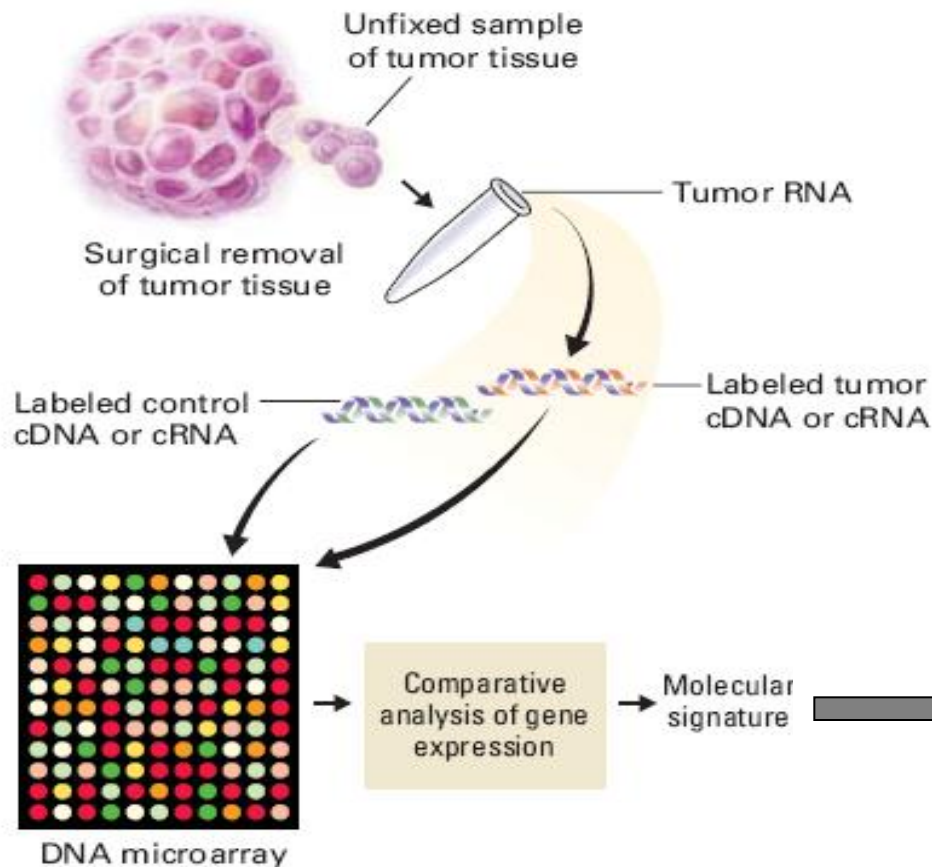


Qu'est-ce qu'un cancer moléculaire apocrine du sein: expérience de l'Hôpital St Louis

Solenne Lemman-Detours
Jacqueline Lehmann-Che



Classification moléculaire des tumeurs mammaires



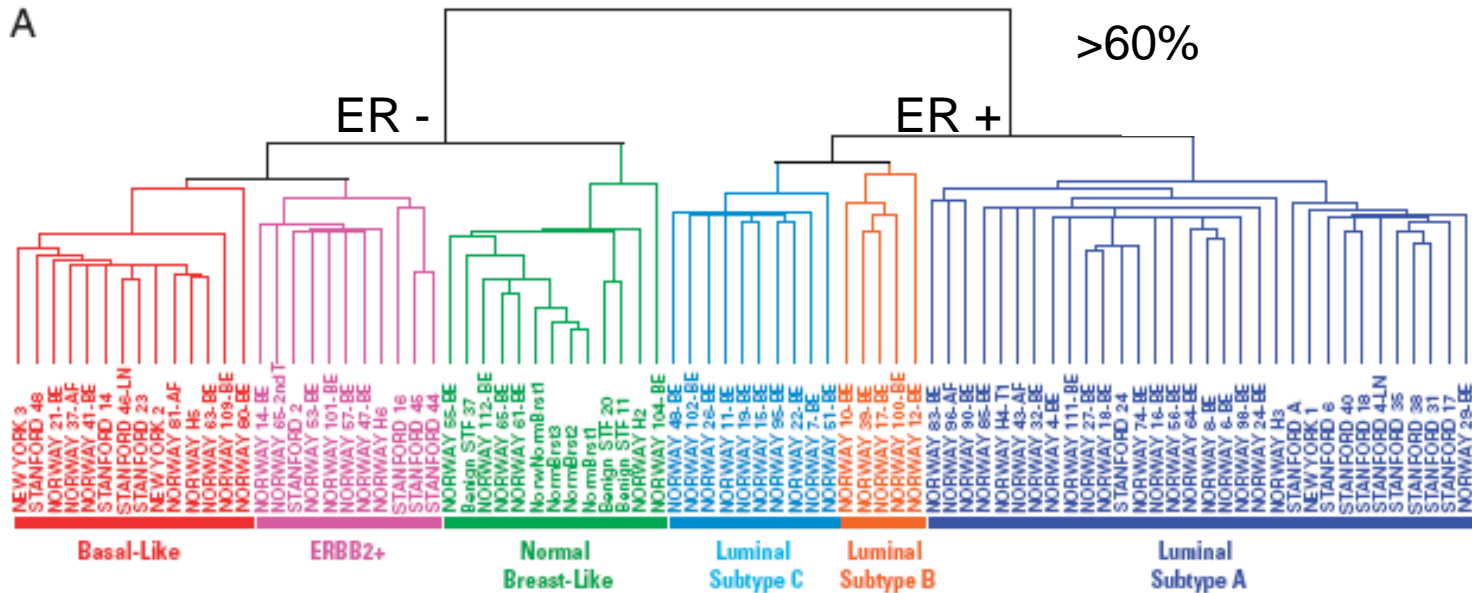
Regrouper les tumeurs
selon le niveau
d'expression de leurs
gènes

**un portrait
moléculaire
des tumeurs**

**Hétérogénéité globale
mais certaine homogénéité
dans les sous groupes**

Classification moléculaire des tumeurs mammaires

Classification de Sorlie



agressives
mauvais pronostic
mais chimiosensibles

évolution lente,
bon pronostic
hormonosensibles mais peu chimiosensibles

Classification encore plus complexe.....

Notamment le groupe ERBB2+ n'est pas une entité homogène

Un nouveau sous groupe de tumeurs ERneg



Oncogene (2005) 24, 4660–4671

© 2005 Nature Publishing Group All rights reserved 0950-9232/05 \$30.00

www.nature.com/onc

Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis

Pierre Farmer^{1,2}, Herve Bonnefoi^{3,4,5}, Veronique Becette⁶, Michele Tubiana-Hulin⁶, Pierre Fumoleau⁷, Denis Larsimont⁸, Gaetan MacGrogan⁹, Jonas Bergh¹⁰, David Cameron¹¹, Darlene Goldstein^{1,2}, Stephan Duss², Anne-Laure Nicoulaz², Cathrin Brisken², Maryse Fiche¹², Mauro Delorenzi^{1,2} and Richard Iggo^{*,2}



Oncogene (2006) 25, 3994–4008

© 2006 Nature Publishing Group All rights reserved 0950-9232/06 \$30.00

www.nature.com/onc

ONCOGENOMICS

An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen

AS Doane¹, M Danso², P Lal¹, M Donaton¹, L Zhang¹, C Hudis² and WL Gerald¹

¹Department of Pathology, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY, USA and ²Department of Medicine, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, NY, USA

Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis

Pierre Farmer^{1,2}, Herve Bonnefoi^{3,4,5}, Veronique Becette⁶, Michele Tubiana-Hulin⁶,
 Pierre Fumoleau⁷, Denis Larsimont⁸, Gaetan MacGrogan⁹, Jonas Bergh¹⁰, David Cameron¹¹,
 Darlene Goldstein^{1,2}, Stephan Duss², Anne-Laure Nicoulaz², Cathrin Brisken², Maryse Fiche¹²,
 Mauro Delorenzi^{1,2} and Richard Iggo^{*2}

étude microarray (U133A Affy) sur **49** LABC

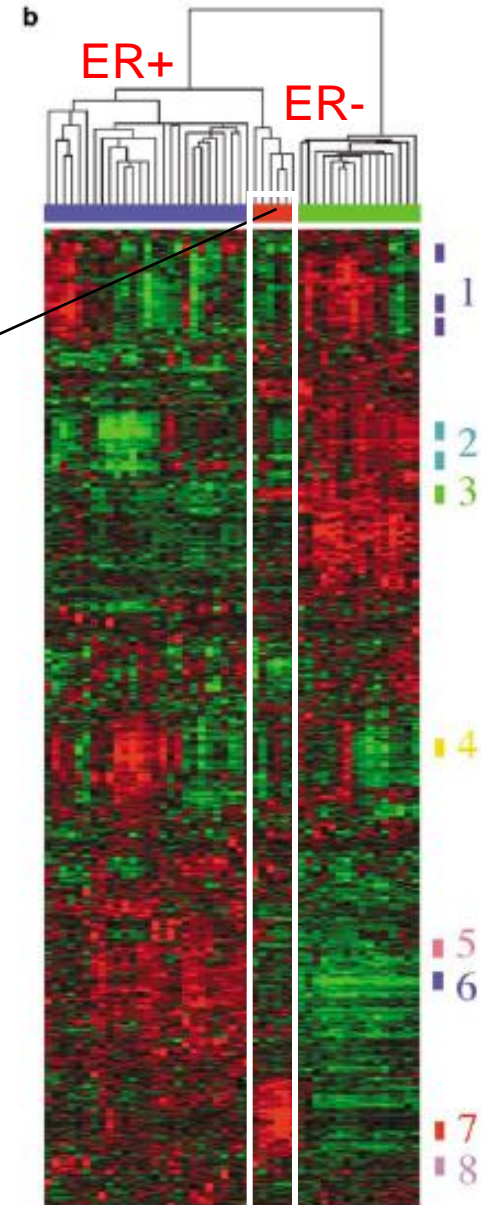
Tumeurs AR+/ ER-: 6!

signalisation AR activée, ER inactive ou faible,
 amplification HER2 + fréquente

caractéristiques apocrines : cytoplasme éosinophile,
 nucléoles proéminents

➡ recherche de ce profil transcriptomique dans 4 autres
 études microarrays publiés (320 tumeurs):

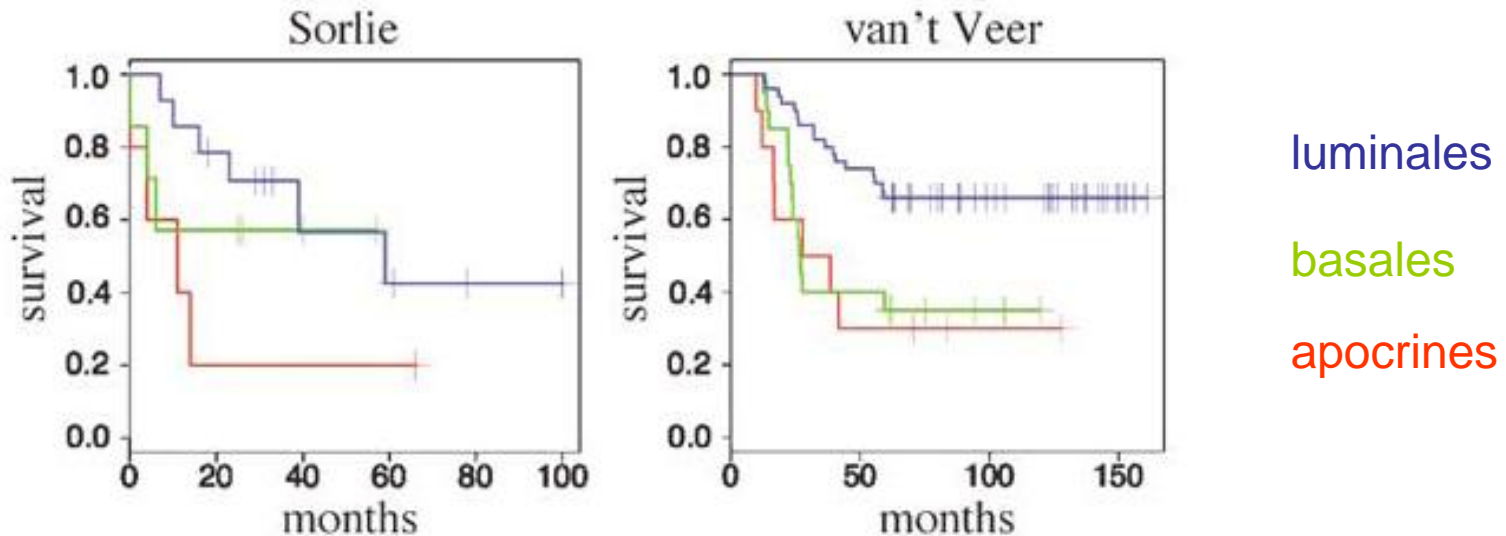
34 retrouvés (10,6%)



Identification of molecular apocrine breast tumours by microarray analysis

Pierre Farmer^{1,2}, Herve Bonnefoi^{3,4,5}, Veronique Becette⁶, Michele Tubiana-Hulin⁶, Pierre Fumoleau⁷, Denis Larsimont⁸, Gaetan MacGrogan⁹, Jonas Bergh¹⁰, David Cameron¹¹, Darlene Goldstein^{1,2}, Stephan Duss², Anne-Laure Nicoulaz², Cathrin Brisken², Maryse Fiche¹², Mauro Delorenzi^{1,2} and Richard Iggo^{*,2}

☛ données de survie dans ces études:



☛ surexpression de gènes importants:

UGT2B28: enz du catabolisme des E et A

SPDEF: facteur coopérant avec AR, régulé par AR

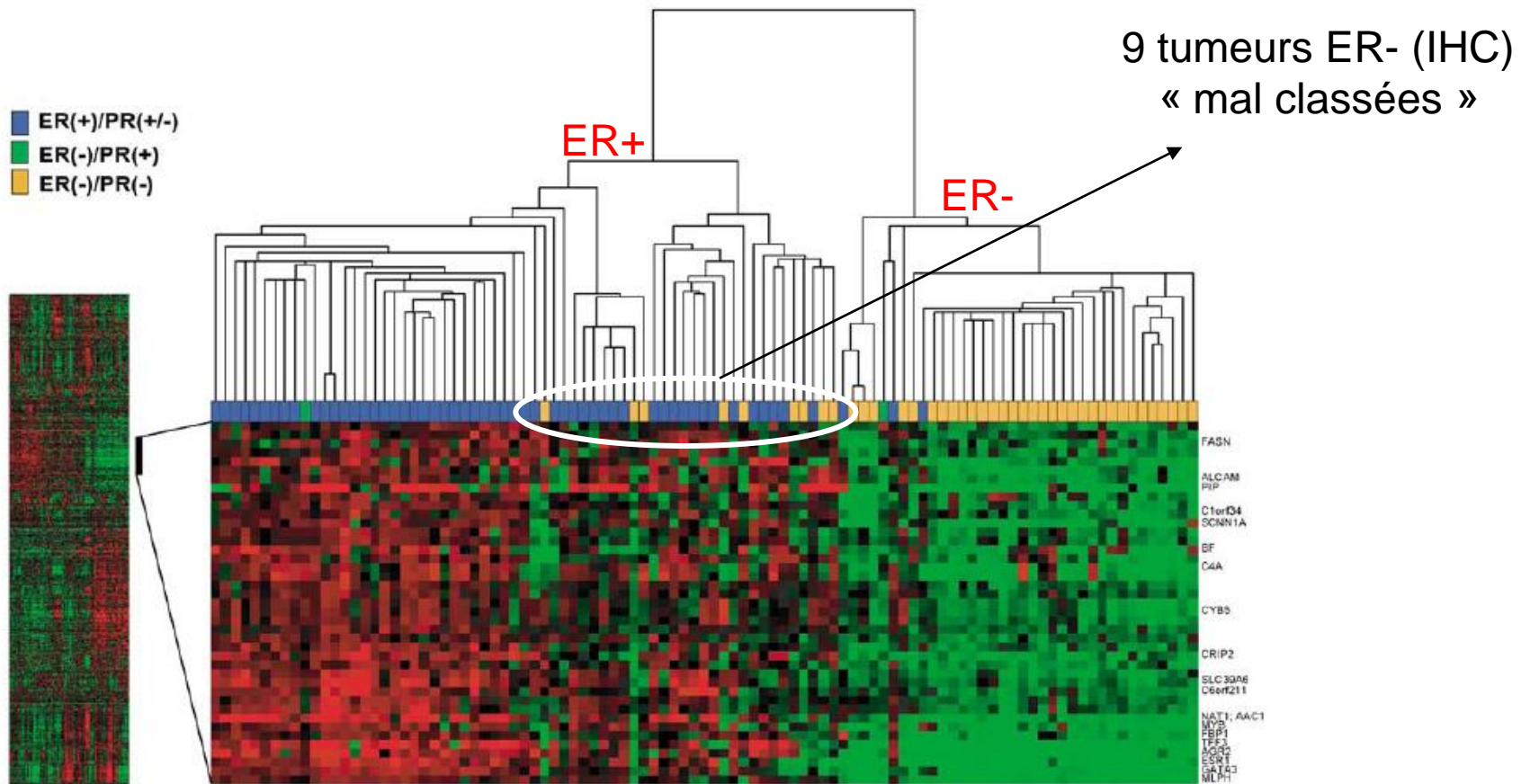
également EGFR, FGFR4, gènes du métabolisme lipidique

ONCOGENOMICS

An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen

AS Doane¹, M Danso², P Lal¹, M Donaton¹, L Zhang¹, C Hudis² and WL Gerald¹

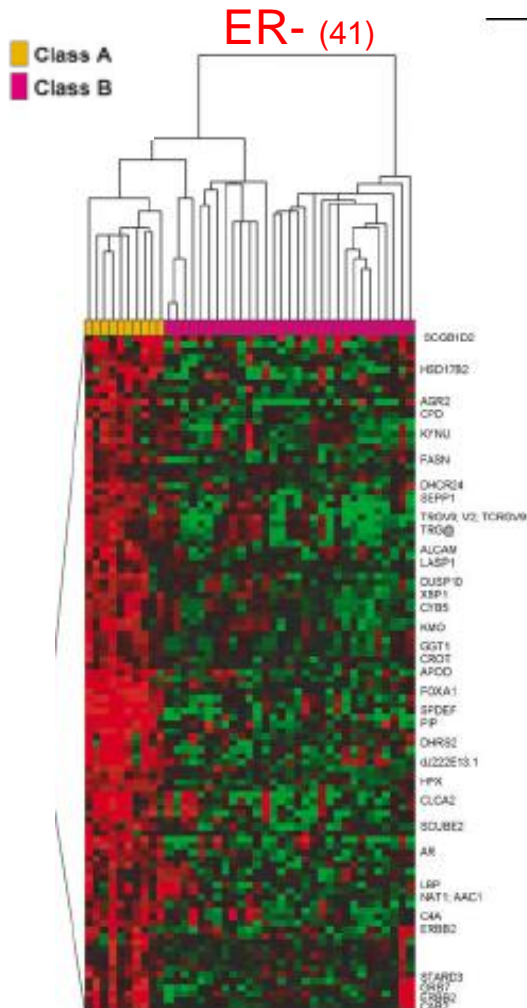
étude microarray (U133A Affy) sur **99** tumeurs



ONCOGENOMICS

An estrogen receptor-negative breast cancer subset characterized by a hormonally regulated transcriptional program and response to androgen

AS Doane¹, M Danso², P Lal¹, M Donaton¹, L Zhang¹, C Hudis² and WL Gerald¹



class A:

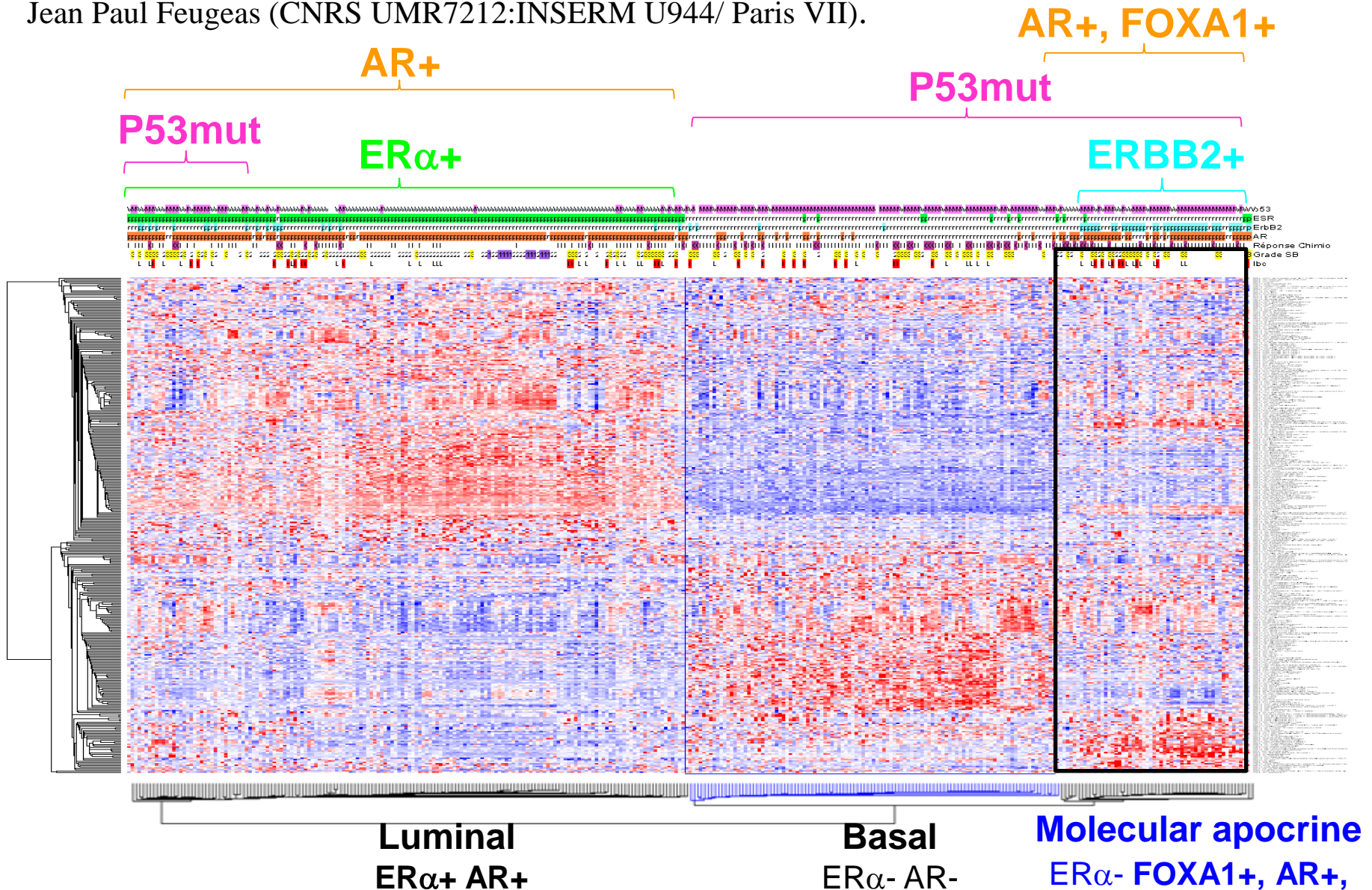
- tumeurs intermédiaires entre ER+ et ER-
- morphologie apocrine (70% v 21%)

Discrimination de A

- en IHC à l'aide de : ER, PR, SPDEF, ALCAM
- en transcription: AR, CYB5, FOXA1, SPDEF, APOD, HER2

Nos données de transcriptomique

☛ Analyse du transcriptome: 400 tumeurs (MDA, Jules Bordet, IGR, SLS),
Jean Paul Feugeas (CNRS UMR7212:INSERM U944/ Paris VII).



Données françaises publiées

Open

Oncogene (2011) 1–11

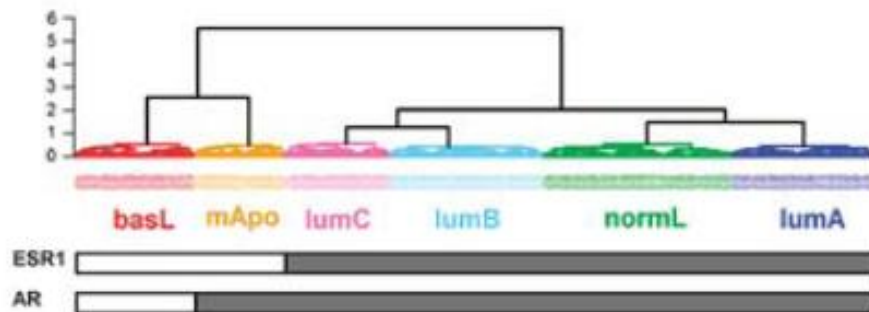
© 2011 Macmillan Publishers Limited All rights reserved 0950-9232/11

www.nature.com/onc

ONCOGENOMICS

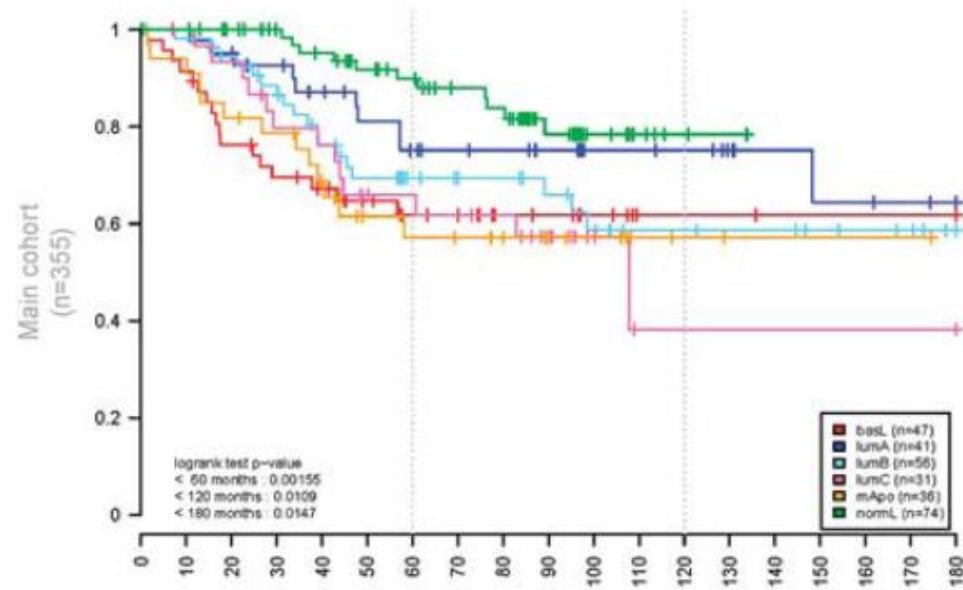
A refined molecular taxonomy of breast cancer

M Guedj^{1,15}, L Marisa^{1,15}, A de Reynies^{1,15}, B Orsetti^{2,3}, R Schiappa¹, F Bibeau⁴, G MacGrogan⁵, F Lerebours⁶, P Finetti⁷, M Longy⁵, P Bertheau⁸, F Bertrand⁶, F Bonnet⁵, AL Martin⁹, JP Feugeas^{10,11,12}, I Bièche⁶, J Lehmann-Che^{10,11,12}, R Lidereau⁶, D Birnbaum⁷, F Bertucci⁷, H de Thé^{10,11,12,15} and C Theillet^{2,13,14,15}



a

Metastatic relapse





Les tumeurs apocrines moléculaires du sein

Tumeurs pouvant se définir, pour l'instant :

par leur profil moléculaire complexe → analyses microarrays

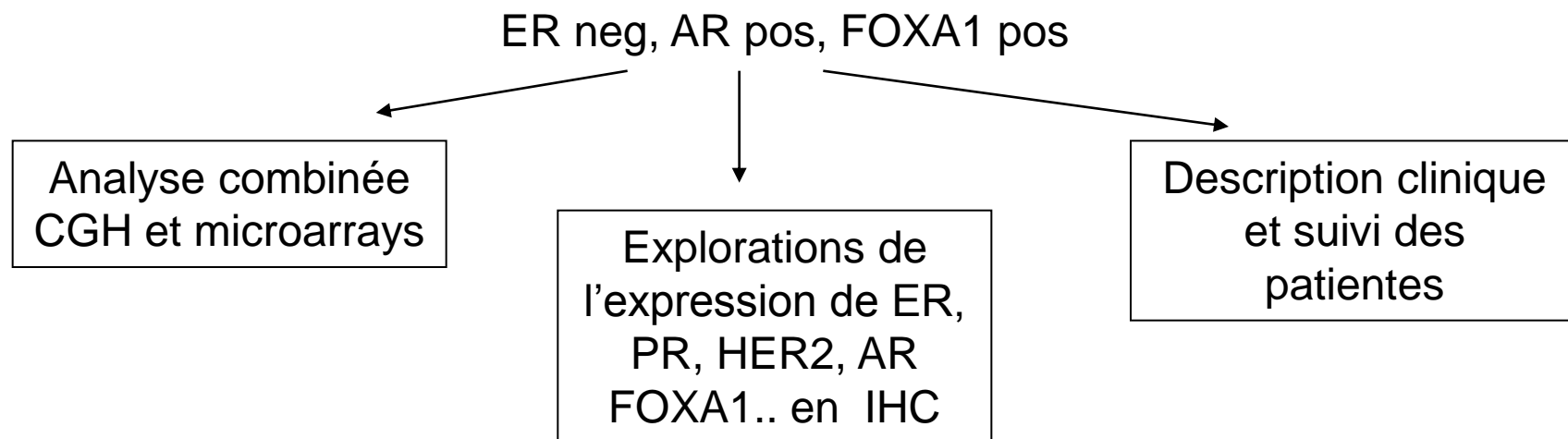
par une « signature » en Q RT-PCR → expression de certains gènes majeurs (ER-, AR+, FOXA1+)

Quelles questions nous sommes nous posées? :

- Quelles anomalies génétiques rendent compte de ce profil d'expression particulier?
- Existe-t-il un profil immunohistochimique qui discrimine ce sous groupe?
- Quelle est la présentation clinique de ce sous groupe?
- Peut-on envisager une thérapeutique ciblée pour ce sous groupe?

Le schéma de l'étude

I/ Sélection de tumeurs apocrines moléculaires sur la base de la signature moléculaire (q RT-PCR) en rétrospectif entre 1995 et 2008



2/ Évaluer l'efficacité anti tumorale de drogues candidates *in vitro* et *in vivo*



☛ Analyse *in vitro* de 4 lignées apocrines ➔ A. Dumay (CNRS UMR7212/INSERM U944/ ParisVII)

☛ Analyse *in vivo* de xénogreffes de tumeurs apocrines moléculaires humaines chez la souris ➔ modèles pré cliniques

I/ Analyse immunohistochimique (1)

Question: peut –on trouver une signature simple d'IHC?

Réalisation en IHC :

ER (6F11)

PR

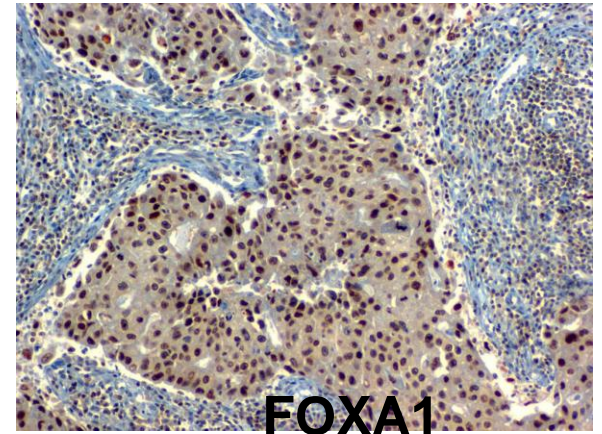
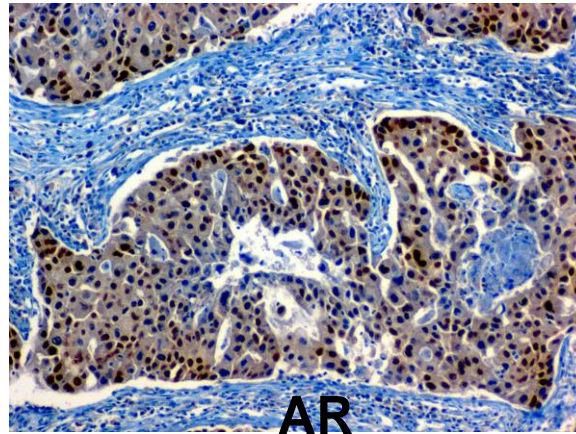
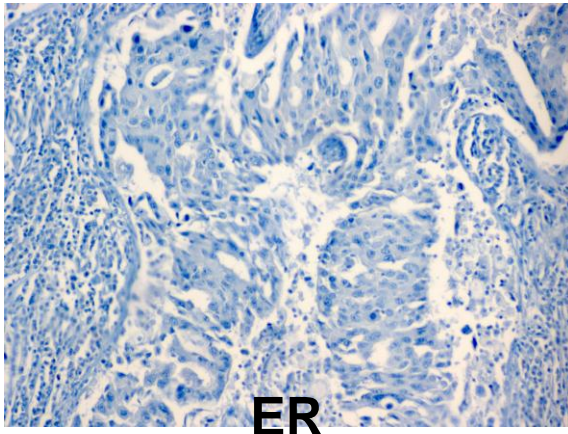
HER2 (CB11) +/- SISH et/ou Q RT-PCR

AR (441 DAKO)

FoxA1 (2F83 ABCAM)

CK5-6, CK17, EGFR, GCDFP15

-Sur 58 apocrines (ER-, AR+, FOXA1+) et 16 basaux



I/ Analyse immunohistochimique (2)

58 Apocrines

	ER	AR	FOXA1	HER2
Pos	4	33 56.9%	52 89.6%	39 67,2%
Neg	54 93%	24	6	19
na	0	1	0	0

ER-, FOXA1+ ➔ 48/59 (81,4%)

ER-, FOXA1+, AR+ ➔ 31/57 (54.4%)

16 Basaux

	ER	AR	FOXA1	HER2
Pos	0	1	6	1
Neg	15 100%	13 93%	9 60%	15 94%
na	0	2	1	0

ER-, FOXA1+ ➔ 6/15 (40%)

ER-, FOXA1+, AR+ ➔ 1/14 (7%)

la population apocrine est imparfaitement identifiée par ces 3 analyses immunohistochimiques

 **Dissociation entre absence d'expression de AR en IHC et surexpression en Q RT-PCR, à explorer**

Prudence quant à l'analyse de la littérature , AR + en IHC

II/ Description clinique des patientes

- Analyse rétrospective
 - 58 patientes traitées à Saint Louis
 - Entre 1995 et 2008
 - Signature transcriptionnelle (RT-PCR) =
 - *ER* –
 - *AR* +
 - *FOXA1* +
 - 1ère description clinique de ce sous-type de cancer du sein
≠ Tumeurs apocrines morphologiques
- => Objectif : décrire leur présentation clinique et leur évolution

Caractéristiques cliniques

Age au diagnostic (ans)	54	(32-86)
Antécédent familial de KS	16	27.6 %
Présentation du diagnostic		
Métastase synchrone	3	5.2 %
Cancer inflammatoire	5	8.6 %
Antécédent cancer personnel (homo/controlatéral)	5	8.6 %
Statut ménopausique		
Non ménopausées	26	44.8 %
Ménopausées	32	55.2 %

Caractéristiques tumorales

Taille tumorale clinique		
T0, T1	11	19 %
T2, T3 et T4	47	81 %
Envahissement ganglionnaire		
N0	31	53.4 %
N1, N2, N3	27	46.6 %
Caractéristiques radiologiques		
Image à la mammographie	44	75.9 %
Image à l'échographie	36	62.1 %
Microcalcifications	27	46.6 %

- Majoritairement des tumeurs localement avancées
- Envahissement ganglionnaire fréquent
- Pas de spécificité radiologique...

Caractéristiques histologiques

Type histologique CCI		
Maladie de paget	4	
Apocrine	4	
Inflexion épidermoïde	1	
Composante In Situ		
Oui	44	75.9 %
Non	14	24.1 %
Grade SBR		
2	15	25.9 %
3	43	74.1 %
Emboles lymphatiques		
Oui	28	48.3 %
Non	30	51.7 %
Atteinte ganglionnaire (n=41)		
0	18	31 %
1 à 3	9	15.5 %
≥ 4	14	24.1 %

- Seules 4 tumeurs sont de type histologique « Apocrine »

- Facteurs de mauvais pronostic

- Majoritairement SBR 3 (absence de SBR 1)

- Presque 50 % avec emboles lymphatiques

- 56 % avec atteintes ganglionnaires

Caractéristiques Immunohistochimiques

Statut ER		
Négatif	54	93.1 %
Positif	4	6.9 %
Statut PR		
Négatif	56	96.6 %
Positif	2	3.4 %
Surexpression HER2		
Oui	39	67.2 %
Non	19	32.8 %

RA (N10 %)		
Négative	24	41.4 %
Positive	33	56.9 %
FoxA1 (N10%)		
Négative	6	10.3 %
Positive	52	89.7 %
GCDFP-15		
Négative	25	43.1 %
Positive	33	56.9 %

CK 5/6		
Négative	51	87.9 %
Positive	6	10.3 %
CK 17		
Négative	54	93.1 %
Positive	3	5.2 %
EGFR (5%)		
négative	40	69 %
Positive	17	29.3 %

- En routine : Majorité est PR-, ER -, HER2+
- Plus spécifique : Majorité est AR + ,
FoxA1 +, GCDFP-15 +

- Distinction entre les tumeurs apocrines moléculaires et les **Basaux** :
CK5/6 +, CK17 + et EGFR +

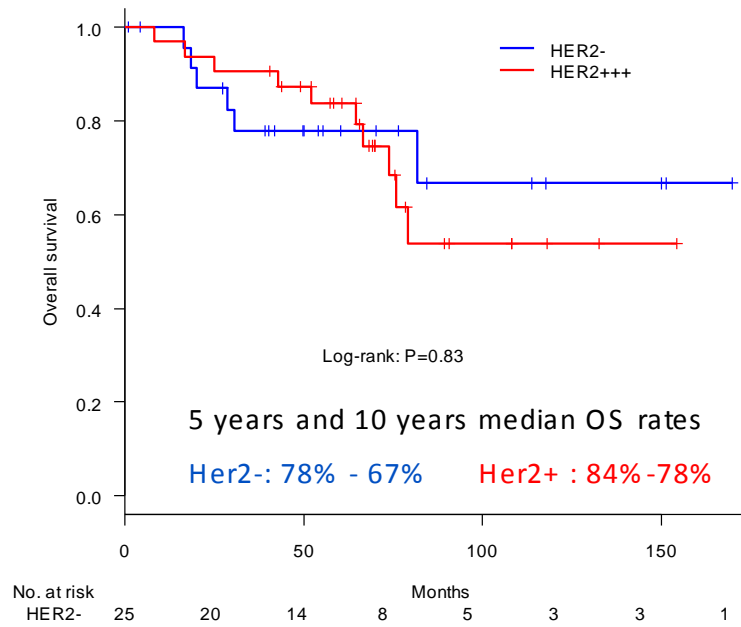
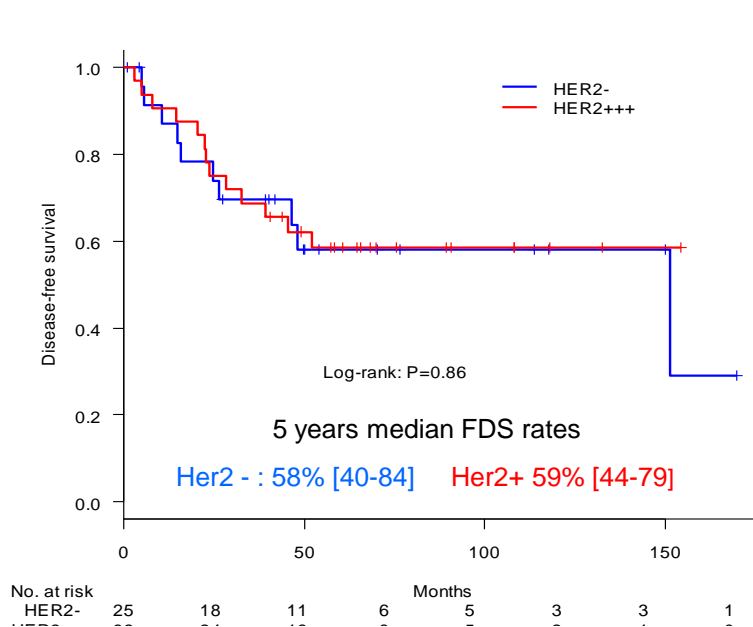
Traitements

Chirurgie		
Tumorectomie	18	31 %
Mastectomie	39	67.2 %
Absence de chirurgie	1	1.7 %
Chimiothérapie		
Néoadjuvante	17	29.3 %
Adjuvante	43	74.1 %
Non	8	13.8 %
Hormonothérapie		
Oui	11	19 %
Non	47	81 %
Radiothérapie		
Oui	41	70.7 %
Non	17	29.3 %
Trastuzumab		
Oui	16	27.6 %
Non	42	72.4 %

Traitements hétérogènes

- Majorité : chirurgie radicale
- Seul 13 % n'a pas reçu de chimio
- 20 % ont reçu une hormonothérapie : Probable discordance des techniques (IHC, ligand, moléculaire)

Survie sans récurrence et survie globale selon le profil HER2

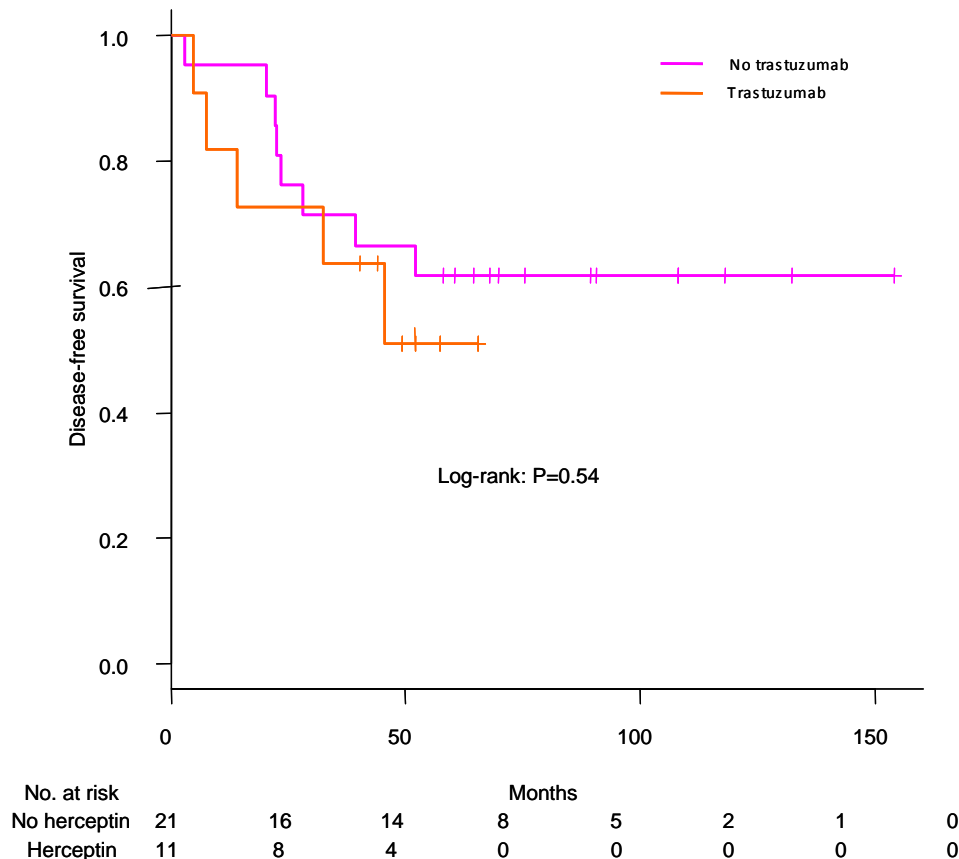


33 évènements après 70 mois de suivi

- Récidive locale **n=8** - Cancer controlatéral **n=3** - Métastase **n=22** (dont Décès **n=18**)

- Pas de différence significative ($p=0,86$ et $p=0,83$) : HER2 ne serait pas un facteur pronostic dans cette population
- Mauvais taux de survie sans récurrence et survie globale (forts taux de récurrences et de décès)

Survie sans récurrence chez les HER2+++ avec ou sans Herceptine



Pas de différence
 significative avec ou sans
 Trastuzumab chez les
 patientes HER 2+
 ($p=0,54$) ??

Conclusion

- 1ere description clinique dans ce sous-type de cancer du sein
- Peu de spécificité sur le plan démographique dans cette population
- MAIS... **phénotype plus agressif** :
 - Grosses tumeurs
 - Facteurs de mauvais pronostic
(Grades 2 ou 3, 50% embols, 50% N+)
 - Mauvaise survie sans récidence et survie globale
(malgré les traitements variés)

LIMITES

- Étude Rétrospective
- Traitement hétérogène pour la population
- Absence de série contrôle

PERSPECTIVE

Utilisation de nouvelles thérapeutiques : Anti-Androgènes

Rationnel de AR dans le sein

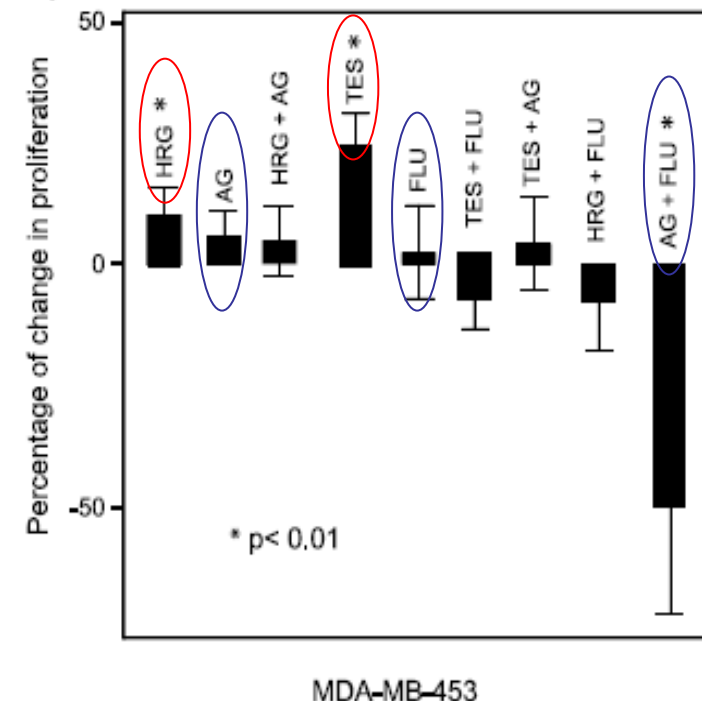
- 70,7% d'expression AR dans K sein métastatique (Schippering, 2006)
- 72.9% d'expression AR dans K sein non métastatique (Park 2010)
- AR très fortement corrélé à ER et PR
 - ➔ meilleure survie, petite taille de tumeur, bas grade (Park 2010)
- mais AR est également exprimé dans un sous groupe de tumeurs ER-:
 - ➔ 50% des ER- sont AR+, fortement corrélé à HER2 (Agoff 2003, Park 2010)
 - ➔ 35% des TN sont AR+ (Park 2010)

**AR semble une cible thérapeutique intéressante dans les TN
actuellement sans option thérapeutique ciblée**

Options thérapeutiques: les données *in vitro*

Sur lignée apocrine moléculaire MDA MB 453 (Doane 2006, Naderi, 2008)

- ☛ Ne pousse pas sous E2 → indép de ER
- ☛ AR est le seul RN différentiellement surexprimé: pousse sous A synthétique, inhibé par flutamide (non influencé par tamox)
- ☛ Signalisation croisée entre AR et HER2
- ☛ Analyse de la prolifération selon traitement
 - ☛ Inhib AR: flutamide
 - ☛ Inhib HER2: AG 825
 - ☛ Combinaison des 2



Options thérapeutiques:en clinique

Essai clinique de phase II aux USA

- **Bicalutamide = Anti-Androgènes**
- **Cancers du sein métastasés**
- **Mai 2007 – Mars 2011**
- **28 patientes**
- **ADK stade IV, ER -, PR -, AR + (en IHC)**

Conclusion

Les tumeurs apocrines moléculaires :

- sont un sous groupe retrouvé de façon robuste
- sont différentes des tumeurs apocrines morphologiques
- ont AR comme cible thérapeutique possible, dans un contexte TN
- mais nécessitent :
 - description clinique approfondie
 - une méthode de screening simple et fiable : transcriptome non utilisable en pratique clinique, signature Q RT-PCR à valider, signature immunohistochimique imparfaite
 - une compréhension globale des voies de signalisation pour des thérapeutiques combinées: anti AR + anti HER2....

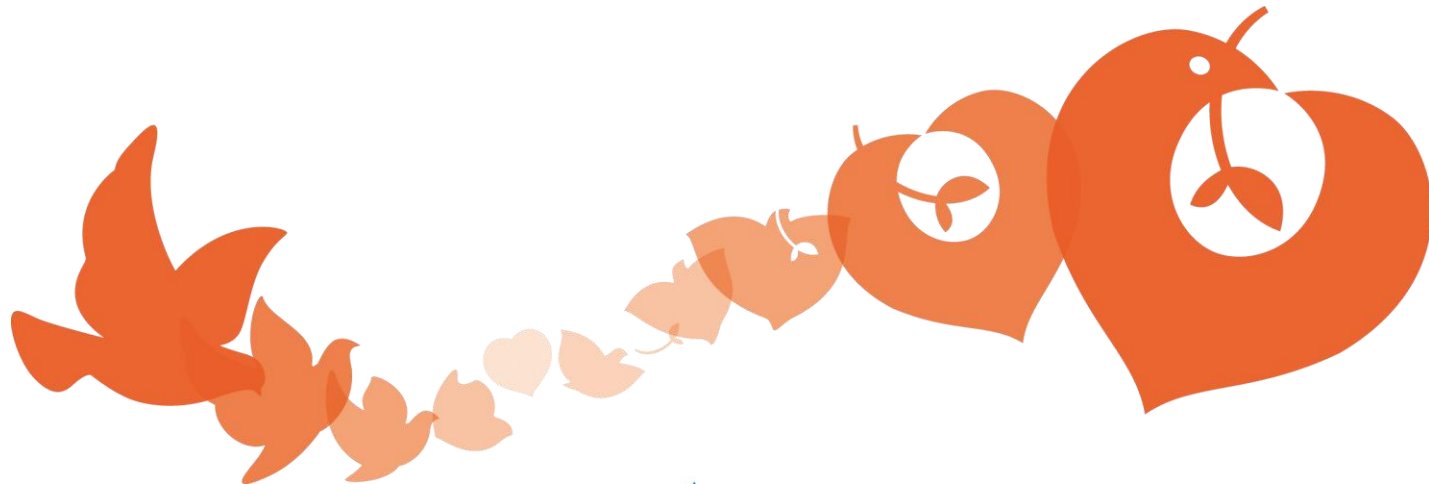
Remerciements

Centre des Maladies
du sein

Unité d'oncologie moléculaire

Service d'anatomie
pathologique

Équipe CNRS UMR7212/
INSERM U944/ Paris VII



Apocrine breast carcinomas (morphologically)

Definition : >90% apocrine cells
account for less than 1% of breast cancers
GCDFP15 + in almost all cases

Note :

- focal apocrine differentiation is observed in 30% of breast cancers
- 15-50% of all BC are GCDFP15+

Clinically : no difference with other BC (age, prognosis...)

Immunophenotype : apocrine cells (benign/malignant) are

- usually ER- PR-
- usually GCDFP15+, AR+ (90% of benign, and 70% of malignant), ER beta +