

9^e ÉDITION

JOURNÉES DU GFCO 2023

Biomarqueurs et analyses moléculaires en oncologie

Avec la participation
scientifique du



Biopsie liquide : Comment évaluer la contributivité des échantillons d'ADNtc, en particulier des échantillons négatifs ?

Lea Payen, CHU de Lyon

Zohair Selmani, CHU de Besançon



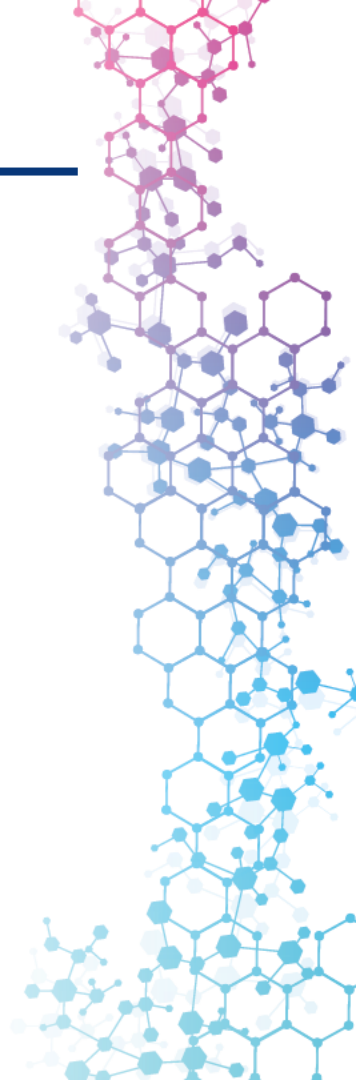
LIENS D'INTÉRÊT

■ **Lea PAYEN**

- AstraZeneca
- Sysmex-Inostics
- Volition
- Inovotion

■ **Zohair SELMANI**

- AstraZeneca
- Pfizer

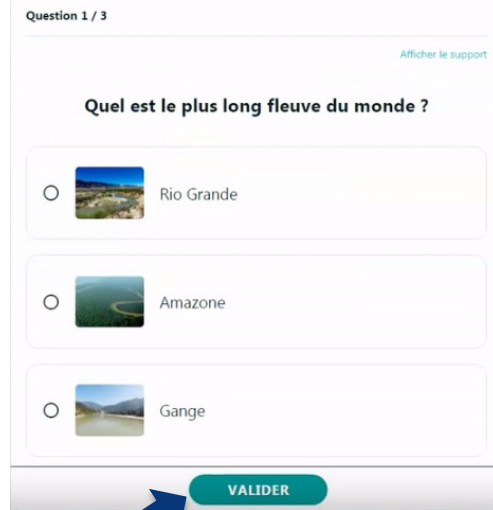


Pour répondre aux sondages



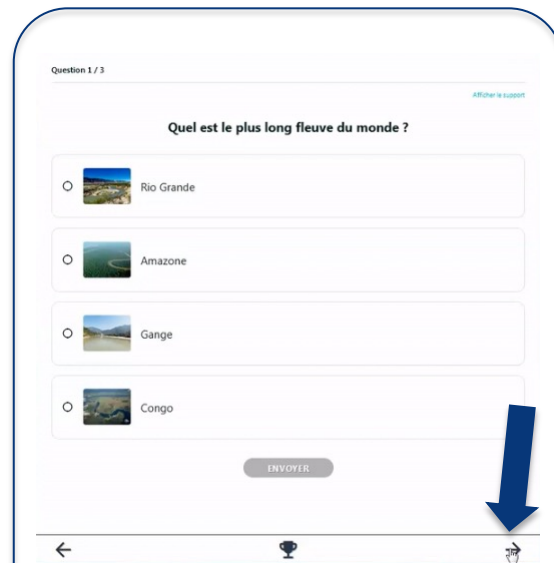
1

Flashez le code
pour ouvrir l'app
Digistorm dans votre
navigateur



2

Choisissez vos
réponses et cliquez
sur 'Valider'



3

Cliquez sur la flèche
en bas à droite pour
passer au sondage
suivant

Biopsie liquide en fonction des organes

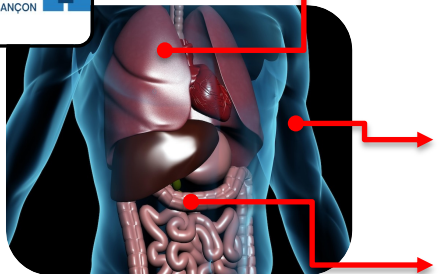
■ Sondage 1: Quels sont les cancers testés dans votre laboratoire ?

1. Cancers du poumon non à petites cellules
2. Cancers digestifs
3. Mélanome
4. Cancer du pancréas
5. Cholangiocarcinomes
6. Cancer de la prostate
7. Cancer du sein
8. Cancer de l'ovaire



Biopsie liquide en fonction des organes

Besançon : 238 BL en 2022



ADK pulmonaires (49 %) : NGS ou dPCR

- Diagnostique
- Suivi et recherche de résistance

Mélanomes (34 %) : dPCR

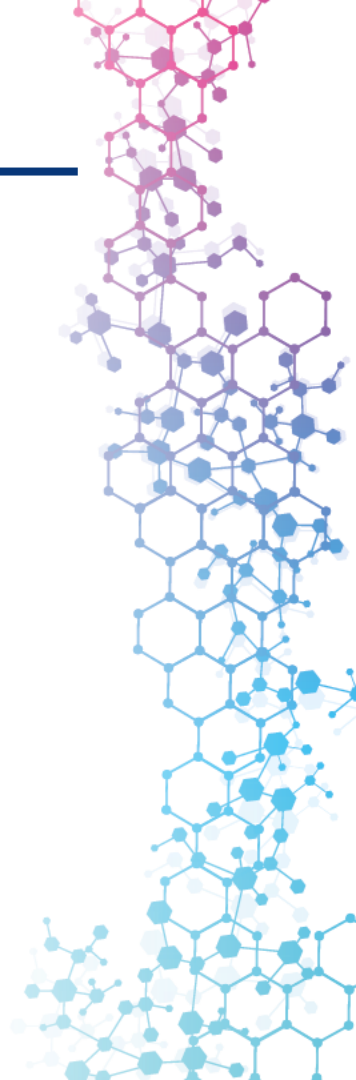
- Suivi (BRAF muté)

Cancer colorectaux (17 %) : dPCR (methyl WIF1 –NPY)

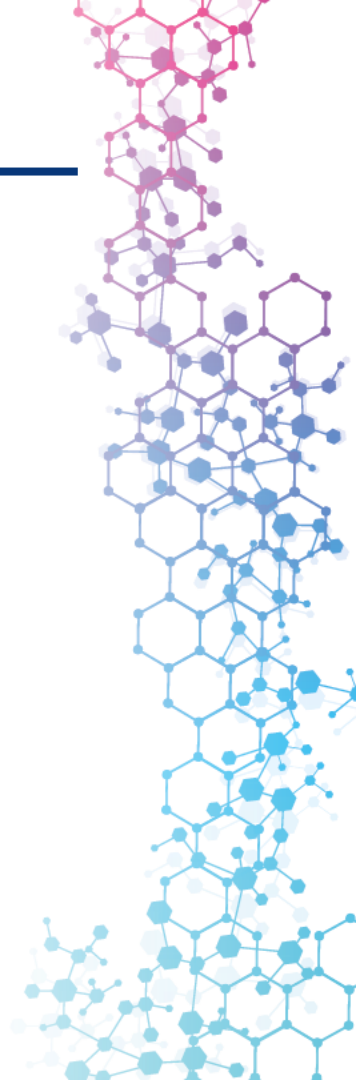
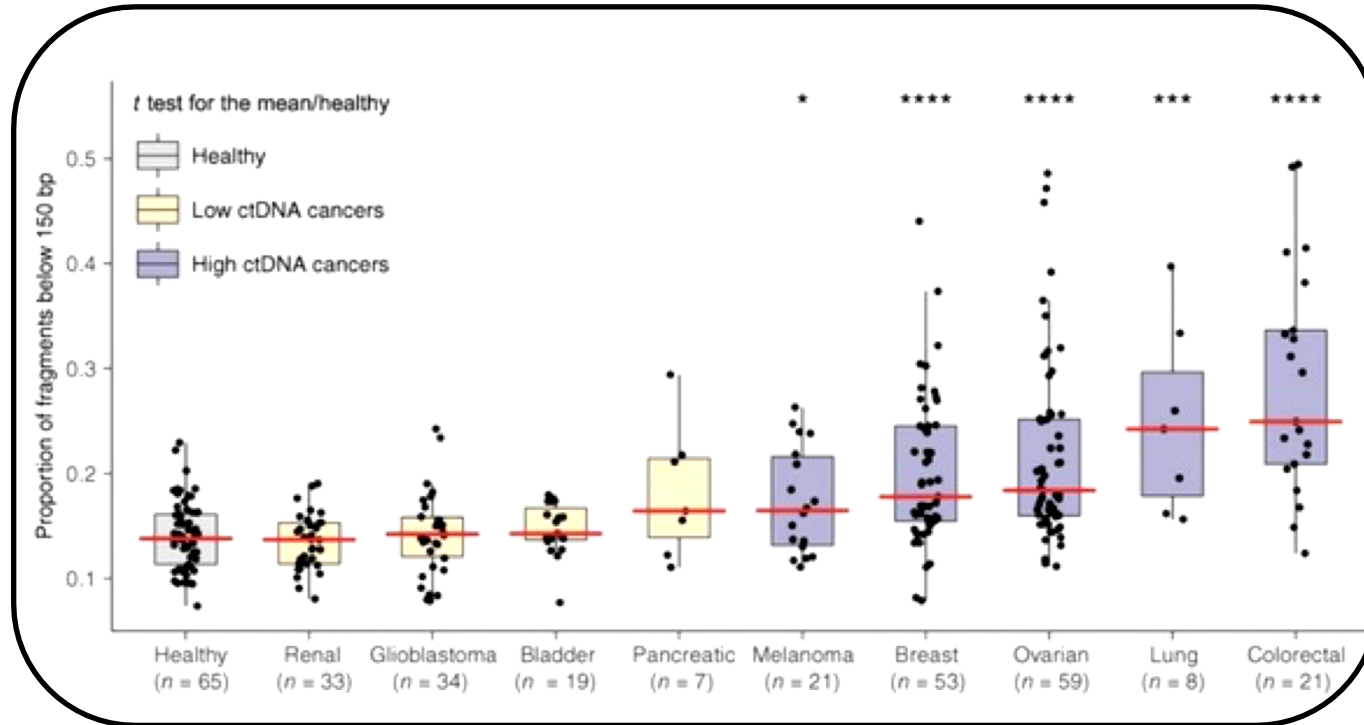
- Diagnostique
- Suivi



	Non précisé	Diagnostic	Progression	Suivi	Total général
Broncho-Pulmonaire	14	369	198	16	597
Cholangiocarcinome	1	2	2		5
Colorectal	87	88	110	80	365
Estomac	16	40	17	13	86
ovaire			62		62
Prostate			72		72
Sein			18		18



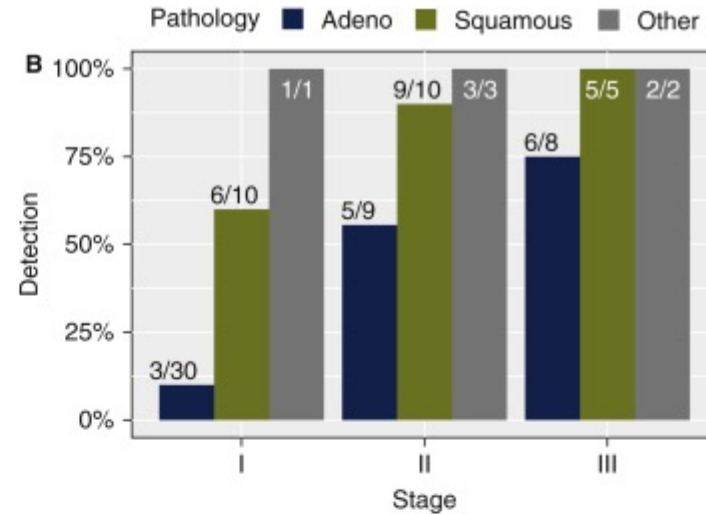
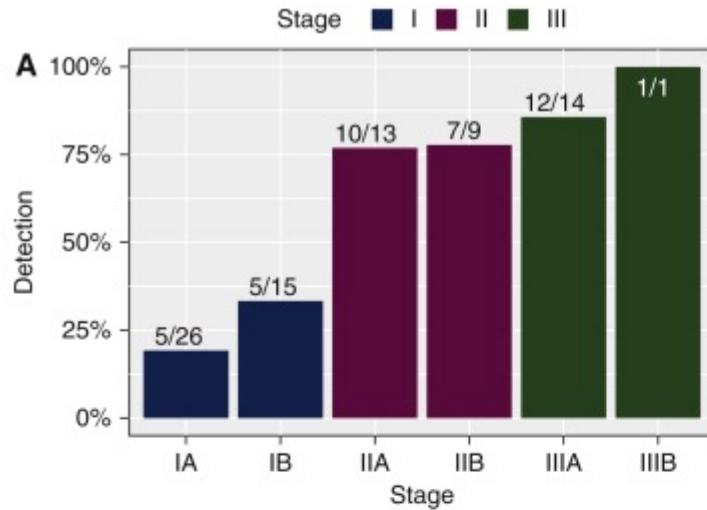
Biopsie liquide en fonction des organes



Biopsie liquide en fonction des organes

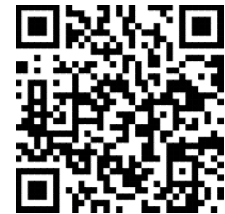
Variation du relargage en fonction du stade et du type Histologique

CPNPC

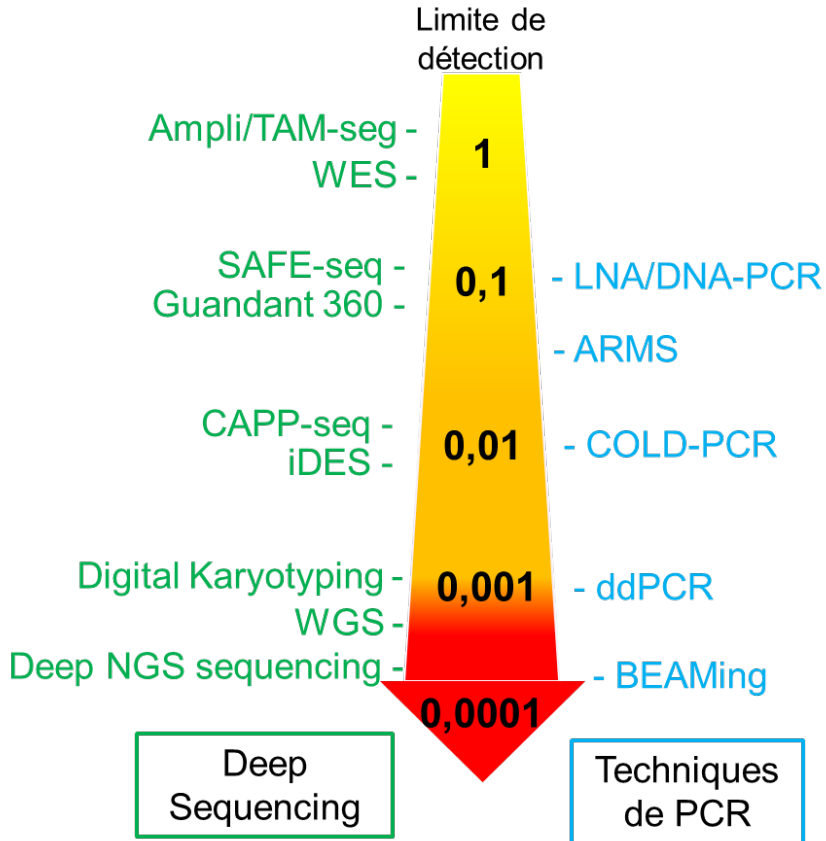


Techniques d'analyse des BL en routine

- **Sondage 2: Quelles sont les 2 techniques principales dans votre laboratoire ?**
 1. Approche NGS avec un panel de gènes large (> 35 gènes, sensibilité 1 %)
 2. Approche NGS avec un panel de gènes restreint (< 35 gènes, sensibilité 0,2 %)
 3. Approche digitale PCR multiplex
 4. Approche digitale PCR simplex
 5. Approche qPCR
 6. Autres

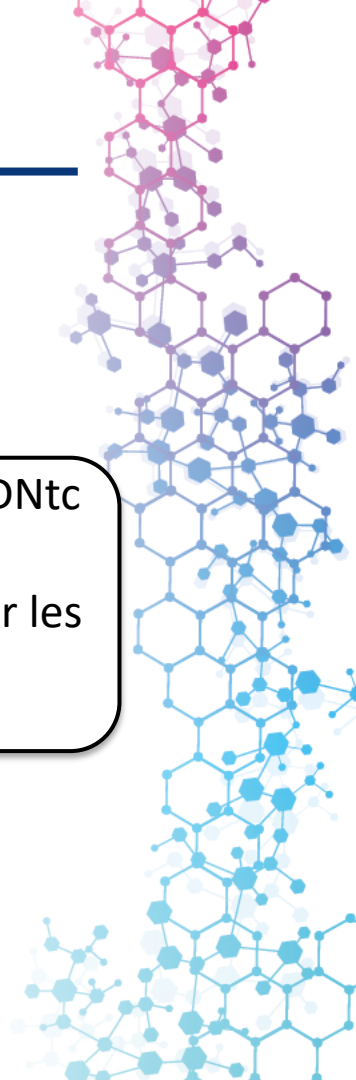


Techniques d'analyse des BL en routine



Toujours fonction de la Qté ADNtc

Peu de contrôles internes pour les variants de structure



Techniques d'analyse des BL en routine

2 grandes approches :

Approche ciblée

NGS amplicon

dPCR

- Haute spé/se
- Rendu +/- rapide (2j pour la dPCR)
- Utilité en circuit d'urgence
- Maladie résiduelle ++
- **Restriction des cibles**

Approche large

NGS capture ADN

Multi-cibles

- Estimation de la charge tumorale
- Identification des résistances/actionnables
- Maladie résiduelle ++
- Identification d'altérations complexes
- **Rendu 5-10 jours**
- **Coût**

Contrôle interne en BL

- **Sondage 3: Quelles sont les moyens pour essayer d'évaluer la quantité de matériel tumoral du cfDNA normal dans votre laboratoire ?**
 1. Approche par fragmentomics sur larges panels NGS
 2. Approche par l'utilisation d'une signature ctDNA mutationnel (fraction allélique mutée)
 3. Approche par l'utilisation d'une signature ctDNA méthylatée par PCR digitale
 4. Approche par l'utilisation d'une signature ctDNA méthylatée par NGS
 5. Approche par l'utilisation d'une protéine de support du ctDNA (type nucléosomes)
 6. Approche par l'utilisation d'une protéine de support du ctDNA (autres protéines)



Contrôle interne en BL

Profil mutationnel

Toutes tumeurs: TP53

Poumon: EGFR, KRAS

Colon: KRAS, BRAF, MSI

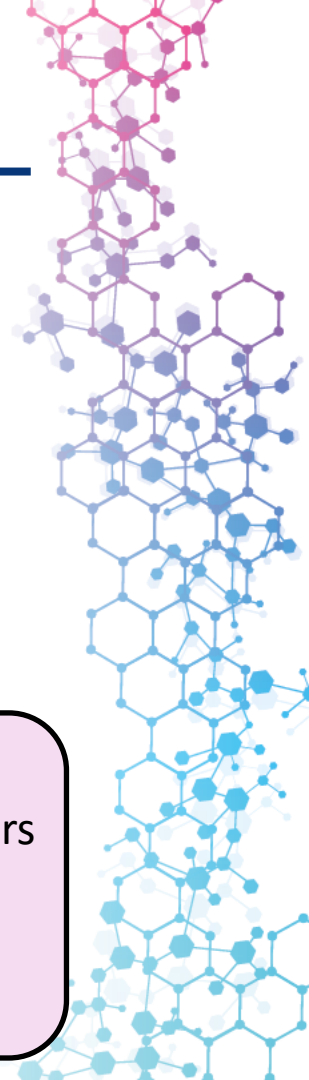
Mélanome: BRAF, NRAS

AVANTAGES

- Rendu avec le panel
- Recherche possible en dPCR

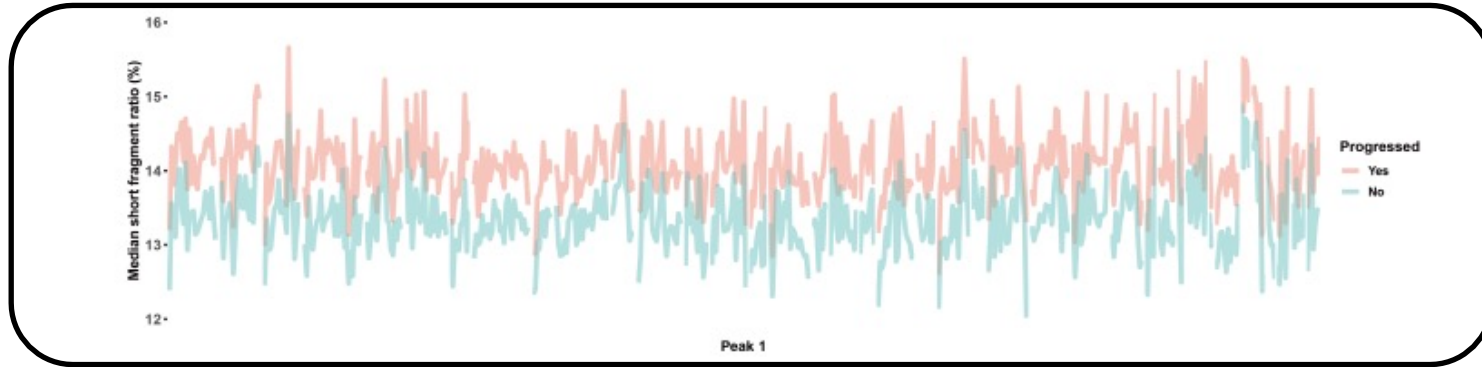
LIMITATIONS

- Pas de cible pour toutes les tumeurs
- Manque de spécificité



Contrôle interne en BL

Fragmentomique : utilisation des dupliquats



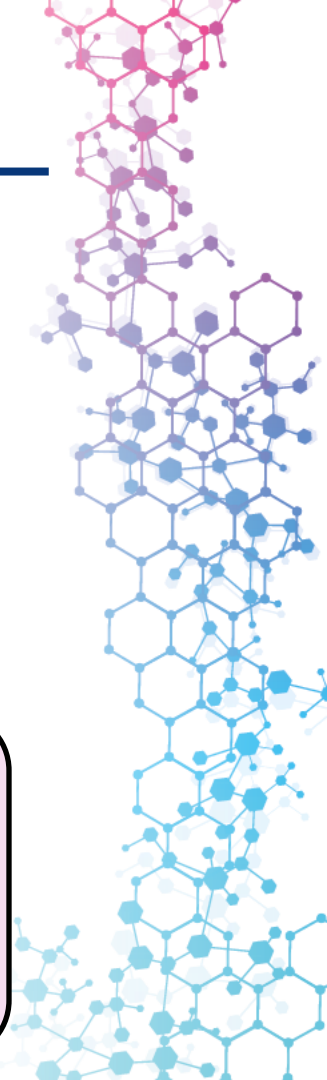
S. Wang et al. Cancer Res Commun. 2023

AVANTAGES

- Reproductible et fiable
- Sensible

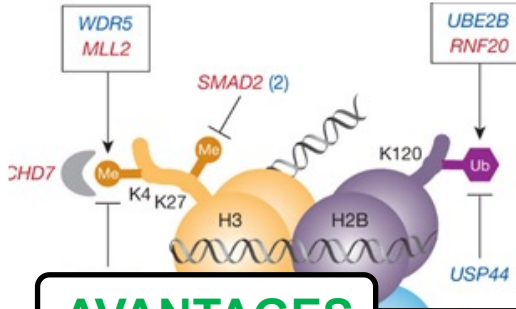
LIMITATIONS

- Grosse capacité d'analyse
- Très couteux



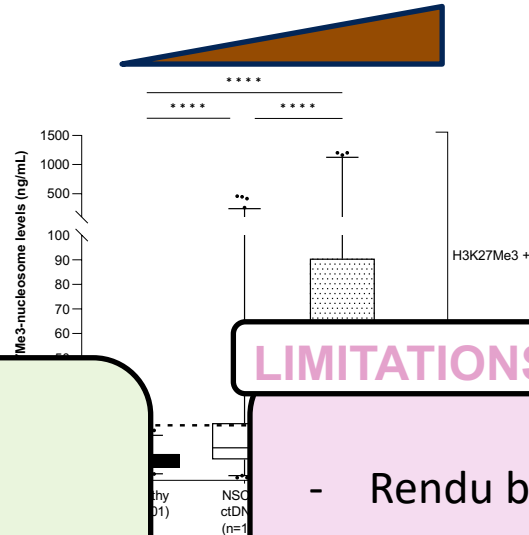
Contrôle interne en BL

Méthylation et/ou acétylation des histones : analyse des nucléosomes



AVANTAGES

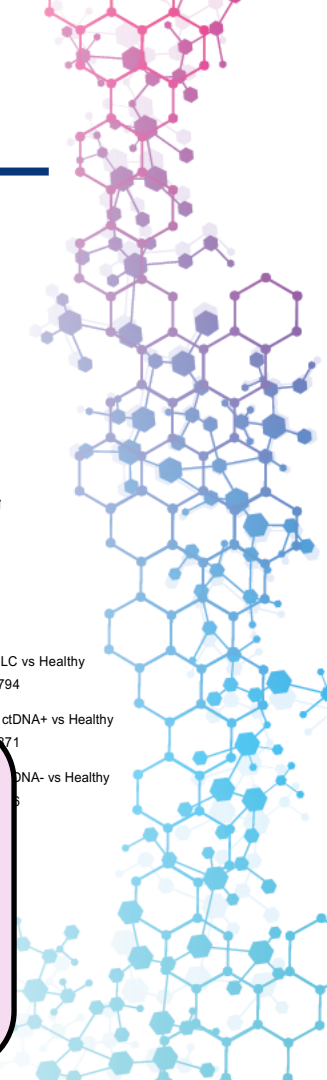
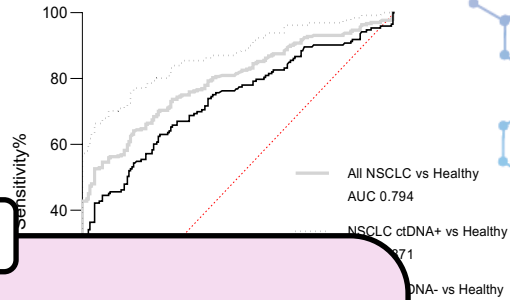
- Facilement réalisable
- Automatisable
- Peu coûteux (1^{re} intention ++)



LIMITATIONS

- Rendu binaire (+ ou -)
- Pas de spécificité d'organe

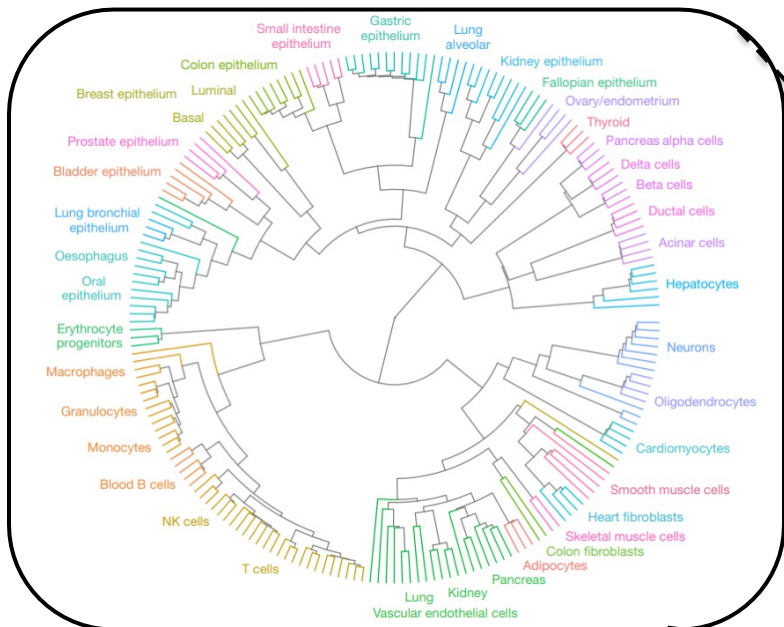
ROC curves : H3K27Me3



Contrôle interne en BL

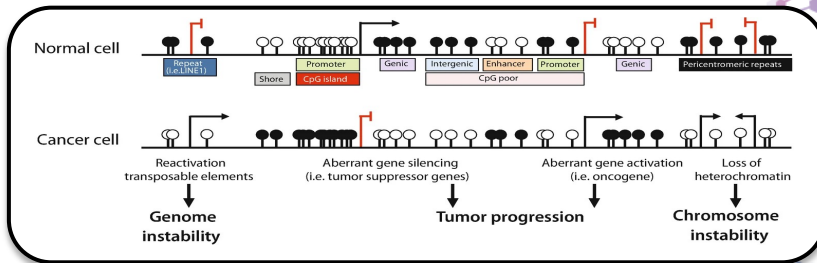
Méthylation de l'ADN : spécificité d'organe

Phylogénie sur profil de méthylation

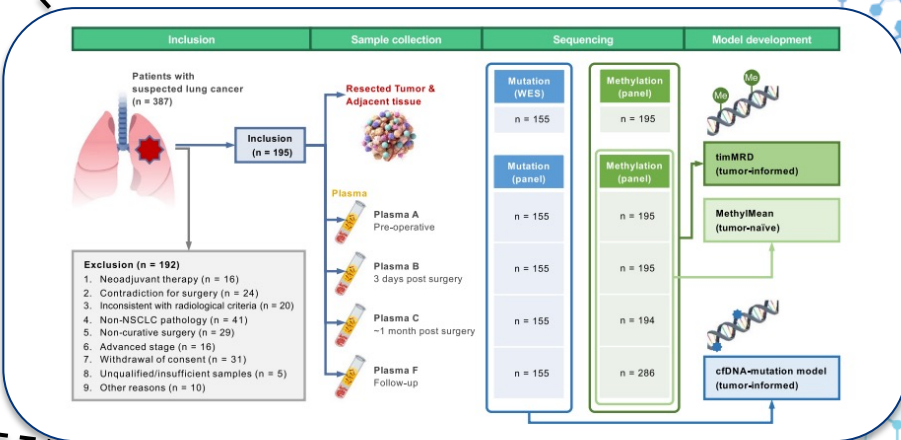


N. Loyfer et al, Nature 2023.

Méthylation tumeur vs tissus sains



R. Paro et al, Epigenetics and cancers 2021.

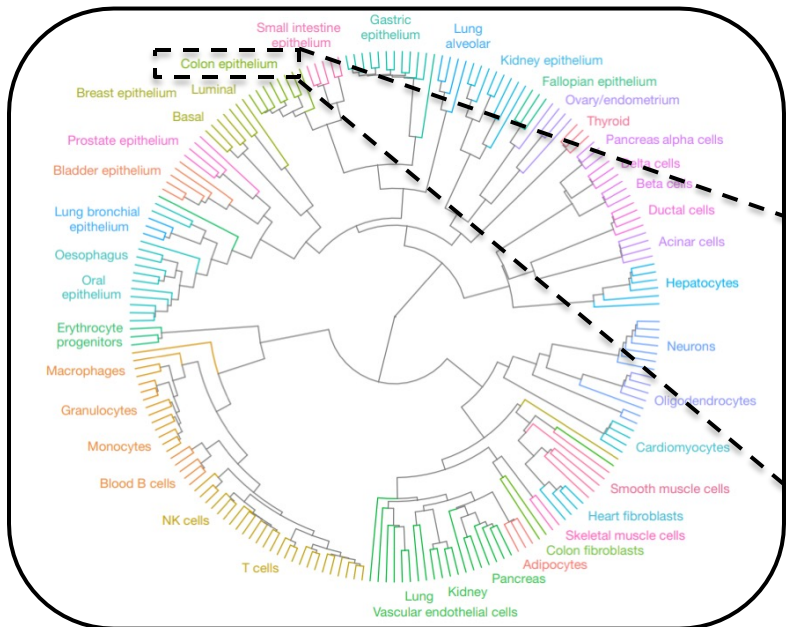


Chen K et al. BMC Med. 2023.

Contrôle interne en BL

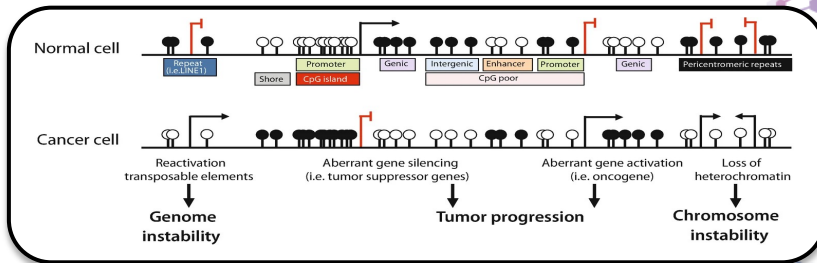
Méthylation de l'ADN : spécificité d'organe

Phylogénie sur profil de méthylation



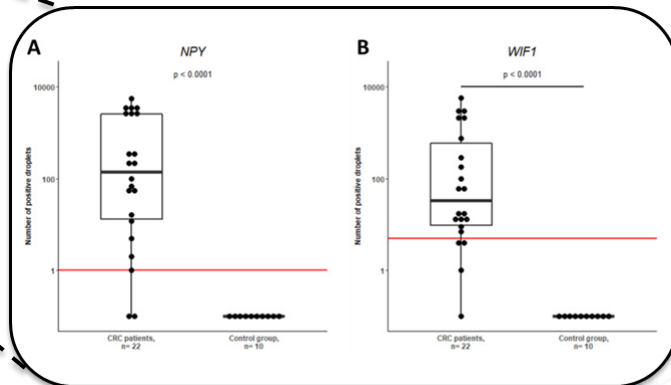
N. Loyfer et al, Nature 2023.

Méthylation tumeur vs tissus sains



R. Paro et al, Epigenetics and cancers 2021.

BL de cancers colorectaux en dPCR



A. Overs et al, BMC Cancer 2021.

Contrôle interne en BL

Méthylation de l'ADN : spécificité d'organe

Méthylation tumeur vs tissus sains

AVANTAGES

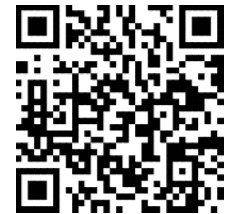
- Spécificité d'organe
- Dès les stades précoces
- Indépendant du statut mutationnel
- Applicable en routine par dPCR

LIMITATIONS

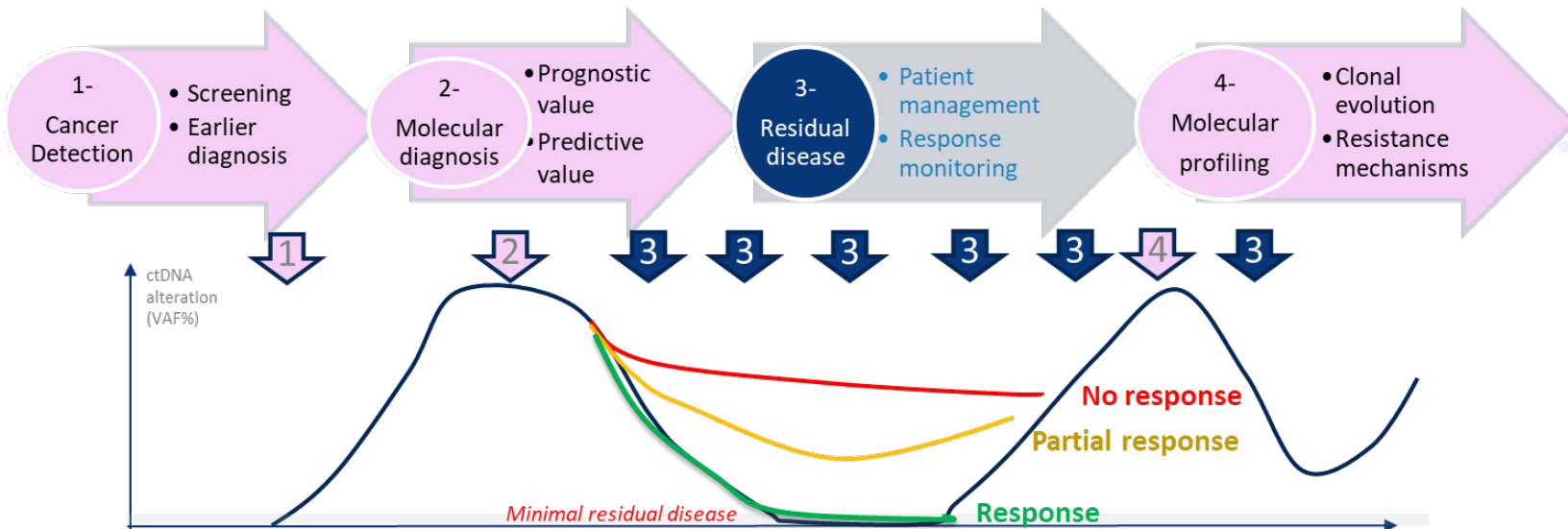
- Conversion bisulfite
- Conversion bisulfite
- Conversion bisulfite

Utilisation en MRD de la BL

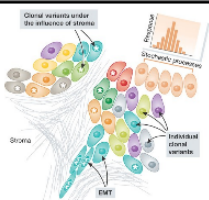
- **Sondage 4: Quels moyens mettez-vous en œuvre pour répondre à la question de la quantification de la Maladie Résiduelle ?**
 1. Approche par l'utilisation d'une signature ctDNA mutationnel (fraction allélique mutée)
 2. Approche par l'utilisation d'une signature ctDNA méthylatée par digitale PCR
 3. Approche par l'utilisation d'une signature ctDNA méthylatée par NGS
 4. Approche par l'utilisation d'une protéine de support du ctDNA (type nucléosomes)
 5. Approche par l'utilisation d'une protéine de support du ctDNA (autres protéines)



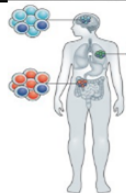
Utilisation en MRD de la BL



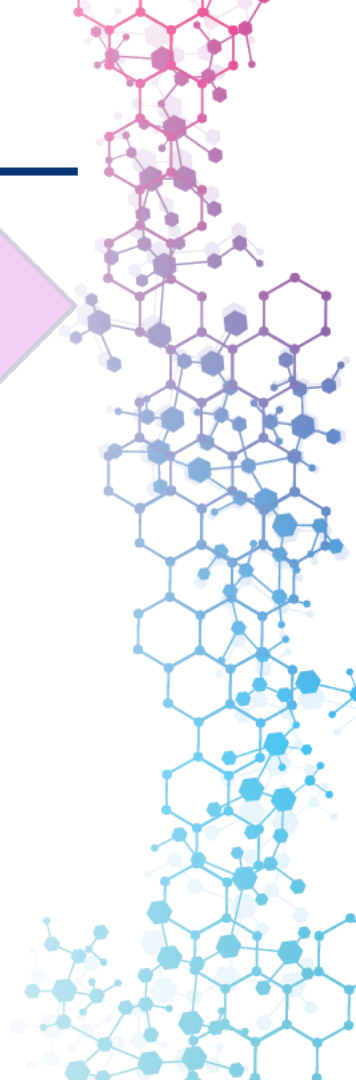
Tumoral heterogeneity



Spatial heterogeneity

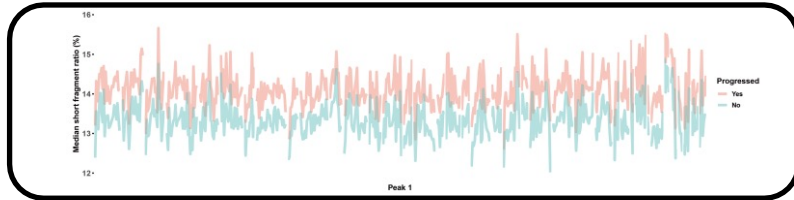


Clonal selection

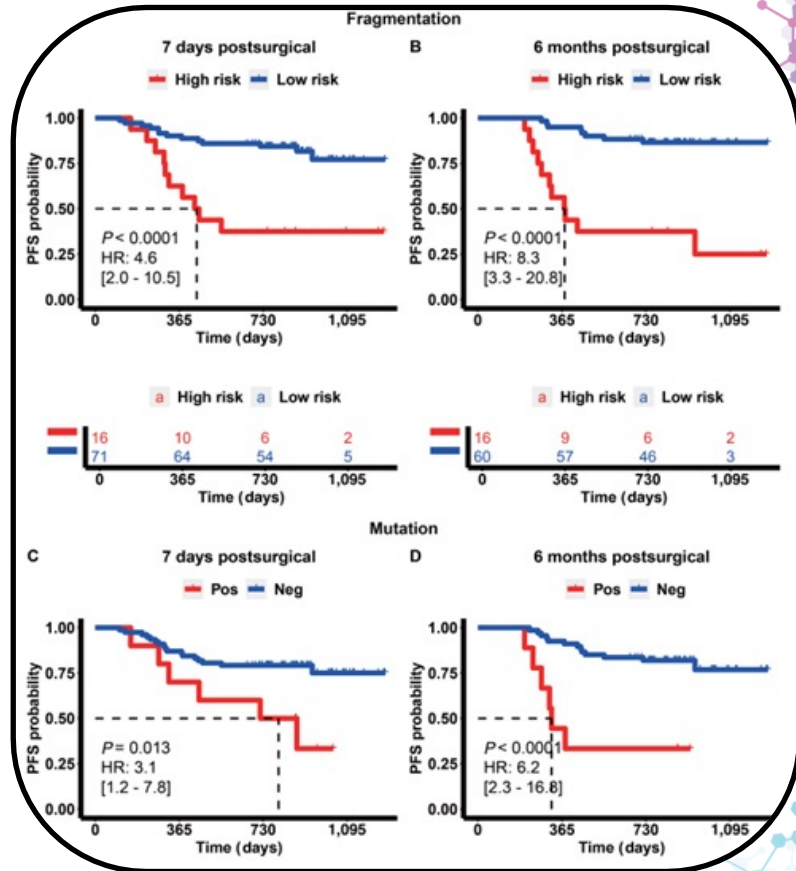


Utilisation en MRD de la BL

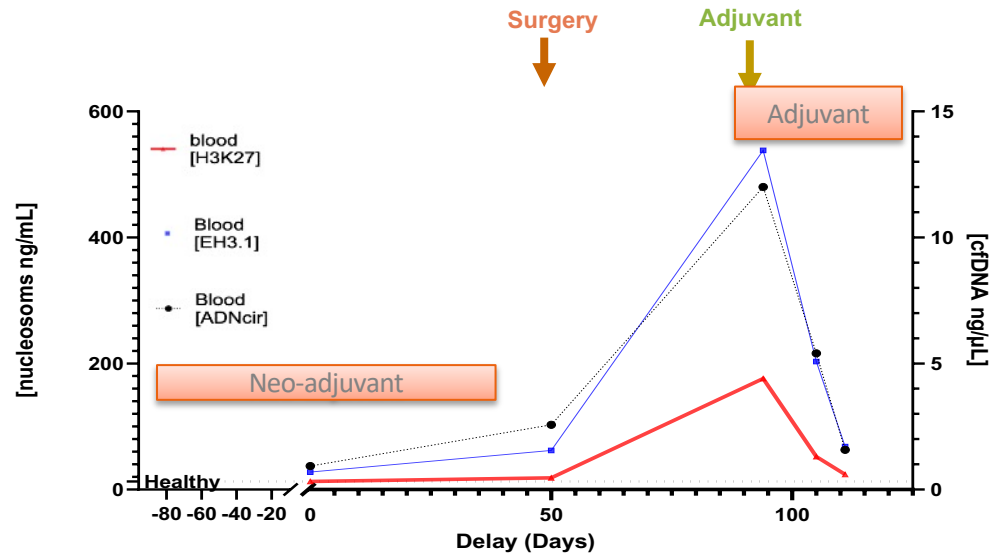
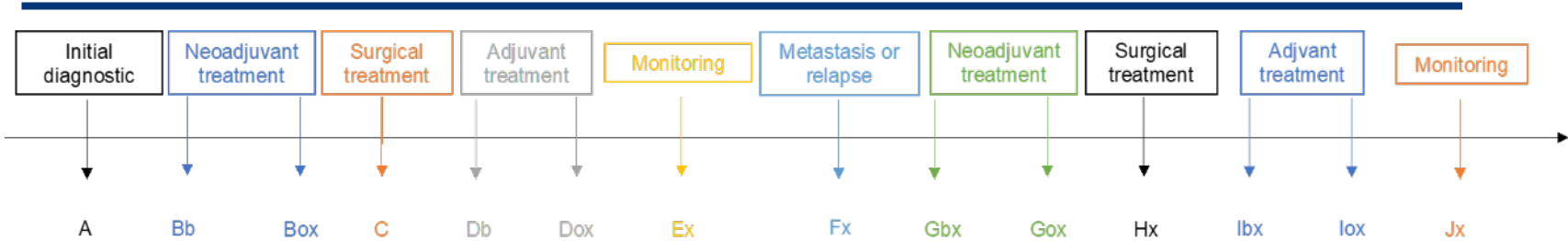
Fragmentomique



S. Wang et al. Cancer Res Commun. 2023.



Utilisation en MRD de la BL



Absence of detection of somatic alteration at diagnosis

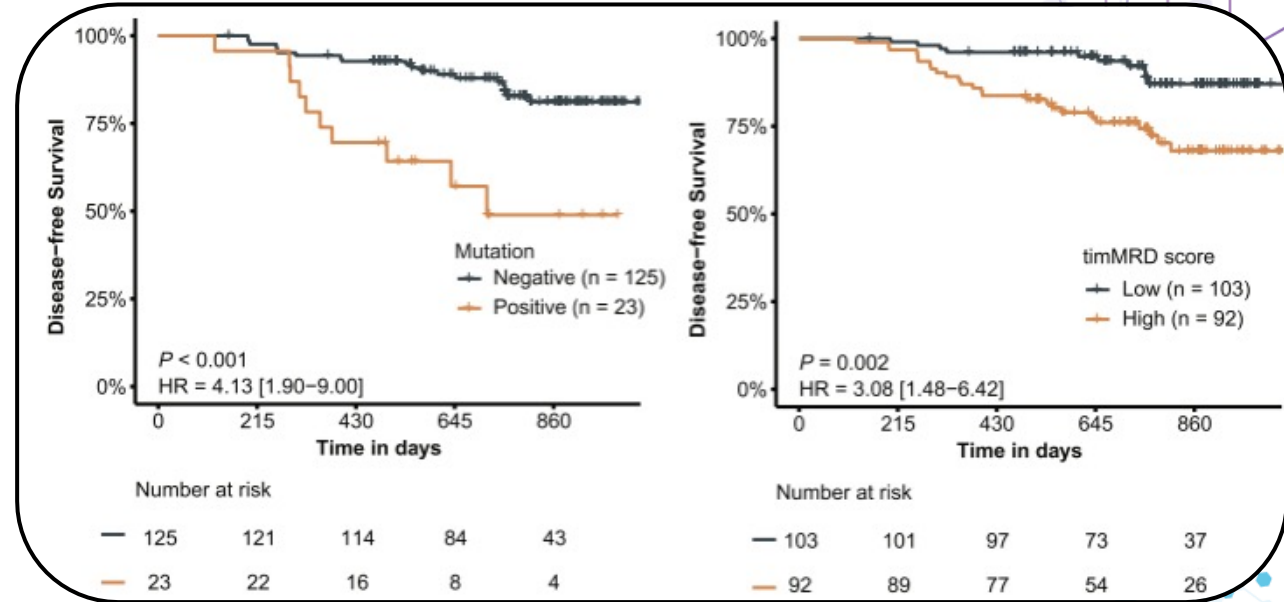
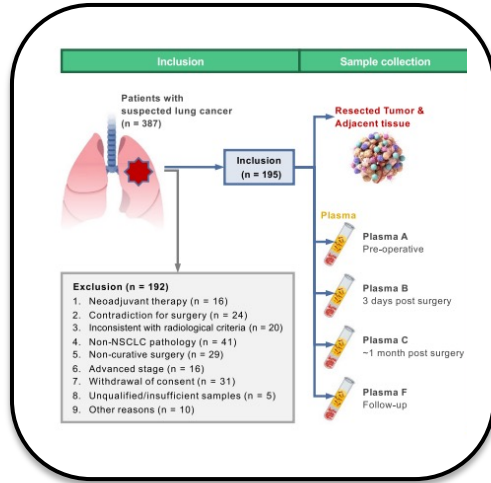
Absence of biomarker

The need is another marker to monitor the biological clinical response

- ➔ Neoadjuvant treatment with limited efficacy: disease progression under treatment
- ➔ Surgery (H1) and adjuvant therapy (J1) effects: release of cells materials after traumatic therapeutic events and potential effectiveness of chemotherapy

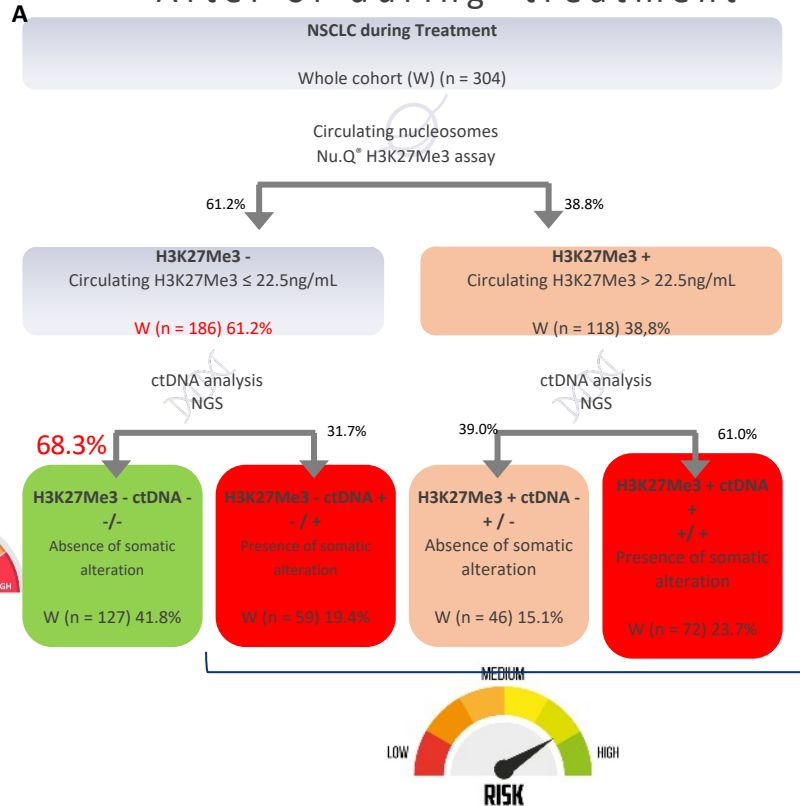
Utilisation en MRD de la BL

LES SIGNATURES ADN_{TC} MÉTHYLÉ



HOW TO STUDY MDR IN PATIENT PLASMA

Non-Small Cell Lung Cancer After or during treatment



Requirement: the quantification of the nucleosome has to be done at baseline to identify patients in which the methylation of H3.1K27 is down regulated into tumor (grade 4)

The tumor must have somatic alteration to monitor

If it is a rare somatic alteration, a personalized detection assay is needed

Putative biomarker to monitor biological minimal residual

Combination with another biomarker

MERCI DE VOTRE ATTENTION

