

## Facteurs prédictifs de réponse à la radiothérapie

Romuald LE SCODAN

Oncologie-Radiothérapie  
Centre Hospitalier Privé St-Grégoire

Actualités et controverses, 11 Mai 2012

## Irradiation adjuvante des cancers du sein

- Radiothérapie: traitement majeur dans la prise en charge des cancers du sein
- Réduction du risque de RLR à 5 ans  Bénéfice SG 15 ans
- Facteurs risque RL (jeune âge, envahissement axillaire, marges, taille tumorale, grade histologique)
- Plusieurs profils d'expression génique sont associés
  - Risque de récurrence métastatique et survie globale
  - Réponse aux traitements systémiques
- Peu de données / risque RLR et réponse à la Radiothérapie

## Irradiation adjuvante des cancers du sein

### Doses / Volumes / Fractionnement

- Extension anatomopathologique et âge au diagnostic
- Indépendant des paramètres tumoraux et des patientes
- Intérêts des facteurs prédictifs de réponse à la radiothérapie:
  - Améliorer le contrôle locorégional
  - Modifier les doses et le fractionnement
  - Diminuer les toxicités aiguës et tardives
  - Modifier les stratégies thérapeutiques

### Phénotypes moléculaires et Récidive locorégionale

Table 1 Local and Regional Recurrence Rates by Breast Cancer Subtype

Study	n	Median Follow-up (mo)	Luminal A (%)	Luminal B (%)	HER2 (%)	Basal (%)
BCS + RT (Nguyen <sup>16</sup> )						
5-year LR	793	70	0.8	1.5	8.4	7.1
BCS + RT (Millar <sup>17</sup> )						
5-year LR	498	84	1.0	4.3	7.7	9.6
5-year LRR			2.0	4.3	15.3	14.8
BCS + RT (Voduc <sup>18</sup> )						
10-year LR	1461	144	8	10	21	14
10-year RR			3	8	16	14
Mastectomy + RT (Kyndi <sup>20</sup> )						
5-year LRR	489	204	2	3	13	21
Neoadjuvant chemotherapy + BCS + RT (Yu <sup>19</sup> )						
5-year LRR						
0-3 LN	514	65	2	2	14	9
≥4 LN	77		7	0	34	44

Abbreviations: BCS, breast-conserving surgery; LR, local recurrence; LRR, local-regional recurrence; RR, regional recurrence; LN, lymph node.

Miyamoto, Sem Rad Oncol 2012

## Phénotypes moléculaires et Récidive locorégionale

**HER 2+++**

**T Neg**

+/- Luminal B



Risque accru de récurrence locorégionale

Mais

- Données pas toujours confirmées en AMV
- Pas de trastuzumab en adjuvant
- Trastuzumab adjuvant: 50% réduction RLR
- Pas de prise en compte de la prolifération cellulaire
- RT systématique: valeur prédictive de réponse au traitement ?

## Signatures génomiques et Récidive locorégionale

Table 2. Multigene Expression-Based Prognostic Markers in Early-Stage Breast Cancer

Assay	Sample Type	Technique	Indication	HR for LR*	HR for DM*	Level of Evidence †
21-gene recurrence score (Oncotype DX, Genomic Health) <sup>35,36</sup>	Formalin-fixed, paraffin-embedded	qRT-PCR	ER+, LN- patients treated with tamoxifen	2.16 (1.26-3.68)	3.13 (1.60-6.14)	II/III†
70-gene recurrence score (MammaPrint, Agendia) <sup>35,39</sup>	Fresh or frozen	DNA microarrays	ER+, ER-, 0-3 LN+, <61 years old, T1-2	—	2.32 (1.35-4.0)	III
76-gene Rotterdam signature (GeneSearch, Veridex) <sup>36,37</sup>	Fresh or frozen	DNA microarrays	ER+, ER-, LN-	—	7.41 (2.63-20.9)	III
2-gene ratio of HOXB13 to IL17R (Theros, Biotheranostics) <sup>38,39</sup>	Formalin-fixed, paraffin-embedded	qRT-PCR	ER+, LN-, T1-2	—	3.9 (1.5-10.3)	III
512-gene wound-response signature <sup>40,41,43</sup>	Fresh or frozen	DNA microarrays	ER+, ER-, LN-, LN+, <53 years old	§	7.25 (1.75-30.0)	III
Swedish 81-gene LR signature <sup>42,43</sup>	Fresh or frozen	DNA microarrays	ER+, LN-, negative margins	§	—	IV
Breast cancer subtype approximation <sup>14,16</sup>	Formalin-fixed, paraffin-embedded	IHC (ER, PR, HER2)	Classification of all patients	HER2: 9.2 (1.6-51)¶ Basal: 7.1 (1.6-31)¶	Luminal B 2.9 (1.3-6.5)¶ Basal: 2.3 (1.1-5.2)¶	III

Miyamoto, Sem Rad Oncol 2012

## Signatures génomiques et Récidive locorégionale

Oncotype DX: seule signature associée à un risque accru de RLR (10-y RLR)

- 895 pts (BCT (n=390) ou MT (n=505)), N0 ER+ (NSABP B-14 et B-20)

- HR Récidive Loco-Régionale: 2,16 (IC 95: 1,26-3,58, p=0.005)

	Oncotype DX Risque faible (<18)	Oncotype DX Risque intermédiaire (18-30)	Oncotype DX Risque élevé (>30)
<b>Population globale</b>	4,3%	7,2%	15,8%
<b>BCT &lt;50 ans</b>	12,5%	27,7%	26,5%
<b>BCT &gt; 50 ans</b>		3,6- 4,8%	
<b>MT</b>	2,3%	4,7%	16,8%

Toujours pas de valeur prédictive...

Mamounas JCO 2010

## Signatures génomiques spécifiques de Récidive locorégionale

Nuyten et al. 512-gene « wound-response » signature } associé RLR  
 Nimeus-Malstrom et al. 81-gene signature }

Non confirmées sur des séries indépendantes

Signature prédictive de réponse à la radiothérapie?

Chang PNAS 2005  
 Nuyten Breast Cancer Res 2006  
 Nimeus-Malstrom Breast Cancer Res 2008

**Prognostic Value of Molecular Subtypes, Ki67 Expression and Impact of Postmastectomy Radiation Therapy in Breast Cancer Patients With Negative Lymph Nodes After Mastectomy**

**2001-2008:**

**- 699 pts MT-LA pNOMO**

- PMRT (191 pts: 27%) / no-PMRT (508pts:73%)

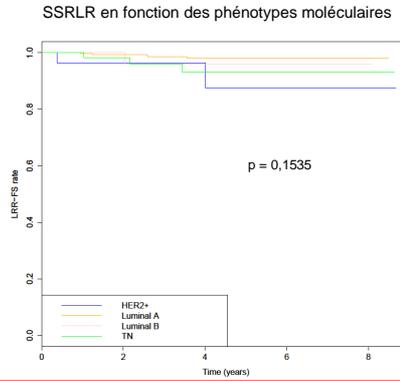
- Luminal A (RE+ et/ou RP+ et HER2-): 72,6%

- Luminal B (RE+ et/ou RP+ et HER2+): 6,5%

- HER2+ (RH- et HER2+) : 6,6%

- TN (RH- et HER2-): 14,3%

- Ki67: seuil positivité 20%



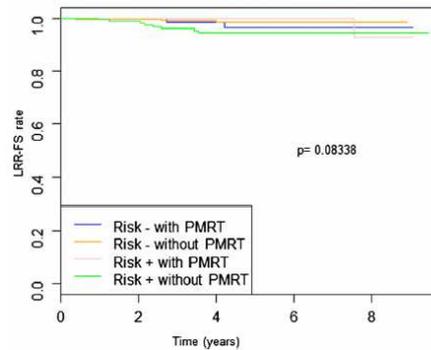
- AMV: aucun phénotype moléculaire associé à RLR
- Ki67 > 20%: seul facteur pronostique associé SSRLR (HR, 4,18; 95% IC: 1,11-15,77; p < 0,0215)
- Aucun facteur prédictif de l'efficacité de la radiothérapie

Selz, Le Scodan, IJROBP in press

**Impact de la PMRT en fonction du phénotype tumoral**

**Table 3** Impact of postmastectomy radiotherapy on locoregional recurrence in various risk groups and molecular subtypes

	PMRT group	Mo-PMRT group	P
	5-year LRR-FS, % (95% CI)	5-year LRR-FS, % (95% CI)	
Entire population	97.7 (95.2-100)	96.8 (95-98.5)	.663
Luminal A*	92.9 (87; 99.3)	93.3 (90.1; 96.6)	.8352
Luminal B <sup>1</sup>	80 (58.7; 100)	84.8 (69.6; 100)	.7256
HER2+ <sup>†</sup>	90 (73.2; 100)	78.2 (60.1; 100)	.3025
TN	89.4 (78.7; 100)	86.7 (77.2; 97.4)	.935
Risk +	90.7 (84.3; 97.6)	84.9 (79; 91.2)	.3512
Risk-	94.6 (88.7; 100)	97.4 (95.1; 99.7)	.1836



Selz, Le Scodan, IJROBP in press

**Increased Risk of Locoregional Recurrence for Women With T1-2N0 Triple-Negative Breast Cancer Treated With Modified Radical Mastectomy Without Adjuvant Radiation Therapy Compared With Breast-Conserving Therapy**

*Bassam S. Abdulkarim, Julie Cuartero, John Hanson, Jean Deschênes, David Lesniak, and Siham Sabri*

Série MD Anderson  
768 patientes cancer du sein TN

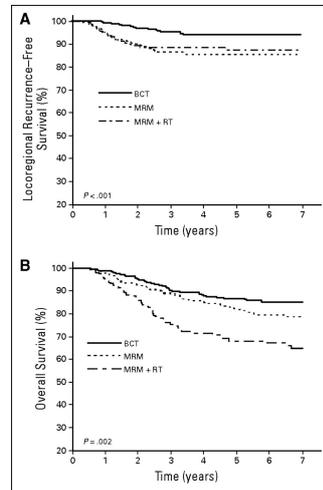
Évaluation SSRLR / type traitement local

Suivi médian: 7,2 ans

SSRLR à 5 ans:

94% (T+RT) vs 85% (MT) vs 87%(MT+RT)

AMV: MT sans RT, LVI et pN+ associés à un risque accru de RLR



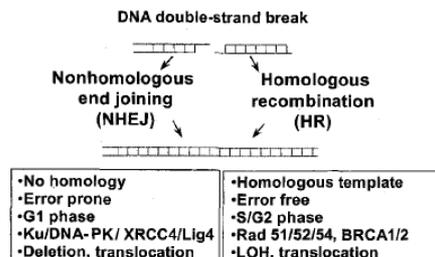
Abdulkarim JCO 2011

## Réparation des lésions de l'ADN et efficacité de la radiothérapie

Cytotoxicité de la RT: dommages de l'ADN / cassure double-brins (DNA DSBs)

Principal facteur de radiosensibilité:

- Efficacité de détection et réparation des lésions radio-induites de l'ADN
- 2 mécanismes majeurs: NHEJ and HR



Xia, Powell, 2002

**CLINICAL INVESTIGATION**

**DNA REPAIR GENE EXPRESSION AND RISK OF LOCOREGIONAL RELAPSE IN BREAST CANCER PATIENTS**

ROMUALD LE SCODAN, M.D.,<sup>1\*</sup> GÉRALDINE CÉZÉRON-CLAIRAC, Ph.D.,<sup>1†</sup> EMMANUELLE FOURME, M.D.,<sup>3</sup> DEDIER MÉSÈRIE, M.D.,<sup>2</sup> SOPHIE VACHER, M.Sc.,<sup>1‡</sup> FREDÉRIQUE SPYRATOS, Ph.D.,<sup>1§</sup> BRIGITTE DE LA LANDE, M.D.,<sup>4</sup> FREDÉRIQUE CVITKOVIC, M.D.,<sup>4\*</sup> ROSSITTE LEBREAU, Ph.D.,<sup>1</sup> AND IVAN BÉGIN, Ph.D.<sup>1‡</sup>

Cytotoxicité de la radiothérapie: formation de CDB de l'ADN

Hypothèse

Upregulation des protéines de réparation de l'ADN dans les cellules tumorales



Reconnaissance et réparation des CDB de l'ADN



Diminution radiosensibilité et augmentation du risque de RLR

Le Scodan IJROBP 2011

**CLINICAL INVESTIGATION**

**DNA REPAIR GENE EXPRESSION AND RISK OF LOCOREGIONAL RELAPSE IN BREAST CANCER PATIENTS**

1994 – 1999 :

- Série prospective de 97 échantillons tumoraux series of 97 tumor samples

Patientes avec cancer du sein N+ inclus dans un essai multicentrique de phase III

Selection de 20 gènes candidats codant pour les principales protéines de réparation des lésions radio-induites de l'ADN

Mesure du niveau d'expression des mRNA des gènes de réparation par RT-PCR

HR

NHEJ

Gene symbols (alternate symbols)	Gene name (Function)	Chromosome location	GenBank accession number
<i>RAD50</i>	<i>RAD50</i> homolog (HR)	5q31	NM_005732
<i>NBN (Nbs1)</i>	Nibrin (HR)	8q21	NM_002485
<i>MRE11A</i>	<i>MRE11</i> meiotic recombination 11 homolog A (HR)	11q21	NM_005590
<i>RAD51</i>	<i>RAD51</i> homolog (RecA homolog, <i>E. coli</i> ) (HR)	15q15.1	NM_002875
<i>RAD52</i>	<i>RAD52</i> homolog (HR)	12p13-p12.2	NM_134424
<i>ATM</i>	Ataxia telangiectasia mutated (HR)	11q22-q23	NM_000051
<i>BRCA1</i>	Breast cancer 1, early onset (HR)	17q21	NM_007294
<i>BRCA2</i>	Breast cancer 2, early onset (HR)	13q12.3	NM_000059
<i>XRCC3 (h850)</i>	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 5 (NHEJ)	2q35	NM_021141
<i>XRCC6 (h70)</i>	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 6 (NHEJ)	22q13.2-q13.31	NM_001469
<i>PRKDC (DNA-PK-<math>\alpha</math>)</i>	Protein kinase, DNA-activated, catalytic polypeptide (NHEJ)	8q11	NM_001081640
<i>XRCC4</i>	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 4 (NHEJ)	5q13-q14	NM_003401
<i>LIG4</i>	Ligase IV, DNA, ATP-dependent (NHEJ)	13q33-q34	NM_001098268
<i>DCLRE1C</i>	DNA cross-link repair 1C (NHEJ)	10p13	NM_022487
<i>NHEJ1</i>	Nonhomologous end-joining factor 1 (NHEJ)	2q35	NM_024782
<i>XPA</i>	Xeroderma pigmentosum, complementation group A (NER)	9q22.3	NM_000380
<i>XRCC1</i>	X-ray repair complementing defective repair in Chinese hamster cells 1 (BER)	19q13.2	NM_006297
<i>PARP1</i>	Poly(ADP-ribose) polymerase family, member 1 (BER)	1q41-q42	NM_001618
<i>MLH1</i>	<i>MutL</i> homolog 1, colon cancer, nonpolyposis type 2 (MR)	3p21.3	NM_000249
<i>MSH2</i>	<i>MutS</i> homolog 2, colon cancer, nonpolyposis type 1 (MR)	2p22-p21	NM_000251

# RESULTATS

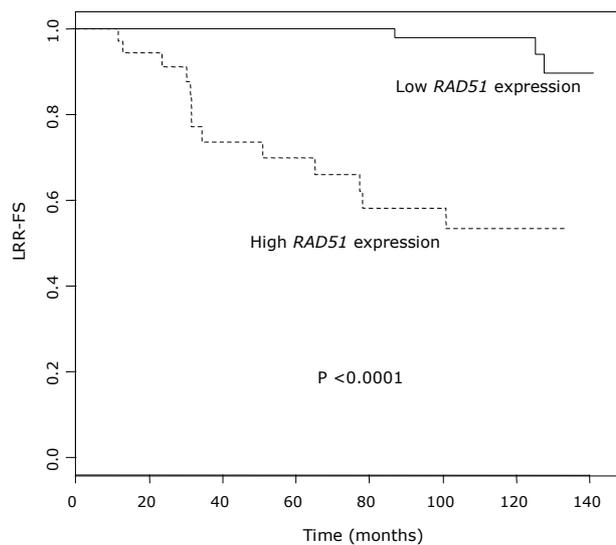
- **RAD51**: gène le plus "uprégulé" dans les cellules tumorales/ tissu mammaire sain
- Comparaison des niveaux de mRNA des patientes avec ou sans RLR
- **RAD51, PRKDC** and **XRCC6**: surexprimé dans les cellules tumorales des patientes avec RLR
- **RAD51**: seul gène associé à la RLR dans les cohortes CRH et NKI

Table 4. mRNA levels of the 20 DNA repair genes in the CRH cohort with and without LRR

Gene	Median no. (range) of patients with LRR (n = 16)	Median no. (range) of patients without LRR (n = 87)	Mann-Whitney U test p value
<b>RAD51</b>	<b>9.60 (0.36-18.78)</b>	<b>3.33 (0.24-23.83)</b>	<b>0.0002</b>
<b>XRCC6</b>	<b>0.94 (0.57-1.94)</b>	<b>0.75 (0.25-3.89)</b>	<b>0.01</b>
<b>PRKDC</b>	<b>2.60 (0.85-5.15)</b>	<b>1.73 (0.43-6.93)</b>	<b>0.02</b>
RAD50	1.07 (0.52-2.01)	1.34 (0.34-4.00)	NS
ATM	0.90 (0.24-1.36)	1.02 (0.22-2.30)	NS
RAD52	1.06 (0.47-2.51)	1.05 (0.23-5.04)	NS
BRCA1	2.23 (0.32-6.76)	2.24 (0.51-8.76)	NS
BRCA2	2.28 (0.89-13.29)	2.82 (0.24-29.09)	NS
MRE11A	0.66 (0.23-1.52)	0.72 (0.28-3.14)	NS
NBN	1.67 (0.17-5.62)	1.64 (0.03-6.02)	NS
XRCC5	1.30 (0.28-3.31)	1.28 (0.05-6.63)	NS
XRCC4	1.06 (0.52-1.88)	1.19 (0.00-7.70)	NS
LIG4	1.01 (0.21-2.53)	1.23 (0.29-6.35)	NS
DCLRE1C	1.28 (0.71-2.74)	1.28 (0.31-4.93)	NS
NHEJ1	0.55 (0.27-0.86)	0.51 (0.00-1.30)	NS
MSH2	1.29 (0.43-2.75)	1.14 (0.50-3.87)	NS
MLH1	1.02 (0.42-1.75)	0.98 (0.21-1.87)	NS
XPA	0.62 (0.23-1.25)	0.80 (0.11-2.97)	NS
XRCC1	0.99 (0.27-1.75)	0.76 (0.22-2.00)	NS
PARP1	2.29 (1.22-3.52)	2.01 (0.50-6.99)	NS

## LRR-FS curves according to RAD51 expression (CRH cohort)

5-yr LRR-FS, 100% (low RAD51, 61 pts) v 70% (high RAD51, 36 pts),  $p < 0.0001$



## SSRLR et SG: AMV Cox Model (97 patients)

Caractéristiques	HR RLR	IC95%	P	HR Décès	CI95%	P
<b>RAD51 expression</b>						
Low	1			1		
High	12.8	3.6 – 45.6	<0.0001	4.09	1.7 – 9.6	0.0013
<b>Clinical T stage</b>						
T 0-1				1	0.8-15.6	
T 2				3.6	1.05-	0.03
T 3-4				5.5	28.5	
<b>Age</b>						
>50 years	1					
≤50 years	2.7	0.99 – 7.6	0.05			

Multivariate analysis of LRR-FS and OS included age at diagnosis, T stage, the number of positive lymph nodes, the type of surgery (lumpectomy vs mastectomy), histological grade, tumor HR status, the therapeutic arm (concomitant vs sequential chemoradiotherapy) and *RAD51* expression level (low vs high).

### The BRCA1/BRCA2/Rad51 complex is a prognostic and predictive factor in early breast cancer

Karin Söderlund<sup>a\*</sup>, Lambert Skoog<sup>b</sup>, Tommy Fornander<sup>c</sup>, Marie Stenmark Askmal<sup>a</sup>

□ Valeur pronostique et prédictive du niveau d'expression de *RAD51*, *BRCA1* and *BRCA2*

□ 224 cancer du sein, patientes inclus dans un essai de phase III comparant CT adjuvante et RT adjuvante

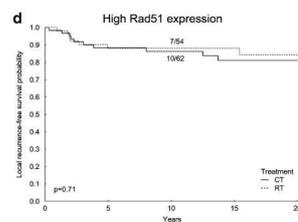
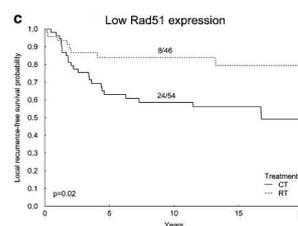
□ Sous groupe traité par CT adjuvante:

low Rad51: risque accru de RLR (RR = 3.33, 95% CI 1.59-6.96)

□ Radiothérapie > Chimiothérapie chez les patientes avec faible niveau d'expression de Rad51

**(RR = 0.38, 95% CI 0.17-0.85, p = 0.02)**

-- en accord avec l'hypothèse que les cellules déficientes en mécanismes de réparation des lésions radio-induites sont plus radiosensibles et bénéficient de l'irradiation adjuvante--



Soderlund et al. Radiother Oncol 2007

## Mécanismes de réparation de l'ADN

### Profil d'expression des gènes de réparation de l'ADN

- Facteur pronostique de RLR
- Facteur prédictif de réponse à la radiothérapie
- Mécanismes de réparation de l'ADN: cibles thérapeutiques potentielles pour accroître la radiosensibilité

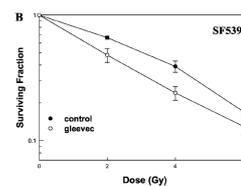
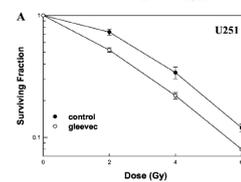
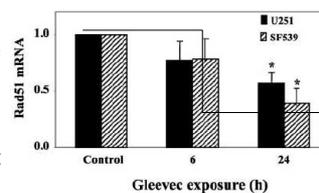
#### Gleevec-Mediated Inhibition of Rad51 Expression and Enhancement of Tumor Cell Radiosensitivity

Jeffery S. Russell, Kristin Brady, William E. Burgan, Michael A. Cerra, Kelli A. Oswald, Kevin Camphausen, and Philip J. Tofilon<sup>1</sup>

- RAD51: uprégulé par activation oncogénique de c-Abl tyrosine kinase
- STI571 (Gleevec): inhibiteur relativement spécifique de la protéine Abl kinase
- Gleevec et lignées cellulaires de glioblastome:
  - Réduction du niveau d'expression de RAD51
  - Augmentation de la radiosensibilité

Gleevec pour les cancers du sein à haut niveau d'expression de RAD51 ?

Russell et al. 2003; Slupianek et al. 2001



## Deficiency in the Repair of DNA Damage by Homologous Recombination and Sensitivity to Poly(ADP-Ribose) Polymerase Inhibition

Nuala McCabe,<sup>1,2</sup> Nicholas C. Turner,<sup>3</sup> Christopher J. Lord,<sup>3</sup> Katarzyna Kluzek,<sup>2</sup>  
Aneta Bialkowska,<sup>1</sup> Sally Swift,<sup>1,2</sup> Sabrina Giavara,<sup>1</sup> Mark J. O'Connor,<sup>1</sup> Andrew N. Tutt,<sup>1</sup>  
Małgorzata Z. Zdzienicka,<sup>4,5</sup> Graeme C.M. Smith,<sup>6</sup> and Alan Ashworth<sup>6</sup>

### Inhibiteurs de PARP

Efficacité antitumorale pour les cancers avec mutation délétère BRCA 1/ BRCA2

Cellules "BRCA-déficientes" sensibles aux inhibiteurs de PARP (HR déficientes)

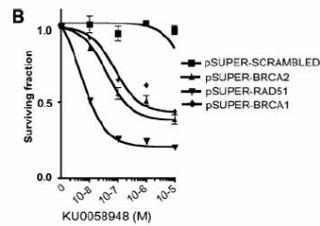
Cellules déficientes en protéines de réparation (RAD51, RAD54, XRCC4, RPA1, ATM...):

Sensibilité accrue à l'inhibition de PARP  
Sensibilité accrue à la RT

Inhibiteurs de PARP: effet synergique avec la RT ?

Identifier les marqueurs de déficience en Recombinaison Homologue

Deficiency of proteins integral to HR induces sensitivity to PARP inhibition



Depletion of HR proteins using small interfering RNA

Mc Cabe et al. 2006

## Small-Molecule Drugs Mimicking DNA Damage: A New Strategy for Sensitizing Tumors to Radiotherapy

Maria Quanz,<sup>1,4,5</sup> Nathalie Berthault,<sup>1,2</sup> Christophe Roulin,<sup>4</sup> Maryline Roy,<sup>1,4,5</sup> Aurélie Herbette,<sup>1,4,5</sup>  
Céline Agrario,<sup>1,4,5</sup> Christophe Alberti,<sup>1,3</sup> Véronique Josserand,<sup>6</sup> Jean-Luc Coll,<sup>6</sup> Xavier Sastre-Garau,<sup>7</sup>  
Jean-Marc Cosset,<sup>8</sup> Lionel Larue,<sup>1,3</sup> Jian-Sheng Sun,<sup>5,9,10,11</sup> and Marie Dutreix<sup>1,2,4</sup>

Injection de Dbait  
(small DNA molecules that mimic DNA-DSBs)

Désorganisation des processus de reconnaissance et réparations des lésions de l'ADN

- Augmente la radiosensibilité des cellules
- In vivo: regression tumorale chez la souris nude avec xénotgreffe tumorale de HNSCC radiorésistants

- Essais de phase I en cours (mélanome)

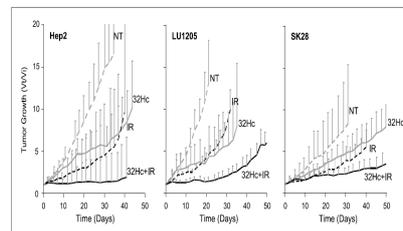


Fig 3. Redensitization of Hep2, LU1205, and SK28 tumors by Dbs2Hc. Tumor volume progression of Hep2 (left), LU1205 (middle), and SK28 (right) subcutaneous tumor xenografts treated as described in Materials and Methods. Four groups of animals for each tumor type received different treatments: NT (no treatment) (open circles), 32Hc, Dbs2Hc injections (50 µg session, open circles), IR, radiotherapy (black dots), 32Hc + IR, coupled treatments with irradiation and Dbs2Hc injections (black triangles). Tumor growth was measured twice a week. The number of animals included in each group is indicated in Table 1.

Quantz Clin Cancer Res 2009

## Conclusion

- Impact potentiellement majeur des facteurs prédictif de réponse à la radiothérapie
- Modification des paramètres des traitements locaux
  - Rapport Bénéfice / Risque
  - Identification de nouvelles cibles thérapeutiques
- Peu de facteurs robustes et utilisables en pratique courante
- Recherche translationnelle associées aux essais cliniques
- Consortium internationaux