées sont restreintes aux tumeurs RAS sauvages (wt). Cependant, l'absence de mutation RAS ne garantit pas une réponse à ces thérapies ciblées et seulement 40 à 60 % des patients sont répondeurs, ce qui sous-entend des mécanismes moléculaires de résistance. La valeur pronostique du statut RAS reste imprécise.

BRAF Environ 10 % des CCR présentent une mutation BRAF (le plus souvent V600E). La mutation BRAF V600E est associée à un facteur pronostique péjoratif et en particulier dans le CCR métastatique. Le rôle prédictif de non-réponse aux thérapies ciblées anti-EGFR n'est pas clairement établi et la présence d'une mutation BRAF ne contre indique pas un traitement par anti-EGFR. Le statut BRAF muté peut orienter le choix d'une chimiothérapie intensive dès la première ligne de traitement. La thérapie ciblée anti-BRAF en combinaison avec un anti-EGFR vient également d'obtenir une AMM. De plus, la présence d'une mutation BRAF permet d'exclure un syndrome de Lynch. Toutes ces données justifient son analyse en 1^{ère} intention en association avec KRAS et NRAS. A noter que les mutations RAS et BRAF sont généralement mutuellement exclusives.

Test MSI

Le système MMR (MisMatchRepair) est un système de réparation des mésappariements de l'ADN. Quatre protéines (protéines MMR) sont impliquées dans ce système de réparation et fonctionnent en hétérodimères : MSH2/MSH6 et PMS2/MLH1. Les mésappariements sont évalués dans les régions microsatellites. Lorsque la réparation de l'ADN a lieu, on parle de MMR proficient, lorsque la réparation de l'ADN n'a pas lieu (par mutation) on parle de MMR déficient et le terme de MSI est donné (MicroSatellite Instability). L'instabilité des microsatellites se définit par un phénotype hypermuté (>10 mutations/Mb). La déficience du système MMR a deux origines : constitutionnelle (par le syndrome de Lynch) ou somatique (le cancer sporadique). Le déficit MMR se traduit donc par une perte d'expression des protéines MMR (à l'échelle cellulaire), une instabilité des microsatellites (à l'échelle nucléaire) et par voie de conséquence une charge mutationnelle élevée tumorale (TMB high).

Les indications du test MSI (ou test MMR ou test RER (Replication ERor)) en cancérologie digestive colo-rectale (avec ou sans métastases) sont :

- ▶ **Le pré-criblage du syndrome de Lynch** (domaine de l'oncogénétique constitutionnelle avec consultation d'oncogénétique) (CCR < 70 ans ou CCR avec antécédent personnel ou familial de tumeur du spectre de Lynch)
- ▶ **L'évaluation PRONOSTIQUE dans le CCR non métastatique :**
 - dans les cas de BRAF non muté et à un stade localisé, un statut MSI+ est associé à un facteur pronostique favorable
 - quel que soit le statut BRAF, un statut MSI+ permet de moduler le traitement dans un CCR de stade II avec facteur de mauvais pronostic. Le bénéfice d'une chimiothérapie adjuvante est dans ce cas non significatif et donc peut ne pas être prescrite.
- ▶ **La stratification THERANOSTIQUE par IMMUNOTHERAPIE** (axe PD1/PDL1) dans les CCR métastatiques (ex : Pembrolizumab). A noter qu'en situation métastatique, un statut

MSI + est associé à une mauvaise réponse à la chimiothérapie cytotoxique et à une bonne réponse à l'immunothérapie. La technique d'IHC PDL1 complète cette recherche.

Le test peut être réalisé soit par IHC (perte d'expression d'une ou plusieurs protéines MMR) soit par biologie moléculaire et différentes techniques sont disponibles : MSI-PCR (séquences « consensus » de microsatellites) – test Idylla™ - NGS.

L'instabilité des microsatellites (MSI+) est présente dans 15 % des CCR sporadiques et constamment présente dans les CCR en lien avec un syndrome de Lynch. 15 % des MSI+ sont des syndromes de Lynch. Les marqueurs moléculaires des cancers CCR sporadiques MSI+ sont une hyperméthylation de MLH1 et une mutation BRAF. Ces tests complémentaires doivent donc être réalisés en cas de MSI+ pour éliminer une origine constitutionnelle (Syndrome de Lynch).

Il est donc important de noter que le test MSI doit être réalisé en situation métastatique et non-métastatique.

FISH ciblée unitaire COLON

HER2	L'amplification de HER2 est un mécanisme de résistance aux anti-EGFR. Des essais sont également en cours pour une thérapie ciblée anti-HER2 en particulier dans le cadre des CCR métastatiques RAS/BRAF sauvages.
MET	L'amplification de MET est associée à une résistance aux anti-EGFR et pourrait permettre de bénéficier d'une thérapie ciblée anti-MET, en particulier pour les CCR métastatiques RAS/BRAF sauvages.
RET	Les CCR présentant un réarrangement de RET pourraient être des candidats aux ITK de RET.
NTRK 1/2/3	La présence d'un réarrangement de NTRK 1, 2 ou 3 pourrait permettre d'utiliser un anti-NTRK.

Réarrangement	Amplification
	●
	●
●	
●	

Panel NGS « COLO 2 »

Ce panel comprend les gènes du panel COLO1 et :

HER2	La présence de mutations HER2 est un mécanisme de résistance aux anti-EGFR.
PIK3CA	Dans les cas de CCR ne présentant pas de mutation RAS, les mutations PIK3CA semblent être associées à un pronostic péjoratif et à une moins bonne réponse aux Ac monoclonaux anti-EGFR. L'utilisation adjuvante d'aspirine dans les CCR avec mutation PIK3CA a été proposée dans la littérature.
MET	Les mutations MET pourraient permettre de bénéficier d'une thérapie ciblée anti-MET.
AKT1 - ALK - CTNNB1 - EGFR - FBXW7 - FGFR1 - FGFR2 - FGFR3 - KIT - MAP2K1-PDGFR - PTEN - SMAD4 - STK11 et TP53 représentent potentiellement des marqueurs moléculaires émergents de thérapie ciblée dans les CCR métastatiques ou des marqueurs moléculaires de résistance aux anti-EGFR ou encore pourraient préciser une valeur pronostique dans les CCR localisés ou métastatiques.	

Remarque : le gène PoIE n'est pas inclus dans notre panel NGS.

Cancer de l'estomac et de la jonction œsogastrique (JOG)

Le cancer de l'estomac chez l'homme et la femme tout confondu représente le quatrième cancer le plus fréquent et la deuxième cause de décès par cancer. 80 % des cas sont diagnostiqués après l'âge de 65 ans et les deux tiers le sont à un stade avancé.

Cibles FISH unitaires	HER2 - MET - NTRK 1-2-3
Test MSI et Hyperméthylation MLH1	

FISH ciblée unitaire Estomac et JOG

- HER2** L'amplification de HER2 est une cible pour une thérapie ciblée anti-HER2 dans le cancer de l'estomac ou de la jonction œsogastrique au stade avancé ou métastatique. Elle est observée dans environ 20 % des cancers de l'estomac et 30 % des cancers de la JOG. La technique d'IHC est utilisée en routine et la technique FISH permet de préciser les cas douteux (++) de l'IHC. La valeur pronostique d'une amplification de HER2 reste controversée dans le cancer de l'estomac.
- MET** L'amplification de MET pourrait être un candidat pour un anti-MET.
- NTRK 1/2/3** La présence d'un réarrangement de NTRK 1, 2 ou 3 pourrait permettre d'utiliser un anti-NTRK.

Test MSI

Les indications du test MSI sont :

- ▶ **L'évaluation PRONOSTIQUE** : un statut MSI+ (observé dans environ 10 % des cas) est associé à un facteur pronostique favorable dans le cancer de l'estomac. Pour un cancer gastrique localisé opéré MSI+, il n'est pas observé de bénéfice d'une chimiothérapie adjuvante ou d'une chimiothérapie péri-opératoire.
- ▶ **La stratification THERANOSTIQUE par IMMUNOTHERAPIE** (axe PD1/PDL1) dans les formes avancées ou métastatiques avec un test MSI+ (ex : Pembrolizumab, Nivolumab). La recherche d'expression de PDL1 par technique d'IHC complète l'analyse MSI. A noter que le statut EBV+ peut également représenter un facteur prédictif de la réponse à l'immunothérapie dans le cancer de l'estomac.
- ▶ **Le pré-criblage du syndrome de Lynch (spectre élargi).**

MLH1

L'hyperméthylation de MLH1 semble être associée à un pronostic favorable.

Tumeurs stromales gastro-intestinales - GIST

Les GIST sont des tumeurs mésoenchymateuses rares qui se développent préférentiellement au niveau de l'estomac (60 %) et de l'intestin grêle (25 %).

Panel NGS "GIST"

KIT - PDGFRA - BRAF

Environ 85 % des GIST localisées présentent des mutations de KIT (75 %) ou de PDGFRA (10 %) qui sont généralement mutuellement exclusives. Ces mutations entraînent une activation de ces récepteurs à activité tyrosine kinase en l'absence de leurs ligands spécifiques. Une mutation BRAF peut également être observée dans les GIST avec une valeur pronostique. La recherche des mutations KIT, PDGFRA et de BRAF présente donc un intérêt diagnostique et/ou pronostique et/ou théranostique :

- ▶ **Les GIST PDGFRA muté ou triple négatif** (KIT-PDGFRA-BRAF sauvages) présentent un risque moins élevé de métastases que les GIST KIT muté. Une mutation KIT est observée dans environ 85 % des GIST métastatiques alors que seulement 2 % de ces tumeurs présentent une mutation PDGFRA. Au sein des mutations KIT et PDGFRA, la localisation de la mutation influence également le pronostic : les mutations PDGFRA exon 12 et KIT exon 11 sont associées à un meilleur pronostic et inversement pour les mutations PDGFRA exon 18 (non D842V) et KIT exon 9.
- ▶ **En 2001, la thérapie ciblée à base d'ITK** (Imatinib) a révolutionné leur prise en charge thérapeutique mais des mécanismes de résistance primaires ou secondaires ont été rapportés. Les mutations KIT exon 11 sont associées à une très bonne réponse aux ITK alors que la mutation PDGFRA exon 18 (D842V) est associée à une résistance primaire aux ITK. En présence d'une mutation KIT exon 9, il est conseillé de doubler les doses d'ITK. Des mutations de résistance secondaires ont été rapportées dans les exons 13, 14, 17 et 18 de KIT. A noter que les GIST PDGFRA/KIT/BRAF sauvages ne répondent pas aux ITK.

Cancer du pancréas

Le cancer du pancréas est un cancer rare avec un taux de survie très faible (< 5 % à 5 ans) et n'a pas bénéficié à ce jour de l'efficacité des thérapies ciblées proposées dans les autres tumeurs digestives.

BRCA1/BRCA2

Test MSI et Hyperméthylation MLH1

Cible FISH unitaire

NTRK 1-2-3

BRCA1/BRCA2

Une avancée majeure en terme de prise en charge thérapeutique est l'identification de mutations dans les gènes BRCA1 et BRCA2 impliqués dans la réparation homologue (voir Fiche-Oncologie-Gynécologie réf. DS85).

Ces mutations sont d'origine somatique ou constitutionnelle et sont associées à une meilleure réponse à la chimiothérapie à base de platine et plus récemment sont la cible d'un traitement ciblé : les inhibiteurs de PARP.

Dans le cas d'une mutation constitutionnelle, une consultation d'oncogénétique doit être réalisée (prédisposition sein/ovaire/pancréas).

Test MSI

Les indications du test MSI sont :

- ▶ **La stratification THERANOSTIQUE par IMMUNOTHERAPIE** (axe PD1/PDL1) dans les formes avancées ou métastatiques avec un test MSI+ (ex : Pembrolizumab, Nivolumab).
- ▶ **Le pré-criblage du syndrome de Lynch** (spectre élargi).

FISH ciblée unitaire

NTRK 1/2/3 La présence d'un réarrangement de NTRK 1, 2 ou 3 pourrait permettre d'utiliser un anti-NTRK.

NB : Comme pour le cancer du sein et de l'ovaire, la consultation d'oncogénétique est un élément capital pour la prise en charge individuelle et familiale.

En conclusion, l'approche en biologie moléculaire et en FISH des tumeurs digestives est en constante évolution. Ce document fait un état des lieux des connaissances en 2020.

NB : En marge des analyses FISH et moléculaires, Eurofins Biomnis propose également la réalisation d'autres paramètres de biologie spécialisée dans le cadre de l'oncologie digestive :

- Septine 9 dans le cadre des tests de dépistage du cancer colo-rectal
- Evaluation du risque toxique aux fluoropyrimidines (5-FU),
- Marqueurs tumoraux tels que AFP, ACE et CA19-9,
- Dosages radioimmunologiques tels que VIP, Gastrine et Glucagon pour le pancréas et Procollagène type III (P3P) pour le foie.

L'évaluation de la charge tumorale mutationnelle (TMB) comme test prédictif d'une réponse à l'immunothérapie est également disponible au laboratoire.

Remarque : le cholangiocarcinome n'est pas abordé dans cette fiche technique.

Caractéristiques moléculaires des gènes analysés par NGS :

Gene	NM_	EXONS	COLO 1	COLO 2	GIST
AKT1	NM_005163.2	3		●	
ALK	NM_004304.4	21, 22, 23, 25		●	
BRAF	NM_004333.5	11, 15	●	●	●
CTNNB1	NM_001904	3		●	
EGFR	NM_005228	12, 18-21		●	
HER2	NM_004448.3	19-21		●	
FBXW7	NM_033632.3	5,8-11		●	
FGFR1	NM_023110	3, 4		●	
FGFR2	NM_000141	7, 9, 12		●	
FGFR3	NM_000142	7, 9, 14, 16, 18		●	
KIT	NM_000222	8, 9, 11, 13, 17		●	●
KRAS	NM_004985	2, 3, 4	●	●	
MAP2K1	NM_002755	2		●	
MET	NM_001127500	2, 14, 16, 19		●	
NRAS	NM_002524	2, 3, 4	●	●	
PDGFRA	NM_006206	12, 14, 18		●	●
PIK3CA	NM_006218	2, 8, 10, 14, 21		●	
PTEN	NM_000314.6	1, 3, 6-8		●	
SMAD4	NM_005359	3,5,6,8,9-12		●	
STK11	NM_000455	1, 4, 6, 8		●	
TP53	NM_000546	2, 4-10		●	

Avant tout prélèvement, consultez les informations indispensables relatives à chaque test (pré-analytique, cotation, délai, document requis*, ...) sur www.eurofins-biomnis.com
 > rubrique Référentiel des examens > **Code Analyse**

Codes Analyse

- Panel NGS colo-rectal 1 - 3 gènes : **COLO1**
- Panel NGS colo-rectal - 21 gènes : **COLO2**
- Test MSI : **MICSA**
- Hyperméthylation MLH1 : **MLH1**
- FISH ciblée unitaire : **MOHC4**
- BRCA 1/2 (somatique) : **BRCAS**
- Test TMB : **TMB**

*Documents requis

- Bon de demande d'analyse « Biologie des tumeurs solides » (Réf. B9)
- Compte-rendu anatomopathologique

Délai (FISH et NGS) : 10 jours (une semaine supplémentaire si vérification nécessaire par Sanger)

Contact

Dr Benoit Quilichini

BenoitQuilichini@eurofins-biomnis.com

Tél. : 04 72 80 10 06

Références bibliographiques

WHO Classification of Digestive System Tumours - 5th ed. IARC Lyon 2019

Molecular Biomarkers for the Evaluation of Colorectal Cancer: Guideline From the American Society for Clinical Pathology, College of American Pathologists, Association for Molecular Pathology, and the American Society of Clinical Oncology. Sepulveda AR et al. J Clin Oncol. 2017 May 1;35(13):1453-1486. PMID: 28165299

Pan-Asian adapted ESMO consensus guidelines for the management of patients with metastatic colorectal cancer: a JSMO-ESMO initiative endorsed by CSCO, KACO, MOS, SSO and TOS. Yoshino T et al. Ann Oncol. 2018 Jan 1;29(1):44-70. PMID: 29155929

Comprehensive review of targeted therapy for colorectal cancer. Xie et al. Signal Transduct Target Ther. 2020 Mar 20;5(1):22. PMID: 32296018

Sites web <https://www.mycancergenome.org/>
<https://www.e-cancer.fr/>
<https://www.cancer.gov/>

Abréviations

CCR	Cancer colorectal
GIST	Tumeur stromale Gastro-intestinale
ICI	Inhibiteur de points de Contrôles Immunitaire
IHC	Immuno-Histo-Chimie
ITK	Inhibiteur de Tyrosine Kinase
JOG	Jonction Œsogastrique
RCP	Réunion de Concertation Pluridisciplinaire
TMB	Tumor Mass Burden (charge mutationnelle tumorale)