

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



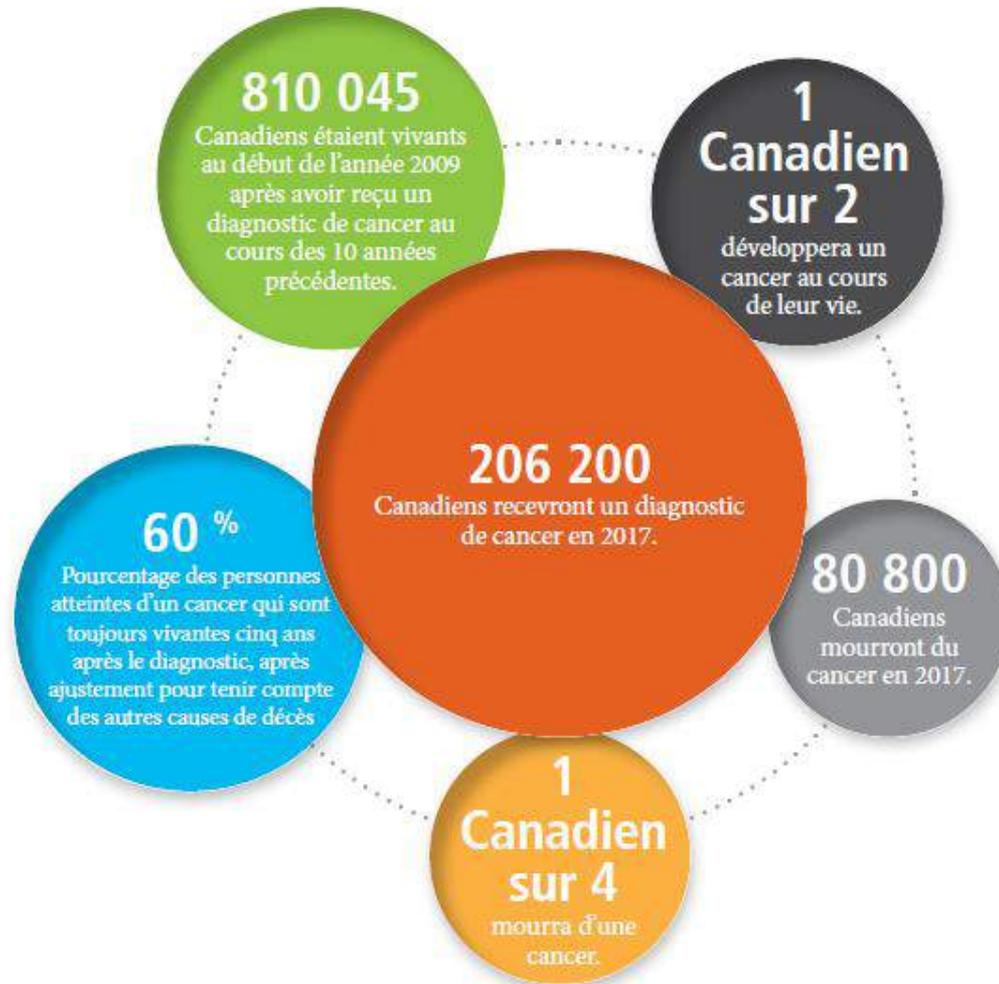
Valorisation
Recherche
Industrie
Développement
Santé
Environnement
Résultat
Conseil
Innovation
Analyse
Procédé
Réglementation
Biotechnologies
Solution
Excellence

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



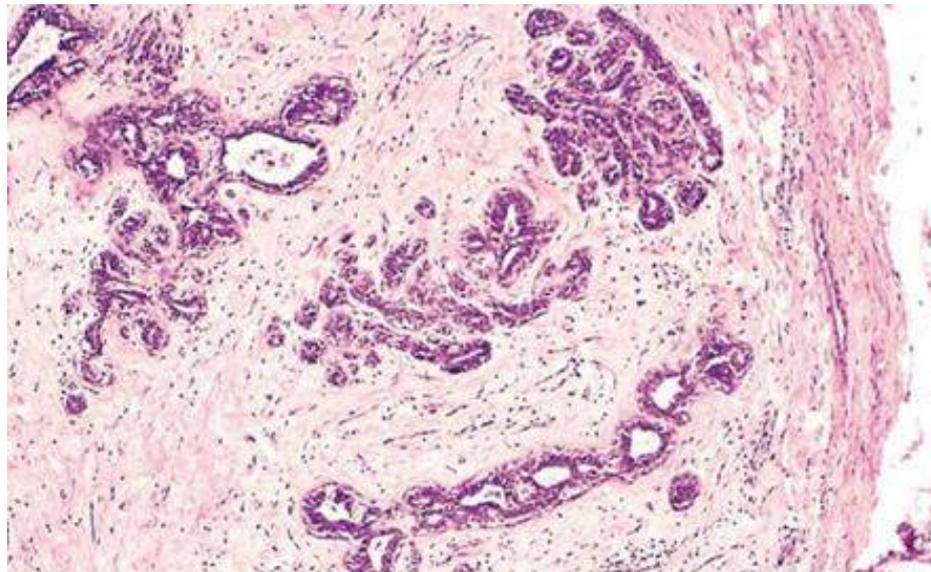
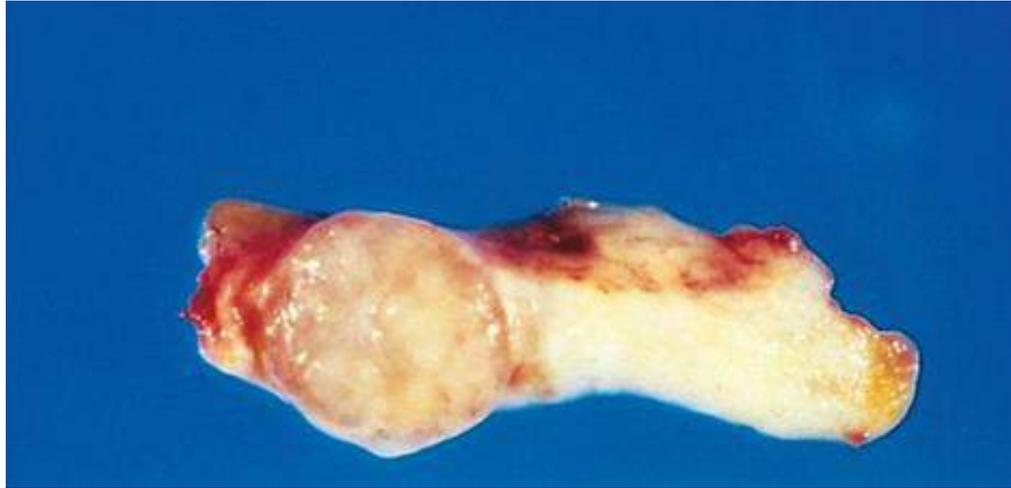
- Maladie caractérisée par la croissance incontrôlée et continue de cellules dérèglées qui détruisent le tissu sain.
- Accumulation de mutations génétiques compatibles avec la viabilité de la cellule, mais la rendant incontrôlable.

Caractéristiques fondamentales du cancer

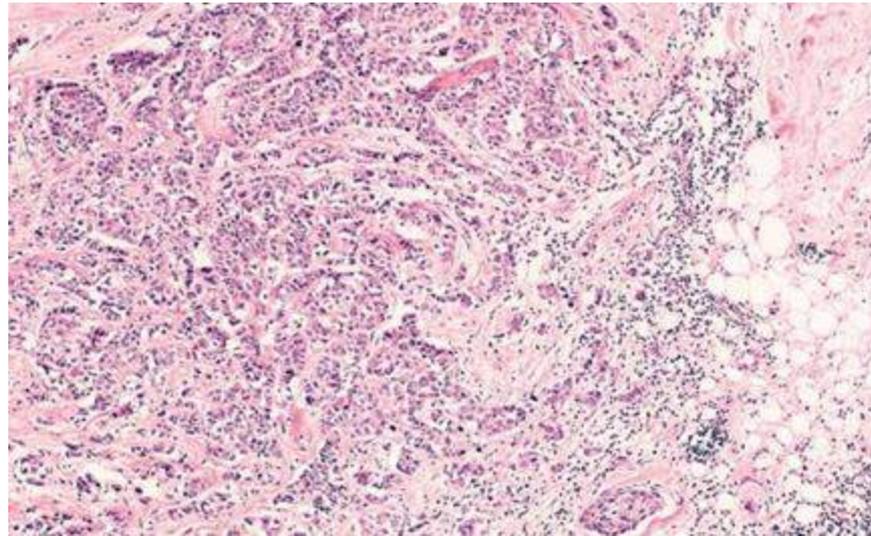


- Autosuffisance en terme de signaux de croissance
- Insensibilité aux signaux inhibiteurs de croissance
- Capacité replicative infinie
- Angiogénèse continue
- Évasion de la mort cellulaire (apoptose)
- Invasion tissulaire et capacité à métastaser
- Évasion du système immunitaire

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*

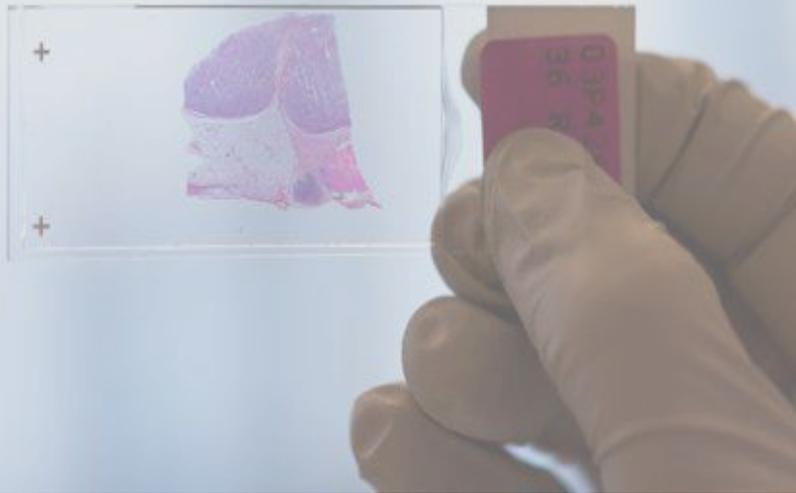


- **Amélioration nette du taux de survie :**
 - 25% en 1940 -> 60% en 2016
- **Causes:**
 - Amélioration des méthodes de diagnostics.
 - Avancées dans les traitements.

Le diagnostic du cancer



Histologie



Biomoléculaire

Diagnostic histologique



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



Diagnostic histologique

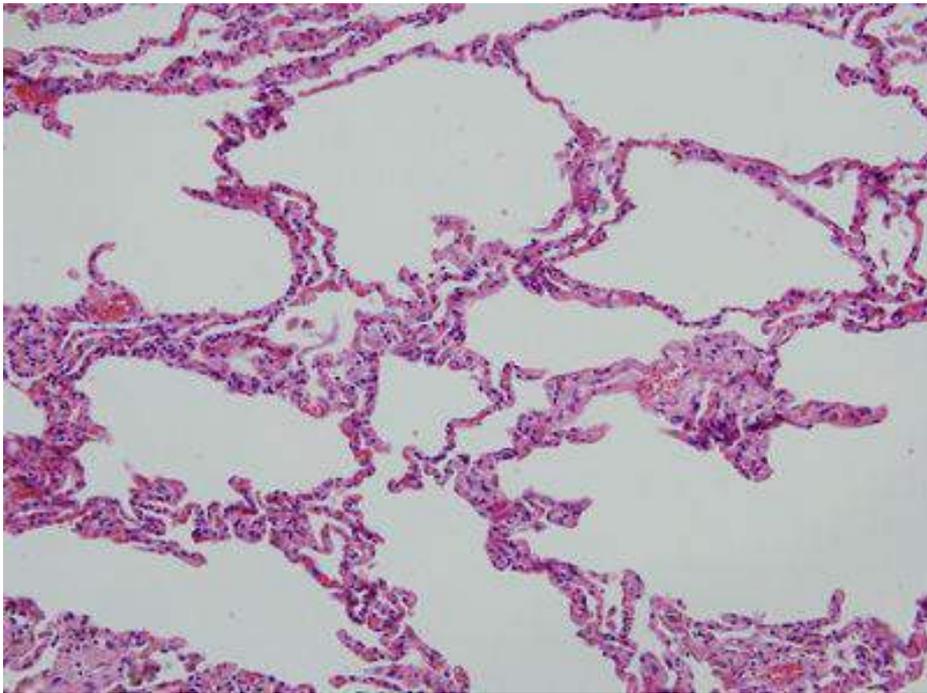


Diagnostic histologique

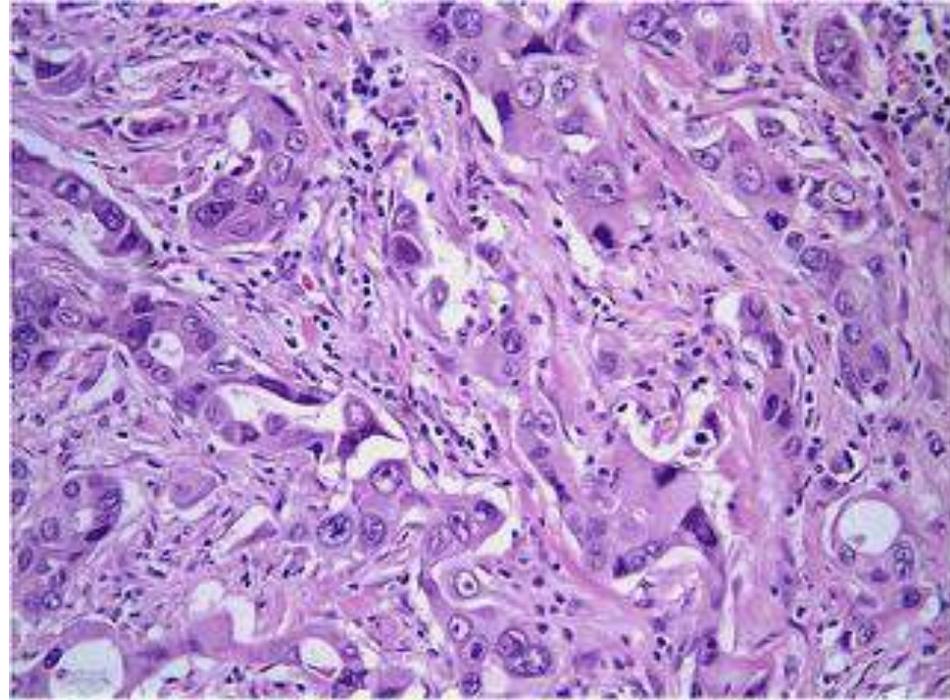


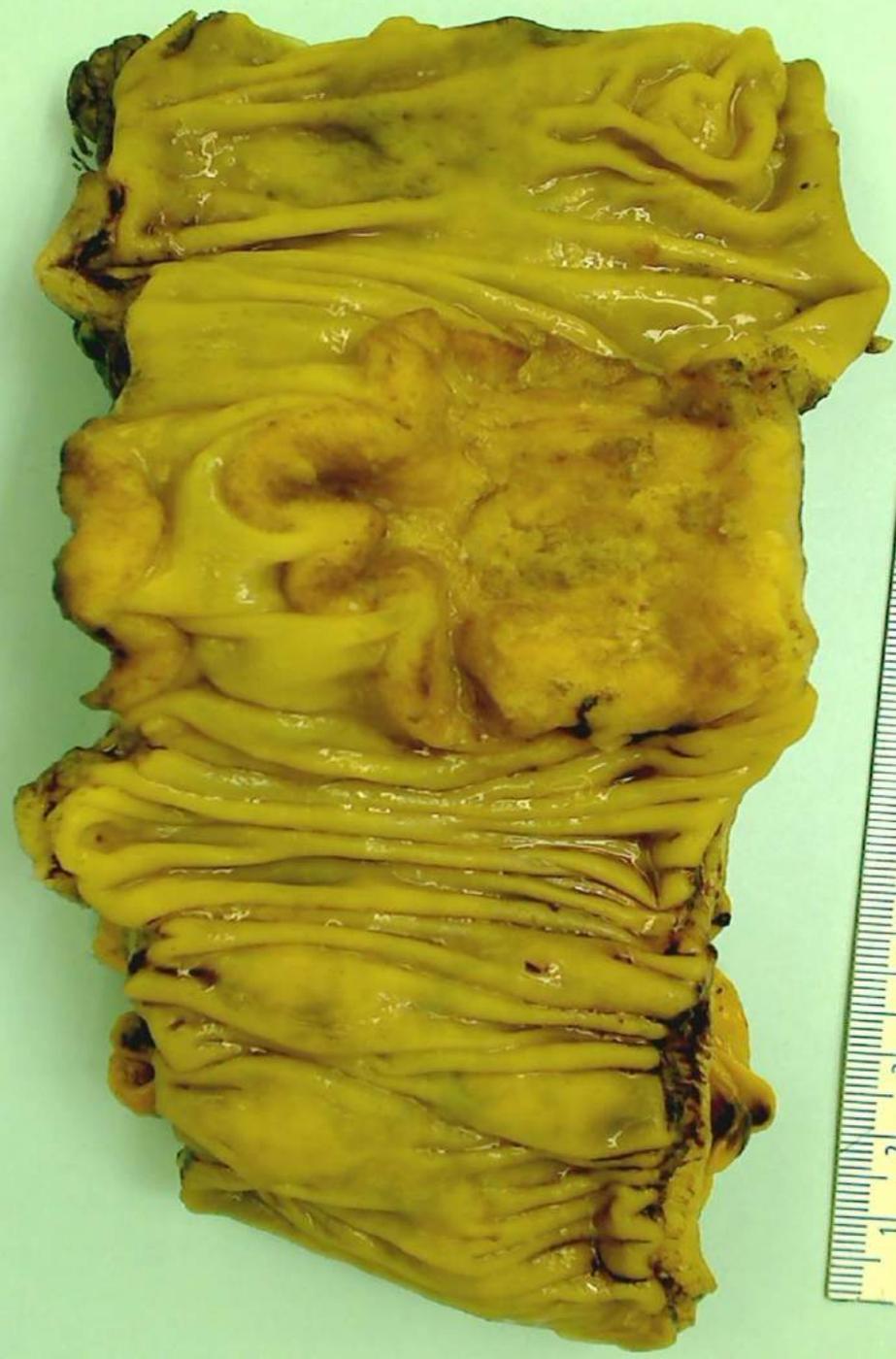


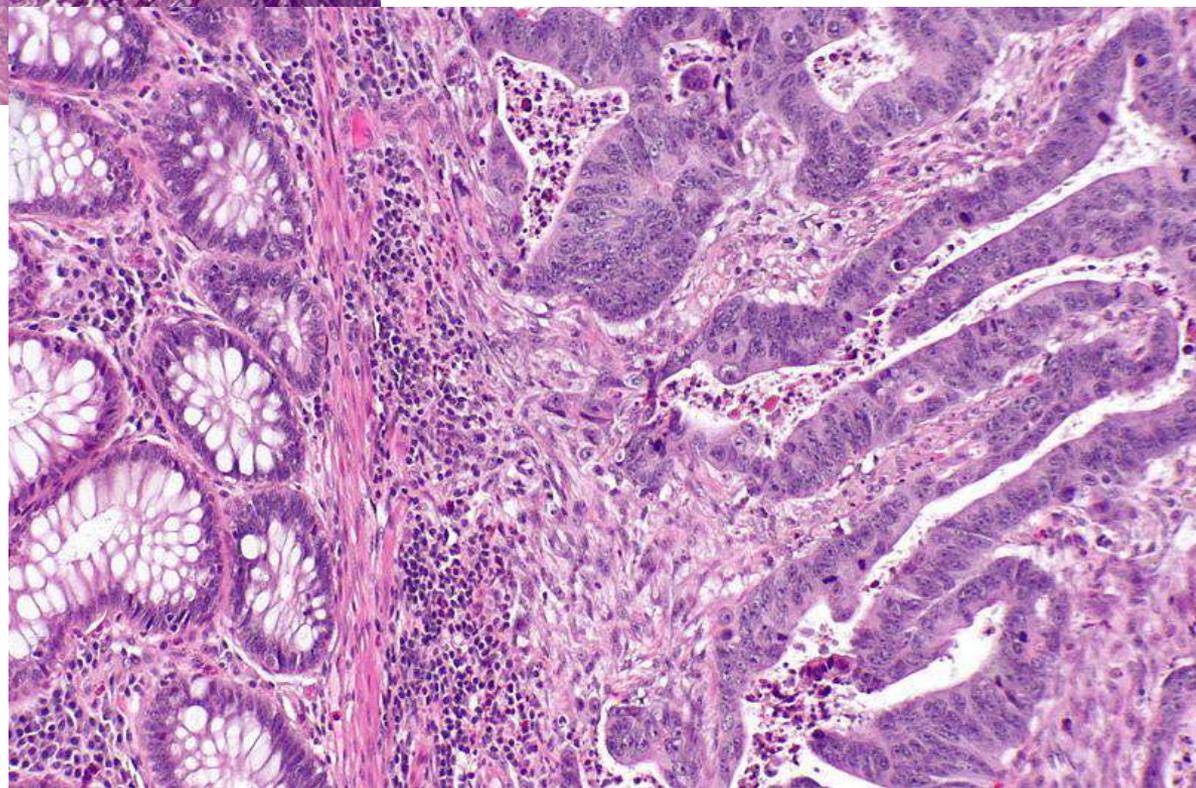
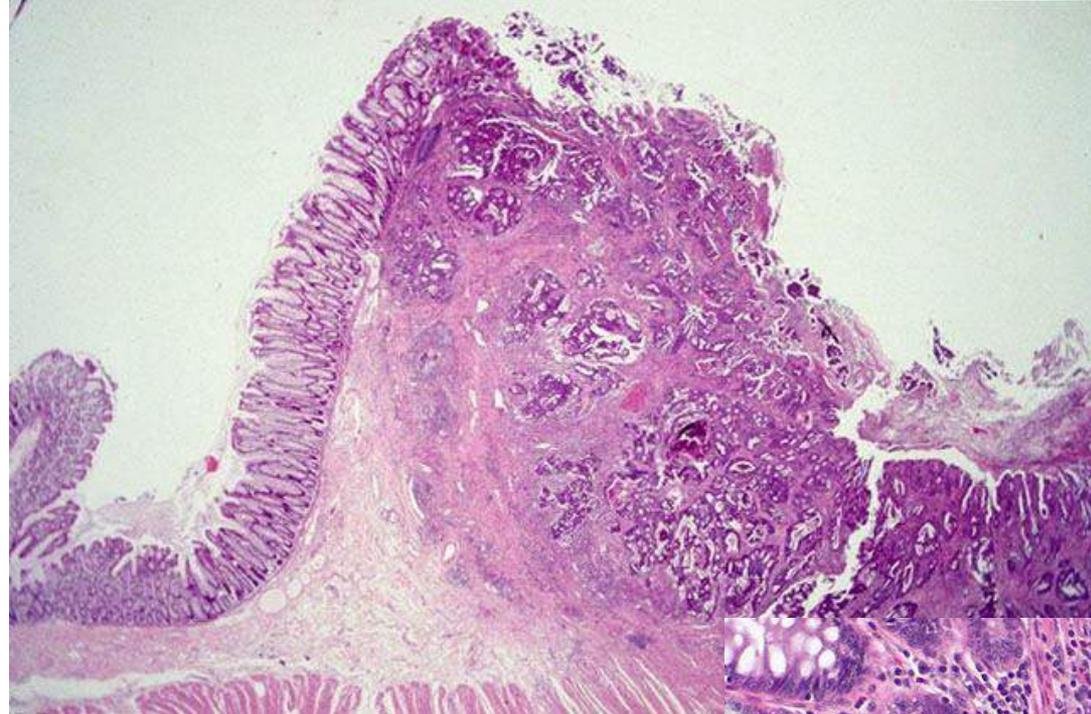
Normal



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>

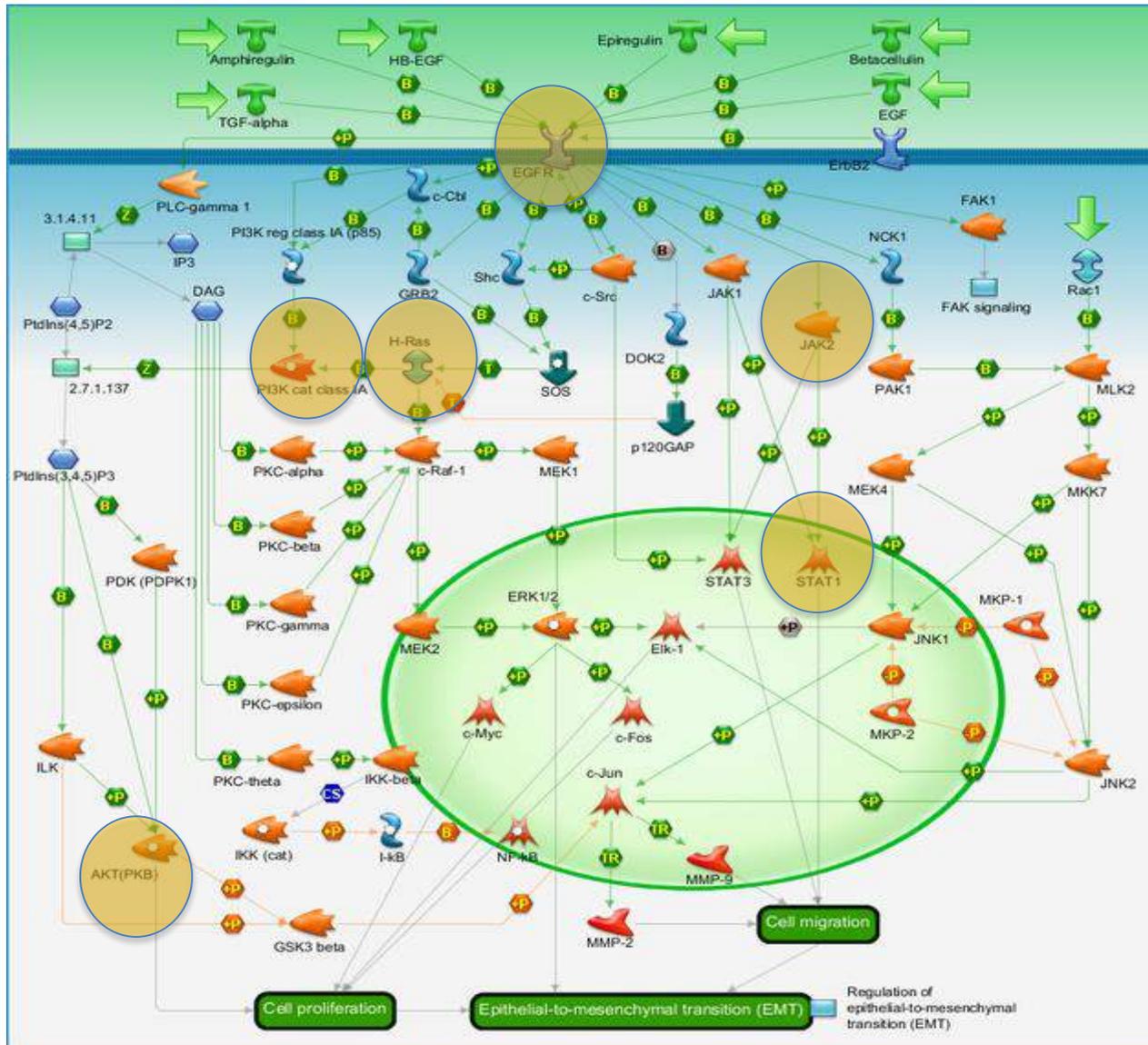
L'ensemble de ces outils permettent d'étudier les caractéristiques génétiques d'un individu pour lui attribuer le bon traitement en fonction de son profil mutationnel.



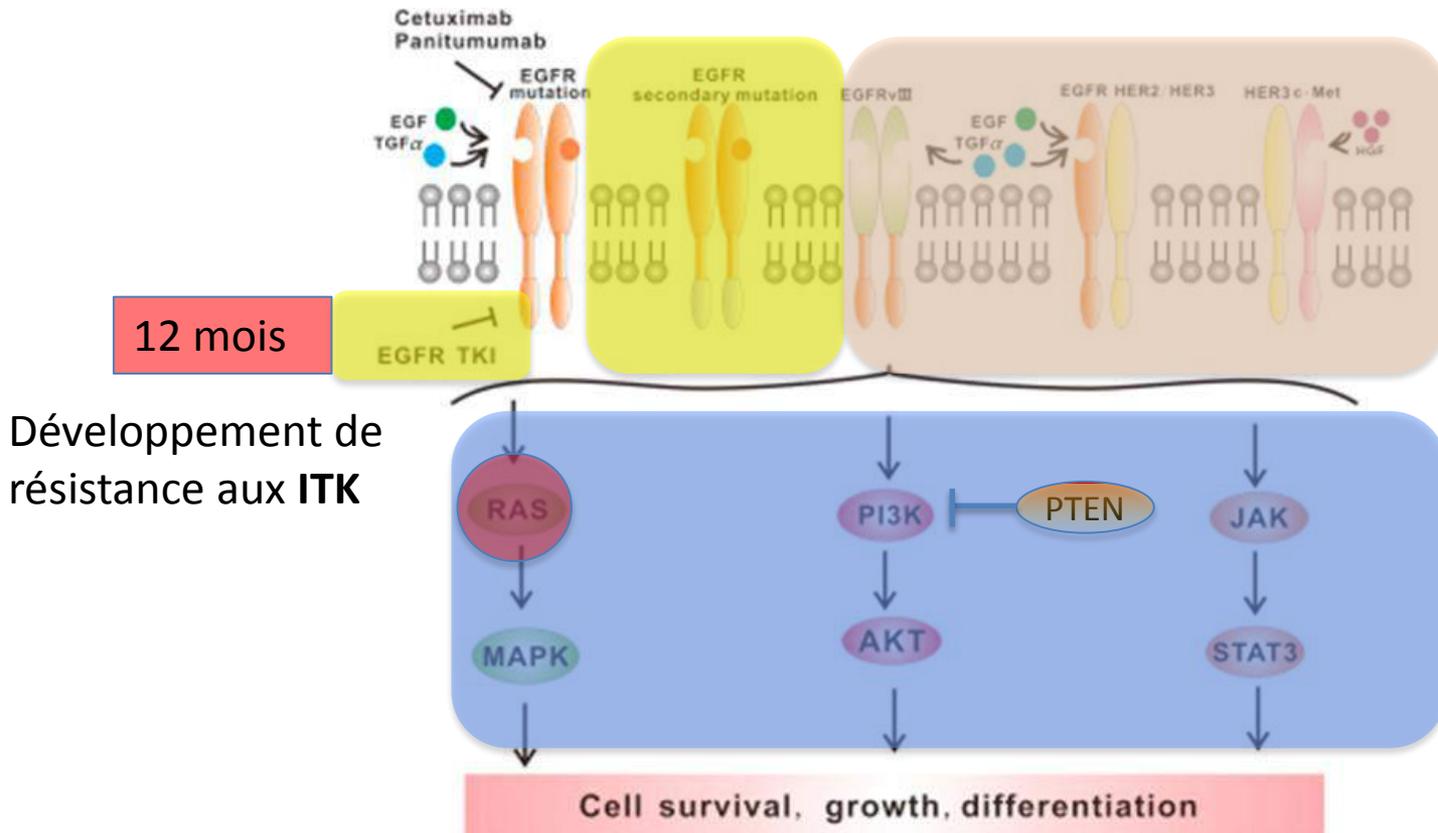
Exemple : les mutations EGFR et cancer du poumon à non-petites cellules (NSCLC).

- **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



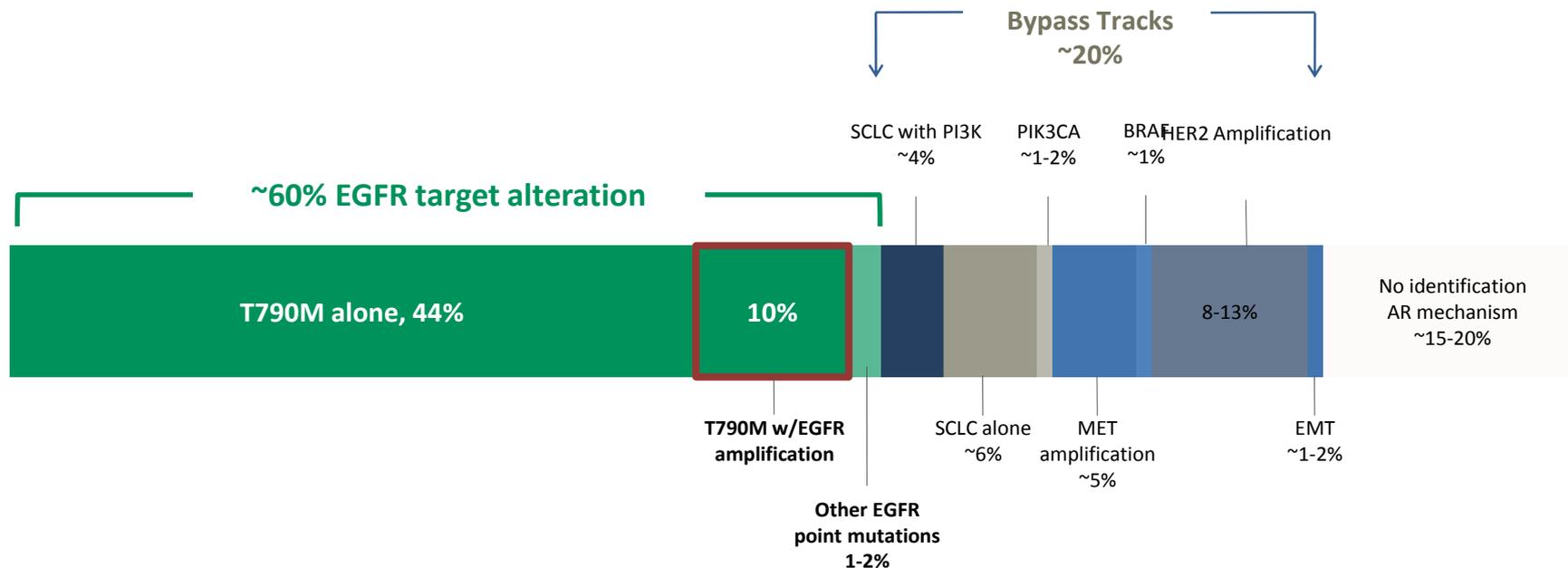
Détection des anomalies génétiques : Mutations EGFR



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

1) Coloration H&E et détermination du contenu de la tumeur

Sections du bloc de tissu tumoral FFPE

Macrodissection si < 10 % tumeur

▶ **Étapes 3A et 3B**

A Préparation des échantillons d'ADN
cobas®

B Quantification de l'ADN

DNA Sample Preparation Kit

▶ **Étape 4**
Préparation PCR

▶ **Étape 5**
Résultats

Système **cobas® z** automatisée 480 SR v2.1

Analyse automatisée

Rapport standardisé

← **< 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_2248TTAAGAGAAG>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_2248>GC	12422		
		2237_2251del15	12678		
		2236_2253del18	12729		
		2235_2248>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	2388C>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		
	L861Q	2573_2574TG>GT	12429		
		2582T>A	6213		

Outils pour la détection des mutations EGFR

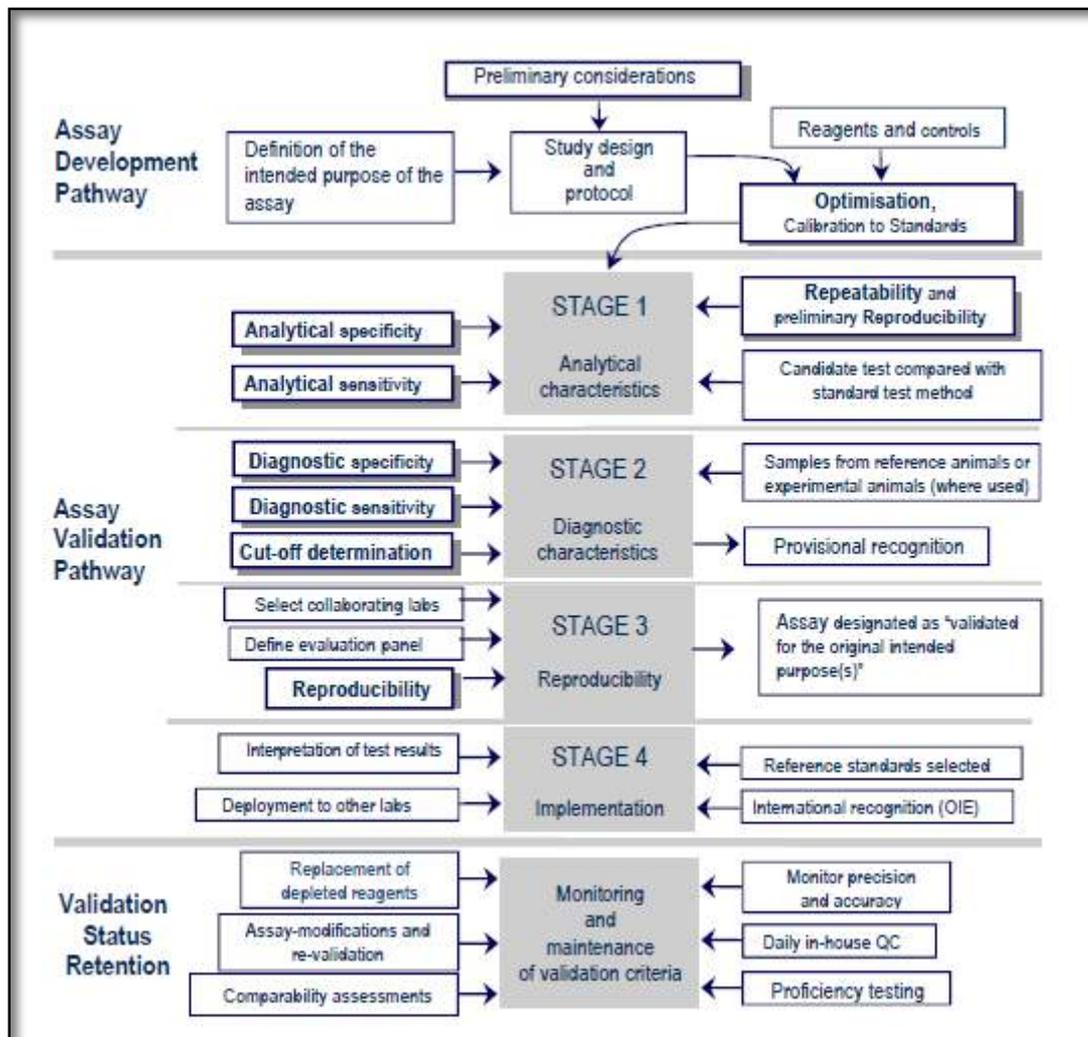


Exemple de traitements en fonction des mutations

Mutations	Médicament
Déletion au niveau de l'exon 19 (L858R)	Tarceva [®] (erlotinib)
T790M	TAGRISSO [™] (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 ^a	Analytical interferences
		Other ^b	

^aCLIA defines analytical specificity as "analytical specificity, including interfering substances."
^bCLIA defines this parameter as "any other performance characteristic required for test performance."

Seaton, 2006

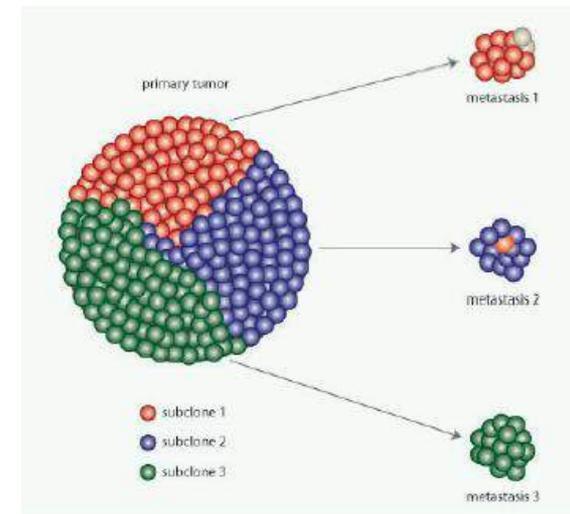


***Perspectives de développement
en médecine personnalisée***

Perspectives de développement en médecine personnalisée

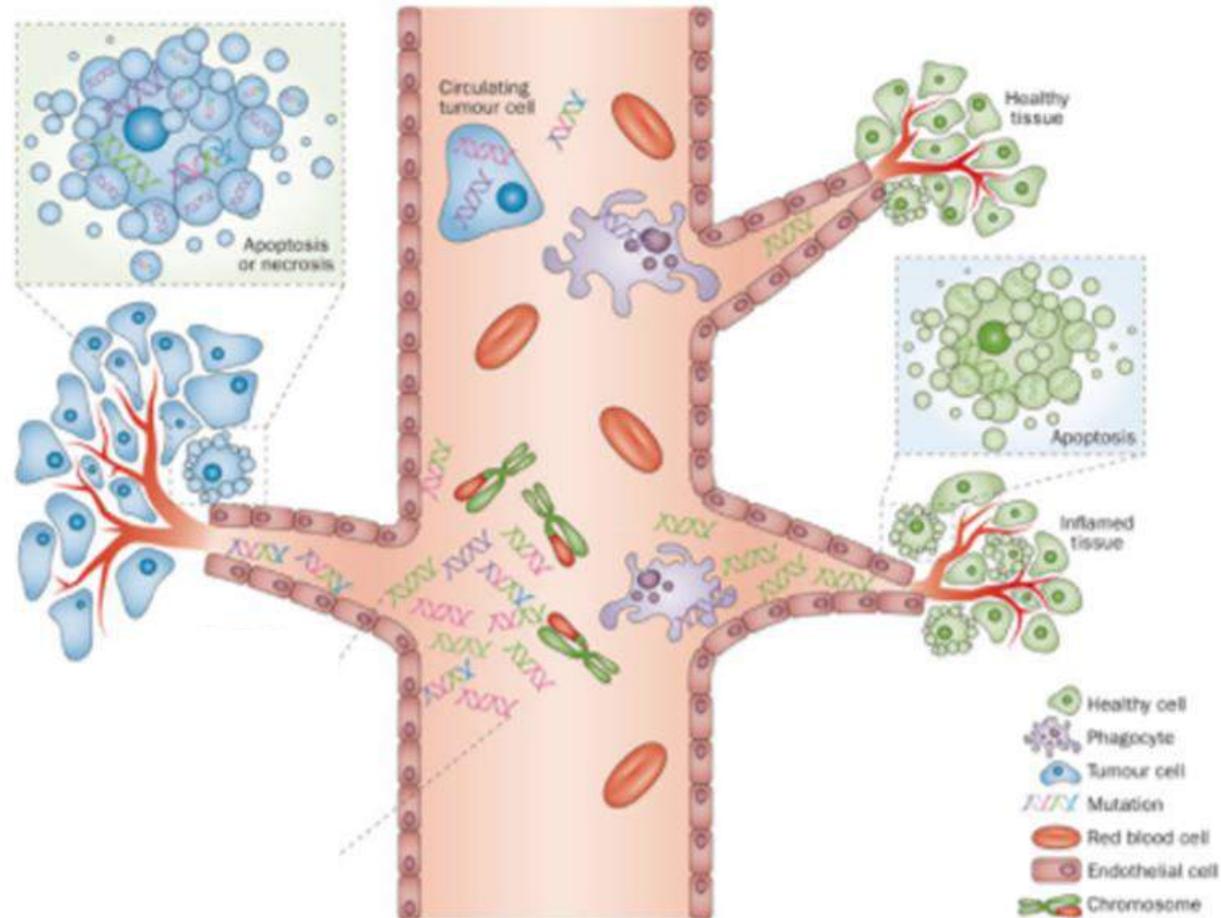
Les scientifiques et les médecins se demandent qu'est ce qu'ils peuvent faire si :

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



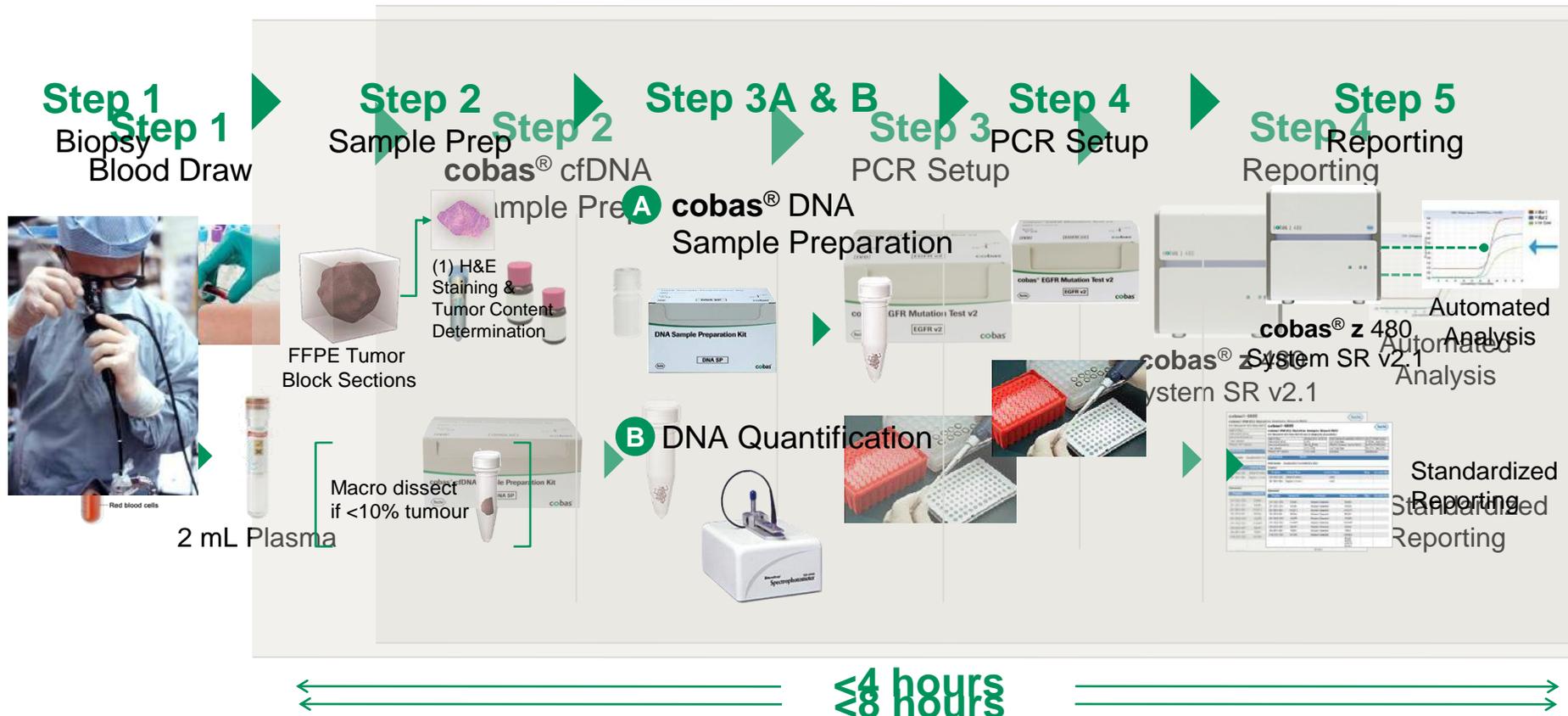
Perspectives de développement en médecine personnalisée

Diagnostic du cancer à partir d'un échantillon de sang



Perspectives de développement en médecine personnalisée

Analyse EGFR à partir d'un échantillon de plasma



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^e 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?

