

## Prosigna® (PAM50) (Breast cancer Gene Signature Assay) un test d'expression génique pronostique du cancer du sein

### Rappel : les facteurs pronostiques et prédictifs dans le cancer du sein

Dans le cancer du sein, les facteurs pronostiques actuellement validés sont :

- l'âge de la patiente
- le statut ganglionnaire
- la taille de la tumeur
- le grade et le type histologique de la tumeur
- la présence d'embolies vasculaires et lymphatiques
- le statut des récepteurs hormonaux
- le statut de HER2
- l'index de prolifération tumorale Ki67

En 2015, seuls deux facteurs sont reconnus comme prédictifs d'une réponse thérapeutique :

- **le statut des récepteurs hormonaux (RH : RO – RP) :** présents ou absents
- **le statut de HER2 :** surexprimé (amplifié) ou non surexprimé (non amplifié)

Ces deux facteurs sont validés suite à des analyses immuno-histochimiques (RH et HER2) et d'hybridation in situ (HER2). Ils déclenchent, pour les RH, une hormonothérapie et, pour le statut HER2 surexprimé, un traitement ciblé anti-HER2.

### Apport des tests de signature moléculaire

Ces dernières années, des tests innovants de biologie moléculaire ont permis une approche concrète de la prise en charge théranostique des patients atteints d'un cancer. Le concept de "médecine personnalisée" est basé sur le principe que toutes les patientes d'une même maladie ne doivent pas toutes recevoir le même schéma thérapeutique. Dans le cancer du sein, le niveau d'expression de protéines propres à la cellule tumorale permettrait de préciser, au-delà des types moléculaires, la notion de tumeur agressive à pouvoir métastatique ou encore la notion de réponse au traitement ou de rechute tardive.

Les analyses d'expression génique ont donc permis de classer les cancers du sein en **quatre classes moléculaires**. Chacune de ces classes ou sous-types intrinsèques correspond à un pronostic et à une proposition thérapeutique spécifique :

**Luminal A** (30 à 40 % des cancers du sein), **Luminal B** (20 %), **HER2 surexprimé** (ou amplifié) (20 %) et **Basal like** (20 %) (ou triple négatif : absence de récepteurs hormonaux et HER2 non surexprimé). Les cancers du sein Luminaux expriment les RH et répondent donc à l'hormonothérapie. Ils sont divisés en deux catégories : le Luminal A et le Luminal B, le type Luminal B présentant un pronostic plus défavorable. L'association d'une chimiothérapie doit donc être décidée en RCP. Les cancers du sein HER2 surexprimé (ou amplifié) sont sensibles au traitement anti-HER2 et à la chimiothérapie. Pour le type Basal, de pronostic péjoratif, seule la chimiothérapie est disponible.

Ces tests sont appelés tests "d'expression génique" ou de "signature génique" ou "GEP" (pour *Gene Expression Profiling*). Ils sont fondés sur l'identification et la quantification d'ARN messagers (mRNA) ou d'ADN complémentaires (cDNA) de gènes impliqués essentiellement dans la prolifération tumorale.

Le principal intérêt de ces tests est d'apporter au clinicien l'indication sur le bénéfice d'ajouter ou non une chimiothérapie au traitement standard des femmes atteintes d'un cancer du sein diagnostiqué à un stade précoce, en particulier pour les cancers du sein RH+, HER2 non surexprimé.

La finalité de ces tests est de permettre, pour chaque patiente, une analyse plus fine en comparaison des méthodes immuno-histochimiques de stratification du risque (Mammostrat, IHC4, uPA/PAI1...).

L'accès à l'innovation fait partie du plan cancer 2014-2019. Biomnis, propose l'accessibilité à ces tests innovants en France.

### Quels tests moléculaires sont disponibles en 2015 ?

Dénomination	Méthode	Nombre de gènes étudiés
Oncotype DX® (Genomic Health)	RT-PCR	21
Prosigna® (PAM50) (NanoString)	RT-PCR (nCounter®)	50
Endopredict® (Myriad)	RT-PCR	11
MammaPrint® / BluePrint® (Agendia)	Micro-array	70 / 80

Ces différents tests sont réalisés sur des prélèvements de tissu tumoral (biopsie ou pièce opératoire) réalisés en date du diagnostic. Il n'est donc pas nécessaire d'effectuer un nouveau prélèvement chez la patiente.

## Le test Prosigna®(PAM50) dans le cancer du sein – principes et intérêts du test

### Les critères d'inclusion pour ce test moléculaire sont :

- patientes post-ménopausées, avec un diagnostic de cancer du sein au stade précoce, ayant subi une mastectomie ou un traitement chirurgical conservateur du sein, avec atteintes ganglionnaires (N1 à N3) ou sans (N0),
- tumeurs avec récepteurs hormonaux positifs (RH+),
- tumeurs avec absence de surexpression (ou d'amplification) de HER2 (HER2-),
- patiente éligible à un traitement par chimiothérapie adjuvante.

Il est nécessaire pour réaliser le test Prosigna®(PAM50) de disposer de deux variables anatomo-cliniques : la **taille de la tumeur** ( $\leq 2$  cm ou  $> 2$  cm) et l'**atteinte ganglionnaire** (0 à 3). Ces deux paramètres sont intégrés dans l'algorithme Prosigna®.

L'infiltration tumorale est au préalable vérifiée par un médecin anatomopathologiste sur le bloc tumoral techniqué. Le dosage Prosigna® est effectué sur l'ARN isolé à partir d'échantillons tumoraux mammaires fixés au formol et inclus en paraffine. Prosigna® mesure simultanément par RT-PCR les niveaux d'expression de 50 gènes utilisés par l'algorithme de classification des sous types intrinsèques. Le test est effectué sur le système d'analyse nCounter® DX de Nanostring. L'algorithme renvoie un score RDR (Risque De Récidive) qui est corrélé avec la probabilité de récurrence à distance à 10 ans.

### Les résultats du test Prosigna®(PAM50) sont les suivants :

Résultat	Valeurs
Sous type intrinsèque tumoral	Luminal A Luminal B HER2 "enrichi" Basal-like
Estimation individuelle de la probabilité de récurrence à distance à 10 ans	0 – 100 %
Score RDR : Risque De Récidive	Valeur sur une échelle de 0 à 100
Classification du risque	Faible Intermédiaire Élevé

Le test Prosigna® (PAM50) a été validé au plan analytique par plusieurs études. La reproductibilité et la précision de Prosigna® ont été démontrées après analyse sur plusieurs sites d'essai, utilisant différentes plateformes nCounter®, différents opérateurs et différents lots de réactifs.

Prosigna®(PAM50) a été validé cliniquement (chez plus de 2400 patientes). Les résultats de deux études (*TransATAC clinical validation study* et *ABCSG-8 validation study*) ont permis de valider le modèle qui lie le score RDR du test PAM50 à la probabilité de récurrence à distance dans la population testée, avec un intervalle de confiance de 95 %.

En conclusion, le test Prosigna®(PAM50) fournit une évaluation du risque rapide, fiable et individualisée avec en particulier :

- la notion d'indicateur pronostique de survie sans récurrence à 10 ans pour la population cible précitée,
- La détermination du sous-type intrinsèque : en particulier, la distinction, parmi les sous types Luminaux, du sous type Luminal A du sous type Luminal B, ce dernier, de pronostic plus défavorable pouvant donc bénéficier d'une association hormonothérapie – chimiothérapie.

Enfin, le test Prosigna®(PAM50) bénéficie à la fois du marquage CE et de l'autorisation 510(k) de la FDA dans l'indication ci-dessus, pour l'analyse des tissus tumoraux mammaires (FFIP).

## Bibliographie

Sorlie T1, Tibshirani R, Parker J, et al. Repeated observation of breast tumor subtypes in independent gene expression data sets. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Jul 8;100(14):8418-23.

Parker JS, Mullins M, Cheang MC, et al. Supervised risk predictor of breast cancer based on intrinsic subtypes. *J Clin Oncol.* 2009;27(8):1160-1167.

Nielsen TO, Parker JS, Leung S, et al. A comparison of PAM50 intrinsic subtyping with immunohistochemistry and clinical prognostic factors in tamoxifen-treated estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2010;16(21):5222-5232.

Cheang MC, Voduc KD, Tu D, et al. Responsiveness of intrinsic subtypes to adjuvant anthracycline substitution in the NCIC.CTG MA.5 randomized trial. *Clin Cancer Res.* 2012;18(8):2402-2412.

Chia SK, Bramwell VH, Tu D, et al. A 50-gene intrinsic subtype classifier for prognosis and prediction

of benefit from adjuvant tamoxifen. *Clin Cancer Res.* 2012;18(16):4465-4472. *Cancer Genome Atlas Network. Comprehensive molecular portraits of human breast tumours. Nature.* 2012;490(7418):61-70.

Dowsett M, Sestak I, Lopez-Knowles E, et al. Comparison of PAM50 risk of recurrence score with Oncotype DX and IHC4 for predicting risk of distant recurrence after endocrine therapy. *J Clin Oncol* 2013;31(22):2783-2790.

Gnant M, Filipits M, Greil R, et al; Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. Predicting distant recurrence in receptor-positive breast cancer patients with limited clinicopathological risk: using the PAM50 Risk of Recurrence score in 1478 postmenopausal patients of the ABCSG-8 trial treated with adjuvant endocrine therapy alone. *Ann Oncol.* 2014;25(2):339-345.

Filipits M, Nielsen TO, Rudas M, et al; Austrian Breast and Colorectal Cancer Study Group. The PAM50 risk-of-recurrence score predicts risk for late distant recurrence after endocrine therapy in postmenopausal women with endocrine-responsive early breast cancer. *Clin Cancer Res.* 2014;20(5):1298-1305.

Sestak I, Cuzick J, Dowsett M et al. Prediction of late distant recurrence after 5 years of endocrine treatment: a combined analysis of patients from the Austrian breast and colorectal cancer study group 8 and arimidex, tamoxifen alone or in combination randomized trials using the PAM50 risk of recurrence score. *J Clin Oncol.* 2015 Mar 10;33(8):916-22.

Wallden B, Storhoff J, Nielsen T, et al. Development and verification of the PAM50-based Prosigna breast cancer gene signature assay. *BMC Med Genomics.* 2015 Aug 22;8:54.

