

8^e ÉDITION

JOURNÉES DU GFCO 2022

Biomarqueurs et analyses moléculaires en oncologie

Avec la participation
scientifique du



Biopsie liquide interventionnelle dans les cancers colorectaux

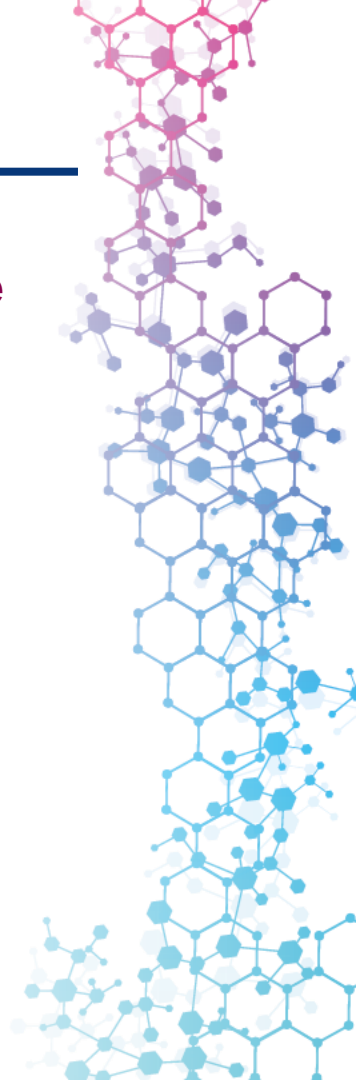
Jean-Baptiste Bachet, Paris

Modérateur : Alexandre Harlé, Nancy

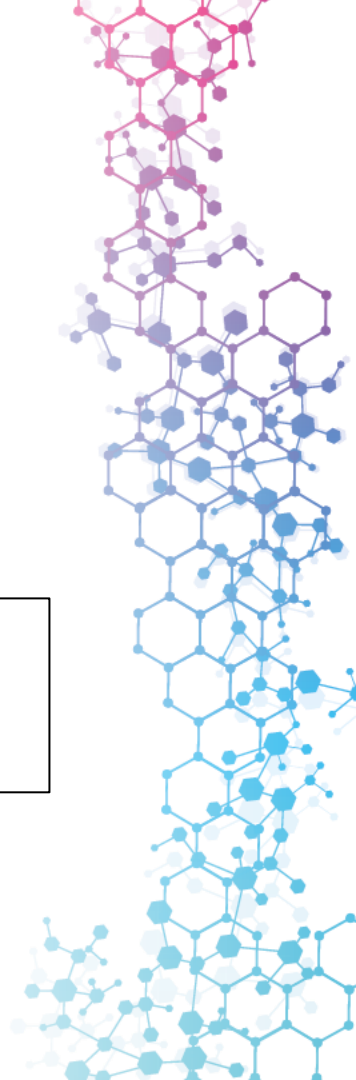
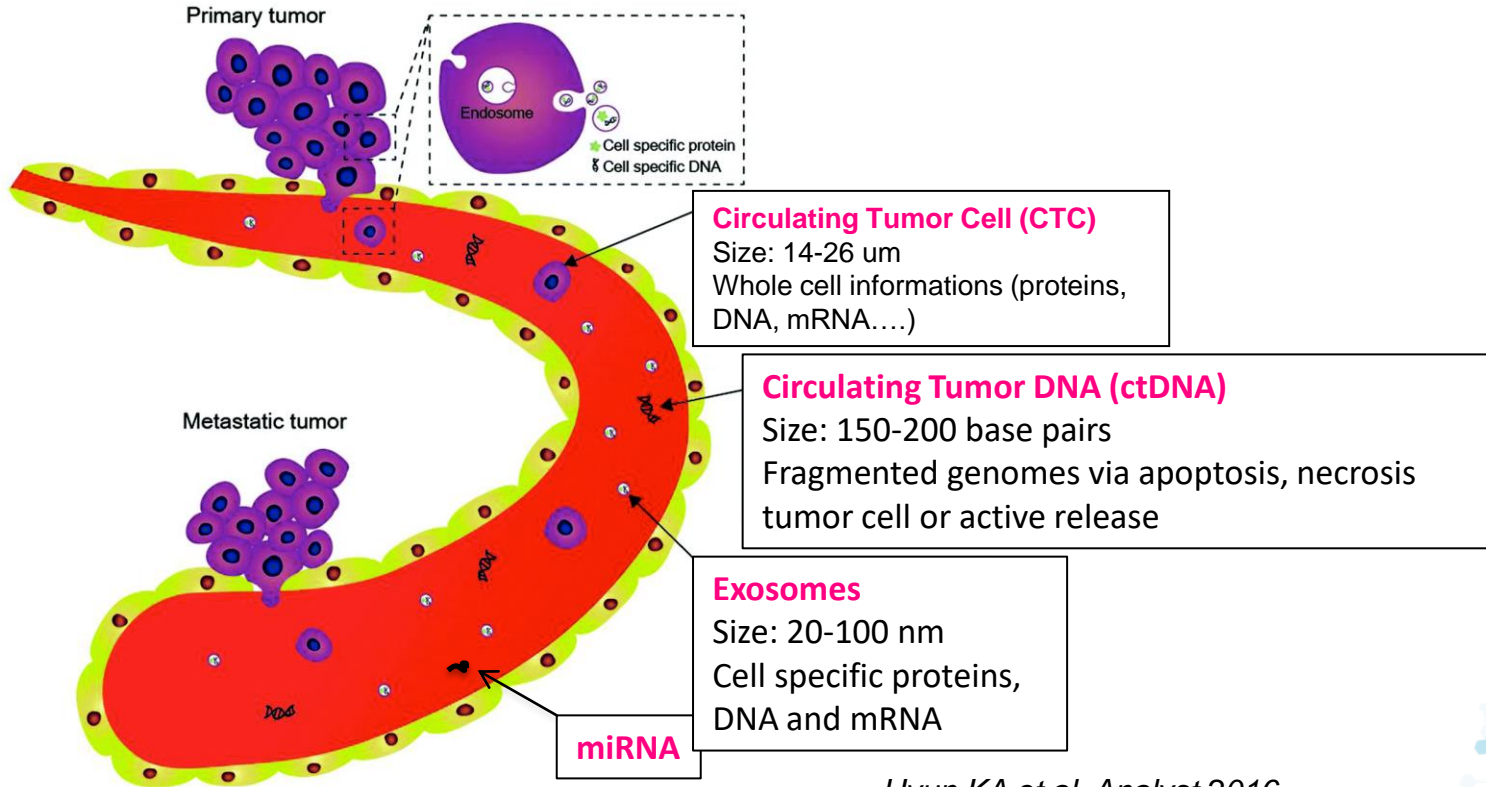


LIENS D'INTÉRÊT

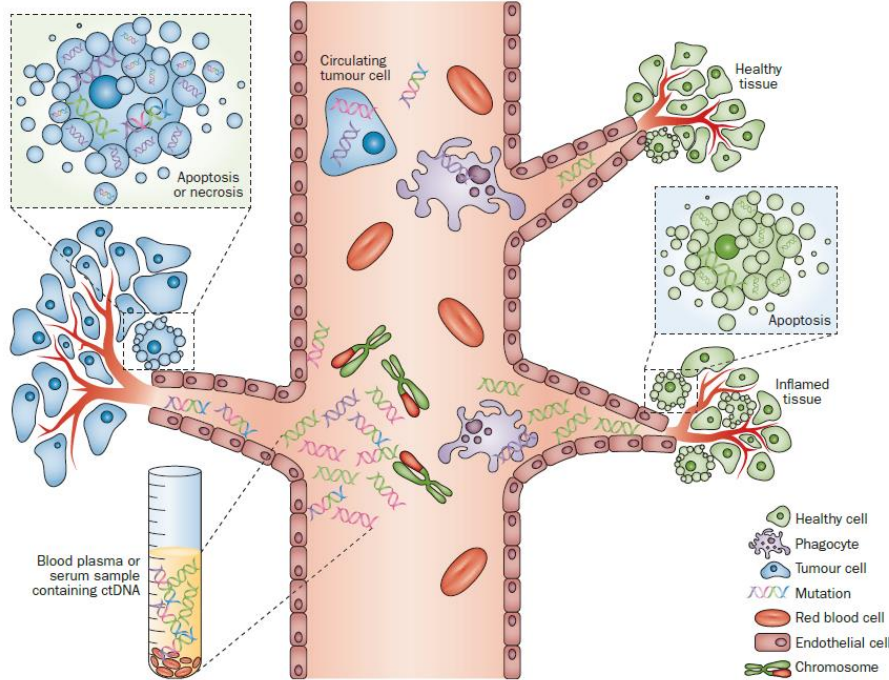
- **Honoraires : Amgen, AstraZeneca, Bayer, Merck Serono, Pierre Fabre, Roche, Sanofi, Servier**
- **Conseiller : Amgen, Acobiom, Bayer, GSK, Incyte, Merck Serono, MSD, Pierre Fabre, Servier**



Biomarqueurs circulants

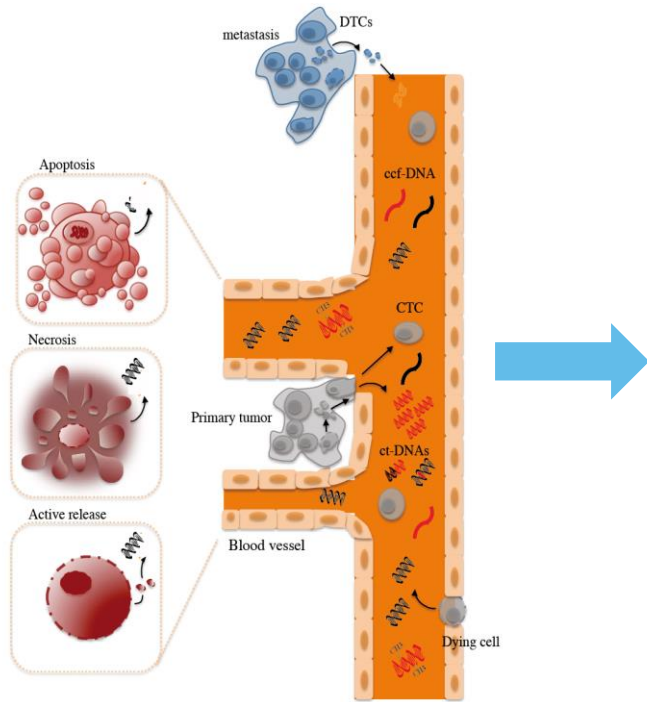


ADN circulant libre



- Relargué dans tissus sains, inflammatoires ou tumoraux par les cellules apoptotiques
- Détecté et quantifié dans le sang circulant

ADN tumoral circulant



Mutations tumorales spécifiques

miRNA

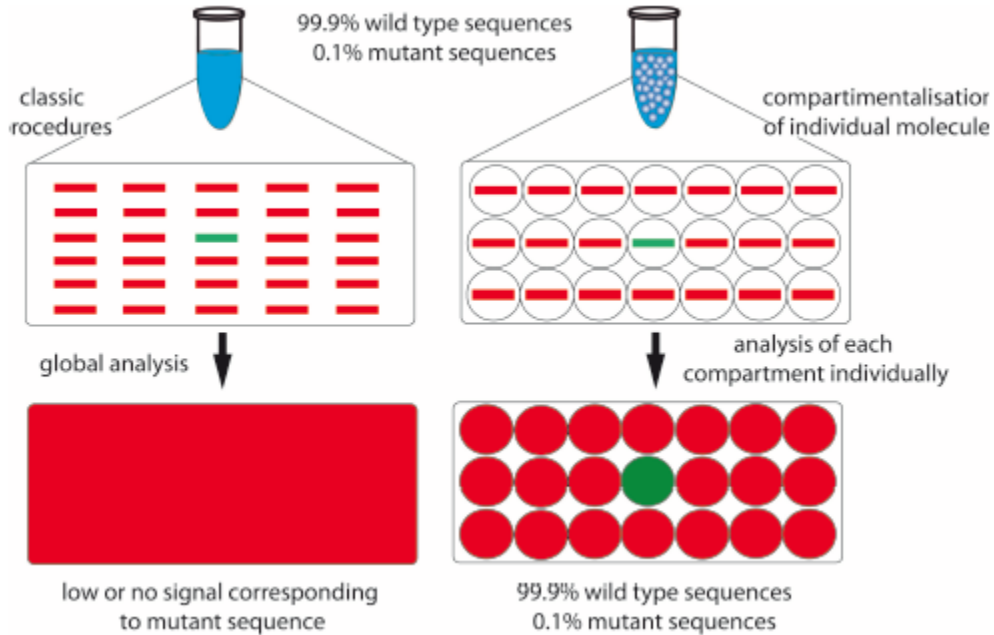
Réarrangements ou modifications
structurales spécifiques

Nombre de copies (amplification)

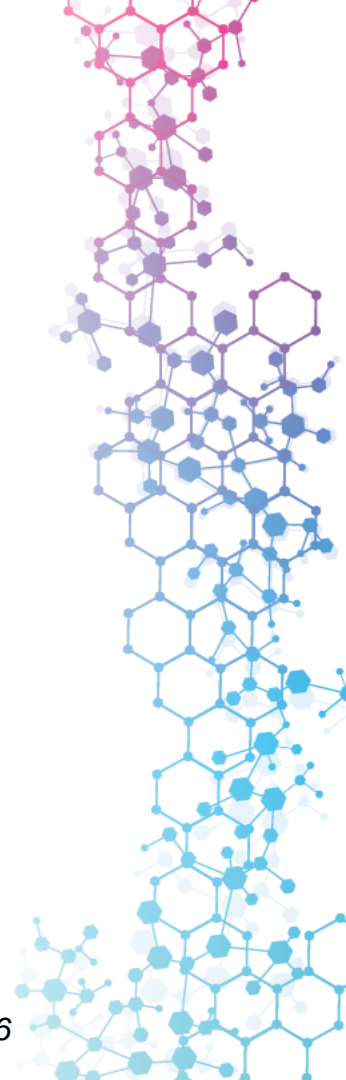
ADN méthylé

ADNtc est mélangé à l'ADN libre circulant
Altérations moléculaires spécifiques à rechercher
⇒ Techniques avec haute sensibilité
⇒ Informations sur qualité et quantité

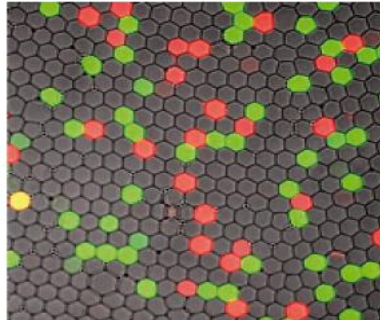
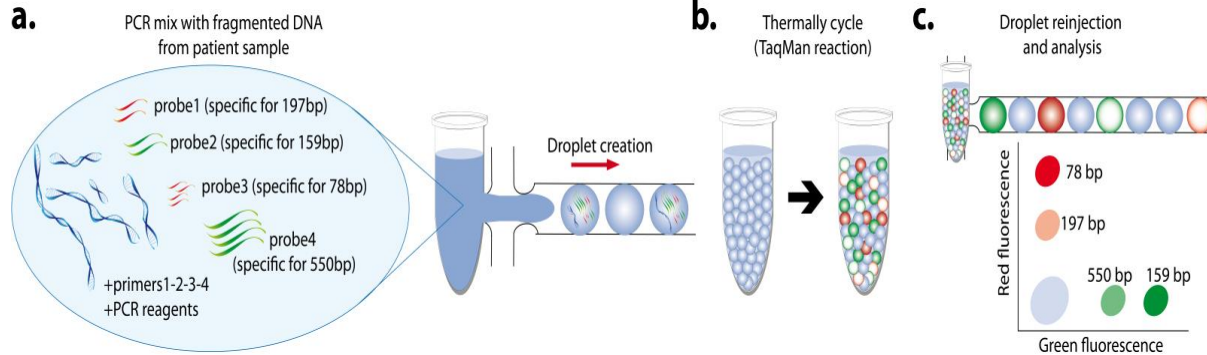
PCR Digitale



See Williams R. et al. Nature Methods 2006



PCR Digitale

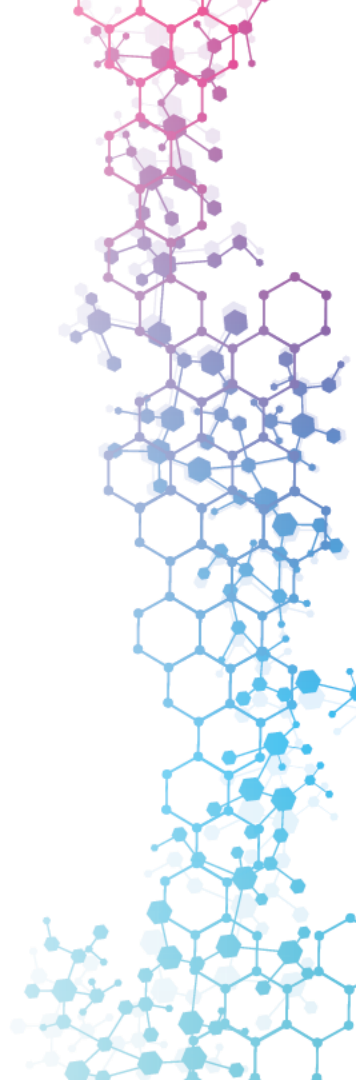


Sensibilité permettant de détecter une séquence mutée
parmi ~ 200,000 séquences non mutées

Sensibilité : 0,01%-0,001%

Next Generation Sequencing (NGS)

- Des technologies multiples : CAPP seq, Safe seq, BPER method, Circle sequencing....
- Sensibility: 0,1%
- Avantage: possibilité de « screener » un nombre élevé de gènes durant la même procédure
- Ex: Ion AmpliSeq™ Colon and Lung Cancer Research Panel v2
***KRAS**, EGFR, BRAF, PIK3CA, AKT1, ERBB2, PTEN, **NRAS**, STK11, MAP2K1, ALK, DDR2, CTNNB1, MET, **TP53**, **SMAD4**, FBXW7, FGFR3, NOTCH1, ERBB4, FGFR1, FGFR2*

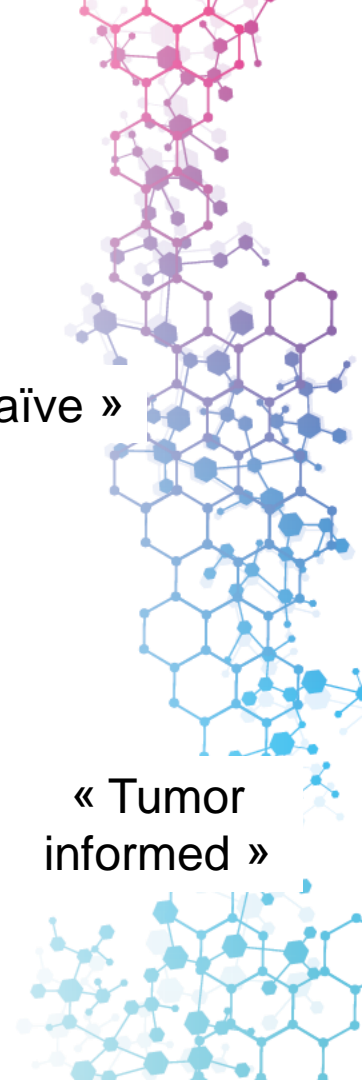


Différentes méthodologies

- ddPCR avec mutations communes (*RAS*, *BRAF*...)
 - NGS avec panel défini de mutations fréquentes
 - Biomarqueurs méthylés : *WIF1*, *NPY*
-
- Natera : whole-exome à partir du tissu tumoral => définition de 16 gènes d'intérêt pour un patient donné => NGS spécifique
 - Tie J et al : NGS 15 genes à partir du tissu tumoral => gène muté avec la MAF la + élevée sélectionné => Safe-Sequencing

« Tumor naïve »

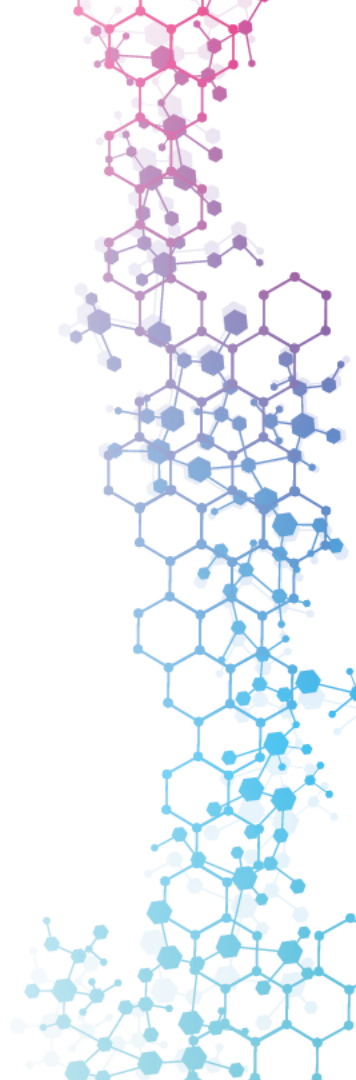
« Tumor informed »



Question ?

Demandez vous des analyses à partir de l'ADNtc actuellement ?

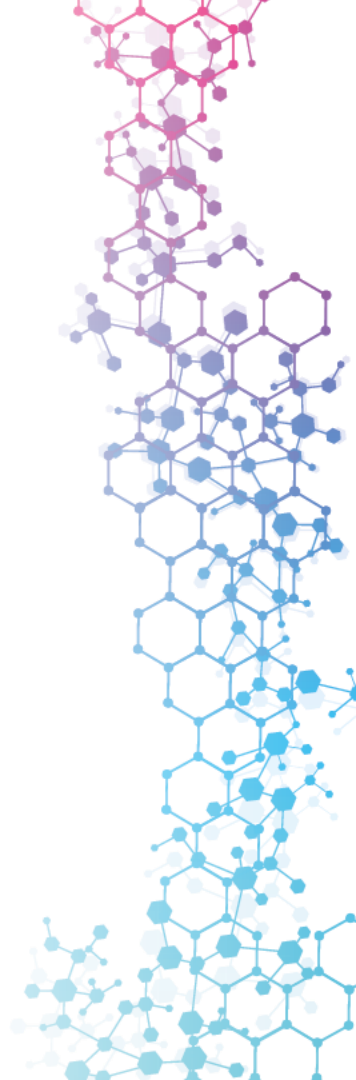
1. OUI
2. NON



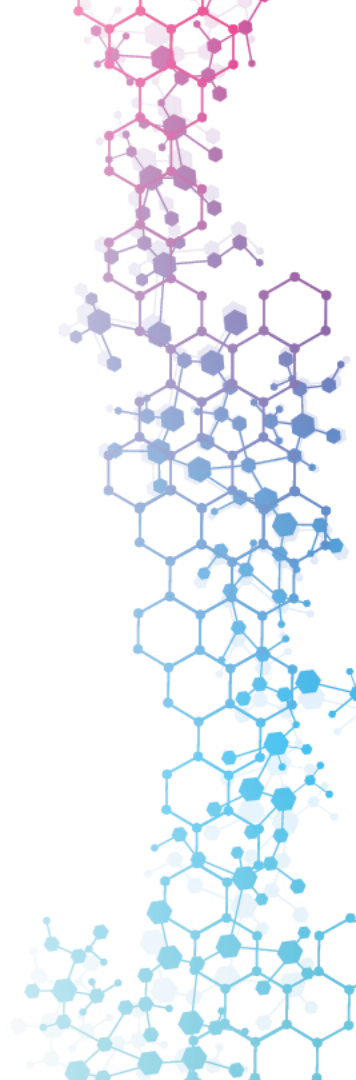
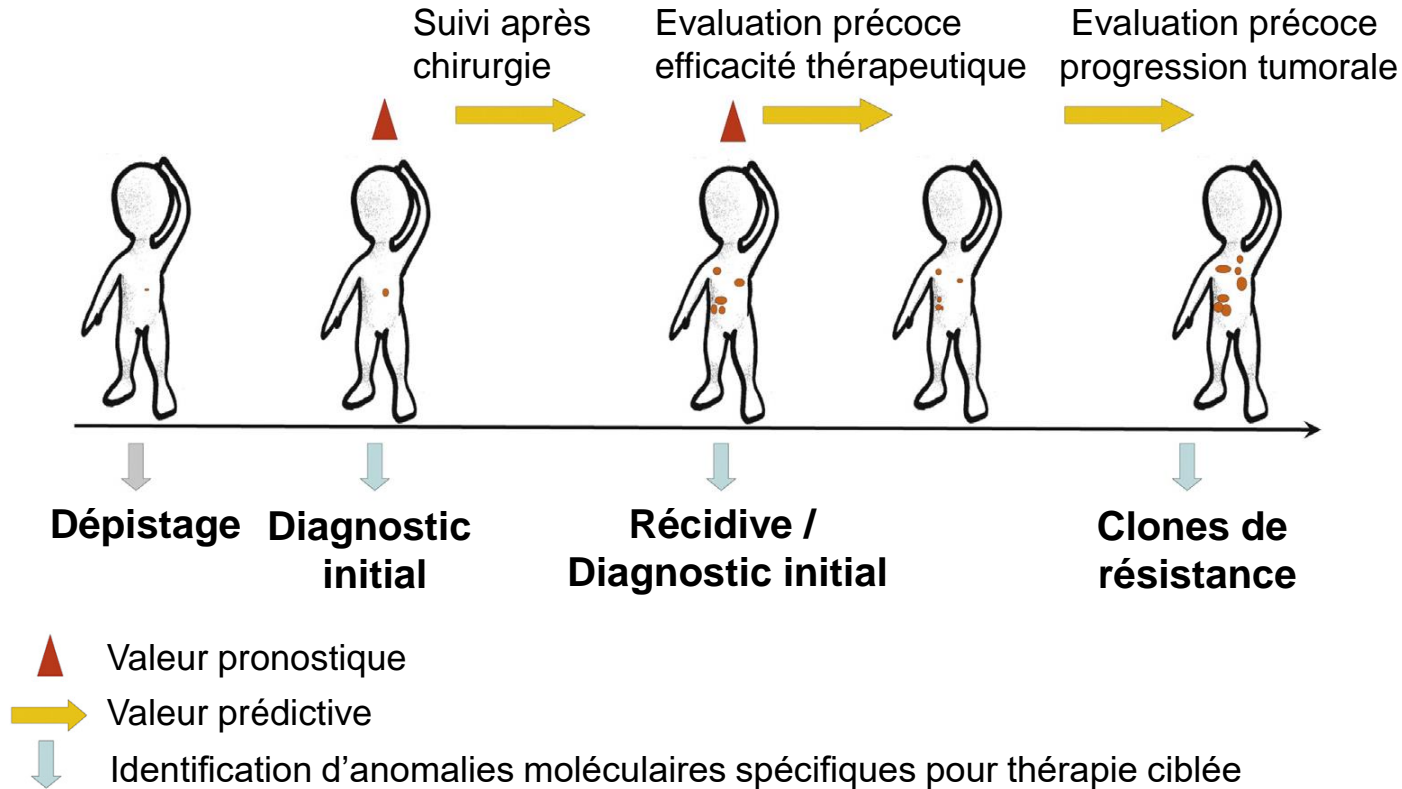
Question ?

Si oui, avec quelle méthodologie ?

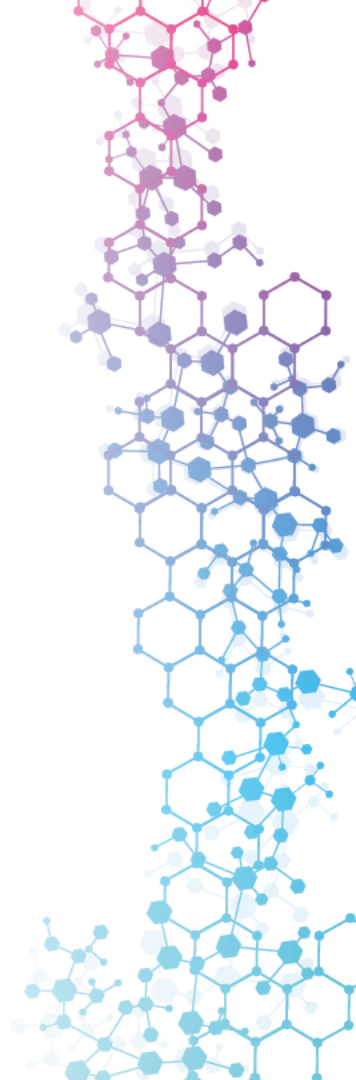
1. PCR digitale en gouttelettes
2. NGS
3. KIT commercial



Intérêts théoriques



I. Valeur pronostique en adjuvant



ADNtc et cancer colorectal localisé

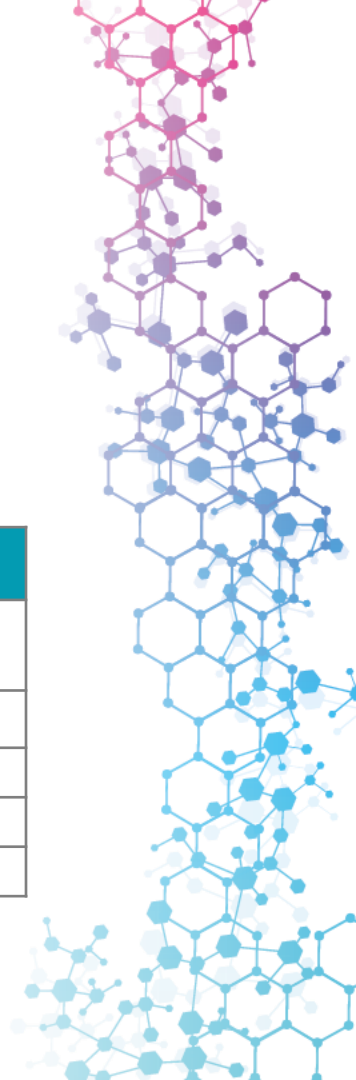
Analyse rétrospective de données de vraie vie

ADNtc par le test Signatera™ (personnalisé après analyse du tissu tumoral).

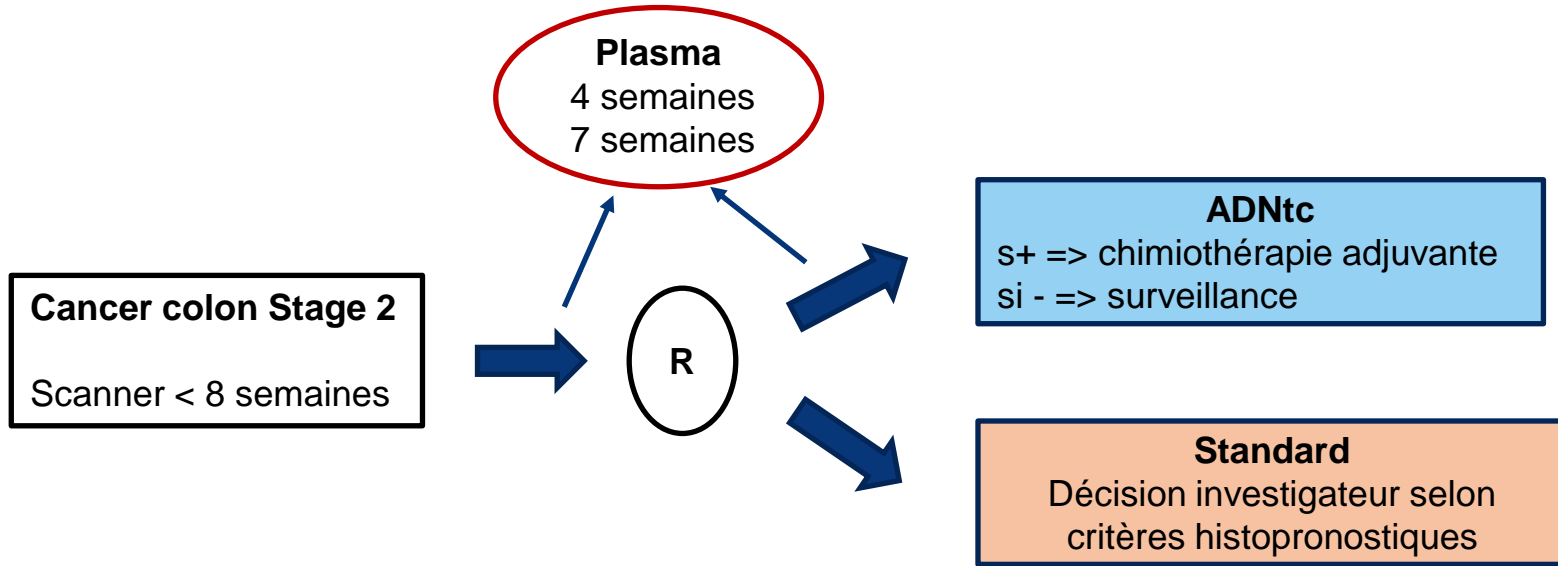
Prélèvement 2 - 8 semaines postopératoires,

Stade	Taux de détection de la maladie résiduelle par ADNtc	
	Patients avec données cliniques, (n = 154)	Cohorte totale (n = 5 454)*
Tous patients	34/154 (22,1 %)	1 108/5 454 (20,3 %)
I	1/12 (8,3 %)	56/445 (12,6 %)
II	6/45 (13,3 %)	259/2 252 (11,5 %)
III	27/97 (27,8 %)	791/2 751 (28,8 %)

Cohen S et al., ESMO 2022 abstr. 319MO



Etude DYNAMIC



Critère de jugement : taux de survie sans récidence à 2 ans

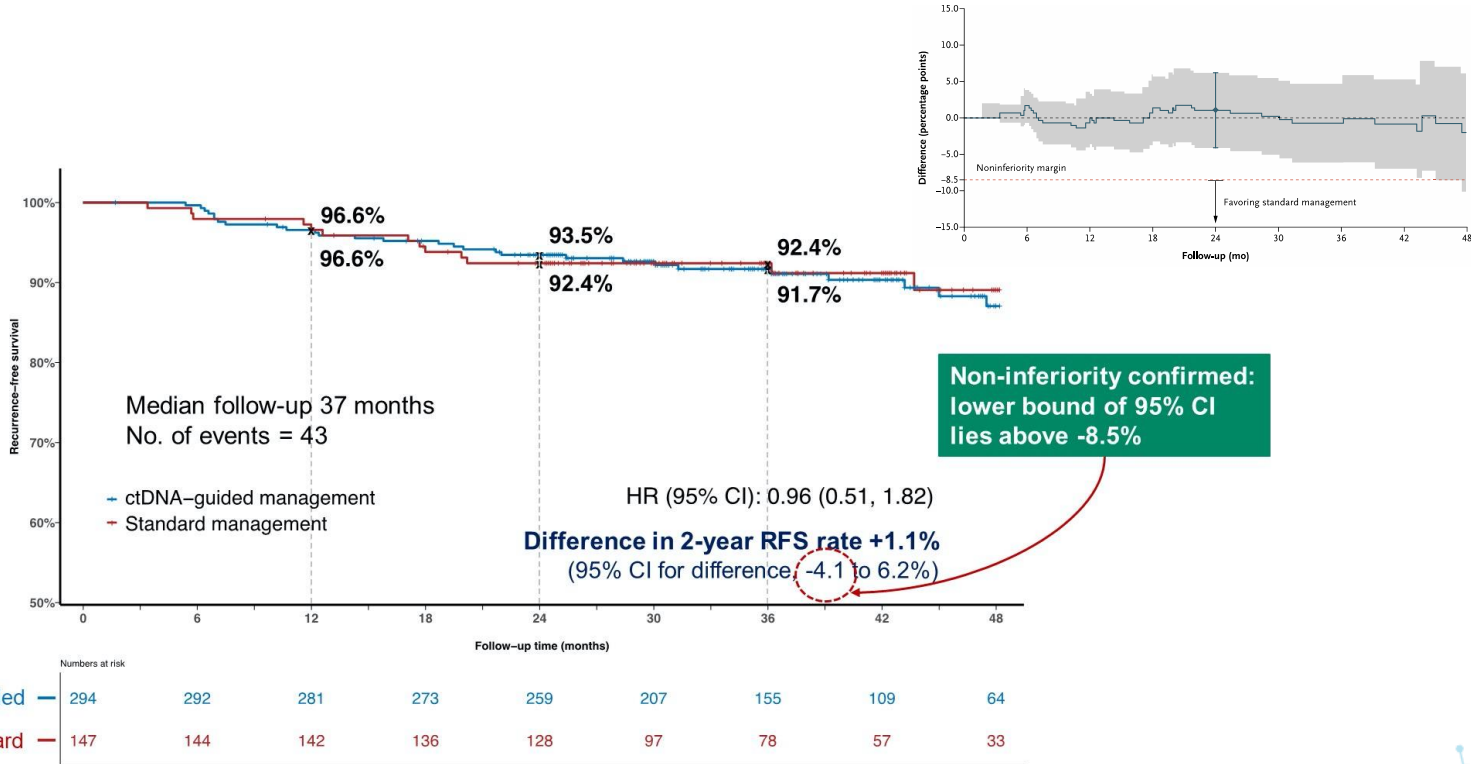
Tie J et al, NEJM 2022

Etude DYNAMIC

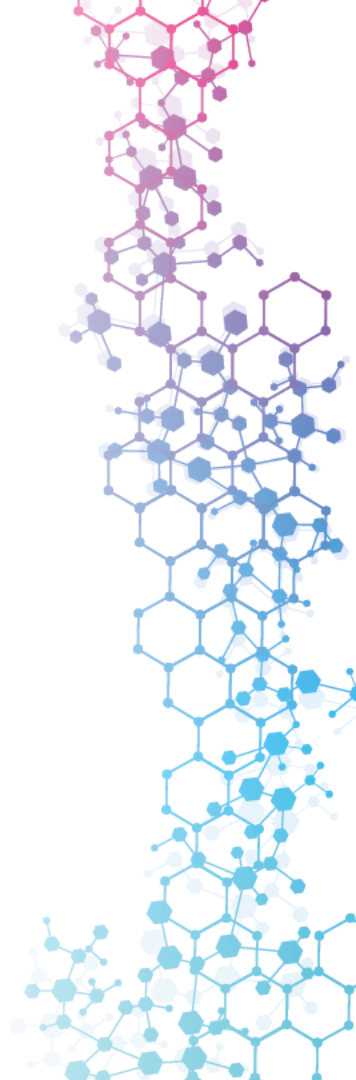
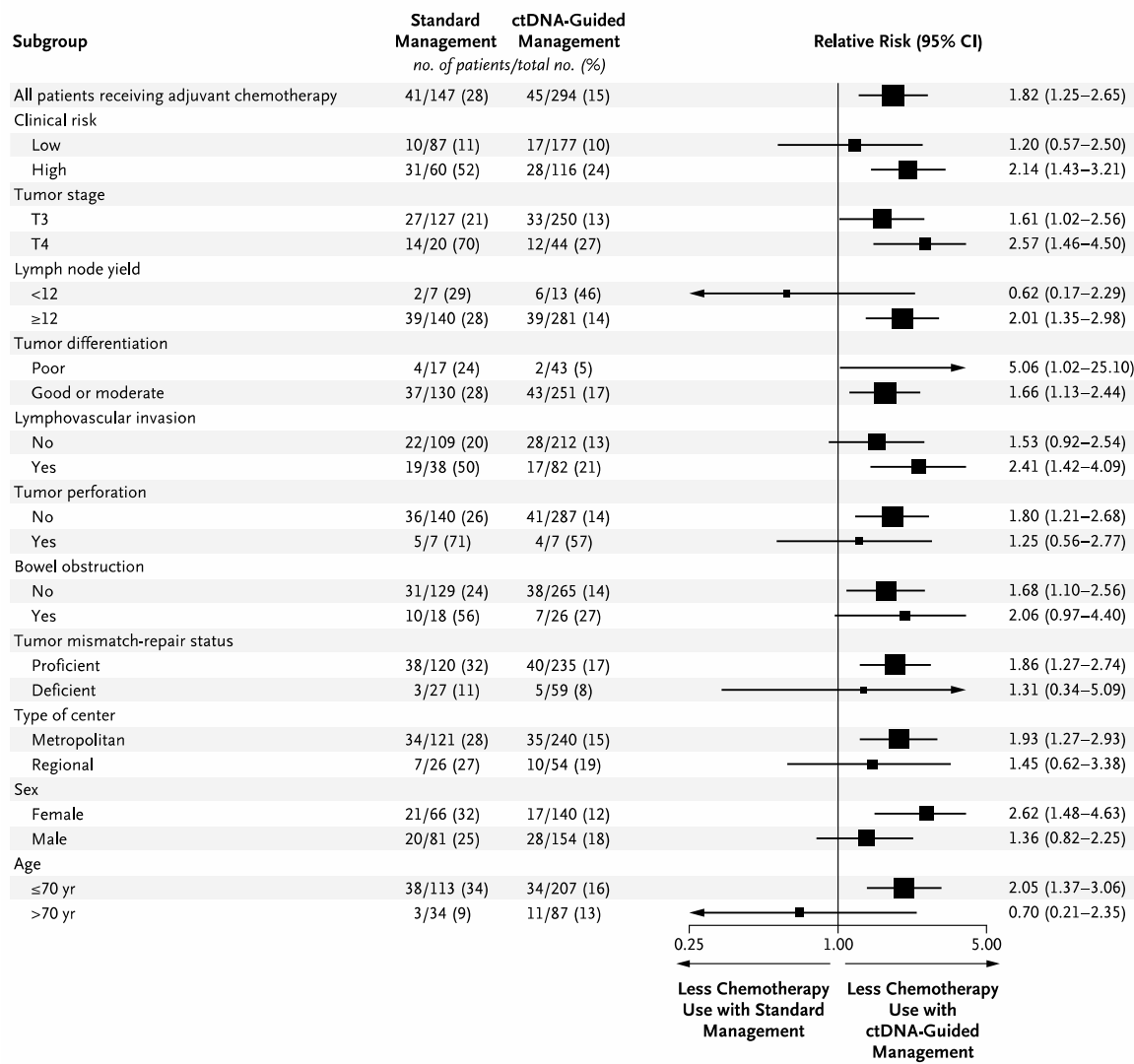
	ADNtc n=294	Standard n=147	Valeur de p
Chimiothérapie adjuvante	45 (15%)	41 (28%)	0,0017
Type			
Oxaliplatine + Fluoropyrimidine	62%	10%	<0,0001
Fluoropyrimidine seule	38%	90%	
Délai chirurgie – chimio adj (jours)	83	53	<0,0001

Tie J et al, NEJM 2022

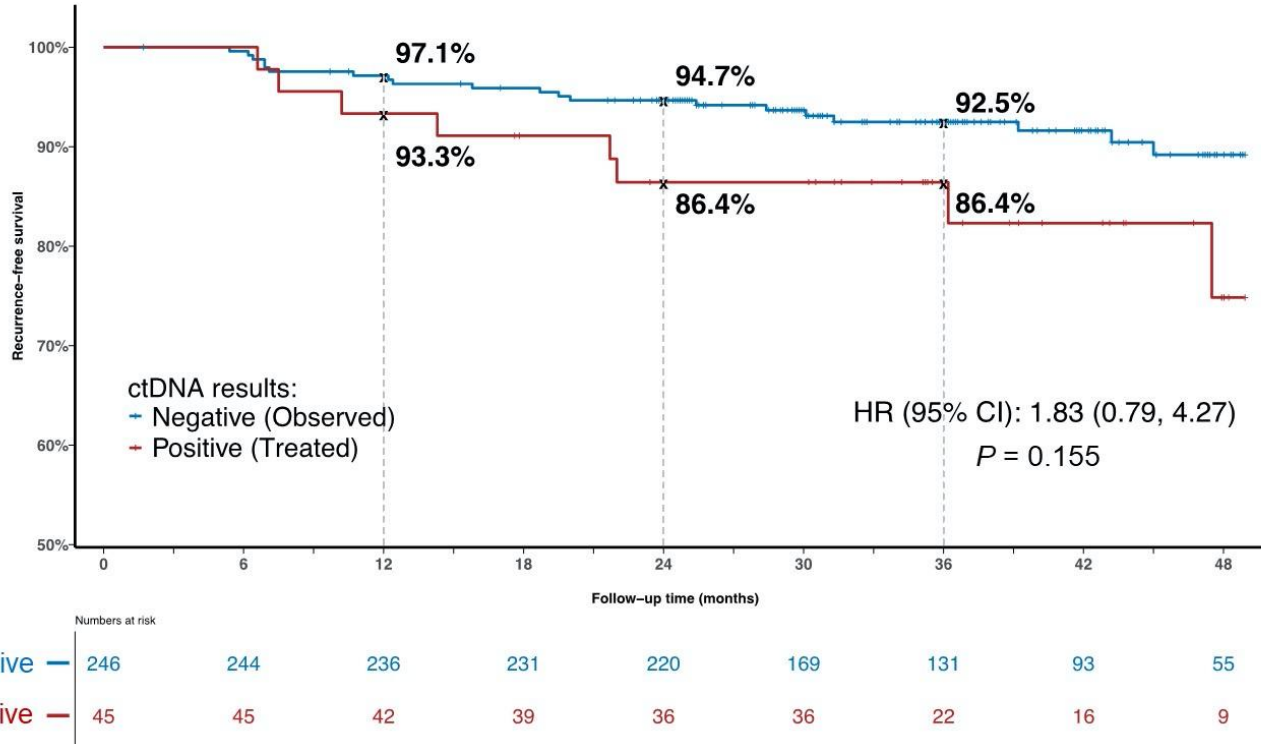
Survie sans récurrence



Tie J et al, NEJM 2022



Valeur pronostique ADNtc



ctDNA-Negative

246

244

236

231

220

169

131

93

55

ctDNA-Positive

45

45

42

39

36

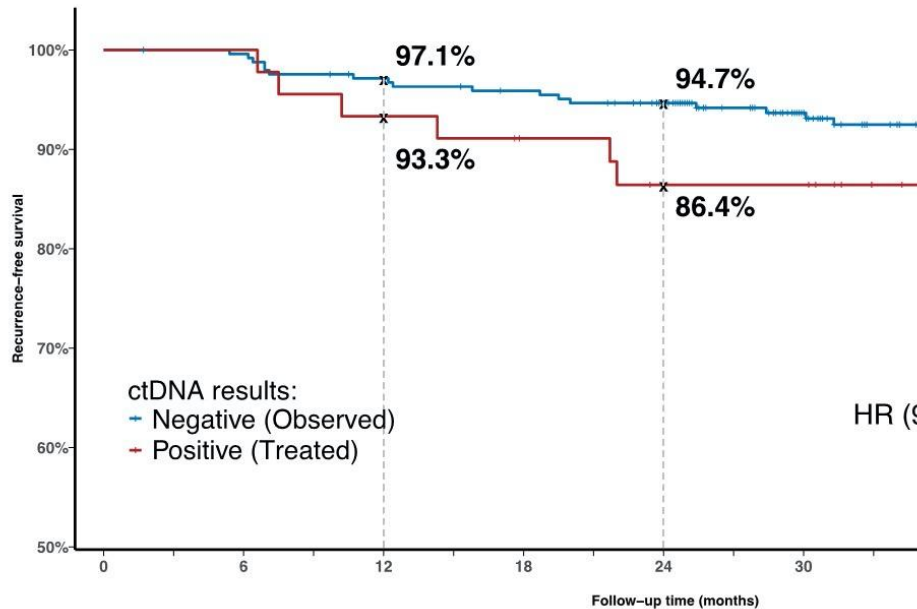
36

22

16

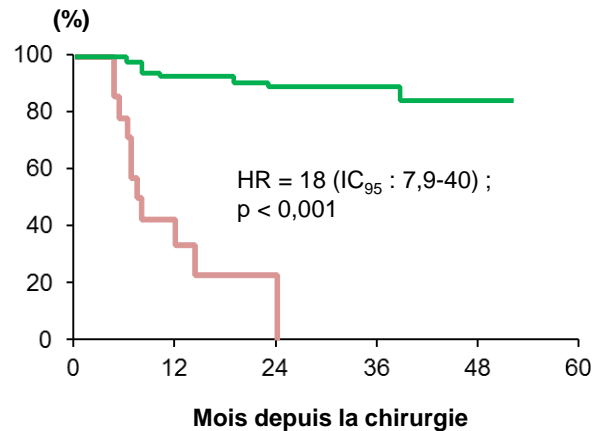
9

Valeur pronostique ADNtc



	0	6	12	18	24	30	36
ctDNA-Negative	246	244	236	231	220	210	169
ctDNA-Positive	45	45	42	39	36	36	36

Survie sans récurrence



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

Tie J et al, *Sci Transl Med* 2016
 Tie J et al, *Int J Cancer* 2020

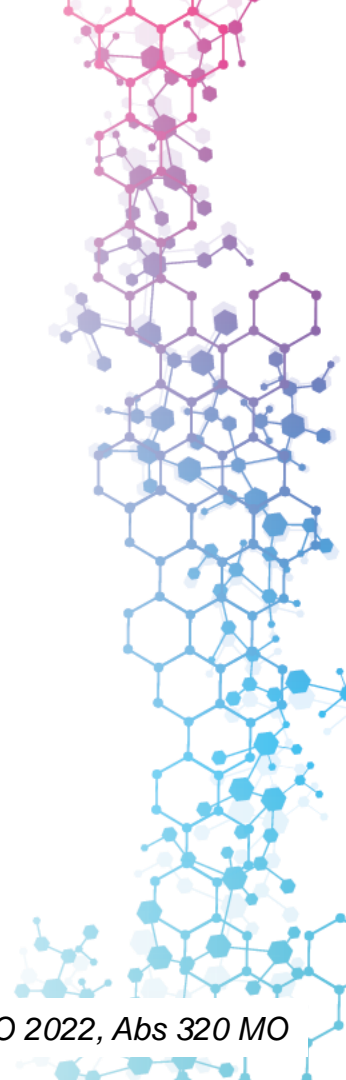


Bras ADNtc – analyses exploratoires

- 294 patients
- **23 rechutes :**
 - 15 à distance +/- locorégionales dont 8 (53%) ADNtc+
 - 8 locorégionales, tous ADNtc-
 - => 75% des récurrences ADNtc-
- **Selon ADNtc :**
 - ADNtc+ : 18% de récurrences à distance (8/45)
 - ADNtc- : 6% de récurrences (15/239)
(3% à distance et 3% locorégionales)

Locorégionales = péritoine, pelvis, anastomose, adénopathies régionales

Tie J et al, ESMO 2022, Abs 320 MO



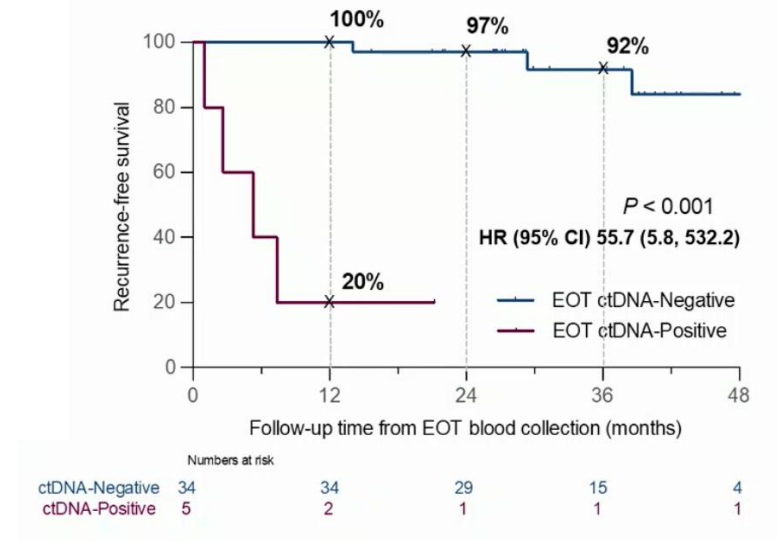
Bras ADNtc – analyses exploratoires



- **Après CT adjuvante**

- Très bonne valeur pronostique de l'ADNtc indétectable
- Très bonne valeur prédictive de la négatation après CT adjuvante

Survie sans progression selon la détection de l'ADNtc à la fin de la CT adjuvante

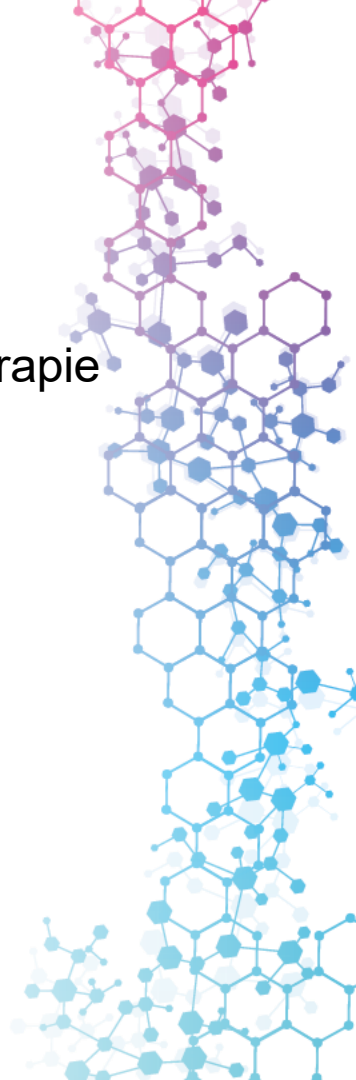


Locorégionales = péritoine, pelvis, anastomose, adénopathies régionales

Tie J et al, ESMO 2022, Abs 320 MO

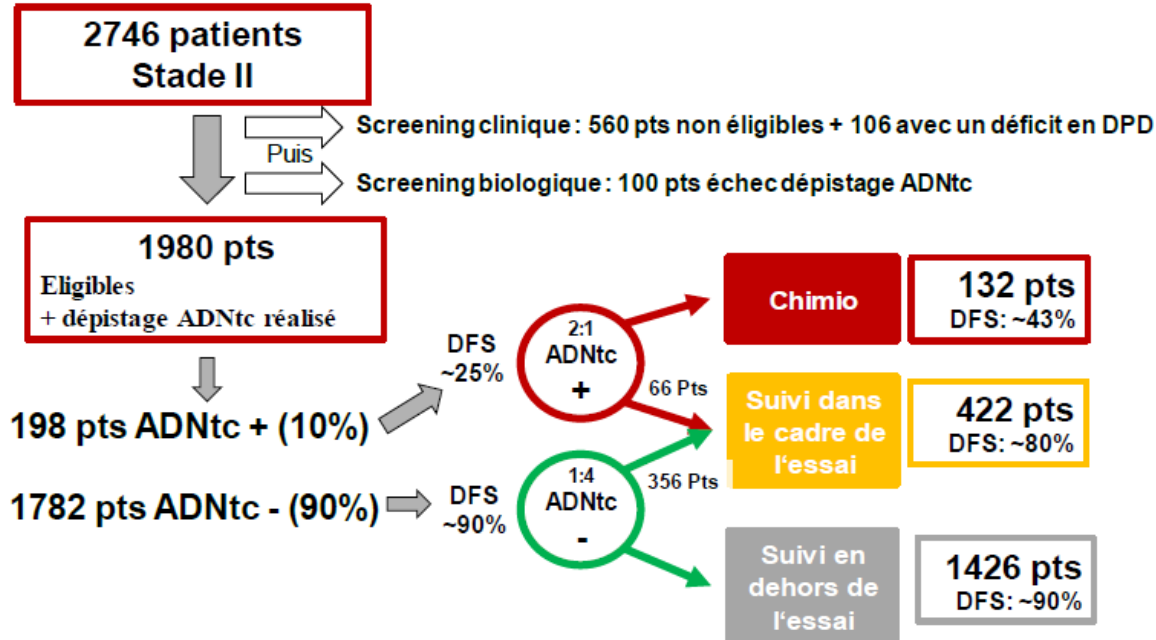
Etude DYNAMIC - Conclusion

- Validation prospective de l'ADNtc pour l'indication de la chimiothérapie adjuvante des cancers du côlon de stade 2
 - Réduit de moitié le nombre de patients traités
 - Survie sans récurrence non impactée
- Bénéfice de la chimiothérapie adjuvante ?
 - suggéré par le taux élevé de la SSR à 3 ans

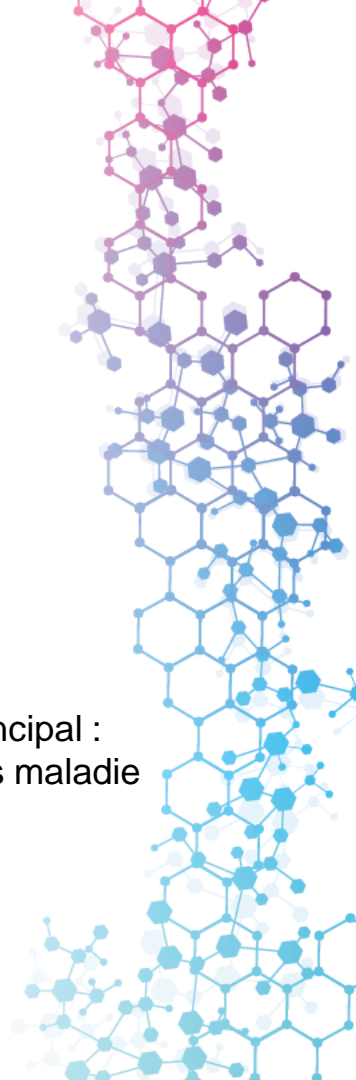


CIRCULATE – PRODIGE 70

Phase III randomisée multicentrique

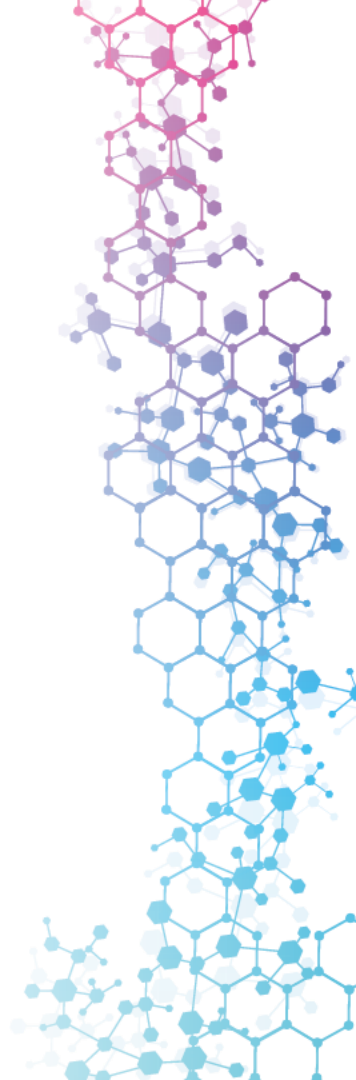


Objectif principal :
Survie sans maladie



II. Diagnostic moléculaire initial

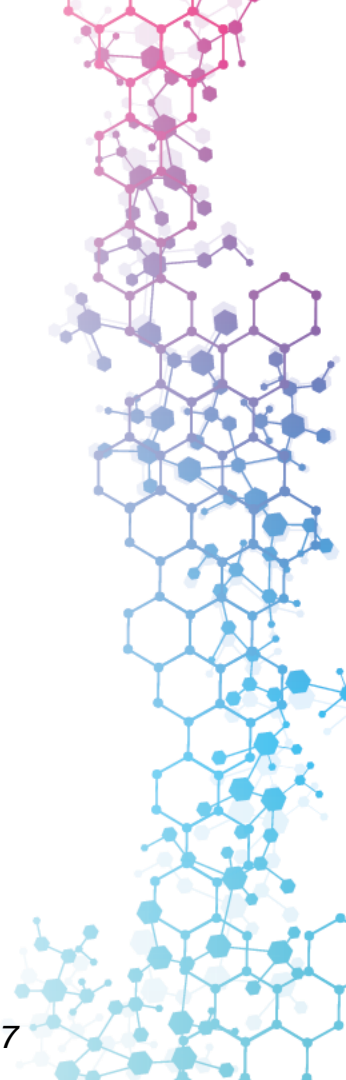
Intérêt Théranostique



Spécificité - Sensibilité

- Spécificité très élevée, proche de 100%
absence d'anomalies moléculaires chez les patients sains
problème de l'hématopoïèse !
- Sensibilité variable, dépendante de nombreux facteurs :
stade de la maladie, « agressivité de la maladie », grade de
différenciation....

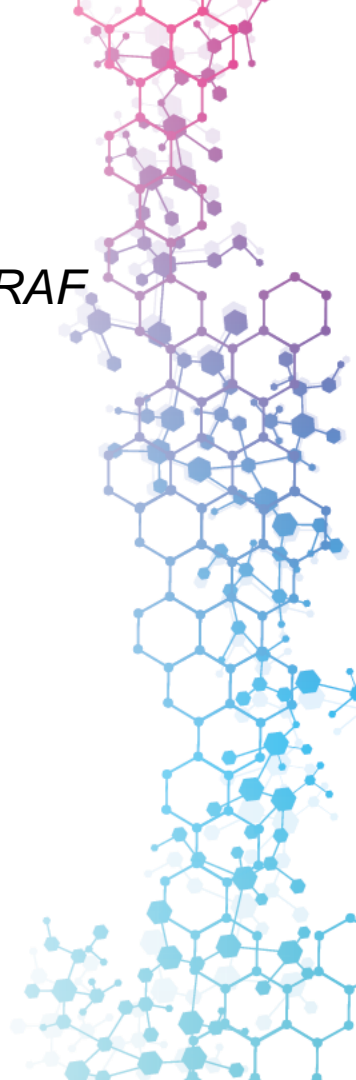
Bettegowda C, et al. Sci Transl Med 2014
Pietrasz D, et al. Bull Cancer 2016
Siravegna G et al, Nat Rev Clin Oncol 2017



Applications cliniques potentielles

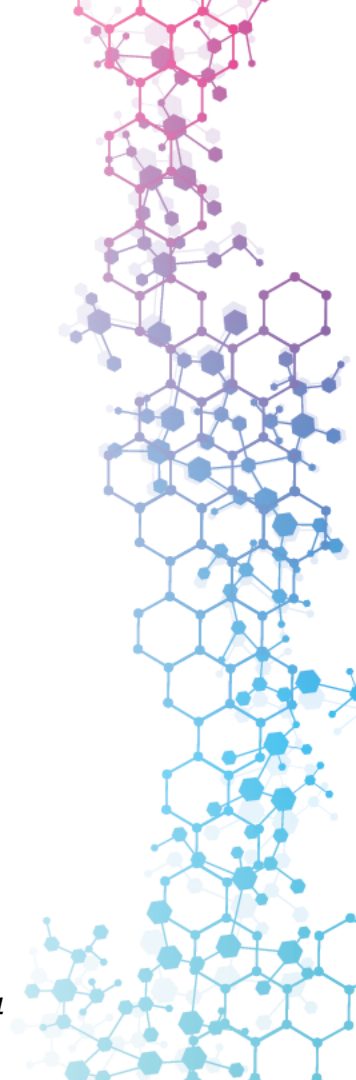
- Cancer colorectal métastatique : détermination du statut *RAS/BRAF*
=> indication des traitements anti-EGFR
 - nécessité de concordance très élevée
 - valeur prédictive négative \neq mutations EGFR cancer poumon

Ex : Kplex 1 et 2, RASANC



Kplex 1

- 106 patients avec cancer colorectal métastatique
 - ⇒ 11 exclus
(pas de statut *RAS* n=3; Vol plasma < 2 ml n=3; ADNcf < 5 ng/ml n=5)
 - ⇒ 95 inclus
- Méthode Intplex®,
KRAS exon 2
Sensibilité de 0,01 à 0,004%
Seuil défini à 0,5% pour la fréquence de mutation allélique



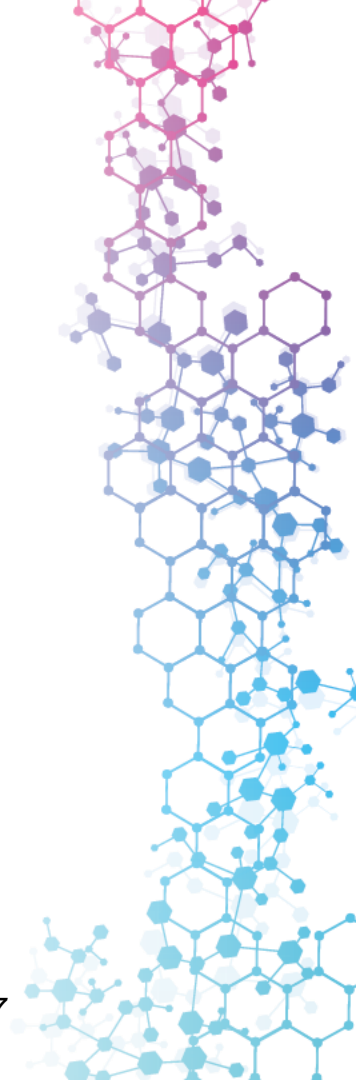
Concordance ADNtc vs tissu

Tumor-tissue analysis						
	<i>KRAS</i>	Mutant	WT	Sensitivity	Specificity	Accuracy
cfDNA analysis	Mutant	36	1	92%	98%	96%
	WT	3	55			
	Total	39	56			
	<i>BRAF</i>	Mutant	WT	Sensitivity	Specificity	Accuracy
cfDNA analysis	Mutant	5	0	100%	100%	100%
	WT	0	90			
	Total	5	90			
	All mutations	Mutant	WT	Sensitivity	Specificity	Accuracy
cfDNA analysis	Mutant	41	1	93%	98%	96%
	WT	3	50			
	Total	44	51			

KRAS indicates codon 12 and 13 mutations; *BRAF* indicates V600E mutation.

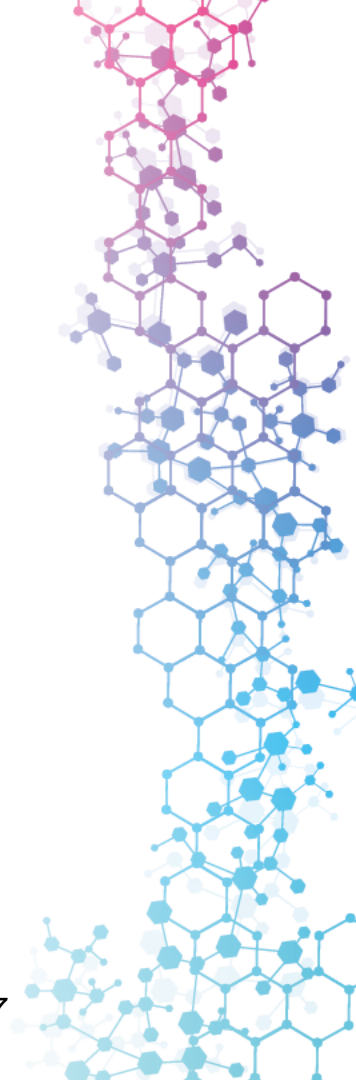
Kplex 2

- 140 patients avec cancer colorectal métastatique
⇒ 19 exclus
(pas de statut *RAS* n=6; Vol plasma < 2 ml n=5; ADNcf < 5 ng/ml n=3)
⇒ 121 inclus
- Méthode Intplex®,
KRAS, *NRAS*, *BRAF*
Sensibilité > 0,005%
Pas de seuil défini pour la fréquence de mutation allélique



Kplex 2

ADNtc		Tissu		Sensibilit é	Spécificité	Accuracy
		Mutant	WT			
<i>KRAS</i> exon 2 n=121	Mutant	45	26	85%	62%	72%
	WT	8	42			
	total	53	68			
<i>KRAS</i> exon 2-3 n=34	Mutant	5	8	83%	71%	74%
	WT	1	20			
	total	6	28			
<i>NRAS</i> exon 2-3 n=34	Mutant	2	2	67%	94%	92%
	WT	1	29			
	total	3	31			
<i>BRAF</i> V600E n=97	Mutant	4	10	57%	89%	87%
	WT	3	80			
	Total	7	90			

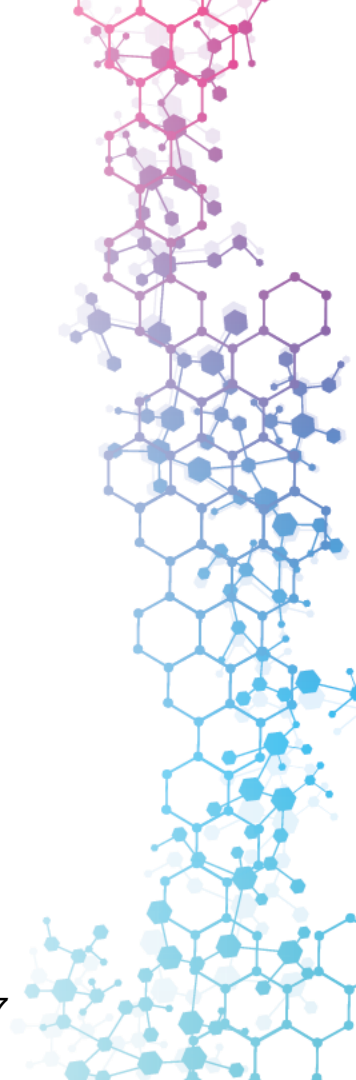


Kplex 2

ADNtc		Tissu		Sensibilit é	Spécificité	Accuracy
		Mutant	WT			
<i>KRAS</i> exon 2 n=121	Mutant	45	26	85%	62%	72%
	WT	8	42			
	total	53	68			
<i>KRAS</i> exon 2-3 n=34	Mutant	5	8	83%	71%	74%
	WT	1	20			
	total	6	28			
<i>NRAS</i> exon 2-3 n=34	Mutant	2	2	67%	94%	92%
	WT	1	29			
	total	3	31			
<i>BRAF</i> V600E n=97	Mutant	4	10	57%	89%	87%
	WT	3	80			
	Total	7	90			

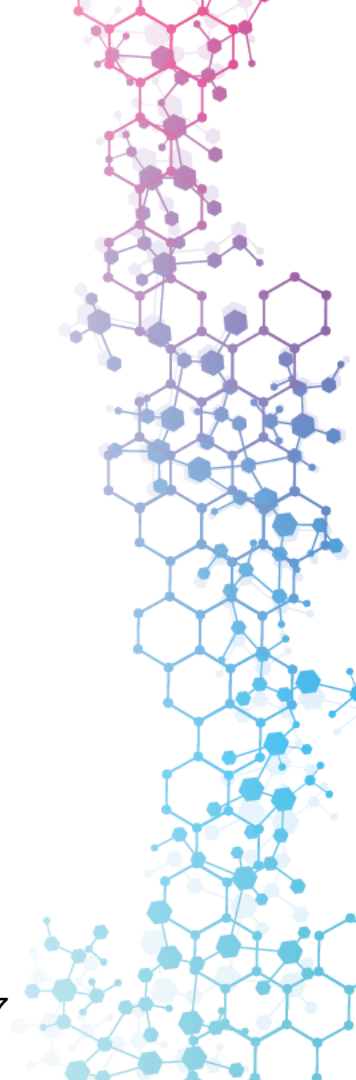
12 Faux Négatifs (10%)

Thierry AR et al, Ann Oncol 2017



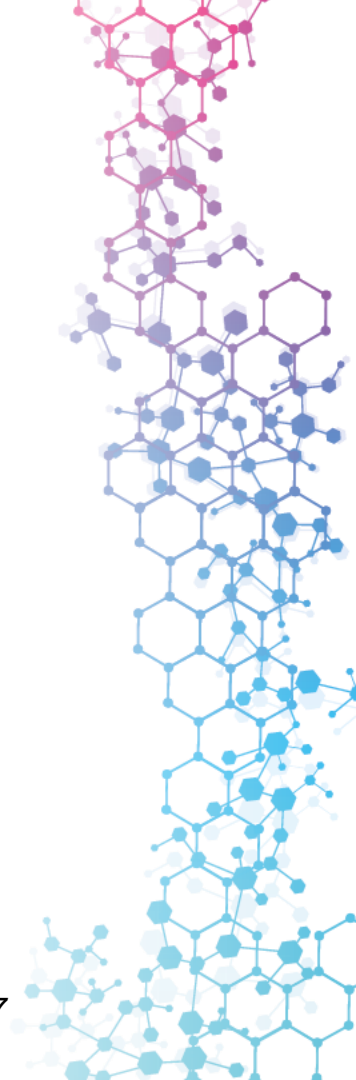
Kplex 2

Nombre de mutations identifiées (n=119)	Pas de seuil de FMA	Seuil 0,1%	Seuil 0,5%
Pas de mutation	28 (24%)	32 (27%)	43 (43%)
Une mutation	38 (31%)	40 (33%)	44 (38%)
> 2 mutations	53 (45%)	47 (40%)	31 (26%)

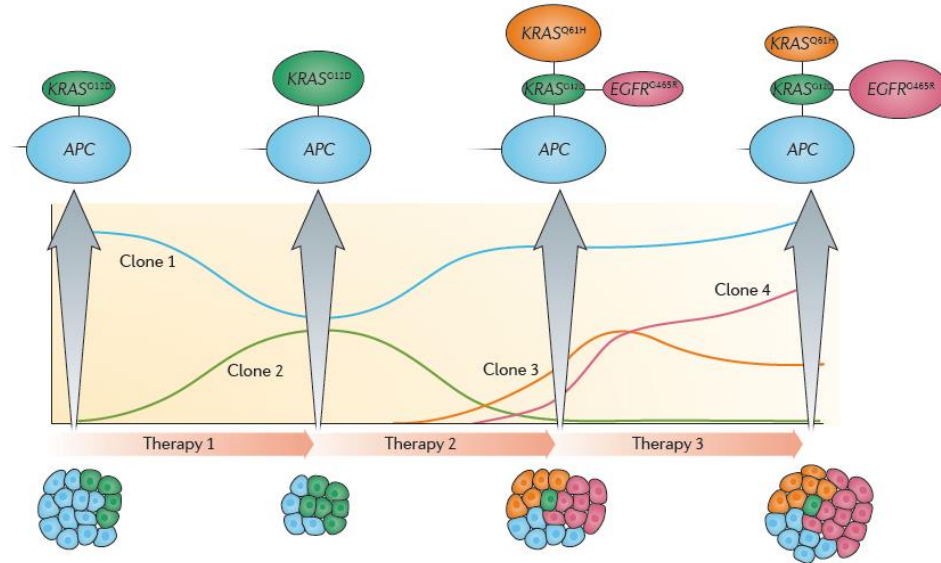


Kplex 2

Nombre de mutations identifiées (n=119)	Pas de seuil de FMA	Seuil 0,1%	Seuil 0,5%
Pas de mutation	28 (24%)	32 (27%)	43 (43%)
Une mutation	38 (31%)	40 (33%)	44 (38%)
> 2 mutations	53 (45%)	47 (40%)	31 (26%)
Mutations multiples			
<i>KRAS</i> multiples	16 (13%)	17 (14%)	20 (17%)
<i>KRAS</i> + <i>NRAS</i>	24 (20%)	21 (18%)	8 (7%)
<i>KRAS</i> + <i>BRAF</i>	6 (5%)	7 (6%)	2 (2%)
<i>NRAS</i> + <i>BRAF</i>	1	-	-
<i>KRAS</i> + <i>NRAS</i> + <i>BRAF</i>	6 (5%)	2 (2%)	1



Evolution clonale et pression de sélection



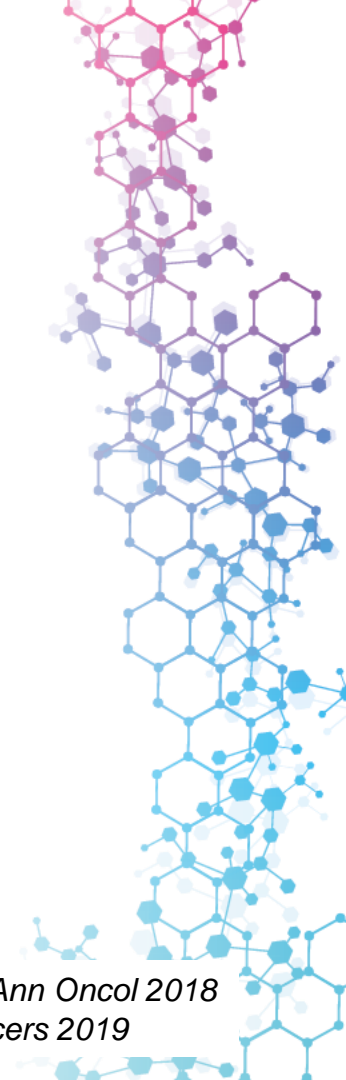
Kplex 2

Nombre de mutations identifiées (n=119)	Pas de seuil de FMA	Seuil 0,1%	Seuil 0,5%
Pas de mutation	28 (24%)	32 (27%)	43 (43%)
Une mutation	38 (31%)	40 (33%)	44 (38%)
> 2 mutations	53 (45%)	47 (40%)	31 (26%)
Mutations multiples			
<i>KRAS</i> multiples	8 (7%)	10 (8%)	11 (9%)
<i>KRAS</i> + <i>NRAS</i>	24 (20%)	24 (20%)	24 (20%)
<i>KRAS</i> + <i>BRAF</i>	6 (5%)	6 (5%)	6 (5%)
<i>NRAS</i> + <i>BRAF</i>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>KRAS</i> + <i>NRAS</i> + <i>BRAF</i>	6 (5%)	2 (2%)	0 (0%)

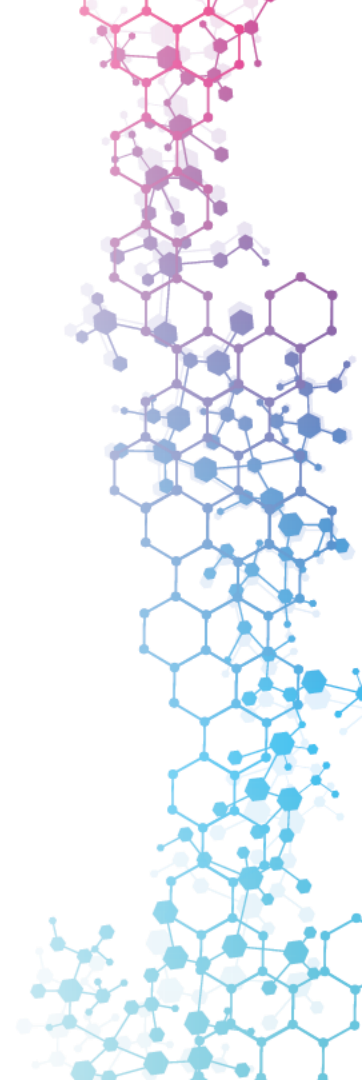
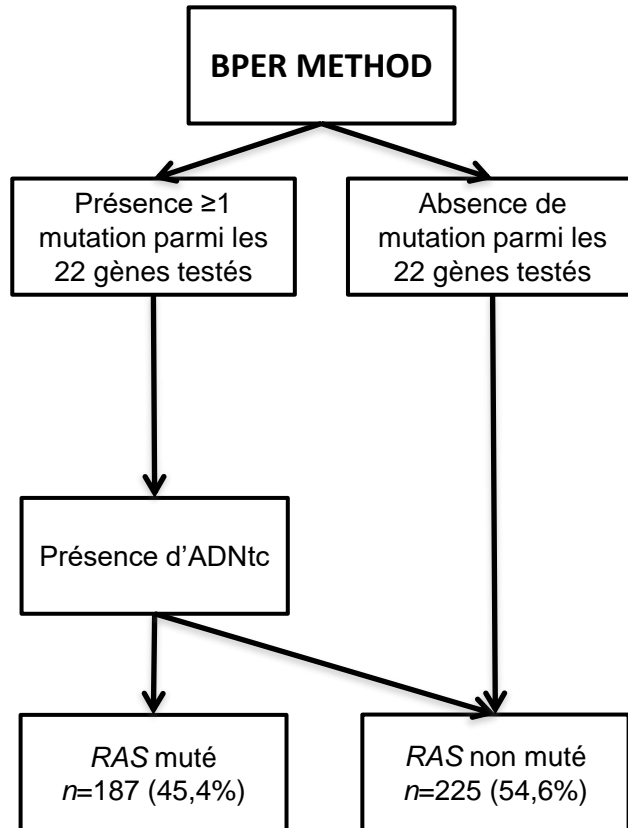
33 patients (28%) non naïfs de chimiothérapie mais aucun exposé à des Ac anti-EGFR
FAUX POSITIFS ?

RASANC

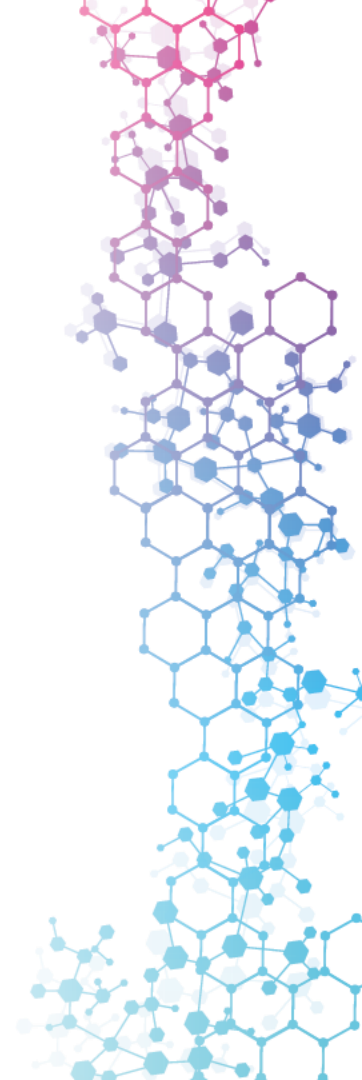
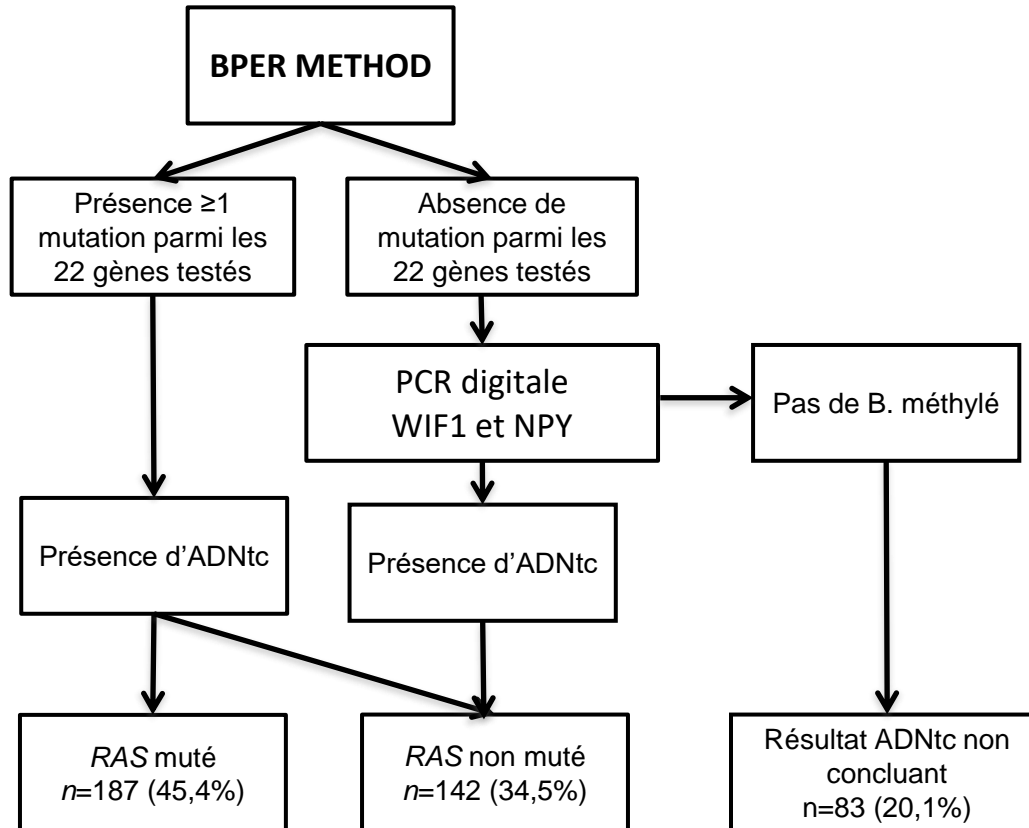
- Etude prospective multicentrique de concordance (14 centres Français, AGEO)
- Inclusion : patients avec un cancer colorectal métastatique naïf de chimiothérapie (délai > 12 mois si chimio adjuvante)
- Hypothèses statistiques prospectives :
score Kappa 0,7 (IC 95% : 0,63-0,77)
405 patients avec données tissu et ADNtc à inclure



RASANC - NGS



RASANC – NGS + B. méthylés



Résultats

Analyse NGS seule :

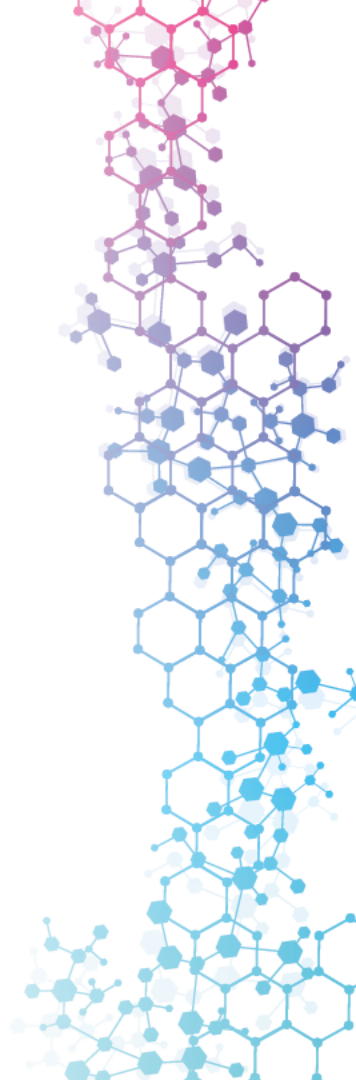
Kappa coefficient: 0,71 (IC 95% : 0,64-0,77) ;

Concordance : 85,2% ; Sensibilité : 76,0% ; Spécificité : 98,2%

Analyse NGS + Biomarqueurs méthylés :

Kappa coefficient: 0,89 (IC 95% : 0,84-0,94) ;

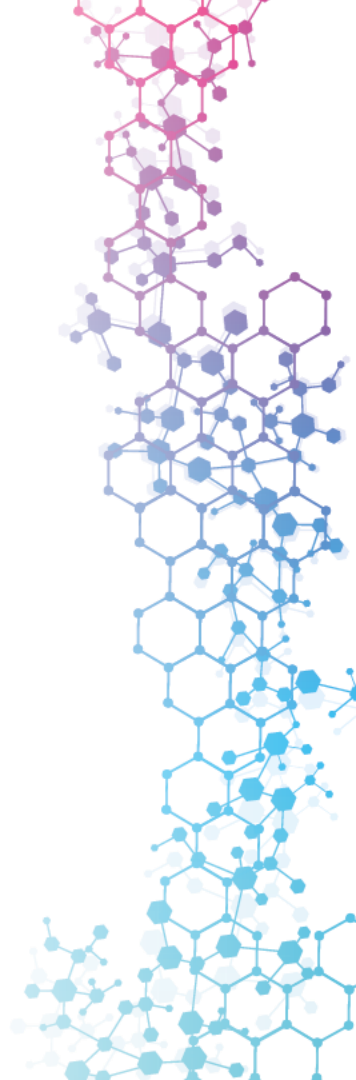
Concordance : 94,8% ; Sensibilité : 92,9% ; Spécificité : 97,7%



Caractéristiques clinico-biologiques associées à la présence d'ADNtc

Critères avec significativité $p < 0,01$

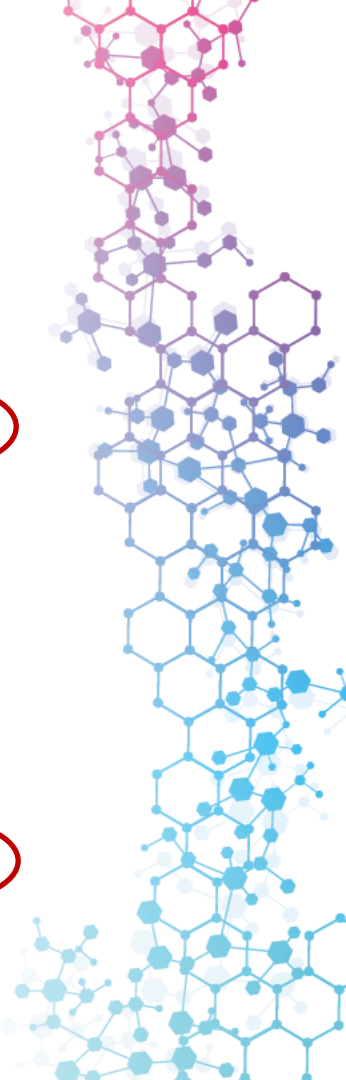
- Cliniques :
 - tumeur primitive en place (synchrone),
 - métastases hépatiques,
 - absence de carcinose
- Biologiques :
 - taux d'albumine,
 - LDH,
 - Phosphatases alcalines,
 - ACE
 - Ca 19-9



Résultats selon critères cliniques

Population totale (n=412, 100%)				
		Tumeur primitive réséquée		
		Yes n=215	No n=197	All n=412
Méta hépatique	Yes n=293	n=127 Accuracy= 95.3%	n=166 Accuracy= 92.2%	n=293 Accuracy= 93.5%
	No n=119	n=88 Accuracy=64.8%	n=31 Accuracy=64.5%	n=119 Accuracy=64.7%
	All n=412	n=215 Accuracy=82.8%	n=197 Accuracy=87.8%	n=412 Accuracy=85.2%

Patients avec résultat ADNtc concluant (n=329, 80%)				
		Tumeur primitive réséquée		
		Yes n=152	No n=177	All n=329
Méta hépatique	Yes n=269	n=112 Accuracy= 98.2%	n=157 Accuracy= 96.2%	n=269 Accuracy= 97.0%
	No n=60	n=40 Accuracy=85.0%	n=20 Accuracy=85.0%	n=60 Accuracy=85.0%
	All n=329	n=152 Accuracy= 94.7%	n=177 Accuracy= 94.9%	n=329 Accuracy= 94.8%



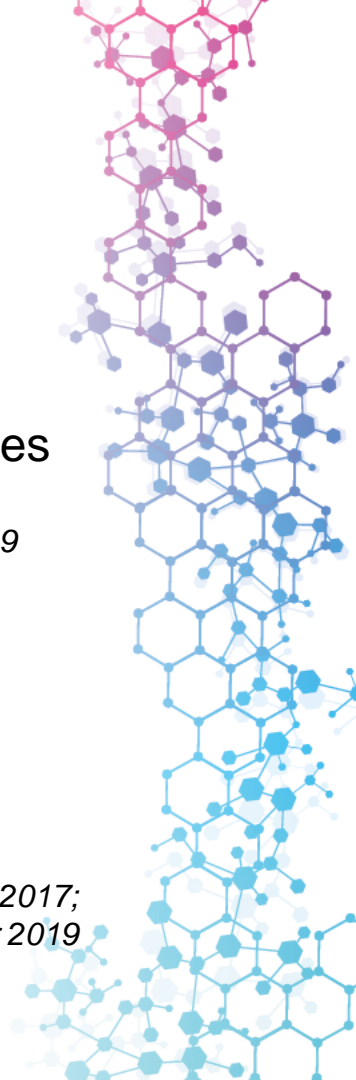
Conclusion

- RASANC : validation prospective en cas de métastases hépatiques

Bachet JB et al, Ann Oncol 2018 ; Mas L et al, Cancers 2019

- Données préliminaires rapportant une efficacité identique des Ac anti-EGFR

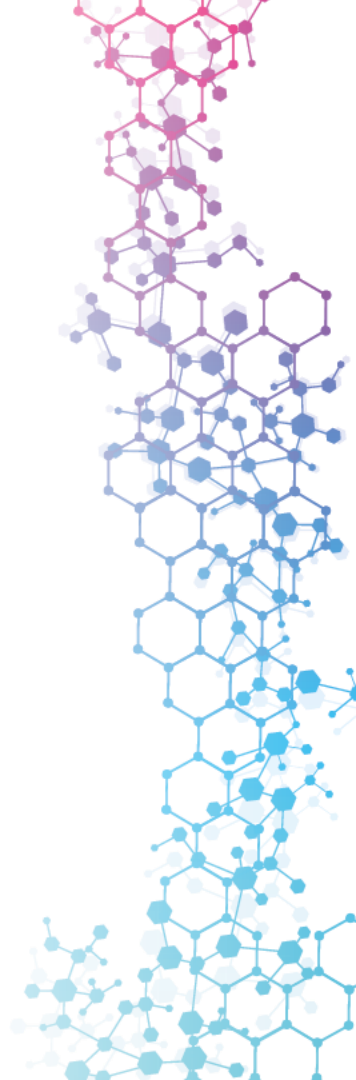
*Thierry et al, Nat Med 2014; Grasselli et al, Ann Oncol 2017;
Vidal et al, Ann Oncol 2017; Bando et al, Br J Cancer 2019*



Question ?

Avez-vous des demandes d'identification d'anomalies moléculaires à visée théranostique chez les patients avec un cancer colorectal métastatique?

1. OUI
2. NON



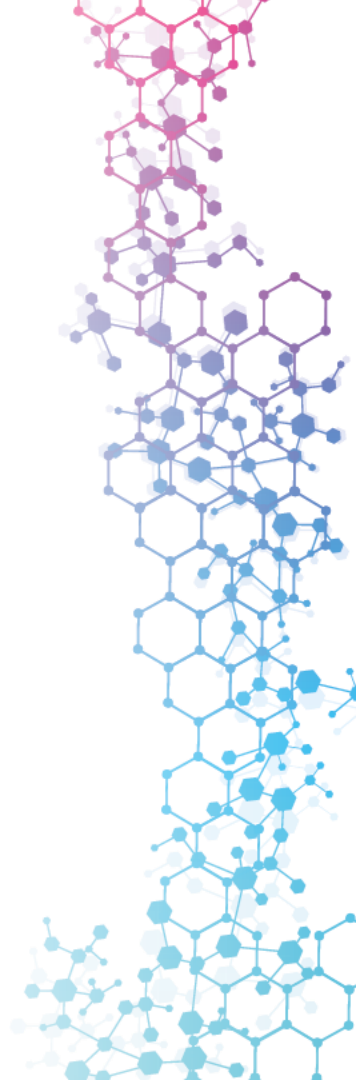


Recommandations INCA 2022

S'il n'y a pas de matériel tumoral disponible et/ou si le délai de rendu des résultats moléculaires escompté est supérieur à 21 jours et uniquement si le patient nécessite une mise sous traitement rapide, une recherche des mutations *RAS* et *BRAF* par l'analyse de l'ADNtc peut être réalisée dans un centre expert qui a développé et validé une des techniques d'analyse.

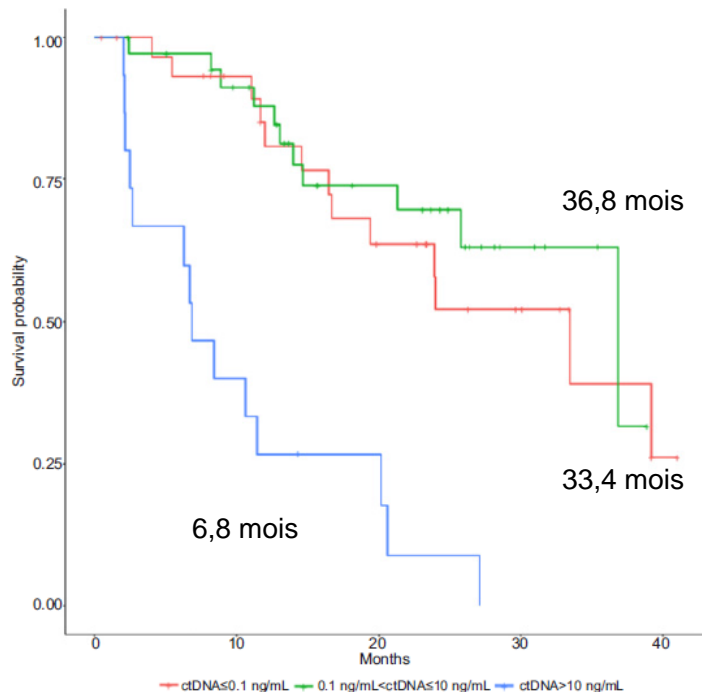
Si la présence d'ADNtc n'est pas confirmée dans l'échantillon ou s'il n'y a pas de métastases hépatiques, un résultat négatif pour l'identification des mutations recherchées doit être considéré comme non contributif et un nouvel examen à partir d'un échantillon de tissu tumoral doit alors être réalisé.

III. Valeur pronostique en situation métastatique



Cancer du côlon métastatique

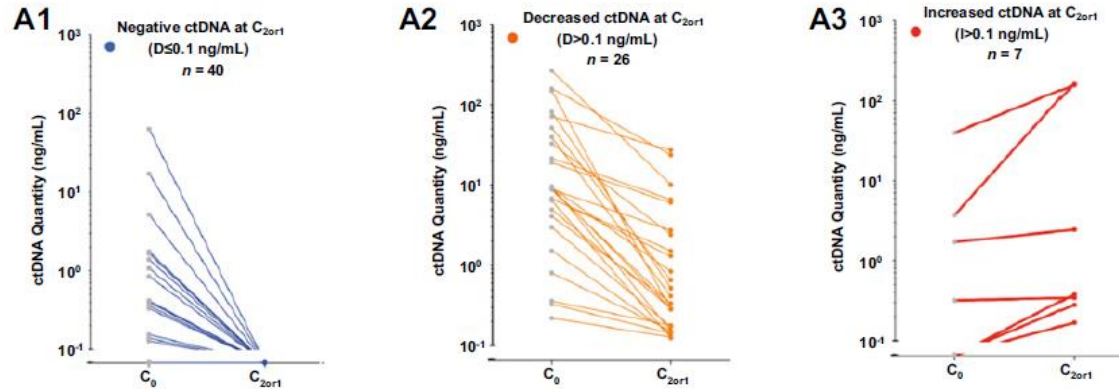
- 82 patients avec un cancer colorectal métastatique en L1 ou L2
- Taux d'ADNtc pronostique ($p=0,0003$)
- Analyse en subdivisant les patients en 3 groupes selon le taux d'ADNtc :
 - $\leq 0,1$ ng/ml $n=31$
 - Entre 0,1 et 10 ng/ml $n=36$
 - > 10 ng/ml $n=15$
- Analyse multivariée :
ADNtc > 10 ng/ml
HR=3,36 (IC 95% : 1,3-8,6 ; $p=0,01$)



Valeur prédictive précoce

82 patients avec CCR M+

Dosage de l'ADNtc avant chimio puis avant C2 ou C3



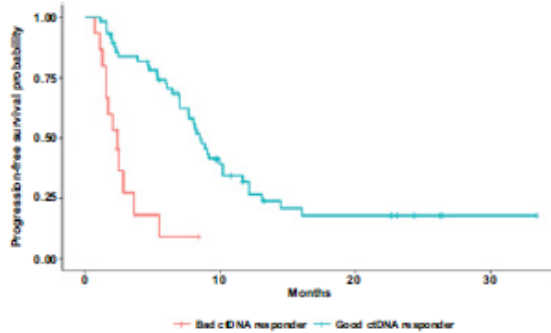
Définition de deux groupes selon l'évolution de l'ADNtc

- « bon répondeur » : patients avec ADNtc négatif ou diminution ≥ 80%

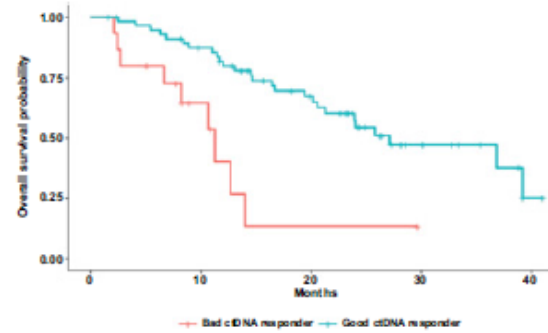
- « mauvais répondeur » : patients avec diminution < 80% ou augmentation

Valeur prédictive précoce

Survie sans progression



Survie globale

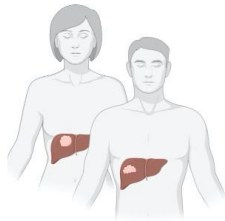
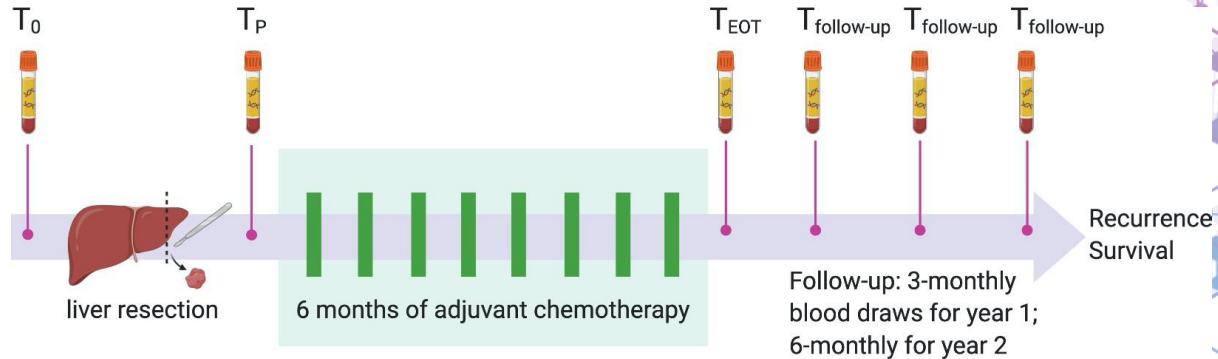


	n	SSP (mois)	HR	SG	HR
Bon répondeur	58	8,5	0,19 (IC 95% : 0,09-0,40)	27,1	0,25 (IC 95% : 0,11-0,57)
Mauvais répondeur	15	2,4		11,2	

Métastases réséquées

n=31

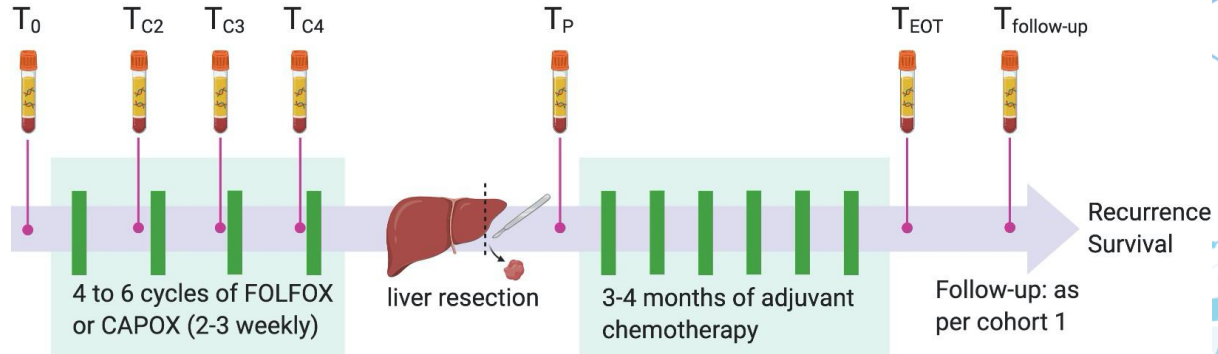
Cohort 1



Resectable CRLM

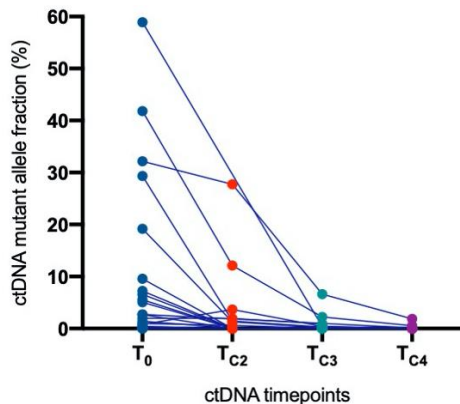
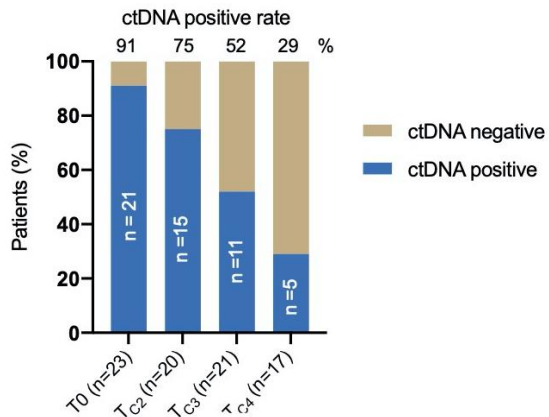
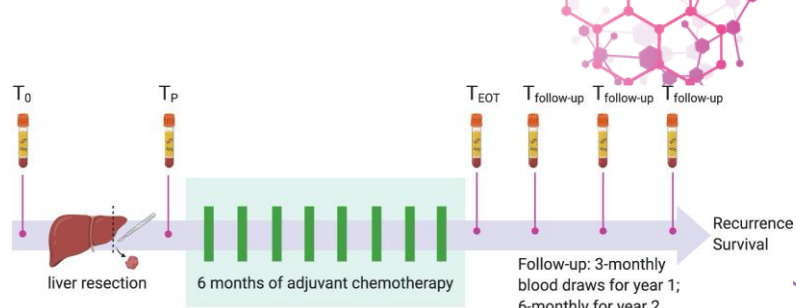
n=23

Cohort 2

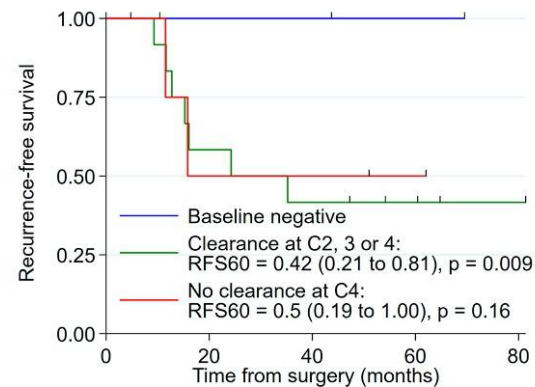


Cohorte 2

21/23 patients avec ctDNA + à baseline



Survie sans récidence



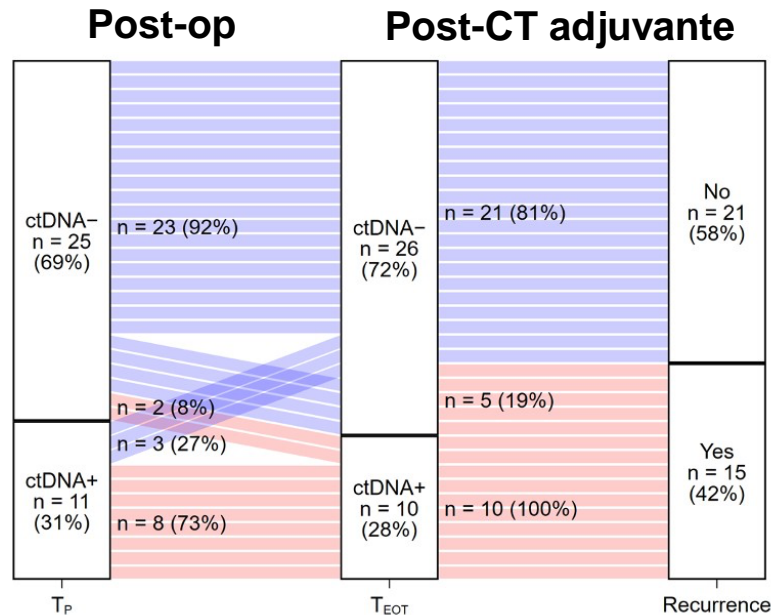
Number at risk	0	20	40	60	80
Baseline negative	2	2	2	1	0
Clearance at C2, 3 or 4	13	7	5	3	1
No clearance at C4	5	2	2	1	0

Chimiothérapie adjuvante

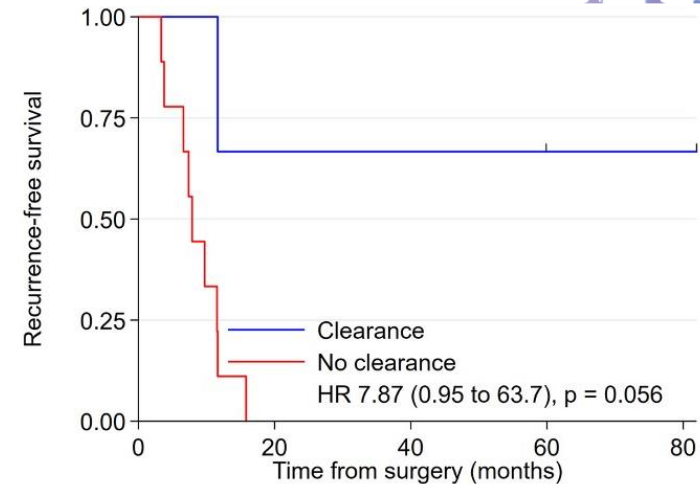
36/42 patients avec plasma disponible en post-op et à la fin de CT adjuvante

Clearance ctDNA n=3/11

ctDNA - => + n=2/25



Survie sans récidive

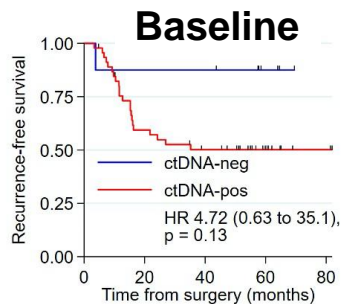


Number at risk	0	20	40	60	80
Clearance	3	2	2	1	1
No clearance	9	0	0	0	0

Tie J et al, Plos Med 2021

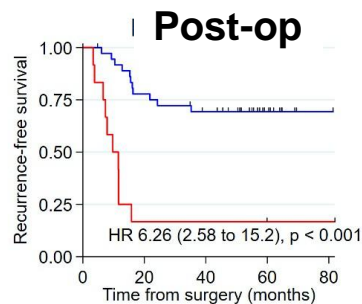
Valeur pronostique

Survie sans récurrence



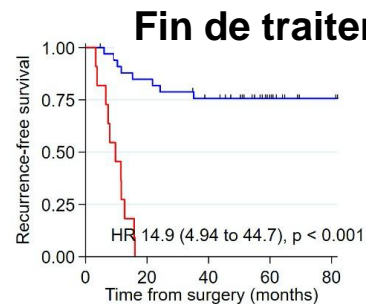
Num at risk

ctDNA-neg	8	7	7	3	0
ctDNA-pos	46	26	20	8	2



Num at risk

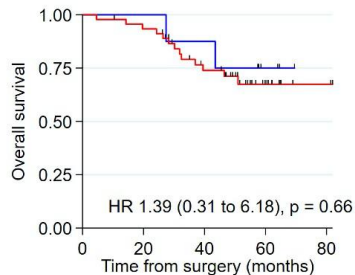
ctDNA-neg	37	28	23	9	1
ctDNA-pos	12	2	2	1	1



Num at risk

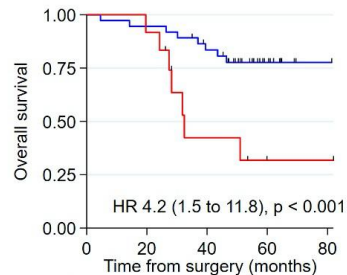
ctDNA-neg	34	28	23	9	2
ctDNA-pos	11	0	0	0	0

Survie globale



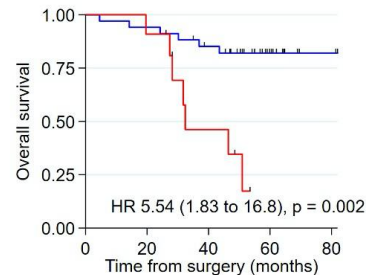
Num at risk

ctDNA-neg	8	8	7	3	0
ctDNA-pos	46	42	28	10	2



Num at risk

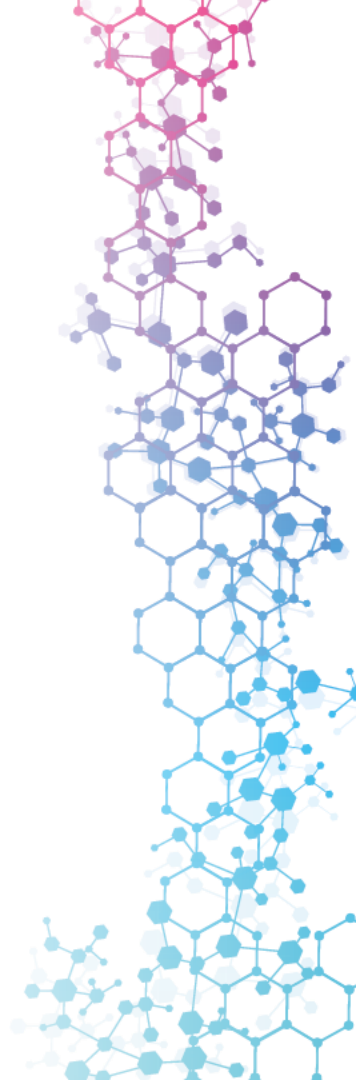
ctDNA-neg	37	35	29	11	1
ctDNA-pos	12	11	4	1	1



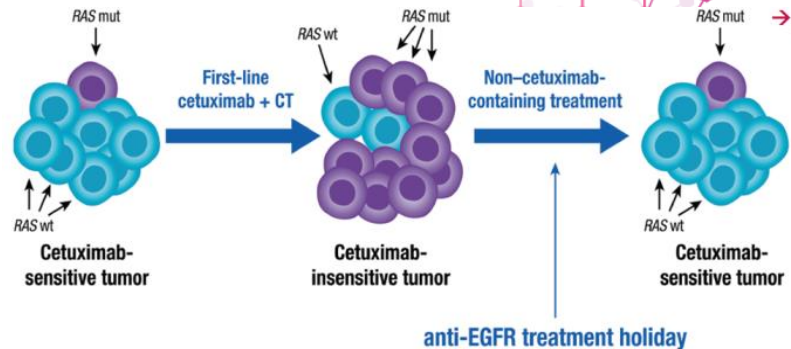
Num at risk

ctDNA-neg	34	32	27	11	2
ctDNA-pos	11	10	4	0	0

IV. Evolution clonale et rechallenge



Rechallenge



Goldberg RM et al, ESMO Open 2018

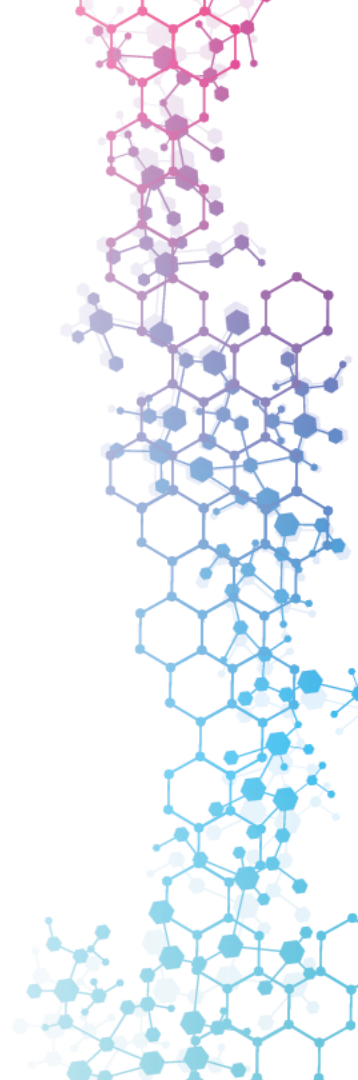
Clinical trials	Regimen	n	ORR	PFS (months)	OS (months)
Santini ¹	Cetuximab + Irinotecan	39	54%	66	NR
Cricket ²	Cetuximab + Irinotecan ctDNA RASwt	13	21%	4,0	12,5
	Cetuximab + Irinotecan ctDNA RASmt	12	0%	1,9	5,2
Chronos ³	Panitumumab ctDNA RAS, BRAF, EGFR-ECDwt	27	30%	3,8	-
WJOG8916G ⁴	FTD/TPI + cetuximab ctDNA RASwt	28	4% (ITT)	3,8	11,6
	FTD/TPI + cetuximab ctDNA RASmt	25		2,1	8,9

¹Santini D et al, Ann Oncol 2012; ²Cremolini C et al, JAMA Oncol 2019; ³Sartore-Bianchi A et al, ASCO 2021; ⁴Masuishi T et al, ESMO GI 2021

Question ?

Avez-vous des demandes d'identification d'anomalies moléculaires à visée de rechallenge chez les patients avec un cancer colorectal métastatique?

1. OUI
2. NON





Recommandations INCA 2022

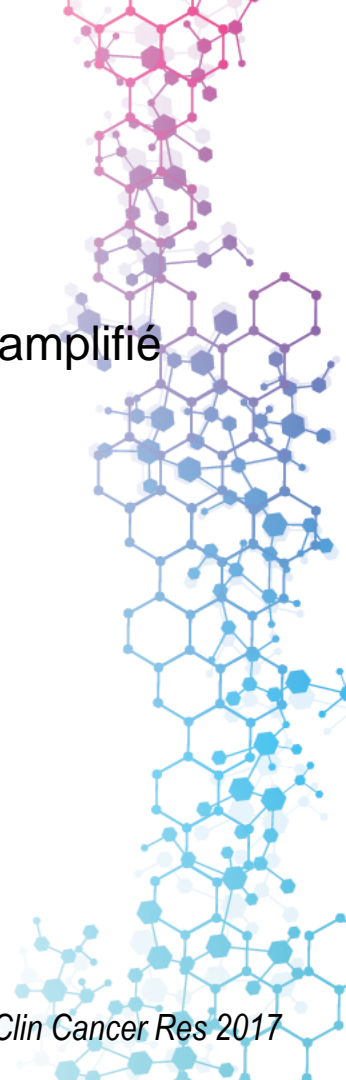
Réintroduction des anticorps anti-EGFR : Des études rétrospectives et prospectives non randomisées avec des petits effectifs ont rapporté un intérêt clinique de la réintroduction des anticorps anti-EGFR sur la base du statut RAS/BRAF évalué à partir de l'ADNtc (Cremolini et al. 2019; Ciardiello et al. 2021; Masuishi et al. 2020; Sartore-Bianchi et al. 2021) chez des patients avec un cancer colorectal métastatique RAS/BRAF non muté au diagnostic

ESMO recommendations. Pascual J et al, *Ann Oncol* 2022



Mutations de résistance

- 22 patients avec CCRm *RAS/BRAF* non muté et HER2-MET non amplifié
Traitement avec Ac anti-EGFR
=> NGS/IHC tissu et ADNtc à progression



Mutations de résistance

- 22 patients avec CCRm *RAS/BRAF* non muté et HER2-MET non amplifié
Traitement avec Ac anti-EGFR
=> NGS/IHC tissu et ADNtc à progression
- Mutations acquises dans les tissus tumoraux :
7 (32%) *KRAS*, 1 *BRAF*, 1 *AKT*, 3 *HER2* amplification, 4 *MET* amplification

Mutations de résistance

- 22 patients avec CCRm *RAS/BRAF* non muté et HER2-MET non amplifié
- Traitement avec Ac anti-EGFR
=> NGS/IHC tissu et ADNtc à progression

ID	Tissue-based analysis				HS	Liquid biopsy analysis ctDNA target gene mutations (% fractional abundance) or amplifications (CNV)
	Tumor content	Acquired genetic alteration	Mutant alleles	Mutant alleles normalized for tumor content		
1	30%	KRAS Q61H	11%	37%	74	KRAS Q61H (12%)
4	—	MET amplified	—	—	—	—
5	70%	KRAS Q61K	4%	6%	12	—
7	—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	EGFR G465E (0.11%)
13	—	—	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	KRAS G12D (21.5%); HER2 (CNV 4)
16	65%	KRAS Q61H; MET amplified	36%	55%	110	KRAS Q61H (1.3%)
17	70%	BRAF V600E	5%	7%	14	—
20	—	MET amplified	—	—	—	BRAF V600E (3.66%); MET (CNV 9)
22	40%	KRAS G12V	32%	53%	106	KRAS G12V (37.5%)

^aAmplification status is assessed by *in situ* hybridization.

Mutations de résistance

- 22 patients avec CCRm *RAS/BRAF* non muté et HER2-MET non amplifié
- Traitement avec Ac anti-EGFR
=> NGS/IHC tissu et ADNtc à progression

ID	Tissue-based analysis				HS	Liquid biopsy analysis ctDNA target gene mutations (% fractional abundance) or amplifications (CNV)
	Tumor content	Acquired genetic alteration	Mutant alleles	Mutant alleles normalized for tumor content		
1	30%	KRAS Q61H	11%	37%	74	KRAS Q61H (12%)
4	—	MET amplified	—	—	—	—
5	70%	KRAS Q61K	4%	6%	12	—
7	—	—	—	—	—	—
12	—	—	—	—	—	EGFR G465E (0.11%)
13	—	—	—	—	—	—
14	—	—	—	—	—	KRAS G12D (21.5%); HER2 (CNV 4)
16	65%	KRAS Q61H; MET amplified	36%	55%	110	KRAS Q61H (1.3%)
17	70%	BRAF V600E	5%	7%	14	—
20	—	MET amplified	—	—	—	BRAF V600E (3.66%); MET (CNV 9)
22	40%	KRAS G12V	32%	53%	106	KRAS G12V (37.5%)

^aAmplification status is assessed by *in situ* hybridization.

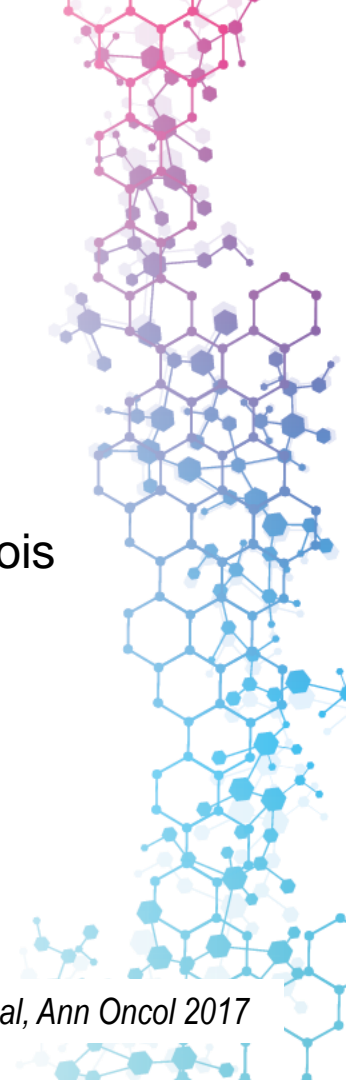
Mutations de résistance

PRESSING

- Cohorte Prospective – patients avec mCRC *RAS/BRAF* non muté traité avec Ac anti-EGFR (toutes lignes)

=> 2 groupes:

- Sensible avec réponse partielle ou stabilité > 6 mois
- Résistant avec progression à 1^{ère} évaluation



Mutations de résistance

PRESSING

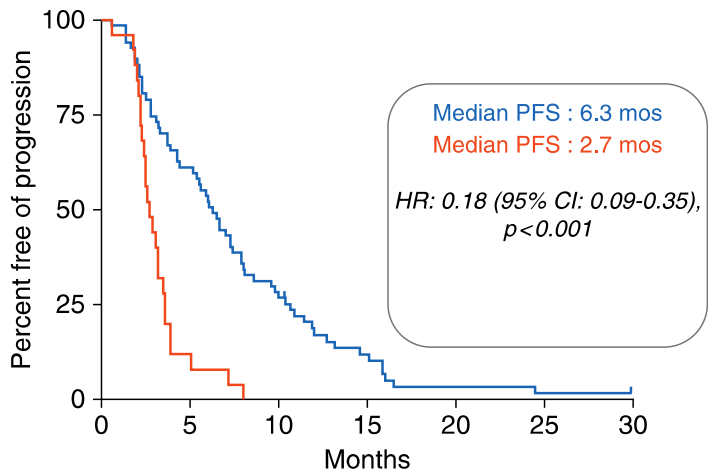
- Cohorte Prospective

Molecular alterations	Resistant patients N = 47	Sensitive patients N = 47
<i>HER2</i> amplification	7	0
<i>HER2</i> mutations	1 (G776V, exon 20)	0
<i>MET</i> amplification	4	0
<i>NTRK</i> rearrangements	2 (<i>SCYL3-NTRK1</i> and <i>TPM3-NTRK1</i>)	0
<i>ALK</i> rearrangements	0	0
<i>ROS1</i> rearrangements	0	0
<i>RET</i> rearrangements	1 (<i>CCDC6-RET</i>)	0
<i>PIK3CA</i> exon 20 mutations	1 (A1035V, exon 20)	1 (H1047R, exon 20)
<i>AKT1</i> mut	1 (R25C)	0
<i>PTEN</i> mutations	3 (L247S, R233stop and del P248, exon 7)	0
Patients with candidate alterations	20	1

Mutations de résistance

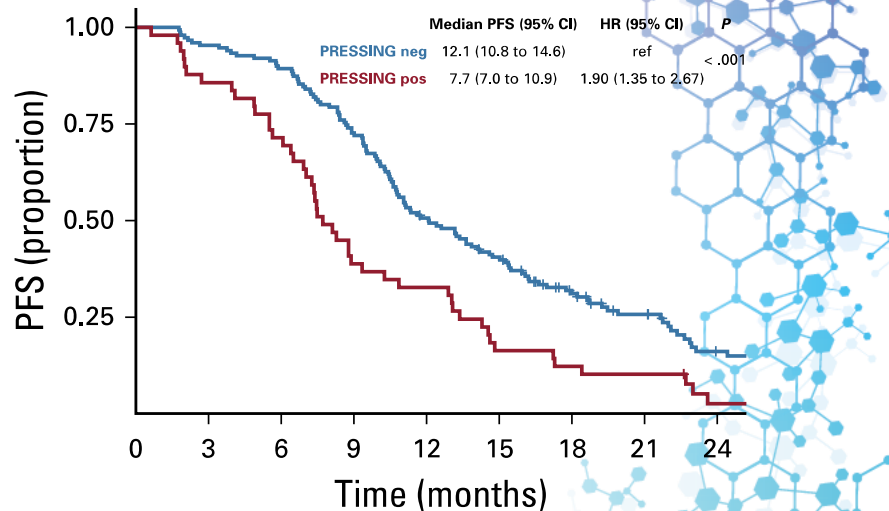
PRESSING panel : valeur prédictive

- No alterations in the PRESSING panel (N/Progressed = 69/66)
- Any alteration in the PRESSING panel (N/Progressed = 25/25)



Cremolini C et al, Ann Oncol 2017

VALENTINO phase 2 (n=199)



Morano F et al, J Clin Oncol 2019

BEACON – ADNtc mécanismes de résistance

- A inclusion : détection *BRAF* V600E 91%
- A progression : mutations acquises

Anomalies acquises	Triplet n=112	Doublet n=112	Contrôle n=94
<i>KRAS</i>	40,2%	44,6%	0
<i>NRAS</i>	25,0%	36,6%	3,2%
<i>MET</i> amplification	19,6%	17,0%	0
<i>MAP2K1</i>	3,6%	16,1%	3,2%
<i>KRAS</i> , <i>BRAF</i> et/ou <i>IGFR1</i> amplification	18,8%	7,1%	1,1%

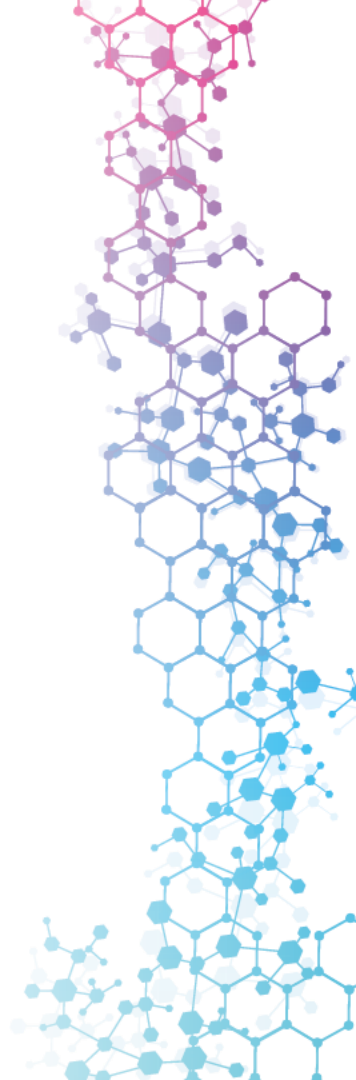
BEACON – ADNtc mécanismes de résistance

- A progression

Nombre d'anomalies de résistance acquises	Triplet n=112	Doublet n=112	Contrôle n=94
0	37,5%	36,6%	92,6%
1	22,3%	21,4%	7,4%
2	14,3%	11,6%	0
3	6,3%	8,9%	0
≥ 4	19,6%	21,4%	0

Les anomalies acquises sont communément sous-clonales !

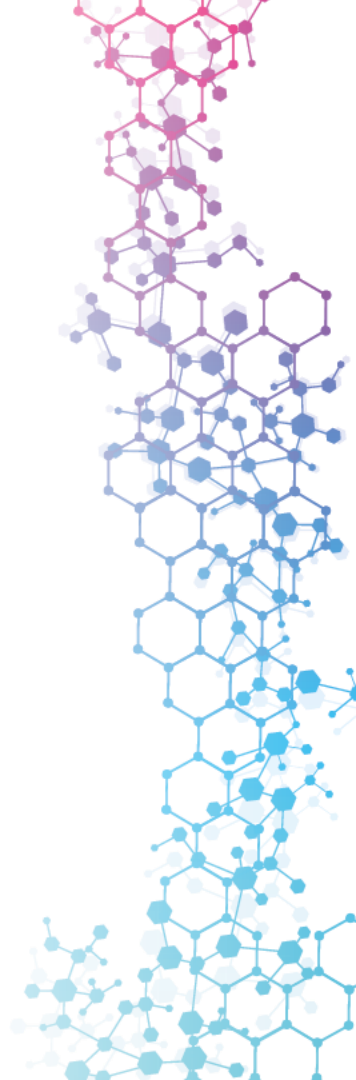
V. Conclusion



Question ?

Pensez-vous que la recherche d'ADNtc va devenir un standard dans le suivi des patients avec un cancer colorectal métastatique ?

1. OUI
2. NON



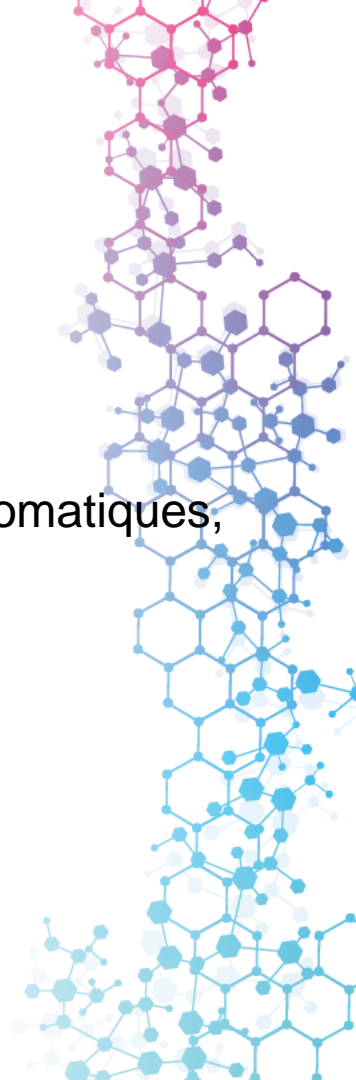
En pratique en 2022

Indications « validées »

1/ Théranostique au diagnostic :

- méthodologie validée
- situation clinique : métastases hépatiques synchrones, symptomatiques, menaçantes ou potentiellement résécables

2/ Rechallenge des Ac anti-EGFR



En pratique en 2022

Indications « validées »

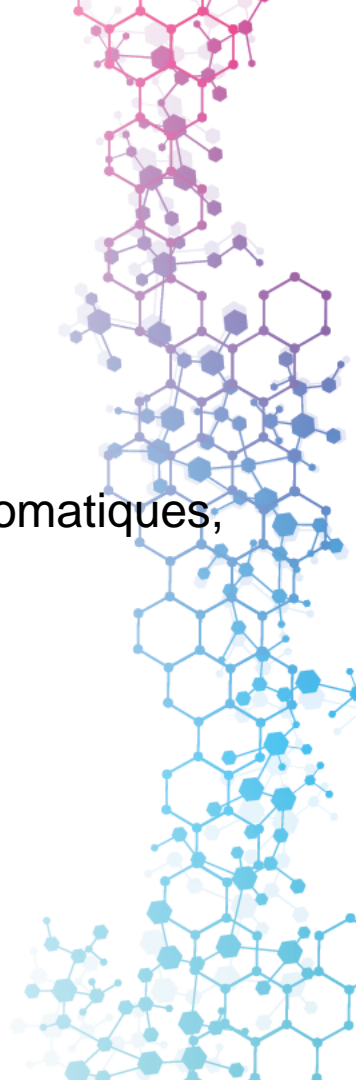
1/ Théranostique au diagnostic :

- méthodologie validée
- situation clinique : métastases hépatiques synchrones, symptomatiques, menaçantes ou potentiellement résécables

2/ Rechallenge des Ac anti-EGFR

Limites :

- Problème du remboursement
- Problème d'accessibilité



En pratique ?

- En adjuvant :
 - l'ADNtc peut il aider à guider la stratégie thérapeutique
Oui mais résultats à long terme de DYNAMIC attendus
 - la chimiothérapie adjuvante peut elle « guérir » des patients avec ADNtc+
Sans doute OUI, CIRCULATE en cours +++

Attention : ADNtc et récurrences locorégionales

3% de récurrences à distance chez ADNtc-



En pratique ?

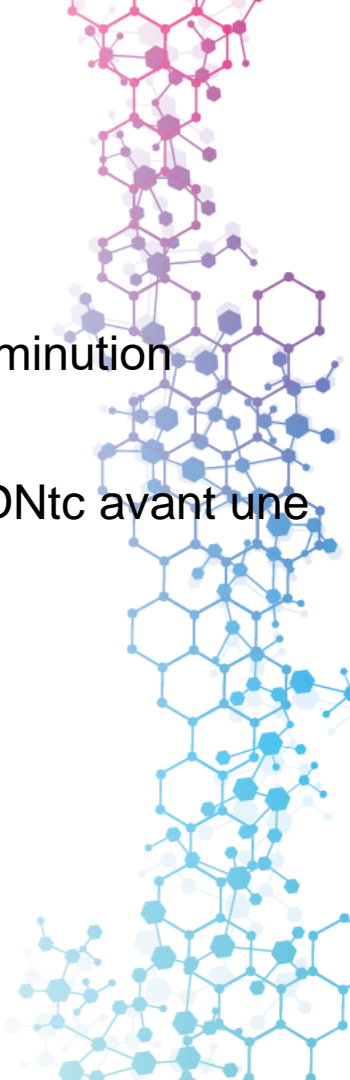
- Est-ce qu'un changement de traitement précoce si absence de diminution apporte un bénéfice de survie ?
- Est-ce qu'un changement de traitement en cas d'élévation de l'ADNtc avant une progression radiologique apporte un bénéfice de survie ?

Réponse sans doute dépendante :

- du nombre d'options thérapeutiques disponibles
- de la situation clinique (méta potentiellement résécable)



Nécessité de faire des essais prospectifs avec des hypothèses statistiques prédéfinies



MERCI DE VOTRE ATTENTION

