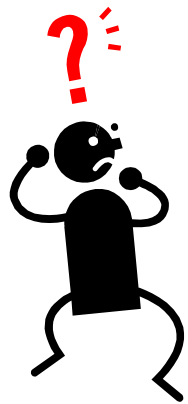


Comment reverser la résistance à l'hormonothérapie



Sylvie Giacchetti
Centre des maladies du sein



Introduction (1)

- Plus de 70 % des patientes ayant un cancer du sein sont RH + (expression nucléaire des RE et/ou des RP)
- L'hormonothérapie est la 1^{ère} thérapie ciblée utilisée dans le cancer du sein
- Réponse à un traitement hormonal
 - Soit blocage compétitif des RE (SERM: *Tamoxifène*; SERD: *Fulvestrant*)
 - Soit réduction du niveau des oestrogènes circulants (*inhibiteurs d'aromatase, suppression de la fonction ovarienne*)

TRAITEMENTS HORMONAUX DU CANCER DU SEIN

Historique, de 1896 à 2009...

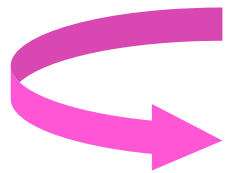
- Ovariectomie
- Adrénalectomie
- Hypophysectomie
- Oestrogènes
- Androgènes
- Glucocorticoïdes
- Progestatifs
- Aminoglutéthimide
- Anti-estrogènes
- Analogues LH-RH
- Anti-estrogènes
« purs »
- Anti-progestérone
- Inhibiteurs spécifiques
de l'aromatase

Hormonothérapie

- **Tamoxifène**: 1^{er} traitement hormonal (SERM) liaison directe au RE
- **Inhibiteurs de l'aromatase de 3^{ème} génération**
 - Non stéroïdiens: Letrozole, Anastrozole
 - Inhibition indirecte et réversible de l'aromatase
 - Stéroïdiens: exemestane
 - Inhibition directe et irréversible de l'aromatase
- **Dégradation du RE, le Fulvestrant (SERD)**

Introduction (2)

- 1/3 des ptes recevant 5 ans de Tamoxifène rechutent à 15 ans: ces tumeurs sont devenues résistantes à une hormonothérapie....



**Nouvelles cibles thérapeutiques
pour les tumeurs
résistantes à l'hormonothérapie**

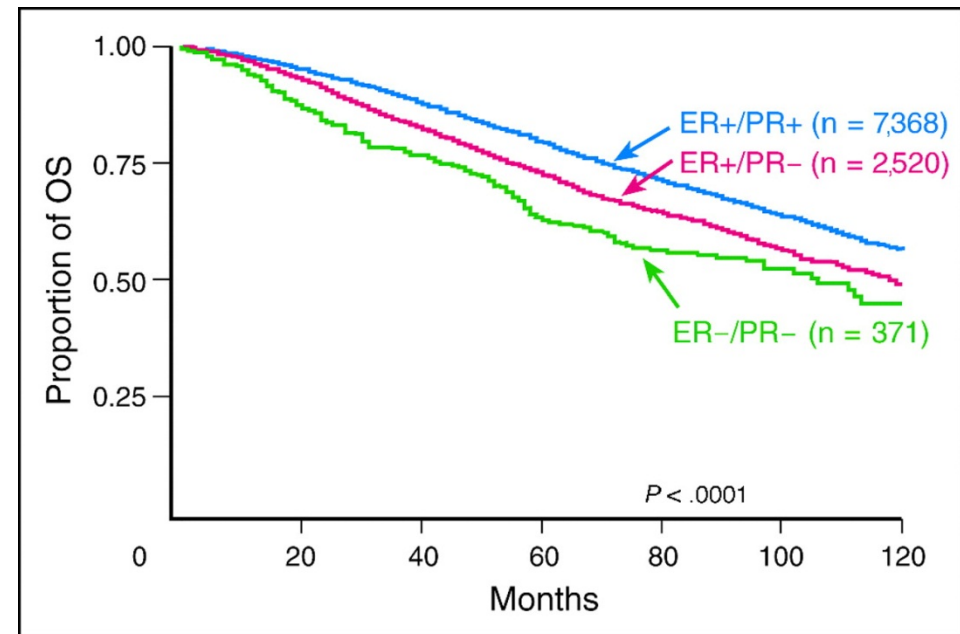
Voies de résistance

Mécanismes de résistance

- 1) $ER\alpha$: Expression, variants mutés et/ou tronqués, méthylation, phosphorylation, localisation sous membranaire

Expression des RE α

- Premier mécanisme de résistance intrinsèque: **non expression des RE**
- IHC méthode de référence depuis 2000, seuil: expression nucléaire de 10 %
- Réponse:
 - si RE+ et/ou RP+: 70 %
 - <10 % si RH-
 - RE+/RP+ > RE+/RP-



Survie globale selon RH, patientes > 90% traitées par Tamoxifène

Formes variantes des RE α

- **Mutations** rendant le récepteur non fonctionnel et donc tumeurs hormono résistantes
 - Substitution lysine–arginine en 303 ▶ résistante au Tamoxifène chez l'homme et aux AI dans les lignées cellulaires
 - Cette mutation active la voie PI3K/Akt
 - L'inhibition de cette voie restaure la sensibilité aux AI
 - Mais cette mutation est rare 1% des cas

Formes variantes des RE α (2)

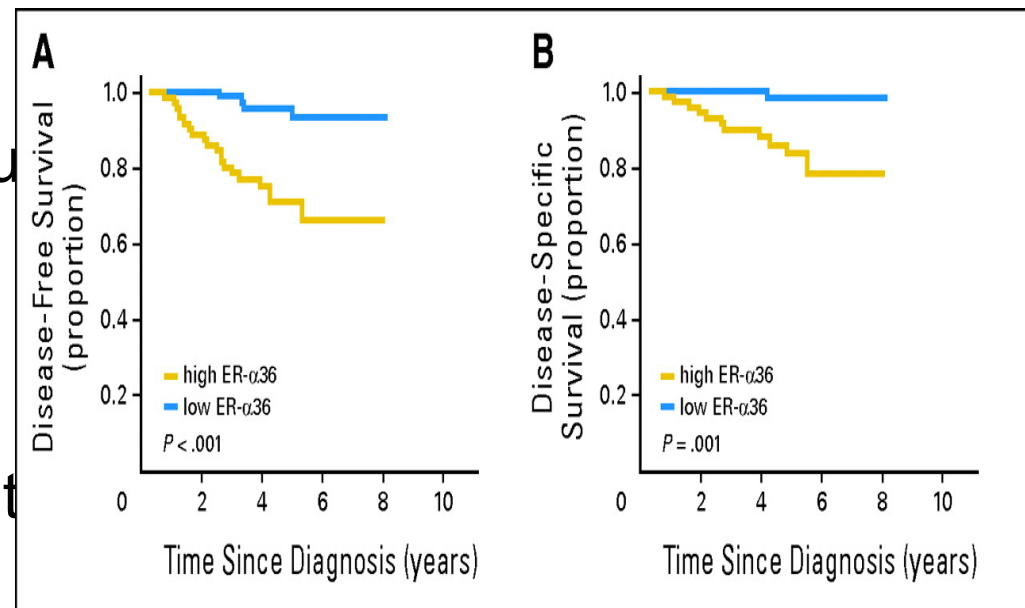
- **Polymorphisme de ESR1** (*gènes codant pour RE α*) étudié chez 1001 patientes (*étude POSH*)¹
 - Deux polymorphismes de ESR1 sont retrouvés en univariée comme facteur de mauvais pronostic mais non en multivariée
- Forme tronquée de RE (*RE α 36*) **localisée sous la membrane plasmique** et dans le cytoplasme
 - ▶ activation de la voie MAPK/ERK
 - ▶ stimulation de la croissance tumorale

Eccles D, Gerty S et al Simmonds P, et al (POSH): study protocol. BMC Cancer. 2007 Aug 15;7:160.

Wang Z, Zhang X, et al: Biochem Biophys Res Commun. 2005 Nov 4;336(4):1023-7.

Données cliniques des formes tronquées des RE α

- Expression de la protéine ER- α 36 chez 896 femmes ayant un cancer du sein RH+
- **BUT:** Surexpression de ER- α 36 et la résistance au Tamoxifène
- **RESULTATS:** Surexpression d'ER- α 36 est un facteur indépendant de mauvais pronostic (*survie sans rechute et survie globale*) en analyse multivariée chez les patientes traitées par Tamoxifène en adjuvant



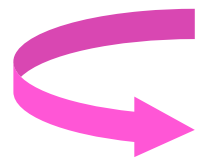
RE α et RE β

- Deux protéines distinctes, traduction de 2 gènes différents (*chr 6 et 14*)
- **RE α** utilisé en routine
- **RE β** rôle peu clair et non consensuel, place à déterminer
- Faible expression de RE β dans le tissu tumoral

Honma et al, JCO, 26, 3727-34, 2008,

Modifications post traductionnelle du RE α

- Ces modifications: phosphorylation, méthylation, ...



**Peuvent influencer sur la fonctionnalité
du récepteur**


- Une méthylation du RE (en ARG260) est associée à une à une fonction extra nucléaire du RE avec interaction avec la PI3KCA et activation de la voie Akt

Mécanismes de résistance

1. ER α : Expression, variants mutés et/ou tronqués, méthylation, phosphorylation, localisation sous membranaire

2. Corégulation

Fonctionnalité des RE

- RE: facteur de transcription nucléaire
  régule l'expression de gènes impliqués dans la prolifération, apoptose et la progression cellulaire (cycline D1, Bcl2, VEGF)
- RP: idem, facteur de transcription
- La négativité des RP dans les tumeurs RE+ = marqueur d'hyperactivité de la voie de signalisation des récepteurs de facteurs de croissance et non un marqueur de non fonctionnalité des RE

Corégulateurs des RE, A1B1

- Le RE α = facteur de transcription = dimérisation et interaction avec des protéines corégulatrices > hormonorésistance ?
- Coactivateur le + étudié = A1B1 (SCR3, NCOA3)
 - Surexpression et hyperphosphorylation transcription RE α dépendante > hormonorésistance in vitro
- Mécanisme par lesquels A1B1 hormonorésistance = multiples
 - Majoration de l'effet agoniste du Tamoxifène
 - Induction des voies de signalisation des facteurs de croissance (HER2..)
 - Liason à ERR α (complexe A1BA-ERR α) contrôlant les gènes régulés par l'oestradiol de façon hormono-indépendante

Corégulateurs des RE, A1B1, et autres..

- Etudes rétrospectives ont confirmé cette « hormonorésistance » liée à la surexpression de A1B1¹
- Ces corégulateurs sont nombreux et ont une expression ubiquitaire, ils régulent des récepteurs et facteurs de transcription ≠ RE, RP



Absence de spécificité
Analyse en clinique difficile

¹ Lahusen T et al: The role and regulation of the nuclear receptor co-activator AIB1 in breast cancer. *Breast Cancer Res Treat.* 2009;116(2):225-37.

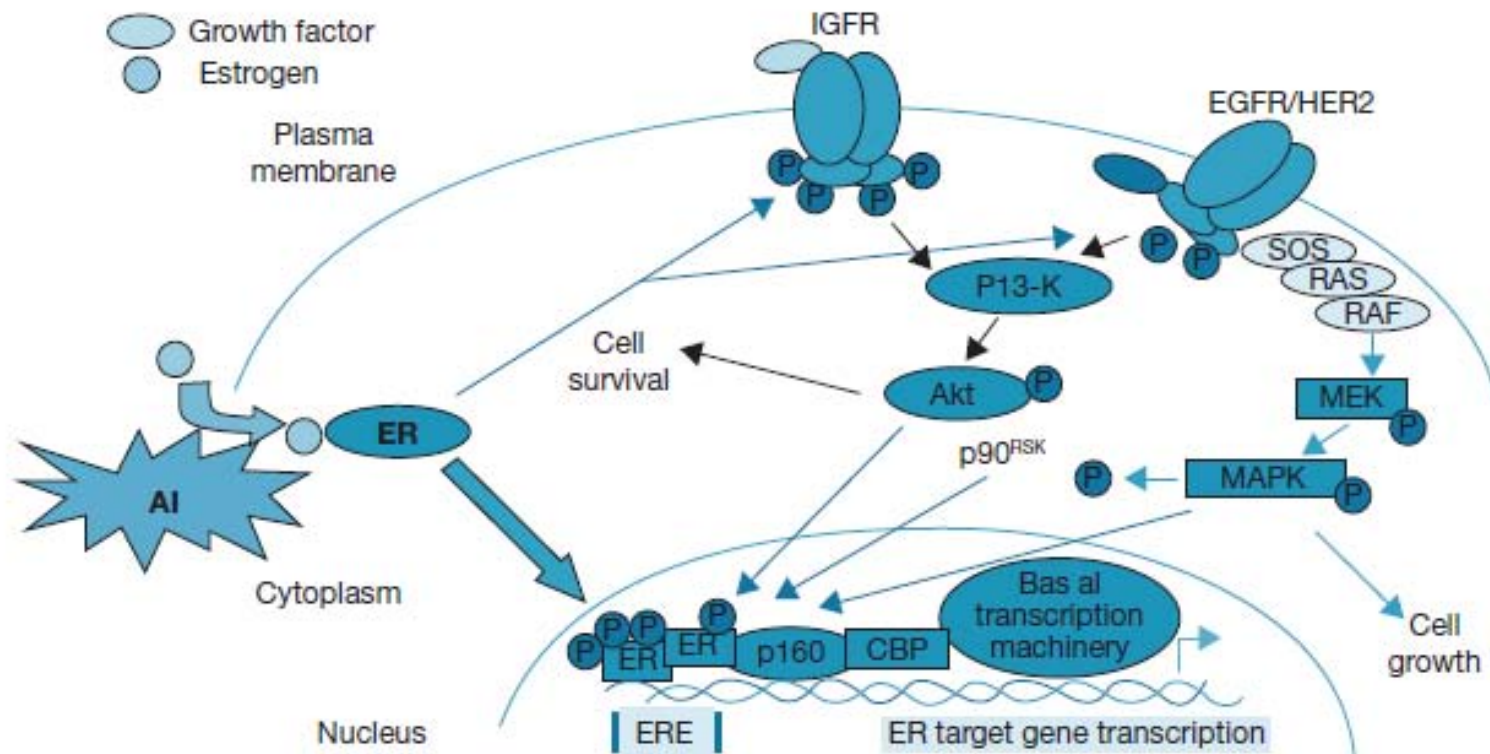
Resistance au traitement hormonal

- Activation de différentes voies de transduction du signal de la prolifération cellulaire

Interaction avec les réseaux de signalisation: facteurs de croissance et leurs récepteurs

(cross talks)

- La stimulation des voies de stimulation (initiée par EGFR, HER...) > cascades de réactions enzymatiques intracellulaires
 - > effet sur la survie cellulaire
 - Inhibition de l'apoptose
 - Stimulation de la prolifération cellulaire
 - Majoration de l'invasion tumorale et mobilité cellulaire
 - Induction de l'angiogénèse



Johnston S. *Clin Cancer Res.* 2005

Fig. 1. Exemple de différentes voies de signalisation incriminées dans l'hormonorésistance [14]

Interaction avec les réseaux de signalisation: facteurs de croissance et leurs récepteurs (*cross talks*)

- HER2 = récepteur membranaire à activité tyrosine – kinase
- Surexpression et/ou amplification de HER2:
 - Marqueur de résistance à l'hormonothérapie
 - Expression \downarrow RE (30 à 50%)
 - Grade élevé
- **Liens HER2-RE**
 - Expression HER2 régulée négativement par oestrogènes
 - Expression HER2 induit
 - Phosphorylation des RE >
 - Prolifération cellulaire indépendante des oestrogènes

Interaction avec les réseaux de signalisation: facteurs de croissance et leurs récepteurs (*cross talks*)

- **la signalisation par différents** récepteurs de facteurs de croissance (HER2, EGFR,IGFR) induit une phosphorylation (donc une activation) de différents facteurs de la voie de signalisation de RE, dont le RE lui-même
- Par ex:
 - Phosphorylation de la Serine 305 du RE nucléaire, augmente la transcription de cycline D1 et augmente la prolifération cellulaire
 - Phosphorylation de la serine 118 et 167 augmente son activité transcriptionnelle

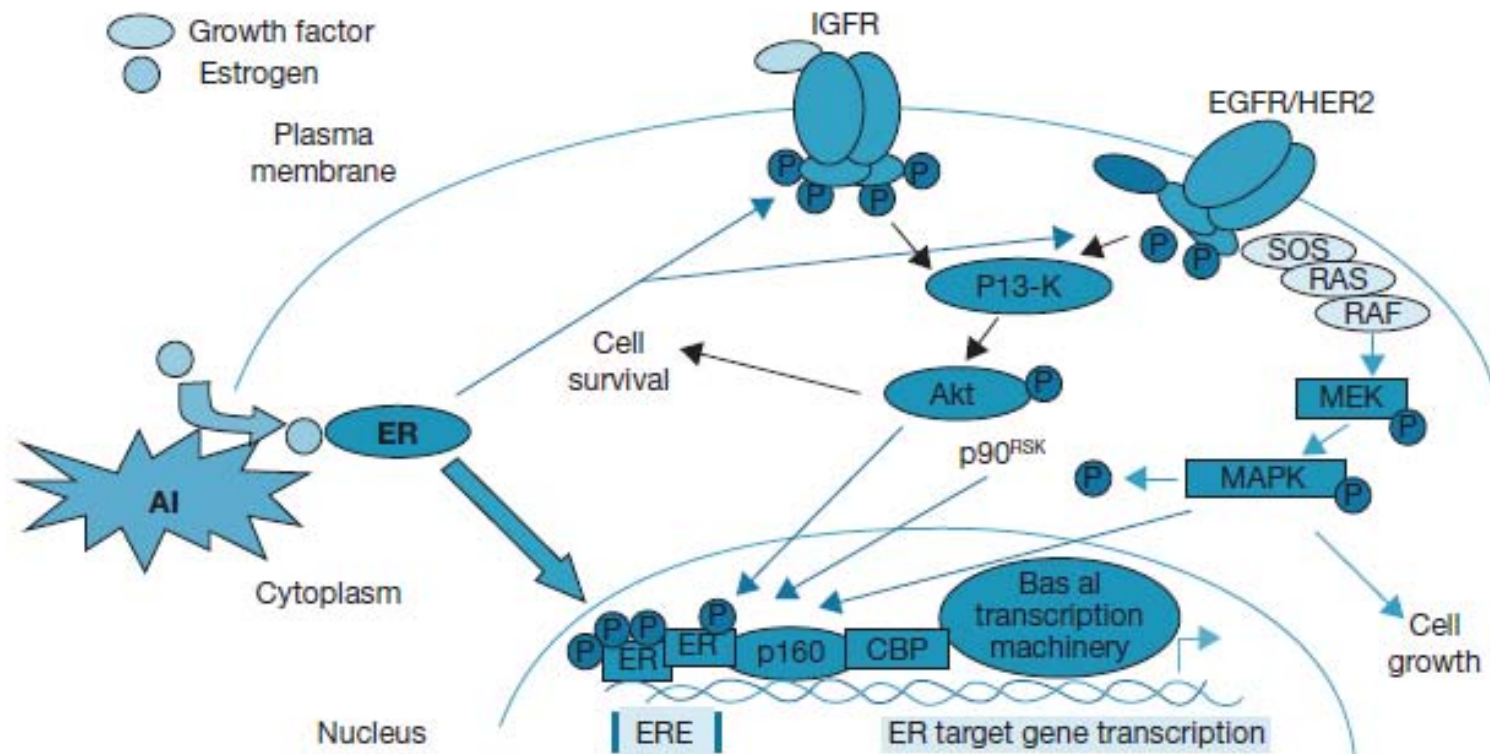
- La phosphorylation du RE et de ses protéines corégulatrices par la voie de signalisation des récepteurs de croissance (HER2, EGFR, IGFR1) est un élément important dans la régulation de l'activité des RE



Si augmentation de la signalisation des voies de récepteurs de croissance



Résistance à l'hormonothérapie



Johnston S. *Clin Cancer Res.* 2005

Fig. 1. Exemple de différentes voies de signalisation incriminées dans l'hormonorésistance [14]

Voie PI3K/Akt/mTor et résistance à un traitement hormonal

- En aval des récepteurs de croissance
- Activation aberrante de la voie PI3K/Akt/mTor fréquente dans les cancers du sein RE+ et est associé en préclinique et en clinique à une résistance au traitement hormonal

1. Johnston *Clin Breast Cancer*. 2009;9(Suppl 1):S28-S36.
2. Ring and Dowsett. *Endocr Relat Cancer*. 2004;11:643-658.
3. Jordan et al. *Breast Cancer Res Treat*. 2004;87:167-180.
4. deGraffenreid et al. *Clin Cancer Res*. 2004;10:8059-8067
5. Shoman et al. *Mod Pathol*. 2005;18:250-259.

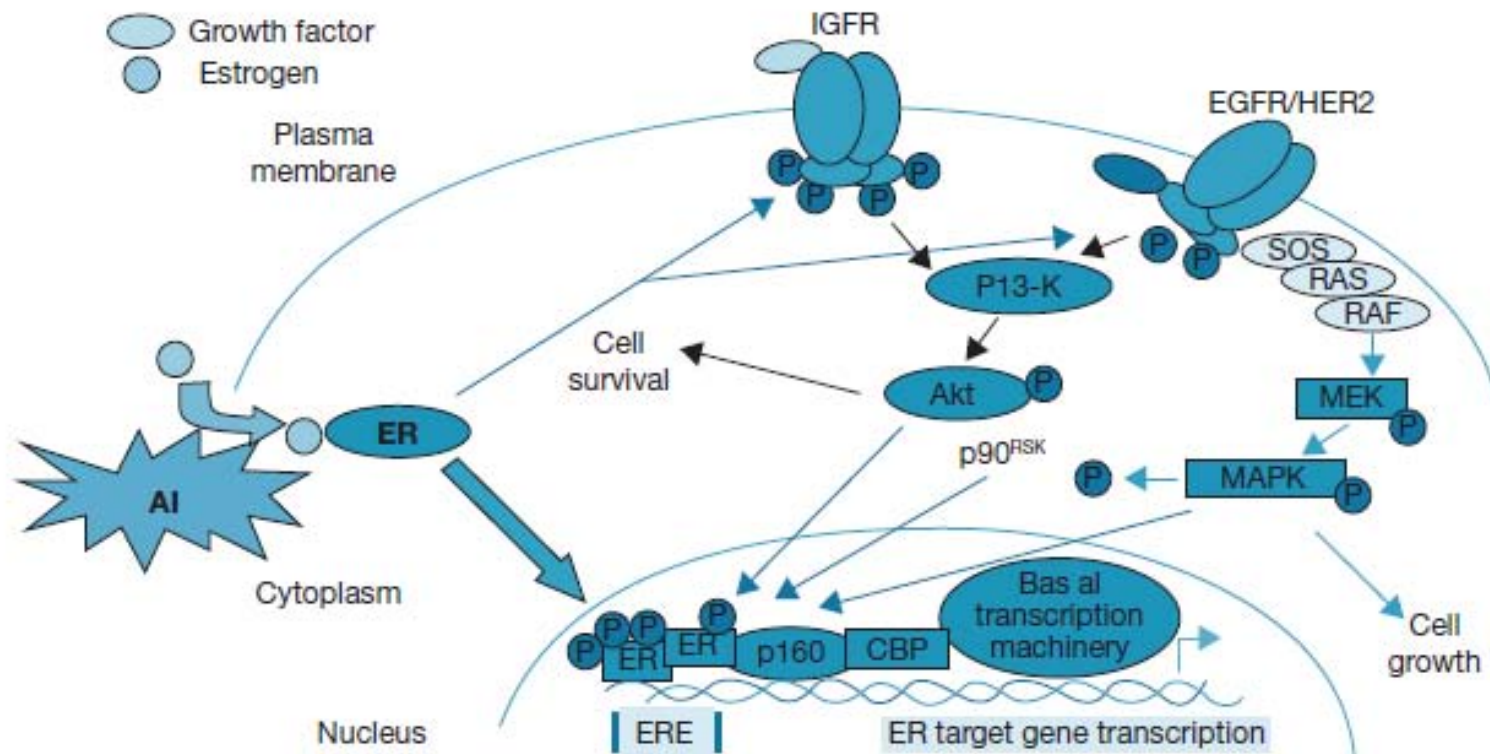
Voie PI3K/Akt/mTor et résistance à un traitement hormonal

- En aval des récepteurs de croissance
- Activation aberrante de la voie PI3K/Akt/mTor fréquente dans les cancers du sein RE+ et est associé en préclinique et en clinique à une résistance au traitement hormonal

. 2.

1. Johnston *Clin Breast Cancer*. 2009;9(Suppl 1):S28-S36.

2. Arpino G et al; *Molecular mechanism and clinical implications of endocrine therapy resistance in breast cancer. Oncology*. 2009;77 Suppl 1:23-37



Johnston S. *Clin Cancer Res.* 2005

Fig. 1. Exemple de différentes voies de signalisation incriminées dans l'hormonorésistance [14]

Implications thérapeutiques

Plusieurs études cliniques ont évalué l'apport potentiel du blocage des voies des récepteurs de croissance

Gefitinib = anti EGFR

- 1^{ère} étude: 206 patientes randomisées entre Tamoxifène vs Tamoxifène et Gefitinib
- 2^{ième} étude 84 ptes traitées initialement par une IA
- Pas d'amélioration de la PFS

Blocage combiné de la voie HER2 et oestrogènes

- Testé dans 2 études randomisées
- TAnDEM ¹
 - 207 ptes HER2 + RE+
 - Anastrozole vs Anastrozole-Trastuzumab
 - PFS 2,4 m!!vs 4,8 m
- EGF 30008 ²
 - 219 ptes HER2+, RE+
 - Létrozole vs Létrozole + Lapatinib
 - PFS: 3 m vs 8,2 m

¹ Kaufman B et al; *J Clin Oncol.* 2009, 20;27(33):5529-37

² Johnston S, *J Clin Oncol.* 2009 , 20;27(33):5538-46.

Inhibiteur de m-Tor: Everolimus

- Blocage en aval de la voie de signalisation des récepteurs de facteurs de croissance par un inhibiteur de m-Tor en neoadjuvant
- Etude randomisée en neoadjuvant

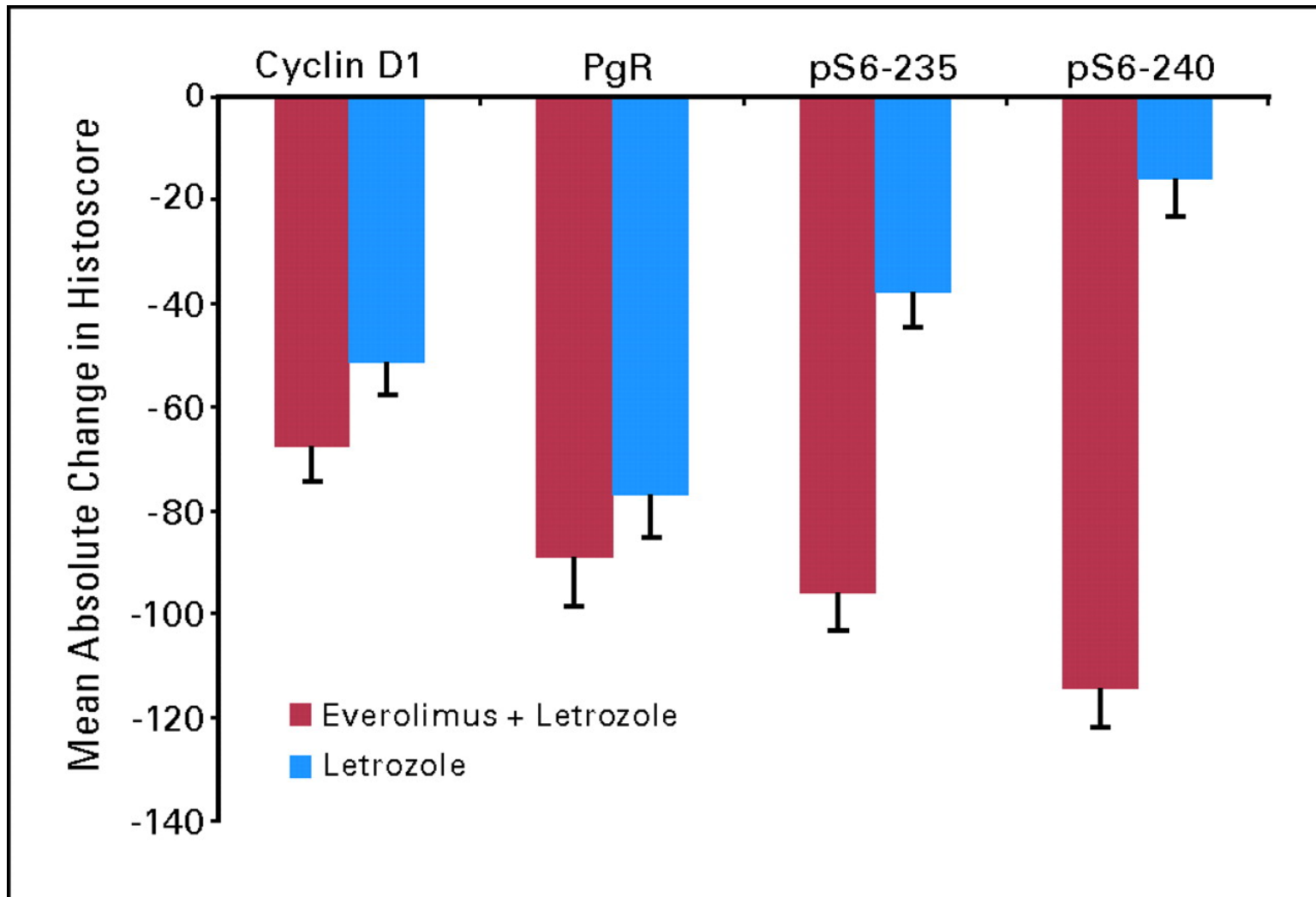
Letrozole + everolimus

– 270 ptes **R**

Letrozole +placebo

- Evolution du Ki67, mutations de p13K, cycline D1, PR, protéine S6 phosphorylée avant ttt et 2 semaines après
- Taux de réponse de 68 % avec everolimus et 59 % avec femara

Absolute change in histoscore from baseline to day 15 for cyclin D1, progesterone receptor (PgR), pS6-235, and pS6-240 in the letrozole and letrozole-plus-everolimus arms.



Changes in percentage positive Ki67 from baseline to day 15 in each assessable patient on the study.

A 100

Diminution de la prolifération: Diminution du Ki67 à j15

Ki67 <1%

57 % dans le bras everolimus

30 % bras placebo

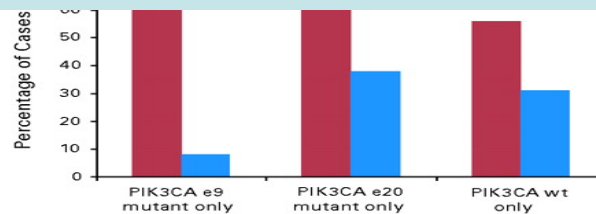


Tableau 1. Essais combinant hormonothérapie et thérapie ciblée en préopératoire dans le traitement du cancer du sein RO+.

<i>Étude</i>	<i>Design de l'étude</i>	<i>Population</i>	<i>Phase de l'étude et design</i>	<i>Nombre de patients</i>	<i>Bénéfice clinique</i>	<i>Index de prolifération Ki67</i>
Smith et al. [29]	Anastrozole + gefitinib (16 semaines) vs anastrozole + placebo (2 semaines) puis gefitinib (14 semaines) vs anastrozole + placebo (16 semaines)	Postménopause, stades I-III, RO et/ou RPg+	Traitement Préopératoire, phase II randomisée double insu	206	Pas de bénéfice de la combinaison	Pas de changement significatif à 2 et 16 semaines
Polychronis et al. [26]	Gefitinib vs anastrozole + gefitinib (4 semaines)	Postménopause RO et/ou RPg + EGFR+	Traitement Préopératoire phase II, randomisée double insu	53	Pas de différence significative pour la réduction de la taille tumorale	Réduction plus marquée dans le bras combinaison ($p = 0,008$)
Baselga et al. [1]	Letrozole + RAD001 vs Letrozole + placebo	Postménopause RO et/ou RPg+	Phase II randomisée double insu	270	Réduction significative de la taille tumorale ($p = 0,062$)	Réduction plus marquée dans le bras combinaison

Tableau 2. Études randomisées de phase II/III associant STI + homonothérapie dans cancer du sein RH+ localement avancé/métastatique

<i>Études</i>	<i>Design de l'étude</i>	<i>Phase de l'étude</i>	<i>Critères de sélection</i>	<i>No. pts</i>	<i>Critère principal</i>	<i>RR (%)</i>	<i>PFS (mois)</i>	<i>P de PFS</i>
Anti-EGFR								
Cristofanilli et al. (2010) [5]	Anastrozole + gefitinib vs anastrozole + placebo	II	RO+/-PR Première ligne	93	PFS	2 12	14,7 8,4	
Osborne et al. (2007) [25]	Tamoxifene + gefitinib vs tamoxifene + placebo	II	RO+/-PR première ligne	206	PFS	12,4 14,9	10,9 8,8	0,31
	Tamoxifene + gefitinib vs tamoxifene + placebo	II	RO+/-PR Seconde ligne	84	BC	50,5 ^a 45,5	5,7 7,0	
Anti-Her2								
Kaufman et al. (2009) [17]	Trastuzumab+ Anastrozole vs anastrozole seul	III	RO + Her2+ Première ligne	207	PFS/RR	20,3 6,8	4,8 2,4	0,0016
Marcon et al. (2007) [19]	Trastuzumab + letrozole (un seul bras)	II	RO+ Her2+ Première/seconde ligne	33	RR/TTP	26	TTP : 5,8 mois	
EGF30008								
Johnston et al. (2008) [13]	Letrozole + lapatinib vs letrozole seul	III	RO+/-PR Première ligne	1286	PFS	27,9 14,8	8,2 ^b 3	0,019
Inhibiteurs m-TOR								
Leary et al. (2007) [18]	Letrozole + temsirolimus/jour vs letrozole + temsirolimus (5 jours/2 semaines) vs letrozole seul	II	RO+/-PR Première/seconde ligne	92	RR	33 40 45	11,5 13,2 11,6	
Chow et al. (2006) [3]	Letrozole + temsirolimus vs letrozole + placebo	III	RO+/-PR Première ligne	992	PFS/RR	24 24	9,2 9,2	Non rapporté
FTIs								
Johnston et al. (2008) [15]	Letrozole + tipifarnib vs letrozole + placebo	II	RO+/-PR Seconde ligne	113	RR/TTP	30 38	TTP : 5,6/10,8 mois	

TTP : temps jusqu'à progression ; PFS : survie sans progression ; ORR : taux de réponse objective.

^a BC : bénéfice clinique

^b Patientes Her2+

MicroRNA

- Les microRNA (miRNA) = RNA de petite taille régulent l'expression des gènes
- Modèles précliniques, miR-221 et 222 ↓ l'expression RE α
- miR195 et Let 7 détectables dans la tumeur et sang périphérique de patientes ayant un cancer du sein
- Perspectives:
 - Marqueur clinique
 - Cible thérapeutique

Prolifération

- Son rôle dans la prédiction de la réponse à l'hormonothérapie est clair sans vraiment avoir été démontré
- En adjuvant, un niveau élevé de prolifération (Ki67) est associé à un moins bon pronostic, quelque soit le traitement (Tamoxifène, Létrozole, Gosérintine)¹
- En néoadjuvant, la diminution de la prolifération (Ki67) est un marqueur précoce de réponse à l'hormonothérapie²

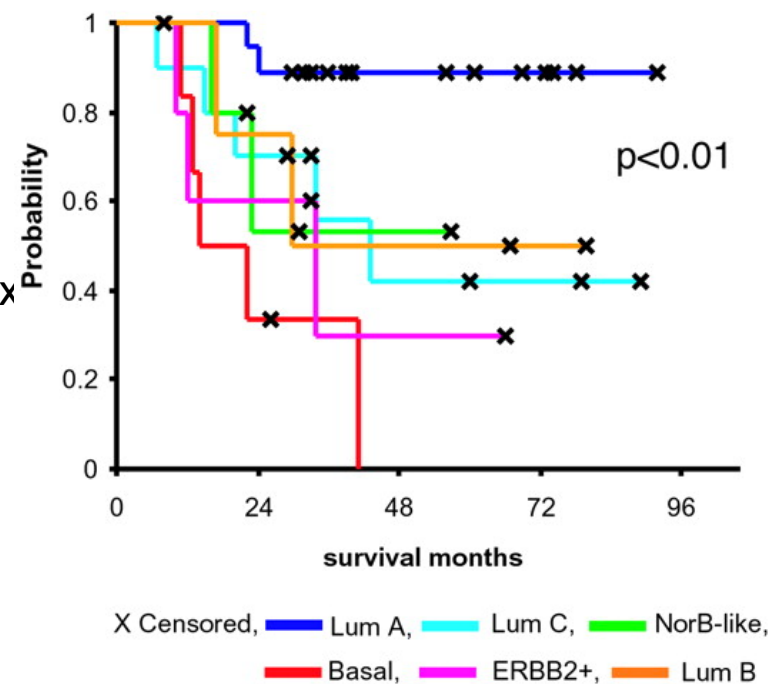
¹ Viale G et al, *J Clin Oncol*. 2008,1;26(34):5569-75

² Dowsett M et al *J Natl Cancer Inst*. 2007 ,17;99(2):167-70

Signatures moléculaires (1)

- **Analyse génomique** Classification moléculaires des cancers du sein
- Cancers RH+
 - Luminaux A
 - Luminaux B
- **Luminaux A**
 - + haut niveau d'expression RH
 - Prolifération + faible
 - Meilleure pronostic
 - Bonne réponse au traitement hormonaux
- **Luminaux B**
 - Moins haut niveau d'expression RH
 - Prolifération + élevé
 - Moins bon pronostic
 - Moins bonne réponse au traitement hormonaux
 - Altérations moléculaires t.q. p53 muté, HER2+++

C 6 tumor subtypes (based upon Fig 1)



Sorlié T et al, Proc Natl Acad Sci, 2001

Sotiriou C, Pusztai L: N Engl J Med 2009, 360, 790-800

Signatures moléculaires (2)

- Mise en évidence de gènes liés au RE α
- Signature « 21 gènes »(Oncotype Dx, 16 gènes cibles) permettrait de prédire la rechute à 10 ans de patientes N-, RH+, traitées par Tamoxifène
- Étudié rétrospectivement dans plusieurs études avec des résultats non consensuels ^{1, 2}
- Cette signature approuvée aux USA est en cours d'évaluation prospective (essai TAYORx qui évaluera la réponse à la chimio? ³)

1. Paik S et al *N Engl J Med*. 2004 Dec 30;351(27):2817-26

2. 1: Esteva FJ. *Clin Cancer Res*. 2005 1;11(9):3315-9.

3. 1: Sparano JA. TAILORx; *Clin Breast Cancer*. 2006 ,7(4):347-50.

Variation au cours de l'évolution tumorale des RH

Mécanisme des variations au cours de l'évolution tumorale des RH (2)

- Perte d'expression du RE α :
- Perte d'hétérozygotie du locus de ESR1,
- Mutations de ESR1,
- Méthylation du promoteur,
- Modification du niveau d'activité des facteurs de transcription régulant le promoteur de ESR1
- Dégradation des mRNA, miRNA,
- Dégradation du récepteur
- « *Down –regulation* » par la voie des facteurs de croissance et des MAPK

Restauration d'une expression significative d'un RE α fonctionnel

- Hyperexpression de MAPK \downarrow expression des RE
- Inhibition de la voie Mitogen Activated Protein Kinase (MAPK) restaure expression des RE ¹
- Traztuzumab inhibe la voie HER2 et restaure une expression de RE α ²

¹ Bayliss J et al; *Clin Cancer Res.* 2007, 1;13(23):7029-36.

² Sabnis G, *Cancer Res.* 2009, 15;69(4):1416-28.

Mécanismes de résistance

1. ER α : Expression, variants mutés et/ou tronqués, méthylation, phosphorylation, localisation sous membranaire
2. Corégulation
- 3. Pharmacogénomique: Hôte interfère dans la réponse à l'hormonothérapie**

Expression des RE α , pharmacogénétique

- Deuxième mécanisme de résistance intrinsèque: polymorphisme du gène codant pour l'enzyme qui métabolise le Tamoxifène en endoxifène

→ Patientes porteuses d'allèle inactifs du Cytochrome p450 2D6 (CYP2D6) (8% des ptes),



Incapacité à transformer le Tamoxifène en métabolite actif, l'endoxifène (Endoxifène: affinité pour les RE x 100/ Tamoxifène et concentration plasmatique x 10)

Polymorphisme génétique du cytochrome 2D6

- 71 variants du gène activité fonctionnelle différente de l'enzyme
- Etudes rétrospectives ► importance du CYP2D6, 2 études ne confirment pas ces résultats
- FDA (2006): Génotypage CYP2D6 en option pour le Tamoxifène
- En France
 - Génotypage CYP2D6 non utilisé
 - études prospectives en cours
 - Meilleure identification des patientes bénéficiant du Tamoxifène

interactions médicamenteuses et CYP2D6

- Anti dépresseurs puissants inhibiteur du CYP2D6 ..sauf effexor
- La paroxétine, anti dépresseur (Deroxat) fréquemment prescrit pour diminuer les bouffées de chaleur est un puissant inhibiteur du CYP2D6

Et les anti aromatasés?

- Bouffées de chaleur et douleurs articulaires → diminution du risque de rechute??
- Ces données ne sont pas consensuelles
- Des polymorphismes du gène CYP19 codant pour l'aromatase pourraient expliquer ces différences

Cuzick J, et al. Lancet Oncol. 2008 Dec;9(12):1143-8.

Wang L, et al; Cancer Res. 2010 Jan 1;70(1):319-28.



conclusion



- Début de l'aventure
- Données précliniques résultats cliniques un peu décevants.....
- Les voies vont s'ouvrir et permettre peut être demain une un traitement individualisé



