

Tour d'horizon du diagnostic lié aux gènes *BRCA1* et *BRCA2*

Dominique Vaur

Département de BioPathologie - Centre François Baclesse

Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée - U1245 - Plateforme Sésame

La révolution du séquençage de nouvelle génération (NGS)

Le séquençage de nouvelle génération (NGS)

1953

James Dewey Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et Rosalind Franklin



DNA the molecule of life

Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 meters of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- Approximately 30,000 genes code for proteins that perform most life functions

cell

chromosomes

gene

DNA

protein

Le séquençage de nouvelle génération (NGS)

1953

James Dewey Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et Rosalind Franklin



DNA the molecule of life

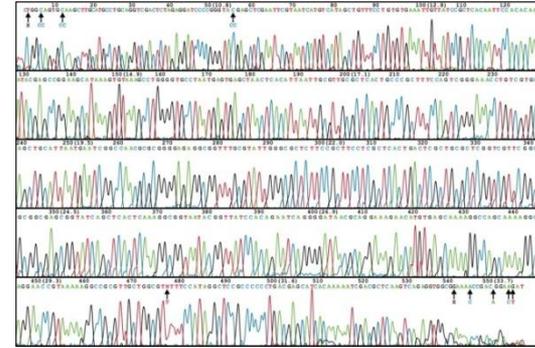
Trillions of cells

Each cell:

- 46 human chromosomes
- 2 meters of DNA
- 3 billion DNA subunits (the bases: A, T, C, G)
- Approximately 30,000 genes code for proteins that perform most life functions

© 2007 Pearson Education, Inc. All rights reserved.

Frederick Sanger



Courtesy of Dr. F. Sanger, MRC Cambridge. Noncommercial, educational use only.

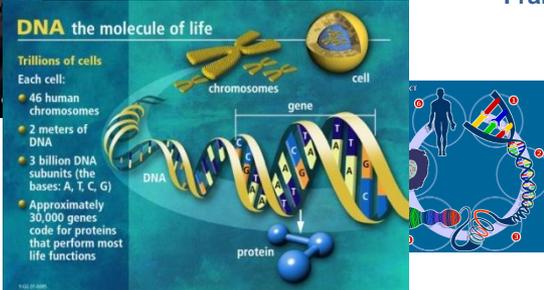
1977



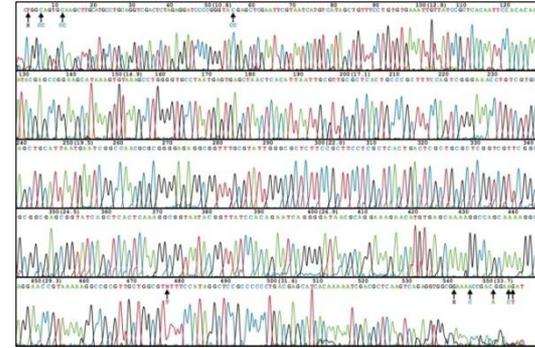
Le séquençage de nouvelle génération (NGS)

1953

James Dewey Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et Rosalind Franklin

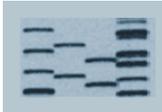


Frederick Sanger

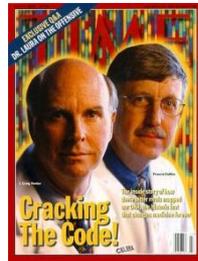
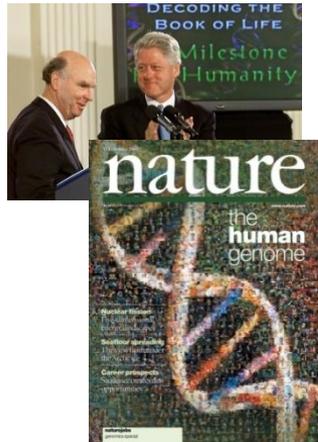


Courtesy of Dr. F. Sanger, MRC, Cambridge. Noncommercial, educational use only.

1977



1989- 2003

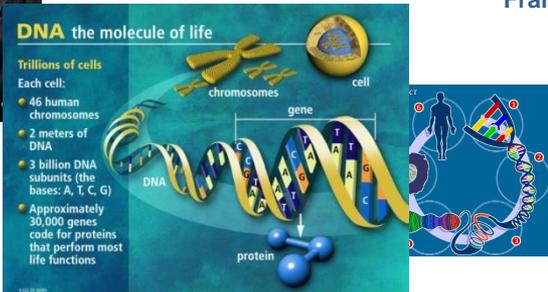


Séquençage du génome humain
(3 milliards de bases nucléotidiques
(3Gb), env. 3 milliards de dollars)

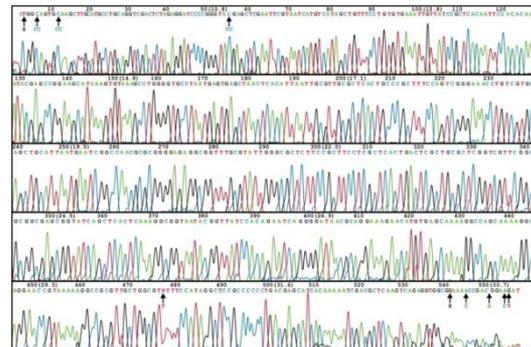
Le séquençage de nouvelle génération (NGS)

1953

James Dewey Watson, Francis Crick, Maurice Wilkins et Rosalind Franklin



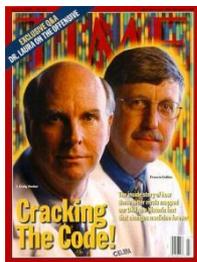
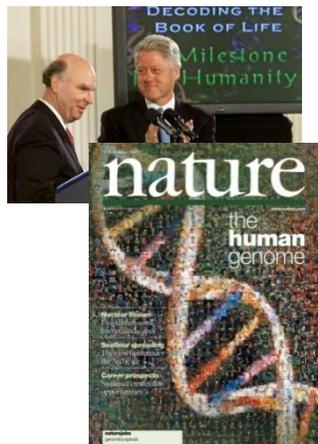
Frederick Sanger



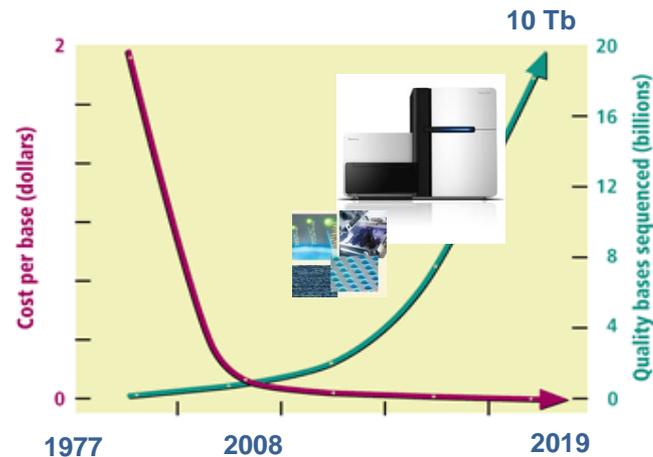
1977



1989- 2003

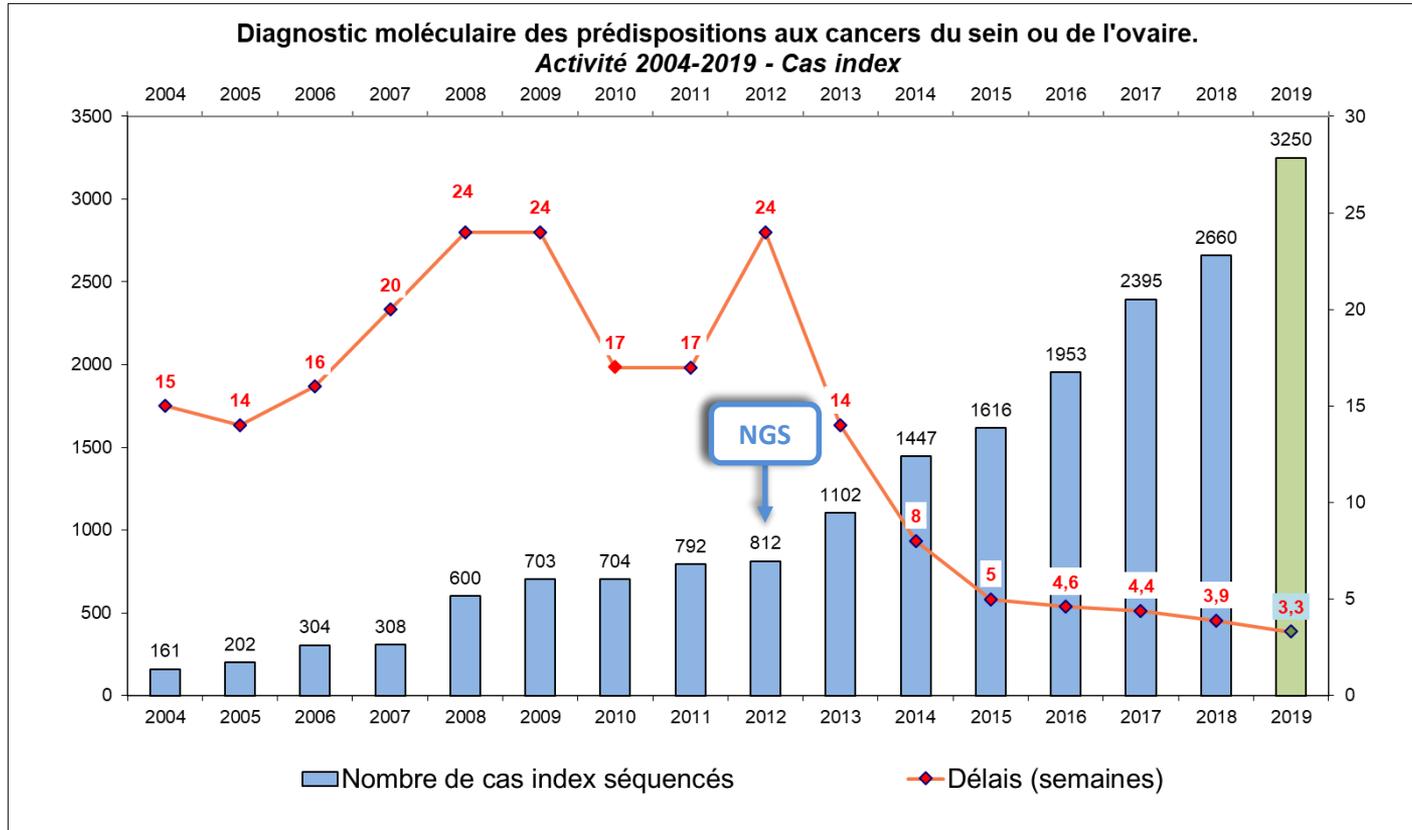


Séquençage du génome humain (3 milliards de bases nucléotidiques (3Gb), env. 3 milliards de dollars)



Impacts du NGS sur l'activité diagnostique

Le séquençage à haut-débit permet une augmentation de l'activité et une réduction des délais

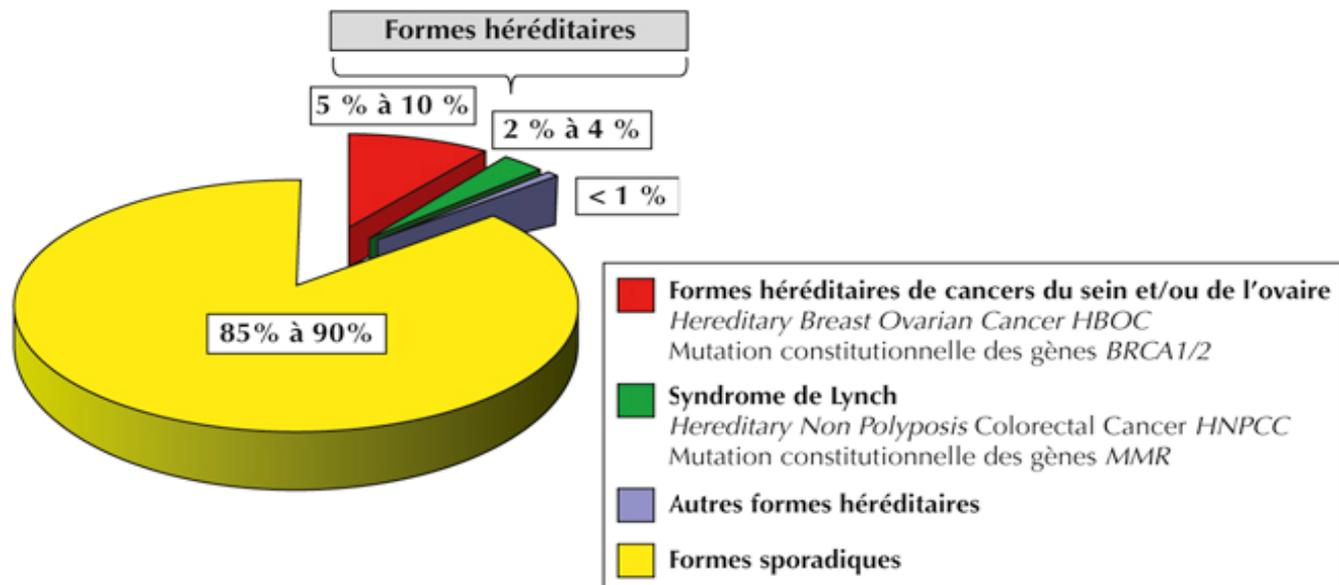


Indications au séquençage des gènes *BRCA1* et *BRCA2*

- Les prédispositions héréditaires aux cancers du sein et de l'ovaire
- Les traitements par inhibiteurs de PARP

Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

5 à 10 % des cancers surviennent sur un terrain de prédisposition héréditaire



Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Caractéristiques des cancers héréditaires

- Histoire familiale

Nombre d'apparentés atteints au premier degré	Risque relatif
1	1.80 (CI: 1.70 – 1.91)
2	2.93 (CI: 2.37 – 3.63)
3	3.90 (CI: 2.03 – 7.49)

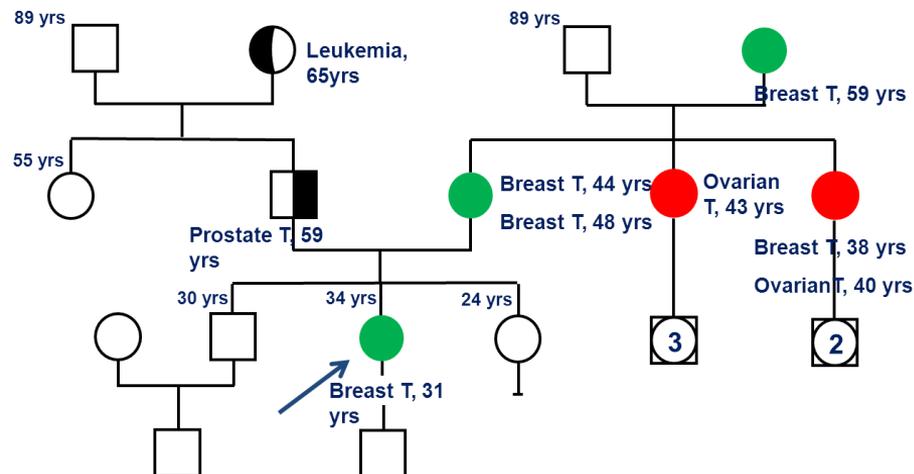
- Age au diagnostic plus précoce

- Bilatéralité

- Association cancers du sein / ovaire

- Cancers du sein chez l'homme

- Caractéristiques histologiques



A Strong Candidate for the Breast and Ovarian Cancer Susceptibility Gene *BRCA1*

Yoshio Miki, Jeff Swensen, Donna Shattuck-Eidens, P. Andrew Futreal, Keith Harshman, Sean Tavtigian, Qingyun Liu, Charles Cochran, L. Michelle Bennett, Wei Ding, Russell Bell, Judith Rosenthal, Charles Hussey, Thanh Tran, Melody McClure, Cheryl Frye, Tom Hattier, Robert Phelps, Astrid Haugen-Strano, Harold Katcher, Kazuko Yakumo, Zahra Gholami, Daniel Shaffer, Steven Stone, Steven Bayer, Christian Wray, Robert Bogden, Priya Dayananth, John Ward, Patricia Tonin, Steven Narod, Pam K. Bristow, Frank H. Norris, Leah Helvering, Paul Morrison, Paul Rosteck, Mei Lai, J. Carl Barrett, Cathryn Lewis, Susan Neuhausen, Lisa Cannon-Albright, David Goldgar, Roger Wiseman, Alexander Kamb, Mark H. Skolnick*

SCIENCE • VOL. 266 • 7 OCTOBER 1994

Identification of the breast cancer susceptibility gene *BRCA2*

Richard Wooster, Graham Bignell, Jonathan Lancaster, Sally Swift, Sheila Seal, Jonathan Mangion, Nadine Collins, Simon Gregory, Curtis Gumbs, Gos Michlem, Rita Barfoot, Rifat Hamoudi, Sandeep Patel, Catherine Rice, Patrick Biggs, Yasmin Hashim, Amanda Smith, Frances Connor, Adelgeir Arason, Julius Gudmundsson, David Ficenc, David Kelsell, Deborah Ford, Patricia Tonin, D. Timothy Bishop, Nigel K. Spurr, Bruce A. J. Ponder, Rosalind Eeles, Julian Peto, Peter Devilee, Cees Cornelisse, Henry Lynch, Steven Narod, Gilbert Lenoir, Valdgardur Egilsson, Rosa Bjork Barkadottir, Douglas F. Easton, David R. Bentley, P. Andrew Futreal, Alan Ashworth & Michael R. Stratton

Nature 378, 789–792 (1995)

Prevalence des porteurs d'une mutation délétère dans la population générale :

- *BRCA1* : 1/980 (CI: 1/2381 – 1/400)
- *BRCA2* : 1/735 (CI: 1/1515 – 1/354)
- *BRCA1* ou *BRCA2* : **1/420** (1/925 – 1/188)

Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Les variants pathogènes des gènes *BRCA1* et *BRCA2* confèrent un risque élevé de cancer du sein et/ou de l'ovaire

Risques cumulés de cancers du sein et de l'ovaire chez les femmes **issues de familles HBOC** et porteuses d'une mutation **constitutionnelle** des gènes *BRCA1* ou *BRCA2*.

BRCA1

BRCA2

Breast

Antoniou, 2003

65% (CI: 44-78%)

45% (CI : 31-56%)

Chen, 2007

57% (CI : 47-66%)

49% (CI : 40-57%)

Mavaddat, 2013

60% (CI : 44-75%)

55% (CI : 41-70%)

Kuchenbaecker, 2017 (80 ans)

72% (CI : 65-79%)

69% (CI : 61-77%)

Ovary

Antoniou, 2003

39% (CI : 18-54%)

11% (CI : 2-19%)

Chen, 2007

40% (CI : 35-46%)

18% (CI : 13-23%)

Mavaddat, 2013

59% (CI : 43-76%)

17% (CI : 8-34%)

Kuchenbaecker, 2017 (80 ans)

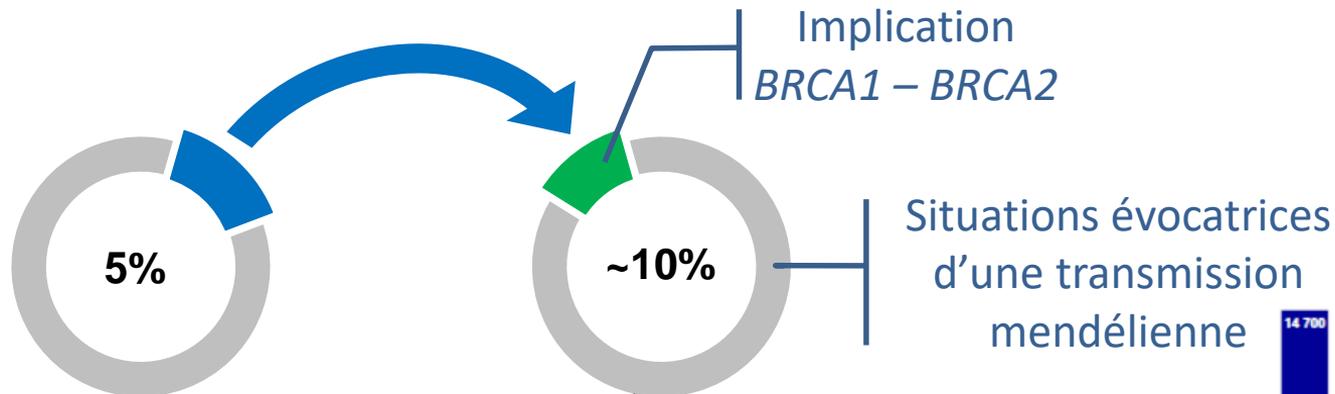
44% (CI : 36-53%)

17% (CI : 11-25%)

Application du séquençage
de nouvelle génération
au syndrome de prédisposition
aux cancers du sein et de l'ovaire

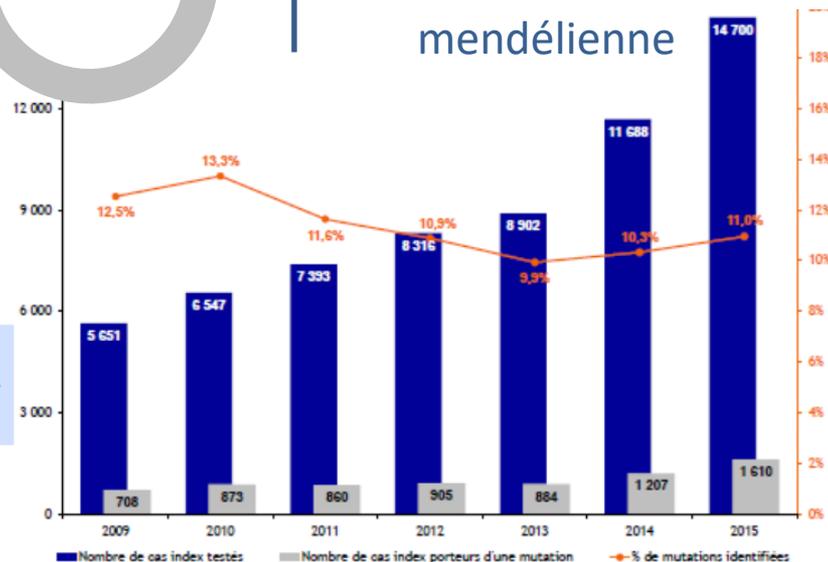
Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Cancers du sein et de l'ovaire liés à une prédisposition génétique



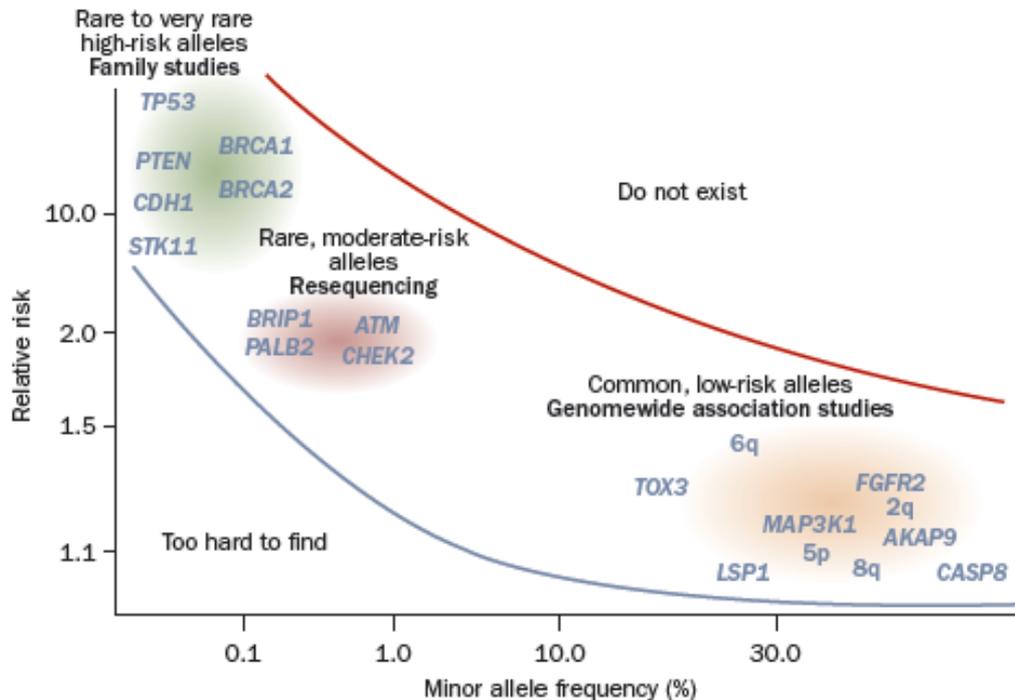
- Nombre de cas index testés en 2013 : 8 902
- Nombre de mutations identifiées (BRCA1 et BRCA2 - MP et RGT) : 884
- Pourcentage moyen de mutations identifiées : 9,9 %

Rapports d'activité de l'INCa



Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Hétérogénéité génétique.



William D. Foulkes, *N Engl J Med* 2008;359:2143-53.

Panel de gènes diagnostic et recherche

Gènes rendus au titre du diagnostic

BRCA1, BRCA2

Gènes séquencés et non rendus

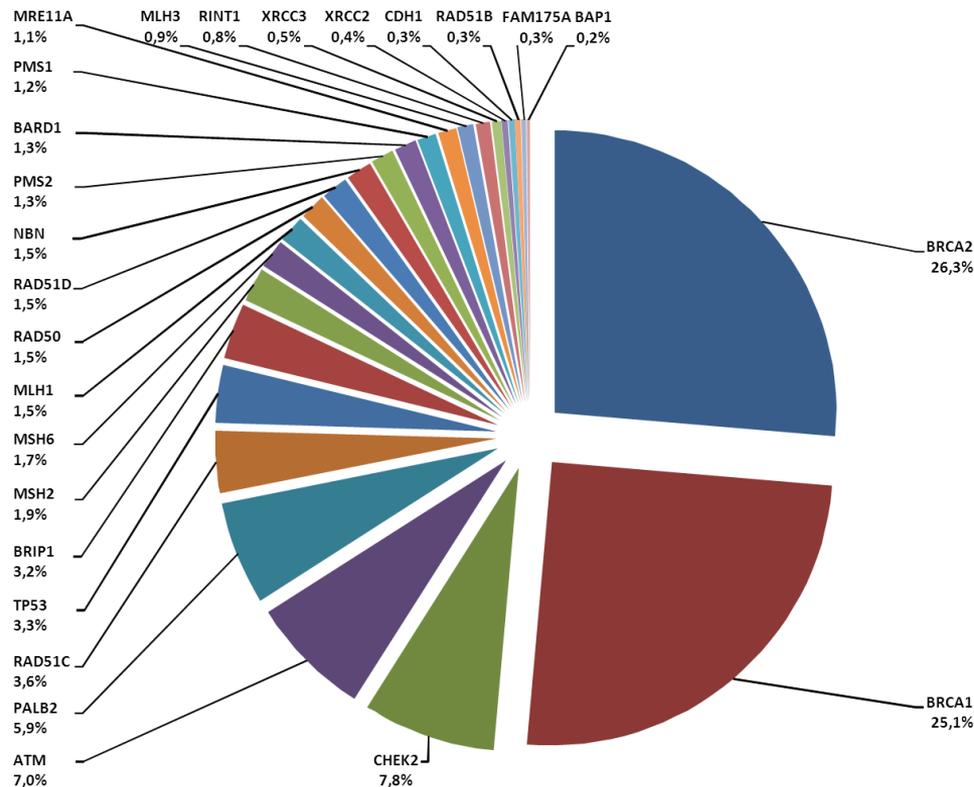
**Amélioration des connaissances
(données anonymes)
Disponibles après discussion
clinico-biologique**

***BRCA1
BRCA2***

<i>ATM</i>	<i>MUTYH</i>
<i>BAP1</i>	<i>NBN</i>
<i>BARD1</i>	<i>PALB2</i>
<i>BRIP1</i>	<i>PMS1</i>
<i>CDKN2A</i>	<i>PMS2</i>
<i>CDH1</i>	<i>PTEN</i>
<i>CHECK2</i>	<i>RAD50</i>
<i>FAM175A</i>	<i>RAD51</i>
<i>HOXB13</i>	<i>RAD51B</i>
<i>INHA</i>	<i>RAD51C</i>
<i>INHBA</i>	<i>RAD51D</i>
<i>MLH1</i>	<i>RINT1</i>
<i>MLH3</i>	<i>STK11</i>
<i>MRE11A</i>	<i>TP53</i>
<i>MSH2</i>	<i>XRCC2</i>
<i>MSH6</i>	<i>XRCC2</i>

Panel de gènes diagnostique et recherche

Incidence des variants pathogènes (n = 5131)

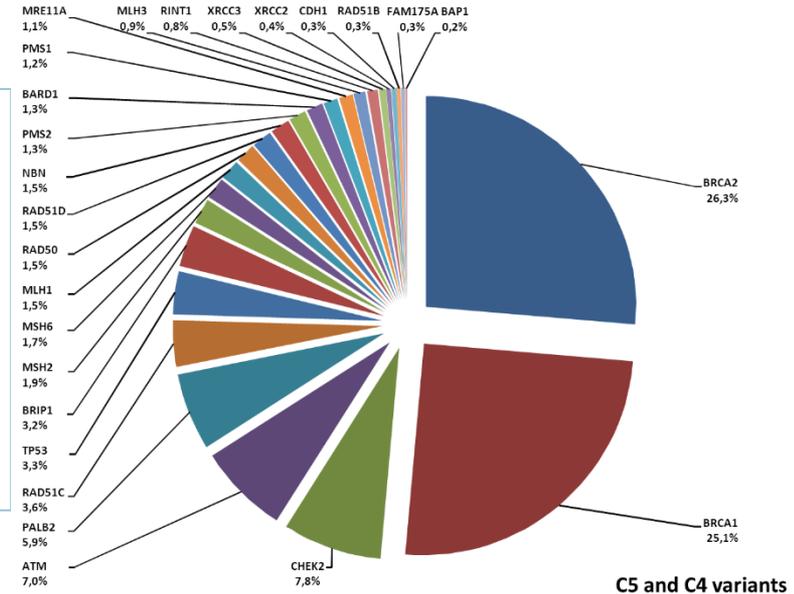


Genes n = 26

ATM
BAP1
BARD1
BRCA1
BRCA2
BRIP1
CDH1
CHEK2
FAM175A
MLH1
MLH3
MRE11A
MSH2
MSH6
NBN
PALB2
PMS1
PMS2
RAD50
RAD51B
RAD51C
RAD51D
RINT1
TP53
XRCC2
XRCC3

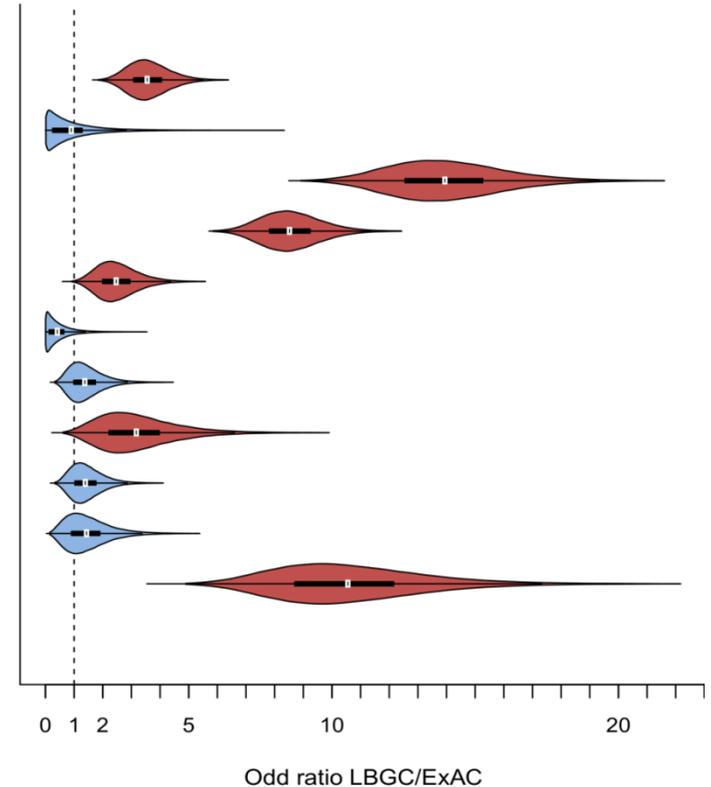
Panel de gènes diagnostique et recherche

Comment convertir ces données en niveaux de risque de prédisposition aux cancers du sein ou de l'ovaire ?



Etude d'association Cas-Témoins

Tester l'association
de la prédisposition aux cancers sein/ovaire
et des variant délétères
avec un degré de certitude élevé (6 et 7)



Etude Cas/Témoins adaptée aux variants génétiques rares

ExAC Browser (Beta) | Exome Aggregation Consortium

Search for a gene or variant or region

Examples - Gene: PCSK9, Transcript: ENSST00000407236, Variant: 22-46815889-T-C, Multi-allelic variant

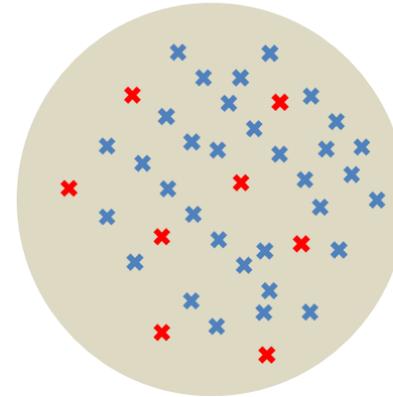
About ExAC

The Exome Aggregation Consortium (ExAC) is a coalition of investigators seeking to harmonize exome sequencing data from a wide variety of large-scale sequencing projects, with summary data available for the wider scientific community.

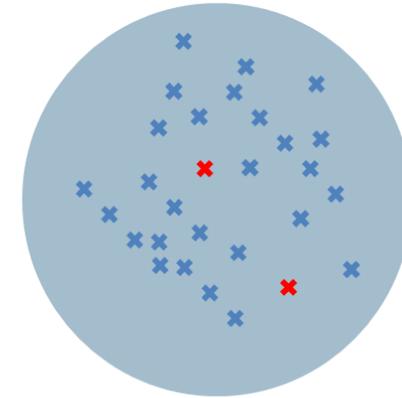
The data set provided on this website spans 60,706 unrelated individuals sequenced in disease-specific and population genetic studies. The ExAC Principal Investigators are

Population	Male Samples	Female Samples	Total
African/African American (AFR)	1,888	3,315	5,203
Latino (AMR)	2,254	3,535	5,789
East Asian (EAS)	2,016	2,311	4,327
Finnish (FIN)	2,084	1,223	3,307
Non-Finnish European (NFE)	18,740	14,630	33,370
South Asian (SAS)	6,387	1,869	8,256
Other (OTH)	275	179	454
Total	33,644	27,062	60,706

Cas



Témoins



Etude Cas/Témoins adaptée aux variants génétiques rares

ExAC Browser (Beta) | Exome Aggregation Consortium

Search for a gene or variant or region

Examples - Gene: PCSK9; Transcript: ENSG00000407286; Variant: 22-46815889-T-C; Multi-allelic variant

About ExAC

The Exome Aggregation Consortium (ExAC) is a coalition of investigators seeking to harmonize exome sequencing data from a wide variety of large-scale sequencing projects and make the summary data available for the wider scientific community.

The data set provided on this website spans 60,706 unrelated individuals sequenced for disease-specific and population genetic studies. The ExAC Principal Investigators are

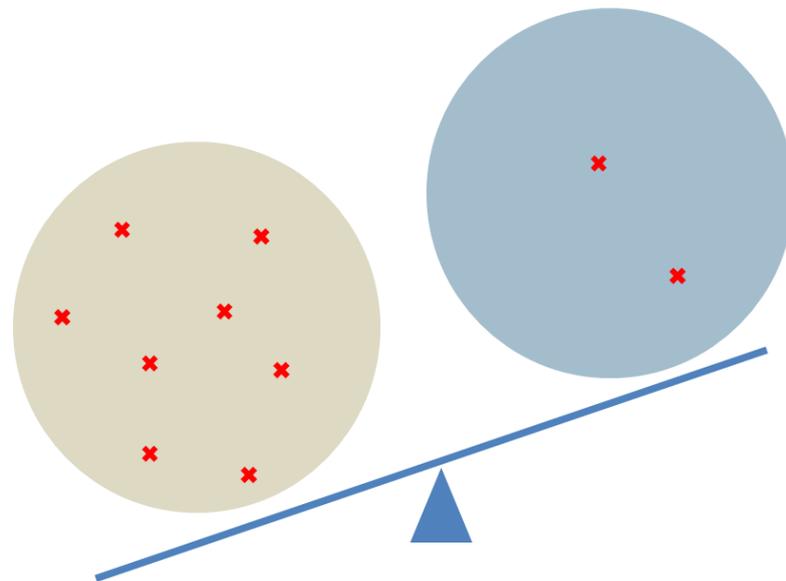
Population	Male Samples	Female Samples	Total
African/African American (AFR)	1,888	3,315	5,203
Latino (AMR)	2,254	3,535	5,789
East Asian (EAS)	2,016	2,311	4,327
Finnish (FIN)	2,084	1,223	3,307
Non-Finnish European (NFE)	18,740	14,630	33,370
South Asian (SAS)	6,387	1,869	8,256
Other (OTH)	275	179	454
Total	33,644	27,062	60,706

Hierarchiser et prédire l'effet des variants

Classe	Description	Probabilité d'être pathogène
5	Pathogène	>0,99
4	Probablement pathogène	0,95-0,99
3	Variant de signification inconnue	0,05-0,949
2	Probablement non pathogène	0,01-0,049
1	Non pathogène	<0,01

Cas

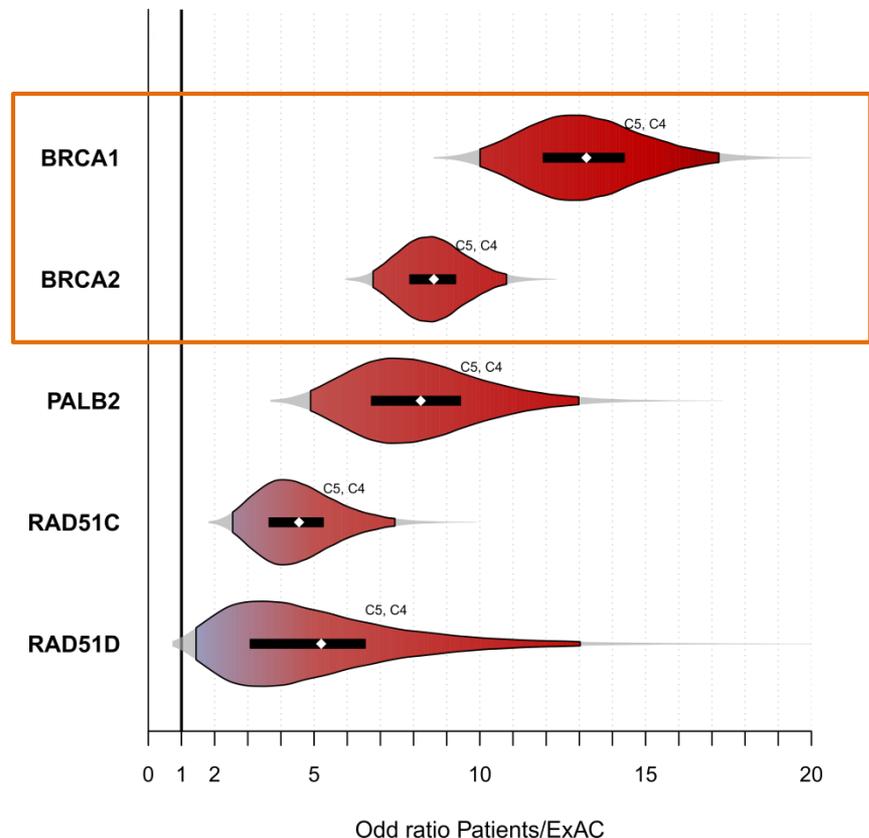
Témoins



Etude Cas-Témoins – Cancers du sein et/ou de l’ovaire

Genes	n =	%	All
ATM	4408	1.04%	3.20 [2.14-4.53]
BAP1	3774	0.026%	0.80 [0.017-3.22]
BARD1	3667	0.19%	2.00 [0.74-4.10]
BRCA1	4406	3.70%	13.22 [10.01-17.22]
BRCA2	4409	3.95%	8.61 [6.78-10.82]
BRIP1	4408	0.48%	2.49 [1.42-3.97]
CDH1	3988	0.05%	6.82 [0.49-28.32]
CHEK2	4374	1.14%	1.67 [1.18-2.27]
FAM175A	2413	0.041%	0.36 [0.01-1.37]
MLH1	4340	0.23%	1.59 [0.71-2.91]
MLH3	4395	0.14%	0.93 [0.32-1.91]
MRE11A	4408	0.16%	1.74 [0.63-3.57]
MSH2	3800	0.29%	1.34 [0.56-2.62]
MSH6	4408	0.25%	2.50 [1.12-4.67]
NBN	3617	0.22%	1.35 [0.54-2.64]
PALB2	4173	0.89%	8.22 [4.91-13.05]
PMS1	4408	0.16%	1.38 [0.51-2.78]
PMS2	4130	0.19%	1.16 [0.47-2.24]
RAD50	4399	0.18%	0.54 [0.23-1.01]
RAD51B	4387	0.046%	1.12 [0.12-3.46]
RAD51C	4309	0.53%	4.54 [2.55-7.48]
RAD51D	4011	0.22%	5.23 [1.46-13.17]
RINT1	2373	0.13%	0.90 [0.18-2.26]
TP53	4180	0.43%	1.56 [0.85-2.52]
XRCC2	3729	0.054%	1.12 [0.12-3.40]
XRCC3	2567	0.039%	0.34 [0.01-1.41]

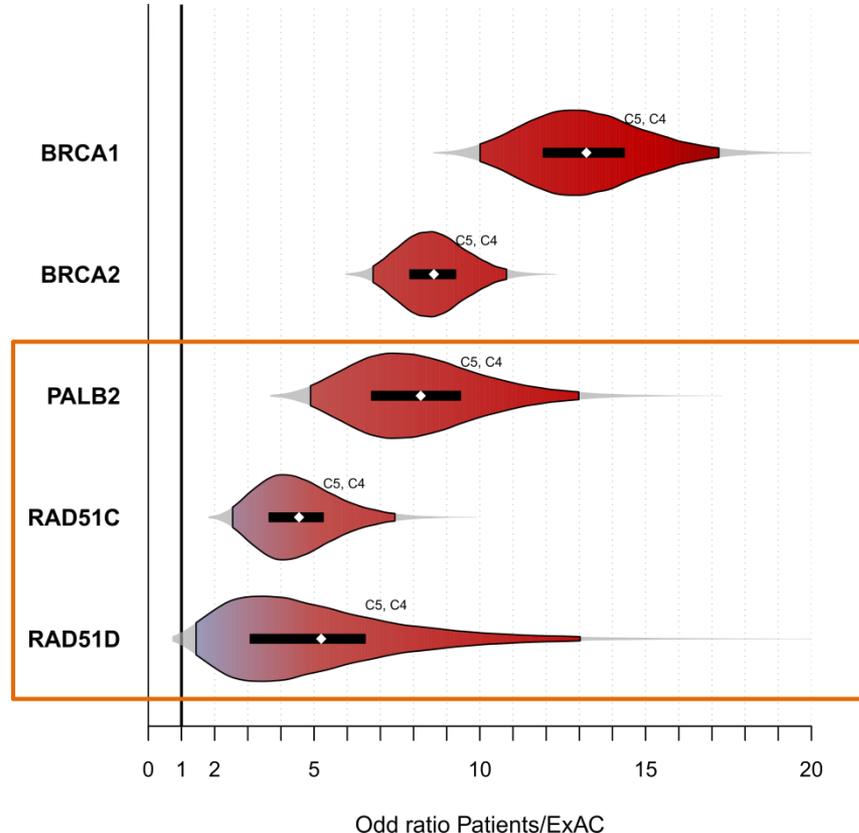
Castéra et al, Genet Med. 2018



Etude Cas-Témoins – Cancers du sein et/ou de l’ovaire

Genes	n =	%	All
ATM	4408	1.04%	3.20 [2.14-4.53]
BAP1	3774	0.026%	0.80 [0.017-3.22]
BARD1	3667	0.19%	2.00 [0.74-4.10]
BRCA1	4406	3.70%	13.22 [10.01-17.22]
BRCA2	4409	3.95%	8.61 [6.78-10.82]
BRIP1	4408	0.48%	2.49 [1.42-3.97]
CDH1	3988	0.05%	6.82 [0.49-28.32]
CHEK2	4374	1.14%	1.67 [1.18-2.27]
FAM175A	2413	0.041%	0.36 [0.01-1.37]
MLH1	4340	0.23%	1.59 [0.71-2.91]
MLH3	4395	0.14%	0.93 [0.32-1.91]
MRE11A	4408	0.16%	1.74 [0.63-3.57]
MSH2	3800	0.29%	1.34 [0.56-2.62]
MSH6	4408	0.25%	2.50 [1.12-4.67]
NBN	3617	0.22%	1.35 [0.54-2.64]
PALB2	4173	0.89%	8.22 [4.91-13.05]
PMS1	4408	0.16%	1.38 [0.51-2.78]
PMS2	4130	0.19%	1.16 [0.47-2.24]
RAD50	4399	0.18%	0.54 [0.23-1.01]
RAD51B	4387	0.046%	1.12 [0.12-3.46]
RAD51C	4309	0.53%	4.54 [2.55-7.48]
RAD51D	4011	0.22%	5.23 [1.46-13.17]
RINT1	2373	0.13%	0.90 [0.18-2.26]
TP53	4180	0.43%	1.56 [0.85-2.52]
XRCC2	3729	0.054%	1.12 [0.12-3.40]
XRCC3	2567	0.039%	0.34 [0.01-1.41]

Castéra et al, Genet Med. 2018



Panel de gènes diagnostic et recherche

Diagnostiques moléculaires par séquençage à haut-débit
d'un panel de gènes

Gènes rendus au titre du diagnostic

BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD51C, RAD51D

Gènes séquencés et non rendus

Amélioration des connaissances
(données anonymes)
Disponibles après discussion
clinico-biologique

*BRCA1
BRCA2
PALB2
RAD51C
RAD51D*

*ATM MSH6
BAP1 MUTYH
BARD1 NBN
BRIP1 PMS1
CDKN2A PMS2
CDH1 PTEN
CHECK2 RAD50
FAM175A RAD51
HOXB13 RAD51B
INHA RINT1
INHBA STK11
MLH1 TP53
MLH3 XRCC2
MRE11A XRCC2
MSH2*

Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Autre syndromes prédisposant aux cancers du sein et de l'ovaire

Cancer du sein :

- Syndrome de Li Fraumeni - mutation constitutionnelle du gène *TP53* – risque très élevé (> 70 %)
- Syndrome de Cowden - mutation constitutionnelle du gène *PTEN* – risque très élevé (> 70 %)
- Syndrome de Peutz Jeghers - mutation constitutionnelle du gène *STK11* – risque très élevé (> 40 %)
- Cancer gastrique diffus héréditaire - mutation constitutionnelle du gène *CDH1* – risque très élevé (> 30 %)
- ...

Cancer de l'ovaire :

- Syndrome de Lynch - mutation constitutionnelle des gènes MMR – risque élevé (~10%)
- Syndrome de Peutz Jeghers - mutation constitutionnelle du gène *STK11* – risque très élevé (> 20 %)
- ...

Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Vers un panel de 13 gènes du Groupe Génétique et Cancer



Recommandations françaises du Groupe Génétique et Cancer pour l'analyse en panel de gènes dans les prédispositions héréditaires au cancer du sein ou de l'ovaire

BRCA1, BRCA2, PALB2, RAD51C, RAD51D,

CDH1, PTEN, TP53, MLH1, MSH2, MSH6, PMS2, EPCAM

Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Vers un panel de 13 gènes du Groupe Génétique et Cancer

	Surveillance mammaire	Chirurgie de réduction des risques (CRR)		Surveillance gynécologique
		Mammaire	Pelviennne	
BRCA1 BRCA2	Sur un rythme annuel : De 30 à 65 ans IRM + Mammographie (+/- échographie).	Mastectomie prophylactique recevable <i>(Recommandations HAS 2014 * et INCa 2017**)</i>	Annexectomie prophylactique (âge à discuter à partir de 40 ans et selon la mutation et l'HF de CO) **	Avant CRR: surveillance standard, pas de dépistage ovarien efficace à préconiser **
PALB2	Après 65 ans		Pas de prise en charge gynécologique spécifique. Si HF de CO, prise en charge discutée en RCP	Surveillance standard
CDH1	Mammographie +/- Echographie			Surveillance standard. Si atteinte gynécologique MC : prise en charge discutée en RCP
PTEN	<i>(Recommandations HAS 2014 * et INCa 2017**)</i>			Surveillance standard
TP53	Sur un rythme annuel dès 20 ans IRM + Echographie (pas de mammographie systématique)			Surveillance standard

Prédisposition génétique aux cancers du sein et de l'ovaire

Vers un panel de 13 gènes du Groupe Génétique et Cancer

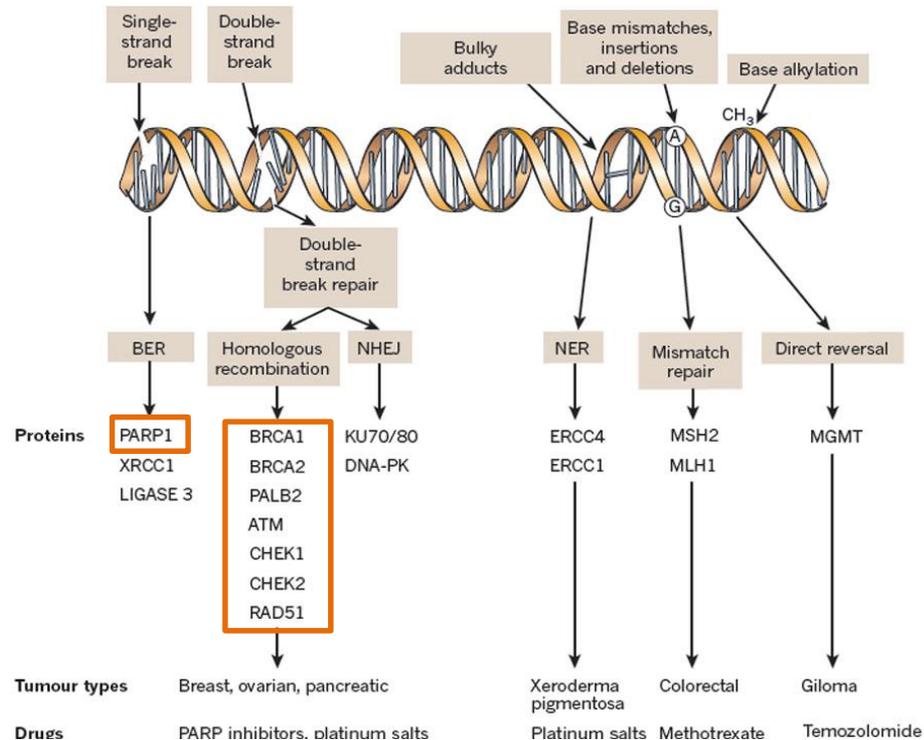
	Surveillance mammaire	Chirurgie de réduction des risques (CRR)		Surveillance gynécologique
		Mammaire	Pelvienne	
<i>RAD51C</i> <i>RAD51D</i>	Pas de surveillance mammaire spécifique, à adapter à l'HF de CS selon les recommandations HAS 2014*	Non indiquée	Annexectomie prophylactique (âge à discuter à partir de 45 ans et selon l'HF de CO)	Avant CRR: surveillance standard, pas de dépistage ovarien efficace à préconiser **
<i>MLH1</i> <i>MSH2 - EPCAM</i> <i>MSH6</i> <i>PMS2</i>			CRR ovarienne et/ou utérine à discuter en RCP selon référentiel syndrome de Lynch	Surveillance utérine selon référentiel syndrome de Lynch

De la prédisposition héréditaire au traitement personnalisé des cancers

Traitements ciblés par inhibiteurs de PARP

Les inhibiteurs de PARP (Poly(ADP-ribose) polymerase)

Mécanismes de réparation des lésions de l'ADN



BER : Base excision repair

HR : Homologous recombination

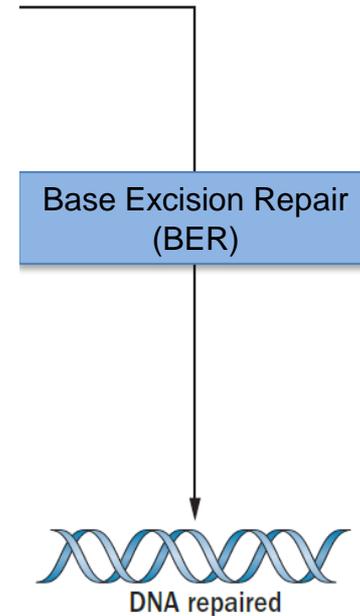
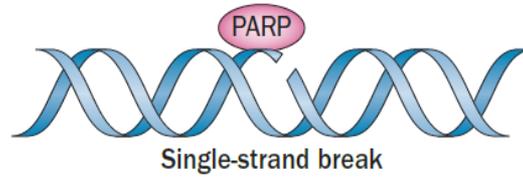
NHEJ : Non-homologous end joining

NER : Nucleotide excision repair

MMR : Mismatch repair

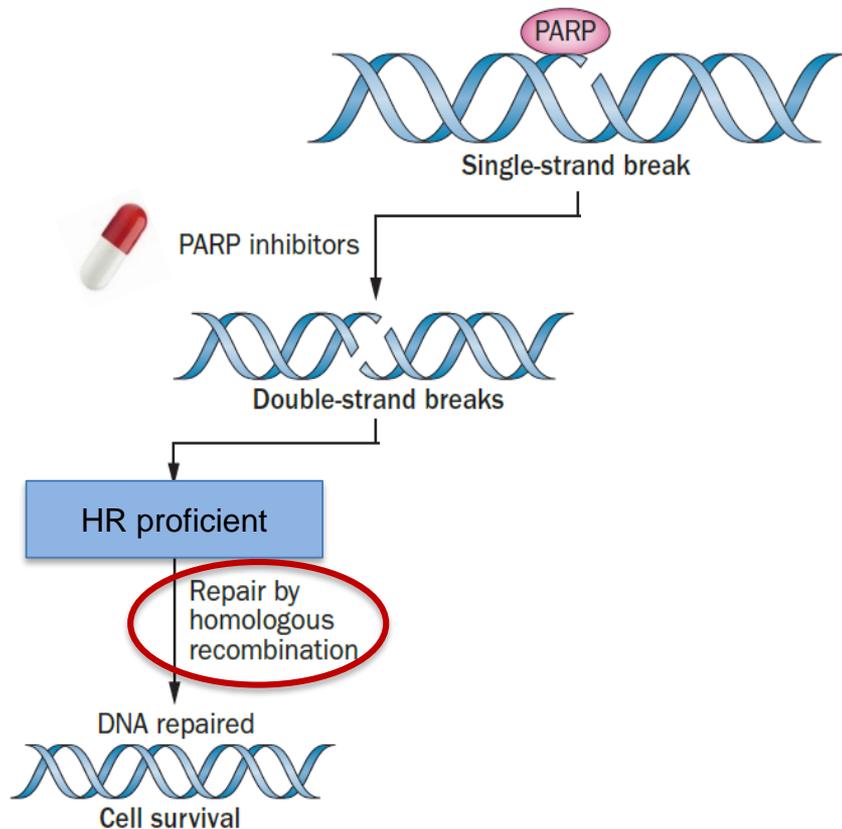
*Christopher J. Lord et al ;
Nature ; 2012*

La PARP initie la réparation des lésions de l'ADN



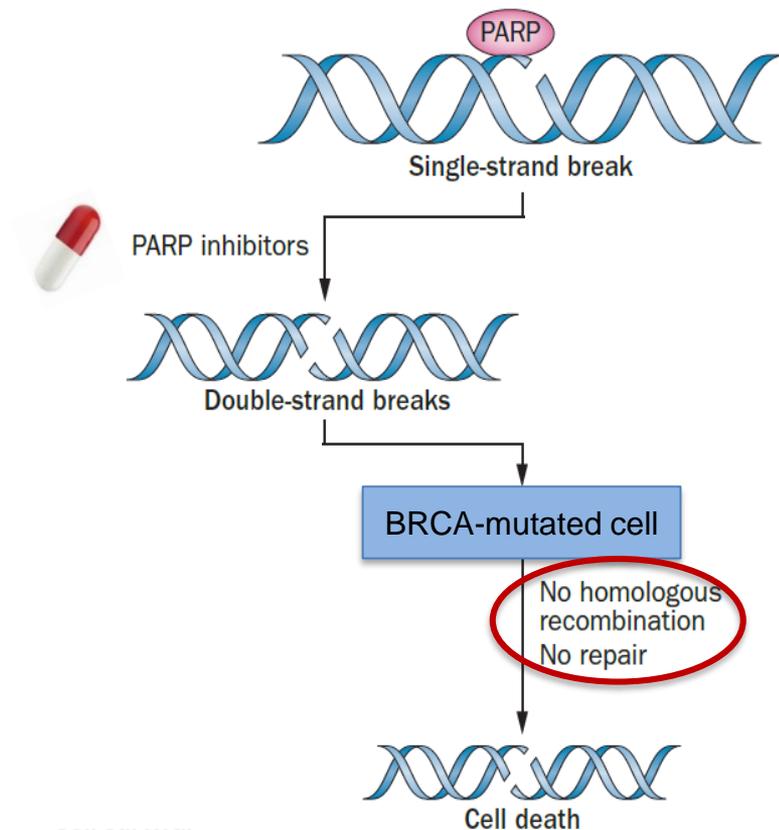
Sonnenblick et al., 2015

L'inhibition de PARP conduit à l'accumulation de cassures double brin



Sonnenblick et al., 2015

L'inhibition de PARP conduit à l'accumulation de cassures double brin



Sonnenblick et al., 2015

L'intérêt thérapeutique des PARPinh

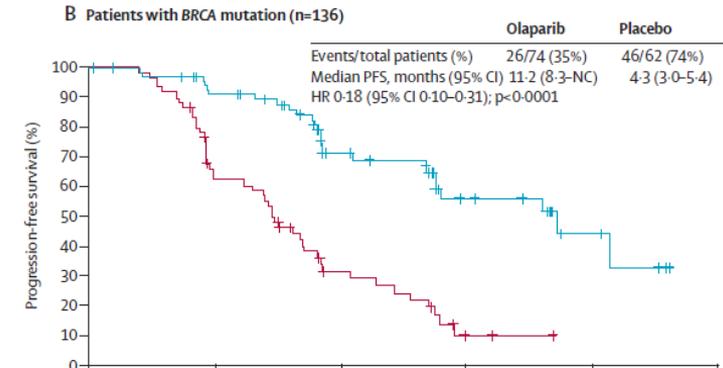
dans les cancers séreux ovariens sensibles au platine (Etude 19)

Olaparib maintenance therapy in patients with platinum-sensitive relapsed serous ovarian cancer: a preplanned retrospective analysis of outcomes by BRCA status in a randomised phase 2 trial

Jonathan Ledermann, Philipp Harter, Charlie Gourley, Michael Friedlander, Ignace Vergote, Gordon Rustin, Clare L Scott, Werner Meier, Ronnie Shapira-Frommer, Tamar Safra, Daniela Matei, Anitra Fielding, Stuart Spencer, Brian Dougherty, Maria Orr, Darren Hodgson, J Carl Barrett, Ursula Matulonis

Findings Between Aug 28, 2008, and Feb 9, 2010, 136 patients were assigned to olaparib and 129 to placebo. BRCA status was known for 131 (96%) patients in the olaparib group versus 123 (95%) in the placebo group, of whom 74 (56%) versus 62 (50%) had a deleterious or suspected deleterious germline or tumour BRCA mutation. Of patients with a BRCA mutation, median PFS was significantly longer in the olaparib group than in the placebo group (11.2 months [95% CI 8.3–not calculable] vs 4.3 months [3.0–5.4]; HR 0.18 [0.10–0.31]; $p < 0.0001$); similar findings were noted for patients with wild-type BRCA, although the difference between groups was lower (7.4 months [5.5–10.3] vs 5.5 months [3.7–5.6]; HR 0.54 [0.34–0.85]; $p = 0.0075$). At the second interim analysis of overall survival (58% maturity), overall survival did not significantly differ between the groups (HR 0.88 [95% CI 0.64–1.21]; $p = 0.44$); similar findings were noted for patients with mutated BRCA (HR 0.73 [0.45–1.17]; $p = 0.19$) and wild-type BRCA (HR 0.99 [0.63–1.55]; $p = 0.96$). The most common grade 3 or worse adverse events in the olaparib group were fatigue (in ten [7%] patients in the olaparib group vs four [3%] in the placebo group) and anaemia (seven [5%] vs one [$< 1\%$]). Serious adverse events were reported in 25 (18%) patients who received olaparib and 11 (9%) who received placebo. Tolerability was similar in patients with mutated BRCA and the overall population.

Ledermann et al., 2014



Lynparza est indiqué en monothérapie pour le traitement d'entretien des patientes adultes atteintes d'un cancer épithélial séreux de haut grade de l'ovaire, des trompes de Fallope ou péritonéal primitif, récidivant et sensible au platine avec **une mutation du gène BRCA (germinale et / ou somatique)** et qui sont en réponse (réponse complète ou réponse partielle) à une chimiothérapie à base de platine.

L'intérêt thérapeutique des PARPinh

dans les cancers sévères ovariens sensibles au platine (SOLO-1)

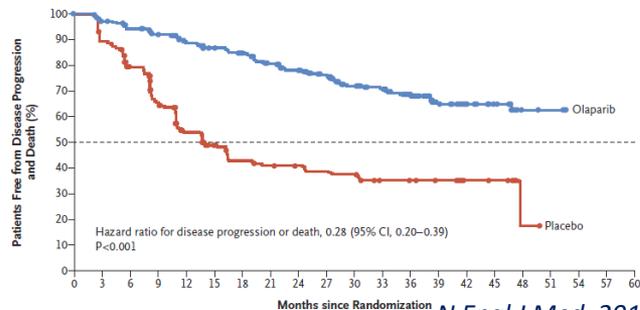
L'essai SOLO1 évaluant l'efficacité de l'Olaparib en entretien chez les patientes atteintes d'un cancer de l'ovaire avancé sévère de haut-grade, endométrioïde, péritonéal primitif ou des trompes de Fallope et présentant une mutation des gènes BRCA et qui présentaient une réponse complète ou partielle après une chimiothérapie à base de sels de platine a montré une réduction de 70% du risque de rechute ou de décès avec l'Olaparib en comparaison au placebo.

Mutations constitutionnelles >99%

Maintenance Olaparib in Patients with Newly Diagnosed Advanced Ovarian Cancer

K. Moore, N. Colombo, G. Scambia, B.-G. Kim, A. Oaknin, M. Friedlander, A. Lisyanskaya, A. Floquet, A. Leary, G.S. Sonke, C. Gourley, S. Banerjee, A. Oza, A. González-Martín, C. Aghajanian, W. Bradley, C. Mathews, J. Liu, E.S. Lowe, R. Bloomfield, and P. DiSilvestro

In the phase 3 SOLO1 trial, the use of maintenance therapy with olaparib provided a substantial benefit with regard to progression-free survival among women with newly diagnosed advanced ovarian cancer and a *BRCA1/2* mutation, with a 70% lower risk of disease progression or death with olaparib than with placebo. Results of a sensitivity analysis



N Engl J Med. 2018 Oct 21

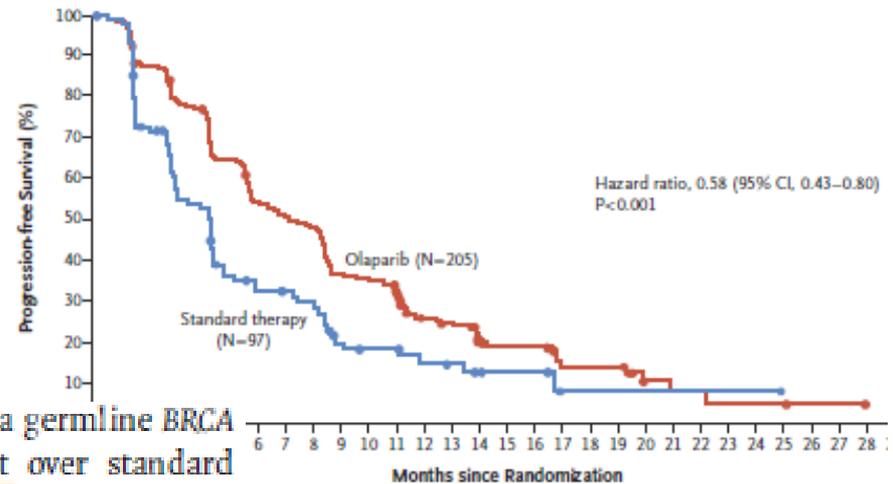
L'intérêt thérapeutique des PARPinh

dans le cancer du sein (OlympiAD)

Olaparib for Metastatic Breast Cancer in Patients with a Germline *BRCA* Mutation

Mark Robson, M.D., Seock-Ah Im, M.D., Ph.D., Elzbieta Senkus, M.D., Ph.D.,
Binghe Xu, M.D., Ph.D., Susan M. Domchek, M.D., Norikazu Masuda, M.D., Ph.D.,
Suzette Delaloge, M.D., Wei Li, M.D., Nadine Tung, M.D.,
Anne Armstrong, M.D., Ph.D., Wenting Wu, Ph.D., Carsten Goessl, M.D.,
Sarah Runswick, Ph.D., and Pierfranco Conte, M.D.

Among patients with HER2-negative metastatic breast cancer and a germline *BRCA* mutation, olaparib monotherapy provided a significant benefit over standard therapy; median progression-free survival was 2.8 months longer and the risk of disease progression or death was 42% lower with olaparib monotherapy than with standard therapy. (Funded by AstraZeneca; OlympiAD ClinicalTrials.gov number, NCT02000622.)



N Engl J Med 2017; 377:523-533

L'intérêt thérapeutique des PARPinh

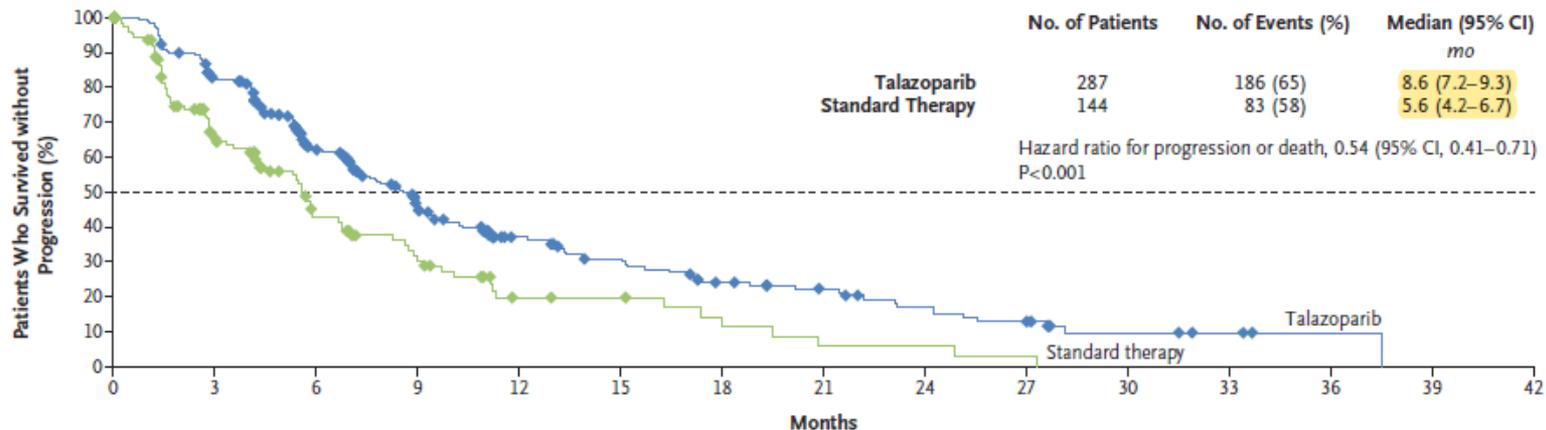
dans le cancer du sein (Embraca)

Talazoparib in Patients with Advanced Breast Cancer and a Germline *BRCA* Mutation

Jennifer K. Litton, M.D., Hope S. Rugo, M.D., Johannes Ettl, M.D., Sara A. Hurvitz, M.D., Anthony Gonçalves, M.D., Ph.D., Kyung-Hun Lee, M.D., Ph.D., Louis Fehrenbacher, M.D., Rinat Yerushalmi, M.D., Lida A. Mina, M.D., Miguel Martin, M.D., Ph.D., Henri Roché, M.D., Ph.D., Young-Hyuck Im, M.D., Ph.D., Ruben G.W. Quek, Ph.D., Denka Markova, Ph.D., Iulia C. Tudor, Ph.D., Alison L. Hannah, M.D., Wolfgang Eiermann, M.D., and Joanne L. Blum, M.D., Ph.D.

Among patients with advanced breast cancer and a germline *BRCA1/2* mutation, single-agent talazoparib provided a significant benefit over standard chemotherapy with respect to progression-free survival. Patient-reported outcomes were superior with talazoparib. (Funded by Medivation [Pfizer]; EMBRACA ClinicalTrials.gov number, NCT01945775.)

N Engl J Med 2018; 379:753-763



L'intérêt thérapeutique des PARPinh

dans le cancer du pancréas (POLO)

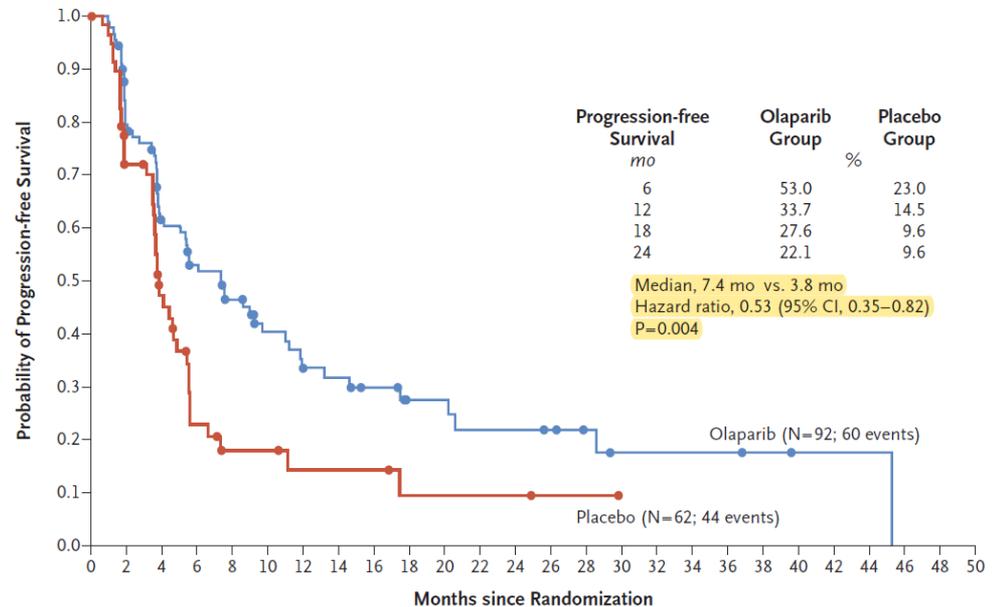
Maintenance Olaparib for Germline BRCA-Mutated Metastatic Pancreatic Cancer

Talia Golan, M.D., Pascal Hammel, M.D., Ph.D., Michele Reni, M.D.,
Eric Van Cutsem, M.D., Ph.D., Teresa Macarulla, M.D., Ph.D.,
Michael J. Hall, M.D., Joon-Oh Park, M.D., Ph.D., Daniel Hochhauser, M.D., Ph.D.,
Dirk Arnold, M.D., Ph.D., Do-Youn Oh, M.D., Ph.D.,
Anke Reinacher-Schick, M.D., Ph.D., Giampaolo Tortora, M.D., Ph.D.,
Hana Algül, M.D., Ph.D., M.P.H., Eileen M. O'Reilly, M.D.,
David McGuinness, M.Sc., Karen Y. Cui, M.D., Ph.D., Katia Schlienger, M.D., Ph.D.,
Gershon Y. Locker, M.D., and Hedy L. Kindler, M.D.

Among patients with a germline BRCA mutation and metastatic pancreatic cancer, progression-free survival was longer with maintenance olaparib than with placebo. (Funded by AstraZeneca and others; POLO ClinicalTrials.gov number, NCT02184195.)

N Engl J Med 2019;381:317-27.

Progression-free Survival

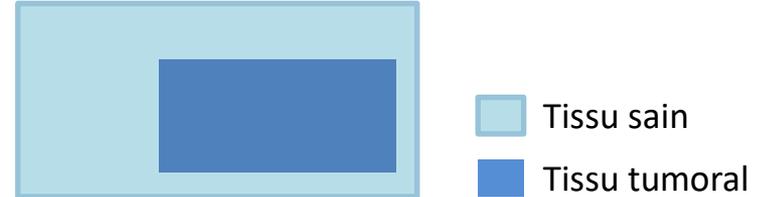


De la prédisposition héréditaire au traitement personnalisé des cancers

Traitements ciblés par inhibiteurs de PARP

Remarques préliminaires

- La recherche de variants pathogènes dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* relève **toujours** d'une double information : thérapeutique **ET** génétique.



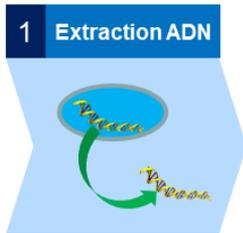
- Les variants identifiés sont constitutionnels dans leur très grande majorité. Il est donc impératif d'accompagner la démarche thérapeutique d'un conseil génétique.
- Des techniques permettant de séquencer des gènes entiers (*BRCA1* et *BRCA2*, etc) dans les tumeurs dans des délais compatibles avec la prise en charge thérapeutique doivent être implémentées.
- Il faut garantir la qualité de l'interprétation des variants identifiés

Remarques préliminaires

- Si AMM «Somatique » (Ex ovaire) : L'existence de variants tumoraux « acquis » (5 à 10% des cancers de l'ovaire) rend nécessaire la recherche de ces variants dans la tumeur.
- Si AMM « Constitutionnelle » (Ex sein, pancréas, prostate ?) : L'analyse est possible à partir de la tumeur mais la recherche sur le sang paraît plus pertinente si les délais sont compatibles avec la prise en charge thérapeutique.

Les étapes du séquençage tumoral

Séquençage à haut-débit : Processus d'analyse somatique



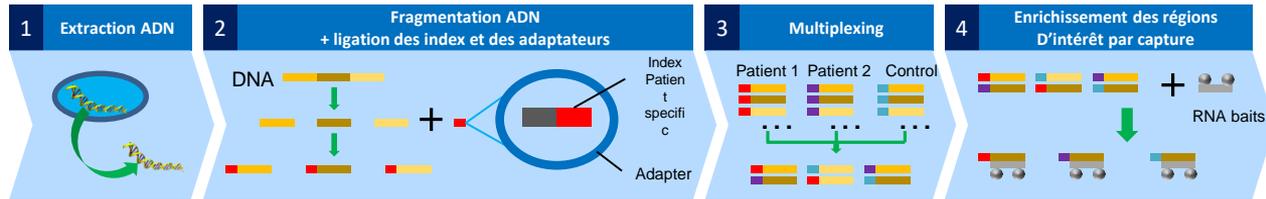
→ FFPE :

- ADN fragmenté
- Mutations artéfactuelles (C/T)

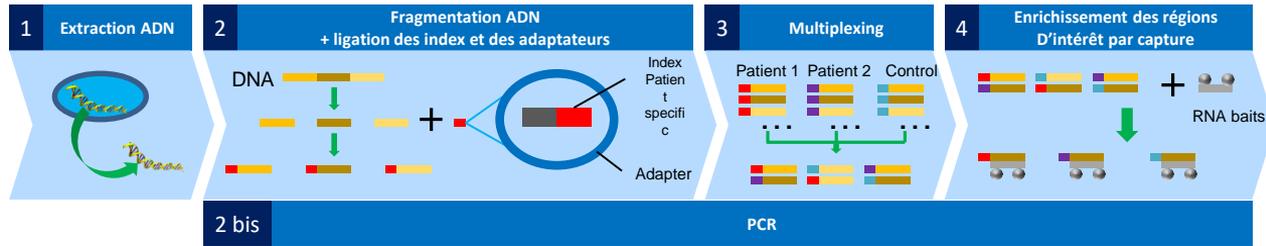
→ %cellules tumorales (Somatique = tumoral + constitutionnel)



Séquençage à haut-débit : Processus d'analyse somatique



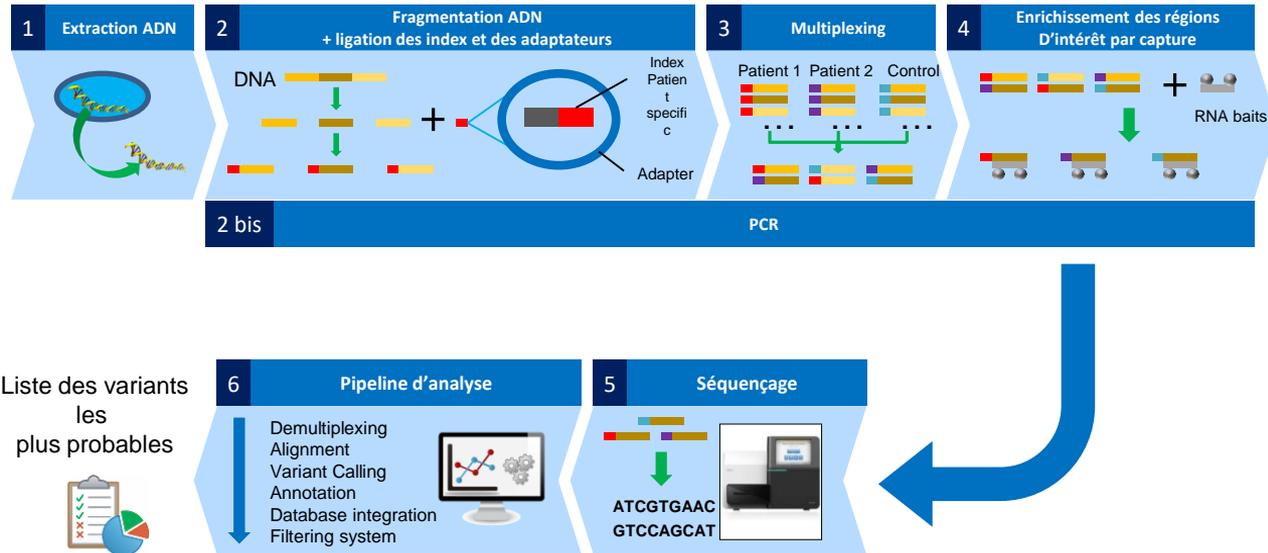
Séquençage à haut-débit : Processus global d'analyse somatique



➔ PCR / Capture

- [ADN] +/-
- Rapidité +/-
- Simplicité +/-
- Taille du panel -/+
- Taux d'échec -/+

Séquençage à haut-débit : Processus d'analyse somatique



Séquençage à haut-débit : Processus d'analyse somatique

NextSeq



Read length	Run Time	Output
2 × 150 bp	29 hours	100-120 Gb

MiSeq



Read Length	Run Time	Output
2 × 150 bp	20.7-24.0 hours	3.7-4.6 Gb

Extraction ADN

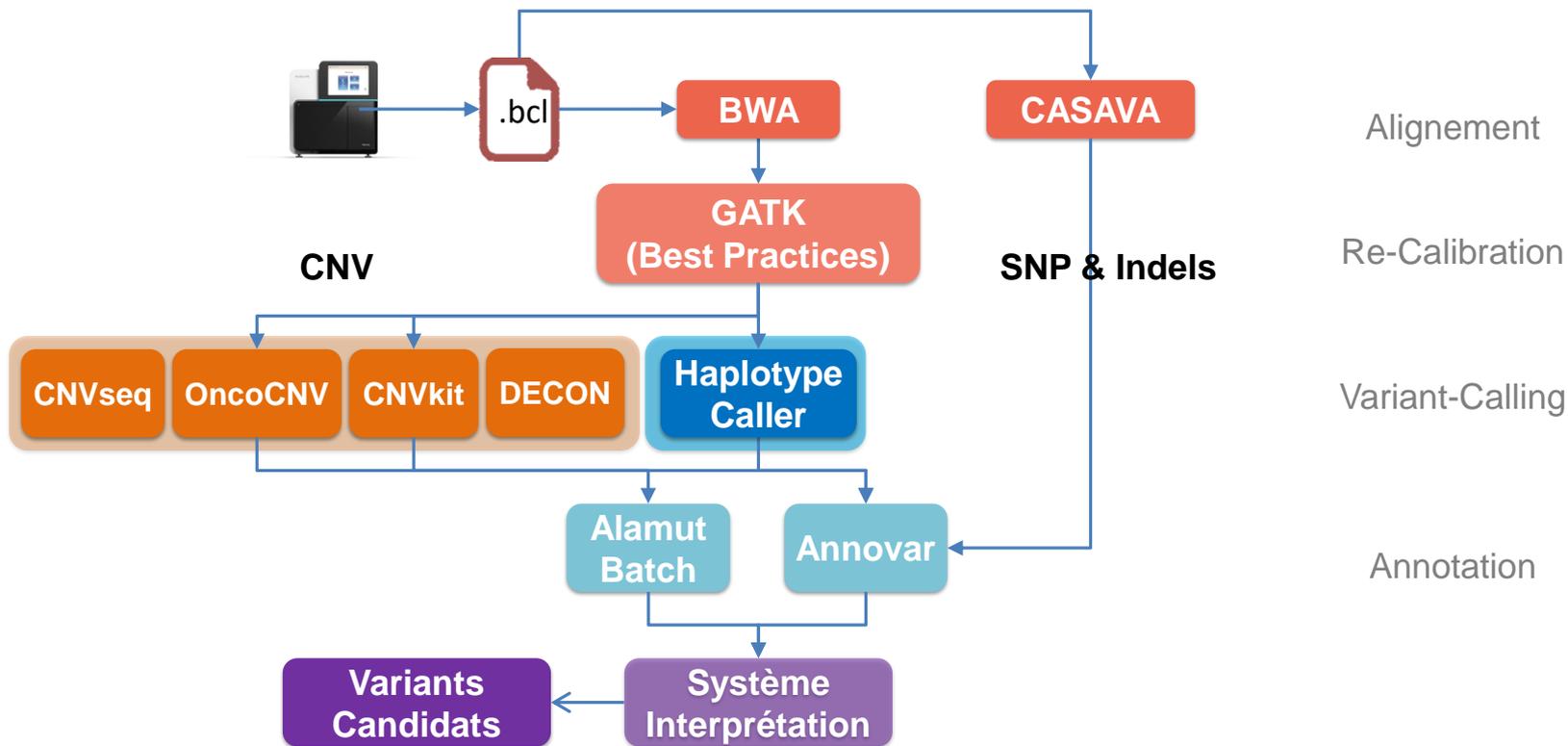
Enrichissement

Clustering Sequencing

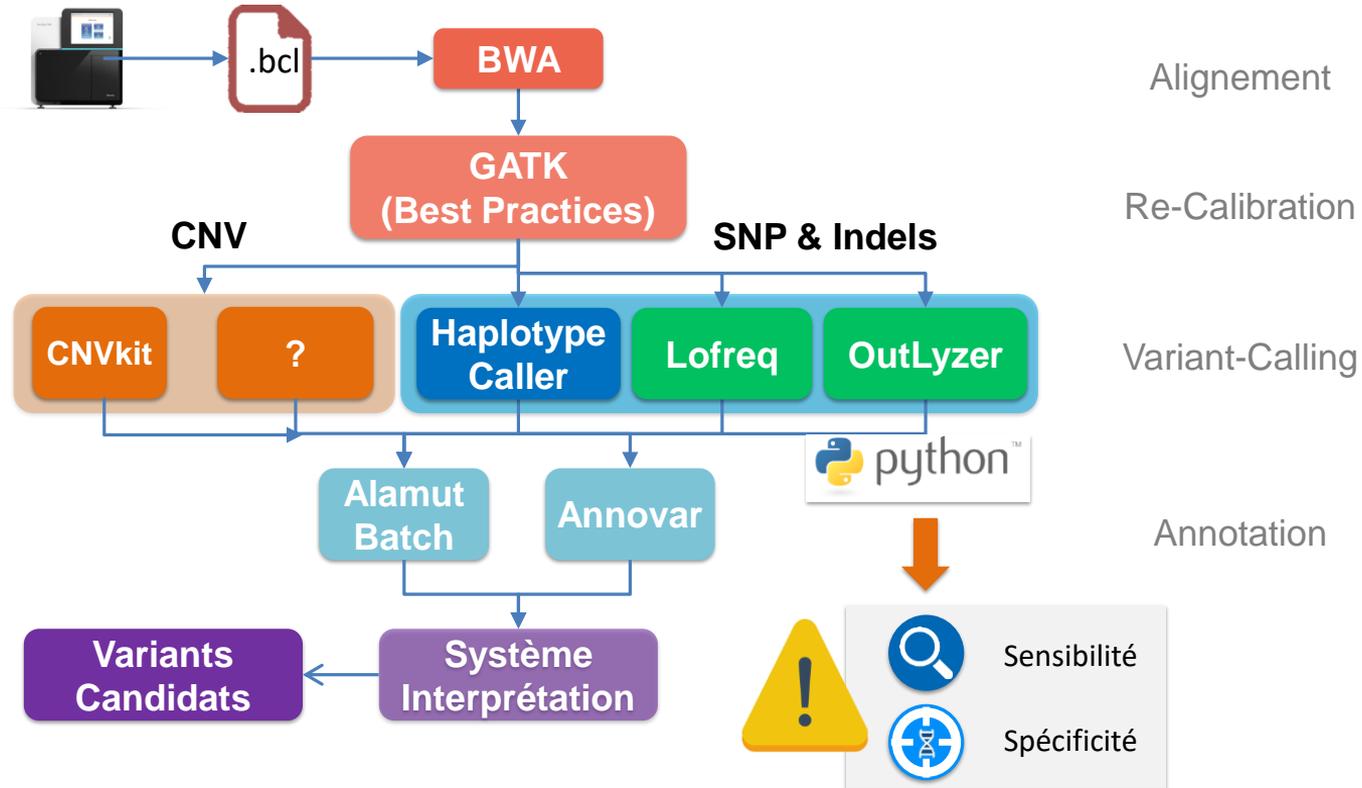
Analysis

Semaine n-1	Lundi	Mardi	Mercredi	Jeudi	Vendredi	Samedi	Dimanche	Lundi
Arrivée des blocs, contourage, évaluation du % de cellules tumorales et extraction	Dosage Fragmentation	Ligation des adaptateurs PCR- purif. Speed-Vac	Capture J1	Capture J2 Purif. PCR. Purif. Dosage Pooling	Lancement du run	Analyse bioinformatique		Validation et rendu des résultats

Pipelines d'analyse bioinformatique (Constitutionnel)



Pipelines d'analyse bioinformatique (Somatique)



Séquençage constitutionnel / Somatic

Séquençage constitutionnel / Somatique

	Constitutionnel	Somatique
Indications	Prédisposition héréditaire / <i>Thérapeutique</i>	Thérapeutique / <i>Prédisposition héréditaire</i>
Prélèvements	Sang total	Paraffine/congelé (% cellules tumorales)
Sampleprep	Capture (83%*) / PCR	PCR (84%*) / Capture
Séquençage	>30X	>200X
Bioinformatique	Spécificité ++	Sensibilité/Spécificité ++
CNVs/RGT	Oui (Résolution de l'exon)	Oui (Résolution du gène)
Confirmation des variants	Systématique	Oui/Non ?
Analyses non contributives	<1 %*	12 %*
Interprétation	Risque personnel et familial Et Bénéfice thérapeutique	Bénéfice thérapeutique Et Risque personnel et familial
Panels séquencés	<i>BRCA1/2, PALB2, RAD51C, RAD51D...</i> (13 gènes GGC)	Panel INCa + BRCA1/2 , Panels BRCAness et RCP moléculaire
Délais (théorique)	3 à 4 semaines (1 préanalytique , 1 à 2 technique, 1 post analytique)	3 à 4 semaines ? (1 préanalytique (délai d'obtention du bloc , 1 à 2 technique, 1 post analytique) + délai de confirmation en constitutionnel)

*Retour de l'enquête « laboratoires de génétique somatique et constitutionnelle, tests BRCA1/2 » - Assises de génétique – Nantes - 2018

L'enjeu de l'interprétation des variants génétiques

L'interprétation des variants génétiques

Les Variants de Signification Inconnue (VSI / UV / VUS)
dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* (Base de donnée UMD-GGC)

Classe	Description	Probabilité d'être pathogène
5	Pathogène	>0,99
4	Probablement pathogène	0,95-0,99
3	Variant de signification inconnue	0,05-0,949
2	Probablement non pathogène	0,01-0,049
1	Non pathogène	<0,01

L'interprétation des variants génétiques

Les Variants de Signification Inconnue (VSI / UV / VUS)
dans les gènes *BRCA1* et *BRCA2* (Base de donnée UMD-GGC)

Classe	Description	Probabilité d'être pathogène	<i>BRCA1</i>	<i>BRCA2</i>
5	Pathogène	>0,99	36%	28%
4	Probablement pathogène	0,95-0,99	<1%	0%
3	Variant de signification inconnue	0,05-0,949	54%	63%
2	Probablement non pathogène	0,01-0,049	4,5%	5%
1	Non pathogène	<0,01	5%	4%

L'interprétation des variants génétiques

- L'interprétation des variant demande une expertise :
 - Les modélisations bioinformatiques sont imparfaites.
 - L'interprétation doit être assurée par des biologistes experts s'appuyant sur des bases de données de qualité.

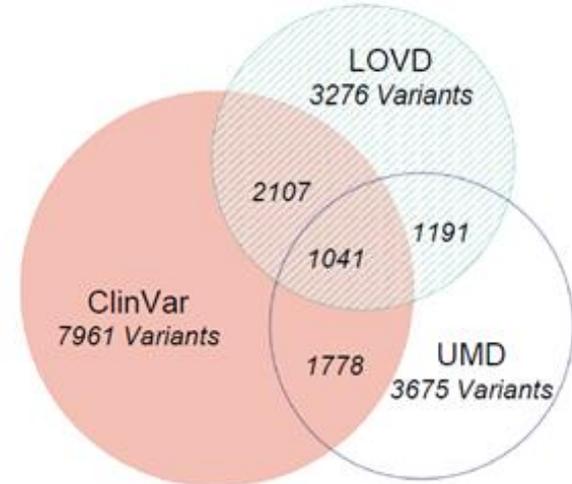


Bases de données de variants génomiques

Les bases de données de « grade clinique » :

- UMD BRCA → BRCAShare (Quest)
- BRCAexchange (GA4GH)
- LOVD
- Clinvar
- FrOG (Groupe Génétique et Cancer)

BRCA1/2 français vs international

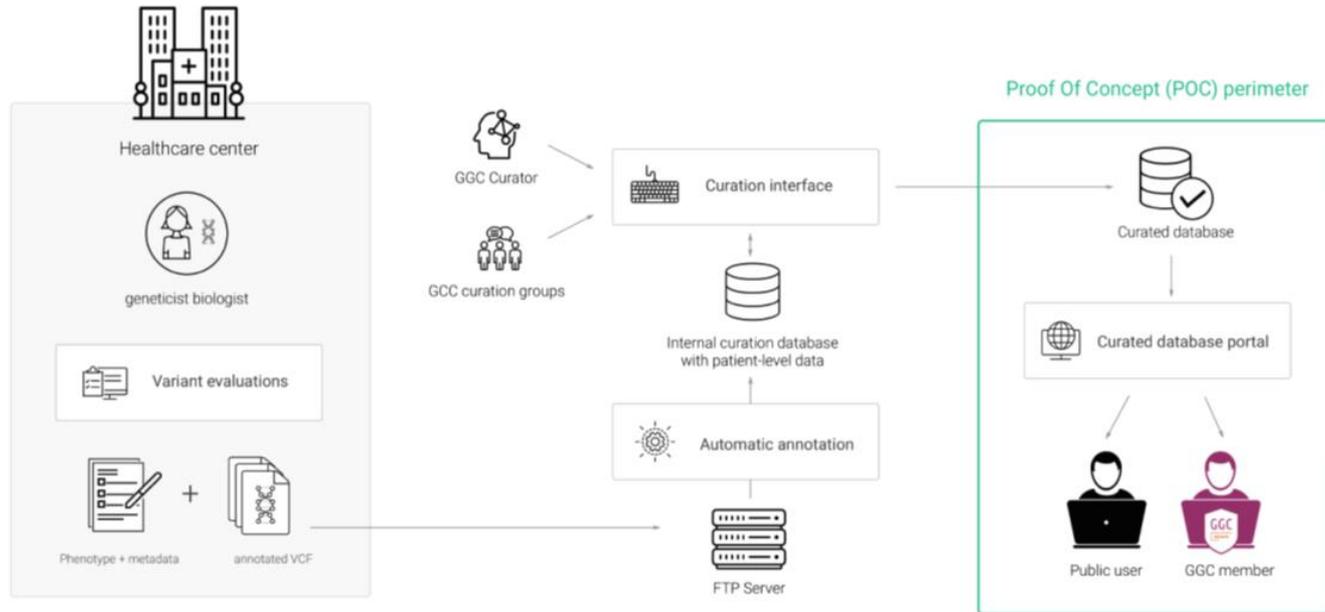


As of May 2016 (UMD last public release (May 2015))

© Capelle, J., Collège, J. Revit - BRCA1/2 18/11/2018

Bases de données de variants génomiques

SOLUTION | GGC KNOWLEDGE BASE



Bases de données de variants génomiques

← → ↻ <https://ggc-test.normandy-genomic-medicine.fr> Applications Redmine-CRIHAN Candid-Crihan Task Management... net2ftp - a web bas... eBGO - Group: INC... Biomina/MedGen V... résa Criann Page d'accueil "Le... DoCM - Database o... CeSGO - Group: IN... cBioPortal for Canc... » | Autres favoris



LOGIN



Search variants 🔍

Examples: [BRCA1_NP_009225.1.p.Asn550His](#), [NP_009225.1.p.Asp345Tyr](#)



11



11288



37987



3

Feedback

[Home](#) [About](#) [Help](#)



[Disclaimer](#) [Contact](#)

Bases de données de variants génomiques

https://ggc-test.normandy-genomic-medicine.fr/search/BRCA1?page=1&limit=10&sortColumn=pos&sortOrder=ASC&filters=%7B%7D

Applications Redmine-CRIHAN Candid-Crihan Task Management... net2ftp - a web bas... eBGO - Group: INC... Biomina/MedGen V... résa Criann Page d'accueil "Le... DoCM - Database o... CeSGO - Group: IN... cBioPortal for Canc... Autres favoris

FrOG BRCA1 Clinical significance Variant Types Effects LOGIN

☐⇒△ Variants search results 3199 variants found

Items per page: 10 11 - 20 of 3199 |< < > >|

Clin. sign.	Gene	Transcript	HGVSc.	Exon	HGVS p.	Effects	Variant Type	Effects	Recurrences	Curation status
3	BRCA1	NM_007294.3	c.5580C>T	24/24	p.L1858Met		SNV	synonymous	NA	02/07/2019 GGC
2	BRCA1	NM_007294.3	c.5576C>G	24/24	p.L1858Leu	BRCT domain	SNV	missense	NA	02/07/2019 GGC
3	BRCA1	NM_007294.3	c.5574C>G	24/24	p.L1858Leu	BRCT domain	SNV	missense	NA	02/07/2019 GGC
2	BRCA1	NM_007294.3	c.5572A>C	24/24	p.Pro1856Ser	BRCT domain	SNV	missense	NA	02/07/2019 GGC
3	BRCA1	NM_007294.3	c.5566C>T	24/24	p.L1855AsnfsTer67	BRCT domain	deletion	frameshift	NA	02/07/2019 GGC
5	BRCA1	NM_007294.3	c.5564del	24/24	p.L1855GlyfsTer69	BRCT domain	indel	frameshift	NA	02/07/2019 GGC
5	BRCA1	NM_007294.3	c.5563delinsGGATCC	24/24	p.Leu1854=	BRCT domain	SNV	synonymous	NA	02/07/2019 GGC
3	BRCA1	NM_007294.3	c.5562G>C	24/24	p.Leu1854=	BRCT domain	SNV	synonymous	NA	02/07/2019 GGC
3	BRCA1	NM_007294.3	c.5562G>A	24/24	p.Tyr1853AspfsTer25	BRCT domain	deletion	frameshift	NA	02/07/2019 GGC
5	BRCA1	NM_007294.3	c.5556_5560del	24/24						

Items per page: 10 11 - 20 of 3199 |< < > >|

Feedback

Merci de votre attention

Centre Normand de Génomique et de Médecine Personnalisée

Le Groupe Génétique et Cancer

LBGC - U1245

Caroline Allaire
 Alexandre Atkinson
 Sosthène Barbachou
 Pauline Barraquet
 Laurent Castera
 Hafsa Chevauchet
 Florian Domin
 Arnaud Dufour
 Olivia Ferec
 Robin Fouillet
 Laurence Françoise
 Nicolas Goardon
 Katie Goubin
 Nadine Hartel
 Anne-Laurence Josnin
 Sophie Krieger
 Thibaut Lavalé

Angéline Legros
 Julien Levilly
 Etienne Muller
 Céline Quesnel
 Agathe Ricou
 Chankannira San
 Aurore Tranchant

Stéphanie Baert-Desurmont
 Gaele Bougeard
 Françoise Charbonnier
 Thierry Frébourg
 Pascaline Gaildrat
 Claude Houdayer
 Edwige Kasper
 Alexandra Martins
 Jean-Christophe Théry
 Isabelle Tournier

Les oncogénéticiens

Odile Bera
 Pascaline Berthet
 Thierry Frébourg
 Elodie Lacaze
 Valérie Layet
 Florence Polycarpe
 Isabelle Tevennet
 Jean-Christophe Théry

CTD-CNO

Valentin Harter

