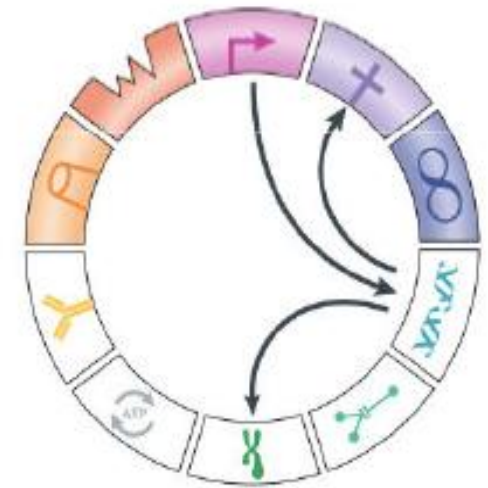
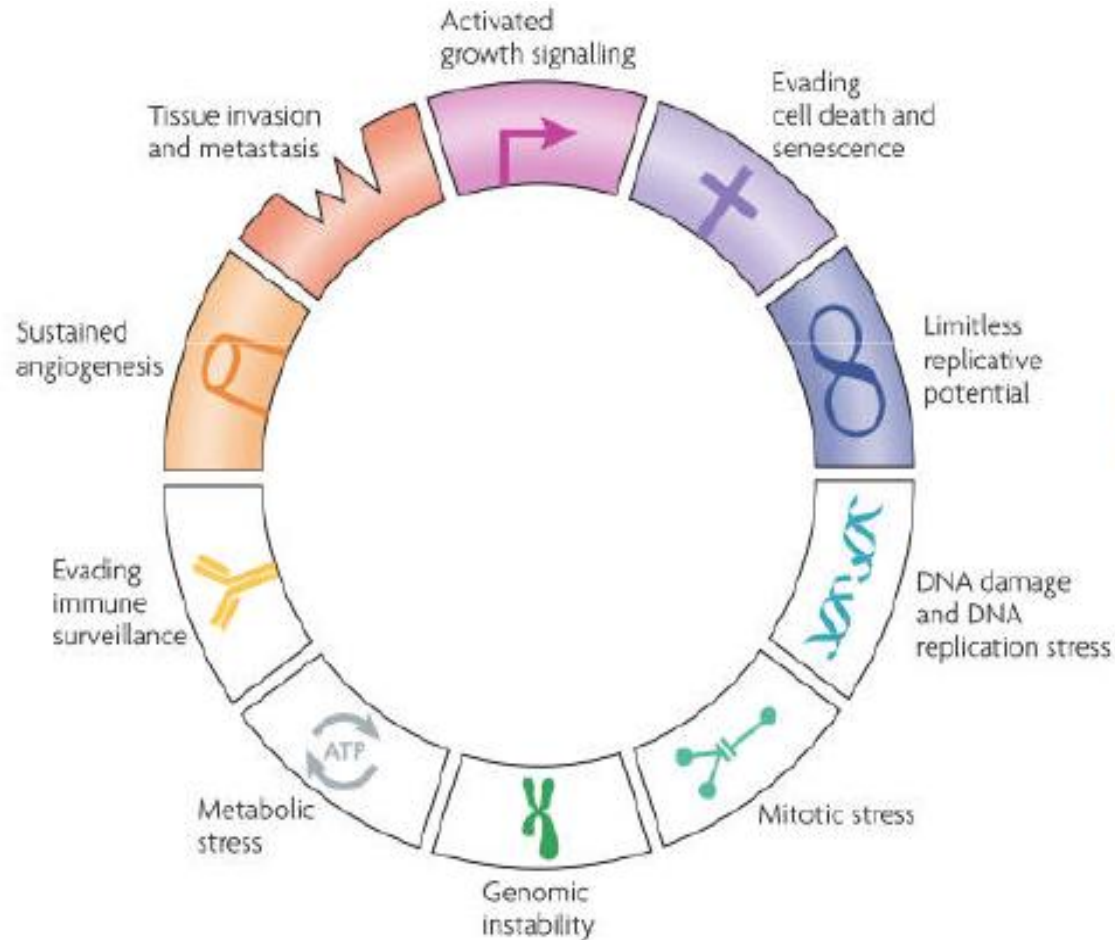


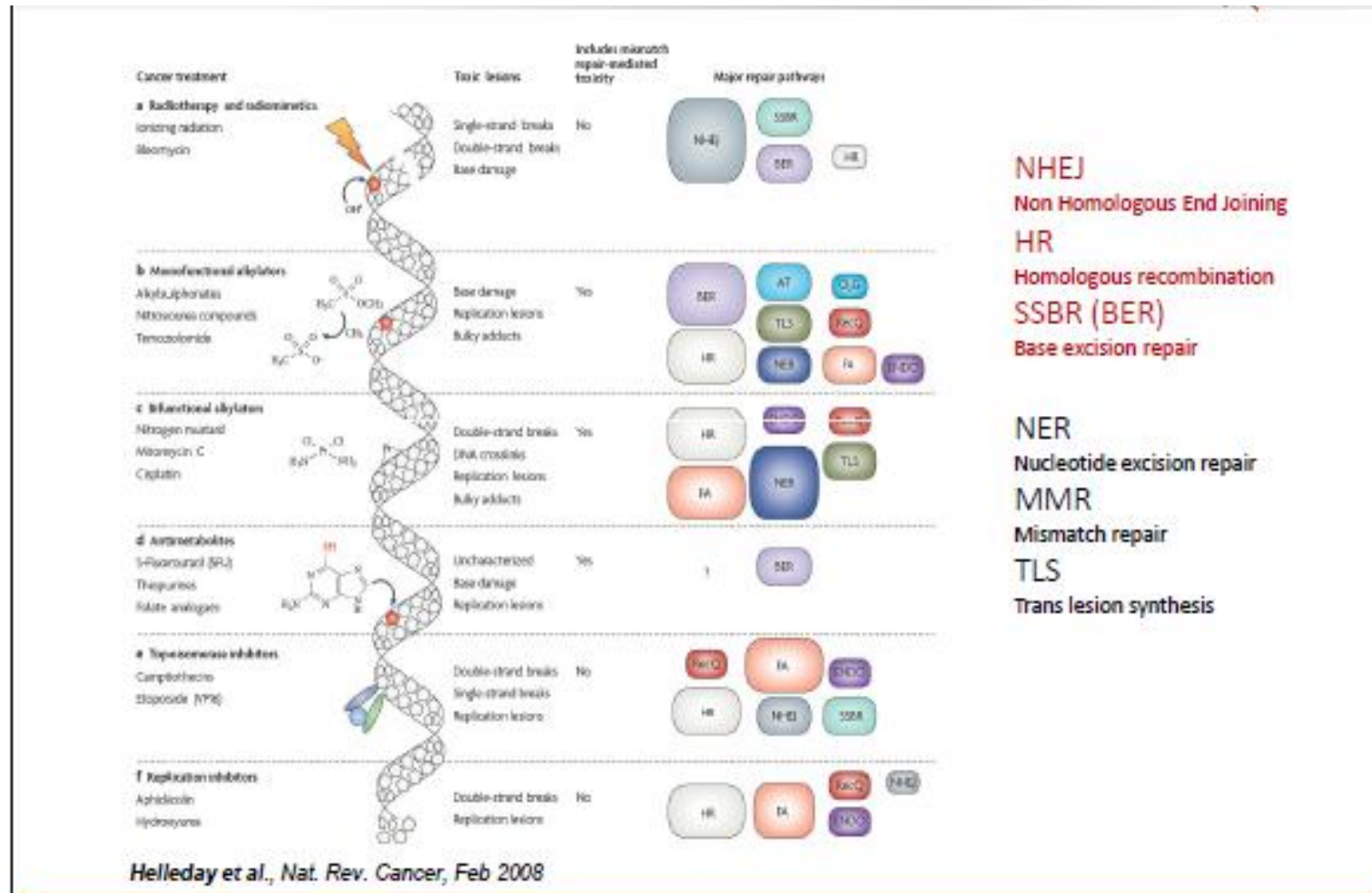
Les cancers du sein de type BRCA1

Incidence, particularités, traitement

LES LESIONS DE L'ADN et L'INSTABILITE GENETIQUE SONT DES CARACTERISTIQUES DU CANCER



Voies de réparation de l'ADN et protéines de réparation associées



Principales caractéristiques génomiques, cliniques et protéomiques des Cancers du Sein

Subtype	Luminal A	Luminal B	Basal-like	HER2E
ER ⁺ /HER2 ⁻ (%)	87	82	10	20
HER2 ⁺ (%)	7	15	2	68
TNBCs (%)	2	1	80	9
TP53 pathway	TP53 mut (12%); gain of <i>MDM2</i> (14%)	TP53 mut (32%); gain of <i>MDM2</i> (31%)	TP53 mut (84%); gain of <i>MDM2</i> (14%)	TP53 mut (75%); gain of <i>MDM2</i> (30%)
PIK3CA/PTEN pathway	PIK3CA mut (49%); <i>PTEN</i> mut/loss (13%); <i>INPP4B</i> loss (9%)	PIK3CA mut (32%) <i>PTEN</i> mut/loss (24%) <i>INPP4B</i> loss (16%)	PIK3CA mut (7%); <i>PTEN</i> mut/loss (35%); <i>INPP4B</i> loss (30%)	PIK3CA mut (42%); <i>PTEN</i> mut/loss (19%); <i>INPP4B</i> loss (30%)
RB1 pathway	Cyclin D1 amp (29%); <i>CDK4</i> gain (14%); low expression of <i>CDKN2C</i> ; high expression of <i>RB1</i>	Cyclin D1 amp (58%); <i>CDK4</i> gain (25%)	<i>RB1</i> mut/loss (20%); cyclin E1 amp (9%); high expression of <i>CDKN2A</i> ; low expression of <i>RB1</i>	Cyclin D1 amp (38%); <i>CDK4</i> gain (24%)
mRNA expression	High ER cluster; low proliferation	Lower ER cluster; high proliferation	Basal signature; high proliferation	HER2 amplicon signature; high proliferation
Copy number	Most diploid; many with quiet genomes; 1q, 8q, 8p11 gain; 8p, 16q loss; 11q13.3 amp (24%)	Most aneuploid; many with focal amp; 1q, 8q, 8p11 gain; 8p, 16q loss; 11q13.3 amp (51%); 8p11.23 amp (28%)	Most aneuploid; high genomic instability; 1q, 10p gain; 8p, 5q loss; <i>MYC</i> focal gain (40%)	Most aneuploid; high genomic instability; 1q, 8q gain; 8p loss; 17q12 focal <i>ERRB2</i> amp (71%)
DNA mutations	<i>PIK3CA</i> (49%); <i>TP53</i> (12%); <i>GATA3</i> (14%); <i>MAP3K1</i> (14%)	<i>TP53</i> (32%); <i>PIK3CA</i> (32%); <i>MAP3K1</i> (5%)	<i>TP53</i> (84%); <i>PIK3CA</i> (7%)	<i>TP53</i> (75%); <i>PIK3CA</i> (42%); <i>PIK3R1</i> (8%)
DNA methylation	–	Hypermethylated phenotype for subset	Hypomethylated	–
Protein expression	High oestrogen signalling; high MYB; RPPA reactive subtypes	Less oestrogen signalling; high FOXM1 and MYC; RPPA reactive subtypes	High expression of DNA repair proteins, <i>PTEN</i> and <i>INPP4B</i> loss signature (pAKT)	High protein and phospho-protein expression of EGFR and HER2

10% des cancers du sein peuvent avoir une importante contribution germinale

- 47/507 patients porteurs d'anomalies germinales délétères
- Dans 9 gènes différents
 - ATM,
 - BRCA1,
 - BRCA2,
 - BRIP1,
 - CHEK2,
 - NBN,
 - PTEN,
 - RAD51C
 - TP53

Relations BRCA- FANCONI

- Les anomalies double-brins de l'ADN sont détectées par des protéines kinases de veille (ATM, ATR)
- Celles-ci activent l'ensemble du complexe Fanconi (FANC A, C,E, F,G) et BRCA1
- Le complexe Fanconi active **FANCD2** (par ubiquitination)
- BRCA1 et FANCD2 activent le complexe BRCA2-Rad51 et activent la réparation conservatrice

Comment les mutations BRCA1/BRCA2 conduisent au cancer

- Les points de contrôle du cycle cellulaire doivent être abrogés
 - → incidence élevées de mutations de TP53 (spécifiques des mutations BRCA1 ou 2 et de BRCAness)
- L'abrogation des points de contrôle du fuseau mitotique (amplification du gène de *AURORA2*), peut être nécessaire (BRCA2)
- Activation des signaux de prolifération
 - cMYC: BRCA1 & BRCA2
 - EGF_R : BRCA1
 - HER2+ve rare dans ces deux cas

Histo-Pathologie des cancers du sein chez les porteurs de mutation BRCA-1

- Expression fréquente des cytokératines basales et de type myoépithélial (CK5/6, CK14 and CK17/14,
- Pas d'expression de ER peu de HER2 (80%)*,
- KI67 élevé
- Infiltration lymphocytaire,
- 'pushing' margins
- CIS associé moins fréquent

BRCAness: caractéristiques tumorales
partagées entre les formes
sporadiques (souvent avec
inactivation de BRCA... et les cancers
chez les porteurs de mutations
BRCA...

Cancers du sein sporadiques du type BRCA..

- Méthylation du gène dans 15% des cancers sporadiques, plus dans les Triples négatifs.
- Le gène BRCA1 est localisé sur le chromosome 17 , dans une région fréquemment délétée dans le cancer du sein
- Une délétion homozygote peut créer une haploinsuffisance de la région témoin d'un degré de BRCAness moindre mais pertinent.

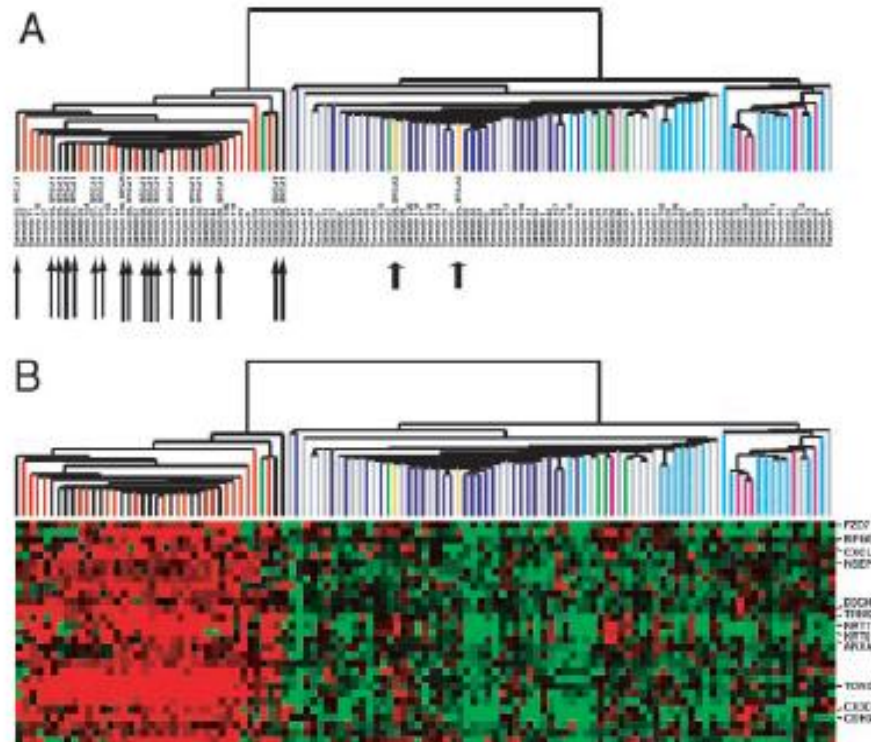
Détection de BRCAness dans les cancers du sein

- Méthodes multiples et non standardisées
 - aCGH
 - qPCR
 - MPLA (multiplex ligation-dependent probe amplification)
 - IHC (expression de BRCA1)
- Ceci explique les définitions différentes des sous-groupes

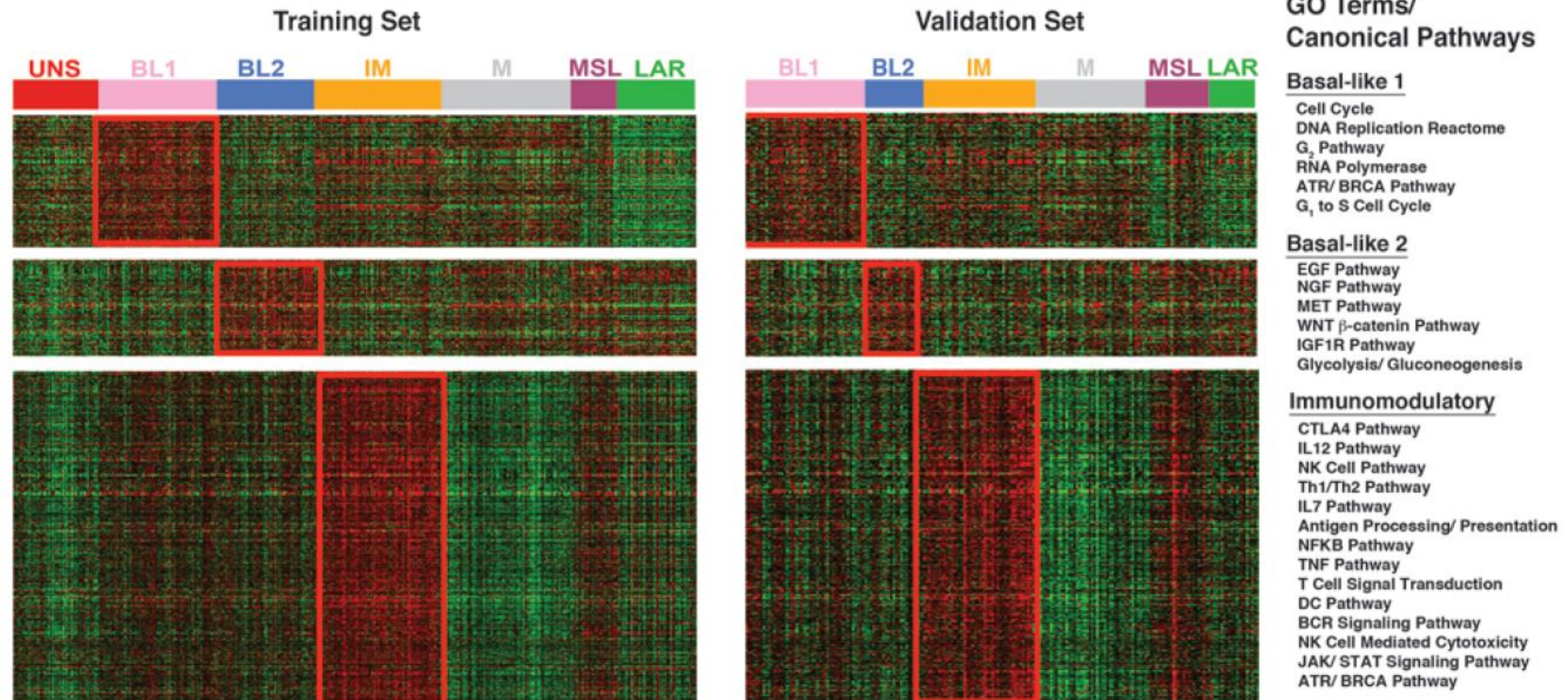
Profil d'expression géniques des tumeurs de porteurs de mutation BRCA1 ou BRCA2

Chez les porteurs de mutation
BRCA1 (flèche allongée) :groupe
basaloïde

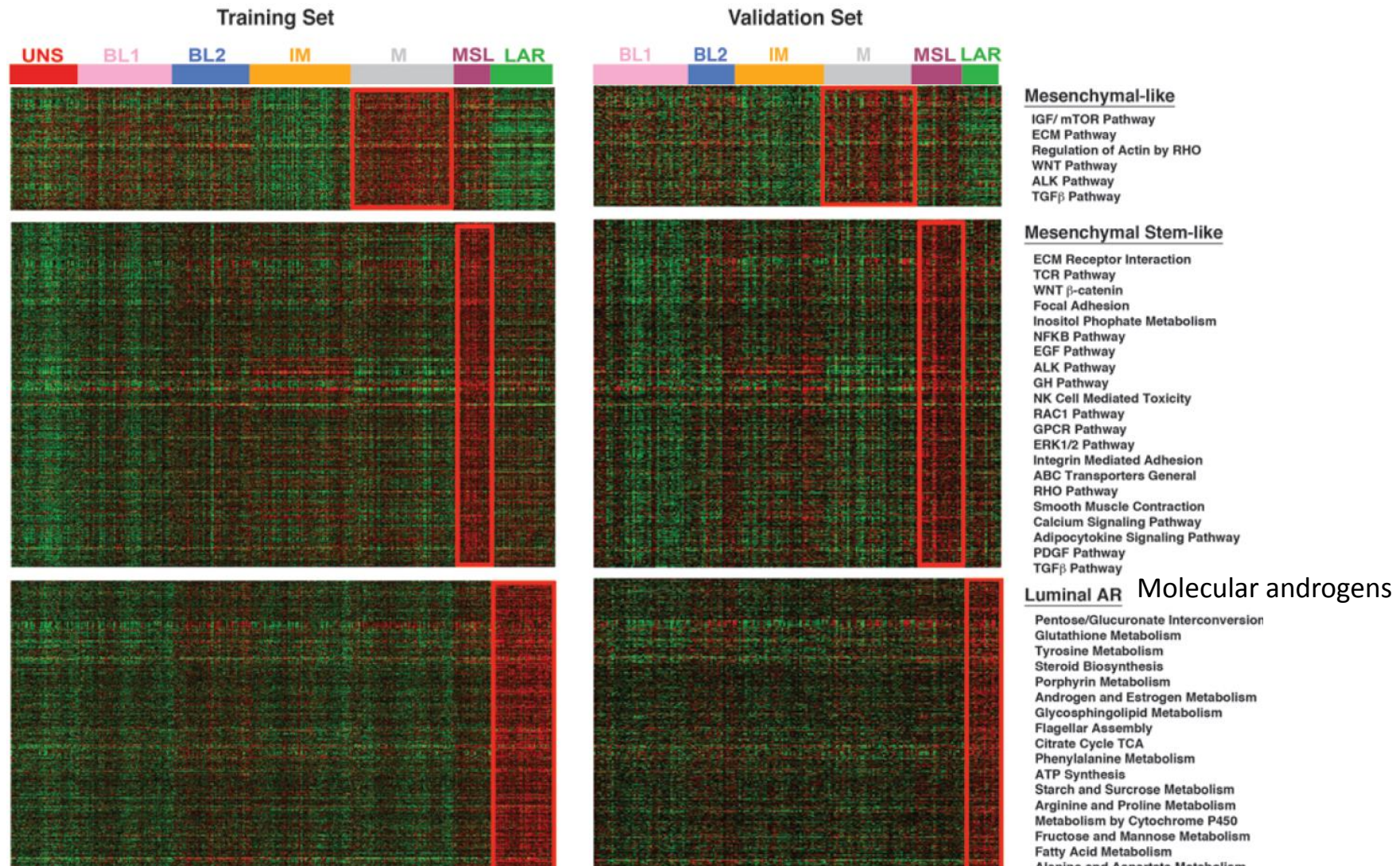
Chez les porteurs de mutations BRCA2 (flèche courte): groupe luminal B.



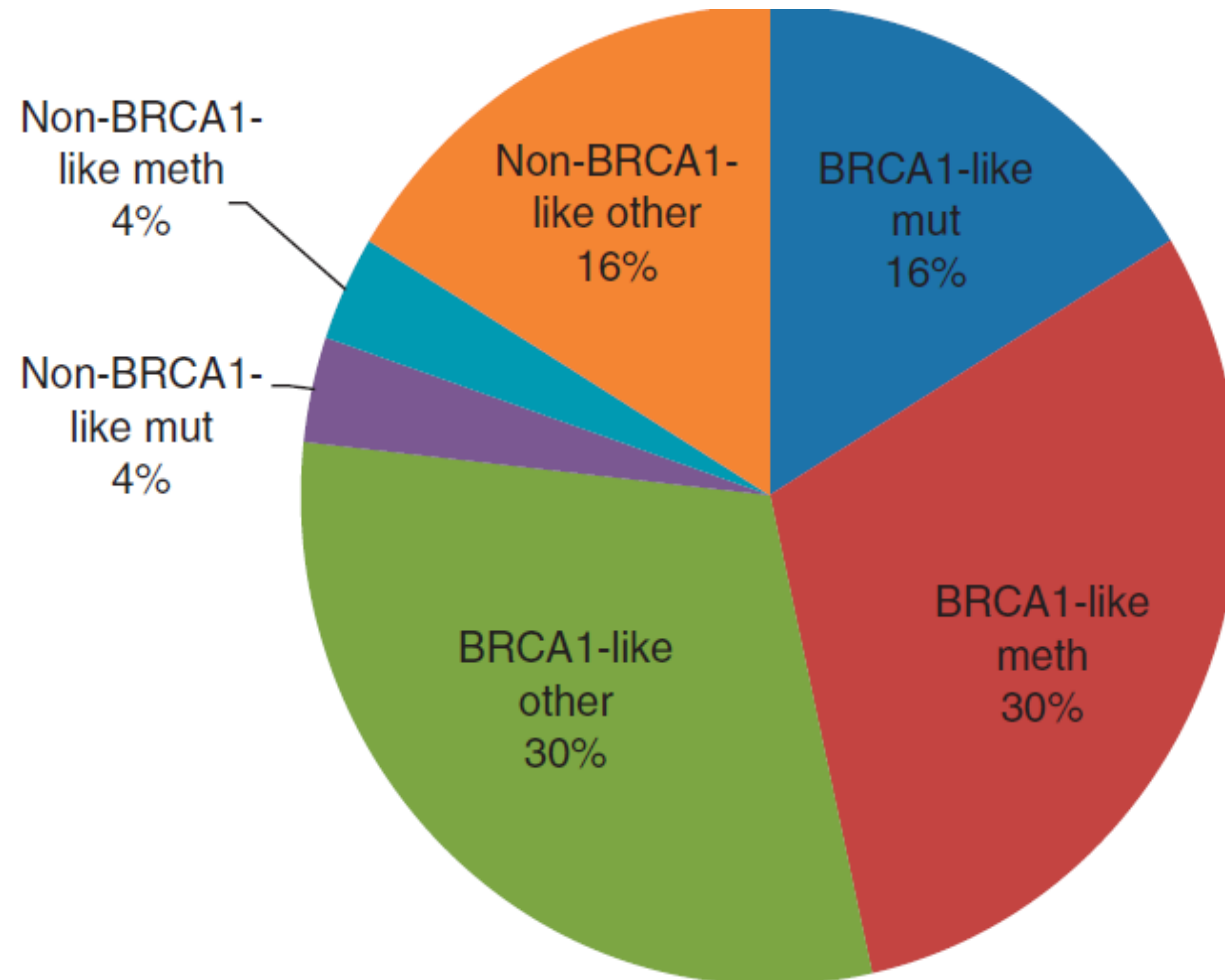
Les profils d'expression géniques des TNBC sont reproductibles.



Les profils d'expression géniques des TNBC sont reproductibles (2)



Co-occurrence en CGHa du profil BRCA1, des mutations de BRCA1 et de la méthylation de BRCA1



Caractéristiques des cancers du sein de porteurs de mutation BRCA1, BRCA1, et sporadiques

PATIENT NO. AND TYPE OF CANCER	MUTATION	TYPE OF INVASIVE CARCINOMA	GRADE (SCORE)†	GROWTH AS SOLID SHEET	PUSHING MARGINS % of tumor	ESTROGEN- RECEPTOR STATUS‡	PROGESTERONE- RECEPTOR STATUS‡	PLOIDY	CELLS IN S PHASE %
<i>BRCA1</i> -mutation-positive									
1	C1806T	Ductal, NST	3 (8)	>75	25-75	-	-	HD	20
2	2594delC	Ductal, NST	3 (8)	25-75	<25	-	-	MP	15
3	5382insC	Ductal, NST	3 (9)	25-75	25-75	-	-	AP	25
4	T300G	Ductal, NST	3 (9)	>75	ND	-	-	AP	ND
5	1201del11	Atypical medullary	3 (9)	>75	>75	-	-	AP	22
6	C1806T	ND	ND	ND	ND	-	-	AP	15
7	1201del11	Ductal, NST	3 (9)	>75	>75	-	-	AP	26
<i>BRCA2</i> -mutation-positive									
8	5445del5	Ductal, NST	3 (9)	>75	<25	+++	+	D	13
9	A3058T	Ductal, NST	2 (6)	25-75	None	+++	-	AP	10
10§	2024del5	Ductal, NST	3 (9)	25-75	25-75	+	++	AP	15
10§	2024del5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	15
11	4486delG	Ductal, NST	3 (9)	>75	>75	-	-	AP	23
12	C6293G	Pleomorphic lobular	2 (6)	25-75	None	++	+++	ND	ND
13	A3058T	Ductal, NST	2 (7)	25-75	25-75	++	-	D	6.8
14	4486delG	ND	ND	ND	ND	+++	+++	TP	6.2
Sporadic									
15	ND	Ductal	ND	ND	ND	++	++	D	4.7
16	ND	Ductal	ND	ND	ND	+	+	D	9.2
17	ND	Ductal	ND	ND	ND	+++	-	AP	12
18	ND	Tubular	ND	ND	ND	+	+++	MP	14
19	ND	Ductal, lobular	ND	ND	ND	-	-	AP	15
20	None	Ductal	ND	ND	ND	-	-	AP	18
21	ND	Ductal	ND	ND	ND	-	-	AP	17

Etude en CGH array de cancers du sein chez des porteurs de mutation BRCA1

- **Aberrations géniques somatiques spécifiques**
- **Distinction par rapport aux contrôles: sensibilité 96%, spécificité 76%**
- **Implication des chromosomes 3p, 3q, et 5q.**
- **Le même profil est retrouvé dans 15-20% des formes sporadiques**

Profil de type BRCA1 dans les échantillons avec mutation de BRCA1, ou mutation, -methylation ou expression génique basse

BRCA1 classification	n (%)
BRCA1 mutated by sequencing	40
BRCA1-like by MLPA	35 (88%)
BRCA1-like by aCGH	35 (88%)
BRCA1 promoter methylation	20
BRCA1-like by MLPA	18 (90%)
BRCA1-like by aCGH	19 (95%)
BRCA1 low gene expression	13
BRCA1-like by MLPA	13 (100%)
BRCA1-like by aCGH	12 (92%)

Déficit de la réparation homologue dans les cancers du sein

	TN (<i>n</i> = 60), <i>n</i> (%)	ER+ (<i>n</i> = 103), <i>n</i> (%)	<i>P</i> value
aCGH BRCA1 like			
BRCA1 like	34 (57%)	6 (6%)	<0.001
Sporadic like	26 (43%)	97 (94%)	
aCGH BRCA2 like			
BRCA2 like	19 (32%)	44 (43%)	0.241
Sporadic like	41 (68%)	59 (57%)	
BRCA1 expression ^a			
Low	13 (22%)	2 (2%)	<0.001
Normal/high	23 (38%)	58 (56%)	
Not determined	24 (40%)	43 (42%)	
BRCA1 promotor methylation ^a			
Methylated	12 (20%)	1 (1%)	<0.001
Unmethylated	37 (62%)	55 (53%)	
Not determined	11 (18%)	47 (46%)	
EMSY amplification ^a			
Amplification	2 (3%)	11 (11%)	0.339
Retention	34 (57%)	72 (70%)	
Not determined	24 (40%)	20 (19%)	

CONCLUSIONS

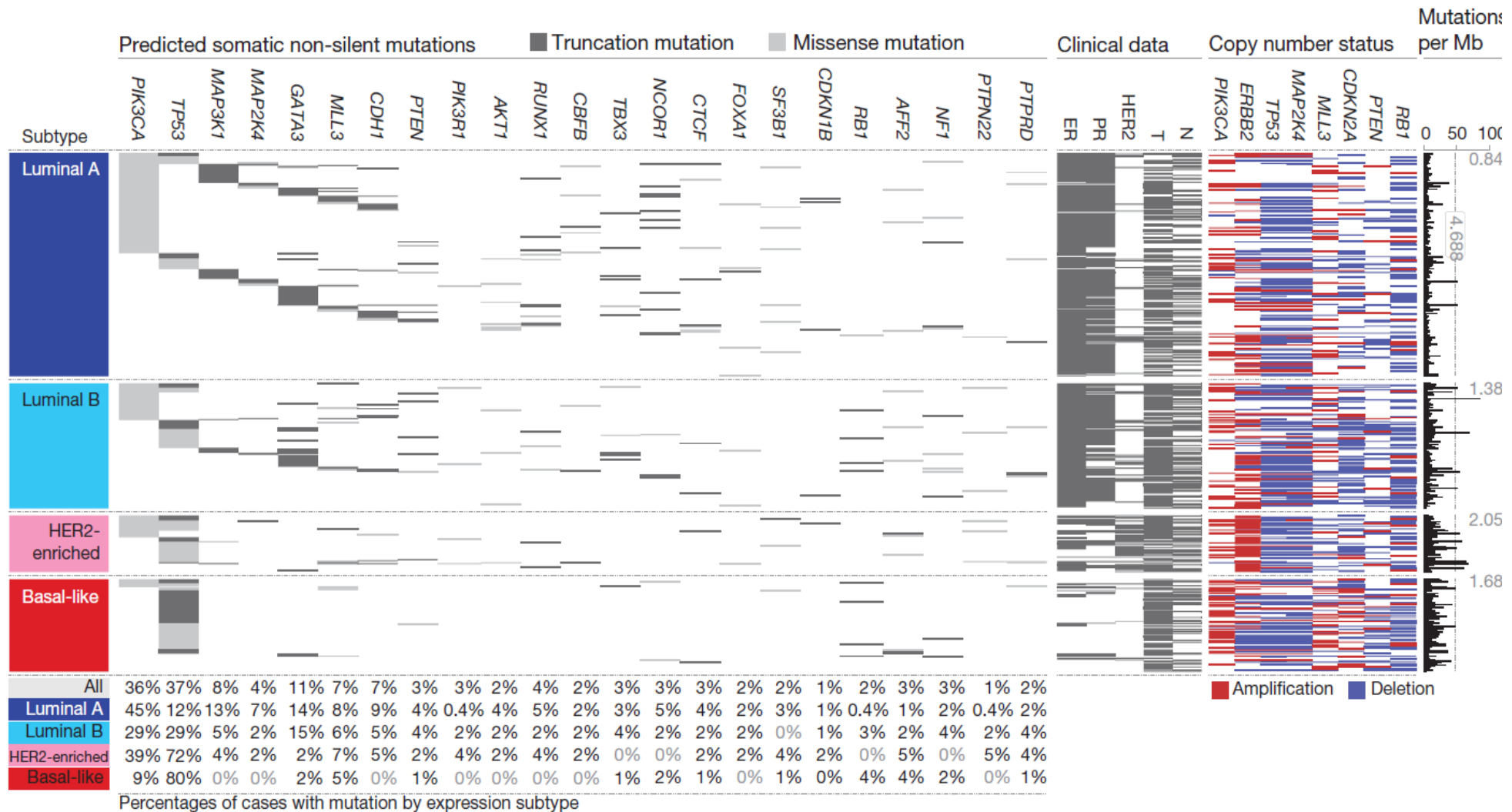
- BRCANESS peut être définie par l'anatomo pathologie, le profil d'expression génique, la CGH array, et leurs associations
- 5-7 sous types distincts
- Les anomalies les plus fréquentes contribuent à un déficit de la réparation homologue
- Avec une liaison inconstante à différentes classes d'AAC

Bckup

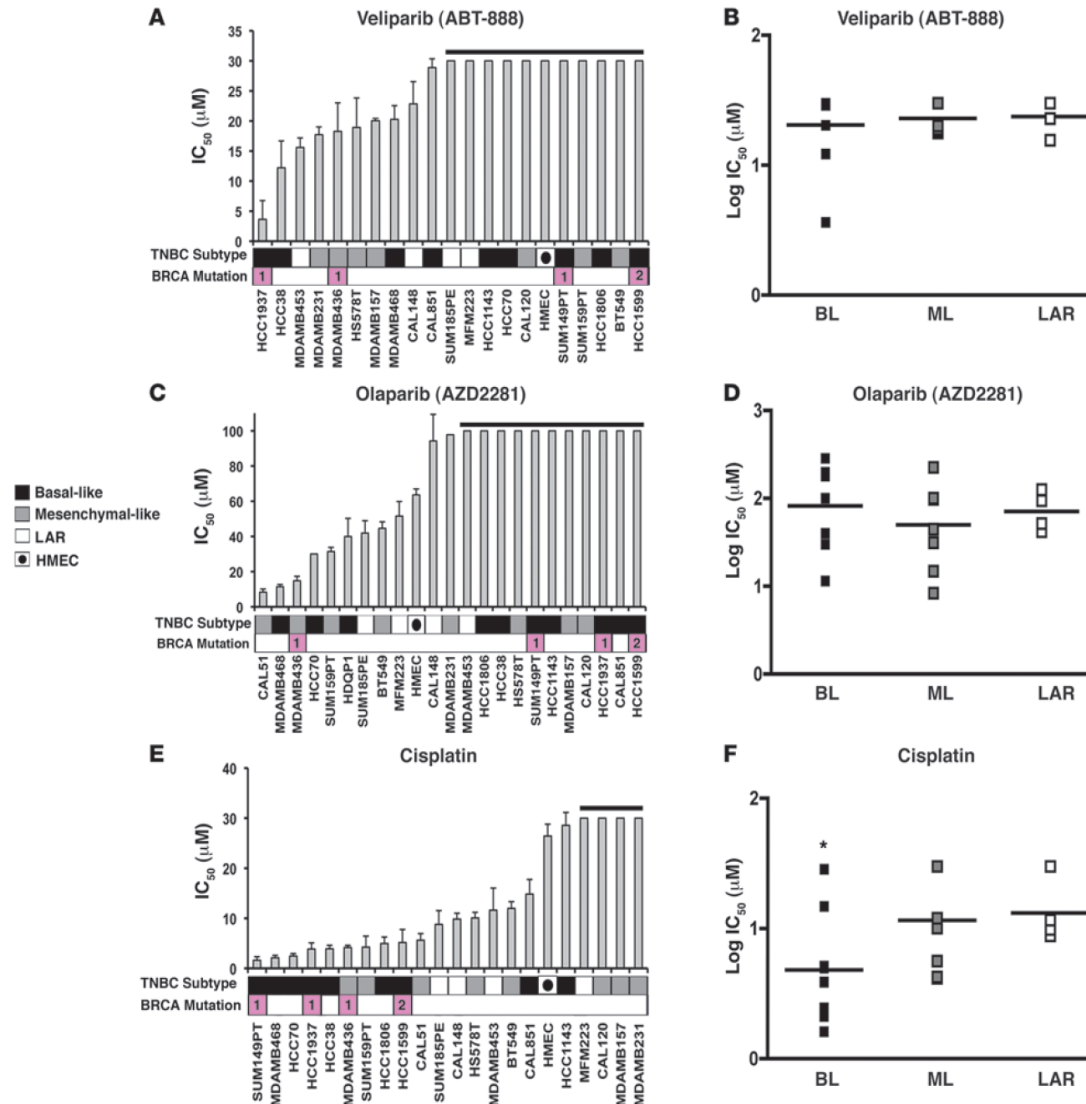
Incidence de l'inactivation de la voie BRCA/FA dans des cancers sporadiques

Cancer type	Somatic <i>BRCA</i> mutations	<i>BRCA1</i> methylation	<i>FANCF</i> methylation	<i>EMSY</i> amplification
Breast	Very rare ^{7,8}	11–14% ^{26–28}	17% ⁴⁵	13% ⁴⁹
Ovarian	< 5% ^{29,48,71}	5–31% ^{26,28–30}	21% ⁴⁴	17% of high-grade cancers ⁴⁹
HNSCC	ND	0% ³⁴	15% ³⁴	ND
NSCLC	ND	4% ³⁴	14% ³⁴	ND
Cervical	ND	6.1% ³⁵	30% ³⁵	ND

Portrait moléculaire global de cancers du sein



Sensibilité Différentielle aux AAC de lignées représentant ces sous-types



BRCAness définie par CGH array (3 cohortes): mutations ou inactivation de BRCA1 chez moins de 55% des patientes

3 series de TNBC étudiées par aCGH pour le profil BRCA1-like et la méthylation du promoteur de BRCA1

Ces tumeurs se caractérisent par

-instabilité génomique

-alterations spécifiques (gain de 3q, perte de 5q)

30-40% de ces tumeurs de type BRCA1 ont soit une mutation de BRCA1 ou une méthylation (somatique) du promoteur de BRCA1

	Neoadjuvant (n = 123)	Familial (n = 134)	Adjuvant (n = 78)
aCGH			
BRCA1 like (%)	70 (66)	92 (69)	53 (68)
Non-BRCA1 like (%)	35 (34)	42 (31)	25 (32)
ND	18	0	0
BRCA1 promoter methylation			
Methylated (%)	31 (29)	47 (37)	21 (27)
Unmethylated (%)	75 (71)	81 (63)	56 (73)
ND	17	6	1

Frequency of BRCAness in all TNBCs without BRCA1/2 mutations

Differences histopathologiques entre les formes familiales BRCA1, sporadiques, et BRCA2

Phenotypic feature	Familial- <i>BRCA1</i> samples (%)	Control sporadic breast cancer samples (%)	Familial- <i>BRCA2</i> samples (%)
High-grade*	66 [‡]	36	41 [‡]
Oestrogen-receptor (ER)-negative	90 [‡]	35	34 (NS)
ERBB2-negative	97 [‡]	85	97 (NS)
c- <i>MYC</i> amplification	53 [‡]	23–31	62.5 [‡]
Medullary or atypical medullary carcinoma	13 [‡]	2	3 (NS)
Ductal carcinoma <i>in situ</i> present	41 [‡]	56	52 (NS)
Continuous pushing margins [§]	51 [‡]	20	36 [‡]
Prominent lymphocytic infiltrate	13 [‡]	3	4 (NS)
<i>TP53</i> mutations	67 [‡]	35	63 [‡]
Basal phenotype in ER-negative tumours	88 [‡]	45	ND
EGFR expression	67.3 [‡]	21.3	8.3 (NS)

BRCAness et chimiosensibilité

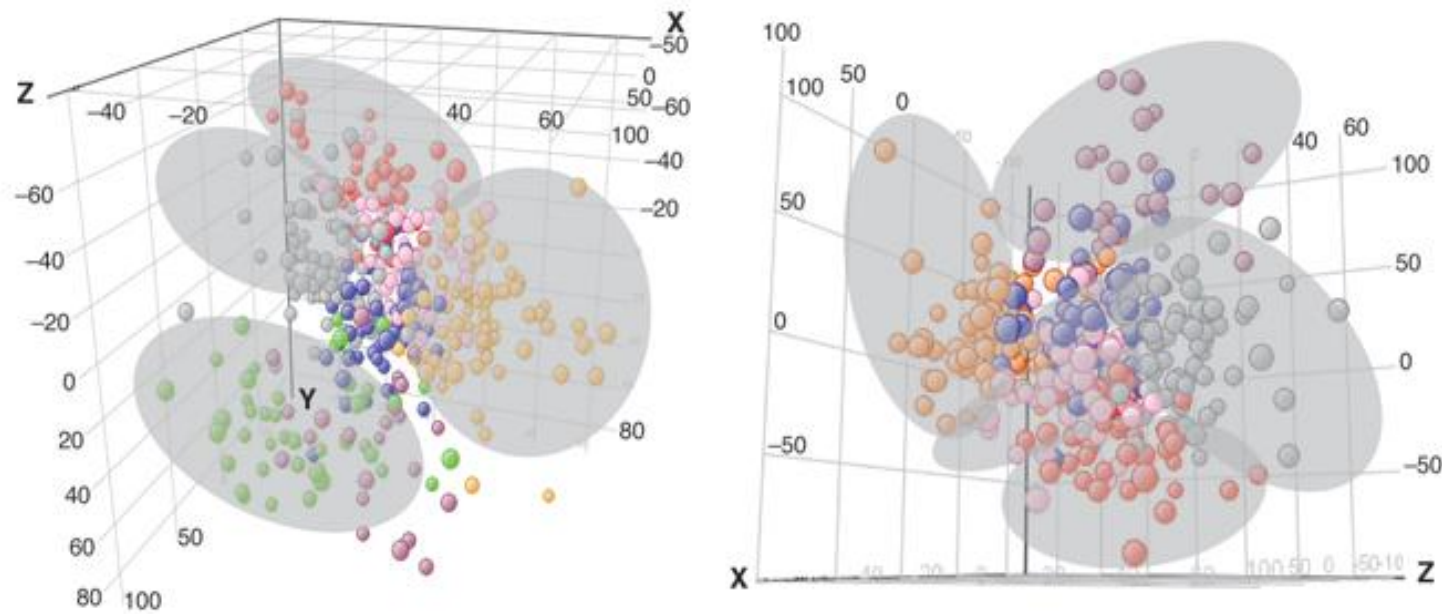
Peu de données, exclusivement rétrospectives

- Plus haute sensibilité aux régimes à bases d'anthracyclines ou à base d'organoplatines
 - *Lips EH et al, 2011*
 - *Vollenbergh MA et al, 2011*
- Etudes de taille limitée
 - Les patients ayant une surexpression du mRNA BRCA1 répondent au traitement par endoxan-epirubicine

-

Sous types des TNBC

E

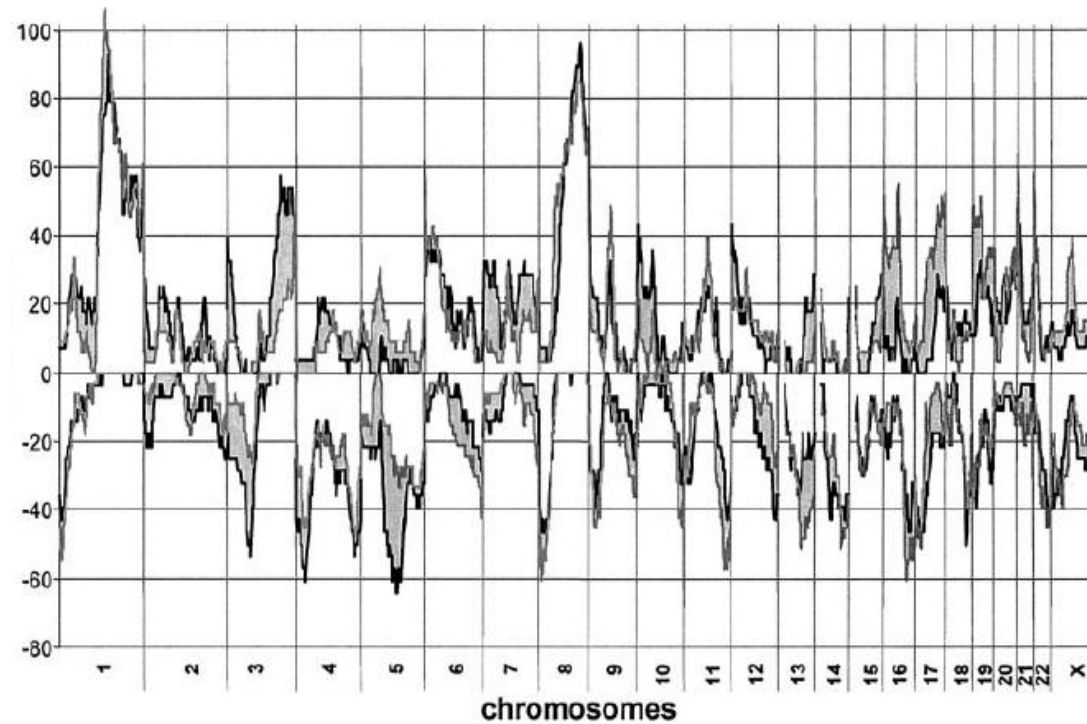


- **UNS** instable
- **BL1** Basal like 1
- **BL2** Basal like 2
- **IM** Immunomodulatoire
- **M** Mesenchymateux
- **MSL** Mesenchymateux avec cellules souches like
- **LAR** Luminal androgen receptor

Mutation in the double strand repair pathways associated with a (low) risk of hereditary BC

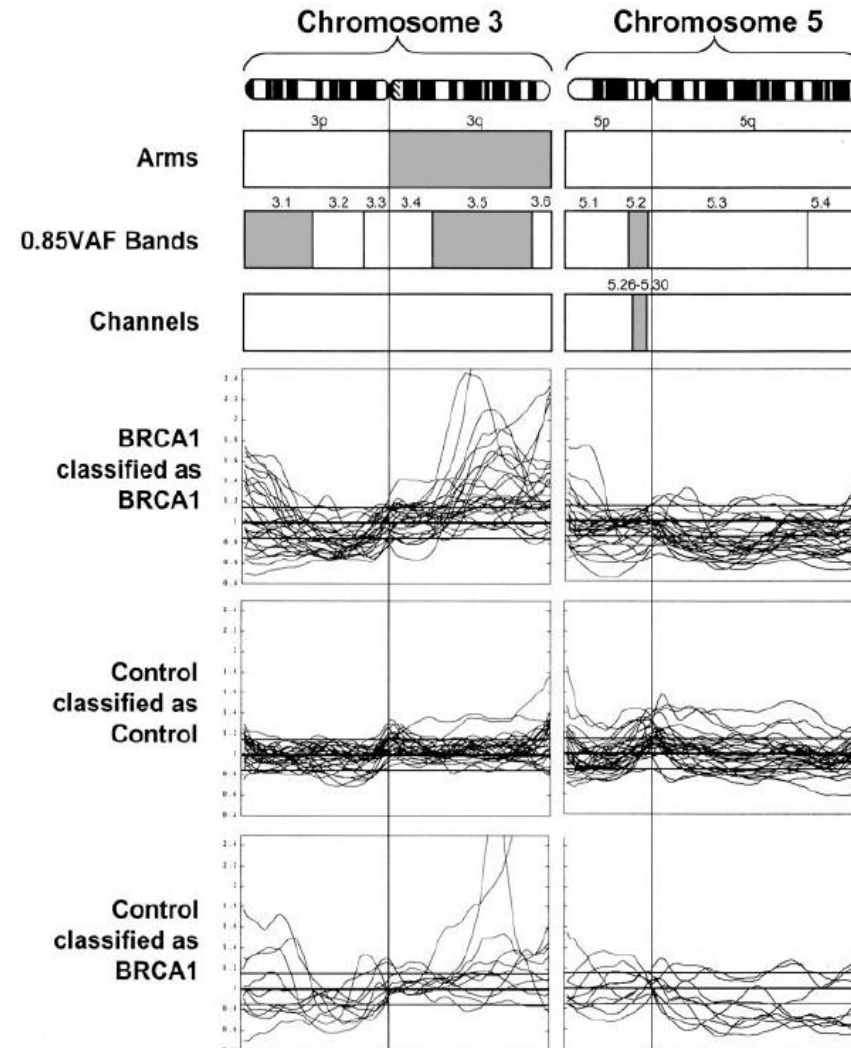
- *ATM*
- *CHEK2*:
 - DNA repair processes involving BRCA1 and p53
 - 0,7-5% of breast cancer patients;
 - CHEK2 1100delC multiplies the risks associated with susceptibility alleles in other genes except in BRCA1/BRCA2 carriers
- *BRIP1*
- *PALB2*

CGH array of control (grey line) and BRCA1 mutated Breast Ca (Black line)



Loss	<i>BRCA1</i> (%)	Control (%)	<i>P</i>	Gain	<i>BRCA1</i> (%)	Control (%)	<i>P</i>
3p	61	31	0.014	3q	79	26	0.000
4p	64	38	0.032	7p	39	12	0.008
5q	82	40	0.001	8q	96	67	0.003
12q	54	26	0.020	10p	46	14	0.003
16p	32	12	0.038	12p	46	17	0.007
18q	54	26	0.020	16p	11	31	0.048
				17q	29	52	0.049

Cytogenetic Banding of Chromosomes 3 and 5 in BRCA1 mutated BC



array Comparative Genomic Hybridisation – (aCGH); Multiplex Ligation dependent Probe Amplification (MLPA)

	<i>Predicted with MLPA</i>		
	BRCA1-like	Sporadic-like	Total
<i>aCGH result</i>			
BRCA1-like	35	6	41
Sporadic-like	4	27	31
Total	39	33	72
	Number	Percentage	
Sensitivity	35/41	85%	
Specificity	27/31	87%	
PPV	35/39	90%	
NPV	27/33	82%	
Error	10/72	14%	
Accuracy	62/72	86%	