

AE2BM
 30^e Journées Pédagogiques et Scientifiques
 « **Médecine Personnalisée et Thérapie Ciblées** »
 Lyon 11-12 septembre 2014

Impact sur le Diagnostic et la prise en Charge thérapeutique: Génétique Somatique. Expérience de Gustave Roussy

Dr Ludovic LACROIX
 PharmD., PhD
 Département de Biologie et Pathologie Médicales,
 Service de Pathologie Moléculaire
 & Laboratoire de Recherche Translationnelle






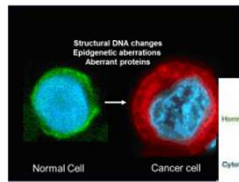


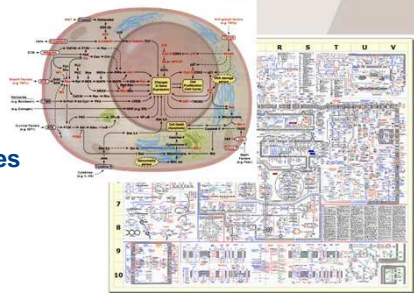

Base de la Médecine de Précision

Un fort besoin médical de nouveaux traitements



Des avancées importantes sur la biologie des cancers et les développements de nouvelles technologies





Les drogues ciblant des voies biologiques impliquées de l'oncogénese fonctionnent.

Une tsunami de nouvelles molécules en cours de développement

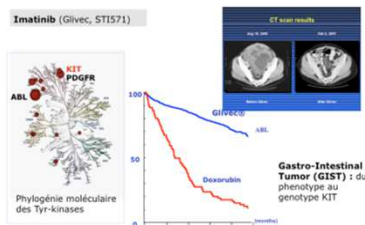
Oncology Products

Category	Market 2011	Development 2016
Targeted	18	67
Cytotoxic	49	27
Hormonal	32	27

2

Preuves de concept (e.g solid tumors)

KIT, Glivec et GIST



Her2, Trastuzumab Breast

Nom	Cible	Mécanisme d'action	Indications cliniques
Trastuzumab (Herceptin®)	HER2 Erb-2	Inhibition de la prolifération et migration cellulaire médiées par HER2	Cancer du sein métastatique (1998)

Réponse Trastuzumab :

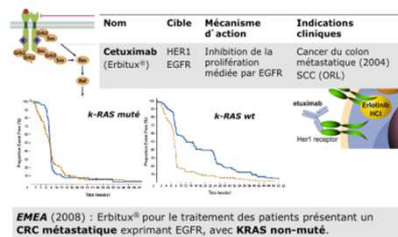
- 10% patientes non sélectionnées
- 35-50% patients HER2+

→ notion de test biologique ou **Test Compagnon** associé au traitement.

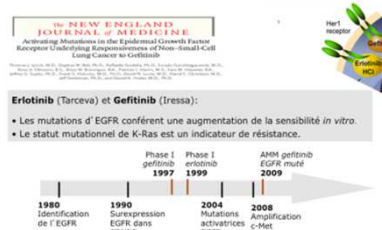
	+	-	Total
Herceptin	216	59	275
Control	59	215	274
Total	274	274	548

Concordance = 79% (76%-82%)

KRAS, Cetuximab & CCR



EGFR, gefitinib/erlotinib & NSCLC



→ Changement de paradigme

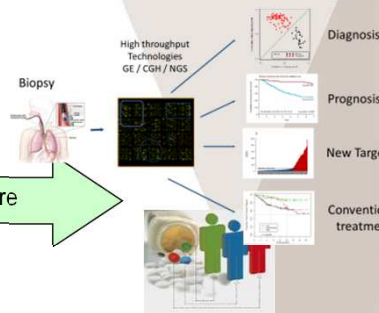


Une tumeur un organe
Un échantillon pathological sample

Biomarqueurs Moléculaire

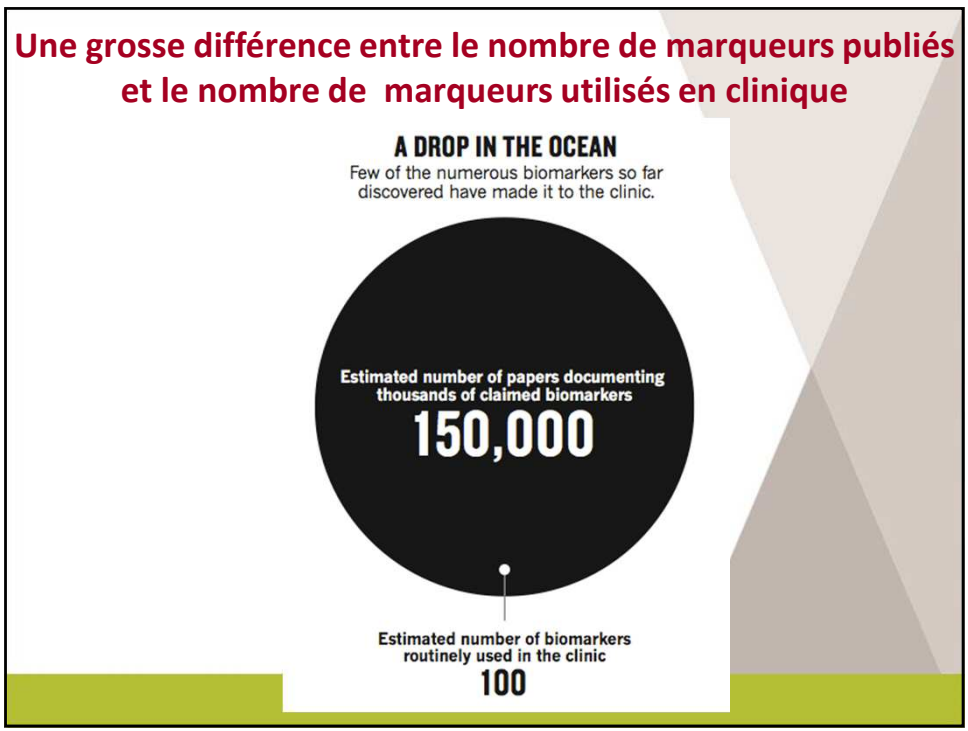
"One size fits all"

Precision Medicine



Théranostique=>Méd. Stratifiée=>Méd. personnalisée=>Méd. de Précision

- Le concept de « **Precision Medicine** » change du paradigme basé sur la **classification** essentiellement **histologique** des cancers vers une **classification moléculaire** des cancers.



The Evaluation of Genomic Applications in Practice and Prevention (EGAPP) initiative: methods of the EGAPP Working Group

Steven M. Teutsch, MD, MPH¹, Linda A. Bradley, PhD², Glenn E. Palomaki, BS³, James E. Haddow, MD⁴, Margaret Piper, PhD⁵, Neil Calonge, MD, MPH⁶, W. David Dotson, PhD^{7*}, Michael P. Douglas, MS^{8*}, and Alfred O. Berg, MD, MPH⁹, Chair, on behalf of the EGAPP Working Group

Validité analytique	Validité Clinique	Utilité Clinique
Validité analytique	Validité Clinique	Utilité Clinique
<p>Mesure fiable et précise d'un biomarqueurs</p> <p>(performance du test, reproductibilité, répétabilité, robustesse, control qualité...)</p>	<p>Association fiable et précise du biomarqueurs avec une situation clinique</p> <p>(valeur Pronostique ou Prédictive)</p>	<p>Association avec une décision pour la prise en charge thérapeutique basée sur les résultats d'un biomarqueurs</p>
	Validé généralement au travers d'études retrospectives ...	Validé généralement au travers d'études prospectives ... d'essais randomisés prospectifs ...ou de meta-analyse d'essais.

Cadre d'application des tests biologiques			
	Recherche	Transfert /Rech.Clin.	Clinique
Objectif	Examen à visée recherche	Examen à visée recherche clinique, perspective d'application clinique	Examen de biologie médicale, acte médical (CSP L. 6211-1)
Phase développement	Concept, faisabilité	Evaluation, Validité	Validité / Utilité clinique
Structure	EPST (INSERM, CNRS, EA, ...)	•EPST, laboratoires hospitaliers, •Laboratoires dédiés RT	laboratoires hospitaliers et secteur privé
Réglementaire	NA	NA	Loi 2013-442 du 30 mai 2013
Assurance Qualité	NA	Non réglementaire : ISO 9001 (CLIA??) – BPL (GLP)	Réglementaire : Accréditation COFRAC ISO-15189 (EEQ, métrologie) (CLIA - US)
Méthodes	« In-house »	« In-house » / RUO	• « In-house » accrédité COFRAC • Equipements, réactifs : marquage CE-IVD
Financement	•Dotation Recherche • Ressources externes (caritatif, industriel, ...)	•Ressources externes (caritatif, industriel, ...) • MIG non reproductible, PHRC, PSTIC	•T2A (CNAMTS) •MIG reproductible (DGOS)
Personne habilitée Responsable	•Chercheur, enseignant-chercheur	•Chercheur, enseignant-chercheur •Praticien hospitalier	•Praticien hospitalier qualifié (DES Bio Med)
	↓	↓	↓
	Recherche Exploration NGS/RNASeq...	Utilisation Recherche Clinique Tests ciblés et NGS	Utilisation Clinique validée Tests ciblés NGS Constit. (et somatique)

Impact des concepts de MP sur le Diagnostic et la prise en charge thérapeutique en Génétique Somatique.	
1.	<p>Mise en place de outils pour la détection des anomalies moléculaires dans le cadre de la prise en charge « standard »</p> <p>= > Organisation du Screening en France dans les laboratoires de diagnostic.</p> <p>= > Continuum Pathologie Morphologique et Pathologie moléculaire.</p>
2.	<p>Mise en place d'approches multiplexes / haut débit dans les condition Cliniques</p> <p>=> compatible avec tous les prélèvements /qualité / délai...</p>
3.	<p>Evolution vers la mise en place d'un concept de MP</p> <p>=> expérience des programmes français de MP</p> <p>=> Validations des approches</p> <p>=> Avoir l'accès au traitements</p>

Croissance d'une « nouvelle discipline »

Organisation des Tests moléculaires en France.



Lancement en **2006** des « plateformes de génétique moléculaire des cancers » supportées par l'INCa,

- Laboratoire Hospitalier (CHR,CHU,CLCC...)
- Fond INCa / DGOS
- Support pour la mise en place de l'AQ – ISO 151689 – CQE
- Support pour le dvpt de biomarqueurs innovants et de nouvelles technologies



www.e-cancer.fr

(rubrique « les Soins »)

Marqueurs prédictifs déterminant l'accès à une thérapie ciblée			Marqueurs orientant le processus diagnostique		
Cancer du sein	Amplification de <i>HER2</i>	Préscription du trastuzumab dans le cancer du sein métastatique et en adjuvant dans le cancer du sein précocé	Suspicion de syndrome myéloprolifératif	Mutation <i>JAK2 V617F</i>	Diagnostic différentiel
		Préscription du trastuzumab en association avec trastuzumab et docetaxol dans le cancer du sein métastatique	Syndrôme de Lynch	Quantification <i>JAK2</i> Instabilité des microsatellites Méthylation du promoteur de <i>MLH1</i> Mutation de <i>BRAF</i>	Suspicion de forme héréditaire de cancer
Cancer gastrique	Amplification de <i>HER2</i>	Préscription du lapatinib dans le cancer du sein métastatique	Marqueurs participant au diagnostic, en complémentarité de paramètres cliniques, morphologiques, biologiques		
Cancer colorectal métastatique	Mutations de <i>KRAS</i>	Préscription du trastuzumab dans le cancer gastrique métastatique	Hémopathies	Caryotype	Aide au diagnostic/ classification en sous-types
GIST (Gastro-intestinal Stromal Tumor)	Mutation de <i>PDGFRA</i>	Préscription du panitumumab et du cetuximab	Lymphomes non hodgkiniens	Anomalies chromosomiques spécifiques Quantification cycline D1	Aide au diagnostic/ classification en sous-types
Cancer du poulmon	Mutations de <i>KRAS*</i> Mutations de <i>BRAF*</i> Mutations de <i>PI3KCA*</i> Mutations de <i>HER2*</i>	Préscription d'imatinib Préscription de crizotinib	Sarcomes	Amplification de <i>MDM2/CDK4</i> Translocations diverses	Aide au diagnostic/ classification en sous-types
			Leucémie lymphoïde chronique (LLC)	Codéletion <i>1p/19q</i> Chromosomes 11q22 Chromosomes 17p13	Lymphomes non hodgkiniens
Mélanome	Mutations de <i>BRAF</i> Mutations de <i>KIT*</i>	Préscription de vemurafenib ou de dabrafenib	Marqueurs pronostiques participant à l'orientation du traitement du patient		
			Glioblastome	Méthylation de <i>MGMT</i>	Sensibilité au temozolomide
Leucémie myéloïde chronique (LMC) / Leucémie aiguë lymphoblastique (LAL)	Translocation de <i>BCR-ABL</i> au diagnostic Détection de <i>BCR-ABL</i> pour le suivi de la maladie résiduelle Mutation d' <i>ABL</i>	Préscription d'imatinib ou de nilotinib en 1 ^{er} ligne de traitement. Résistance à l'imatinib/préscription de dasatinib, de bosutinib ou de ponatinib en 2 ^e ou 3 ^e ligne.	Myélome multiple	Anomalies chromosomiques	Participe à l'orientation du traitement
			Allogreffe de moelle pour les hémopathies	Chimérisme postgreffe	Suivi de la prise de greffe et du rejet
			Marqueurs de suivi		
			LAL/LAM	Quantification de transcrits de fusion Quantification d'anomalies chromosomiques Quantification <i>WT1</i>	Suivi de la maladie
			LAL	Quantification du réarrangement des gènes du TCR ou des Ig Clonalité B/T	Suivi de la maladie résiduelle

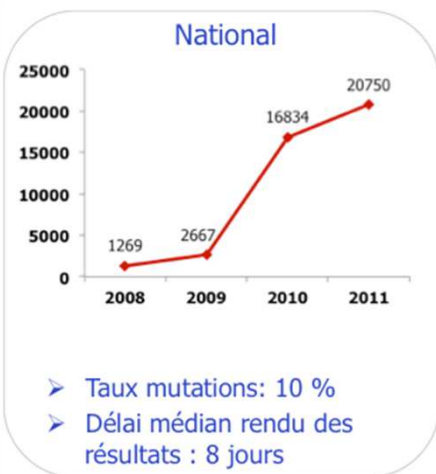
Suivi de 44 tests dans 23 pathologies

78 000 tests déterminants pour l'accès à une thérapie ciblée ont été réalisés en 2012 pour 63 000 patients répartis comme suit :

Pathologie	Biomarqueurs	Nombre de tests
Cancer du sein	Amplification d' <i>HER2</i>	8 853
Cancer de l'estomac	Amplification d' <i>HER2</i>	648
Cancer colorectal	Mutations de <i>KRAS</i>	18 568
GIST	Mutations de <i>KIT</i>	925
	Mutations de <i>PDGFRA</i>	860
Cancer du poumon	Mutations d' <i>EGFR</i>	22 359
	Translocation d' <i>ALK</i>	13 801
Mélanome	Mutation de <i>BRAF V600</i>	4 629
Leucémies	Translocation de <i>BCR-ABL</i>	6 677
	Mutations d' <i>ABL</i>	836
TOTAL PATIENTS		62 659

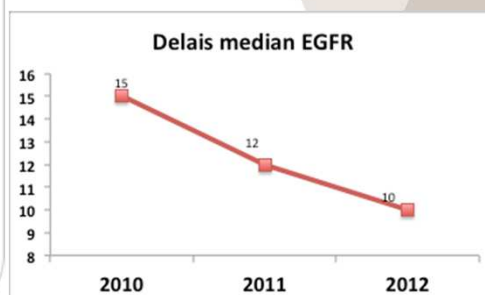
11

Nombre de patients testés *EGFR*

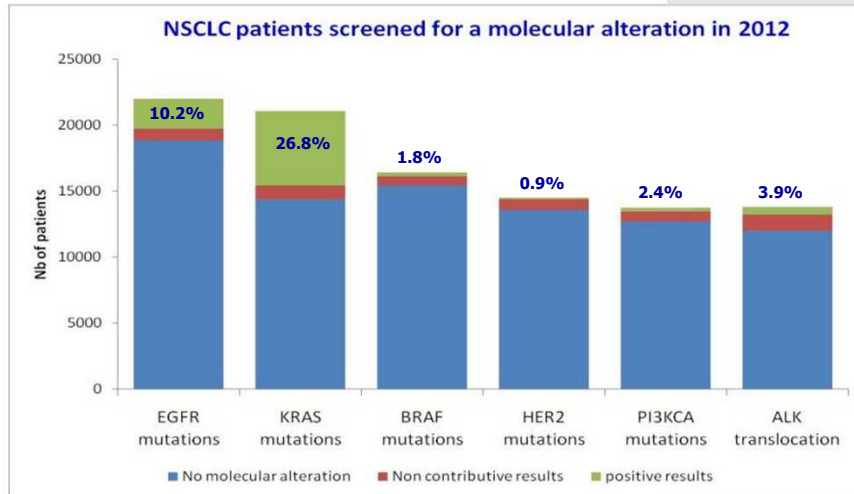


Cancer du poumon Mutations

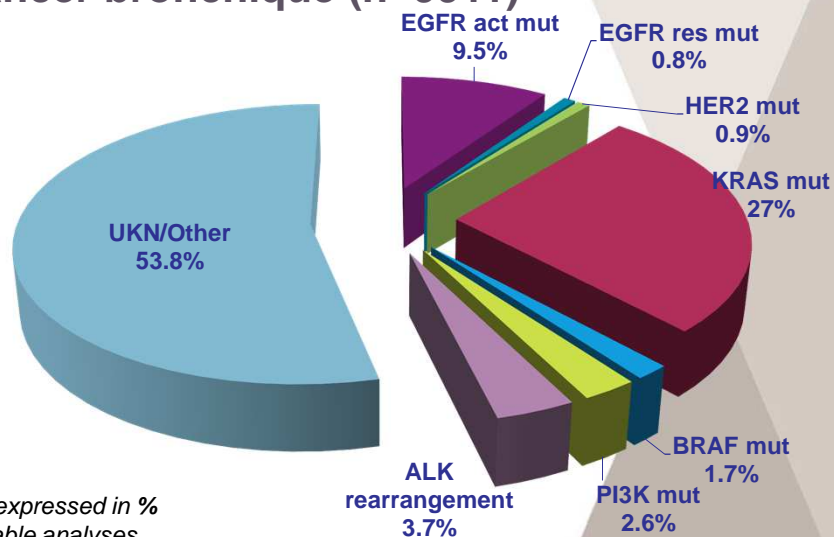
Taux National d'altérations observées (%)



Cancer du poumon (N=22 359)



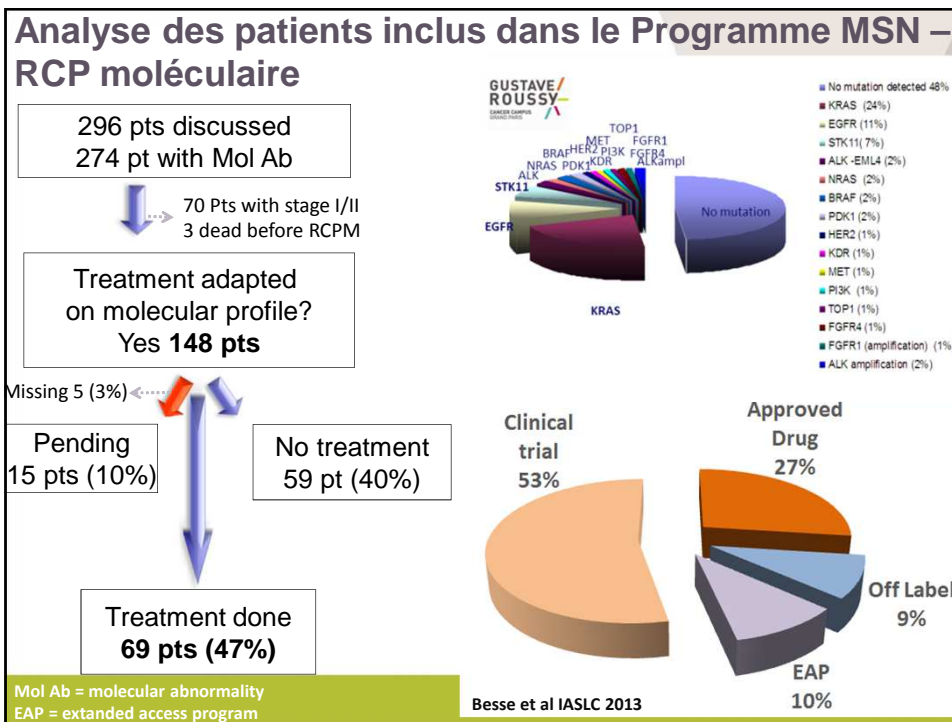
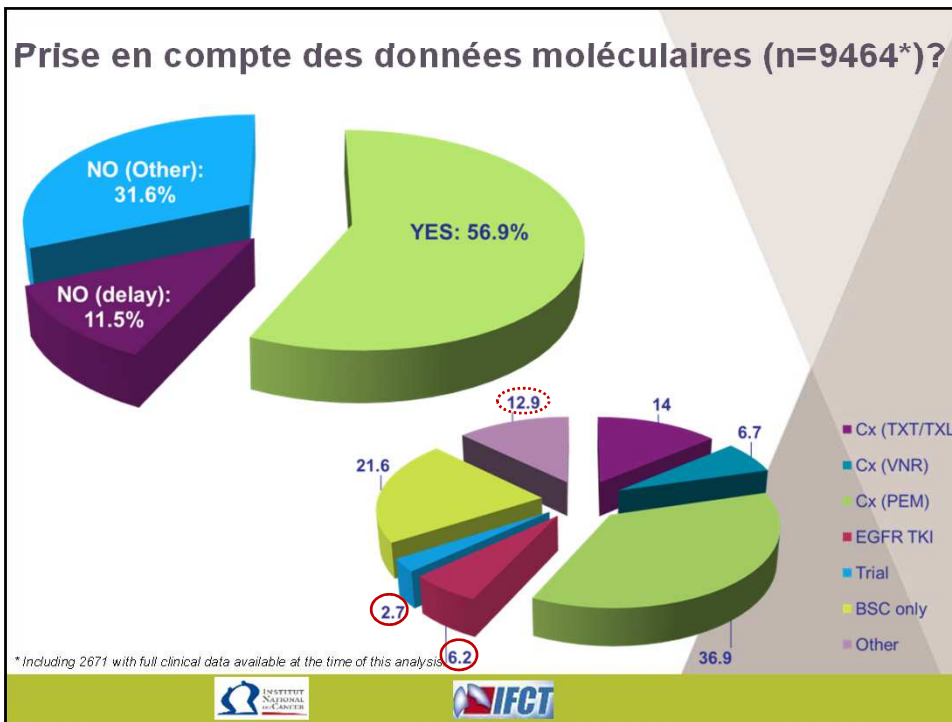
Utilisation des tests théranostiques dans le cancer bronchique (n=9911)



Results expressed in % on available analyses



Barlesi et al, ASCO 2013



Biomarqueurs moléculaires : Limitations

Résultats non-interprétables

% age National De non interprétables

Biomarqueur	ADN non amplifiable (%)	Bloc épuisé (%)	% de cellules tumorales < seuil de détection (%)
EGFRact	3.0	1.0	6.0
EGFRres	3.0	1.0	6.0
KRAS	4.0	1.0	5.0
BRAF	3.0	1.0	4.0
PI3NCA	3.0	3.0	5.0
HER2	3.0	1.0	5.0
ALK(FISH)	8.0	0.0	6.0

- Les taux de résultats non interprétables ont légèrement diminué depuis le début du programme
- Taux de NI élevé pour le test ALK en FISH (14%)

Le bon prélèvement ?

Primitif ou Métastases (synchrones ou métachrones)

Au diagnostic

Après rechutes aux traitements

Développement d'une « nouvelle discipline » en Biologie Médicale.


standardisation et Assurance Qualité

- **Définition de recommandations spécifiques**
 - Pour la détections de mutations dans le tumeur;
 - Pour l'organisation/prescription des tests moléculaires
 - Pour la rédaction des Compte Rendus d'analyse.
- **Mise en place de control qualité national pour les plateformes :**
 - 2011 : KRAS and EGFR mutation screening
 - 2012 : BRAF mutation screening (Gen&Tiss)
- **Recommandation pour la validation des méthodes en accord avec les besoins de l'accréditation ISO 15189 / COFRAC**

Programme Inca pour l'innovation – séquençage de nouvelle génération.

➤ Préparer l'implémentation nationale du **NGS à visée diagnostique** dans les laboratoires d'oncogénétique constitutionnelle et les plateformes de génétique moléculaire, en mettant en place une phase pilote sur un nombre limité de laboratoires.

1 projet avec 3 volets distincts :



INSTITUT NATIONAL DU CANCER

Implémentation du NGS dans les laboratoires

Estimation de l'impact économique du NGS

Constitution d'équipes référentes en bioinformatique

Institut National du Cancer – 20 mars 2013

Listes de gènes recommandées

Tumeurs Solides

➤ 16 gènes

gène	Exons / hotspots
AKT1	3
ALK	23+24+25
BRAF	11+15
EGFR	18+19+20+21
ERBB2 (HER2)	20
ERBB4	E452K et R393W
FGFR2	S252, N549, K659
FGFR3	7+9+14 (R248 à S249 et G370 à Y373)
HRAS	2+3+4
KIT	8+9+11+13+17+18
KRAS	2+3+4
MAP2K1 (MEK1)	2
MET	2 + 14 à 20
NRAS	2+3+4
PDGFRA	12+14+18
PIK3CA	9 + 20

Lymphomes SMP

➤ 14 gènes

gène	Pathologie	Exons / hotspots
ATM	CLL	full
BIRC3	CLL, SMZL	6+7+8+9
BRAF	DLBCL, HCL	15
CARD11	DLBCL	4+5+6+7+8+9
CD79A	DLBCL	5
CD79B	DLBCL	5
EZH2	DLBCL	17
FBXW7	CLL, SMZL	9+10+11
MYD88	WM, DLBCL, SMZL, CLL	3+4+5
NOTCH1	CLL, MCL, DLBCL, SMZL	34
NOTCH2	SMZL, DLBCL	26+27+28+34
SF3B1	CLL	14+15+16+17+18
TNFAIP3	MCL, WM, DLBCL	full
TP53	CLL, DLBCL	full sauf exon1

Leucémies

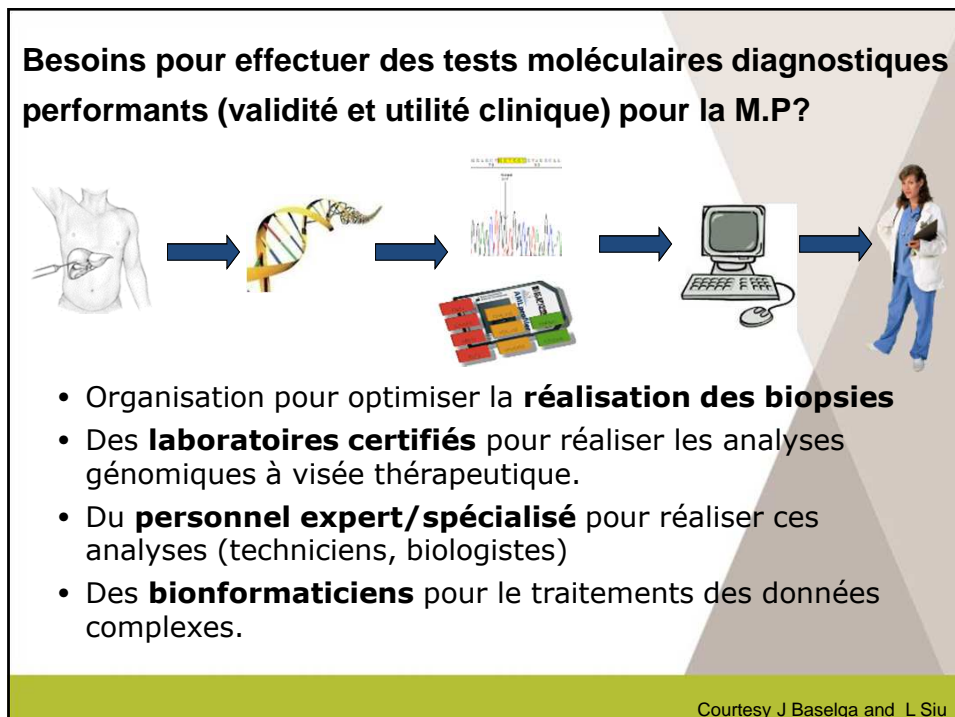
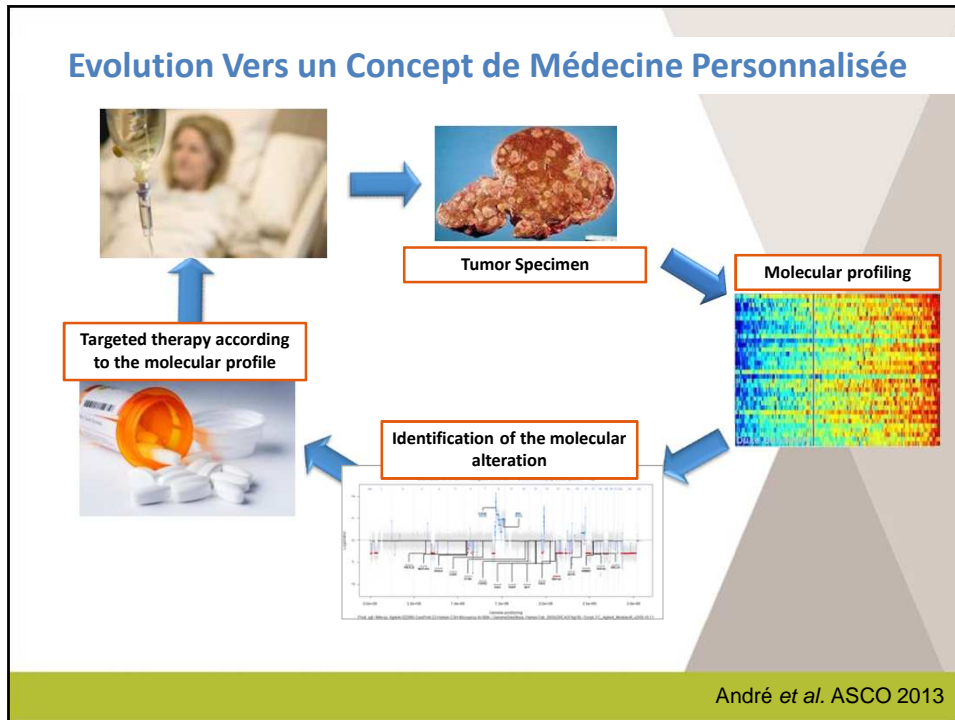
➤ 24 gènes

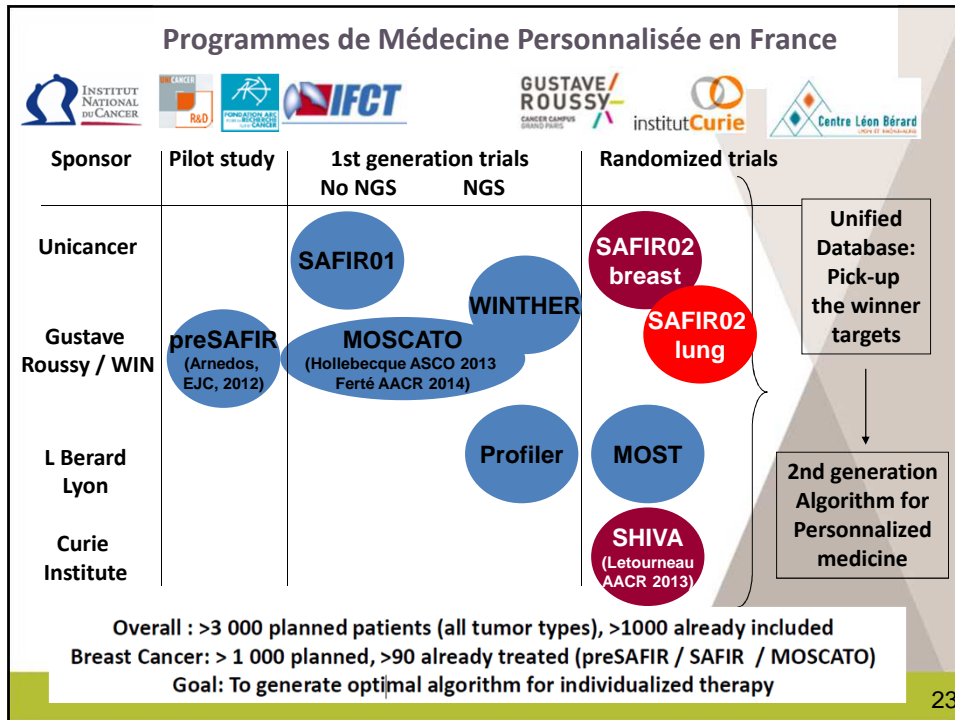
gène	Pathologie	Exons / hotspots
ASXL1	AML, MDS, MPN, CMML	12
CBL	AML, MDS, MPN, CMML	8+9
CEBPA	AML	Full
DNMT3A	AML, MDS, ALL?	Full
ETV6	AML	Full
EZH2	MPN, MDS	Full
FBXW7	ALL	9+10+11
IDH1	AML, MDS	4
IDH2	AML, MDS	4
JAK2	AML, MPN, MDS	12+14
KIT	Mast cell Neoplasm, MPN, AML	9+10+11+17
KRAS	AML, MDS, CMML, ALL	2 + 3
MPL	MPN, MDS	10
VOTCH1	ALL	26+27+28+34
VPM1	AML, MDS	12
VRAS	AML, MDS, JCMML, ALL	2+3
PTEN	ALL, AML	5+7
TPN11	AML, JCMML	3+13
RUNX1	AML, MDS, CMML, ALL	full sauf 1 et 2
SF3B1	AML, MDS, MPN, CMML	13+14+15+16
IRS2	AML, MDS, CMML	1
TET2	AML, MDS, MPN, CMML	Full
TP53	AML, MDS, MPN, CMML, ALL	Full sauf exon1
JZAF1	AML, MDS, CMML	2 + 6

=>Théranostique

=>Méd. Stratifiée

=>M.Personnalisée





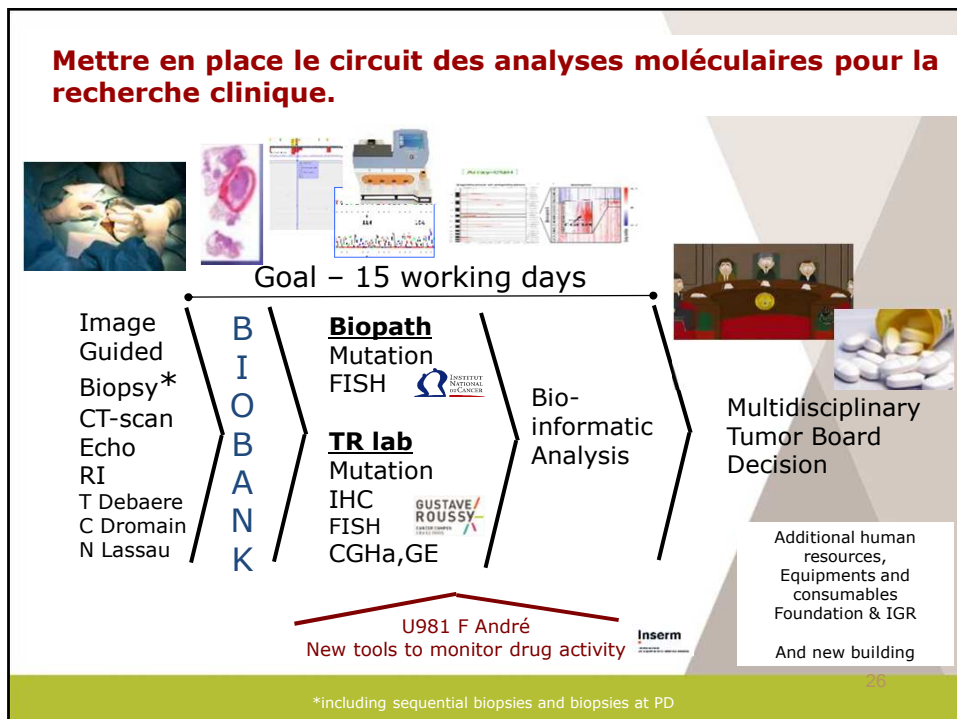
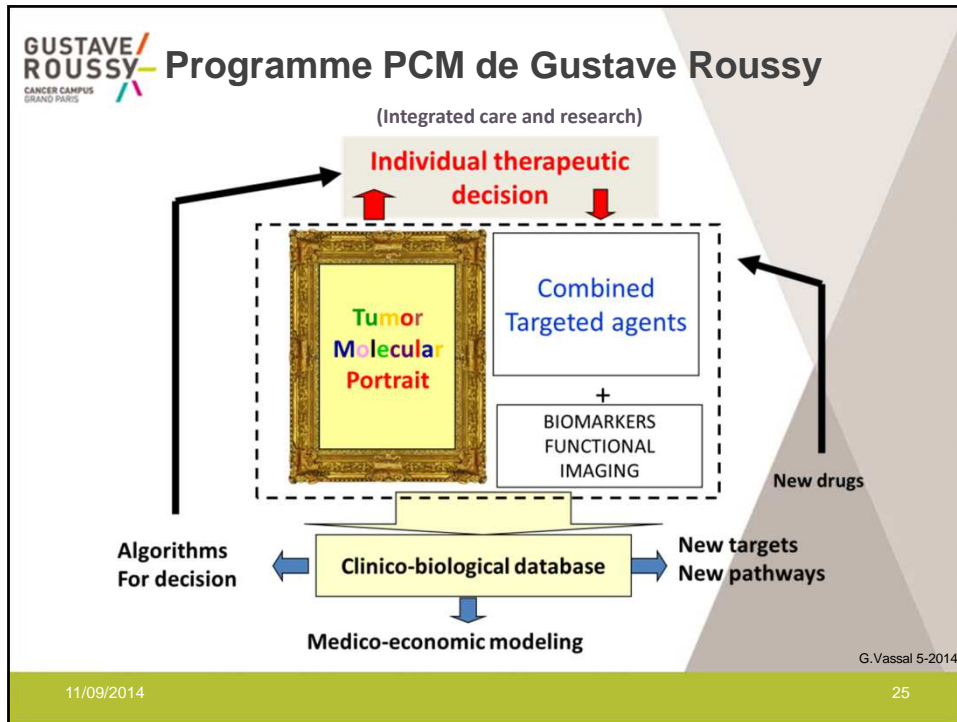
Programme « Médecine Personnalisée des Cancers » (PCM)

GUSTAVE ROUSSY
CANCER CAMPUS GRAND PARIS

- Début 2010
- Objectifs:
 - « Faire la preuve du concept en situation de Recherche Clinique »
 - > Un portefeuille d'essais cliniques (266)
 - > Un portrait moléculaire tumoral dans des **conditions** compatibles avec la **Recherche Clinique**:
 - Validation technique et biologique des résultats,
 - CR individualisés pour les RCP,
 - Analyses réalisées en 15 jours.
 - > Installer le *next generation sequencing* (NGS)
 - > Une **base de données** clinico biologiques

G.Vassal 5-2014

11/09/2014
24



→ Utilisation de la CGH array

CGH-array 180K -Whole Genome Coverage (Agilent Technologies)

(Reference) Total Genomic DNA (Experimental) Total Genomic DNA

Agilent gDNA labeling kit

DNA-Cy3 DNA-Cy5

Agilent CGH Microarrays

X: log₂ Ratios

Y: Chromosome location

-DNA amount needed : 500ng
 -Software : feature extraction
 -Sensibility : >30% tum.cell.
 -Treshold: 2logratio
 -Confirmation : FISH on-demand

FGFR1 amplification
 Target identification

11/09/2014 27

→ Méthodes de NGS (PGM/ionTorrent)

Hotspot gene sequencing (46/50/75 genes)

Multiplex PCR
 >100 amplicons
 AmpliseqV2
 DNA
 10-50ng
 From Frozen
 Or FFPE

Clonal amplification ▶ emPCR

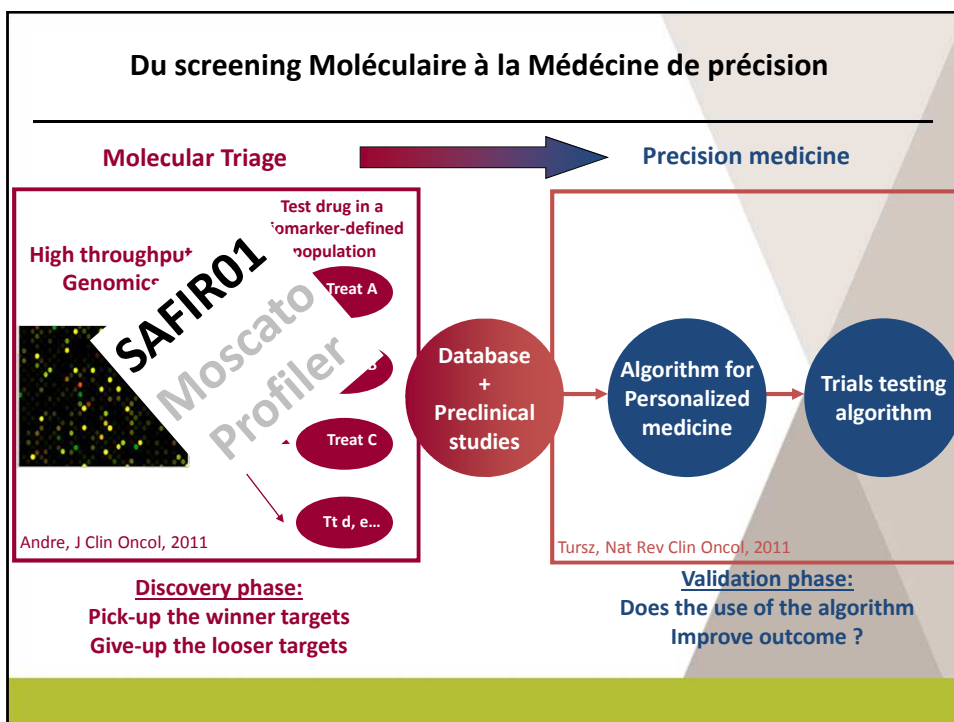
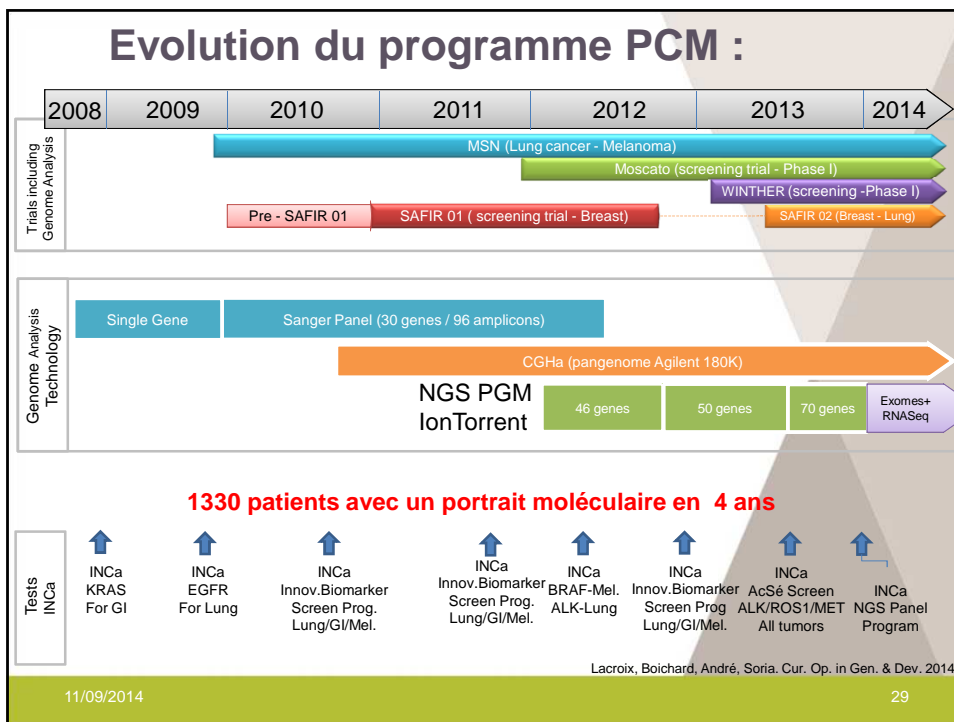
IonTorrent
 200bp reads

Sequencing ▶ pH variation

Torrent_Suite v2.3
 Alamut v2.2
 variants freq.>10%,
 confirmed by Sanger Sequencing

Normalized Report
 For Tumor board
 discussion

11/09/2014 28



SAFIR01 study: A molecular screening trial



Array CGH and DNA sequencing to personalize targeted treatment of metastatic breast cancer (MBC) patients (pts): A prospective multicentric trial (SAFIR01)

Fabrice Andre, Thomas Bachelot, Mario Campone, Monica Arnedos, Veronique Dieras, Magali Lacroix-Triki, Vladimir Lazar, David Gentien, Pascale Cohen, Anthony Goncalves, Ludovic Lacroix, Max Chaffanet, Florence Dalenc, Marie-Christine Mathieu, Ivan Bieche, Sylviane Olschwang, Qing Wang, Frederic Commo, Marta Jimenez, Herve R. Bonnefoi
+ Thomas Filleron and Stefan Michiels

Institut Gustave Roussy, Villejuif, France; Centre Léon Bérard, Lyon, France; Institut de Cancérologie de l'Ouest/René Gauducheau, Saint-Herblain, France; Institut Curie, Paris, France; Institut Claudius Regaud, Toulouse, France; Institut Paoli Calmettes, Marseille, France; Institut Curie - Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud, France; Unicancer, Paris, France; Institut Bergonie Cancer Center, Bordeaux, France

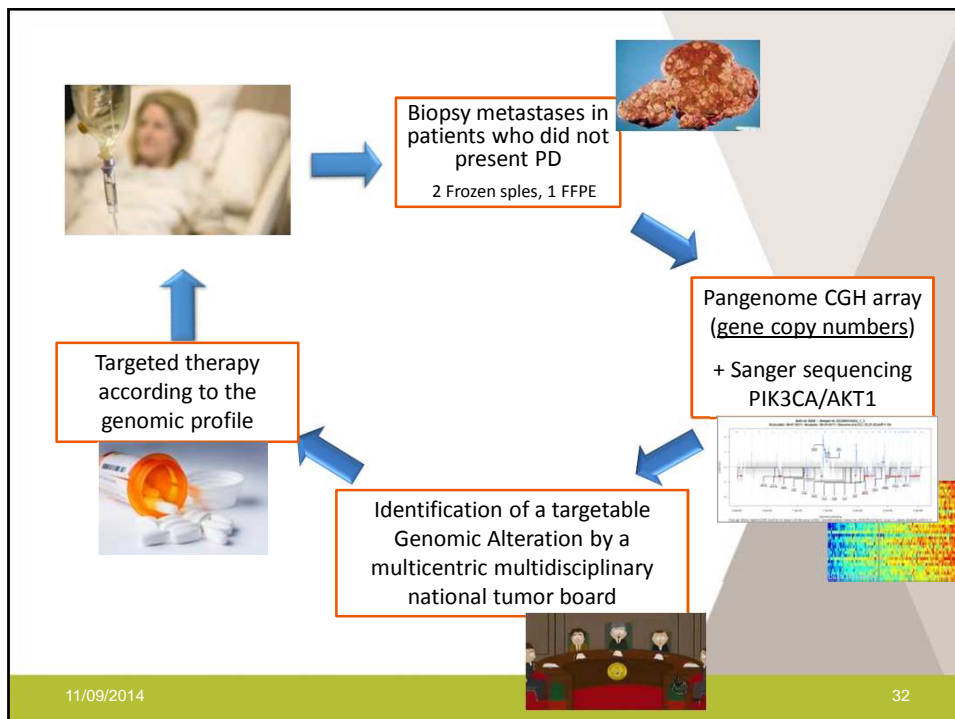


André et al. 2014
THE LANCET Oncology



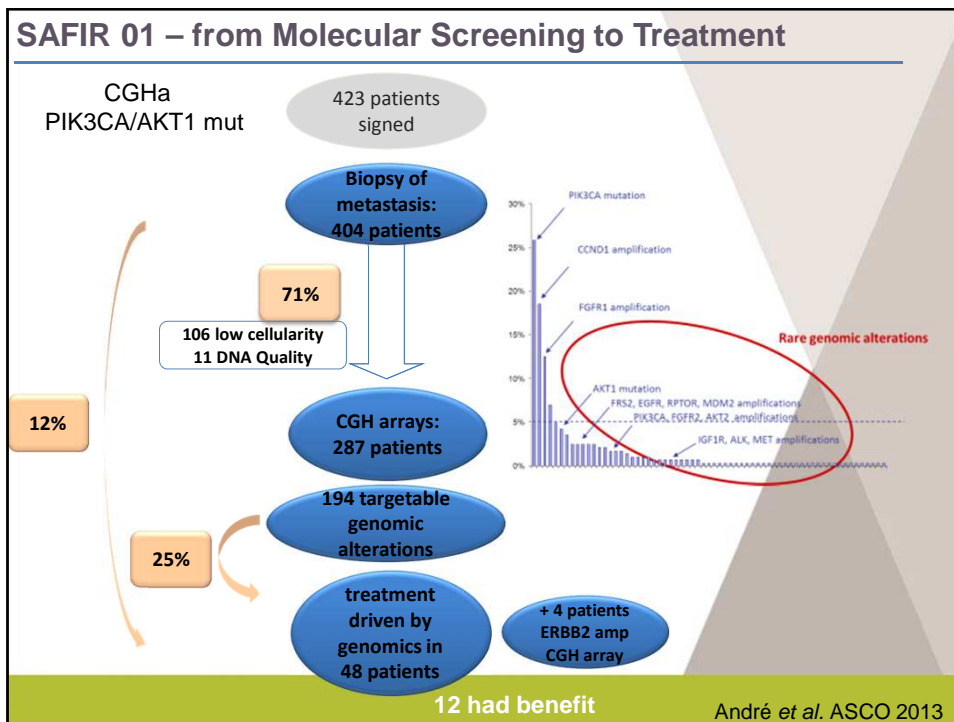
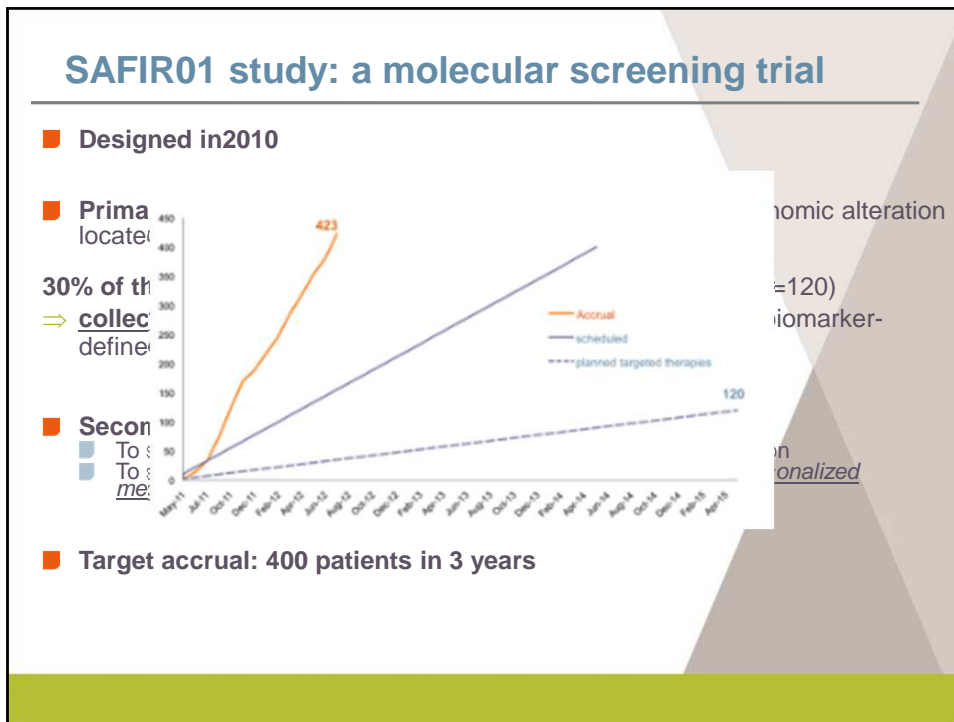
9/11/2014

31

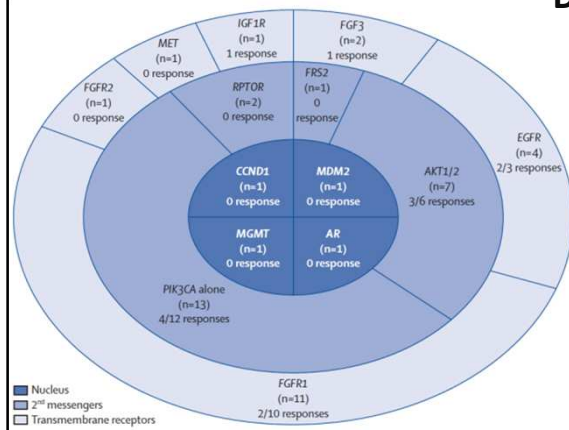


11/09/2014

32



Caractéristiques des 48 Pts Traités



Disease Rate Control =28%
 (4 Ob.R 9% +8 SD>16w 19%)

Heavily pretreated,
 highly aggressive disease

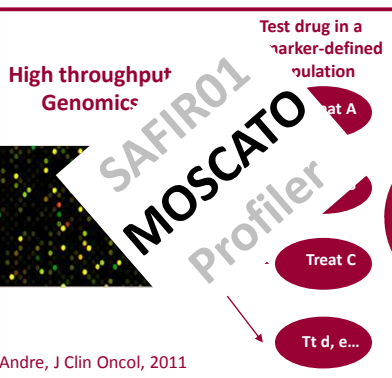
60% Liver mets
 53% >2 CT lines

Targets picked-up: EGFR amplification, AKT gene alteration, FGF-amplified BC, IGF1R amplification

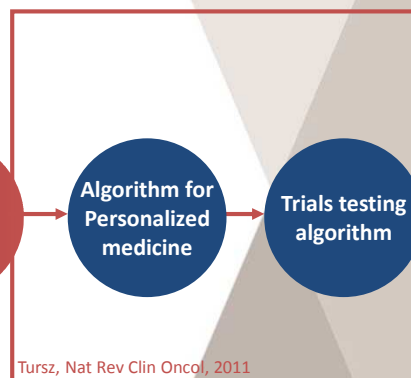
From Molecular screening to Precision medicine

Molecular triage


Precision medicine



Discovery phase:
 Pick-up the winner targets
 Give-up the loser targets



Validation phase:
 Does the use of the algorithm
 Improve outcome ?



Hollebeque A et al. ASCO 2013

Ferté C et al. ASCO 2014

Goeger B. et al. ASCO 2014

Molecular Screening for Cancer Treatment Optimization (MOSCATO 01): a prospective molecular triage trial.

Interim analysis of 420 patients

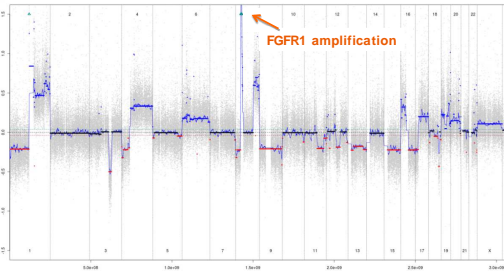
Charles Ferté, Christophe Massard, Ecaterina Ileana, Antoine Hollebecque, Ludovic Lacroix, Samy Ammari, Maud Ngo-Camus, Rastislav Bahleda, Anas Gazzah, Andrea Varga, Sophie Postel-Vinay, Yohann Loriot, Nathalie Auger, Valerie Koubi-Pick, Bastien Job, Thierry De Baere, Frederic Deschamps, Philippe Vielh, Vladimir Lazar, Marie-Cécile Le Deley, Catherine Richon, Vincent Ribrag, Eric Deutsch, Eric Angevin, Gilles Vassal, Alexander Eggermont, Fabrice André, Jean-Charles Soria

- **Prospective** molecular screening program to **optimize the decision-making** for patients susceptible to be enrolled in early clinical trials
- **Monocentric** (Gustave Roussy)
- Target Accrual = **900 patients** (currently 600)

37

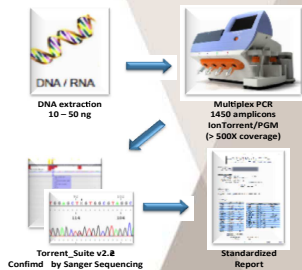
High-throughput molecular profiling using ‘on-purpose’ biopsies

CGH array Agilent
(180K, Whole genome coverage)

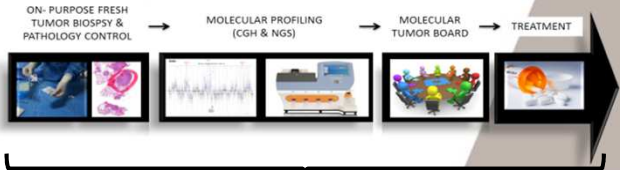


+

Ion Torrent PGM – Life Technologies
(Ampliseq CHP2 + custom n=74 genes, Dec 2013)



ON- PURPOSE FRESH TUMOR BIOPSY & PATHOLOGY CONTROL → MOLECULAR PROFILING (CGH & NGS) → MOLECULAR TUMOR BOARD → TREATMENT



2 weeks

- **Inclusion Criteria : Eligible for phase I/II trials**
- **Primary Objective: To show that whole genome approach improves outcome**
 - ✓ **Statistical hypothesis: > 25% of patients treated according to their genomic alteration will experience a clinical benefit defined by a PFS ratio > 1.3**

The diagram illustrates the primary objective. It shows a sequence of treatments: 'Standard Therapy' (green box) followed by 'Relevant Molecular Targeted Agent (MOSCATO)' (red arrow). Blue arrows labeled 'Tumor Progression' point to the end of each treatment phase. To the right, a ratio is calculated as $\frac{\text{PFS 2}}{\text{PFS 1}} > 1.3$, where PFS 2 is in red and PFS 1 is in green.

- **Secondary Objectives**
 - ✓ To assess the feasibility of this approach
 - ✓ To improve tumor response
 - ✓ To assess the percentage of patients treated with a selected therapy
 - ✓ To assess the frequency of genomic alterations
 - ✓ To speed-up drug development through enrichment of trials in biomarker-defined patients (stratified medicine)

Patients characteristics (Interim)

- **420 advanced or metastatic cancer patients**
- **Median previous lines = 3 (range: 1-9)**
- **Distribution of the tumor types:**

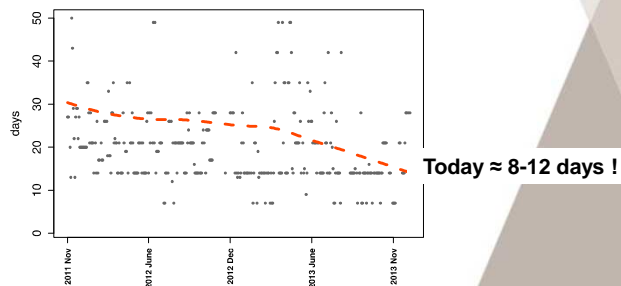
Tumor Type	Frequency (N)
HNSCC	50
NSCLC	45
Prostate	35
Colorectal	30
Breast	28
Bladder	25
Ovary	22
Renal	20
Gastric	18
Pancreas	15
Thymic carcinoma	12
Endometrial	10
UK	8
Bone	7
Cervix	6
Mesothelioma	5
Testis	4
Thyroid	3
Urothelial	2
Liver	2
Neuroendocrine	2
CNS	2
Oesophageal	1
Small intestine	1
Peritone	1
SCLC	1
UCNT	1
Anal	1
Lymphoma	1
Melanoma	1
Vaginal	1

Of note, were excluded:

- > EGFR TKI naïve NSCLC patients with EGFR mutation, Crizotinib naïve ALK translocated NSCLC pts
- > Endocrine therapy naïve breast cancer patients with ER/PR positive expression
- > BRAF inhibitor naïve melanoma patients with BRAF V600E mutation
- > Anti-EGFR naïve colorectal cancer patients with KRAS and NRAS wild-type mutation profiles
- > Anti-HER2 naïve breast and gastric cancer pts with HER2 + status

Amélioration/Evolution des tests moléculaires

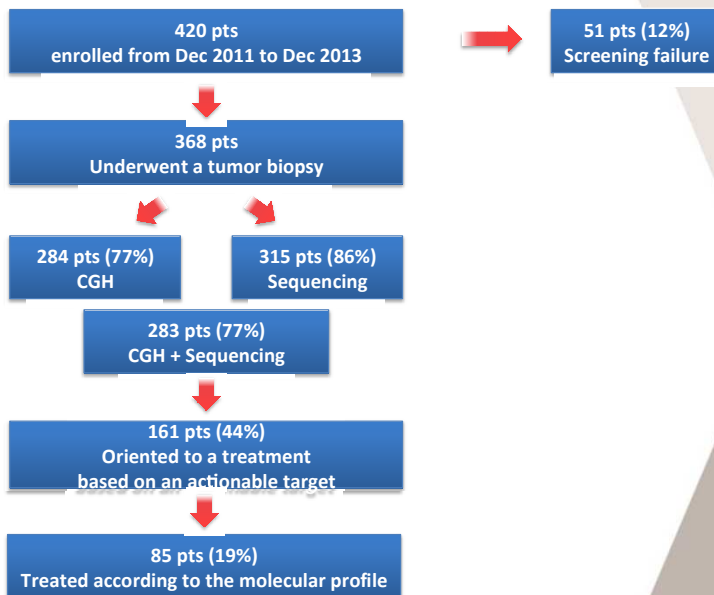
- **Evolution des analyses**
 - > 96 amplicons à >1300 amplicons
 - > 30 gènes évolués puis 50 puis 75 gènes
- **Amélioration des délais de rendus**



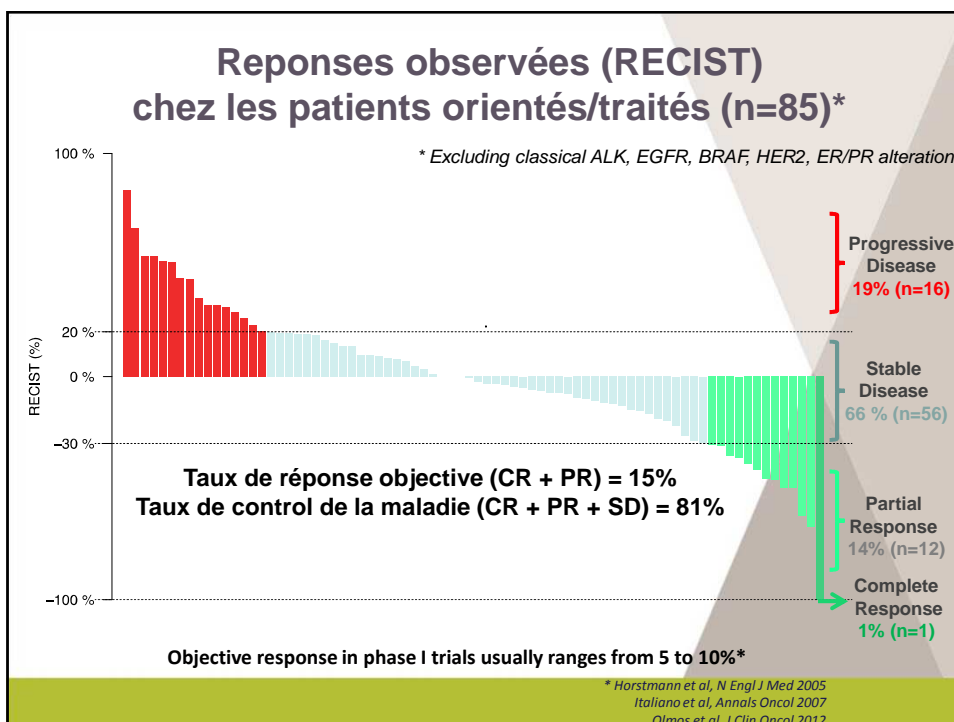
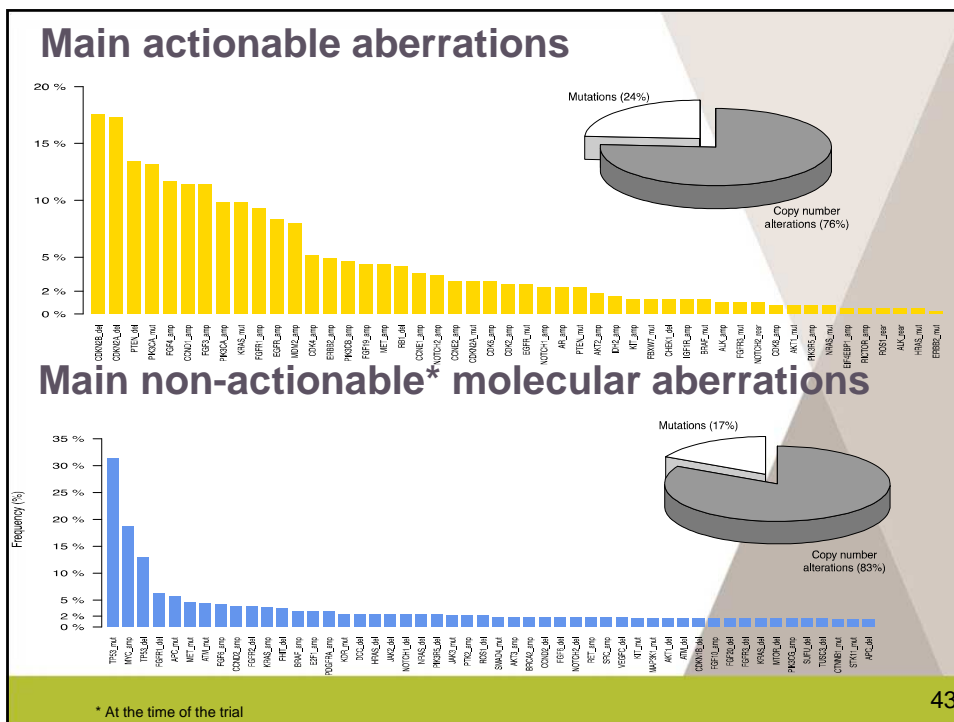
Temps entre la réalisation de la Biopsie et la discussion en RCP

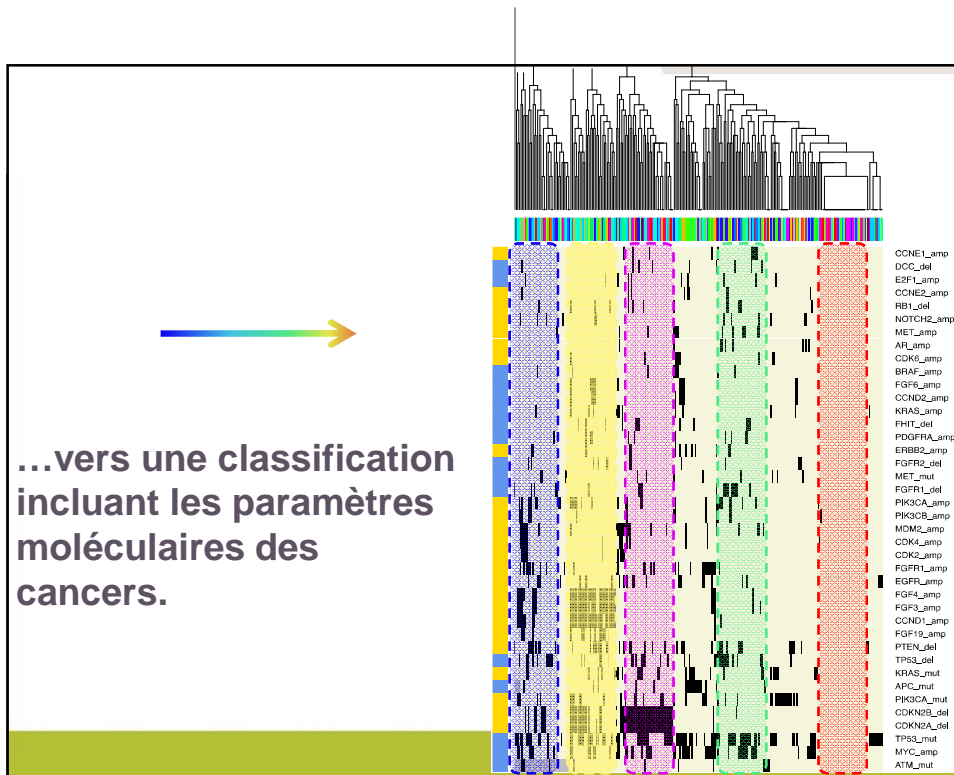
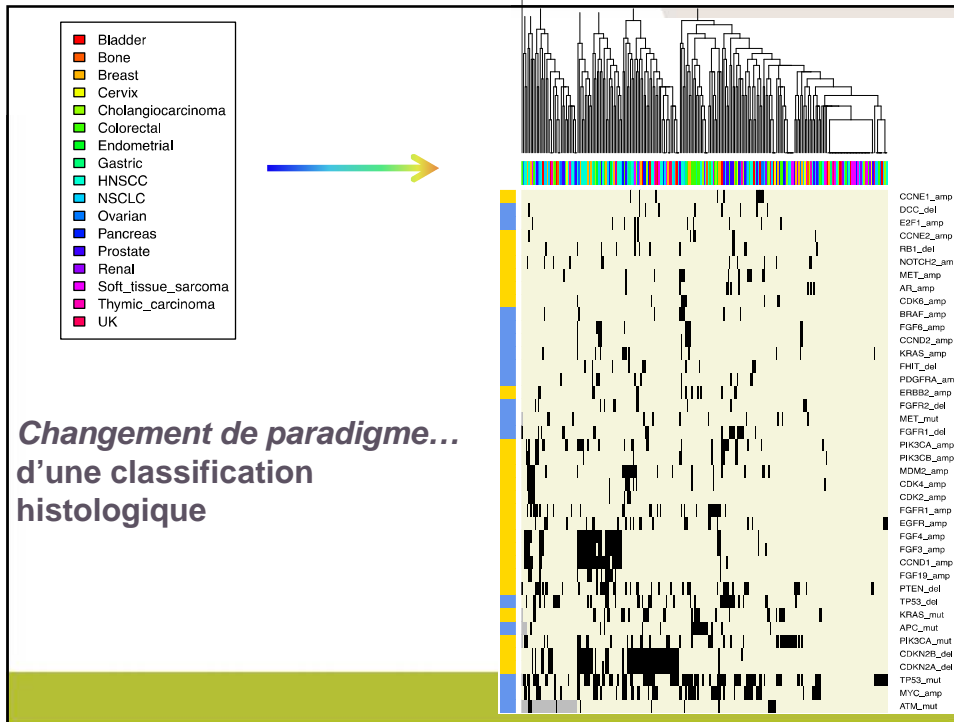
41

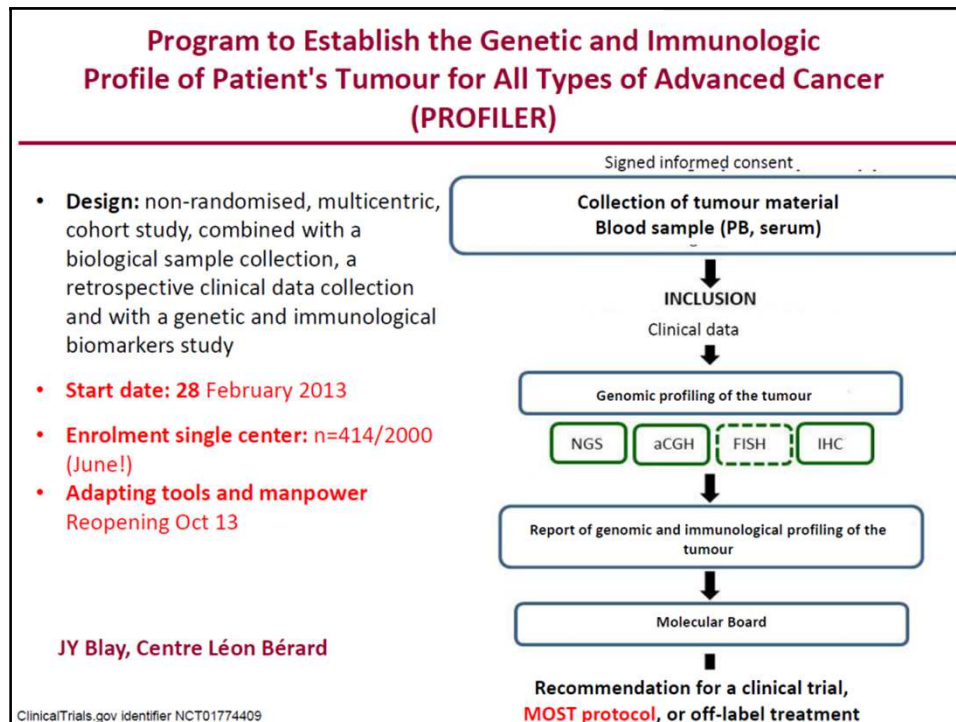
General flowchart



42







Les leçons du *screening* moléculaires

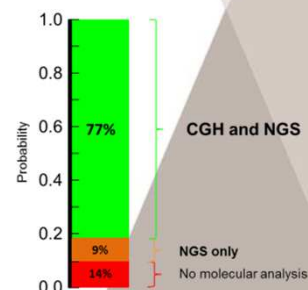
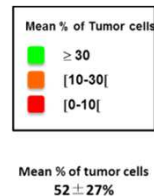
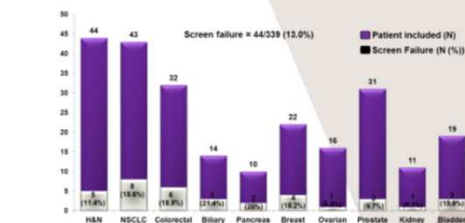
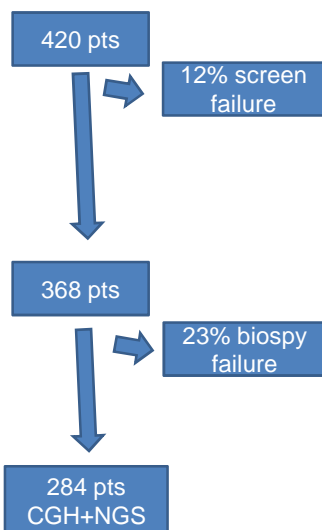
- Les méthodes “haut-débit” d’analyse génomique à partir de biopsies sont **réalisables** dans les **conditions cliniques** pour l’orientation vers les essais thérapeutiques.
- Les informations issus du **NGS** et des **CGHa** sont **complémentaires** pour identifier un grand nombre d’anomalies moléculaires cible « rares ».
- **L’enrichissement des essais cliniques précoces** avec les patients porteur d’anomalies moléculaires spécifiques a une influence majeur sur les **stratégies de développement** des nouvelles molécules.
- Des **réponses sont observées** suggérant la valeur ajoutée de l’approche MP sans pour autant être formellement démontré....

Les leçons du *screening* moléculaires

- Un grand enthousiasme est observé pour ces programmes de MP.
- Les programmes de Screening Moléculaire permettent d'enrichir les base de données pour le développement de nouveaux algorithmes de MP.
- Ces programmes Prospectifs permettent la constitution de collections unique de métastases avec les principale données moléculaires et les information cliniques extensives correspondantes.
- **Mais de nombreux points doivent être résolus:**
 - Comment augmenter le taux de biopsies utilisables?
 - Comment augmenter les nombres d'information moléculaires d'intérêts?
 - Il est nécessaire d'améliorer l'accès au traitement.
 - Il faut encore démontrer la validité clinique de l'approche
 - Les données entre les différents essais doivent être intégré pour augmenter la puissance d'analyse.

49

Augmenter le taux de biopsies utilisables...



50

augmenter les nombres d'information moléculaires d'intérêts

284 pts
CGH+NGS

↓

161 pts
44%

43% with non target

Mutations (24%)
Copy number alterations (76%)

Whole Exome sequencing of 11 cases with no mutation+ flat CGHa

- 1/11 Cas une anomalie d'intéret
- ⇒ Aller plus loin que l'exome et le NGS:
- WES+RNAseq : SNV/indels + CNV + fusion ...expression..

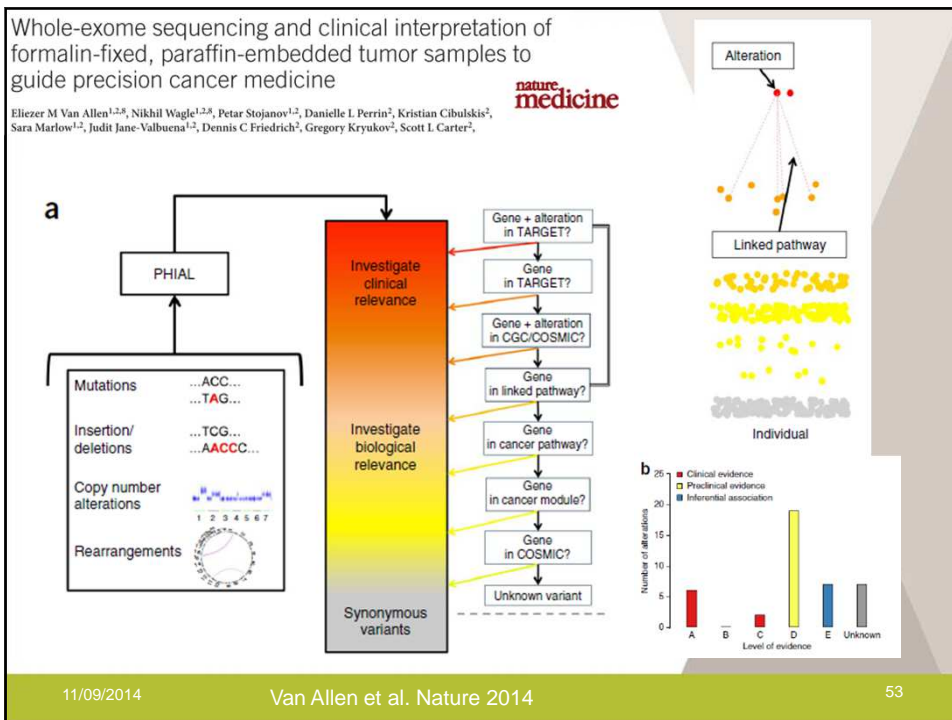
51

Déficits pour la mise en place des analyses WES en conditions cliniques

Current approach		WES challenges
Frozen or FFPE samples ~100 nanograms of DNA > 10% tumor cells	Sample preparation	Frozen Samples only ~ 1 microgram >30% tumor cells
multiplex PCR 1 day for preparation	Library preparation	Capture approach Variable target coverage 2-3 days
High sequencing depth (>500X) Few hours (with benchtop sequencers)	Sequencing	Few days limited sequencing depth (50-100x)
Few hours limit of detection : 5-10%	Bioinformatics Analysis	Days or Weeks Limit of detection : ~20%
hours Limited number of variants Mostly known Hotspot variants	Clinical Molecular Report	Days Several dozen variants Several unknown variants Biological Complexity
Full process : 1 to 2 weeks Stable report (mainly known variants)		Full process : Weeks/Month Dynamic reanalysis possible with evolving knowledge

Lacroix, Boichard, André, Soria. Cur. Op. in Gen. & Dev. 2014

52



→ **Séquençage Illumina WES/RNAseq** **INTEGRAGEN**

Sequénçage exome entier

Capture Exons

DNA/RNA
500ng
Frozen

Hybridization (bind target sequences)
Targets Non-targets
Capture DNA
Elute
Sequencing

NextSeq500
100Bp

Cycle 1: Add sequencing reagents
First base incorporated
Remove unincorporated bases
Detect signal
Cycle 2-n: Add sequencing reagents and repeat

Integragen Pipeline (OSCAR)
Pour SNV, CNV, Fusion detection

Normalized Report
For Tumor board discussion

11/09/2014

INTEGRAGEN **GUSTAVE ROUSSY**
CANCER CAMPUS GRAND PARIS

Public-Private Collaboration to set-up WES+RNASeq clinical testing


INTEGRAGEN **Oscar**

GUSTAVE ROUSSY





1. Le Laboratoire de RT sélectionne et prépare les échantillons
2. La demande est formalisée
3. IntegraGen reçoit les acides nucléiques, valide le contrôle qualité
4. La préparation est effectuée en vue du séquençage
5. Séquençage sur la plateforme
6. Les résultats sont analysés et mis à disposition
7. Oscar permet la visualisation et l'analyse par le biologiste
8. Les v. d'intérêt sont mis en évidence par le biologiste
9. Le RT valide la variants

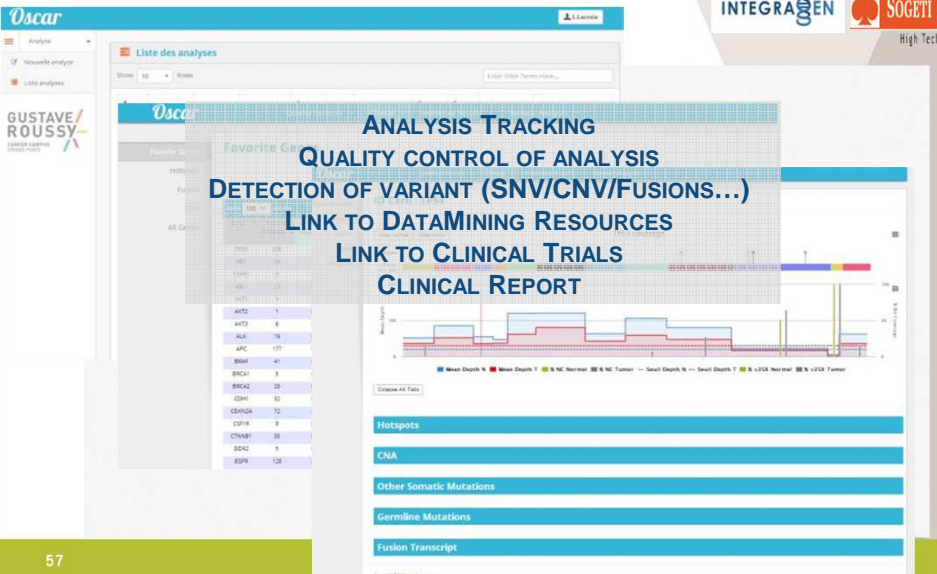
56

Development of Analysis Tool : ICE (INTERPRETATION OF CLINICAL EXOME)

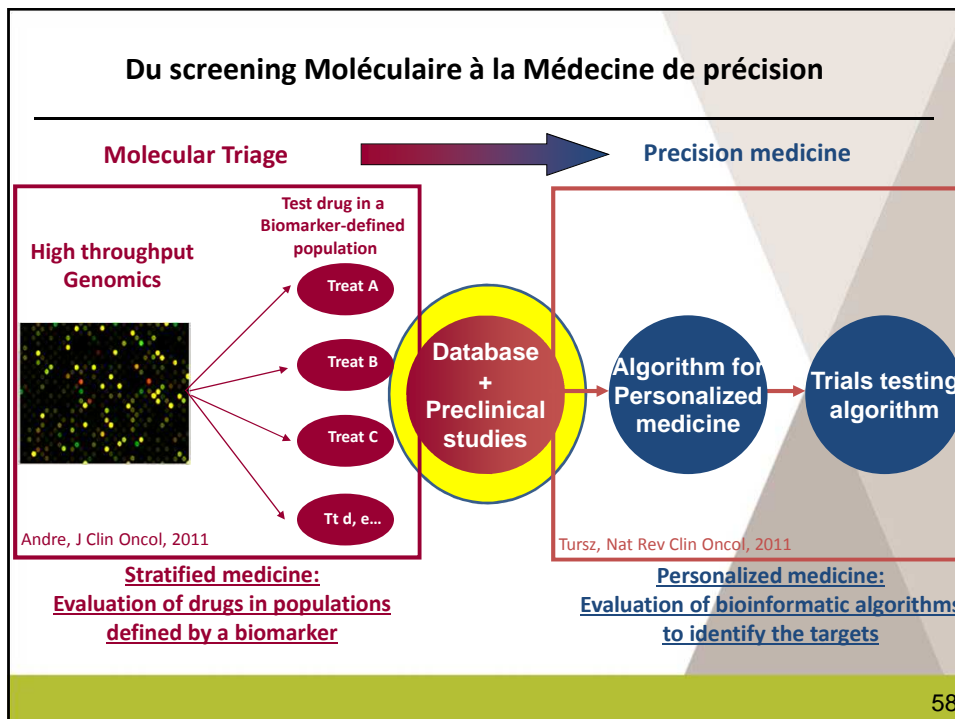


ANALYSIS TRACKING
QUALITY CONTROL OF ANALYSIS
DETECTION OF VARIANT (SNV/CNV/FUSIONS...)
LINK TO DATAMINING RESOURCES
LINK TO CLINICAL TRIALS
CLINICAL REPORT



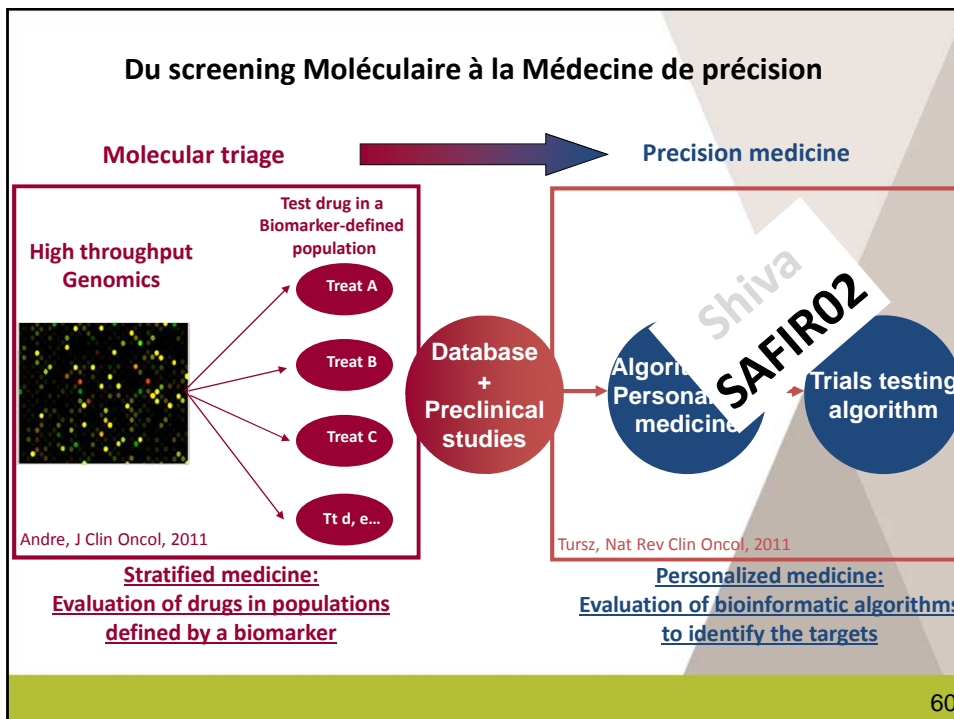
57

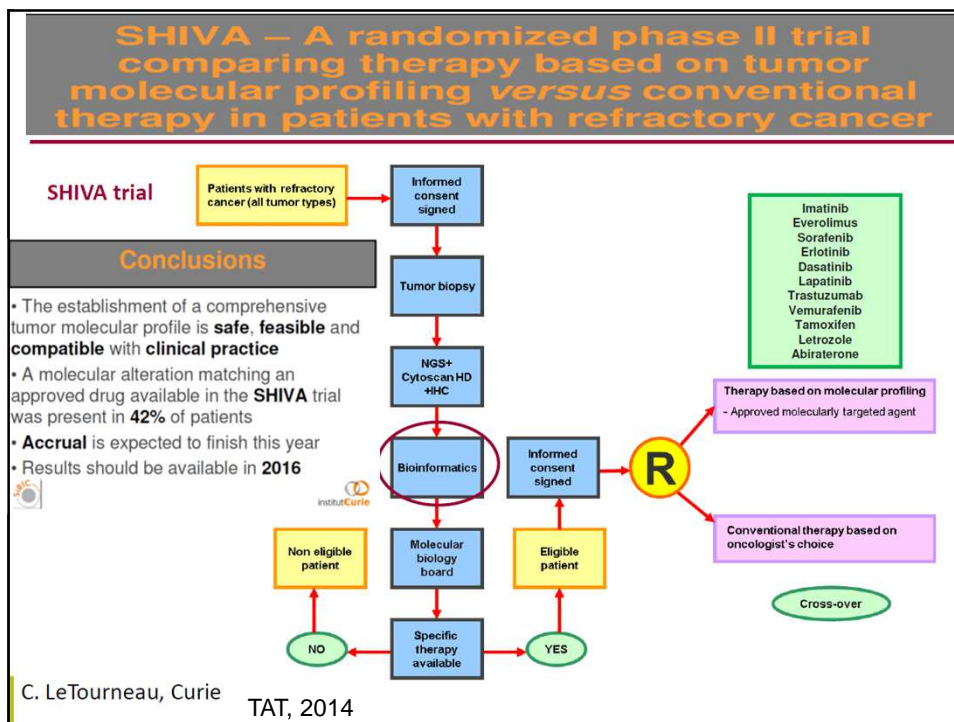


Integration des données entre essais Partage des data moléculaire et cliniques SIMP

11/09/2014

59





UNICANCER

R&D

SAFIR02 studies : A Randomized trials in Lung and Breast metastatic cancers (PI. JC Soria for Lung & F. André for Breast)

Study :
Randomized, Multicentric phase II
Biology-driven treatment VS standard maintenance CT.

Molecular analysis:
CGHa (180K) and NGS (PGM – 50 genes – 300X)

Timelines: 3 years(Lung) / 2 years(Breast)

Treatment duration : until progression or toxicity

Follow-up: 12 month

Global Isydy duration: 4,5 years/ 3,5 years

UNICANCER

R&D

Molecular Abnormalities screened and treatment

LUNG

Non ciblées
BRCA1, BRCA2, ATR, ATM, AR, ROS1, ERBB4, KDR, DDR2, KEAP1

AKT1 AKT2, PIK3CA, PTEN, PDK1, AKT3, INPP4B, PIK3R1, RPTOR, TSC1, TSC2, STK11 /LKB1, NF1, MTOR, FGFR1, FGFR2, FGFR3, FGF3?, HER1/EGFR, HER2, HER3, KRAS, HRAS, NRAS, BRAF, PIK3CB, RET, VEGFA, VHL, FRS2

Anomalies non ciblées

PDGFRa, ALK, ESR1, MET, FGFR4, TOP2A, TP53, NOTCH1, NOTCH2, NOTCH4, MAP2K1, MAP3K1, MAP2K4, MAP3K13, KIT, PDPK1, FBXW7, CTNNB1, APC, CDH1?, RB1, IGF1R, IGF1, PDGF, MDM2, RUNX1, PAK1, CCND1, Myc, FGF9, FGF4

BREAST

BRCA1, BRCA2, ATR, ATM, AR

Non ciblées
PGR, CBFR, GATA2,

Drug	AZD5363	AZD2014	AZD4547	AZD8931	Selumetinib	Vandetanib	Bicalutamide	Olaparib
Target	AKT1-2-3 ROCK1-2	mTOR (C1 and C2)	FGFR1-2-3-4 IGF1R MARK3 KDR	HER2 EGFR	MEK	RET EGFR VEGFR-2	AR	PARP1

SAFIRO2 Breast

Metastatic Breast Cancer Her2 negative and ER positive

N=460

CT 4 to 8 cycles

Frozen biopsy (méta):

- NGS (PGM – 50 genes)
- CGH Array (Agilent 4*180Kb)

Arm A: Biology Driven

AZD201 (4), AZD45 (47), AZD536 (3), AZD893 (1)

Selumetinib, Vandetanib, Casode x, Olaparib

Arm B: standard maintenance CT (or no CT if toxicity)

Standard Care

N=240 R 2:1

Mutated / Non éligible à la randomisation / Not Mutated

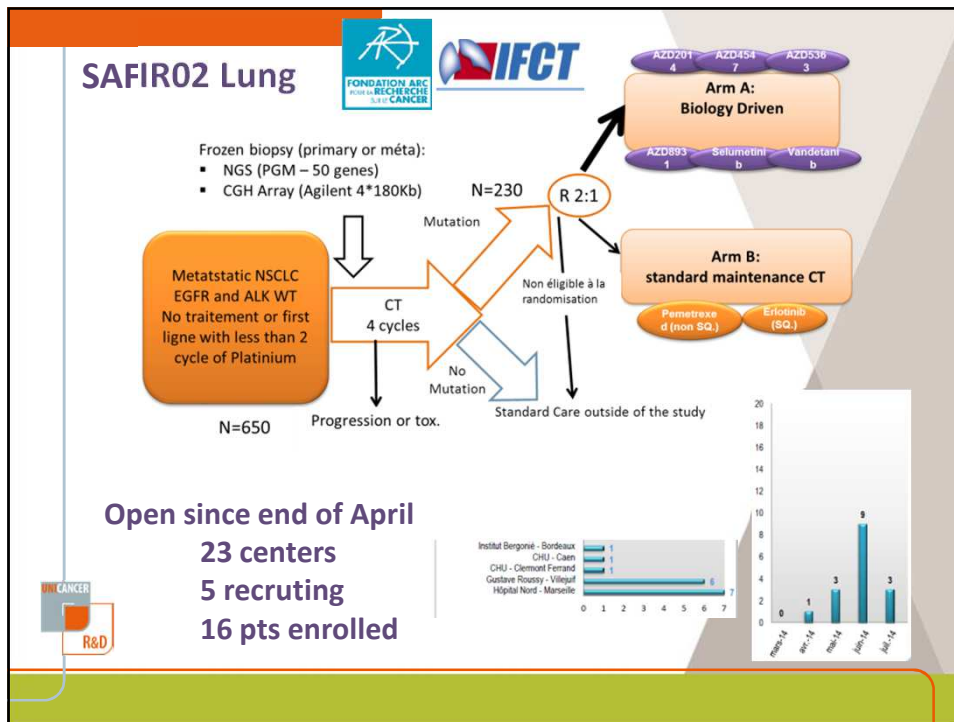
Open since April

19 centers

8 recruiting

35 pts enrolled

Center	Enrolled
Institut Paoli Calmettes - Marseille	1
Centre Henri Becquerel - Rouen	2
Institut Bergonié - Bordeaux	2
ICO - Nantes	3
Centre Antoine Lacassagne - Nice	3
Centre Oscar Lambret - Lille	4
Institut Claudius Régaud - Toulouse	4
Gustave Roussy - Villejuif	5



Conclusions

- Le **screening** haut-débit d'anomalies génomiques est possible et permet d'avoir un **évaluation globale des cibles thérapeutiques** potentielles utiles pour l'inclusion dans les essais cliniques.
- Ces programmes de **MP accélèrent de développement** de nouvelles molécules en oncologie et permettent de **constituer des collection** des **données cliniques et moléculaires "propres"** (CRF) pour l'amélioration des approches

Le *screening moléculaire* optimal doit inclure:

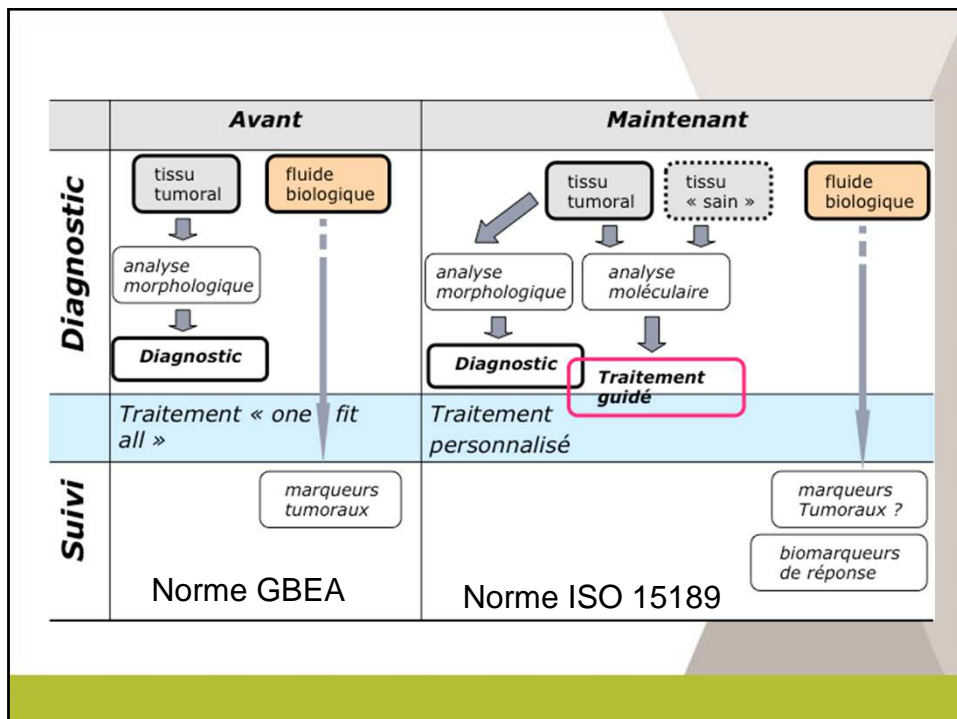
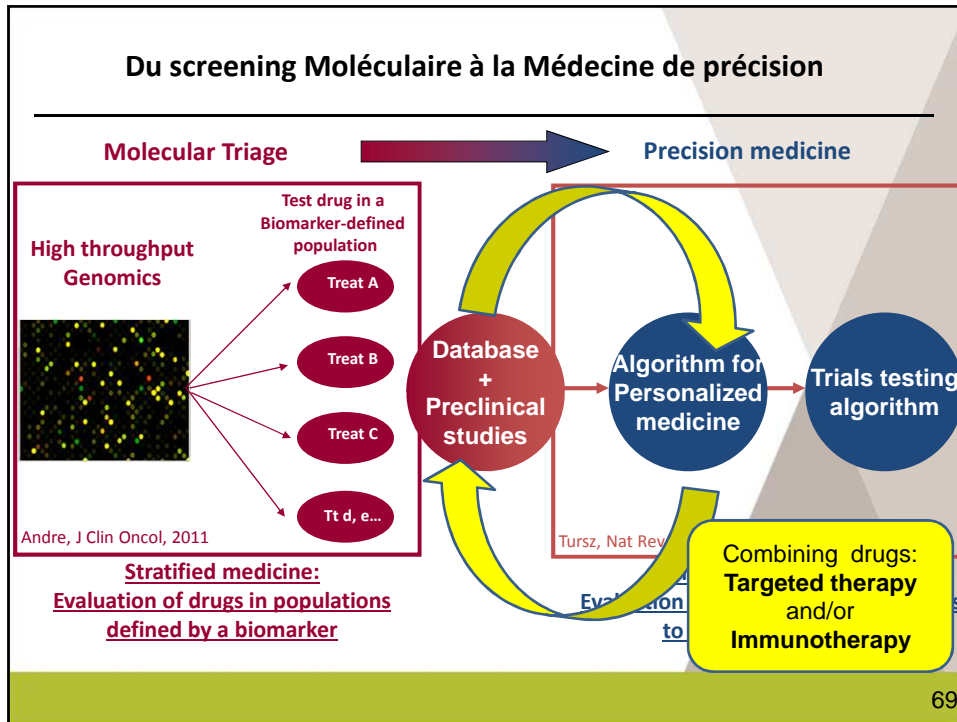
- Un **lien fort avec l'innovation thérapeutique** pour garantir l'accès au médicament
- L'utilisation de **techniques pan-génomiques exhaustives** (SNV/CNV/Fusion...)

Limitations / perspectives

- **Les approches actuelles intègrent peu la variabilité intra-tumorale**
 - > Hétérogénéité et résistance ?
 - > Utilité d'un test de quantification de l'hétérogénéité?
- La réalisation des analyses reste dépendante du contexte et de la **disponibilité du tissu**, mais le développement de **biopsies liquides** (ctDNA/CTC...) pourrait améliorer ce point.
- La **MP est une réalité** avec des **essais de 1st génération** limité à de la faisabilité des premiers algorithmes de traitement, les **2nd génération d'essais** sont en court et devront intégrer la complexité tumorale et les associations de molécules.
- La recherche en informatique est important pour la définition des meilleurs **algorithmes** permettant de définir les **meilleurs "drivers"** et la **meilleure approche thérapeutique** à l'échelle individuelle

Impact sur le Diagnostic et la prise en Charge thérapeutique: Génétique Somatique.

- Enjeu sociétal (médicale, scientifique, économique, santé publique...)
- Définition de nouveau contexte
 - > Développement de molécule
 - > Limite entre le soin "standard" et la Recherche Clinique
- Nécessité d'augmenter les partenariats public-Privé
- Développement de nouvelles disciplines / métiers
- Partage des données pour accélérer le Dvpt de la MP
- Intégration des approches, de la recherche au soin...
 - > Positionnement des approches pangénomiques dans la prise en charge.
 - Standards ou contexte de RC,
 - Screening Vs Validation ciblée,
 - Contexte réglementaire du soin...



Remerciements

Patients

Steering Committee

- ✓ Jean-Charles Soria (PI)
- ✓ Fabrice André (PI)
- ✓ Gilles Vassal
- ✓ Alexander Eggermont

Investigators

- ✓ Charles Ferté
- ✓ Antoine Hollebecque
- ✓ Christophe Massard
- ✓ Rastislav Bahleda
- ✓ Ecaterina Ileana
- ✓ Eric Angevin
- ✓ Andrea Varga
- ✓ Anas Gazzah
- ✓ Eric Deutsch

Radiologists

- ✓ Thierry de Baere
- ✓ Frédéric Deschamps

Pathologists

- ✓ JY Scoazec
- ✓ Philippe Vielh
- ✓ Benoush Abedi

Statistics

- ✓ Marie-Cécile Le Deley
- ✓ Dorota Gajda
- ✓ Aljosa Celebic

Study Coordinator

- ✓ Maud Ngo-Camus
- ✓ Fanny Wunder
- ✓ Aurélie Abou Lovergne
- ✓ Ana Lalanne

Biologists/bioinformatic

- ✓ Nathalie Auger
- ✓ Valérie Koubi-Pick
- ✓ Vladimir Lazar
- ✓ Catherine Richon
- ✓ Bastien Job
- ✓ Fred Commo
- ✓ Guillaume Meurice
- ✓ Nelly Motte
- ✓ Aurelie Honore
- ✓ ...

Academic collaboration

- ✓ Unicancer
- ✓ Inca
- ✓ IFCT
- ✓ I.Curie
- ✓ CL.L.Berard
- ✓ ...

Private collaboration

- ✓ Integragen
- ✓ AZD
- ✓ SA
- ✓ ...

Funded by

✓ Philantropy and French Grants



✓ And Industrial partnerships

- SANOFI
- Genentech
- AZD