

ADN tumoral circulant et mutation *ESR1* dans les cancers du sein hormonodépendants

Circulating tumor DNA and ESR1 mutation in hormone-receptor positive breast cancer

Luc Cabel^{1,2}, Jean-Yves Pierga^{1,3}, Emmanuelle Jeannot³, François-Clément Bidard⁴

RÉSUMÉ

SUMMARY

» Les mutations du gène *ESR1* sont fréquentes (30 à 40 % des cas) dans le cancer du sein métastatique à récepteurs hormonaux positifs (RH⁺) après exposition à un traitement antihormonal, en particulier un inhibiteur de l'aromatase (IA). La détection de mutations d'*ESR1* constitue un facteur de mauvais pronostic, et elle est prédictive d'une moindre efficacité des IA, alors que la sensibilité au fulvestrant, à l'évérolimus ou aux inhibiteurs de CDK4/6 semble conservée. La détection de ces mutations dans le plasma est très spécifique et assez sensible par PCR digitale ou séquençage de nouvelle génération. L'utilité clinique de cette détection des mutations *ESR1* est actuellement en cours d'investigation dans l'essai PADA-1.

ESR1 gene mutations frequently occur (30 to 40% of cases) in hormone receptor-positive metastatic breast cancers after exposure to hormone therapy, especially aromatase inhibitors (AI). Plasma detection of ESR1 mutations is associated with a poor prognosis and predicts resistance to AI, while the sensitivity to fulvestrant, everolimus and CDK4/6 inhibitors seems preserved. The detection of these mutations in plasma is highly sensitive and specific with digital PCR or next generation sequencing. The clinical utility of this detection of ESR1 mutations is currently investigated in the PADA-1 trial.

Mots-clés: *ESR1* – ADN tumoral circulant – Biomarqueur – Monitoring – Résistance.

Keywords: *ESR1* – Circulating tumor DNA – Biomarker – Monitoring – Resistance.

Les cancers du sein exprimant les récepteurs hormonaux (RH⁺) représentent la majorité des cancers du sein (environ 70 %) et constituent de fait un enjeu majeur de santé publique. L'hormonothérapie, comme le tamoxifène et les anti-aromatases, constitue depuis des décennies la base thérapeutique de ces cancers du sein RH⁺ en situation adjuvante et métastatique (1). Le tamoxifène appartient à la classe des modulateurs sélectifs des récepteurs des estrogènes (SERM), alors que les antiaromatases (AI) ciblent la synthèse des estrogènes.

CDK4/6-Rb, et la modification d'expression ou de conformation du récepteur aux estrogènes (RO). La découverte de ces mécanismes de résistance a conduit au développement de nouvelles thérapies qui ont démontré dans la pratique clinique leur efficacité dans les cancers du sein RH⁺ hormonorésistants, en addition au traitement antihormonal : l'évérolimus (inhibiteur de mTOR) et les inhibiteurs de CDK4/6 (palbociclib, ribociclib et abémaciclib). Le fulvestrant, quant à lui, est un inhibiteur direct du RO entraînant sa dégradation (SERD [*selective estrogen receptor degrader or downregulator*]), le "dégradeur" sélectif du RO) et a montré une efficacité en cas d'hormonorésistance ainsi qu'une supériorité par rapport aux IA chez les patientes n'ayant pas reçu de traitement hormonal en première ligne métastatique (2). Récemment, il a été montré que des mutations d'*ESR1*, le gène codant la sous-unité α du RO (ER α), constituaient un mécanisme d'hormonorésistance des cancers du sein RH⁺.

Mécanismes de résistance dans les cancers du sein RH⁺

Parmi les mécanismes de résistance à l'hormonothérapie, on retrouve l'activation de la voie de signalisation PI3K/AKT/mTOR, du cycle cellulaire via la voie cycline D/

¹ Département d'oncologie médicale, institut Curie, Saint-Cloud et Paris.

² Université de Versailles Saint-Quentin-en-Yvelines.

³ Université Paris-Descartes, Paris.

⁴ Service de génétique, institut Curie, Paris.

ESR1 : gène et mutations

ESR1 est un facteur de transcription nucléaire de 595 acides aminés qui se lie à l'ADN sous forme d'homodimère. Fonctionnellement, le RO contient 2 domaines d'activation transcriptionnelle : le domaine N-terminal, ligand-indépendant, et le domaine C-terminal, contenant le domaine de liaison du ligand (*ligand binding domain*, LDB) et le site de transactivation d'AF2, ainsi qu'une région centrale de liaison à l'ADN.

Les mutations d'ESR1 ont été décrites initialement en 1996 dans des lignées cellulaires, où les mutations Y537S et E380Q conduisaient à une activation constitutive du RO (3). Néanmoins, les études de recherche d'altérations génomiques à grande échelle, comme le projet The Cancer Genome Atlas (TCGA), n'ont pas retrouvé initialement de mutations dans le gène ESR1 (données récemment actualisées chez 2433 patientes) [4]. Cette absence de mutation s'explique par la nature des tumeurs étudiées. En effet, ces premières études ont été réalisées sur des tumeurs primitives du sein avant exposition à des traitements antihormonaux, alors que celles menées chez des patientes au stade métastatique, après exposition aux traitements antihormonaux, ont montré une fréquence très élevée (30-40%) de ces mutations (5-10). Ces mutations localisées dans la région de liaison au ligand, représentées principalement par des substitutions, sont situées sur l'exon 8, avec principalement les mutations D538G (32%) et Y537S/C/N (20%), ou sur l'exon 5 (mutation E380Q, 19%), même si d'autres mutations plus rares ont été décrites (figure 1) [11]. Ces mutations conduisent à une activation constitutive du RO en l'absence d'estrogène (11, 12).

Mutations ESR1 : mécanisme de résistance acquise

Comme décrit précédemment, les mutations d'ESR1 ne sont pas retrouvées sur des tumeurs primitives

du sein en l'absence d'exposition préalable au traitement antihormonal (4). Elles représentent donc un mécanisme de résistance acquise plutôt que primaire au traitement antihormonal. Les mutations d'ESR1 semblent être un mécanisme de résistance plus spécifique aux IA qu'au tamoxifène car, principalement, elles n'ont été décrites qu'après exposition aux IA (5-10). De plus, après exposition aux IA, la prévalence des mutations ESR1 est nettement supérieure chez les patientes exposées pendant la phase métastatique que chez celles exposées durant la phase adjuvante (36,4% versus 5,8%) [13]. La fréquence des mutations d'ESR1 est donc relativement faible lors d'une rechute métastatique chez une patiente exposée aux IA durant un traitement adjuvant, situation particulièrement fréquente en pratique clinique chez la femme ménopausée. À noter que les mutations d'ESR1 peuvent se retrouver chez les patientes porteuses d'un cancer du sein RH⁺HER2⁺ (7,9%) [11], même si les données sont relativement rares dans cette population.

ESR1 : méthodes de détection

Les essais initiaux ont principalement détecté les mutations ESR1 par séquençage de métastases biopsiées. La découverte de ces mutations et le développement rapide des techniques de détection de l'ADN tumoral circulant (ADNtc) ont permis la détection de ces mutations ESR1 dans le plasma. Schématiquement, 2 techniques de détection plasmatique sont actuellement réalisables : une recherche d'ADN par séquençage de nouvelle génération (*next-generation sequencing* [NGS]), comportant généralement un panel multigénique, et les techniques de *digital PCR*. Le NGS a l'avantage de :

- ✓ pouvoir parallèlement rechercher d'autres altérations génétiques selon le panel utilisé ;
- ✓ rechercher simultanément toutes les mutations d'ESR1 situées sur les différents exons, dont les plus rares, alors que ses principales limites sont sa sensibi-

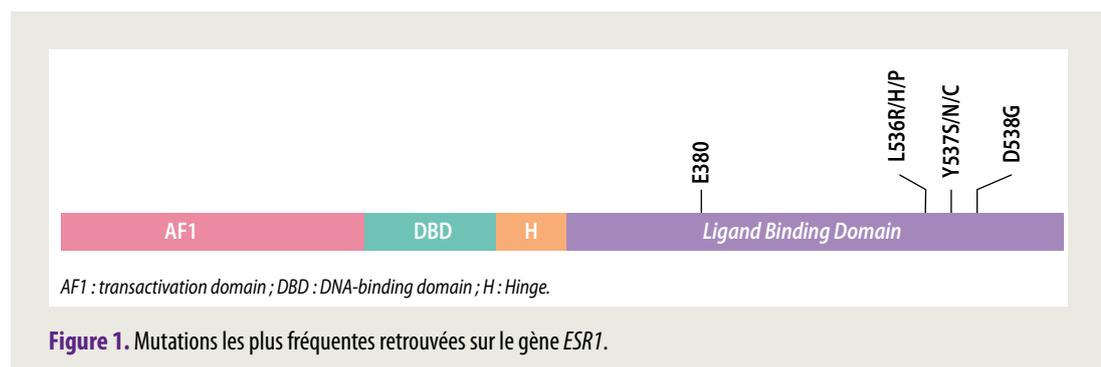


Figure 1. Mutations les plus fréquentes retrouvées sur le gène ESR1.

lité supérieure à 1 % de fréquence allélique (à laquelle on retrouve un variant donné), même s'il existe des techniques de NGS plus sensibles, ainsi que son coût (plus de 300 euros à l'heure actuelle).

Les techniques de *digital PCR*, comme la PCR digitale en goutte (*droplet digital PCR* [ddPCR]) et le processus *BEAMing* (*beads, emulsion, amplification and magnetics*), ne peuvent théoriquement rechercher une mutation que sur une base unique (Y537S/C/N, par exemple), mais avec une meilleure sensibilité (0,1 %) et un coût moindre par réaction. Des améliorations, utilisées dans l'essai PADA-1 présenté ci-dessous, permettent cependant de détecter 80 % des mutations d'*ESR1* en une seule réaction de ddPCR.

ESR1 : biomarqueur pronostique

Plusieurs études ont montré que la détection de mutation *ESR1* était corrélée à un pronostic plus défavorable. Par exemple, Clatot et al. ont montré que les patientes présentant un cancer du sein RH⁺ au stade métastatique chez qui *ESR1* était détecté dans le plasma avaient une survie sans progression (SSP) et une survie globale (SG) diminuées, avec respectivement une médiane de 5,9 mois (*ESR1*m⁺) versus 7 mois (*ESR*m⁻) et 15,5 mois (*ESR1*m⁺) versus 23,8 mois (*ESR*m⁻) [p = 0,0006] (6). S. Chandralapaty et al. ont montré, dans une analyse de l'étude BOLERO-2 (laquelle a démontré l'intérêt de l'ajout de l'évérolimus à l'exémestane en cas d'hormonorésistance post-IA non stéroïdien) que la détection de mutations *ESR1* (seulement Y537S et D538G) était un facteur pronostique défavorable : SG = 32,1 mois dans le groupe *ESR*m⁻ (IC₉₅ : 28,09-36,40 mois) versus 25,99 mois en cas de mutation D538G (IC₉₅ : 19,19-32,36 mois) ; 19,98 mois en cas de mutation Y537S (IC₉₅ : 13,01-29,31 mois) ; et 15,15 mois en cas de double mutation (IC₉₅ : 10,87-27,43 mois) [5]. Néanmoins, la détection d'ADN tumoral circulant, en elle-même, est un facteur de mauvais pronostic dans le cancer du sein, étant corrélée au volume tumoral et à

la prolifération. Il serait donc nécessaire de déterminer si la détection des mutations *ESR1* reste un facteur de mauvais pronostic en cas de traitement par tamoxifène ou IA chez les patients dont l'ADN tumoral circulant est détectable par une autre méthode (comme le NGS).

ESR1 : monitoring et prédiction de la rechute sous IA

Il a été démontré dans de nombreux cancers, et en particulier dans le cancer du sein, que la détection plasmatique d'ADNtc (hors *ESR1*) apparaissait généralement plusieurs mois avant la détection de la progression radiologique ou clinique (14, 15). De même, la réalisation de prélèvements sanguins séquentiels permet, en cas de positivité, de prédire la rechute. Par exemple, F. Clatot et al. ont montré que l'ADNtc d'*ESR1* était détecté 3 et 6 mois avant le diagnostic de progression chez 75 % des patientes (6). C. Fribbens et al. ont également montré, dans une collection de plasmas prospective, que l'ADNtc d'*ESR1* était détecté en moyenne 6,7 mois avant la rechute (8).

ESR1 : biomarqueur prédictif

Selective Estrogen Receptor Degradar (SERD)

La suite naturelle de ces découvertes est de démontrer l'utilité clinique des mutations *ESR1* : la détection de ces mutations peut-elle guider un changement thérapeutique précoce ou une thérapie ciblée sur le RO muté ? Il a été établi/prouvé que le tamoxifène était peu efficace sur les mutations *ESR1*, alors que les SERD, avec leur activité de dégradation du RO, comme le fulvestrant à forte dose ou d'autres SERD de nouvelle génération, ont montré une efficacité en préclinique (11). Le fulvestrant, dans cette dernière étude, avait une activité dépendant du type de mutation, à la différence des SERD de nouvelle génération, efficaces sur l'ensemble des mutations (tableau).

En clinique, plusieurs études suggéraient que le fulvestrant était plus efficace en cas de mutations d'*ESR1*. En effet, dans l'étude fulvestrant versus exémestane avec ou sans anastrozole en phase métastatique (SoFEA), la SSP était de 2,6 mois pour les patientes *ESR1*m⁺ traitées par exémestane contre 5,7 mois pour celles traitées par fulvestrant (p = 0,02) [8]. L'étude GDC4950g, une phase II randomisant les malades entre 2 bras de traitement, fulvestrant + placebo et fulvestrant + pictilisib (inhibiteur PI3k/mTOR), a montré que les patientes *ESR*m⁺ et *ESR*m⁻ présentaient une SSP comparable (10).

Tableau. Répartition des mutations d'*ESR1* (> 4%) et sensibilité prédite au fulvestrant préclinique (11).

Mutations d' <i>ESR1</i>	Fréquence	Sensibilité préclinique au fulvestrant
E380Q	19%	Oui
L536/H/P/R	7%	Oui
Y537S	11%	Oui
Y537C	6%	Oui
Y537N	5%	Oui
D538G	32%	Oui

Évérolimus

L'étude de S. Chandralapaty et al. (BOLERO-2) précédemment évoquée a montré que, bien que la détection des mutations ESR1 soit un facteur de mauvais pronostic, l'évérolimus apportait un bénéfice clair en cas de mutation D538G, mais non retrouvé en cas de mutation Y537S (trop faible effectif?) [5].

Inhibiteur de CDK4/6

Dans l'étude fulvestrant + palbociclib versus placebo après résistance sous IA dans les cancers du sein RH+ métastatiques (PALOMA-3), l'ajout de palbociclib au fulvestrant améliorerait la SSP de façon similaire chez les patientes ESR1+ et chez les patientes ESR1- (8). Le fulvestrant, l'évérolimus et les ciclib semblent donc efficaces en cas de mutations ESR1, avec probablement un différentiel d'efficacité selon la mutation d'ESR1, en particulier pour le fulvestrant et peut-être pour l'évérolimus.

ESR1 : utilité clinique

À l'heure actuelle, l'utilité clinique de la détection des mutations ESR1 n'est pas formellement démontrée dans la prise en charge des patientes traitées pour un cancer du sein RH+. Néanmoins, les données évoquées laissent à penser que la détection d'une mutation d'ESR1 pourrait être utilisée en pratique clinique dans un futur proche. Il reste cependant à formellement démontrer dans une étude prospective l'utilité clinique d'ESR1 pour améliorer le devenir des patients. La détection des mutations ESR1 pourrait avoir une utilité clinique dans 2 grandes situations : rechercher la mutation d'ESR1 lors de la progression de la maladie clinoradiologique pour discuter un traitement ciblé, ou réaliser un monitoring en cours de traitement par IA pour détecter précocement une rechute infraradiologique et changer rapidement de traitement.

La seule étude en cours cherchant à démontrer l'utilité clinique du monitoring de la détection des mutations ESR1 en cours de traitement par IA est l'étude PADA-1 (NCT03079011) [figure 2]. Cette étude pros-

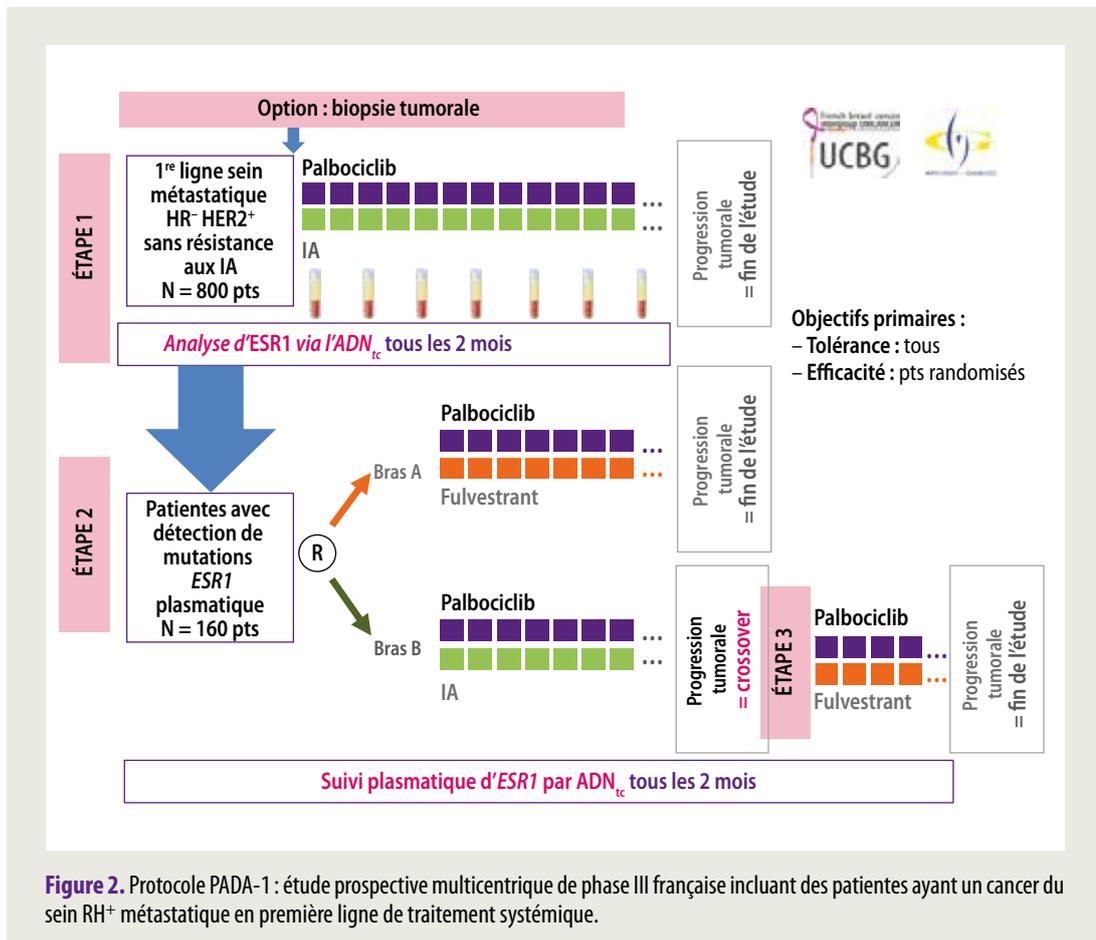


Figure 2. Protocole PADA-1 : étude prospective multicentrique de phase III française incluant des patientes ayant un cancer du sein RH+ métastatique en première ligne de traitement systémique.

F.C. Bidard déclare avoir des liens d'intérêts avec Pfizer et AstraZeneca.

Les autres auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

pective multicentrique de phase III française, en cours, recrute des patientes ayant un cancer du sein RH⁺ métastatique en première ligne de traitement systémique. Les patientes sont traitées selon un traitement standard combinant IA et palbociclib. La détection d'une mutation *ESR1* est réalisée par ddPCR (multiplex) sur l'ADNtc tous les 2 mois. En cas de positivité, une randomisation est réalisée entre poursuite du

traitement standard et remplacement de l'IA par du fulvestrant, tout en continuant le palbociclib. Le but de cette étude est de démontrer qu'un changement de thérapeutique précoce pour un traitement potentiellement actif sur les mutations *ESR1* améliore le devenir des patientes. L'étude a débuté en 2017, et le taux de recrutement est pour le moment supérieur à celui attendu. ■

RÉFÉRENCES

- Cardoso F, Costa A, Senkus E et al. 3rd ESO-ESMO International consensus guidelines for advanced breast cancer (ABC 3). *Ann Oncol* 2017;28:3111.
- Robertson JFR, Bondarenko IM, Trishkina E et al. Fulvestrant 500 mg versus anastrozole 1 mg for hormone receptor-positive advanced breast cancer (Falcon): an international, randomised, double-blind, phase 3 trial. *Lancet* 2016;388:2997-3005.
- Weis KE, Ekena K, Thomas JA, Lazennec G, Katzenellenbogen BS. Constitutively active human estrogen receptors containing amino acid substitutions for tyrosine 537 in the receptor protein. *Mol Endocrinol* 1996;10:1388-98.
- Pereira B, Chin SF, Rueda OM et al. The somatic mutation profiles of 2,433 breast cancers refines their genomic and transcriptomic landscapes. *Nat Commun* 2016;7:11479.
- Chandralapaty S, Chen D, He W et al. Prevalence of *ESR1* mutations in cell-free DNA and outcomes in metastatic breast cancer: a secondary analysis of the BOLERO-2 clinical trial. *JAMA Oncol* 2016;2:1310-5.
- Clatot F, Perdrix A, Augusto L et al. Kinetics, prognostic and predictive values of *ESR1* circulating mutations in metastatic breast cancer patients progressing on aromatase inhibitor. *Oncotarget* 2016;7:74448-59.
- Fribbens C, Garcia Murillas I, Beaney M et al. Tracking evolution of aromatase inhibitor resistance with circulating tumour DNA analysis in metastatic breast cancer. *Ann Oncol* 2018;29:145-53.
- Fribbens C, O'Leary B, Kilburn L et al. Plasma *ESR1* mutations and the treatment of estrogen receptor-positive advanced breast cancer. *J Clin Oncol* 2016;34:2961-8.
- Niu J, Andres G, Kramer K et al. Incidence and clinical significance of *ESR1* mutations in heavily pretreated metastatic breast cancer patients. *Oncotargets Ther* 2015;8:3323-8.
- Spoerke JM, Gendreau S, Walter K et al. Heterogeneity and clinical significance of *ESR1* mutations in ER-positive metastatic breast cancer patients receiving fulvestrant. *Nat Commun* 2016;7:11579.
- Toy W, Weir H, Razavi P et al. Activating *ESR1* mutations differentially affect the efficacy of ER antagonists. *Cancer Discov* 2017;7:277-87.
- Jeselsohn R, Yelensky R, Buchwalter G et al. Emergence of constitutively active estrogen receptor- α mutations in pretreated advanced estrogen receptor-positive breast cancer. *Clin Cancer Res* 2014;20:1757-67.
- Schiavon G, Hrebien S, Garcia-Murillas I et al. Analysis of *ESR1* mutation in circulating tumor DNA demonstrates evolution during therapy for metastatic breast cancer. *Sci Transl Med* 2015;7:313ra182.
- Dawson SJ, Tsui DWY, Murtaza M et al. Analysis of circulating tumor DNA to monitor metastatic breast cancer. *N Engl J Med* 2013;368:1199-209.
- Garcia-Murillas I, Schiavon G, Weigelt B et al. Mutation tracking in circulating tumor DNA predicts relapse in early breast cancer. *Sci Transl Med* 2015;7:302ra133.