AOÛT 2010

Bonnes pratiques pour la recherche à visée théranostique de mutations somatiques dans les tumeurs solides

LE PRÉLÈVEMENT
QUELLES MUTATIONS RECHERCHER ?
LA RECHERCHE DES MUTATIONS
LES RÉSULTATS

DESTINÉ À L'USAGE DES PROFESSIONNELS DE SANTÉ

L'identification d'altérations génétiques au sein des cellules cancéreuses a débouché sur la mise en évidence de nouveaux biomarqueurs moléculaires. En complément du diagnostic et des facteurs pronostiques anatomocytopathologiques, ces paramètres sont aujourd'hui indispensables pour le diagnostic, la classification, le choix ou/et la surveillance du traitement de beaucoup d'hémopathies et de tumeurs solides malignes.

En particulier, alors que le développement des anticorps monoclonaux anti-récepteurs à l'EGF (*EGFR*) a constitué une avancée importante dans la prise en charge des patients atteints de cancer colorectal métastatique, plusieurs études ont montré que seuls les patients dont la tumeur ne présentait pas de mutation du gène *KRAS* étaient susceptibles de bénéficier de ce traitement. Dans ce contexte, l'Agence européenne du médicament a autorisé l'utilisation du cetuximab (Erbitux®) et du panitumumab (Vectibix®)

uniquement pour les patients dont la tumeur porte la forme non mutée du gène *KRAS* (annexe 1), rendant ainsi indispensable l'analyse de ce gène avant toute prescription de ces deux traitements antitumoraux.

De même, le gefitinib (Iressa®), inhibiteur de l'activité tyrosine kinase (ITK) de l'*EGFR*, ne peut être prescrit qu'aux patients présentant une mutation activatrice du gène *EGFR* dans leur carcinome broncho-pulmonaire non à petites cellules (annexe 1).

Afin de faciliter l'accès des patients à ces thérapies ciblées, 28 plateformes hospitalières de génétique moléculaire des cancers sont soutenues par l'INCa et la DGOS.

Cette brochure est destinée à harmoniser les pratiques et à améliorer la prise en charge des patients traités par ces molécules. Elle est établie à partir des données disponibles actuellement. Elle fera l'objet d'une mise à jour régulière, particulièrement pour la nature des mutations étudiées, et au besoin sera modifiée en fonction des nouvelles données de la littérature. La partie préanalytique pourra être utilisée pour l'étude d'autres biomarqueurs dans les tumeurs solides.

1 - Prélèvement

1-1 TYPE DE PRÉLÈVEMENT

La recherche de mutations peut être effectuée sur tout prélèvement contenant des cellules tumorales : pièce opératoire, prélèvement endoscopique ou cytologie tumorale (par exemple ponction cytologique scanno ou échoguidée, liquide de lavage bronchioloalvéolaire ou liquide pleural pour la recherche des mutations *EGFR* dans les carcinomes bronchopulmonaires).

Le prélèvement peut être obtenu au moment du diagnostic initial ou à distance, sur la tumeur primitive ou une métastase. Alors qu'il semble y avoir une bonne concordance entre le site primitif et les sites métastatiques pour le cancer colorectal, des discordances sont observées plus fréquemment dans le cancer bronchopulmonaire. En pratique, il n'existe actuellement pas de données cliniques permettant de privilégier un prélèvement par rapport à l'autre.

1-2 FIXATION DU PRÉLÈVEMENT

La méthode de fixation la plus couramment utilisée est la fixation en formol tamponné, suivie d'une inclusion en paraffine.

La durée de fixation doit être, dans la mesure du possible, inférieure à 48 heures et de préférence inférieure à 24 heures.

Il est également possible d'utiliser du tissu non fixé, congelé ou acheminé à la plateforme *via* une procédure type « RNA later® ».

Les autres fixateurs (liquide de Bouin et autres fixateurs contenant de l'acide picrique, fixateurs contenant des dérivés mercuriels) peuvent interférer avec les analyses moléculaires et ne sont pas recommandés.

Les fixateurs à base d'alcool ou les substituts de formol (type Excell Plus, FineFix ou RCL2, en cours d'évaluation) et l'AFA (alcool/formol/acide acétique) ne peuvent être considérés comme des standards.

Le pourcentage d'échec des analyses moléculaires à partir des échantillons provenant d'un laboratoire de pathologie et/ou d'un établissement de soins est un indicateur qui peut être utilisé pour améliorer la qualité des pratiques.

1-3 MATÉRIEL UTILISÉ

Un bloc suffisamment riche en matériel tumoral doit être sélectionné par un contrôle morphologique microscopique sur lame après coloration standard (Hématoxyline/Eosine +/- Safran) réalisé par un pathologiste.

Pour l'extraction d'ADN tumoral, la réalisation de lames blanches – d'épaisseur comprise entre 4 µm et 20 µm – est une bonne pratique. Une sélection des régions du prélèvement les plus riches en cellules cancéreuses doit être réalisée. Il est préférable de réaliser une macrodissection pour les prélèvements contenant moins de 50 % de cellules cancéreuses.

L'utilisation de copeaux, qui ne permettent pas le repérage et la macrodissection, nécessite une richesse tumorale élevée et une densité homogène en cellules tumorales.

Il est également possible de réaliser des carottes ou « punch-biopsies » au sein d'un bloc. Les limites de cette procédure sont l'incertitude sur le pourcentage de cellules cancéreuses dans l'ensemble du prélèvement qui sera analysé, et le risque d'analyser seulement un clone cellulaire particulier. L'analyse de plusieurs carottes permet de pallier à l'hétérogénéité de la tumeur.

Quoiqu'il en soit, le choix de la procédure doit être effectué après appréciation de la richesse tumorale.

Afin d'éviter les échanges inter-prélèvements par des micro-fragments tissulaires dans toutes les étapes de la préparation et du transport de l'échantillon, il est recommandé d'utiliser un poste de travail dédié. Le microtome doit être nettoyé soigneusement entre chaque prélèvement utilisé pour la biologie moléculaire. La lame de microtome doit être changée régulièrement. Les coupes doivent être déposées directement sur les lames en utilisant un liquide n'ayant en aucun cas été en contact avec d'autres prélèvements, et renouvelé quotidiennement.

1-4 DONNÉES NÉCESSAIRES

Le prélèvement doit être accompagné des données suivantes, dont certaines figurent dans le compte rendu d'anatomopathologie :

- nom, prénom et date de naissance du patient ;
- nom, prénom et coordonnées du pathologiste responsable du diagnostic ;
- date de prélèvement ;

- fixateur utilisé ;
- numéro d'identification du bloc dans le laboratoire d'origine ;
- organe et état tumoral (primitif, métastase...) ;
- type de prélèvement (chirurgie, biopsie, cytologie...) ;
- type histologique.

La demande d'examen doit indiquer les items suivants :

- nom, prénom et coordonnées du prescripteur ;
- type d'analyse demandée ;
- date de prescription ;
- si possible des éléments du contexte clinique.

1-5 ÉTABLISSEMENT DU POURCENTAGE DE CELLULES TUMORALES

Le pourcentage de cellules tumorales correspond à l'estimation de la proportion de cellules tumorales sur l'ensemble des cellules (hors nécrose) présentes sur la coupe ou sur la zone du prélèvement qui a été sélectionnée.

2 - Liste des mutations à rechercher

2-1 CANCERS COLORECTAUX

La recherche de mutation du gène *KRAS* est indiquée chez les patients présentant un cancer colorectal de stade IV (métastatique).

KRAS

Mutations clairement documentées pour conférer une résistance aux anti-*EGFR*

Les 7 mutations les plus fréquentes concernent les codons 12 et 13 (annexe 2a). Il est clairement établi que ces mutations confèrent une résistance au panitumumab (1) et au cetuximab (2-4), et elles doivent être impérativement recherchées :

- Codon 12 : p.G12D, p.G12A, p.G12V, p.G12S, p.G12R, p.G12C ;
- Codon 13 : p.G13D.

Autres mutations

Les codons 61 et 146 peuvent également faire l'objet de mutations (5-8). Celles-ci sont beaucoup plus rares (annexe 2b) et de ce fait les données cliniques sont limitées. D'après Loupakis (6), les patients présentant ces altérations ne répondent pas aux anti-*EGFR*. Toutefois, un nombre trop restreint de patients a été étudié. Aussi, ces premières observations nécessitent d'être confirmées par des études cliniques prospectives.

Étude	Nombre de patients		Patients mutés *KRAS*	Répondeurs	Réf
Loupakis *et al.*, 2009	138	Codon 61 Codon 146	7 1	0/7 0/1	(6)

Les autres mutations qui peuvent être trouvées par séquençage systématique n'ont pas fait l'objet d'études spécifiques chez les patients.

BRAF

Le gène *BRAF* est muté dans 5 à 10 % des tumeurs colorectales. Les données de la littérature disponibles sont basées sur un nombre limité de patients.

Études	Nombre de patients	Patients mutés BRAF	%	Répondeurs	Réf
Benvenuti *et al.* (2007)	48	6	12,5	0/6	(9)
Cappuzzo *et al.*, 2008	79	4	5,1	0/4	(10)
Loupakis *et al.*, 2009	138	13	10	0/13	(6)
Di Nicolantonio *et al.*, 2008	113	11	9,7	0/11	(11)
Souglakos *et al.*, 2009	92	9	10	0/9	(12)
Laurent-Puig *et al.*, 2009	171	5	3	0/5	(13)

Plus récemment, les données regroupées des études CRYSTAL et OPUS présentées à l'ASCO 2010 (14) confirment le caractère pronostique fort des mutations de *BRAF*. Là encore, le nombre relativement limité de patients mutés (n=70) ne permet pas de faire apparaître de différence statistiquement significative pour le bénéfice du traitement par anti-*EGFR* en première ligne.

Dans le contexte de la prescription des anticorps anti-*EGFR*, et en attendant de nouvelles données, il n'y a donc pas lieu de rechercher une mutation de *BRAF* à l'heure actuelle.

2-2 CANCERS BRONCHIQUES NON À PETITES CELLULES

EGFR

Les patients ayant une mutation de l'*EGFR* dans leur tumeur sont ceux qui présentent un bénéfice clinique à l'administration du gefitinib. En revanche, pour les patients ne présentant pas de mutation de l'*EGFR*, l'administration de gefitinib peut être délétère (15). Pour ces patients, une chimiothérapie est indiquée en première ligne. Le gefitinib (Iressa®) ne peut être prescrit qu'aux patients porteurs d'une mutation activatrice du gène *EGFR* (annexe 1).

Mutations clairement documentées pour être activatrices

Les mutations suivantes confèrent une sensibilité accrue aux inhibiteurs de tyrosine kinase (16, 17) et doivent être systématiquement et prioritairement cherchées :

- Exon 19 : délétion (il ne parait pas actuellement nécessaire de décrire la délétion trouvée) ;
- Exon 21 : mutation p.L858R.

À côté de ces altérations les plus fréquentes (annexe 3a), d'autres altérations ont été décrites (annexe 3b). Certaines sont activatrices (annexe 3c) et peuvent être recherchées soit d'emblée, soit secondairement en fonction du contexte clinique (sexe, tabagisme, histologie) et/ou des mutations associées d'autres gènes :

- Exon 18 : mutations p.G719S, p.G719A et p.G719C ;
- Exon 21 : mutation p.L861Q.

Autres mutations

Chez les malades naïfs de traitement par ITK, la présence d'une mutation dans l'exon 20, hors p.T790M, n'est pas toujours associée à une sensibilité aux ITK. Néanmoins, 30 % des patients dont la tumeur porte une mutation de l'exon 20 seraient sensibles (18) (annexe 3c).

Par ailleurs, la mutation p.T790M est pratiquement toujours associée à une mutation activatrice de l'exon 21 ou de l'exon 19 (19). Sa présence initiale est associée à une diminution de la durée de la réponse aux ITK plutôt qu'à une résistance (20).

Chez les malades progresseurs sous un traitement par ITK, la recherche d'une mutation p.T790M sur un nouveau prélèvement portant sur une lésion récemment apparue peut être utile pour guider un traitement de seconde ligne.

Enfin, d'autres mutations peuvent être trouvées sur le gène *EGFR* par séquençage systématique. Les données actuelles ne permettent pas de leur attribuer clairement un caractère activateur (21, 22).

KRAS

L'efficacité des ITK est réduite chez les patients porteurs d'un gène *KRAS* muté dans leur tumeur. Mais les mutations des gènes *EGFR* et *KRAS* étant mutuellement exclusives, une tumeur présentant une mutation activatrice sur le gène *EGFR* aura une très grande probabilité d'être sauvage pour *KRAS*.

La recherche des mutations de *KRAS* n'est donc pas nécessaire dans le contexte de la prescription de l'Iressa®.

3 - La recherche des mutations

La méthode employée par la plateforme doit être validée. Par principe, ces méthodes sont qualitatives (présence ou absence de la mutation) et doivent par conséquent être évaluées pour leur sensibilité analytique, la répétabilité et la reproductibilité. Il est recommandé de réaliser une validation de méthode préalable pour des techniques non marquées CE-IVD. Cette validation doit documenter les incertitudes et paramètres critiques de la méthode.

3-1 VALIDATION DE MÉTHODE

3-1.1 Sensibilité analytique

Les techniques retenues doivent permettre de détecter et d'identifier les altérations somatiques si elles sont présentes dans au moins 20-25 % des cellules de l'échantillon.

Une gamme doit être utilisée à l'aide d'ADN extrait de lignées cellulaires présentant ces mutations. La validation doit être réalisée sur les mutations les plus fréquentes. Le résultat de cette sensibilité analytique doit être indiqué dans le compte rendu de résultat. La cellularité tumorale des échantillons étudiés doit être en adéquation avec la sensibilité déterminée lors de la validation.

3-1.2 Répétabilité-reproductibilité

La technique utilisée devra être validée pour sa robustesse et sa justesse. Par exemple, l'analyse d'échantillons tumoraux déjà qualifiés par une autre technique doit permettre de tester à la fois la répétabilité (réplicats) et la reproductibilité (2 analyses à deux moments différents avec une nouvelle préparation des réactifs).

Les résultats doivent permettre de calculer une sensibilité et une spécificité de la méthode utilisée au laboratoire.

3-2 ORGANISATION DES ANALYSES

Ces analyses sont des examens de biologie médicale et répondent aux exigences de la réglementation correspondante. Les laboratoires ou unités les réalisant doivent prendre les précautions décrites dans le GBEA pour réduire les risques de contamination, et pour valider en continu les analyses réalisées.

Il est recommandé de vérifier les résultats obtenus en particulier pour les cas mutés (par exemple, analyse en réplicat, application d'une technique complémentaire...).

Les ADN restants doivent être conservés au moins un an pour d'éventuelles confirmations et/ou l'analyse de nouveaux biomarqueurs.

3-3 RÉSULTATS TECHNIQUEMENT NON INTERPRÉTABLES

Il est possible qu'une analyse ait été acceptée, mais que le résultat technique soit non interprétable (par exemple, à cause de la faible quantité d'ADN extraite, d'une mauvaise qualité ne permettant pas l'amplification). Il est souhaitable de confirmer cet échec par un test indépendant. Si l'analyse est à nouveau non contributive, il est recommandé d'éditer un compte rendu en ce sens et de demander la réalisation d'une nouvelle analyse sur un autre prélèvement (biopsie...).

4 - Les résultats

4-1 DÉLAIS DE RENDU DES RÉSULTATS

Idéalement, le résultat doit parvenir au prescripteur dans un délai de 2 à 3 semaines à compter de la date de la prescription.

Aussi, le compte rendu doit être transmis au maximum 7 à 10 jours ouvrables après réception du prélèvement par la plateforme.

Les délais préanalytiques et analytiques sont des indicateurs qui peuvent être utilisés pour améliorer la qualité des pratiques.

4-2 ÉLÉMENTS DEVANT FIGURER DANS LE COMPTE RENDU DE L'ANALYSE MOLÉCULAIRE

Le compte rendu doit comporter les éléments suivants :

- nom, prénom et date de naissance du patient ;
- nom, prénom et coordonnées du pathologiste responsable du diagnostic initial ;
- numéro d'identification du bloc dans le laboratoire d'origine ;
- organe et état tumoral (primitif, métastase...) ;
- type de prélèvement (chirurgie, biopsie, cytologie...) ;
- type histologique ;
- nom, prénom et coordonnées du prescripteur ;
- type d'analyse demandée ;
- date de la prescription ;

- pourcentage de cellules tumorales dans l'échantillon analysé ;
- code ou identifiant unique de l'échantillon par le laboratoire ;

- date d'arrivée du prélèvement dans la plateforme ;
- date du compte rendu ;
- identifiant unique sur chaque page ;
- nombre total de pages (si le compte rendu comporte plusieurs pages) ;

- liste des mutations cherchées ;
- méthode(s) utilisée(s) avec indication de la (des) sensibilité(s) analytique(s) ;

- mutation identifiée et notée (à l'exception des délétions de l'exon 19 de l'*EGFR*) selon la nomenclature

internationale (Human Genome Variation Society) (par exemple p.Glu12Asp et c.35G>A). On ne peut pas se contenter d'un profil altéré de HRM ou de dHPLC. La référence de la séquence ayant servi à établir la position de la mutation doit être précisée ;

- commentaire sur les résultats (prédiction thérapeutique) ;
- nom du pathologiste ayant qualifié le prélèvement ;
- nom du biologiste/pathologiste moléculaire.

Annexe 1

Condition de prescription des médicaments nécessitant une analyse moléculaire **(http://ema.europa/eu)**

CETUXIMAB (ERBITUX®) is indicated for the treatment of patients with epidermal growth factor receptor (*EGFR*)-expressing, ***KRAS* wild-type** metastatic colorectal cancer:

- in combination with chemotherapy
- as a single agent in patients who have failed oxaliplatin- and irinotecan-based therapy and who are intolerant to irinotecan.

PANITUMUMAB (VECTIBIX®) is indicated as monotherapy for the treatment of patients with *EGFR* expressing metastatic colorectal carcinoma with **non-mutated (wild-type)** ***KRAS*** after failure of fluoropyrimidine-, oxaliplatin-, and irinotecan-containing chemotherapy regimens.

GEFITINIB (IRESSA®) is indicated for the treatment of adult patients with locally advanced or metastatic non small cell lung cancer (NSCLC) with **activating mutations of *EGFR* TK**.

Annexe 2a

Principales mutations de *K-RAS* (étude RASCAL II, n = 2721)
Nature Reviews Clinical Oncology 6:519-527, 2009

Mutations de *KRAS*		Incidence (%)
Substitution de l'acide aminé	Substitution du nucléotide	
Mutations codon 12		
Aspartate (G12D)	G35A	32,5
Valine (G12V)	G35T	22,5
Cystéine (G12C)	G34T	8,8
Serine (G12S)	G34A	7,6
Alanine (G12A)	G35C	6,4
Arginine	G34C	0,9
Mutations codon 13		
Aspartate (G13D)	G38A	19,5
Autres mutations		1,8

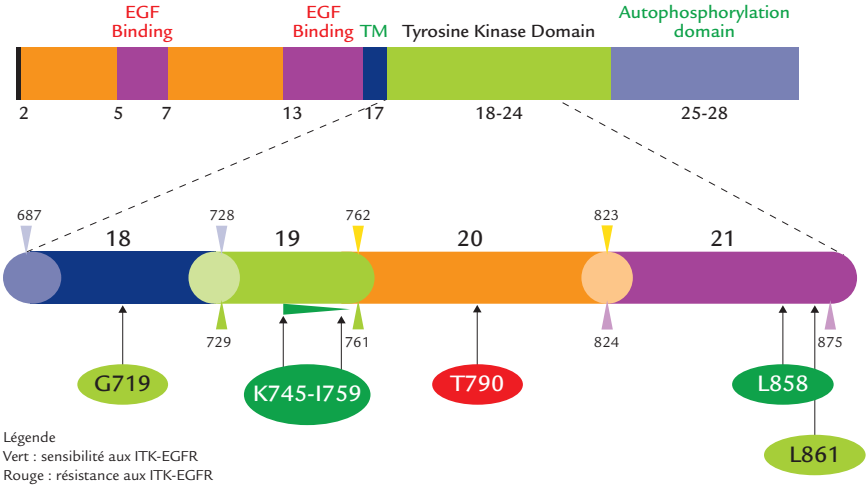
Annexe 2b

Répartition des mutations de *K-RAS* retrouvées
(http://www.sanger.ac.uk/perl/genetics/CGP/cosmic)

Substitutions		Nombre de mutations retrouvées (n=)
Position	Mutation (n)	
8	p.V8V(2)	
12	p.G12A(476) p.G12C(593) p.G12D(2408) p.G12D(1) p.G12D(3) p.G12E(1) p.G12F(3) p.G12I(1) p.G12F(2) p.G12L(1) p.G12R(76) p.G12S(451) p.G12V(1) p.G12V(1496) p.G12W(1) p.G12Y(1)	**5515**
13	p.G13A(8) p.G13C(40) p.G13D(13) p.G13D(1259) p.G13D(4) p.G13E(1) p.G13G(1) p.G13G(1) p.G13R(1) p.G13R(23) p.G13S(7) p.G13V(8)	**1366**
14	p.V14I(4)	
19	p.L19F(1) p.L19F(6)	
22	p.Q22*(1) p.Q22K(3) p.Q22R(1)	
23	p.L23I(1)	
59	p.A59E(1) p.A59G(2) p.A59T(2)	
61	p.Q61E(1) p.Q61H(20) p.Q61H(12) p.Q61H(10) p.Q61K(4) p.Q61L(16) p.Q61R(9)	**72**
63	p.E63K(1)	
117	p.K117N(3) p.K117N(2) p.K117N(1)	
146	p.A146P(2) p.A146T(21) p.A146V(2) p.A146V(2)	**27**
164	p.R164Q(1)	

Annexe 3a

Répartition des principales mutations d'*EGFR* dans les cancers bronchiques non à petites cellules (**http://somaticmutations-egfr.info/**)



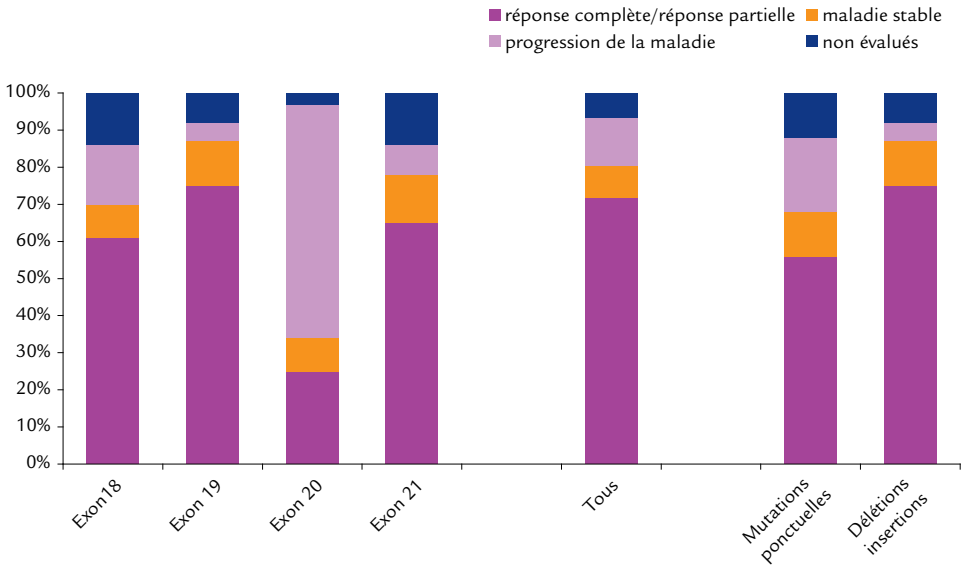
Annexe 3b

Fréquence des principales mutations d'*EGFR* (**http://www.sanger.ac.uk/perl/genetics/CGP/cosmic**)

Exons et codons	Codons	Nombre de mutations retrouvées (n=)
Exon 18	719	106
Exon 19	745 à 759	1357
Exon 20	790	135
	Ins codons 790 – 770	205
Exon 21	858	2095
	861	64

Annexe 3c

Mutations d'*EGFR* et réponse aux inhibiteurs de tyrosine kinase
Source : Somatic Mutations in Epidermal Growth Factor Receptor DataBase
(http://somaticmutations-egfr.info/)



Références

01. Amado RG, Wolf M, Peeters M, Van Cutsem E, Siena S, Freeman DJ, et al. Wild-Type *KRAS* Is Required for Panitumumab Efficacy in Patients With Metastatic Colorectal Cancer. J Clin Oncol 2008;26(10):1626-1634.

02. Karapetis CS, Khambata-Ford S, Jonker DJ, O'Callaghan CJ, Tu D, Tebbutt NC, et al. *K-ras* Mutations and Benefit from Cetuximab in Advanced Colorectal Cancer. N Engl J Med 2008;359(17):1757-1765.

03. Lievre A, Bachet J-B, Boige V, Cayre A, Le Corre D, Buc E, et al. *KRAS* Mutations As an Independent Prognostic Factor in Patients With Advanced Colorectal Cancer Treated With Cetuximab. J Clin Oncol 2008;26(3):374-379.

04. Lievre A, Blons H, Laurent-Puig P. Oncogenic mutations as predictive factors in colorectal cancer. Oncogene.

05. Edkins S, O'Meara S, Parker A, Stevens C, Reis M, Jones S, et al. Recurrent *KRAS* codon 146 mutations in human colorectal cancer. Cancer Biol Ther 2006;5(8):928-32.

06. Loupakis F, Ruzzo A, Cremolini C, Vincenzi B, Salvatore L, Santini D, et al. *KRAS* codon 61, 146 and BRAF mutations predict resistance to cetuximab plus irinotecan in *KRAS* codon 12 and 13 wild-type metastatic colorectal cancer. Br J Cancer 2009;101(4):715-721.

07. Chang YS, Yeh KT, Hsu NC, Lin SH, Chang TJ, Chang JG. Detection of N-, H-, and *KRAS* codons 12, 13, and 61 mutations with universal RAS primer multiplex PCR and N-, H-, and *KRAS*-specific primer extension. Clin Biochem;43(3):296-301.

08. Lurkin I, Stoehr R, Hurst CD, van Tilborg AA, Knowles MA, Hartmann A, et al. Two multiplex assays that simultaneously identify 22 possible mutation sites in the *KRAS*, BRAF, NRAS and PIK3CA genes. PLoS One;5(1):e8802.

09. Benvenuti S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Zanon C, Moroni M, Veronese S, et al. Oncogenic Activation of the RAS/RAF Signaling Pathway Impairs the Response of Metastatic Colorectal Cancers to Anti-Epidermal Growth Factor Receptor Antibody Therapies. Cancer Res 2007;67(6):2643-2648.

10. Cappuzzo F, Varella-Garcia M, Finocchiaro G, Skokan M, Gajapathy S, Carnaghi C, et al. Primary resistance to cetuximab therapy in *EGFR* FISH-positive colorectal cancer patients. Br J Cancer 2008;99(1):83-89.

11. Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, et al. Wild-Type BRAF Is Required for Response to Panitumumab or Cetuximab in Metastatic Colorectal Cancer. J Clin Oncol 2008;26(35):5705-5712.

12. Souglakos J, Philips J, Wang R, Marwah S, Silver M, Tzardi M, et al. Prognostic and predictive value of common mutations for treatment response and survival in patients with metastatic colorectal cancer. Br J Cancer 2009;101(3):465-472.

13. Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, Buc E, Bachet J-B, Lecomte T, et al. Analysis of PTEN, BRAF, and *EGFR* Status in Determining Benefit From Cetuximab Therapy in Wild-Type *KRAS* Metastatic Colon Cancer. J Clin Oncol 2009;27(35):5924-5930.
14. Bokemeyer C, Kohne C, Rougier P, Stroh C, Schlichting M, Van Cutsem E. Cetuximab with chemotherapy as first-line treatment for metastatic colorectal cancer : Analysis of the CRYSTAL and OPUS studies according to *KRAS* and BRAF mutation status. J Clin Oncol 2010;28(7s):3506.
15. Mok TS, Wu YL, Yu CJ, Zhou C, Chen YM, Zhang L, et al. Randomized, placebo-controlled, phase II study of sequential erlotinib and chemotherapy as first-line treatment for advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol 2009;27(30):5080-7.
16. Pao W, Miller V, Zakowski M, Doherty J, Politi K, Sarkaria I, et al. EGF receptor gene mutations are common in lung cancers from never smokers and are associated with sensitivity of tumors to gefitinib and erlotinib. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 2004;101(36):13306-13311.
17. Janne PA, Engelman JA, Johnson BE. Epidermal Growth Factor Receptor Mutations in Non-Small-Cell Lung Cancer: Implications for Treatment and Tumor Biology. J Clin Oncol 2005;23(14):3227-3234.
18. Wu J-Y, Wu S-G, Yang C-H, Gow C-H, Chang Y-L, Yu C-J, et al. Lung Cancer with Epidermal Growth Factor Receptor Exon 20 Mutations Is Associated with Poor Gefitinib Treatment Response. Clinical Cancer Research 2008;14(15):4877-4882.
19. Nguyen KS, Kobayashi S, Costa DB. Acquired resistance to epidermal growth factor receptor tyrosine kinase inhibitors in non-small-cell lung cancers dependent on the epidermal growth factor receptor pathway. Clin Lung Cancer 2009;10(4):281-9.
20. Maheswaran S, Sequist LV, Nagrath S, Ulkus L, Brannigan B, Collura CV, et al. Detection of mutations in *EGFR* in circulating lung-cancer cells. N Engl J Med 2008;359(4):366-77.
21. Yoshida T, Zhang G, Haura EB. Targeting epidermal growth factor receptor: Central signaling kinase in lung cancer. Biochemical Pharmacology;In Press, Corrected Proof.
22. Pallis AG, Voutsina A, Kalikaki A, Souglakos J, Briasoulis E, Murray S, et al. 'Classical' but not 'other' mutations of *EGFR* kinase domain are associated with clinical outcome in gefitinib-treated patients with non-small cell lung cancer. Br J Cancer 2007;97(11):1560-6.

COMPOSITION DU GROUPE DE TRAVAIL

Martine ANTOINE, AP-HP, Paris
Michèle BEAU-FALLER, CHU de Strasbourg
Jean-Pierre BELLOCQ, CHU de Strasbourg
Jacques CADRANEL, AP-HP, Paris
Marc DENIS, CHU de Nantes (Coordinateur)
Jean-François EMILE, AP-HP, Paris
Pierre LAURENT-PUIG, AP-HP, Paris
Etienne ROULEAU, Institut Curie - Hôpital René Huguenin, Saint-Cloud

COORDINATION INCa

Julien BLIN, mission anatomapothologie et génétique,
direction des soins et de la vie des malades
Frédérique NOWAK, mission anatomapathologie et génétique,
direction des soins et de la vie des malades

Ce document a été soumis à la relecture :

- des coordonnateurs des 28 plateformes de génétique moléculaire ;
- de la Société française de pathologie ;
- du Syndicat français des médecins pathologistes.

CE DOCUMENT S'INSCRIT DANS LA MISE EN ŒUVRE DU PLAN CANCER 2009-2013.

Mesure 21

Action 21.2 : Développer les plateformes de génétique moléculaire des cancers et l'accès aux tests moléculaires.

Pour en savoir plus :

www.e-cancer.fr

Institut National du Cancer