

# *Biologie moléculaire et médecine personnalisée : Avantages et perspectives*

Par:

Amine Badri, Ph. D. (Biologie moléculaire)

Jean-François Dermine, M.D. (Anatomopathologiste)

2017 OC 20



Centre intégré  
de santé  
et de services sociaux  
du Bas-Saint-Laurent

Québec 

Centre de recherche appliquée | Rimouski



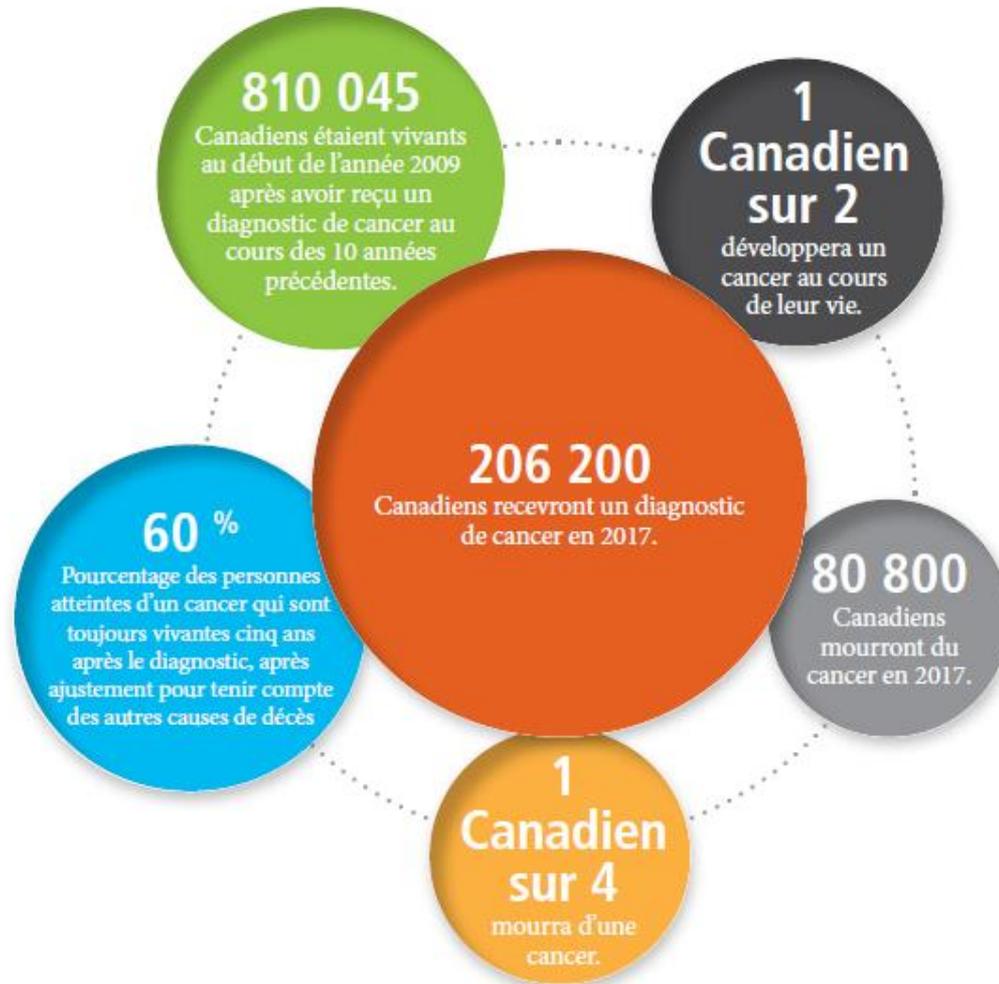
Valorisation  
Recherche  
Industrie  
Développement  
Santé  
Environnement  
Résultat  
Conseil  
Innovation  
Analyse  
Procédé  
Réglementation  
Biotechnologies  
Solution  
Excellence

# *Plan de la présentation*



1. Statistiques du cancer au Canada et au Québec en 2017
2. Le cancer une maladie à visages multiples
3. Caractéristiques fondamentales du cancer
4. Diagnostique du cancer
  1. Histologique
  2. Biomoléculaire
5. Perspectives de développement en médecine personnalisée
6. Conclusion

# Statistiques sur le cancer au Canada en 2017



# Statistiques sur le cancer au Québec en 2017



- **En 2017 :**
  - 21 800 personnes seront emportées par un cancer :  
60 décès/jour
- **En 2030 :**
  - Augmentation du nombre de nouveaux cas de cancer de 35%,
  - 67 000 Québécois recevront un diagnostic de cancer.

# Définition



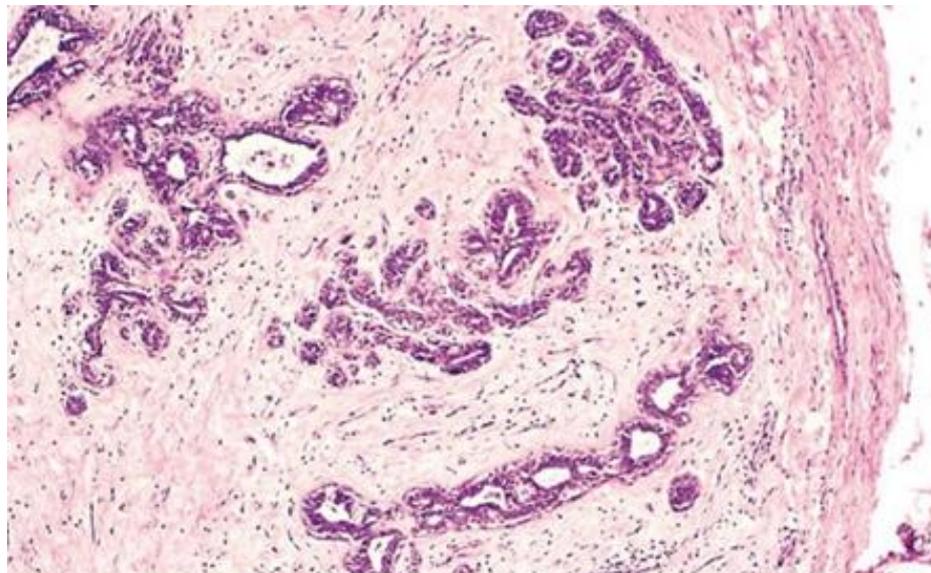
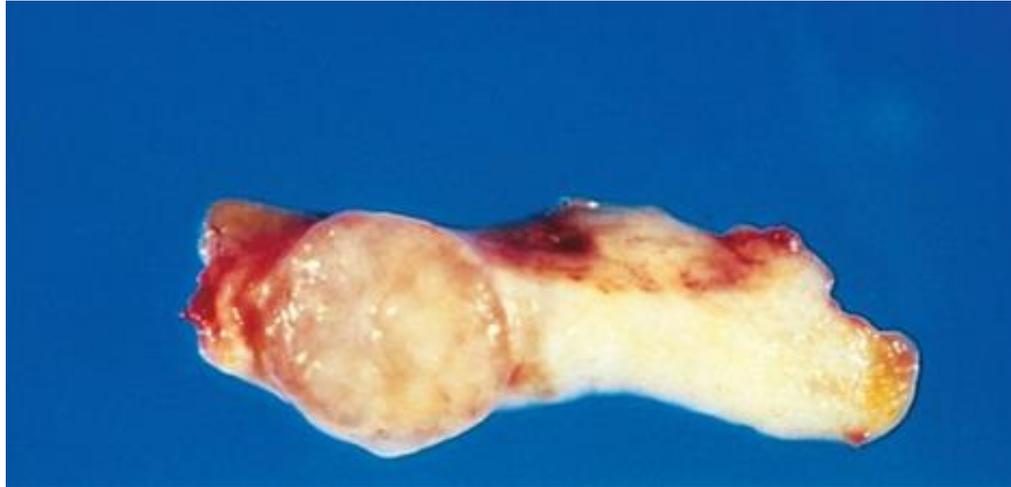
- Maladie caractérisée par la croissance incontrôlée et continue de cellules dérèglées qui détruisent le tissu sain.
- Accumulation de mutations génétiques compatibles avec la viabilité de la cellule, mais la rendant incontrôlable.

# *Caractéristiques fondamentales du cancer*

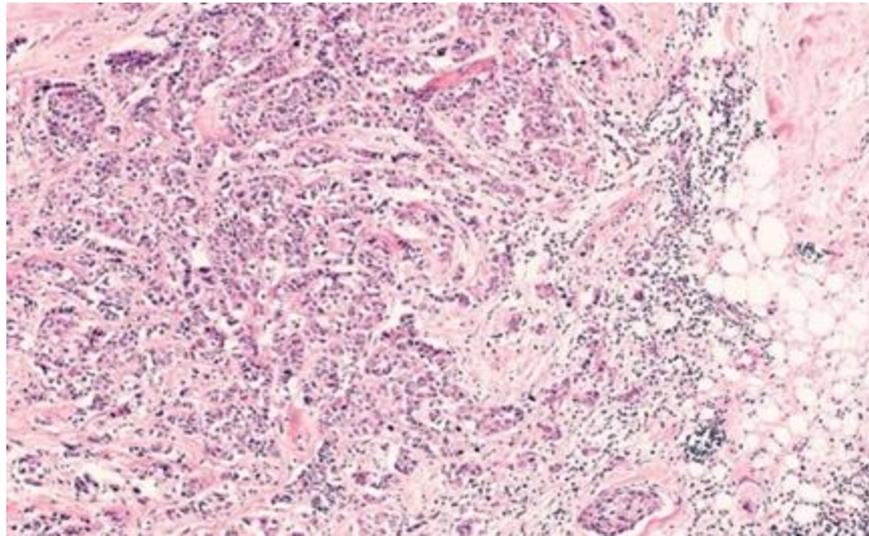


- Autosuffisance en terme de signaux de croissance
- Insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance
- Capacité replicative infinie
- Angiogénèse continue
- Évasion de la mort cellulaire (apoptose)
- Invasion tissulaire et capacité à métastaser
- Évasion du système immunitaire

# *Tumeur bénigne*



# *Tumeur cancéreuse*



# Quelles sont les causes du cancer ?



- **Multifactoriel:**

- Vieillessement

- Facteurs environnementaux

- Agents infectieux

Anomalies génétiques

# Quelles sont les causes du cancer ?



## Facteurs environnementaux

- Radiation ionisante et non ionisante
  - Rayon gamma, X, UV, radiation particulaire
- Alimentation
  - Sous-produits de combustion, friture, agents de conservation (ex. Nitrate, nitrite)
- Agents chimique
  - Produits alkylants, solvants, industrie pétrochimique

# Quelles sont les causes du cancer ?



## Agents infectieux

- Virus VPH
  - Cancer du col de l'utérus, vulve, pénis, anus, gorge
- Virus Epstein Barr
  - Lymphomes
- Virus VHB
  - Carcinome hépatocellulaire
- Virus HTLV-1
  - Leucémie

# *Anomalies génétiques*



- *Mutations constitutionnelles ou germinales*
- *Mutations acquises ou somatiques*

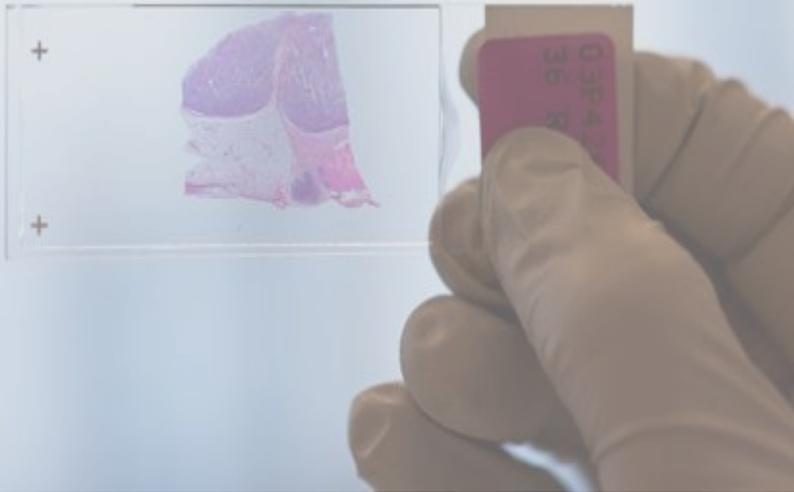


- **Amélioration nette du taux de survie :**
  - 25% en 1940 -> 60% en 2016
- **Causes:**
  - Amélioration des méthodes de diagnostics.
  - Avancées dans les traitements.

# Le diagnostic du cancer



## Histologie



## Biomoléculaire

# Diagnostic histologique



Type de cancer  
Grade histologique  
Récepteurs hormonaux  
Tissu suffisant ou non biologie moléculaire



# *Diagnostic histologique*

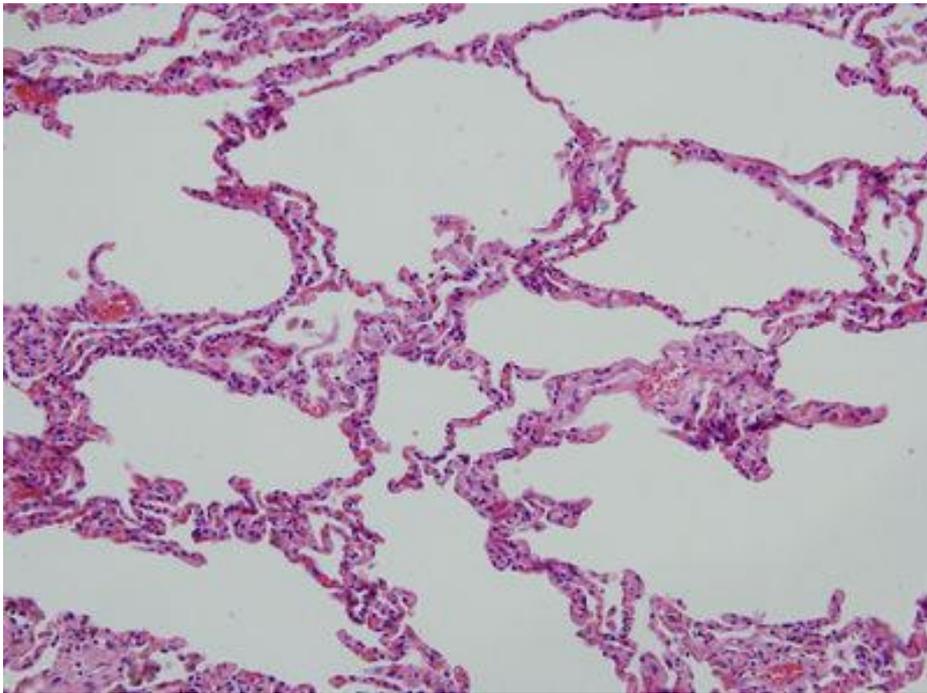


# *Diagnostic histologique*

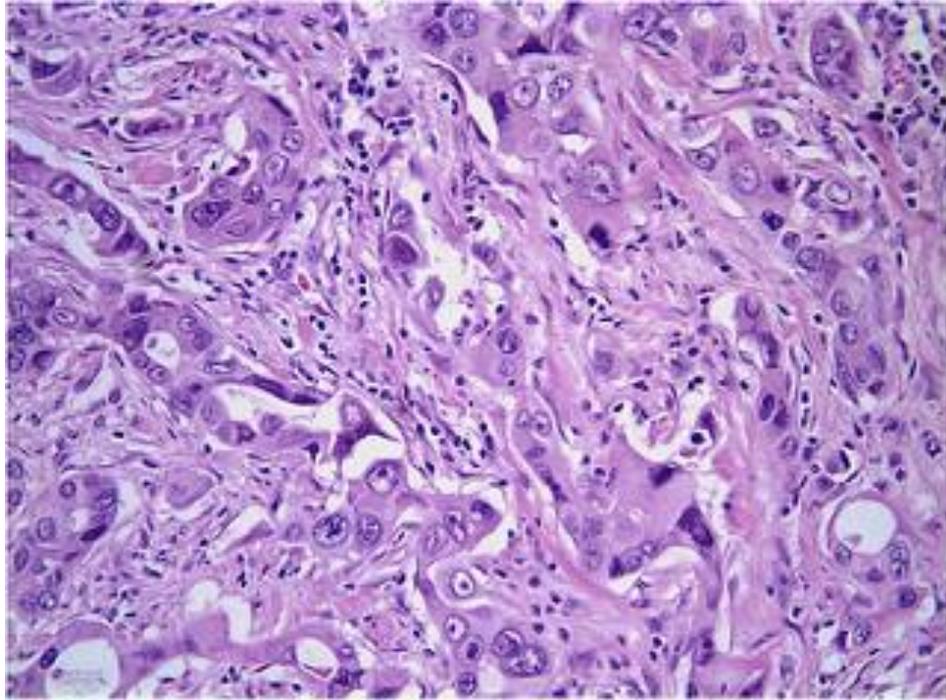




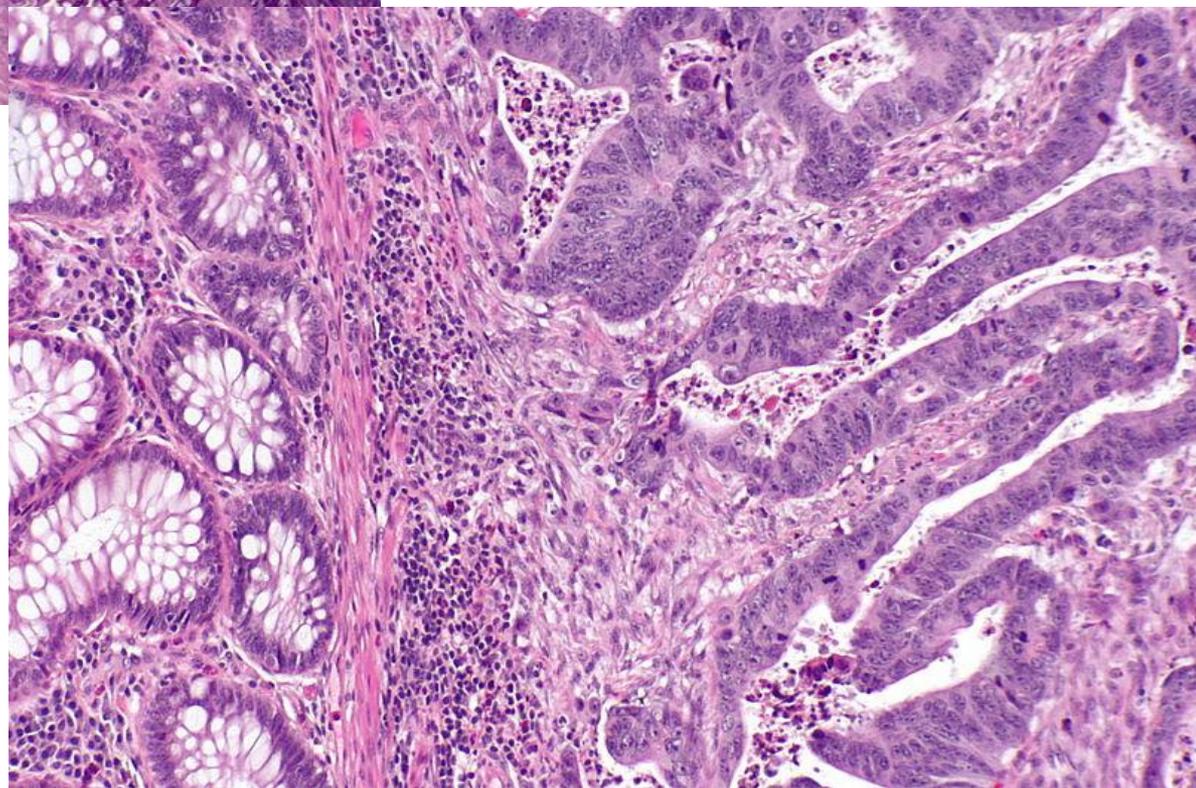
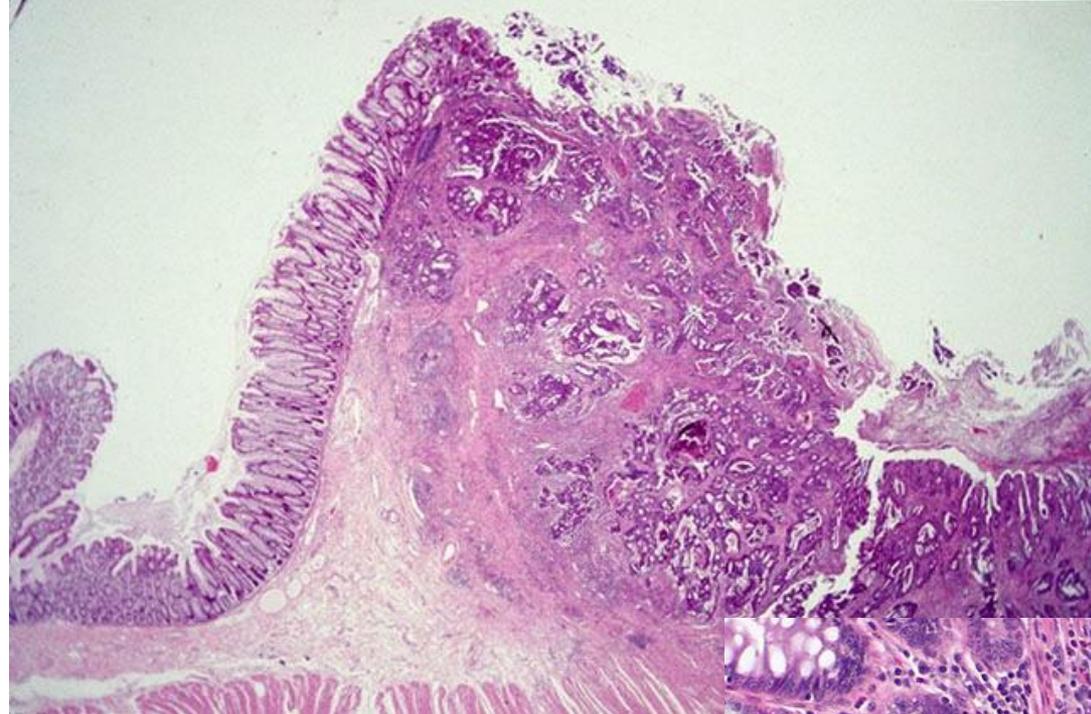
Normal



Adénocarcinome









- Caractéristiques à décrire
  - Type de tumeur et la taille
  - Grade
  - Profondeur d'invasion
  - Invasion lymphovasculaire
  - Statut des marges de résection chirurgicales
  - Statut de récepteurs hormonaux

# *Le traitement du cancer*



- Chirurgie
- Chimiothérapie
- Radiothérapie
- Anti-hormonaux
- Modulateurs du système immunitaire
- Thérapie ciblée (médecine personnalisée)



- Une thérapie ciblée est un traitement sélectif qui exploite les différences biologiques existant entre les cellules cancéreuses et les cellules saines de l'organisme.
- Le traitement cible des molécules spécifiques (protéines, récepteurs) qui sont à l'origine du cancer.



***Diagnostic biomoléculaire***



- Consiste à analyser la molécule d'ADN pour **détecter des mutations ou autres anomalies de façon ciblée sur le génome.**
- Fait appel à des techniques de biologie moléculaire (exemples : PCR, RT-PCR, séquençage, etc.).



**PCR** : Amplification du gène cible

<https://www.youtube.com/watch?v=2KoLnlwoZKU>

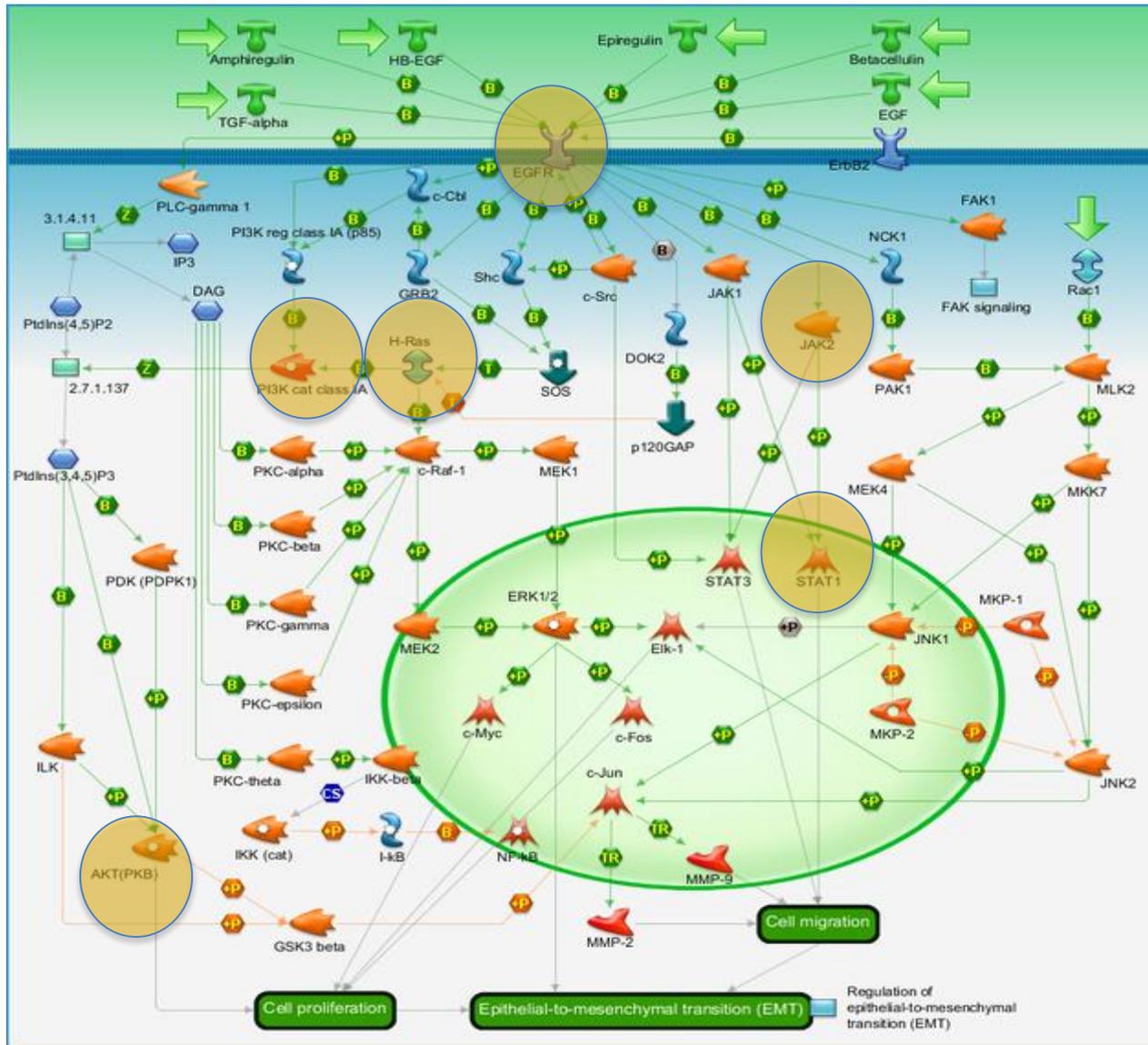
L'ensemble de ces outils permettent d'étudier les caractéristiques génétiques d'un individu pour lui attribuer le bon traitement en fonction de son profil mutationnel.



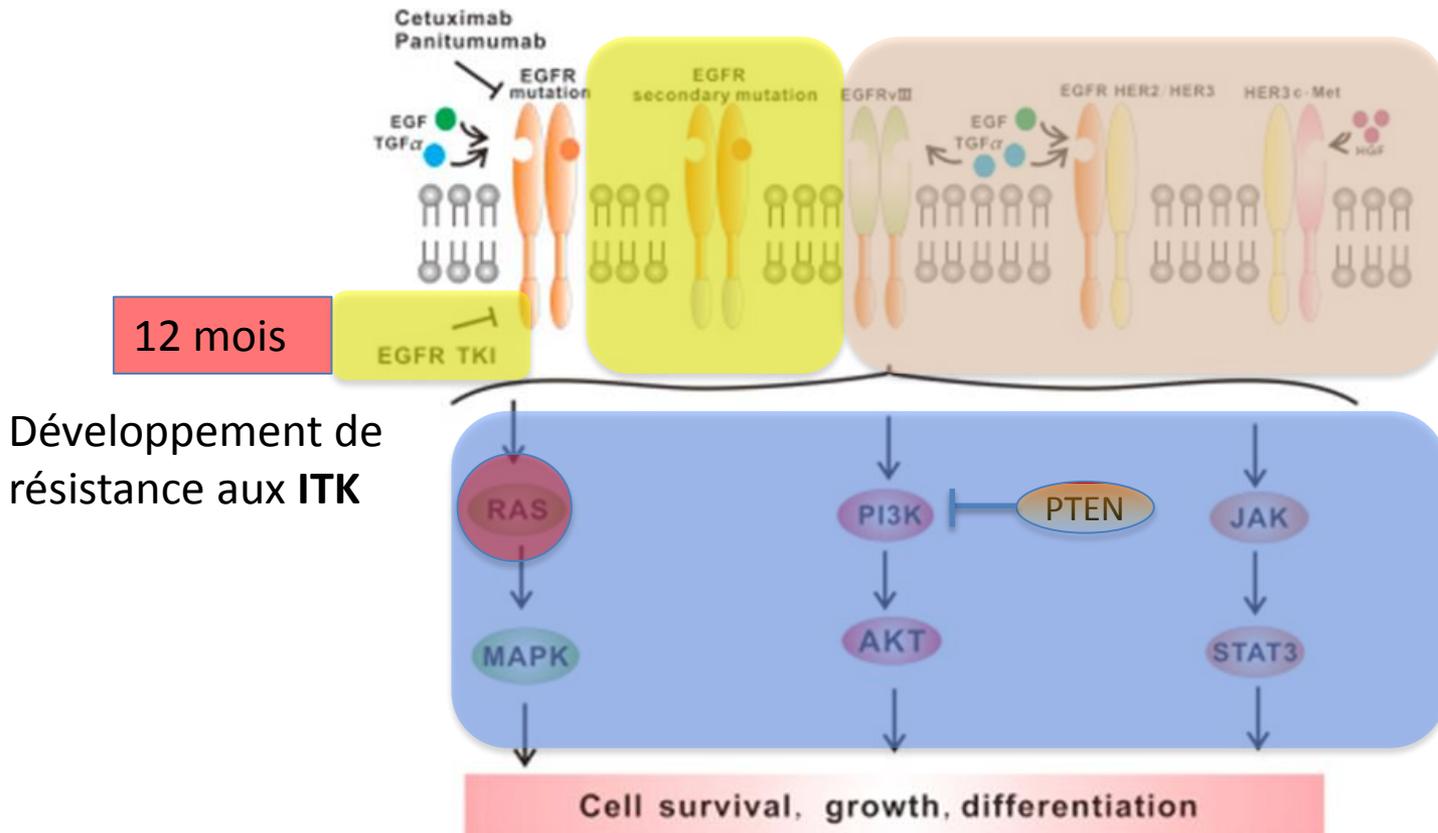
## *Exemple : les mutations EGFR et cancer du poumon à non-petites cellules (NSCLC).*

- **EGFR** (Récepteur au facteur de croissance épidermique)
- Glycoprotéine transmembranaire.
- Appartient à la famille des récepteurs à tyrosine kinases (jouent un rôle majeur dans la transduction du signal cellulaire).

# Détection des anomalies génétiques : Mutations EGFR



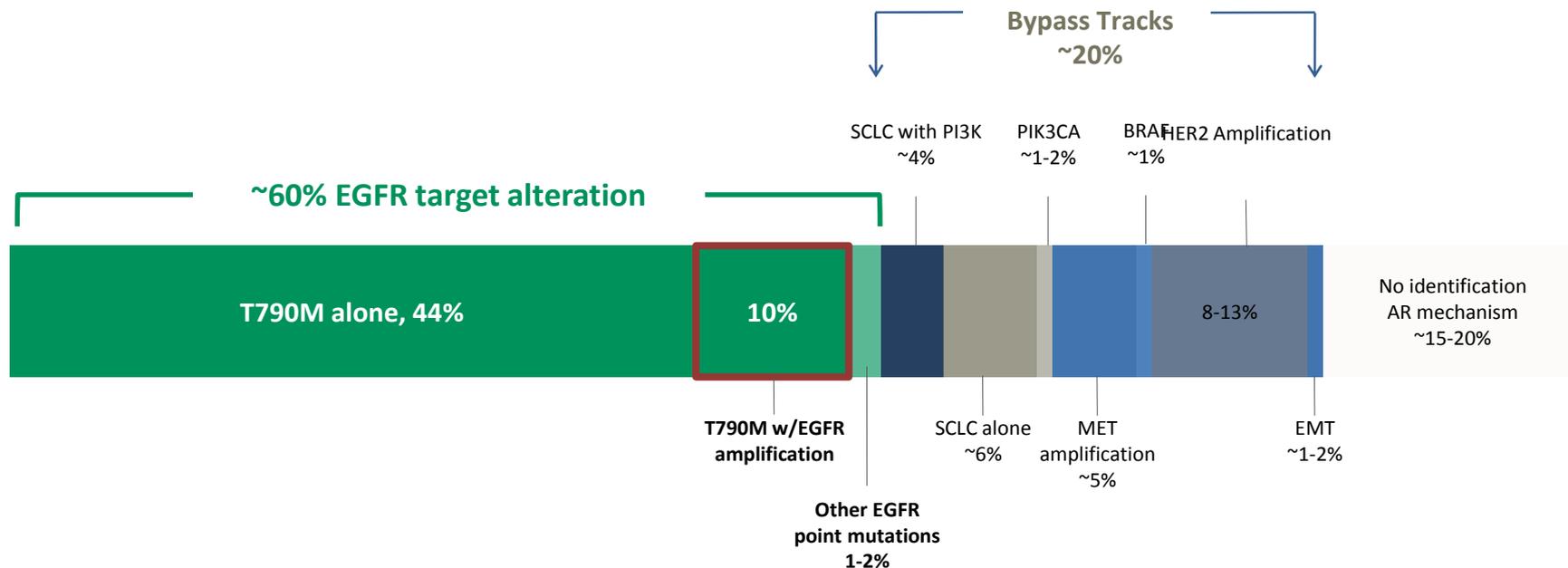
# Détection des anomalies génétiques : Mutations EGFR



# Détection des anomalies génétiques : Mutations EGFR

## Résistance EGFR aux ITK

- La mutation la plus répandue est **T790M**



# Outil pour la détection des mutations EGFR

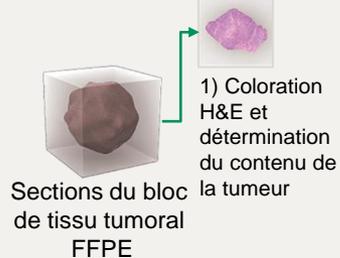
Cobas EGFR v2: Approuvé par FDA et Santé Canada



## Étape 1 Biopsie



## Étape 2 Préparation des échantillons



Macrodissection  
si < 10 % tumeur

## Étapes 3A et 3B

### A Préparation des échantillons d'ADN



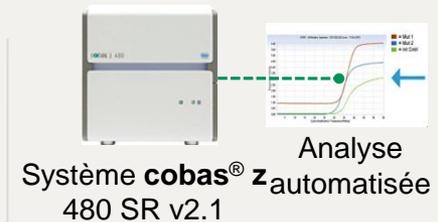
### B Quantification de l'ADN



## Étape 4 Préparation PCR



## Étape 5 Résultats



← 8 heures →

# Outils pour la détection des mutations EGFR

- Rapport d'analyse

CRBM

**cobas® 4800** 

**cobas EGFR Tissue P1 Test Report**

|               |                      |                             |                   |
|---------------|----------------------|-----------------------------|-------------------|
| Start of run: | 20-Sep-2017 14:21:06 | MWP ID:                     | HD0207242         |
| System:       | c4CZC4243KQW         | DNA Sample Prep Kit-ID #1:  | AD1X115197I00D5   |
| Serial No.:   | z 480: 51970         | Lot / Exp Date:             | X11519 / Aug-2018 |
| Test version: | 1.0.0                | EGFR Mut Test v2 Kit-ID #1: | IA1X149493I003L   |
| Operator:     | z480                 | Lot / Exp Date:             | X14949 / Apr-2018 |
| Printed By:   | z480                 |                             |                   |

**Run name** 20-SEP-2017 14:21 EGFR Tissue P1

Test status: VALID

**Controls**

| Position    | Sample ID       | Kit | Control Type     | Result | Flags | Accepted by |
|-------------|-----------------|-----|------------------|--------|-------|-------------|
| A01:A02:A03 | IA1X149493I003L | 1   | Mutant Control   | Valid  |       | z480        |
| B01:B02:B03 | IA1X149493I003L | 1   | Negative Control | Valid  |       | z480        |

**Specimens**

| Position    | Sample ID  | Kit | Result 1             | Result 2 | Flags | Accepted by |
|-------------|------------|-----|----------------------|----------|-------|-------------|
| C01:C02:C03 | STIS-23367 | 1   | No Mutation Detected | N/A      |       | z480        |
| D01:D02:D03 | STIS-23368 | 1   | Mutation Detected    | G719X    |       | z480        |
| E01:E02:E03 | STIS-23369 | 1   | Mutation Detected    | Ex19Del  |       | z480        |

Tableau 1 Le test cobas® EGFR est conçu pour détecter les mutations suivantes

| Exon                    | Groupe de mutations EGFR | Séquence d'acides nucléiques EGFR | ID COSMIC® |
|-------------------------|--------------------------|-----------------------------------|------------|
| Exon 18                 | G719X                    | 2156G>C                           | 6239       |
|                         |                          | 2155G>A                           | 6252       |
|                         |                          | 2155G>T                           | 6253       |
| Exon 19                 | Ex19Del                  | 2240_2251del12                    | 6210       |
|                         |                          | 2239_2247del9                     | 6218       |
|                         |                          | 2238_2255del18                    | 6220       |
|                         |                          | 2235_2249del15                    | 6223       |
|                         |                          | 2236_2250del15                    | 6225       |
|                         |                          | 2239_2253del15                    | 6254       |
|                         |                          | 2239_2256del18                    | 6255       |
|                         |                          | 2237_2254del18                    | 12367      |
|                         |                          | 2240_2254del15                    | 12369      |
|                         |                          | 2240_2257del18                    | 12370      |
|                         |                          | 2239_2249TTAAGAGAAG>C             | 12382      |
|                         |                          | 2239_2251>C                       | 12383      |
|                         |                          | 2237_2255>T                       | 12384      |
|                         |                          | 2235_2255>AAT                     | 12385      |
|                         |                          | 2237_2252>T                       | 12386      |
|                         |                          | 2239_2259>CA                      | 12387      |
|                         |                          | 2239_2256>CAA                     | 12403      |
|                         |                          | 2237_2253>TTGCT                   | 12416      |
|                         |                          | 2238_2252>GCA                     | 12419      |
|                         |                          | 2238_2249>GC                      | 12422      |
|                         |                          | 2237_2251del15                    | 12678      |
|                         |                          | 2236_2253del18                    | 12729      |
|                         |                          | 2235_2249>AATTC                   | 13550      |
|                         |                          | 2235_2252>AAT                     | 13551      |
|                         |                          | 2235_2251>AATTC                   | 13552      |
|                         |                          | 2253_2276del24                    | 13556      |
|                         |                          | 2237_2257>TCT                     | 18427      |
| 2239_2252del15          | 23571                    |                                   |            |
| 2233_2247del15          | 26038                    |                                   |            |
| Exon 20                 | S768I                    | 2303G>T                           | 6241       |
|                         | T790M                    | 2389C>T                           | 6240       |
|                         | Ex20Ins                  | 2307_2308ins9GCCAGCGTG            | 12376      |
|                         |                          | 2319_2320insCAC                   | 12377      |
|                         |                          | 2310_2311insGGT                   | 12378      |
|                         |                          | 2311_2312ins9GCGTGGACA            | 13428      |
| 2309_2310AC>CCAGCGTGGAT | 13558                    |                                   |            |
| Exon 21                 | L858R                    | 2573T>G                           | 6224       |
|                         |                          | 2573_2574TG>GT                    | 12429      |
|                         | L861Q                    | 2582T>A                           | 6213       |

# Outils pour la détection des mutations EGFR

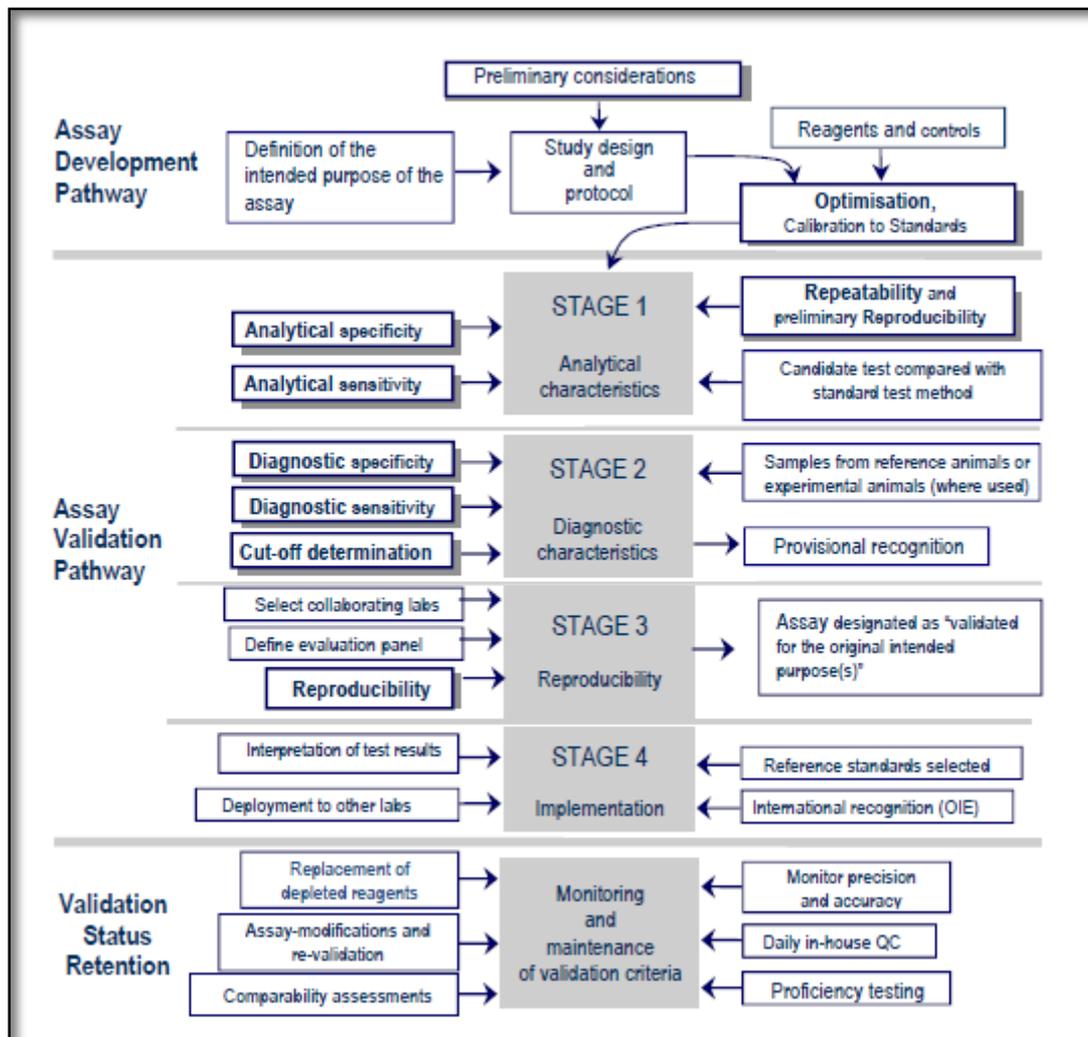


## Exemple de traitements en fonction des mutations

| Mutations                               | Médicament                          |
|---|-------------------------------------|
| Déletion au niveau de l'exon 19 (L858R) | Tarceva <sup>®</sup> (erlotinib)    |
| T790M                                   | TAGRISSO <sup>™</sup> (osimertinib) |

# Développement et validation des méthodes

Processus de validation d'une méthode : complexe, long et couteux



# Vérification vs validation de méthodes



- Vérification selon le CLIA'88 (Clinical Laboratory Improvement Amendments)
- Vérification selon le CAP (College of American Pathologists)

| Assay Verification Requirements |                                   |                                     |                          |
|---------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------------|--------------------------|
|                                 | Regulatory agency or organization |                                     |                          |
|                                 | CLIA                              |                                     | CAP                      |
| Assay type/clearance            | FDA-cleared tests                 | All non-FDA cleared tests           | All tests                |
| Requirements for verification   | Reportable range                  | Reportable range                    | Reportable range         |
|                                 | Precision                         | Precision                           | Precision                |
|                                 | Accuracy                          | Accuracy                            | Accuracy                 |
|                                 |                                   | Reference range                     | Reference range          |
|                                 |                                   | Analytical sensitivity              | Analytical sensitivity   |
|                                 |                                   | Analytical specificity <sup>a</sup> | Analytical interferences |
|                                 |                                   | Other <sup>b</sup>                  |                          |

<sup>a</sup>CLIA defines analytical specificity as "analytical specificity, including interfering substances."  
<sup>b</sup>CLIA defines this parameter as "any other performance characteristic required for test performance."

Seaton, 2006

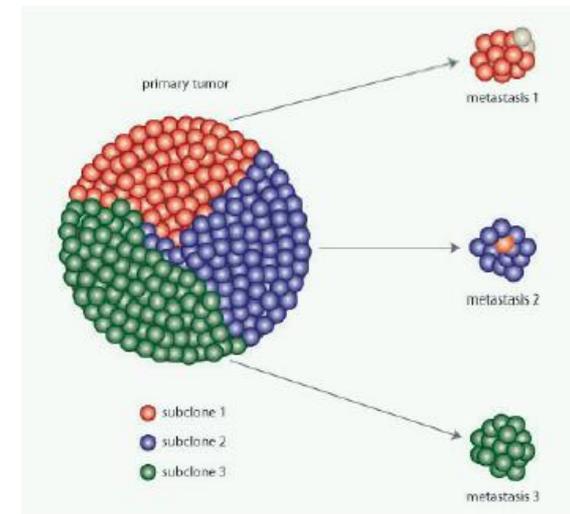


***Perspectives de développement  
en médecine personnalisée***

# Perspectives de développement en médecine personnalisée

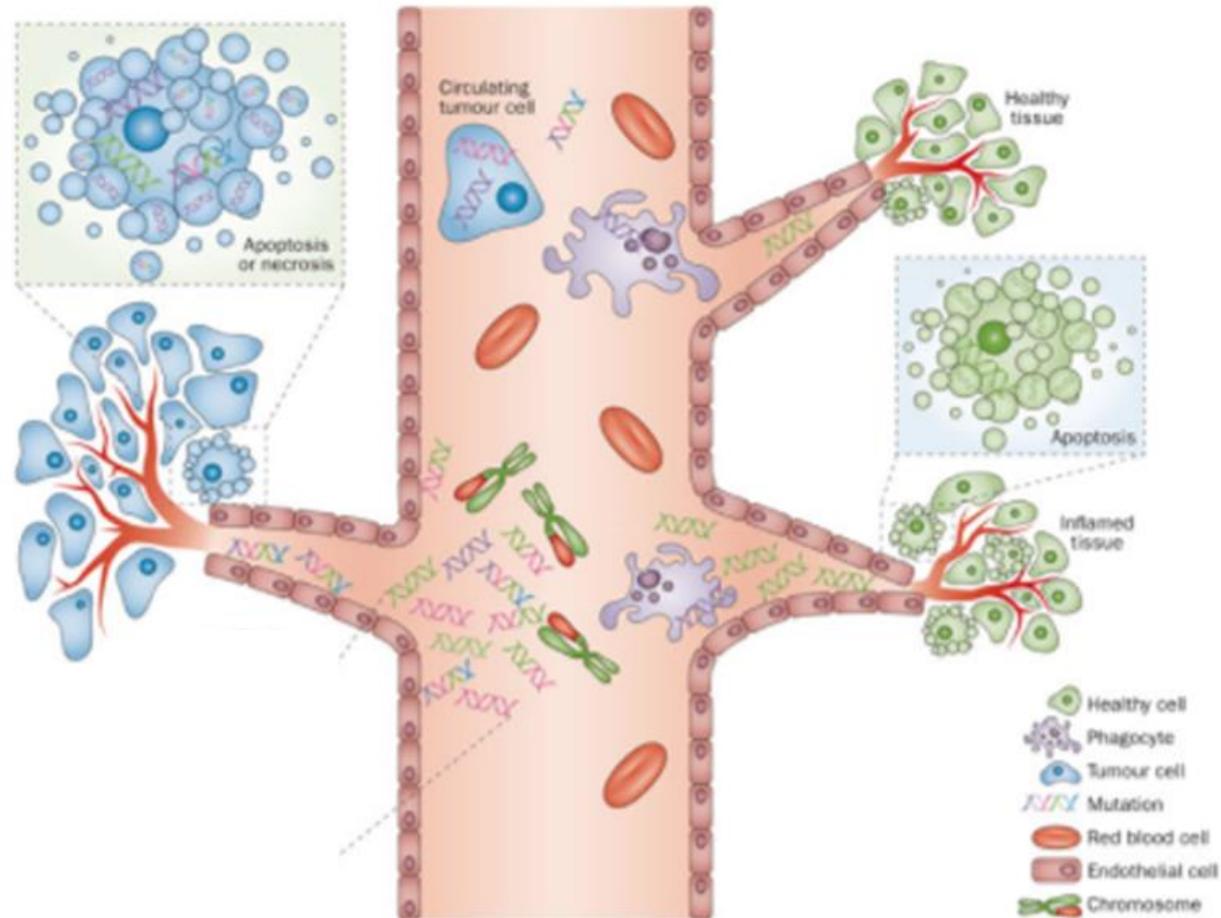
*Les scientifiques et les médecins se demandent qu'est ce qu'ils peuvent faire si :*

- La santé du patient est fragile ?
- Faire un suivi dans le temps ?
- La tumeur contient plusieurs sous-clones ?



# Perspectives de développement en médecine personnalisée

## Diagnostique du cancer à partir d'un échantillon de sang





# Perspectives de développement en médecine personnalisée



## Santé trop frêle pour la biopsie (10-20 %)

**Options thérapeutiques :**  
ITK ou chimio ou soins palliatifs

**Valeur pour les patients :**  
Option thérapeutique supplémentaire ciblée selon la mutation du gène de l'EGFR

## Quantité insuffisante de tissu (aspiration à l'aiguille ou biopsie au trocart)

**Options thérapeutiques :**  
ITK ou chimio ou soins palliatifs

**Valeur pour les patients :**  
Évite la répétition de la biopsie pour quantité insuffisante, permet d'autres tests de détection de biomarqueurs

## Maintien\*

100 % des patients prenant des ITK

**Options thérapeutiques :**  
ITK, y compris ajout d'un agent de 3<sup>e</sup> génération à la chimio

**Valeur pour les patients :**  
Détection rapide de l'évolution clinique = prise en charge et issues améliorées pour les patients

\* Index SQI non-homologué par Santé Canada

# Conclusion



- Maladies hétérogènes et prévalentes (problématique liée au vieillissement de la population).
- Augmentation de l'effort mis pour le développement de nouvelles méthodes de diagnostic moins invasives et plus précoces.
- Avantages des traitements personnalisés : traitement ciblé => efficacité accrue => augmentation du taux de survie.



Merci pour votre attention

Des questions?

