

# **BILAN D'EXTENSION : POURQUOI NE SUIVONS-NOUS PAS LES RECOMMANDATIONS ?**

**Doit-on orienter les modalités du bilan d'extension en fonction du profil moléculaire de la tumeur ?**  
**Biologie moléculaire,**

**Jean-Yves Pierga**

**Département d'Oncologie médicale  
Laboratoire des Biomarqueurs Circulants (SIRIC)  
Institut Curie**



# Le bilan d'extension initial d'un cancer du sein

## Recommandations

Compte tenu des faibles prévalences observées chez les patientes atteintes de tumeur T1 et T2 sans envahissement ganglionnaire clinique, il n'est pas recommandé de réaliser un bilan d'extension systématique, en l'absence de point d'appel clinique chez ces patientes.

En pratique, un bilan d'imagerie d'extension est recommandé :

- pour les tumeurs cT3-T4 ou cN+ (que les patientes reçoivent ou non un traitement systémique néoadjuvant) ;
- après chirurgie, en cas d'envahissement ganglionnaire macrométastatique.

Le bilan de première intention peut reposer sur l'une des trois options suivantes :

- radiographie de thorax, échographie abdominale et scintigraphie osseuse ;
- TDM thoracoabdominale et scintigraphie osseuse ;
- TEP-TDM au <sup>18</sup>FDG.

The logo for the Haute Autorité de Santé (HAS) features the letters 'HAS' in a bold, blue, sans-serif font. A red, wavy horizontal line is positioned behind the letter 'A', extending from the left side of the 'A' towards the right.

HAUTE AUTORITÉ DE SANTÉ



Aucun examen biologique, incluant les marqueurs tumoraux, n'est pratiqué de manière systématique.

Les examens biologiques doivent être discutés au cas par cas et sont orientés notamment par la présence éventuelle de points d'appel cliniques métastatiques.

## **Primary breast cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up<sup>†</sup>**

E. Senkus<sup>1</sup>, S. Kyriakides<sup>2</sup>, S. Ohno<sup>3</sup>, F. Penault-Llorca<sup>4,5</sup>, P. Poortmans<sup>6</sup>, E. Rutgers<sup>7</sup>, S. Zackrisson<sup>8</sup> & F. Cardoso<sup>9</sup>, on behalf of the ESMO Guidelines Committee<sup>\*</sup>

Asymptomatic distant metastases are very rare and patients do not benefit from comprehensive laboratory (including tumour markers [25]) and radiological staging [III, D].

Minimum blood workup (a full blood count, liver and renal function tests, alkaline and calcium levels) is recommended before surgery and systemic (neo)adjuvant therapy [V, B].

## Marqueurs sériques

**Dosage du CA 15.3 est recommandé avant tout traitement pour servir de référence en présence de facteurs pronostiques péjoratifs mais il ne s'agit que d'une option, pas d'un consensus**

**Un taux de CA15-3 supérieur aux valeurs usuelles est constaté chez 2 à 7 % de sujets sains**

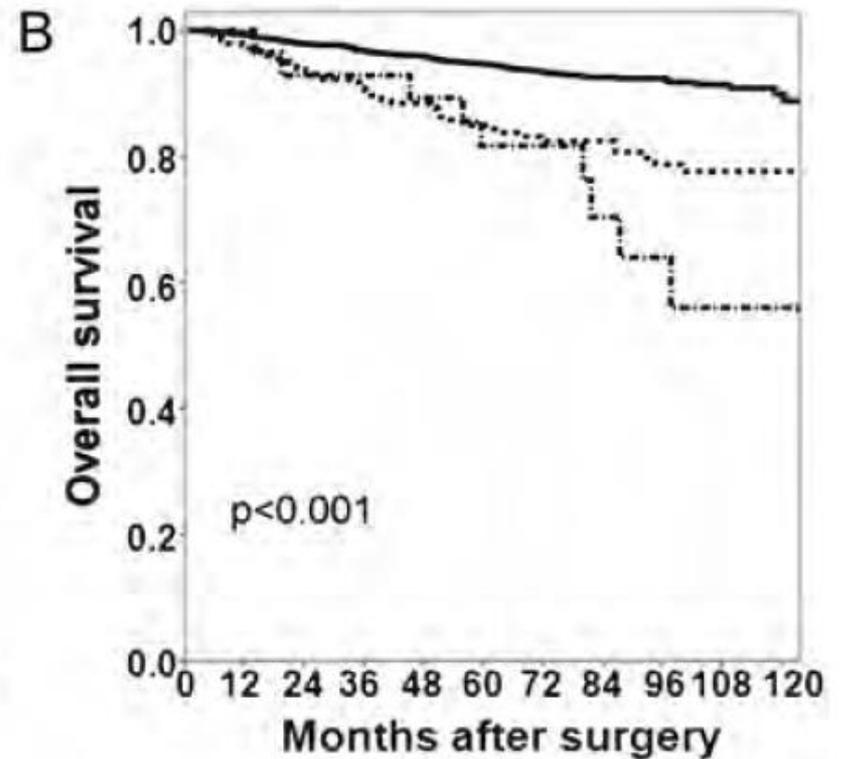
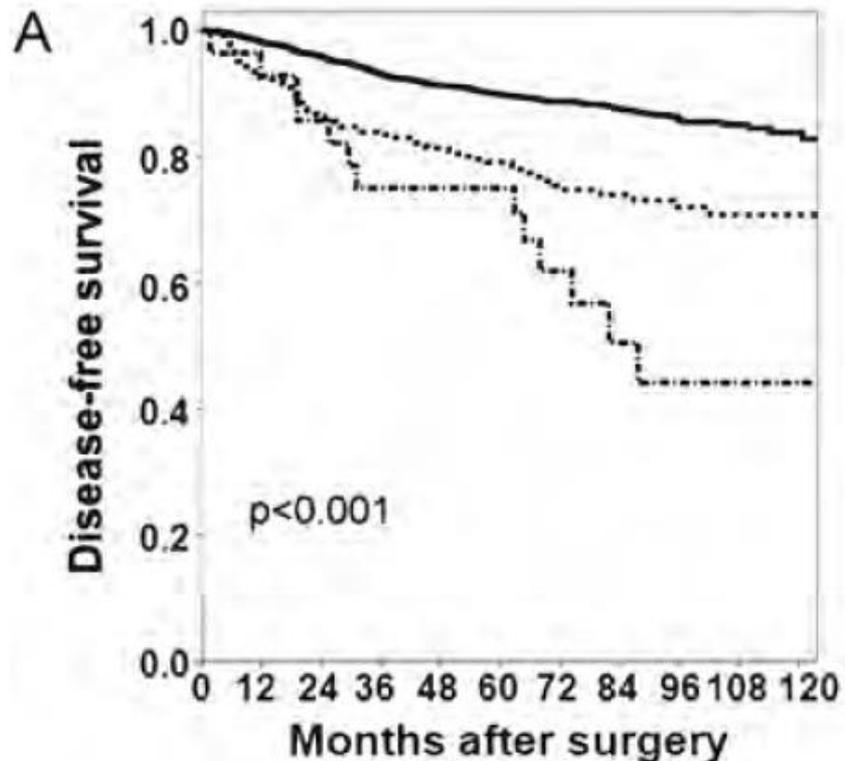
## Use of Biomarkers to Guide Decisions on Systemic Therapy for Women With Metastatic Breast Cancer: American Society of Clinical Oncology Clinical Practice Guideline

Catherine Van Poznak and Daniel F. Hayes,  
University of Michigan Comprehensive  
Cancer Center, Ann Arbor, MI; Mark R.  
Somerfield, American Society of Clinical  
Oncology, Alexandria, VA

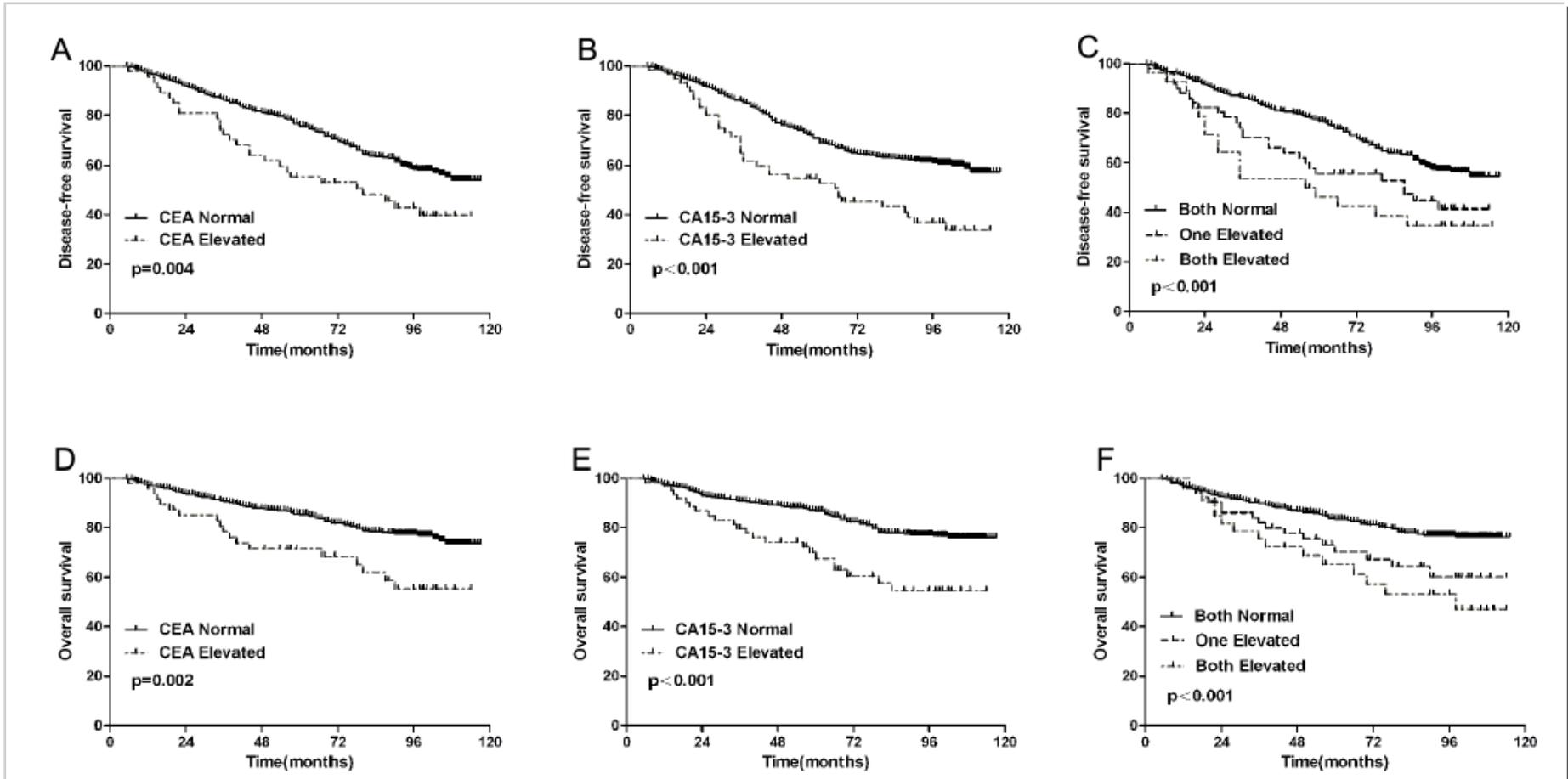
*Catherine Van Poznak, Mark R. Somerfield, Robert C. Bast, Massimo Cristofanilli, Matthew P. Goetz, Ana M. Gonzalez-Angulo, David G. Hicks, Elizabeth G. Hill, Minetta C. Liu, Wanda Lucas, Ingrid A. Mayer, Robert G. Mennel, William F. Symmans, Daniel F. Hayes, and Lyndsay N. Harris*

- Data are insufficient to recommend use of CEA, CA 15-3, and CA 27-29 alone for monitoring response to treatment.
- The recommendation for use is based on clinical experience and Panel informal consensus in the absence of studies designed to evaluate the clinical utility of the markers.
- A number of studies have evaluated the role of CTCs in metastatic disease and have clearly shown that CTCs are associated with poor prognosis in this setting.
- However, none of the reviewed studies assessed predictive value using clinical utility guidelines, with one exception.

Elevated levels of preoperative CA 15-3 and CEA serum levels have independently poor prognostic significance in breast cancer 1681 patients



# Elevated Levels of Serum Tumor Markers CEA and CA15-3 Are Prognostic Parameters for Different Molecular Subtypes of Breast Cancer



# Elevated Levels of Serum Tumor Markers CEA and CA15-3 Are Prognostic Parameters for Different Molecular Subtypes of Breast Cancer

432 patients

Table 1. Clinicopathological characteristic of subjects and correlation between serum CA 15–3 and CEA level and clinicopathological factors.

	n	CEA			CA15-3		
		Normal (%)	Elevated (%)	<i>P</i>	Normal (%)	Elevated (%)	<i>P</i>
<b>Molecular subtype</b>							
Luminal A	68(15.8)	63(94.1)	5(5.9)	0.016*	62(91.2)	6(8.8)	0.012*
Luminal B	246(56.9)	210 (85.4)	36(14.6)		218(88.6)	28(11.4)	
Her-2 positive	44(10.2)	40(90.9)	4(9.1)		32(72.7)	12(27.3)	
TNBC	74(17.1)	72(97.3)	2(2.7)		60(81.1)	14(18.9)	

# Tumor Markers in Patients With Early Breast Cancer: Why Are We Still Doing Useless Tests?

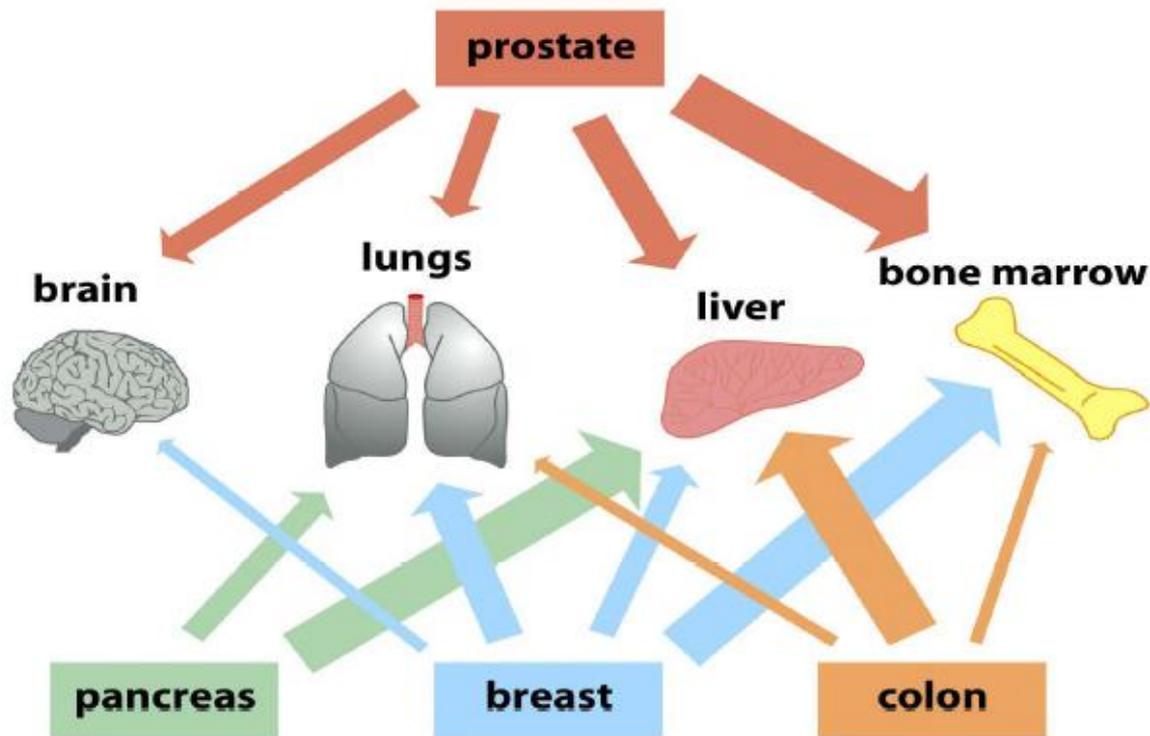
The study is a Seer-Medicare database analysis that examined the use of tumor markers (CA-15.3, CA-27.29 and carcinoembryonic antigen [CEA]) among 39,650 women 65 years and older who had been diagnosed with breast cancer between the years 2001 to 2007.

Findings from the study showed that a significant minority (42%) of women completed at least one tumor marker test during the period 2 years after diagnosis with an average of 5.7 tests per each woman, and an increase in the number of tests per person with increasing calendar year.

In addition, the cost of medical care was 29% higher among women who completed tumor marker testing, compared with women who did not.

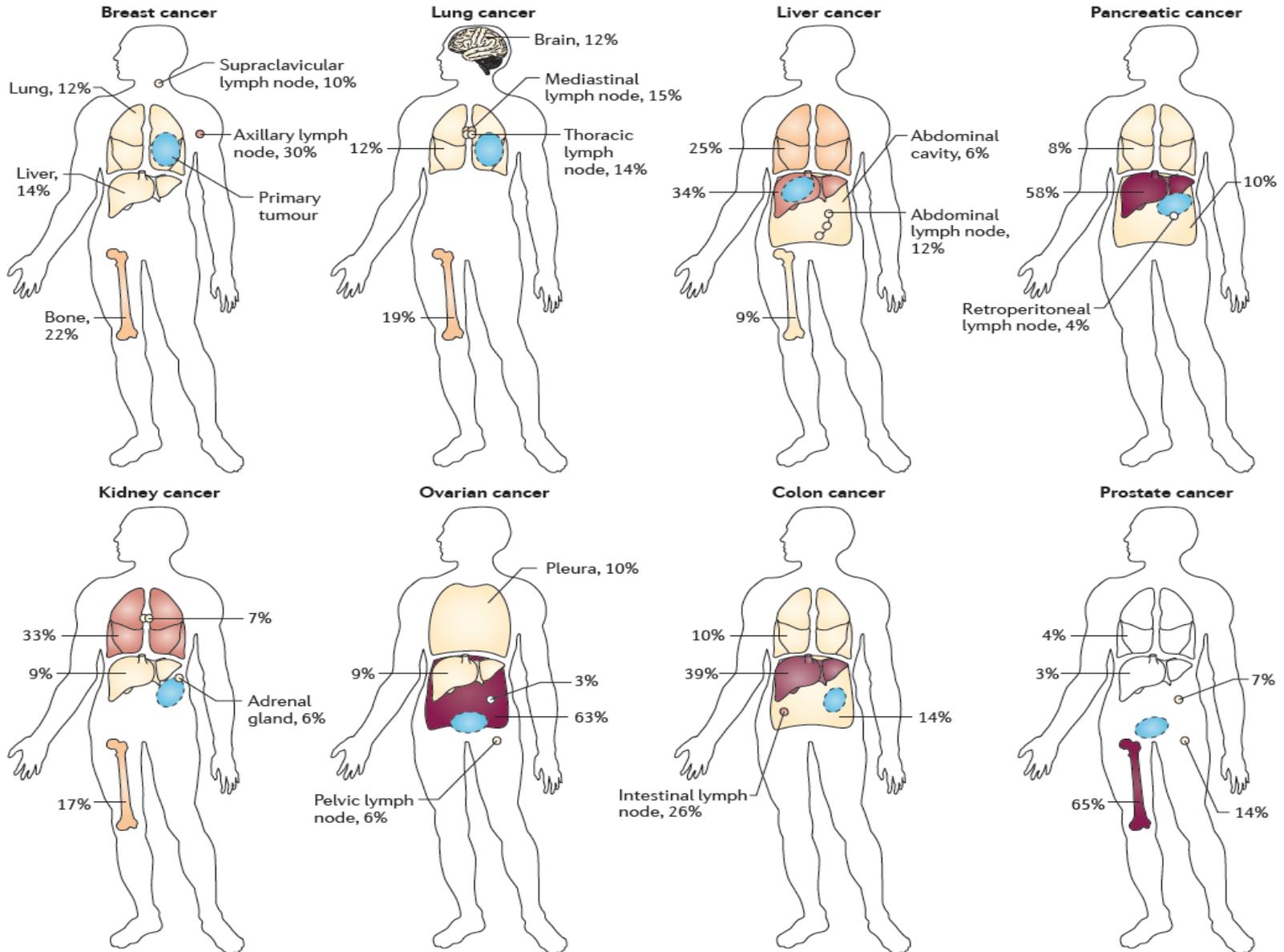
Ramsey SD, et al: Tumor marker usage and medical care costs among older early-stage breast cancer survivors. *J Clin Oncol* 33:149-155, 2015

# Les métastases ne sont pas distribuées au hasard dans l'organisme

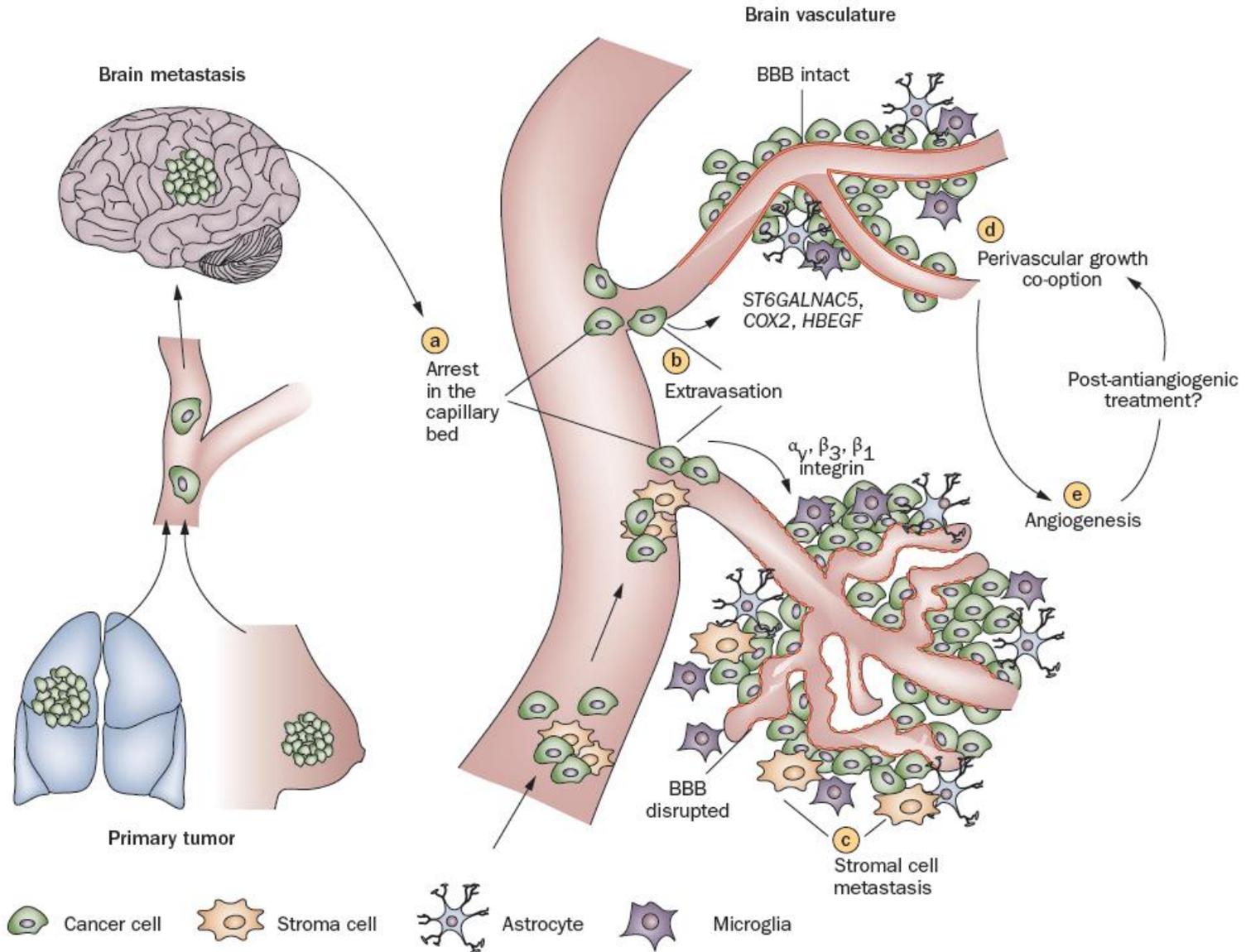


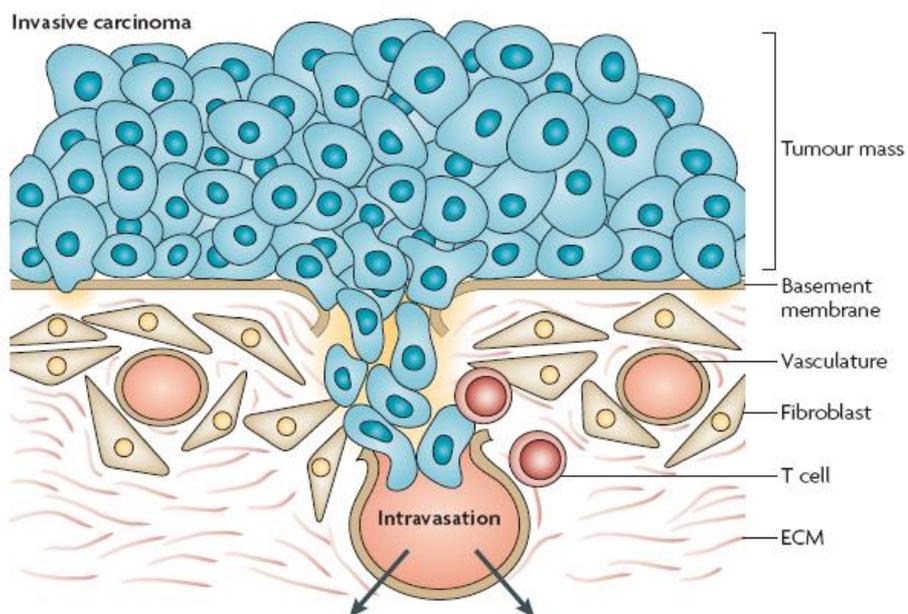
**Théorie du  
« seed and soil »  
Stephen PAGET, 1889**

# Diffusion métastatique



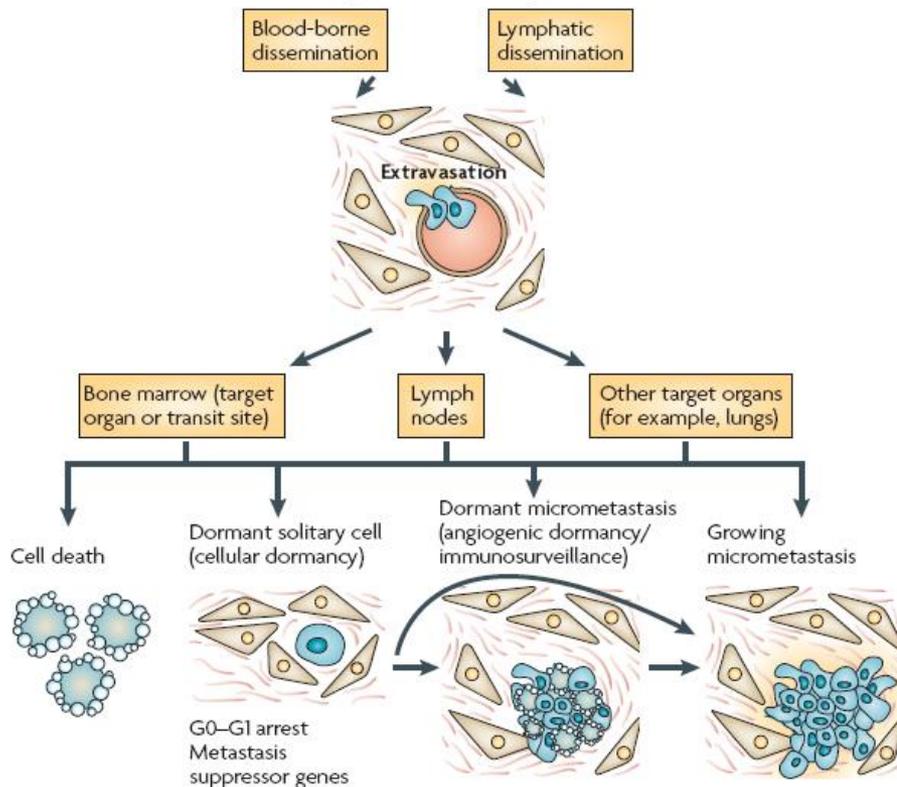
# Processus métastatique





# Dissémination métastatique

## La dormance



Models, mechanisms and clinical evidence for cancer dormancy

*Julio A. Aguirre-Ghiso, Nature Cancer Reviews, 2007*

# CTC dans le cancer du sein en adjuvant

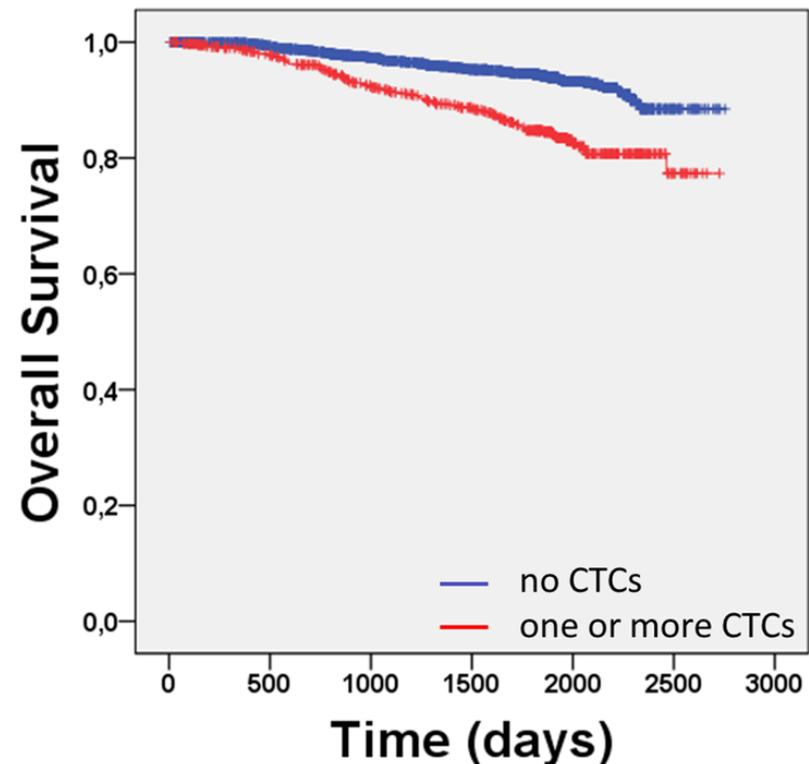
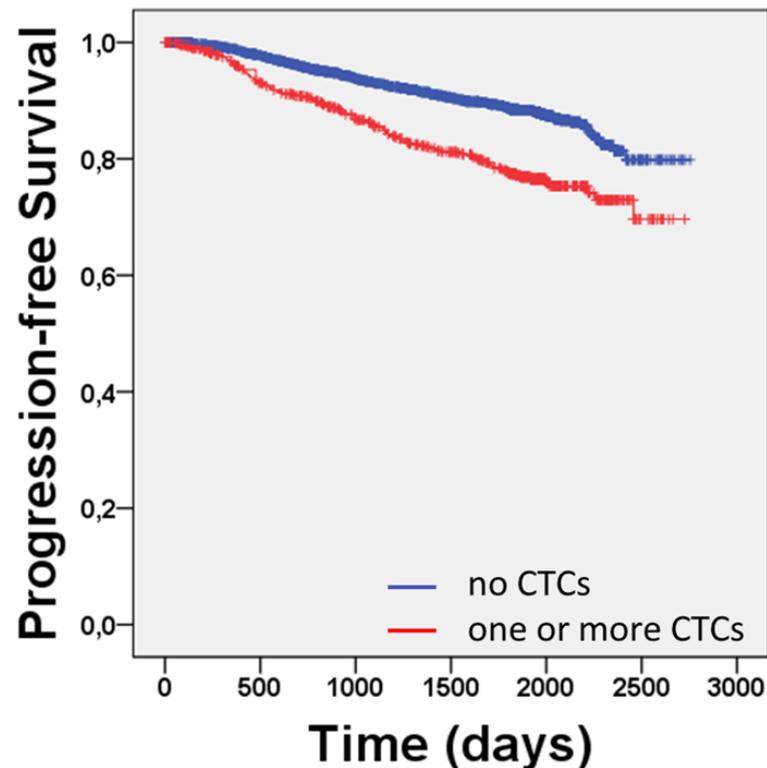
≥1 CTC = facteur pronostique DFS & OS

Méta-analyse européenne

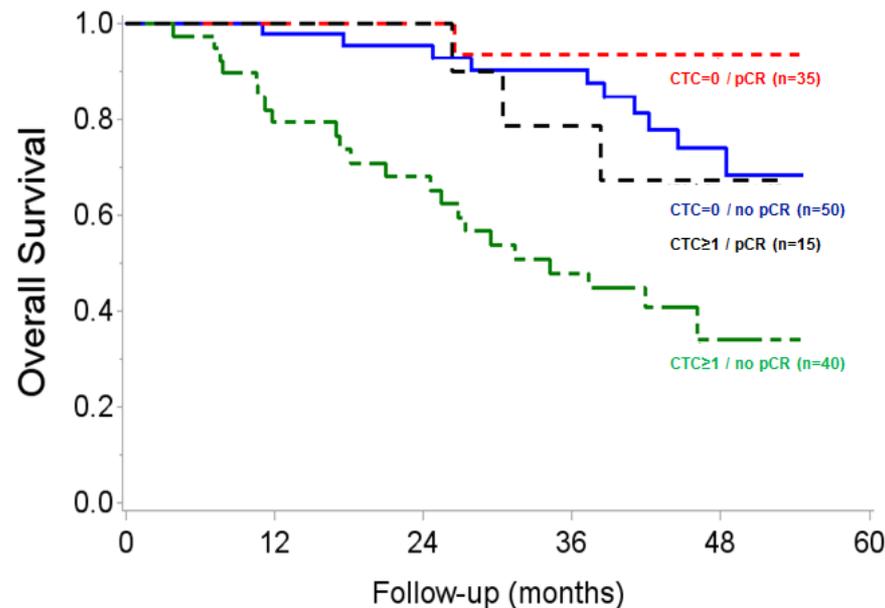
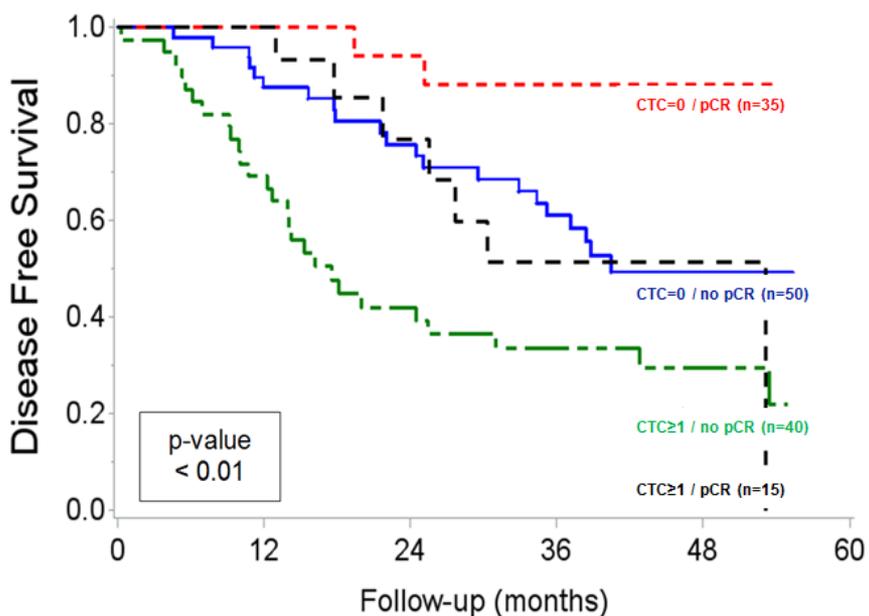
3172 dossiers individuels, stade I-III 5 centres, 5 pays

➔ 20% de patientes CTC+

Suivi médian 5 ans



# CTC en néoadjuvant : les études BEVERLY 1&2 (N=141 pts)



<b>CTC=0/pCR</b>	35	34	16	15	7	0
<b>CTC≥ 1/pCR</b>	15	15	9	6	2	0
<b>CTC=0/no pCR</b>	50	41	32	24	9	0
<b>CTC ≥ 1/no pCR</b>	40	27	15	12	5	0

<b>CTC=0/pCR</b>	35	34	16	15	7	0
<b>CTC≥ 1/pCR</b>	15	15	9	6	2	0
<b>CTC=0/no pCR</b>	50	41	32	24	9	0
<b>CTC ≥ 1/no pCR</b>	40	27	15	12	5	0

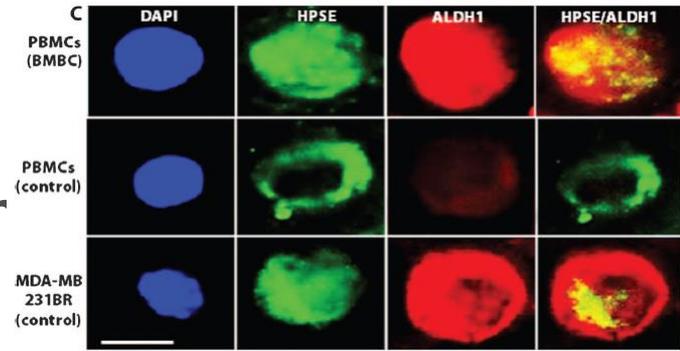
Analyses multivariées : Triple négatif vs autre / réponse pathologique / CTC

**Pas de corrélation avec caractéristiques CP  
ni avec réponse histologique**

# The Identification and Characterization of Breast Cancer CTCs Competent for Brain Metastasis

CTCs isolated from peripheral blood mononuclear cells of patients with breast cancer and also develop CTC lines from three of these patients

“brain metastasis selected markers (BMSMs)” HER2+/EGFR+/HPSE+/Notch

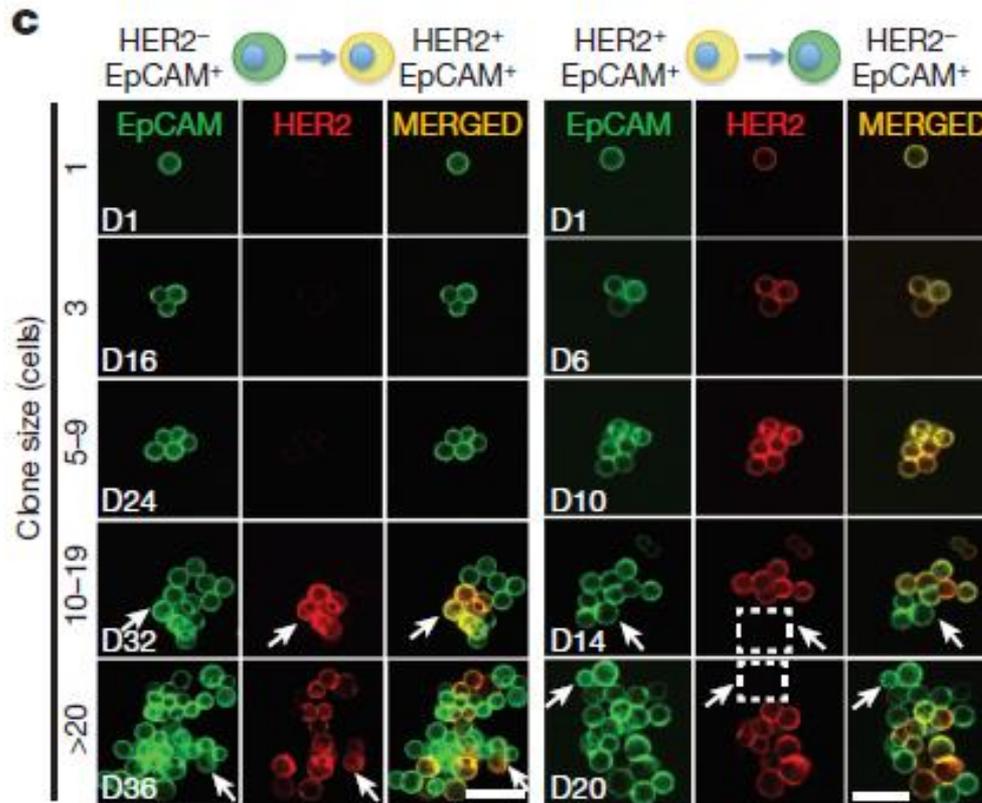


Cells injected	Pathology	Tumor incidence in lung (%)	<i>P</i> for lung	Tumor incidence in brain (%)	<i>P</i> for brain
CTC-1	Spindle perivascular Epithelioid micrometastases	80	—	20	—
CTC-2	Spindle perivascular	60	—	0	—
CTC-3	Spindle perivascular	60	—	0	—
BMSM CTC-1	Spindle perivascular Epithelioid micrometastases	100	<0.01 (compared to CTC-1)	80	<0.001 (compared to CTC-1)
BMSM CTC-2	Spindle perivascular Epithelioid micrometastases	80	<0.01 (compared to CTC-2)	60	<0.001 (compared to CTC-2)
BMSM CTC-3	Spindle perivascular	80	<0.01 (compared to CTC-3)	60	<0.001 (compared to CTC-3)
PBMCs	No tumor	0	—	0	—

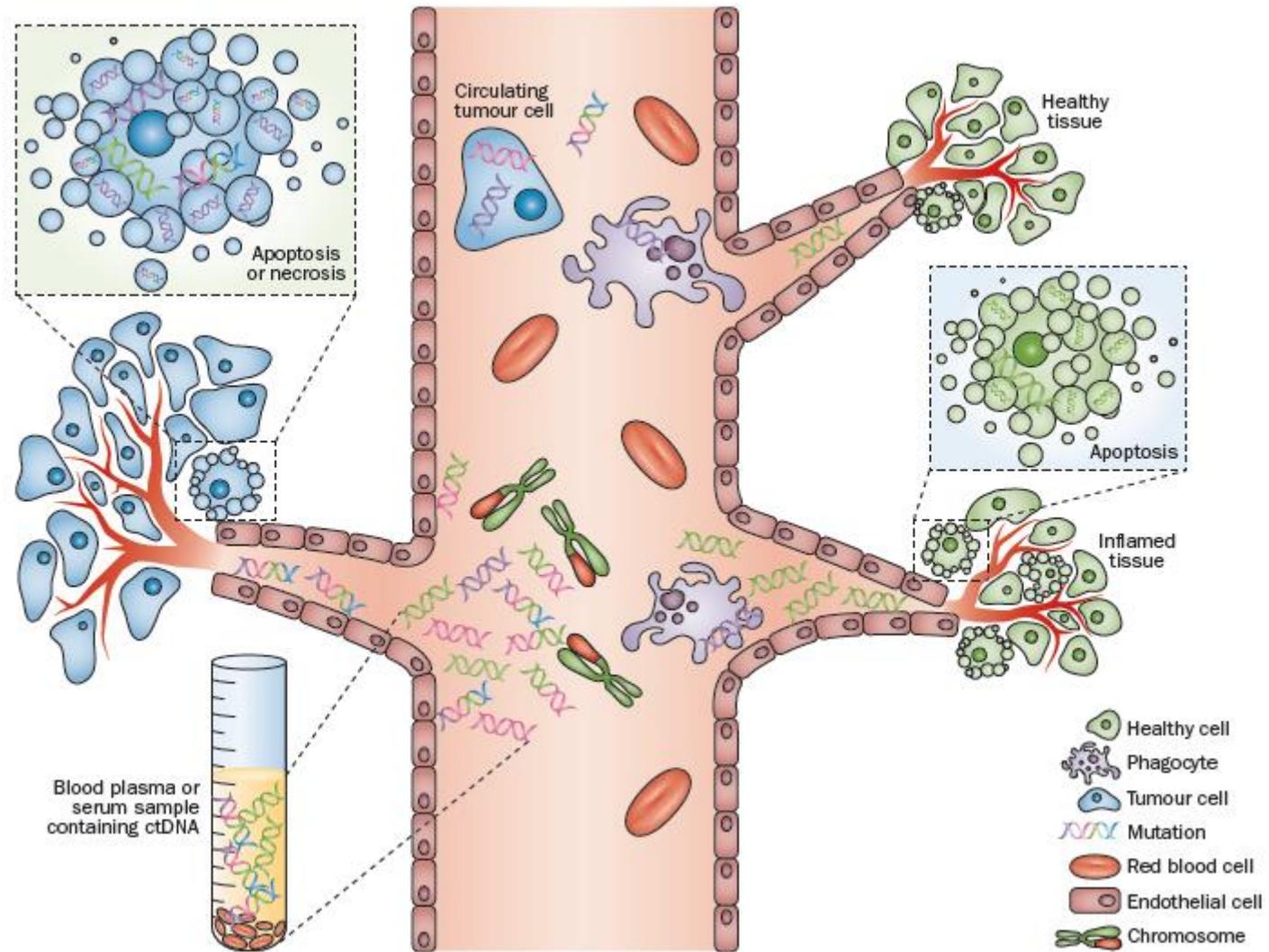
Lixin Zhang *et al.* *Sci Transl Med* **5**, 180ra48 (2013);

# HER2 expression identifies dynamic functional states within circulating breast cancer cells

Nicole Vincent Jordan<sup>1</sup>, Aditya Bardia<sup>1,2</sup>, Ben S. Wittner<sup>1,2</sup>, Cyril Benes<sup>1,2</sup>, Matteo Ligorio<sup>1,3</sup>, Yu Zheng<sup>1</sup>, Min Yu<sup>1†</sup>, Tilak K. Sundaesan<sup>1,2</sup>, Joseph A. Licausi<sup>1</sup>, Rushil Desai<sup>1</sup>, Ryan M. O’Keefe<sup>1</sup>, Richard Y. Ebright<sup>1</sup>, Myriam Boukhali<sup>1</sup>, Srinjoy Sil<sup>1</sup>, Maristela L. Onozato<sup>1,4</sup>, Anthony J. Iafrate<sup>1,4</sup>, Ravi Kapur<sup>5</sup>, Dennis Sgroi<sup>1,4</sup>, David T. Ting<sup>1,2</sup>, Mehmet Toner<sup>3,5</sup>, Sridhar Ramaswamy<sup>1,2</sup>, Wilhelm Haas<sup>1,2</sup>, Shyamala Maheswaran<sup>1,3</sup> & Daniel A. Haber<sup>1,2,6</sup>



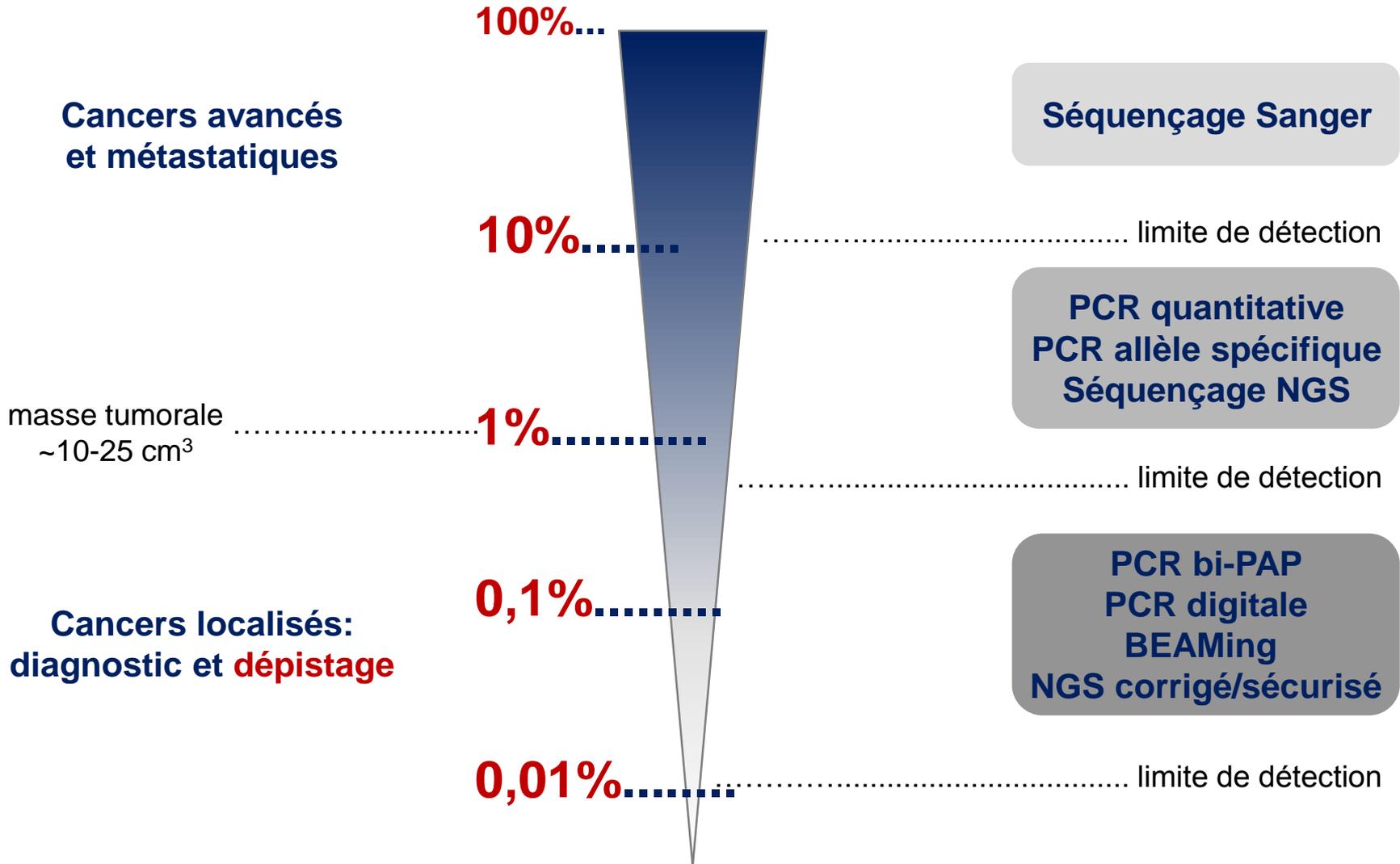
# ADN tumoral circulat ctDNA



# Contexte clinique

## Proportion d'ADN tumoral parmi l'ADN total circulant dans le sang

## Techniques de détection de l'ADN tumoral circulant



# Applications of liquid biopsy

## Early detection and monitoring

Brain tumor DNA blocked by blood-brain barrier

Breast cancer

Pancreatic cancer

Colon cancer

Many tumors release DNA fragments that circulate in the bloodstream

## Analysis of ctDNA

## Detection of resistance mutations

Targeted therapy

Response to therapy

Selective pressure

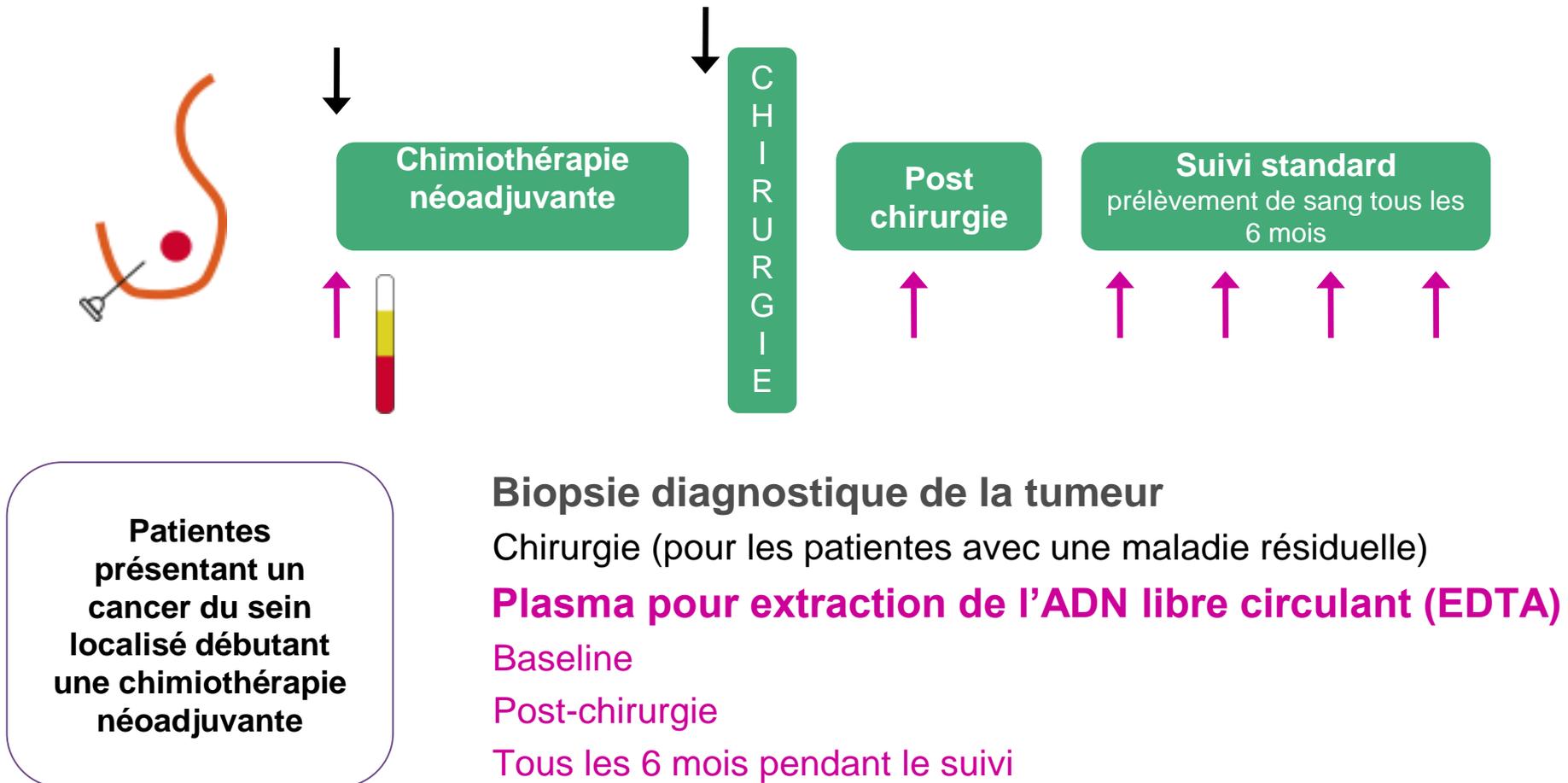
Resistance mutation #1

Resistance mutation #2

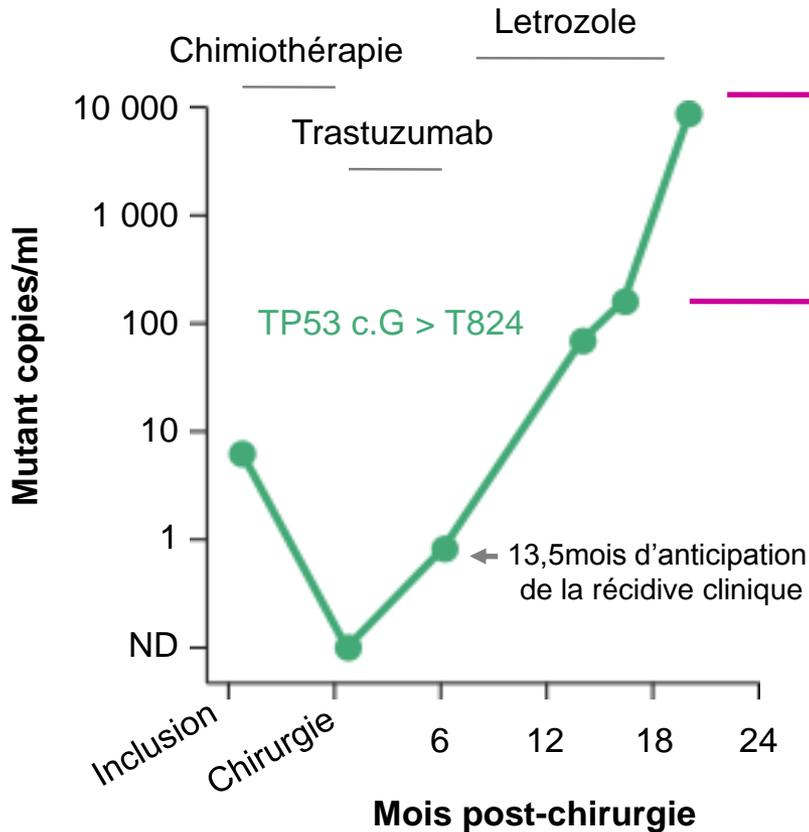
ctDNA of resistance mutations collected in blood sample

# Détection de mutation spécifique de tumeur dans l'ADN tumoral circulant (ADNct): prédiction de la récurrence après chimiothérapie première

## Schéma de l'étude



# Anticipation avant la récurrence clinique



Temps médian d'anticipation avant toutes les récurrences cliniques: 8 mois

Cancer du sein RO +ve HER2 + en réponse complète histologique mammaire et ganglionnaire après chimiothérapie néoadjuvante et trastuzumab

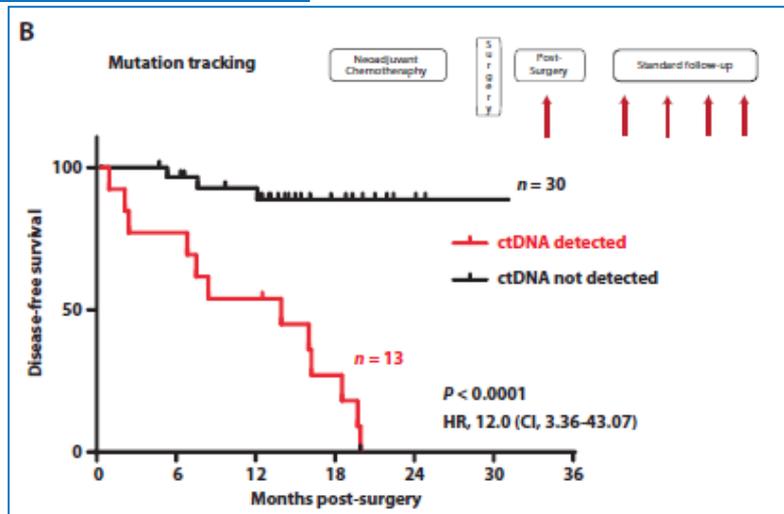
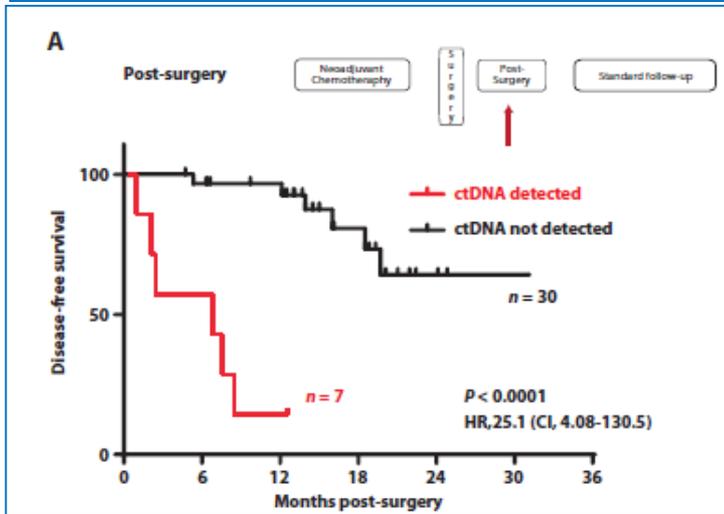
# ctDNA levels & changes

## Early relapse detection in non-metastatic BC

### CANCER

#### Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer

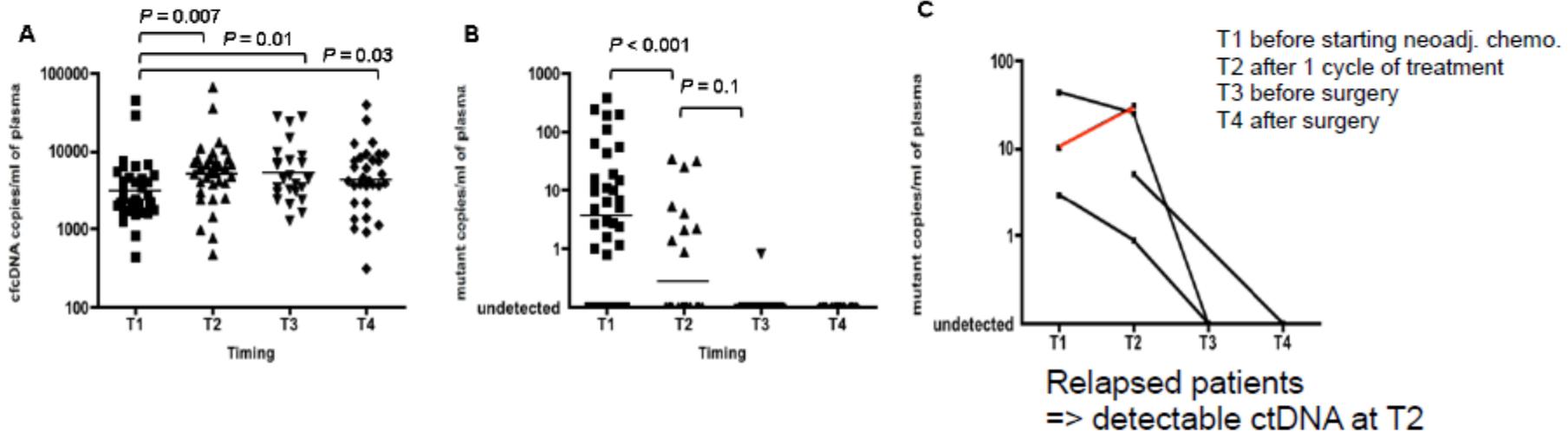
Isaac Garcia-Murillas,<sup>1\*</sup> Gaia Schiavon,<sup>1,2,\*†</sup> Britta Weigelt,<sup>3</sup> Charlotte Ng,<sup>3</sup> Sarah Hrebien,<sup>1</sup> Rosalind J. Cutts,<sup>1</sup> Maggie Cheang,<sup>4</sup> Peter Osin,<sup>2</sup> Ashutosh Nerurkar,<sup>2</sup> Iwanka Kozarewa,<sup>1</sup> Javier Armisen Garrido,<sup>1</sup> Mitch Dowsett,<sup>1,2</sup> Jorge S. Reis-Filho,<sup>3</sup> Ian E. Smith,<sup>2</sup> Nicholas C. Turner<sup>1,2‡</sup>



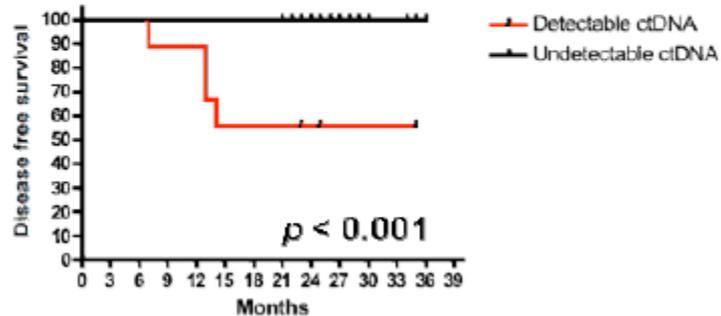
Interesting validity... What will be the utility ?

# ctDNA - a marker for treatment response

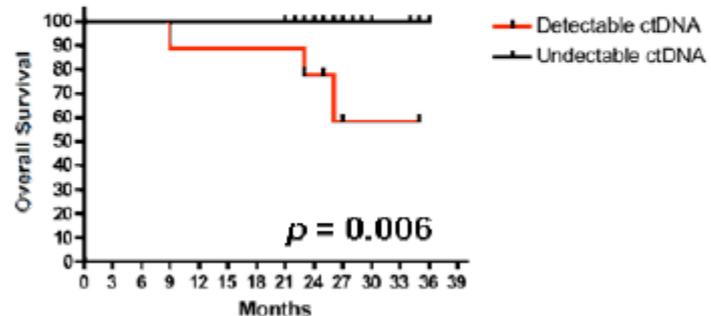
Riva *et al.* Submitted 2016 – Triple Negative Breast Cancer Neoadjuvant therapy – Tp53 mutations (% concordance)



**PFS** After 1 cycle of treatment



**OS** After 1 cycle of treatment



- ctDNA levels can be used to assess response during neoadjuvant treatment

# Cancer colorectal

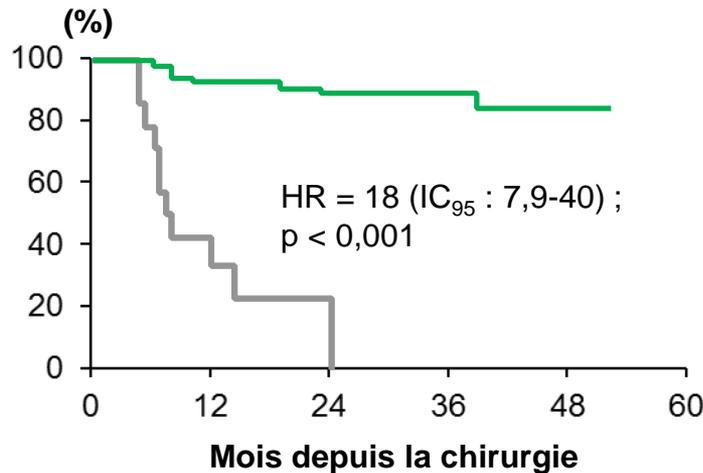
## ADN tumoral circulant : le biomarqueur ultime de récurrence

- 231 stade II réséqués : séquençage de 15 gènes → mutation dans 230 cas (99,6 %)

### Survie sans récurrence

#### Stades II

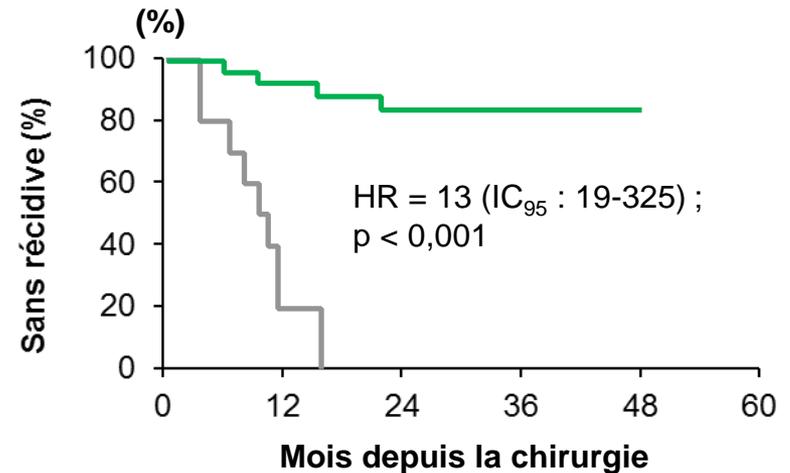
Patients n'ayant pas reçu de chimiothérapie  
ADNtc à la 4-10<sup>e</sup> semaine postopératoire



	n	Évts	SSR à 3 ans
ADNtc -	164	16	90 %
ADNtc +	14	11	0 %

#### Métastases hépatiques réséquées

ADNtc à la fin du traitement (chirurgie + CT)



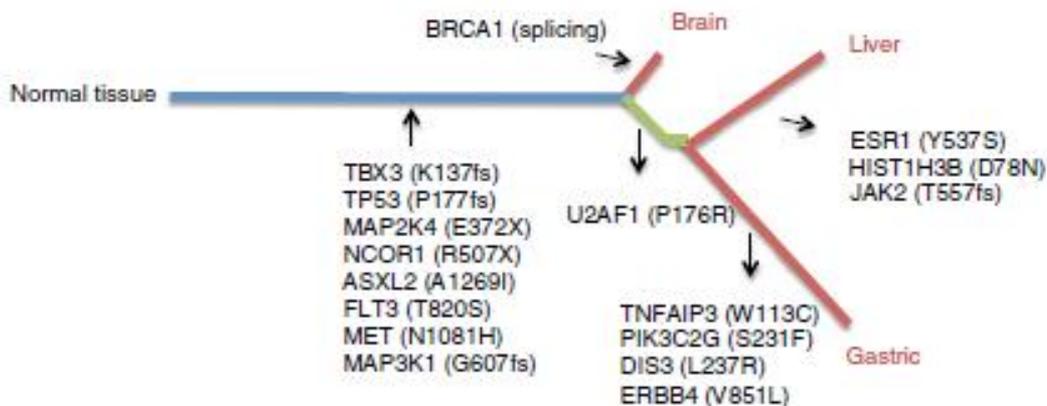
	n	Évts	SSR à 3 ans
ADNtc -	27	4	84 %
ADNtc +	10	10	0 %

« Récurrence » ADNtc : précède la récurrence radiologique de 3 à 5,5 mois en médiane

Futur essai randomisé de phase II DYNAMIC : traitement adjuvant stade II guidé par ADNtc

# Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma

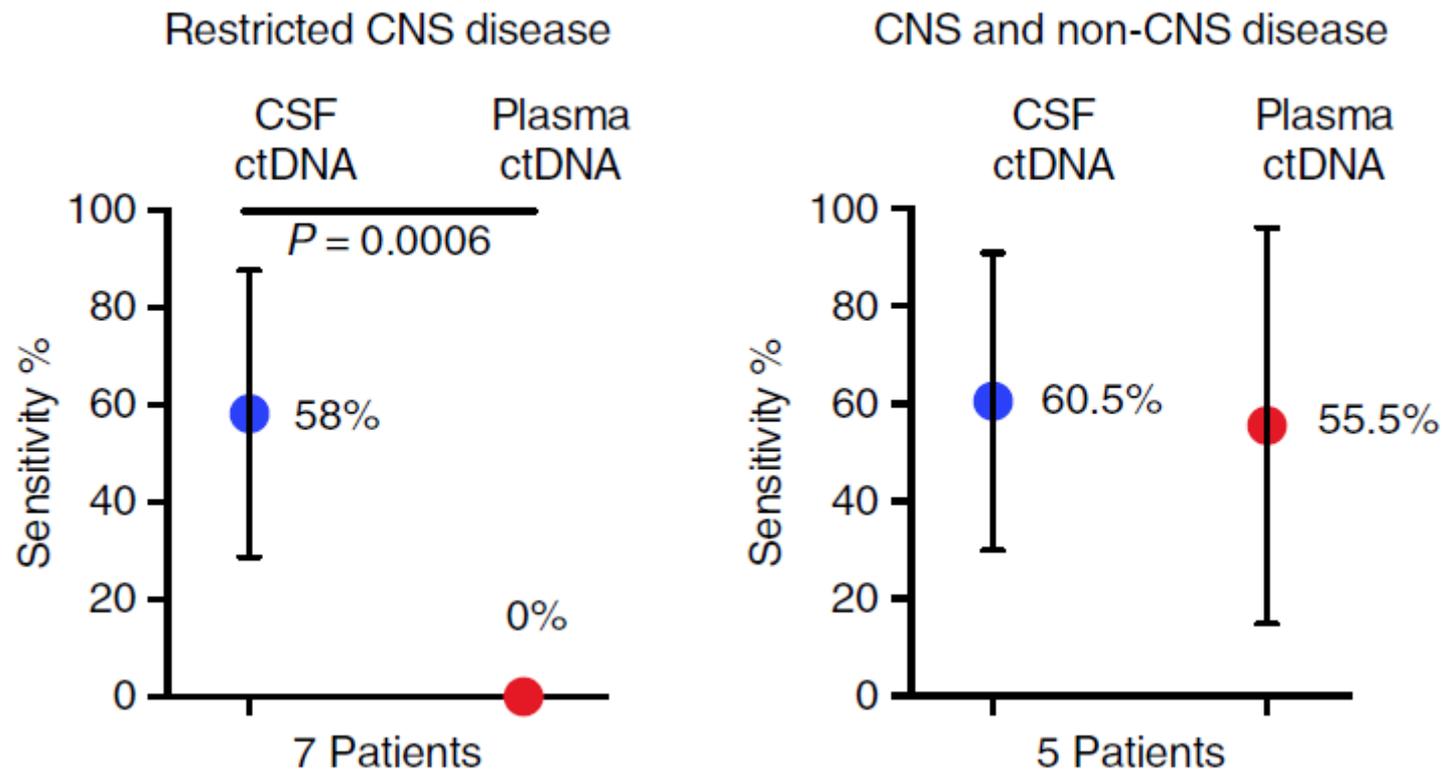
BMBC6



Gene	Amino acid	BM (1)	BM (2)	BM (3)	Liver (1)	Liver (2)	Liver (3)	Liver (4)	Liver (5)	Liver (6)	Gastric	CSF ctDNA	Plasma ctDNA
TBX3	K137fs	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TP53	P177fs	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAP2K4	E372X	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
NCOR1	R507X	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ASXL2	A1269I	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
FLT3	T820S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MET	N1081H	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MAP3K1	G607fs	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
MLL	R2344T	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ESR1	Y537S	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
U2AF1	P176R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
HIST1H3B	D78N	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
TNFAIP3	W113C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
JAK2	T557fs	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PIK3C2G	S231F	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
BRCA1	Splicing	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
DIS3	L237R	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
ERBB4	V851L	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

# Cerebrospinal fluid-derived circulating tumour DNA better represents the genomic alterations of brain tumours than plasma

12 patients



# TMUGS – méthode d'évaluation d'un marqueur biologique

LOE	Type d'étude	Validation
<b>I</b>	Essai clinique randomisé qui vise l'évaluation du marqueur. Les échantillons sont collectés et analysés en temps réel	Pas nécessaire mais souhaitable si possible
<b>I</b>	Etude prospective randomisée qui ne vise pas l'évaluation du marqueur. Les échantillons sont stockés pendant l'étude et analysés après la fin de l'étude suivant un protocole	Au moins deux études avec des résultats cohérents
<b>II</b>	Etude prospective randomisée qui ne vise pas l'évaluation du marqueur. Les échantillons sont stockés pendant l'étude et analysés après la fin de l'étude suivant un protocole	Une seule étude, ou plusieurs études avec des résultats incohérents
<b>II</b>	Etude rétrospective non randomisée pour l'analyse du marqueur, après échantillons collectés de patients suivis dans un registre observationnel (traitement et suivi standards)	Au moins deux études avec des résultats cohérents
<b>III</b>	Etude rétrospective non randomisée pour l'analyse du marqueur, après échantillons collectés de patients suivis dans un registre observationnel (traitement et suivi standards)	Une seule étude, ou plusieurs études avec des résultats incohérents
<b>IV-V</b>	Aucun aspect de l'étude est prospective	Pas nécessaire, car ce type d'étude ne permet pas d'évaluer l'utilité clinique

# Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) Working Group

([www.egappreviews.org/workinggrp.htm](http://www.egappreviews.org/workinggrp.htm))

- **Analytical performance**

how accurately and reliably the test detects the analyte(s) of interest;

- **Clinical validity**

how well the test relates to the clinical outcome of interest (such as survival or response to therapy);

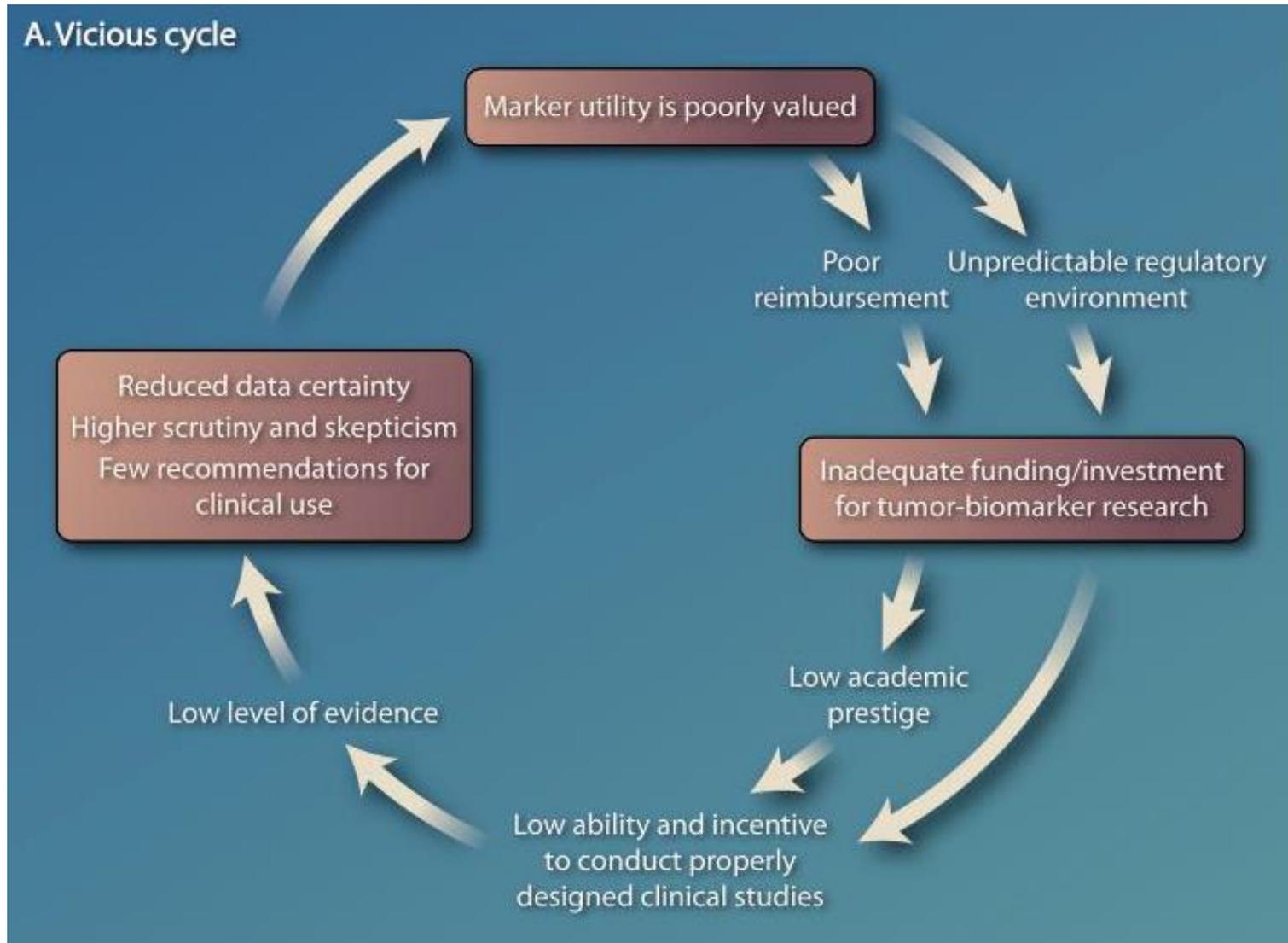
- **Clinical utility**

Whether the results of the test provide information that contributes to and improves current optimal management of the patient's disease



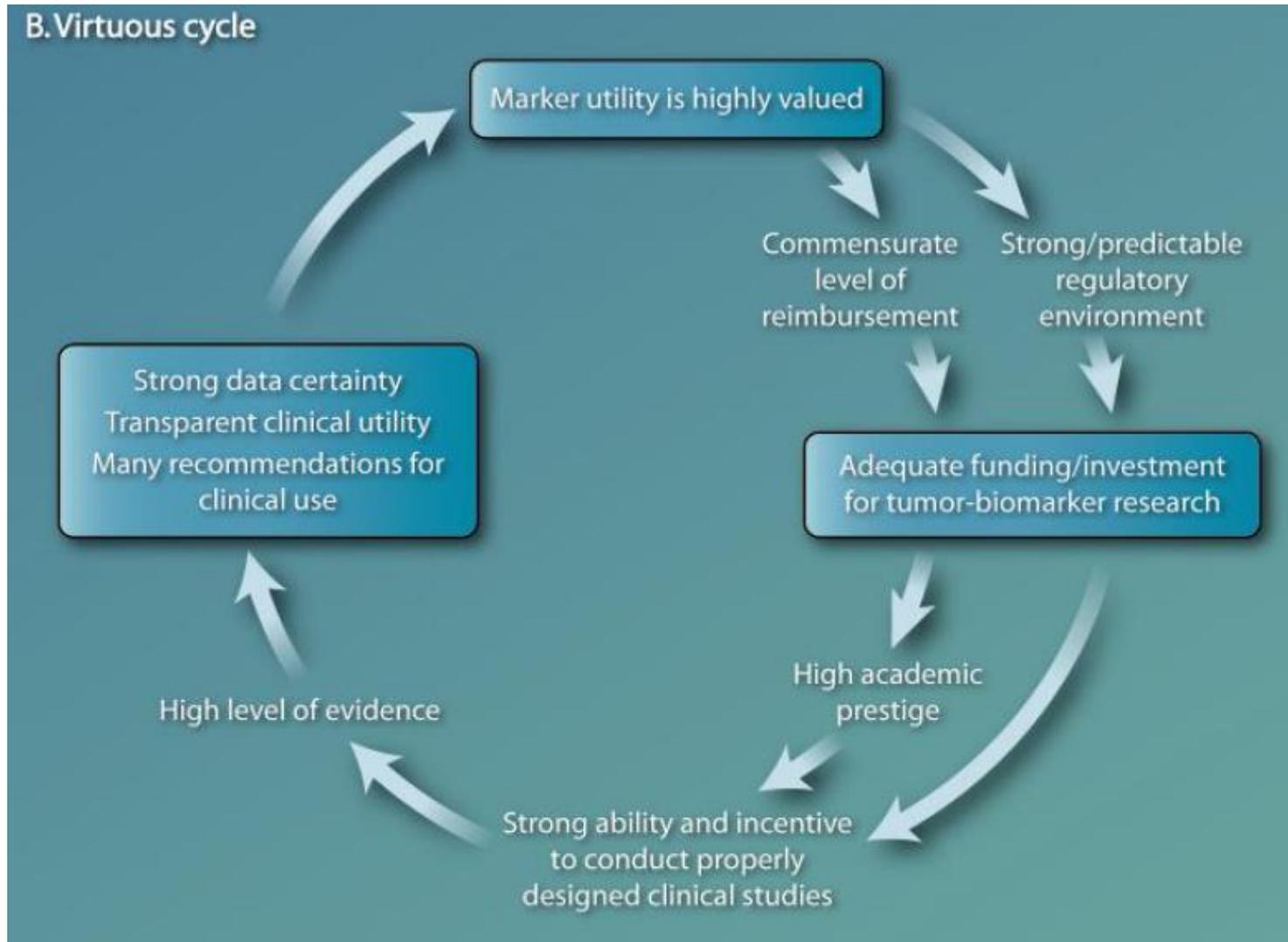
# TUMOR-BIOMARKER DIAGNOSTICS

## Breaking a Vicious Cycle



# TUMOR-BIOMARKER DIAGNOSTICS

## Breaking a Vicious Cycle



# Somatic genomic landscape of over 15,000 patients with advanced-stage cancer from clinical next-generation sequencing analysis of circulating tumor DNA.

## Guardant360 helps patients

Breast Cancer

Lung Cancer

Melanoma

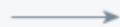
### Lung Cancer Case Study

How Guardant360 helped a patient fight non-small cell lung cancer



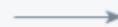
Month 1

Tissue biopsy insufficient for genotyping



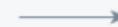
Month 1

Avoiding repeat biopsy, Guardant360 identified *EGFR* L858R, an actionable mutation



Month 2

First-line treatment initiated with Erlotinib



Month 4

CT scan demonstrated partial response and *EGFR* L858R, not detected in ctDNA

# Conclusions

## Détection des CTC

Marqueur pronostique reproductible dans plusieurs pathologie métastatique (Sein, prostate, etc...) Niveau de preuve I

L'utilité clinique reste à démontrer pour passage en routine en particulier en situation adjuvante

## Intérêt en clinique de la « biopsie clinique »

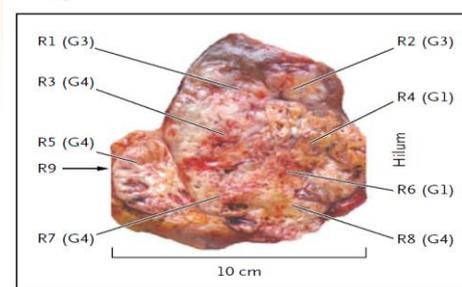
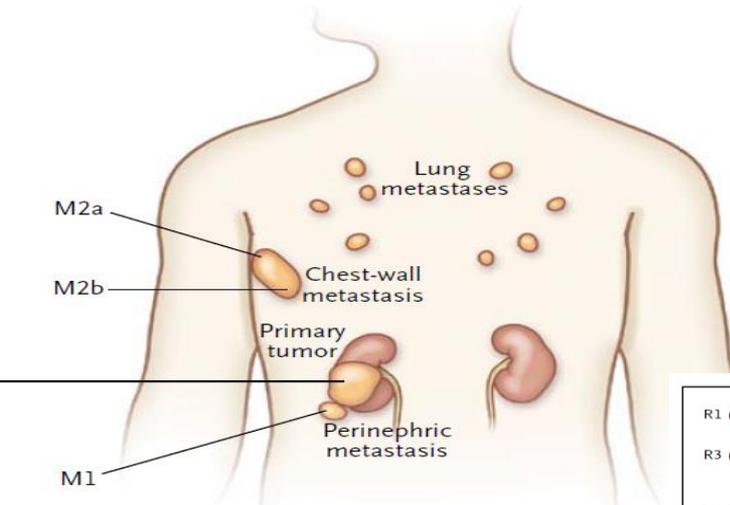
ctDNA: Corrélation avec le statut de la maladie métastatique

Evaluation itérative en cours de traitement

Démonstration à faire en situation non métastatique

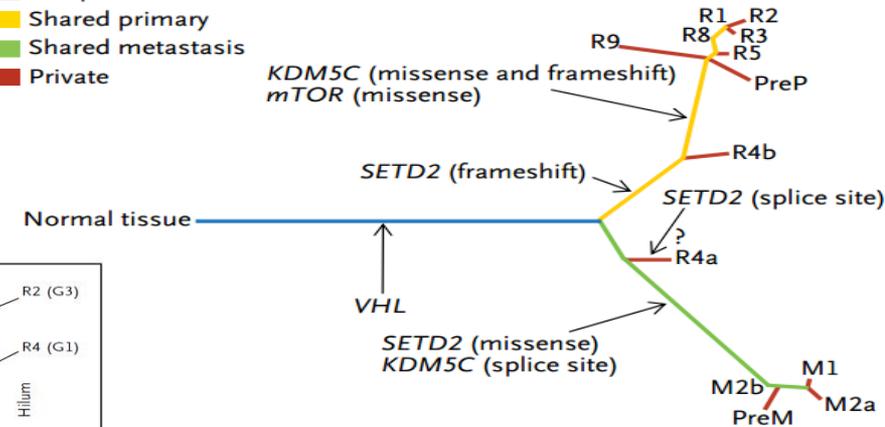
AMM d'une thérapie ciblée dans le K du poumon basée sur le ctDNA

# Architecture Génomique des tumeurs Arborescence (tronc, branches)



## Phylogenetic Relationships of Tumor Regions

- Ubiquitous
- Shared primary
- Shared metastasis
- Private



Metastatic mutations (and allelic imbalances) are:

- shared between 1° and 2° tumours
- different between 1° and 2° tumours

Derived from Gerlinger et al., 2012 NEJM

# Hétérogénéité tumorale

